

近赤外分光法による牛乳中のたんぱく質、 総脂質および炭水化物の定量

牛乳に含まれる成分の分析手法として、例えば、たんぱく質についてはケルダール法^{*1}、脂質についてはレーゼ・ゴットリーブ法^{*2}、炭水化物の主成分であるラクトースについては比色法^{*3}があります。いずれも広く適用されている手法ですが、溶媒や試薬が必要であり、測定に時間を要するという課題を抱えています。

近赤外分光法は、たんぱく質、脂質および炭水化物のような複数の乳成分を同時に定量できる手法です¹⁻³⁾。近赤外領域の吸収は中赤外領域の吸収と同様に、分子の振動に基づくものですが、中赤外吸収の倍音、結合音に由来した吸収となります。また、近赤外吸収は中赤外吸収に比べ強度はかなり弱くなり、吸収の弱い試料の測定は難しくなりますが、試料を希釈せずに測定ができることが特長となります。また溶媒自体の吸収も弱くなるため、例えば水溶液の測定も比較的容易に行えます。近赤外スペクトルは、ブロードな（幅広い）ピークやピーク同士の重なりが多いため、定量分析にはケモメトリクス（多変量解析）を用います。

本稿では、ケモメトリクスの PLS 法を用いた近赤外分光法による牛乳中のたんぱく質、総脂質および炭水化物の定量を行いました。

*1 ケルダール法：窒素定量換算法と呼ばれ、食品中の全窒素を定量し、それに食品毎に定められた窒素・たんぱく質換算係数を乗じた値をたんぱく質として定量する方法。

*2 レーゼ・ゴットリーブ法：脂肪球を覆っている脂肪球膜をアンモニアにより分散させ、遊離した脂質をアンモニア性アルコール溶液から、ジエチルアルコールおよび石油エーテルにより抽出し、脂質を定量する方法。

*3 比色法：アルカリ性銅試薬とラクトース水溶液の呈色反応を利用し、比色計（分光光度計）で吸光度を測定してラクトースを定量する方法。

R. Fuji

■ 分析方法

図 1 に示すフーリエ変換赤外分光光度計 IRTracer™-100 を用い、固定セルを用いた透過法により、市販の様々な牛乳を 3 回ずつ測定しました。光路長は 1 mm です。測定条件を表 1 に示します。

表 2 に市販の牛乳 12 種類の表示成分を示します。このうち 10 点を用いて PLS 検量線を作成し、残り 2 点は定量対象として用いました。



図 1 IRTracer™-100

表 1 測定条件

装置	: IRTracer-100 近赤外キット
分解	: 8 cm ⁻¹
積算回数	: 100
波数範囲	: 10000~5300 cm ⁻¹
アポダイズ関数	: Happ-Genzel
検出器	: InGaAs

表 2 市販の牛乳 12 種類の表示成分

試料	g/100 mL		
	たんぱく質	総脂質	炭水化物
牛乳 01	3.2	3.8	4.8
牛乳 02	3.7	1.3	5.7
牛乳 03	3.8	0.1	4.9
牛乳 04	4.0	3.7	3.9
牛乳 05	4.0	4.0	5.0
牛乳 06	3.7	1.5	5.0
牛乳 07	3.5	3.6	5.0
牛乳 08	5.0	1.0	5.3
牛乳 09	5.0	1.0	5.5
牛乳 10	3.3	4.1	5.0
牛乳 11	3.2	1.2	7.0
牛乳 12	3.2	3.4	4.9

■ 牛乳の近赤外スペクトル

図 2 に、牛乳 01~12 の 10000 cm⁻¹~5300 cm⁻¹ における近赤外スペクトルを示します。

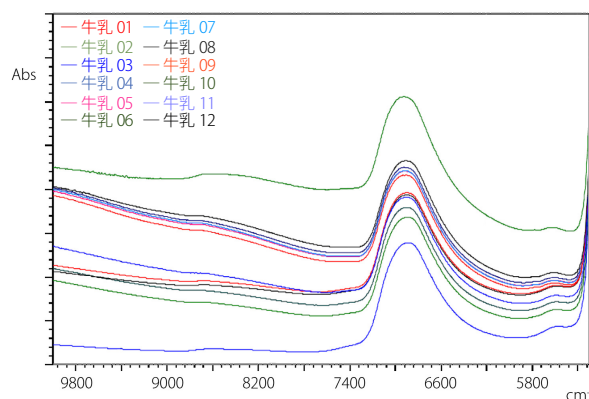


図 2 牛乳 01~12 の近赤外スペクトル

■ 牛乳中のたんぱく質、総脂質、および炭水化物の定量

牛乳 07 および牛乳 08 以外の 10 点の試料について、測定した近赤外スペクトルを二次微分し、PLS 法により解析しました。二次微分することにより、ピークの重なりやショルダーピークの分離を高め、各吸収ピークを顕在化させることができます。表 3 に PLS キャリブレーションレポートを、図 3 ~5 にたんぱく質、総脂質、炭水化物の PLS 検量線を示します。相関係数はいずれも 0.95 以上と良好で、MSEP（平均二乗予測誤差）および SEP（予測標準誤差）も小さな値となりました。

表3 PLS キャリブレーションレポート

アルゴリズム	PLS II		
成分数	3		
標準試料数	30 (10点の試料を各3回測定)		
波数範囲 (cm ⁻¹)	10000 - 5300		
前処理	MSC*4 (9000 - 5500 cm ⁻¹) 二次微分 (微分点数: 23)		
スケール	オートスケール		
成分	たんぱく質	総脂質	炭水化物
ファクターの個数	5	5	5
相関係数	0.9556	0.9968	0.9743
MSEP	0.0839	0.0062	0.0491
SEP	0.2879	0.0786	0.2216

*4 MSC: Multiplicative Scatter Correction (多重散乱補正)

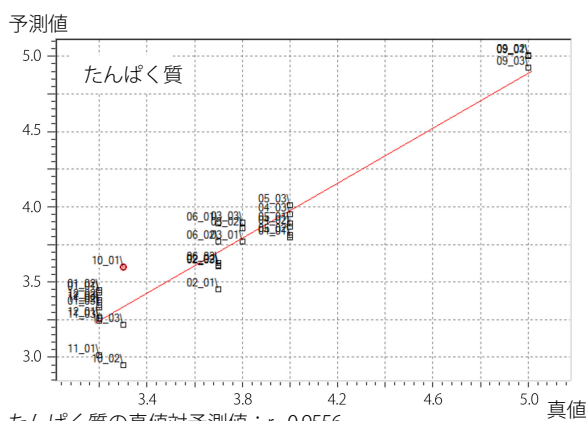


図3 たんぱく質の PLS 検量線

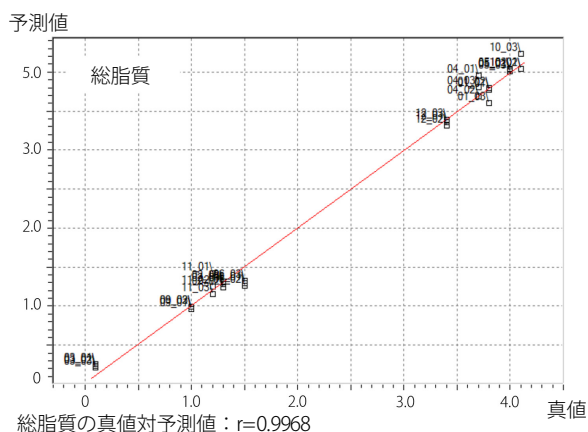


図4 総脂質の PLS 検量線

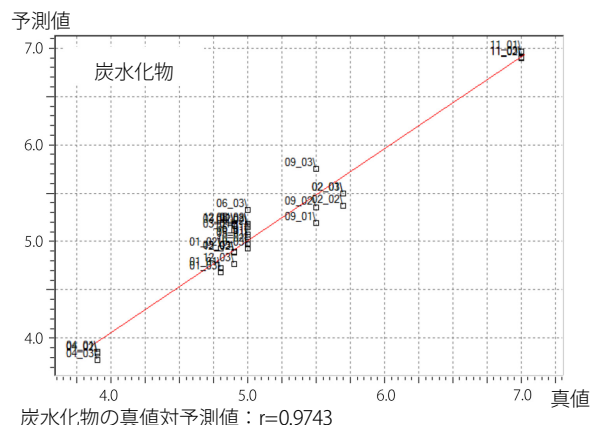


図5 炭水化物の PLS 検量線

牛乳 07、08 中のたんぱく質、総脂質および炭水化物の定量分析結果を表4に示します。予測値はいずれも表示成分と近い値となり良好な結果でした。より高い精度で定量を行うためには、PLS 検量モデルの構築により多くの標準試料を用いる必要があると考えられます。

表4 牛乳 07、08 中のたんぱく質、総脂質および炭水化物の定量分析結果

試料	予測値 (g/100 mL)				表示成分 (g/100 mL)
	牛乳 07-1	牛乳 07-2	牛乳 07-3	平均	
たんぱく質	3.49	3.65	3.25	3.46	3.5
総脂質	3.76	3.74	3.97	3.82	3.6
炭水化物	5.51	4.81	4.81	5.04	5.0
試料	牛乳 08-1	牛乳 08-2	牛乳 08-3	平均	表示成分 (g/100 mL)
たんぱく質	4.82	4.84	4.82	4.83	5.0
総脂質	0.88	0.86	0.91	0.88	1.0
炭水化物	5.46	5.21	5.32	5.33	5.3

まとめ

近赤外分光法とケモメトリクスによる解析により、牛乳中のたんぱく質、総脂質および炭水化物を迅速かつ簡便に定量することができました。従来の手法と比べ、前処理を必要とせず効率的であることから、新規ソリューションとして活用できます。

<参考文献>

- 1) RENATA JANKOVSKÁ and KVĚTOSLAVA ŠUSTOVÁ: Analysis of Cow Milk by Near-infrared Spectroscopy. Czech J. Food Sci., Vol.21, No.4: 123-128
- 2) Mariana C. M. P. BRANDÃO; Alexandre P. CARMO; Maria José V. BELL; Virgílio C. ANJOS: Characterization of Milk by Infrared Spectroscopy. Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes", Mar/Abr, nº 373, 65: 30-33, 2010
- 3) Shimadzu Application News No.A475 Quantitative Analysis of Fat in Milk by UV-Vis-NIR Reflectance Spectroscopy and Multivariate Analysis

IRTracer は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

本稿は、2015 年に SHIMADZU (Asia Pacific) Pte. Ltd より発行された内容 (AD-0087) です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年6月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。