

## はちみつに含まれる糖分（フルクトース、グルコースおよびスクロース）のFTIRによる定量

はちみつは、ビタミンやミネラルなどの栄養素を含む健康食品として注目され、食品や飲料にも使用されています。一方で、製造コストの削減を目的として、意図的に安価なコーンシロップなどの液糖を添加するなどの偽装が行われやすい食品でもあります。はちみつにコーンシロップ等を添加することにより、重大な健康問題が引き起こされることはありませんが、消費者からの信頼が失われ、市場の成長に悪影響を及ぼします。したがって、品質管理において、はちみつに添加された成分を判別できる簡易な分析手法の開発が求められています。

赤外分光法は、有機化合物それぞれが異なるスペクトルを示すため、はちみつに含まれる成分を識別できる効果的な手法です。また、赤外分光法で得た赤外スペクトルをケモメトリクス（PLS法）や重回帰分析により解析することで、多成分の定量を迅速に行うことが可能です。

本稿では、はちみつに含まれる糖分の定量を FTIR を用いて行いました。

J. Head, J. Kinyanjui, M. Talbott, R. Fuji

### ■ 分析方法

純粋はちみつは主に糖分で構成されます。そのほとんどはフルクトースとグルコースで、少量のスクロースも含まれます。割合は、フルクトースが 33~43%、グルコースが 25~35%、スクロースが 0~2% で、フルクトース：グルコースは 1.2：1 です。一方、コーンシロップを含んだ偽装品は主にグルコースから構成されます。したがって、はちみつ中のグルコース量が多ければ、コスト削減などを目的としコーンシロップが添加されていると推測できます。

9種類の市販のはちみつを用意し、純水で 10% W/W に希釈しました。フーリエ変換赤外分光光度計 IRTracer™-100 と、1 回反射型全反射測定装置 Quest (ZnSe プリズム) を用いて測定し、ケモメトリクス (PLS 法) を用いてフルクトース、グルコースおよびスクロースの定量を行いました。

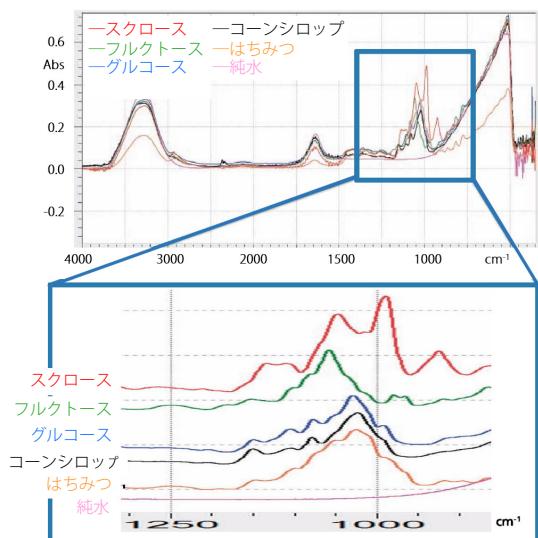


図1 スクロース、フルクトース、グルコース、コーンシロップ、はちみつ（すべて 50% 水溶液）および純水の赤外スペクトル

測定条件を表 1 に、スクロース、フルクトース、グルコース、コーンシロップ、はちみつ（すべて 50% 水溶液）および純水の赤外スペクトルを図 1 に、市販のはちみつ（10% W/W）の赤外スペクトルを図 2 に示します。

装置	: IRTracer-100 Quest
分解	: 4 cm <sup>-1</sup>
積算回数	: 32
波数範囲	: 4000~600 cm <sup>-1</sup>
アポダイズ関数	: Happ-Genzel
検出器	: DLATGS

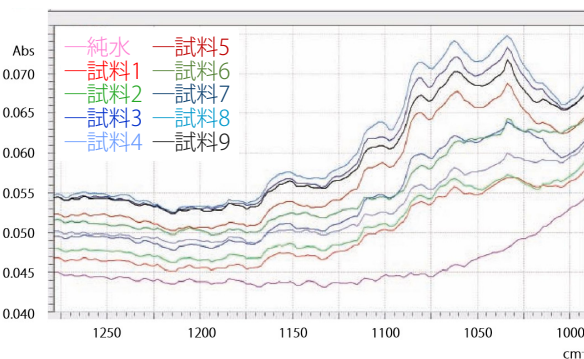


図2 市販のはちみつ（10% W/W）の赤外スペクトル

### ■ はちみつに含まれる糖分の定量

フルクトース、グルコース、スクロースの混合水溶液から検量線を作成するため、図 3 に示す 3 次元試料トレーニングマトリクス（標準試料における 3 成分の混合割合を示すモデル）を構築し、はちみつに含まれる糖分の定量に必要な標準試料の濃度を検討しました。図 3 における XYZ 軸をそれぞれフルクトース、スクロース、グルコースの割合（0~15%）を示すものとし、立方体の全空間を網羅するように標準試料の濃度を決定しました。なお、定量にはケモメトリクス (PLS 法) を用いました。標準試料の一覧を表 2 に示します。34 点の試料のうち、25 点を用いて PLS 検量線を作成し、残りの 9 点で検量線の検証を行いました。

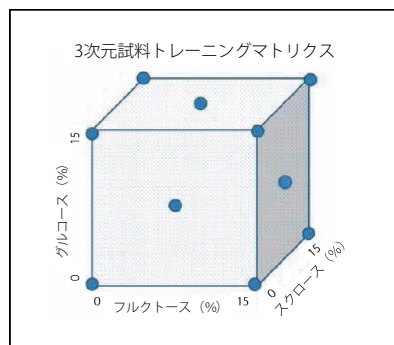


図3 3次元試料トレーニングマトリクス（標準試料における 3 成分の混合割合を示すモデル）

表2 標準試料の一覧

試料	各糖分の濃度 (% W/W)		
	フルクトース	グルコース	スクロース
1	0.00	0.00	0.00
2	5.08	0.00	0.00
3	10.06	0.00	0.00
4	0.00	5.00	0.00
5	0.00	10.22	0.00
6	0.00	0.00	4.97
7	0.00	0.00	9.94
8	4.92	4.91	0.00
9	0.00	5.10	4.95
10	4.95	0.00	4.91
11	10.10	10.55	0.00
12	0.00	9.83	9.88
13	0.43	0.00	10.03
14	5.10	5.06	5.04
15	10.11	9.84	9.94
16	3.84	7.83	2.68
17	7.94	5.03	1.75
18	1.83	4.67	0.73
19	0.48	2.94	3.07
20	4.95	6.39	1.47
21	3.99	2.66	7.21
22	3.56	3.53	9.63
23	4.97	4.96	9.95
24	10.13	5.05	5.05
25	4.92	9.84	4.94
26	14.95	0.00	0.00
27	0.00	14.99	0.00
28	0.00	0.00	14.72
29	15.14	15.26	0.00
30	15.31	0.00	15.24
31	0.00	15.15	15.16
32	0.65	14.98	7.59
33	14.89	7.45	14.97
34	7.53	15.14	15.21

表3 PLS キャリブレーションレポート

アルゴリズム	PLS 1		
成分数	3		
標準試料数	25		
波数範囲 (cm <sup>-1</sup> )	963 - 1486		
成分	フルクトース	グルコース	スクロース
ファクターの個数	5	5	5
相関係数	0.9990	0.9987	0.9986
相関係数の2乗	0.9980	0.9973	0.9973
MSEP	0.0019	0.0026	0.0026
SEP	0.0441	0.0506	0.0513

表4 市販のはちみつに含まれる糖分の定量分析結果

試料	表示	各糖分の濃度 (% W/W)			比率 フルクトース/グルコース
		フルクトース	グルコース	スクロース	
1	100%純粋はちみつ	0.081	0.242	0.00	0.33
2	100%純粋はちみつ	0.119	0.180	0.00	0.66
3	100%純粋はちみつ	0.186	0.367	0.00	0.51
4	100%純粋クローバーはちみつ	0.031	0.236	0.00	0.13
5	100%純粋はちみつ	0.279	0.404	0.00	0.69
6	純粋はちみつ7%使用	0.00	0.299	0.089	0.00
7	なし	0.462	0.428	0.00	1.08
8	なし	0.536	0.464	0.00	1.16
9	グレードA	0.379	0.363	0.00	1.04

表3にPLSキャリブレーションレポートを示します。相関係数はいずれも0.99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4に市販のはちみつに含まれる糖分の定量分析結果を示します。100%純粋はちみつと表示された試料1~5は、フルクトースに対してグルコースの割合が高く、コーンシロップの添加が示唆されます。また、純粋はちみつ7%と表示された試料6はスクロースの割合が高く、製品の調製に砂糖が使用された可能性が考えられます。

## まとめ

FTIRによる測定とケモメトリクスによる解析により、はちみつに含まれる糖分の定量を簡便に行うことができました。市販のはちみつの定量分析結果は、表示と異なる成分組成を示し、安価な代替品の添加が示唆されました。FTIRを用いた分析手法は、効率的に糖分の分析が行える手段として食品の品質管理に活用できます。

### <参考文献>

- Clifford, R.I., Head, J., Kinyanjui, J., & Talbott, M. (2014, January). Quantification of Natural Sugars in Baby Food Products by MID FTIR Spectroscopy. Application News No. FTIR-1401.
- Jagdish, T., & Irudayaraj, J. (2004, June). Quantification of saccharides in multiple floral honeys using Fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. J. Agric Food Chem, 52(11), 3237-43.
- Tucker, M., Nguyen, Q., & Eddy, F. (2001). Fourier Transform Infrared Quantitative Analysis of Sugars and Lignin in Pretreated Softwood Solid Residues. Applied Biochemistry and Biotechnology, 91 - 93, 51-61.
- Cadet, F., & Offmann, B. (1997). Direct Spectroscopic Sucrose Determination of Raw Sugar Cane Juices. J. Agric. Food chem., 45(0), 166-171.
- Kramer, R. (1998). Chemometric Techniques for Quantitative Analysis. New York, NY: Marcel Dekker Inc.

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3月にSHIMADZU SCIENTIFIC INSTRUMENTSによりPittcon 2015で発表された内容です。