

近赤外分析法による食品類の非破壊評価技術の開発

—ワインの温度補償型検量線の構築—

恩田 匠・飯野 修一・乙黒 親男

Development of Nondestructive Evaluation of Food by Near Infrared Spectroscopy

—Construction of The Calibration Equation Which Can Compensate The Errors Caused by Changing Temperature in Wine Products—

Takumi ONDA, Syuuichi IINO and Chikao OTOGURO

要 約

近赤外分光分析法の測定精度が、試料の温度による影響を受けることは周知のことである。しかしながら、現場レベルで試料の温度を厳密に調整することは困難な場合が多い。そこで、ワインの試料温度の変化が近赤外分光分析法における定量分析の測定精度に与える影響を検討し、ワインの温度補償機能を有する検量線の作成を行った。試料温度を厳密に20℃に調整して測定したスペクトルデータから、ワインのアルコール含量(%)を測定する検量線を作成した結果、高い精度の検量線が得られたが、この検量線を用いて25℃に調整した試料を測定すると、精度が低下してバイアスが発生した。近赤外吸収スペクトルの温度による変動と成分による変動を同一のものとし、20℃および25℃において測定したスペクトルデータを基に検量線を作成した結果、2340、1720、1888および2300nmの波長の $d^2\log(1/R)$ を含む検量線を得た。重相関係数は0.93、検量線評価時の標準誤差は0.30%であった。したがって、温度補償型の検量線が得られたものと考えられた。

Summary

It is known that changing temperature of sample has effect on accuracy of measurement by near infrared (NIR) spectroscopy. By the way, it is difficult to adjust temperature of sample before NIR measurement. Therefore, construction of the calibration equation of alcohol content (%), which can correct the errors caused by changing temperature of sample in wine products was performed. The calibration equation constructed by calibration using data set of spectra measured at 20℃ was able to determine alcohol content of samples which measured at 20℃ with sufficient accuracy, but was not determine alcohol content of samples which measured at 25℃. As a results of calibration using combined data set of spectra measured at 20℃ and 25℃, the most accurate calibration equation contained second derivative values of absorbance at 2340, 1720, 1888 and 2300nm was constructed. Multiple correlation coefficient in calibration between values predicted by NIR spectroscopy and chemically analyzed values was 0.93 and standard error of prediction was 0.30%. In conclusion, it was suggested that the calibration equation which can compensate the errors caused by changing temperature of sample was obtained.

1. 緒 言

近赤外分光分析法(以下、近赤外法と略記)により、ワイン中のアルコールなどの成分含量が精度よく非破壊測定可能であることは既にいくつかの報告¹⁾があり、著者らも山梨県産ワインを供試した検討から実証²⁾している。

一般に、近赤外吸収スペクトルは、温度による影響を受け、ベースラインがシフトするなどの変動の原因となること³⁾が知られている。この温度による近赤外吸収スペクトルの変動は、測定精度に影響を及ぼすことがあり、特に水分を多く含む液体試料では著しい影響がある。しかしなが

ら、現場レベルで試料の温度を厳密に調整することは困難な場合が多く、温度の影響を受けない測定方法の開発が望まれた。河野ら⁴⁾は、モモ果実を対象とした検討から、成分による近赤外吸収スペクトルの変動と温度による変動を同等のものとして検量線作成することにより、温度変化の影響を受けない検量線の作成を行っている。

そこで、白ワインを供試材料として、温度による影響を受けない、すなわち温度補償の機能を有する検量線の作成を行った。

2. 実験材料および方法

2-1 供試ワイン試料

ワイン試料は、第24回山梨県ワイン鑑評会に出品された白ワイン60点を供試した。このうち、50点を検量線作成用として、残りの10点を検量線の評価用に二分して用いた。

2-2 アルコールの定量

ワインのアルコールは、国税庁の所定分析法である浮秤法³⁾により測定した。

2-3 近赤外吸収スペクトル測定

ワインの近赤外吸収スペクトルは、近赤外分光装置 (InfraAlyzer500 system, BRAN+LUEBBE社製) を用いて、1100~2500nmの全反射スペクトルを2nm毎に走査測定した。このとき、測定用セルとしてワインドロアー (液体用ドロアー) を用い、恒温循環槽を連結して、試料を20℃に厳密に調整しながら測定した。InfraAlyzer500の動作は、近赤外分光分析用ソフトウェアIDAS (InfraAlyzer Data Analysis Software, BRAN+LUEBBE社製) が内蔵されたコンピュータ (5530T, IBM社製) を用いて制御した。

2-4 近赤外吸収スペクトルデータの解析

2-4-1 検量線の作成との評価

検量線作成のための重回帰分析は、IDASにより行った。すなわち、浮秤法により得たアルコール含量 (%) を目的

変数とし、近赤外吸収スペクトルの吸光度 (以下、 $\log(1/R)$) および近赤外吸収スペクトルの2次微分値 (以下、 $d^2\log(1/R)$) をそれぞれ説明変数として重回帰分析を行った。検量線に採用される波長の選択は、すべてIDASによる自動計算に依存した。

2-4-2 $d^2\log(1/R)$ とアルコール含量との単回帰分析
 ワインの近赤外吸収スペクトルの各波長における $d^2\log(1/R)$ とアルコール含量 (%) の単回帰分析は、統計計算ソフトウェア StatViewSE+graphics (for Macintosh, Abacus Concepts社製) が内蔵されたコンピュータ (PowerBook145B, Apple Computer社製) を用いて行った。

3. 実験結果および考察

3-1 ワインの近赤外吸収スペクトルに温度変化が与える影響

20℃と25℃で測定した同じ白ワインの近赤外吸収スペクトルの変化をFig.1に示す。また、この近赤外吸収スペクトルを2次微分処理 (2次微分条件⁶⁾: segment size; 12nm, gap size; 0nm) したスペクトル (以下、2次微分スペクトル) をFig.2に示した。20℃でのスペクトルと比較して、25℃でのスペクトルは、全体的に水分の大きな吸収⁷⁾ のある1440nmおよび1920nm近傍の吸収ピークが著しく増大

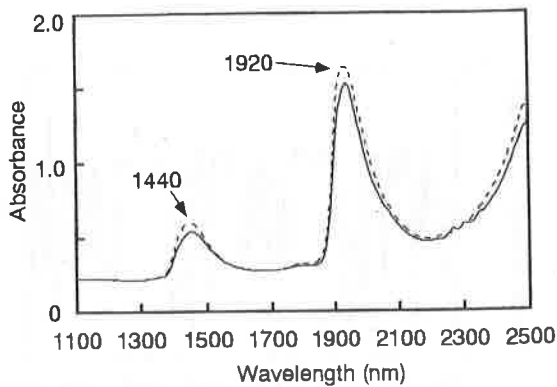


Fig.1 Near infrared spectra of white wine measured at different temperature
 Real line; measured at 20℃, Dotted line; at 25℃

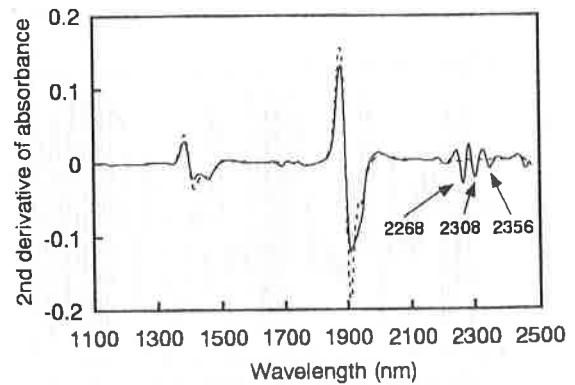


Fig.2 2nd derivative of Near infrared spectra of white wine shown in Fig.1

Table 1 Results of calibration and prediction for alcohol content in white wine using data sets of raw and second derivative spectra measured at 20℃

used spectra	wavelength selected					regression constants ^{d)}						R ^{b)}	SED ^{c)}	SEP ^{d)}
	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5	K ₀	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅			
log(1/R)	2404	1704	2244	1652	2412	311.9	-2016.0	4432.0	-855.6	2210.5	102.4	0.92	0.30	0.34
d ² lg(1/R)	2300	2250	1700	2408		-10.3	23.4	42.1	-109.3	14.5		0.94	0.21	0.24

a) K₀; intercept, K_n; constant of λ_n ,

b) Multiple correlation coefficient,

c) Standard error of calibration,

d) Standard error of prediction.

した。また、20℃における計測では認められるアルコールの特徴的な吸収である2268, 2308および2356nm近傍に存在する3つのピークは、25℃で計測するとほとんど認められなくなることが分かった。

3-2 供試ワインのアルコール含量

検量線作成に供したワインのアルコール含量は、最高値14.0%、最低値8.7%、平均値12.5%および標準偏差0.6%であった。また、検量線の評価に供したワインのアルコール含量は、最高値12.9%、最低値10.1%、平均値12.4%および標準偏差0.4%であった。

3-3 温度補償機能をもたない検量線の作成とその評価

20℃で測定したワインの近赤外吸収スペクトルの $\log(1/R)$ および $d^2\log(1/R)$ をそれぞれ用いて(試料数 $n=50$)、一波長開始の変数増加法によりそれぞれ検量線を作成した。また、得られた検量線の評価を、検量線評価用の試料を用いて行った。この検量線とその精度をTable1に示す。 $\log(1/R)$ および $d^2\log(1/R)$ のいずれを用いた場合でも、重相関係数(r)および検量線評価時の推定標準誤差(SEP)から判断して、非常に精度の良い結果が得られたものと推察した。しかしながら、 $d^2\log(1/R)$ を用いたときの方が精度が高く、2次微分処理することによるベースラインのシフトなどのノイズの解消が有効であることが分かった。

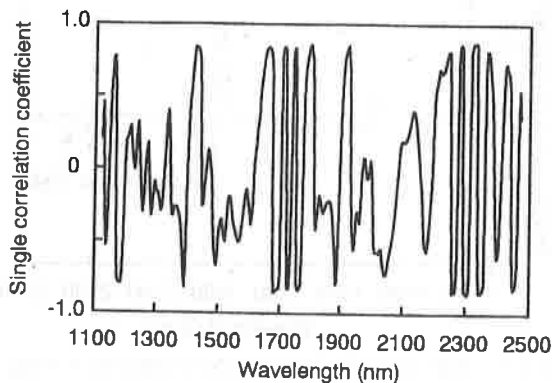


Fig.3 Spectrum of single correlation coefficient between alcohol content and $d^2\log(1/R)$ measured at 20℃

しかし、上の最も精度が高かった $d^2\log(1/R)$ を用いた検量線で、25℃で測定した試料を評価すると、SEPは2.5%となり、また系統的な誤差を示すバイアスも0.7となり、精度が低下した。このことから、近赤外吸収スペクトルの温度による変動が、その測定精度に影響を与えることを確認した。

3-4 $d^2\log(1/R)$ とアルコール含量との単回帰分析

20℃で測定した近赤外吸収スペクトルの $d^2\log(1/R)$ とワインのアルコール含量との単回帰分析を行い、Fig.3の結果を得た。同様に、25℃で測定した近赤外吸収スペクトルの $d^2\log(1/R)$ とワインのアルコール含量との単回帰分析の結果をFig.4に示す。以上の図は各波長毎に単相関係数(r)をプロットしたスペクトル(以下、単相関係スペクトル)であり、このピークのうち、マイナス側に大きく、その形状が丸みを帯びたものが、高い相関の得られる波長である⁹⁾。

20℃で測定した $d^2\log(1/R)$ を用いて得た単相関係スペクトルでは、特に2256, 2300および2348nmなどのアルコールに特徴的な吸収ピークのある波長で高い正の相関が得られ、逆に1436や1920nmなどの水分に帰属される吸収のある波長では負の相関が高くなった。25℃で測定した $d^2\log(1/R)$ を用いて得た単相関係スペクトルは、1952nmで最も正の相関が高かった。しかし、アルコールに特徴的

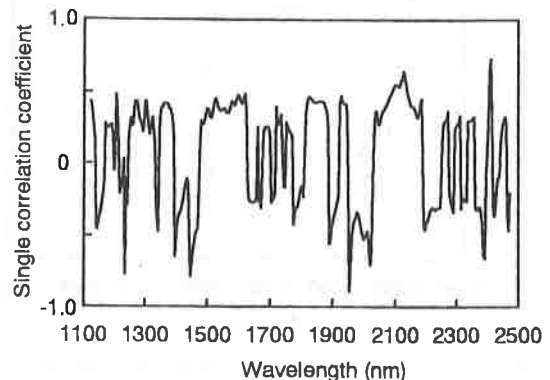


Fig.4 Spectrum of single correlation coefficient between alcohol content and $d^2\log(1/R)$ measured at 25℃

Table 2 Results of calibration and prediction for alcohol content in white wine using combined data sets of second derivative spectra measured at 20℃ and 25℃

wavelength selected				regression constants					R	SEC	SEP ^{a)}
$\lambda 1$	$\lambda 2$	$\lambda 3$	$\lambda 4$	K0	K1	K2	K3	K4			
2340	1720	1888	2300	20.3	-11.5	106.3	-23.7	13.7	0.92	0.27	0.30

a) standard error of prediction using combined data set of second derivative spectra measured at 20℃ and 25℃.

な吸収の存在する波長では相関が低かった。2つの相関スペクトルのパターンは類似した結果が得られたが、相関の高い波長が一致しておらず、20℃あるいは25℃で測定したどちらかのスペクトルデータで作成した検量線で他方のスペクトルデータを評価すると、精度が低下することが考えられた。

3-4 温度補償型検量線の作成とその評価

20℃で測定した近赤外吸収スペクトルと25℃で測定した近赤外吸収スペクトルの $d^2\log(1/R)$ を混合したスペクトルデータ (n=50) を用いて検量線の作成を行った (Table 2)。この検量線を用いて、20℃と25℃で測定した試料の評価を行った結果、それぞれのSEPは0.25および0.32%であり (2つのスペクトルデータを混合した場合のSEPは3.0%)、測定温度を厳密に調整した場合と比較すると精度は低くなるものの、高い精度で測定が可能なが分かった。

以上のことから、ワインの温度によるスペクトルの変動を成分による変動と同等にみなすことで、異なる温度で測定した近赤外吸収スペクトルデータを基に検量線作成することにより、温度補償機能をもつ検量線の開発が可能であることが明らかになった。

4. 結 言

ワインの試料温度が近赤外分光分析法における定量分析の測定精度に影響を及ぼすことを確認し、ワインの温度補償機能を有する検量線の作成を行い、以下の結果を得た。

- (1) 試料温度を厳密に20℃に調整して測定したスペクトルデータから、ワインのアルコール含量 (%) を測定する検量線を作成した結果、精度の高い検量線を得た。重相関係数は0.96、検量線評価時の標準誤差は0.27%であった。
- (2) 上の検量線を用いて、25℃に調整した試料のアルコールを測定すると、精度が低下し、バイアスが発生した。
- (3) 近赤外吸収スペクトルの温度による変動と成分による変動を同一のものとみなし、20℃および25℃において測定したスペクトルデータを基に検量線を作成した結果、

2340, 1720, 1888および2300nmの波長における $d^2\log(1/R)$ を含む検量線を得た。重相関係数は0.93、検量線評価時の標準誤差は0.30%であった。したがって、温度補償型の検量線が得られたものと考えられた。

なお、本研究中において、ワインの内容成分 (アルコール、糖類、エキス分など)、スモモ果実の品質 (糖度、酸度、硬度)、ウメ果実の硬度、リンゴ果実の品質 (糖度、酸度)、醤油の内容成分 (全窒素量、無塩可溶性固形物、食塩濃度) および小麦粉の内容成分 (全窒素量、灰分など) が精度よく計測できる検量線ソフトウェアを開発したことを付記しておく。

参考文献

- 1) KAFFKA, K. J. and NORRIS, K. H. : Rapid Instrumental Analysis of Composition of Wine, *Acta Alimentaria*, 5, 269-279 (1976)
- 2) 恩田 匠・辻 政雄・原川 守・荻野 敏・小宮山美弘: 近赤外分光分析法による山梨県産ワインのアルコールおよび糖の定量, 山梨県工業技術センター研究報告, 7, 70-76 (1993)
- 3) 岩元睦夫・魚住 純: 近赤外分光法による食品の非破壊品質測定, *日本食品工業学会誌*, 32, 685-695 (1985)
- 4) 河野澄夫・岩元睦夫: 温度補償型近赤外キャリブレーションの作成, 第8回非破壊計測シンポジウム講演要旨集 (日本食品工業学会), 19-25 (1992)
- 5) 日本醸造協会編: 国税庁所定分析法注解 p.15 (1993)
- 6) KAWANO, S., WATANABE, H. and IWAMOTO, M. : Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 61, 445-450 (1992)
- 7) OSBORNE, B. G. and TEARN, T. : Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis (Longman Scientific Technical) p.28 (1986)
- 8) 岩本睦夫・河野澄夫・魚住 純: 近赤外分光法入門 (幸書房) p.47 (1994)
- 9) 恩田 匠・阿部英幸・松永暁子・小宮山美弘・河野澄夫: 近赤外分光法によるデンプン糊化の解析, *日本食品工業学会誌*, 42, 886-890 (1994)