近赤外分光法による乳酸菌の同定

—乳酸菌発酵形式の判別分析—

近年、非破壊分析法として近赤外線を用いた液状食品や粉状食品の分析が行われ、一部 JAS の分析に採用されている。乳酸菌は、糖の発酵形式により、100%乳酸を作るホモ型と乳酸 50%とアルコール 26%作るヘテロ型に分けられる。乳酸菌の発酵形式の分類に、簡易で且つ迅速に分析する方法が要求されている。

著者は、近赤外線を用いた分光分析法により、発酵形式の測定法を可能にした。今後は発酵成分の測定に発展することが期待されている。

恩 田 匠

1. 乳酸菌の分類と発酵形式

乳酸菌¹⁾は、グラム陽性の桿状あるいは球（卵・楕円）状の細胞を有し、カタラーゼ陰性・オキシダーゼ陰性・非運動性（まれに運動性有）・非孢子形成を基本的性質とし、特に糖類から著量の乳酸を代謝産物として生成する細菌群の総称である。乳酸菌は、酵母とともに各種の発酵食品の製造に関与する重要な微生物である。

この乳酸菌群は、主な最終代謝産物の差違から、ホモ型とヘテロ型発酵乳酸菌に分けられている。すなわち、糖類を発酵して、その消費した糖からほぼ 100%の乳酸を生成するのがホモ型乳酸菌であり、消費糖から約 50%の乳酸と 26%のエタノールおよび 24%の炭酸ガスを生成するのがヘテロ型乳酸菌である。現在記載されている 12 菌属の乳酸菌のうち、*Lactobacillus* 属の一部、*Streptococcus* 属、*Enterococcus* 属、*Leuconostoc* 属、*Pediococcus* 属、*Tetragenococcus* 属および *Vagococcus* 属はホモ型、*Lactobacillus* 属の残り一部、*Weissella* 属、*Atopobium* 属、*Carnobacterium* 属、*Leuconostoc* 属および *Oenococcus* 属はヘテロ型である。この乳酸菌の発酵形式は、乳酸菌を分類・同定する上で、特に属レベルでの識別のために重要な分析項目である。乳酸菌の化学分類学的手法が発達した近年においても、乳酸発酵形式の判定は、グラ

ム染色・形態観察とともに手分析的な作業により行われている。

現在、乳酸発酵形式の判定には岡田ら²⁾が開発した乳酸菌培養液中のエタノールを酵素的に定量する方法が最も正確かつ簡便な分析法として広く用いられている。しかしながら、乳酸菌培養液中のエタノール測定は市販酵素キットを用いても煩雑な実験操作と熟練を要し、多数の菌株の分析をする場合には長時間を要した。以上のことから、乳酸菌の発酵形式の簡便・迅速な判定が可能になれば、乳酸菌の生態研究など、多数の乳酸菌について同時に同定作業を行わなければならない場合において非常に有利な手段となるものと思われる。

著者ら^{3,4,5)}は、味噌などをはじめとする発酵食品について、乳酸菌叢（フローラ）解析などの研究を実施しており、多数の乳酸菌について同定試験を行っていることから、迅速な発酵形式の判定法の開発を必要としていた。

2. 近赤外分光法による判別分析

近赤外分光法（以下、NIR 法という）^{6,7)}は、食品類の非破壊評価方法として、様々な食品類で、その内容成分分析への適用の可能性が検討されてきた。この方法では、近赤外吸収測定により得られるスペクトルデータに対し、様々な統計学的解析（ケモメトリック

Identification of Lactic Acid Bacteria Using Near Infrared Spectroscopy

—Discriminant Analysis of Fermentation Types of Lactic Acid Bacteria—

Takumi ONDA (Food/Brewing Section, Yamanashi Industrial Technology Center)

ス)⁷⁾を導入することで、特定成分の定量ができることが報告されている。既に、一部の食品産業において、オンライン計測などに有効な手段として実用化されている。我が国では、魚住、岩元および河野ら⁶⁾により NIR 法が導入され、主に果実などの非破壊解析法として研究が進展してきた。既に我が国では、醤油やサトウキビなどの公定法として採用されるに至っている。近年、食品の内容成分含量以外にも、水のクラスター解析⁸⁾やデンプンの糊化度⁹⁾、果実の硬度¹⁰⁾などの物理的情報の抽出も可能であることが明らかになっている。

本 NIR 法における統計解析手法の一つに、未知試料がどの分類に属するかを判定する「判別分析」^{7,11)}がある。判別分析^{7,11)}とは、未知試料がどの分類（グ

ループ）に属するかを決定する「判別関数」を求める方法である。その演算においてグループの空間的広がりや考慮に入れた、「マハラノビス汎距離（D）」^{7,11)}の演算が一般的に用いられている。すなわち、判別すべきグループを明瞭に区別するための判別関数を算出し、この判別関数に基づいて未知試料の帰属グループを判定する方法である。本判別分析法では、既に醤油の格付判別をはじめとして、ミネラルウォーターなどの液状食品、小麦粉などの粉体状食品、および果実などについて、その非数量的特性（品種・種類・産地など）の判別に適用可能であることが報告されている（Table 1）。また、この判別分析は食品試料以外にも、プラスチックなどの化合物の判別にも有効であることが示されている（Table 1）。微生物の同定にも、既

Table 1 近赤外分光法を用いた判別分析

品 目	判別項目	参考文献
醤油	格付（本醸造醤油と新式醸造醤油）の判別	12,13
醤油	丸大豆醤油と脱脂大豆醤油の判別	13,14
醤油	地理的地域（産地）の判別	15
ミネラルウォーター	製品（種類）の判別	16
小麦粉	うどん（ソバ）用小麦粉の判別	17
小麦粉	品種の判別	18
硬質赤色小麦	2 銘柄の硬質赤色小麦（春小麦・冬小麦）の判別	19
ビール大麦	品種の判別	20
コーヒー豆	コーヒー品種（アラビカ種とロブスタ種）の判別	21
紅茶	品種の判別	22
カキ	甘渋の判別	23
果実	6 種のキウイフルーツベリー類の判別	24
ユーカリ材	植林ユーカリ材の判別	25
植物性生薬類	3 種の植物性生薬の判別	26
オタネニンジン根	栽培地域の判別	27
生肉	均質化食肉（鶏、七面鳥、豚、牛、羊）の判別	28
牛肉	新鮮肉と凍結解凍肉の判別	29
植物油	種類の判別	30
柑橘油	5 種の柑橘油（グレープフルーツ、オレンジなど）の判別	31
マヨネーズ	異なる植物油脂を含むマヨネーズの判別	32
細菌	各種大腸菌の判別	33
酵母	<i>S. cerevisiae</i> 酵母菌株間の同定	34
コハク	コハクとその模造品の同定	35
繊維	6 種の繊維の定性分析	36
化学修飾セルロース	11 種の化学修飾セルロースの分類	37
プラスチック	各種のプラスチック（PS, PE, PP, ABS, PVC など）の判別	38,39
プラスチック	各種の異なる型のプラスチックの判別	40
原油	地理的起源の異なる原油の判別	41
石油製品	6 種の石油製品（ディーゼル、ガソリン、ナフサなど）の判別	42
粉碎廃物	廃物に含まれる木材、プラスチック、石の判別	43

に大腸菌株や酵母において、同定（分別）に用いる可能性が明らかになっている（Table 1）。この手法により乳酸菌発酵形式の判定が可能になれば、乳酸菌の分類学的研究に有効であることはもとより、NIR法の新しい用途開発につながるものと考えた。

以上のことから、NIR法を用いた乳酸菌同定の開発の一助として、乳酸菌の発酵形式判定法を開発⁴⁴⁾した。本報では、その概要について紹介する。

3. 近赤外分光法を利用した判別分析による乳酸菌発酵形式の判定

3-1 乳酸菌培養液の近赤外吸収スペクトル

本研究には、乳酸菌 20 菌株、すなわちホモ型発酵菌として 10 菌種 10 菌株、ヘテロ型発酵菌として 10 菌種 10 菌株を用いた（Table 2）。この 20 株の乳酸菌について、Table 2 のように 10 菌株ずつ判別関数（キャリブレーション）作製用と評価用に 2 分割して供試した。各乳酸菌株の前培養液を、液体培地に接種し 30°C で静置培養した。このとき、各菌株毎に培養期間を 1 日と 3 日間とした 2 種類の試料を作製し、生育度に差異を付与した。この培養液を遠心分離（4,000 rpm, 20 分間）して菌体を除去し、得られた上清液をメンブランフィルターによって除菌処理して、分析用の試料とした。近赤外吸収スペクトルの測定は、分散型近赤外分光装置（インフラライザー 500 型、プラン・ルーベ社製）を用い、1100～2500 nm の波長領域を 2 nm 毎に走査することにより行った。測定用セルには液体用測定セル（ワインドロアー）を使用した。

この測定セルには恒温循環槽を連結し、測定部位の温度を 20±0.1°C に厳密に調整した。

判別関数作製用のホモ型乳酸菌分析試料 10 個、およびヘテロ型乳酸菌分析試料 10 個の、全ての近赤外吸収スペクトルおよび 2 次微分スペクトルを Fig. 1 に示した。数学的处理を施さない原スペクトル（Fig. 1-A）では、ホモ型菌とヘテロ型菌の試料間でほとんど差違が認められなかった。2 次微分スペクトル（Fig. 1-B）でもほとんど類似した形状を示したが、2,200～2,400 nm の領域で吸収ピークに変動が認められた（Fig. 2）。この領域のスペクトルを詳細に調べたところ、2260～2270 nm 近傍と 2300～2310 nm 近傍の 2 つの吸収ピークは、両者ともホモ型に比べヘテロ型の方が長波長側にシフトすることが明らかになった。このピークのシフトは他の波長領域では認められなかった。本領域は、糖類や酸、アルコール類の特異的な吸収バンド⁴⁵⁾が存在することから、発酵形式による差違の違いが反映されている可能性が示唆された。

3-2 判別分析による乳酸菌発酵形式の判定

判別分析は、IDAS プログラムのオプションソフトウェア DISCRIM（プラン・ルーベ社製）を用いて行った。すなわち、判別関数（キャリブレーション）用試料（10 菌株）の 2 種の生育度の分析サンプル（計 20 個）を用いて、その菌株の発酵形式を目的変数（ホモ型あるいはヘテロ型）とし、スペクトルデータを説明変数として解析を行った。解析に用いる近赤外吸収スペクトルデータは、数学的处理を施さない原スペクトルの吸光度（log(1/R)）と、二次微分処理

Table 2 実験に供した乳酸菌株

	ホモ型乳酸菌		ヘテロ型乳酸菌	
判別式作製用	<i>Lactobacillus plantarum</i>	JCM1149 ^T	<i>Lactobacillus brevis</i>	JCM1059 ^T
	<i>Enterococcus faecalis</i>	JCM5803 ^T	<i>Weissella confusa</i>	RIFY5119 ^T
	<i>Enterococcus durans</i>	JCM8725 ^T	<i>Weissella paramesenteroides</i>	RIFY5005 ^T
	<i>Lactococcus lactis</i> ^{a)}	JCM5805 ^T	<i>Carnobacterium divergens</i>	JCM5816 ^T
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	JCM5890 ^T	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	JCM6124 ^T
判別式評価用	<i>Lactobacillus sakei</i> ^{b)}	JCM1157 ^T	<i>Lactobacillus vaccinnostercus</i>	RIFY5147 ^T
	<i>Lactobacillus casei</i>	RIFY5113 ^T	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	JCM1117 ^T
	<i>Enterococcus faecium</i>	JCM5804 ^T	<i>Lactobacillus viridescens</i>	RIFY5149 ^T
	<i>Streptococcus salivarius</i>	RIFY5052 ^T	<i>Lactobacillus fructosus</i>	RIFY5129 ^T
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	JCM5885 ^T	<i>Leuconostoc lactis</i>	RIFY5007 ^T

JCM：理化学研究所微生物系統保存施設；RIFY：山梨大学ワイン科学研究センター。T：タイプ株。a) *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, b) *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei*。

Fig. 1 判別関数作製に用いた乳酸菌培養上清(ホモ型 10 株およびヘテロ型 10 菌株)の近赤外吸収スペクトル
(A) 近赤外吸収スペクトル, (B) 2 次微分処理した近赤外吸収スペクトル

(gap size ; 12 nm, segment between gaps ; 12 nm) を施した二次微分値 ($d^2\log(1/R)$) の 2 種類を用いた。2 種類のスペクトルデータを用いて, DISCRIM プログラムの自動計算により, 判別関数を作製した。キャリブレーション時に用いる波長数は, 2 個と 3 個とした。作製した判別関数について, Mark^{46,47)} が用いた「Sum of inverse squared distance(SISD)」値^{46,47)} と「Root mean squared (RMS) 距離」値^{46,47)} を調べた。SISD 値は, $SISD = \sum (1/D)^2$ として算出され, 可及的に小さくなるよう演算される値である。また, RMS 距離は, $RMS = [\sum D^2 / ((\text{サンプル数 } n) - 1)]^{1/2}$ として算出される値であり, 各グループ内における分散の大きさを示す数値である。評価用試料を用いて, 作製した判別関数から DISCRIM の自動計算によって発酵形式の判定を行い, 判別関数の有効性について調べた。すなわち, 評価用サンプルの近赤外吸収スペクトルデータを測定し, 判別関数から算出される D 値から発酵形式を判断した。

この判別関数作製は, 原スペクトルと 2 次微分スペ

Fig. 2 乳酸菌培養上清の 2200~2350 nm 領域の 2 次微分赤外吸収スペクトル
実線: ホモ型, 破線: ヘテロ型の平均スペクトル

Table 3 発酵形式判別のための判別関数に用いる波長と統計値

選択波長 (nm) ^{a)}		D ^{b)}	SISD ^{c)}	RMS ^{d)}	
				Homo	Hetero
2272	2231	10.40	0.06	1.30	1.71
1388	1531 2272	13.10	0.06	1.85	1.90

a) DISCRIM プログラムにより選択された波長, b) ホモ型およびヘテロ型乳酸菌試料間のマハラノビス汎距離, c) Sum of inverse squared distance, d) Root mean squared (RMS) distance (グループサイズ)。

クトルのそれぞれのデータを用いて行ったが, 原スペクトルを用いた解析では, 良好な結果が得られなかった。これは, 原スペクトルからは判別に必要な情報が有効に抽出できないためと考えられた。2 次微分スペクトルデータを用いて, 判別関数作製用サンプルを判別分析した結果 (Table 3), 2 波長を用いる判別関数には 2272 nm および 2311 nm の吸光度データが採用され, 3 波長判別関数には 1388 nm と 1531 nm および 2272 nm の吸光度データがそれぞれ採用され, いずれでも判別可能であることが分かった。この 2 種類の判別関数を比較して SISD 値にほとんど差がなく, 3 波長を用いた判別関数の方が, 両グループ内距離を示す RMS 値が大きくなった。このことから 2 波長を用いた判別関数で十分に精度良く発酵型を判別することが可能であると判断した。2272 nm と 2311 nm の 2 つの波長における $d^2\log(1/R)$ 値を用いた判別図 (Fig.

3) を作製したところ、両グループが明瞭に判別され、さらにヘテロ型の方がホモ型より分散が大きかったことが分かった。2272 nm と 2311 nm は、吸収ピークのシフト (Fig. 2) が存在した近傍に位置することから、両吸収ピークの変動に関する情報を判別に利用していることが推定された。判別関数に選択された波長は、2272 nm, 2311 nm, 1388 nm および 1531 nm の 4 種類であった (Table 3)。このうち、2272 nm が両キャリブレーションとも用いられ、判別のキー波長である可能性が高いものと推察した。2272 nm 近傍には -OH 基の収縮運動⁴⁵⁾ に起因する吸収バンドが存在し、かつエタノールの特徴的な吸収ピークが存在する。このことから、2272 nm に存在するエタノールに関する情報によって、発酵形式の判別が可能になったものと推察された。

判別分析の両グループの RMS 距離は、ヘテロ型の方がホモ型より若干大きかった。これは、ヘテロ型発酵菌が、乳酸とエタノール以外にも酢酸や蟻酸²¹⁾ を生成する菌株があることなどから、発酵代謝産物がホモ型よりも変化に富んだものになったことが原因と考えられた。

作製した 2 波長からなる判別関数を用いて、評価用 10 菌株の分析試料について発酵形式の判定を実施した。その結果、得られるマハラノビス汎距離 (D) か

ら、100% 正確にホモ型およびヘテロ型の発酵形式を識別できることが分かった (Table 4-A)。

4. 味噌から分離した乳酸菌の同定への摘要

著者らは味噌の細菌学的研究^{3,4,5)}の一環として、味噌中に存在する多種の乳酸菌類の生態学的な調査を実施しているが、ここで分離した乳酸菌の発酵形式を調べた。味噌から分離した乳酸菌^{4,5)}の代表株 5 株 (Table 4-B) について、今回作製した判別関数を用いて、発酵形式の判定を行った。その結果、全ての菌株で正確に発酵形式が判定できた (Table 4-B) ことから、タイプ株のみならず、自然界から新規に分離した乳酸菌についても、ホモ・ヘテロ型の判定が可能であることが判明した。このことから、乳酸菌叢解析などの多数の乳酸菌の同定を行わなければならない研究において有効であることが分かった。

5. 発酵形式判別の原理

判別測定の本理解明のため、以下に示すモデル分析試料を作製し、その判別分析を行った。すなわち、(i) 「モデル・ホモ型発酵」試料；MRS 培地の組成からグルコースを除き、代わりに 2% 乳酸を添加したもので、ホモ型発酵菌がグルコースを完全に発酵した場合の培養液と（糖代謝の上からは）ほぼ同等な組成をもつ試料、(ii) 「モデル・ヘテロ型発酵」試料；MRS 培地の組成からグルコースを除き、代わりに 1% 乳酸と 0.5% エタノールを添加したもので、ヘテロ型乳酸菌がグルコースを完全に発酵した場合の培養液とほぼ同等な組成をもつ試料、(iii) 「非乳酸発酵」試料；「モデル・ヘテロ型発酵」試料を、乳酸を添加せずに調製したもので、乳酸菌が生育した場合とは異なる培養液の組成をもつ試料、(iv) 「偽ヘテロ型発酵」試料；*Lb. plantarum* JCM1149^T の分析試料について、MRS 培地で 2 倍希釈し、乳酸の 50% 量のエタノールを添加したもので、ヘテロ型発酵菌の分析試料とほぼ同等な組成をもつ試料、の 4 種類を作製した。これらモデル試料について、(4) の実験と同様に近赤外吸収スペクトルを測定し、どちらの発酵形式に判別されるか（または「分類不可」と判定されるか）調べた。

乳酸菌が生育したとき、培養液中では様々な代謝上の変化が発生するが、最も顕著な成分変化はグルコースが代謝されることである。ホモ型およびヘテロ型の

Fig. 3 乳酸菌培養上清の 2272 nm と 2311 nm の $d^2 \log(1/R)$ (吸光度の 2 次微分値) を用いた判別結果

●：ホモ型；□：ヘテロ型乳酸菌試料

Table 4 判別関数（二波長 2272 nm, 2311 nm 関数）による判別結果

A：判別関数評価用（タイプ株）

評価用試料	実際の発酵形式	D 値 ^{a)}		判定 ^{b)}
		ホモ型	ヘテロ型	
<i>Lb. sakei</i> JCM1157 ^T	ホモ型	0.47	11.18	ホモ型
<i>Lb. casei</i> RIFY5113 ^T	ホモ型	1.03	10.72	ホモ型
<i>E. faecium</i> JCM5804 ^T	ホモ型	0.33	10.72	ホモ型
<i>S. salivarius</i> RIFY5052 ^T	ホモ型	1.18	9.88	ホモ型
<i>P. acidilactici</i> JCM5885 ^T	ホモ型	0.85	10.14	ホモ型
<i>Lb. vaccinostercus</i> RIFY5147 ^T	ヘテロ型	12.74	1.75	ヘテロ型
<i>Lb. fructivorans</i> JCM1117 ^T	ヘテロ型	14.30	1.05	ヘテロ型
<i>Lb. viridesens</i> RIFY5149 ^T	ヘテロ型	8.90	1.40	ヘテロ型
<i>Lb. fructosus</i> RIFY5129 ^T	ヘテロ型	10.08	0.63	ヘテロ型
<i>Leu. lactis</i> RIFY5007 ^T	ヘテロ型	12.98	1.80	ヘテロ型

B：味噌から分離した乳酸菌の同定

味噌分離乳酸菌の試料	実際の発酵形式	D 値		判定
		ホモ型	ヘテロ型	
<i>E. faecium</i> 分離株	ホモ型	0.80	10.60	ホモ型
<i>E. faecalis</i> 分離株	ホモ型	1.32	11.88	ホモ型
<i>Lb. plantarum</i> 分離株	ホモ型	0.60	9.80	ホモ型
<i>P. acidilactici</i> 分離株	ホモ型	0.99	10.31	ホモ型
<i>W. confusa</i> 分離株	ヘテロ型	11.68	0.87	ヘテロ型

C：モデル溶液

モデル溶液	D 値		判定
	ホモ型	ヘテロ型	
(i) model Homo-type sample ^{c)}	0.97	11.88	ホモ型
(ii) model Hetero-type sample ^{d)}	11.30	1.80	ヘテロ型
(iii) non-lactate fermentation sample ^{e)}	13.70	7.60	判別不可
(iv) pseudo Hetero-type sample ^{f)}	10.70	0.60	ヘテロ型

a) DISCRIM プログラムで計算したマハラノビス汎距離, b) 二波長 (2272 nm, 2311 nm) 関数を用いて DISCRIM プログラムで判別した判定結果, c) 2% 乳酸をグルコースの代わりに添加して調製した MRS 液体培地, d) 1% 乳酸と 0.5% エタノールをグルコースの代わりに添加して調製した MRS 液体培地, e) 0.5% エタノールをグルコースの代わりに添加して調製した MRS 液体培地, f) *Lb. plantarum* の培養上清を 2 倍希釈して 0.5% エタノールを添加した試料。

分析試料で、最も差異が大きいのはエタノールの有無あるいは乳酸とエタノールの比率であると考えられる⁴⁸⁾。そこで、4 種類のモデル分析試料を作製し、その判別の可否を検討した。その結果、(i)「モデル・ホモ型発酵」試料、(ii)「モデル・ヘテロ型発酵」試料および(iv)「偽ヘテロ型発酵」試料を判別分析したところ、それぞれ期待されるホモ型、ヘテロ型およびヘテロ型に判別された (Table 4-C)。一方、(iii)

「非乳酸発酵」試料はどちらにも判定できない結果となった (Table 4-C)。したがって、各モデル試料が期待される発酵形式に正確に判別されたことから、今回作製された判別関数は、培養液に生成された代謝産物である乳酸とエタノールに関する情報から、ホモ型およびヘテロ型の判定を可能にしているものと推察された。

6. まとめと今後の展望

今回の研究結果から、乳酸菌培養液を用いた NIR 法の判別分析により、試験菌の発酵形式を正確に判定できることが明らかになった。これは、NIR 法を用いることにより、乳酸菌の同定において、迅速・簡便な発酵形式の判定が実現できることを示唆している。

この判別分析の原理は、乳酸菌の発酵形式の違いによる培養液中の成分の差異、すなわち、乳酸とエタノールの情報から識別しているものと推察された。今回は定性的な手法である判別分析を利用したが、重回帰分析を導入することで培養液中の乳酸やエタノールを定量できる可能性も示唆された。培養液中の代謝産物などのより詳しい情報が解析できれば、より詳細な同定が可能になる可能性も考えられた。

今後は、NIR 法を用いて、発酵形式のみならず、発酵代謝産物の定量やその他の情報、たとえば細胞形態などの識別の可能性、さらに他の細菌類や酵母などの判別についても検討したい。

参考文献

- 岡田早苗：乳酸菌の科学と技術（学会出版センター、東京）、p. 9 (1996)
- 岡田早苗・細井陽子・高橋正明・小崎道雄：日本微生物株保存連盟会誌, **7**, 6 (1991)
- Onda, T., Yanagida, F., Tsuji, M., Ogino, S. and Shinohara, T. : Food Sci. Technol. Res., **5**, 247 (1999)
- Onda, T., Yanagida, F., Uchimura, T., Tsuji, M., Ogino, S., Shinohara, T. and Yokotsuka, K. : J. of. Appl. Microbiol., **92**, 695-705 (2002)
- Onda, T., Yanagida, F., Uchimura, T., Tsuji, M., Ogino, S., Shinohara, T. and Yokotsuka, K. : Food Sci. Technol. Res., **9**, 17-24 (2003).
- 岩元睦夫・河野澄夫・魚住 純：近赤外分光法入門（幸書房、東京）、p. 1 (1994)
- 相島鐵郎：日食工誌, **38**, 166 (1991)
- Iwamoto, M., Uozumi, J. and Nishinari, K. : Near Infrared Diffuse Reflectance/Transmittance Spectroscopy (ed. by Hollo, J., Kaffka, K. J. and Gonczy, J. L.), p. 3 (1987)
- 恩田 匠・阿部英幸・松永曉子・小宮山美弘・河野澄夫：日食工誌, **41**, 886 (1994)
- 恩田 匠・小宮山美弘・乙黒親男：日食工誌, **43**, 382 (1996)
- 岩元睦夫・河野澄夫・魚住 純：近赤外分光法入門（幸書房、東京）、p. 85 (1994)
- 橋本彦亮：月刊フードケミカル, **9**, 76-83 (1993)
- 橋本彦亮・飯塚佳子・小林邦男：醸協, **87**, 711 (1992)
- Iizauka, K. and Aishima, T. : J. Food Sci., **62**, 101-104 (1997)
- Iizauka, K. and Aishima, T. : J. Food Compos. Anal., **12**, 197-209 (1999)
- 小島孝之：分光研究, **44**, 267 (1995)
- Kumagai, M., Karube, K., Sato, T., Kikuchi, R. Ogawa, N., and Amano, T. : Anal. Sci., **18**, 1145-1150 (2002)
- Bertrand, D., Roberts, P. and Loisel, W. : J. Sci. Food Agri., **36**, 1120 (1985)
- Delwiche, S. R. and Norris, K. H. : Cereal Chem., **70**, 29-35 (1993)
- 小島孝之, 田中宗浩, 辻 秀史：佐賀大学農学部彙報, **78**, 1 (1995)
- Downey, G. Briande, T. R., Wilson, R. H. and Kemsley, E. K. : J. Agric. Food Chem., **45**, 4357-4361 (1997)
- Osborn, B. G. and Fearn, T. : Food Chem., **29**, 233 (1988)
- 伊藤 茂・大竹良知・鬼頭勇夫：愛知県農業総合試験場研究報告, **29**, 213 (1997)
- Kim, J. and Poole, P. : Chemometr., **51**, 201-216 (2000)
- Schimleck, L. R., Michell, A. J. and Vinden, P. : Appita. J., **49**, 319-324 (1996)
- Woo, Y.-A., Kim, H.-J. and Cho, J.-H. : Microchem. J., **63**, 61-70 (1999)
- Woo, Y.-A., Kim, H.-J. and Chung, H. : Analyst., **124**, 1223-1226 (1999)
- Downey, G., McElhinney, J. and Fearn, T. : Appl. Spectrosc., **54**, 894-899 (2000)
- Downey, G. and Beauchne, D. : Meat Sci., **45**, 353-363, (1997)
- Bewig, K. M., Clarke, A. D., Roberts, C. and Unklesbay, N. : J. Am. Oil Chem. Soc., **71**, 195 (1994)
- Steuer, B., Schulz, H. and Laeger, E. : Food Chem., **72**, 113-117 (2001)
- Indahl, U. G., Sahni, N. S., Kiekhus, B. and

- Naes, T. : Chemometer Intell. Lab. Syst., **49**, 19-31 (1999)
- 33) Rodriguez-Aaona, L. E., Khambaty, F. M., Fry, F. S. and Calvey, E. M. : J. Agric. Food Chem., **49**, 574-579 (2001)
- 34) Halasz, A., Hassan, A., Toth, A., Varadi, M. : Z. Lebensm-Unters-Forsch A., **204**, 72-74 (1997)
- 35) Golloch, A., Heidbreder, S., Luehr, C. : Fresenius. J. Anal. Chem. : **361**, 545-546 (1998)
- 36) Howell, H. E. and Davis, J. R. : Text Chem. Color., **23**, 69-73 (1991)
- 37) Svensson, O., Josefson, M. and Langkilde, F. W. : Appl. Spectrosc., **51**, 1826-1835 (1997)
- 38) 田部和俊・松本高利・佐伯和光・上坂博亨・天野敏男：プラスチック化学リサイクル研究会討論会研究講演発表要旨集, vol. 1,1-2 (1998)
- 39) 松本高利・田部和俊・佐伯和光・上坂博亨：分析化学, **48**, 438-489 (1999)
- 40) Freitag, H., Huth-Fehre, T. and Cammann, K. : Anal. Lett., **33**, 1425-1431 (2000)
- 41) Blanco, M., MasPOCH, S. and Villarroya, I. : Appl. Spectrosc., **55**, 834-839 (2001)
- 42) Kim, M., Lee, Y.-H. and Han, C. : Comput. Chem. Eng., **24**, 513-517 (2000)
- 43) DeGroot, P. J., Postma, G. J., Melssen, W. J. and Buydens, L. M. C. : Appl. Spectrosc., **55**, 173-181 (2001)
- 44) 恩田 匠・辻 政雄・柳田藤寿・篠原 隆・荻野 敏：日食保蔵誌, **27**, 189-195 (1999)
- 45) 岩元睦夫・河野澄夫・魚住 純：近赤外分光法入門 (幸書房, 東京), p. 45 (1994)
- 46) Mark, H. : Anal. Chim. Acta., **223**, 75 (1989)
- 47) Mark, H. : Analyt. Chem., **58**, 379 (1986)
- 48) 金子 勉：乳酸菌の科学と技術 (学会出版センター, 東京), p. 90 (1996)
-