

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25850098

研究課題名(和文) ラマン分光による固体脂含量の非破壊測定法の開発

研究課題名(英文) Development of non-destructive Raman spectrometric method for solid fat content

研究代表者

本山 三知代 (Motoyama, Michiyo)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・畜産物研究領域・主任研究員

研究者番号：20414683

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：固体脂含量SFC値のラマン分光による非破壊計測技術の開発を目的として、食用油脂(120サンプル)を用いて実験をおこなった。油脂の結晶化度を表すラマン分光指標 C値とSFC実測値の関係を調べたところ高い相関が得られ、決定係数は0.987であった。CによるSFCの予測精度を検討するために、SFC予測値と実測値の回帰分析をおこなった。その結果、SFC実測値は予測値の95%信頼区間の範囲内にあり、約±5%SFCの精度で予測可能であった。また、油脂標品を用いて C値とSFC値の比較をおこなったところ食用油脂とは異なる回帰式が得られ、これは油脂標品と食用油脂の結晶多形の差異が原因であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of development of non-destructive Raman spectroscopic method for solid fat content (SFC) measurement, 120 samples of edible oils and fats were subjected to Raman and NMR measurements. Raman spectroscopic index C value, which represents a degree of crystallinity of fats, obtained high correlation with SFC values measured by NMR ($P < 0.001$) and the coefficient of determination (R^2) was 0.987. In order to consider how much the accuracy of SFC prediction by C, predicted-SFC and measured-SFC values were subjected to regression analysis. As a result, measured-SFC values were in the range of 95% confidence interval of the predicted value. C was able to predict SFC about $\pm 5\%$ accuracy. Moreover, using fat standard samples with simple crystal polymorphism, a different regression equation was obtained; It may be due to differences in crystal polymorphic types of fat standard samples and edible fats.

研究分野：食品化学

キーワード：食品 油脂 固体脂 分光 分析化学

1. 研究開始当初の背景

バターやラードのような動物性油脂やショートニングなどの食用加工油脂は、融点が比較的高く室温で固体(結晶)を含む。固体脂の含量は、油脂を含む食品の口溶け等の食感や、展延性などのテクスチャーに大きな影響を及ぼすことから、その適確な把握は食品に望ましい物性を与えるために大変重要である。食品の製造・流通中に非破壊的に固体脂含量がモニタリング可能となれば、油脂を含む食品に望ましい物性を付与するための結晶化工程(冷却やテンパリング工程)の管理を可能とし、ひいては製品の品質向上や、天然物であるが故の成分変動(品種・産地・季節変動)に起因する、ヒトの感覚だけではこれまで制御できなかった結晶化の失敗を未然に防ぎ、食用油脂の廃棄量減少にもつながると考えられる。

固体脂含量を定量する公定法には大きく2種類あり、1つは固体脂が融解するときの体積膨張を利用するディラトメトリー法、もう一つは結晶中と融液中とで油脂を構成する水素原子の環境条件が異なることを利用した核磁気共鳴法(NMR法)である。特にNMR法は簡便かつ再現性の高い方法であり、その測定値SFC(Solid Fat Content)は、固体脂含量を表す指標として用いられ、データの蓄積もある。しかし残念ながら、水分など油脂以外の成分を含む食品試料については脱水等の前処理が必要であり、食品の製造や流通の過程において製品中の油脂の固体脂含量を非破壊的に測定する方法にはなりにくい。

本研究代表者はこれまでにラマン分光を用いて脂肪の結晶について研究を進め、脂肪の結晶状態を非破壊的に評価できる手法を開発した。本手法は試料中の水分の影響を受けないため脂肪の抽出等の試料前処理の必要が無いことから、本手法を食品の製造や流通の過程におけるSFC値の非破壊計測へ応用することを考えるに至った。

2. 研究の目的

これまで調べることが出来なかった、食品の製造・流過程における油脂の結晶状態を解析可能とするために、SFC値のラマン分光による非破壊計測技術の開発を目的とした。

食用油脂は組成が複雑であり、その結晶状態も多様である。結晶には種類があり、副格子構造の異なる多形も存在する。このように様々な結晶状態の油脂について、そのラマンスペクトルからSFCが予測可能か明らかにすることを目指した。予測が可能な場合はその精度について検証をおこない、ラマン分光によるSFC計測法を開発し、一方、予測が困難な場合はその原因を解明し、ラマン分光法による新たな固体脂含量指標を、明確な定義とともに提示することを目指した。

3. 研究の方法

市場に実際に流通している様々な食用油脂(サンプルセット および からなる合計120サンプル)および標準油脂サンプル(トリパルミチン(PPP)およびトリオレイン(OOO))をガラス試験管に準備し、公定法(AOAC Official Method Cd 16b-93、Method II)に従って結晶調製した後、低分解プロトン NMR(Bruker, the minispec mq20)によりSFCを測定した。SFCは、試料の固体の部分に由来する減衰の早いシグナル量(S_S)の、全シグナル量($S_S + S_I$)に対する割合で求められる値である。

$$SFC \% = \frac{S_S}{(S_S + S_I)} \times 100 \quad \dots \text{式 1}$$

また、同一試料について試験管のガラス越しに785 nm 励起ラマンスペクトルを測定した。

得られたラマンスペクトルからSFC値を精度良く予測できるかどうかを、固体脂に特有の all-trans 型のポリメチレン構造($(-CH_2-)_n$)に由来するラマンバンドの強度に着目して検討をおこなった。具体的には、脂肪の結晶化度を表すラマン分光指標 α_C ^(文献¹⁾)について、SFCとの相関を調べた。 α_C は、

$$\alpha_C = \frac{I_{1297}}{I_{1297} + I_{1305}} \times 100 \quad \dots \text{式 2}$$

であり、式中の I_{1297} と I_{1305} はそれぞれ 1297 と 1305 cm^{-1} にピークを持つ CH_2 ひねりのバンドのフィッティングにより求めた面積強度である。

α_C と SFC の相関は、統計解析ソフト SAS (SAS Institute Inc.) の REG プロシージャを用いた回帰分析により調べた。

4. 研究成果

ココアバターなど幾つかの試料のラマンスペクトルに、蛍光の影響だと考えられる顕著なベースラインの上昇が見られ、含まれる天然色素や添加物に由来すると考えられた。ベースラインを適切に補正した後バンドフィッティングをおこない(図1) 得られた1297 と 1305 cm^{-1} のバンド面積より α_C を求めた。

得られた α_C 値と NMR 法により実測された SFC 値の相関関係を調べたところ高い相関が得られ ($P < 0.001$)、二次関数モデルを用いたときの決定係数は $R^2 = 0.987$ であった(図2)。モデルを直線とすると決定係数が下がったことから、 α_C は SFC と同一ではないと考えられたが、二次関数モデル等の適切な予測式を用いることで SFC の良い予測変数になりうると考えられた。そこで、ラマン分光指標 α_C による SFC 値の予測精度についての検証と、モデルが直線にならない原因究

明を実施した。

まず、 α_c により SFC がどの程度の精度で予測可能か検討するために、 α_c から予測される SFC 値と SFC 実測値の回帰分析をおこなった。その結果、SFC の実測値は α_c から予測された値の 95%信頼区間の範囲内にあり(図3) 約 $\pm 5\%$ SFC の精度で予測可能であると考えられた。SFC 値の測定誤差(1.3%)を考慮すると、5%は妥当な値であると考えられた。サンプルセット を用いた妥当性確認でも同様の結果が得られた。したがって、試料のラマンスペクトルから、ラマン分光指標 α_c と二次関数モデルを用いることで、精度良く SFC 値が予測できると考えられた。

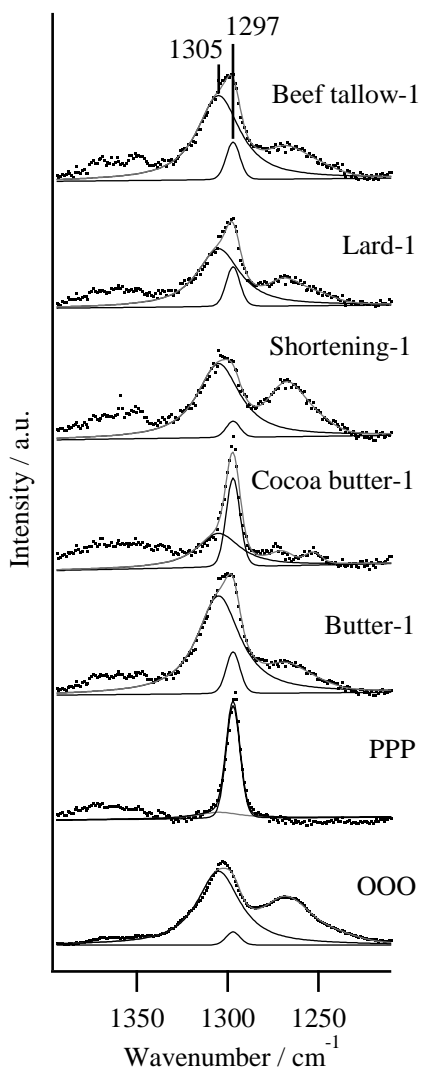


図1 代表的な食用油脂と油脂標品の 20 におけるラマンスペクトルとバンドフィッティング結果

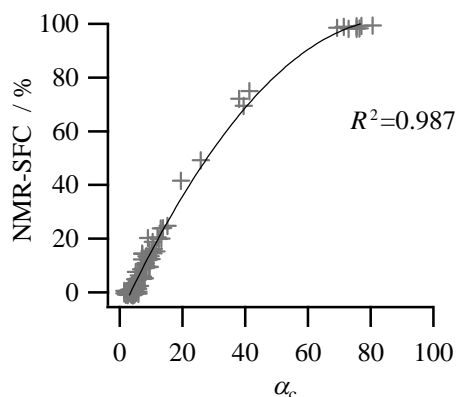


図2 試料(サンプルセット)から得られた α_c と SFC の相関

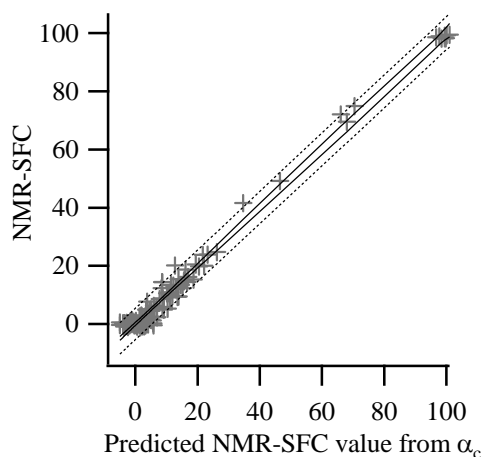


図3 ラマン分光により予測されたサンプルセットの SFC 値と、NMR 法により得られた SFC 実測値の相関。実線: 回帰線の 95% 信頼区間、点線: 予測値の 95% 信頼区間

また、 α_c と SFC 値の回帰モデルが直線にならなかった原因を解明するために、結晶状態が単純な油脂標品を用いて、 α_c と SFC 値の比較をおこなった。その結果、油脂標品の場合は直線で回帰できることが明らかとなった。図2に見られた様に上に凸の曲線となる理由として、 1305 cm^{-1} のラマンバンドの散乱断面積が 1297 cm^{-1} のバンドよりも大きいことが考えられたが、本結果より両バンドのラマン散乱断面積には差は無いことが示され、既報の内容とも一致した(文献2)。

油脂標品は組成が単純であり、本実験の結晶調製条件では β 型結晶多形のみが生成する。一方、さまざまな分子種からなる食用油脂は β 型以外の不安定な結晶多形(α 型など)を形成しやすい。このような油脂標品と食用油脂の結晶多形に見られる差異が、回帰式に違いが生じる原因である可能性がある。

NMR による SFC の測定は、プロトンのスピン-スピンエネルギー移動(T_2)の速度が、融液に比べて結晶で早いことを利用している。これまでに、 α 型多形では β 型に比べて

このエネルギー移動の速度が遅いことが報告されている(文献3)。すなわち、パルス印加後一定時刻における減衰の早いシグナル成分 S_s は α 型結晶で大きくなり、式1より SFC 値も大きくなる。

これに対しラマン分光指標 ac では、*all-trans* 型アルキル鎖の構造を観測対象としているが、 α 型も β 型もこの構造をとっており、多形の違いが ac 値に及ぼす影響は小さいと考えられた。

したがって、回帰式が上に凸の曲線になるのは、 α 型結晶を含む食用油脂で SFC 値が大きくなるのが理由であると考えられた。

また、試料の蛍光や分光装置の検出器の感度特性などは、ラマンスペクトル形状に影響を及ぼし、 ac の値に影響すると考えられることから、ラマン分光により固体脂含量を定量する際に用いる、校正用標準試料についても検討をおこなった。結晶化挙動の単純な油脂標品の混合物について検討したところ、適切な標品と結晶化条件を選ぶことにより、入手しやすく調製も容易な校正用標準試料として利用できると考えられた。

引用文献

(文献1) Motoyama, M., et. al. (2013). J. Agr. Food Chem. 61(1): 69-75.

(文献2) Strobl GR and Hagedorn W. (1978). J. Polym. Sci. Pt. B-Polym. Phys. 16(7): 1181-1193.

(文献3) van Duynhoven J et. al., (2002). J. Am. Oil Chem. Soc. 79(4): 383-388.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

Motoyama M, Hayashi S, Osamura K, Chikuni K, Nakajima I, Aikawa K, Sasaki K. Development of Raman spectroscopic on-site method to measure solid fat content. 60th International Congress of Meat Science and Technology. Abstracts. Punta del Este (Uruguay), 2014.

〔図書〕(計 1件)

Motoyama, M. Raman Spectroscopy –Raman Spectra of Meat and Obtainable Information–, Chapter 15, in ‘Advances in Meat Processing Technology’. CRC press, 発行確定、(印刷中)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

○取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

本山 三知代 (MOTOYAMA, Michiyo)
独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所 畜産物研究領域・主任研究員
研究者番号: 20414683

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

林 繁信 ((独)産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門)
治村 圭子 ((独)産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門)