

近赤外分光法による食品の化学的分析

Food Analysis by Near-Infrared Spectroscopy

近藤 みゆき

Miyuki KONDO

要約

近年、近赤外分光法が迅速な非破壊分析法として注目されている。食品の分野では、果実・野菜・魚類の成分測定や加工食品の品質管理などに用いられるようになりだした新しい化学分析の手法であるが、あまり知られていない部分も多い。本報では、近赤外分光法の応用分野・特徴・原理・スペクトル測定法および解析法等について、概略を示す。

キーワード：近赤外分光法，ケモメトリックス，化学分析，品質管理

near-infrared spectroscopy, chemometrix, chemical analysis, quality controll

1. はじめに

食品の新しい化学分析法として、近赤外分光法が用いられるようになってきた。この手法は、これまでの化学分析とは異なり、光を用いることによって瞬時に非破壊で分析できるという利点をもっている。初期のころは小麦の水分量の測定など限られた用途でのみ用いられていた近赤外分光法であるが、近年ではさまざまな分野で利用されつつある。本年、食品科学における最新の近赤外分光法についてまとめた洋書 *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*¹⁾ が発刊されるなど、食品分野での応用はさらに増えていくものと期待されている。今回、私は近赤外分光法を用いた食品の分析を研究する機会を得たので、ここに紹介する。

2. 近赤外分光法の測定方法

近赤外分光法は、物質分子による近赤外光（波長域 800～2500nm：波数で表すと12500～4000cm⁻¹）の吸収に基づく分光法である。近赤外分光計も基本的には紫外可視分光計や赤外分光計と同じく、光源・分光部・

試料セル・検出部からなるが、光ファイバーを用いた遠隔分析や粉体試料、固体試料用のセルを用いた拡散反射測定なども行われるのが特徴である²⁾。

図1に、一般的な近赤外分光法の測定手順を示す。次章で述べるようないくつかの確立された応用例では、検量線が用意され機器内に取り込まれているのでユーザーが作成する必要はないが、そうでない場合はあらかじめ多くの試料を用いて検量線を作成する必要がある。検量線は、測定した近赤外スペクトルのわずかな違いをもとにケモメトリクス法で分析することで作成するわけであるが、試料によっては、十分な検量線が作成できず精度が得られない場合も多い。近赤外スペクトルの例として、この装置で測定したお茶（ほうじ茶・紅茶・緑茶）の拡散反射スペクトルを図2に示す。各スペクトルにおけるバンド強度などの違いから、茶葉の種類や水分含量を分析することができる。例えば、5200cm⁻¹付近のバンド強度を比較するとほうじ茶の水分含量が少ないことがわかる。一方、図3に示すようなハンディ型やショルダー型のポータブル近赤外分光計も開発され、農場で未収穫の作物の測定が

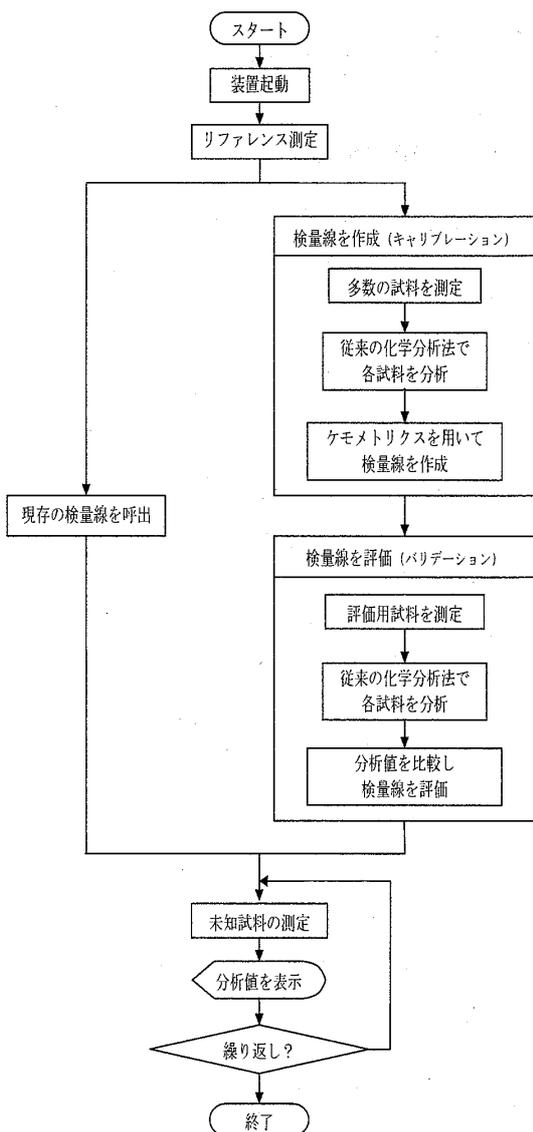


図1 近赤外法を用いた成分分析の一般的な測定手順

可能になるなど、研究が進められている。

近赤外分光法では、紫外・可視分光法などで通常用いられる透過測定に加え、透過反射、拡散反射法などの測定法が多く用いられる。透過測定は、主に透明な溶液・フィルム状の試料・穀類のような粒状試料に用いられるが、果皮の厚い果実の測定例もある。透過反射法は、基本的に透過法と同じような形態の試料に利用されるが、粘稠な液体の測定ではもっぱら透過反射法が用いられる。拡散反射方式は、粉体や固体試料の測定に向けた測定法である²⁾。

3. 近赤外分光法による食品工業や農作物の品質評価への応用例

表1に示すように、食品工業などの分野では各種成

表1 食品への近赤外分光法の応用例

米	でんぷん (アミロース)、たんぱく質、水分、灰分、アミノ酸、食味値
小麦 (小麦粉)	でんぷん、たんぱく質、水分、灰分、硬軟質、損傷でんぷん、さび病、SDS 沈降性、 α -アミラーゼ活性、カラーバリュー、ふすま質混入率、品質判別、アミノ酸、製パン適性
大豆	たんぱく質、水分、脂質
茶 (乾燥葉)	たんぱく質、水分、全窒素、カフェイン、テアニン、全遊離アミノ酸
牛乳	水分、脂質、たんぱく質、乳酸、TMS、カゼイン
チーズ	脂質、たんぱく質、固形分、水分、灰分、チロシン、PH
畜肉 (肉製品)	たんぱく質、水分、脂質、塩分、エネルギー、PH、調理適性
ワイン	アルコール、エキス分、糖、滴定酸度
日本酒	アルコール、酸度、アミノ酸、日本酒度、直糖、全糖
果実ジュース	ブドウ糖、果糖、ショ糖
豆乳	たんぱく質、水分
シリアル加工品	繊維 糊化度
パン	たんぱく質、水分、脂質
ビスケット (ドウ)	脂質、ショ糖、小麦粉、水分
醤油	塩分、窒素、アルコール、乳糖、グルタミン酸、グルコース
味噌	水分、食塩、全窒素、全糖、直接還元糖、脂質、灰分、アルコール、ホルモール窒素
乾燥野菜	たんぱく質、脂質、灰分、ADF
乾のり	品質等級、タンパク質、色素
サトウキビ	粗繊維、水分、糖度 (Brix)、ショ糖、還元糖
モモ、ナシ	糖度 (Brix)
リンゴ	糖度 (Brix)、硬度
トマト	糖度 (Brix)、滴定酸度
温州みかん	糖 (Brix)

分の定量分析や判別分析が活発に研究されている。近赤外分光法によるこれらの研究は、新たな食品の品質管理技術としても大いに期待される。これらのうち主なものをいくつか取り上げ、以下に概要を紹介する³⁾。

3-1 しょうゆの成分分析

近赤外分光法が実用化されたよい例は、しょうゆの成分分析であり、1993年、JAS 格付検査の分析法として採用された。しょうゆ製造では、全窒素・食塩・アルコール・還元糖・乳酸・グルタミン酸・グルコースなど多項目にわたる品質管理が求められ、慣行の湿式化学分析法では多くの労力を必要とする。近赤外法による分析結果は還元糖を除き高い精度が得られ、しょうゆ製造の現場で広く利用されている。

3-2 米の食味評価

一般に、米の食味は炊飯米の官能検査によって評価される。一方、米の食味とさまざまな理化学的特性との関係が研究されているが、理化学的特性値を得るためには多くの労力と時間がかかる。近赤外分光法により理化学的特性値が得られれば、食味を瞬時に算出できるという考えに基づいて、近赤外分光法を利用した米食味計が開発され広く普及しつつある。食味計に組み込まれている食味関係式の構成要素には、水分・たんぱく質・アミロース・ヨード呈色度などがあり、機種ごと異なる。近赤外分光法を用いた食味計により、精米工場でのブレンド操作をより確実なものにすることが可能になっている。

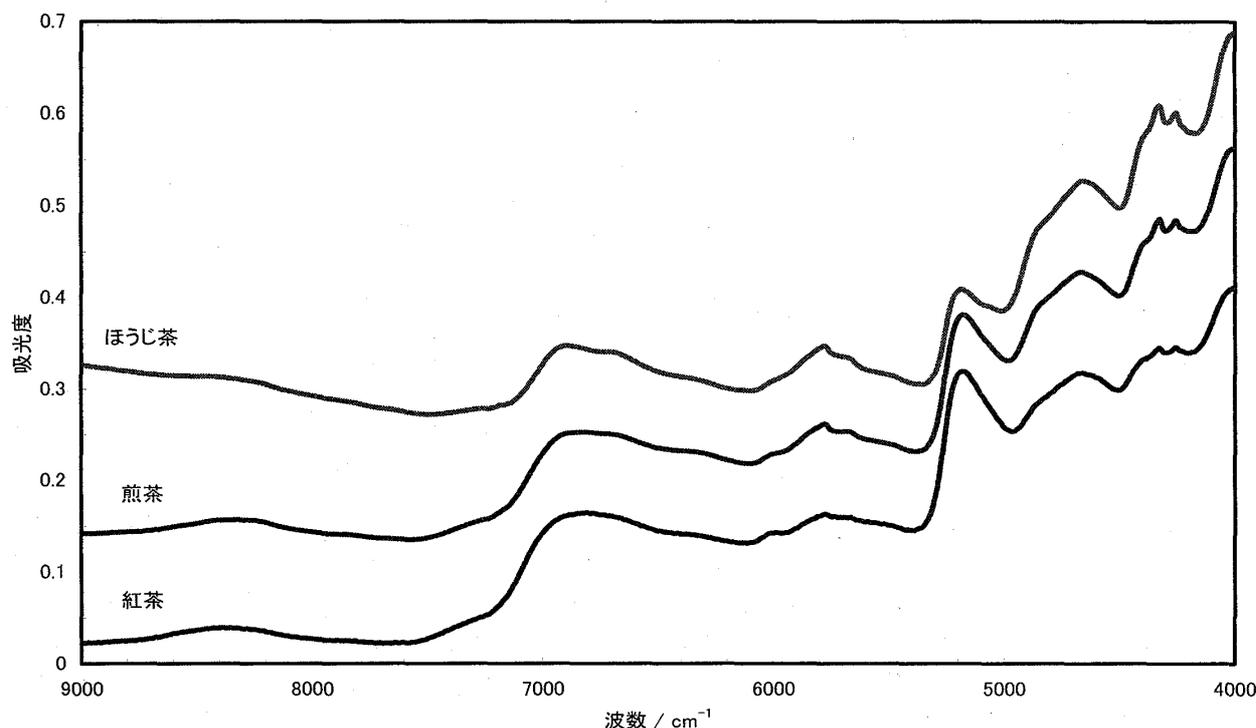


図2 積分球を用いて測定した、ほうじ茶・煎茶・紅茶の近赤外吸収スペクトル

3-3 農作物の品質評価

農業分野における近赤外分光法の非破壊測定は利用価値が非常に高く、この分野における応用は発展しつつある。最近、ポータブル近赤外分光計を用いて、農作物から野菜や果実類の糖度・酸度を測定できるようになったことから、農作物の生育中の品質評価が活発になった。この技術は「光センサー」という呼称で広く農業分野で使われている。

現在までに開発された検量式の品目は、トマト・リンゴ・ミカン（糖度及び酸度）・桃・ブドウ・梨・柿・イチゴ・メロン（糖度）である。特に温州みかんとり



図3 ハンディー型近赤外分光器による、みかん糖度の測定例

んごは、日本の主要な果物でもあり、より精度の高い検出方法の研究が進んでいる。このほか、米・茶・サトウキビへの応用が実用化され、各種青果物への研究が急速に進められている^{4,5)}。

3-4 魚介類の脂肪量測定

ハンディ型近赤外測定器によるマアジ・凍結カツオ・凍結メバチ等の脂肪量測定の研究が行われている。これらは、非破壊で凍結されたままでも比較的精度よく測定することができ、実用化されつつある。

マアジについては、果実測定用ポータブル型近赤外分光光度計を使用し、凍結時と解凍時において脂肪含量を精度よく推定できる⁶⁾。また、凍結魚では水の吸収バンドがほとんど観察されないため容易に分析できるが、解凍魚に対しても、温度補正検量線を用いることにより、 -40°C から 10°C まで比較的安定した推定値が得られるという報告もある⁷⁾。凍結カツオについては魚体の腹部中央部のスペクトルを測定することにより、凍結メバチマグロではグレーズを取り去り魚体の肛門付近の腹部スペクトルを測定することにより、脂肪量を精度よく迅速に測定できると報告されている^{8,9)}。

3-5 その他

現在、新生児医療の領域において、光の特性を利用した多くの機器が臨床で利用されている。このほか、臨床医学への応用として、血液酸素飽和度の測定など

生体組織における非侵襲的な評価方法として、その一部はすでに臨床の現場で利用されている。

医薬品分野において近赤外分光法は、医薬品原料の結晶性・粒子径・含水量などの定量が主であったが、「工程の設計、分析、管理、最終的な品質保証」など、あらゆる過程の工程管理 (Process Analytical Technology) として注目されだした¹⁰⁾。

化粧品分野では、ヒト爪や皮膚中の水分定量法、髪健康状態や皮膚の老化の非破壊評価に関する研究などがある¹⁰⁾。

4. 近赤外分光法の特徴

近赤外分光法の特徴をまとめると以下のようになる。まず第一に、試料を損傷しないことであり、in situ (あるがままの状態) で分析ができ、多成分の同時定量が可能であるという特徴がある。また、液体・懸濁液・ペースト・粉体・フィルム・固形物・気体など種々の状態の試料の分析が可能であり、非接触分析で化学薬品も必要としない。

次に、中赤外に比べ近赤外では、水の吸収強度がかなり弱くなる (水の吸光係数は赤外領域の1/1000程度) ので、水溶液での研究や分析はるかに容易である。一般に、中赤外域に観察される基準振動の倍音や結合音の吸収が近赤外域にあらわれるが、水素を含む官能基に帰属される吸収がよく観察される。中赤外域の基準振動の倍音や結合音の吸収がよく観察される。一方で、それらのブロードなバンドが重なり合ったスペクトルとして表れるので、多変量解析のような統計手段が必要とされる^{4,11)}。

5. 近赤外分光法の原理

近赤外光は1800年、英国の Herschel によって発見された。しかし、1960年代の半ばまでは、近赤外分光法のもつ潜在的な情報量の豊富さは広く認識されてはいたが、それを引き出すスペクトル解析法がなかった。アメリカ農務省の Norris は伝統的なスペクトル解析法にとらわれず、重回帰分析という統計的処理を近赤外スペクトルの解析に導入した。これにより、近赤外

分光法は非破壊的分析法としてたちまち広がった⁴⁾。

量子論によると、分子の吸収スペクトルを観測することができるのは、ある波長域の光を分子に照射すると、その分子は特定の波長の光のみを吸収し、低いエネルギー状態から高いエネルギー状態に遷移するからである。分子のエネルギーは、電子エネルギー、振動エネルギー、回転エネルギーなどからなる。それぞれの電子エネルギーには振動エネルギーが、またその振動エネルギーには回転エネルギーが付随している。電子エネルギー準位、振動エネルギー準位、回転エネルギー準位間の間隔は大きく異なり、遷移を引き起こすのに必要な光の波長域は、それぞれ紫外可視、赤外、マイクロ波に相当する。図4に、これらの光の名称と、波数あるいは波長の関係を示す。近赤外光は、エネルギー的には可視光と赤外光の中間で、近似的にいうと、電子遷移には小さすぎ振動遷移には大きすぎるため、光の吸収が起こらず透過する。しかし、非調和振動子理論によって振動遷移の倍音や結合音に相当する遷移が生じると、わずかに近赤外光の吸収が起こる。

近赤外域は3つの領域に分けて考えると都合がよい。第一の領域は800–1100nm の領域で、この領域で観測されるバンドは、基準振動の高次倍音 (CH, OH, NH 伸縮振動の第2, 第3, 第4倍音など) と電子吸収である。いずれのバンドも非常に弱いのでこの領域は透過性にすぐれている。非破壊分析、無侵襲分析に適し、近赤外の医学応用や選果機などはこの領域を利用している。第二の領域は1100–1800nm で、この領域には XH 伸縮振動の第一、第二倍音のほかにも多くの結合音が観測される。近赤外分光法を用いた基礎研究、応用研究に最もよく用いられる領域である。第三の領域は1800–2500nm で、ここで観測されるバンドのほとんどは結合音によるものである。この領域はかなり透過性が悪い。

6. 近赤外スペクトルから情報を引き出す方法

測定で得られたスペクトルは、必要な情報とノイズから成り立っており、この情報をいかに引き出すかが重要である。近赤外スペクトルから種々の変動要因を取り除き情報を分離抽出する方法は、大きく分けて二種類ある^{4,12)}。

6-1 分光学的方法

一成分系や二成分系の場合は、伝統的な分光学的方法が有効である。微分(一次・二次)、差スペクトル、カーブフィッティングなどがよく用いられる。特に差ス

25000		12500		4000		400		10		波数/cm ⁻¹
紫外	可視	近赤外	赤外	遠赤外	マイクロ波					
400		800		2500 (2.5 μm)		25000 (25 μm)		100000 (1 mm)		波長/nm

図4 電磁波の波数と波長

ペクトルは特定バンドの温度変化や濃度変化に伴うバンドの強度変化を追跡するのに有効である。また、新しい解析法に、一般化二次元相関分光法(2D-COS)がある。これを用いるといろいろなバンドの間の相関が明らかになり、バンドの帰属を調べたり、分子間、分子内相互作用を研究したりすることができる。

6-2 ケモメトリックスを用いる方法

ケモメトリックスとはスペクトルやクロマトグラムのような化学的データを数量化し、それから情報を抽出する計量学である。ケモメトリックス創始者の一人である Kowalski によると、ケモメトリックスとは「化学的データに数学的方法や統計的方法を適用し、最適手順や最適実験計画の立案・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手法」である⁴。近赤外分光法では、条件(試料)の異なるスペクトルを大量に測定し、その得られたスペクトルのわずかな差をもとに「検量線」を作成することが多く、多重共線性の強いスペクトルデータの中に埋もれた情報を引き出す必要のある近赤外分光法ではケモメトリックスが大変有効である。

近赤外分光法で用いられるケモメトリックスとしては、重回帰分析と多変量解析がある。通常、各種変動要因による不要なスペクトル変動(ベースライン変動など)を低減するために、生のデータに前処理を施し、その後ケモメトリックスを適用する。代表的な前処理法としては平滑化、微分、正規化、乗算的散乱因子の除去などがある。なお、以下に示す手法は解析ソフトに内蔵されており、ユーザーが実際に計算しなくてよい場合が多い。

6-2-1 スペクトルデータ解析

データ構造をより明確化し制度の高い検量モデルを作成するために、複雑なデータの情報をできるだけ損なわずに次元を下げて圧縮し、データ構造を視覚的に捕らえやすくするための多変量解析法である。これには主成分分析(PCA)、クラスター分析、因子分析などがある。

各サンプルに対応するスペクトルは直交座標空間のなかの1点であるが、PCAでは点のばらつきが最大になるように、座標軸を移動、回転して新しい軸(主成分軸)を定める。PCAは、変数間、サンプル間の相関関係を元にデータを再構築し、低い次元でスペクトルやサンプルの特徴を提示するための解析手法である。主成分軸による2次元や3次元のスコアプロットは、主成分空間におけるサンプルベクトルの分散状態を示

しており、アウトライヤーの検出や類似サンプルのグルーピングに役立つ。すべてのサンプルに適用できる検量モデルを作りたいのならばできるだけスコアの分散したサンプルセットを使う必要がある。全く異質なグループの存在が示されたならば、グループごとに検量モデルを作成したほうが予測精度は高まる可能性が高い。PCAは定量モデル構築法であるPCR(Principal component regression)、PLS(Partial least squares)の基礎となっている¹²⁾。

6-2-2 検量モデルの作成

PCRは、PCAの主成分スコアを使って重回帰分析を行う定量分析法である。

PCRではすべてのスコアベクトルは互いに独立で多重共線性の心配はない。この検量モデルは $y = Tq + f$ 式で表され、予測誤差 f を最小にする q を最小二乗法で算出する。

一方、PLS回帰分析は、 X の線形関数と y の間の共分散が最大になるように潜在因子(latest component)を抽出する手法である。PCRと同じ式で表されるが、PCAのPCとは異なり、PLSでは y の変動に直接関係のある潜在因子を使って1目的変数 y を算出するのがPLS1であり、複数の目的変数 Y を算出するのがPLS2である。

7. まとめ

近赤外分光法は、さまざまな物質の化学的成分の測定に導入され始めてから歴史は浅いが、測定方法や解析方法等に関する研究が盛んに行われている。

今後、近赤外分光法を用いた分析手法を食品工業のみならず調理の分野にも導入することで、素材の品質管理や調理技術のよしあしの判定に使うことができると期待される。

8. 謝辞

近赤外分光法について研究を始めるにあたり、種々の近赤外分光計に触れさせていただき数々のご助言をいただきました。関西学院大学理工学部の尾崎幸洋先生をはじめ尾崎研究室の皆様へ感謝致します。また本学の山澤正勝先生には、多くの大変貴重なご意見をいただきました。今回、近赤外分光法についてまとめるにあたりご指導いただきました名古屋市立大学大学院の片山詔久先生と、実験に協力いただきました岩西恩さんに感謝致します。

9. 参考文献

- 1) Ozaki Y, et al, Christ AA (ed.), Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology, Wiley-Interscience (2006).
- 2) 松本清, 食品分析学, 機器分析から応用まで, 初版, 培風館 (2006).
- 3) 尾崎幸洋, 河田聡, 近赤外分光法, 3版, 学会出版センター (2005), 岩本睦夫, 河野澄夫, 魚住純, 近赤外分光法入門, 幸書房 (1994).
- 4) 尾崎幸洋, 近赤外分光法, 初版, (株) アイピーシー, 179-189 (1998).
- 5) 森本進, 携帯型近赤外装置フルーツセレクター K-BA100の開発, 第19回非破壊計測シンポジウム講演要旨集, 31-39 (2003).
- 6) 山内悟, 篤本淳司, 高木毅, 岡田裕史, 村中文夫, 近赤外分光法によるマアジ脂肪含量の非破壊評価法の開発, 平成15年度水産物用加工関係試験推進会議, 44-47 (2003).
- 7) 山内悟, 近赤外, 水野俊博, ハンディ型近赤外測定器によるマアジおよびその干物の脂肪測定, 日本食品化学会誌, **53-7**, 393-397 (2006).
- 8) 篤本淳司, 平塚聖一, 長谷川薫, 携帯型近赤外装置によるカツオ脂肪量の非破壊迅速測定, 平成13年度水産物用加工関係試験推進会議, 129-131 (2001).
- 9) 篤本淳司, 長谷川薫, 服部幸夫, 服部誠吾, 水野俊博, 携帯型近赤外装置によるグレーズ処理された冷凍メバチ脂肪量の非破壊迅速測定, 平成14年度水産物用加工関係試験推進会議, 77-79 (2002).
- 10) 尾崎幸洋, 新澤英之, 池羽田晶文, 近赤外分光法, ぶんせき, **8**, 391-398 (2006).
- 11) 尾崎幸洋, 池羽田晶文, 近赤外分光 I 概論, 分光研究, **53-1**, 43-53 (2004).
- 12) 宮本久美, 近赤外分光Ⅲ近赤外スペクトルの定量法, 分光研究, **53-3**, 192-203 (2004).