

迅速で信頼性の高い品質分析

FT-NIRを用いた小麦粉のタンパク質、水分、灰分の分析

キーワード

TQ Analyst ソフトウェア、小麦粉、灰分、タンパク質、水分、近赤外、FT-NIR、部分最小二乗法 (PLS)

はじめに

タンパク質、水分、灰分は小麦粉の品質を決定する主要な測定項目です。これらの項目は一般的に一次分析法またはフーリエ変換近赤外分光法 (FT-NIR) を用いて定量されています。一次分析法をFT-NIRに置き換えることで、より迅速な結果と正確な定量が可能となり、小麦粉が仕様に適合しているかどうかを確認することができます。製粉産業における迅速な品質検査は、生産量の最大化、抽出効率のモニタリング、そして増え続ける世界の食品需要に対応する小麦粉の生産に不可欠です。また、品質検査データは小麦粉を用途別に分別し、供給先の仕様を正確に満たすために使用されます。本アプリケーションノートでは、小麦粉のタンパク質、水分、灰分含有量の定量に一般的に使用される方法について説明します。

タンパク質の含有量は、小麦粉の品質を判断する基準であり、その機能性は最終製品の特性にとって極めて重要な要素です。例えば、スナックやケーキのようなサクサクとした食感の製品には低タンパク質が、パンのようなモチモチとした食感の製品には高タンパク質が好まれます。小麦粉や小麦に含まれるタンパク質を測定する一次分析方法としては、主にケルダール法とデュマ法があります¹。これらの方法はいずれも長時間の試料調製と時間のかかる分析を必要とし、ケルダール法の場合には腐食性かつ毒性のある化学薬品を使用します。

水分は賞味期限と保存のために重要です。水分が非常に多い場合 (14.5%以上)、カビ、バクテリア、虫の発生を誘引し、保存上の問題や焼成品質の劣化を引き起こす可能性があります。



Antaris II FT-NIRアナライザー
サンプルカップスピナーアクセサリー

水分含量を測定する一次分析法は、オープンでの乾燥による重量減少を計測するものですが、結果を得るまで複数のステップと数時間を必要とします。

灰分とはミネラルの含有量を示す指標で、小麦粉を品種別に分類する際に使用されます。例えば、全粒粉は精白粉よりも灰分が多く含まれています。製粉工場では加工時の灰分を定量化することで、抽出効率を高め、ブレンドの最適化を図ることができます。ベーカリーでは灰分から製品の色と風味の情報を得ることができます。灰分を測定する一次分析法は燃焼法です。この方法は非常に時間がかかり、完了までに数時間から一晩かかることがあります。

表1. FT-NIRの利点と主な一次分析方法との比較

主要な分析法	デュマまたはケルダール	燃焼法	乾燥重量法	FT-NIR
サンプリング	破壊	破壊	非破壊	非破壊
サンプル前処理	要	要	要	不要
実際の分析時間	2~12 時間	数時間~一晚	2~4時間	< 20秒
結果取得の所要時間	時間 / 日	時間 / 日	時間	分
1分析あたりの消耗品コスト	高	中	低	なし
専門分析者の必要性	高	低	低	低
分析を行う場所	ラボ	ラボ	ラボ	ラボまたは現場
有害な化学物質	要	不要	不要	不要
分析に必要な温度	デュマ法: 900 °C ケルダール法: 420 °C	585 °C	130 °C	不要
分析する成分	タンパク質	灰分	水分	タンパク質、灰分、水分、その他

表1に示すように従来の一次分析法は、訓練を受けた分析者を必要とし、有毒な化学物質を使用し、試料調製が必須であり、結果までに時間がかかる手法です。これに対してFT-NIRでは小麦粉のサンプルは前処理や化学薬品を使用せずに分析でき、より速くより正確で、信頼性の高い結果を得ることができます。また、FT-NIR分析では消耗品のコスト、再加工、仕様に合わない製品の廃棄等が不要なため、円滑な投資回収を行うことができます。本アプリケーションノートでは、小麦粉に含まれる灰分、タンパク質、水分の定量分析をThermo Scientific™ Antaris™ II FT-NIR アナライザーを用いて実施した例を紹介しします。



実験
複数の製造ロットから小麦粉サンプルを採取し、小麦粉のタンパク質、水分、灰分を定量するための定量モデルを開発しました。

図1. サンプルカップスピナーアクセサリー

図1に示すようにΦ5 cmのサンプルカップスピナーアクセサリーを備えたAntaris II FT-NIRシステムを用いて、室温に保持された小麦粉を拡散反射法により測定しました。サンプルカップスピナーは小麦粉で満たされたサンプルカップを回転させながら、積分球でスペクトルを収集して平均化するものです。これによりサンプルの平均的な拡散反射スペクトルが得られ、定量モデル開発に役立てることができます。測定条件は波数分解能 8 cm⁻¹、積算回数32回、1回の測定は20秒以内でした。各成分の標準データは、表2に示す一次分析法により取得しました。

表2. 定量モデル開発に用いた一次分析法とパラメーター

成分	方法	パラメーター
灰分	燃焼法 (500 °C) による重量減少	無機物のパーセント
タンパク質	デュマ法	窒素のパーセント
水分	乾燥法 (130 °C) による重量減少	水分の重量パーセント

Thermo Scientific™ TQ Analyst™ ソフトウェアを用いて小麦粉の灰分、タンパク質、水分の定量分析に用いる個々のPLS定量モデルを開発しました。PLSモデルは標準スペクトルの選択された領域を調べ、どの領域が成分濃度の関数として統計的に変化するかを判断し、定量分析に統計的なアプローチを適用します。PLSがこの分析に選ばれた理由は、小麦粉のスペクトルで一般的に見られる、幅広いピークや重なり合ったピークを考慮することができるからです。定量された成分の濃度範囲を表3に示します。

表3. 定量モデル作成に用いた濃度範囲 (小麦粉中の灰分、タンパク質、水分)

成分	濃度: 低	濃度: 高
灰分	0.27%	2.12%
タンパク質	6.3%	17.3%
水分	9.0%	15.2%

3つのモデルは全て標準正規変量 (SNV) パス長処理を使用して、小麦粉の粒子サイズとサンプルカップの詰め方の変動によるスペクトルベースラインシフトを軽減する処理を行いました。スペクトル特性を強調するため、タンパク質標準スペクトルはセグメント長5およびセグメント間ギャップ5でNorris平滑化を使用、一次導関数を使用して前処理を行いました (図2参照)。灰分と水分の標準スペクトルは、セグメント長3およびセグメント間ギャップ3でNorris平滑化を使用、二次導関数で前処理を行いました。

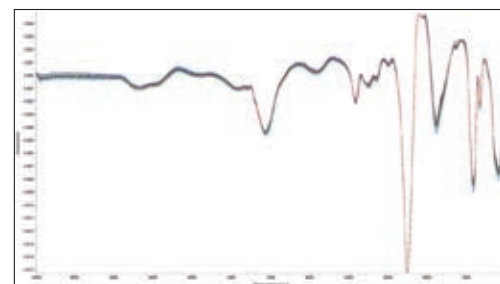


図2. 小麦粉タンパク質のPLSモデルに使用した一次導関数およびSNV処理後の標準スペクトル

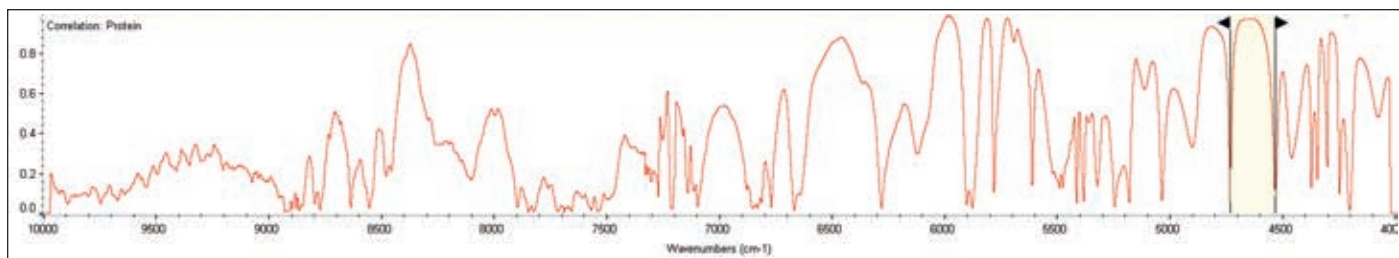


図3. 成分濃度の変化に対するスペクトル変動の相関関係を示す統計スペクトル。強調表示された領域は0.90より大きい相関を示します。

灰分と水分定量モデルのスペクトル解析領域は、TQ Analystソフトウェアの「Suggest Regions (領域提案)」ウィザード機能を使用して決定しました。Suggest Regionsは分析に適したスペクトル領域を自動的に選択するツールです。領域の選択はしばしば反復プロセスであるため、このウィザードはモデル最適化のための良い出発点となります。前処理されたスペクトルに基づく領域の手動選択も、TQ Analystソフトウェアを使用して簡単に行うことができます。灰分と水分については、Suggest Regionsツールにより最良のキャリブレーションモデル結果が得られました。灰分についての領域は 9,895.12 ~ 4,053.59 cm^{-1} 、水分については 9,895.12 ~ 4,053.59 cm^{-1} が提案されました。使用した標準スペクトルの数は、灰分モデルではキャリブレーションに564本、バリデーションに68本、水分モデルではキャリブレーションに550本、バリデーションに70本でした。キャリブレーション標準は、定量モデル開発時にスペクトル特徴の変動を成分濃度と関連付けるために使用され、バリデーション用標準試料は、検証用として定量モデルの性能の偏りのない試験を行うために使用されます。

一方、タンパク質モデルの最適化には、より高度な視覚的開発ツール「統計スペクトル」を使用しました。このツールは成分濃度変化に対するスペクトル変化の相関を示す結果を生成します(図3参照)。スペクトル領域の成分濃度に対する相関は、0から1の範囲となり、1が完全な相関を示します。このツールは成分濃度の変化と最も相関性が高い領域を手動で選択できるようにすることで、開発の柔軟性とモデル最適化機能の両方を提供します。統計スペクトルツールは、593種類のキャリブレーション標準と86種類のバリデーション標準を用いたモデル開発において、0.9を超えるピークが5、および0.8を超えるピークが4、という高い相関を示す9つの領域を特定しました。

表4. PLSモデルのキャリブレーション結果のまとめ

PLSモデル	ファクター	RMSEC	相関係数	RMSECV	RMSEP
灰分	6	0.032	0.989	0.042	0.052
水分	5	0.081	0.992	0.096	0.099
タンパク質	4	0.114	0.998	0.116	0.153

結果と考察

開発された3つのPLSモデルは、全てキャリブレーションの二乗平均平方根誤差 (RMSEC) が小さく、比較的少ないファクターを使用しながら、一次分析法によるデータとの良好な相関関係を示しています。相関係数とRMSECは、キャリブレーションモデルによってキャリブレーション標準の成分濃度がどの程度適切に予測されるかを示す尺度です。理想として、相関係数は1に近い値を持ち、RMSECは一次分析法データの標準誤差に近い値であることが望ましいです。ファクターは濃度とスペクトル情報から凝縮された独立した変動源を表し、それらが説明するデータの変動量によってランク付けされます。表4はPLSモデルが小麦粉中の成分である灰分、タンパク質、水分をどれだけ正確に定量化できるかを示しています。また、二乗平均平方根予測誤差 (RMSEP) の値をRMSECと比較すると、キャリブレーションに含まれないサンプルをモデルがいかに正確に予測しているかがよく分かります。RMSEPはキャリブレーションから除外された独立した検証用のデータセットで計算されます。キャリブレーションモデルの頑健性のもう一つの指標は、クロスバリデーションの二乗平均平方根誤差 (Root Mean Square Error of Cross Validation: RMSECV) です。この診断では、キャリブレーションセットから指定された数の標準試料を順次削除し、メソッドをキャリブレーションしてから、残りのデータセットを使用して削除された標準試料を定量化します。これはキャリブレーションセット内の全ての標準が、バリデーション標準として定量化されるまで繰り返されます。モデルの精度を測る良い指標は、RMSECVとRMSEPの両方がRMSECの2倍未満であることです。これは、3種類のPLSモデル全てに当てはまります。次のセクションでは、3種類のPLSモデル全てを最適化するために使用された、領域の選択、診断、および外れ値の除去のためにTQ Analystソフトウェアで用いられた機能に焦点を当てます。また、TQ Analystソフトウェアでケモメトリックスモデル開発に利用できるツールを示すために、タンパク質の定量メソッドを詳細に検討します。

図4に示すタンパク質の相関グラフは、相関係数0.998、RMSEC 0.114であり、計算値 (FT-NIR) と実測値 (デューマ法) の間に非常に良い相関があることを示しています。

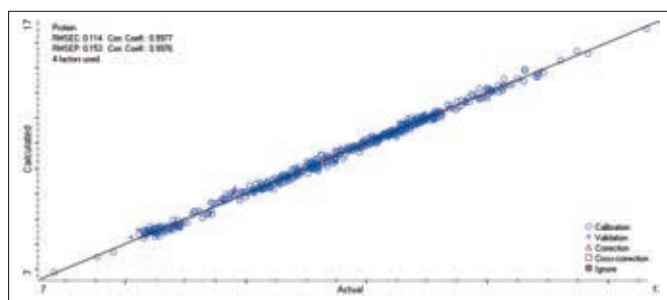


図4. タンパク質の検量線
(○: キャリブレーション標準、+バリデーション標準)

モデルに対してバリデーション標準を選択した場合、RMSEPは、相関グラフ左上にRMSECと一緒に表示されます。これにより、モデルの性能を素早く確認することができます。

図5は、タンパク質の残差 (パーセント差) プロットであり、キャリブレーション標準の予測誤差分布を示しています。このプロットは、実際の値に対する計算された濃度値と実際の濃度値の違いを示しています。

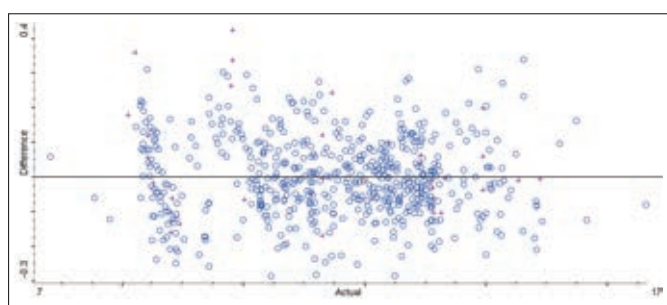


図5. タンパク質の残差 (パーセント差) プロット

TQ Analystソフトウェアでモデルをキャリブレーションすると、残差プロットがキャリブレーションプロットと並べて表示され、傾きの問題や潜在的な外れ値があるサンプルを見つけるための診断ツールとして使用できます。ここでは、差分値にトレンドや傾きがなく、ランダムな分布が見られることが予想されます。図5を調べると、誤差が成分範囲全体に均等に分布していることが分かります。これは、キャリブレーションとバリデーションの両方で誤差が均等に分布していることを示しています。

予測残差平方和 (PRESS) プロット (図6) は、ファクターの順位に関連する変動を示しています。キャリブレーションモデルにおいて、有用な情報を表すファクターが増えるごとにRMSECVとPRESSの値が減少します。図6から得られる情報は、ファクター1~4が観測されたスペクトルおよび濃度変動の大部分を説明することを示しています。

このモデルと同様に、最適化されたモデルはファクターを適切に使用することで、誤差 (RMSECV) が減少していくことが分かります。PRESSプロット診断は、モデルの最適なファクター数を決定するために使用されます。モデルの性能を低下させるようなデータへのオーバーフィットを避けるため、ファクターは最小限の数を使用することが望ましいとされています。

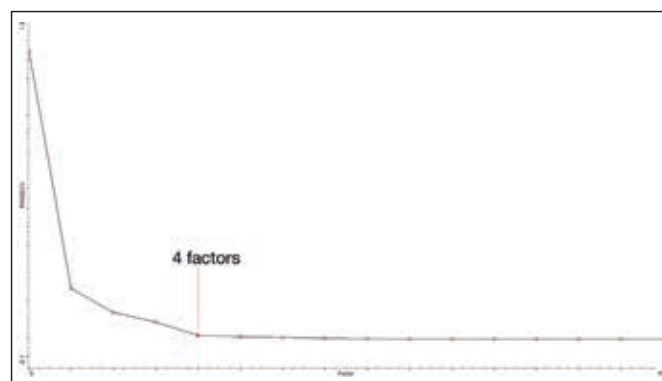


図6. タンパク質PLSモデルのPRESSプロット

TQ Analystソフトウェアは、外れ値、傾向、パターンを特定するための視覚的ツールとして、2次元 (2D) と3次元 (3D) の両方の主成分スコアプロットを表示することができます。PLSファクターと同様に、主成分 (PC) は記述するスペクトル変動の量によってランク付けされます。しかし、PLS定量プロットで使われるファクターとは異なり、主成分には標準試料の濃度値は含まれません。第一主成分が最も多くのスペクトル変動を表し、それに続く各主成分が残りの変動を表現します。タンパク質モデルの開発では、スペクトルの外れ値や傾向を特定するために、2Dおよび3Dの両方の主成分スコアプロットを使用しました。タンパク質モデルのPC2対PC1の2Dスコアプロット (図7) は、標準試料のランダムな分布を表しています。このプロットは、グループ化、トレンド、異常値を示さないため、PLSモデルの開発に適しており、スペクトルのばらつきがランダムであることを示しています。TQ Analystソフトウェアには主成分スコアプロットウィンドウ内で、個々の標準の使用法を変更する機能もあり、モデルを最適化する際の開発時間を短縮することができます。図7に示すように、目的の標準を右クリックすることで、その使用方法をバリデーション、無視、キャリブレーションのいずれかに切り替えることができます。

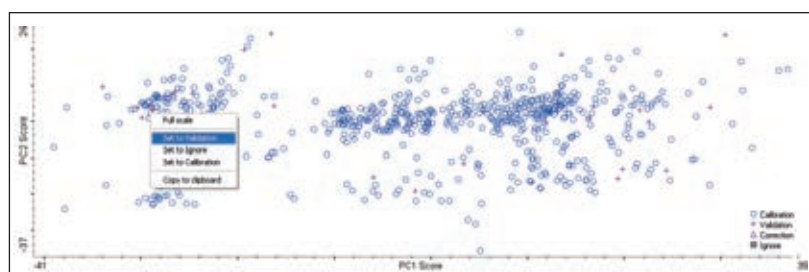


図7. タンパク質標準の2D主成分スコアプロット

3Dスコアプロットを使用すると、3つの主成分を同時に表示することにより、主成分スコア診断に3番目の次元が追加されます。TQ Analystソフトウェアの3Dモデリングには、インタラクティブズーム機能、スコアプロットを360度回転させる機能などがあり、パターンを表示する機能が大幅に向上し、効率的なデータマイニングのために画面上のサンプル情報を表示する機能があります。

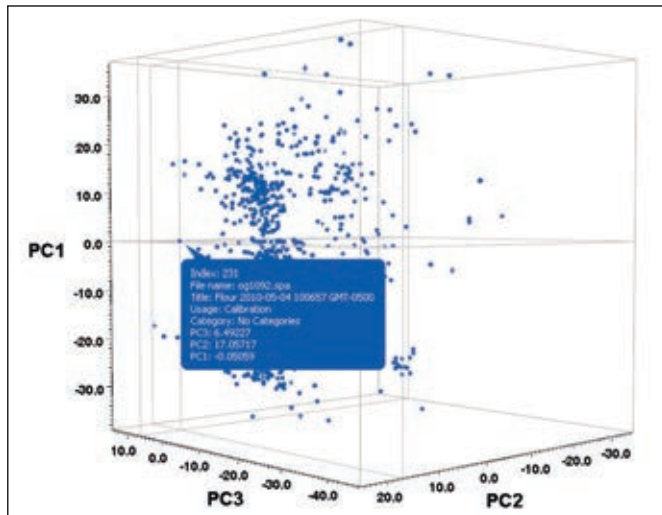


図8. タンパク質標準の3D主成分スコアプロット

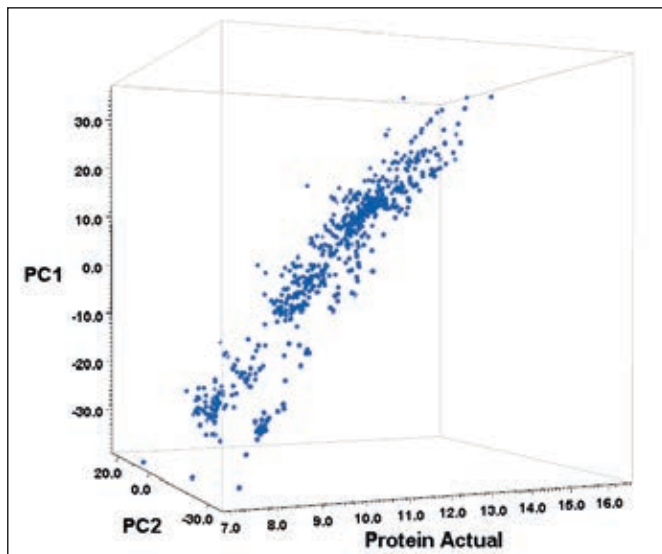


図9. 3D主成分スコアプロット
PC1とタンパク質実測値の間に高い相関があることを示しています。

最初の3つの主成分のタンパク質3D主成分スコアプロットを図8に示します。個々のポイントにカーソルを合わせ、左クリックすることでサンプル情報を表示できます。

TQ Analystソフトウェアは、3Dスコアプロット内に実際のタンパク質濃度をプロットすることもできます。この機能により、分析者はどの主成分が対象のパラメーターと最も相関があるかを視覚的に検索し、迅速に判断できます。堅牢なモデルでは、PC1が対象のパラメーターと高い相関を持ち、PLSモデルの1番目のファクターによって説明される変動が対象のパラメーターに起因していることを示しています。図9はPC1とタンパク質濃度の高い相関関係を示しており、堅牢なPLSモデルであることを示しています。

結論

今回の定量モデル構築により、Thermo Scientific Antaris FT-NIR アナライザーが小麦粉の主要成分である水分、タンパク質、灰分を正確に定量するための迅速なソリューションであることが確認できました。TQ Analystソフトウェアは統計スペクトル、残差、PRESSプロット、2Dおよび3Dの主成分スコアプロットなど、視覚的かつインタラクティブな診断ツールにより、簡単に直感的なPLS定量モデルの最適化と開発を可能にします。小麦粉の従来の定量分析には、熟練した分析者や化学薬品の使用が必要であり、試料の前処理に時間がかかり、結果を待つ時間が長くなるという課題がありました。一方、FT-NIRは化学薬品を使用せずに小麦粉を分析することができ、より速く、正確で、信頼性の高い結果が得られます。また、消耗品や再加工、規格に合わない製品の廃棄などのコストがかからないため、短期間での投資回収が可能です。日常的な品質管理において、FT-NIRを主要分析法として位置付け、従来の手法からシフトすることで、重要な生産決定を行うために必要な結果を待つ潜在的な遅延を低減させることができます。迅速で正確な測定ができるFT-NIRは、リアルタイムで品質データを提供することで、製粉企業や購入者が小麦粉の仕様が満たされていることを素早く確認することができ、生産効率と収益性を高めることに寄与します。

参考文献

1. Nielsen, S. Suzanne. Food Analysis (Food Science Text Series), (2010) Springer Science Business Media, ISBN 978-1-4419-1477-4
2. Kramer, R. Chemometric Techniques for Quantitative Analysis, (1998) Marcel-Dekker, ISBN 0-8247-0198-4

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/nir

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。
© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc FTIR133-A22050B

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671
Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan @ThermoFisherJP

thermofisher.com

thermo scientific

