

## 近赤外分光法によるみそ品質の迅速測定

小河拓也\*・田畑広之進\*・永井耕介\*\*・井上喜正\*

### 要 約

近赤外分光法を用いてみその水分、全窒素及び食塩含有率を迅速に測定する検量線を作成した。

- 1 各成分について、5種類の検量線作成方法を試みたところ、すべての検量線において5波長を用いて原スペクトルを重回帰分析を行って得た検量線が最も優れていた。
- 2 最も優れていた水分含有率測定検量線、全窒素含有率測定検量線及び食塩含量測定検量線はそれぞれの成分含有率と各々、 $R=0.989$ ,  $0.968$ ,  $0.978$ と高い相関関係にあった。
- 3 水分及び全窒素含有率測定検量線はそれぞれ水分及びタンパク質の帰属波長を有していた。
- 4 作成した検量線は波長数、重相関係数、SEC及びSEPから判断して、すべて実用的な精度を有し、現地での技術指導に有効と認められた。

### Rapid Determination of Miso Quality Using Near Infrared Spectroscopy

Takuya OGAWA, Konoshin TAHATA, Kousuke NAGAI, and Yoshinobu INOUE

### Summary

Calibration for measuring moisture, total nitrogen, and salt contents rapidly using near infrared spectroscopy (NIR) was created.

- (1) Calibrations created by multiple regression analyzed 5 wavelength original spectrum data were most precise in calibrations analyzed by 5 kinds of methods in all components.
- (2) Highly positive correlation was found between the measured value and those predicted by the best calibrations for moisture, total nitrogen, and salt content. Each multiple correlation coefficients were 0.989, 0.968 and 0.978 for moisture, TN and salt, respectively.
- (3) Moisture and protein related wavelengths were obtained in the spectra of calibration measuring moisture and total nitrogen content.
- (4) Judging from number of wavelength, R, SEC and SEP, these calibrations have the potential for measuring miso quality and are useful for technical application.

キーワード：みそ、近赤外分光法、水分、全窒素、食塩

### 緒 言

みそは日本における伝統食品であり、各地で多様なみそが製造されている。近年、みそが有する抗酸化性等の生体調節機能<sup>4)</sup>や抗がん機能<sup>3)</sup>も報告されており、世界的に注目される食品として輸出量も年々増加する傾向にある。

兵庫県においても、大豆の生産振興と共に、県下各地で生活改善グループ活動等によるみそ加工が盛んに行われている。食品製造現場での品質、衛生管理は最近特に重要性を増しており、品質成分管理技術の確立は地域食品分野における研究、指導上の重要課題と考えられる。

筆者らは、このような加工グループ等のみそを対照に品質調査を行ったところ、水分過剰による異常発酵の危険性を前報において示唆<sup>6)</sup>した。みそ加工において、水分の他に食塩や全窒素含有率はみその品質上重要な項目であり、これらの成分を検査することは製品管理において重要なことであるが、従来の分析方法では多くの費用と労力が必要となり、小規模の加工所では成分分析による製品管理は難しい状況にある。

そこで、近年急速に農業、食品工業分野では、穀類、青果物等の品質評価や作物の栄養診断、食品の製造管理<sup>2)</sup>等に広く用いられている近赤外分析法<sup>1)</sup>による非破壊簡易迅速測定をみその成分分析に応用する手法について検討することにした。

近赤外分光法は非破壊・迅速性が特徴でみそを前処理

2000年8月30日受理

\* 北部農業技術センター \*\* 現中央農業技術センター

することなしに簡単に測定することができる利点があり、この方法を用いることで、みその生産現場において精度の高い成分分析が可能と思われる。すなわち具体的には、兵庫県の加工グループではほとんど米みそが製造されているため、本県下の米みその水分、食塩及び全窒素含有率が簡便に精度よく測定できる検量線の作成・検証を行ったので、概要報告する。

### 材料及び方法

#### 1 実験材料

試験には県下各地の農産加工所等で製造・販売されている「黒大豆みそ」、「やまびこみそ」等、手作りみそ48点及び食品製造メーカーによる市販みそ22点を供試した。

#### 2 スペクトルの採取および成分の測定

サンプルはみそを近赤外測定用オープンカップに直接詰め、近赤外分光分析装置 (Infralyzer 500: Bran + Lubbe. Co) を用い、800~2400nm を4nm 間隔で2反復の平均反射スペクトルを採取した。サンプル測定時の気温は25℃、湿度は約60%であった。また、手分析としてスペクトル採取後のサンプルの水分を常圧105℃乾燥法、窒素含有率をケルダール窒素蒸留法<sup>9)</sup>、および食塩含有率をモール法<sup>9)</sup>で測定した。

#### 3 検量線の計算

みそサンプルをそれぞれの成分について、含有率が幅広い分布を示すように注意して検量線作成用と検量線検定用とに二分した。検量線は検量線作成用ソフト (SESAMI Ver 3.0) を用いて5つの方法で作成した。重回帰 (MLR) 法で原スペクトル、1次微分スペクトルおよび2次微分スペクトルを用い、4~6波長での組み合わせ法で解析した。PLSR (partial least squares regression) 法およびPCR (principal component regression) 法は原スペクトルを用いて計算を行った。なお、各解析法において800~2400nm で採取した全吸収スペクトルを利用して検量線を作成し、精度を検討した。

検量線作成時にそれぞれの計算方法毎に重相関係数 (R)、検量線標準誤差 (SEC) を求め、その後、検量線検定用の未知試料に検量線を適用して検量線予測誤差 (SEP) を求め、総合的に検量線の評価を行った。

### 結 果

#### 1 みその水分含有率測定検量線

原スペクトルからMLR法で検量線を作成する際に、図1に示すように、選択波長数が増加するにつれSECは減少する傾向にあったが、SEPは5波長を下限とし

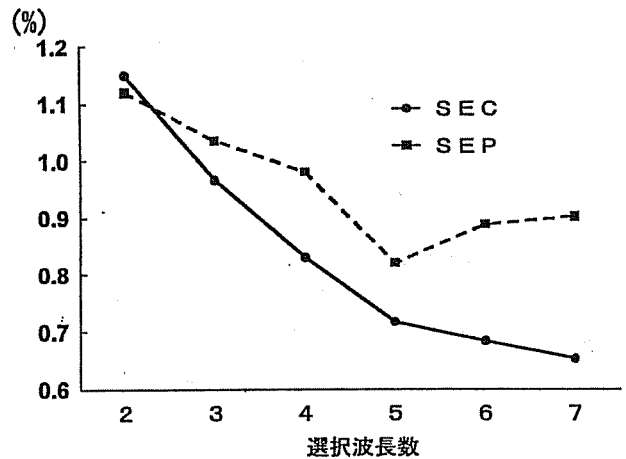


図1 MLSR法原スペクトルにて作成したみそ検量線の選択波長数とSEC及びSEP

て6波長以降はSEPが増加する傾向にあり、5波長を使用した検量線が測定検量線に相当であるとした。同様に表1に解析方法の違いによる5種類の解析法での検量線の作成方法についてRが大きく、SEPが最も小さく、精度が最も高いと考えられる検量線をそれぞれ示した。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。RにおいてはMLR法を用いた3つの検量線がほぼ同程度で、PLSR法及びPCR法を用いた検量線よりRが高かった。また、MLR法を用いた3つの検量線はPLSR法及びPCR法を用いた検量線よりSEC、SEPとも低い傾向にあった。MLR法を用いた3つの検量線の内では原スペクトルを用いてMLR法で作成した検量線がSEC、SEP共最も低く、水分検量線として最も適当であった。

#### 2 全窒素含有率測定検量線

表2に5種類の検量線の作成方法について、精度が最も高いと考えられる検量線をそれぞれ示した。いずれの作成方法においても高い相関を持つ検量線が得られた。Rにおいては原スペクトルを用いてMLR法で作成した検量線が最も高く、PCR法を用いた検量線が最も低かった。他の3つの検量線がほぼ同程度であった。また、SECとSEPにおいては原スペクトルを用いてMLR法及びPLSR法で作成した検量線が比較的lowであった。特に、原スペクトルを用いてMLR法で作成した検量線はSEC及びSEP共最も低く、全窒素含有率測定検量線として最も適当であった。

#### 3 食塩含有率測定検量線

表3に5種類の検量線作成方法により、最も精度の高いと考えられる検量線をそれぞれ示した。いずれの作成方法においても高い相関を持つ検量線が得られた。RにおいてはPLSR法を用いた検量線が最も高く、1次微

表1 各種解析法にて作成したみその水分含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	使用スペクトル	使用波長 (nm)	R	SEC (%)	SEP (%)
MLR	原	1272, 1288, 1884, 1932, 2184	0.989	0.717	0.821
MLR	1次微分	1200, 1400, 1016, 1576, 2184	0.992	0.766	0.893
MLR	2次微分	1280, 1840, 2392, 2200, 2216	0.989	0.758	0.892
PLSR	原	800~2400/4	0.980	0.972	1.170
PCR	原	800~2400/4	0.976	1.059	1.308

表2 各種解析法にて作成したみそ中の窒素含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	使用スペクトル	使用波長 (nm)	R	SEC (%)	SEP (%)
MLR	原	860, 888, 912, 988, 1172	0.968	0.066	0.064
MLR	1次微分	976, 1256, 1736, 2152, 2184	0.959	0.080	0.082
MLR	2次微分	960, 1048, 1224, 1264, 1160	0.962	0.077	0.079
PLSR	原	800~1200/4	0.960	0.072	0.066
PCR	原	800~1200/4	0.948	0.082	0.082

表3 各種解析法にて作成したみそ中の食塩含有率測定用検量線精度の比較

解析方法	使用スペクトル	使用波長 (nm)	R	SEC (%)	SEP (%)
MLR	原	1552, 1696, 1744, 1796, 1860	0.978	0.614	0.768
MLR	1次微分	1752, 1368, 1784, 2312, 2336	0.969	0.752	1.236
MLR	2次微分	1416, 1816, 1800, 2128, 2272	0.980	0.602	1.395
PLSR	原	800~2400/4	0.985	0.575	0.984
PCR	原	800~2400/4	0.971	0.683	1.132

分スペクトルを用いて MLR 法で作成した検量線及び PCR 法を用いた検量線が低かった。SEC においては PLSR 法を用いた検量線が最も低く、1次微分スペクトルを用いて MLR 法で作成した検量線及び PCR 法を用いた検量線が高かったが、SEP は原スペクトルを用い MLR 法で作成した検量線は他の検量線と比較し SEP が大幅に低く、食塩含有率測定検量線として最も適当であった。

考 察

図2に未知試料を用いた水分含有率の手分析値と近赤外分析値との相関を示した。原スペクトルを用い MLR 法で解析を行った検量線は SEP も十分小さく、検量線の変動係数 (CV=0.27%) も小さいことから、みその水分含有率を測定する検量線として実用的に十分な精度を有していると考えられる。また、この検量線作成に用いた5波長の中では1932nmの波長が水分含有率と最も相関が高かった (r=0.37)。近赤外領域においては水分は1940nmに強い吸収を有するとされており、今回の結果もほぼ一致することからこの検量線において1932nm

が最も主要な波長と考えられる。

全窒素含有率の手分析値と近赤外分析値との相関を図3に示したが、原スペクトルを用い MLR 法で解析を行った検量線は SEP も十分小さく、検量線の変動係数 (CV=0.59%) も小さいことから、みその全窒素含有率を測定検量線として実用的に十分な精度を有していると考えられる。また、この検量線作成に用いた5波長の中

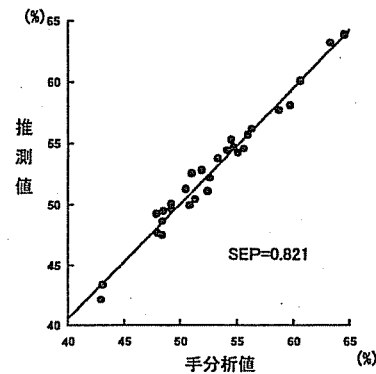


図2 未知試料によるみその水分含有率の手分析値と近赤外線分析値との相関  
 水分含有率 (%) = 8.649 + 409.8 × log (1/R<sub>1172</sub>) - 581.6 × log (1/R<sub>1184</sub>) + 438.8 × log (1/R<sub>1188</sub>) - 536.8 × log (1/R<sub>1932</sub>) + 478.9 × log (1/R<sub>2184</sub>)

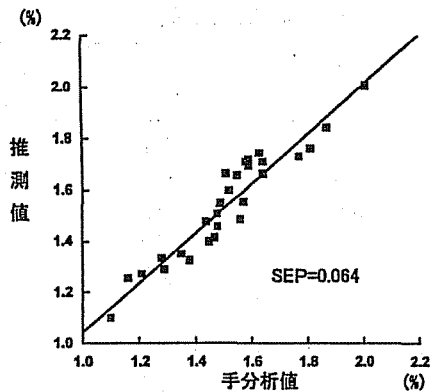


図3 未知試料によるみその全窒素含有率の手分析値と近赤外線分析値との相関  
水分含有率 (%) =  $1.628 + 190.6 \times \log(1/R_{1552}) - 302.2 \times \log(1/R_{1592}) + 142.7$   
 $\times \log(1/R_{1714}) - 48.5 \times \log(1/R_{1796}) + 17.3 \times \log(1/R_{1850})$

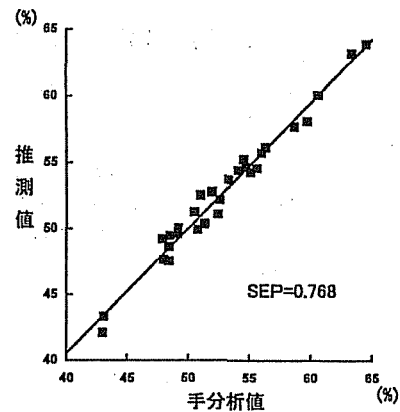


図5 未知試料によるみその食塩含有率の手分析値と近赤外線分析値との相関  
水分含有率 (%) =  $20.3 - 295.2 \times \log(1/R_{1552}) + 476.5 \times \log(1/R_{1592}) - 1244.7$   
 $\times \log(1/R_{1714}) - 1365.6 \times \log(1/R_{1796}) - 304.7 \times \log(1/R_{1850})$

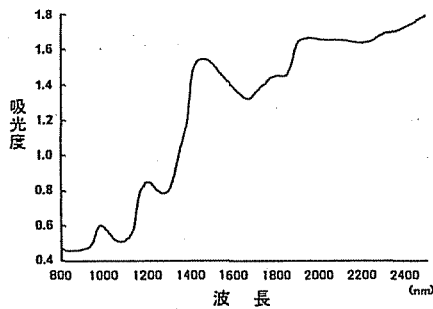


図4 みその近赤外吸収スペクトル

では912nmの波長が全窒素含有率と最も相関が高かった ( $r=0.44$ )。みその全窒素含有率は原料である大豆、米のタンパク質に由来しており、近赤外領域においてタンパク質は2180nmに強い吸収を有するとされている。今回の場合、みそを前処理なしにスペクトルを採取したが、図4に示すように、2000nm以上の領域では強い吸収はみられなかった。近赤外分光法では、サンプルの粒度が大きい場合、粒度の影響の出にくい短い波長が利用される場合が多く<sup>5)</sup>、今回の場合も原料の米や大豆の粒がみそ中に残存しているためと考えられた。近赤外分光法において、大豆、米粒でのタンパク質含有率を測定する場合は800~1100nmの波長が多く採用されており<sup>5)</sup>、この912nmはタンパク質の吸収波長である910nmに一致することから、この検量線の主要な波長と考えられる。

図5には未知試料を用いた食塩含有率の手分析値と近赤外分析値との相関を示した。原スペクトルを用いMLSR法で解析を行った検量線はSEPも十分小さく、検量線の変動係数 ( $CV=0.65\%$ ) も小さいことから、みその食塩含有率を測定検量線として実用的に十分な精度を有していると考えられる。食塩は近赤外領域に吸収を有さないため、近赤外による測定は本来できない。しかし、

食品中に存在するときには塩分濃度の変化に伴って水の吸収スペクトルの形状及びピークの位置が変動することで測定が可能となり、醤油、ハム等で分析例<sup>7)</sup>がみられる。この検量線の中で波長の帰属は明確ではないが、1804nmの波長は水の吸収波長の一つであり、この検量線においても水分が大きく関係していると考えられる。

近赤外分光法において検量線を作成する方法は多く提唱されており、本研究では5種類の作成方法を検討したところ、作成した検量線は、いずれも原スペクトルをMLR法で作成した検量線の精度が最も高かった。青果物や粒状サンプルのようなスペクトルのピークが不明瞭なものについてはスペクトルを微分処理することにより検量線の精度の向上の報告<sup>2)</sup>もみられる。そこで、今回検量線の作成に用いたみその近赤外スペクトルの微分処理を行い、ピークの明瞭化による測定精度の向上を試みたところ、RおよびSECでは精度がやや向上する検量線もみられたが、SEPが大幅に大きくなり、良好な結果にはならなかった。今回のみそのスペクトルは微分することにより、成分分析に必要とする情報がむしろ弱められたと考えられる。

以上の様に、近赤外分光法を用いてみその水分、全窒素及び食塩含有率の測定を実用的に利用できる検量線を作成することができた。これらの検量線を用いて2分以内に3成分の測定が可能となった。現在、兵庫ブランド認証商品等の成分分析等に利用されている。また、原スペクトルを用いた検量線のため、将来的に、県下の農業改良普及センターに設置されているフィルター型機種への検量線の移設も可能であり、地域食品であるみその品質管理にも寄与できるものとする。

#### 引用文献

- (1) Delwiche, S. R., G. weaver (1994) : Bread Qua-

- lity of Wheat Flour by Near-Infrared Spectrophotometry : J. Food Science 59, 410-415
- (2) 因野要一・中村 隆・原 忠彦・加藤彰宏 (1994) :  
反射式近赤外分光法によるビワ果実糖度の非破壊測定 :  
近畿中国農研 88, 29-33
- (3) Ito, A., T. Gotoh, and N. Fujimoto (1998) :  
Chemoprevention of Cancers by Miso and Isoflavones : J. Toxicol Pathol 11, 79-84
- (4) 新本洋二 (1997) : みそに含まれる遊離リノール酸に、メラニン合成抑制作用を確認 : みそサイエンス情報 : 14
- (5) 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)
- (6) 小河拓也・永井浩介・田畑広之進・井上喜正 (2000) : 兵庫県の手作りみその品質と地域性 : 兵庫農技研報 48, 50-53
- (7) 奥村幸広・山木 携・本堂正明 (2000) : 透過測定による近赤外分光法を利用した北海道産醤油の非破壊分析 : 北海道食加研報 4, 1-7
- (8) 尾崎幸洋・河田 聡 (1996) : 近赤外分光法 (学会出版センター)
- (9) 全国味噌技術会 (1995) : 味噌技術ハンドブック 附基準みそ分析法