

近赤外分光分析法による醤油内容成分の非破壊計測

恩田 匠・鮎沢 武四*・小宮山美弘

Nondestructive Determination of Some Constituents of Soy Sauce by Near Infrared Spectroscopy

Takumi ONDA, Takeshi AYUZAWA* and Yoshihiro KOMIYAMA

要 約

近赤外法を用いて、本県内で製造されている醤油の非破壊定量法の確立を試みた。醤油の近赤外吸収スペクトルは、液状食品の典型的な形状を示したが、2次微分処理した近赤外吸収スペクトルには、内容成分に由来するいくつかの吸収ピークが認められた。醤油のブリックス、食塩濃度、総窒素量および無塩可溶性固形分の検量線を作成したところ、それぞれ精度の高い検量線が得られた。JAS記載の検量線を用いた評価も併せて行った。

1. 緒 言

近赤外分光分析法（以下、近赤外法と略記）は、食品内容成分の非破壊定量法として、一部の醸造食品および農産物において、製造現場、流通現場、品質管理現場などで既に実用化¹⁾されている。醤油に関しては、日本醤油研究所や日本醤油検査協会および業界の民間企業により詳細な研究²⁾³⁾が行われ、現在では近赤外法が従来からの化学分析法とともに、公定法として日本農林規格（JAS）に追加採用⁴⁾されている。

本県では山梨県味噌醤油工業協同組合においてJAS格付分析のため、醤油成分の定量が行われているが、その分析操作は従来からの化学分析法で実施していることから、煩雑なうえに熟練を要している。このため、迅速・簡便な近赤外法の導入が要望されていた。そこで、当組合への近赤外法の適用を計るため、山梨県内産醤油を用いて近赤外法による計測を試み、またJAS分析ハンドブックに記載されている検量線による測定と評価を行った。

2. 実験材料および方法

2-1 供試材料

醤油試料は、山梨県味噌醤油工業協同組合において格付審査される50点（減塩、淡口、濃い口、うす口およびあま口を含む）を用いた。これらの試料は、検量線作成用44点と検量線評価用6点に2分割して用いた。

2-2 醤油内容成分の定量

ブリックス（°brix）、食塩濃度（%）、総窒素量（%）および無塩可溶性固形分（%）は、JASに規定された方法⁵⁾

に準じて行った。

2-3 近赤外吸収測定

近赤外吸収測定は、近赤外分光装置 InfraAlyzer500（ブラン・ルーベ社製）を用いて、1100～2500nmの波長領域の吸光度を2nm毎に走査測定した。測定用セルには、液体用測定セル（ワインドローア）を使用し、恒温循環槽を連結して20±1℃に調整して試料を測定した。

2-4 検量線作成とその評価

検量線の作成は、プログラムソフトウェアIDAS（InfraAlyzer Data Analysis Software, ブラン・ルーベ社製）を使用した。すなわち、醤油成分の分析値を目的変数とし、検量線作成用試料の近赤外吸収スペクトル（701データポイント）を説明変数として重回帰分析を行った。作成した検量線の評価は、検量線評価用の試料を用いてIDASにより行った。

JAS記載の検量線の評価は以下のように行った。すなわち、検量線評価用試料の近赤外吸収スペクトルデータをテキストファイル化し、JASの分析ハンドブック⁶⁾に記載されている検量線から各成分の測定値を測定した。次に検量線からの測定値と実際の化学分析値を用いて、推定標準誤差を算出して、その精度を評価した。以上の統計計算は、表計算ソフトウェア Excel 4.0J（for Macintosh, マイクロソフト社製）を用いた。

3. 実験結果および考察

3-1 醤油の近赤外吸収スペクトル

醤油の近赤外吸収スペクトルは、高水分系（液状）食品に典型的な、水の大きな吸収をもつ形状を示した（Fig.1）。水の近赤外吸収スペクトルと異なり、醤油のスペクトルに

* 山梨県味噌醤油工業協同組合

は、2270nmおよび2308nm近傍に微小な吸収ピークが存在した。この醤油の近赤外吸収スペクトルに対し、2次微分処理（微分条件：segment；12，gap；0）を施し、そのスペクトル（以下、2次微分スペクトル）を調べたところ、1160、1348、1420、1460、1620、1688、1728、1784、1916、2160、2208、2264、2304、2348、2404および2460nm近傍に大小16個の吸収ピークが認められた（Fig.2）。以上の吸収ピークのうち、1420nmと1916nm近傍の大きい吸収は、水に由来するものである。その他の吸収の帰属については、成書などに記載されている帰属一覧表²⁾⁶⁾を参照して以下のように推察した。1160nmはC=O、1348nmはC-H(CH₃)、1460nmはN-H、1620nmはC-H(CH₂)、1688nmはC-H、1728nmはC-H(CH₂)、1784nmはO-H（水、セルロースあるいはその類縁体）、2160nmはC-H（タンパク質、HC=CH）、2208nmはC-HあるいはC=O(CHO)、2264nmはO-HあるいはC-O（セルロースあるいはその類縁体）、2304nmはC-H（脂質、タンパク質）、2348nmはCH₂（脂質、タンパク質あるいは糖）、2460nmはC-H(CH₂)。2404nmの帰属については明確ではなかった。以上のことから、醤油に関する吸収は、脂質、タンパク質

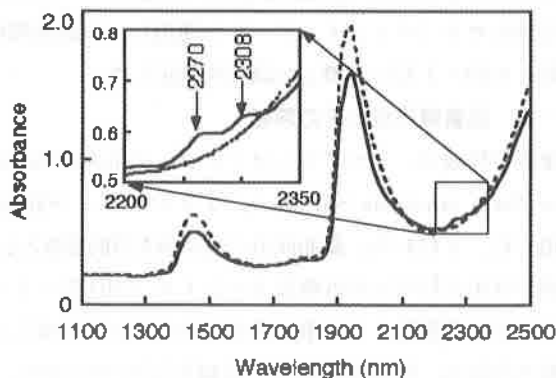


Fig.1 Near Infrared Spectrum of Soy Sauce.

Dotted Line shows NIR Spectrum of Water.

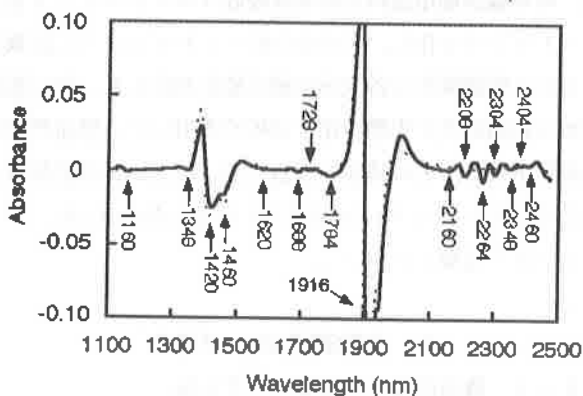


Fig.2 Second Derivative NIR Spectrum of Soy Sauce.

Dotted Line shows Second Derivative NIR Spectrum of Water.

および糖質の吸収に帰属すると考えられ、それらは原料である大豆、小麦（あるいは米）由来のものであると推察された。

3-2 検量線の作成とその評価

ブリックス (Brix ; ° brix) , 食塩濃度 (NaCl ; %) , 総窒素量 (total N ; %) および無塩可溶性固形分 (N-Ex ; %) について、1波長 (変数) 開始 (4波長まで) の変数増加方式による重回帰分析から、検量線の作成を行った。この重回帰分析の結果、すなわち検量線採用波長とその統計学的特性値をTable 1~4に示した。同図中の太文字で示したものが、それぞれ最も精度が高かった検量線である。いずれの精度も比較的高く、さらに多くの検量線作成に適した試料を供することにより、より高い精度を有する検量線が得られるものと考えた。以上の結果から得られた検量線を示す重回帰式をTable 5に示した。

Table 1 Wavelength Selected and Statical Summary of Brix Determined by NIR Spectroscopy.

wavelength selected	R ^{a)}	SEC ^{b)}	F-value	SEP ^{c)}
1488	0.91	0.79	250.1	0.61
1112 1264	0.94	0.67	192.4	0.61
1492 2132 2076	0.96	0.59	161.5	0.34
1492 2132 2076 2336	0.97	0.51	169.2	0.55

a) R ; correlation coefficient,

b) SEC ; standard error of calibration,

c) SEP ; standard error of prediction.

Table 2 Wavelength Selected and Statical Summary of NaCl Determined by NIR Spectroscopy.

wavelength selected	R	SEC	F-value	SEP
1568	0.99	0.35	2264.4	0.06
1640 2100	0.99	0.20	3681.9	0.06
1560 2100 1672	0.99	0.19	2714.9	0.05
2128 2080 1656 1788	0.99	0.11	5271.8	0.04

Table 3 Wavelength Selected and Statical Summary of Total N Determined by NIR Spectroscopy.

wavelength selected	R	SEC	F-value	SEP
2180	0.88	0.08	142.4	0.03
2052 1484	0.97	0.04	371.7	0.03
2052 1484 2232	0.98	0.04	266.6	0.03
2052 1484 2364 1792	0.98	0.03	263.0	0.10

Table 4 Wavelength Selected and Statical Summary of N-Ex Determined by NIR Spectroscopy.

wavelength selected	R	SEC	F-value	SEP
1916	0.98	0.68	895.7	0.10
2004 2132	0.98	0.57	635.9	0.09
2004 2132 2468	0.99	0.57	424.3	0.06
2000 2132 2468 2456	0.99	0.54	361.9	0.08

Table 5 Expressions for Prediction by NIR Spectroscopy

$$\begin{aligned} \text{Brix } (^{\circ}\text{Brix}) &= 166.8A_{1492} + 629.7A_{2132} - 647.5A_{2076} + 33.8 \\ \text{NaCl } (\%) &= 212.6A_{2180} - 242.1A_{2080} - 780.6A_{1656} + 701.7A_{1788} + 36.4 \\ \text{Total N } (\%) &= 22.5A_{2052} - 49.0A_{1484} + 9.0A_{2232} + 2.6 \\ \text{N-Ex } (\%) &= -117.8A_{2004} + 170.4A_{2132} + 25.3A_{2468} + 11.5 \end{aligned}$$

A_{xxxx} : absorbance at xxxnm .

ブリックス検量線の採用波長のうち、1492nmはNH₂に、2132nmはNHとC=Oをもつアミド基に、2076nmは糖類のR-OHに、2336nmは糖類などのC-Hに、それぞれ帰属するものと考えられた。食塩は無機物であり近赤外吸収をもたないが、近赤外吸収スペクトルのシフト量などにより計測できることがわかっている²⁾。今回の実験でも、食塩濃度検量線の精度は非常に高く、近赤外法による食塩濃度定量の有効性を確認した。総窒素量検量線の採用波長のうち、2052nmおよび1484nmはアミド基(タンパク質)に帰属することが推察された、また、無塩可溶性固形分検量線の採用波長のうち、2004nmはアミド基(タンパク質)あるいは糖類のO-Hに、2132nmはアミド基(タンパク質)、2468nmはC-H(糖類)に帰属すると推察された。以上のことから、それぞれの測定項目において、測定対象物質の吸収、またはその他の関連物質の吸収に準じた波長が採用されているものと考えられた。

3-3 JAS記載の検量線による測定とその評価

JASの分析ハンドブックに記載されている検量線での評価を行った結果、JASで定められた分析精度の管理巾を越える誤差(バイアス, bias)を認め、この補正の必要性が考えられた。このバイアスについては、日本醤油検査協会から供給されている基準サンプルおよびチェックサンプルを用いてバイアスチェックすることにより補正が可能であり、実用上十分な精度で定量ができるのではないかと推察した。

以上のことから、近赤外法による醤油内容成分定量の有効性は十分認められた。近赤外法を導入した場合に、測定

精度を保持しつつ、大幅な分析時間の短縮が可能であると考えられた。

4. 結 言

近赤外法による醤油内容成分の非破壊計測の検討を行い、以下の知見を得た。

- (1) 醤油の近赤外吸収スペクトルは液状食品の典型的な形状を示したが、2次微分処理スペクトルには、内容成分に由来する吸収ピークが認められた。
- (2) 醤油のブリックス、食塩濃度、総窒素量、無塩可溶性固形物量の検量線を作成したところ、それぞれ精度の高い検量線が得られた。
- (3) JAS記載の検量線を用いるときのバイアスチェックの必要性を確認した。

参考文献

- 1) 若井芳則：醸協, 87 (7), 492-496 (1992)
- 2) 橋本彦堯・飯塚佳子・小林邦男：醸協, 87 (10), 711-720 (1992)
- 3) 金子恵一・館 博・菊池修平・伊藤 寛・田中秀夫：醬研, 18 (2), 60-65 (1992)
- 4) 日本醤油検査協会・日本醤油研究所：NIRによるしょうゆのJAS分析ハンドブック, p.1 (1993)
- 5) 日本醤油研究所：しょうゆ試験法, p.1 (1985)
- 6) Osborne, B. G. and Tearn, T.: Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis (Longman Scientific Technical) p.28 (1986)