醤油製造への近赤外分析法の 利用について

近赤外分析法は非破壊性、迅速性、多成分同時測定などの特長を持つ分析法として注目されている。当初はいわゆるブラックボックスの多い分析法と批判されることもあったが、解明が進むにつれて精度の高さが証明されてきた。現在、醤油業界では日本醤油研究所を中心に、この分析法の公認を目ざして共同研究が進められている。すでに、大手数社では工程管理面に多大の成果を挙げている。著者らの研究実績をふまえて近赤分析法の特質について解説していただいた。

橋本彦堯・飯塚佳子・小林邦男

はじめに

1960年代のはじめ、アメリカ農務省(USDA)は、カール・ノーリスをリーダーとして農産物の新しい品質評価法の研究開発を開始した¹⁾。この中で、1964年、近赤外法(以下 NIR 法と略す)による穀類の水分測定装置²⁾が開発され、これが NIR 法の実用化の端緒となった。

NIR 法による小麦の蛋白と水分の定量が、1975年カナダの CGC (Canadian Grain Commission)、1980年にアメリカの FGIS (Federal Grain Inspection Service) で公定法^{3,4)}として採用されてから、本法の農業分野や食品工業分野への利用は一段と加速されたように見える。実行化が先行したこともあり、当初はブラックボックスの多い分析技術とみなされていた NIR 法だが、最近、分光学や分析化学などの立場から見直されてきており、測定原理の解明が進むなど、基礎研究が本格的になってきた。NIR 法に関する国際会議が毎年開催されるようになり、また、優れた成書^{5,6)}が出版されるなど、ここ数年 NIR 法に関する関心が急速に高まっている。

一方、醤油の製造は、原料処理、製麹、仕込、压榨、製成、詰めよりなる一連の6カ月以上におよぶ工程よりなり、この間の各工程の管理分析の労力には多大なものがある。従って、NIR 法の非破壊性、簡便性、迅速性などの特徴は、醤油の生産管理や品質管理にとって極めて魅力的である。

本稿では、NIR 法の特徴と最近の動向、測定機作の解明、醤油製造への応用などについて述べる。

1. 近赤外分析法の特徴と最近の動向

NIR 法で用いる NIR 域の光とは、可視光線と中赤外域にはさまれた 780 nm から 2,526 nm の電磁波スペクトルの範囲をいう⁷⁾。NIR 法の原理は、分析対象物に近赤外線が照射されると、対象物を構成する有機物質中の、主として水素を含む官能基(C-H, O-H, N-H, S-H など)が近赤外線と共鳴し、振動(伸縮運動、変角運動)する。すなわち、光のエネルギーが運動エネルギーに変換され、この変換されたエネルギー分が吸光度として現れる。よって、この近赤外吸収を分析することにより、対象物質中の成分を非破壊的に計測することができる。NIR 法は第1表のような、従来の化学分析にはない特長を持っており、非破壊的に多成分の同時分析が可能なユニークな分析法として、食品、製薬、化学などの分野に急速に普及しだしている。

NIR 分析は世界的には、アメリカ、カナダ、イギリスなどのかんりの機関で、大豆や小麦の蛋白、水分、油分、乾燥野菜の水分などの測定に公定法として採用されてい

第1表 近赤外分析法の特長

1) 迅速 簡便
2) 熟練を要しない
3) 非破壊的に多成分を同時測定できる
4) 固体、半固体、液体いずれの形態のサンプルも扱える
5) 化学薬品を必要としない
6) 同一の試料を反復分析できる
7) 化学量のみならず物理量も測定できる
8) 現場環境で運転可能
9) 0.1~数 10% オーダーの定量分析可能

Application of Near Infrared Spectroscopy for Soy Sauce Production
Hikotaka HASHIMOTO, Keiko IZUKA and Kunio KOBAYASHI (Kikkoman Corporation)

第2表 近赤外分析法を公定法に採用している機関

AACC	American Association of Cereal Chemists
AOAC	American Association of Official Analytical Chemists
CGC	Canadian Grain Commission
FGIS	US Federal Grain Inspection Service
FOSFA	Federation of Oils, Seeds and Fats Association Ltd
ICC	International Association for Cereal Science and Technology
IFA	Irish Farmers Association
IFMA	Irish Flour Millers Association
SAMB	Swedish Agricultural Market Board

第3表 食品および農業分野における近赤外分析法の応用例

測定品目例	測定項目例	測定品目例	測定項目例
食 品		農 業	
シリアル	糖分, 水分, 繊維分	穀類, 豆類, 種子類	
スナック菓子	油分, 水分	米, 小麦, 大麦, コーン, なたね, 大豆, 綿実など	水分, 蛋白, 脂質, 繊維分, 澱粉, 灰分
菓子類	脂肪, 水分, 糖分		
チョコレート	脂肪, 糖分	ミリング/ミール	
パスタ	蛋白, 水分, 油分, 卵含量	小麦粉	水分, 蛋白, 灰分, 硬度, 平均粒度分布
ケーキミックス	脂肪, 糖分	コーン	水分, 蛋白, 油分, 繊維
パン	蛋白, 脂肪, 水分	脱脂大豆	水分, 蛋白, 油分
スパイス類	水分	魚粉	水分, 蛋白, 油分
肉, 魚肉製品	脂肪, 水分, 蛋白	なたね粕	水分, 蛋白, 油分, 繊維
牛乳	固形分, 脂肪, 蛋白, 乳糖	乾牧草, サイレージ	
乳製品	水分, 蛋白, 固形分, 脂質	配合飼料, ペットフード	水分, 蛋白, 繊維, 脂肪, ADF
コーヒー	水分, 脂肪, カフェイン		
砂糖	水分, 還元糖	たばこ	水分, 糖分, 全窒素, ニコチン
シロップ, 糖蜜	固形分, 糖分	麦芽	水分, エキス分, 蛋白
ビール	アルコール, エキス分, OG, 糖分	木材	水分, リグニン
		土壌, 肥料	腐植度, 尿素, 全窒素, 有機物
ワイン	アルコール, 糖分	青果物	
果実飲料	固形分, 糖分, アミノ態窒素	リンゴ, トマト, 桃など	糖度, 酸度
茶	全窒素, 水分, カフェイン, テアニン		
のり	全窒素, アミノ酸		
食用油	ヨウ素価, 過酸化物質		
味噌	水分, 食塩, 全窒素		
日本酒	アルコール, 日本酒度, 糖分, 酸度		
醤油	全窒素, アルコール, 食塩, グルタミン酸		
つゆ類	全窒素, アルコール, 糖分		

る(第2表)。日本ではまだ公定分析法として採用されていないが、最近、農水省食品総合研究所を始め、多くの機関で食品や農産物の分析への利用が研究されている⁸⁾。醤油業界では、他の食品業界に先駆けて、(財)日本醤油研究所が中心になって、1990年に「近赤外分析技術研究委員会(委員長:キッコーマン株式会社 杉山晋一研究本部長)」を発足させた。現在、(財)日本醤油研究所と大手醤油メーカー数社などとの間で、公定分析法への導入をめざし活発な共同研究が進められている。

近赤外分析に関する最新情報の交換の場として、1987年より年1回「国際近赤外分光分析会議」も開催されている。第2回の本大会は、1989年5月29日～6月2

日、筑波の研究交流センターで開催された。21カ国から約200名近い研究者が参加し、特別講演6題、一般講演30題、ポスター発表16題など極めて盛会であった。本年はノルウェーのハウゲサンド市で第5回大会が開催された。次回は、オーストラリアのローン市で、1994年に開催される予定である。これらの国際会議や文献などから、最近のNIR法の動向を探って見ると、大きく分けて、ハード面の進歩とソフト面の進歩の2面があげられる。

ハード面の進歩として注目されるのは、オンラインセンサーとしてのNIR法の利用である。エネルギーロスの少ないファイバーオプティックスの開発により、デー

第4表 食品工業における NIR の新規な応用例

熱変性によるスキムミルクのスペクトル変化
食品中の水の状態
でん粉-水、セルロース-水の相互作用
醬油中の食塩と水の相互作用
オレンジジュース乾燥粉末中のアミノ酸
蛋白質分子におけるアミノ酸
シリアル製品中の有効性リジン
ミルク粉末中の乳糖の結晶化
油-水の相互作用
エクストルージョンクッキングにおける物性変化
酵素水解中でのでん粉の変化のモニタリング
チーズの熟成度
パンの老化特性
小麦の加工適性（パンへの利用）
小麦中の活性の高いドライグルテン
砂糖精製工程における品質管理
冷凍またはフリーズドライした緑豆の官能的優劣判定
米の食味計
丸のままでの果物の糖分析
かびによって汚染されたナッツの検出
生肉と調理加工済み肉製品の特性比較
食用油中の夾雑油の検出

タの精度を向上する試みがなされ、実際にオンラインセンサーとして使用できる装置が発売されている。最近、近赤外域波長を作り出すのに、回折格子を移動させる従来方式とは全く異なり、機械的駆動部のない音響光学分光方式（AOTS：Acousto-Optic Tunable Scanning）を採用した液体用 NIR オンラインプロセスアナライザーも開発された⁷⁾。また、もう一つの新しい動きとして、近赤外分光法（NIR）とフーリエ変換分光技術（FT）を組み合わせた FT-NIR がブラン・ルーベ社、ニコレト社、ボーメン社などで開発され、化学品や医薬品の判別分析などで偉力を発揮しているようである⁹⁾。

ソフト面の進歩としては、従来多く用いられてきた重回帰分析による定量分析に加え、パターン認識、さらにはケモメトリックスが採り入れられるようになった点があげられる。クラスター分析、因子分析、主成分分析、判別分析などの多変量解析を用いることにより、NIR 法の用途は一段と拡大するものと思う。

現在、世界中では、15,000 台をこえる NIR 分析計が稼動中で、日本でも 1,100 台近くが利用されているようである。NIR 法はその開発の経緯のためか、現在でも農業、食品工業分野での応用が一番多い（第3表）⁸⁾。

M. IWAMOTO ら¹⁰⁾は第4回国際近赤外分光分析会議（イギリス、アバデーン市、1991 年）での「食品分析における NIR 法の長所と短所」についての講演の中で、最近の食品工業分野での NIR 法の応用研究の中から、新規な R & D として 22 テーマを紹介した。第4表に

これを翻訳して示す。NIR 分析計の分光技術、ファイバーオプティクスなどの進歩と、コンピューター技術およびソフトウェアの著しい発達により、単なる化学分析とのおきかえではない、思いがけない利用方法が開発されていることがうかがえる。

日本国内における、これらハード、ソフト両面の NIR 分析関連情報交換の場としては、1985 年から年 1 回「非破壊計測シンポジウム」が開催されている。本年 12 月 7 日には第 8 回目のシンポジウムの開催が予定されている。また、食品分野とは異なるが、NIR 法の医学生物学分野での活用が進む中で、日本分光学会主催の「赤外、近赤外領域スペクトルによる病態解析」に的をしぼったシンポジウム（12 月 14 日、於慈恵医大）が予定されるなど、NIR 法の活用が広がっていることがわかる。

2. 解明が進む測定原理

NIR 法で用いられる、有機物質による NIR 域の特定波長での吸収は、その有機物質中の主に C-H、O-H、N-H、S-H などの官能基の中赤外域で起こる基準振動の倍音および結合振動によるものであり、官能基と吸収波長の間には、第5表に示すような密接な関係がある¹¹⁾。

例えば、水については 760 nm、970 nm、1,450 nm、1,940 nm 付近に O-H の伸縮運動に起因する明瞭な吸収があることがわかる。一方、小麦や大豆などのように、でん粉や蛋白、油分、水分など複雑な構成成分よりなっている農産物の NIR 吸収スペクトルは主要成分のスペクトルを合成した形のスペクトルになる（第1図）。

実際に、NIR 法で小麦の水分やでん粉を非破壊的に定量する場合を考えると、第1図に見られるように、吸収バンドが重なりあっているため、波長の帰属は難しく、正確な分析値を得るのは極めて困難であるように思

第1図 小麦およびその主要成分の近赤外スペクトル

第5表 官能基の構造と近赤外スペクトルとの関係

Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure	Wavelength (nm)	Bond vibration	Structure
713	C-H str. fourth overtone	benzen	1440	O-H str. first overtone	sucrose, starch
738	O-H str. third overtone	ROH	1440	2 × C-H str. + C-H def.	CH
740	C-H str. fourth overtone	CH ₂	1446	2 × C-H str. + C-H def.	aromatic
746	C-H str. fourth overtone	CH ₂	1450	O-H str. first overtone	starch, H ₂ O
747	O-H str. third overtone	ArOH	1460	N-H str. first overtone	CONH ₂
760	O-H str. third overtone	H ₂ O	1471	N-H str. first overtone	CONHR
762	C-H str. fourth overtone	CH ₂	1480	O-H str. first overtone (intramol. H-bond)	glucose
779	N-H str. third overtone	RNH ₂	1483	N-H str. first overtone	CONH ₂
790	N-H str. third overtone	ArNH ₂	1490	N-H str. first overtone	CONHR
806	N-H str. third overtone	RNH ₂	1490	N-H str. first overtone (intramol. H-bond)	CONH ₂
808	2×N-H str. + 2×N-H def. + 2×C-N str.	RNHR'	1490	O-H str. first overtone (intramol. H-bond)	
815	N-H str. third overtone	RNHR'	1492	N-H str. first overtone	
832	2×N-H str. + 2×N-H def. + 2×C-N str.	RNHR'	1500	N-H str. first overtone	NH
840	3 × C-H str. + 2 × C-C str.	benzene	1500	N-H str. first overtone	protein
874	C-H str. third overtone	benzene	1520	O-H str. first overtone	CONH ₂
880	C-H str. third overtone	CHCl ₃	1520	N-H str. first overtone (intramol. H-bond)	ROH
900	C-H str. third overtone	CH ₂	1528	O-H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch
910	C-H str. third overtone	protein	1530	N-H str. first overtone	RNH ₂
913	C-H str. third overtone	CH ₂	1533	C-H str. first overtone	C=H
928	C-H str. third overtone	oil	1540	O-H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch
938	C-H str. third overtone	CH ₂	1570	N-H str. first overtone	-CONH-
970	O-H str. second overtone	ROH, H ₂ O	1580	O-H str. first overtone (intramol. H-bond)	starch, glucose
990	O-H str. second overtone	starch	1620	C-H str. first overtone	=CH ₂
1000	O-H str. second overtone	ArOH	1645	C-H str. first overtone	R-CH-CHO
1015	2 × C-H str. + 3 × C-H def.	CH ₂	1660	C-H str. first overtone	cis-RCH=CHR'
1020	2 × N-H str. + 2 × amide I	protein	1685	C-H str. first overtone	aromatic
1020	N-H str. second overtone	ArNH ₂	1695	C-H str. first overtone	CH ₂
1030	N-H str. second overtone	RNH ₂	1705	C-H str. first overtone	CH ₂
1037	2×C-H str. + 2×C-H def. + (CH ₂) _n	oil	1725	C-H str. first overtone	CH ₂
1053	2×C-H str. + 2×C-H def. + (CH ₂) _n	CH ₂	1740	S-H str. first overtone	-SH
1060	N-H str. second overtone	RNH ₂	1765	C-H str. first overtone	CH ₂
1080	2 × C-H str. + 2 × C-C str.	benzen	1780	C-H str. first overtone	cellulose
1097	2 × C-H str. + 2 × C-C str.	cyclopropane	1820	O-H str. + 2 × C-O str.	cellulose
1143	C-H str. second overtone	aromatic	1900	O-H str. + 2 × C-O str.	starch
1152	C-H str. second overtone	CH ₂	1900	C=O str. second overtone	-CO ₂ H
1170	C-H str. second overtone	HC=CH	1908	O-H str. first overtone	POH
1195	C-H second overtone	CH ₂	1920	C=O str. second overtone	CONH
1215	C-H str. second overtone	CH ₂	1940	O-H str. + O-H def.	H ₂ O
1225	C-H str. second overtone	CH	1950	C=O str. second overtone	-CO ₂ R
1360	2 × C-H str. + C-H def.	CH ₂	1960	N-H asym. str. + amide II	CONH ₂
1395	2 × C-H str. + C-H def.	CH ₂	1980	N-H asym. str. + amide II	protein
1410	O-H str. first overtone	ROH	2000	2 × O-H def. + C-O def.	starch
1415	2 × C-H str. + C-H def.	CH ₂	2000	N-H sym. str. + amide	CONH ₂ , CONHR
1417	2 × C-H str. + C-H def.	aromatic	2030	C=O str. second overtone	CONH ₂
1420	O-H str. first overtone	ArOH	2050	N-H sym. str. + amide II	protein
1430	N-H str. first overtone	CONH ₂	2050	N-H asym. str. + amide III	CONH ₂
2080	O-H str. + O-H def.	ROH, sucrose, starch	2276	O-H str. + C-C str.	starch
2100	2 × O-H def. + 2 × C-O str.	starch	2280	C-H str. + C-H def.	CH ₂
2110	N-H sym. str. + amid III	CONH ₂ , CONHR	2294	N-H str. + C=O str.	amino acid
2132	N-H str. + C=O str.	amino acid	2310	C-H str. + C-H def.	CH ₂
2140	=C-H str. + C=C str.	HC=CH	2323	C-H str. + C-H def.	CH ₂
2150	2 × amide I + amide III	CONH ₂	2336	C-H str. + C-H def.	cellulose
2160	2 × amide I + amide III	CONHR	2347	CH ₂ sym. str. + =CH ₂ def.	HC=CHCH ₂
2180	2 × amide I + amide III	protein	2352	C-H def. second overtone	cellulose
2190	CH ₂ sym. str. + C= str.	HC=CH	2380	O-H def. second overtone	ROH
2200	C-H str. + C=O str.	-CHO	2461	C-H str. + C-C str.	starch
2242	N-H str. + NH ₂ + def.	amino acid	2488	C-H str. + C-C str.	starch
2252	O-H str. + O-H def.	starch	2500	C-H str. + C-C str.	starch

える。しかし、目的成分による特定吸収が認められる波長（キープバンド）だけを選択するのではなく、共存する他の因子の影響をのぞくため、レファレンスとした他の複数波長でも同時に測定し、補正する方法により、精度よく目的成分が定量できる。必要な一連の重回帰分析は

コンピューターの力をかりて迅速に行われる。高い分析精度を達成するためには NIR 分析計の S/N 比は 10⁻⁴ OD 以下になるように極めて精密に管理されることが前提である。第2図に小麦粉の水分測定におけるレファレンス分析の意義を示す¹¹⁾。第2図中のAに示すように、

第2図 小麦粉の近赤外スペクトルと水分との関係

小麦粉は乾熱器で乾燥させる前は 1,940 nm に水分に起因する強い吸収を示す。よって、40 点の小麦粉の 1,940 nm における OD を測定して、常法で求めた水分量に対してプロットした（第 2, B 図）が、両者に相関は全く認められなかった。これはサンプルの粒度の影響が大きかったためである。ここで、水の特異吸収波長ではないが、2,310 nm を選び OD を測定し、 ΔOD ($1940 - 2310$) = $L(1940) - L(2310)$ に対してプロットすると、水分との間に直線関係が得られた（第 2, C 図）。小麦粉の粒度による吸光度への影響が 1,940 nm と 2,310 nm では近似しているため ΔOD を求めることにより、粒度に起因するエラーが除去できたためである。NIR 法による測定も基本的には通常の分光分析と同じ原理によることがわかる。

スペクトルが重なり複雑だという、一見、NIR 法の欠点と思われる現象も、大方の吸収バンドは有機化合物中の水素を含む官能基によるものであり、いろいろな有機化合物（例えば、水、でん粉、蛋白、脂肪）の水素を含む官能基による吸収が同時に観測されるからこそ、はじめて、多成分の定量分析が同時に行えるわけで、実は逆に NIR 法の大きな利点になっている。しかし、醤油、味噌、日本酒、のり、茶などの食品類や、米、小麦、大豆などの農産物の特定成分を非破壊的に精度よく測定し、しかもその測定の理論づけ（波長の帰属）を明らかにするのはいほど簡単ではない。かつて、NIR 法はブラックボックスが多い分析法だとみなされていた原因

も、この波長の帰属が困難だという辺りにあるようである。最近、NIR 法で採用した波長の帰属を明らかにし、ブラックボックスの解消に貢献している研究が多くなってきた。

K. IKEGAYA¹²⁾は緑茶中のカフェインの定量に際し、カフェインならびに関連物質のキサンチン、テオフィリン、テオブロミンが $-\text{CH}_3$ に帰属される 1,692 nm と 2,244 nm の吸収を持つことを明らかにし、1,692 nm を第 1 波長に指定したキャリブレーションを用いて良好な結果を得た。R. K. CHO¹³⁾は大豆の 7S, 11S 蛋白の部分精製品の NIR スペクトルと大豆粉の NIR スペクトルを詳細に比較し、NIR スペクトルの 2 次微分値を用いたキャリブレーションにより、大豆の 7S, 11S 含量およびその比 11S/7S が迅速定量できることを報告した。また、H. KAMISHIKIRYO¹⁴⁾は NIR による蛋白質の定量において、2,170 nm における吸収が蛋白質鎖のペプチド結合に帰属することと 2,170 nm を用いることの重要性を明らかにした。河野¹⁵⁾は、最近、極めて類似した成分であるでん粉中のアミロースとアミロペクチンの識別が NIR 法により可能であることを明らかにしたが、これは NIR 法を活用した米の食味計の信びよう性の高さを示すものともいえよう。

以上のように、今や NIR 法はブラックボックスの多い分析法という汚名を返上し、コンピューター技術の発達とケモメトリックスなどのデータ解析法の進歩と相まり、非破壊で迅速な測定が可能なユニークな分析法とし

第3図 濃口本醸造醤油の製造工程

て、品質管理や工程管理に幅広く利用されるようになった。

ついで、本題である醤油製造工程への NIR 法の応用について、弊社での検討を基に少し詳しく紹介する。

3. 醤油醸造における近赤外分析法の利用^{16,17)}

本醸造醤油は、第3図に示すように複雑な工程を経て製造される。6カ月以上かけてじっくり熟成させた醤油諸味から、圧搾、火入れ、おり引きなどの諸工程を経てはじめて市場に出る。このため、各工程における品質管理分析にかかる労力は絶大である⁸⁾。NIR 法の簡便性、迅速性などの特徴は、たいへん魅力的であり、醤油の生産管理や品質管理への利用価値はたいへん高いといえる。第3図中の太枠は、NIR 法により分析可能な部分であり、醤油醸造において、原料の受入れから、出荷時の製品検査に到るまで、かなり広範囲に活用しうることがわかる。

3-1 原料分析

醤油の主原料は、大豆と小麦と食塩である。その中でも、大豆(脱脂加工大豆を含む)と小麦は農産物であるため、主要成分のふれが大きく、原料メーカーでの出荷時あるいは原料受け入れ時のチェックは欠かすことができない。現在、総窒素、水分に関して NIR 法による分析が一部行われている。

3-2 仕込み食塩水分分析

仕込み食塩水はいたって単純な混合物で、その成分は食塩と水である。第4図に示すように、無機物である食

第4図 食塩(固体)と食塩水の近赤外スペクトル

第5図 NIR 自動分析システムのフローダイアグラム

塩は近赤外領域では特異吸収を持たない。よって、当初、NIR 法による食塩水の塩分量の分析は不可能であると考えられていた。しかし、1985年、T. HIRSCHFELD¹⁸⁾は原理までは解明しなかったが、食塩水中の食塩量が NIR 法により測定可能であることを報告した。仕込み塩水の食塩量を NIR 法で測定したところ、モル法との相関係数は 0.999、標準誤差は 0.03% と極めて良好な結果を得ることができた。

3-3 醤油分析

醤油工業では、JAS で定められている醤油の等級が主に総窒素量によって決定されることもあり、高い分析精度が要求されている。この要求を満たすべく種々検討し、醤油用の自動分析システムを開発した(第5図)¹⁶⁾。ブラン・ルーベ社製インフラライザー 400 型を用いて分析した結果を第6表、第7表に示す。還元糖、乳酸の分析結果以外はすべての分析項目において、従来法との相関係数が 0.90 以上であり、NIR 法が醤油分析に充分使用可能であることがわかった¹⁷⁾。

3-4 醤油粕分析

醤油粕は熟成諸味を圧搾し、生醤油を回収した後の副産物であり、これを分析することで、醤油諸味の溶解の程度など発酵の進み具合を確認することができる。NIR

第6表 醤油用回帰式の精度と使用波長

分析項目	食 塩	T. N	アルコー ル	乳 酸	グルタミ ン酸	RS	グルコー ス
R	0.999	0.998	0.997	0.902	0.946	0.671	0.947
SEE	0.08	0.009	0.07	0.06	0.04	0.33	0.19
使用波長 (nm)	1759	1680	1445	1680	2110	1680	1372
	1818	1778	2180	1778	2180	1818	1464
	2190	2110	2230	1818	2208	2110	1836
	2270	2139	2270	2139	2270	2139	2024
	2348	2208	2310	2208	2310	2208	1160
		2310	2336	2230	2348	2230	

$$SEE = \sqrt{\frac{(NIR値 - 化学分析値)^2}{N - k - 1}}$$

N: サンプル数
k: 使用波長数

第7表 社内醤油の NIR 分析精度

分析項目	N	範 囲	R	SEP	CV
食塩	50	8.50 ~ 19.00	0.999	0.09	0.53
T. N	100	1.187 ~ 1.951	0.998	0.01	0.62
アルコール	50	0.05 ~ 6.24	0.996	0.12	3.92
乳酸	50	0.73 ~ 1.83	0.742	0.12	10.8
グルタミン酸	60	1.02 ~ 1.53	0.933	0.05	3.97
RS	60	2.84 ~ 5.01	0.397	0.48	13.8
グルコース	21	0.74 ~ 2.24	0.934	0.24	16.4

CV = SEP / 化学分析値の平均 (%)

第8表 醤油粕の各種成分の測定結果

分析項目	MD	R	SEP	CV(%)
水 分	0.32	0.934	0.89	3.24
食 塩	-0.04	0.920	0.18	3.31
総窒素	-0.11	0.949	0.05	1.85
粗脂肪	-0.02	0.836	0.55	4.81
粗繊維	-0.49	0.935	0.69	5.22
灰 分	-0.12	0.871	0.25	3.38
転化糖	-0.74	0.839	0.85	6.30

(n=20)

法による、主な分析項目の分析結果を第8表に示す。試料が固体のため、サンプリングの誤差等もあり、醤油の成分分析の精度には及ばないが、煩雑で時間のかかる従来法にくらべ、各成分が数分以内に同時分析できるので、管理分析の省力化に役立つと思われる。

4. 近赤外分析法による醤油主要成分の定量機作^{17,19)}

NIR 法の定量精度が実用の域に達していることはすでに述べた。ここでは、醤油の主要成分について、その定量機作を解明する目的で行ったスペクトル解析など、2, 3 の検討結果を示す。NIR 分析計はブラン・ルーベ社製インフラライザー 500 型を使用した。

4-1 食 塩

無機物が NIR 領域に吸収を持たないことは広く知られている事実である。そこで、無機物である食塩が水に溶解した場合の NIR スペクトルに及ぼす影響を明らかにし、その定量機作について検討した。

解析手段の一つとして、合成スペクトルの作成を行った。食塩濃度 20% の食塩水の水分量をカルフィッシャー法にて測定し、約 92% という値を得た。5% おきに、0~20% の濃度に調製した食塩水の水分量を同様に測定し、92% より超過した水分量の吸光度を NIR スペクトルから差し引いて、合成スペクトルを作成した。この結果から、1,450 nm における水のピーク高は食塩水の水分量を一定にすることで等しくなったが、食塩量が多くなると、ピーク波長は短波長側へとシフトした。また、1,500~1,800 nm の吸光度にも変化が表れており、食塩濃度が高いほど吸光度が低くなった。

この手法と並行して、モデル系による NIR スペクトルの検討を行った。このモデル系では、食塩、水以外の第3の成分として、エタノールを添加した。1,450~1,800 nm に注目し、この部分に大きな吸収は持たず、かつ、親水性の高い化合物としてエタノールを選択し、エタノールの添加量をかえることにより、水分量を92%一定に保ちつつ食塩量だけを5%おきに变化させた。このモデル系では、先の合成スペクトルと同様、食塩濃度が高くなるにつれて、1,450 nm 近くの吸収ピークは低波長側へシフトするのが認められた。また、食塩-水-エタノールのモデル系を用いて、食塩濃度を一定にした場合の、水分量による NIR スペクトル変化を確認した。この結果、1,450 nm の水のピーク高は水分量の変化によるものであることも明らかになった。また、1,500~1,800 nm の吸光度には変化がなかったことから、この波長域には水分量の情報は現れず、食塩量による溶液のイオン強度が反映していると考えられた。このイオン強度変化を利用して、醤油中の食塩濃度が精度高く測定で

第6図 アルコール添加醤油の近赤外スペクトル

きることも確認できた。

4-2 エタノール

純粋なエタノールの NIR スペクトルから明らかなように、2,200~2,350 nm の間にエタノールの特異吸収が3つ存在する(第9図)。脱アルコール処理をした醤油にエタノールを5~25%の範囲で添加した醤油の NIR スペクトルを2,200~2,350 nm の間で拡大して第6図に示す。醤油中のエタノールの定量には、第6表に示したように6波長を使用したが、このうち、2,270 nm と 2,310 nm はエタノールの特異吸収をとらえる役目をし

ている(第6図)。この両波長における吸光度とエタノール濃度との間には第7図に示すような直線関係が認められ、醤油中のエタノール量が NIR 法により精度高く測定される機作がよく理解できる。

4-3 総窒素

醤油中の総窒素の NIR 分析において、検量線に使用されている波長は、1,680, 1,778, 2,110, 2,139, 2,208, 2,310 nm の6波長である(第6表)。このうち、2,110 nm と 2,139 nm の吸収は第5表よりしても、N-H, CONH に帰属することがわかり、窒素成分をとらえるのに意義がある波長である。しかし、残りの4波長の意義は、レファレンスの役目をはたしているだけであろうか。醤油中の総窒素は、前項のエタノールのように単一物質ではなく、各種のアミノ酸、アンモニア、ペプチドなどの混合物よりなるので、その測定機作を100%明白にすることはむずかしい。このことは、原料や麹菌および共存する窒素以外の成分などが、極端に異なるような場合には、レファレンスに選ぶ波長を変更する必要があることを示唆している。

第7図 アルコール測定用検量線使用波長の吸光度とアルコール濃度の関係

5. 本醸造醤油と新式醸造醤油の判別分析¹⁷⁾

定量分析以外にも、窒素成分に関する NIR スペクトルの変化を利用することにより、本醸造醤油と新式醸造醤油が判別しうるとい興味ある結果も得られている^{8,17)}。

北海道から沖縄までの広い範囲から、新式醸造醤油13点を含む濃口醤油60点を収集し、これに弊社のアメリカ工場、シンガポール工場、ブラジル工場の製品3点を加えた計63点を判別分析に供した。NIR 分析計はブラ

第8図 濃口本醸造醬油の NIR スペクトルと判別分析における使用波長

第9図 エタノールとレブリン酸の NIR スペクトル

ン・ルーベ社製インフラライザー 500 型を用いた。1, 114 nm, 2, 164 nm, 2, 248 nm の3波長の吸光値により、本醸造醬油と新式醸造醬油は 100% 正確に判別された。3波長のうち、2, 164 nm はペプチド結合、2, 248 nm はアミノ酸に帰属する(第5表)。両醬油の違いは、蛋白質の分解の度合いにあらわれると思われるので、2, 164 nm と 2, 248 nm の使用は理解できる。第8図よりしても、残りの波長 1, 114 nm はレファレンスの役目を果たしていると思われる。一方、両醬油間で大差のある他の成分には、レブリン酸およびエタノールがある。これらの成分の NIR スペクトルを第9図に示すが、判別分析で使った 2, 248 nm 付近にはエタノールもレブリン酸も強い吸収を持つことがわかる。よってこれらの成分の判別分析への寄与について調べた(第9表)。本醸造醬油にレブリン酸を 20% 添加しても、誤判別は起こらなかった。一方、新式醸造醬油にエタノールを 2.0%, 4.0% と添加すると、2.0% ではマハラノビス距離は本醸造に少し近くなり、4.0% 添加では本醸造であると誤判別された。以上より、この判別式に及ぼすアルコールの影響が大きいことがわかったが、これは、判別式に用いた3波長の一つ、2, 248 nm へのエタノールの影響がレブリン酸よりも大きいからではないかと思う。

従来、レブリン酸の有無が本醸造醬油と新式醸造醬油

第9表 判別分析結果

	マハラノビス距離		判別結果
	本醸造醬油からの	新式醬油からの	
本醸造	0.73	5.77	本醸造*
本醸造+レブリン酸 2%	2.88	7.82	本醸造*
新式醬油 1	5.28	9.34	新式醬油*
新式醬油 2	4.63	1.57	新式醬油*
新式醬油 3	4.93	0.70	新式醬油*
新式醬油 2+アルコール 2%	3.40	1.80	新式醬油*
+アルコール 4%	1.41	4.21	本醸造**

注) 本醸造・新式醬油(判別式に使用した試料と購入年度が違う)

* 正しく判別された。 ** 誤判別された。

の判別基準になっていたが、レブリン酸はレジン処理により吸着除去が可能であるので、レブリン酸のみを判別の基準にすることはリスクが大きい。その点、両者の違いを、主要構成成分のアミノ酸やペプチドおよびエタノールなどから総合的に判断すると推定される NIR 法は、まさに画期的な方法であるといえる。

おわりに

NIR 法は、農業分野での応用が先行した分析技術として開発されてきた。測定の際(波長の帰属)が明確に解明できないのに、コンピューターによる重回帰分析により分析値が求まるといった特性のため、当初、NIR 法はブラックボックスの多い分析法として、批判が多かったようである。しかし、1980 年代後半から、NIR 法の基礎的研究が進展し、今日では、NIR 法はその測定原理も次第に明らかになり、非破壊性、迅速性、多成分同時測定などの特長を持つユニークな分析方法として注目されている。

醬油工業のみならず、製造工業全般にいえることだと思うが、品質管理の方向が、最終製品の品質検査重視型から、目標品質の作りこみに向けて、各工程の次工程に役立つ品質管理(工程管理)型へとかわってきている。また、時間消費型の品質管理にかわって、製品が完成した時には、品質管理も完了しているといったリアルタイムの品質管理も今後の方向であろう。これらのニーズへの対応も、直接的な成分や物性のパラメーターが非破壊で迅速に測定できる NIR 法ならば不可能ではない。一方、醬油や日本酒のような伝統的醸造業においても、FA 化がさげばれている折から、NIR 法の特性を更に深く活用したオンラインセンサーとしての応用も今後の課題である。

もちろん、応用に際しては、NIR 法の持つキャリブレーションの必要性や感度が鈍く(約 0.15% 以上の濃度

の物質が分析対象), サンプル量も通常の化学分析にくらべ多く必要などといった, その短所¹⁰⁾についてもよく理解した上で, 長所が生きる使い方を開発することが大切である。

1993 年には, NIR 関連の専門誌, “Journal of Near Infrared Spectroscopy” が季刊で NIR 出版社 (イギリス, チェスター) から発刊²⁰⁾になるようであり, NIR 法は, 基礎的分野, 応用分野ともに, 今後更に発展するものと思われる。

＜キッコーマン(株)＞

文 献

- 1) B. G. OSBORNE and T. BEARN: “Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis”, John Wiley & Sons, Inc., New York (1986)
- 2) K. H. NORRIS: *Agricultural Engineering* (St. Joseph, Michigan), 45, 370 (1964)
- 3) P. C. WILLIAMS: *Cereal Chemistry*, 52, 561 (1975)
- 4) W. H. HUNT, D. W. FULK, B. ELDER and K. H. NORRIS: *Cereal Foods World*, 22, (10) 534 (1977)
- 5) “Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries” ed. by P. C. WILLIAMS and K. H. NORRIS, AACC, Inc., Minnesota (1987)
- 6) “Handbook of Near-Infrared Analysis” ed. by D. A. BURNS and E. W. CIURCZAK, Marcel Dekker, Inc., New York (1992)
- 7) 三浦 剛: 計装, 35, (6) 21 (1992)
- 8) 橋本彦亮: ジャパンフードサイエンス, 31, (8) 24 (1992)
- 9) W. F. McCLURE and R. M. HOY: “Proc. of the 2nd International NIRS Conference, Tsukuba Japan” ed. by M. IWAMOTO and S. KAWANO, Korin Publishing, Tokyo, p.65 (1989)
- 10) M. IWAMOTO and S. KAWANO: “Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy”, ed. by I. MURRAY and I. A. COWE, VCH, Weinhei, p. 367 (1991)
- 11) B. G. OSBORNE and T. FEARN: “Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis”, John Wiley & Sons, Inc., New York, p.36, p. 86 (1986)
- 12) K. IKEGAYA, M. IWAMOTO, J. UOZUMI and K. NISHINARI: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34, 254 (1987)
- 13) R. K. CHO, M. IWAMOTO and K. SAIO: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 34, 666 (1987)
- 14) H. KAMISHIKIRYO, K. HASEGAWA and T. MATOBA: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 38, 850 (1991)
- 15) 河野澄夫, 近江戸伸子, 阿部英幸, 三輪章志, 岩元睦夫: 第 39 回日本食品工業学会大会講演要旨集, p. 69 (1992)
- 16) 小林邦男, 橋本彦亮: 醬研, 17, (5) 188(1991)
- 17) 飯塚佳子, 小林邦男, 岡田稔生, 橋本彦亮: 醬研, 17, (5) 196 (1991)
- 18) T. HIRSCHFELD: *Appl. Spectroscopy*, 39, 740 (1985)
- 19) K. KOBAYASHI, K. IIZUKA, T. OKADA and H. HASHIMOTO: “Proc. of the 2nd International NIRS Conference, Tsukuba Japan” ed. by M. IWAMOTO and S. KAWANO Korin Publishing, Tokyo, p. 178 (1989)
- 20) T. DRIES: *NIR news*, 3, (4) 11 (1992)