SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No.A524

光吸収分析
Spectrophotometric Analysis

オリーブオイルの種類判別

Discrimination of Olive Oil Using UV-Visible Spectrophotometer and Spectrofluorophotometer

■はじめに
Introduction

近年食の安全やオーガニック志向への注目が高まり，様々な食品に関する専門店の開店や，高価な輸入品の流通が増加しています。一例として健康や美容効果などが期待されるオリーブオイルがあります。最も高価なエキストラバージンオリーブオイルは国際オリーブ協会によって規格が定められており，化学的な処理を一切行わず，果実を絞りろ過をして作られた，酸度 0.8 % 以下の限られたオリーブオイルに限定されます。それ以外はピュアオリーブオイルと呼ばれ，オリーブオイルを精製して高熱処理を施したものです。両者の違いを見た目で判別することは困難です。そこで今回は紫外可視分光光度計 UV-2700 と分光蛍光光度計 RF-6000 を用いてスペクトル測定を行い，得られた結果を基に多変量解析を行うことで両者の判別を試みた結果をご紹介します。

T. Shimamoto K. Sobue

Fig. 1　紫外可視分光光度計 UV-2700
UV-2700 UV-Visible Spectrophotometer

■オリーブオイルの吸光度測定
Absorbance Measurements of Olive Oils

Fig. 1 に吸光度測定で用いた UV-2700 の外観を示します。Fig. 2 に測定に使用したオリーブオイルの例を示します。色や香り，産地などが異なります。6 つのメーカーにおいて，エキストラバージンオリーブオイルを 10 種類用意しました。サンプル名は，" ○× E" としました。○には用意したメーカーを示す A ～ F の英字が入ります。×には各メーカーの通し番号が入り，数字が小さいほど価格の安い製品であることを表しています。また，メーカー A，B においてはピュアオリーブオイルを 1 種類ずつ用意しました。サンプル名は " ○× P" としました。これらのオリーブオイルを石英セルに入れ，吸収スペクトルを測定しました。測定条件を Table 1 に，測定結果の中から 3 種類の代表的なスペクトルを Fig. 3 に示します。それぞれ吸収ピークの波長はほぼ同じですが，吸光度に違いが見られました。測定結果からエキストラバージンオリーブオイルの方が高い吸光度を示す傾向が確認できました。

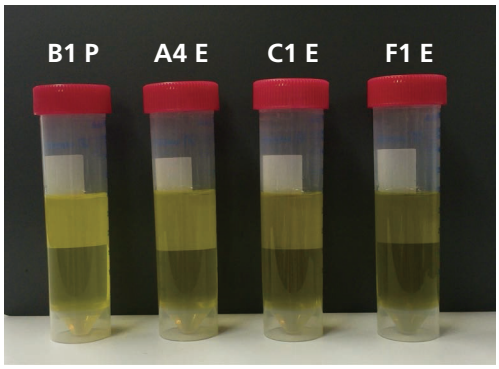

Fig. 2　さまざまなオリーブオイル
Various Olive Oils

Table 1　UV-2700 の測定条件
UV-2700 Measurement Conditions

スペクトルの種類	：吸収スペクトル
測定波長範囲	：330 nm ～ 800 nm
スキャン速度	：中速
サンプリングピッチ	：0.5 nm
光源切替波長	：323 nm

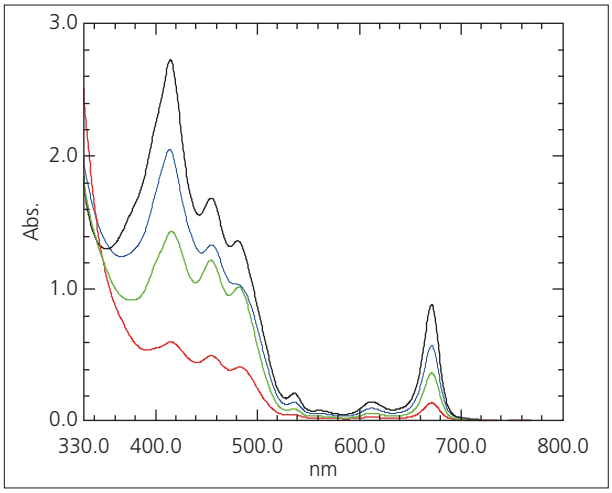

Fig. 3　オリーブオイルの吸収スペクトル
赤：B1 P，緑：A4 E，青：C1 E，黒：F1 E
Absorption Spectra of Olive Oils
Red: B1 P, Green: A4 E, Blue: C1 E, Black: F1 E

■吸収スペクトルを用いた多変量解析
Multivariate Analysis Using Absorption Spectra

吸光度測定の結果より，ピュアオリーブオイルとエキストラバージンオリーブオイルの多変量解析による分類を試みました。多変量解析ソフトウェア The Unscrambler®X[1] を使用して，7 つのピーク波長における吸光度を用いて差異解析を行いました。

分類手法には主成分分析（PCA）とクラスター分析を用いました。主成分分析では分析者が視覚的に分類できるようにスコアが算出されます（スコアプロット）。一方，ローディングプロットにより，スコアプロットに強く影響を与えている要因，つまり分類されたグループの特徴を把握できます。また，クラスター分析は対象を樹形図的に分類する手法です。それぞれのサンプルを繋ぐ横軸の長さが短いほどそれらが似ていることを表します。

主成分分析のスコアプロットを Fig. 4 に示します。支配的な軸である PC-1 に関し，ピュアオリーブオイルが負方向に集中しました。エキストラバージンオリーブオイルは正方向に集中しており，両者の判別ができたといえます。また，ローディングプロットを Fig. 5 に示します。415 nm や 454.5 nm など，短波長の信号が強いことがエキストラバージンオリーブオイルの特徴の一つであるとわかりました。

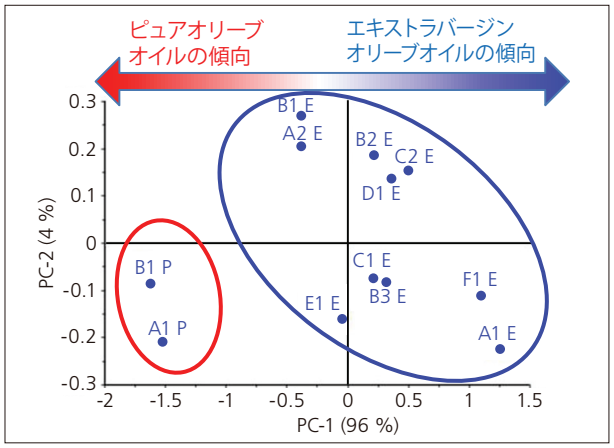

Fig. 4　オリーブオイルのスコアプロット
Scores Plot Using Absorbance of Olive Oils

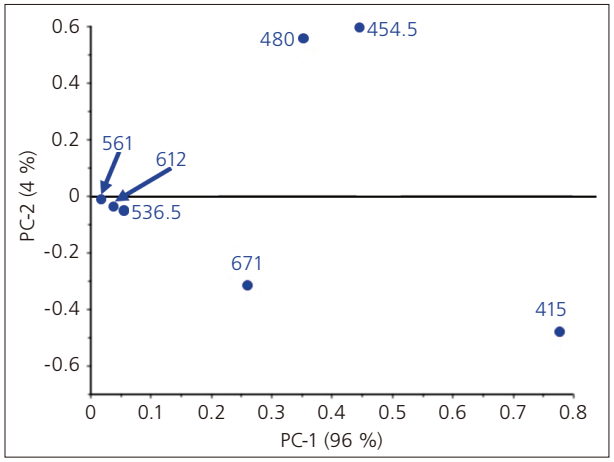

Fig. 5　オリーブオイルのローディングプロット
Loading Plot Using Absorbance of Olive Oils

次にクラスター分析の結果を Fig. 6 に示します。オリーブオイルが 2 つのグループに分かれ，どのサンプル同士がどれだけ似ているのか一目でわかります。この結果からもピュアオリーブオイルとエキストラバージンオリーブオイルが判別できたことがわかりました。

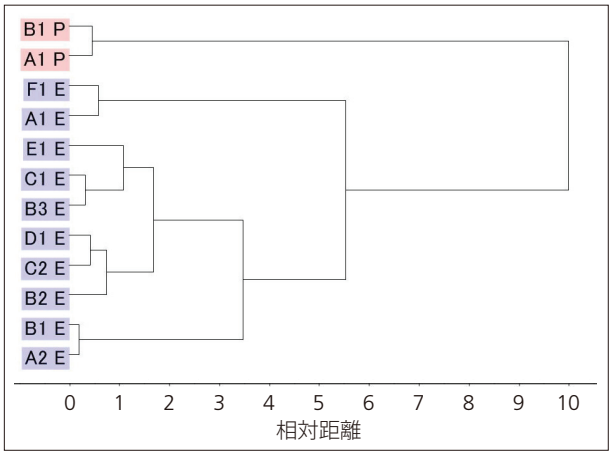

Fig. 6　オリーブオイルのクラスター分析結果
Cluster Analysis Result Using Absorbance of Olive Oils

■オリーブオイルの 3 次元蛍光スペクトル測定
Three Dimensional Spectra Measurements of Olive Oils

分光蛍光光度計 RF-6000 を用いて 3 次元蛍光スペクトルを測定しました。Fig. 7 に装置の外観を示します。試料の吸光度が高いため，自己吸収の影響を考慮して，Fig. 8 に示す固体試料ホルダを用いました。自己吸収とは試料が発する光を試料自身が吸収する現象です。高い吸光度を持つ試料を通常のセルホルダで測定する際，発生した蛍光が試料を通過する間に自己吸収され，検出器に入る蛍光強度が低下する場合があります。今回，固体試料ホルダを使用して，Fig. 9 に示す通りオリーブオイルの端に励起光を照射しました。これにより，発生した蛍光が試料中を通過する距離が減少して，自己吸収の影響を低減することができます。

Fig. 7　分光蛍光光度計 RF-6000
RF-6000 Spectrofluorophotometer

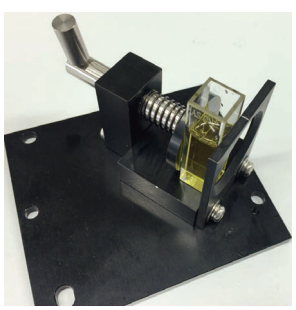

Fig. 8　固体試料ホルダ
Solid Sample Holder

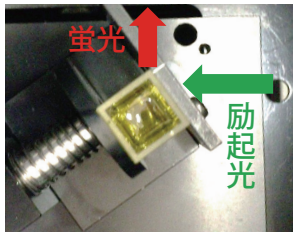

Fig. 9　測定方法
Measurement Method

Table 2 に測定条件を示します。励起光の高次光をカットするため，蛍光側に 310 nm 以下の光を通さないフィルタ（IHU310）をセットしました。Fig. 10 に測定結果の例を示します。どちらの試料でも，クロロフィルに由来すると推測される蛍光が Em 680 nm に確認されました。この蛍光は，ピュアオリーブオイルと比べて，エキストラバージンオリーブオイルでより強く観測されました。また，主にピュアオリーブオイルにおいて Em 400 nm 付近に強い蛍光を確認しました。この蛍光はビタミン類に由来すると推測されます。

ピュアオリーブオイルとエキストラバージンオリーブオイルを比較するため，励起波長 300 nm で切り出した蛍光スペクトルを Fig. 11 に示します。切り出した領域は Fig. 10 内に白い点線で示しました。300 nm ～ 500 nm で，ピークの強度やピークの裾の形状が異なっていることがわかります。

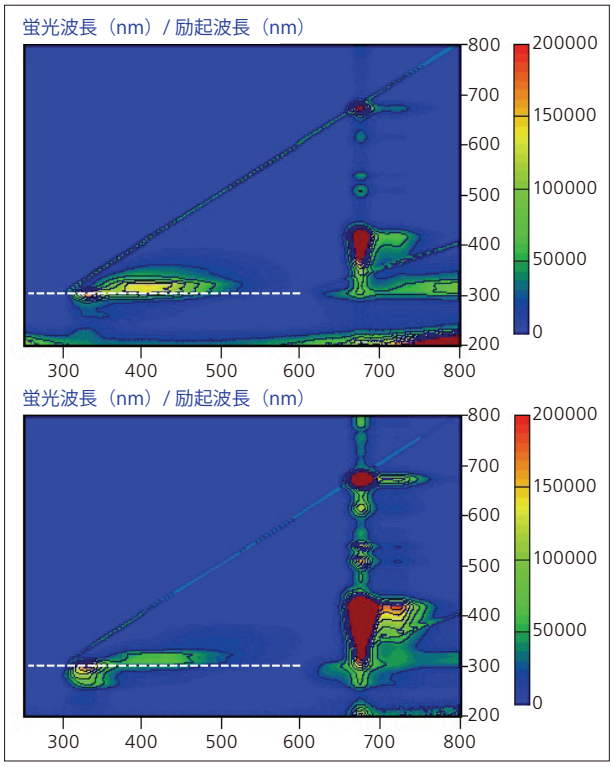

Fig. 10　3 次元蛍光スペクトル　上 A1 P，下 F1 E
Three Dimensional Spectra of Olive Oils
Above: A1 P, Bottom: F1 E

3 次元蛍光スペクトルを用いた多変量解析

Multivariate Analysis Using Three Dimensional Spectra

吸光度測定と同様に，得られた 3 次元蛍光スペクトルによる多変量解析を行い，ピュアオリーブオイルとエキストラバージンオリーブオイルの分類を試みました。解析には Fig. 12 に A ～ J で示した 10 点の蛍光強度を用いました。

Table 2　RF-6000 の測定条件
RF-6000 Measurement Conditions

オプション品	：固体試料ホルダ，IHU310
スペクトルの種類	：3D スペクトル
測定波長範囲	：Ex 200 nm ～ 800 nm Em 250 nm ～ 800 nm
スキャン速度	：6000 nm/min
波長間隔	：Ex 5.0 nm，Em 1.0 nm
バンド幅	：Ex 5.0 nm，Em 5.0 nm
感度	：Low

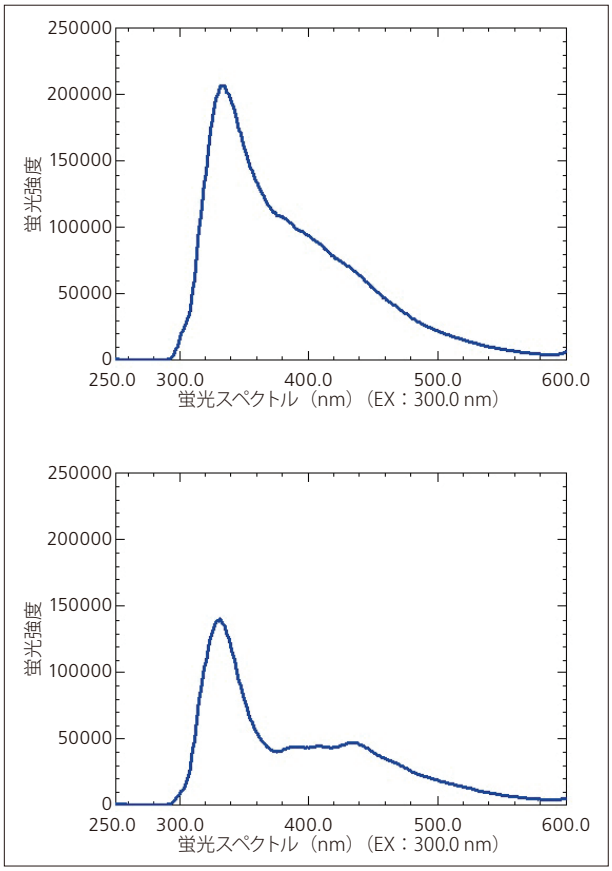

Fig. 11　励起波長 300 nm における蛍光スペクトル
上 A1 P，下 F1 E
Emission Spectrum of Olive Oils Excited at 300 nm
Above: A1 P, Bottom: F1 E

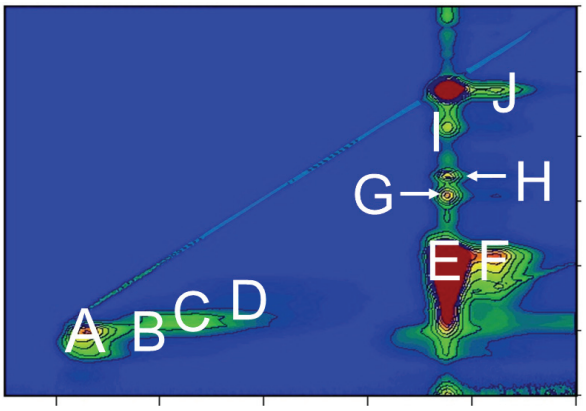

Fig. 12　多変量解析に用いた点
Analysis Points for Multivariate Analysis

主成分分析によるスコアプロットを Fig. 13 に示します。スコアプロットにおいて支配的な軸である PC-1 に関し，ピュアオリーブオイルが正方向に集中しました。エキストラバージンオリーブオイルは主に負方向に集中しており，両者の判別ができたといえます。

吸光度を用いたスコアプロットと比較して，A2 E と B1 E がピュアオリーブオイル側に近づいています。この 2 種はエキストラバージンオリーブオイルですが，ピュアオリーブオイルと似た傾向を持っていると推測できます。ローディングプロットを Fig. 14 に示します。ローディングプロットより，A ～ D の蛍光，つまりビタミン類由来と推測される信号が強いことがピュアオリーブオイルの特徴の一つであるとわかりました。

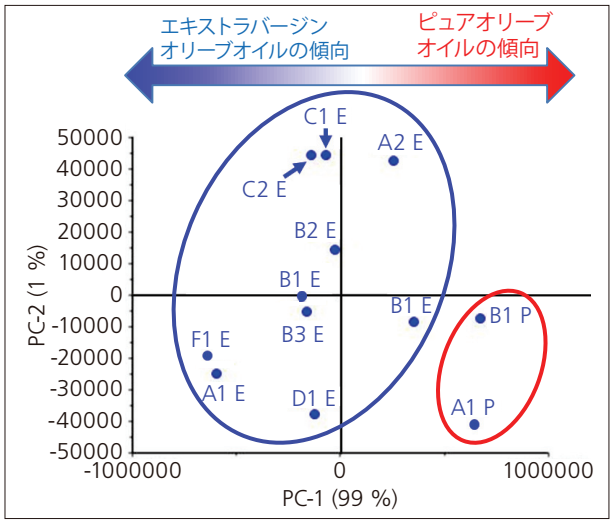

Fig. 13　オリーブオイルのスコアプロット
Scores Plot Using Fluorescence of Olive Oils

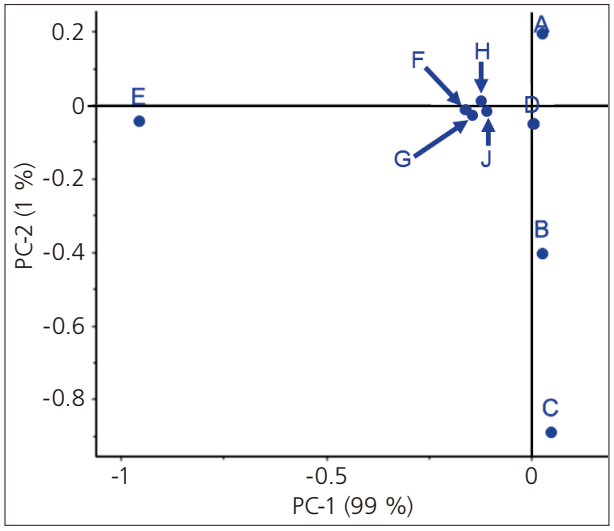

Fig. 14　オリーブオイルのローディングプロット
Loading Plot Using Fluorescence of Olive Oils

さらにクラスター分析の結果を Fig. 15 に示します。吸光度を用いた場合と比較して，A2 E と B1 E がピュアオリーブオイルのグループに含まれています。この結果からも，この 2 種がエキストラバージンオリーブオイルでありながら，ピュアオリーブオイルに近い傾向を持つことがわかります。蛍光スペクトルの利用により，エキストラバージンオリーブオイルの中でもビタミン類が多いものとそうでないものを予測できたと考えられます。

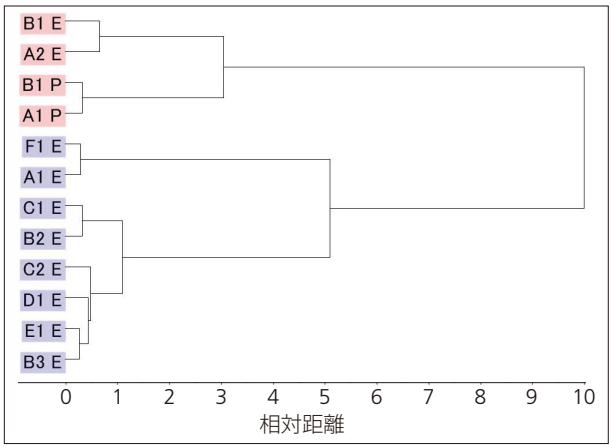

Fig. 15　オリーブオイルのクラスター分析結果
Cluster Analysis Result Using Fluorescence of Olive Oils

まとめ
Conclusion

紫外可視分光光度計 UV-2700 を使用して吸収スペクトルを測定しました。ピュアオリーブオイルよりエキストラバージンオリーブオイルの方が吸光度が高いことがわかりました。次に，分光蛍光光度計 RF-6000 を使用して，オリーブオイルの 3 次元蛍光スペクトルを測定しました。3 次元蛍光スペクトルから，蛍光強度やピーク幅の違いが確認できました。各スペクトルを用いて多変量解析を行いました。ピュアオリーブオイルとエキストラバージンオリーブオイルを判別することができ，特に RF-6000 の結果においては，エキストラバージンオリーブオイルの中でも特にピュアオリーブオイルに近いものを判別できました。

< 謝辞 >
本測定を行うにあたり京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 材料創製化学専攻 高分子フォトニクス研究室の橋本和美様のご協力をいただきました。厚く御礼申し上げます。

1）The Unscrambler®X は CAMO 社の商標または登録商標です。

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：2016年10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。