

解 説

機器分析と食品の「おいしさ」解析

鈴木 俊之

株式会社パーキンエルマー ジャパン

(受取日：2020年7月27日，受理日：2020年9月29日)

Multivariate Analysis Technique for Various Analytical Results to Express Gustatory

Toshiyuki Suzuki

PerkinElmer Japan Co., Ltd

(Received July 27, 2020; Accepted Sep. 29, 2020)

Analytical instruments which has been gradually improved are widely used to get various property of analyte. Those techniques give analysts much bigger data that makes complication to analyze the property of analyte. Moreover, those results indicate different intensity and dimension when various analytical instruments are used, it often becomes the cause of their complication to get detail of property of analyte. Recently, informatics become convenient tools to analyze big data which can be extracted various target property. This report offers a topic of informatics to analyze relation between gustatory of honey and analytical data using DSC, FTIR, ICP-MS, ICP-OES and GC/MS, which include how combine and normalize data which indicate different intensity and different dimension.

Keywords: Multivariate analysis, food, properties, extraction property.

1. はじめに

最初に，本稿が熱分析中心の内容でなく，複数の分析機器を工業用途で扱うための技術を中心として執筆することを容赦いただきたい。

分析機器は，試料の多種多様な特性を解析し，分析対象とした材料の特性や応用範囲の知見を得るために用いられる。現在では熱特性，構造特性，力学特性など材料の特性を左右するこれらの特性解析を目的として機器分析を用いた高度な解析方法が提案されている。たとえば，赤外分光法における微細領域のスペクトルマッピング¹⁾など単体の機器を高精度化させた手法，示差走査熱量計 (DSC) や熱重量測定 (TG) などの可変昇温法^{2,3)}などが報告されている。熱分析は，時間とともに状態が変化する材料であっても固体・液体など分析対象の状態を問わず熱特性が解析できる有効なツールである。一方で，熱特性解析に用いられる熱分析は，材料の分子構造に由来する特性が得られないため，これを補うために熱分析と構造特性の組合せ，機器単体での解析結果の異なる次元の情報を同時に得る同時測定技法の TG-MS 質量分析同時測定法⁴⁾ DSC-X線回折同時測定法⁵⁾ DSC-ラマン分光法同時測定法⁶⁾ が利用されている。この同時測定技法は，試料特性の解析に有効なツールとして工業用途，研究用途など広範に利用されており，分析機器メーカーは，高精度・高機能化製品や新規技法の開発を継続している。機器の高機能化，高精度化によって多くの情報が簡便に得られるようになった分析機器を用い，正確な結果を

得るためには機器それぞれの取扱いに習熟が必要とされる。おいしさの嗜好性と化学分析を結び付けた高橋ら⁷⁾ 報告に示された様に機器を取り扱う分析担当者にとって高精度・高機能化した分析機器の結果は，時間，波数，温度など異なる次元を示す結果⁸⁻¹⁵⁾ から分析対象の総合的な特性判断が必要とされる。分析担当者には測定対象に関して知見が求められ，情報量の増大が，解析を困難にする。現在では，様々なビックデータにおける疎性データなど計算科学と材料の解析^{17,18)} も報告されているものの，材料の解析において客観的特性の取得ができる分析機器で得られた次元が異なる結果を同一次元の機器分析結果として同時に解析し，これら機器分析の結果と食味など主観に基づく特性の相関を判断することは困難であった。そこで小林らの既報¹⁹⁾ では，花の種類，食味，産地などが異なる天然食品である蜂蜜の複雑な要素を誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS)，ICP発光分光分析装置 (ICP-OES)，ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS)，フーリエ変換赤外分光分析装置 (FTIR)，DSCを用い，“蜂蜜の特性を解析する”といった抽象的な目的のもと，測定を実施し，各々の機器で得た結果を多変量解析すると品種分類に有効であることを示した。“おいしさ”の様に主観が主体の官能試験の結果と食味に影響する蜂蜜の特徴を多変量解析する方法を報告した。^{19,20)} 本稿では，この天然食品の蜂蜜の特徴解析を取り上げ，熱分析とインフォマティクス，複合分析への応用の展望を示す。

2. 試料と分析条件と食感

【試料】

試料として花の種類、産地の異なる市販の蜂蜜 9 種（みかん、オレンジ、蕎麦、とち、スペイン産ラベンダー 2 種、フランス産ラベンダー、中国産ライチ、ベトナム産ライチ：狩野養蜂所）を準備した。蜂蜜の種類は“産地”＋“蜂蜜の花の種類”として表記した（Table 1）。

Table 1 List of producing district and flower kind.

Flower kind	Expression	District
とち（日本産） Japanese horse chestnut	JC	Japan
みかん（日本産） Mandarin	JM	Japan
ライチ（ベトナム産） Litchi	VL	Vietnam
ラベンダー（フランス産） Lavender	FLV	France
オレンジ（日本産） Orange	JO	Japan
ライチ（中国産） Litchi	CL	China
ラベンダー#1（スペイン産） Lavender#1	SLV1	Spain
ラベンダー#2（スペイン産） Lavender#2	SLV2	Spain
そば（日本産） Buckwheat	JB	Japan

【装置と測定目的】

5 種の分析装置（DSC, FTIR, ICP-OES, ICP-MS, Trap-GC/MS）を用い、それぞれの機器の分析担当者が、蜂蜜の特徴を示す結果を得ることを目的として分析を実施した。分析目的と装置を次に示す。蜂蜜の糖と水に由来するガラス転移を DSC 8500（パーキンエルマー社製入力補償 DSC）、糖と水に起因するスペクトルをユニバーサル ATR アクセサリと Frontier（パーキンエルマー社製 FTIR）、ミネラル成分と微量元素を Avio 500（パーキンエルマー社製 ICP-OES）と NexION 2000（パーキンエルマー社製 ICP-MS）、揮発成分をパーキンエルマー社製 Turbo Matrix Trap 110 と Clarus SQ 8（GC/MS）を用いて分析した。

【特性の分類とデータの解析】

各種機器で得たデータは分析実施後、詳細解析せず、テキスト形式のデータにした後、TIBCO Spotfire（多変量解析、可視化ソフトウェア）でクラスタ分析し、可視化した。

【食味試験】

食味経験のない参加者の甘味、酸味、苦味、果実感、香り、滑らかさ、色などの感想を 5 段階評価し、食味試験参加者の評価の平均値を蜂蜜の特徴解析に使用した（Fig.1）。

3. 結果と特徴解析

Fig.1 に示した食味の 5 段階評価のレーダーチャートでは、蜂蜜 9 種それぞれは分布が異なり、食味試験からは産地、花の種類に由来する傾向は確認できなかった。スペイン産、ラベンダーの花の蜂蜜は種類が同じ SLV1, SLV2

（Fig.1-5, Fig.1-6）は、似た食味を示す予想できるにもかかわらずレーダーチャートの食味分布（Fig.1-10）は異なる結果を示した。なお、Fig.1 の結果は鑑定士によって実施された試験でないから、食味経験のない参加者の食味試験の結果は客観的な判断ではなく、嗜好を反映した結果としてレーダーチャートに示された可能性が高い。

DSC の蜂蜜の糖と水に由来するガラス転移の結果、FTIR の糖と水に起因するスペクトル、ICP-OES と ICP-MS のミネラル成分と微量元素、Trap-GC/MS の揮発成分の分析結果には蜂蜜 9 種で違いが確認された。本稿ではすべての分析結果を掲載していないことを容赦いただきたい。

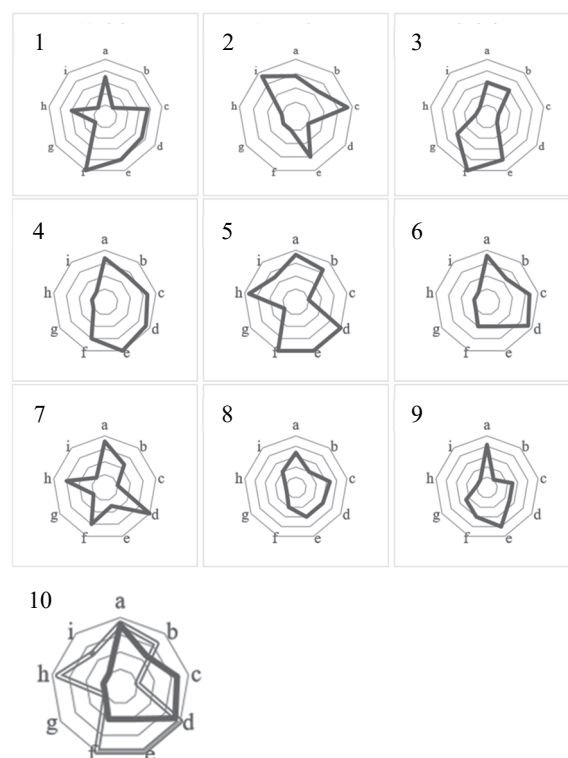


Fig.1 Radar chart which are consist of tasting results, smelling, a) sweetness, b) sourness, c) bitterness, d) flower taste, e) softness/smoothness, f) color brightness, g) fruity smell, h) flower smell and i) medicinal herb smell. Honey of 1) JM, 2) JB, 3) JC, 4) JO, 5) SLV1, 6) SLV2, 7) FLV, 8) CL, 9) VL and 10) compare between SLV1 and SLV2.

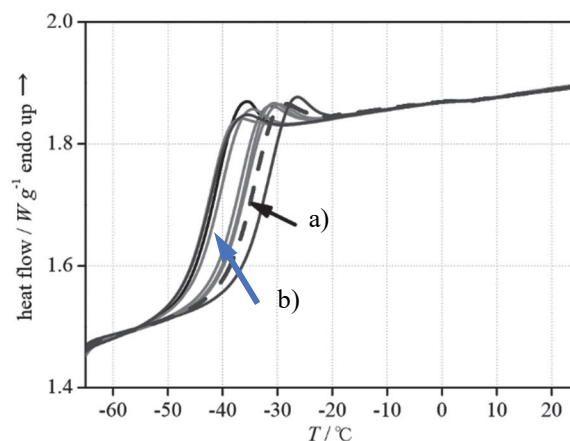


Fig.2 Obtained DSC of samples, heating at $50^{\circ}\text{C min}^{-1}$, 5 mg, the sealed Al pan under N_2 flow 20 mL min^{-1} . a) SLV1, b) SLV2.

Fig.2 に示した昇温速度 $50^{\circ}\text{C min}^{-1}$ の DSC 結果では、スペイン産ラベンダー2 種の蜂蜜のガラス転移が -45°C (SLV2), -35°C (SLV1) とそれぞれ異なり、SLV1 と SLV2 の食味の分布 (Fig.1-10) が異なることと一致し、花の種類と産地が同じであっても特性が異なることを示唆する。この特性の違いは蜂蜜を構成する成分の違い影響と予想できる一方で、9 種の蜂蜜で比較すると DSC の結果は、 -45°C 付近にガラス転移を示す試料と -35°C 付近にガラス転移を示す試料、 -30°C 付近に示す試料に分かれる傾向が確認できるものの、Fig.1 に示した食味レーダーチャートとの相関は得られなかった。

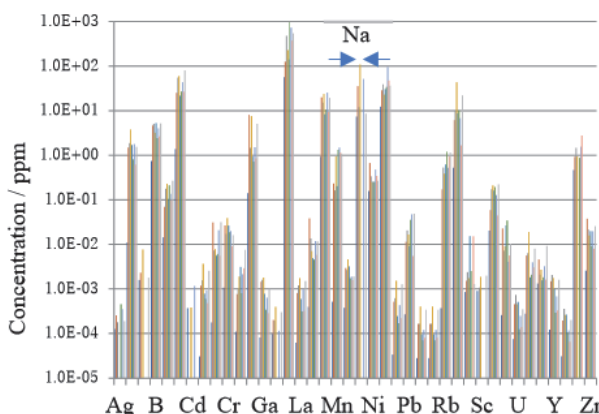


Fig.3 Matrix of elements by ICP-OES and ICP-MS. The Matrix are aligned from left to right, JM, JO, VL, JB, FLV, SLV1, SLV2, JC and CL. The matrix shows concentration of elements of Ag, Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Fe, Ga, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Nd, Pb, Pm, Pr, Rb, Si, Sn, U, V, W, Y, Yb, Zn and Zr.

ICP-OES および ICP-MS で得たミネラル成分濃度 (Fig.3) は、9 種の蜂蜜ごとに異なった。多くの成分情報を含む ICP-OES, ICP-MS の結果は、蜂蜜の特徴として解析に適している。蜂蜜など天然物の成分は、工業材料の成分と異なり、常に一定でないから、産地由来の特徴を抽出する必要がある。Fig.3 の場合、スペイン産のラベンダー (SLV1) のナトリウム濃度が最も高く、ベトナム産ライチは検出下限値で含まれない結果を示した。正確な分析を実施する場合には、試料を変えた再現性の確認が必要になる。試料を変え、分析データ数を増やす必要があることを示している。

ここで、蜂蜜の特徴を複数の機器で分析し、DSC の結果はガラス転移の差、Trap-GC/MS の結果はクロマトグラムの差、FTIR の結果ではスペクトル強度比の違いが確認されていることを補うために、DSC, ICP-MS, ICP-OES, GC/MS, FTIR の結果のピーク位置と強度から UPGMA を用いて多変量解析すると Fig.4 が得られた。

多変量解析した Fig.4 のローディングプロットには、プロットが連続する曲線を示す Fig.1a, プロットの凝集する Fig.1b のエリア、およびこれらを除く分散を示すプロットが確認できた。Fig.4a は、ローディングプロット上に示された DSC の結果であり、ローディングプロットを中心に重心を持つ連続な曲線を示した。

FTIR のプロットは、ローディングプロットの Fig.4b に示され、分散が確認されなかったことは、ローディングプロット全体に影響が少ないことを意味する。FTIR の結果はスペクトルが異なっている、強度比の差が他の分析と比較して少ないことを意味する。一方で、データ強度差の大きい ICP-MS, ICP-OES および GC/MS のプロットはプロット位置に分散が確認されたことから、Fig.4 は、強度や強度

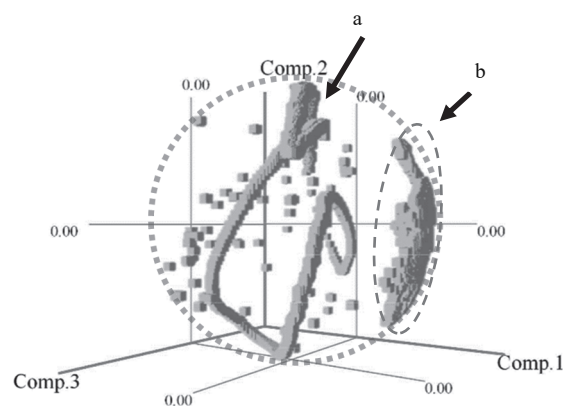


Fig.4 Loading plot of honey samples with a) DSC, ICP-MS, ICP-OES, b) FTIR and GC/MS.

差の大きな結果の影響を受け、変化の少ない DSC や強度の弱い FTIR の結果は、ローディングプロット全体に影響が小さいことを示唆する結果となった。これは ICP-MS の結果のように強度が 10^9 以上の幅を示した分析結果は、DSC や FTIR の様に得られる数値幅の小さい結果と同一に解析してはならないことを示す。すべての分析結果は同一試料の異なる特性を示す結果であるから、これらを同等な情報として扱うためには試料固有特性として強度の異なる分析結果の規格化が必要となる。ここで多くの機器分析の結果は、特異点を解析し結果を得ることに注目し、特異点の強度と特性軸内の移動を示せば、規格化できる。Fig.2 の DSC の結果は、Fig.4 に示した様に連続関数として表現されるから、DSC の結果を特異点として扱うためにガラス転移の中間温度と ΔC_p とした。

それぞれの分析データ全体を試料特性情報の秩序あるクラスターとして考え、横軸を特性軸、縦軸を分析機器の結果強度として、分析機器を一定の順に並べ替えたのち、移動強度を算出する。試料の特性軸をあらかじめ秩序ある主成分軸と定義すると、横軸を無単位の特性軸 F とできる。 $x_1 = F(x_0)$, $x_{n+1} = F(x_n)$ とすると、増分 $x_i = F(x_i, x_{i+1})$ とし、 F は特性軸に対して可微分とすれば、特定位置の分析機器の結果は x_n , x_n におけるデータ強度 I_n を $I_n = G(F(x_n))$ として表現できる。機器ごとに異なる $x_i \sim x_{i+1}$ の移動強度を加味するため、強度 I と角度 θ を用い、 $\theta_n = \tan((I_n - I_{n-1}))^{-1}$ として規格化する。この横軸は物理量を示さず、データの移動として表現すれば、データの縦軸すべてを規格化できる (Fig.5)。

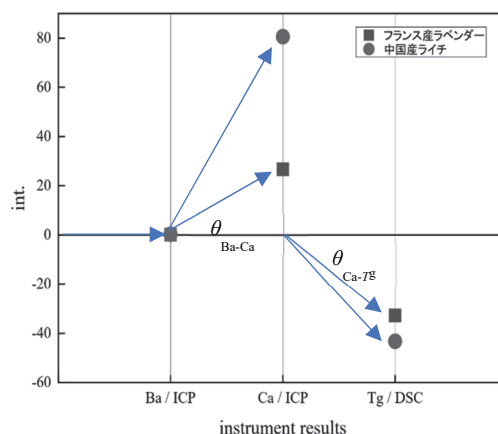


Fig.5 Normalize value from quotative results with arc tangent as sample properties for ICP-OES and DSC. ■: FLV, ●: CL.

この規格化を用いると GC/MS の結果の様に retention time (X 軸の位置) とピーク (ピーク数と強度) が試料ごとに異なり、一定でない結果 (Fig.6) であっても、特異点の有無と移動を示す数値として規格化できる。

θ を用いると、ピークの有無, 移動距離, 食味情報 (Fig.1) を組み入れて規格化し, 多変量解析したヒートマップとデンドログラムを Fig.7 に示す。

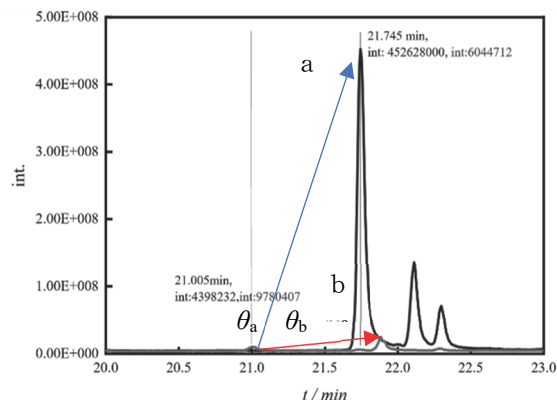


Fig.6 Normalize value for continuous data with arc tangent as time scale properties for GC/MS.

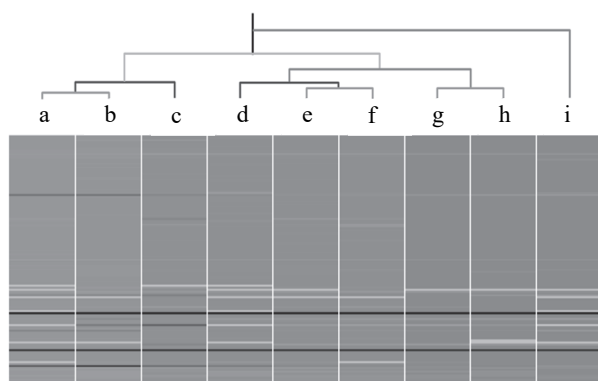


Fig.7 heat map of a) JC, b) JM, c) VL, d) FLV, e) JO, f) CL, g) SLV1, h) SLV2 and i) JB.

Fig.7 (上図) のデンドログラムから、蜂蜜の特徴を分類することができ、9 種の蜂蜜でも蕎麦の蜂蜜 (Fig.7i) は他の種類の蜂蜜と異なる特徴を示すことがわかる。同じ柑橘類のオレンジの花 (Fig.7e) とみかんの花 (Fig.7b) の蜂蜜の分類は異なり、ラベンダーの花の蜂蜜 (Fig.7d, g, h) であっても産地ごとに分類が異なることを示しており、分析機器単体で詳細解析せずに特徴の分離ができたことを示している。Fig.7 のデンドログラムとヒートマップでは分類を理解しやすい一方、互いの影響を判断が困難である。そこで、視覚的に判断する目的で試料と分析結果を包括する PCA スコアプロット (Fig.8) を作成した。

この Fig.8 はヒートマップから得た PCA スコアプロットであり、Fig.8a~Fig.8i のプロットは蜂蜜の種類それぞれの特徴の重心を示す。蕎麦の蜂蜜 (Fig.8i) のプロットを除く 8 種の蜂蜜の特徴は、三角錐 cdf の面 cdf に近傍のプロットにされた。蕎麦の花の蜂蜜 (Fig.8i) は、Fig.7 のデンドログラムと同様、他の 8 種とプロット位置が異なり、9 種の蜂蜜の中で最も特異な特徴を示すことがわかる。Fig.1-2 の食味試験でも苦味 (Fig.1c), 薬草の香り (Fig.1i) などほか

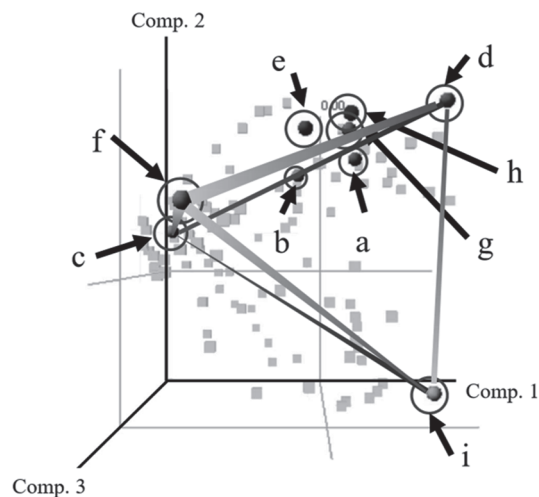


Fig.8 PCA score plot of a) JC, b) JM, c) VL, d) FLV, e) JO, f) CL, g) SLV2, h) SLV1 and i) JB.

の 8 種と蜂蜜とは異なる食味を示すことと一致する。Fig.8 の各プロットには分析機器で得た各種特徴を含むから、Fig.8 を構成する情報から食味に影響する情報を抽出することができ、可能性を示している。この“おいしさ”と同様、Fig.8 から様々な情報を抽出することができる。Fig.8 の面 cdf 近傍にプロットされた蜂蜜には分布傾向が確認できることを利用し、古川ら²¹⁾は、蜂蜜の産地を特定できることを報告している (Fig.9)。Fig.7i のデンドログラムでは他の 8 種の蜂蜜から分離される蕎麦の花の蜂蜜であっても、Fig.9 の規格化されたデータ群の PCA スコアプロットを用いると日本の蜂蜜 (Fig.9l) に最も近く、アジア地域産の蜂蜜 (Fig.9k), 欧州地域産 (Fig.9j) の蜂蜜から分離されることを視覚的に表現できる。

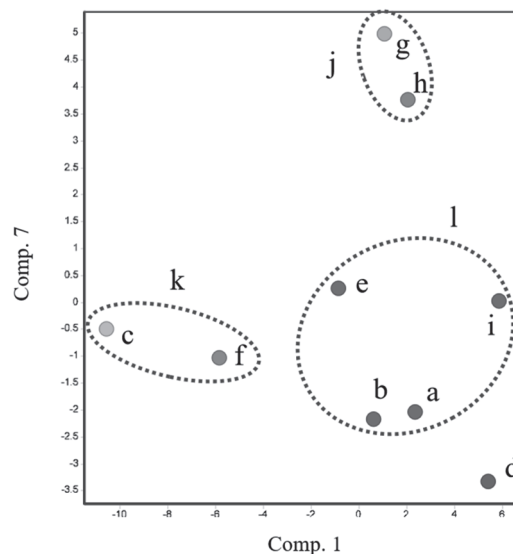


Fig.9 Distribution map of a) JC, b) JM, c) VL, d) FL, e) JO, f) CL, g) SL2, h) SL1 and i) JB. Segment of Area j) Spain, k) Asia, l) Japan.

Fig.10 に蜂蜜 9 種のスコアプロット (●) とプロパティのスコアプロット (■) を示した。食味試験の総合評価を示す Fig.10a は, PCA スコアプロットの重心から矢印 e 方向に位置する。甘さを示す Fig.10d は, 食味試験が平均で甘みの強い中国産ライチの蜂蜜 (Fig.1-3-a) に近く, 甘み単独で解析しても蜂蜜の食味に大きく影響しないことを示している。薬草の香りを示す Fig.1b は, PCA スコアプロットの重心を起点に Fig.10a や多くの蜂蜜のスコアプロットと対極の位置関係を示し, 蕎麦の花の蜂蜜に近いことから, 蕎麦独特の風味に影響していることがわかる。Fig.10c のガラス転移は, 分析結果のスコアプロットと比較して PCA スコアプロットの重心に近く, 蜂蜜の特性全体に与える影響が少ないと判断でき, この要因として, DSC の結果をガラス転移中間温度と ΔC_p を用いたことが予想できる。ミネラルである Na を示す Fig.10g は, ICP-MS, ICP-OES の結果由来であり, 中国産ライチの花の蜂蜜が高い濃度である一方, ベトナム産ライチの花の蜂蜜では低い濃度を示す (Fig.3)。食味の総合スコア Fig.10a はベトナム産, 中国産のライチのスコアプロットの中に位置するから, 食味に大きく影響していないと判断できる。この判断は, 分析機器を用い詳細解析を必要とするかの判断基準にすることができることは, 多くの分析機器を取扱い特性解析する場合の指針とすることができると考えている。

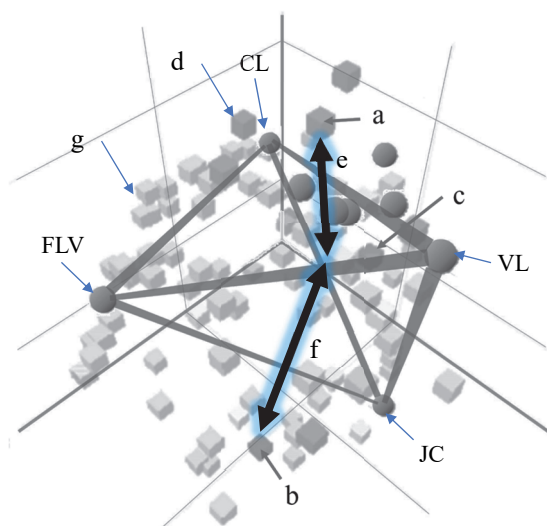


Fig.10 relation between Gustatory and instruments results on the PCA map, blue line: sample properties, red line: gustatory. ■: Property of a) tasting score in total, b) medicinal herb smell and c) Tg. ●: PCA score of honey.

4. まとめ

本稿では,

- ・天然物の蜂蜜を取り上げ, 同一試料を複数の分析機器を組合せて試料の特性として解析する手法を示した。
- ・強度と次元の異なる分析結果を規格化し, 多変量解析すると, 試料の特性として図示できるだけでなく, 特徴の影響の判断を容易にする方法として示した。
- ・客観的な情報が得られる機器分析の結果に“おいしさ”の情報を組み入れ, “おいしさ”の影響を図示することができた。

産地判別の様に明確な目的があれば, ローディングプロットを利用して, 異なる特徴を示す分析結果の総合解釈

するツールとして利用できることを示した。

本手法は分析結果を用い, 濃度, 成分などの特性を直接抽出する手法ではなく, 工業用途に必要な特性を明示し, 詳細分析の指針を決定ことに主眼を置いた手法といえる。本手法をはじめインフォマティクスを分析機器に応用すると, 機器分析前の検討が不足し, 目的を不明瞭な分析結果でも特性情報が抽出でき, 開発の短縮に有効に用いることができると考える。

今後, 熱分析の連続データの解析手法の確立, 劣化解析や熱分析の同時測定への応用の報告を予定している。

文 献

- 1) J. D. Menczel, et al., *Thermal analysis of polymers: Fundamentals and applications*, pp168-203 (2009).
- 2) J. Rouquerol, *Thermochimica Acta* **144.2**, pp209-224 (1989).
- 3) B. R. Wood, et al., *Gynecologic oncology* **93.1**: 59-68 (2004).
- 4) E. Mészáros, et al., *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **79.1-2**: 61-70 (2007).
- 5) 上原ら, 分析化学 **67(3)**, 145-151 (2018).
- 6) 鈴木ら, ぶんせき (12), 683-688 (2014).
- 7) 高橋ら, ぶんせき (8), 388-394 (2010).
- 8) C. Cordella, et al., *Journal of agricultural and food chemistry* **50.7**, pp1751-1764 (2002).
- 9) M. S. Brauss, et al., *J. Agric Food Chem* **46** 2287-2292 (1998).
- 10) 一色ら, 日本食品科学工学会誌 **62.5**, pp257-262 (2015).
- 11) F. Boukobza, et al., *Postharvest Biol. Technol.* **25** 321-331 (2002).
- 12) E. Fallik, et al., *Postharvest biology and technology* **22.1**, pp85-91 (2001).
- 13) J. C. Pfeiffer, et al., *Perception & psychophysics* **68.2**, pp216-227 (2006).
- 14) J. G. Wilkes, et al., *Journal of Chromatography A*, pp3-33 (2000).
- 15) J. Ahmed, et al., *Journal of Food Engineering* **79.4**, pp1207-1213 (2007).
- 16) C. Cordella, et al., *Journal of thermal analysis and calorimetry* **71.1**, pp279-290 (2003).
- 17) R. Ramprasad, et al., *Computational Materials*, **3.1**, pp1-13 (2017).
- 18) K. Watanabe, et al., *IEICE TRANSACTIONS on Information and Systems*, **92.7**, 1362-1368 (2009).
- 19) 小林ら, 工業材料 **67(9)**, pp50-51 (2019).
- 20) 鈴木ら, 第55回熱測定討論会講演要旨集, pp111 (2019).
- 21) 古川ら, 日本分析化学会第 68 年会講演要旨集, J1006 (2019).



鈴木 俊之

Toshiyuki Suzuki

E-mail: Toshiyuki.suzuki@perkinelmer.com