

近赤外分光法によるトウモロコシ胚芽の脂質含量の非破壊測定

藤原孝之*

Nondestructive Measurement of the Lipid Content of Corn Germ Using Near Infrared Spectroscopy

Takayuki FUJIWARA

The objective of this study was to investigate the feasibility of using near infrared (NIR) spectroscopy to determine the lipid content of corn germ, the raw material for corn oil. The lipid contents of 78 corn germ samples were measured by a standard method (diethyl ether extraction). NIR spectra of the milled samples were scanned in reflectance mode using a research type spectrophotometer. Untreated (not milled) samples were scanned in reflectance and transmittance modes using a research type spectrophotometer, and in interactance mode using a portable spectrophotometer equipped with a fiber optic probe. Second-derivative spectra derived from each spectral acquisition method and multiple linear regression were used to develop calibration equations for estimating lipid content. The standard errors of prediction of the best calibration equations for each method were 10 – 11 g kg⁻¹. Since the accuracies of the calibration equations for untreated samples were comparable to those for milled samples, we suggest that the lipid content of untreated corn germ can be determined by NIR spectrophotometers, including portable instruments.

Key words: Near Infrared Spectroscopy, corn germ, lipid

1. はじめに

コーン油は、コーンスターチを製造する際に分離される胚芽から搾油して製造されるもので¹⁾、風味および酸化安定性が良いため、植物油として高く評価されている²⁾。トウモロコシ子実の脂質含量は 31～57 g kg⁻¹であるが、その 83%は胚芽に含まるため、胚芽の脂質は 400～550 g kg⁻¹にのぼる^{1,2)}。コーン油の製造歩留まりはトウモロコシ胚芽の脂質含量に影響されるため、搾油前に胚芽の脂質を簡易に定量できる技術が求められている。近赤外分光法(以下、近赤外法)は、対象物の成分を非破壊で簡易に定量する手法であり、まず 1960 年代に穀物の水分定量法として研究が始まり、1970 年代以降にはカナ

ダおよびアメリカで小麦のタンパク質定量法の公定法として採用された^{3,4)}。その後、農林水産物や加工食品、さらには繊維、医薬品、ポリマーなど他の工業製品においても利用されるようになった^{3,4)}。日本においては、1980 年代初頭に近赤外法の研究が開始され、米の食味計や、青果物の糖度測定による選果機など、独特の実用例がある⁵⁾。さらに、近年では機器の小型化が進み、おもに果実類の糖度測定を目的とした携帯型分光計が市販されている⁶⁾。

植物油原料については、ダイズ、ナタネ、ゴマ、ヒマワリ等多くの子実について、脂質をはじめ、タンパク質、水分などの近赤外法による分析研究結果が数多く報告されている⁷⁾。これらの研究においては、試料の子実を粉碎する場合と粉碎を行わない(以

* 医薬品・食品研究課

下、未粉碎) 場合があるとともに、近赤外スペクトルの測定法についても、拡散反射法および透過法の両方を用いた研究がなされている。

トウモロコシ胚芽については、近赤外法により成分定量を行った報告例は少なく、わずかに Bell[®]がトウモロコシの精製・製粉工程管理の一環として近赤外法による脂質の測定精度を報告している程度であり、しかも測定法や採用波長に関する詳しい記述はされていない。そこで、本報告においては、近赤外法の各種測定法によるトウモロコシ胚芽の脂質含量の定量精度について検討を行った。できるだけ簡便な測定技術が求められるため、未粉碎試料の測定精度を粉碎試料と比較検討した。また、未粉碎試料の測定法には拡散反射法と透過法の両方が考えられるため、測定精度を比較した。さらに、携帯型分光計により測定可能であれば、実験室外でも簡易に脂質含量を知ることができ、実用の幅が広がるため、市販の携帯型機器についても測定精度を検討した。

2. 材料と方法

2. 1 材料

トウモロコシ胚芽 78 点を辻製油株式会社より譲り受け、実験に用いた。トウモロコシの胚芽分離にはドライミリング法およびウェットミリング法があるが、今回用いた胚芽は日本で主に行われている後者¹⁾(トウモロコシ子実を亜硫酸水に浸して分離する)によるものであった。なお、試料の水分含量は平均 45 g kg⁻¹(最低 35, 最高 57 g kg⁻¹)であった。

2. 2 従来法による成分分析

トウモロコシ胚芽の脂質含量の定量は、ジエチルエーテル抽出法⁹⁾によった。粉碎試料 5 g をソックスレー抽出器に入れ、ジエチルエーテルを用いて 8 時間還流抽出した。抽出物を乾燥後、秤量した重量の試料重量に対する割合を脂質含量とした。

2. 3 近赤外スペクトルの測定

トウモロコシ胚芽のスペクトル測定は以下の 4 種類の方法により行った。粉碎試料は、ミル(BM-FX08, 象印マホービン)を用いて 20 秒間粉碎することにより得た。

- ①粉碎試料, 反射法
- ②未粉碎試料, 反射法
- ③未粉碎試料, 透過法
- ④未粉碎試料, インタラクタンス法

それぞれについて、用いた分光計およびセル、並びに測定波長域を表 1 に示す。また、測定機構を図 1, セルへの試料の充填状態および近赤外分光計の写真を図 2 に示す。

測定法①～③に用いた分光計は、据え置き型の機種(Model 6500, Foss-NIRSystems)である。光源はハロゲンランプで、用いた検出器は 1100 nm 以下(以下、短波長域)については光起電力型のシリコン(Si)光検出器、また、1100 nm 以上(長波長域)については硫化鉛(PbS)の光導電検出器であり、それぞれ近赤外分光計において広く用いられている検出器である¹⁰⁾。スペクトルは 2 nm おきに記録した。リファレンスの測定は、拡散反射法では機器に内蔵されているセラミック板を用い、透過法ではセルを入れない状態で行った。スタンダードサンプルカップを使用した場合は、セル中央部のスペクトルが測定されるが、粒状試料用セルは測定中にセルが上下移動し、セルの広範な範囲のスペクトルを測定することにより、試料成分のむらが軽減される¹⁰⁾。

測定法④に用いた携帯型分光計(フルーツセレクター K-BA100R)は、リンゴ、ミカンなど果実類の糖度および酸度の非破壊測定を目的に市販されているもので、光ファイバースコープの先端に果実を当てて測定を行う。プローブの先端は 2 重の光ファイバーが同心円状に配置されており、外側が光源、内側が検出器に通じている。このプローブは、近赤外法で一般的に使われている構造であり、これを用い

表1 スペクトルの測定法

| 測定法 | 試料前処理 | 分光計 | 測定波長 | セル |
|-------------------|-------|---------------------|---------------|----------------|
| ①粉碎試料, 反射法 | ミルで粉碎 | 据え置き型 ¹⁾ | 400 - 2500 nm | スタンダードサンプルカップ |
| ②未粉碎試料, 反射法 | なし | 同上 | 400 - 2500 nm | 粒状セル |
| ③未粉碎試料, 透過法 | なし | 同上 | 400 - 1100 nm | 粒状セル |
| ④未粉碎試料, インタラクタンス法 | なし | 携帯型 ²⁾ | 500 - 1010 nm | 300 ml ガラスビーカー |

¹⁾ Model 6500(Foss-NIRSystems)

²⁾ K-BA100R(クボタ)

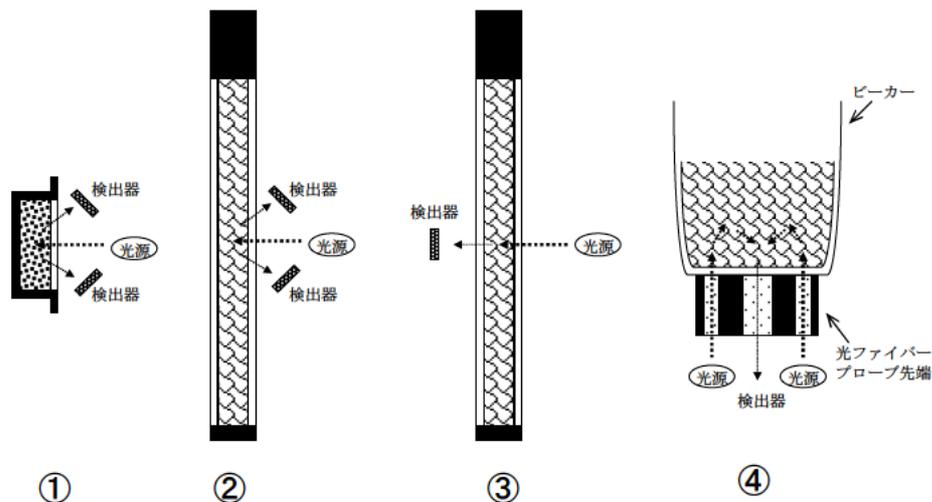
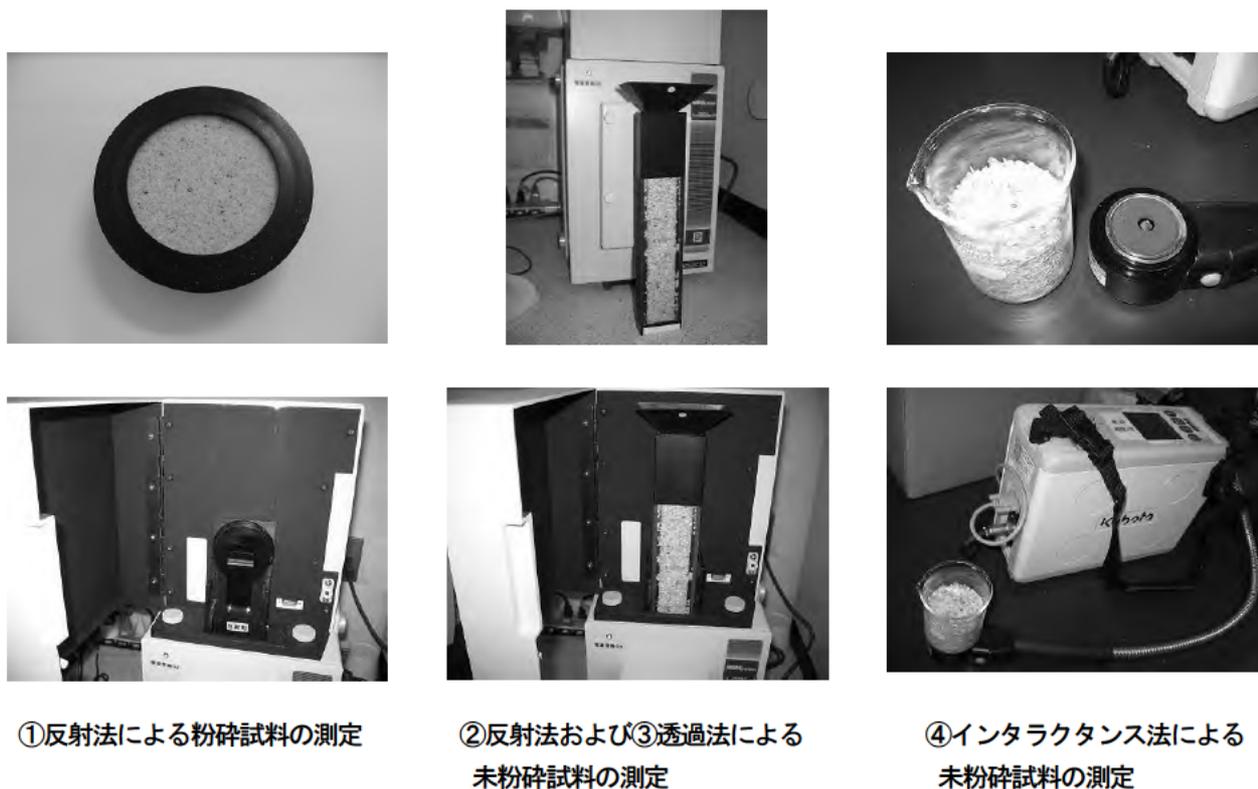


図 1 スペクトルの測定機構

- ①反射法による粉碎試料の測定, ②反射法による未粉碎試料の測定,
③透過法による未粉碎試料の測定, ④インタラクタンス法による未粉碎試料の測定.



①反射法による粉碎試料の測定

②反射法および③透過法による
未粉碎試料の測定

④インタラクタンス法による
未粉碎試料の測定

図 2 セルへの試料充填状態およびスペクトル測定法

た測定はインタラクタンス方式と呼ばれている⁶⁾。光源はハロゲンランプ、検出器は NMOS リニアイメージセンサであり、リファレンスの測定には、内蔵されている石英のすりガラスを用いた。本研究に

おいては、容量 300 mL のガラスビーカーに試料 150 mL を入れ、ファイバースコープの先端にビーカーを置き、その底面より測定を行った。試料の場合は蓄積時間 200 ms、平均回数 10 回、ダミー回数 10

回, リファレンスの場合はそれぞれ 50 ms, 10 回, 10 回の設定で測定し, スペクトルは 2 nm おきに記録した. 外乱光除去モードで測定し, 遮光は行わなかった.

2. 4 検量線の作成および評価

試料を表 2 のように検量線作成用および評価用の 2 群に分けた. 近赤外スペクトルは, 微弱な多数の吸収ピークの重ね合わせからなるため複雑であるとともに, 粒度や充填密度の違いに起因する散乱特性の違いからベースライン変動がおりやすいという特徴がある¹¹⁾. そこで, 吸収ピークの分離やベースライン補正のため, 各試料の近赤外スペクトルを 2 次微分処理した¹¹⁾. 微分は, segment, gap¹²⁾がそれぞれ 10, 0 nm および 20, 0 nm の条件で行った. 検量線作成用試料の 2 次微分スペクトルおよびジエチルエーテル抽出法による脂質含量に基づき, 近赤外法において最も基本的で, かつ多用される重回帰分析¹¹⁾により, 各測定法について脂質の検量線を複数作成した. 測定法①②については, 短波長域と長波長域に分けて検量線の作成を行った. 検量線の評価は, 検量線評価用試料を用いて精度を検定する外的確認法¹¹⁾により行い, 良好な検量線を選択した. 微分および検量線の作成と評価は, Vision ソフトウェア (ver.3,2, Foss-NIRSystems) を用いて行った.

表2 検量線作成用および評価用試料におけるトウモロコシ胚芽の脂質含量

| | 検量線作成用 | 検量線評価用 |
|---------------------------|--------|--------|
| 試料数 | 40 | 38 |
| 最大(g kg ⁻¹) | 518 | 511 |
| 最小(g kg ⁻¹) | 423 | 433 |
| 平均(g kg ⁻¹) | 483 | 483 |
| 標準偏差(g kg ⁻¹) | 18 | 16 |

3. 結果および考察

3. 1 近赤外スペクトル

各測定法により得られた 2 次微分スペクトルを図 3 (短波長域) および図 4 (長波長域) に示す. 2 次微分スペクトルでは位相が反転するため¹¹⁾, 下向きのピークが物質による吸収ピークを表す. 測定法①~③は同一機器による測定であるにもかかわらず, 透過法による未粉碎試料の吸収ピーク(③)が特に大きいのは, レファレンスが空気であるため, 相対

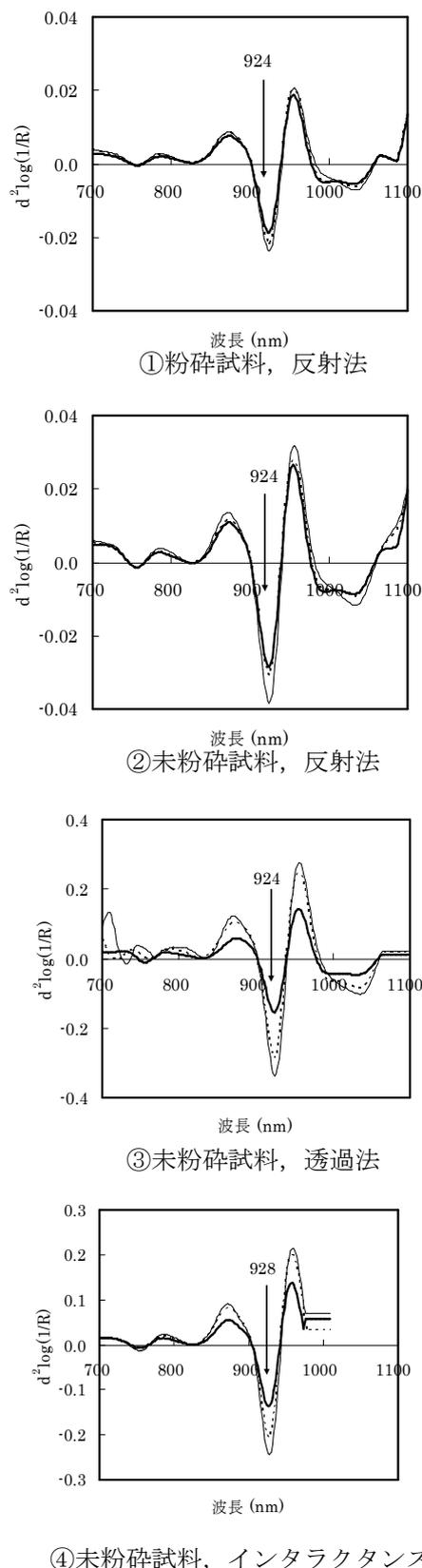
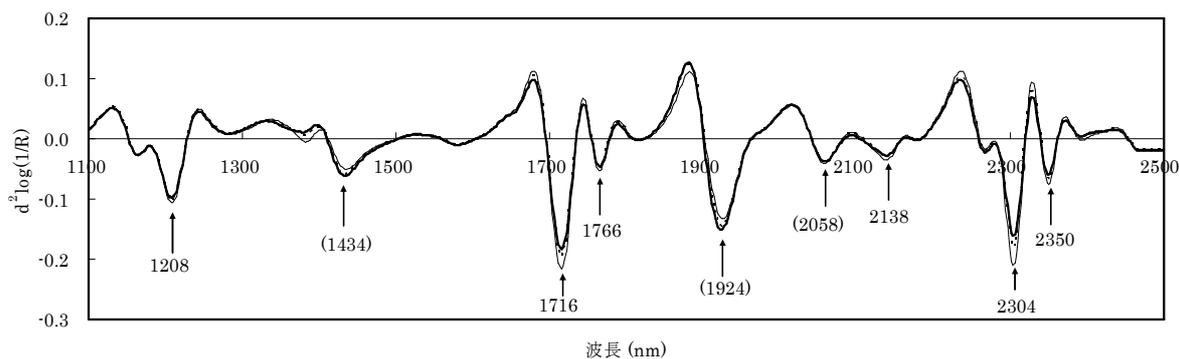
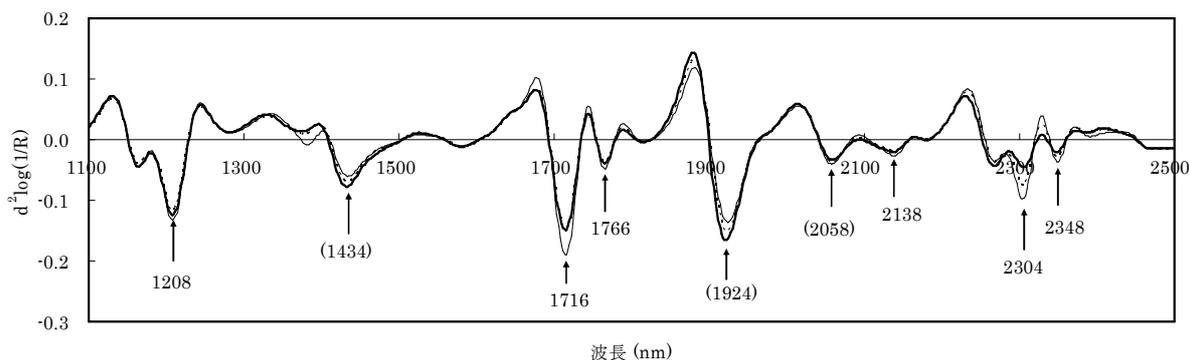


図 3 トウモロコシ胚芽の 2 次微分スペクトル (短波長域)

太実線: 脂質 423 g kg⁻¹, 波線: 469 g kg⁻¹, 細実線: 518 g kg⁻¹



①粉碎試料, 反射法



②未粉碎試料, 反射法

図 4 トウモロコシ胚芽の 2 次微分スペクトル (長波長域)

太実線 : 脂質 423 g kg⁻¹, 波線 : 469 g kg⁻¹, 細実線 : 518 g kg⁻¹

的に試料の吸光度が大きくなったためである。脂質の吸収ピークおよび帰属は、長波長側より順に 2350 nm, 2304 nm (C-H 伸縮振動と C-H 変角振動の結合音), 2138 nm (C-H 伸縮振動と C-C 変伸縮動の結合音), 1766 nm, 2304 nm (C-H 伸縮振動の第 1 倍音), 1208 nm (C-H 伸縮振動の第 2 倍音), 924-928 nm (C-H 伸縮振動の第 3 倍音) であると考えられ^{13,14}, 各測定法ともに、ほぼ同様の波長に吸収ピークが観察された。その他、水 (1924 nm および 1434 nm) やタンパク質 (2058 nm) に起因する

と考えられる吸収ピーク¹³⁾がみられた。

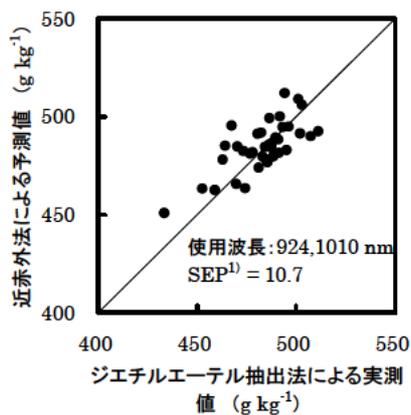
3. 2 検量線の精度

それぞれの測定法について、表 3 に良好な検量線に関わる統計値、図 5 (短波長域) および図 6 (長波長域) にジエチルエーテル抽出法で測定した脂質含量と表 3 に示した検量線で算出された脂質推定値との関係を示した。検量線の精度は、予測標準誤差 (standard error of prediction, SEP) で評価されることが多く、SEP は重回帰式の説明変数の増加につれて減少するが、途中から逆に増加する現象 (オー

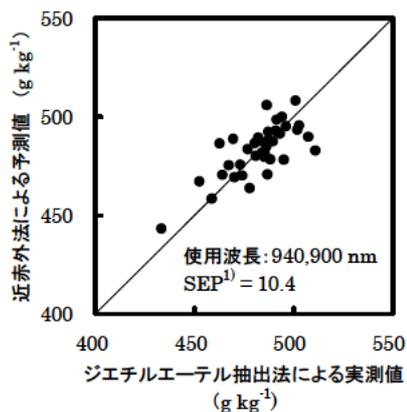
表 3 トウモロコシ胚芽の脂肪含量および 2 次微分スペクトルに基づく検量線の作成および評価の結果

| 試料形態 | スペクトル測定方式 | 使用波長域 (nm) | 使用波長 (nm) | R | SEC (g kg ⁻¹) | SEP (g kg ⁻¹) | Bias (g kg ⁻¹) |
|-------|-----------|------------|------------------------|------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ① 粉碎 | 拡散反射 | 800-1100 | 924, 1010 | 0.77 | 11.8 | 10.7 | -1.9 |
| ② 未粉碎 | 拡散反射 | 800-1100 | 940, 900 | 0.81 | 10.8 | 10.4 | -0.4 |
| ③ 未粉碎 | 透過 | 800-1100 | 924, 950 | 0.82 | 10.7 | 10.4 | -1.0 |
| ④ 未粉碎 | インタラクタンス | 800-1000 | 942, 976 | 0.70 | 13.2 | 10.8 | 0.3 |
| ① 粉碎 | 拡散反射 | 1100-2500 | 2146, 1396 | 0.77 | 11.8 | 10.6 | -2.2 |
| ② 未粉碎 | 拡散反射 | 1100-2500 | 2146, 1188, 1588, 1896 | 0.86 | 9.6 | 11.1 | 0.8 |

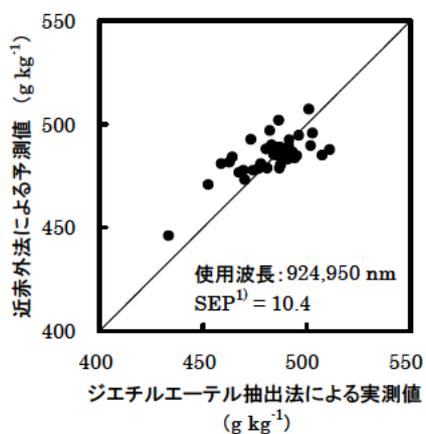
R: 重相関係数, SEC: 検量線作成時の標準誤差, SEP: 検量線評価時の残差の標準誤差, Bias: 残差の平均値



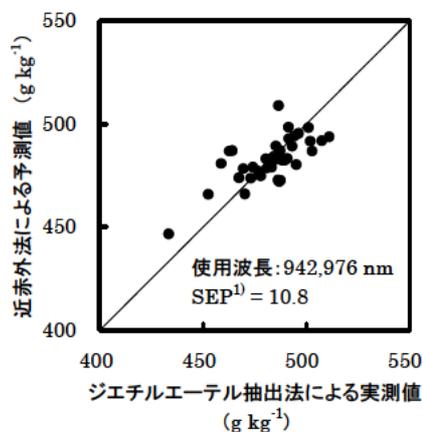
①粉砕試料, 反射法



②未粉砕試料, 反射法



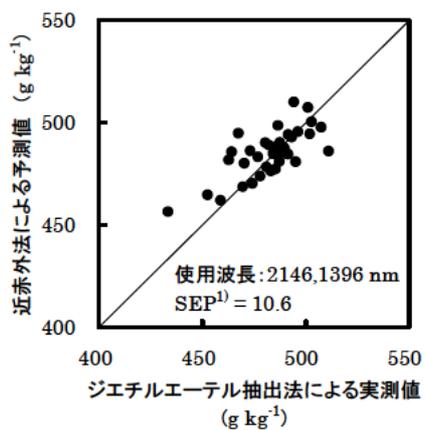
③未粉砕試料, 透過法



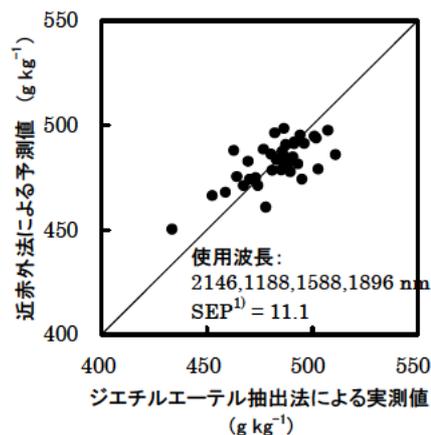
④未粉砕試料, インタラクタンス法

図 5 近赤外分光法によるトウモロコシ胚芽の脂質含量の測定精度 (短波長域)

¹SEP: 検量線評価時の残差の標準誤差



①粉砕試料, 反射法



②未粉砕試料, 反射法

図 6 近赤外分光法によるトウモロコシ胚芽の脂質含量の測定精度 (長波長域)

¹SEP: 検量線評価時の残差の標準誤差

パーフィッティング, 過剰適合)があるため¹¹⁾, 表 3 においては, オーバーフィッティングをおこさない最大波長数のものを記載した. 各波長域, 各測定方式ともに, 2次微分条件は segment 20, gap 0 nm の場合の方が高い測定精度を示したので, 表 3, 図 5 および図 6 はすべてこの条件に基づく結果である. 検量線の第 1 波長は, いずれも脂質の吸収ピーク近傍であり (図 3, 図 4), 主波長として妥当と考えられた.

短波長域を用いた場合, 各測定方式ともに, 検量線の SEP は 10.4-10.8 g kg⁻¹ で, ほぼ同等であった. 試料を粉碎しなくても, 粉碎物と同等の測定精度が得られた. 同一の粒状セルを用いて検討したところ, 拡散反射法および透過法による測定精度は同等であった. 携帯型分光計を用いても, 据え置き型の分光計と同等の精度が得られた.

長波長域においても, 粉碎試料, 未粉碎試料ともに同等の測定精度を示し, SEP は短波長域と同等であったが, 未粉碎試料の方が多くの波長を必要とした (表 3). 一般に, 近赤外領域のうち長波長域の方が短波長域よりピーク分離が優れるため, 高い定量精度が期待される¹⁵⁾が, 本研究においては両波長域の脂質測定精度は同等であった. Orman ら¹⁶⁾は, 近赤外法によるトウモロコシ子実の脂質およびデンプンの測定について検討した結果, 未粉碎試料は粉碎試料より測定精度が低いことと, 未粉碎試料を測定した場合は反射法より透過法の方が測定精度が高いことを報告している. 本報告ではこの知見と異なり, 粉碎試料と未粉碎試料, 並びに反射法と透過法の測定精度が同等であった. Williams¹⁷⁾は, ナタネの場合は未粉碎試料でも粉碎試料と同様に脂質の顕著な吸収ピークが近赤外域に観察されるが, ダイズやヒマワリの場合は未粉碎試料にこれらのピークが確認できないことを示し, 後者の現象は脂質を含まない成分からなる表層部分の影響と推察している. この知見から, 前述の Orman ら¹⁶⁾の研究結果の原因は, トウモロコシの子実においては 1 粒中での脂質分布にばらつきがあるため, 粉碎すると測定精度が向上するとともに, 反射法ではスペクトルが粒の表面の成分に主に反映されるため, 透過法より精度が低かったことと推察される. 一方, トウモロコシ胚芽は 1 粒中での脂質の分布が比較的均一であるため, 本報告の実験においては試料形状やスペクトル測定法の違いが測定精度に与える影響が小さかった

ものと思われる.

携帯型分光計 (測定法⑤) でも据え置き型機器と同等の測定精度が得られたことから, 実験室内だけでなく, 原料流通現場においても簡易に脂質含量の把握ができると考えられた.

4. 結論

トウモロコシ胚芽の近赤外スペクトルを 4 種類の方法 (反射法による粉碎試料および未粉碎試料の測定, 透過法による未粉碎試料の測定, インタラクタンス法による未粉碎試料の測定) で測定し, 脂質の定量精度を比較した. それぞれの測定方法による検量線の SEP は 10-11 g kg⁻¹ で, ほぼ同等であった. 以上より, 粉碎を行わない試料でも簡便に測定が可能であり, また携帯型分光計 (インタラクタンス方式) を用いて現場で測定することも可能であることが明らかとなった.

謝辞

測定試料および成分分析値を提供いただいた辻製油株式会社 第一研究室の皆様にご心よりお礼申し上げます.

参考文献

- 1) 藤田 哲: “食用油脂—その利用と油脂食品”. 幸書房, p60-66 (2000)
- 2) 水野 毅: “食用油脂入門”. 日本食糧新聞社, p14-21 (2004)
- 3) 岩本睦夫ほか: “近赤外分光法入門”. 幸書房, p1-11 (1994)
- 4) 岩本睦夫: “近赤外分光法”. 学会出版センター, p1-9 (1996)
- 5) M. Iwamoto et al.: “An Overview of Research and Development of Near Infrared Spectroscopy in Japan”. J. Near Infrared Spectrosc., 3, p179-189 (1995)
- 6) S. Saranwong et al.: “Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology”, John Wiley & Sons, p219-245 (2007)
- 7) D. J. Dyer: “Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture”, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p321-344 (2004)
- 8) W. L. Bell: “The Use of NIR as a Process

- Control Tool for Wet Corn Milling”. *Cereal Foods World*, 28, p249-251 (1983)
- 9) “基準油脂分析試験法”. 日本油化学会, (1996)
- 10) 岩本睦夫ほか: “近赤外分光法入門”. 幸書房, p102-118 (1994)
- 11) 岩本睦夫ほか: “近赤外分光法入門”. 幸書房, p54-95 (1994)
- 12) S. Kawano et al. : “Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode”, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 61, p445-451 (1992)
- 13) B. G. Osborne et al. : “Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis, Longman Scientific & Technical, p28-40, 130-131 (1986)
- 14) T. Fujiwara et al. : “Measurement of Lipid Content of Garbage Compost Using Near Infrared Spectroscopy”. *Jpn. J. Food Eng.*, 8, p21-27 (2007)
- 15) T. Fujiwara et al. : “Potential of Near Infrared Spectroscopy to Determine the Lipid Content of Untreated Garbage Compost”. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 55, p309-314 (2009)
- 16) B. A. Orman et al. : “Comparison of Near-Infrared Spectroscopy Calibration Methods for the Prediction of Protein, Oil, and Starch in Maize Grain”. *J. Agric. Food Chem.*, 39, p883-886 (1991)
- 17) P. Williams : “Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology”, John Wiley & Sons, p193-199 (2007)

(本研究は法人県民税の超過課税を財源としていません)