

Application News

No. A508

光吸収分析
Spectrophotometric Analysis

食品の差異解析 — 産地の異なる紅茶葉の3次元蛍光スペクトル —

Discrimination Analysis of Food
- Three Dimensional Fluorescence Spectra of Black Tea Leaves Cultivated in Different Countries -

食品分野では、産地偽装や異物混入などの食の安心安全に関わる問題に関心が持たれています。特に産地毎に決まるブランド品や環太平洋戦略的経済連携協定（TPP）により今後多くなる輸入品に対する判別は、目視や簡易分析では確認できない場合があります。

蛍光の3次元測定では、物質の蛍光の特徴をマッピングで表すことができます。3次元測定やその結果を利用した解析によって、物質の種類や産地の判別が期待されています。

ここでは、分光蛍光光度計 RF-6000 を使用して産地の異なる紅茶葉の3次元測定とその結果を利用して多変量解析を行い産地判別を試みましたのでご紹介します。

K. Sobue M. Sugioka

■紅茶葉の3次元測定

Three Dimension Spectra Measurements of Black Tea Leaves

Fig. 1 に RF-6000 の外観を示します。RF-6000 の制御ソフトウェア LabSolutions RF の 3D スペクトルモードを利用することで、蛍光のマッピングを測定することができます。Fig. 2 に市販の産地の異なる紅茶葉を示します。試料はそれぞれ特有の香りを持っており、また粉末の形状も異なっていました。

Fig. 3 に示したように試料を固体試料皿に詰めて、固体試料ホルダに設置しました。Table 1 の測定条件で、6 回ずつ試料を詰め替えて繰り返し測定を行いました。なお、事前測定で蛍光波長領域が 500 nm より長波長に現れることを確認したため、測定の際に蛍光側に Y50 のフィルタをセットしました。励起波長領域と蛍光波長領域を考慮し、フィルタを用いることで励起光の高次光をカットできます。分光蛍光光度計において高次光を検出しない方法の詳細は、UV TALK LETTER vol.17 を参照ください。

Table 1 測定条件
Measurement Conditions

使用装置	: RF-6000 固体試料ホルダ
スペクトルの種類	: 3D スペクトル
測定波長範囲	: Ex 300 nm ~ 750 nm, Em 550 nm ~ 850 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 3.0 nm
感度	: Low
蛍光側フィルタ	: Y50

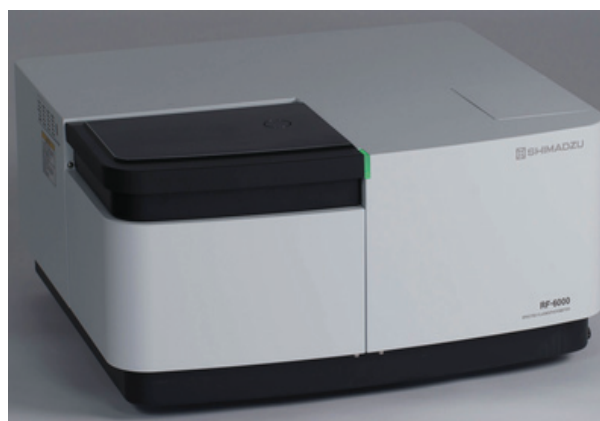


Fig. 1 分光蛍光光度計 RF-6000
RF-6000 Spectrofluorometer

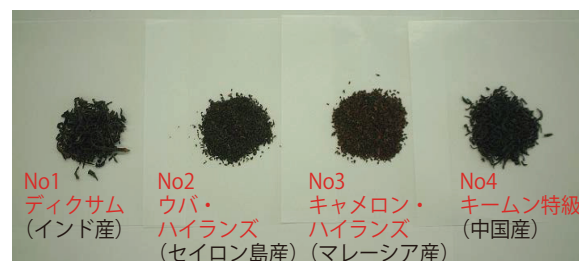


Fig. 2 産地の異なる紅茶葉
Black Tea Leaves Cultivated in Different Countries

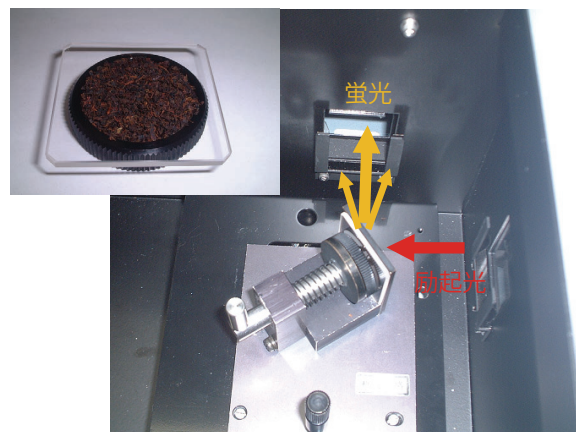


Fig. 3 試料皿と試料室の様子
Sample Dish and Sample Component

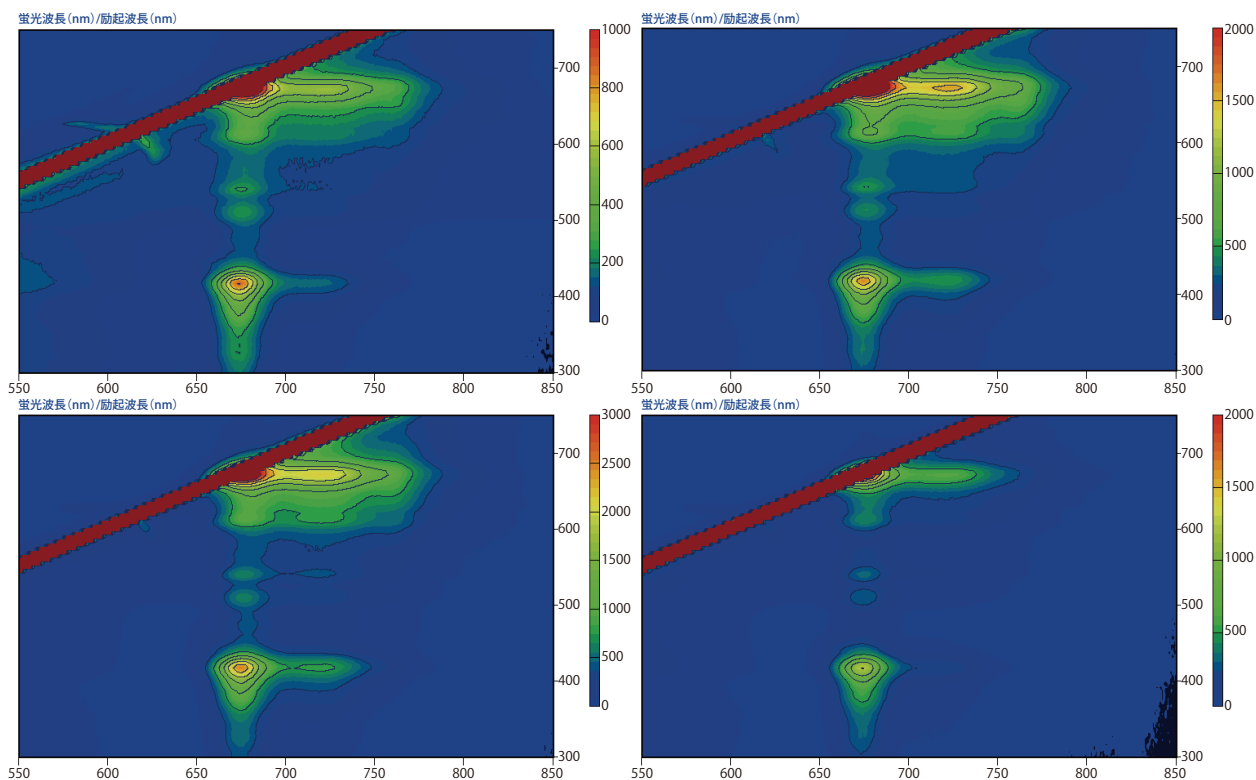


Fig. 4 3次元スペクトル 左上 No.1 インド産, 右上 No.2 セイロン島産, 左下 No.3 マレーシア産, 右下 No.4 中国産
Three Dimensional Spectra of Black Tea Leaves
Upper Left No.1 India, Upper Right No.2 Ceylon, Lower Left No.3 Malaysia, Lower Right No.4 China

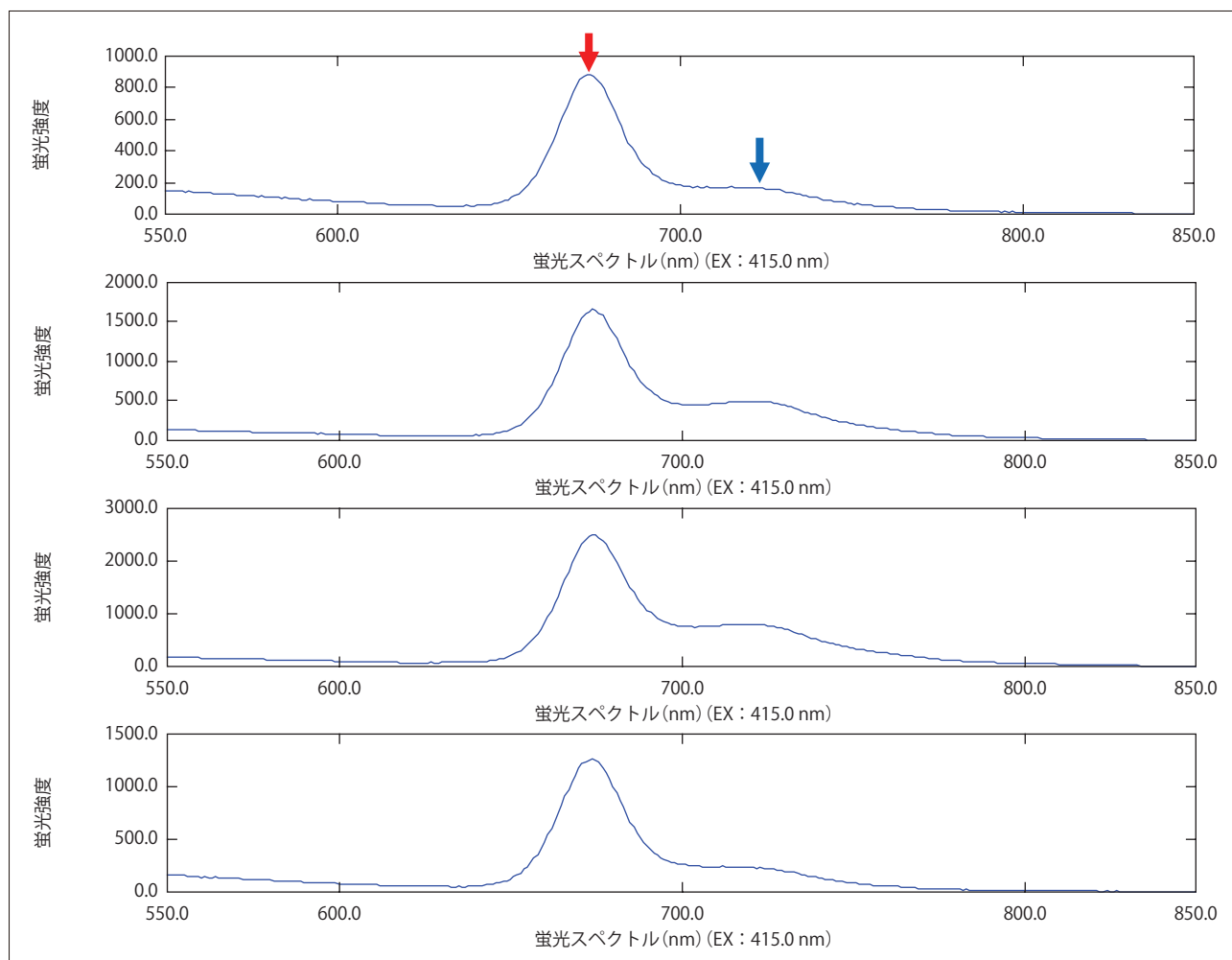


Fig. 5 励起波長 415 nm における蛍光スペクトル 上から順に No.1 インド産, No.2 セイロン島産, No.3 マレーシア産, No.4 中国産
Fluorescence Spectra of Black Tea Leaves Excited at 415 nm
In order from the top No.1 India, No.2 Ceylon, No.3 Malaysia, No.4 China

Fig. 4に各試料の3次元スペクトルの結果を示します。3次元スペクトルの縦軸は励起波長(Ex)を示し、横軸が蛍光波長(Em)を示して、色によって蛍光強度を表しています。3次元スペクトルから一目でどの励起波長でどこに蛍光が現れているかわかります。今回の試料では複数の励起波長でEm 680 nm付近に蛍光が観測されました。その他にEm 720 nm付近にも蛍光が確認できます。

Fig. 5にEx 415 nmにおける蛍光スペクトルを切り出した結果を示します。試料間で680 nm付近の蛍光ピークと720 nm付近の蛍光ピークの比率や形状に違いが確認できます。3次元スペクトルを鳥瞰しただけでは判別しづらい違いを、各蛍光スペクトルを確認することで判断できます。

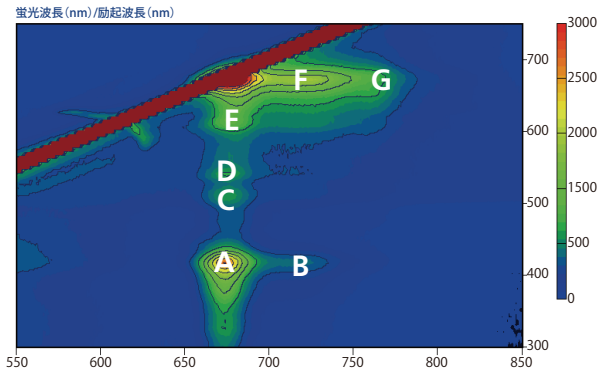


Fig. 6 3次元スペクトルと解析点 (No.3 マレーシア産)
Three Dimension Spectra and Analysis Points of No.3 Malaysia

■ 3次元スペクトルを用いた多変量解析

Multivariate Analysis Using Three Dimension Spectra

紅茶葉の3次元スペクトルを利用して、多変量解析を行い各試料の違いを調べました。Fig. 6に示した7地点の蛍光強度に対して、中心平均化処理を行い、多変量解析ソフトウェアThe Unscrambler[®]注1)を用いて差異解析を行いました。多変量解析の主成分分析(PCA)の結果から示されるスコアプロットをFig. 7に、ローディングプロットをFig. 8に示します。スコアプロットでは各データを視覚化でき、分類することができます。横軸が第一主成分軸、縦軸が第二主成分軸で各成分のスコアによって各データの位置が決まります。スコアプロットとローディングプロットは相対的な位置関係が一致するため、ローディングプロットを確認することで各グループに強い影響を与えている成分を知ることができます。今回の場合、スコアプロットよりセイロン島産とマレーシア産の紅茶葉は比較的近い位置にあり、インド産と中国産の紅茶葉が比較的近い位置にあることがわかります。ローディングプロットを確認すると、スコアプロットで右側にあるデータは相対的にFig. 6のAやFの蛍光ピークが大きく、一方で左側にあるデータは相対的にFig. 6のB, C, D, E, Gの蛍光ピークが大きいです。この結果から今回測定したセイロン島産やマレーシア産の紅茶葉が示す蛍光は相対的にAやFが大きく、一方で今回測定したインド産や中国産の紅茶葉が示す蛍光は相対的にB, C, D, E, Gが大きくと推測されます。

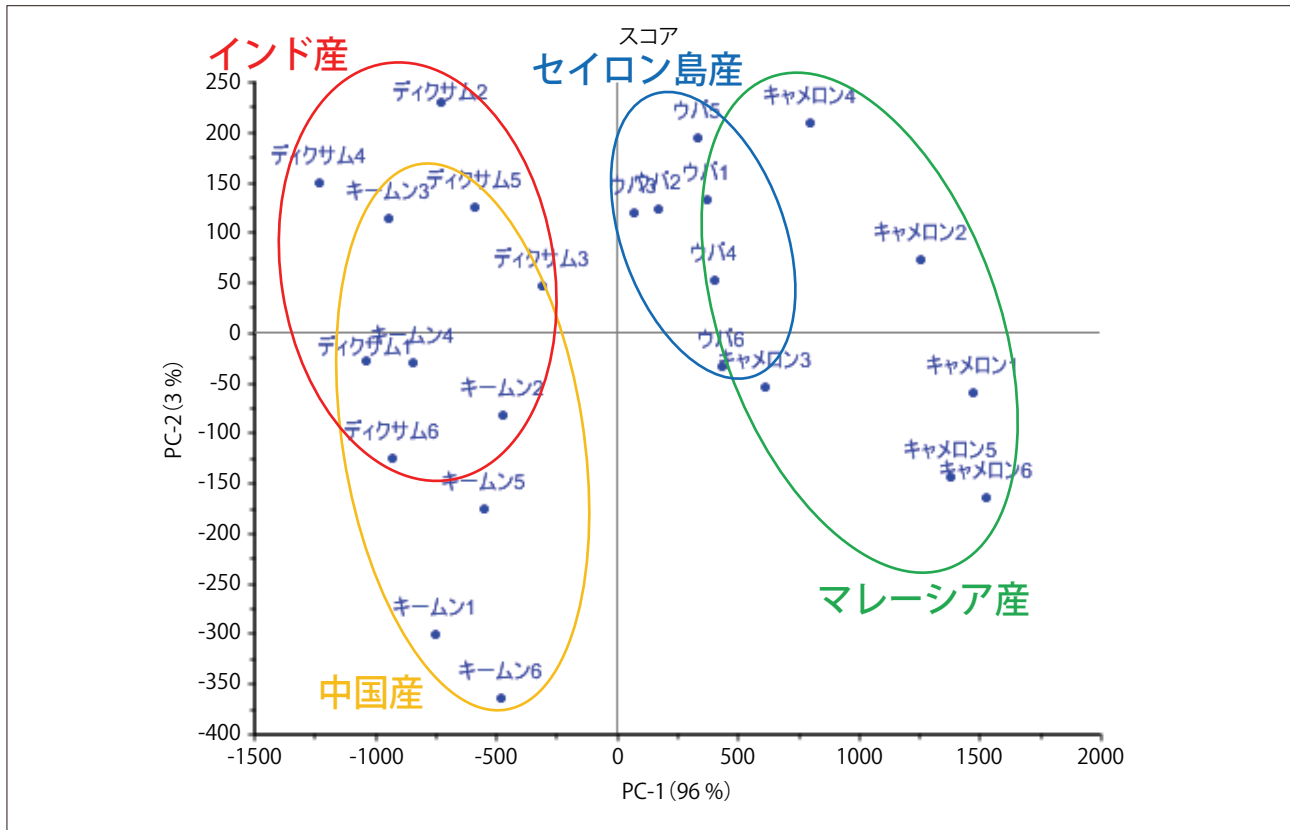


Fig. 7 紅茶葉のスコアプロット
Scores Plot of Black Tea Leaves

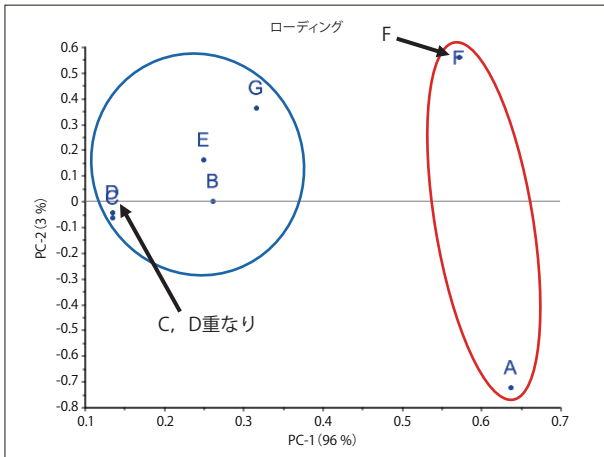


Fig. 8 紅茶葉のローディングプロット
Loading Plot of Black Tea Leaves

Fig. 9 にクラスター分析の結果を示します。クラスター分析は対象の中から似ている組み合わせから順番にまとまり（クラスター）をつくり、対象を分類する手法です。Fig. 9 の場合、横軸の長さが短く結合するほど近い関係にあることを示します。最終的には樹形図（ dendrogram ）ができます。今回の場合大きく分類するとウバ・ハイランズ（セイロン島産）とキャメロン・ハイランズ（マレーシア産）で同じクラスターを形成し、ディクサム（インド産）とキームン（中国産）で同じクラスターを形成しています。

3次元スペクトルを用い多変量解析をすることで、今回の試料では産地毎の特徴を分類することができました。

■ まとめ Conclusion

分光蛍光光度計 RF-6000 を使用して産地の異なる紅茶葉の3次元測定と多変量解析を行いました。3次元スペクトルから紅茶葉の蛍光のマッピングが得られ、さらに多変量解析を行うことで今回の試料では産地毎の違いを特徴づけることができました。

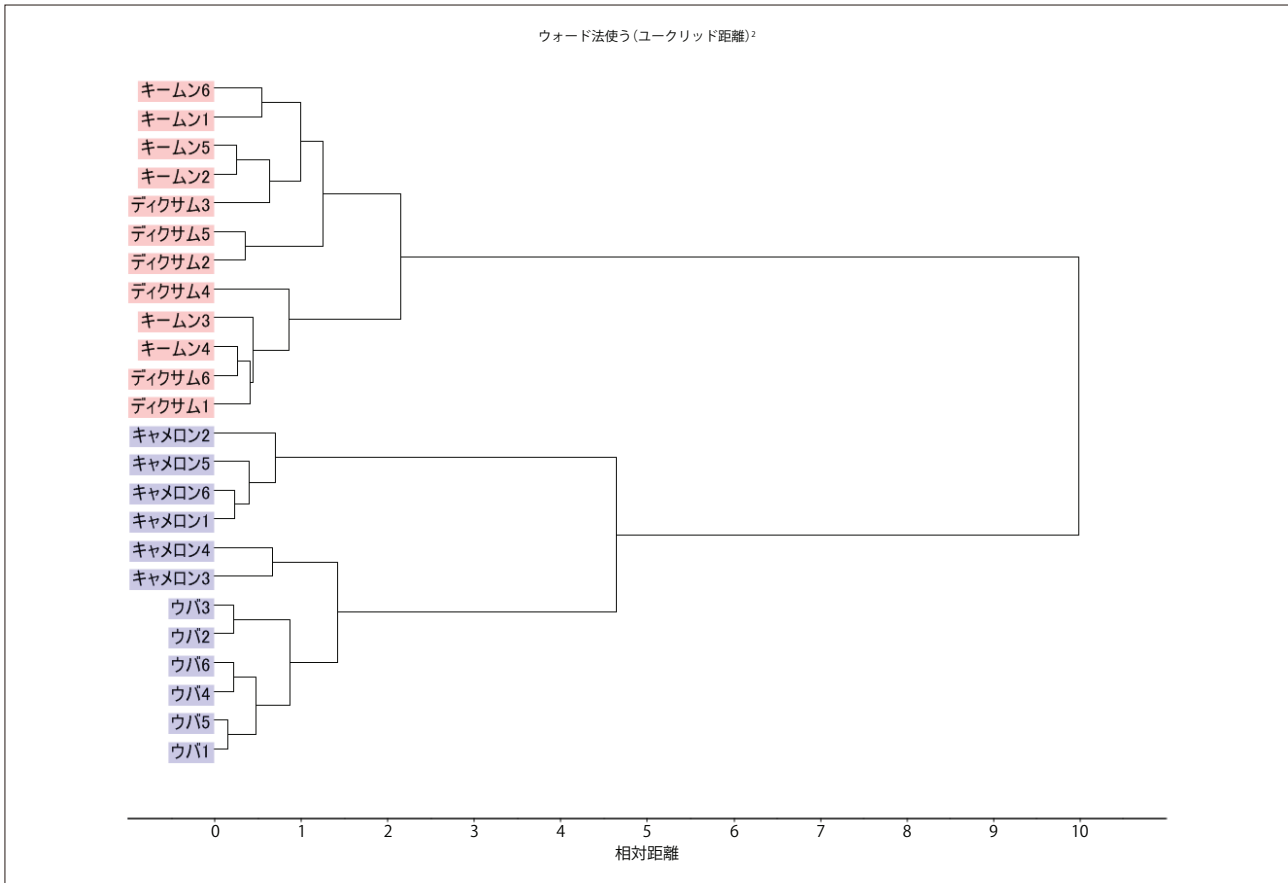


Fig. 9 紅茶葉のクラスター分析結果
Cluster Analysis Result of Black Tea Leaves

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