

近赤外分光法を用いた茶の全窒素含有率分析法

小河拓也*・田畑広之進*・井上喜正*

要 約

近赤外分光法を用いた普通煎茶および茶葉の全窒素含有率検量線を作成した。

- 1 普通煎茶の粉碎サンプルにおいては、4波長のデータをMLR法で解析したもものから精度の高い検量線が得られた。普通煎茶の非粉碎サンプルは、5波長のデータをMLR法で解析したもものから精度の高い検量線が得られた。
- 2 乾燥茶葉の粉碎サンプルにおいては、4波長のデータをMLR法で解析したもものから精度の高い検量線が得られた。生茶葉サンプル検量線においては、6波長のデータをMLR法で解析したもものから精度が高い検量線が得られた。
- 3 作成した検量線はいずれも十分な精度を有し、実用可能であった。

Determination of Nitrogen Contents in Tea Using Near Infrared Spectroscopy

Takuya OGAWA, Konoshin TAHATA and Yoshinobu INOUE

Summary

Near Infrared spectroscopy was examined for its ability in the nondestructive determination of nitrogen contents in green tea.

- (1) An accurate calibration model of milled sen-cha developed by MLR could be obtained using for suitable wavelengths. An accurate calibration model of non-milled sen-cha developed by MLR could be obtained using five suitable wavelengths.
- (2) An accurate calibration model of dried tea leaf developed by MLR could be obtained using four suitable wavelengths. An accurate calibration model of raw tea leaves developed by MLR could be obtained using five suitable wavelengths.
- (3) It was concluded that nitrogen contents of green tea and tea leaves could be determined by near infrared spectroscopy.

キーワード：茶，全窒素，近赤外分光法

緒 言

茶は我が国の伝統的な飲料で、その歴史も古く、煎茶、玉露等多くの茶種が製造されている。茶はその旨味が強いほど高品質であり、全窒素含有率はその指標として最重要分析項目となっている²⁾。全窒素含有率が高い茶ほど高品質であるとされ、生産者は全窒素含有率の高い茶葉の生産を目標としている。一方、過剰な窒素施肥が環境問題化し、全国的にも窒素施肥量を削減する動きが進んでいる³⁾。そのため、生産および製造現場において品質と環境を両立させるため、茶葉の全窒素含有率を把握する必要性が増加している。茶の全窒素含有率は製品の評

価、施肥管理等様々な場面で必要とされるため、場面に応じて全窒素含有率を迅速・簡便に測定できる方法を用いる必要がある。

非破壊分析法である近赤外分光法は近年急速に農業や食品工業分野に導入されており、穀類⁴⁾、青果物³⁾等の品質評価や作物の栄養診断⁵⁾等で広く用いられるようになってきている。この方法を用いることで、茶に必要とされる各段階における精度の高い全窒素含有率測定が可能である。そこで近赤外分光法を用いて茶の全窒素含有率測定検量線の作成を試みた。

材料および方法

1 供試材料

普通煎茶については、2001～2003年の関西茶・兵庫県

2005年8月31日受理

* 兵庫県立農林水産技術総合センター部長 (食品加工流通担当)

産茶品評会の出品茶および市販茶を購入し用いた。生茶葉は2002～2003年に兵庫県三田市母子茶園他県下3カ所の茶園より得た。生葉は生育状況により化学成分が異なるため⁷⁾、一番茶、二番茶につき2回づつ展開第5葉までサンプリングを行った。品種は「やぶきた」、「おくみどり」、および在来種であった。乾燥茶葉は生茶葉を80℃、16h乾燥したものをを用いた。

2 スペクトルの採取

近赤外スペクトルは近赤外分光分析機 (InfraAlyzer 500, BRAN+LUBBE 社) を用い、800～2500nm を4nm 間隔で採取した。

普通煎茶では非粉碎のものは回転ドロワー (600rpm) にて、粉碎物は茶粉碎器 (KTG-0001, 小泉成器) で粉碎した後、クローズドカップに詰めてスペクトルを採取した。生茶葉は摘採後1～4時間以内、および冷蔵庫 (5℃) に保管1日後のサンプルのスペクトルを採取した。乾燥茶葉は茶粉碎器で粉碎した後、クローズドカップに詰めスペクトルを採取した。

全てのサンプルは「茶の分析法」¹⁾ に準じ、セミマイクロケルダール法にて全窒素含有率を測定した。

3 検量線の作成

各検量線の作成に用いたサンプル数等を表1に示した。検量線の計算は多変量解析ソフトウェア (SESAMI Ver.3.0 BRAN+LUBBE 社および Pirouette Ver3.11, GL Sciences 社) を使用し、検量線の作成には汎用性を考慮し、原スペクトルを用いた。解析手法は2～6波長の組合せで MLR

(multiple linear regression) 法, PLSR (partial least squares regression) 法および PCR (principal component regression) 法を用いた。サンプルの約6割は検量線の作成に用い、それぞれの解析方法で重相関係数 (R)、検量線の標準誤差 (SEC) を求め、残りのサンプルでバリデーションを行い、検量線の予測誤差 (SEP) を求め、総合的に検量線の評価を行った。

結 果

1 普通煎茶測定検量線

表2にそれぞれの検量線作成方法のなかで、最も精度の高いと考えられる検量線をそれぞれ示した。

粉碎サンプルを用いた検量線は、いずれの検量線作成方法においても非常に高い相関を持つ検量線が得られた。

MLR 法で作成した検量線は選択波長数が多くなるほど精度が高くなる傾向があり、5～6波長を使用した検量線の方が2～4波長を用いた検量線よりも R (0.988) が大きく、SEC (0.077%) が小さい傾向にあった。しかし、4波長を用いた検量線も R (0.987)、SEC (0.078%) とあまり差はみられず、SEP もほとんど差はみられなかった。800～2500nm を4nm 間隔で使用し PLSR 法を用いて作成した検量線は、MLR 法6波長で作成した検量線より R (0.976) は小さく、SEC (0.104%) および SEP (0.123%) は大きいことから、精度がやや低くなった。

PCR 法を用いて作成した検量線も同様に、R (0.976) は小さく、SEC (0.102%) および SEP (0.125%) は大きいことから、精度が低くなった。

非粉碎サンプルを用いた検量線を表2に示した。粉碎サンプルよりは全体的に精度がやや劣るものの、いずれの検量線作成方法においても高い相関を持つ検量線が得られた。

MLR 法で作成した検量線は、選択波長数が多くなる

表1 サンプルの全窒素含有率の範囲

サンプル	形状	n	全窒素含有率範囲 (%)	
			形状	n
普通煎茶	粉碎	108	3.81～6.77	
	非粉碎	100	4.30～6.77	
茶葉	乾燥粉碎	96	2.63～6.32	
	生非粉碎	78	3.32～6.57	

表2 普通煎茶全窒素含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	サンプル形状	カップ	使用波長 (nm)						R	SEC (%)	SEP (%)	
			λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5	λ_6				
MLR	粉碎	通常	2124, 2196					0.976	0.106	0.112		
MLR			1768, 2148, 2196					0.981	0.096	0.106		
MLR			1652, 1836, 2148, 2216						0.987	0.078	0.088	
MLR			1656, 1836, 2148, 2216, 2220						0.988	0.077	0.089	
MLR			1692, 1752, 1872, 2024, 2148, 2216						0.988	0.077	0.090	
PLSR			800～2500/4						0.976	0.104	0.123	
PCR			800～2500/4						0.976	0.102	0.125	
MLR			非粉碎	回転	2128, 2212				0.965	0.146	0.162	
MLR					1896, 2140, 2212					0.976	0.123	0.148
MLR					2140, 2212, 2276, 2376					0.982	0.095	0.132
MLR	2140, 2212, 2240, 2264, 2376						0.982	0.090	0.112			
MLR	1904, 2016, 2140, 2164, 2264, 2376						0.987	0.080	0.122			
PLSR	800～2500/4						0.970	0.126	0.137			
PCR	800～2500/4						0.974	0.116	0.126			

表3 乾燥茶葉の全窒素含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	サンプル形状	カップ	使用波長 (nm)						R	SEC (%)	SEP (%)
			λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5	λ_6			
MLR	粉碎	通常	2132, 2188						0.975	0.128	0.135
MLR			1448, 2132, 2188						0.978	0.121	0.128
MLR			1628, 1852, 2148, 2188						0.980	0.112	0.113
MLR			1588, 1804, 2148, 2188, 2232						0.980	0.111	0.116
MLR			1576, 1808, 1816, 2148, 2188, 2232						0.981	0.111	0.114
PLSR			800~2500/4						0.980	0.113	0.120
PCR			800~2500/4						0.964	0.141	0.152

ほど精度が高くなる傾向にあった。検量線作成時では6波長を使用した検量線のR(0.987)は大きく、SEC(0.080%)が小さいため、2~5波長を用いた検量線より精度が高かった。しかし、5波長を用いた波長でもR(0.982)およびSEC(0.090%)ともあまり差はなく、SEPは5波長のほうが小さい値を示した。800~2500nmを4nm間隔で使用しPLSR法を用いて作成した検量線は、MLR法6波長で作成した検量線より、R(0.970)は小さく、SEC(0.126%)およびSEP(0.137%)は大きいことから、精度がやや低くなった。PCR法を用いて作成した検量線も同様に、R(0.974)は小さく、SEC(0.116%)およびSEP(0.126%)は大きいことから、精度がやや低くなった。

2 乾燥茶葉の測定検量線

表3に3種類の解析方法で作成した検量線を示した。いずれの検量線作成方法においても非常に高い相関を持つ検量線が得られた。MLR法で作成した検量線は選択波長数が多くなるほど精度が高くなり、6波長を使用した検量線は2~5波長を用いた検量線よりR(0.981)は大きく、SEC(0.111%)は小さくなった。しかし、4波長を用いた検量線でもR(0.980)、SEC(0.112%)ともほとんど差はみられず、SEPもほとんど差はなかった。800~2500nmを4nm間隔で使用しPLSR法を用いて作成した検量線は、MLR法4~6波長で作成した検量線より、R(0.980)は小さく、SEC(0.113%)およびSEP(0.120%)は大きいことから、精度がやや低くなる傾向であった。PCR法を用いて作成した検量線も、R(0.964)は小さく、SEC(0.141%)およびSEP(0.152%)が大きいことから、

精度が低くなった。

3 生茶葉の測定検量線

表4に3種類の検量線作成方法で作成した検量線を示した。いずれの検量線作成方法においても高い相関を持つ検量線が得られた。MLR法で作成した検量線は、選択波長数が多くなるほど精度が高くなった。6波長を使用した検量線を使用した検量線のR(0.957)が大きく、SEC(0.221%)は小さく、2~5波長を用いた検量線に比べ作成時の精度は高かった。しかし、5波長を用いた検量線のR(0.952)およびSEC(0.223%)とはあまり差がみられず、SEPも差はほとんどなかった。

800~2500nmを4nm間隔で使用しPLSR法を用いて作成した検量線は、MLR法5~6波長で作成した検量線より、R(0.935)は小さく、SEC(0.259%)およびSEP(0.260%)は大きいことから、精度がやや低くなった。PCR法を用いて作成した検量線も同様に、R(0.909)は小さく、SEC(0.304%)およびSEP(0.305%)は大きいことから、精度が低くなった。

考 察

近赤外分光法を用いて分析する場合、迅速さのためには、サンプルをそのままの状態での測定するのが望ましいが、測定精度の面から、サンプルに粉碎等の均一化処理を行った方が精度が良くなる傾向にある。従って、重視する事項に応じたサンプルの処理と検量線の選択が必要である。

普通煎茶の粉碎サンプル測定検量線は、全体的に非常に精度が高かった。特にMLR法の4~6波長で作成さ

表4 生茶葉の全窒素含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	サンプル形状	カップ	使用波長 (nm)						R	SEC (%)	SEP (%)
			λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5	λ_6			
MLR	非粉碎	通常	2044, 2424						0.856	0.394	0.410
MLR			2048, 2092, 2424						0.875	0.353	0.354
MLR			2032, 2044, 2088, 2328						0.917	0.291	0.291
MLR			2032, 2044, 2128, 2268, 2324						0.952	0.223	0.224
MLR			2032, 2044, 2128, 2264, 2268, 2324						0.957	0.221	0.225
PLSR			800~2500/4						0.935	0.259	0.260
PCR			800~2500/4						0.909	0.304	0.305

表5 各検量線と2004年サンプルへの適用

	茶 (参考 ¹⁾)		煎茶 (粉碎)		煎茶 (非粉碎)		乾燥茶葉		生茶葉	
	係数	波長 (nm)	係数	波長 (nm)	係数	波長 (nm)	係数	波長 (nm)	係数	波長 (nm)
λ 0	6.363	—	3.276		3.276		4.956		7.374	
λ 1	-895.251	1976	103.269	1652	-54.554	2140	46.910	1628	-385.109	2032
λ 2	1027.379	2034	-138.178	1836	58.352	2212	-63.599	1852	495.300	2044
λ 3	-468.367	2332	-142.485	2148	-38.877	2240	-200.053	2148	-96.447	2128
λ 4	1104.511	1778	175.036	2216	69.786	2264	214.300	2188	106.948	2268
λ 5					-35.199	2368			-119.052	2324
予測誤差	0.365%		0.124%		0.142%		0.135%		0.308%	

1) 池ヶ谷ら (1992) より作成

れた検量線の精度が高く、どの検量線を選択しても高精度の分析が可能である。通常、最終的に検量線を選択する場合 SEP の大小を最も重視する。しかし、SEP の差が手分析の誤差より小さいと判断される場合、選択波長数の少ない検量線を採用するほうが汎用性が高いとされるため、MLR 法 4 波長の検量線が最も適当であると考えられる。

粉碎サンプルの検量線と比較すると精度はやや劣るものの、普通煎茶の非粉碎サンプル測定検量線の精度は高かった。特に、MLR 法の 5～6 波長で作成された検量線の精度が高かった。どちらの波長を選択しても高精度の分析が可能であるが、粉碎サンプルと同様に汎用性から MLR 法 5 波長の検量線が最も適当であると考えられる。この検量線は十分な精度を有するため、通常の分析で精度上の問題が生じることはない。しかし、回転ドロワーに必要なサンプル量 (35g) は粉碎サンプルの測定に必要なサンプル量 (約 5g) より大量であるため、持ち込まれたサンプル量や必要とされる精度に応じて検量線を選択する必要がある。

乾燥茶葉の粉碎サンプル測定検量線は、全体的に非常に精度が高かった。MLR 法の 5～6 波長で作成された検量線および PLSR 法で作成された検量線は特に精度が高く、どの波長を選択しても高精度の分析が可能である。汎用性から MLR 法 5 波長の検量線が最も適当であると考えられる。

生茶葉測定検量線は、MLR 法の 5～6 波長で作成された検量線が他の検量線に比べ精度が高かった。同様の理由から 5 波長検量線が適当であると考えられる。生茶葉測定検量線は乾燥茶葉検量線より精度が劣ったが、ほ場から収穫後直ちに直接測定できる迅速性を考慮すると有用な検量線であると考えられる。

最終的に決定した茶の全窒素含有率を測定する 4 つの検量線を表 5 に示した。近赤外分光法において検量線を

作成する場合、SEP を最小限にすることが最も重要な事項である。誤差要因としては使用機種、栽培年度、品種、温度および地域条件等様々なものが考えられ、普遍的に利用できる検量線は報告されていない。従って精度の高い分析を行うためには目的とするサンプルに応じた検量線を常に選択しなければならない。茶の全窒素含有率においては公表された検量線があり¹⁾、2004 年度のサンプルを適応させたところ、今回作成した検量線と比較して SEP がかなり大きく精度は低い (表 5)。今回作成した検量線は十分な精度を有し、栽培現場から品質管理まで用いることができるが、装置の性質上、サンプル、環境等による誤差が生じやすいため、測定精度の維持のためには補正を定期的に行う必要がある。

引用文献

- (1) 池ヶ谷賢次郎・高柳博次・阿南豊正 (1992)：茶の分析法：茶研報 71, 43-74
- (2) 村松敬一郎 (1991)：茶の科学 (朝倉書店) 85-93
- (3) 永井耕介・吉川年彦・中川勝也・澤 正樹・田中平義 (1989)：近赤外分光法による農産物の非破壊品質評価 第 2 報 トマトの内容成分と食味についての分析ソフトの開発：日食低温誌 15(2), 17-23
- (4) 農業研究センター (1995)：近赤外法による穀類タンパク質の簡易定量 (幸書房) 30-76
- (5) 滋賀県 (2001)：近江茶生産振興基本計画 滋賀県茶生産技術指針：8-9
- (6) 高野和夫・妹尾知憲・村西久美・海野孝章 (1998)：近赤外分光法によるモモの葉中無機成分の迅速測定 96, 26-30
- (7) 吉田優子・木曾雅昭・長島 等・後藤哲久 (1996)：茶芽の生育に伴う化学成分含量の変化：茶研報 83, 9-16