



日本中央競馬会  
特別振興資金助成事業

飼料分析者のための  
近赤外分析マニュアル

平成27年3月

一般社団法人日本草地畜産種子協会



はじめに

この「近赤外分析マニュアル」は、乳用牛、肉用牛の飼料設計、飼料給与診断の基礎となる飼料分析法、とりわけ近赤外分析法による飼料分析手法と分析手順の解説を提示し、飼料分析センターにおける近赤外分析技術の理論的、実践的な指針とするとともに、分析指導者の育成及び後継者への適確な技術の継承を図るために記述した書である。

わが国の畜産は、輸入飼料への依存割合が高く、近年の輸入飼料の価格の高騰・高止まりによりその経営が逼迫しており、酪農及び肉用牛経営が健全な発展を実現するためには、飼料自給率の向上とともに粗飼料の適切な品質評価に基づく効率的な給与が重要になっている。わが国におけるフォレンジテスト（自給飼料の栄養分析）は、1980年頃から近赤外分析計を用い本格的に開始され、農家の自給飼料の品質評価とこの評価に基づく給与飼料設計指導に、今日まで継続的に利活用されてきた。しかしながら、最近普及してきた稲発酵粗飼料等の新飼料資源や飼料作物の新品種に対応した検量線の更新・開発がほとんど行われておらず、さらに最新のケモメトリックスを用いた解析手法も導入されていないのが現状である。

これらの問題に対処するため、JRA 畜産振興事業の助成を得て「フォレンジテスト新システム構築事業」を2012年度から3か年実施し、近赤外分析で必要となる飼料群を幅広く収集し、現行の化学分析法による飼料分析と近赤外分析計での分析を行い、最新の解析手法を用いて近赤外分析計の検量線の作成を行った。これらの検量線は、現在稼働している全国の飼料分析センター等の近赤外分析計に移設して活用していただくこととしている。

このマニュアルでは、牧乾草、イタリアンライグラス乾草、牧草サイレージ、トウモロコシサイレージ、稲発酵粗飼料（イネ WCS）、飼料用米（玄米）、ソルガムサイレージ及び大麦ホールクロップ（サイレージ原料）を分析対象飼料とし、実際の近赤外分析を行うに当たり、飼料分析や近赤外分析法に関する基礎的な知識・知見、作成検量線の移設、精度の確認法などを解説しており、通常の実務に加え、担当者の異動などに伴う技術的な継承にも役立てていただきたい。

本事業の遂行にあたり、数多くのサンプルを提供して下さった道県、民間の飼料分析センター並びに本マニュアルの執筆者には深謝申し上げます。特に、多大な労力と時間をかけて化学分析と検量線の作成・移設に取り組んでいただいた（独）農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所の研究者には心よりお礼申し上げます。

本書の活用により、全国の飼料分析センターでの飼料分析が増大し、効率的な飼料給与により生産コストの低減及び酪農・肉用牛経営の所得の増加が図られれば幸いである。

一般社団法人日本草地畜産種子協会  
会 長 野 口 政 志

## 目次

第1章 近赤外分析法の飼料分析への応用 .....	1
1. 1 序論 .....	1
1. 2 NIRS の概要 .....	1
1.2.1 NIRS の原理 .....	1
1.2.2 NIRS の特徴 .....	1
1.2.3 検量線の作成手順 .....	2
1.2.4 近赤外分析計 .....	4
1.2.5 ソフトウェア .....	4
第2章 分析サンプルの採取から送付まで .....	6
2. 1 サンプリング .....	6
2.1.1 ロットの考え方 .....	6
2.1.2 乾草 .....	6
2.1.3 サイレージ .....	7
2.1.4 縮分法 .....	8
2. 2 サンプルの送付 .....	10
2.2.1 サンプルの送付方法 .....	10
2.2.2 サンプルの送付と保管上の注意点 .....	10
2.2.3 サンプル受付後の保管について .....	10
第3章 試料の前処理方法（乾燥から粉碎まで） .....	11
3. 1 乾燥 .....	11
3. 2 粉碎 .....	11
3.2.1 回収率 .....	11
3.2.2 熱をかけない .....	12
第4章 NIRS の実際 .....	13
4. 1 本事業で作成した検量線の概要 .....	13
4.1.1 対象とする飼料の種類と分析項目 .....	13
4.1.2 検量線の作成条件 .....	14
4. 2 本事業で作成した検量線の移設 .....	14
4. 3 Model-6500 間における移設 .....	17
4.3.1 NSAS における検量線の移設 .....	18
(1) 機能確認テスト .....	18
(2) ディレクトリーの作成 .....	27
(3) 検量線ファイルのコピー .....	38
(4) 基準化試料のスペクトル測定 .....	41
(5) 基準化試料のデータ入力 .....	51
(6) バイアス補正による検量線の移設 .....	61
(7) オペレーションファイルの作成方法 .....	77

4.3.2	Visionにおける検量線の移設	85
(1)	機能確認テスト	85
(2)	検量線ファイルのコピー	91
(3)	基準化試料のスペクトル測定	95
(4)	基準化試料のデータ入力	104
(5)	検量線の移設	115
4.4	近赤外分析における保守管理	126
4.4.1	機器のメンテナンス	126
4.4.2	測定環境	126
4.4.3	検量線のメンテナンス	126
4.4.4	分析値の確認	126
4.4.5	近赤外分析計の取り扱い	126
第5章	粗飼料の成分と化学分析における基本的な精度管理	127
5.1	粗飼料の成分	127
5.1.1	水分	127
5.1.2	一般成分	127
5.1.3	エネルギー	131
5.1.4	TDNの推定	132
5.2	化学分析の精度管理	136
5.2.1	水分	136
5.2.2	粗タンパク質	138
5.2.3	粗脂肪(特に迅速抽出法)	139
5.2.4	粗灰分	141
5.2.5	酵素分析	142
5.2.6	デタージェント分析	144
第6章	FAQ	148
6.1.1	Q: 予乾牧草はサイレージか乾草か?	148
6.1.2	Q: 原料草はサイレージか生草か?	148
6.1.3	Q: ありえない値の逆転がある(ADF>NDF等)。どうしたらよいか?..	148
6.1.4	Q: 電源は入れっぱなしでもよいか?	149
6.1.5	Q: ランプが切れた! 検量線の校正は必要か?	149
6.1.6	Q: サンプルの粉碎粒度は測定結果に影響するか?	149
6.1.7	Q: 機器を設置する部屋の温度は関係するか?	149
6.1.8	Q: 放牧草(生草)はどのようにするか?	149
6.1.9	Q: イネ科牧草の種類毎、生育時期毎の検量線はできないか?	149
6.1.10	Q: 分析値は同一でも消化性が変わるとTDN含量が異なる。トウモロコシサイレージの「未破碎」、「破碎」の処理区分はどうしたらよいか?	149
6.1.11	Q: Ca、P、Mg、K等のマクロミネラルは近赤外分析では測定できないか?	150

6.1.12	Q：飼料用米の分析値は、鶏、豚に使えないか？ .....	150
6.1.13	Q：たちすずか等の茎葉型のイネ WCS も同じ検量線が使えるのか？ ....	150
第7章	事業で作成した検量線の紹介と使用に当たっての留意事項 .....	151
7.1	牧乾草 .....	151
7.2	イタリアンライグラス乾草 .....	152
7.3	牧草サイレージ .....	153
7.4	トウモロコシサイレージ .....	154
7.5	稲発酵粗飼料（イネ WCS） .....	155
7.6	飼料用米（玄米） .....	156
7.7	ソルガムサイレージ .....	157
7.8	大麦ホールクロップ（サイレージ原料） .....	158
7.9	検量線利用における留意事項 .....	159
7.9.1	水分 .....	159
7.9.2	熱乾処理 .....	159
7.9.3	NIRS による分析結果 .....	159
7.9.4	化学分析値 .....	159
第8章	用語解説 .....	160
<参考資料・引用文献>	.....	161
<参考図>	.....	162

# 第1章 近赤外分析法の飼料分析への応用

## 1. 1 序論

近赤外分光分析法 (Near Infrared Reflectance Spectroscopy: NIRS、以下 NIRS という) は、1980年代に、米国の K. Norris らが従来の NIRS に多変量解析を導入し、一度に多項目の分析を可能にしたことによって、食品や飼料等の農業生産物の栄養成分の分析法として確立され急速に発展した。NIRS は従来の化学分析とは異なり、分析試料に近赤外線を照射して、照射光と照射後の光の差異から統計学的な解析手法を用いて分析値を求めていく方法である。したがって、微粉碎した分析試料を用意するだけで飼料分析が簡易にできることが大きな特徴といえる。

実際、乳牛に給与する粗飼料等の飼料は、品種、生育ステージ等の違いによって、成分含量・栄養価の変動が大きいため、農家が給与している粗飼料そのものについて直接的な評価が必要となる。加えて、これら粗飼料の主要成分、栄養価を正確に、しかも迅速に測定し、データを提供することが求められている。これに見合った分析法として NIRS が注目され、従来の時間・労力を要する化学分析法に代わってフォーレジテストの主要な分析法として導入されてきた。そこで、NIRS についてその原理、特徴、分析手順、操作法について解説する。

## 1. 2 NIRS の概要

### 1.2.1 NIRS の原理

NIRS に使われる波長領域は、一般に 800~2500nm の範囲であり、この領域を近赤外領域と呼ぶ (図 1.1)。すなわち、近赤外領域は可視光と赤外領域の境界部分である。この領域では、物質を構成する O-H、C-H、N-H 等の化学結合における原子間振動がそれぞれ異なり、近赤外線の照射により原子間振動と同じ振動数の波長がその化学結合に吸収され熱に変換される性質を持っている。さらに、その吸収量は化学結合の数、すなわち、物質中の構成成分の量と一定の範囲で比例関係にある。NIRS はこの性質を応用して試料に照射した光 (近赤外スペクトル) と照射後の光からそれぞれの波長における吸収量を捉え、物質中の既知の含有成分量 (飼料成分) との相関関係を予め測定しておき、それを未知試料に当てはめ、含有量を推定していくものである。その相関関係の数式を検量線と呼んでいる。

### 1.2.2 NIRS の特徴

赤外領域では、水の O-H による吸収が非常に大きく、その影響を受けやすいため、測定試料は透明な水溶液のみでの測定となるが、近赤外領域では、可視光域に移行するにつれ水の吸収が小さくなるため、固形物や懸濁液などの多様な形態の試料にも対応できるようになる。このため試料の非破壊分析が可能になる。また、近赤外スペクトルは 1 分以内で測定でき、このスペクトルには、すべての成分に起因する吸収が存在するため、同時多成分分析が可能となり、分析の迅速化、簡便性が図れる。さらに、

高度な分析技術や試薬が不要であること、再現性に優れていること、栄養価の推定にも応用できること等の大きな利点を持つ。

一方、欠点もある。化学分析による飼料成分は、化学的に類似した物質の集合体であり、NIRS は化学結合の振動を捉え成分量を推定するため、必ずしも化学分析値と NIRS 分析値とが一致するとは限らない。また、飼料種類・成分ごとに分析精度が異なるため、それぞれの分析精度を確認し、その誤差を十分把握した上で利用していくことが重要になる。

検量線は、同じ機種種の近赤外分析計であっても、光源の強度の違いや機器間差が存在するため、個々の機器ごとに独自の検量線が必要になる。これについては、機器間差を両機器で得られたスペクトルの比較から計算し、元の検量線についてバイアス値を補正することにより他の機器に移設して使用できるようになる。

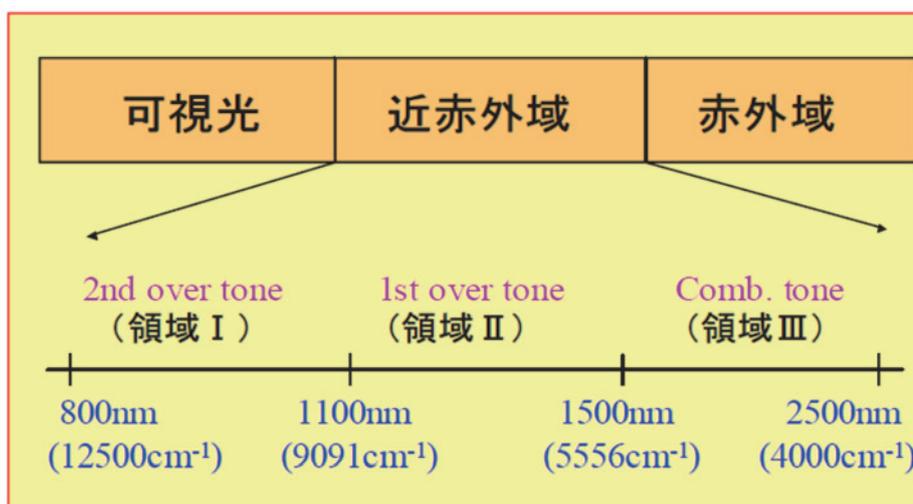


図 1.1 近赤外分析に使われる近赤外線領域

### 1.2.3 検量線の作成手順

検量線は、分析を実施する飼料の種類や成分についてあらかじめ作成しておく必要がある。そのためには、検量線作成のための試料収集、正確な化学分析を行う必要がある。一般に、検量線作成のための試料（標準試料）は、各種成分の幅広い含有量を確保するため、最低でも 100 点程度は必要である。また、化学分析は正確な値を得るため各成分とも 2 反復、2 回以上の分析を行う。検量線は、それぞれの近赤外分析計に付帯された解析ソフトウェアを用いて、重回帰分析や主成分分析等の手法により作成することができる。さらに、作成した検量線を使って、標準試料以外の化学分析済みの試料（検定用試料）を未知試料として成分分析を行い、精度を確認（検量線の検定）する。検量線が示した精度と同等の分析精度が得られれば飼料分析用の検量線として採用し、ルーチン分析に用いることができる。

図 1.2 には牧乾草における粗タンパク質含量の検量線と検量線検定における分析精度を示した。また、表 1.1 には、主要な粗飼料である乾草、牧草サイレージ、トウモロコシサイレージの主要な成分について、その分析精度の例を示した。これらの飼料

では、各成分とも非常に高い相関を示し、フォレンジテストでの分析に十分利用できる分析精度を持つことが明らかである。また、家畜を用いて測定した *in vivo* の TDN 含量についても、飼料分析の項目と比較して精度は若干落ちるものの実用的な場面で利用可能な精度が得られている (図 1.3)。

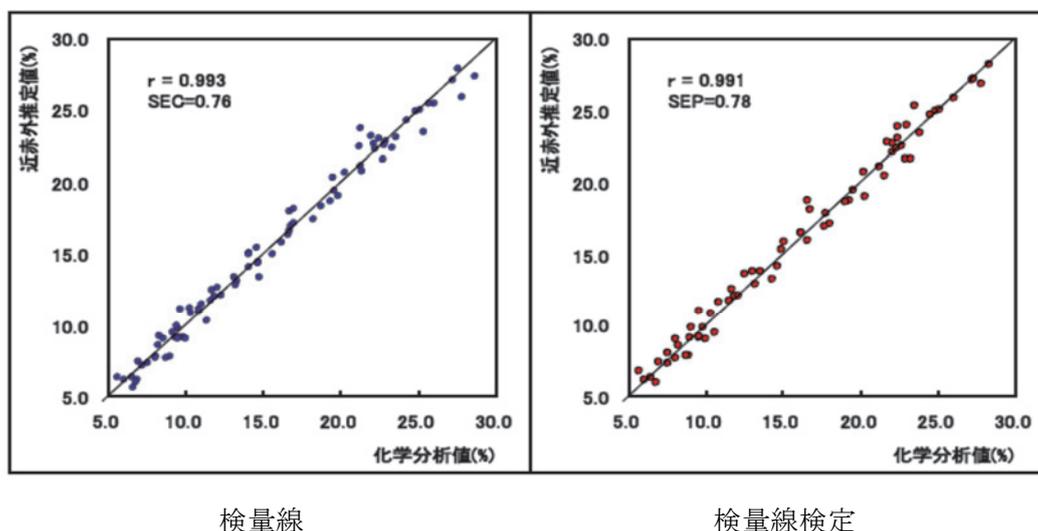


図 1.2 乾草におけるタンパク質の検量線と検定結果

表 1.1 近赤外分析法による粗飼料成分分析の精度

	乾草			牧草サイレージ <sup>①</sup>			トウモロコシサイレージ <sup>②</sup>		
	r	SEC	SEP	r	SEC	SEP	r	SEC	SEP
水分	0.95	0.67	0.89	0.74	1.05	1.18	0.73	0.95	1.10
粗タンパク質	0.98	0.88	0.96	0.90	1.42	1.25	0.90	0.44	0.82
粗脂肪	0.50	0.85	1.10	0.76	0.62	0.87	0.65	0.47	0.58
粗繊維	0.95	1.37	2.24	0.92	1.64	2.25	0.91	1.26	2.54
粗灰分	0.79	1.71	1.82	0.81	1.86	1.99	0.70	0.91	1.25
細胞内容物	0.95	2.46	2.44	0.92	2.32	2.85	0.94	2.09	3.14
細胞壁物質	0.96	2.39	3.02	0.96	2.52	3.18	0.93	2.00	3.41
高消化性繊維	0.79	3.00	3.15	0.64	3.83	4.00	0.75	1.28	1.56
低消化性繊維	0.94	3.79	4.80	0.92	4.01	3.71	0.91	2.18	3.05
NDF	0.92	3.96	5.30	0.93	2.96	3.80	0.92	2.82	3.06
ADF	0.95	1.67	2.50	0.95	1.86	2.78	0.91	1.53	2.58
デンプン	-	-	-	-	-	-	0.91	2.89	3.20

NDF: 中性デタージェント繊維、 ADF: 酸性デタージェント繊維 (甘利ら, 1987)

※SEC: 検量線が示した標準誤差、 SEP: 検量線検定における標準誤差

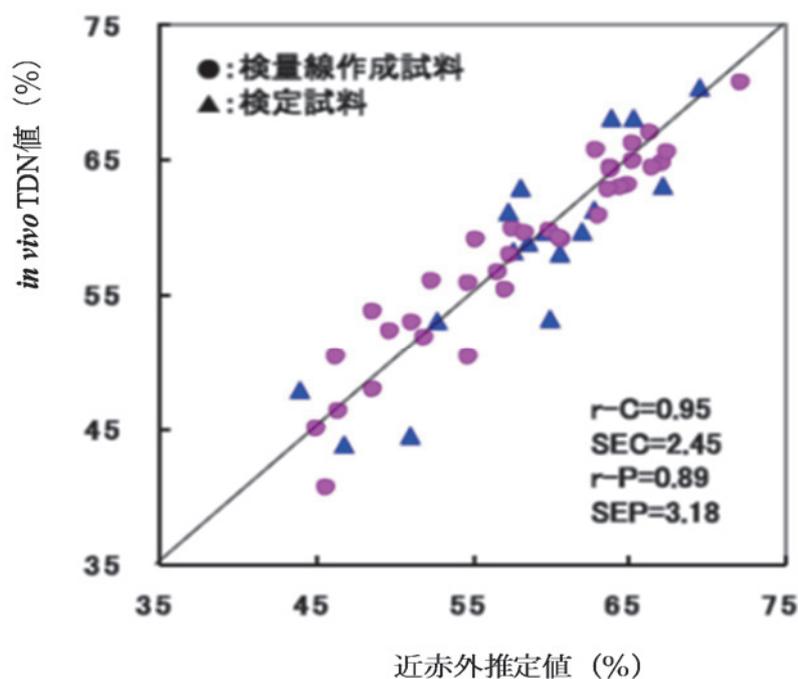


図 1.3 乾草における *in vivo* TDN 値と近赤外推定値との関係

#### 1.2.4 近赤外分析計

我が国の飼料分析センターでは、導入当初、簡易フィルタータイプの飼料分析用機器である Neotec FQA51A、Technicon 450 が用いられてきた。近年では、これらの上位機種として開発された NIRSystems 6500、BRAN+LUEBBE 500 が主要な分析機器として用いられている。しかし、これらの機器はすでに製造が中止されている。

現在は上記メーカーより新型の機器が販売されており、他のメーカーの近赤外分析計についても性能・価格には大きな差は無いといわれている。

飼料分析センターを取り巻く現状から判断して、機器の更新、新規購入はなかなか難しいと思われたため、当面は現行の機器で対応していくことを前提に本マニュアルを作成したが、機器の老朽化は避けられるものでなく、更新等の対策を早急に図る必要がある。

#### 1.2.5 ソフトウェア

先に述べたとおり、NIRS では試料の成分含有量やその特性について既知のスペクトルを使って検量線を作成し、未知試料の成分量や特性強度等をそれらのスペクトルから予測する。これらの一連の操作を行うためには、ソフトウェアが必要になる。一般に近赤外分析計には、機器に応じたソフトウェアが組み込まれているので、基本的にはそのソフトウェアの操作手順に従って分析を行えば問題はない。しかし、機種の異なる近赤外スペクトルの比較や検量線の移設、近赤外スペクトルの変換・加工、分析精度向上のための検討等を行うときには、特殊な光学データの解析法が必要となる。これに対応するために生まれたのがケモメトリックスである。

ケモメトリックスとは「数学的、統計学的な手法を適用し、最適手順・選択を行うとともに化学的データから得られる情報量を最大化するための計量学」である。NIRSでは、相互に関係のある多変量のスペクトルデータを解析する必要があるため、このような複雑な光学データから未知の情報を取り出すために多用されている手法である。定量分析に用いられる **PLSR** 等の多変量回帰分析やスペクトルの波形の違いによる識別・分類法等がある。これらのソフトウェアとしては、**Unscrambler (CAMO)** や **Pirouette (InfoMetrix)** などが市販されている。



図 1.4 近赤外分析計

検量線を作成する手法は重回帰分析 (MLR)、主成分回帰分析 (PCR)、PLS 回帰分析 (PLSR) 等の多変量回帰分析が用いられているが、現在では **PLSR** による検量が主流となっている。**PLSR** は **PCR** における主成分の中で目的とする成分に関係が強い主成分に重み付けをするもので、**MLR** 等と比べより高い精度が得られ、オーバーフィッティングが防げること等の利点を持つ。最近では、**PLSR** をさらに発展させたスペクトル領域選択法が提案されている。これは、**PLSR** 法を用いて検量を行う場合、スペクトルの全領域を用いるよりも特定の領域を用いた方がよりよい予測結果が得られるためである。そのスペクトル領域選択法として、**Moving window PLSR (MWPLSR)** 等が提案されている。また、通常の一次元スペクトルでは捉えられないバンドの重なりなどの特徴を明瞭に捉え、バンド間の相関を調べる二次元相関分光法も新しい解析手法として注目されてきている。今後、これらの手法を活用してより高い精度の検量線が作成され、より高度な分析が可能となることが期待される。

## 第2章 分析サンプルの採取から送付まで

### 2.1 サンプリング

化学分析に用いるサンプルの量は、1成分について1～2g程度である。また、NIRSでは各成分を一度に分析できるが、その量は乾物換算で数10g程度であり、これらわずかな量で求められた分析値が、給与飼料あるいは1圃場から得られた飼料の成分を代表することになる。そのため、分析サンプルの採取は分析前段階で非常に重要な過程といえる。

飼料成分は、同一種類の飼料であっても品種、生産地、栽培条件、貯蔵条件などによって大きく変動する場合がある。また、同一飼料でも貯蔵時のサイロ内の部位毎に違いが生じる。したがって、このようなバラつきを最小限に抑えて飼料の代表値を得るためには、以下の点に留意しつつ対応していく必要がある。

- ① 分析サンプルが全体を代表すること。組成が均一となるように採取すること。
- ② サンプル調製中に、熱、乾燥などによってサンプルが変質しないよう細心の注意を払うこと。
- ③ サンプル調製後に速やかに分析が行えない場合には、変質防止のため冷蔵・冷凍保存等の適切な保存方法を採用すること。
- ④ 飼料の由来、サンプルの取り扱いに関することを全て記録し、分析結果に明記すること。

なお、給与飼料中の水分含量は、飼料設計をする際の重要なファクターであるので、サンプリング時の状態における飼料の水分含量の測定については、普及機関等のサンプルを採取する部署へも周知しておく必要がある。

#### 2.1.1 ロットの考え方

乾草やサイレージ（それらの原料草も含む）のサンプリングにおけるロットの考え方は、原則として1圃場1ロットを基本とするが、隣接した圃場で、同一品種、同じ圃場条件、同じ栽培管理、同じ収穫条件の場合は同一ロットとみなし、ロット毎にサンプルを採取する。

#### 2.1.2 乾草

##### (1) 野積みまたはバラ積みした乾草

積み上げた山の頂上1か所と中腹2か所、周辺部3か所の計6か所について、表面から10cm程度内側までを1か所当たり一掴み（約100g）ずつ集めて堆積する。それを縮分（2.1.4参照）してサンプルを採取する。

##### (2) 梱包乾草

直射日光や雨水の影響を受けていない同一ロットの梱包の中から無作為に5個の梱包を選び、1梱包について2か所から一掴み（約100g）ずつサンプルを集め、縮

分して乾物換算で 100g 程度のサンプルを採取する。

### (3) ロールベール乾草

1 ロット内から 1 ベール（圃場内の植生にバラつきが認められた場合には、少なくとも 3 ベール）を無作為に選び、ドリル式サンプラーを使って、縦置きした各ベールの任意の 1 方向の中間部から採取する。サンプルは 1 ベールにつき少なくとも 100g 程度は採取する。また、サンプラー先端の切刃に熱を持たせないよう、連続しての採取は避ける。ドリル式サンプラーが準備できない場合には、解体したベールから無作為に数点のサンプルを採取し、縮分して乾物換算で 100g 程度のサンプルを得る。梱包したベールからサンプルを手でむしり取る方法は、葉部が脱落するため好ましくない。

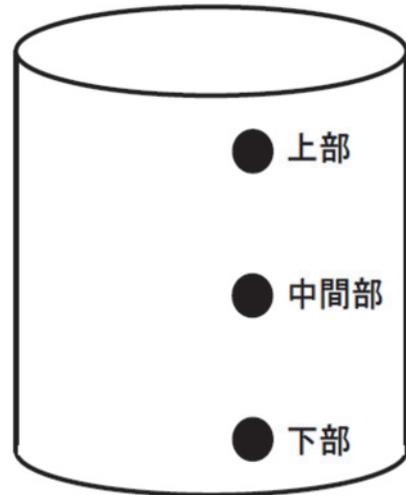


図 2.1 ロールベールのサンプル採取位置

## 2.1.3 サイレージ

### (1) アンローダ付きタワーサイロ

取り出されるサイレージを一定時間間隔で数回（1 回当たり約 100g）採取するか、給与前の堆積したサイレージの数か所から約 100g ずつ採取し、縮分して乾物換算で 100g 程度のサンプルを得る。

### (2) バンカーサイロ

表面部分を少なくとも 50cm 程度切り出して除き、切り出し断面の水平方向に 3 分割（以上）、垂直方向に 2 分割（以上）し、それぞれの分割から少なくとも 100g ずつサンプルを採取し、縮分して乾物換算で 100g 程度のサンプルを採取する（図 2.2）。密度の高いサイロではドリル式サンプラーを使ってサンプルを採取する方法が効率的である。



図 2.2 バンカーサイロからのサンプル採取

### (3) ロールベールサイレージ

1 ロット内から 1 ベール（圃場内の植生にバラつきが認められた場合には、少なくとも 3 ベール）を無作為に選び、開封後に全量を解体して混合・山積みし、山の頂上と中腹 2 か所、周辺部 3 か所の計 6 か所について、表面から 10cm 程度内側ま

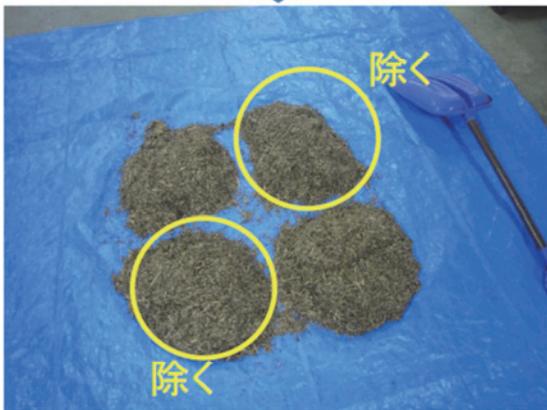
でを1か所当たり一掴みずつ集める。これを混合・縮分して乾物換算で100g程度のサンプルを得る。サンプリング後に再貯蔵あるいは給与を行う場合など全量サンプリングが困難な場合には、ドリル式サンプラーで縦置き貯蔵したバールの任意の1方向の上部、中間部、下部(図2.1)から採取し、混合・縮分してサンプルとする簡便法もある。なお、ドリル式サンプラーを使用する際にはサンプラー先端の加熱に注意する。サンプラーで採取した後の穴は、同じサイズのコルクや乾草などを詰め込み、穴の周囲に防かび剤としてプロピオン酸などを噴霧したのち、ラップフィルム補修テープで再密封すれば数日は保管可能である。

#### 2.1.4 縮分法

細切していないサンプルは、カッターやハサミで長さ1～3cmに細切する。ヘイキューブは固まりを砕く。トウモロコシサイレージの雌穂のような大きい断片は長さ3cm程度の断片に割る。これらを広げたシートの上で良く混合し山積みした後、山を崩して平らに広げる。それを4分割し、対角線上の2部分を残して他の部分は除く(図2.3)。残りを良く混合して前回と同様に山積みし、均一に広げたのち再び4分割して対角線上の2部分を残す。この作業を繰り返し、最終的に必要な量のサンプルを集める。なお、縮分作業に時間を掛けすぎると、水分や揮発性成分の蒸発などサンプルの変質が起こるため、縮分は可能な限り素早く行う。また、トウモロコシサイレージのように穀実と茎葉など比重の異なる物が混在するサンプルでは、混合時に比重の大きい物が1か所に偏らないよう留意する。



①サンプルを混合し、山積みにした後、平らに広げる。



②広げたサンプルを4分割し、対角線上の2部分を残して、他の部分は除く。



③残した2部分を良く混合し、①～③の作業を繰り返し、最終的に必要なサンプルとする。

図 2.3 縮分法の実際

## 2. 2 サンプルの送付

サンプルを採取時の状況が反映されるように分析することも、分析の精度を向上させる要因の一つとなる。しかし、サンプルが採取される現場からサンプルの発送、輸送中、センターでの受付後から処理の間でも、サンプルの状況（特に水分（乾物率）、発酵品質等）を変えてしまう要因がある。特にサイレージ、ラップサイレージ、青刈作物では注意が必要である。

### 2.2.1 サンプルの送付方法

サイレージ、ラップサイレージ、青刈作物サンプルでは下記の送付方法を推奨する。

- ・ジッパー付ビニール袋にサンプル採取後、できるだけ空気を抜いて口を閉じる。
- ・送付までの間は5℃以下で冷蔵保管して、発送は冷蔵クール便とする。
- ・送付先休業日に重なる可能性がある場合は、着日指定等を利用する。
- ・直ちに送付できない場合は5℃以下で冷蔵保管し、できるだけ早く送付する。

### 2.2.2 サンプルの送付と保管上の注意点

サンプルの状況を変えてしまう要因として下記の点が考えられるので注意する。

- ・高温になる場所での保管を避ける

これは水分（乾物率）の変化、発酵品質の変化を招く可能性があるためであり、夏期的車内、輸送コンテナ内、倉庫内や送付までに数日掛かる場合も同様である。そのため、5℃以下の冷蔵保管や冷蔵クール便での送付を行う。また、サンプルを受ける分析センター側でも、事情により直ぐに処理に取り掛かれない場合は冷蔵保管する。サンプルの長期保管は冷凍が良いが、解凍時のドリップ等が生じる場合もあり、通常は冷蔵保存とする。

- ・サンプルの発送方法や発送日

現在の国内輸送網ではおおよそ発送日の翌日から翌々日には荷物が届くが、発送日が木曜日から週末になる場合、送付先への荷物到着が休業日に重なる可能性がある。その場合、受付までに日数が掛かり保管中にサンプルの状況変化が起こる可能性があるため、冷蔵クール便の着日指定等を利用する。

### 2.2.3 サンプル受付後の保管について

サンプルを受付けた分析センター側でも、繁忙期、処理能力によって直ぐに分析のための処理に取り掛かれない場合があり、その場合も水分（乾物率）の変化、発酵品質の変化を招く可能性がある。そのため、保管には2.2.2と同様の注意が必要となる。

## 第3章 試料の前処理方法（乾燥から粉碎まで）

### 3.1 乾燥

化学分析と NIRS 分析には風乾試料が用いられるところから、採取したサイレージや生草は乾燥し、風乾試料を調製することが、前処理として必要となる。その手順は以下のものである。

- ① 乾燥容器として用いる薄型のバットの恒量をあらかじめ測定しておく。
- ② 風乾試料（風乾物）として、牧草サイレージや生草は 250～300g、トウモロコシサイレージや飼料イネサイレージでは 300～350g に相当する量を薄型のバットに採取し、採取試料量を測定する。乾草でも水分含量が高く、そのままでは粉碎がしづらかったり、NIRS の測定には不向きなものもあるところから、そのような試料（触感で水分含量高いと判断される、水分が 15%程度以上のもの）についてもサイレージと同様の処理に付す。
- ③ 60℃の乾燥機内で 18 時間※乾燥する。ここでは、乾燥温度が 60℃に正確に維持されることが大切である。
- ④ その後、室温に放置し、24 時間放冷し、秤量して風乾物量を測定する。この風乾物には放冷・保存の室内の湿度によっても異なるが、10%前後の水分が含まれる。
- ⑤ 採取試料量と風乾物量から風乾物率（%）を求めておく。この値は一般的に、「一次水分」と言われる。（水分含量については、5.2.1 に続く）
- ⑥ 風乾物は次の粉碎工程に供する。

※乾燥時間については資料により差があり、24 時間（畜産試験場研究資料第 2 号）、18 時間（粗飼料品質評価ガイドブック）、一夜（新編・動物栄養試験法（養賢堂）、などとなっている。また、アメリカの Dairy One forage lab では 4 時間ほどのようである。フォレージテストでの乾燥で重要なことは「余分な熱を掛けずに、出来るだけ速やかに水分を恒量になるまで低下させること」である。そのために必要な乾燥時間はサンプルの量、バットへの広げ方、風量（強制排気か自然通気か）により異なる。従って、各ラボで乾燥条件をチェックしながら乾燥時間を決めることが重要である。

### 3.2 粉碎

NIRS に用いるサンプルの粉碎粒度は 1 mm メッシュを通過する粒度とする。

粉碎で最も重要なポイントは投入したサンプルの 90%以上を回収することと、出来るだけ熱を掛けないようにすることである。

#### 3.2.1 回収率

一般に牧草の繊維質の多い茎の部分や乾燥したトウモロコシの子実部分は堅く、粉碎に時間が掛かるが、葉部のような柔らかい部分は直ちに粉碎されてメッシュを通過

する。そのため、十分な時間を取らないとメッシュの上に残ったサンプルとメッシュを通過して回収されたサンプルでは成分に偏りが生じることになる。表 3.1 にトウモロコシサイレージでの事例を示した。表中粉砕物の値が通常「分析結果」としてユーザーに報告している数値に該当する。100 g を投入して 3 分間粉砕では 5 分間粉砕に比べて OCW（総繊維）含量が高く、デンプン含量が低くなっていることが判る。このケースでは 5 分間粉砕してようやく投入サンプルに対する粉砕物の値の比が 97% まで上がっている。通常分析では一回に投入するサンプル量は 100 g に満たず、粉砕時間も短く残渣割合が高くなる（回収率が低くなる）可能性がある。

適切な粉砕時間は、粉砕機の性能や形状、さらに投入サンプルの量によっても異なるので、各機関で使っている粉砕機で確認し、回収率が 90% 以上になるよう、試料の量と粉砕時間の目安を決めることを推奨する。

**表3.1 トウモロコシサイレージの粉砕時間が回収率及び分析値に及ぼす影響**

(分析： 化学分析、粉砕： Retsch 社<sup>®</sup> ワークティンク<sup>®</sup> ミル、分析場所： 道立畜試)

粉砕時間	区分	割合(%) <sup>2)</sup>	OCW	Oa	Ob	簡易法デンプン <sup>4)</sup>
			-----%DM-----			
3分	投入飼料① <sup>1)</sup>	100	37.5	3.4	34.2	36.4
	粉砕物②	81.8	39.6	3.9	35.7	33.6
	残渣③	15.5	26.7	0.6	26.1	51.0
	ロス <sup>3)</sup>	2.7	-	-	-	-
	①-②		-2.1	-0.5	-1.5	2.8
	②/①*100		105	116	104	93
5分	投入飼料① <sup>1)</sup>	100	37.0	2.5	34.5	37.0
	粉砕物②	92.0	37.8	2.6	35.2	36.0
	残渣③	7.5	27.2	1.9	25.3	49.1
	ロス <sup>3)</sup>	0.5	-	-	-	-
	①-②		-0.8	-0.1	-0.7	1.0
	②/①*100		102	102	102	97

1) 投入試料の成分値は粉砕物と粉砕残渣（スクリーンを通過しなかったもの）の比から計算して求めた値

2) 投入試料の量は風乾物100gとした

3) 投入量-回収量-残渣量

4) デンプン=(OCC-AOM)×0.878-1.1, OCC ; 細胞内容物, AOM ; アクチナーゼ可溶性有機物  
(阿部亮, 畜産試験場研究資料, 1988)

### 3.2.2 熱をかけない

サンプルを必要以上に加熱すると、特にタンパク質の組成が変化してしまうので、できるだけ長時間の粉砕は避ける。

乾燥が不十分なサンプルでは粉砕時に負荷がかかり、熱が発生しやすいので乾燥・放冷時間に注意が必要である。 乾草であっても、サイレージや生草と同様に一度乾燥機で乾燥してから粉砕することを推奨する。

## 第4章 NIRS の実際

### 4. 1 本事業で作成した検量線の概要

#### 4.1.1 対象とする飼料の種類と分析項目

(1) 飼料の種類 (詳細は第7章を参照のこと)

- ① 牧乾草
- ② イタリアンライグラス乾草
- ③ 牧草サイレージ
- ④ トウモロコシサイレージ
- ⑤ 稲発酵粗飼料(イネ WCS)
- ⑥ 飼料用米 (玄米)
- ⑦ ソルガムサイレージ
- ⑧ 大麦ホールクロップ(サイレージ原料)

(2) 分析項目

表4.1 飼料別の検量線種

区分	牧乾草	イタリアン ライグラス乾草	牧草 サイレージ	トウモロコシ サイレージ	イネWCS	飼料用米 (玄米)	ソルガム サイレージ	大麦ホールクロップ (サイレージ原料)
水分	○	○	○	○	○	○	○	○
CP	○	○	○	○	○	○	○	○
EE	○	○	○	○	○	○	○	○
粗灰分	○	○	○	○	○	○	○	○
NDFom	○	○	○	○	○	○	○	○
ADFom	○	○	○	○	○	—	○	○
OCC	—	—	—	—	○	—	—	—
OCW	—	—	—	—	○	—	—	—
Oa	—	—	—	—	○	—	—	—
Ob	—	—	—	—	○	—	—	—
デンプン	—	—	—	—	—	○	—	—
ロイシン	—	—	—	—	—	○	—	—
リジン	—	—	—	—	—	○	—	—

CP: 粗タンパク質、EE: 粗脂肪、NDFom: 中性デタージェント繊維、ADFom: 酸性デタージェント繊維、OCC: 細胞内容物、OCW: 細胞壁物質、Oa: 高消化性繊維、Ob: 低消化性繊維。

#### 4.1.2 検量線の作成条件

##### (1) 作成機器

畜草研つくば所有 NIRSystems Model-6500 (以下 Model-6500) を使用

##### (2) ソフトウェア

NSAS<sup>\*</sup>で作成→Vision<sup>\*</sup>または Win-ISI<sup>\*</sup>にインポート

<sup>\*</sup>NIRSystems、Foss、Metrohm の近赤外分析計で使用するソフトで逆のインポートは不可

##### (3) スペクトル測定条件

測定範囲： 原則 1100～2500nm (または 400～2500nm)、反射スペクトル

測定方式： トランスポートモジュール<sup>\*</sup> <sup>\*</sup>標準セルを用いた Model-6500 の測定方式

セル： 標準セル、高水分セル、クォーターカップセル

微分処理： 二次微分処理 (Segment 20、Gap 0) スペクトル

試料形状： 1 mm 粒度の粉砕試料、無粉砕試料 (飼料用玄米)

##### (4) 検量線作成

回帰分析は重回帰分析法 (MLR<sup>\*</sup>)、PLS 回帰分析法 (PLSR<sup>\*</sup>)、  
部分領域 PLS 法 (MWPLSR<sup>\*</sup>)

<sup>\*</sup>いずれも検量線作成のための回帰分析の方法

##### (5) スペクトル使用範囲

Model-6500 用として 400～2500nm、1100～2500nm、

Model-4500 用として 1350～2350nm

##### (6) 分析精度

相関係数 (r、RSQ<sup>\*</sup>)、回帰推定からの標準誤差 (SEP)、

RPD<sup>\*\*</sup>(SD in Pred.-set/SEP in Pred.) または EI-Value<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>相関を表す統計数値

<sup>\*\*</sup>検量線の実用性を判定する指標で大きいほど良い。2.3 以下：不良、2.3～3.0：ラフな分析、  
3.0～5.0：スクリーニングに使用可、5.0～8.0：品質管理に使用可、8.0 以上：化学分析相当

<sup>\*\*\*</sup>検量線の実用性を判定する指標で小さいほど良い。0～12.4：非常に高い(A)、12.5～24.9：高  
い(B)、25.0～37.4：やや高い(C)、37.5～49.9：低い(D)、50～：非常に低い(E)

#### 4. 2 本事業で作成した検量線の移設

(1) 同型機器であっても、検量線は個々の機器で異なる。これは機器間差で光源や機械的な差異によるもので、バイアス補正により共通的に使用することができる。このバイアス補正操作を行い、個々の機器で使用できる検量線に移し換えることを検量線移設と呼ぶ。

(2) 移設の方法は、Model-6500 間では、検量線を作成した機器 (親機) で作成した

検量式（一次式）をそのまま検量線を移設する機器（子機）にコピーし、移設用試料（1飼料種あたり10～15点、化学分析値不要）のスペクトルを親機、子機で測定しファイルとして保存する。親機において移設したい検量線で分析した結果を子機の移設用試料スペクトルファイルの分析値として入力する。子機で親機からコピーした検量線を使って子機移設用試料の各成分のデータを推定させ、先に入力した親機のデータとの差異を計算しバイアス分を補正することで新たな検量線を作成、保存する。

- (3) Model-6500 から他社の機器に移設する場合は、スペクトルの測定方式、形式、波長域・間隔、解析手法等が異なることから、基本的には、検量線作成試料のスペクトルファイルを他社の機器と共有できるファイル形式である J-CAMP ファイルなどに変換し、それぞれの機器に応じたソフトウェアでインポートし、そのスペクトルファイルから検量線を新たに作成する。この新検量線をその機器で使用できるようにするため移設用試料を測定しバイアス分の補正を行い移設する。

このように、Model-6500 以外の機器における検量線移設では、各メーカー独自のソフトウェアを用いて Model-6500 から取得したスペクトルを加工・変換し、検量線の作成を行い、基準化サンプル（10～15点程度）を用いてバイアス補正並びに検量線の適合性をチェックする。したがって、移設作業の多くの部分でメーカーの協力が必要であり、検量線の移設に際して、製造・販売メーカーとの打合せが必要である。

#### (4) 移設機器の特徴

##### ① Model-6500

Foss、NIRSystems の Model-6500 型は、多くの飼料分析センターで導入されている。当該器には、旧タイプの NSAS (NIR Spectral Analysis Software) と新タイプの VISION ソフトウェアが飼料分析に使われている。NSAS は OS が MS-DOS であり、データのやり取りをフロッピーディスク (3.5 インチ : FD) でしかできない不便さがある。飼料分析センターに導入されている Model-6500 型の多くは、10 年以上経過したものが多く、FD ディスケットの故障も多く見受けられる。したがって検量線移設に際して検量線方程式のコピーに支障が出る。

一方、VISION ソフトウェアでは、OS が Windows になってはいるものの 95、98 が主流で、XP および 7 はまれであり、MO、CD、USB の利用が難しい。この解決法として NSAS ソフトウェアのメニューから検量線方程式を手入力する方法がある。

##### ② InfraAlyzer500

BRAN+LUEBBE 社の InfraAlyzer 500 型（以下 Infra500）は、Model-6500 型と同様に MS-DOS を OS とする I-DAS と Windows を OS とする Sesame ソフトウェアがある。現在、BRAN+LUEBBE 社は無く、当該器のメンテナンスは BL-テック社が行っている。したがって、故障の際には修理が不可能なケースがある。

下位機種 of Infra450、2000 型は、2～3 のセンターで未だ使用されているが、フィルタータイプの機器であるため、連続的なスペクトルデータを使うことが難しく、かなりの加工が必要となり、しかも精度がかなり悪くなることが予想される。Infra500 型での移設では、Model-6500 型の WIN-ISI (\*.cal) ファイルのみが使える。移設の方法は、\*.cal ファイルを JCAMP (\*.JCM or JDX) ファイルに変換し、その際波長域を 1100～2498nm にトリミングして Sesame (Infra500 で使用する近赤外分析用ソフトウェア) に取り込む。Sesame ソフトウェアで検量線を作成して移設用サンプルの成分値を求め、化学分析値とのバイアスを求め補正し、検量線の移設を行う。

### ③ Bruker

Bruker 社は MATRIX-1、TANGO の 2 機種を販売している。いくつかの飼料分析センターに TANGO が導入されている。これらの機種 of ソフトウェアには、OPUS/QUANT (上記機種で使用する近赤外分析用ソフトウェア) が使われている。Model-6500 型が回折格子による分光方式であるのに対し、Bruker 社の 2 機種は FT 型 (フーリエ変換型：分光分析の一方式) であるため PDS (Piecewise Direct Standardization：スペクトル変換のための解析モデル) モデルを使ってスペクトル変換を行い、OPUS/QUANT により検量線の作成を行い、その検量線で移設用試料の飼料成分を求め、化学分析値との比較から分析精度とバイアスの確認を行う。また、変換スペクトルに新規試料を数点加え、検量線に十分適合しているかの確認も行うこととしている。FT においては、波長間隔が Model-6500 のように 2 nm でなくランダムになるため、変換後のスペクトル形状や分析精度への影響を確認する必要がある。なお、最新の機器では波長精度および強度の調整が自動化されているため、親機に移設すれば、子機に対して補正が不要になり、そのままコピーして使用することができる。

### ④ BUCHI

BUCHI 社は NIRMaste、N-500 型 の 2 機種を販売している。N-500 型は、いくつかの飼料分析センターに導入されている。これらの機種 of ソフトウェアには、NIRCal が用意されている。BUCHI 社の機器も FT 型である。NIRCal では Model-6500 型の Vision データファイルは直接取り込むことができ、NSAS データファイルは J-Camp に変換して NIRCal に取り込む。Bruker 社と同様、移設用試料の飼料成分を求め、必要に応じバイアス補正および BUCHI N500 スペクトルをオリジナルに加え再計算を行う。

### ⑤ BL-テック

BL-テック社は SpectraStar 2400 型を販売している。当該機器もいくつかの飼料分析センターに導入されている。ソフトウェアは CalStar が用意されている。SpectraStar 2400 型は Model-6500 型と同様、回折格子による分光方式を採用している。したがって、Model-6500 型のスペクトルとの相性はよいとされる。

Model-6500 型で測定した検量線用スペクトルおよび移設用試料のスペクトルを TrimStar (スペクトル変換ソフトウェア) を用い、SpectraStar 2400 型のフォーマットに変換し、SpectraStar 2400 型で移設用試料のスペクトルを測定して検量線計算ソフト CalStar で読み込む。TransStar を実行してバイアス等の計算を行い、CalStar で SpectraStar 2400 型に適合する検量線を計算、作成する。

#### 4. 3 Model-6500 間における移設

Model-6500 間における検量線の移設では、移設作業はそれほど煩雑でなく単純な操作で出来る。検量線の移設に際し、①畜草研で作成した検量線ファイル、②クローズドカップに詰めた基準化試料 10～15 点および③基準化試料 10～15 点について畜草研の Model-6500 で検量線により推定した分析値 (畜草研推定値) のエクセルファイルの 3 点セットを送付する。これらのデータは、NSAS では 3.5 インチ FD に、Vision は CD (Windows の Version により MO、USB も使用) にコピーしたものとする。その手順は、NSAS、Vision とともに、機能確認テスト、検量線ファイルのコピー、基準化試料のスペクトル測定、基準化試料のデータ入力、検量線で成分推定、推定結果と入力データからバイアス表示、検量線へのバイアス補正、補正後の検量線を保存して移設を完了する。その手順を次に示す。

### 4.3.1 NSAS における検量線の移設

#### (1) 機能確認テスト

検量線の移設に当たり、波長精度が規定値以内であることを確認しておく必要がある。これは波長精度が適正範囲にない場合、検量線の分析精度を損なうためであり、必ず機能確認テスト(Bandwidth test)を実施する。なお、Bandwidth testは通常のルーチン分析においても定期的(月1回程度)に実施すべきである。

(ディスプレイ画面は見やすいように色を反転して表示している。)

NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Login

Thu Feb 06 2014    10:21:03

User ID : NIRS\_\_\_\_

Current Path : C:\NIRS\

Enter your User ID to access NSAS

- ・ コンピュータ、ディスプレイ、プリンタの電源を入れる。
- ・ Model-6500 本体の電源を入れる。
- ・ MS-DOS が立ち上がり、順に日付、時間が表示される。
  
- ・ Enter キーで NSAS プログラムが立ち上がる。
  
- ・ User ID を入力(通常は"NIRS"である)し、Enter キーを押す。  
(通常、Enter キーを押すと次の画面へ移動する。)

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>Login</b>
Thu Feb 06 2014 10:21:33		
<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <b>Password : ****_</b> </div>		
<b>Current Path : C:\NIRS\</b>		
<b>Enter your Password / Press ESC to quit</b>		

- Password を入力する（通常は"NIRS"である）し、Enter キーを押す。  
（独自でディレクトリーを作成しているときはそれに従う。）

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>Main Menu</b>
Thu Feb 06 2014 10:22:51		
<b>Select :</b>	<b>Current User : NIRS</b>	
Log Out	<b>Instrument : 6500</b>	
Data Acquisition	<b>Math : Monochromator Math</b>	
Calibration	<b>Plotter : No Plotter</b>	
Routine Analysis	<b>Printer : IBM Compatible Printer</b>	
<b>System ManaGement</b>		
User List Maintenance		
System Shutdown		
<b>Current Path : C:\NIRS\</b>		
<b>Position Highlight and Press Enter to Select</b>		

- メインメニューで"System ManaGement"にカーソルを上下矢印キーで移し Enter キーを押す。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      System Management
Select :
Return to Previous Menu
Change Instrument
Change Math
Change PassWord
Exit to DOS
Sensor Diagnostics
Computer Configuration
Set Clock Type
Change Directory
Select Plotter Type
Select Printer Type

Thu Feb 06 2014  10:23:24
Current User : NIRS
Instrument      : 6500
Math           : Monochromator Math
Plotter        : No Plotter
Printer        : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit
```

- 次 (System Management) のメニューが表示され、"Sensor Diagnostics" を選択し、Enter キーを押す。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Sensor Diagnostics
Select :
Return to Previous Menu
Noise Test
Bandwidth Test
WaveLength Linearization
Instrument Diagnostics

Thu Feb 06 2014  10:23:57
Current User : NIRS
Instrument      : 6500
Math           : Monochromator Math
Plotter        : No Plotter
Printer        : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit
```

- "Bandwidth Test" を選択し、Enter キーを押す。

Monochromator Bandwidth/Accuracy Test		Data Parameters	
Instrument:	Model 6500	0 Scans per sample	32
Serial number:	3036	1 Number of samples	10
System:	Sample transport	2 Scan range	1100 - 2500
Status:	Ready	3 Detector:	Reflectance X 1
		4 Sample cell description	Type Standard sample cup
		5 Reference position:	Reference
		6 Print results	ON
<p>Select</p> <p>0 Exit</p> <p>1 Change parameters</p> <p>2 Run bandwidth</p>			

- "2 Run Bandwidth"を選択するために"2"を入力。  
このとき"Status"が"Ready"になっていることを確認する。  
"Sensor is cold"になっているときはアイドルリングをして"Ready"になるまで待つ。

<p>Enter a comment (maximum of 2 lines)</p> <p>2014.01.30 Bandwidth test_____</p>
---

- 必要なコメントがあれば入力する。入力しなくてもよい。  
Enter キーを押すと Bandwidth test が開始される。

SCAN	PEAK 1	PEAK 2	PEAK 3	PEAK 4	BANDWIDTH
Acquiring near-IR reference spectrum					

- ・ スキャンが始まる。

SCAN	PEAK 1	PEAK 2	PEAK 3	PEAK 4	BANDWIDTH
1	1143.65	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
2	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
3	1143.65	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
4	1143.64	1680.84	2166.78	2306.08	9.85
5	1143.65	1680.84	2166.79	2306.08	9.85
6	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.84
7	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
8	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
9	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
Acquiring near-IR reference spectrum					

- ・ スキャンは 10 回行う。

Summary of Accuracy and Bandwidth					
	PEAK 1	PEAK 2	PEAK 3	PEAK 4	BANDWIDTH
AVERAGE	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.85
DELTA	.01	-.06	.06	-.03	-.15
S/D	.003	.002	.004	.004	.002
MAXIMUM	1143.65	1680.85	2166.79	2306.08	9.85
MINIMUM	1143.64	1680.84	2166.78	2306.07	9.84
MAX-MIN	.0074	.0066	.0093	.0129	.0067

Out of 10 total, 10 good Scans used for calculations

Press any key to continue

- ・ 10回のスキャンが終わると Bandwidth test の結果が表示される。  
DELTA 値が 0.3 以下（シリアル No.により 0.5 以下）であれば合格とする。

Monochromator Bandwidth/Accuracy Test		Data Parameters	
Instrument:	Model 6500	0 Scans per sample	32
Serial number:	3036	1 Number of samples	10
System:	Sample transport	2 Scan range	1100 - 2500
Status:	Ready	3 Detector: Reflectance	X 1
		4 Sample cell description	Type Standard sample cup
		5 Reference position:Reference	
		6 Print results	ON

Select
0 Exit
1 Change parameters
2 Run bandwidth

- ・ 合格が得られたら、メインメニューに戻る（以下 26 ページまでの画面参照）。

Monochromator Bandwidth/Accuracy Test		Data Parameters	
Instrument:	Model 6500	0 Scans per sample	32
Serial number:	3036	1 Number of samples	10
System:	Sample transport	2 Scan range	1100 - 2500
Status:		3 Detector:	Reflectance X 1
		4 Sample cell description	
		Type	Standard sample cup
		sition:	Reference
		s	ON

**Turn lamp off (N)?**

Select	
0	Exit
1	Change parameters
2	Run bandwidth

- ・ランプは On にしたまま、Enter キーを押す。

NIR Spectral Analysis Software	Version 3.53	Sensor Diagnostics
Select :	Thu Feb 06 2014	10:53:09
Return to Previous Menu	Current User :	NIRS
Noise Test	Instrument :	6500
<b>Bandwidth Test</b>	Math :	Monochromator Math
WaveLength Linearization	Plotter :	No Plotter
Instrument Diagnostics	Printer :	IBM Compatible Printer
Current Path :	C:\NIRS\	
Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit		

- ・ "Bandwidth Test" を選択する。

```

NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Sensor Diagnostics
-----
  Select :                          Thu Feb 06 2014   10:53:51
  Return to Previous Menu          Current User : NIRS
  Noise Test                      Instrument   : 6500
  Bandwidth Test                  Math       : Monochromator Math
  WaveLength Linearization        Plotter    : No Plotter
  Instrument Diagnostics          Printer    : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit

```

- "Return to Previous Menu"を選択する。

```

NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      System Management
-----
  Select :                          Thu Feb 06 2014   10:55:01
  Return to Previous Menu          Current User : NIRS
  Change Instrument                Instrument   : 6500
  Change Math                     Math       : Monochromator Math
  Change PassWord                 Plotter    : No Plotter
  EXit to DOS                     Printer    : IBM Compatible Printer
  Sensor Diagnostics
  Computer Configuration
  Set Clock Type
  Change Directory
  Select Plotter Type
  Select Printer Type

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit

```

- "Return to Previous Menu"を選択する。

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>Main Menu</b>
<b>Select :</b>	<b>Wed Jan 22 2014 14:38:29</b>	
Log Out	<b>Current User : NIRS</b>	
Data Acquisition	<b>Instrument : 6500</b>	
Calibration	<b>Math : Monochromator Math</b>	
Routine Analysis	<b>Plotter : No Plotter</b>	
<b>System Management</b>	<b>Printer : IBM Compatible Printer</b>	
User List Maintenance		
System Shutdown		
<b>Current Path : C:\NIRS\</b>		
<b>Position Highlight and Press Enter to Select</b>		

## (2) ディレクトリーの作成

通常、"C:\NIRS"のディレクトリーが分析業務に使われているが、従来の検量線やデータ等と混在し煩雑となる。そのため、本事業の検量線を利用する専用のディレクトリーを作成した方が利用しやすくなる。

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>Main Menu</b>
<b>Select :</b>	<b>Tue Oct 28 2014</b>	<b>12:23:53</b>
Log Out	<b>Current User : IWCS</b>	
Data Acquisition	<b>Instrument : 6500</b>	
Calibration	<b>Math : Monochromator Math</b>	
Routine Analysis	<b>Plotter : No Plotter</b>	
System Management	<b>Printer : IBM Compatible Printer</b>	
<b>User List Maintenance</b>		
System Shutdown		
<b>Current Path : C:\NIRS\IWCS\</b>		
<b>Position Highlight and Press Enter to Select</b>		

- Main Menu より "User List Maintenance" を選択する。

<b>NSAS User List Maintenance</b>	<b>Login</b>
<b>Password : *****_</b>	
<b>Current Path : C:\NIRS\IWCS\</b>	
<b>Enter the System Management Password / Press ESC to Quit</b>	

- Password "SYSMAN" を入力し、Enter キーを押す。

<b>NSAS User List Maintenance</b>	<b>Top Menu</b>
Select : Return to Main Menu Change System Password Edit Standalone User Edit Rapid-ID User <b>Add New User</b> Delete User Update User Print User List List Users	
Current Path : C:\NIRS\IWCS\	
Position Highlight, then Press Enter for Selection	

- "Add New User"を選択する。

<b>NSAS User List Maintenance</b>	<b>Add New User</b>
User ID : FTA_____	
Current Path : C:\NIRS\IWCS\	
Enter new User ID / Press ESC to Quit	

- "User ID"に"FTA"を入力 (NSAS を立ち上げた時の ID になる) し、Enter キーを押す。

NSAS User List Maintenance		Add New User	
User ID	: FTA_____	Password	: NKEMREV_
First Name	: CHIKUSHI_____	Last Name	: TARO_____
Working Directory	: C:\NIRS\FTA_____		
Instrument	: 6500_____		
Math Treatment	: Monochromator_Math_____		
Current Path : C:\NIRS\IWCS\			
Enter user's default directory / Press ESC to Quit			

- ・ 矢印キー"→"で移動させ、名前、新しいディレクトリーを入力していく。

NSAS User List Maintenance		Add New User	
User ID	: FTA_____	Password	: NKEMREV_
First Name	: CHIKUSHI_____	Last Name	: TARO_____
Working Directory	: C:\NIRS\FTA_____		
Instrument	: 6500_____		
Math Treatment	: Monochromator_Math_____		
Current Path : C:\NIRS\IWCS\			
Directory does not exist. OK to create new directory ? Y			

- ・ 新しいディレクトリー（Working Directory）に"C:\NIRS\FAT"を入力し、"↓"を押すと下に赤い表示が出る(画面は、反転する前のオリジナルのものである)。  
ここで"Y"を指定し、Enter キーを押す。

NSAS User List Maintenance Add New User

User ID : FTA\_\_\_\_\_ Password : NKEMREV\_

First Name : CHIKUSHI\_\_\_\_\_ Last Name : TARO\_\_\_\_\_

Working Directory : 6500\_\_\_\_\_

Instrument : 5000\_\_\_\_\_

Math Treatment : 4500\_\_\_\_\_

Current Path : C:\NIRS\I

Select user's default in \_\_\_\_\_ to Quit

6500  
 5500  
 5000  
 4500  
 Online 6500  
 Online 5500  
 Online 5000  
 Rapid-ID Analyzer  
 6250  
 Dynascan  
 7000  
 51A  
 Compscan 3000  
 102  
 4250F

- "6500"を選択する。

NSAS User List Maintenance Add New User

User ID : FTA\_\_\_\_\_ Password : NKEMREV\_

First Name : CHIKUSHI\_\_\_\_\_ Last Name : TARO\_\_\_\_\_

Working Directory : C:\NIRS\FTA\\_\_\_\_\_

Instrument : 6500\_\_\_\_\_

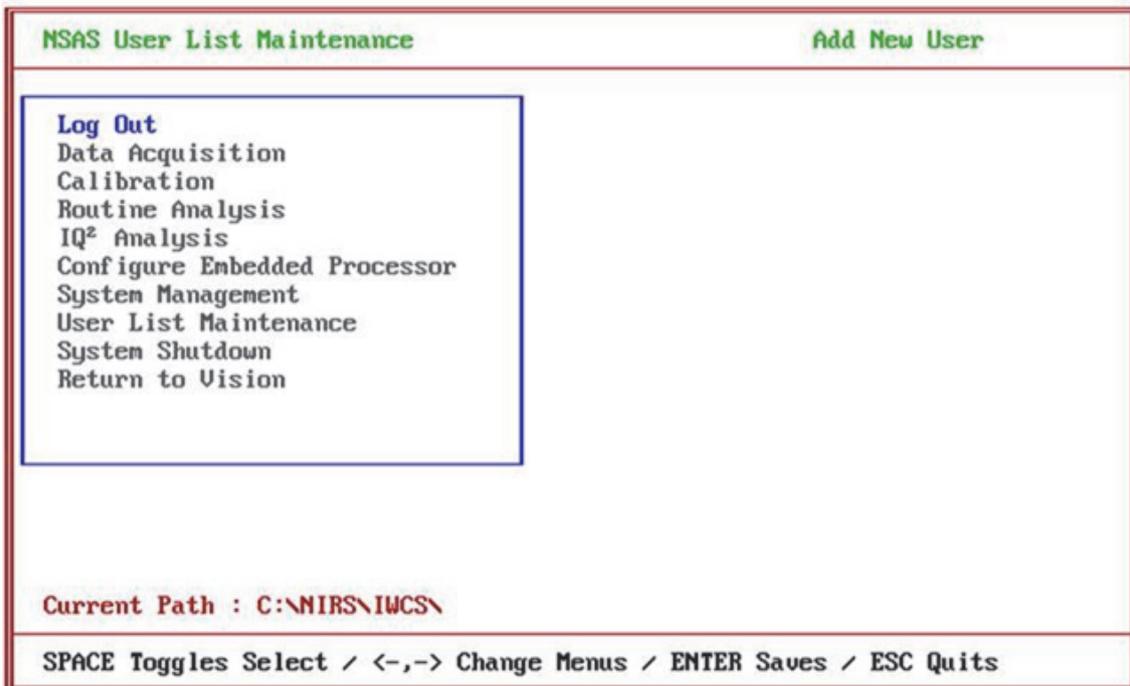
Math Treatment : \_\_\_\_\_

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

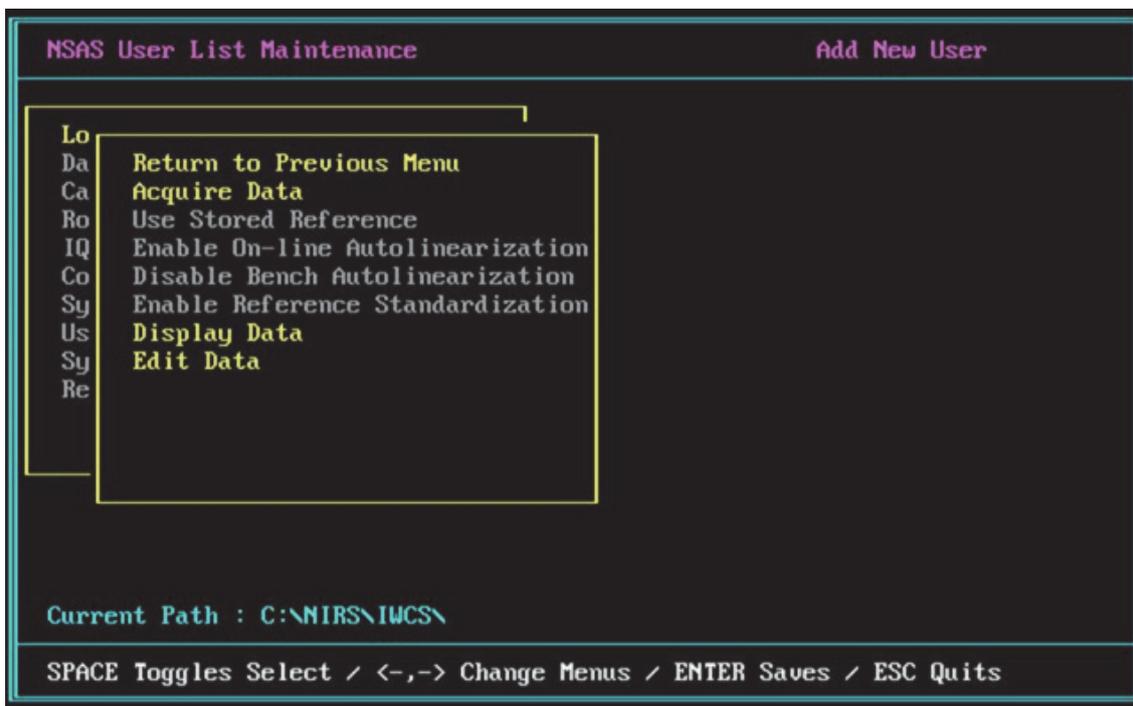
Select user's default math treatment method / Press ESC to Quit

Monochromator Math  
 Filter Instrument Math

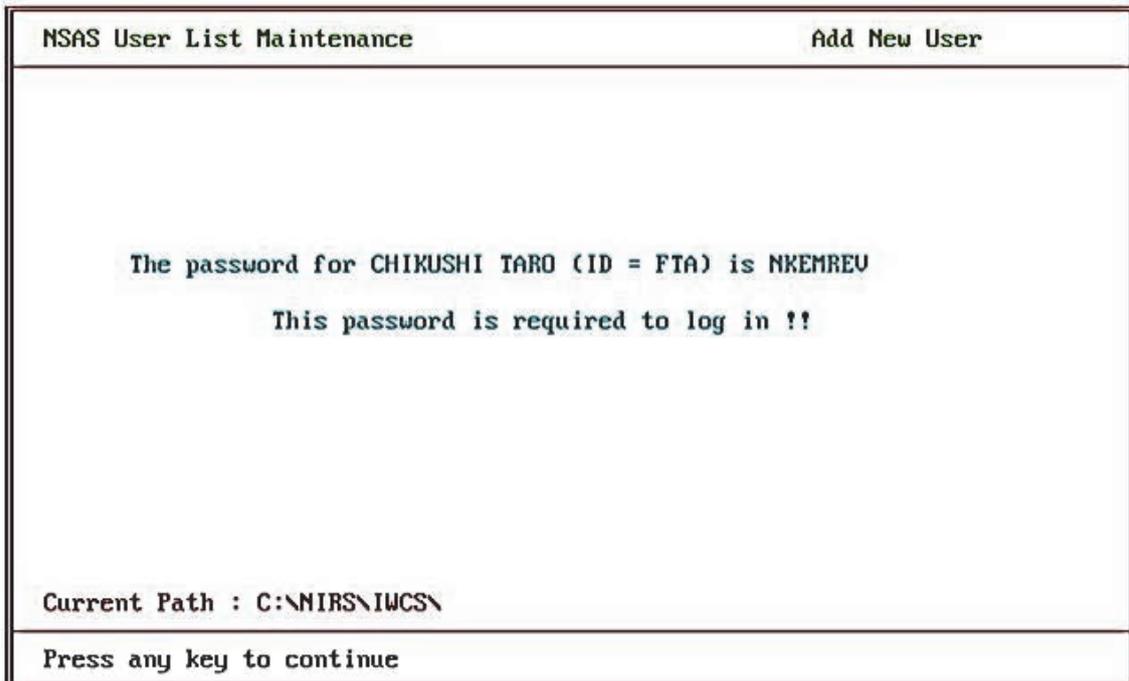
- "Monochromator Math"を選択し、Enter キーを押す。  
Password は自動的に指定してくるので、必ずメモしておくこと。



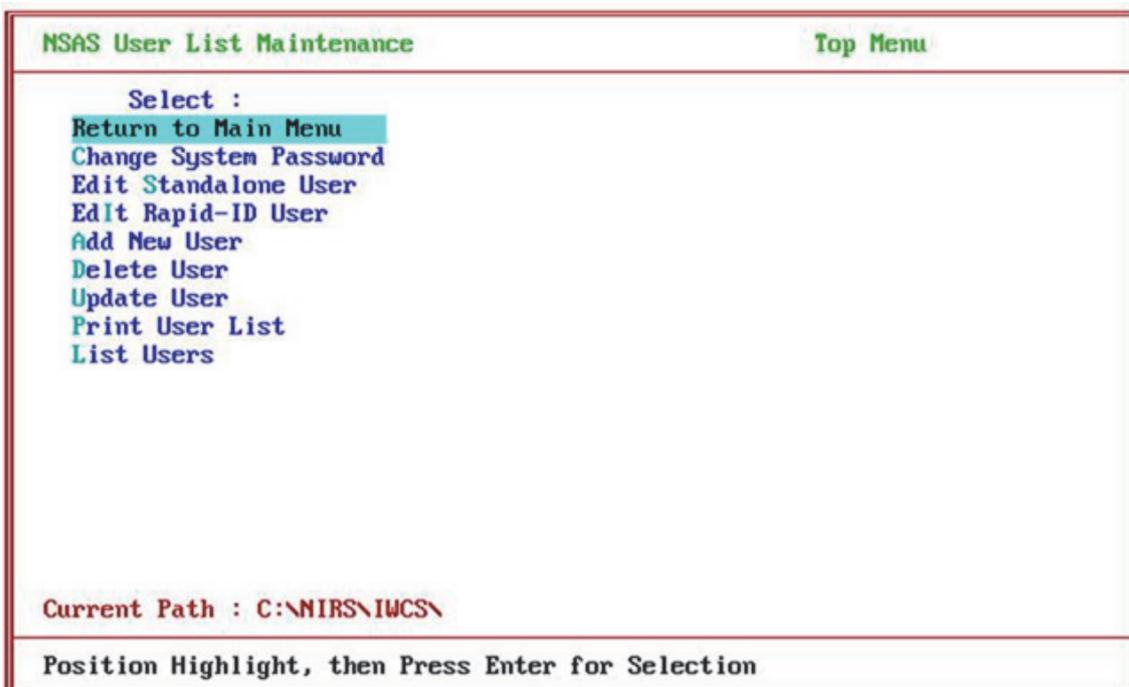
- ・次に必要なメニューを選択する。  
 選択方法は、メインメニュー、サブメニュー共に "↓" キーで移動させ、スペースキーを押す。白字から黄色字に変わると選択となる。  
 (下記の画面は、反転する前のオリジナルのものである。)



サブメニューからメインメニューへと戻る際は Enter キーを押す。



- 最後に Password が確認のため表示されるので、メモしたものと確認をとる。  
どれかのキーを押しサブメニューに戻る。



- "Return to Main Menu"を選択する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
-----
Select :
Log Out
Data Acquisition
Calibration
Routine Analysis
System Management
User List Maintenance
System Shutdown

Tue Oct 28 2014  12:35:07
Current User : IWCS
Instrument      : 6500
Math           : Monochromator Math
Plotter        : No Plotter
Printer        : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

- "Log Out"を選択する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Login
-----
Tue Oct 28 2014  12:35:33

User ID : FTA_____

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Enter your User ID to access NSAS
```

- User ID に"FTA"を入力する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
Select :                            Tue Oct 28 2014  12:36:23
Log Out                             Current User : FTA
Data Acquisition                    Instrument   : 6500
Calibration                         Math       : Monochromator Math
Routine Analysis                    Plotter    : No Plotter
System ManaGement                  Printer    : IBM Compatible Printer
User List Maintenance
System Shutdown

Current Path : C:\NIRS\FTA\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

- Password に先ほどメモした文字を入力する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
Select :                            Tue Oct 28 2014  12:36:48
Log Out                             Current User : FTA
Data Acquisition                    Instrument   : 6500
Calibration                         Math       : Monochromator Math
Routine Analysis                    Plotter    : No Plotter
System ManaGement                  Printer    : IBM Compatible Printer
User List Maintenance
System Shutdown

Current Path : C:\NIRS\FTA\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

- Main Menu にて、Password を変更するため "System ManaGement"を選択する。

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>System Management</b>
<b>Select :</b> Return to Previous Menu Change Instrument Change Math <b>Change PassWord</b> Exit to DOS Sensor Diagnostics Computer Configuration Set Clock Type Change Directory Select Plotter Type Select Printer Type	<b>Tue Oct 28 2014 12:37:18</b>  <b>Current User : FTA</b>  <b>Instrument : 6500</b> <b>Math : Monochromator Math</b> <b>Plotter : No Plotter</b> <b>Printer : IBM Compatible Printer</b>	
<b>Current Path : C:\NIRS\FTA\</b>		
<b>Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit</b>		

- "Change PassWord"を選択する。

<b>NIR Spectral Analysis Software</b>	<b>Version 3.53</b>	<b>Change Password</b>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content;"> <b>New Password : _____</b> </div>	<b>Current User : FTA</b>  <b>Instrument : 6500</b> <b>Math : Monochromator Math</b> <b>Plotter : No Plotter</b> <b>Printer : IBM Compatible Printer</b>	
<b>Current Path : C:\NIRS\FTA\</b>		
<b>Enter your New Password / Press ESC to Quit</b>		

- 新しい Password を聞いてくるので"FTA"と入力し、Enter キーを押す。

NIR Spectral Analysis Software		Version 3.53	Change Password
Verify Password : _____		Current User : FTA Instrument : 6500 Math : Monochromator Math Plotter : No Plotter Printer : IBM Compatible Printer	
Current Path : C:\NIRS\FTA\			
Enter the Password again for Verification / Press ESC to Quit			

- ・確認のため再度、聞いてくるので"FTA"と入力する。文字は表示されないので打ち間違えないようにする。

NIR Spectral Analysis Software		Version 3.53	Sensor Diagnostics
Select : Return to Previous Menu Noise Test Bandwidth Test WaveLength Linearization Instrument Diagnostics		Thu Feb 06 2014 10:53:51 Current User : NIRS Instrument : 6500 Math : Monochromator Math Plotter : No Plotter Printer : IBM Compatible Printer	
Current Path : C:\NIRS\			
Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit			

- ・Password が変更された。"Return to Previous Menu"を選択し、メインメニューに戻る。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
Select :
Log Out
Data Acquisition
Calibration
Routine Analysis
System Management
User List Maintenance
System Shutdown

Tue Oct 28 2014  12:40:14
Current User : FTA
Instrument      : 6500
Math           : Monochromator Math
Plotter        : No Plotter
Printer        : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\FTA\
Position Highlight and Press Enter to Select
```

- 一旦 Log Out し、新 Password "FTA" で Log in できるか確認する。

### (3) 検量線ファイルのコピー

分析センターの Model-6500 に検量線ファイルをコピーする。NSAS では、OS が MS-DOS であるため、コピーは MS-DOS の操作に従って行い、基本的には 3.5 インチの FD (Floppy Disk) を介してコピーを行うことになる。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
-----
Select :
Log Out
Data Acquisition
Calibration
Routine Analysis
System ManaGement
User List Maintenance
System Shutdown

Wed Jan 22 2014   14:38:29
Current User : NIRS
Instrument : 6500
Math : Monochromator Math
Plotter : No Plotter
Printer : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

- "System ManaGement"を選択する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      System Management
-----
Select :
Return to Previous Menu
Change Instrument
Change Math
Change PassWord
EXIT to DOS
Sensor Diagnostics
Computer ConfiGuration
Set Clock Type
Change Directory
Select Plotter Type
Select PriNter Type

Wed Jan 22 2014   14:39:07
Current User : NIRS
Instrument : 6500
Math : Monochromator Math
Plotter : No Plotter
Printer : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit
```

- "Exit to DOS"を選択する。

```
[C:\NIRS]>_
```

- ・プロンプトが表示される。

```
[C:\NIRS]>DIR A:_
```

- ・フロッピーディスクをディスクレットに入れ、"DIR A:"と入力する。

```
Volume in drive A has no label
Volume Serial Number is 2A4B-13E7
Directory of A:\

SLG-DM   CA           6,144 04-05-05   5:12p
SLG-OCC  CA           6,144 04-05-05   5:18p
SLG-CP   CA           6,144 04-05-05   5:20p
SLG-OCW  CA           6,144 04-05-05   5:21p
SLG-DA   CA           6,144 04-05-05   5:38p
SLG-OB   CA           6,144 04-05-05   5:25p
SLG-DM   CA           6,144 04-05-05   5:29p
SLG-TDN  CA           6,144 04-05-05   5:34p
SLG-CA   CA           6,144 04-05-05   5:35p
          9 file(s)             55,296 bytes
                               494,080 bytes free
```

- ・フロッピーディスクにあるファイル名が表示される。

```
[C:\NIRS]>COPY A:SLG-DM.CA C:_
```

- ・"COPY A: File 名.CA C:" と入力し、Enter キーを押す。

```
[C:\NIRS]>COPY A:SLG-DM.CA C:
          1 file(s) copied
```

- ・NSAS の NIRS ディレクトリーにコピーされた。

```
[C:\NIRS]>COPY A:SLG-???.CA C:  
A:SLG-OM.CA  
A:SLG-OCC.CA  
A:SLG-CP.CA  
A:SLG-OCW.CA  
A:SLG-DA.CA  
A:SLG-OB.CA  
A:SLG-DM.CA  
A:SLG-TDN.CA  
A:SLG-CA.CA  
          9 file(s) copied
```

- File 名に共通文字があるときは、上画面のような入力で一度にコピーができる。

```
[C:\NIRS]>NSAS_
```

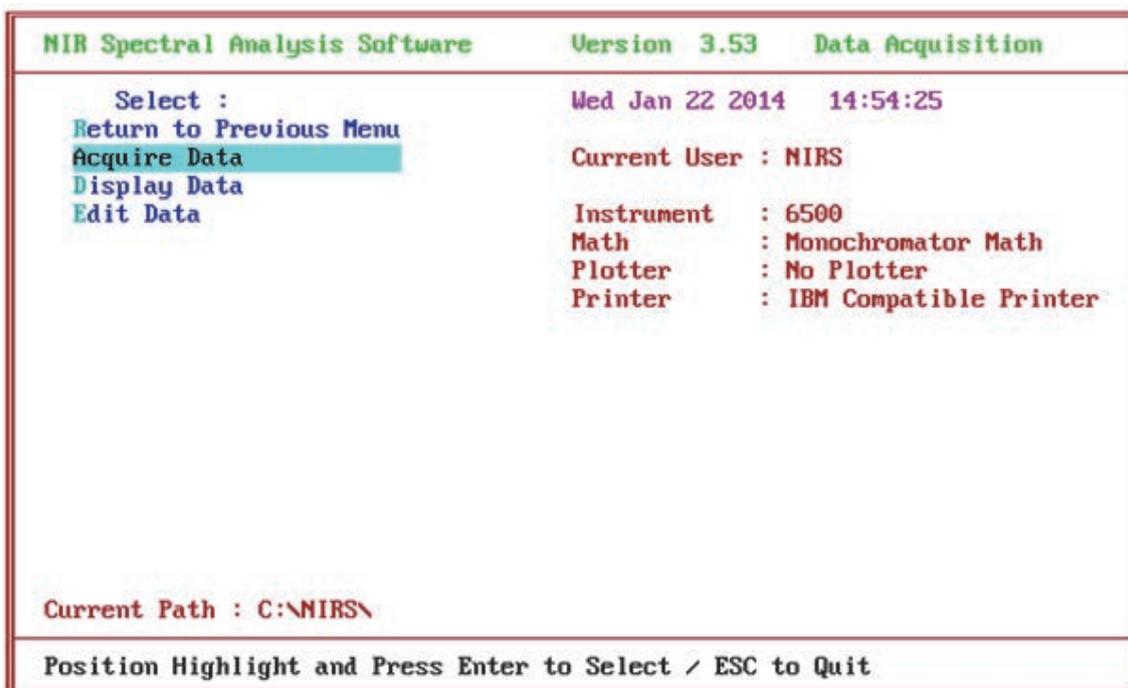
- コピーが終了したら"NSAS"と入力し、Enter を押すと NSAS の初期画面に戻る。

#### (4) 基準化試料のスペクトル測定

送付したクローズドカップセルに詰めた基準化試料のスペクトルを測定する。スペクトルの測定では、写真 4.1、写真 4.2 (44 ページ)のようにセルのラベルを水平と縦の位置にして、2 反復で測定する。



- メインメニューの "Data Acquisition" を選択。



- "Acquire Data" を選択。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500 Sensor status: Ready Sample system: Sample transport Disk space available for: 473965 Spectra	0 Scans per sample: 32 1 Detector: Reflectance X 1 2 Scan range: 400 - 2500 3 X-axis scaling: Auto X-axis minimum: 400 X-axis maximum: 2500 4 Y-axis scaling: Auto  5 Sample cell description Type: Standard sample cup  6 Reference position: Reference 7 Sample position: Sample
Select 0 Exit 1 Change parameters 2 Scan reference	

・ "Data Parameters"が上記画面のように設定されていること、特に "Sensor status" が "Ready" になっていることを確認する。

**1 Change parameters**

Enter a parameter number: \_

Select  
0 NIR 1100-2500  
1 Visible 400-1100  
2 VIS/NIR 400-2500

・ "Data Parameters"を変更するときは、画面左下 Select の"1"を 選択し、画面右"Data Parameters"の項目番号 "1" ~ "7" を選択する。

- 例えば、波長域を変更するときは、下の画面の項目番号から選択する。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500	0 Scans per sample: 32
Sensor status: Ready	1 Detector: Reflectance X 1
Sample system: Sample transport	2 Scan range: 1100 - 2500
Disk space available for: 473899 Spectra	3 X-axis scaling: Auto
	X-axis minimum: 1100
	X-axis maximum: 2500
	4 Y-axis scaling: Auto
	5 Sample cell description
	Type: Standard sample cup
	6 Reference position: Reference
	7 Sample position: Sample
<b>Select</b> 0 Exit 1 Change parameters 2 Scan reference	

- "Scan reference"を選択するため、"2"を入力。  
 (画面右側の設定が、通常通り "6 Reference position: Reference" 、  
 "7 Sample position: Sample" となっているか確認する)

**Position Reference and press ENTER when ready**

- 上図のようなコメントが表示されるので、そのまま Enter キーを押す。

**Acquiring near-IR reference spectrum**

- Reference の測定中。

Data Acquisition Program		Data Parameters	
Instrument:	6500	0 Scans per sample:	32
Sensor status:	Ready	1 Detector: Reflectance	X 1
Sample system:	Sample transport	2 Scan range:	1100 - 2500
Disk space available for:	691104 Spectra	3 X-axis scaling:	Auto
		X-axis minimum:	1100
		X-axis maximum:	2500
		4 Y-axis scaling:	Auto
		5 Sample cell description	
		Type: Standard sample cup	
		6 Reference position: Reference	
		7 Sample position: Sample	
<p style="text-align: center;"><b>Select</b></p> <p>0 Exit</p> <p>1 Change parameters</p> <p>2 Scan reference</p> <p>3 Scan sample</p> <p>4 Plot spectra</p> <p>5 Store reference</p>			

- Reference の測定が終了すると、Select メニューが増える。
- "3 Scan sample" を選択するため、"3" を入力する。



写真 4.1



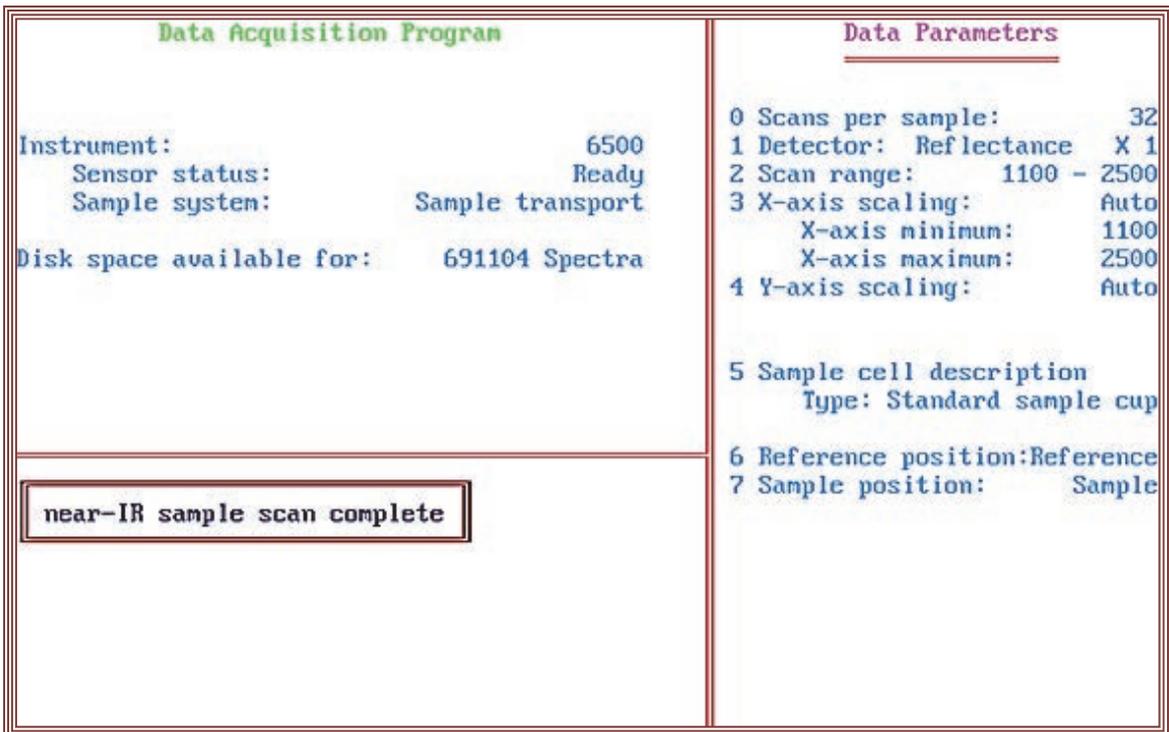
写真 4.2

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500 Sensor status: Ready Sample system: Sample transport Disk space available for: 691104 Spectra	0 Scans per sample: 32 1 Detector: Reflectance X 1 2 Scan range: 1100 - 2500 3 X-axis scaling: Auto X-axis minimum: 1100 X-axis maximum: 2500 4 Y-axis scaling: Auto  5 Sample cell description Type: Standard sample cup  6 Reference position: Reference 7 Sample position: Sample
Position Sample and press ENTER when ready	

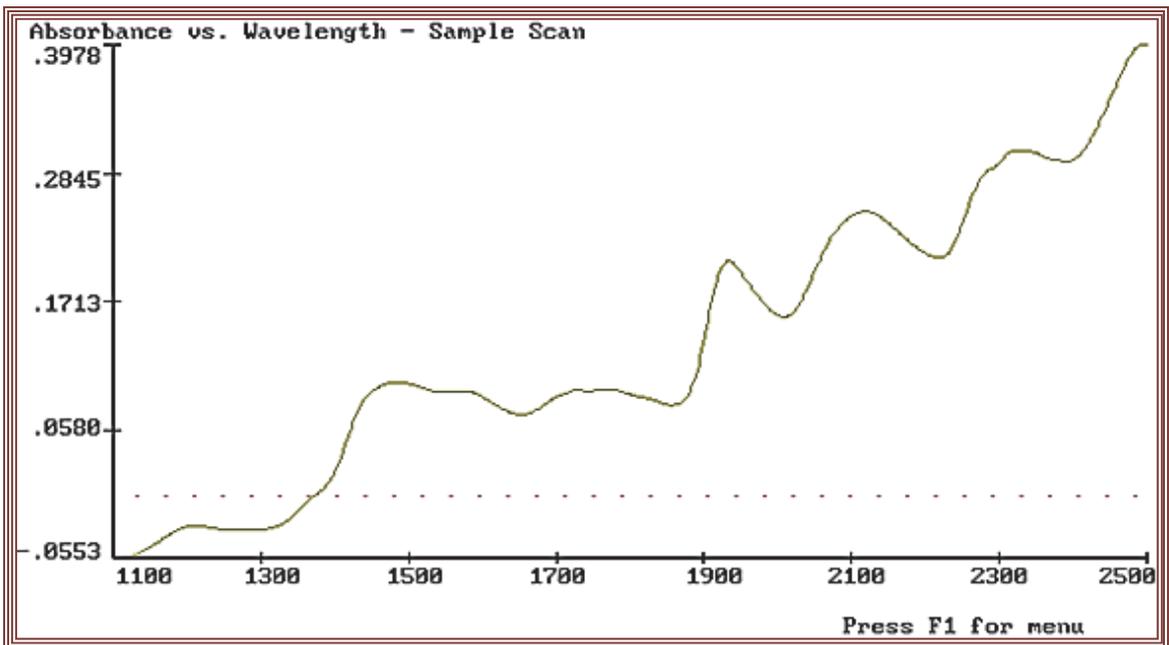
- セルを 写真 4.1 のようにセットし、ふたを閉じ、Enter キーを押す。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500 Sensor status: Ready Sample system: Sample transport Disk space available for: 691104 Spectra	0 Scans per sample: 32 1 Detector: Reflectance X 1 2 Scan range: 1100 - 2500 3 X-axis scaling: Auto X-axis minimum: 1100 X-axis maximum: 2500 4 Y-axis scaling: Auto  5 Sample cell description Type: Standard sample cup  6 Reference position: Reference 7 Sample position: Sample
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> Acquiring near-IR reference spectrum </div>	

- スペクトルの測定中。



- ・ スペクトル測定を終了。



- ・ 測定したスペクトルが表示される。
- ・ ESC キーを押すと次の画面に移る。  
(グラフの画面から抜けるためには ESC キーを押す)

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500	0 Scans per sample: 32
Sensor status: Ready	1 Detector: Reflectance X 1
Sample system: Sample transport	2 Scan range: 1100 - 2500
Disk space available for: 691104 Spectra	3 X-axis scaling: Auto
	X-axis minimum: 1100
	X-axis maximum: 2500
	4 Y-axis scaling: Auto
	5 Sample cell description
	Type: Standard sample cup
	6 Reference position: Reference
	7 Sample position: Sample
<b>Select</b> 0 Exit 1 Change parameters 2 Scan reference 3 Scan sample 4 Plot spectra 5 Store spectrum	

・測定したスペクトルを保存するために"5 Store spectrum"を選択する。

Enter a data file name:  
 > \_\_\_\_\_  
 Press ESC to quit

・ファイル名を聞いてくる。

Enter a data file name:  
 >IWCS-STD \_\_\_\_\_  
 Press ESC to quit

・ファイル名を入力。ここでは"IWCS-STD" と入力する（8文字以内）。

Enter an alphanumeric name for each constituent.  
 Press <ESC> when done or if no constituents are to be entered.  
 Constituent 1: \_\_\_\_\_

・成分名を聞いてくるが、ESC キーを押す。

Enter a name for sample number 1 (Last sample = \_\_\_\_\_) : \_\_\_\_\_

・サンプル番号を聞いてくる。

Enter a name for sample number 1 (Last sample = \_\_\_\_\_) : 1-A\_\_\_\_\_

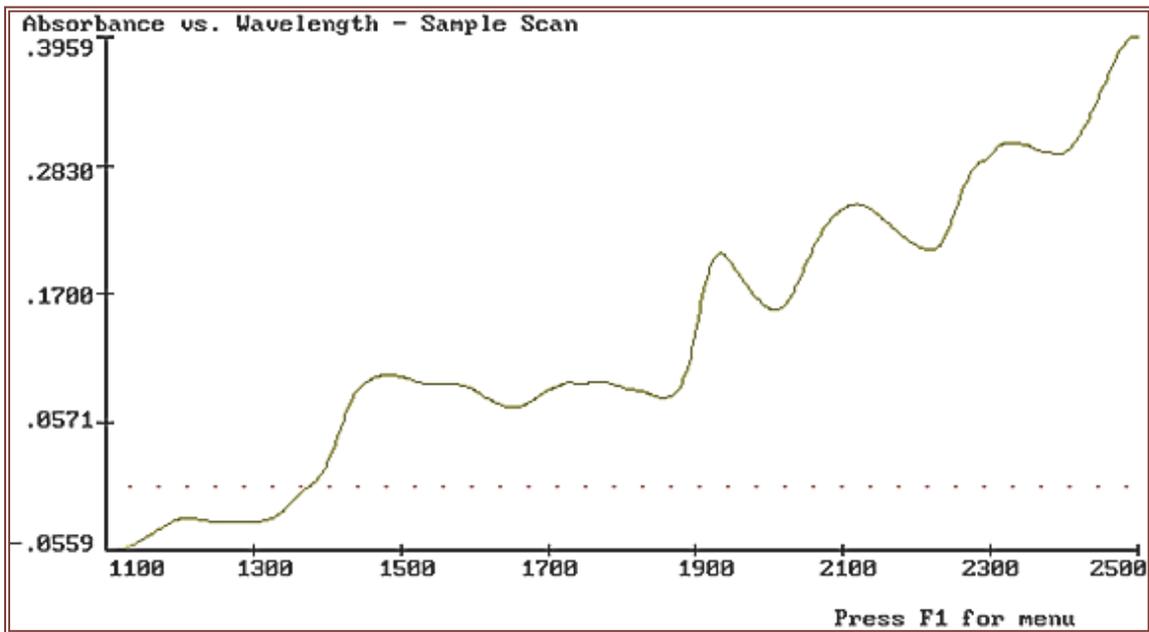
・サンプル番号を入力する。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500 Sensor status: Ready Sample system: Sample transport Data output file: IWCS-STD Spectra written: 1 Disk space available for: 691103 Spectra	0 Scans per sample: 32 1 Detector: Reflectance X 1 2 Scan range: 1100 - 2500 3 X-axis scaling: Auto X-axis minimum: 1100 X-axis maximum: 2500 4 Y-axis scaling: Auto 5 Sample cell description Type: Standard sample cup 6 Reference position: Reference 7 Sample position: Sample
<p style="text-align: center;">Select</p> 0 Exit 1 Change parameters 2 Scan reference 3 Scan sample 4 Plot spectra	

- ・スペクトルを測定するため、再度 "3 Scan sample" を選択 ("3"を入力) する。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500 Sensor status: Ready Sample system: Sample transport Data output file: IWCS-STD Spectra written: 1 Disk space available for: 691103 Spectra	0 Scans per sample: 32 1 Detector: Reflectance X 1 2 Scan range: 1100 - 2500 3 X-axis scaling: Auto X-axis minimum: 1100 X-axis maximum: 2500 4 Y-axis scaling: Auto 5 Sample cell description Type: Standard sample cup 6 Reference position: Reference 7 Sample position: Sample
Position Sample and press ENTER when ready	

- ・セルを前掲 44 ページ 写真 4.2 のようにセットし、ふたを閉じ、Enter キーを押す。



- ・測定したスペクトルが表示される。
- ・ESC キーを押すと次の画面に移る。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500	0 Scans per sample: 32
Sensor status: Ready	1 Detector: Reflectance X 1
Sample system: Sample transport	2 Scan range: 1100 - 2500
Data output file: IWCS-STD	3 X-axis scaling: Auto
Spectra written: 1	X-axis minimum: 1100
Disk space available for: 691103 Spectra	X-axis maximum: 2500
	4 Y-axis scaling: Auto
	5 Sample cell description
	Type: Standard sample cup
	6 Reference position: Reference
	7 Sample position: Sample
<b>Select</b>	
0 Exit	
1 Change parameters	
2 Scan reference	
3 Scan sample	
4 Plot spectra	
5 Store spectrum	

- ・測定したスペクトルを保存するため、"5 Store spectrum"を選択する。

Enter a name for sample number 2 (Last sample = 1-A ) : \_\_\_\_\_

- ・サンプル番号を聞いてくる。

Enter a name for sample number 2 (Last sample = 1-A ) : 1-B\_\_\_\_\_

- ・ サンプル番号を入力する。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500	0 Scans per sample: 32
Sensor status: Ready	1 Detector: Reflectance X 1
Sample system: Sample transport	2 Scan range: 1100 - 2500
Data output file: IWCS-STD	3 X-axis scaling: Auto
Spectra written: 20	X-axis minimum: 1100
Disk space available for: 691084 Spectra	X-axis maximum: 2500
	4 Y-axis scaling: Auto
	5 Sample cell description
	Type: Standard sample cup
	6 Reference position:Reference
	7 Sample position: Sample
<b>Select</b>	
0 Exit	
1 Change parameters	
2 Scan reference	
3 Scan sample	
4 Plot spectra	

- ・ この操作を繰り返し、すべての基準化試料のスペクトルを測定する。

Data Acquisition Program	Data Parameters
Instrument: 6500	0 Scans per sample: 32
Sensor status: Ready	1 Detector: Reflectance X 1
Sample system: Sample transport	2 Scan range: 1100 - 2500
Data output file: IWCS-STD	3 X-axis scaling: Auto
Spectra written:	X-axis minimum: 1100
Disk space available for	X-axis maximum: 2500
<b>Turn lamp off (N)?</b>	ing: Auto
	description
	andard sample cup
	6 Reference position:Reference
	7 Sample position: Sample
<b>Select</b>	
0 <b>Exit</b>	
1 Change parameters	
2 Scan reference	
3 Scan sample	
4 Plot spectra	

- ・ スペクトルを測定し終わったら、"Previous Menu"に戻る。ランプは"off"に("Y"を入力)する。
- ・ "Return to Main Menu" を選択し、メインメニューに戻る。

(5) 標準化試料のデータ入力

標準サンプルのスペクトル測定が終了したら、畜草研の機器で推定した分析値を入力する。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
-----
Select :                            Tue Oct 28 2014  11:36:31
Log Out
Data Acquisition
Calibration
Routine Analysis
System Management
User List Maintenance
System Shutdown

Current User : IWCS
Instrument   : 6500
Math        : Monochromator Math
Plotter     : No Plotter
Printer     : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Data Acquisition
-----
Select :                            Tue Oct 28 2014  11:39:53
Return to Previous Menu
Acquire Data
Display Data
Edit Data

Current User : IWCS
Instrument   : 6500
Math        : Monochromator Math
Plotter     : No Plotter
Printer     : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit
```

```

NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
-----
Select :                            Tue Oct 28 2014   11:37:21
Log Out                             Current User : IWCS
Data Acquisition                    Instrument   : 6500
Calibration                          Math       : Monochromator Math
Routine Analysis                    Plotter    : No Plotter
System Management                   Printer    : IBM Compatible Printer
User List Maintenance
System Shutdown

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Position Highlight and Press Enter to Select

```

```

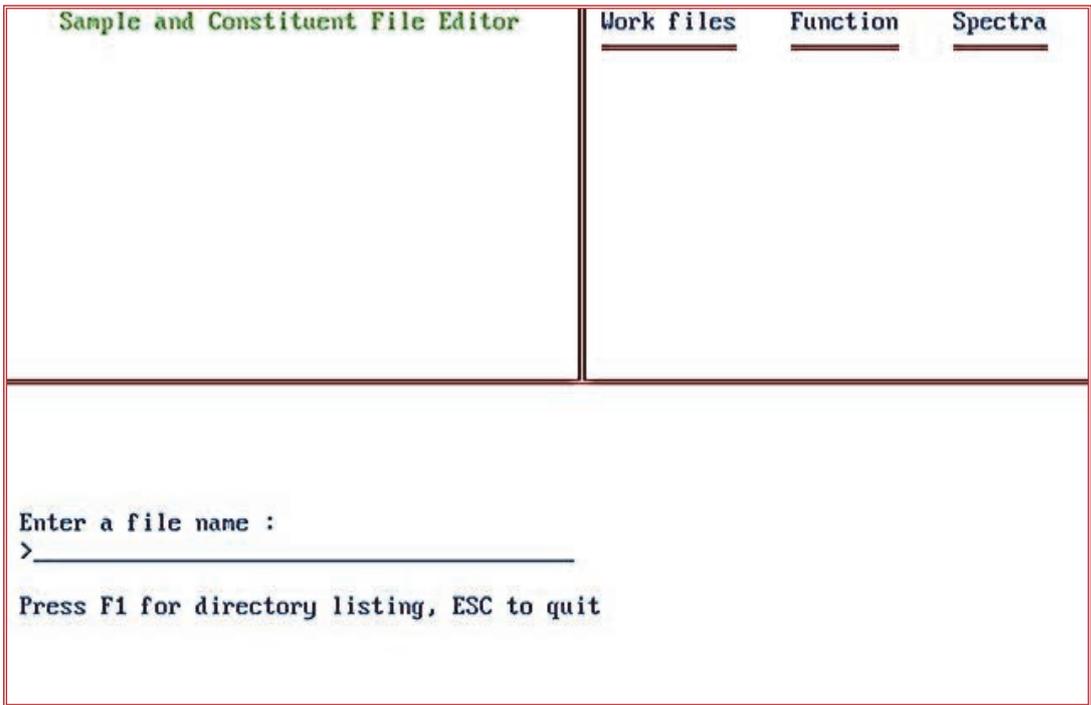
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Calibration
-----
Select :                            Tue Oct 28 2014   11:38:10
Return to Previous Menu             Current User : IWCS
Monochromator Math                 Instrument   : 6500
Spectral Manipulation              Math       : Monochromator Math
Regression                          Plotter    : No Plotter
Percent Predict                    Printer    : IBM Compatible Printer
Display Data
Edit Data
Sample Selection

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

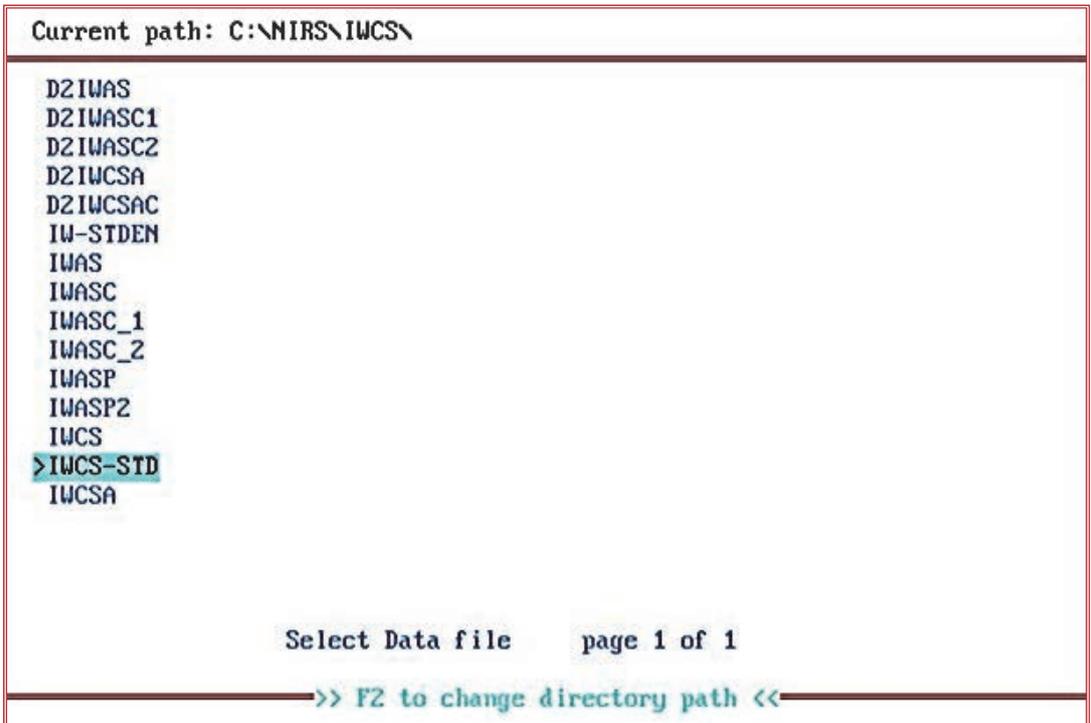
Position Highlight and Press Enter to Select / ESC to Quit

```

- "Data Acquisition"または"Calibration"メニューから"Edit Data"（どちらも同じメニュー）を選択する。



・ファイル名を聞いてくるので F1 キーを押し、データファイルの一覧を表示させる。



・分析値を入力するファイルを選択する。ここでは"IWCS-STD"を選択した例を示す。

```

Sample and Constituent File Editor
Work files  Function  Spectra
-----

File name:      C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD
Created:        Sep 3, 2014 at 18:47
Instrument:     6500
Wavelength range: 1100 to 2500
Number of spectra: 20
Number of constituents: 0
Math:          N-point smooth
  Segment:     2
  Gap:         0

Select
0 Return to main menu
1 Spectral data
2 Transducer data
3 Constituent data
4 Calibration files
5 Sort spectra
6 JCAMP-DX Conversion
7 DIF Conversion
8 Restart

```

• "3 Constituent data"を選択する ("3"と入力し Enter キーを押す)。

```

Sample and Constituent File Editor
Work files  Function  Spectra
-----

File name:      C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD
Created:        Sep 3, 2014 at 18:47
Instrument:     6500
Wavelength range: 1100 to 2500
Number of spectra: 20
Number of constituents: 0
Math:          N-point smooth
  Segment:     2
  Gap:         0

Select
0 Continue
1 Delete constituents
2 Add or change
3 List constituents
4 Move column
5 Edit names

```

• "2 Add or change"を選択する。

Sample and Constituent File Editor		Work files	Function	Spectra
File name:	C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD			
Created:	Sep 3, 2014 at 18:47			
Instrument:	6500			
Wavelength range:	1100 to 2500			
Number of spectra:	20			
Number of constituents:	0			
Math:	N-point smooth			
Segment:	2			
Gap:	0			
Select				
0	Continue			
1	Add a column			
2	Change a column			
3	Change a row			
4	Change a single			

・"1 Add a column"を選択する。

Sample and Constituent File Editor		Work files	Function	Spectra
File name:	C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD			
Created:	Sep 3, 2014 at 18:47			
Instrument:	6500			
Wavelength range:	1100 to 2500			
Number of spectra:	20			
Number of constituents:	0			
Math:	N-point smooth			
Segment:	2			
Gap:	0			
Enter a name for constituent # 1: _____				

・成分名を入力する。

Enter a name for constituent # 1: MOIS\_\_\_\_\_

Enter amount of 1 in sample # 1 (028-A ): 10.25\_

- 1 番目のサンプルから順に分析値を入力していく。

```
          Select
          0 Continue
          1 Add a column
          2 Change a column
          3 Change a row
          4 Change a single

Constituent column # 1 has been filled
```

- 同様の作業を繰り返して、すべての成分について分析値を入力する。

Sample and Constituent File Editor	Work files	Function	Spectra
File name: C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD Created: Sep 3, 2014 at 18:47 Instrument: 6500 Wavelength range: 1100 to 2500 Number of spectra: 20 Number of constituents: 1 Math: N-point smooth Segment: 2 Gap: 0			
Enter a name for constituent # 2: _____			

Sample and Constituent File Editor		Work files	Function	Spectra
File name:	C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD			
Created:	Sep 3, 2014 at 18:47			
Instrument:	6500			
Wavelength range:	1100 to 2500			
Number of spectra:	20			
Number of constituents:	1			
Math:	N-point smooth			
Segment:	2			
Gap:	0			
Enter a name for constituent # 2: CP_____				

※入力ミスを修正する場合を以下（59 ページまで）に示す。

Sample and Constituent File Editor		Work files	Function	Spectra
File name:	C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD			
Created:	Sep 3, 2014 at 18:47			
Instrument:	6500			
Wavelength range:	1100 to 2500			
Number of spectra:	20			
Number of constituents:	6			
Math:	N-point smooth			
Segment:	2			
Gap:	0			
Select 0 Continue 1 Add a column 2 Change a column 3 Change a row 4 Change a single				
Constituent column # 6 has been partially filled				

・ "4 Change a single" を選択する。

- ・サンプル番号、成分番号の順に入力し、修正する。

```
Enter sample number [0 to return]: 1_
```

```
Enter constituent number to replace [0 to return]: 4
```

```
Change constituent (# 4 for sample # 1: 028-A )
      from 15.30000 to: 14.7530000
```

```

          Select
    0 Continue
    1 Add a column
    2 Change a column
    3 Change a row
    4 Change a single

Constituent # 4 in sample # 1: 028-A replaced
```

Sample and Constituent File Editor		Work files	Function	Spectra
File name:	C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD			
Created:	Sep 3, 2014 at 18:47			
Instrument:	6500			
Wavelength range:	1100 to 2500			
Number of spectra:	20			
Number of constituents:	6			
Math:	N-point smooth			
Segment:	2			
Gap:	0			
<pre>           Select     0 Continue     1 Delete constituents     2 Add or change     3 List constituents     4 Move column     5 Edit names</pre>				

- ・入力を終わったら、"0 Continue"で一つ戻って、"3 List constituents"を選択する。

```

Select
0 Continue
1 List by sample
2 List by column

```

- "2 List by column"を選択する。

```
Enter number of columns of constituents per page (1-5): 5_
```

```
Enter the starting constituent number: 1_
```

- 画面には5成分しか表示できないため、最初に表示する成分の数を聞いてくるので、表示させたい数値を入力し、Enter キーを押す。次に何番目の成分から表示させるか聞いてくるので最初の成分の番号を入力する。

```
File: C:\NIRS\IWCS\IWCS-STD
Model: 6500 700 wavelengths from 1100 to 2500 NM
```

File SPL #	User SPL #	CONST. # 1 MOIS	CONST. # 2 CP	CONST. # 3 EE	CONST. # 4 ASH	CONST. # 5 NDFom
1:	028-A	10.25000	7.92000	2.62000	14.75000	70.81000
2:	028-B	10.25000	.00000	.00000	.00000	.00000
3:	067-A	8.77000	.00000	.00000	.00000	.00000
4:	067-B	8.77000	.00000	.00000	.00000	.00000
5:	086-A	12.55000	.00000	.00000	.00000	.00000
6:	086-B	12.55000	.00000	.00000	.00000	.00000
7:	106-A	9.38000	.00000	.00000	.00000	.00000
8:	106-B	9.38000	.00000	.00000	.00000	.00000
9:	111-A	5.24000	.00000	.00000	.00000	.00000
10:	111-B	5.31000	.00000	.00000	.00000	.00000
11:	118-A	10.95000	.00000	.00000	.00000	.00000
12:	118-B	11.03000	.00000	.00000	.00000	.00000
13:	136-A	7.69000	.00000	.00000	.00000	.00000
14:	136-B	7.52000	.00000	.00000	.00000	.00000
15:	150-A	13.20000	.00000	.00000	.00000	.00000
16:	150-B	13.31000	.00000	.00000	.00000	.00000

Press any key to continue

- 画面上またはプリントアウトして入力ミスがないかをチェックする。

※メインメニューへ戻るには、以下の画面で全て "1" を選択する。

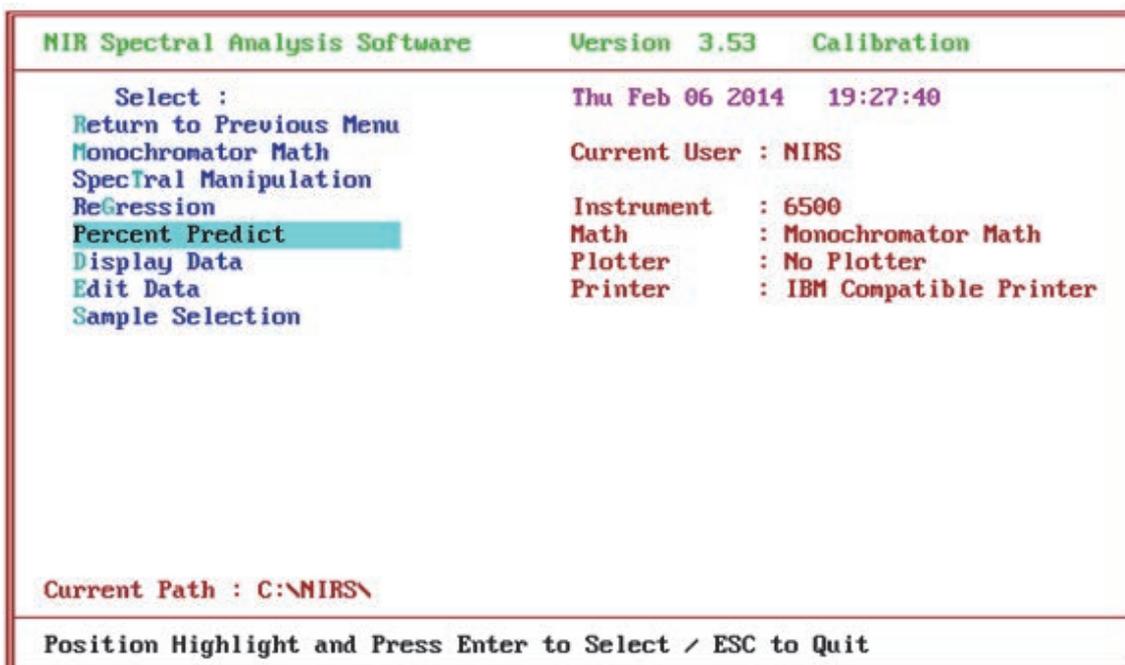
```
      Select
0  Continue
1  List by sample
2  List by column
```

```
      Select
0  Continue
1  Delete constituents
2  Add or change
3  List constituents
4  Move column
5  Edit names
```

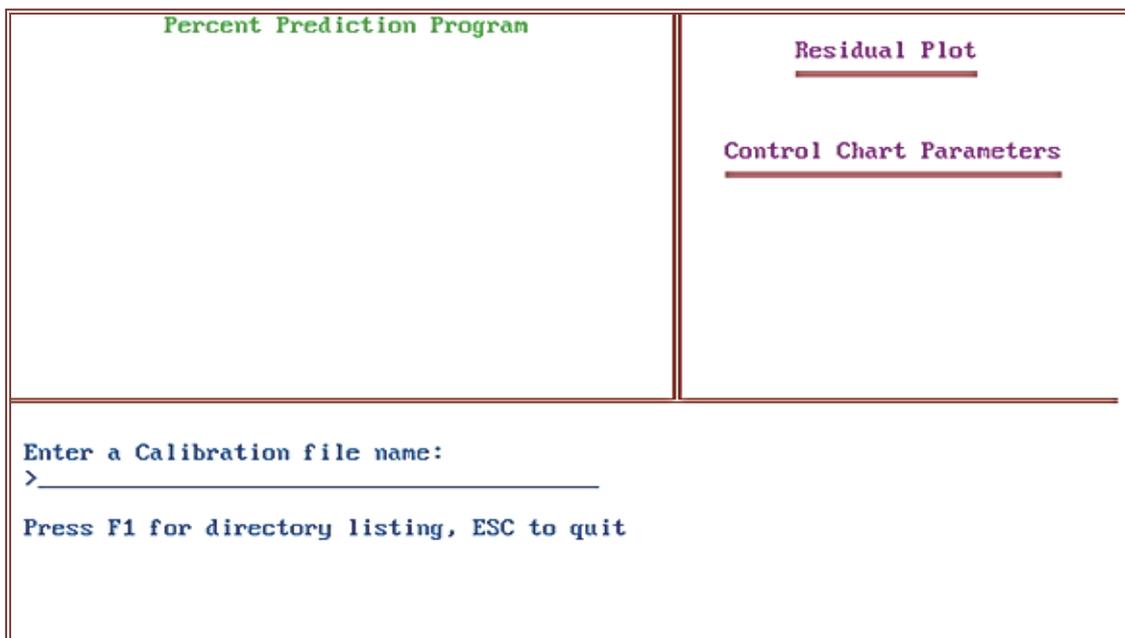
```
      Select
0  Return to main menu
1  Spectral data
2  Transducer data
3  Constituent data
4  Calibration files
5  Sort spectra
6  JCAMP-DX Conversion
7  DIF Conversion
8  Restart
```

(6) バイアス補正による検量線の移設

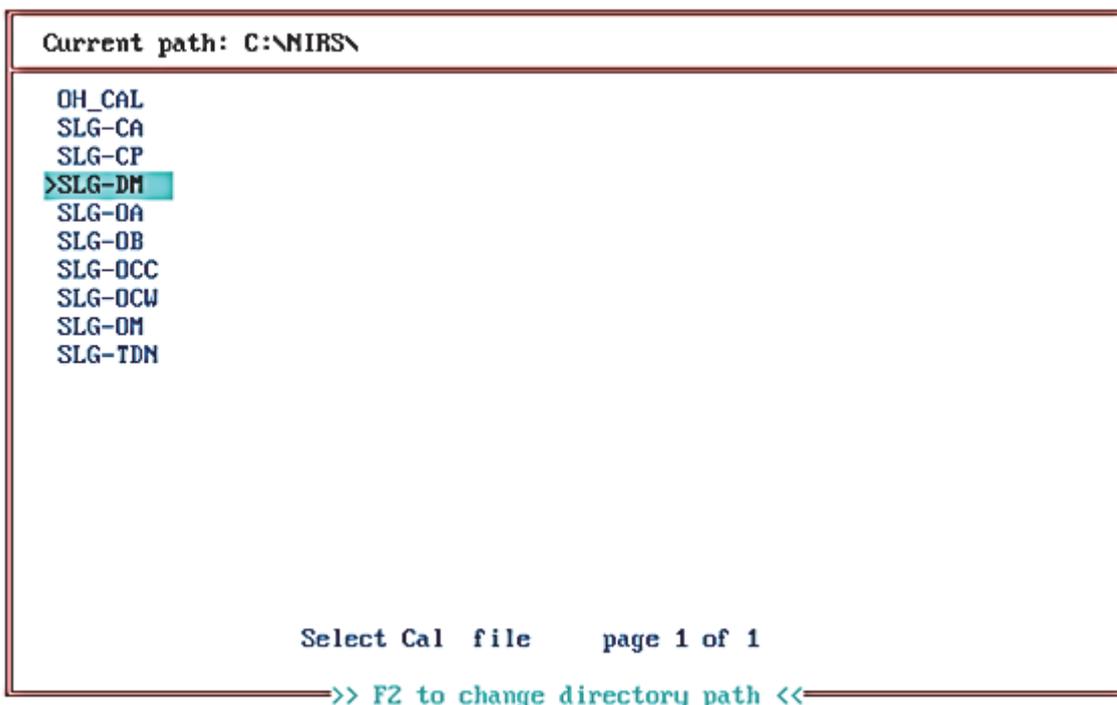
畜草研で作成した検量線を移設する機器で使える検量線に補正する操作を示す。この操作では、コピーした畜草研の検量線で先に測定した基準化試料のスペクトルに当てはめて得られたデータと畜草研データとの差からバイアスを求め、畜草研の検量線に補正を加え移設器で使える検量線にする。



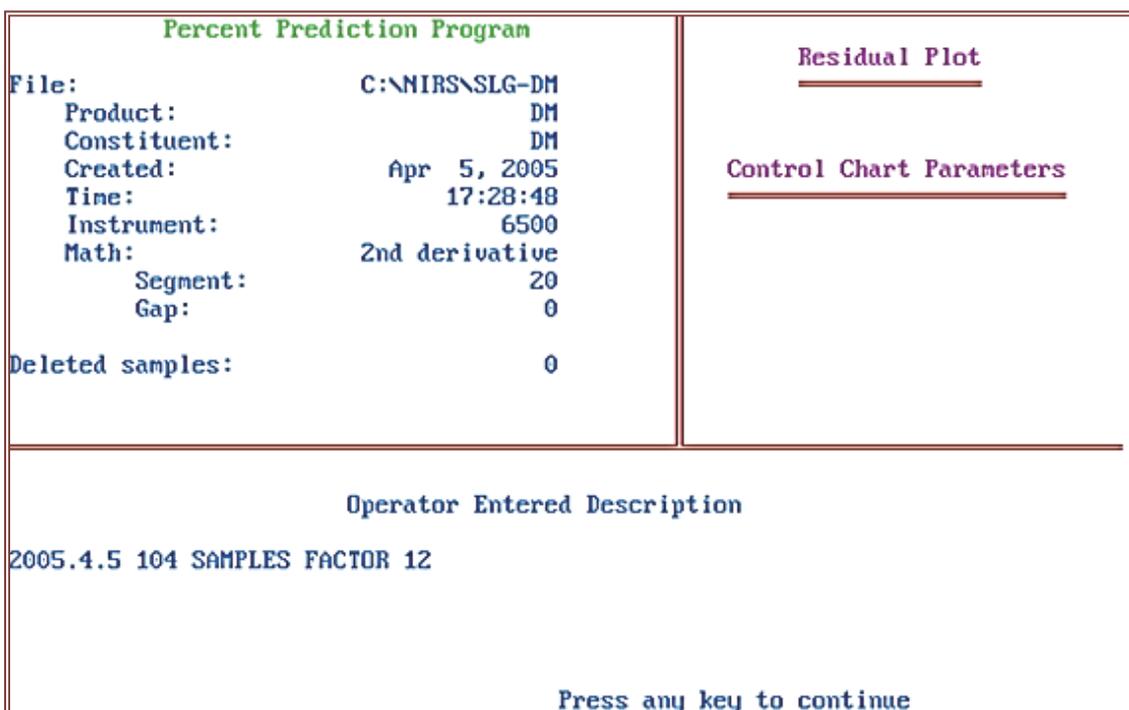
- "Previous Menu"で"Percent Predict"を選択する。



- 検量線ファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。



- ・検量線ファイルのリストが表示されるので、移設するファイル(ここでは SLG-DM)を選択する。



- ・検量線作成時のコメントが表示される。Enter キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b>			
0 Return to main menu			
1 Change parameters			
2 Calculate percents			
3 Change calibration			
4 Delete/Restore smpls			

- "2 Calculate percents"を選択するために"2"を入力し、Enter キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
Enter a Data file name:			
> _____			
Press F1 for directory listing, ESC to quit			

- 選択した検量線でプレディクションするデータファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。

```

Current path: C:\NIRS\

13GIFU
D2P
D2POL
>IWCS-SA
IWCS-STD
POLYCL

Select Data file    page 1 of 1

>> F2 to change directory path <<

```

- スペクトルファイルのリストが表示されるので、プレディクションするファイル (ここでは IWCS-SA) を選択する。

```

Percent Prediction Program
File:                C:\NIRS\SLG-DM
Product:             DM
Constituent:         DM
Created:             Apr  5, 2005
Time:                17:28:48
Instrument:           6500
Math:                2nd derivative
    Segment:         20
    Gap:              0
Deleted samples:    0

There are 7 constituents
Select a constituent number for comparison
or <CR> for none: 1

Residual Plot
0 Plot  Residual vs Calculated

Control Chart Parameters
1 Samples per group      4
2 Average Control Chart
  Plot scaling           Auto
3 Range Control Chart
  Plot scaling           Auto

```

- スペクトルファイル中の成分番号を聞いてくるので、検量線の成分名に該当する番号を入力する。ここでは DM なので "1" を入力し、Enter キーを押す。

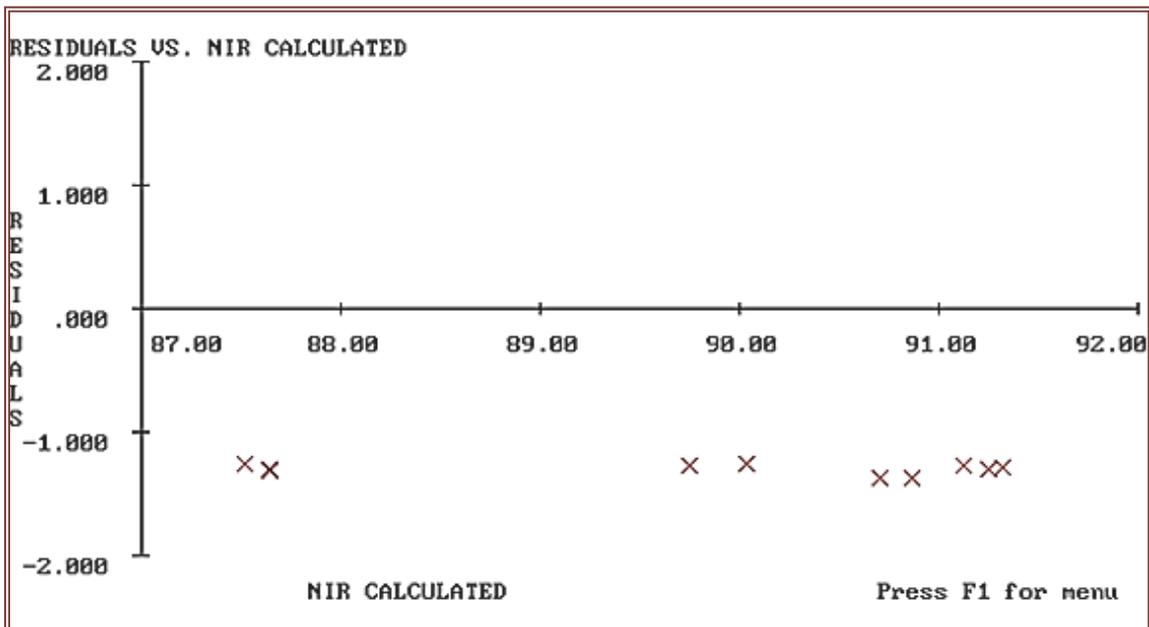
NIRSystems Calculated Results							
Spl No.	Spl Name	Lab Value	NIR Value	Residual	Group	Average	Range
1	1-B	92.600	91.321	-1.279			
2	2-B	92.550	91.252	-1.298			
3	3-B	92.390	91.121	-1.269			
4	4-B	92.230	90.865	-1.365	1	-1.303	.096
5	5-B	91.020	89.751	-1.269			
6	6-B	92.070	90.704	-1.366			
7	7-B	91.290	90.035	-1.255			
8	8-B	88.940	87.639	-1.301	2	-1.298	.110
9	9-B	88.960	87.645	-1.315			
10	10-B	88.780	87.520	-1.260			

F3 to print, F4 to write to file, ESC to quit, any key to continue

- ・ 畜草研の機器で推定した分析値と移設器における成分値とが表示される。Enter キーを押す。

Calibration file: SLG-DM	Data file: IWCS-SA
STATISTICAL SUMMARY	
Bias = -1.30	Std. Error of Bias = .133E-01
Std. Dev. of Differences = .405E-01	
Root Mean Square (RMS) = 1.37	
** Information for Slope and Intercept Correction **	
Slope Adjustment = 1.004	Std. Error of Slope = .833E-02
Intercept Adjustment = .905	Std. Error of Performance = .399E-01
	Simple Correlation = 1.000
** Results Achievable by Eliminating Special Causes **	
Achievable Std. Error of Prediction = .501E-01	
Prediction Stability Coefficient = .366E-01	
Press any key to continue	

- ・ 畜草研のデータと移設器におけるデータとの統計値が表示される。Enter キーを押す。



・畜草研のデータと移設器におけるデータとの差分が図で表示される。ESC キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b> 0 Return to main menu 1 Change parameters 2 Calculate percents 3 Change calibration 4 Delete/Restore smpls 5 Replay results 6 Adjust slope or bias			

・"6 Adjust slope or bias"を選択するために"6"を押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b> 0 Continue 1 Adjust bias 2 Adjust slope & bias			

・ "1 Adjust bias"を選択するために"1"をを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b> 0 Continue 1 Adjust slope			

・ 移設では基本的に"Slope"は補正しないので、"0"を押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b>			
0 Return to main menu			
1 Change parameters			
2 Calculate percents			
3 Change calibration			
4 Delete/Restore snpls			
5 Replay results			
6 Save calibration			

- ・"6 Save calibration"の項目が追加されたメニューが表示される。バイアス補正した検量線を保存するために"6"を押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
Enter an output file name:			
> _____			
Press ESC to quit			

- ・バイアス補正した検量線を保存するためにファイル名を入力する画面が表示される。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
Enter an output file name:			
>SLG-DM-T_____			
Press ESC to quit			

- ・ 検量線のファイル名は元のファイル名であれば、書き換えの有無を聞いてくるので "Y" を入力する。ここでは新たに "SLG-DM-T" のファイル名を入力。これで "SLG-DM" の検量線ファイルの移設は完了する。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b>			
0 Return to main menu			
1 Change parameters			
2 Calculate percents			
3 Change calibration			
4 Delete/Restore smpls			

- ・ 移設した "SLG-DM-T" の検量線の精度を確認するため、"3 Change calibration" を選択する ("3" を押す)。

<b>Percent Prediction Program</b>	<u>Residual Plot</u>  <u>Control Chart Parameters</u>
Enter a Calibration file name: > _____ Press F1 for directory listing, ESC to quit	

- ・ 検量線ファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。

<b>Current path: C:\NIRS\</b>
OH_CAL SLG-CA >SLG-CP SLG-DM SLG-DM-T SLG-OA SLG-OB SLG-OCC SLG-OCW SLG-OM SLG-TDN
Select Cal file      page 1 of 1  >> F2 to change directory path <<

- ・ "SLG-CP"の検量線を選択する。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM		
Product:	DM		
Constituent:	DM		
Created:	Apr 5, 2005		
Time:	17:28:48		
Instrument:	6500		
Math:	2nd derivative		
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Operator Entered Description</b>			
2005.4.5 104 SAMPLES FACTOR 12			
Press any key to continue			

- ・検量線作成時のコメントが表示される。Enter キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM-T		
Product:	DM	0 Plot Residual vs Calculated	
Constituent:	DM		
Created:	Feb 6, 2014		
Time:	19:42:55		
Instrument:	6500		
Math:	2nd derivative		
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<b>Select</b>			
0 Return to main menu			
1 Change parameters			
2 Calculate percents			
3 Change calibration			
4 Delete/Restore snpls			
		<b>Control Chart Parameters</b> 1 Samples per group 4 2 Average Control Chart Plot scaling Auto 3 Range Control Chart Plot scaling Auto	

- ・"2 Calculate percents"を選択するために"2"を入力し、Enter キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM-T	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Feb 6, 2014	2 Average Control Chart	
Time:	19:42:55	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
Enter a Data file name:			
> _____			
Press F1 for directory listing, ESC to quit			

- ・ 選択した検量線でプレディクションするデータファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。

Current path: C:\NIRS\
13GIFU
D2P
D2POL
>IWCS-SA
IWCS-STD
POLYCL
Select Data file      page 1 of 1
>> F2 to change directory path <<

- ・ スペクトルファイルのリストが表示されるので、プレディクションするファイル (ここでは IWCS-SA) を選択する。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM-T	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Feb 6, 2014	2 Average Control Chart	
Time:	19:42:55	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
There are 7 constituents			
Select a constituent number for comparison			
or <CR> for none: 1_			

- ・スペクトルファイル中の成分番号を聞いてくるので、検量線の成分名に該当する番号を入力する。DM は第 1 番目の成分なので"1"を入力し、Enter キーを押す。

NIRSystems Calculated Results							
Spl No.	Spl Name	Lab Value	NIR Value	Residual	Group	Average	Range
1	1-B	92.600	92.619	.019			
2	2-B	92.550	92.550	-.000			
3	3-B	92.390	92.418	.028			
4	4-B	92.230	92.162	-.068	1	-.005	.096
5	5-B	91.020	91.049	.029			
6	6-B	92.070	92.002	-.068			
7	7-B	91.290	91.333	.043			
8	8-B	88.940	88.936	-.004	2	.000	.110
9	9-B	88.960	88.942	-.018			
10	10-B	88.780	88.818	.038			

F3 to print, F4 to write to file, ESC to quit, any key to continue

- ・畜草研の機器で推定した分析値と移設器における成分値とが表示される。Enter キーを押す。

```

          Calibration file: SLG-DM-T      Data file: IWCS-SA

          STATISTICAL SUMMARY

Bias = .153E-05                      Std. Error of Bias = .133E-01
Std. Dev. of Differences = .405E-01
Root Mean Square (RMS) = .405E-01

          ** Information for Slope and Intercept Correction **

Slope Adjustment = 1.004              Std. Error of Slope = .833E-02
Intercept Adjustment = -.399          Std. Error of Performance = .399E-01
                                       Simple Correlation = 1.000

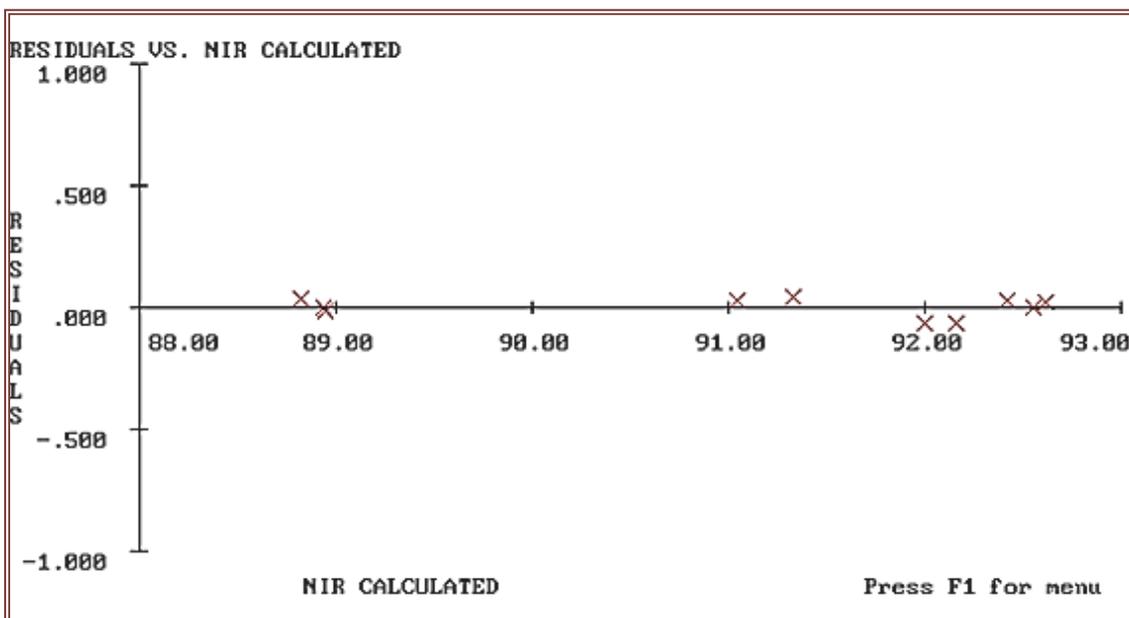
          ** Results Achievable by Eliminating Special Causes **

Achievable Std. Error of Prediction = .501E-01
Prediction Stability Coefficient = 1.24

          Press any key to continue

```

- ・ 畜草研のデータと移設器におけるデータとの統計値が表示される。バイアス値がほぼ0に近い値であることを確認する。Enter キーを押す。



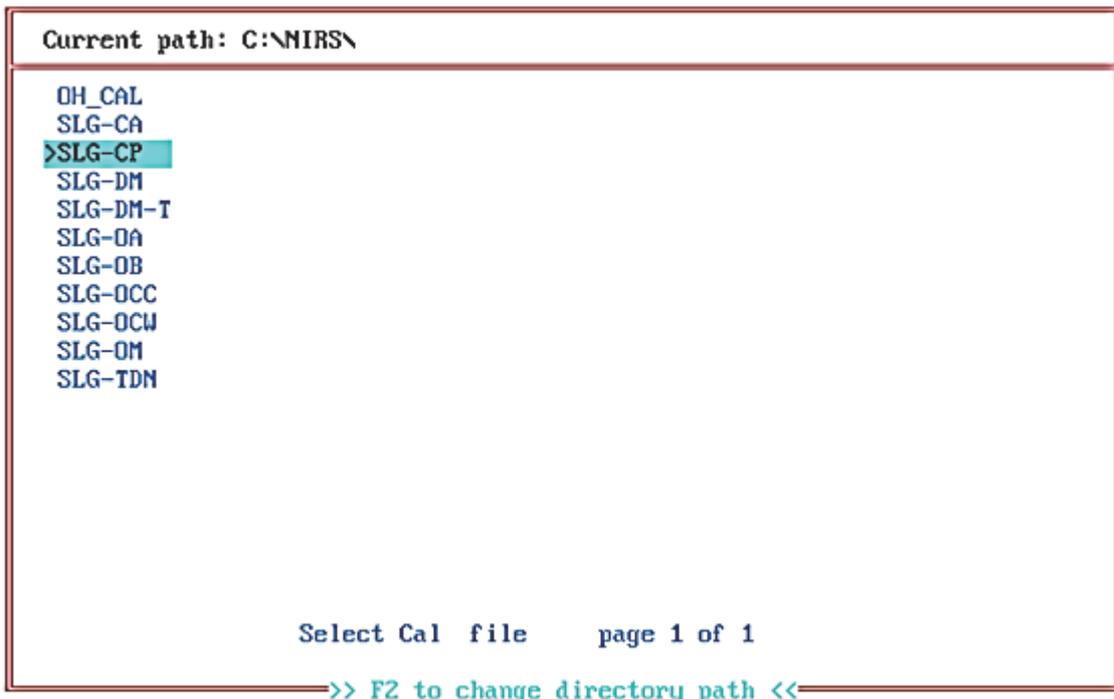
- ・ 移設した検量線で推定したデータが適合していることが確認できる。ESC キーを押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
File:	C:\NIRS\SLG-DM	0 Plot	Residual vs Calculated
Product:	DM	<u>Control Chart Parameters</u>	
Constituent:	DM	1 Samples per group	4
Created:	Apr 5, 2005	2 Average Control Chart	
Time:	17:28:48	Plot scaling	Auto
Instrument:	6500	3 Range Control Chart	
Math:	2nd derivative	Plot scaling	Auto
Segment:	20		
Gap:	0		
Deleted samples:	0		
<p style="text-align: center;"><b>Select</b></p> <p>0 Return to main menu</p> <p>1 Change parameters</p> <p>2 Calculate percents</p> <p>3 Change calibration</p> <p>4 Delete/Restore snpls</p>			

・他の成分を移設するために"3 Change calibration"を選択するために"3"を押す。

Percent Prediction Program		Residual Plot	
		<u>Control Chart Parameters</u>	
<p>Enter a Calibration file name:</p> <p>&gt; _____</p> <p>Press F1 for directory listing, ESC to quit</p>			

・検量線ファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。



- 次の成分の検量線（ここでは SLG-CP）を選択し、SLS-DM と同様の操作をして移設する。この操作を繰り返しすべての成分についてバイアス補正した検量線を保存し、移設検量線の適合性を確認する。

(7) オペレーションファイルの作成方法

移設した検量線を実際のルーチン分析で使用するためのファイルの作成方法を以下に示す。

```
NIR Spectral Analysis Software      Version 3.53      Main Menu
Select :                            Tue Dec 09 2014  21:33:52
Log Out
Data Acquisition                    Current User : IWCS
Calibration
Routine Analysis                    Instrument  : 6500
System ManaGement                  Math       : Monochromator Math
User List Maintenance              Plotter    : No Plotter
System Shutdown                    Printer    : IBM Compatible Printer

Current Path : C:\NIRS\IWCS\

Position Highlight and Press Enter to Select
```

- メインメニューから "Routine analysis" を選択する。

```
Routine Analysis Program
Product:          0,
Number of constituents:  0

Sensor Parameters
Sensor status:    Offline
Instrument:       6500
Scans per sample:  0

Data Output Parameters
Moving average:   0
Control chart group size:  0
Sample name entry: Off
Comment entry:    None
Data header entry: Off
Printer:         No output

Select
0 Return to main menu
1 New operations file
```

- "New operations file" を選択する。

<p style="text-align: center;">Routine Analysis Program</p>	<p>Product: 0,  Number of constituents: 0</p> <p style="text-align: center;">Sensor Parameters</p> <p>Sensor status: Offline  Instrument: 6500  Scans per sample: 0</p> <p style="text-align: center;">Data Output Parameters</p> <p>Moving average: 0  Control chart group size: 0  Sample name entry: Off  Comment entry: None  Data header entry: Off  Printer: No output</p>
<p>Select</p> <p>0 Continue</p> <p>1 Create new file</p>	

- "1 Create new file"を選択する。

<p style="text-align: center;">Create Operations File</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;"><u># Cal. name</u></th> <th style="text-align: left;"><u>Constituent</u></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	<u># Cal. name</u>	<u>Constituent</u>		
<u># Cal. name</u>	<u>Constituent</u>				
<p>Enter an operations file name:  &gt;OPIWCS_____</p> <p>Press ESC to quit</p>					

- ファイル名を入力する。ファイル名には"OP\*\*\*\*"の頭文字を付けておくと後に整理しやすい。

Enter a comment. Press ENTER when done.

2014.10.01 IWCS Operation file by #.###\_

- ・コメントは2行入れることができ、必要事項等を記載しておくとう便利。無しでもOK。

Enter a calibration file name:

> \_\_\_\_\_

Press F1 for directory listing, ESC to quit

- ・オペレーションファイルに登録する検量線のファイル名を聞いてくるので、F1 キーを押す。

Current path: C:\NIRS\IWCS\		
EPIWAD10	ESIWCP08	ESIWMO14
EPIWAS12	ESIWCP09	ESIWMO15
EPIWCP09	ESIWCP10	ESIWND07
EPIWEE09	ESIWCP11	ESIWND08
EPIWMO12	ESIWEE07	ESIWND09
EPIWND13	ESIWEE08	ESIWND10
ESIWAD08	ESIWEE09	ESIWND11
ESIWAD09	ESIWEE10	ESIWND12
ESIWAD10	ESIWEE11	ESIWND13
ESIWAD11	ESIWMO05	ESIWND14
ESIWAD12	ESIWMO06	ESIWND15
ESIWAD13	ESIWMO07	ESSIWAD
ESIWAS09	ESIWMO08	ESSIWAS
ESIWAS10	ESIWMO09	ESSIWCP
ESIWAS11	ESIWMO10	ESSIWEE
ESIWAS12	ESIWMO11	ESSIWMO
ESIWAS13	ESIWMO12	ESSIWND
ESIWAS14	>ESIWMO13	SLG-CA

Select Cal file page 1 of 2

>> F2 to change directory path <<

- ・矢印キーで検量線ファイルを指定して Enter キーを押す。

Select instrument model to be used

Select

- 0 Model 4500
- 1 Model 5000
- 2 Model 5500
- 3 Model 6500
- 4 Online 5000
- 5 Online 5500
- 6 Online 6500
- 7 Rapid-ID Analyzer
- 8 Tablet Analyzer

- ・使用機種 of "3 Model 6500"または"0 Model 4500"を選択する。

```

      Select
0  NIR      1100-2500
1  Visible  400-1100
2  VIS/NIR  400-2500

Select a scan range

```

- "0 NIR 1100-2500"を選択する。

```

                                Operator Entered Description
2014.09.11

Enter a name for product 1: _      IWCS

```

- 飼料名が自動的に表示されるので、そのまま Enter キーを押す。

```

                                Operator Entered Description
2014.09.11

Press ENTER to accept constituent name: MOIS

```

- 成分名が表示されるので、Enter。必要があれば修正して Enter キーを押す。

```

Enter constituent units: %_

```

- 単位を聞いてくるので、水分は"%", その他の成分は"DM%"を入力する。

```

Accept this calibration (Y/N): Y

```

- "Y"を入力して Enter キーを押す。

Create Operations File		Product no/name:	1/ IWCS
Operations file:	C:\NIRS\IWCS\OPIWCS	# Cal. name	Constituent
		1 ESIWMO13	MOIS

(Enter MANUAL for manual entry of results)

Enter a calibration file name:  
 > \_\_\_\_\_

Press F1 for directory listing, ESC to quit

・登録が正常にできれば右上に検量線ファイル名が表示される。さらに検量線を追加するために F1 キーを押して次の検量線を登録していく。

Current path: C:\NIRS\IWCS\		
EPIWAD10	ESIWCP08	ESIWMO14
EPIWAS12	>ESIWCP09	ESIWMO15
EPIWCP09	ESIWCP10	ESIWND07
EPIWEE09	ESIWCP11	ESIWND08
EPIWMO12	ESIWEE07	ESIWND09
EPIWND13	ESIWEE08	ESIWND10
ESIWAD08	ESIWEE09	ESIWND11
ESIWAD09	ESIWEE10	ESIWND12
ESIWAD10	ESIWEE11	ESIWND13
ESIWAD11	ESIWMO05	ESIWND14
ESIWAD12	ESIWMO06	ESIWND15
ESIWAD13	ESIWMO07	ESSIWAD
ESIWAS09	ESIWMO08	ESSIWAS
ESIWAS10	ESIWMO09	ESSIWCP
ESIWAS11	ESIWMO10	ESSIWEE
ESIWAS12	ESIWMO11	ESSIWMO
ESIWAS13	ESIWMO12	ESSIWND
ESIWAS14	ESIWMO13	SLG-CA

Select Cal file page 1 of 2

>> F2 to change directory path <<

Operator Entered Description

2014.09.11

Press ENTER to accept constituent name: CP

Enter constituent units: DM%\_

Accept this calibration (Y/N): Y

・初めの検量線ファイルの登録と同じ手順でオペレーションファイルに次の成分を登録していく。NSAS ソフトウェアでは、最大で6ファイルの登録ができる。

Edit Control Parameters

Product:	MOIS	CP	EE	ASH	NDF	ADF
Constituent						
Units	%	dm%	dm%	dm%	dm%	dm%
Tolerance limits						
Upper limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
Lower limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
X-Control chart						
Target value	.00	.00	.00	.00	.00	.00
± Cntrl limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
± Y-axis limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
R-Control chart						
Target value	.00	.00	.00	.00	.00	.00
Upper limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
Lower limit	.00	.00	.00	.00	.00	.00
Y-axis maximum	.00	.00	.00	.00	.00	.00
Y-axis minimum	.00	.00	.00	.00	.00	.00

Select item to edit using the keypad arrows. Press ESC when done.

・ESC キーを押す。

Create Operations File		Product name:	IWCS
Product 1:	IWCS	# Cal. name	Constituent
		1 ESIWMO13	MOIS
		2 ESIWCP09	CP
		3 ESIWEE10	EE
		4 ESIWAS10	ASH
		5 ESIWND12	NDF
		6 EPIWAD10	ADF

Select
0 Continue
1 List calibrations
2 Change product
3 Modify product(s)
4 Statistics options
5 Sensor parameters
6 Data output options
7 Data treatment

・分析値をプリントアウトさせるためにプリンターの設定をする。"6 Data output options"を選択する。

Select
0 Continue
1 Spectral data file
2 Results file
3 Print result listing
4 Print control charts
5 Sample name/barcode
6 Sample comment entry
7 Data header entry
8 Digital/analog i/o

・"3 Print result listing"を選択すると、その右側に白文字で"Currently selected"が表示される。そのまま"0 Continue"を押す。

Select
0 Continue
1 Spectral data file
2 Results file
▶ 3 Print result listing ◀ Currently selected
4 Print control charts
5 Sample name/barcode
6 Sample comment entry
7 Data header entry
8 Digital/analog i/o

```

Select
0 Continue
1 Spectral data file
2 Results file
3 Print result listing
4 Print control charts
5 Sample name/barcode
6 Sample comment entry
7 Data header entry
8 Digital/analog i/o

```

Routine Analysis Program	
<pre> Operations file:      C:\NIRS\IWCS\OPIWCS Created:             21:38:21 on Dec 9, 2014 Number of products in file: 1 File description: 2014.10.01 IWCS Operation file by #.### </pre>	<pre> Product:             1,      IWCS Number of constituents: 6  Sensor Parameters Sensor status:      Sensor is cold Instrument:         Model 6500 Spectral region:   1100-2500 nm Scans per sample:  32 Cell:              Standard sample cup Scan mode:         Reflectance X 1 Reference position: Reference Sample position:   Sample PROM version:     28.0  Data Output Parameters Moving average:    4 Control chart group size: 2 Sample name entry: Off Comment entry:    None Data header entry: Off Printer:          Result listing </pre>
<pre> Select 0 Return to main menu 1 Change product 2 New operations file 3 Edit operations file 4 Routine analysis </pre>	

・さらにオペレーションファイルの作成を続ける場合は、"2 New operations file" を選択し、77 ページ（上）の画面へ戻る。

そうでない場合は、"0 Return to main menu"で "Routine analysis" に戻る。

NIR Spectral Analysis Software	Version 3.53	Main Menu
Select :	Tue Dec 09 2014 21:52:21	
Log Out		
Data Acquisition	Current User : IWCS	
Calibration		
Routine Analysis	Instrument	: 6500
System Management	Math	: Monochromator Math
User List Maintenance	Plotter	: No Plotter
System Shutdown	Printer	: IBM Compatible Printer
Current Path : C:\NIRS\IWCS\		
Position Highlight and Press Enter to Select		

#### 4.3.2 Vision における検量線の移設

##### (1) 機能確認テスト

機器の波長精度が規定値以下になっていることが、分析精度をより高く維持するために必要であり、Vision においても NSAS と同様に機能確認テストを必ず実施しておく。Model-6500 の電源を入れ、スペクトル測定できる状態にしておく。



**Vision<sup>®</sup>**  
Spectral Analysis Software for Windows



**Metrohm**  
NIRSystems

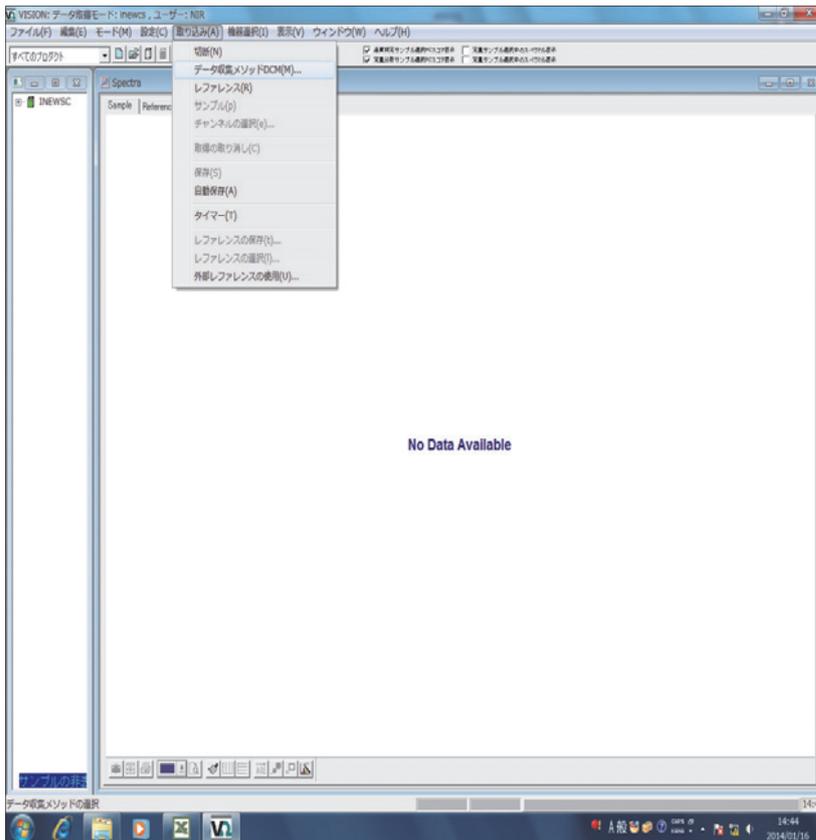
Copyright 2013, Metrohm AG

[www.metrohm-nirs.com](http://www.metrohm-nirs.com)

- 先ず、Vision を開くとユーザーID とパスワードを聞いてくる。



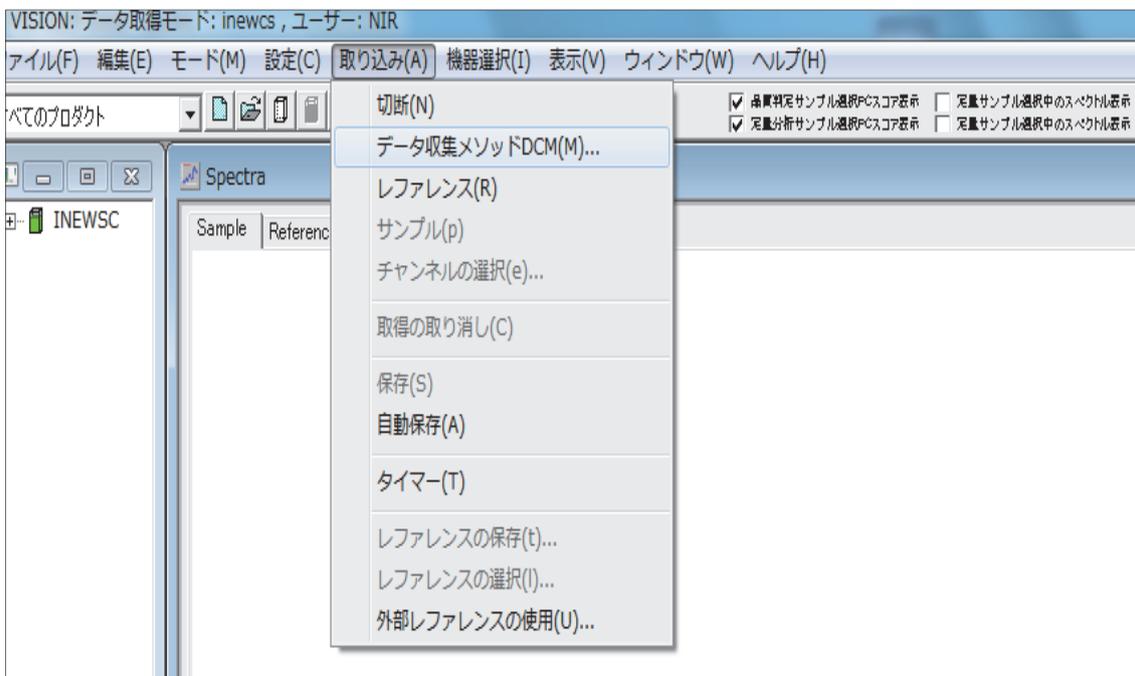
- 通常はどちらも "NIRS" を入力するが、新たな ID とパスワードを設定している場合はそれらを入力する。

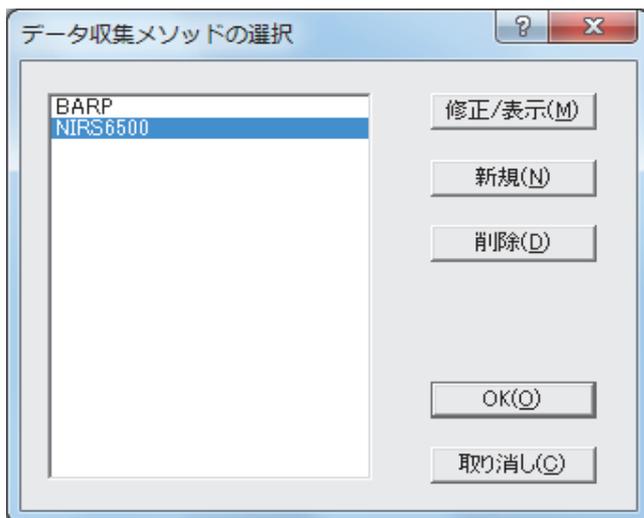


• "取り込み"→"接続"を選択する。

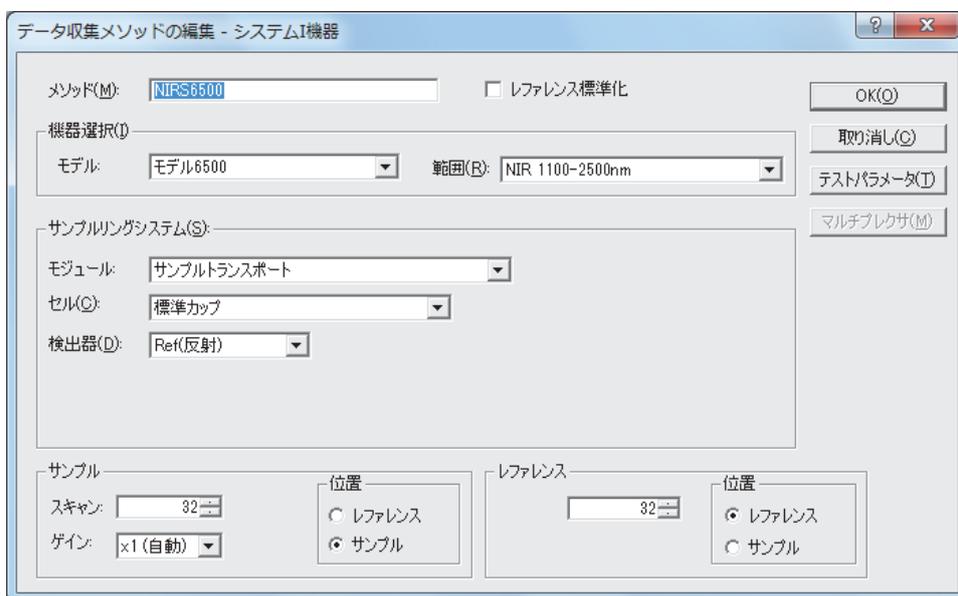
• "取り込み"→"切断"が既に表示されている場合は、  
"取り込み"→  
"データ収集メソッド"を選択する。

• 以下に拡大画面を示す。

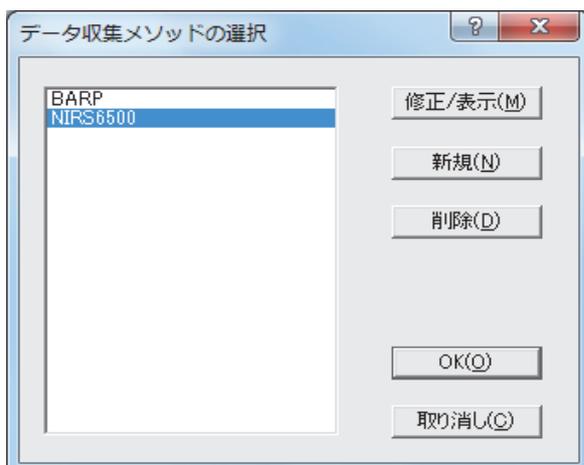




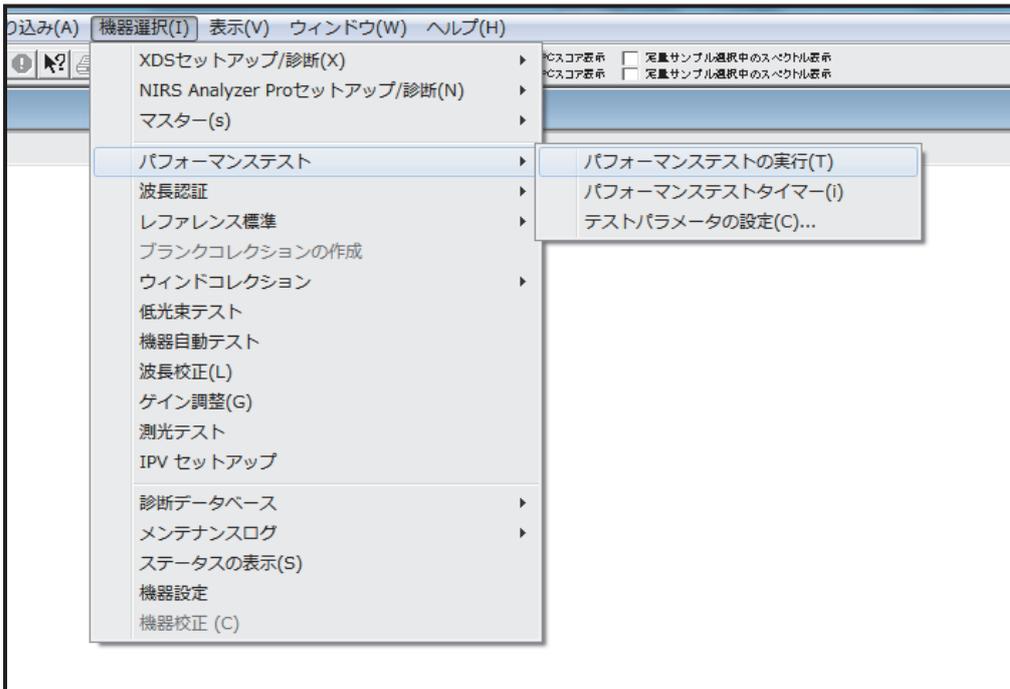
- "新規"のボタンをクリックし、新たに機能確認用のデータ収集メソッドを作成する。



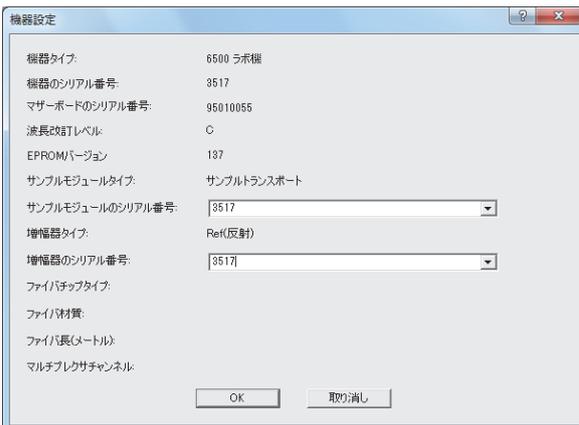
- メソッドを"NIRS6500"、その他、上記画面のとおり設定し、OK をクリックする。



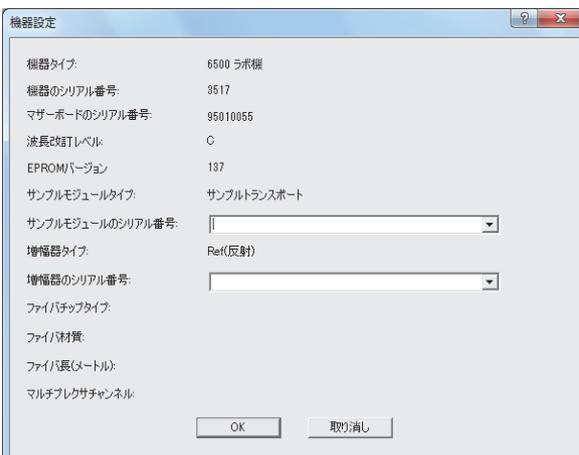
- 作成されたメソッド名"NIRS6500"を選択し、OK をクリックする。



- 機器選択(I)、パフォーマンステストを選択、パフォーマンステストを実行する。



- 初めて機能確認を実施する場合、左図の画面が表示される。

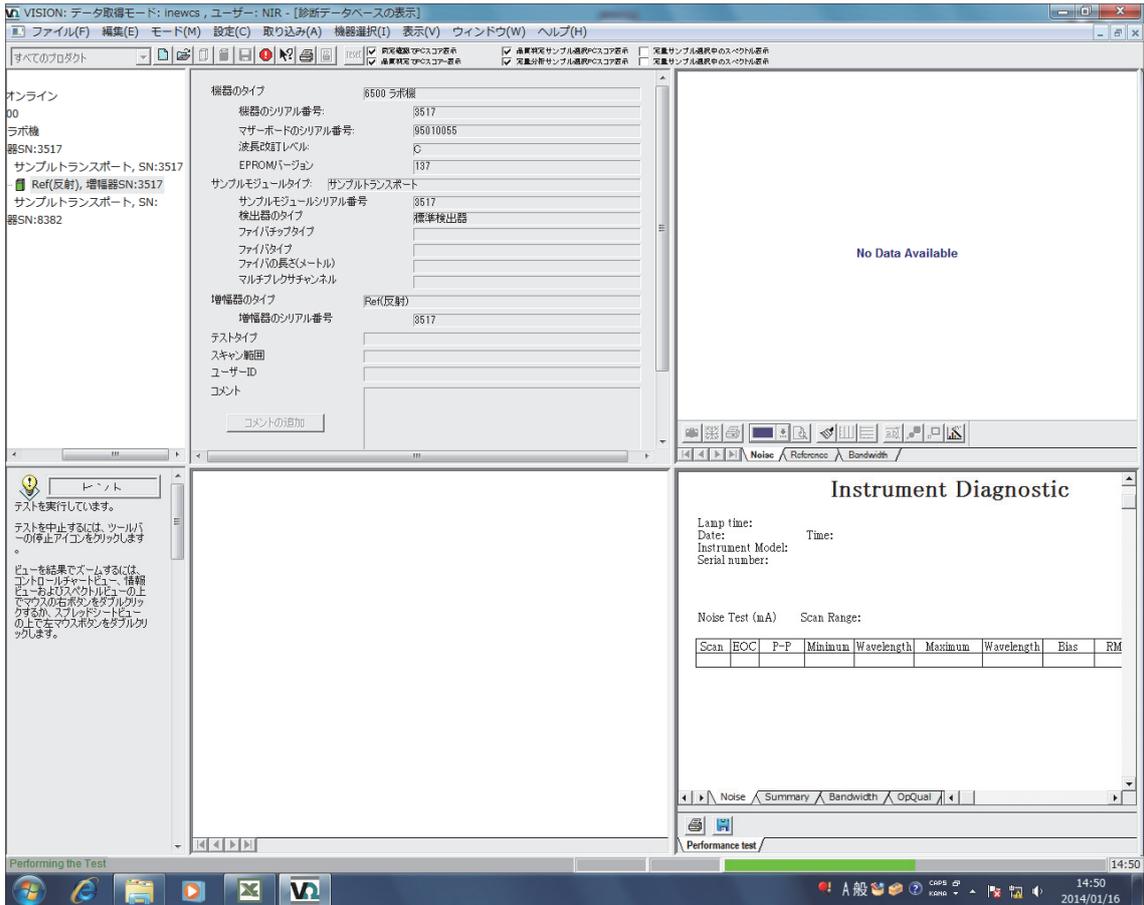


- サンプルモジュールのシリアル番号は、モジュール背面のアルミ板に刻印してある。

- 増幅器のシリアル番号は、反射増幅器の正面左または底面のアルミ板に刻印してある。

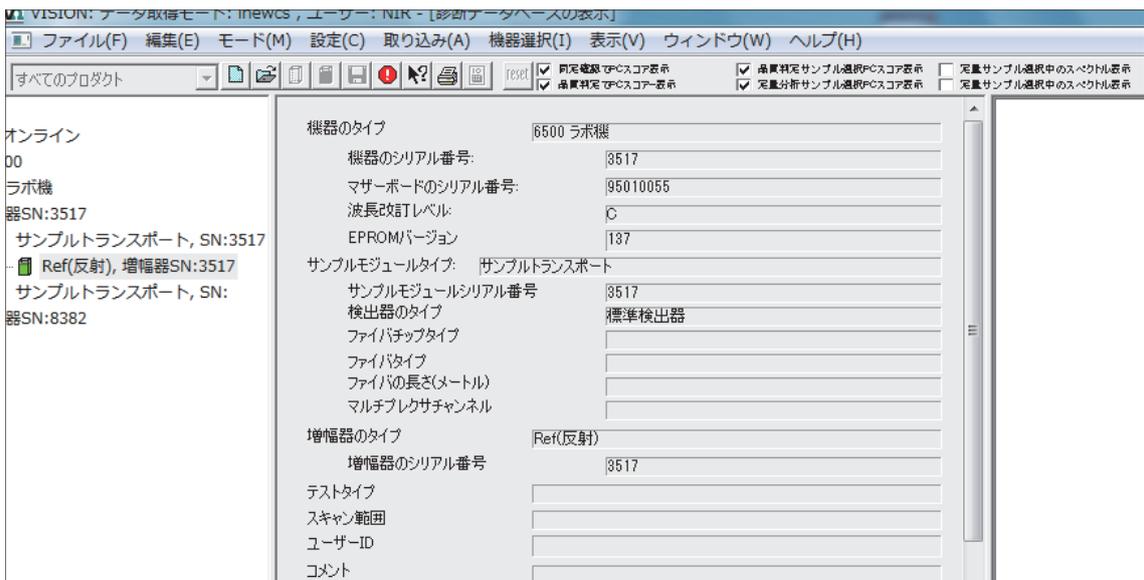
- サンプルモジュールのシリアル番号 \*\*\*\* を入力、増幅器のシリアル番号 \*\*\*\* を入力、OK をクリックする。

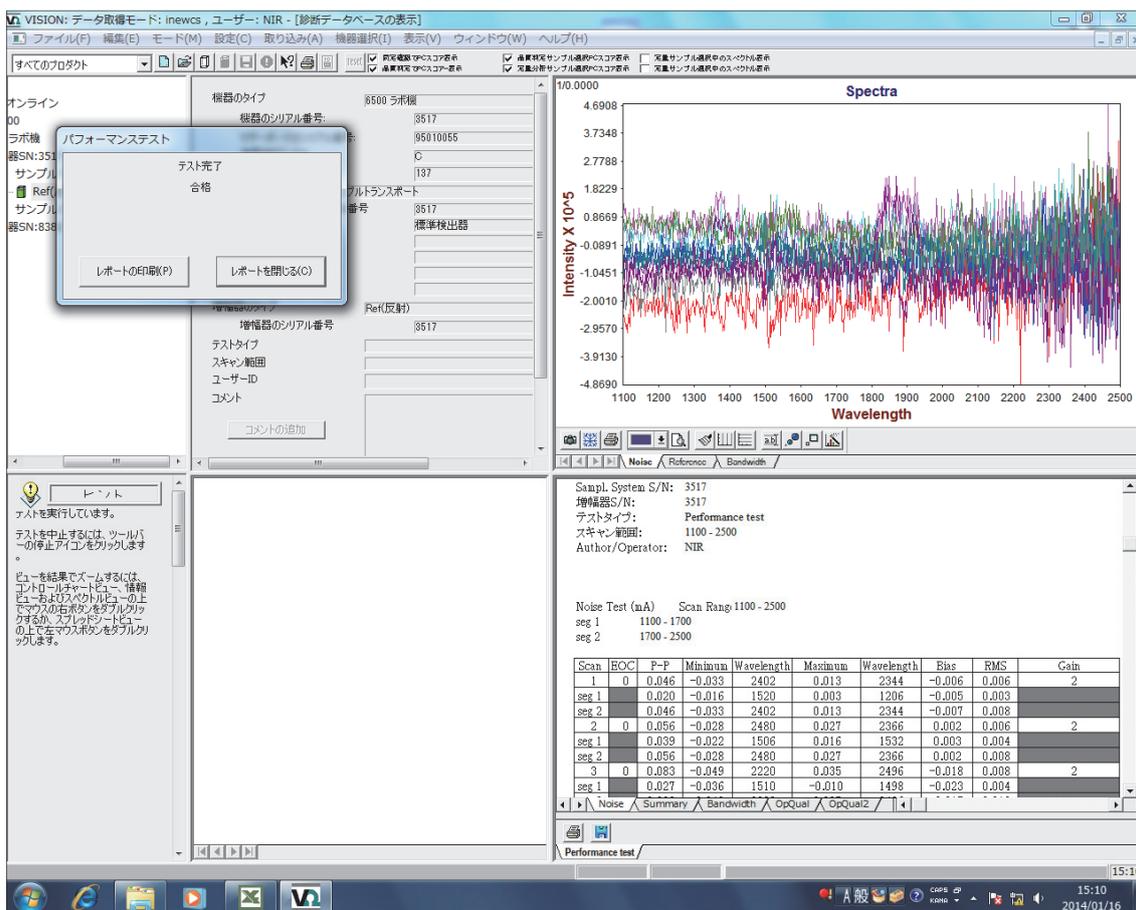
注) \*\*\*\*は機器の番号。



・パフォーマンステストが開始される。

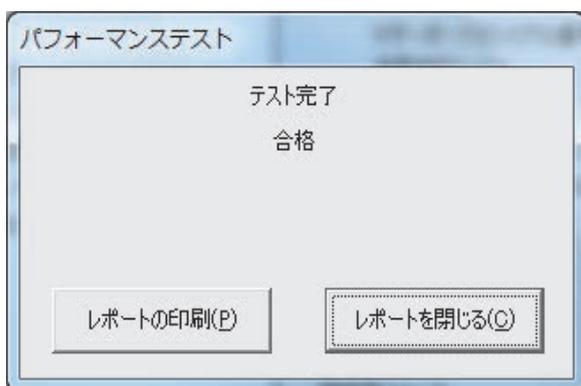
・以下に拡大画面を示す。





- 結果が表示される。
- 機能確認試験は、通常 10 回の繰り返しで実施され、その 10 回のテスト結果の平均により、機器状態の合否判定がされる。

- 以下に拡大画面を示す。



- 合格であればレポートを閉じる。不合格であれば再度、始めからやり直す。合格が得られなければ、本来のマニュアルにしたがって、ゲインなどの調整後、もう一度パフォーマンステストを実施する。

## (2) 検量線ファイルのコピー

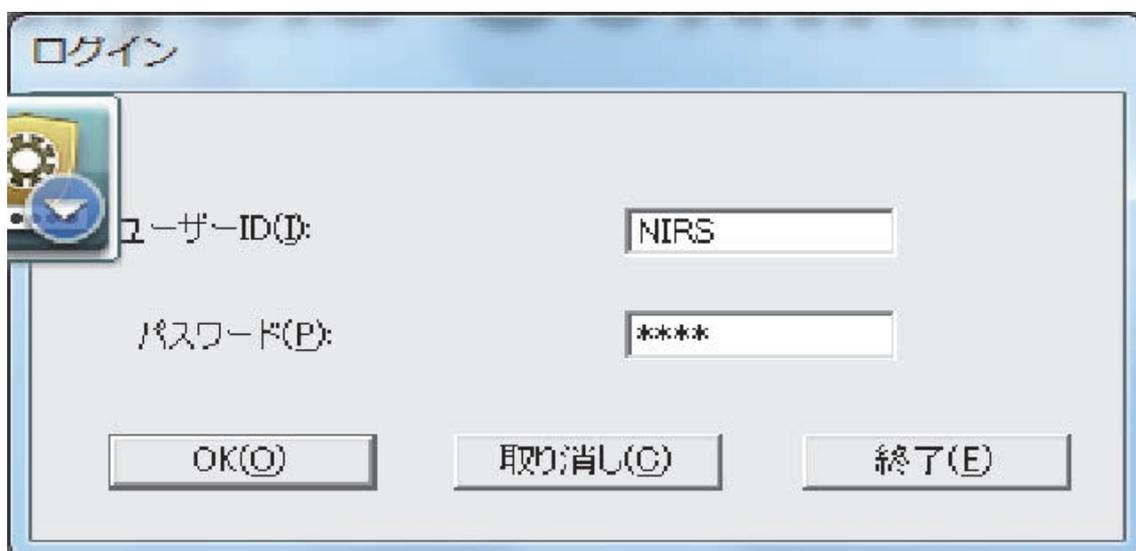
検量線は、NSAS 形式のファイルで作成されている。畜草研で作成した検量線と基準化サンプルの推定値は、原則として CD に保存して配布する。これらのデータを Vision に取り込む方法を示す。(検量線が組み込まれているファイルは ZIP 形式)

配布された CD をデータターミナルの CD ドライブにセットし、CD 内に保存されている共通レポートフォーム "Form-6.xls、Form-9.xls" を "C:\VISION" フォルダ下にコピーしてから、以下の作業に移行する。

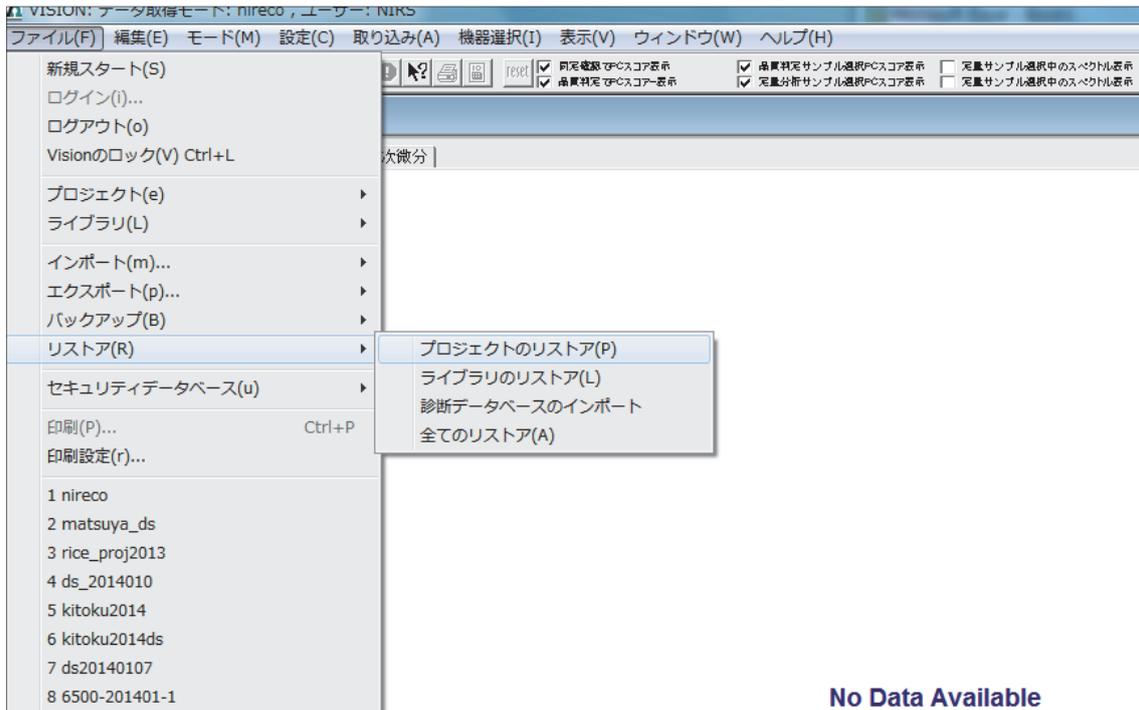


- デスクトップ上にある Vision のアイコンをダブルクリックして Vision を起動する。

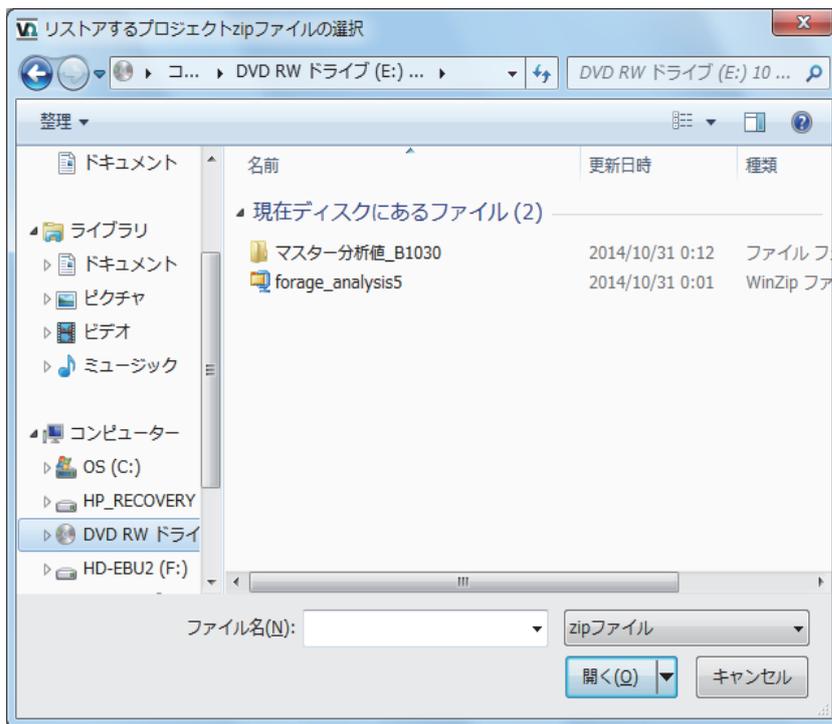
- 先ず、Vision を開くとユーザーID とパスワードを聞いてくる。



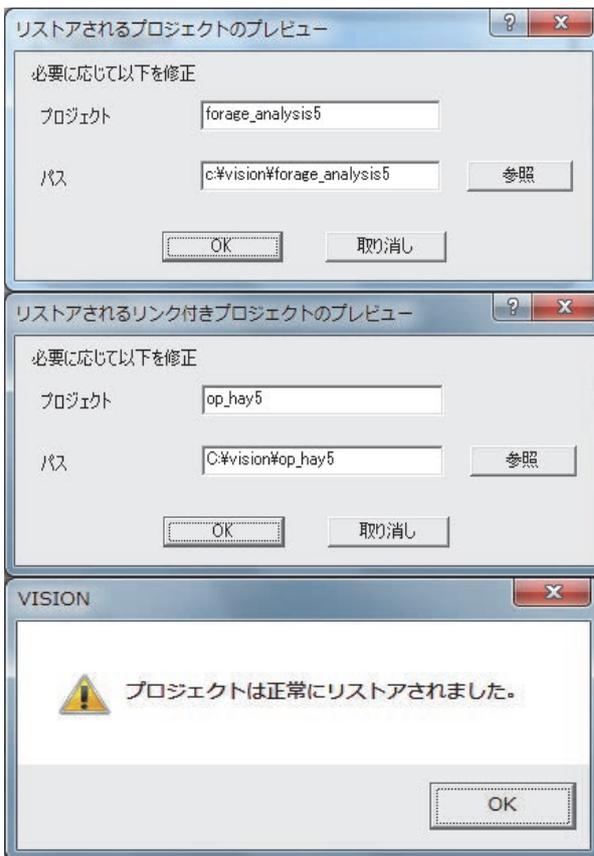
- 通常はどちらも "NIRS" を入力するが、新たな ID とパスワードを設定している場合はそれらを入力する。



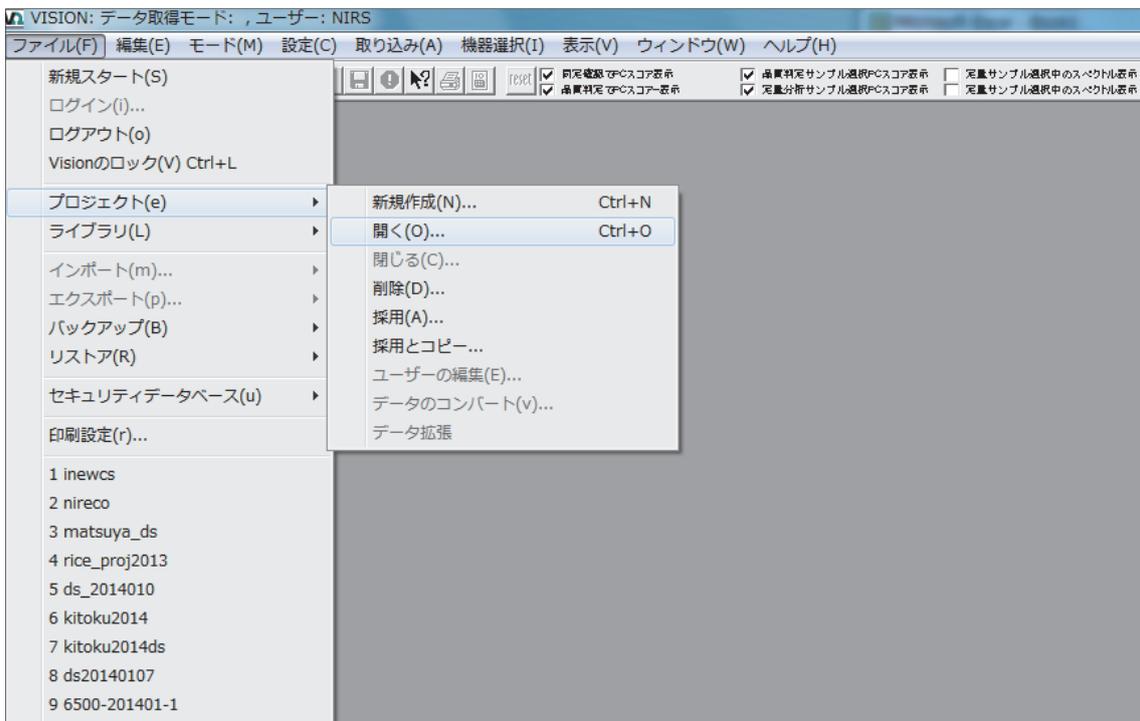
- "ファイル"→"リストア"→"プロジェクトのリストア"を選択する。  
(※プロジェクト：第 8 章 用語解説を参照のこと。)



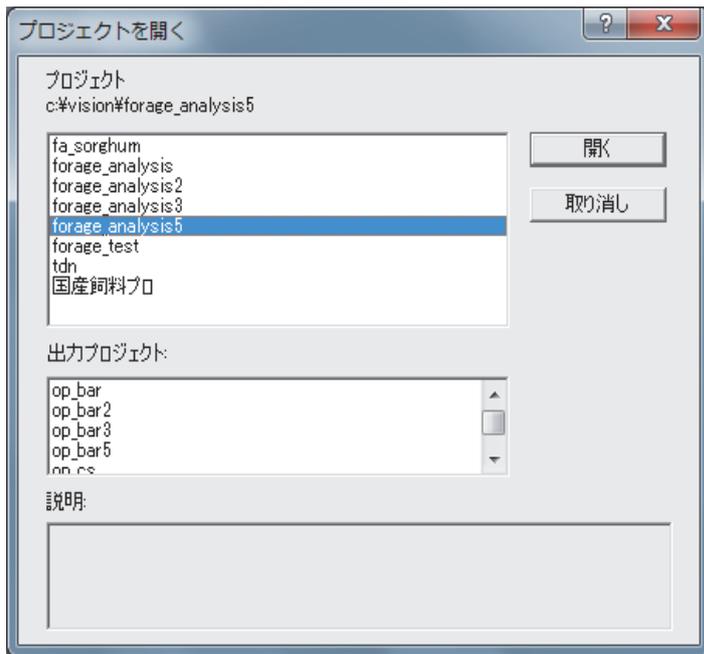
- ボックス左のツリーを展開し、セットされた CD 内にある VISION プロジェクトのバックアップファイル (ZIP 形式：ここでは forage\_analysis5 を例に示す。) をクリック選択する。
- "開く"を押す。



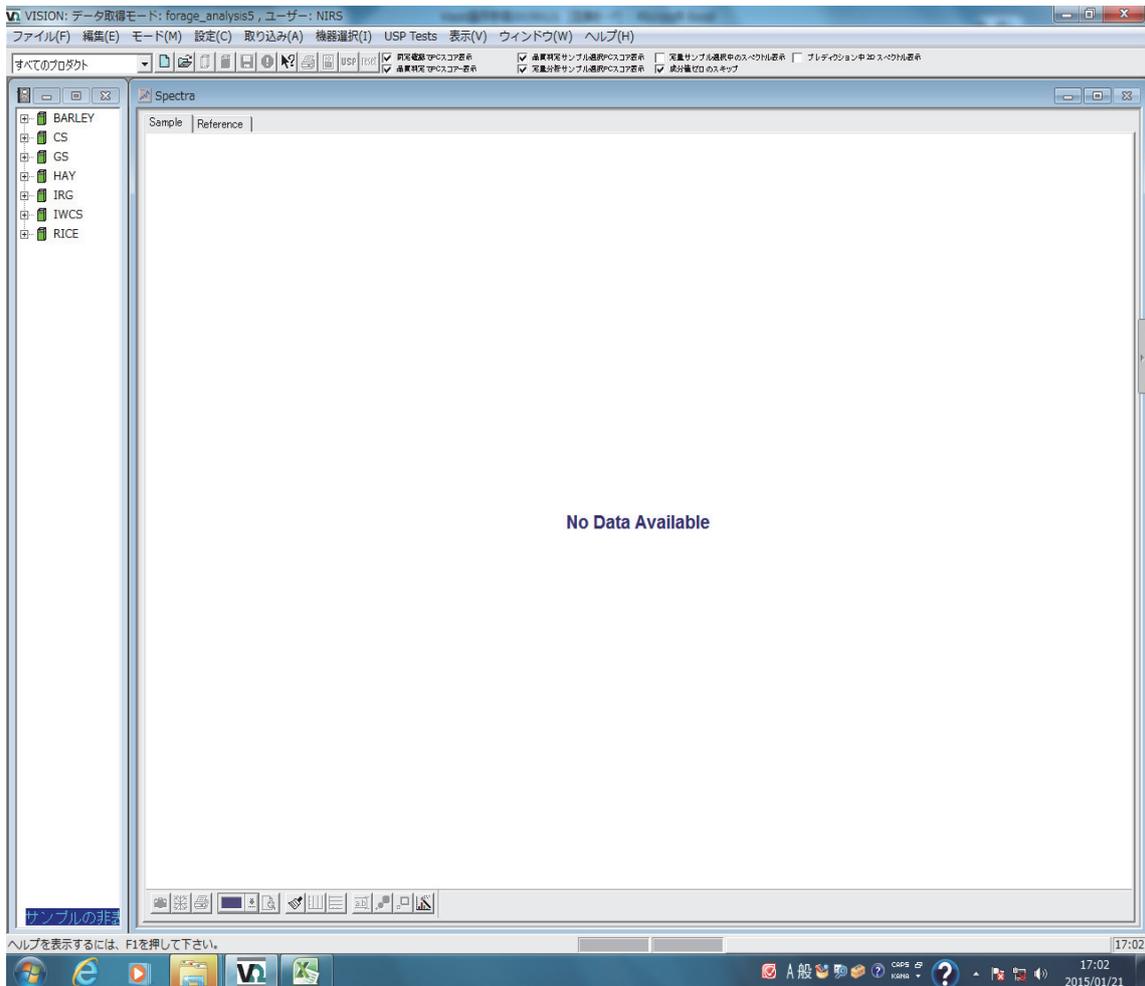
- プロジェクト名及び展開先パスを確認する。
- "OK"を押す
- リンクされているプロジェクトに関しても、同様にプロジェクト名およびパスを確認する。
- "OK"を押す。
- リストアの正常終了を示すボックスが表示されたことを確認する。
- "OK"を押す。



- リストアされたプロジェクトをオープンする。
- "ファイル"→"プロジェクト"→"開く"を選択する。



- リストアされたプロジェクト、ここでは"forage anayisis5"が選択(反転表示)されていることを確認する。
- "開く"を選択する。

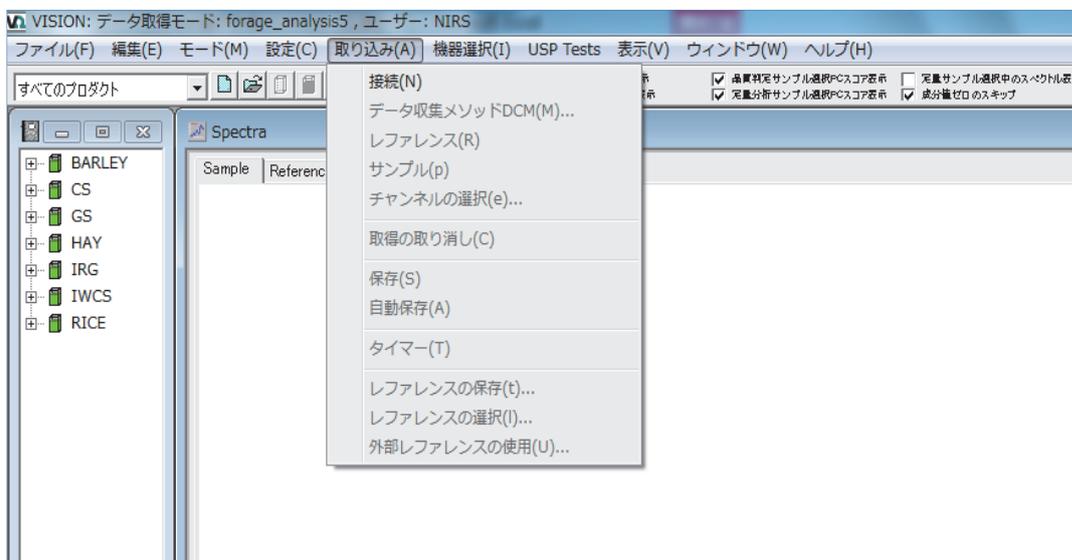


- リストアされたプロジェクト、ここでは"forage\_analysis5"がオープンされる。

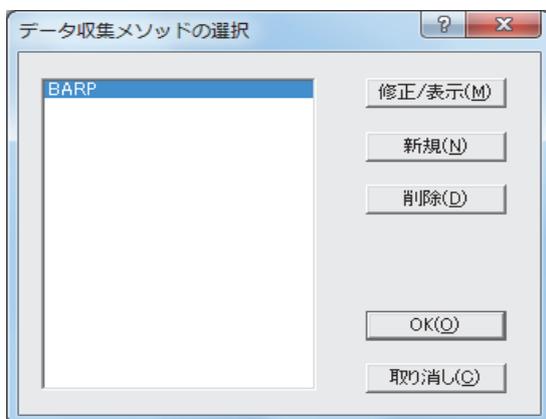
### (3) 基準化試料のスペクトル測定

基準化サンプルのスペクトルを測定する。クーロズドカップセル背面のサンプル表示が水平になるようにセットし、1100~2500nmのスペクトルを測定する。

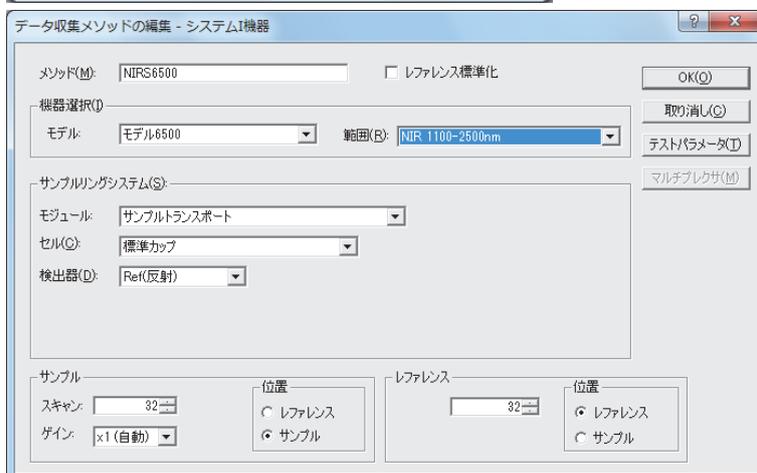
続いてセルを時計回りに90度回転させ再度スペクトルを測定する。(本マニュアル44ページ、写真4.1および写真4.2を参照。)



- "取り込み" → "接続" を選択。



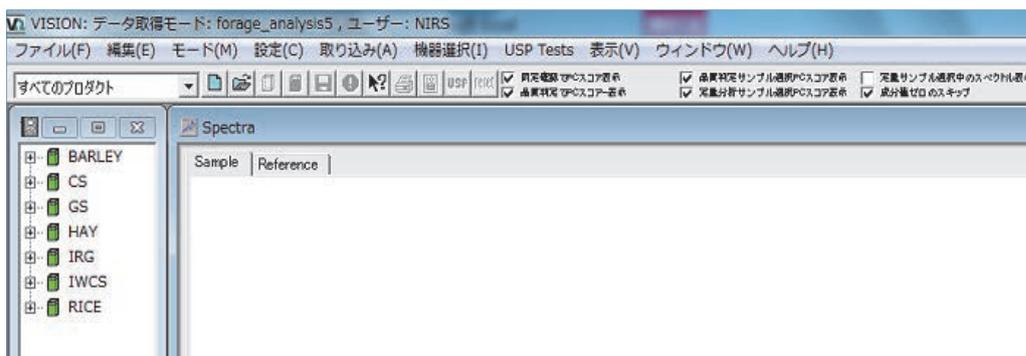
- "新規" を選択し、分析用のデータ収集メソッドを作成する。



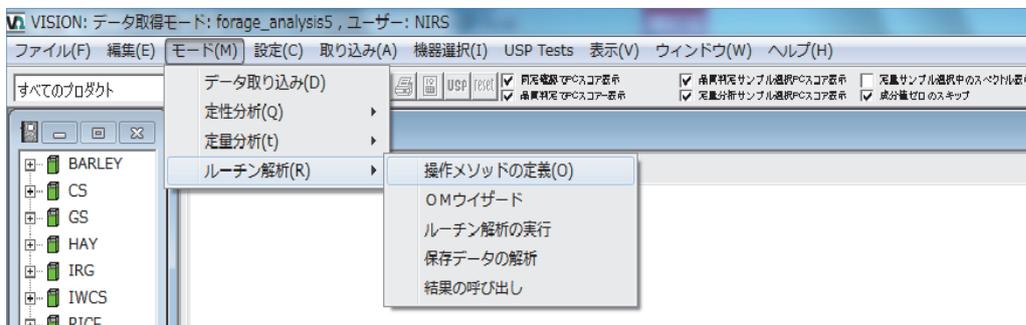
- メソッド名を "NIRS6500" とし、以下パラメータも左画面と同様に設定する。
- 範囲を "NIR 1100-2500nm" に設定。左画面の設定であることを確認する。



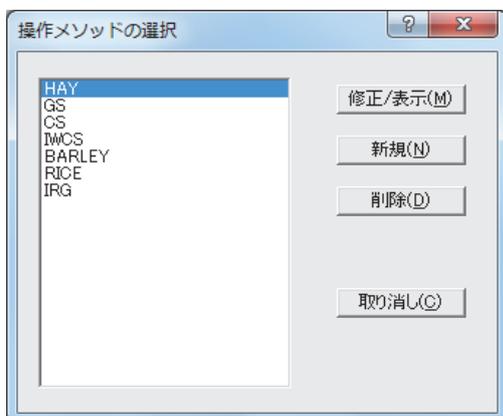
- ・新規に作成された操作メソッド"NIRS6500"が選択反転されていることを確認し、"OK"をクリックする。



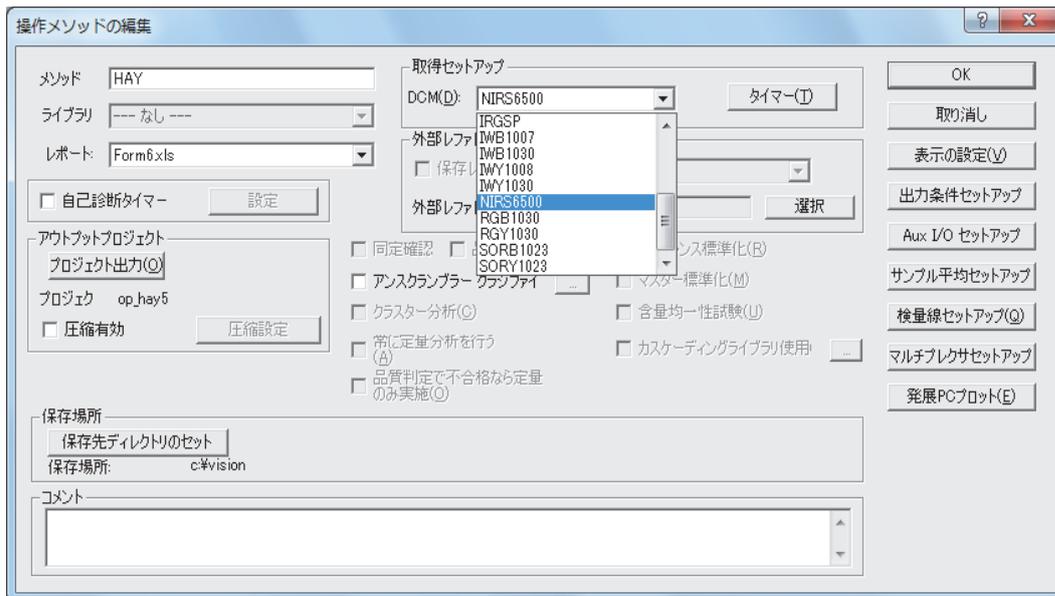
- ・プロジェクト"forage\_analysis5"が開いた状態に戻る。



- ・操作メソッド中に設定されている"データ収集メソッド"を上記で作成した"NIRS6500"に変更する。
- ・"モード"→"ルーチン解析"→"操作メソッドの定義"を選択する。



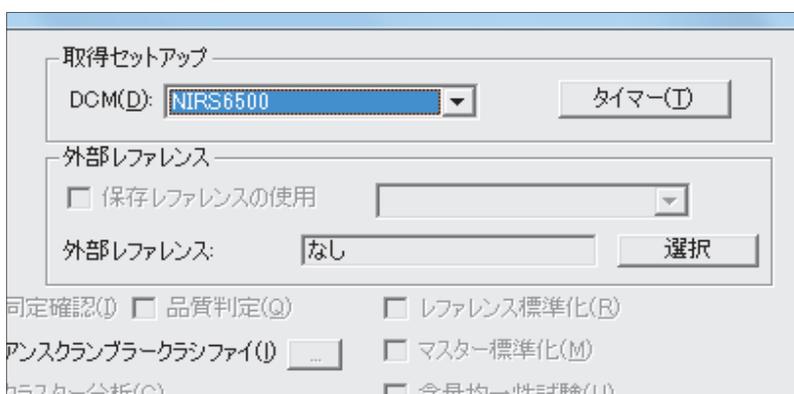
- ・操作メソッド"HAY"を選択反転させ、"修正/表示"のボタンをクリックする。



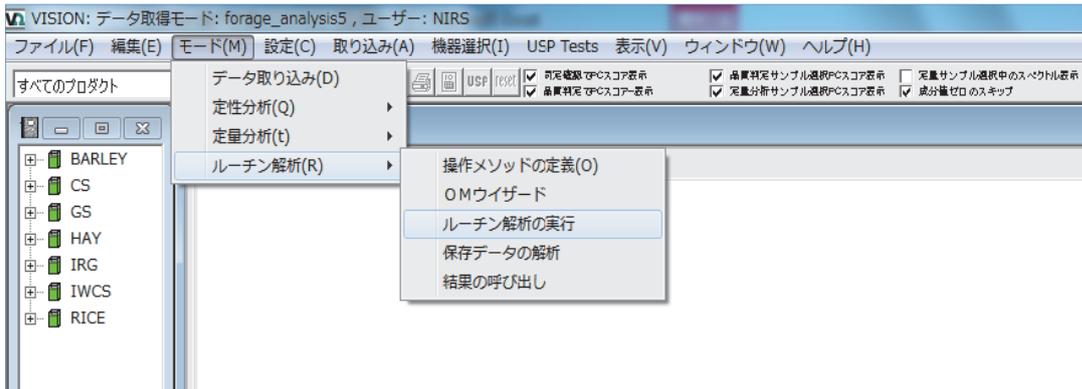
- 以下に拡大画面を示す。



- 取得セットアップの項目で、DCM 右横のテキストボックスのプルダウン"▼"をクリックし、現れたリストより"NIRS6500"を選択する。



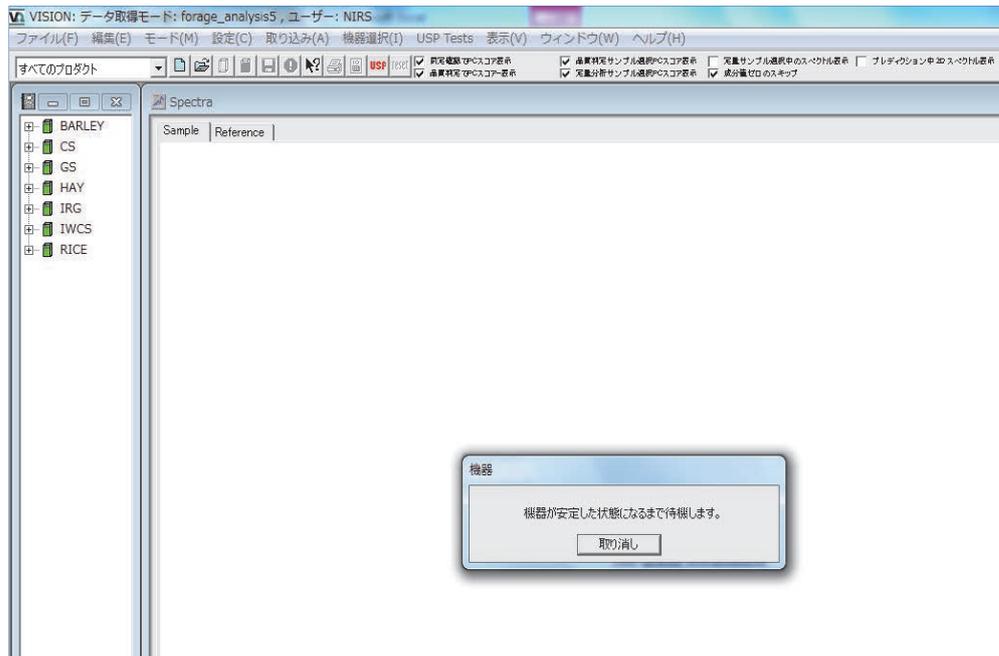
- DCM に上記で作成した"NIRS6500"が選択されていることを確認し"OK"をクリックする。



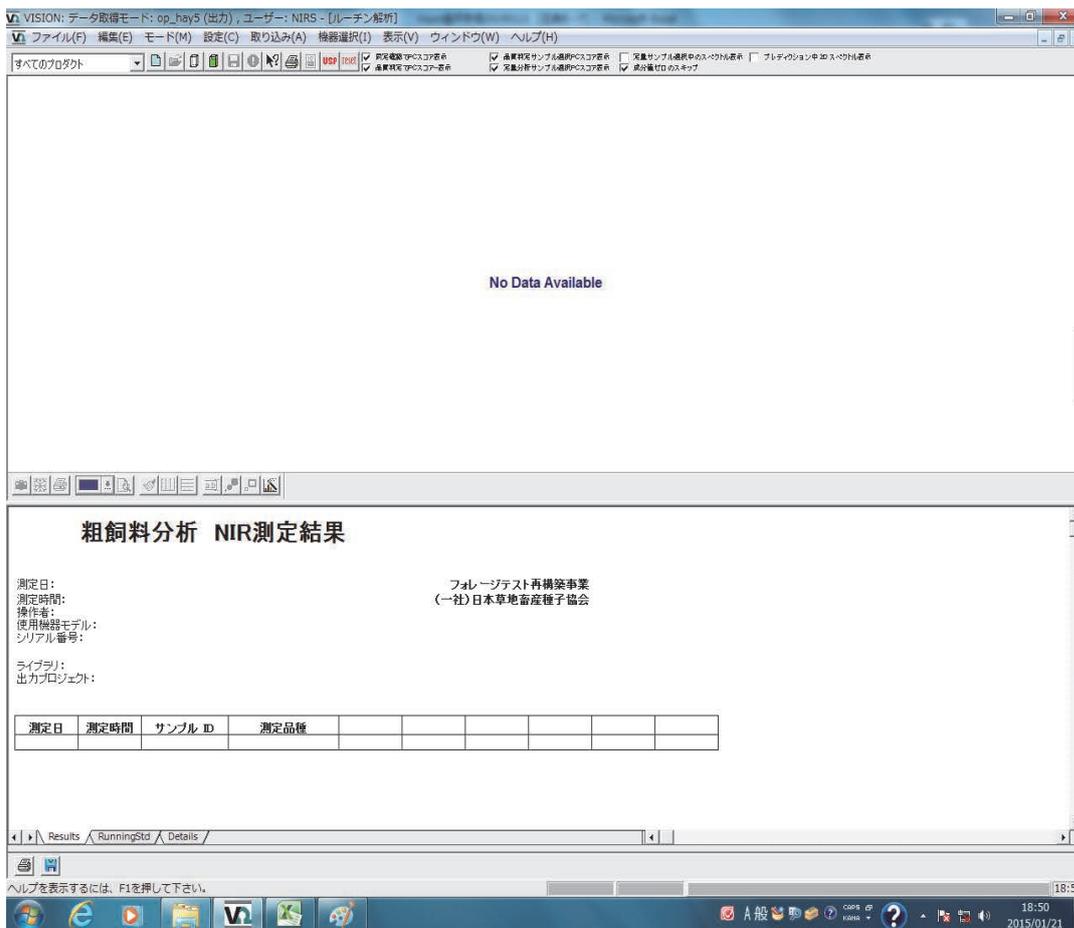
- 機器のウォーミングアップが十分に完了した後（ランプ点灯後、2時間程度必要）、上記画面の手順にてサンプル測定を実施する。（"モード"→"ルーチン解析"→"ルーチン解析の実行"）



- ここでは選択メソッド"HAY"を選択し、"OK"をクリックする。



- 機器のウォーミングアップが十分でないと、上の画面のようなコメントが出るので、コメントが消えるまで待機する。



- ・以下に拡大画面を示す。



- ・検量線移設用、標準試料を機器にセットする。  
サンプルセルを、ラベルが正しく上を向くようにサンプルカップホルダにセットする。  
(本マニュアル 44 ページ、写真 4.1 参照。)



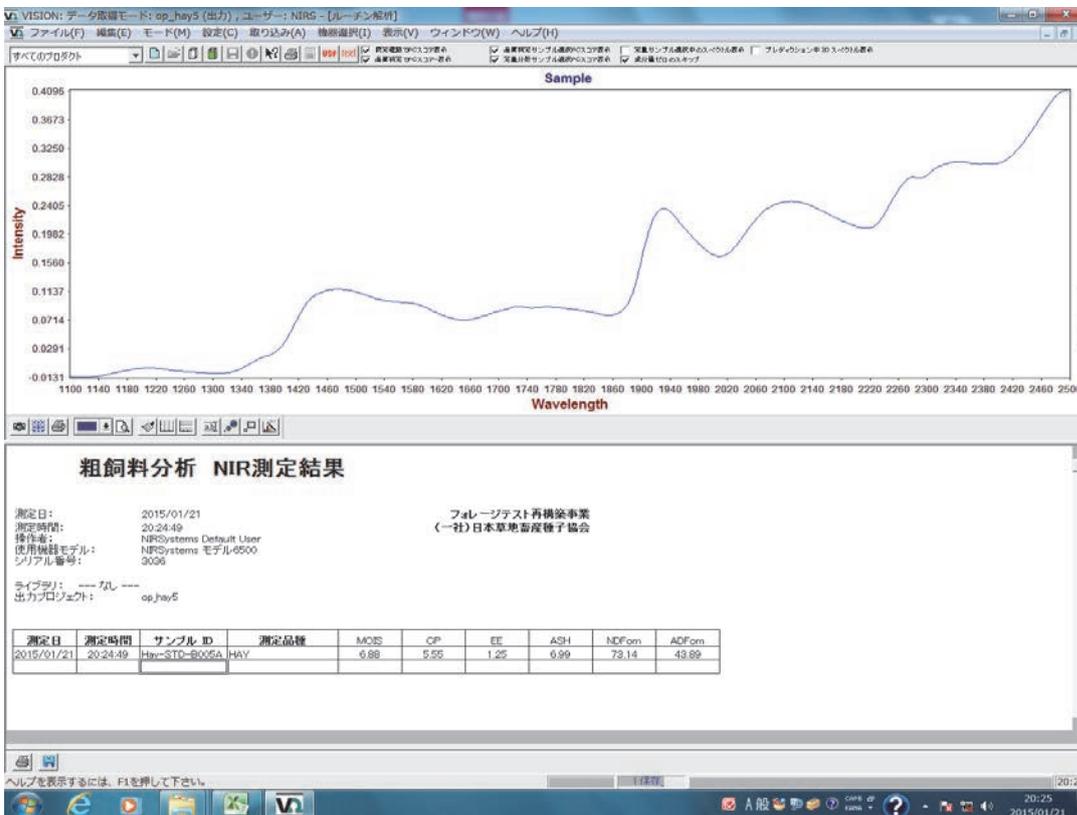
- ・緑色でキューベットの形をしたアイコン "サンプル" (メニューバーのすぐ下) をクリックし、サンプル情報入力ボックスを表示する。



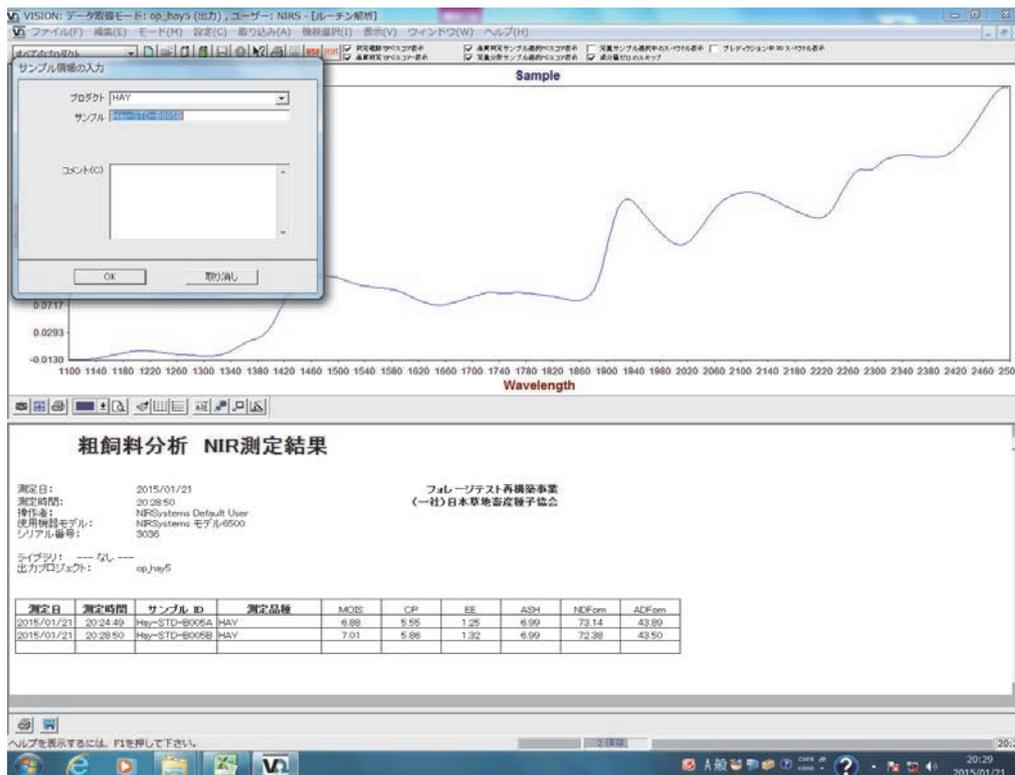
- プロダクト ID に目的のプロダクトが選択されていることを確認する。
- プロダクト ID 名は測定対象によって変わる。  
(※プロダクト: 第 8 章用語解説を参照のこと)



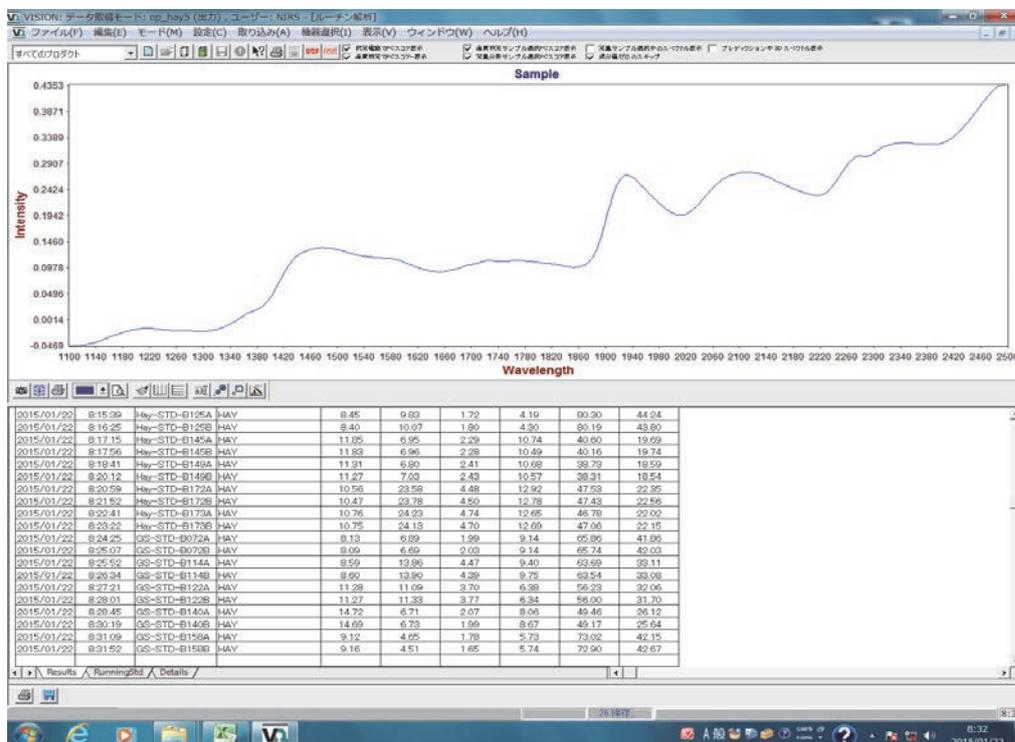
- サンプル ID に測定サンプル名を入力し、"OK"をクリックする。
- 測定が開始される。



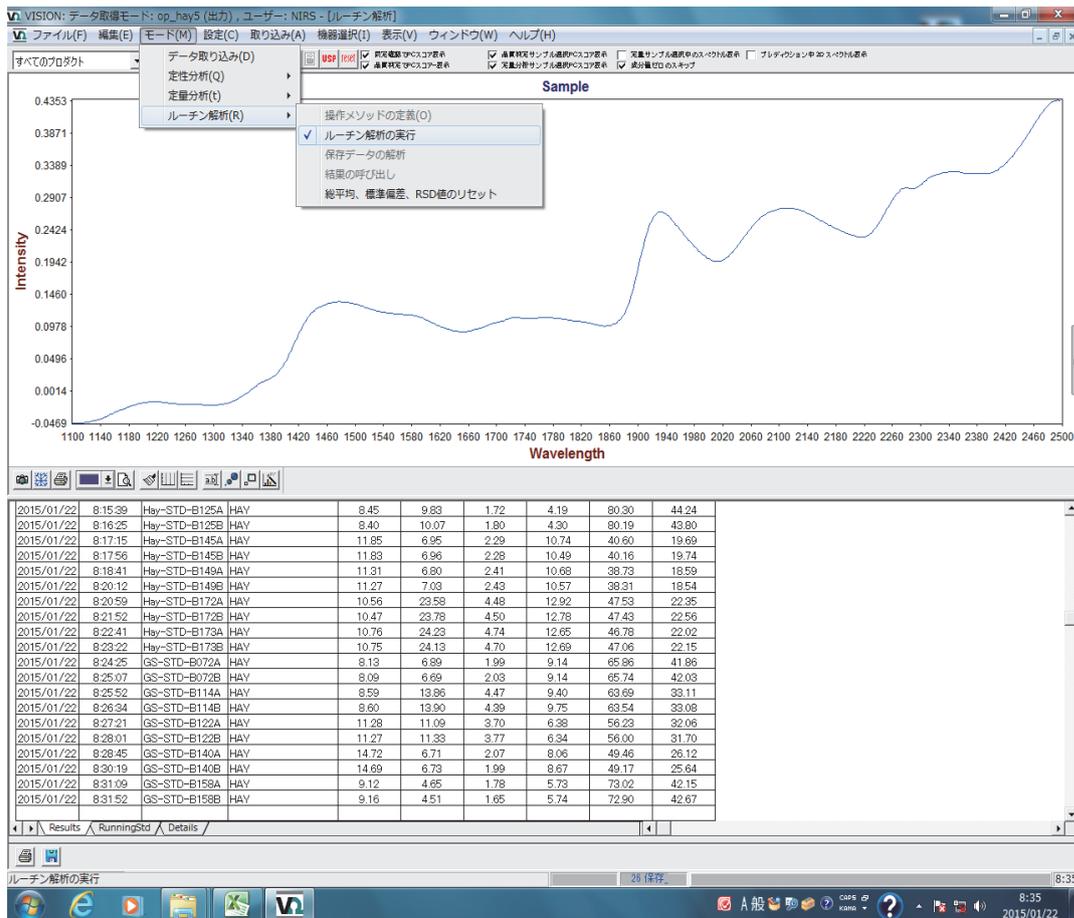
- 画面に移設用標準試料のスペクトルと共に調整前の分析値が出力される。



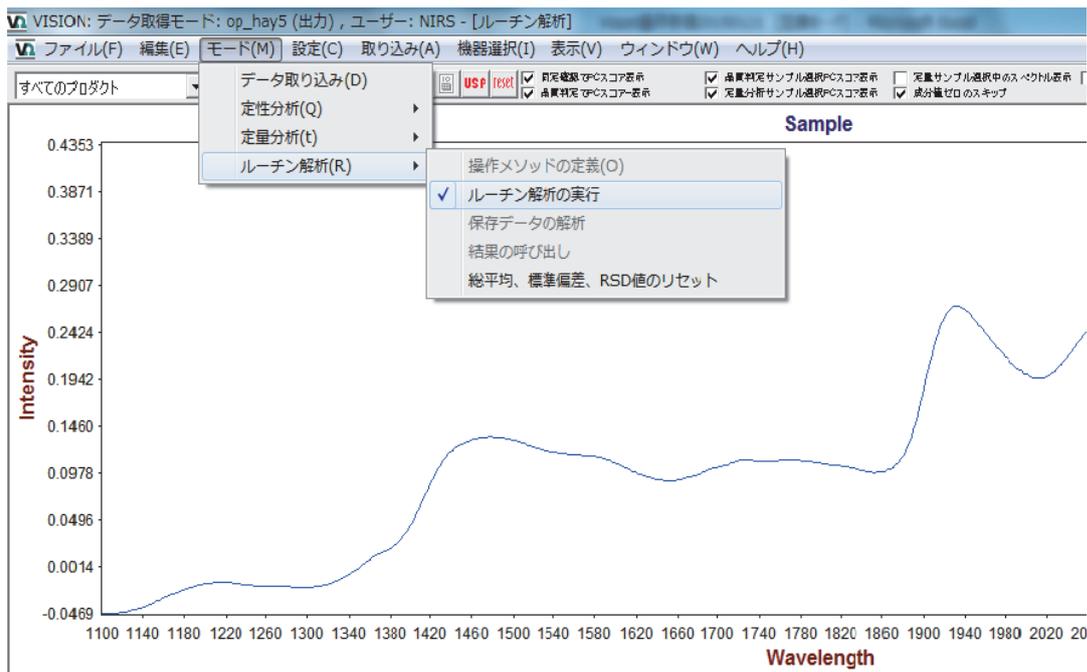
- ・ 移設用標準試料をホルダ上で 90 度回転させた後、メニューバー直下にある緑色のキュベットセルアイコンをクリックし、サンプル測定を繰り返す。  
 (本マニュアル 44 ページ、写真 4.2 参照。)

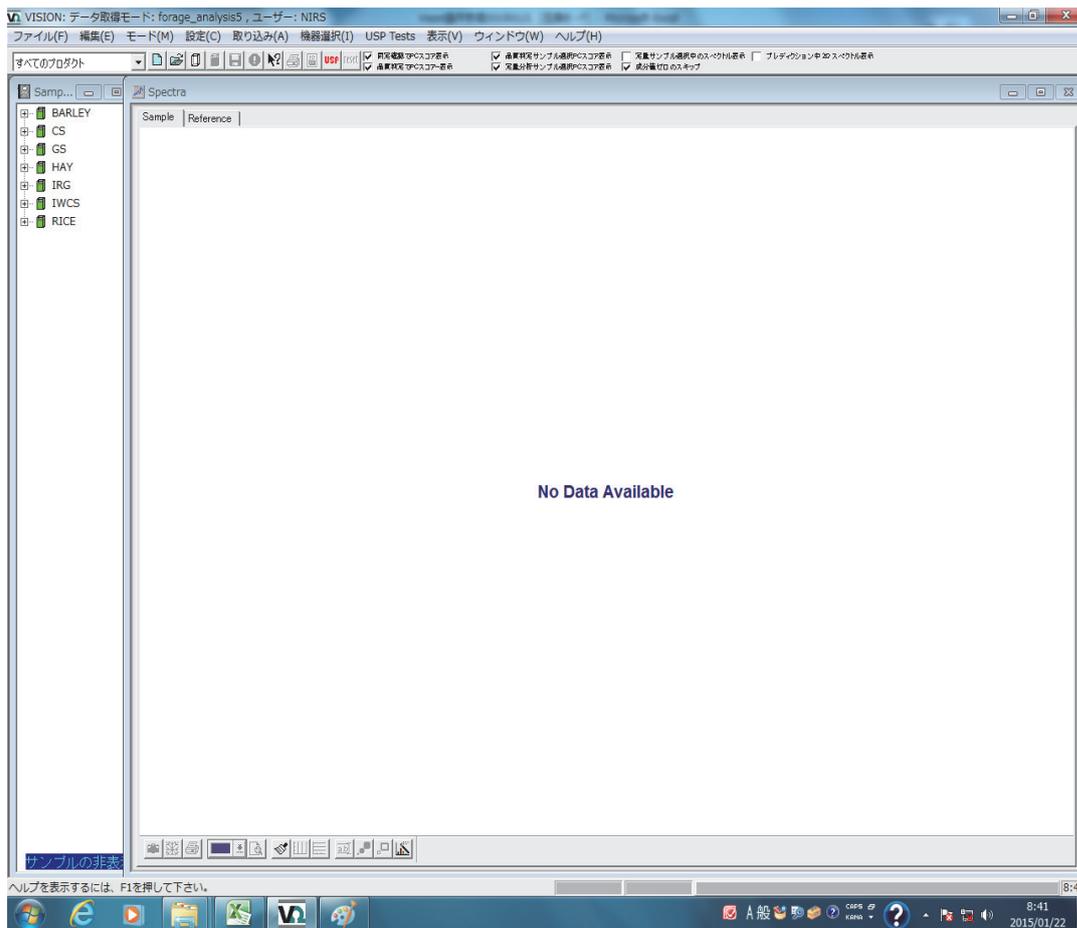


- ・ 次の移設用標準試料をフォルダにセットし、同様の手順で測定を繰り返す。
- ・ 移設用標準試料を全て、繰り返し2回（90度回転）測定する。



- 下記の手順で日常分析モードを終了する。（スペクトルは自動的に保存される。）
- "モード"→"ルーチン解析"→"ルーチン解析の実行"を選択する。
- 以下に拡大画面を示す。

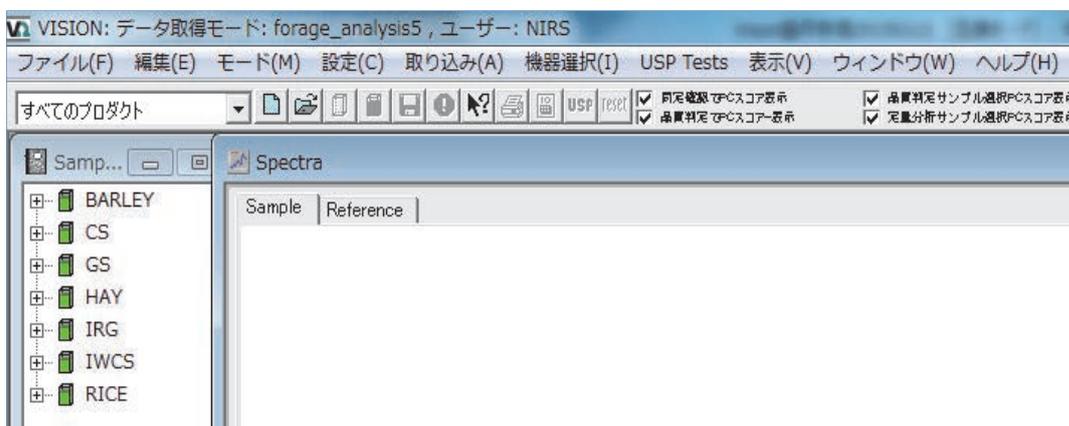




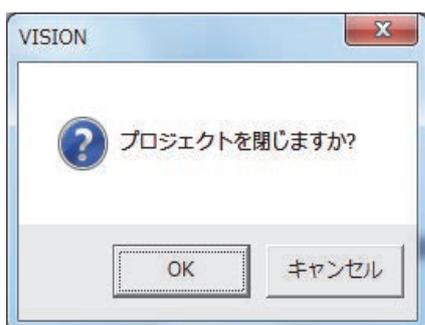
- "データ取得モード"に戻る。

#### (4) 基準化試料のデータ入力

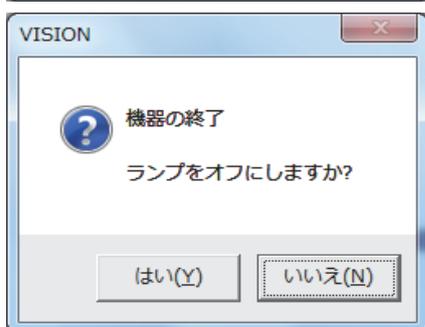
取得した基準化サンプルのスペクトルに畜草研の機器で推定した分析値を入力する。  
Vision ではデータをエクセルファイルからコピーできる。



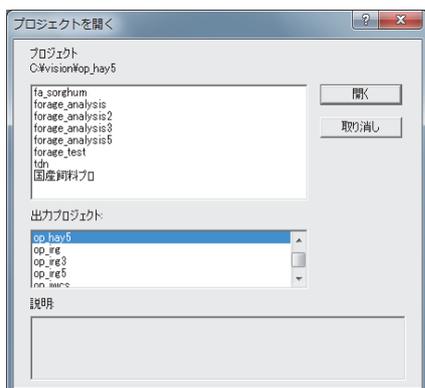
- ・ スペクトル測定（日常分析）によって測定されたスペクトルは、既に設定済みの出力プロジェクトに保存されているので、スペクトル保存先である出力プロジェクトを下記手順にて開く。（※プロジェクト、プロダクト： 第8章用語解説参照のこと）



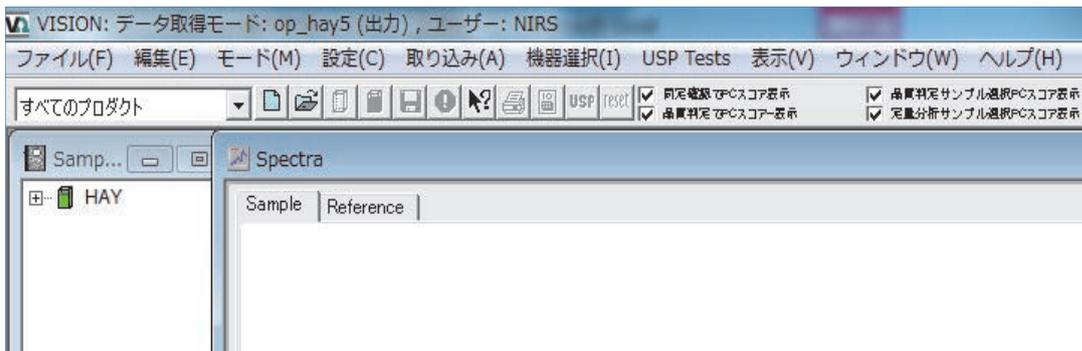
- ・ 現在開いているプロジェクトを閉じるために確認のボックスが表示されるので、"OK"をクリックする。



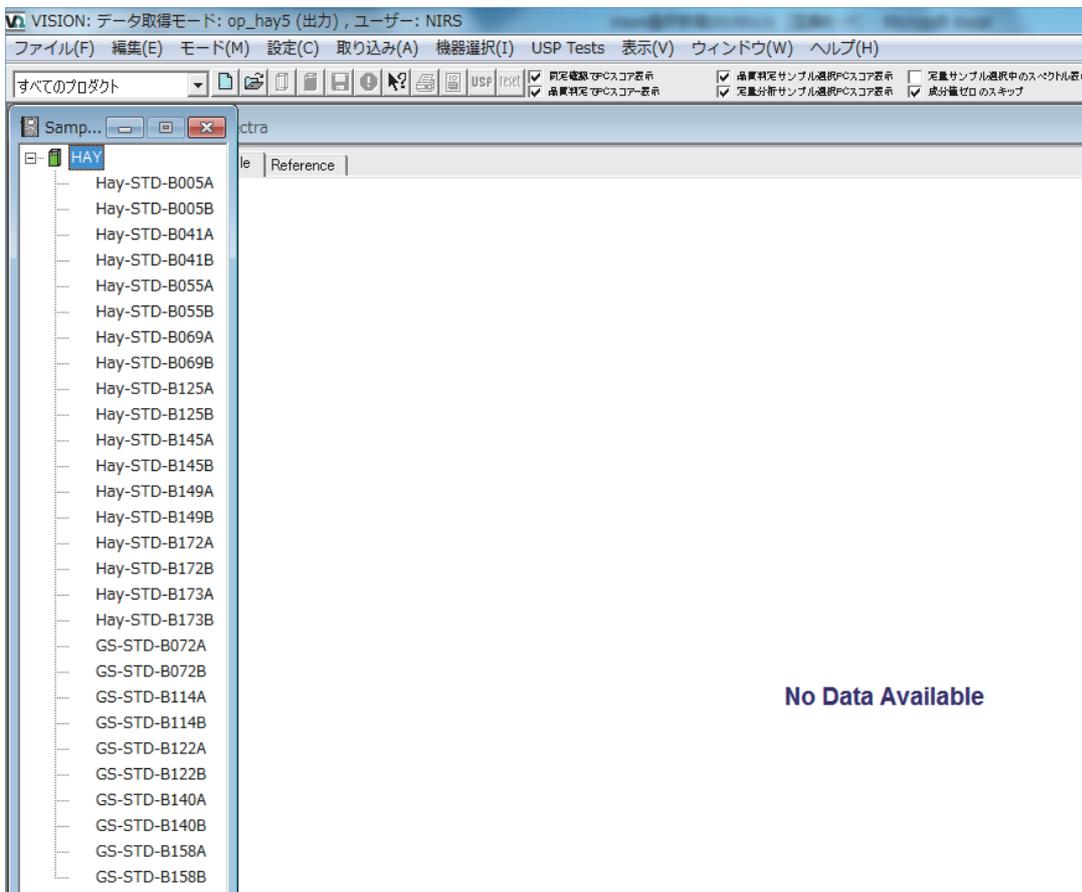
- ・ 現プロジェクトで機器との接続を終了するため、機器のランプを消灯するかの確認ボックスが表示される。 継続して試料測定を実施する場合は、"いいえ"をクリックする。



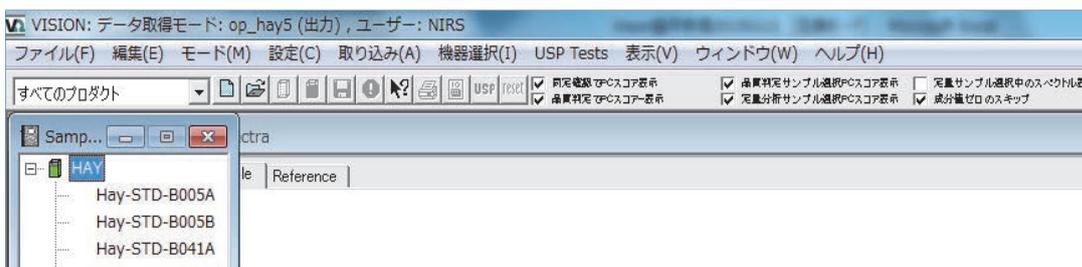
- ・ ルーチン解析によって測定されたスペクトルは、出力プロジェクト内に保存されている。ここでは、出力プロジェクト"op-hay5"を選択反転して"開く"をクリックする。



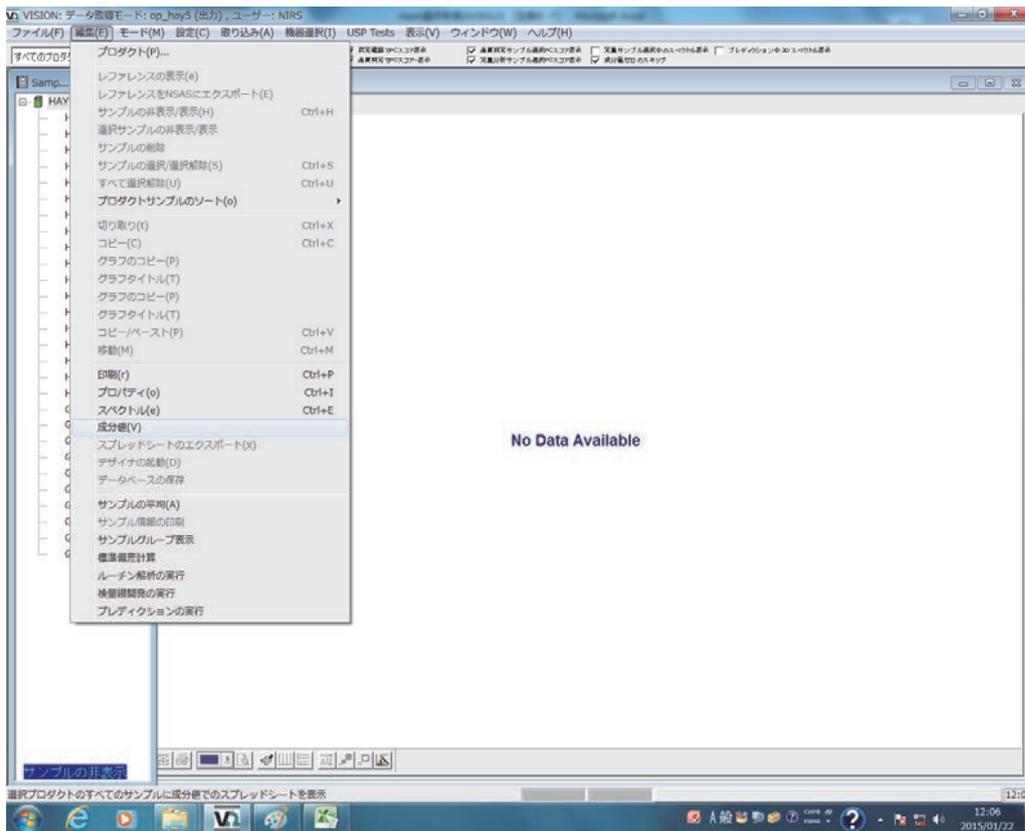
- ・出力プロジェクト内にあるプロダクト（小ウィンドウで表示されている緑のキューベットアイコンのこと）内に測定スペクトルが保存されている。



- ・プロダクトの左にある[+]をクリックすると、プロダクトが展開され、保存スペクトルが表示される。

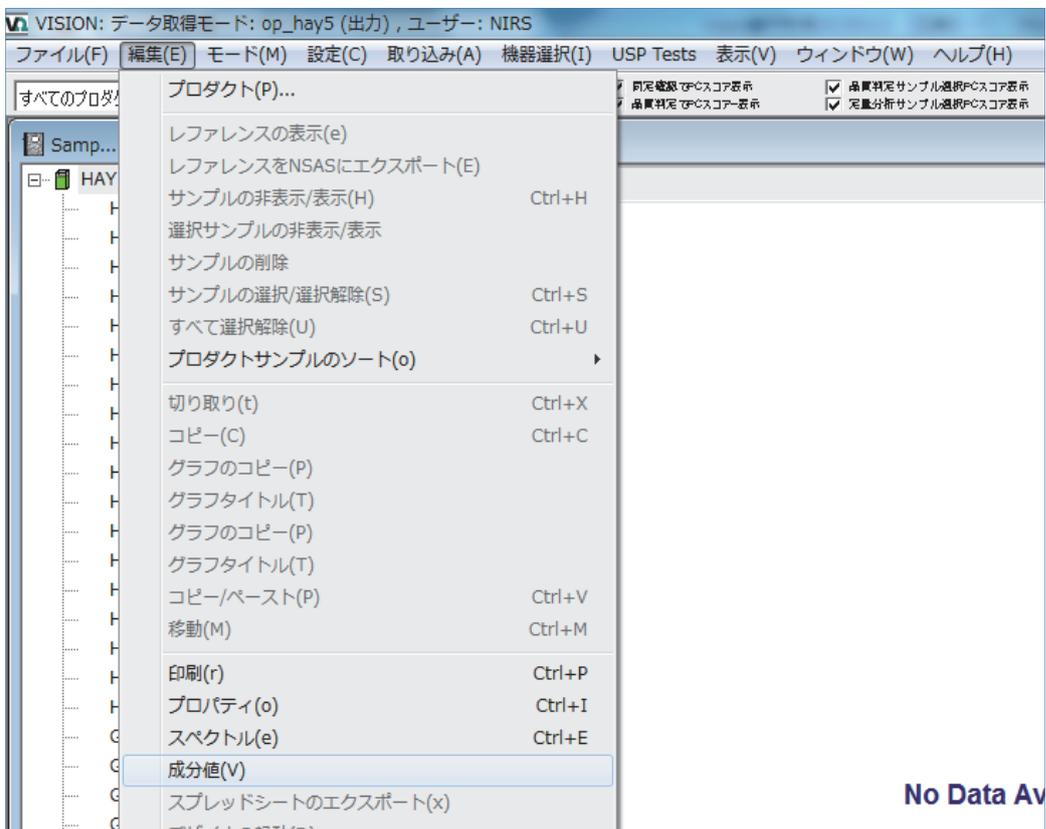


- ・プロダクト名が青色反転して(選択されて)いることを確認する。



・メニューの"編集"→"成分値"を選択する。

・以下に拡大画面を示す。



サンプル情報

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	プロジェクト: op_hay5											
2	プロジェクト: HAY											
3	Sample	MOIS	CP	EE	ASH	NDFom	ADFom					
4												
5	Hay-STD-B005A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
6	Hay-STD-B005B	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
7	Hay-STD-B041A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
8	Hay-STD-B041B	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
9	Hay-STD-B055A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
10	Hay-STD-B055B	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
11	Hay-STD-B069A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
12	Hay-STD-B069B	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					
13	Hay-STD-B125A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00					

Close 印刷(P) Excelにエクスポート(E) 貼り付け(A) サンプルの削除

- ・ 移設用基準値を入力するシートが表示される。(初期値としてゼロが入力されている。)
- ・ 配布された CD 内に保存されている基準化サンプルの推定値 (Excel ファイル) を開く。
- ・ サンプルおよび成分項目の並び順が、上記のシートと同じであることを確認した後、目的の範囲をエクセル上で"コピー(C)"する。

(下記画面は、エクセルファイルに保存されているデータを示す。)

HAY-STDY1008 [互換モード] - Microsoft Excel

粗飼料分析 N (Analyze Stored Data)

Acquired: 測定日: 2014/10/08 測定時間: 18:26:01 操作者: NRSsystems Defau Author/Operator 使用機器モデル: NRSsystems Model 6500 シリアル番号: 不連

再分析: 日付: 2014/10/09 時間: 23:42:35 フォレージスト再構築事業 (一社)日本草地畜産種子協会 NRSsystems Default User

ライブラリ: --- なし --- 出カプロジェクト: op\_hay2

測定日	測定時間	サンプル ID	測定品種	MOIS	CP	EE	ASH	NDFom	ADFom
2014/10/08	17:59:43	HAYY-005A	HAY	6.79	6.60	1.00	7.46	72.65	44.83
2014/10/08	18:00:42	HAYY-005B	HAY	6.82				72.57	45.00
2014/10/08	18:01:50	HAYY-026A	HAY	8.70				69.55	39.76
2014/10/08	18:02:48	HAYY-026B	HAY	9.60				69.90	40.07
2014/10/08	18:03:45	HAYY-041A	HAY	12.08				63.37	36.75
2014/10/08	18:04:34	HAYY-041B	HAY	12.01				62.89	35.73
2014/10/08	18:05:33	HAYY-055A	HAY	8.14				58.83	36.81
2014/10/08	18:06:24	HAYY-055B	HAY	8.04				59.36	37.19
2014/10/08	18:07:23	HAYY-069A	HAY	8.07				64.96	42.21
2014/10/08	18:08:11	HAYY-069B	HAY	8.17				65.50	42.27
2014/10/08	18:09:39	HAYY-125A	HAY	7.96				77.13	44.36
2014/10/08	18:10:27	HAYY-125B	HAY	7.83				77.47	45.29
2014/10/08	18:11:30	HAYY-145A	HAY	11.55				39.69	21.69
2014/10/08	18:12:20	HAYY-145B	HAY	11.46				39.93	22.29
2014/10/08	18:13:15	HAYY-149A	HAY	10.99				38.66	21.44
2014/10/08	18:14:01	HAYY-149B	HAY	10.87				38.46	21.67
2014/10/08	18:14:52	HAYY-172A	HAY	10.23				45.13	23.61
2014/10/08	18:15:40	HAYY-172B	HAY	10.20				45.07	23.69
2014/10/08	18:16:33	HAYY-173A	HAY	10.35				45.21	23.47
2014/10/08	18:17:16	HAYY-173B	HAY	10.29				45.41	23.61
2014/10/08	18:18:46	GSY-072A	HAY	7.75				65.06	43.53
2014/10/08	18:19:33	GSY-072B	HAY	7.77				64.23	43.13
2014/10/08	18:20:30	GSY-114A	HAY	8.39				61.30	34.24
2014/10/08	18:21:16	GAY-114B	HAY	8.31				61.24	34.23
2014/10/08	18:22:07	GAY-122A	HAY	10.63	10.74	3.55	6.94	55.27	32.85
2014/10/08	18:22:51	GSY-122B	HAY	10.63	11.02	3.65	6.99	54.76	32.57
2014/10/08	18:23:41	GSY-140A	HAY	14.76	6.55	1.82	8.20	47.70	26.30
2014/10/08	18:24:25	GSY-140B	HAY	14.37	6.54	1.85	8.27	47.77	26.93
2014/10/08	18:25:16	GSY-158A	HAY	8.48	4.64	1.71	7.32	71.24	44.45
2014/10/08	18:26:01	GSY-158B	HAY	8.64	4.91	1.67	7.45	70.92	43.64

Results / RunningStd / Details

コピー - 先を選択し、Enter キーを押すか、貼り付けを選択します。 平均: 20.51 データの個数: 180 合計: 3692.66 100%

2015/01/22 12:36

サンプル情報

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	プロジェクト: op_hay5											
2	プロジェクト: HAY											
3	Sample	MOIS	CP	EE	ASH	NDFom	ADFom					
4												
5	Hay-STD-B005A	6.79	5.62	1.28	7.46	72.65	44.89					
6	Hay-STD-B005B	6.82	5.60	1.24	7.72	72.57	45.00					
7	Hay-STD-B041A	12.08	8.96	1.49	6.96	63.37	36.75					
8	Hay-STD-B041B	12.01	9.36	1.55	7.30	62.89	35.73					
9	Hay-STD-B055A	8.14	2.40	0.45	7.15	58.83	36.81					
10	Hay-STD-B055B	8.04	2.43	0.43	7.20	59.36	37.19					
11	Hay-STD-B069A	8.07	2.60	0.48	6.61	64.96	42.21					
12	Hay-STD-B069B	8.17	2.31	0.45	6.29	65.50	42.27					
13	Hay-STD-B125A	7.96	10.57	1.75	6.27	77.13	44.36					

Close 印刷(P) Excelにエクスポート(E) 貼り付け(A) サンプルの削除

- Vision に戻り、シート上でサンプル及び成分項目の一番初めのセルを選択し、"貼り付け"のボタンをクリックする。

VISION: データ取得モード: op\_hay5 (出力), ユーザー: NIRS

ファイル(F) 編集(E) モード(M) 設定(C) 取り込み(A) 機器選択(I) USP Tests 表示(V) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)

すべてのプロダクト

Samp... ctra

HAY

- Hay-STD-B005A
- Hay-STD-B005B
- Hay-STD-B041A
- Hay-STD-B041B
- Hay-STD-B055A
- Hay-STD-B055B
- Hay-STD-B069A
- Hay-STD-B069B
- Hay-STD-B125A
- Hay-STD-B125B
- Hay-STD-B145A
- Hay-STD-B145B
- Hay-STD-B149A
- Hay-STD-B149B
- Hay-STD-B172A
- Hay-STD-B172B
- Hay-STD-B173A
- Hay-STD-B173B
- GS-STD-B072A
- GS-STD-B072B
- GS-STD-B114A
- GS-STD-B114B
- GS-STD-B122A
- GS-STD-B122B
- GS-STD-B140A
- GS-STD-B140B
- GS-STD-B158A
- GS-STD-B158B

le Reference |

サンプル情報

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	プロジェクト: op_hay5											
2	プロジェクト: HAY											
3	Sample	MOIS	CP	EE	ASH	NDFom	ADFom					
4												
5	Hay-STD-B005A	6.79	5.62	1.28	7.46	72.65	44.89					
6	Hay-STD-B005B	6.82	5.60	1.24	7.72	72.57	45.00					
7	Hay-STD-B041A	12.08	8.96	1.49	6.96	63.37	36.75					
8	Hay-STD-B041B	12.01	9.36	1.55	7.30	62.89	35.73					
9	Hay-STD-B055A	8.14	2.40	0.45	7.15	58.83	36.81					
10	Hay-STD-B055B	8.04	2.43	0.43	7.20	59.36	37.19					
11	Hay-STD-B069A	8.07	2.60	0.48	6.61	64.96	42.21					
12	Hay-STD-B069B	8.17	2.31	0.45	6.29	65.50	42.27					
13	Hay-STD-B125A	7.96	10.57	1.75	6.27	77.13	44.36					

Close 印刷(P) Excelにエクスポート(E) 貼り付け(A) サンプルの削除

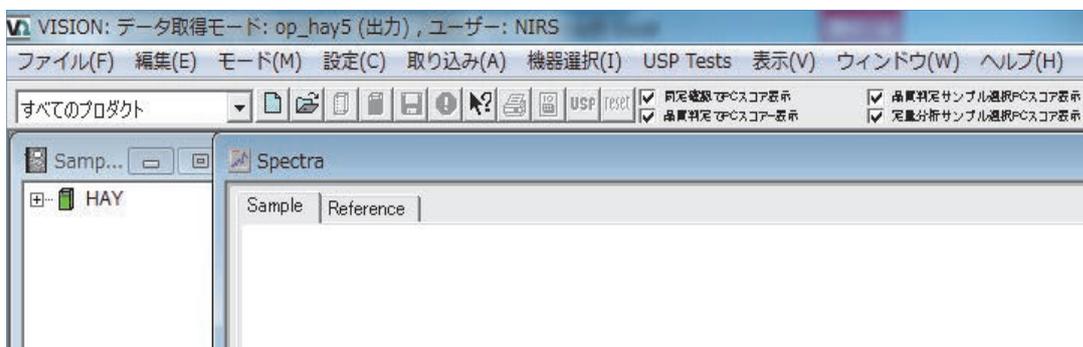
No Data Available

ヘルプを表示するには、F1を押して下さい。

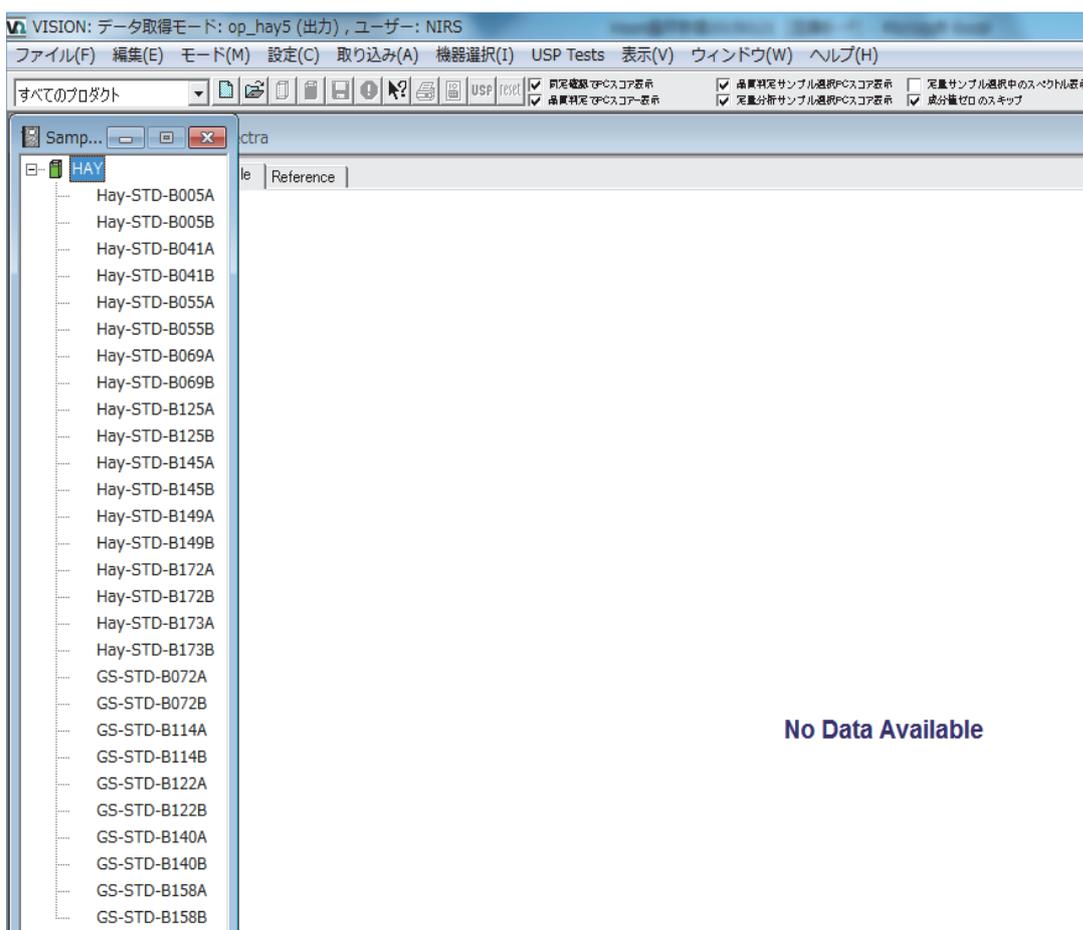
12:54 2015/01/22

- 標準化サンプルの推定値がシート上に入力されたことを確認して、"Close"のボタンをクリックする。

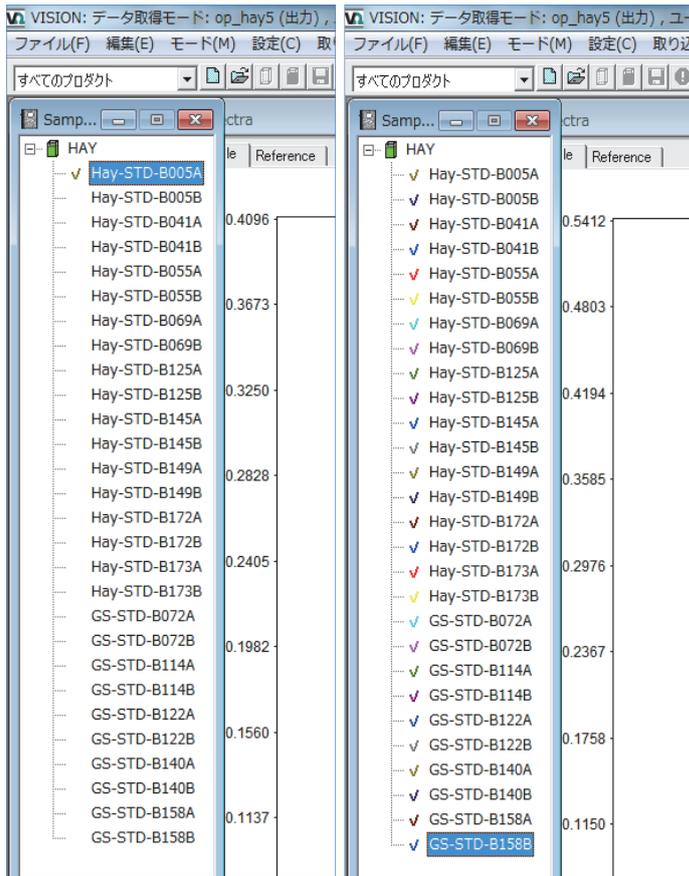
- ・ここまでの移設手順の説明画面は、牧乾草、イタリアンライグラス乾草、牧草サイレージの複数の検量線移設を、例示画面に示した牧乾草と牧草サイレージの両方を含むサンプルセットを用いて行っている。このため、イタリアンライグラス乾草及び牧草サイレージの検量線移設にも牧乾草と牧草サイレージのスペクトルが必要となる。このように、異なる検量線移設を同じサンプルセットを使って行う場合の手順を次に示す。



- ・出力プロジェクト内にあるプロダクト（小ウィンドウで表示されている緑のキューベットアイコン"HAY"）内に測定スペクトルが保存されている。（前述と同様）

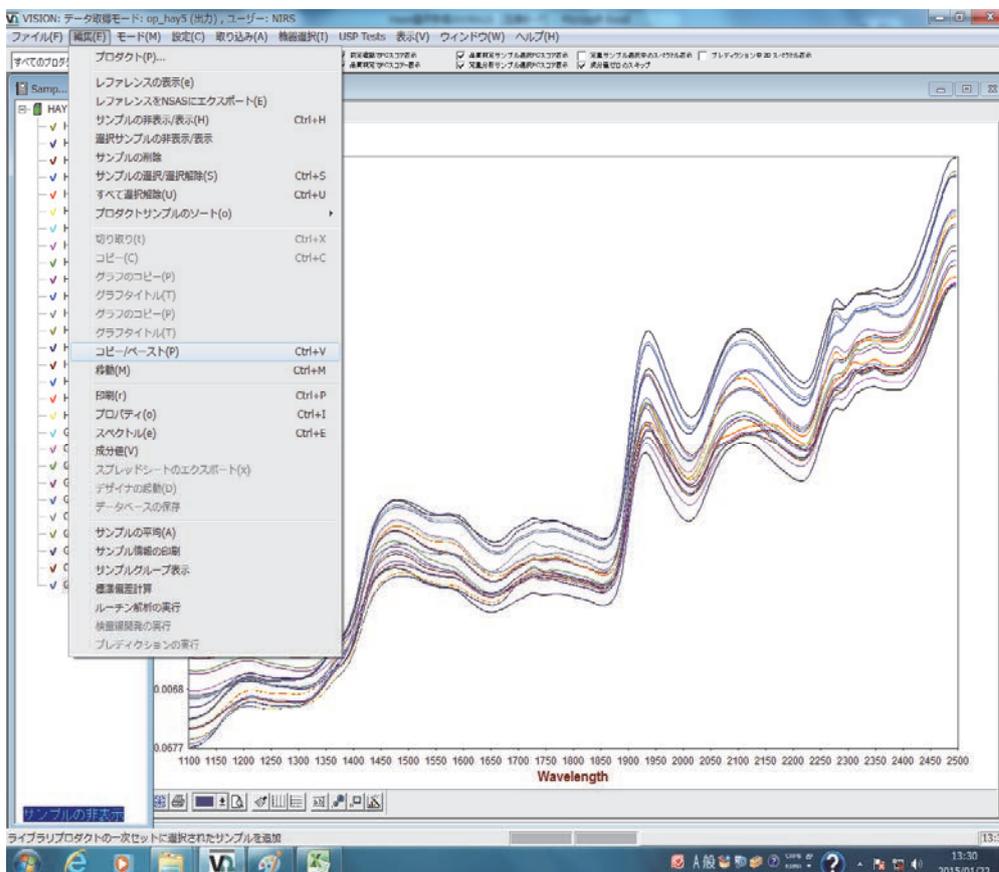


- ・プロダクトの左にある [+ ] をクリックすると、プロダクトが展開され保存スペクトルが表示される。

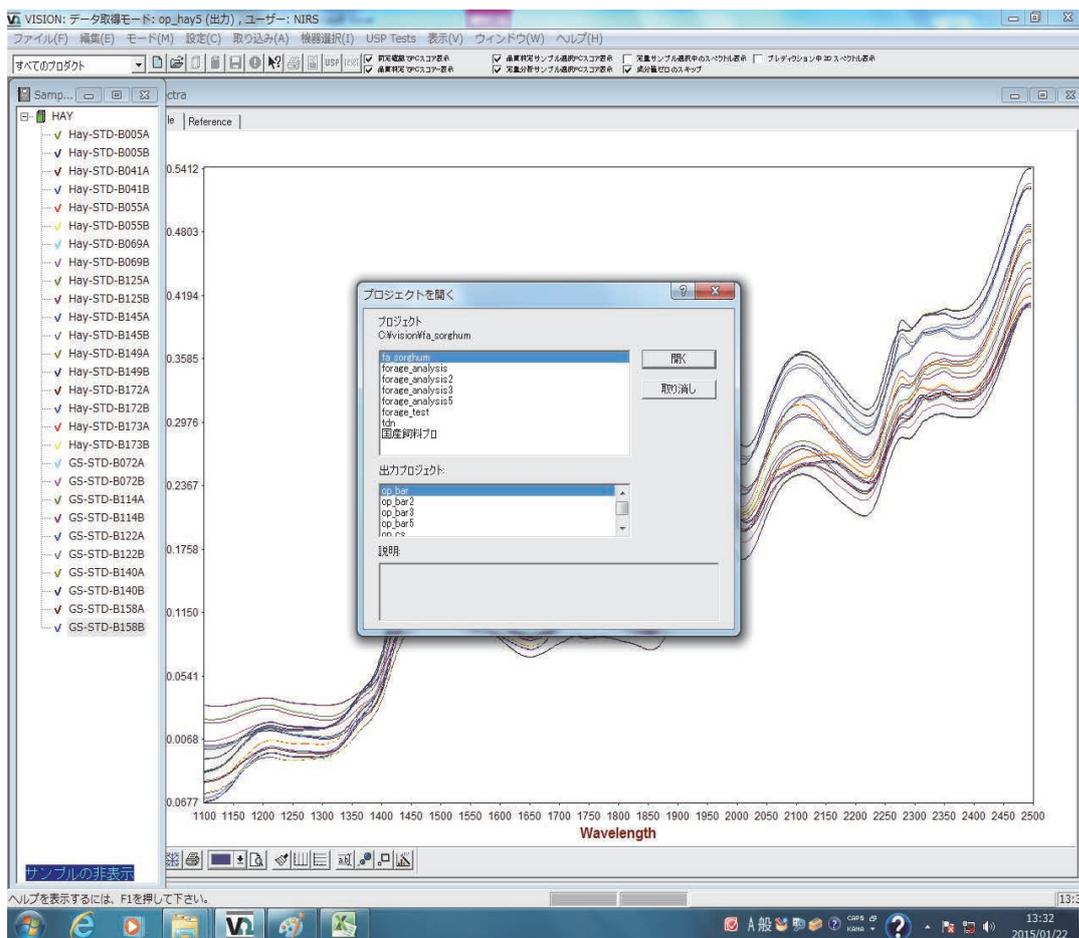


• 左図に拡大画面を示す。

• 展開した先頭のスペクトル名をクリックすると左側に"✓"が付される。最後のスペクトル名にカーソルを持っていき"Shift"キーを押しながらクリックすると全てのスペクトルに"✓"が付される

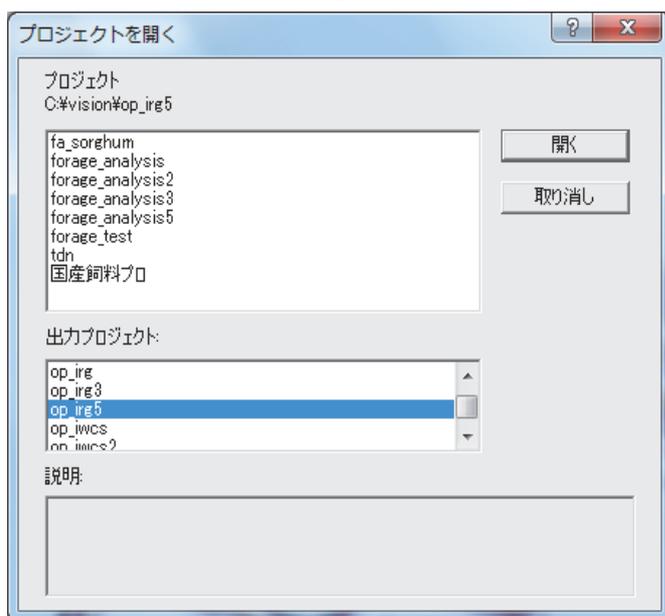


• "編集"→"コピー／ペースト"を選択する。

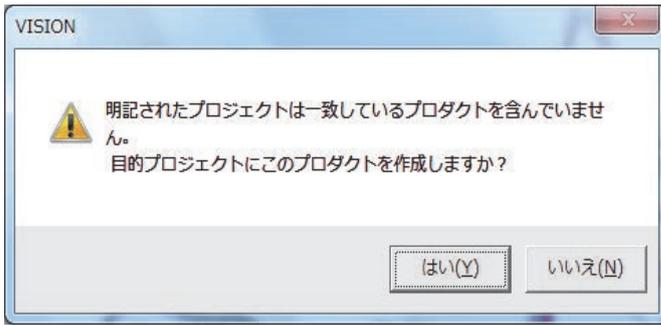


・コピー先のプロジェクト名を選択する。ここではイタリアンライグラスの"op\_irg5"を選択する。

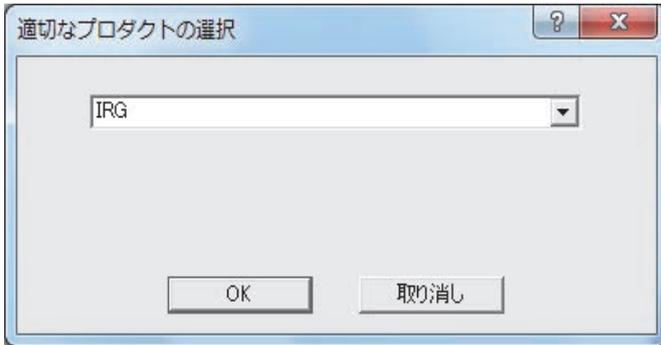
・以下に拡大画面を示す。



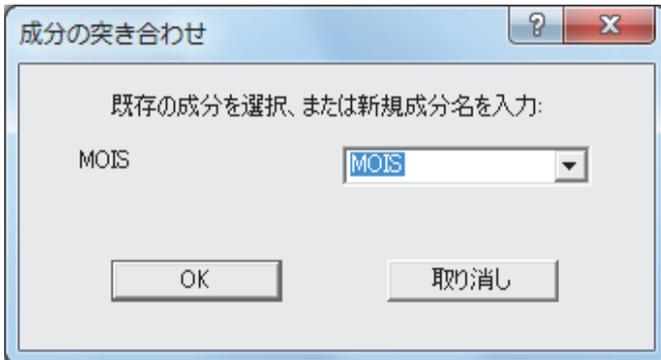
・"開く"を選択してクリックする。



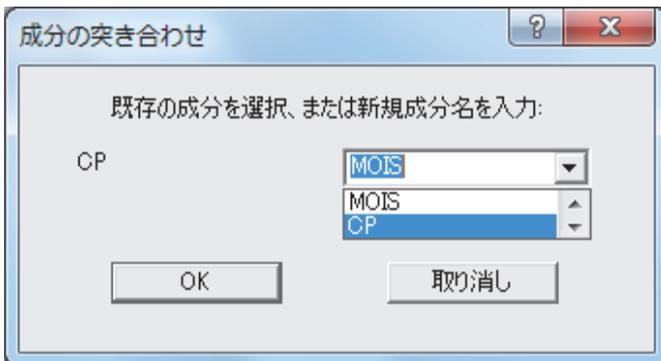
- "はい"をクリックする。



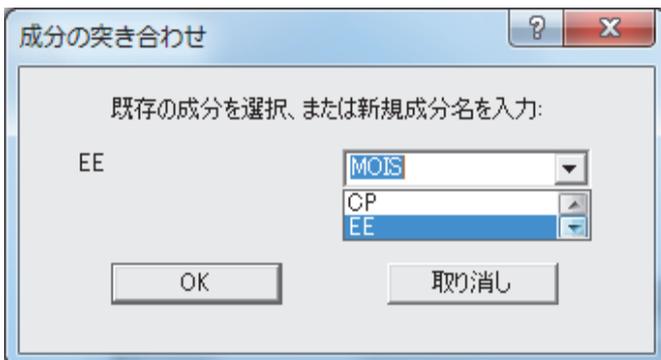
- "OK"をクリックする。



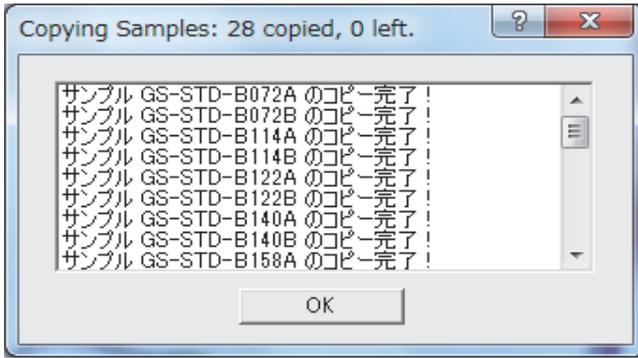
- コピー元とコピー先の成分の順番を同じくするため、それぞれの成分を選択して指定する。



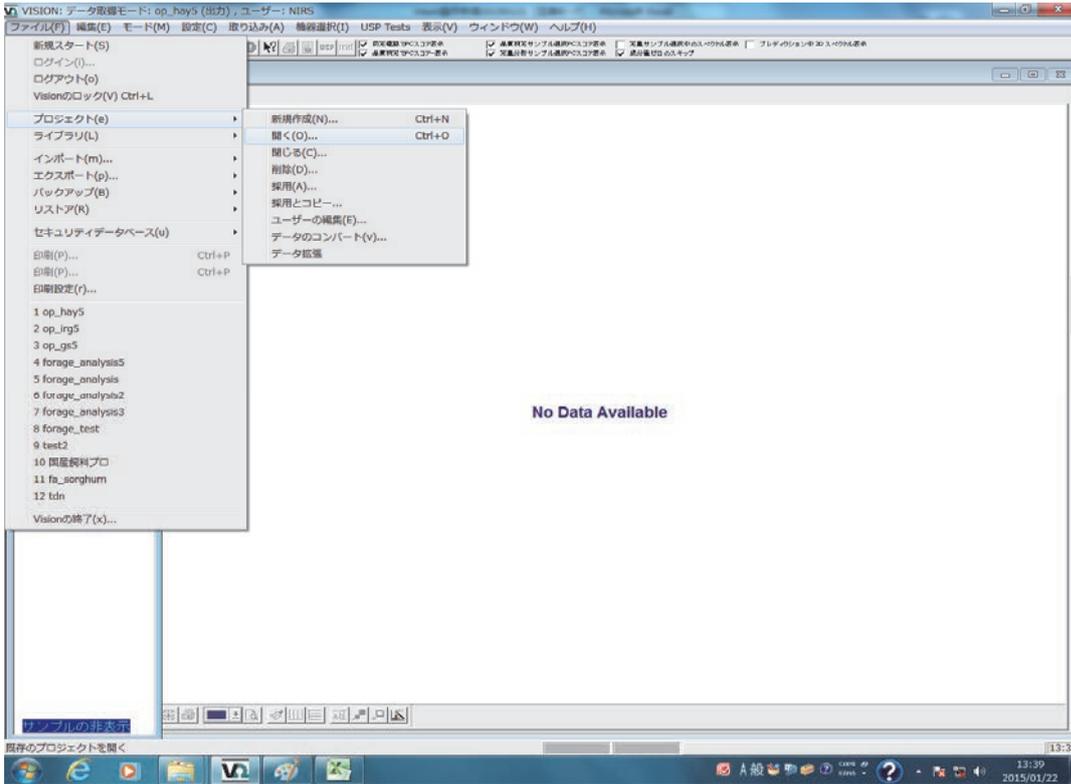
- コピー元の2番目が"CP"と表示されるので、枠内の▼を押して同じ成分を選択する。コピー先の成分の順番を同じくするため、"CP"を選択して指定する。



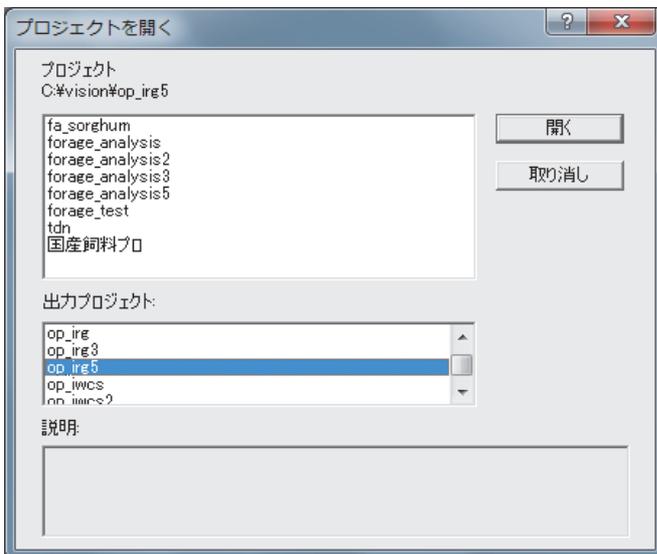
- コピー元の3番目が"EE"と表示されるので、同様に枠内の▼を押して同じ成分を選択する。以後、すべての成分について指定する。



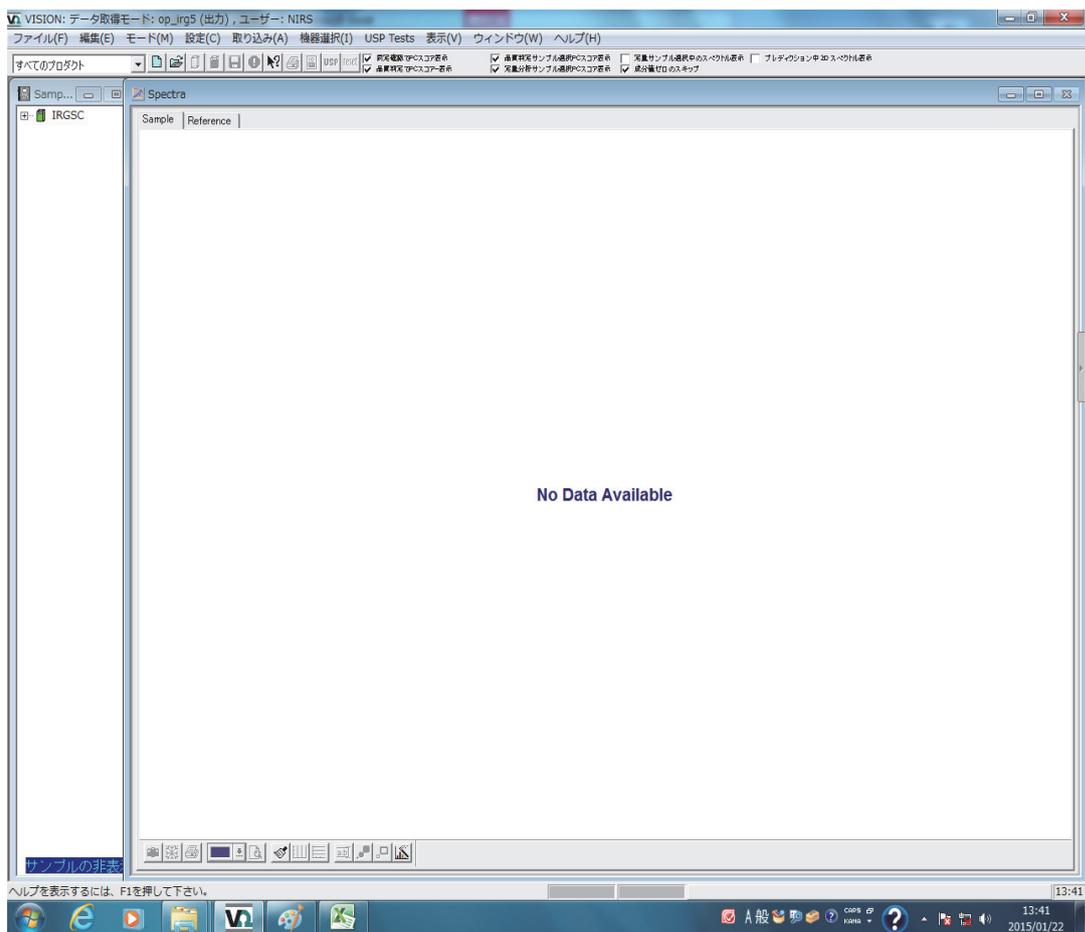
- 成分の指定が終わると、コピーが始まり、完了の表示が出る。



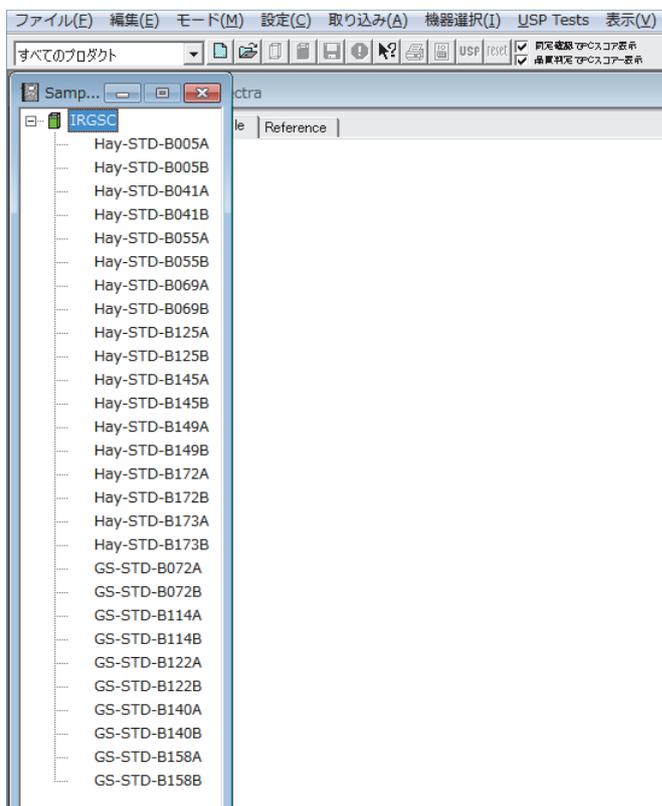
- コピー先のプロジェクトに入るため"ファイル"→"プロジェクト"→"開く"を選択する。



- コピー先のプロジェクトを選択する。ここでは "op\_irc5" を選択する。



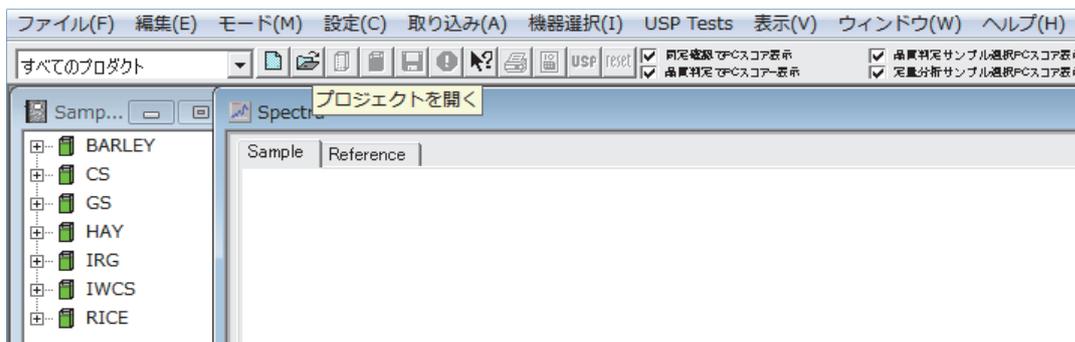
- "op\_irg5"が開く。左側の緑のアイコンを展開する。



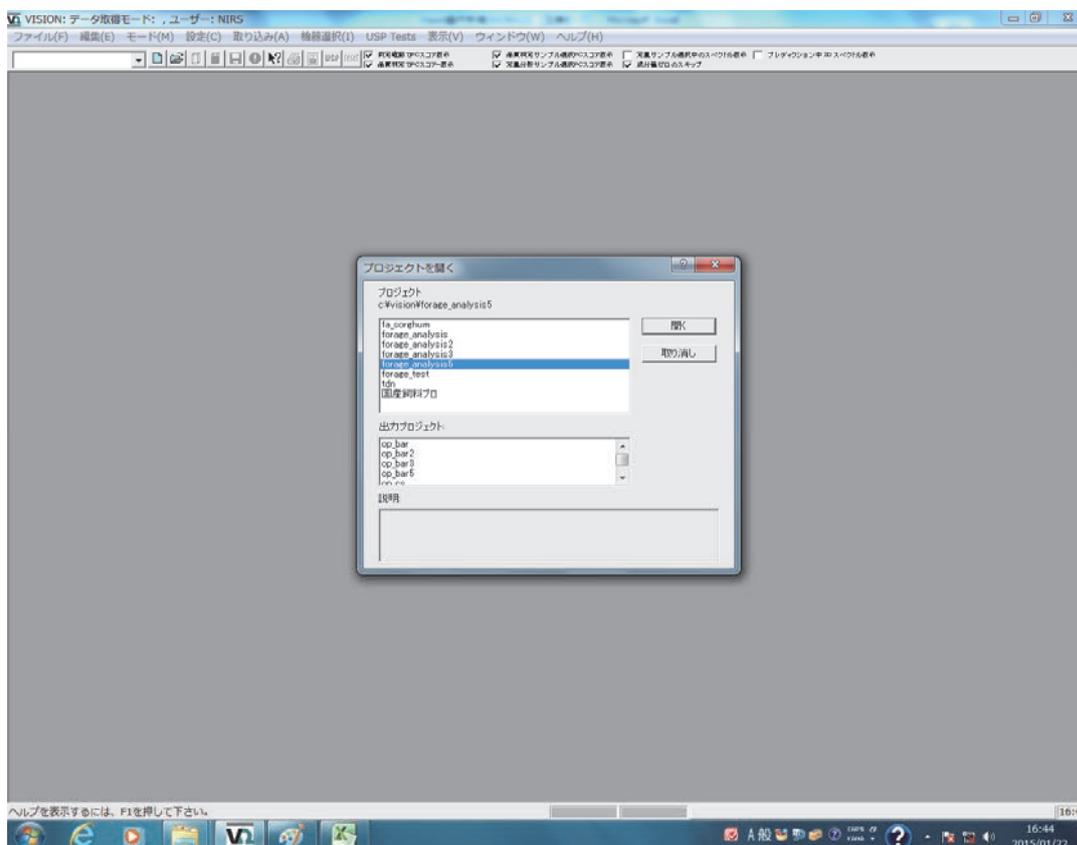
- 左側の緑のアイコンの中にスペクトルがコピーされていることを確認する。サンプル名をチェックしてスペクトルを表示させる。

## (5) 検量線の移設

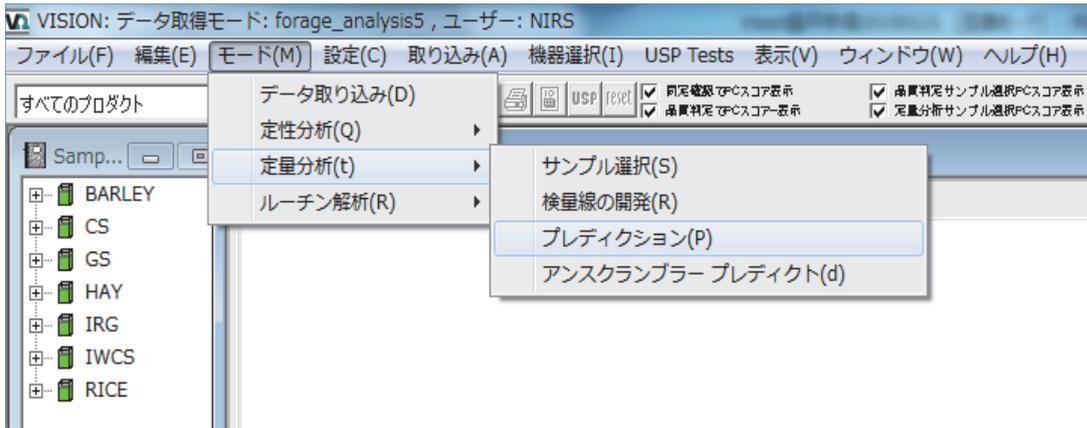
基準化試料のデータを使って、畜草研の機器（親機）で作成した検量線を移設したい機器（移設器）で使えるように検量線を移し替える作業である。その方法は、移設機で畜草研の検量線を使って得たデータと親機で得られたデータとの間に生じる一定のズレ分（バイアス）を元の検量線へ補正することによって移設器で利用できる検量線に書き換えるものである。



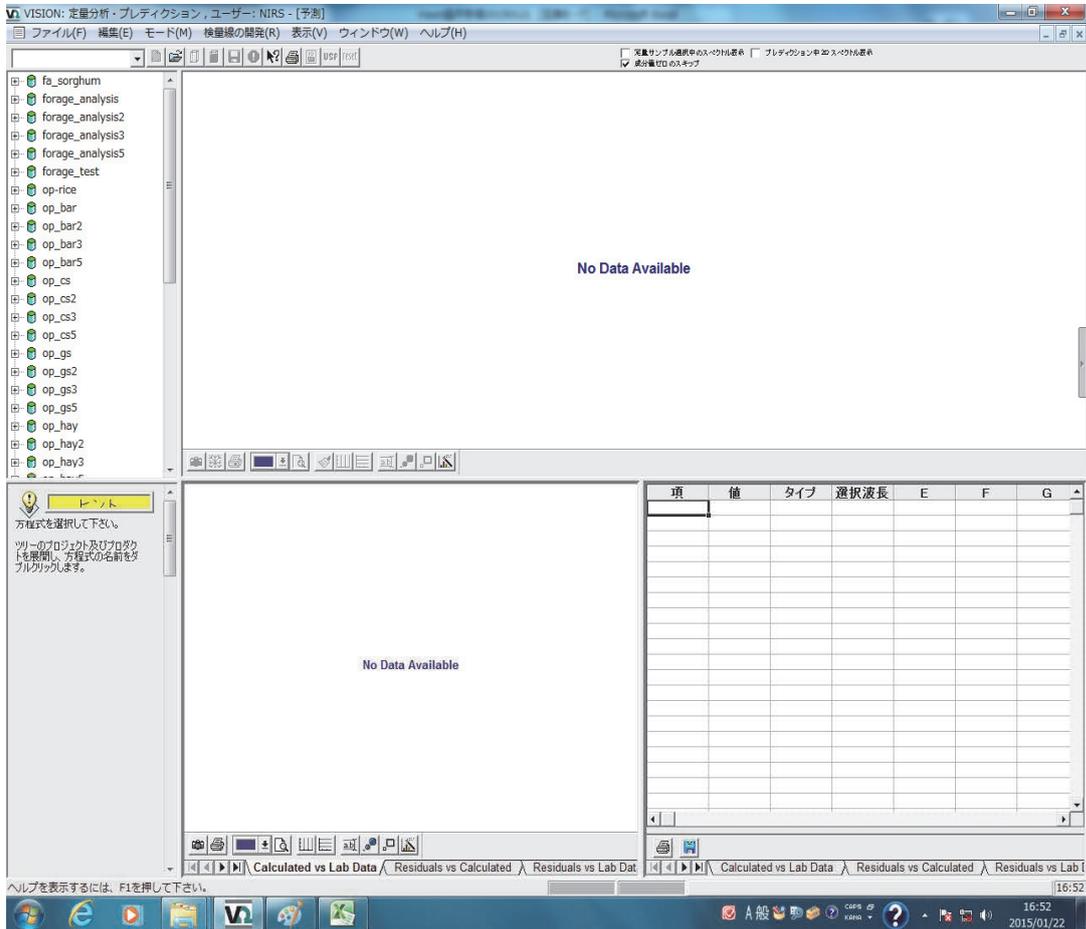
- スペクトル測定（日常分析）によって測定されたスペクトルは、既に設定済みの出力プロジェクトに保存されているので、スペクトル保存先である出力プロジェクトを下記手順にて開く。
- メニュー直下にある"プロジェクトを開く"のアイコンをクリックする。



- 検量線が保存されているプロジェクト、ここでは"forage\_analysis5"を選択してオープンする。（※プロジェクト: 第8章用語解説を参照のこと）

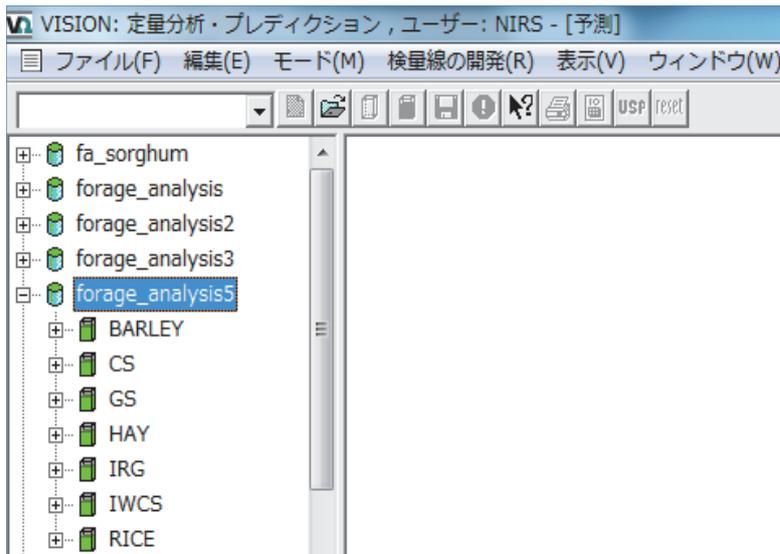


- ・モードを移行する。
- ・"モード"→"定量分析"→"プレディクション"を実行する。

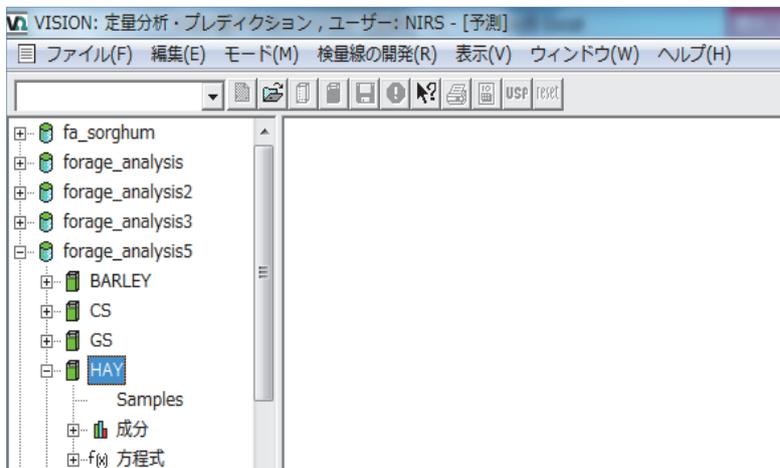


- ・プレディクションプログラムが起動する。

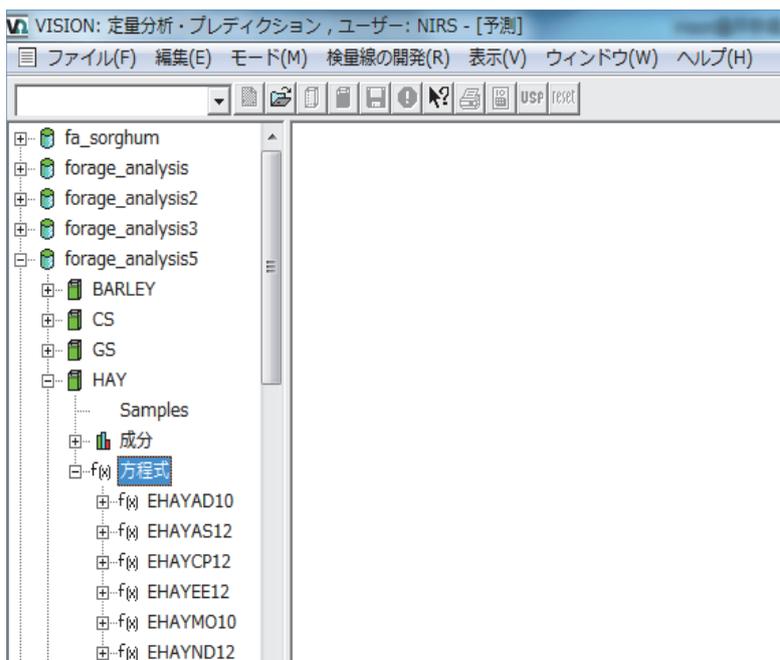
・以下にツリー部分を表示する。確認のためヒントも参照すること。



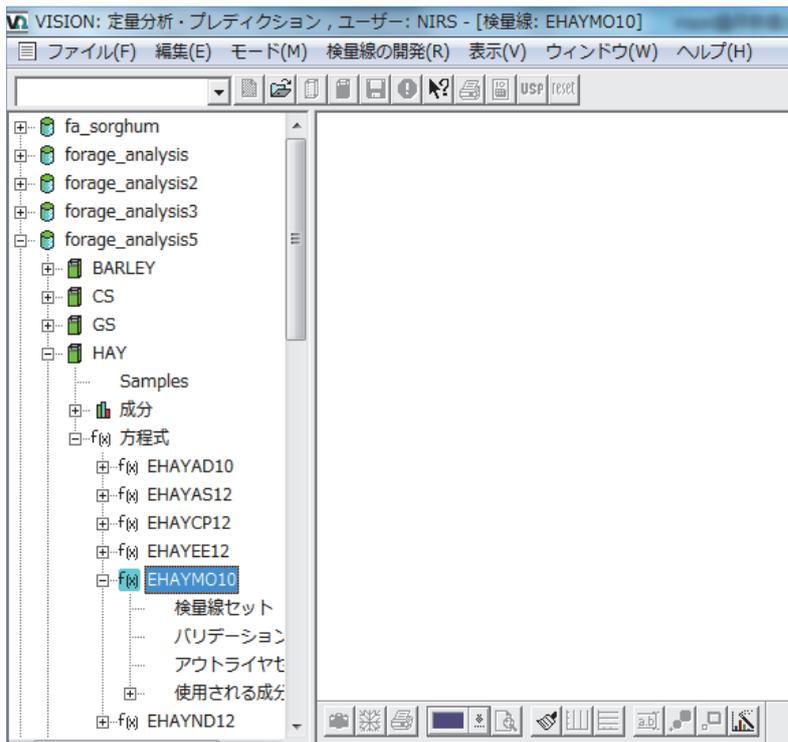
・プレディクションを開始するにあたり、一番初めに評価対象の検量線を、画面左のツリーより選択する。



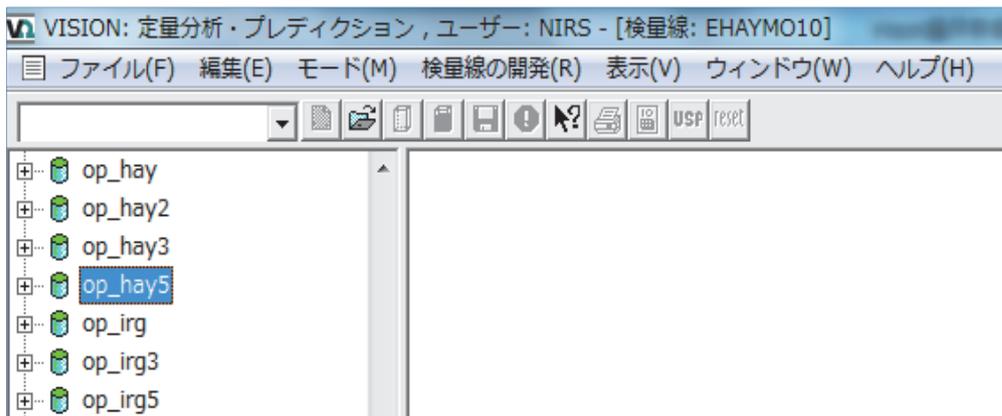
・検量線の保存されているプロダクト、ここでは "HAY" の[+]をクリックしてプロダクトを展開する。  
(※プロダクト: 第8章 用語解説参照のこと)



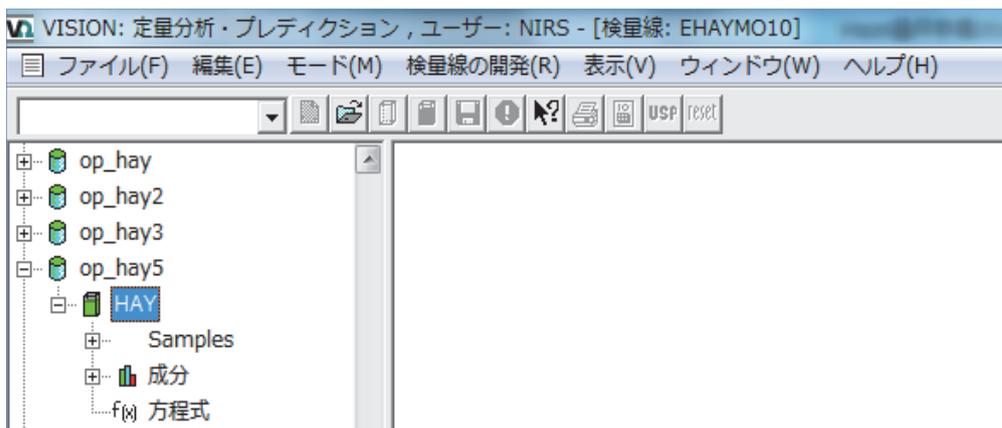
・f(x) 方程式の[+]をクリックして、全ての方程式を表示する。



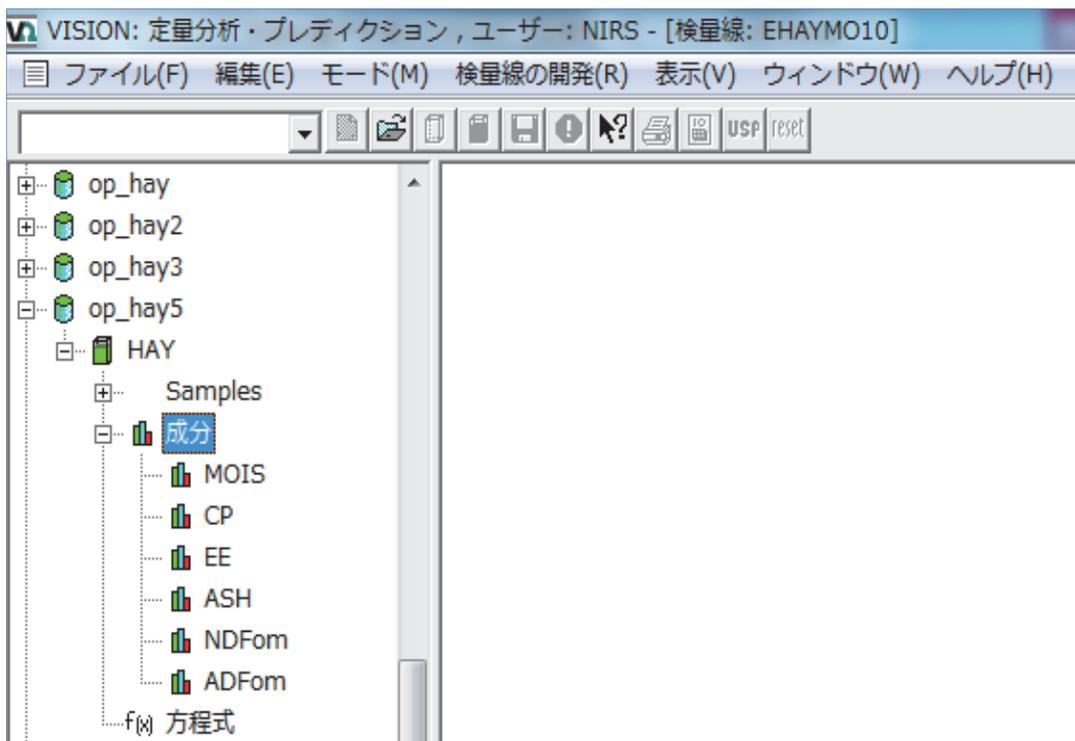
- 評価調整を行う方程式名をダブルクリックする。
- ここでは "f(x) EHAYMO10" を選択する。



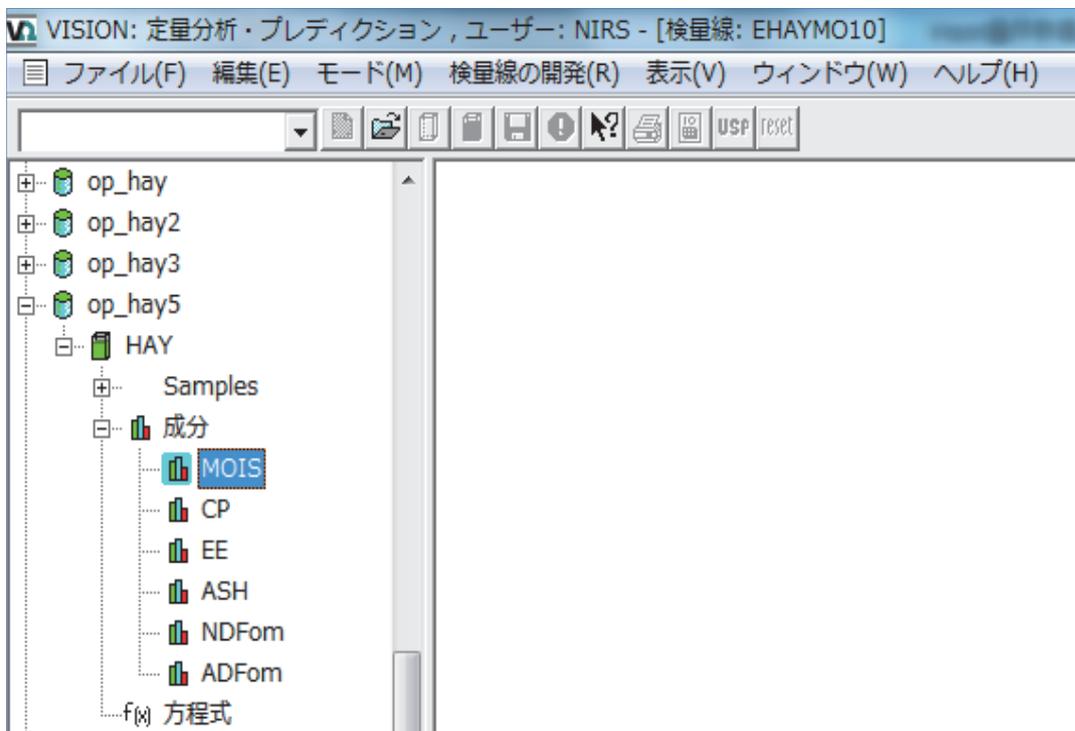
- 次に成分値 (基準化サンプルの推定値) が入力されているプロジェクトを選択する。
- 基準化サンプルの推定値は、(4) 基準化試料のデータ入力の項で出力プロジェクト内に入力されている。



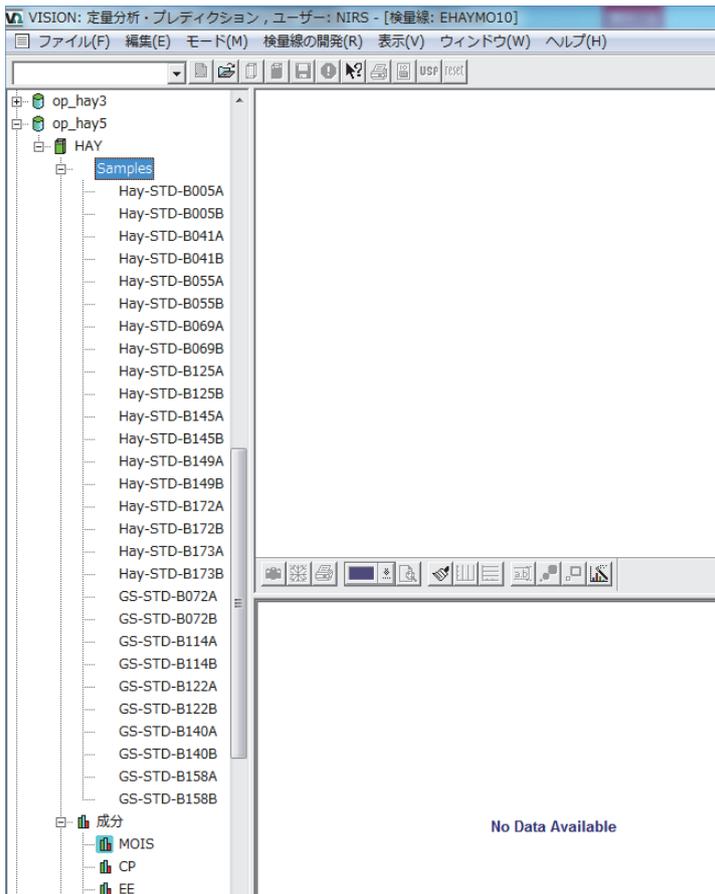
- ・次に成分値（基準化サンプルの推定値）が入力されている成分項目を選択する。



- ・出力プロジェクトおよびプロダクトを [+ ] のクリックにより展開する。
- ・成分プロダクトの [+ ] をクリック展開すると成分項目のリストが表示される。

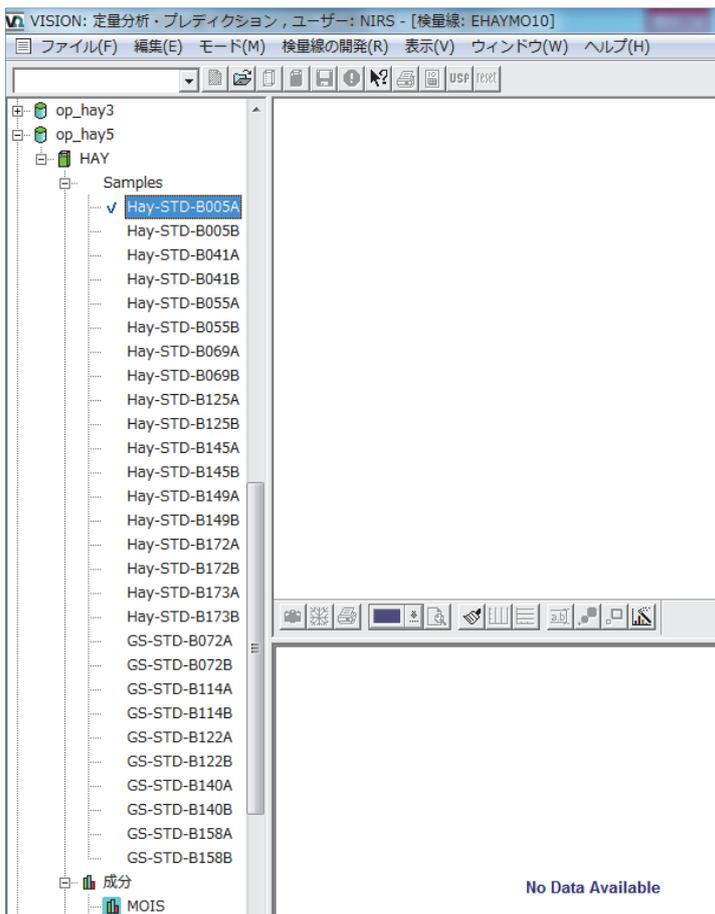


- ・選択済み検量線に一致した成分項目を選択する。

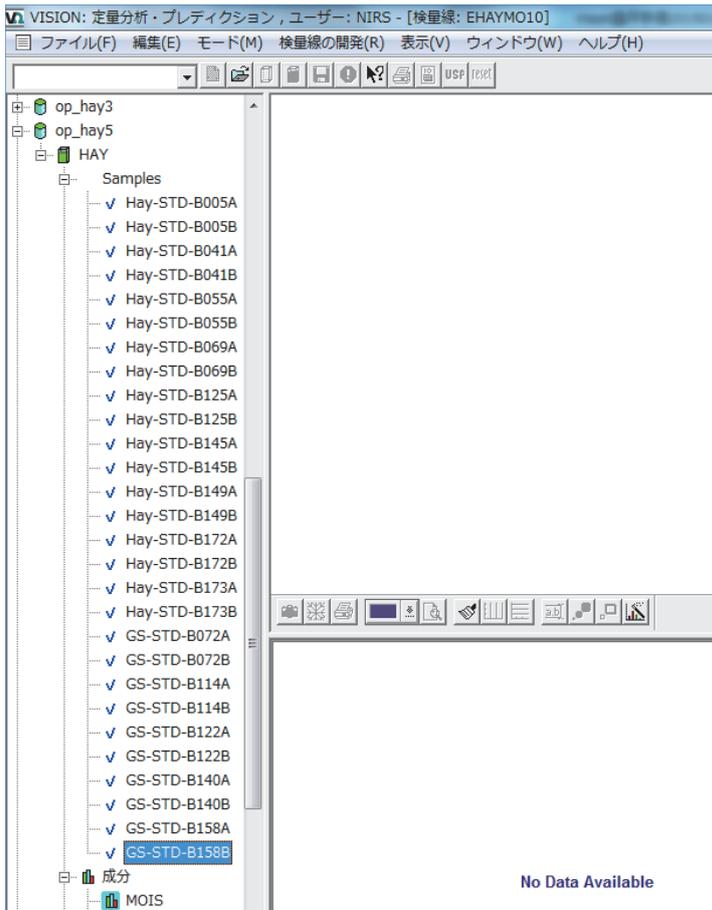


- 次に、評価を行うサンプルセットを選択する。

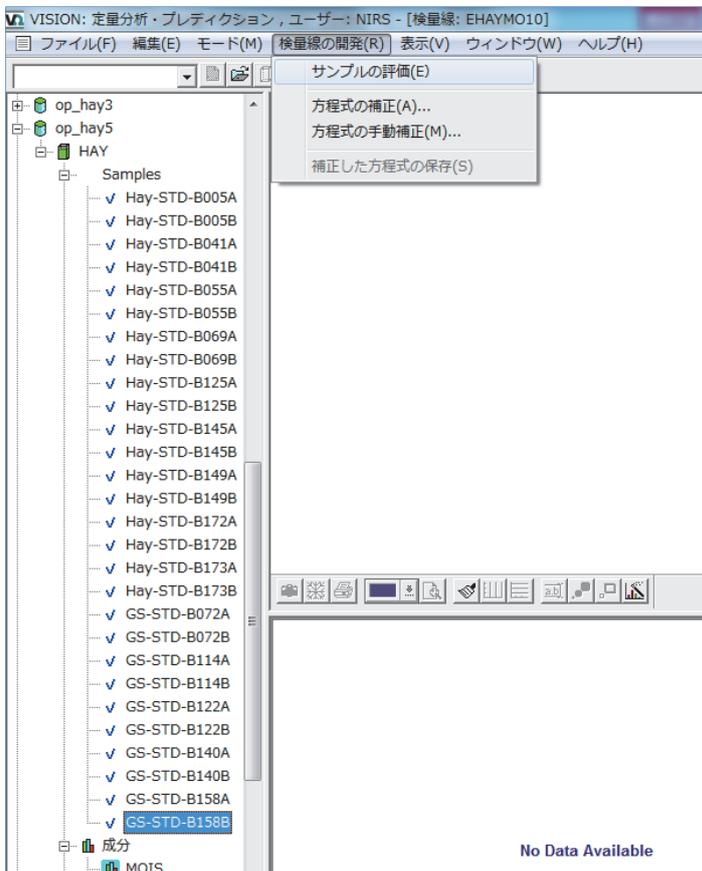
- Samples の [+ ] をクリックして、サンプルスペクトルを展開表示する。



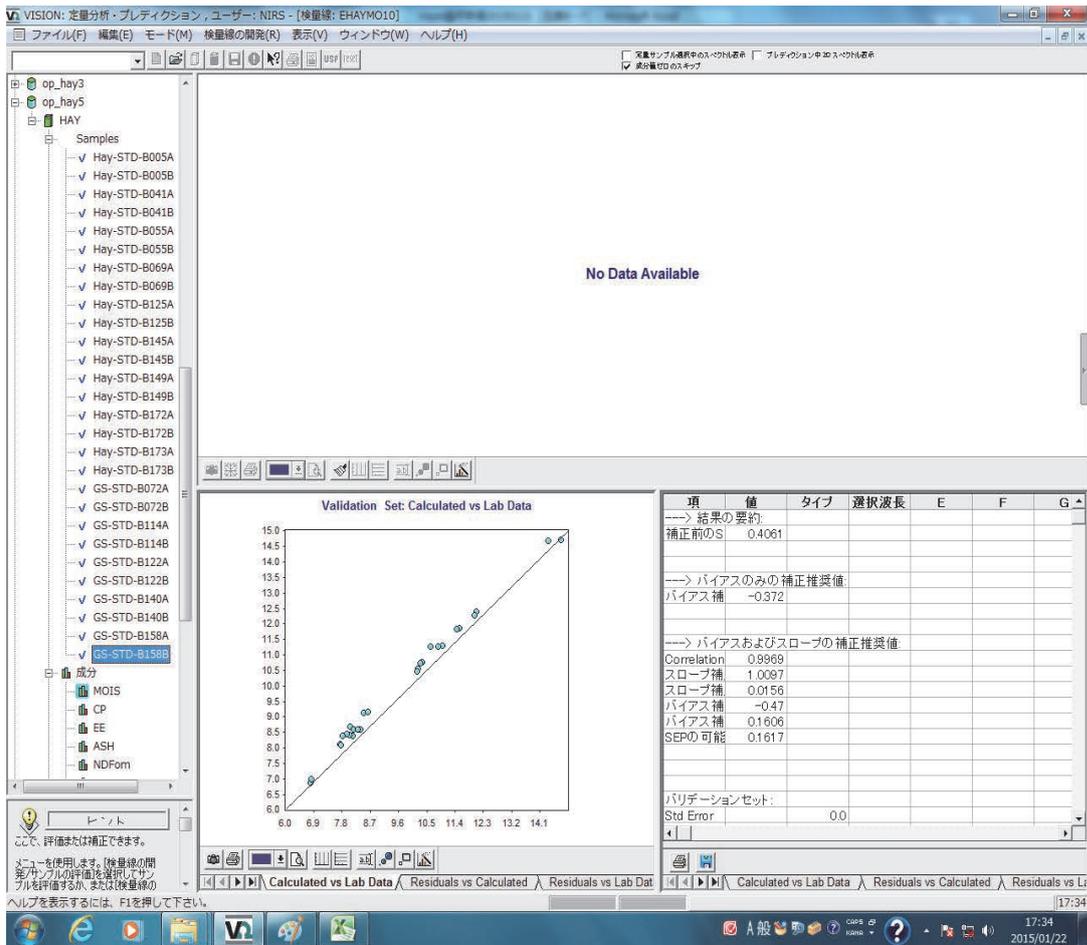
- 選択するサンプル名の先頭をクリックし、青色反転させると同時にサンプルにチェックマークが入る。



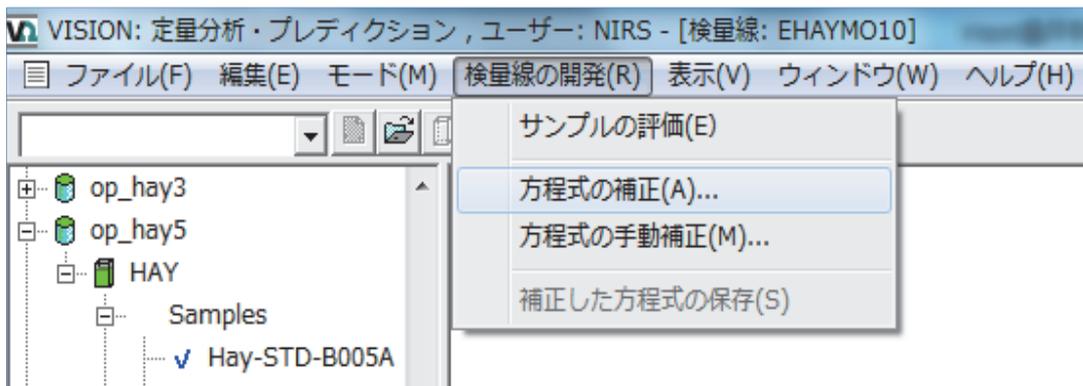
- 選択するサンプル名の最後で、  
[Shift]+クリックを行うことで、間のサンプルが全て選択される。



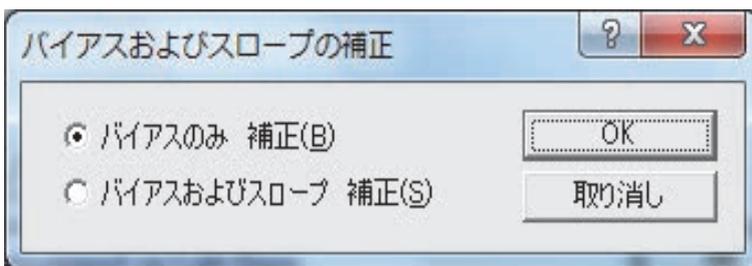
- 選択した"検量線方程式"、"成分"（基準化サンプルの推定値）、"Samples"（移設機によって測定したスペクトル）の3点を用いて検量線进行评估する。
- 評価を実施するには、メニューより"検量線の開発"→"サンプルの評価"を実施する。



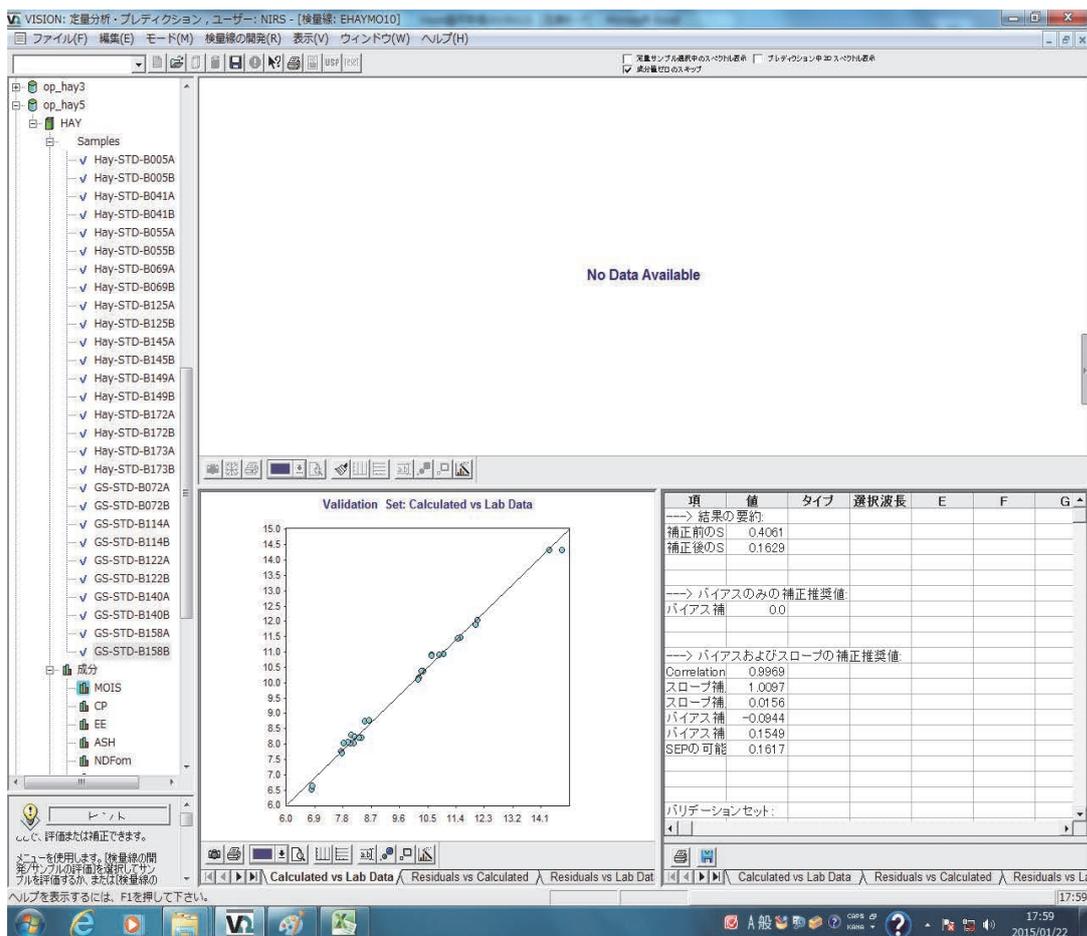
- ・評価結果が画面に表示される。
- ・以下に拡大画面を示す。



- ・検量線方程式の補正を実施するため、「検量線の開発」→「方程式の補正」を実施する。



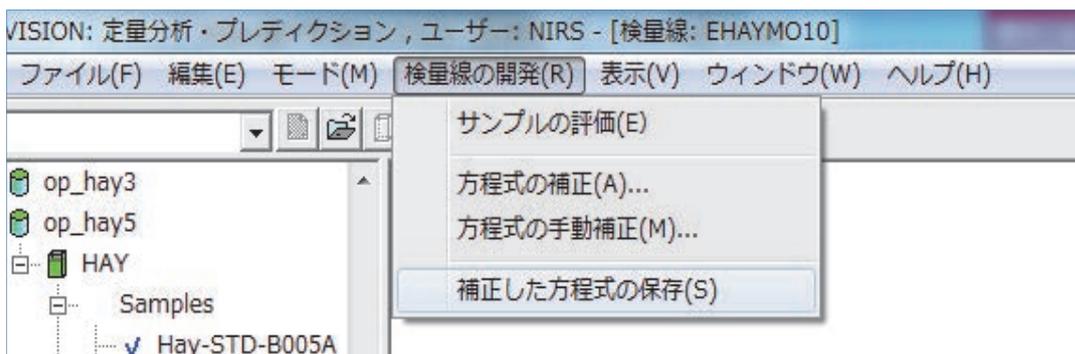
- ・検量線方程式の補正は、基本的に「バイアスのみ 補正」を選択し、「OK」をクリックする。



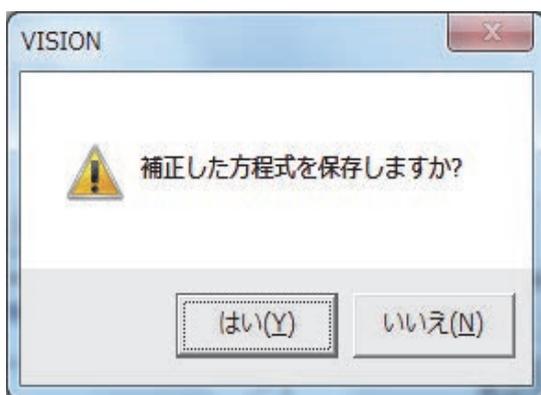
・ 補正した結果が画面に表示される。45° プロット表示で、線上に測定検体がプロットされていることを確認する。また、正常にバイアス補正が完了している状態では、表中に表示されている"バイアスのみの補正推奨値" が 0.0 となっている。

・ 以下に拡大画面を示す。

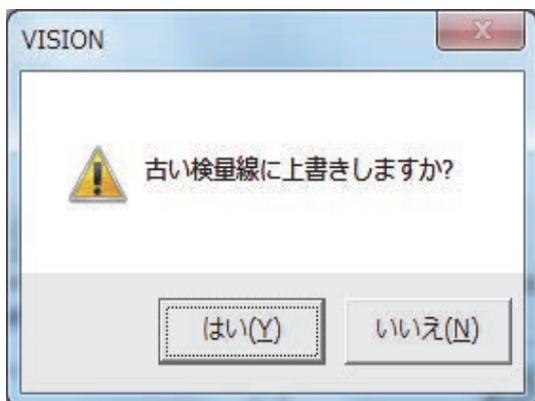
項	値	タイプ	選択波長	E	F	G
---> 結果の要約:						
補正前のS	0.4061					
補正後のS	0.1629					
---> バイアスのみの補正推奨値:						
バイアス補	0.0					
---> バイアスおよびスロープの補正推奨値:						
Correlation	0.9969					
スロープ補	1.0097					
スロープ補	0.0156					
バイアス補	-0.0944					
バイアス補	0.1549					
SEPの可能	0.1617					
バリデーションセット:						



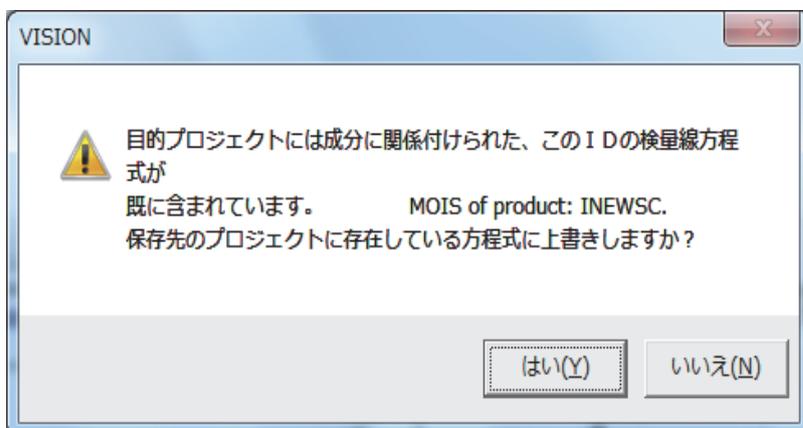
- ・ 検量線のバイアス補正が正常に完了したことを確認し、方程式を保存する。
- ・ 方程式を保存するには、「検量線の開発」→「補正した方程式の保存」を実行する。



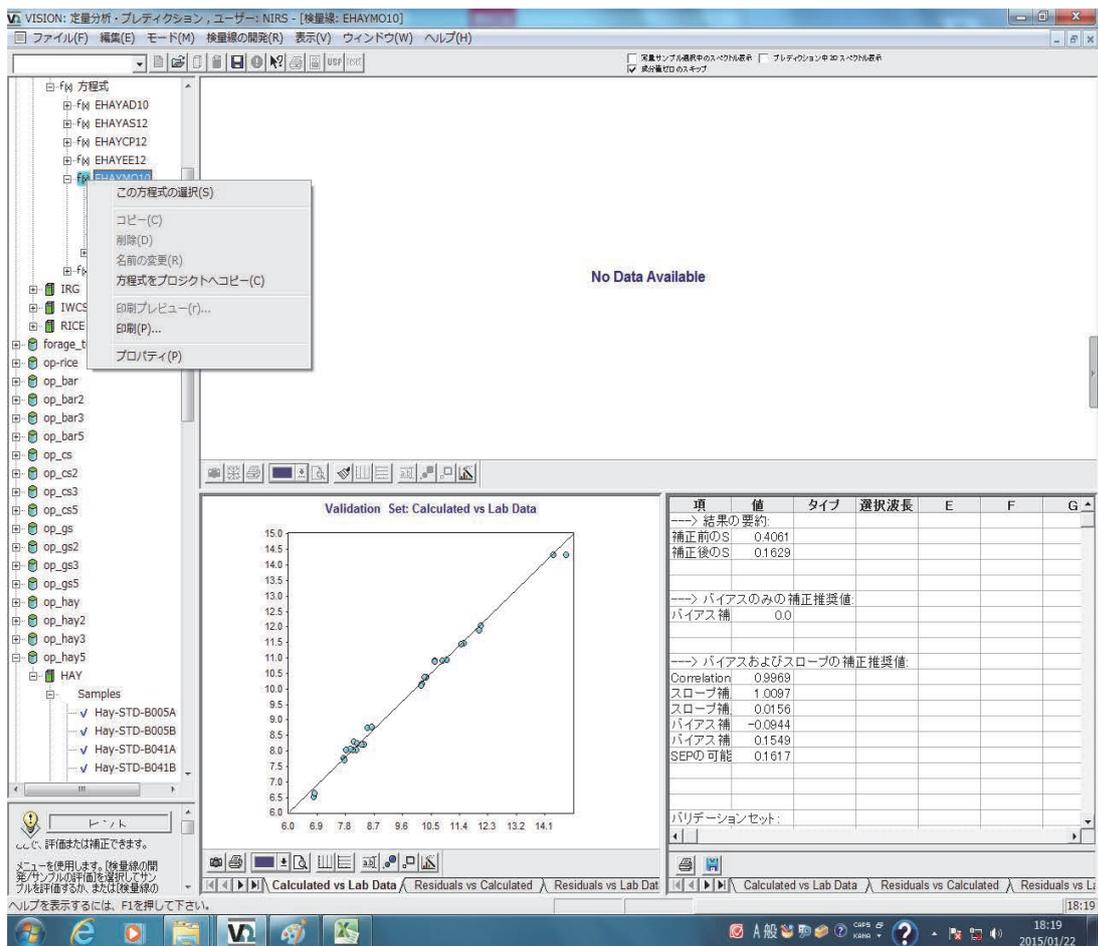
- ・ 方程式保存の確認ボックスが表示されるので、保存する場合は「はい」をクリックする。



- ・ これまでの検量線方程式に上書きしてよいかどうかの確認ボックスが表示される。上書き保存の場合は「はい」をクリックする。

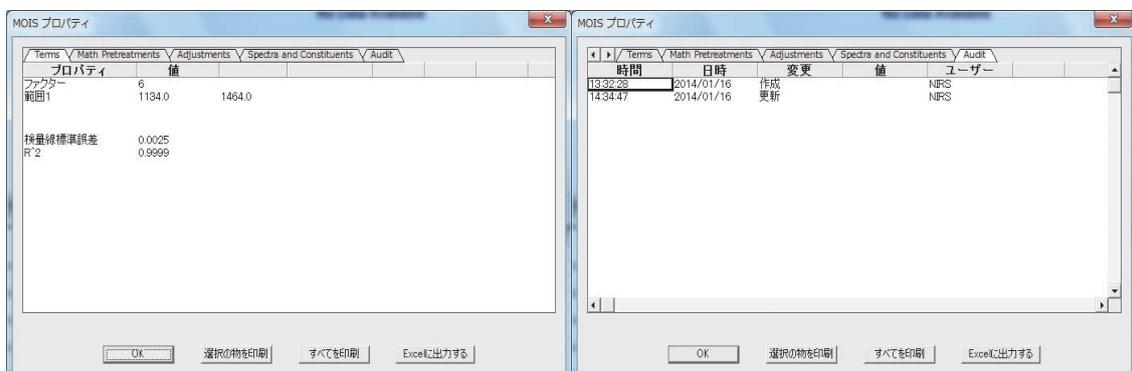


- ・ 方程式上書き保存の最終確認ボックスが表示されるので、上書き保存の場合は、「はい」をクリックする。



### <検量線方程式を別プロジェクトにコピーする方法>

- プレディクションプログラムを起動する。
- "モード"→"定量分析"→"プレディクション"を実行する。
- コピーを行う検量線方程式を選択し、その状態で右クリックを行い、メニューを表示する。
- 現れたメニューより、"方程式をプロジェクトへコピー"を選択する。



- 上記にて現れたメニューより"プロパティ"を選択すると、検量線情報が表示される。

## 4. 4 近赤外分析における保守管理

### 4.4.1 機器のメンテナンス

機器のメンテナンスは、通常と同様に各機種のマニュアルに記載された手順に従って、必要項目についてチェックを行う。特に、Model -6500 型では、移設方法の項の冒頭に説明したように"Band width test<sup>\*</sup>"、"パフォーマンステスト<sup>\*</sup>"による機能確認テストを最低月 1 回程度実施し、波長精度の確認をする。

<sup>\*</sup>いずれも機能確認テストを行うために画面上で選択する命令で、前者は NSAS、後者は Vision

### 4.4.2 測定環境

飼料分析では、粉碎試料でスペクトル測定するため、試料粉の清掃を常に行い、機器周辺をきれいな状態に保持しておく。スペクトルの測定は、室温 15°C~30°C の範囲内で行う。

### 4.4.3 検量線のメンテナンス

移設した検量線は、検量線作成に使用した試料の成分レンジ内で使用するのが望ましい。特に、水分については、成分レンジが狭いので、極端に水分の高い試料は必要に応じて 60°C で乾燥させてから飼料分析を実施するようにする。検量線の分析精度の確認は、化学分析済みの試料を 10~20 数点程度用いて、年に 1 回程度の間隔で実施するのが望ましい。また、光源球の交換や光学系の部品等交換・修理したときは、検量線の分析精度の確認と同様、化学分析済みの試料 10~20 数点程度用いて、検量線移設と同じ操作でバイアス補正を必ず行う必要がある。

### 4.4.4 分析値の確認

近赤外分析では、サンプリング、セルへの詰め込みなどの測定の状況により、時として異常値を示すことがあり得る。したがって、飼料の来歴、調製条件、日本標準飼料成分表などを参考にして、適正な値であるかどうかの確認を常に行う。

### 4.4.5 近赤外分析計の取り扱い

近赤外分析計の光源ランプは、分析に使用できるような安定した状態になるまで 40~50 分程かかる。また、ランプの on、off は電球に大きな負荷をかけるので、連続して使用するときには、機器本体の電源を on にしてソフトウェア上でランプを off にしておく、電球に電流が流れた状態でランプを消灯させることができる。これにより電球への負荷の低減とアイドリング時間の短縮ができるので、この方法で使用されることが望ましい。使用の予定がない場合は、全てのスイッチを off にしておくようにする。

## 第5章 粗飼料の成分と化学分析における基本的な精度管理

フォレンジテストの目的は、そのデータを飼料設計に活用するとともに、生産された自給粗飼料がどのような品質なのかという評価を行うことにある。そのため、結果を生産者に返すだけでなく、そのデータの意味について理解しておくことが必要である。

また、これまで解説してきたようにフォレンジテストの中心は NIRS が担うが、この分析方法はあくまでも「成分の推定」であるため、その推定値の妥当性は定期的にチェックする必要がある。そのために、本事業で検量線を配布する成分項目の化学分析手法について解説する。

### 5.1 粗飼料の成分

ここで解説をする項目には本事業で配布する近赤外分析用の検量線には含まれていない項目もあるが、将来的に整備される可能性や、生産者から要望される可能性もありうるのでそれらについても紹介する。

#### 5.1.1 水分

原物中に含まれる水分の割合を表し、飼料の乾物摂取量を把握する基礎データである。1日当たりの採食量が原物で20kgとしても、水分が40%と70%では乾物摂取量は12kgと6kgになり、倍の差になる。従って、牛の乾物摂取量を把握するためには、水分含量を知ることが重要になる。以下、説明する成分値についてはすべて乾物中の値で示す。

(近赤外分析計での測定は風乾物で行うが、水分以外の測定値は乾物中の値であるので、実際に牛への給与量を求めるためには水分補正が必要である。)

#### 5.1.2 一般成分

図5.1は牧草有機物中の飼料成分の構成図である。各分析項目相互の関係と、植物組織を構成する物質名との関係について示した。

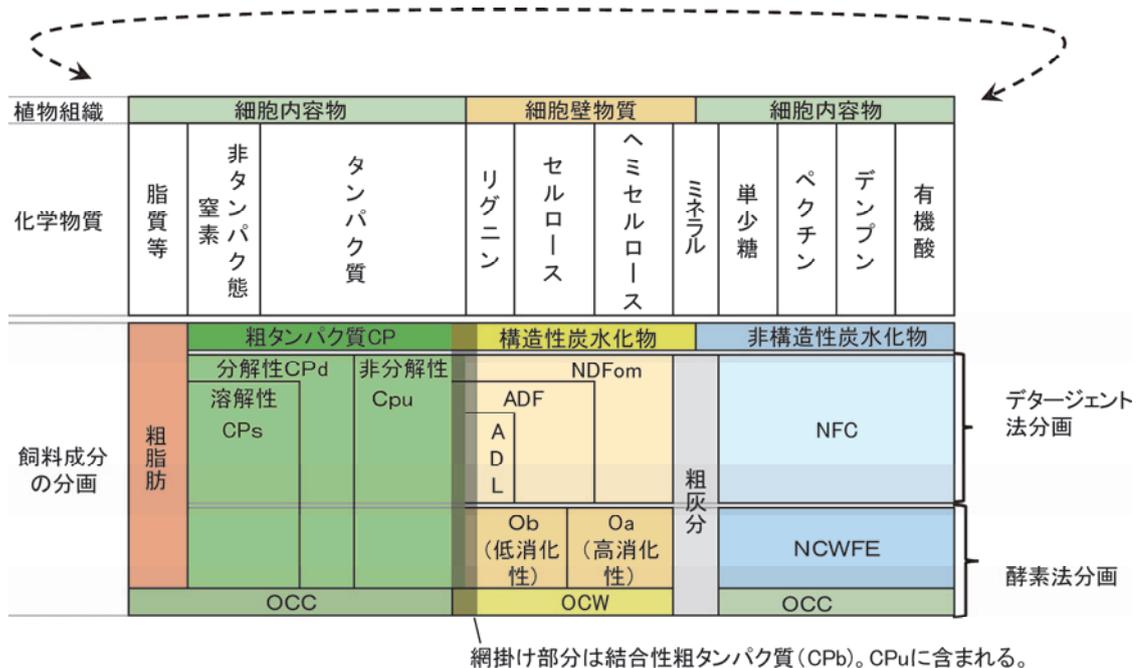


図 5.1 牧草の成分組成 (有機物中)

(1) 粗タンパク質 (CP)

タンパク質を構成するアミノ酸などの他、アンモニア態窒素などの非タンパク態窒素が含まれる。草種や刈取り時期により含量が大きく変動するが、一般的な刈取りにおいてはイネ科牧草で 7~13%程度、マメ科牧草では 15~20%程度含まれる。本事業で配布する検量線は今のところ CP のみであるが、CP はルーメン内での利用性に応じて以下の 4 つに分画される。

① 溶解性粗タンパク質 (CPs、SIP)

粗タンパク質のうちルーメンで極めて速やかに溶解する部分。この部分が過剰にあると、これから生成するアンモニアがルーメン微生物に使われる前に胃壁から吸収され、血中尿素窒素 (BUN) を経て尿中に、または乳中尿素窒素 (MUN) として牛乳中に排出される。この分画の推奨値は泌乳ステージにより異なるが、一般にサイレージでは CP 中 40~60% の範囲にあり、高水分のものほどこの区分の含量が高くなる傾向がある。

② 分解性粗タンパク質 (CPd、DIP)

粗タンパク質のうち、ルーメン内で分解される分画。従って、CPs も含んでいる。ルーメン発酵に不可欠であるが、前述のように CPs が高すぎる、もしくは、タンパク分画と共にルーメン発酵の基質となる非構造性炭水化物が少ないと利用効率は低くなる。

③ 非分解性粗タンパク質 (CPu、UIP)

粗タンパク質のうちルーメンでは分解を受けずに下部消化管に移行する分画。

この中には反芻家畜体内では全く利用されない結合タンパク (CPb) 含んでいるので、CPu から後段で説明する結合性粗タンパク (BP) を差し引いた残りが腸内で消化吸収される。牧草中の CPu の割合は CP 中 20%程度で、他の飼料と比較してあまり高くない。

#### ④ 結合性粗タンパク質 (CPb、BP、ADICP)

後段で述べる繊維分画の ADF に含まれる粗タンパク質で、この分画は家畜体内では全く利用されない。ヒートダメージを受けるとこの割合が高くなり、繊維の消化性も低下する。乾物中 0.5%~1%程度含まれる。

#### ⑤ 中性デタージェント不溶粗タンパク質 (NDICP)

後段で述べる繊維分画 NDF 中に含まれるタンパク質で、結合性粗タンパク質 (CPb) を内包する。中性デタージェント処理の際に亜硫酸ナトリウムを添加すると窒素の除去率が高まるので、CPb にかなり近似する。アメリカのコーネルモデルでは亜硫酸ナトリウムを添加しない NDICP から CPb を差し引いて残った部分はゆっくり分解されるタンパク分画として飼料設計に使われている。

### (2) 構造的炭水化物

いわゆる繊維質の部分を指す。反芻家畜にとって必要不可欠な部分であるだけに細かく分画されているが、大きく分けると物質別に分けるデタージェント法分画と消化性で分ける酵素法分画がある。

#### ① 中性デタージェント繊維 (NDF、NDFom、aNDF)

デタージェント法による総繊維。この中に、以下に述べる ADF、ADL が含まれる。NDF はヘミセルロース、セルロース、リグニンからなるが、いずれも比重が小さくかさばるため採食量が制限されるので、同じく総繊維を表す OCW と共に採食性の指標となる。分析行程の最後に灰化して灰分を差し引く場合は NDFom、差し引かない場合は NDF と表記される。土砂混入などにより過大な値になることがあるため日本国内では NDFom が採用されているが、アメリカでは灰分を差し引かない場合が多い。更に、耐熱性アミラーゼと窒素除去のための亜硫酸ナトリウムを使った場合は値が異なってくるため、aNDF (aNDFom) と表記して区別するが、牧草の場合は両者の違いはほとんどない。NDFom 含量はイネ科牧草では 50%~70%程度で、マメ科牧草では 30~50%程度である。

#### ② 酸性デタージェント繊維 (ADF)

繊維質のうちセルロースとリグニンが含まれている。従って NDF から ADF を差し引いた残りがヘミセルロースとなる。ヘミセルロースはイネ科牧草では 20~30%あるが、マメ科では 10%前後である。CF から ADF への換算は以下の式が提案されている。

イネ科・混ぱん牧草 :  $ADF=1.209 \times CF - 1.0$

トウモロコシサイレージ :  $ADF=1.227 \times CF + 1.3$

### ③ 酸性デタージェントリグニン (ADL)

デタージェント法によるリグニン分画。リグニンは三次元網目構造の巨大な高分子フェノール化合物で、反芻家畜によっても消化されない。"酸性デタージェント" という断りが付くのは、リグニンを分画するのは難しく、いくつかの方法が提案されているが、それぞれの方法により値が異なるためである。ADLは比較的簡便であるため、林産などの分野でも使われるようになってきた。乾物中 ADL 含量はイネ科牧草では2~6%程度、マメ科牧草ではやや高く、3~8%程度である。

### ④ 総繊維 (OCW)

酵素法による総繊維。NDF と同様の指標になる。ただし、構成物質は NDF とは若干異なるため、OCW から NDF への換算は以下の式が提案されている。

イネ科主体牧草およびコーンサイレージ :  $NDF=0.932 \times OCW + 3.4$

マメ科主体牧草 :  $NDF=1.01 \times OCW - 3.09$

有機物 (OM) から OCW を差し引いた残りが細胞内容物 (OCC) である。

### ⑤ 高消化性繊維 (Oa)

OCW のうち、ルーメン内で速やかに消化される分画で繊維の消化性の目安となる。概ね5~15%程度の値を示す。

### ⑥ 低消化性繊維 (Ob)

OCW のうちゆっくり消化される部分と全く消化されない部分。TDN 含量の推定に使われる他、採食量とも相関が高いので採食性の指標となる。

## (3) 非構造型炭水化物 (NFC、NSC、NCWFE)

炭水化物は糖類と繊維に分かれるが、非構造型炭水化物は主にWSC(水溶性炭水化物)などの単少糖とペクチンやデンプンなどの多糖類からなっている。トウモロコシサイレージではデンプンがかなりの部分を占めるが、牧草中にはデンプンはほとんど含まれていない。デタージェント法ではNFCまたはNSC(以下のカコミ参照)、酵素法ではNCWFEと表記され、それぞれ若干値が異なる。

### NSC と NFC の違い

厳密にいうと NSC と NFC は異なる。いずれも繊維以外の炭水化物をさすが、NSC（非構造的炭水化物）はペクチンを含まず、NFC（非繊維性炭水化物）はペクチンを含む。これはこれらの分画が提案された考え方の違いによる。植物組織学的にはペクチンは細胞壁の一部であり、貯蔵養分として蓄えられているわけではない。一方でルーメン内では、ペクチンはデンプンや糖と同様にほぼ 100%消化される。そのため、植物組織学的観点から分けられた NSC ではペクチンを含まず、乳牛飼養の観点から提案された NFC ではペクチンを含むことになっている。最近乳牛飼養の分野では NSC は使われなくなってきた。

#### (4) 粗脂肪 (EE)

脂肪の他、色素や VFA などを含むが、牧草中には 5%程度までしか含まれていない。ただし、高水分サイレージではしばしば 5%を超えることもあるが、これは乳酸の一部がこの中に回収されているためと考えられる。

#### (5) 粗灰分 (CA)

各種ミネラルの総量。この中には牧草由来のもの他に収穫時に牧草に付着した土砂などが混入することがある。粗灰分があまりに高いときは土砂混入の疑いがある。収穫物に混入した土砂はサイレージの発酵品質を低下させたり、嗜好性を低下させる原因になる。一般的な牧草中に含まれる粗灰分含量は 10%以下だが、オーチャードグラスや稲わらなどケイ酸の高い粗飼料ではこれより高くなることが多い。

### 5.1.3 エネルギー

飼料の品質は最終的にはエネルギー価で判断される。エネルギー価の評価は改めて説明するまでもなく TDN が代表的な単位であるが、最近では GE (総エネルギー)、ME (代謝エネルギー)、NE (正味エネルギー) などのカロリー単位 (Mcal/kg) も並記されるようになってきた。

#### (1) 可消化養分総量 (TDN)

TDN は家畜のエネルギー要求量や飼料のエネルギー価を表す代表的な単位である。飼料の持つ総エネルギーは家畜の代謝作用によって糞、尿、ガスおよび熱量増加として失われるが、このうちで糞中に失われるエネルギーが最大であり、その失われるエネルギー量は飼料によって大きな差があることから、飼料の総エネルギー量から糞中のエネルギー量を差し引いて、可消化分に基礎をおいてエネルギーの単位を示したものが TDN である。TDN は次式から求められる。TDN は kg あるいは乾物中の%で表記される。

$$\text{TDN(kg)} = \text{可消化粗タンパク質(kg)} + \text{可消化粗脂肪(kg)} \times 2.25 + \text{可消化粗繊維(kg)} \\ + \text{可消化可溶性無窒素物(kg)} \dots\dots\dots \text{I}$$

$$\text{TDN} = \text{可消化有機物含量(OM}^* \times \text{消化率)} \\ + \text{可消化脂肪含量(EE}^* \times \text{消化率)} \times 1.25 \dots\dots\dots \text{II}$$

\*OM : Organic Matter (有機物)、\*EE : Ether extracts (粗脂肪)

I 式の粗繊維 (CF) の定量方法では、繊維成分の一部が可溶化することや、中の窒素含量を二重にカウントする等の問題が指摘されており (大槻 2001)、最近では粗繊維含量はほとんど定量されていない。このため現在は II の式により算出されることが多い。いずれにせよ、飼料の TDN 含量を実測するには、対象となる飼料を家畜に給与して全糞を採取し、飼料および糞中の成分含量を測定するとともに各栄養成分の消化率を測定する消化試験を実施しなければならない。そのため、フォレンジテストでは後述する成分からの回帰推定式を使って推定することになる。

(2) 可消化エネルギー (DE : Digestible Energy)

総エネルギー (GE) のうち消化される部分を示す。

(3) 代謝エネルギー (ME : Metabolizable Energy)

DE から尿およびメタンとして排泄されるエネルギーを除いた部分で日本飼養標準では TDN と共に並記されるようになった。

(4) 正味エネルギー (NE : Net Energy)

ME から更に熱として体外に放出されてしまう部分を除いた値。つまり、給与した飼料のうち家畜の生産活動に利用されるエネルギー量を示している。NE は利用される生産活動に応じて NEI (泌乳に使われるエネルギー)、NE<sub>m</sub> (生体の維持に使われるエネルギー)、NE<sub>g</sub> (増体に使われるエネルギー) の 3 つに分けられる。

これらの値は全て、家畜の生産活動を完全に把握できる代謝試験室で試験して初めて測定できるものなので、飼料分析サービスでは TDN 同様推定値が使われている。簡単な方法としては以下の換算式が古くから用いられてきている。

$$\text{NEL (Mcal/kg)} = 0.0245 \times \text{TDN} - 0.12$$

ただ、これは TDN を変数とする 1 次回帰式なので、飼料の相対的比較としては TDN 以上の意味を持たない。

#### 5.1.4 TDN の推定

この事業 (フォレンジテスト新システム構築事業) では、近赤外分光分析法 (NIRS) によって種々の粗飼料について乾物中の粗タンパク質、粗脂肪、粗灰分、NDF、ADF を一定の精度で推定する方法を提示することができた。

次は TDN 含量をこれらの成分含量から推定し、その値を飼料設計に利用してゆくことが求められる。ここでは、NIRS によって得られる成分含量から TDN 含量を推定する方法を提案する。

(1) TDN 計算式の組み立て

TDN は以下の計算式によって求める。

$$\text{TDN} = \text{可消化粗タンパク質} + \text{可消化粗脂肪} \times 2.25 + \text{可消化 NFC} + \text{可消化 NDF}$$

(2) NFC 含量の計算

NFC は非繊維性炭水化物 (Non Fibrous Carbohydrates) の略号である。その含量は以下の式で求められる。

$$\text{NFC} = 100 - (\text{粗タンパク質} + \text{粗脂肪} + \text{粗灰分} + (\text{NDF} - \text{NDF 中の粗タンパク質}))$$

ここで、新たに考えねばならないこととして、NDF 中のタンパク質の含量をどう設定するかがある。ここでは、13 点の試料 (牧乾草、牧草サイレージ、イネワラ、アルファルファ乾草) 平均値、5.0% の値を牧乾草と牧草サイレージに、1.0% の値をトウモロコシサイレージに適用した (阿部亮：炭水化物を中心とした飼料分析法とその栄養価評価法への応用、畜産試験場研究資料 No 2, 1988)。なお、牧乾草・牧草サイレージはイネ科牧草、マメ科牧草等を含む。

(3) リグニン含量の推定

飼料の炭水化物は上記 NFC と構造型炭水化物 (繊維性炭水化物) の二つからなるが、構造型炭水化物は NDF から「NDF 中の粗タンパク質」と「乾物中のリグニン」を差し引いて求められる。ここで、また、新たな問題としてリグニン含量をどのように推定するかが問題となるが、ここでは、NIRS によって得られる ADF 含量が利用できる。ADF は結晶性の高いセルロースとリグニンとの複合体であるが、リグニン含量は下記の推定式によって ADF 含量から高い精度で推定が出来る。また、トウモロコシサイレージのリグニン含量は牧草とは異なり、熟期による含量の変動が小さいところから、一律に 3.5% の値を用いた。

---

乾物中リグニン (y) と乾物中 ADF (x) の回帰式、相関係数

---

対象飼料 (イネ科牧乾草・サイレージ、22 点)

$$y = -6.6 + 0.31x \quad (r = 0.961)$$

(アルファルファ、5 点)

$$y = -3.2 + 0.31x \quad (r = 0.998)$$

(トウモロコシサイレージ、11 点)

$$y = 3.5 \pm 0.6$$

---

(4) 真の構造型炭水化物含量の計算

NDF には、セルロース、ヘミセルロース、リグニン、細胞壁タンパク質が含まれるが、リグニンは厳密には炭水化物ではない。また、第 1 胃内の繊維素分解菌によって消化され、乳牛のエネルギー源となるのは、セルロースとヘミセルロースであり、その量は、上記したように NDF から乾物中のリグニン含量と NDF 中の粗タンパク質含量を差し引いて求められる。ここではこれを真の構造型炭水化物と定義する。

(5) 可消化粗タンパク質の推定

粗タンパク質は栄養的な均一性を持ち、乾物中の含量と可消化量との間には高

い相関係数を持つ回帰式が用意されている。ここでは、以下二つの回帰式を利用する。この回帰式は、「畜産試験場研究資料第2号：炭水化物を中心とした飼料分析法とその飼料栄養価評価法への応用，1988」による。次項の可消化粗脂肪も同じ資料による。

---

乾物中粗タンパク質%(x)、可消化粗タンパク質%(y)の回帰式、n数、相関係数
対象飼料 (牧草サイレージ、牧乾草、218点)
$y = -3.5 + 0.924x \quad (r = 0.986)$
(トウモロコシサイレージ、15点)
$y = -5.0 + 1.107x \quad (r = 0.971)$

---

(6) 可消化粗脂肪の推定

粗脂肪も粗タンパクと同様に栄養的な均一性を持つ。ここでは可消化粗脂肪含量の推定に以下、二つの回帰式を利用する。

---

乾物中粗脂肪%(x)、可消化粗脂肪%(y)の回帰式、n数、相関係数
対象飼料 (牧草サイレージ、牧乾草 162点)
$y = -0.4 + 0.619x \quad (r = 0.911)$
(トウモロコシサイレージ、15点)
$y = -0.8 + 0.966x \quad (r = 0.974)$

---

(7) 可消化炭水化物の推定 (可消化 NFC + 可消化 NDF (構造的炭水化物))

可消化 NFC と可消化 NDF の含量は下表の式を用いて乾物中の NFC 含量と構造的炭水化物の含量から推定する。これは、2001 年版の NRC 飼養標準、「エネルギー」からの引用である。

---

可消化 NFC = 0.98 × NFC% - 3.1
可消化 NDF
= (0.75 × 真の構造的炭水化物%) × { 1 - (リグニン/NDFn <sup>*</sup> ) <sup>0.667</sup> }
*NDFn : NDF-NDF 中の粗タンパク質

---

(8) TDN 計算の例

それでは、上記の計算・推定式と実際の飼料分析の値を用いて TDN 含量を計算してみよう。用いたのは牧草サイレージ (チモシー、出穂後期) であるが、その乾物中の組成は、粗タンパク質が 11.5%、粗脂肪が 3.3%、粗灰分が 6.1%、ADF が 38.6%、NDF が 69.0% である。

---

手順 1 : 可消化粗タンパク質含量	$-3.5 + 0.924 \times 11.5 = 7.1$
手順 2 : 2.25 × 可消化粗脂肪	$2.25 \times (-0.4 + 0.619 \times 3.3) = 3.7$
手順 3 : NFC 含量	$100.0 - 11.5 - 3.3 - 6.1 - (69.0 - 5.0) = 15.1$
手順 4 : 可消化 NFC	$0.98 \times 15.1 - 3.1 = 11.7$
手順 5 : リグニン	$-6.6 + 0.31 \times 38.6 = 5$
手順 6 : 構造的炭水化物	$69.0 - 5.4 - 5.0 = 58.6$
手順 7 : NDFn	$69.0 - 5.0 = 64.0$
手順 8 : 可消化 NDF	$(0.75 \times 58.6) \times \{ 1 - (5.4 / 64.0)^{0.667} \} = 35.6$
手順 9 : TDN	$7.1 + 3.7 + 11.7 + 35.6 = 58.1$

---

(9) 検証

ここに提案した TDN 推定法の評価をイネ科牧乾草とアルファルファ乾草そしてトウモロコシサイレージについて行った。何れの飼料についても綿羊による消化試験が実施され、*in vivo* の TDN 含量が測定されている。推定の TDN 含量と *in vivo* の TDN 含量の値は近似し、NIRS による飼料分析結果の TDN 推定、飼料設計への利用が可能であると考ええる。

	乾物中組成%					TDN 乾物中%	
	粗タンパク質	粗脂肪	粗灰分	NDF	ADF	<i>in vivo</i>	推定値
イネ科乾草 A	16.5	5.3	10.4	47.2	26.6	67.3	67
イネ科乾草 B	8.0	4.3	10.1	65.3	39.3	53.3	56
アルファルファ乾草 A	23.4	3.4	13.5	47.6	32.2	56.2	55
アルファルファ乾草 B	17.9	3.2	9.6	54.5	38.3	50.5	54
トウモロコシサイレージ A	7.8	4.6	6.8	40.7	22.4	69.4	71
トウモロコシサイレージ B	8.7	3.4	6.6	47.1	27.0	67.0	68

(10) 稲発酵粗飼料とソルガムサイレージの TDN 推定式

稲発酵粗飼料とソルガムサイレージについては以下の TDN 推定式を紹介する。

① 稲発酵粗飼料 (イネ WCS) (服部ら 2005 年)

$$\text{TDN} = 54.297 + 1.205 \times \text{Oa} - 0.109 \times \text{Ob} - 0.462 \times \text{粗灰分}$$

粗灰分 (n = 8、r<sup>2</sup> = 0.725)

Oa : 高消化性繊維、 Ob : 低消化性繊維

② ソルガムサイレージ (大槻 2001)

$$\text{TDN} = 73.47 - 0.56 \times \text{ADF}$$

(r = -0.68、n : 48、ADF : 30.4 ~ 49.5%、TDN : 42.8 ~ 59.2%)

## 5. 2 化学分析の精度管理

フォレンジテストでは定期的に NIRS 値のチェックが必要である。ここではその基準となる化学分析手法について解説する。

### 5.2.1 水分

サイレージ や生草の場合には、風乾試料の調製（3. 1）で1次水分を測定し、粉碎後にさらに 135℃2 時間の乾燥で2次水分を測定し、両者を合算して試料中の水分とするという2段階の測定になる※。ここでは、2次水分の測定方法と、合算した水分含量の算出方法について述べる。

#### (1) 2次水分測定（135℃ 2時間乾燥法）

蓋付きアルミ皿（50ml 容）の蓋を開けたままの状態に通風乾燥機または恒温乾燥機に入れ、135℃、2時間乾燥後、アルミ皿の蓋を閉めデシケーターに速やかに移して30分間冷却後、恒量（Wt0）を測定しておく。アルミ皿に飼料を約2g（SWt）を正確に秤量（0.1mg オーダー）し、秤量後直ちに蓋をしておく。飼料を採取したアルミ皿の蓋を開けた状態で通風乾燥機または恒温乾燥機に入れ、135℃、2時間乾燥する。乾燥後、アルミ皿の蓋を閉め、デシケーターに速やかに移し30分冷却後、秤量する（AftWt）。分析は2反復以上で行い、得られた分析値の相対誤差が2%以内であれば、その平均値を採用する。

$$2 \text{ 次水分含量} = \{ 1 - (\text{AftWt} - \text{Wt0}) \div \text{SWt} \} \times 100$$

(AftWt - Wt0) : 乾物量、Wt0 : アルミ皿、SWt : サンプル量

本事業で配布された水分検量線はこの2次水分を推定するものである。

#### (2) 2段階法による水分含量の算出

サイレージ、生草等の高水分含量の試料に適用される。3. 1に示した1次水分（風乾物率）と粉碎試料について測定した上記の「135℃ 2時間法」による2次水分から、試料の乾物含量と水分含量を求める。この値が飼料分析シートにおいて試料中の水分として最終的に報告される値になる。

$$\text{乾物率}(\%) = \text{風乾物率} \times (100 - 2 \text{ 次水分}) \div 100$$

$$\text{水分} = 100 - \text{乾物率}$$

例えば牧草サイレージで1次水分が75%で、2次水分が10.5%であったとすると、この牧草サイレージ1kg中には、風乾物は250g含まれ、この風乾物中には、乾物が89.5%、223.8g含まれるところから、この牧草サイレージの乾物率は22.38% (22.4%) となり、水分含量は77.6%と計算される。

※乾草、ワラ類、配合飼料、穀類や油粕類等の単体乾燥飼料は「135℃ 2時間」法のみによって水分含量が定量される。また、サイレージや生草の場合、一段階

の処理（100℃18h）で水分含量を測定することも可能である。しかし、このような高温で乾燥したものは近赤外分析のみならず、以下の化学分析にも適さない。分析には別途3. 1に示した乾燥処理物を供する必要がある。

**サイレージの乾燥・試料調製過程では揮発性成分が飛散している  
(念頭に入れておきましょう)**

ここに示した2段階法と直接水分定量法での乾物（水分）の定量（熱乾法）では、サイレージに含まれる発酵生成物、つまり酢酸、プロピオン酸、酪酸、アンモニア、エタノール等の揮発性物質は飛散し、それは水分含量として計算され、乾物量を過小評価してしまっている。その程度は、どのくらいかを下表に示す。ここでトルエン蒸留法（トルエン法）というのは、揮発性物質の損失が熱乾法に較べて非常に少ない、理想的な水分含量測定法である。

トウモロコシサイレージにおける熱乾法とトルエン蒸留法の乾物率%（阿部ら）

試料	トルエン法乾物率% (A)	熱乾法乾物率% (B)	乾物率の差 (A-B)	熱乾法での有機物損失率% (A-B) / A × 100
A	28.1	24.3	3.8	13.5
B	26.9	24.4	2.5	9.3
C	35.4	32.2	3.2	9.0
D	25.0	21.4	3.6	14.4
E	33.7	29.6	4.1	12.2

トルエン法 DM% (y) と熱乾法 DM% (x) の関係 (15 点のトウモロコシサイレージ)  
 $y = 1.021x + 2.3 \quad (r = 0.976)$

牧草サイレージにおける熱乾法とトルエン蒸留法の乾物率%（阿部ら）

試料	トルエン法乾物率% (A)	熱乾法乾物率% (B)	乾物率の差 (A-B)	熱乾法での有機物損失率% (A-B) / A × 100
A	37.5	34.8	2.7	7.2
B	27.7	25.5	2.2	7.9
C	27.7	25.4	2.3	8.3
D	36.7	34.5	2.2	6.0
E	38.6	36.1	2.5	6.5
F	41.4	38.3	3.1	7.5

トルエン法 DM% (y) と熱乾法 DM% (x) の関係 (28 点の牧草サイレージ)  
 $y = 1.041x + 0.8 \quad (r = 0.999)$

二つの表に見られるように、熱乾法ではかなりの量の揮発性成分（有機物）を飛散させている。トルエン法と熱乾法の乾物率の差は、トウモロコシサイレージで3～4%、牧草サイレージで2～3%である。揮発性成分は有機酸やアンモニアで、その数値は直接 TDN 含量に組み入れられる性質のものであるから、熱乾法では TDN 含量をこの分だけ、過小評価するということにもなっている。しかし、飼料分析センターにおける日常の粗飼料分析には、有機溶媒を用いるトルエン蒸留法を適用することは難しい。現状の粗飼料分析では、「このような課題を留意事項として付帯している」という認識を持っておくことが大切である。また、この損失分を補正する方法として、表の下段に示した回帰式を飼料給与・乾物摂取量把握の段階で利用することが出来よう。

## 5.2.2 粗タンパク質

本事業における粗タンパク質（CP）の検量線は、燃焼法による分析結果に基づき作成した。従来から、ケルダール法より燃焼法のほうが若干高い CP 結果を示す場合があることが知られている。そのため、ケルダール法と燃焼法の特徴、相違点や注意すべき点などについて記載するので、分析値の精度確認、管理を行う際の参考としていただきたい。

### （1）ケルダール法とその特徴

従来から飼料中の CP を測定する方法としてケルダール法がよく用いられる。ケルダール法では、サンプルに硫酸と分解促進剤等を加えて、サンプル中のタンパク質などをアンモニア態窒素にまで加熱分解して、その分解液に水酸化ナトリウムを加えて、塩基性条件下で蒸留を行い揮発してくるアンモニアガスをホウ酸液などで捕集して、硫酸標準液などの滴定によりその窒素量を測定する。標準的なケルダール法は、粗飼料の品質評価ガイドブックや飼料分析法・解説等に記載されているのでここでは省略する。一方で、定量の迅速化を図った自動分析装置も多く導入されており、これらを用いることも少なくない。世界的に自動分析装置を販売している FOSS 社では、試料の酸分解条件を表 5.1 の様にしてしているが、各メーカーでの推奨条件や試料の内容によっては下記に示す注意点を考慮する必要がある。

表 5.1 自動分析装置での酸分解の条件例（FOSS 社）

試料重量	0.1-5g
硫酸使用量	12ml
分解促進剤	ケルタブ 2 錠（10 g）
分解温度	420℃
分解時間	60 分

FOSS ケルダール分解ハンドブックより

### ※ 注意すべき点（I）

- ① サンプル量増加によって分解に必要な硫酸量も増加する。また、サンプルをパラフィン紙、ろ紙などで包む場合も、それ自体を分解する硫酸が必要となるため増やす必要がある。
- ② サンプルの酸分解における硫酸添加量、分解促進剤量、分解時間が分析結果に影響を及ぼす場合がある。
- ③ 特に難分解性アミノ酸（リジンやトリプトファン）の分解には 360~380℃程度の温度が必要とされ、硫酸の沸点を上げるためにも分解促進剤の量は重要となる。
- ④ 確実な分解条件を設定するには、リジンやトリプトファン試薬を用いた回収試験を行い決定する必要がある。
- ⑤ 設定する分解時間は分解液が緑色透明になってからの時間である。
- ⑥ 過酸化水素水の利用は、酸化剤としての分解促進作用と分解時の消泡剤としての作用もある。

- ⑦ 精度管理は既知の標準試薬や標準試料を使うのが良い。自動分析装置、水蒸気蒸留工程では硫酸アンモニウムなどの利用、酸分解工程も含めた場合は EDTA、アセトアニリド、リジン、トリプトファン、馬尿酸、ニコチン酸などの利用がある。
- ⑧ 滴定に使用する試薬の規定度、ファクターは精度管理の上で重要となる。また、自動分析装置の滴定ラインの気泡混入は誤差の要因となるので注意する。

## (2) 燃焼法とその特徴

燃焼法は改良デュマ法とも呼ばれ、2006 年からは飼料分析基準にも掲載されており年々導入実績も増えてきている。燃焼法の原理は、酸素ガス中で試料を高温で熱分解し、遊離する窒素ガスを熱伝導度検出器 (TCD) で測定し定量を行う。つまり、試料を燃焼させて発生した窒素酸化物を還元して窒素ガスに変換し、それを TCD のガスクロマトグラフィーで測定する仕組みである。ケルダール法と比較すると、試料を直接燃焼させて測定するため、試料中の硝酸や亜硝酸なども、窒素ガスに還元されて測定されることからこれらを含んだ結果となる。分析工程では酸分解等の前処理がなく、測定時間も 3~5 分程度と非常に短く、廃液が発生しない点から迅速性、安全性で利点がある。しかし、機器価格ではケルダール機器と比べると、同等もしくは高価となり、分析には使用するガスの配管等も必要となる。機器メーカー資料でのランニングコストはケルダール法より安価とする場合が多いが、測定対象試料、試料採取量、機器形態により使用する酸素量も異なる他、使用する地域でのガス価格も異なるため、導入に際しては十分なコスト試算が必要である。

燃焼法での測定や結果に対しては以下の注意点を考慮する。

### ※ 注意すべき点 (II)

- ① 機器により試料採取量に制限があり、ケルダール法より試料採取量が少なく、分析値の変動が大きくなる場合がある。機器によっては微粉碎試料が推奨されている場合もある。
- ② ケルダール法の測定には滴定用の標準液が用いられるが、燃焼法の測定では EDTA、アセトアニリド、馬尿酸などの試薬から作成した検量線が用いられる。測定時はその試薬の測定結果で検量線を補正して測定に用いるため、試薬を精秤する天秤の管理も重要となる。
- ③ 硝酸態窒素の高い試料や難分解性アミノ酸を多く含む試料では、燃焼法の測定結果はケルダール法より数値が高くなる場合がある。もし、硝酸態窒素が少ないにも関わらず、ケルダール法の値が燃焼法の値より低くなる場合は、ケルダール法の硫酸分解に問題があるかもしれない(前頁の注意すべき点 (I) を参照)。

## 5.2.3 粗脂肪 (特に迅速抽出法)

粗脂肪の定量は以下の原理によるエーテル抽出法による。

- ① サンプルを有機溶媒に浸漬して粗脂肪分を溶出させる。

- ② その有機溶媒を加熱揮発させ、冷却して再度液化する。
- ③ 液化した有機溶媒を再度サンプル中を通過させる。
- ④ この工程を繰り返し、粗脂肪分を濃縮させて回収し、最後は乾燥秤量する。

基本的に、粗脂肪を抽出するには、有機溶媒にジエチルエーテル、ソックスレーの脂肪抽出器を使用して 16 時間必要である。その手順は、“三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック（自給飼料利用研究会編）”や“飼料分析法・解説（飼料分析基準研究会）”等に記載されているので、ここでは省略する。

最近では、専用の機器により抽出時間を短縮した迅速抽出法が広く使われるようになってきた。この迅速抽出法については、複数のメーカーから装置が販売されていて、それぞれで若干仕様が異なることなどから、上述のガイドブックにもあまり詳しく触れられていない。また、従来法との比較を十分に行って使用することとされている。

しかし、迅速抽出法は AOAC(4.5.05 final action 2006)でも採用されており、その際抽出時間以外に、従来の方法でも考慮すべきいくつかの改良が加えられている。また、今後はこれらの迅速抽出法に置き換わっていくと考えられるので、AOAC に記載されている基本的な手順（時間と温度の設定）および注意点を以下に記載する。

迅速抽出法の基本的な手順(AOAC(4.5.05 final action 2006)より)

- ① 抽出器を予め設定温度\* に暖め、冷却水を循環させる。
- ② サンプルの入った抽出カップにろ紙をセットする(予め予乾したもの)。
- ③ 抽出中にサンプルが十分に浸る量の溶媒(ジエチルエーテル)をカップに入れる。
- ④ カップを指定の位置に装着する。
- ⑤ 円筒ろ紙を下げ、溶媒に浸し、20 分間ボイルする。
- ⑥ 蒸留の速度を確認する。これは脂肪を完全に抽出するために重要である。
- ⑦ この速度は機器に依存するので、メーカーの取扱説明書に記載されるべきである。
- ⑧ 一般的に推奨されている蒸留速度は3～5滴/秒である。
- ⑨ 円筒ろ紙を溶媒から引き上げた状態にして 40 分間抽出する。
- ⑩ カップから可能な限り溶媒を蒸発させて溶媒を回収し、見かけ上の乾燥させる(風乾状態)。
- ⑪ 抽出カップを抽出器から外し、室温条件でドラフト内で溶媒の蒸発を完了させる。
- ⑫ 抽出カップを 102°C±2°Cの条件で30分間乾燥し、水分を蒸発させる。過剰な乾燥は脂肪の酸化を促進し、値が高くなる。(従来法では 105°C、3時間の乾燥となっているので、ここで従来法と比較するとわずかに差がつく。)
- ⑬ デシケーター内で放冷した後、秤量する。

※ 注意すべき点 (Ⅲ)

- ① 抽出カップにアルミ缶を使用している場合、蒸留速度の確認は困難である。メーカーの推奨に従うこと。
- ② FOSS ソクステックについては溶媒毎に設定温度が website に示されている。アルミカップでジエチルエーテルを使う場合 115°C(over temp145°C)の設定とする。

③ 以上のことを踏まえて、ジエチルエーテルを使用したときの迅速定量法での設定条件について以下のとおり推奨する。

▶ リンス(浸漬)20分・ボイル(抽出濃縮)40分-溶媒回収10分の設定で、ドラフト内に10分おいて十分にエーテルを揮発させてから乾燥器で102℃30分乾燥→30分放冷→秤量

i) 回収にアルミカップを使っている場合、主な誤差要因はアルミカップが吸湿することによる重量の変動である。デシケータで放冷する時間を守ること、デシケータから出したらすぐに秤量することが重要になる。

ii) 回収エーテルの使用は3回程度までとする。繰り返し使用すると純度が低下し、誤差が大きくなる傾向がある。

#### 使用する有機溶媒と温度について

設定温度は用いる溶媒により異なる。日本ではジエチルエーテルが標準的に使用されている。欧米では引火性の高いジエチルエーテル(特殊引火物)よりも安全性が高い石油エーテルが推奨されるようになってきているが、脂質の回収率において優れているのはジエチルエーテルであり、日本国内で石油エーテルを標準とする動きは今のところない。したがって、迅速抽出装置を導入する場合にはジエチルエーテルでの推奨設定温度(があること)を確認すること。

#### 5.2.4 粗灰分

飼料分析における粗灰分の定量法は、公定法として600℃、2時間灰化後の残量を粗灰分とすることとしており、本事業における粗灰分含量は、本法で得られた値を近赤外分析の基礎データとしている。このため、本法についての手順および注意点を述べる。

##### ・分析手順

ルツボ(50ml容)をマッフル炉に入れ、600℃、2時間灰化後、ルツボをデシケータに速やかに移し60分間冷却後、恒量(Wt0)を測定しておく。ルツボにサンプル約2g(SWt)を正確に秤量(0.1mgオーダー)する。サンプルを採取したルツボを電熱器上で予備灰化する。この作業はドラフト内で行う。ルツボから煙が出なくなった状態でマッフル炉に入れ、600℃、2時間灰化する。灰化後、ルツボをデシケータに速やかに移し60分間冷却後、秤量(Aft Wt)する。ルツボをマッフル炉から取り出す際は、高温な状態になっているので、ルツボ鉗を使いやけど等をしてないように注意する。また、灰化後にデシケータに移すときは、ルツボを直接デシケータに入れると中蓋とルツボ底部の温度差が大きいため破損するので、ルツボ架台を用いるとよい。粗灰分の分析は他の成分と同様に必ず二反復以上で行い、得られた分析値の相対誤差が2%以内であれば、その平均値を採用する。

$$\text{粗灰分含量 (\%)} = (\text{Aft Wt} - \text{Wt0}) \div \text{SWt} \times 100$$

Aft Wt : 灰化後のつぼ重量、Wt0 : るつぼ恒量、SWt : サンプル量

## 5.2.5 酵素分析

試料を酵素処理して細胞内容物 (Organic Cellular Contents: OCC) と総繊維 (Organic Cell Wall: OCW)に分け、OCW をさらに高消化性繊維 (High digestible fiber fraction; Organic a fraction: Oa) と低消化性繊維 ((Low digestible fiber fraction; Organic b fraction: Ob) とに分画する方法である。

### (1) 試薬の調製

- $\alpha$ -アミラーゼ用リン酸緩衝液:

リン酸 1 カリウム ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 60.4g とリン酸 2 ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 19.9g を水に溶かして 5 L とし、pH を 5.8 に調整する。

- $\alpha$ -アミラーゼ溶液:

リン酸緩衝液 20ml に  $\alpha$ -アミラーゼを 1 mg の割合で溶かし、酢酸カルシウム溶液を 5 ml/L の割合で添加する。酵素液の調整は使用直前に行う。

プロテアーゼ用リン酸緩衝液:

リン酸 1 カリウム ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 9.0g とリン酸 2 ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 95.4g を水に溶かして 5 L とし、pH を 7.4 に調整する。酢酸カルシウム溶液を 5 ml/L の割合で添加する。

- 酢酸カルシウム溶液:

酢酸カルシウム ( $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 7.0g を水に溶かして 1 L とする。

- プロテアーゼ溶液:

プロテアーゼ用リン酸緩衝液にプロテアーゼ (商品名: アクチナーゼ E) を 0.02%(W/V)の割合で溶かし、酢酸カルシウム液を 5 ml/L の割合で加える。

- セルラーゼ用酢酸緩衝液:

酢酸ナトリウム ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 12.9g を水に溶かし、酢酸 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 24.3g を加え 5 L とし、pH を 4.0 に調整する。

- セルラーゼ溶液:

セルラーゼ用酢酸緩衝液にセルラーゼ (商品名: セルラーゼオノズカ P1500 飼料分析用) を 1%(W/V)の割合で溶解する。

- アセトン: アセトン 1 級

### (2) OCW の定量

#### ① デンプンを含む試料の場合

試料約 0.5g を 50ml のスクリーキャップ付きバイアルビンに秤取し、水 20ml を加える。ホットプレート上で加熱し、デンプンの糊化を行う。沸騰状態になればこの操作を終了してよい。冷却後、20ml の  $\alpha$ -アミラーゼ溶液を加え、キャップ締め液漏れしないことを確認し、40°Cの振とう培養器内で 16 時間のデンプン加水分解を行う。分解後、No.5A のろ紙でろ過し、水で 4 回洗浄する。残渣中の洗浄水をよく水切りした後、洗浄ビンからアクチナーゼ溶液を吹き付けて、残留物をろ紙から元の 50ml のスクリーキャップ付きバイアルビンに洗い込み、アクチナーゼ溶

液でビンを満たす。キャップを締め、振とう培養器中で 40°C、16 時間のタンパク質分解を行う。分解後、恒量を秤量してある No.5A のろ紙でろ過する。ろ過が困難な場合は 300ml の水を加えて 3 時間以上静置して上澄を吸引して除くとよい。ろ紙と残渣は水で 4 回洗浄し、さらにアセトンで 3 回洗浄してから室温でアセトンを飛散させ、135°C、2 時間乾燥後、デシケーター内で 30 分間放冷して秤量する。さらに、あらかじめ恒量を秤量しておいたルツボに残渣をろ紙ごと入れ、予備灰化してから 600°C、2 時間灰化後、デシケーター内で 60 分間放冷して秤量する。酵素処理残渣の重量からこの灰分を差し引いて OCW とする。

## ② 試料中にデンプンを含まない試料の場合

デンプン含有量がゼロまたは無視できるほど少ないものについては、 $\alpha$ -アミラーゼによるデンプンの分解処理を行わずに直接アクチナーゼによるタンパク質の分解を行う。試料 0.5g を 50ml のスクリュウキャップ付きバイアルビンに取り、アクチナーゼ溶液を 50ml 入れ、キャップを締めた後、40°C の振とう培養器で 16 時間の分解を行う。分解後は、デンプンを含む試料の行程と同じ操作を行う。

## (3) Ob の定量

OCW の定量を終えた後、全く別の分析として総繊維量 (CW) が 0.3g に相当する量の試料をスクリュウキャップ付きバイアルビンに取り、OCW 定量のアセトン洗浄の前までの行程を行い、さらに、この残渣についてセルラーゼ処理を行う。

ポリ洗浄ビンからセルラーゼ溶液を吹きつけて、得られたろ紙上の残渣を 50ml のスクリュウキャップ付きバイアルビンに洗い込みセルラーゼ溶液をビンに満たし、キャップを締めた後、振とう培養器で 40°C、4 時間のセルロースの分解を行う。分解後、速やかにバイアルビンのキャップをはずし（ゆるめ）、ホットプレート上で加熱し、沸騰寸前で降ろす。手で持てる程度に冷えたら、秤量してある No.5A のろ紙でろ過し、水で 4 回洗浄する。さらにアセトンで 3 回洗浄し室温で乾燥させる。ろ過が困難な場合は 300ml ビーカーに移し、水を加えて 3 時間以上静置して上澄を吸引して除くとよい。アセトンが飛散した後 135°C、2 時間乾燥後、デシケーター内で 30 分間放冷して秤量する。続いて、あらかじめ恒量を秤量しておいたルツボに残渣をろ紙ごと入れ、予備灰化してから 600°C、2 時間灰化後、デシケーター内で 60 分間放冷して秤量し灰分含量を測定する。酵素処理残渣の重量から、この灰分量を差し引いて Ob（低消化性繊維）とする。OCW から Ob を差し引くことで Oa が求められる。

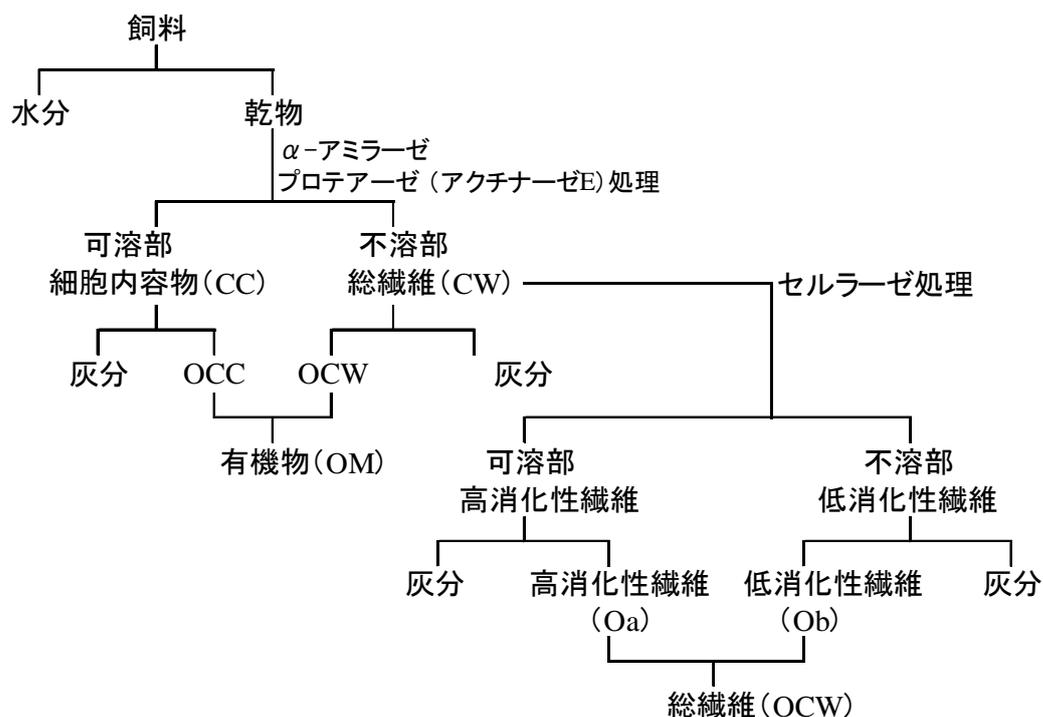


図 5.2 酵素分析法による粗飼料の繊維分画

### 5.2.6 デタージェント分析

飼料の繊維成分の総量（総繊維量）および難消化性繊維量を中性および酸性の界面活性剤（デタージェント）で分離定量する方法である。

#### (1) 中性デタージェント繊維（Neutral detergent fiber: NDFom）

飼料を中性界面活性剤で煮沸することにより、細胞内の糖類、タンパク質、脂質などを乳化溶解させて細胞壁物質から分離し、さらに灰分を除いて残った繊維成分が中性デタージェント繊維（Neutral detergent fiber、NDFom）であり、主に細胞壁を構成するセルロース、ヘミセルロース、リグニンからなる。

#### ① 試薬

- ・耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ溶液：

耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ（ $\alpha$ -amylase A3306、 $\alpha$ -amylase A3403: Sigma 製）を蒸留水で 10 倍希釈して使用する。

- ・中性デタージェント溶液(ND 溶液)：

ラウリル硫酸ナトリウム 150g、EDTA-2Na 93.1g、ホウ酸ナトリウム( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )34.1g、リン酸 2 ナトリウム( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )57.4g、トリエチレングリコール 50ml を水に溶かし 5 L とする。使用に際して、pH が 6.95 から 7.05 の範囲にあることを確認する。

(注) 低温時はラウリル硫酸ナトリウムが析出し乳白色の液となるので、その時は加熱して透明な溶液にして用いる。

- ・デカリン： デカヒドロナフタリンをそのまま用いる。
- ・アセトン： アセトン 1 級。

## ② 操作

試料約 0.5mg を 500ml のトールビーカーに正確に秤りこみ、ND 溶液 50ml とデカリン数滴を加えて粗繊維煮沸装置の上で 1 時間煮沸（静かに還流する程度に加熱）する。煮沸後 15 分後、30 分後に耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ溶液をそれぞれ 2 ml 加える。煮沸後、秤量済みのろ紙でろ過して 8 回水洗した後、アセトンで 3 回洗浄し室温で乾燥させる。アセトンが揮散したら残渣とろ紙を 135°C、2 時間乾燥後、デシケーター内で 30 分間放冷して秤量する。さらに、あらかじめ恒量を秤量しておいたルツボに残渣をろ紙ごと入れ、予備灰化してからマッフル炉で 600°C 2 時間灰化し、デシケーター内で 30 分間放冷後秤量し、この灰分を差し引いて DFom とする。

$$\text{NDFom} (\%) = (\text{乾燥物残量} - \text{灰分}) / \text{サンプル量} \times 100$$

(注) 秤量済みのろ紙でろ過をする際に ND 溶液のろ過速度が遅い場合は静置法を用いるとよい。即ち、煮沸後 400ml 程度水を加え 3 時間以上静置し、上澄み液を吸引除去してからろ過する。

## (2) 酸性デタージェント繊維 (Acid detergent fiber、ADFom)

1 規定の硫酸溶液に界面活性剤を溶解した処理液 (Acid detergent、AD) で飼料を煮沸すると、まず界面活性剤の作用でタンパク質、可溶性炭水化物、脂質等の溶液中への分散が起こり、ついでそれらが酸で分解されると同時にヘミセルロース、セルロースも加水分解を受ける。この時、ヘミセルロースのほとんどの部分は加水分解を受け流出するが、セルロースの結晶領域は分解されない。また、リグニンも分解されない。したがって、この処理により得られた残渣は、有機物ではリグニンとセルロースが主であり、その他少量の抗酸性のタンパク質と、無機物ではケイ酸を含む。この処理残渣の有機物部分を酸性デタージェント繊維 (Acid detergent fiber、ADF) とよぶ。AD 処理残渣中のセルロースを分解して除き、さらに残渣を灰化してリグニンとケイ酸を分離する。AD 処理残渣を 72% 硫酸で処理して得られるリグニンは酸性デタージェントリグニン (Acid detergent lignin、ADL) と呼ばれている。

### ① 試薬

・酸性デタージェント溶液 (AD 溶液) :

1 規定硫酸溶液 (特級、98% 濃硫酸 51g を純水に溶解し、1 L とする) に 1 L 当たり 20g の臭化セチルトリメチルアンモニウム (Cetyltrimethyl ammonium bromide: CTAB) を溶解する。

・デカリン: デカヒドロナフタリン ( $\text{C}_{10}\text{H}_{18}$ ) をそのまま使用する。消泡剤である。

・アセトン: アセトン 1 級

### ② 操作

あらかじめ、ろ紙 (No.5A、径 12.5cm) をアルミ秤量缶に入れて 135°C、2 時間乾燥し、デシケーター内で 30 分間放冷後、秤量し恒量を求めておく。同時に磁製ルツボをマッフル炉で 600°C、2 時間加熱しデシケーター内で 60 分間放冷後、秤量し恒量を求めておく。

500ml のトルビーカーに試料約 1 g を正確に秤取りし、AD 溶液 100ml とデカリン数滴を加えて粗繊維煮沸装置の上で 1 時間煮沸（静かに還流する程度に加熱）した後、秤量したろ紙を用いてろ過する。ろ紙上の残渣を水で 8 回よく洗った後、アセトンで 3 回洗浄する。ロート上でアセトンを散逸させた後、ろ紙と残渣を秤量缶に入れて、135°C、2 時間乾燥後、デシケーター内で 30 分間放冷し秤量する。ここで得られた数値は、ADF とケイ酸の合計である。秤量を終わったらろ紙と残渣は恒量を求めてあるルツボに入れて、予備灰化後、600°C、2 時間灰化し、デシケーター中で 60 分間放冷し秤量して灰分（ケイ酸）量を求める。

先に測定してある残渣の値から灰分の値を差引き、ADFom とする。

$$\text{ADFom (\%)} = (\text{残さ} - \text{灰分}) / \text{サンプル量} \times 100$$

### (3) ADL（酸性デタージェントリグニン：Acid detergent lignin）とケイ酸

#### ① 試薬

72%硫酸：水 333ml を入れた 1 L のビーカーに冷却しながら濃硫酸 667ml を静かに攪拌しながら加える。冷却後、比重が 1.634 となるように調整する。

#### ② 操作

「酸性デタージェント繊維 定量（1）」に従って、酸性デタージェント不溶解物の量の算出後、酸性デタージェント不溶解物が入っているガラスろ過器を 50mL ビーカーまたは浅いエナメルバットの中に置く。次に、このガラスろ過器にその容量の半分程度まで 15°C に冷却した 72%硫酸用液で満たし、ガラス棒で内容物に硫酸溶液が浸透するように混合する（ガラス棒はガラスろ過器に入れた状態で放置する）。ガラスろ過器の温度を 20～23°C に保ちながら、1 時間毎に内容物を混合する。この際、ガラスろ過器から硫酸を除去するために吸引ろ過を行い、残留物の酸性反応がなくなるまで熱水で洗浄すると共に、セルロース残渣などを除去する。この際、ガラスろ過器の側面も十分に洗浄する。さらに、アセトン 10～20mL で 3～4 回洗浄した後、アセトン臭が無くなるまで風乾する。ガラスろ過器を 135°C で 2 時間乾燥し、デシケーターの中で放冷した後、重さを正確に量り、試料中の酸性デタージェント不溶解物硫酸処理残渣の量（リグニン+ケイ酸）を算出する。さらに、先のガラスろ過器を 520～550°C で 3 時間加熱して酸性デタージェント不溶解物硫酸処理残渣（リグニン+ケイ酸）を灰化し、デシケーター中で放冷した後、重さを正確に量って酸性デタージェント不溶解物硫酸処理残渣中のケイ酸量を求める。

$$\text{ADL (\%)} = (D - E) / A \times 100$$

$$\text{ケイ酸 (\%)} = E / A \times 100$$

分析試料：A (g)

酸性デタージェント不溶解物硫酸処理残渣の量（リグニン+ケイ酸）：

D (g)

ケイ酸： E (g)

## クロスチェックのすすめ

クロスチェックとは任意のサンプルについて他の分析機関と同じ値が得られているか確認する作業のことである。

フォレンジテストの中心的役割を担うNIRSはあくまでも成分の推定であり、時には検量線が適合しないサンプルもあるため、定期的に化学分析により適合性を確認する必要がある。ただし、化学分析を実施し、その値とNIR値との差が大きかったとすると果たしてどちらが正しいのか？化学分析値は信頼できるのか？という問題に突き当たる。そこで化学分析の信頼性を高めるために定期的なクロスチェックによる分析値の妥当性確認が重要である。

クロスチェックを進める際にはお互いのラボを見学することをお勧めする。データや言葉（文章）でのやり取りではわからなかった誤差要因が互いのラボを見学することで明らかになることは少なくない。また、分析業務の中で独自に創意工夫を凝らされている例があるかと思うが、そのような創意工夫を取り入れたりすることで業務の効率化につながるはずである。

したがって、比較的簡単に行き来のできる近隣の分析機関でクロスチェックを行える関係を構築することをお勧めする。

### <クロスチェックを行うに当たってのポイント>

- ・専用のサンプルを用意

ラボ（分析機関）間でのチェックに使ったら、残りは定期的な精度チェック用サンプルとして活用するとよい。そのため、1サンプルにつき各機関に最低100g程度を準備する。

- ・サンプルの点数は3点程度

粗飼料分析は分析項目が多く、かつそれらの項目を独立して処理するものが多い。あまり点数が多いと通常業務を圧迫する。イネ科牧草、マメ科牧草、トウモロコシサイレージというように異なる種類のものを一点ずつ、計3～4点程度を用意するとよい。

- ・たまには未粉碎物も

3.2 粉碎 で述べたように乾燥粉碎行程も誤差要因になっているので、粉碎物のクロスチェックで異常がない場合、一歩進んで未粉碎サンプルを使って乾燥・粉碎行程からのクロスチェックを推奨する。

- ・やるときは短期間で

サンプル中の水分は経時的に変化する。したがって、クロスチェック結果の比較は乾物中に換算して行う方が良く、短期間に時期をそろえて実施した方が余計な誤差要因を減らせる。

## 第6章 FAQ

### 6.1.1 Q：予乾牧草はサイレージか乾草か？

A：検量線にもよるが、水分 30%以下は乾草として扱ったほうが推定精度が良いようである。これは水分 30%以下では乳酸などの有機酸がほとんど生成されないためと考えられる。

### 6.1.2 Q：原料草はサイレージか生草か？

A：基本的には生草になる。しかし、発酵が始まるとサイレージに近くなり誤差が生じ易いサンプルである。検量線を作成した時の標準サンプルの範囲にもよるし、測定しようとする任意のサンプルの状態にもよるので、ケースバイケースである。サイレージとして利用されるまで時間的な余裕があるので、出来るだけ化学分析を行って分析結果を報告すると同時に、任意の検量線での当てはまりを検証しておくことを推奨する。適用するのが妥当な検量線が見つければ、次回からその検量線を用いればよい。

### 6.1.3 Q：ありえない値の逆転がある(ADF>NDF等)。どうしたらよいか？

A：近赤外分析は推定なので誤差はどうしてもついてまわる。もしその誤差が許容範囲を超えている場合は化学分析を行うしかない。どのような値が異常値か？どの様な場合に化学分析を行えばよいか？の判断は以下のようなケースが考えられる。

#### ①検量線作成に使われたサンプルの成分値の範囲外の場合。

検量線作成時の成分値の範囲外では極端に精度が低下することが多い。検量線セットアップ時にソフトウェア上で上限値と下限値を入力しておき（配布検量線の基本情報として付記されている）、それを超えるとアラームが表示されるようにしておくが良い。

#### ②サンプルの由来区分と検量線の由来区分と一致していない場合。

サイレージの原料草をサイレージ用検量線で測定した場合などは誤差が大きくなり易い。また、水分 30%以下の低水分サイレージは乾草用検量線のほうが当てはまりが高くなることが多い。これは発酵産物（乳酸など）がほとんど含まれていないためと考えられる。これらを確認しても誤差が大きい場合は畜草研へ連絡をする。今後の検量線改良に生かされる。

#### ③野菜残渣などでは通常の手順では ADF と NDF が逆転するケースがある。この現象は、飼料中にペクチン質が多く含まれている場合に起こるものと考えられる。その対処法として ND 溶液で煮沸し、ペクチンを除去してから AD 溶液の処理をする方法が提案されている。詳細は、甘利ら（2010）野菜におけるデタージェント分析法適用上の問

題点、畜草研研報 10 : 9-13 を参照されたい。

- 6.1.4 Q : 電源は入れっぱなしでもよいか？  
A : ランプの頻繁な ON・OFF は避ける。数日内に使う予定がある場合は本体の電源は入れっぱなしがよい。4.4.5 近赤外分析計の取扱い を参照されたい
- 6.1.5 Q : ランプが切れた！検量線の校正は必要か？  
A : 必要かどうかはチェックしてみなければわからないので、チェック用のサンプル群を用意しておくか、補正用サンプル群でチェックしてみることになる。つまり検量線の補正とほぼ同じ作業をすることになる。
- 6.1.6 Q : サンプルの粉碎粒度は測定結果に影響するか？  
A : 今回作成した検量線は 2 次微分処理を行ったスペクトルデータを用いている。これにより粉碎粒度で起こる散乱などの影響が殆ど排除されるので、1 mm 程度の粉碎粒度であれば影響はない。
- 6.1.7 Q : 機器を設置する部屋の温度は関係するか？  
A : 関係する場合がある。近赤外分析では対象となる物質の化学結合における振動の情報を用いるが、この振動は温度により変わるため、夏期や冬期で測定時に室内温度が急激に変化すると影響が出てくる。また、エアコンの冷気が機器やサンプルに直接当たらないように留意する。
- 6.1.8 Q : 放牧草（生草）はどのようにするか？  
A : 放牧草（生草）の検量線はないが、水分を測定した後に、材料を本マニュアルにしたがって乾燥し、乾草の検量線を用いて化学組成を推定することをお勧めする。
- 6.1.9 Q : イネ科牧草の種類毎、生育時期毎の検量線はできないか？  
A : イタリアンライグラスについては試料数が多いことからイタリアンライグラス乾草の検量線を特別に用意したが、本事業による近赤外分析のデータでは、イネ科牧草は草種、刈取り時期が多様な飼料集団から検量線を作成し、精度の高い推定値が得られている。それについては、本マニュアル「7. 2 イタリアンライグラス乾草」を参照されたい。
- 6.1.10 Q : 分析値は同一でも消化性が変わると TDN 含量が異なる。トウモロコシサイレージの「未破碎」、「破碎」の処理区分はどうしたらよいか？  
A : 化学組成の推定は粉碎試料によって行われるため、未破碎、破碎の処理如何にかかわらず成分の含量に差はない。破碎処理によって消化率がどう違うかについては、表 6.1 を参考にされたい。

表 6.1 トウモロコシサイレージの破碎処理の有無とローラ間隔の違いが  
成分消化率、TDN 含量に及ぼす影響（黄熟期）

設定切断長	9mm	19mm	19mm
ローラー間隔	未破碎	5mm	1mm
消化率%（ルーメン）			
有機物	58.5	66.5	59.4
デンプン	75.9b	85.7ab	91.4a
NDF	44.7	51.7	46.8
消化率（総消化管）			
有機物	72.2	77.5	77.8
デンプン	94.2	98.9	99.9
NDF	48.8b	65.4a	66.1a
乾物中 TDN%	63.6	68.0	67.1
a,b ; P<0.05 谷川珠子（北海道立畜産試験場）			

6.1.11 Q : Ca、P、Mg、K 等のマクロミネラルは近赤外分析では測定できないか？

A : 過去に近赤外分析の測定例はあるが、有機物の化学結合の振動を基礎とするのが NIRS の基本的な原理であり、本事業ではミネラルを測定の対象とはしなかった。

6.1.12 Q : 飼料用米の分析値は、鶏、豚に使えるか？

A : 十分使用可能である。ただし、TDN 推定式はないので、飼料成分表の値を使用されたい。

6.1.13 Q : たちすずか等の茎葉型のイネ WCS も同じ検量線が使えるのか？

A : 検量線作成の基礎とした WCS 用イネの試料数は 208 点、40 品種に及ぶもので、生育ステージも出穂期から完熟期まで網羅しており、すべての WCS 用イネに対応できる。

## 第7章 事業で作成した検量線の紹介と使用に当たっての留意事項

本事業で作成した検量線について、各種飼料群の来歴、生産地、並びに検量線の精度を以下に示す。

### 7.1 牧乾草

表7.1.1 牧乾草の草種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	青森県、秋田県、岩手県、埼玉県、群馬県、静岡県、石川県、 富山県、福井県、畜草研（つ）、家畜改良センター、香川県、明治飼糧、 宮崎県、熊本県、全酪連
草種：	イタリアンライグラス、オーチャードグラス、チモシー、ローズグラス、 バヒアグラス及びこれらの混播草
番草：	一番草、二番草、三番草
生育ステージ：	生育期、出穂期、開花期、結実期

表7.1.2 牧乾草の草種の飼料成分

	(DM%)								
	全試料			検量線用試料群			検定用試料群		
	(n=161)			(n=120)			(n=41)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	5.1	12.3	8.0	5.1	12.3	8.0	5.8	11.5	8.0
粗タンパク質	2.7	25.2	9.8	2.7	25.2	9.8	2.7	23.4	9.7
粗脂肪	0.7	5.1	2.2	0.7	5.1	2.2	0.8	4.8	2.3
粗灰分	4.6	13.9	7.8	4.6	13.9	7.7	4.8	13.8	7.9
NDFom	39.1	77.4	61.9	40.0	77.4	61.9	39.1	76.2	61.9
ADFom	21.5	45.6	35.6	21.7	45.6	35.6	21.5	44.1	35.6

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.1.3 牧乾草の草種の分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	10	0.985	0.288	0.982	0.255	5.84
粗タンパク質	12	0.994	0.543	0.990	0.595	7.31
粗脂肪	12	0.974	0.210	0.967	0.249	3.53
粗灰分	12	0.971	0.545	0.962	0.623	3.50
NDFom	12	0.991	1.208	0.975	1.170	7.29
ADFom	10	0.990	0.838	0.987	0.861	6.41

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP : ~2.3 : 不良、 2.3~3.0 : 実用分析に利用可、

3.0~5.0 : より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0 : 準化学分析相当、 8.0~ : 化学分析相当

## 7. 2 イタリアンライグラス乾草

表7.2.1 イタリアンライグラス乾草の品種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	埼玉県、福井県、香川県、熊本県、宮崎県、家畜改良センター、 畜草研（つ）、全酪連
生育ステージ：	生育期、出穂期、開花期、結実期

表7.2.2 イタリアンライグラス乾草の飼料成分 (DM%)

	全試料 (n=60)			検量線用試料群 (n=48)			検定用試料群 (n=12)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
	水分	5.8	11.9	8.2	5.8	11.9	8.2	5.9	11.5
粗タンパク質	2.7	25.2	8.4	2.7	25.2	8.6	2.7	24.1	7.9
粗脂肪	0.7	5.1	2.1	0.7	5.1	2.2	0.8	4.8	2.0
粗灰分	5.4	13.9	8.7	5.6	13.9	8.8	5.4	13.6	8.4
NDFom	39.1	66.9	54.7	39.6	66.9	54.6	39.1	66.5	55.3
ADFom	21.5	42.9	32.7	21.7	42.9	32.7	21.7	41.6	33.3

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.2.3 イタリアングラス乾草の分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	10	0.994	0.227	0.991	0.301	7.31
粗タンパク質	8	0.999	0.332	0.993	0.682	8.72
粗脂肪	10	0.992	0.169	0.987	0.144	8.40
粗灰分	10	0.992	0.335	0.977	0.594	4.60
NDFom	6	0.994	0.951	0.986	1.820	5.18
ADFom	6	0.995	0.743	0.989	0.695	10.40

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP : ~2.3 : 不良、 2.3~3.0 : 実用分析に利用可、  
3.0~5.0 : より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0 : 準化学分析相当、 8.0~ : 化学分析相当

### 7. 3 牧草サイレージ

表7.3.1 牧草サイレージの草種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	北海道、青森県、岩手県、茨城県、栃木県、埼玉県、群馬県、 神奈川県、山梨県、静岡県、石川県、富山県、岐阜県、 鳥取県、福岡県、宮崎県、熊本県、全酪連、明治飼糧
草種：	イタリアンライグラス、オーチャードグラス、スーダングラス、 チモシー、リードカナリーグラス及びこれらの混播草
番草：	一番草、二番草、三番草
生育ステージ：	生育期、出穂期、開花期、結実期

表7.3.2 牧草サイレージの飼料成分

(DM%)

	全試料			検量線用試料群			検定用試料群		
	(n=164)			(n=112)			(n=52)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	5.5	16.2	9.1	5.5	16.2	9.2	5.4	13.3	9.0
粗タンパク質	4.1	20.9	10.5	4.8	20.9	10.4	4.1	19.2	10.7
粗脂肪	1.5	6.3	2.8	1.6	5.1	2.8	1.4	5.2	2.8
粗灰分	4.7	17.5	9.5	4.6	17.5	9.7	5.6	14.0	9.2
NDFom	47.3	74.5	63.4	47.3	74.5	63.4	49.5	73.6	63.5
ADFom	29.8	47.3	38.9	29.8	47.3	38.9	30.6	45.6	38.8

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.3.3 牧草サイレージの分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	11	0.958	0.568	0.944	0.592	3.06
粗タンパク質	12	0.976	0.762	0.962	0.924	3.64
粗脂肪	11	0.946	0.287	0.963	0.237	3.84
粗灰分	11	0.940	0.898	0.904	0.806	3.48
NDFom	12	0.968	1.594	0.938	1.680	3.04
ADFom	12	0.962	1.302	0.928	1.470	2.48

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP : ~2.3 : 不良、 2.3~3.0 : 実用分析に利用可、  
3.0~5.0 : より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0 : 準化学分析相当、 8.0~ : 化学分析相当

## 7. 4 トウモロコシサイレージ

表7.4.1 トウモロコシサイレージの品種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	北海道、青森県、岩手県、畜草研（つ）、茨城県、栃木県、 千葉県、埼玉県、神奈川県、静岡県、石川県、富山県、岐阜県、 鳥取県、福岡県、山梨県、宮崎県、鹿児島県、全酪連、明治飼糧
品種：	パイオニア、スノーデント、ゴールドデント、ファームデント、王夏、 サイレージコーン、デントコーン
生育ステージ：	糊熟期～黄熟後期

表7.4.2 トウモロコシサイレージの飼料成分 (DM%)

	全試料 (n=125)			検量線用試料群 (n=100)			検定用試料群 (n=25)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
	水分	4.6	12.2	7.9	4.6	12.2	7.8	5.2	10.9
粗タンパク質	5.7	12.5	8.5	5.7	12.5	8.4	6.5	12.0	8.6
粗脂肪	1.4	3.9	2.7	1.4	3.7	2.7	1.6	3.9	2.7
粗灰分	4.8	10.0	7.0	4.8	10.0	7.0	5.0	8.6	7.0
NDFom	34.3	66.5	49.5	34.3	66.5	49.7	37.6	64.3	48.7
ADFom	19.2	41.6	28.8	19.2	41.6	28.9	21.7	38.7	28.6

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.4.3 トウモロコシサイレージの分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	10	0.966	0.411	0.952	0.572	2.97
粗タンパク質	15	0.983	0.259	0.952	0.398	3.12
粗脂肪	6	0.916	0.317	0.943	0.187	3.23
粗灰分	13	0.952	0.328	0.867	0.395	2.41
NDFom	12	0.993	0.821	0.992	0.897	7.71
ADFom	11	0.990	0.642	0.981	0.750	6.29

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP : ~2.3 : 不良、 2.3~3.0 : 実用分析に利用可、  
3.0~5.0 : より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0 : 準化学分析相当、 8.0~ : 化学分析相当

## 7. 5 稲発酵粗飼料（イネ WCS）

表7.5.1 イネ WCSの品種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	青森県、岩手県、茨城県、栃木県、千葉県、埼玉県、山梨県、 静岡県、富山県、福井県、滋賀県、岡山県、広島県、鳥取県、 香川県、愛媛県、福岡県、熊本県、宮崎県、全酪連、雪印種苗、 明治飼糧、畜草研（那）
品種：	クサホナミ、タチアオバ、コシヒカリ、ユメツクシ、ヒノヒカリ、 ヒヨクモチ、モミロマン、タチスズカ、あきまさり、モグモグアオバ、 アキサヤカ、夢あおば、ちば28号、たちすがた、べにあおば、 ふさおとめ、ハナエチセン、五百万石、カグラモチ、あきさかり、 北陸193号、べこごのみ、秋の詩、リーフスター、たちすずか、 クサノホシ、キヌヒカリ、はまさり、うしもえ、たちあやか、たちすずか、 ミナミユタカ、ほしあおば、アケボノ、シシクワズ、ひとめぼれ、 あきたこまち、あさひの夢、夢つくし他
生育ステージ：	出穂期、乳熟期、糊熟期、黄熟期、完熟期

表7.5.2 イネ WCSの飼料成分

	(DM%)								
	全試料			検量線用試料群			検定用試料群		
	(n=208)			(n=154)			(n=54)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	2.7	8.9	6.7	2.7	8.9	6.7	3.7	8.4	6.7
粗タンパク質	3.5	11.6	6.0	3.5	11.6	6.0	3.9	10.2	6.2
粗脂肪	0.6	7.5	2.6	0.6	7.5	2.6	1.3	6.8	2.7
粗灰分	6.5	22.0	13.3	6.5	22.0	13.2	7.4	21.0	13.7
NDFom	30.9	68.9	53.3	30.9	68.9	53.4	32.3	66.7	53.2
ADFom	18.0	43.1	31.7	18.0	40.4	31.6	20.6	43.1	31.8
OCC	6.4	64.3	27.4	6.4	64.3	28.0	8.4	56.7	26.7
OCW	26.1	79.7	58.4	26.1	79.7	46.3	31.1	77.0	59.4
Oa	0.6	9.7	5.1	0.6	9.7	5.0	0.8	8.9	5.1
Ob	24.3	74.7	53.3	24.3	74.7	52.8	29.0	73.9	54.3

OCC: 細胞内容物, OCW: 細胞壁物質, Oa: 高消化性繊維, Ob: 低消化性繊維,  
NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.5.3 イネ WCSの分析精度

	Factor数	検量線		検量線の検定		
		r	SEC	r	SEP	RPD
水分	13	0.963	0.337	0.950	0.305	3.71
粗タンパク質	9	0.926	0.509	0.907	0.477	3.30
粗脂肪	7	0.881	0.359	0.794	0.354	2.63
粗灰分	10	0.988	0.523	0.984	0.637	5.77
NDFom	12	0.971	2.191	0.968	1.632	4.31
ADFom	10	0.919	1.658	0.932	1.264	3.47
OCC	3	0.98	2.26	0.98	2.82	4.84
OCW	4	0.99	1.01	0.98	2.33	5.22
Oa	10	0.88	0.27	0.89	1.03	2.19
Ob	4	0.99	1.97	0.99	1.86	5.95

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、  
RPD: 検定試料群 SD/SEP: ~2.3: 不良、 2.3~3.0: 実用分析に利用可、  
3.0~5.0: より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0: 準化学分析相当、 8.0~: 化学分析相当

## 7. 6 飼料用米（玄米）

表7.6.1 飼料用米（玄米）の品種と生産地

北海道農研セ	20点	(きらら397、きたあおば、ななつぼし、札系07236、北海系他)
東北農研セ	15点	(べこごのみ、ふくひびき、べこあおば、奥羽・羽系他)
作物研	29点	(タカナリ、モミロマン、日本晴、おどろきもち、和系、関東糯系他)
中央農研北陸セ	20点	(アキヒカリ、夢あおば、クサユタカ、べこごのみ、北陸・収飼系他)
近中四農研セ	14点	(ホシアオバ、タカナリ、クサノホシ、ミズホチカラ、多収系他)
九沖農研セ	20点	(西海198、モグモグあおば、ニシホマレ、タチアオバ、ひとはな他)

表7.6.2 飼料用米（玄米）の飼料成分

	(DM%)								
	全試料			検量線用試料群			検定用試料群		
	(n=118)			(n=84)			(n=34)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	11.0	16.8	13.6	11.4	16.7	13.6	11.0	16.8	13.6
粗タンパク質	6.4	11.5	8.4	6.7	11.5	8.4	6.4	11.1	8.5
粗脂肪	0.6	3.3	2.1	0.6	3.3	2.1	0.6	3.1	2.1
粗灰分	1.0	1.7	1.2	1.0	1.7	1.2	1.0	1.6	1.2
NDFom	1.1	5.3	3.0	1.1	5.1	3.0	1.3	5.3	3.0
デンプン	77.2	86.4	81.4	77.9	86.4	81.3	77.2	85.6	81.4
ロイシン	0.37	0.77	0.55	0.37	0.77	0.55	0.41	0.72	0.55
リジン	0.20	0.37	0.28	0.20	0.36	0.28	0.22	0.37	0.27

NDFom: 中性デタージェント繊維

表7.6.3 飼料用米（玄米）の分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	7	0.996	0.105	0.995	0.126	9.60
粗タンパク質	12	0.986	0.192	0.985	0.179	6.11
粗脂肪	8	0.986	0.192	0.985	0.179	6.11
粗灰分	7	0.798	0.07	0.723	0.10	1.3
NDFom	9	0.732	0.472	0.616	0.443	1.59
デンプン	10	0.887	0.820	0.860	0.950	1.81
ロイシン	5	0.962	0.023	0.960	0.022	3.73
リジン	6	0.912	0.014	0.911	0.014	2.55

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、 SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP: ~2.3: 不良、 2.3~3.0: 実用分析に利用可、

3.0~5.0: より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0: 準化学分析相当、 8.0~: 化学分析相当

## 7. 7 ソルガムサイレージ

表7.7.1 ソルガムサイレージの品種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地・提供機関	岩手県、栃木県、埼玉県、千葉県、神奈川県、長野県、滋賀県、鳥取県、愛媛県、福岡県、熊本県、宮崎県、鹿児島県、全酪連、明治飼糧
品種：	高糖分ソルガム、3尺ソルゴー、グレインソルガム、ハイブリッドソルゴー、ビッグシュガーソルゴー、ハイグレインソルゴー、スーパーシュガーソルゴー、兼用ソルゴー、高消化ソルゴー、スーダン型ソルゴー、シュガーグレイズ
生育ステージ：	糊熟期～黄熟後期

表7.7.2 ソルガムサイレージの飼料成分

	(DM%)								
	全試料			検量線用試料群			検定用試料群		
	(n=151)			(n=120)			(n=31)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	5.8	15.0	10.2	5.8	15.0	10.2	6.8	12.5	10.0
粗タンパク質	5.3	15.9	8.6	5.3	15.9	8.6	5.3	14.5	8.5
粗脂肪	1.2	4.6	2.3	1.2	4.6	2.3	1.4	3.7	2.3
粗灰分	5.3	15.3	9.1	5.3	15.3	9.2	5.7	12.2	9.1
NDFom	52.7	72.5	63.0	52.7	72.5	53.1	53.6	71.4	62.6
ADFom	32.0	46.4	39.2	32.0	46.4	39.3	32.1	45.2	38.9

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.7.3 ソルガムサイレージの分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	5	0.939	0.602	0.951	0.339	5.11
粗タンパク質	12	0.966	0.629	0.949	0.687	3.14
粗脂肪	8	0.945	0.189	0.944	0.163	3.13
粗灰分	11	0.955	0.634	0.962	0.471	4.54
NDFom	10	0.981	1.038	0.953	1.030	4.32
ADFom	12	0.987	0.674	0.972	0.793	4.51

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、 SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP : ~2.3 : 不良、 2.3~3.0 : 実用分析に利用可、

3.0~5.0 : より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0 : 準化学分析相当、 8.0~ : 化学分析相当

## 7. 8 大麦ホールクロップ（サイレージ原料）

表7.8.1 大麦ホールクロップ（サイレージ原料）の品種と生産地

生産年次：	2009～2011年
生産地：	茨城県、埼玉県、群馬県
品種：	シュンライ、ワセドリ、ファイバースノウ、ユメサキボシ、 関東皮89号、関系b555他
生育ステージ：	穂ばらみ期、出穂期、開花期、乳熟期、糊熟期、黄熟期

表7.8.2 大麦ホールクロップ（サイレージ原料）の飼料成分

(DM%)

	全試料 (n=164)			検量線用試料群 (n=110)			検定用試料群 (n=54)		
	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値
水分	8.7	12.9	9.7	8.7	12.9	9.6	8.7	11.3	9.6
粗タンパク質	1.9	19.0	8.0	1.9	19.0	8.0	3.4	17.0	7.8
粗脂肪	1.4	3.9	2.1	1.4	3.9	2.1	1.4	3.8	2.0
粗灰分	4.2	10.2	7.4	4.8	10.2	7.4	4.2	9.6	7.3
NDFom	41.0	62.6	50.9	41.0	61.9	50.8	41.9	62.6	50.7
ADFom	20.2	38.4	27.6	20.2	38.4	27.6	20.7	35.8	27.4

NDFom: 中性デタージェント繊維, ADFom: 酸性デタージェント繊維

表7.8.3 大麦ホールクロップ（サイレージ原料）の分析精度

	検量線			検量線の検定		
	Factor数	r	SEC	r	SEP	RPD
水分	9	0.934	0.21	0.898	0.23	2.3
粗タンパク質	12	0.986	0.55	0.968	0.66	4.5
粗脂肪	10	0.978	0.11	0.958	0.12	3.6
粗灰分	14	0.973	0.30	0.922	0.46	2.7
NDFom	9	0.959	1.59	0.928	1.89	2.9
ADFom	9	0.948	1.25	0.912	1.26	2.7

Factor数: PLSRによる検量線作成に用いたファクター数、 r: 相関係数、 SEC: 検量線の標準誤差、  
SEP: 検量線検定の標準誤差、

RPD: 検定試料群 SD/SEP: ~2.3: 不良、 2.3~3.0: 実用分析に利用可、

3.0~5.0: より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0: 準化学分析相当、 8.0~: 化学分析相当

## 7. 9 検量線利用における留意事項

### 7.9.1 水分

収集した検量線作成用試料は、熱乾処理されているため水分値のレンジが狭い。そのため、近赤外分析においては、測定試料の水分含量に注意する必要がある。検量線作成に使用した試料群の水分レンジ外の分析結果に大きな誤差を生じる可能性がある。また、水分以外の成分分析にも影響を与える可能性があるため、分析試料の水分値を検量線の飼料群の水分レンジ内にあわせて調整するよう注意する必要がある。

### 7.9.2 熱乾処理

試料を風乾させる温度は60℃を厳守する。これは、風乾温度により粗タンパク質、繊維成分含量が異なってしまうためである。風乾に要する時間は、48時間を基本とするが、サンプル量、バットの大きさ等により、随時変更して調整する。

### 7.9.3 NIRS による分析結果

NIRS では、測定した試料について、無条件に分析値が出されてしまうことから、得られた分析結果が妥当な値であるかどうかを十分チェックする必要がある。異常値と思われるデータが示されたときには、化学分析を実施して分析値の確認をするなどの対策をとる。

### 7.9.4 化学分析値

化学分析値についても、精度管理が不十分だと場所間で異なった結果が生じかねない。分析値の精度を確認するための定期的なクロスチェックを近隣の分析センターと実施することをお勧めする。

#### NIRS で測定される成分値（推定値）と給与飼料中の成分量について

NIRS 測定時の検体は風乾物で行い、測定される推定値は検体の水分（%）以外は全て乾物当りの%で示される。これらのデータを飼料設計に使用する場合は、給与時の飼料の水分含量（NIRS で測定される水分の推定値とは異なることに注意）を考慮して算定する。

例えば、牧草サイレージの NIRS 測定値が水分 9.0%、CP10.7%の場合、飼料給与時の水分含量 75%の牧草サイレージ 10kg 中の CP 推定量は、

$$\begin{aligned} & \text{給与飼料重量} \times (100 - \text{水分含量}[\%]) / 100 \times \text{CP 成分値}[\text{DM}\%] / 100 \\ &= 10[\text{kg}] \times (100 - 75[\%]) / 100 \times 10.7[\text{DM}\%] / 100 \\ &= 0.2675[\text{kg}] \end{aligned}$$

となる。

## 第8章 用語解説

- ・キャリブレーション：近赤外分析に必要となる検量線のことであり、検量線作成の意味も示す。
- ・プレディクション：作成した検量線を未知試料で評価すること。未知試料は化学分析を実施したサンプルを用い、検量線作成時と同等の精度が得られれば、その精度で使用可能となる。
- ・バリデーション：プレディクションと同じ意味で使われる。
- ・ファクター：本書では PLS 回帰分析において選択された説明変数を指す。PLS 回帰分析では、主成分分析で選択された主成分と同等の因子を目的変数との相関の高い順に説明変数として抽出している。この説明変数として選択された因子をファクターと呼ぶこととする。
- ・オーバーフィッティング：  
重回帰分析および PLS 回帰分析による重回帰式の説明変数が増加するにつれ SEC 値は減少するが、SEP 値は途中から増加してくる。これは、重回帰式に説明変数を取り込み過ぎたため、検量線作成試料群に適合してしまうため、この現象をオーバーフィッティングと言う。
- ・波長 (nm) と波数 ( $\text{cm}^{-1}$ )：  
波長は一振幅の距離、波数は 1 cm の振幅数であり、800nm は  $12500\text{cm}^{-1}$  に、2500nm は  $4000\text{cm}^{-1}$  に相当し、互いに掛け合わせると  $10^7$  となる。
- ・Vision ソフトのプロジェクトとプロダクトの関係：  
Vision ソフト上でのデータグループの違いで、大きさ的にはプロジェクト > プロダクトの順になり、Windows に置き換えるとプロジェクトはフォルダ、プロダクトはファイルに相当する。Vision でのプロジェクト中には、プロダクトをはじめ、DCM(データ収集メソッド)、OM(オペレーショナルメソッド)、ルーチン分析結果等、あらゆるデータが保存されている。一方のファイルに相当するプロダクト中には、NIR のスペクトル情報が成分値や検量線と関連付けられて保存されている。

表 8.1 参考 検量線の精度評価に用いられる項目

項目	略号	説明
決定係数	$R^2$	寄与率。重回帰分析であるため大文字の R を使う。
誤差の平均値	Bias	推定値の実測値(基準値)に対する一定のずれの大きさを示す。傾きに由来する誤差を含まない。系統誤差の一つ。
傾き	Slope	化学分析値に対する定率の誤差。傾きのずれ。1に近いほどよい。系統誤差の一つ。
標準誤差	SE(P)	P は未知試料による検定(prediction)を示す。Bias と Slope を除いた誤差。残差誤差。
誤差の標準偏差	SD(P)	P は未知試料による検定(prediction)を示す。Bias を含まず傾きに由来する誤差を含む (SEP+Slope)。

RPD 値	RPD 値	検定用試料群における化学分析値の標準偏差をプレディクションにおける SEP 値で除した値。標準偏差に対する標準誤差の割合を示し、実用性判定の基準となる。本事業では、この方法により精度を評価した。
	実用性の判定	実用性の判定は RPD 値の範囲により決定。 ~2.3：不良、 2.3~3.0：実用分析に利用可、 3.0~5.0：より高精度な実用分析に利用可、 5.0~8.0：準化学分析相当 8.0~：化学分析相当 (2001 Williams)
EI 値	EI 値	$SDP \times 2 \div \text{レンジ} \times 100$ 目的成分値の変動幅に対する SDP の割合を示す。実用性判定の指標となる。
	実用性の判定	実用性の判定は EI 値の範囲により決定。 0~12.4：非常に高い(A)、 12.5~24.9：高い(B)、 25.0~37.4：やや高い(C)、 37.5~49.9：低い(D)、 50~：非常に低い(E) (1988 水野ら)

<参考資料・引用文献>

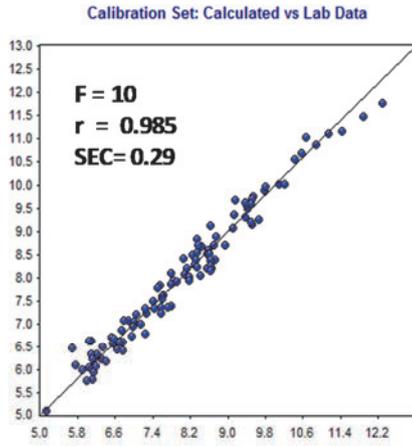
1. 自給飼料利用研究会編, 「三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブック」, (社)日本草地畜産種子協会, 東京, 2009, pp.45-61
2. 尾崎幸洋・河田 聡編, 近赤外分光法, 日本分光学会 測定法シリーズ 32, 学会出版センター, 東京, 1996, pp.11-53
3. 甘利雅弘, 近赤外分析における最近の解析手法, 平成 18 年度自給飼料利用研究会資料, 2008, P81-86
4. 甘利雅弘, フォレンジテストの新展開, 平成 24 年度自給飼料利用研究会資料, 2012, P49-54
5. Williams PC (2001) Implementation of near-infrared technology. In: Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2<sup>nd</sup> Edition (Eds Williams PC, Norris KH), American Association of Cereal Chemist Press, St.Paul, Minnesota, p145-169

(TDN 推計式)

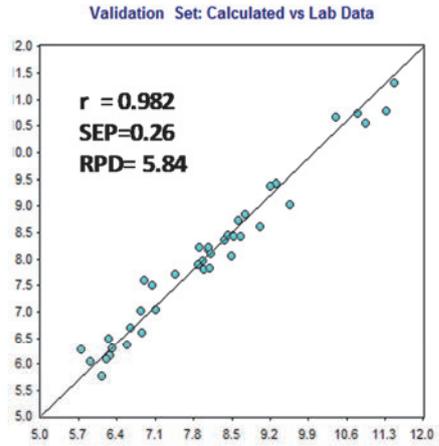
1. 阿部亮, 炭水化物を中心とした飼料分析法とその栄養価評価法への応用、畜産試験場研究資料 No.2, 1988
2. 大槻和夫 (2001) 飼料の TDN の推定, 改訂粗飼料の品質ガイドブック (自給飼料研究会編), 日本草地畜産種子協会, 東京, p.77-83
3. 服部育男・佐藤健次・小林良次・石田元彦・吉田宣夫・安藤 貞 (2005) 飼料イネサイレージの可消化養分総量の推定, 日草誌 51, 269-273

<参考図>

1. 牧乾草

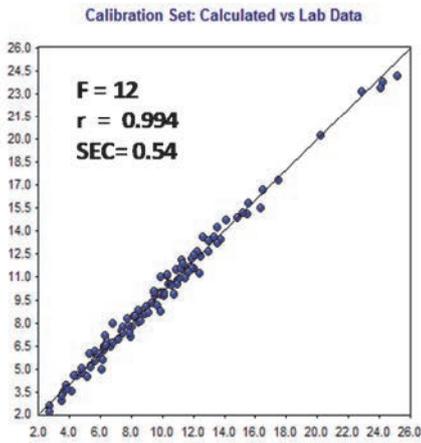


(検量線)

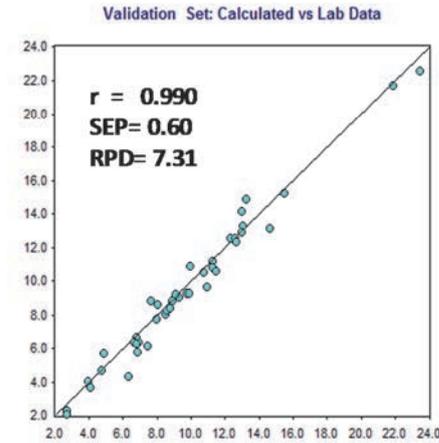


(検量線検定)

参考図1-1 水分

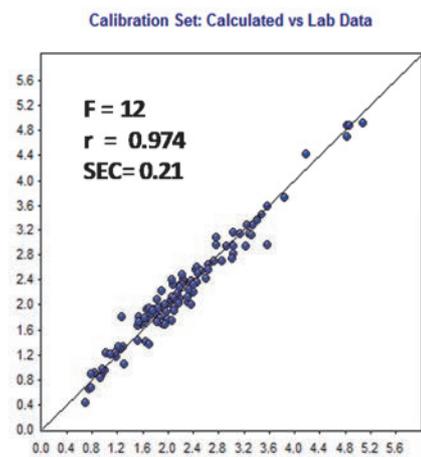


(検量線)

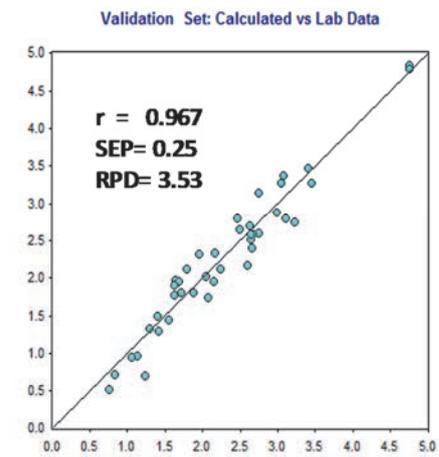


(検量線検定)

参考図1-2 粗タンパク質

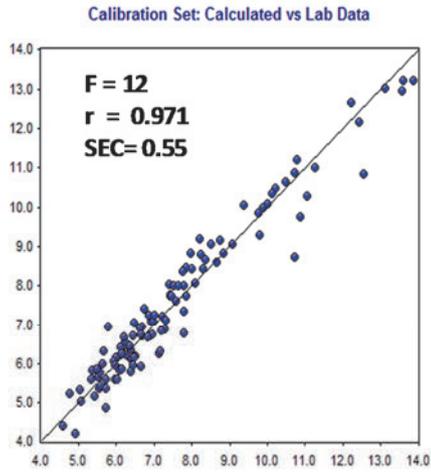


(検量線)

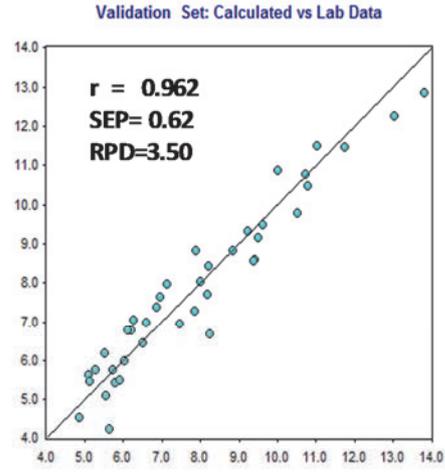


(検量線検定)

参考図1-3 粗脂肪

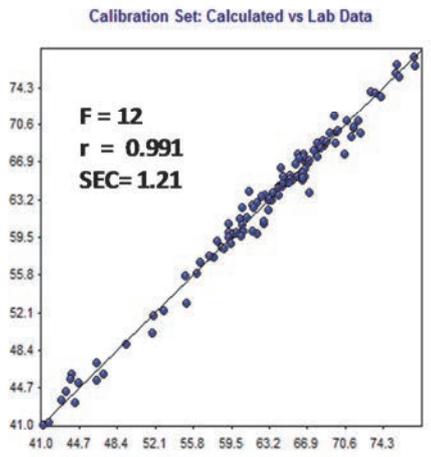


(検量線)

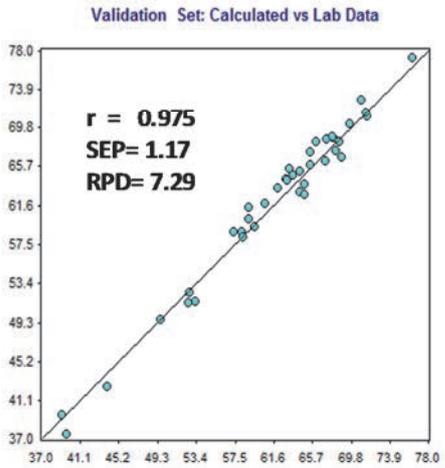


(検量線検定)

参考図1-4 粗灰分

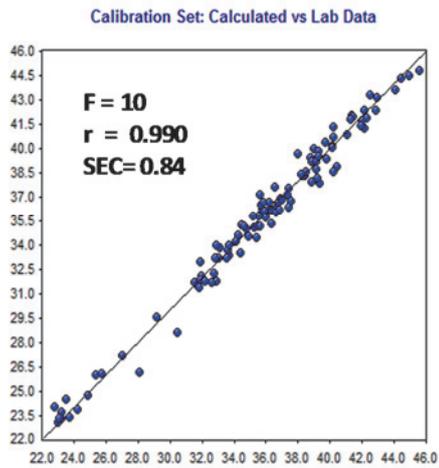


(検量線)

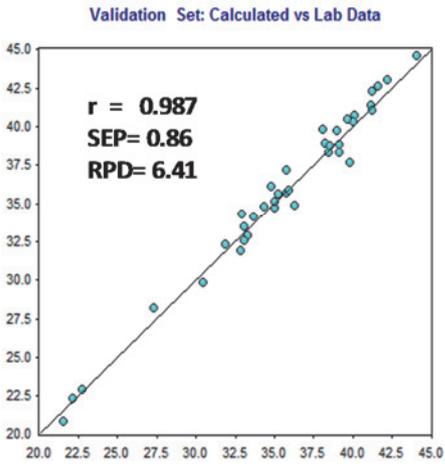


(検量線検定)

参考図1-5 NDFom



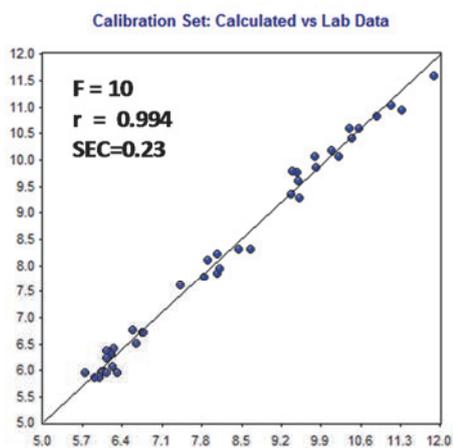
(検量線)



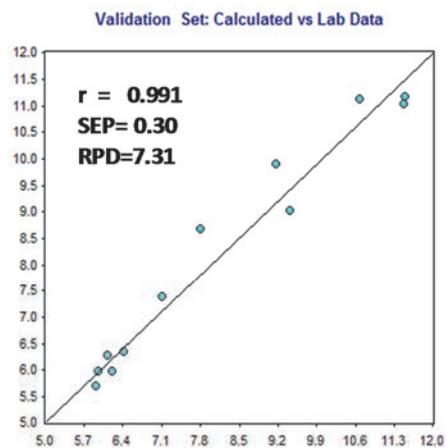
(検量線検定)

参考図1-6 ADFom

## 2. イタリアンライグラス乾草

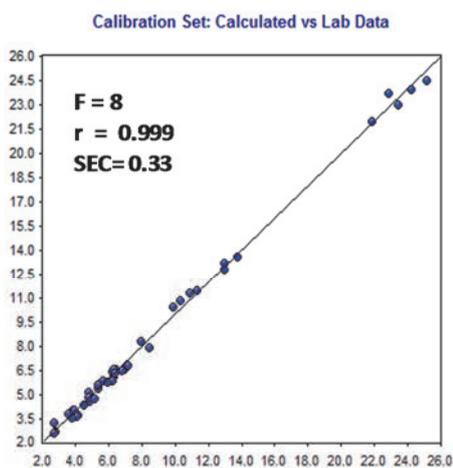


(検量線)

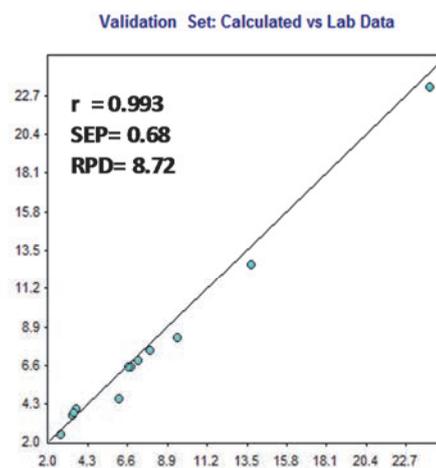


(検量線検定)

参考図2-1 水分

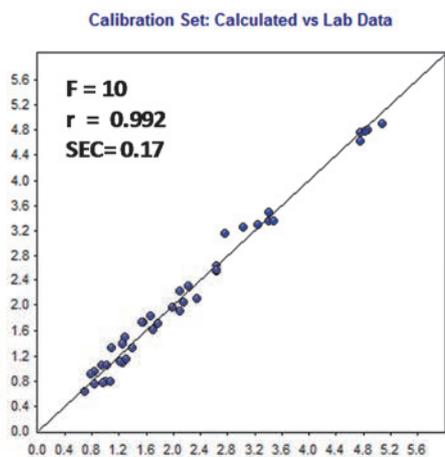


(検量線)

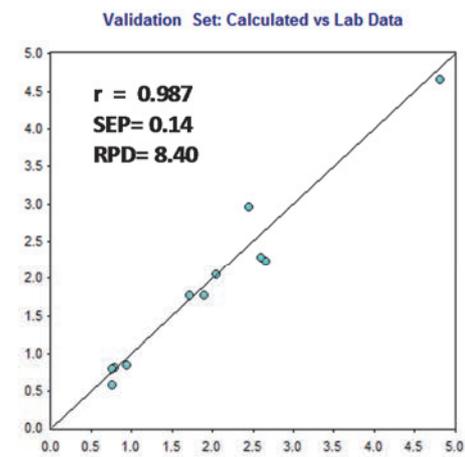


(検量線検定)

参考図2-2 粗タンパク質

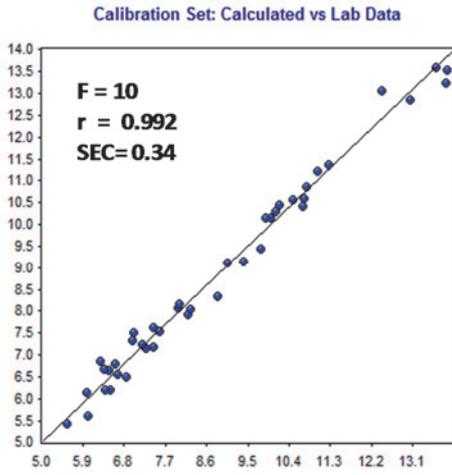


(検量線)

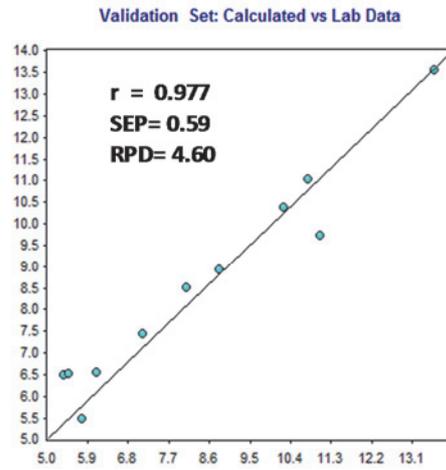


(検量線検定)

参考図2-3 粗脂肪

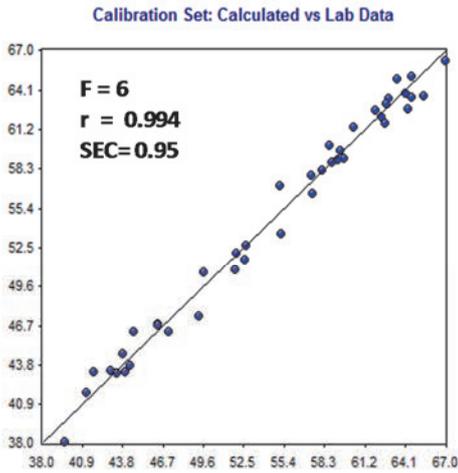


(検量線)

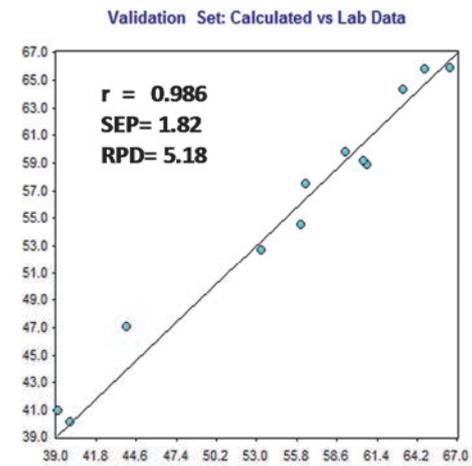


(検量線検定)

参考図2-4 粗灰分

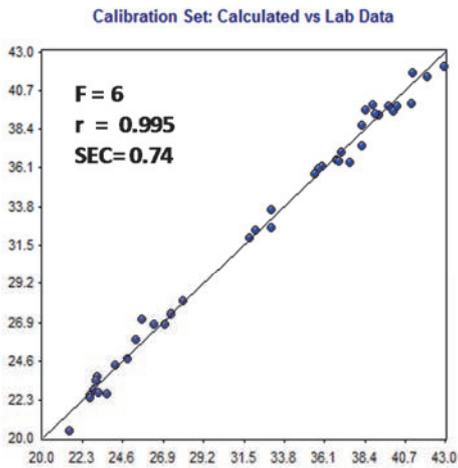


(検量線)

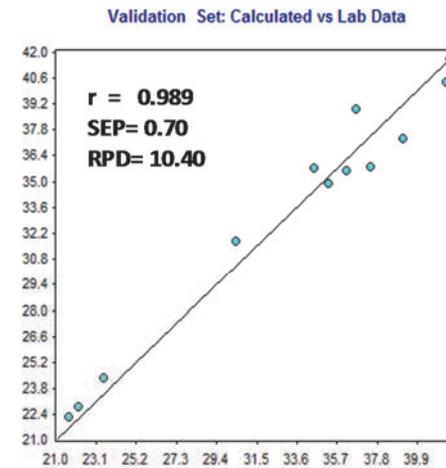


(検量線検定)

参考図2-5 NDFom



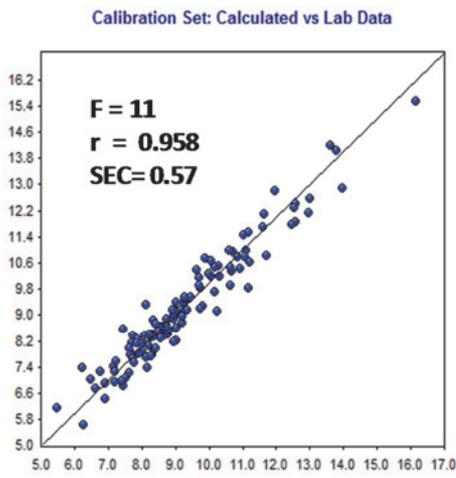
(検量線)



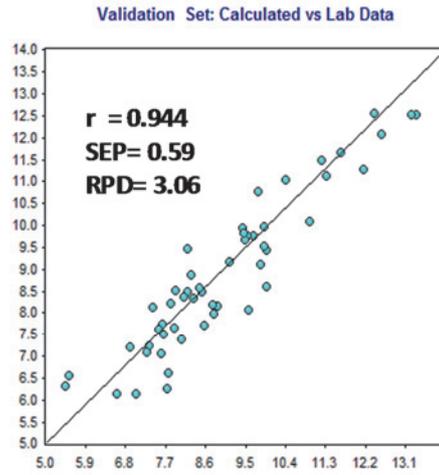
(検量線検定)

参考図2-6 ADFom

3. 牧草サイレージ

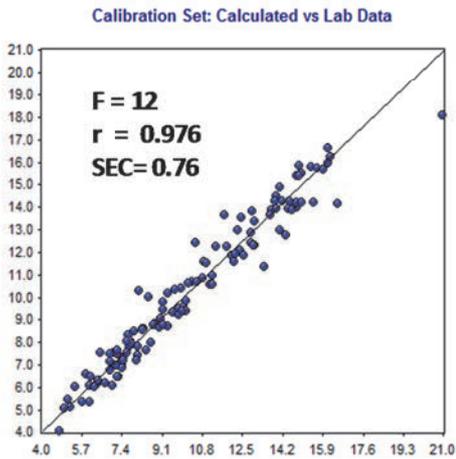


(検量線)

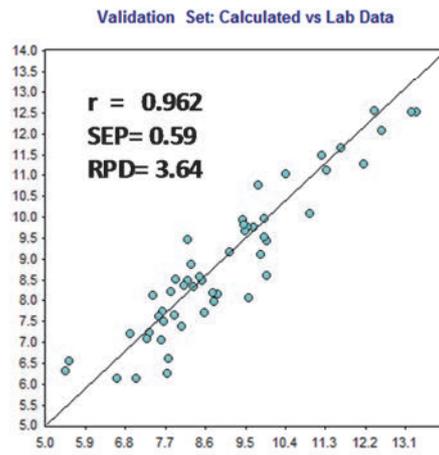


(検量線検定)

参考図3-1 水分

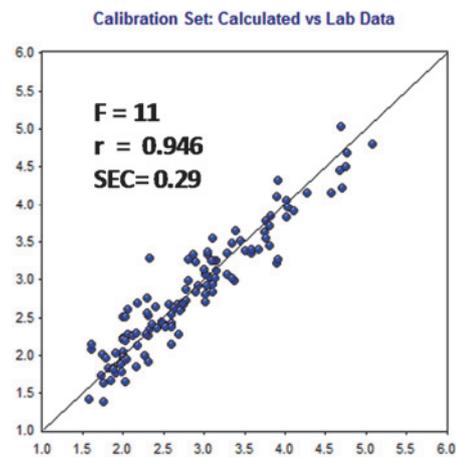


(検量線)

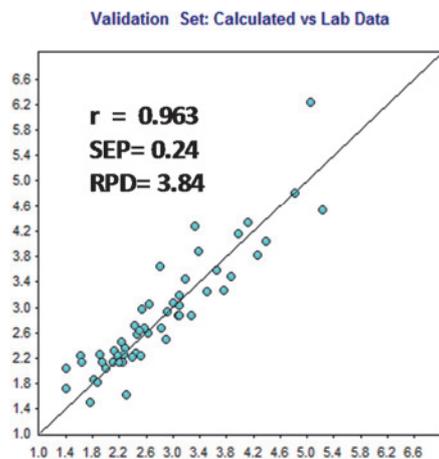


(検量線検定)

参考図3-2 粗タンパク質

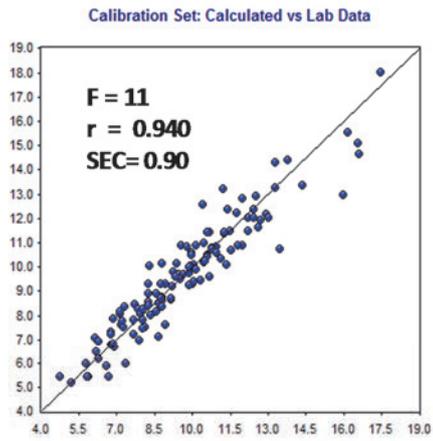


(検量線)

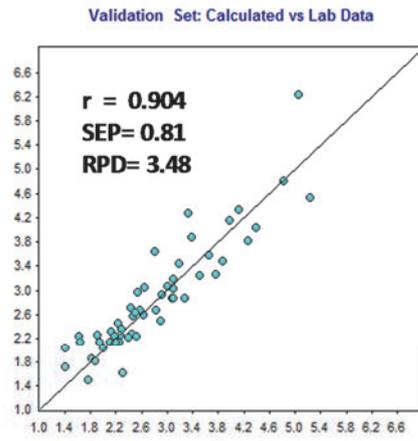


(検量線検定)

参考図3-3 粗脂肪

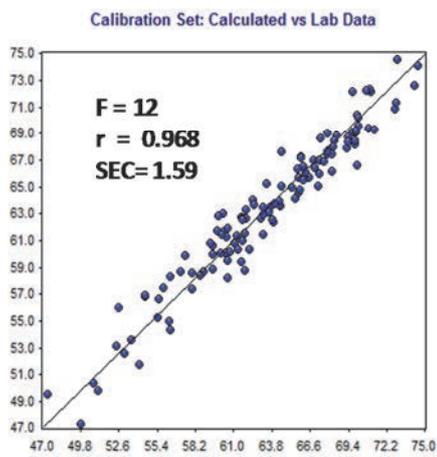


(検量線)

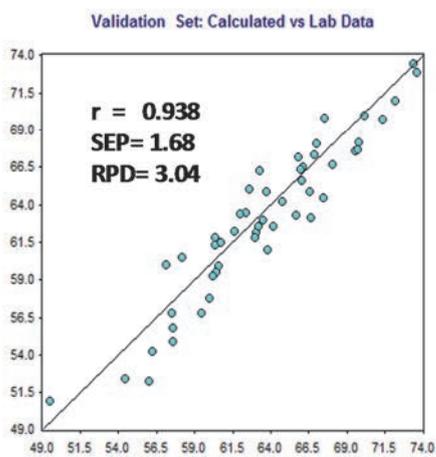


(検量線検定)

参考図3-4 粗灰分

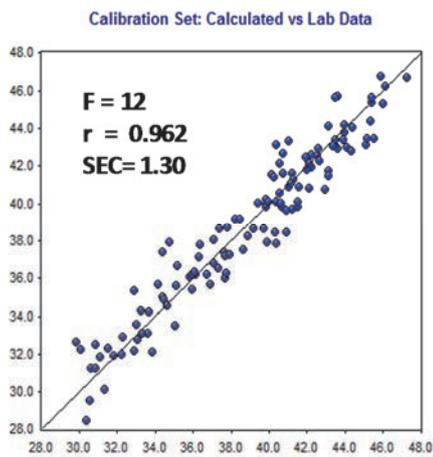


(検量線)

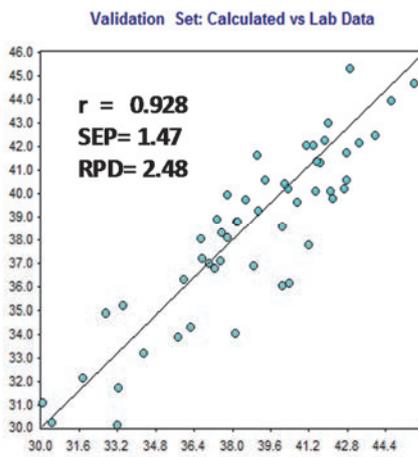


(検量線検定)

参考図3-5 NDFom



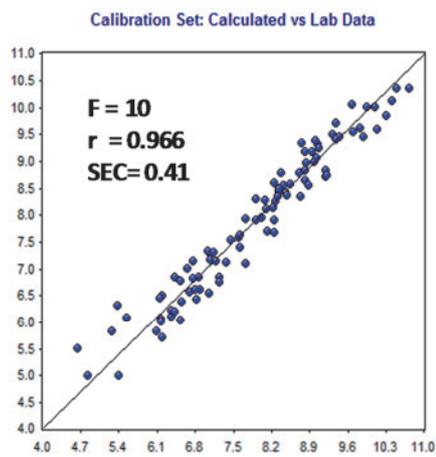
(検量線)



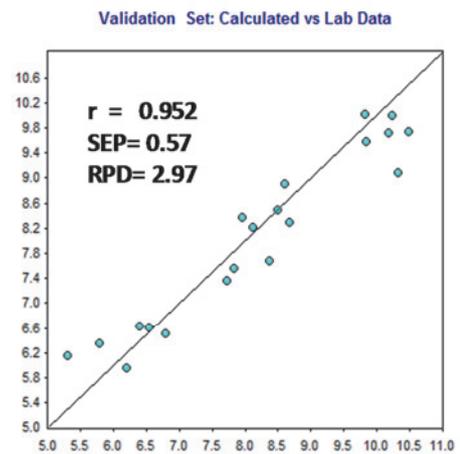
(検量線検定)

参考図3-6 ADFom

#### 4. トウモロコシサイレージ

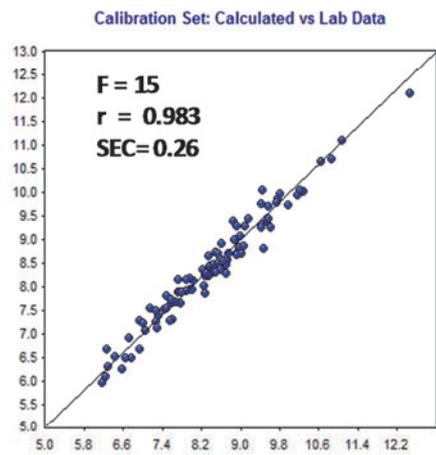


(検量線)

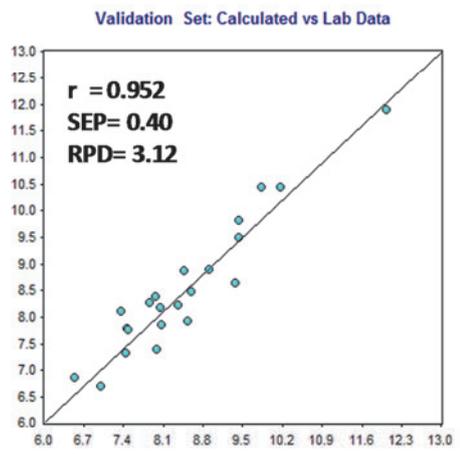


(検量線検定)

参考図4-1 水分

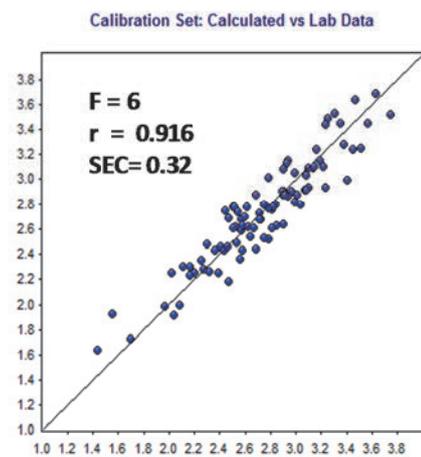


(検量線)

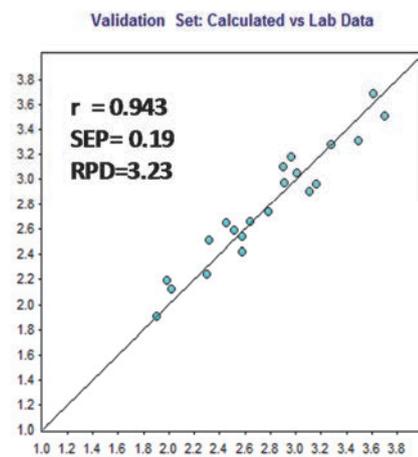


(検量線検定)

参考図4-2 粗タンパク質

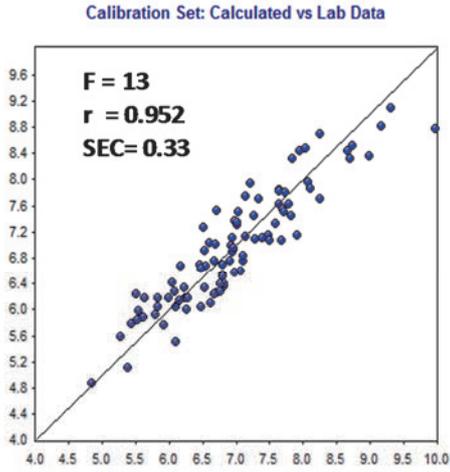


(検量線)

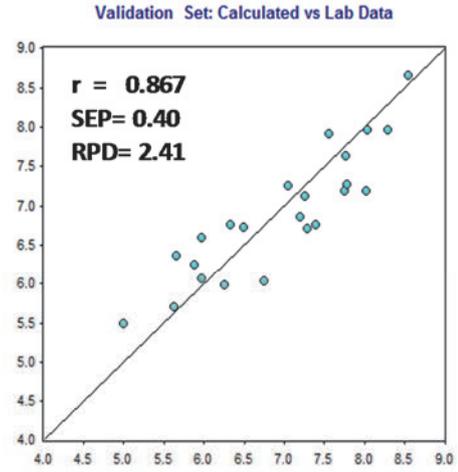


(検量線検定)

参考図4-3 粗脂肪

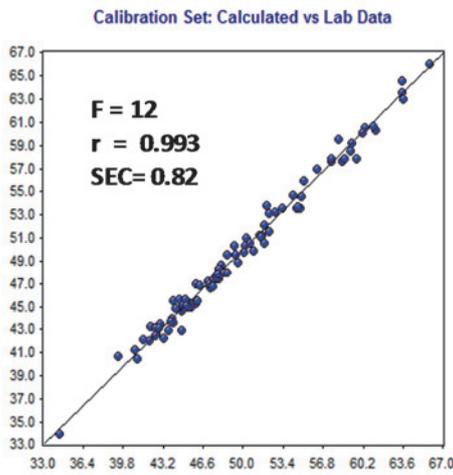


(検量線)

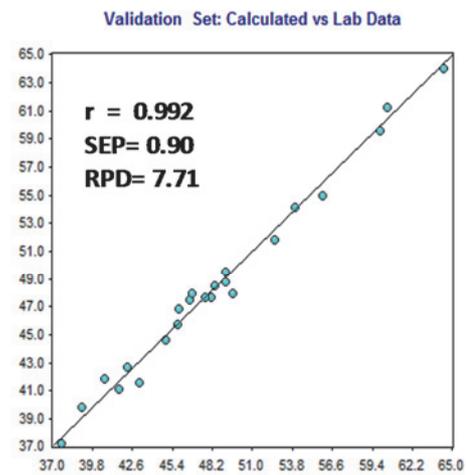


(検量線検定)

参考図4-4 粗灰分

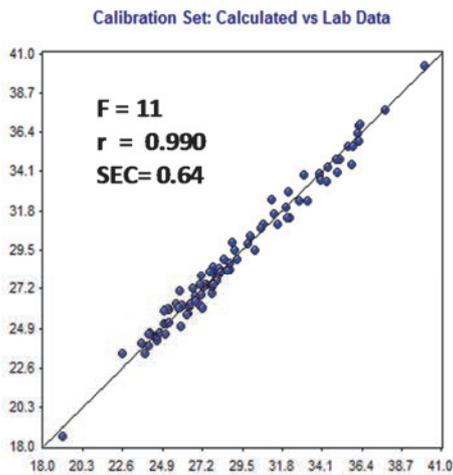


(検量線)

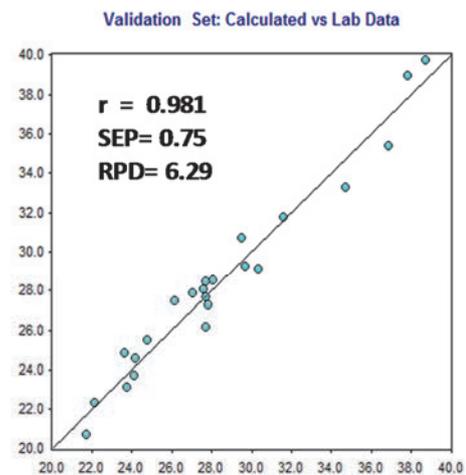


(検量線検定)

参考図4-5 NDFom



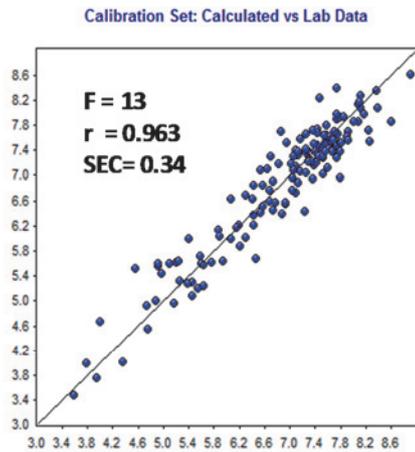
(検量線)



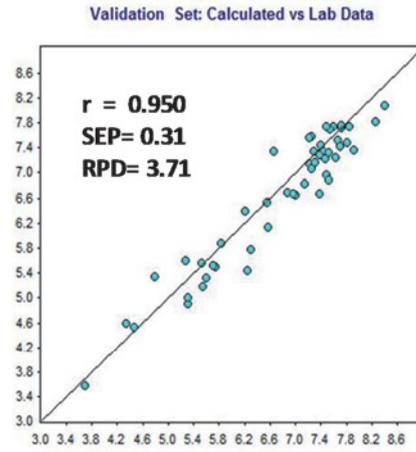
(検量線検定)

参考図4-6 ADFom

5. 稲発酵粗飼料 (イネ WCS)

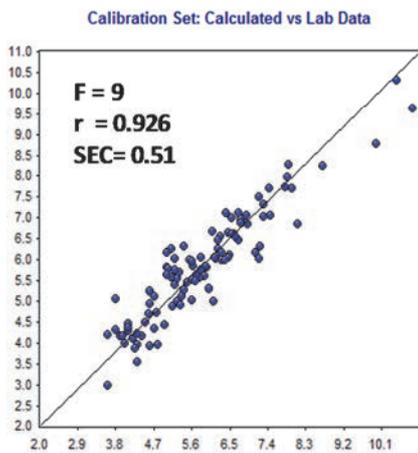


(検量線)

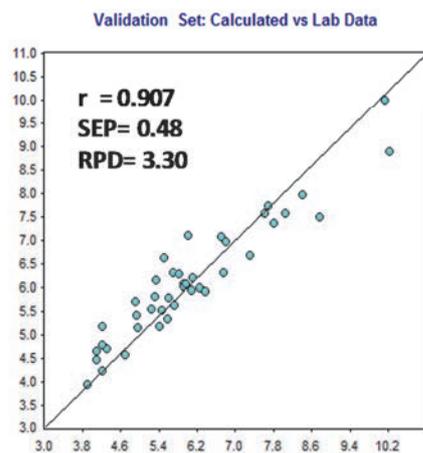


(検量線検定)

参考図5-1 水分

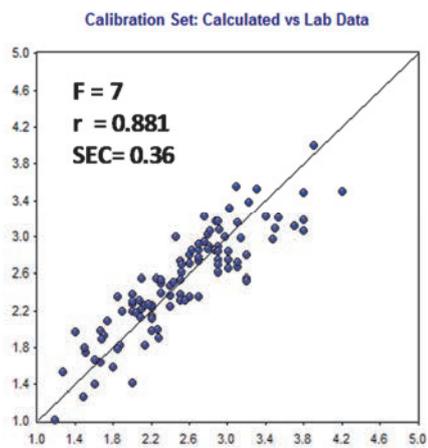


(検量線)

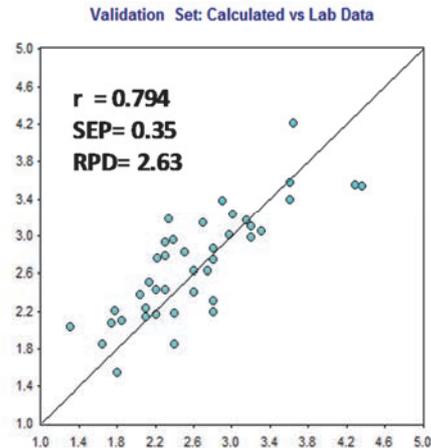


(検量線検定)

参考図5-2 粗タンパク質

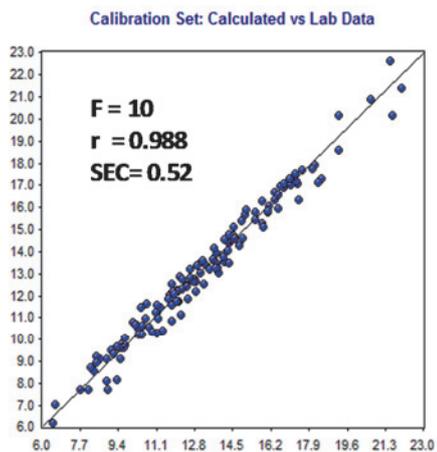


(検量線)

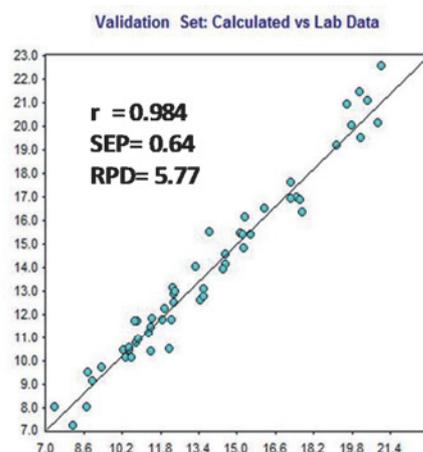


(検量線検定)

参考図5-3 粗脂肪

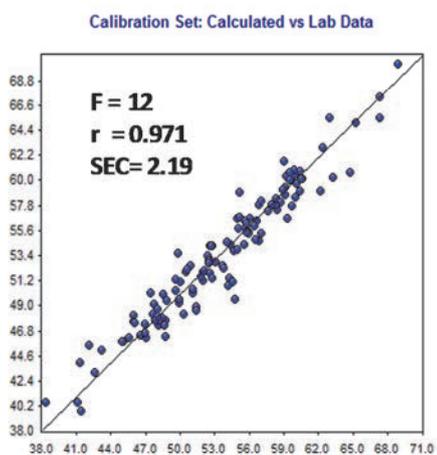


(検量線)

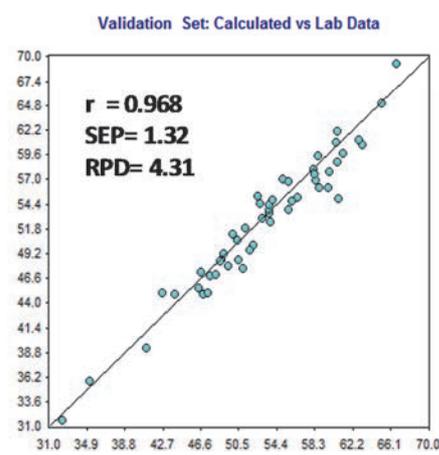


(検量線検定)

参考図5-4 粗灰分

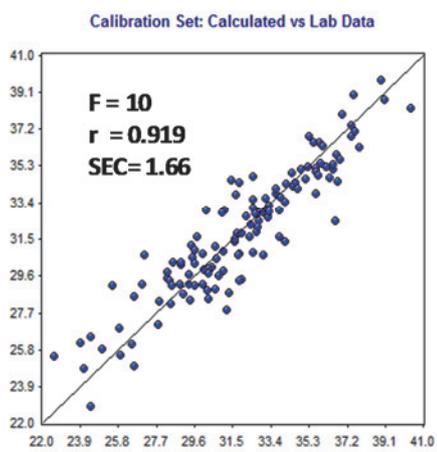


(検量線)

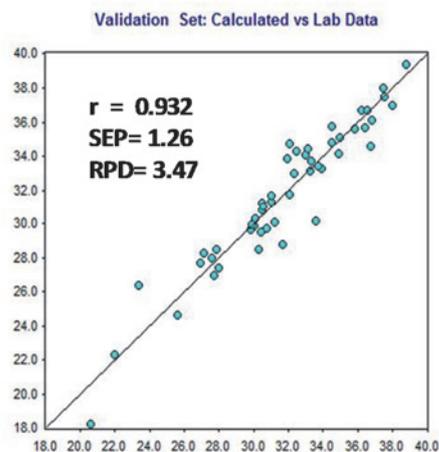


(検量線検定)

参考図5-5 NDFom



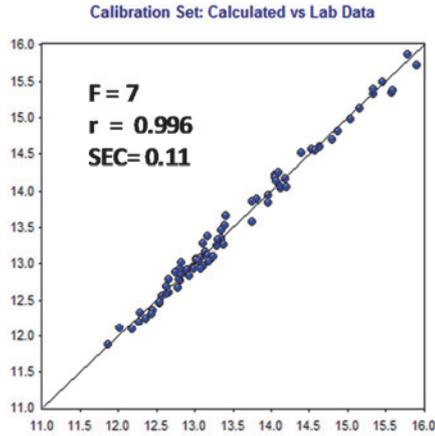
(検量線)



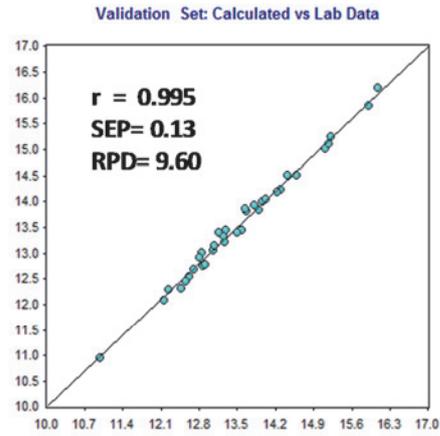
(検量線検定)

参考図5-6 ADFom

6. 飼料用米（玄米）

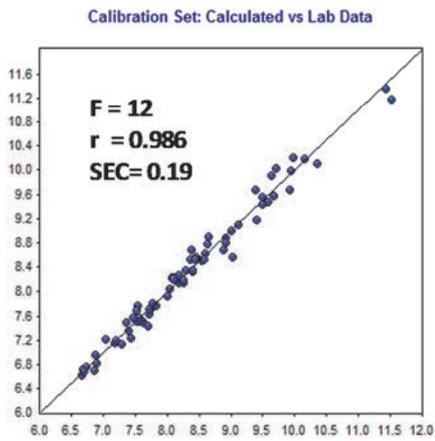


(検量線)

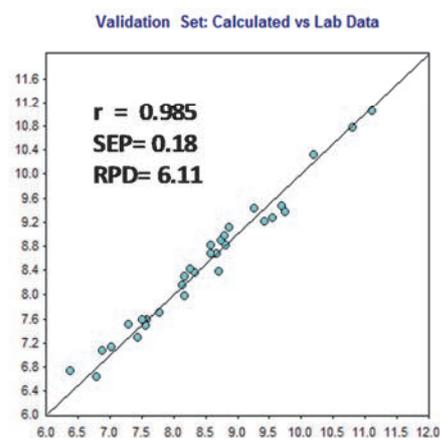


(検量線検定)

参考図6-1 水分

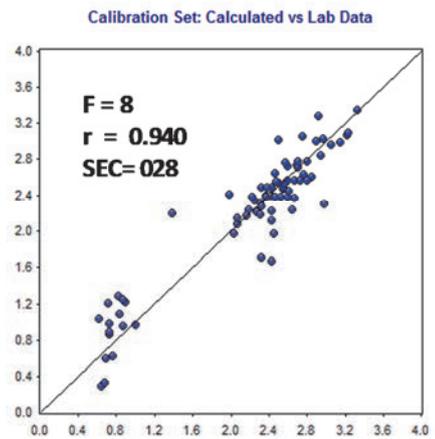


(検量線)

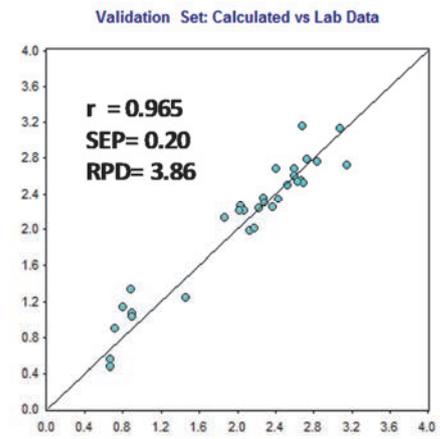


(検量線検定)

参考図6-2 粗タンパク質

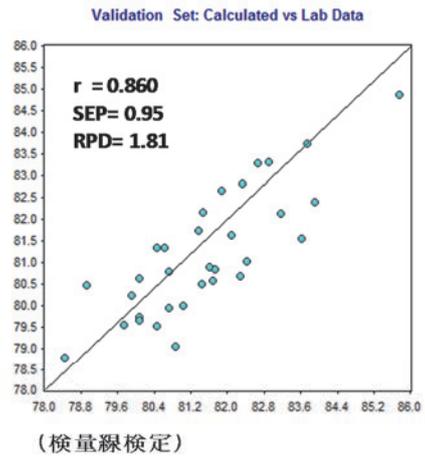
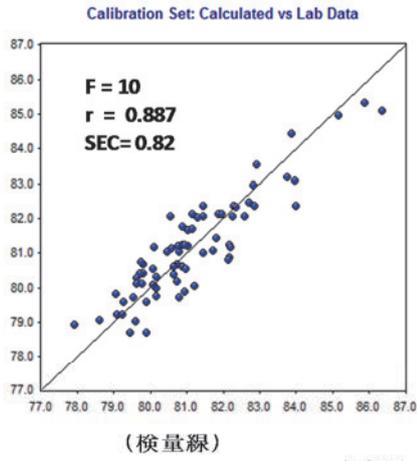


(検量線)

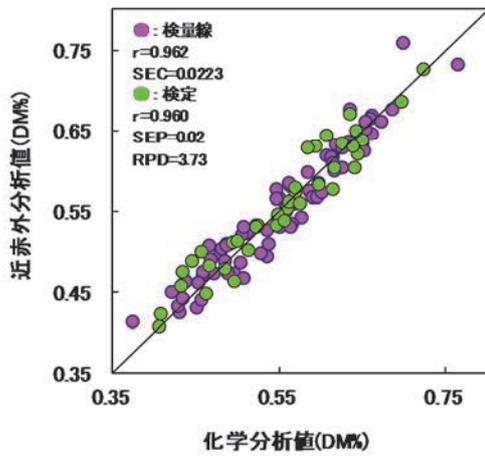


(検量線検定)

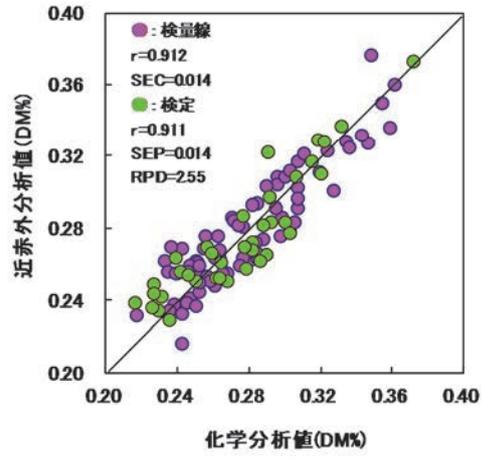
参考図6-3 粗脂肪



参考図6-4 デノン

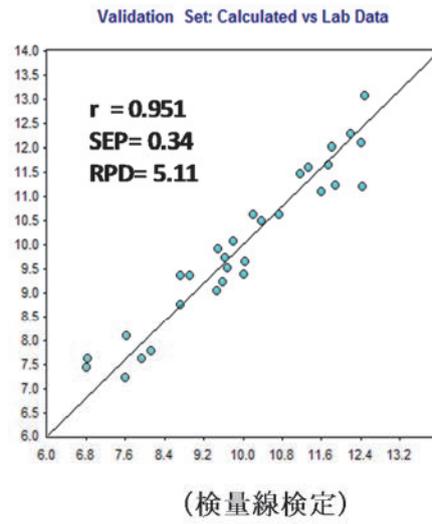
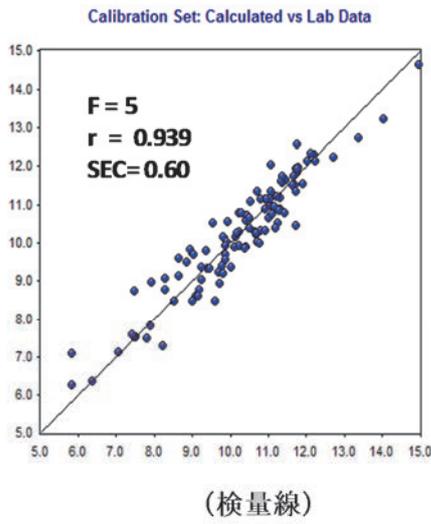


参考図6-5 ロイシン

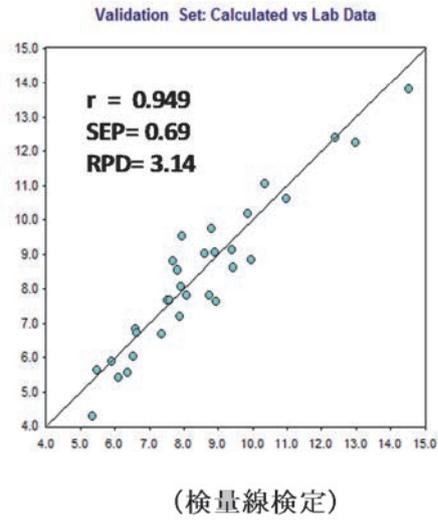
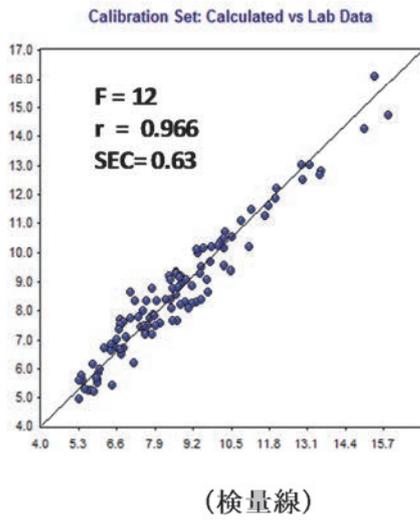


参考図6-6 リジン

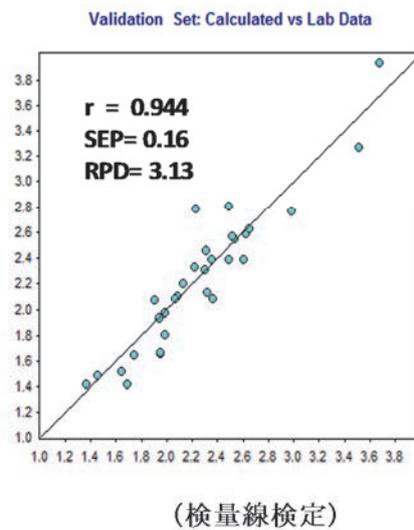
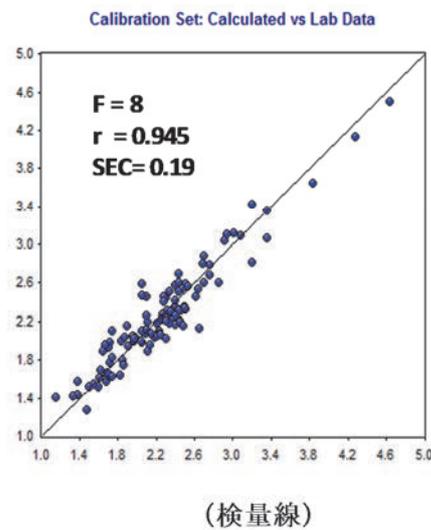
7. ソルガムサイレージ



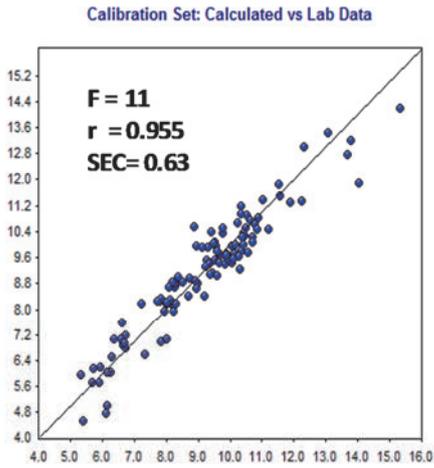
参考図7-1 水分



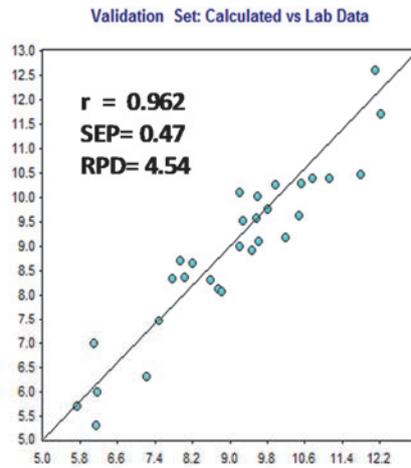
参考図7-2 粗タンパク質



参考図7-3 粗脂肪

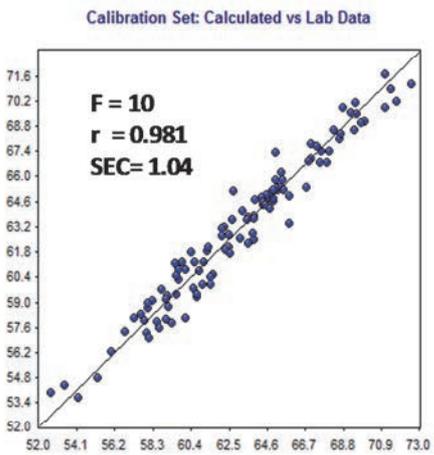


(検量線)

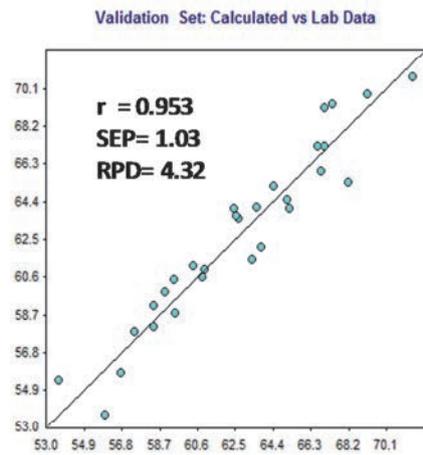


(検量線検定)

参考図7-4 粗灰分

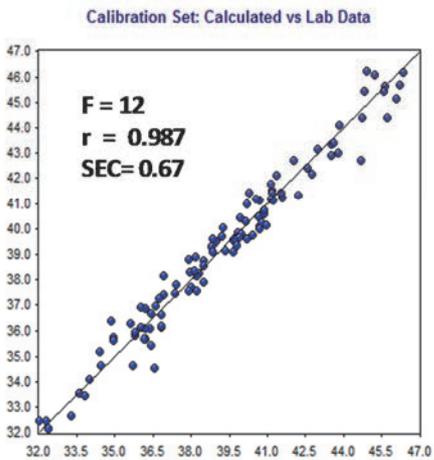


(検量線)

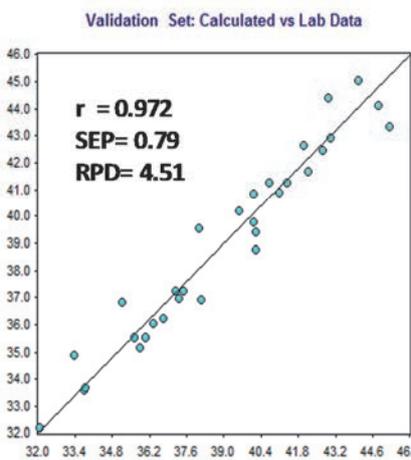


(検量線検定)

参考図7-5 NDFom



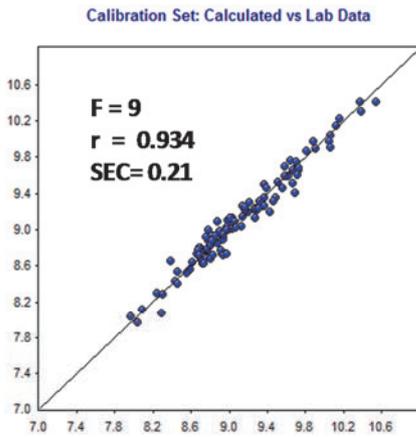
(検量線)



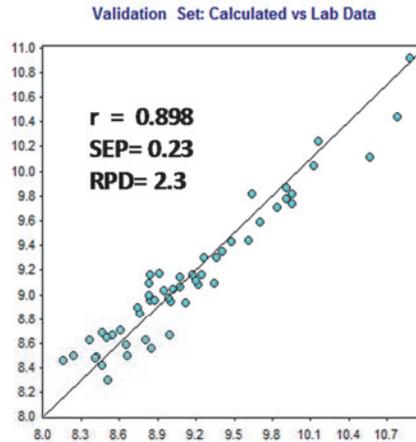
(検量線検定)

参考図7-6 ADFom

8. 大麦ホールクロップ (サイレージ原料)

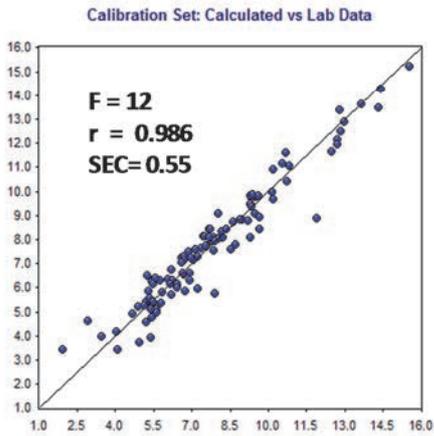


(検量線)

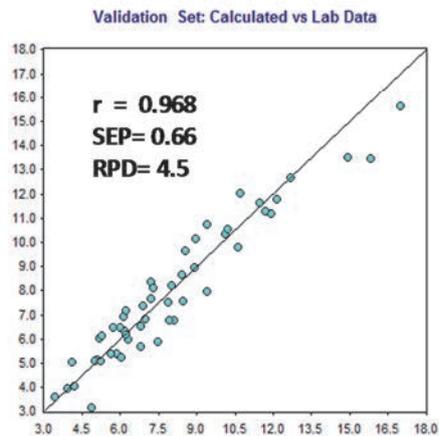


(検量線検定)

参考図8-1 水分

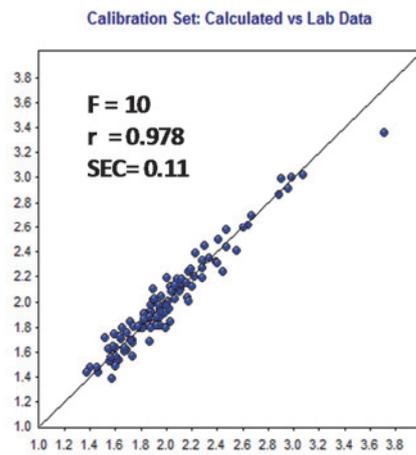


(検量線)

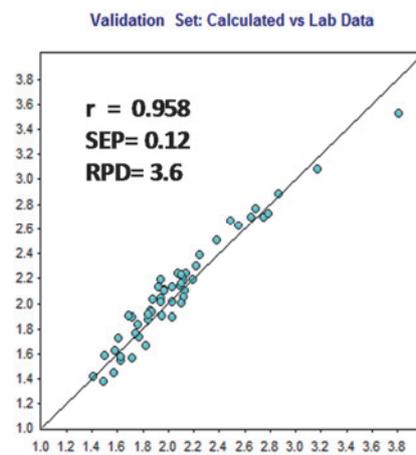


(検量線検定)

参考図8-2 粗タンパク質

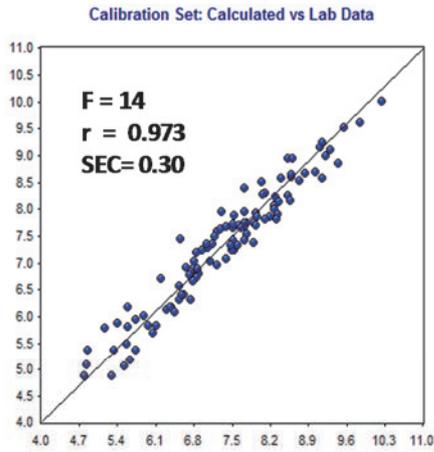


(検量線)

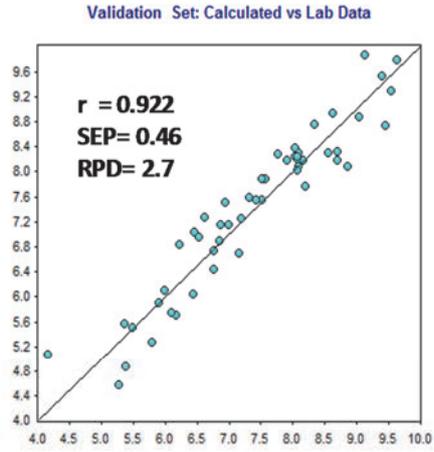


(検量線検定)

参考図8-3 粗脂肪

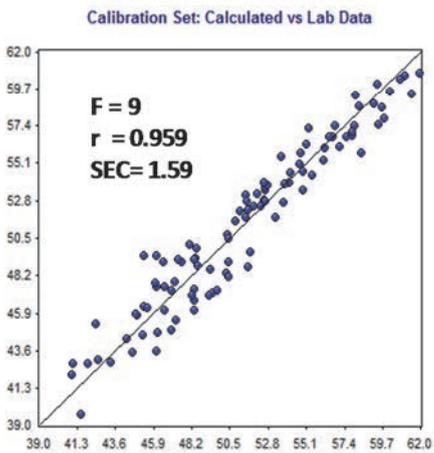


(検量線)

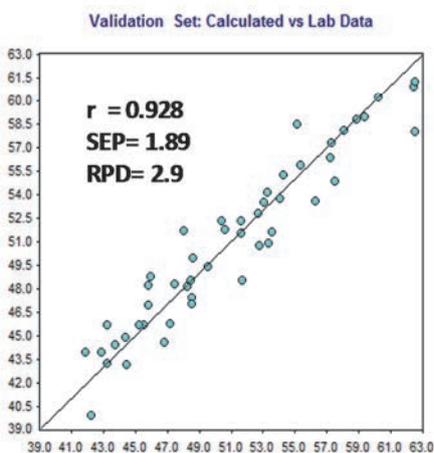


(検量線検定)

参考8-4 粗灰分

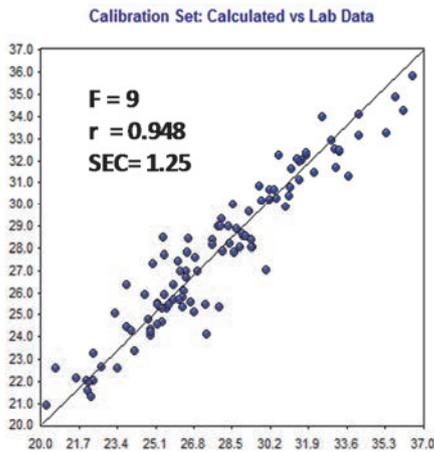


(検量線)

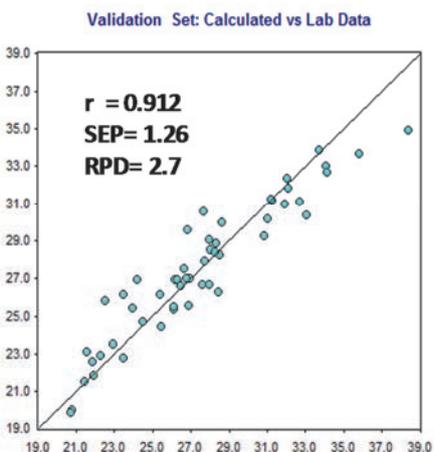


(検量線検定)

参考8-5 NDFom



(検量線)



(検量線検定)

参考8-6 ADFom

フォレンジテスト新システム構築事業（平成24～26年度）

フォレンジテスト推進委員

委員氏名	所属等	備考
阿部 亮	畜産・飼料調査所 御影庵 主宰	
名久井 忠	酪農学園大学 教授	
吉田 宣夫	山形大学農学部 教授	
松本 光人	公益社団法人 農林水産・食品産業技術振興協会 専務理事	
橋元 康司	一般社団法人 日本科学飼料協会 事務局長	

（敬称略、順不同、所属等は委員当時のもの）

検量線作成・移設・マニュアル作成専門委員

委員氏名	所属等	備考
甘利 雅 拓	農研機構 畜産草地研究所 畜産研究支援センター	
野中 和 久	農研機構 畜産草地研究所 乳牛・肉用牛研究グループ	
田島 清	農研機構 畜産草地研究所 家畜生理栄養研究領域	
大森 英之	農研機構 畜産草地研究所 家畜生理栄養研究領域	
出口 健三郎	(地独)北海道立総合研究機構 畜産試験場	
篠田 英史	雪印種苗(株) 研究開発本部	
佐藤 寛子	秋田県畜産試験場	
棟加登きみ子	福岡県農業総合試験場 畜産環境部	

（敬称略、順不同、所属等は委員当時のもの）