

題目:分光蛍光光度計による食品分野への応用測定

▪ The Applied Measurement for Food Field by Fluorescence Spectrophotometer

機種:F-7000形分光蛍光光度計

▪ Model F-7000 Hitachi Fluorescence Spectrophotometer

1. はじめに

F-7000形分光蛍光光度計は、クラス最高レベルのスキャンスピード(60,000 nm/min)と高速スキャンに対応したレスポンス処理の自動設定、迅速な励起波長切り替えなど3次元蛍光スペクトル測定の高スループット化技術が組み込まれています。例えば、一般的な測定条件(励起波長範囲200~600 nm、蛍光波長範囲200~700 nm、波長間隔5 nm、スキャンスピード60,000 nm/min)における測定時間は約3分です。また、S/N 800:RMSと高感度で、6桁以上のダイナミックレンジを有しています。更に、豊富な付属装置をラインナップしており、工業材料、ライフサイエンス、バイオテクノロジー、環境などの幅広い分野で研究・開発・品質管理などに用いられています。

今回は、高速スキャンスピードを活かして取得した3次元スペクトルを用い、食品分野へ応用した測定例を紹介いたします。3次元蛍光スペクトルは、励起波長・蛍光波長・蛍光強度を等高線図で表示します。現在、食品などの分野において、試料特有の蛍光特性(蛍光指紋)を有する膨大な3次元データは農作物の産地判別¹⁾、そば粉と小麦粉の混合割合の推定²⁾、穀粉の種類・等級の判別³⁾、カビ毒の推定³⁾などの数値解析に応用されています。将来的に、農作物や食品、食品原材料の品質管理の一環として、本法を用いた良否判別が期待できます。

ここでは、蛍光指紋を用いた食品分析への応用測定例として、ウコン(ターメリック)の混合割合の推定、多検体試料を効率良く測定するためのマイクロプレートリーダー付属装置を用いた穀粉の種類判別例についてご紹介いたします。

2. ウコン粉の混合比の算出

ウコンは、香辛料の一種で、ショウガ科の植物ウコンを原材料に加工されます。黄色色素クルクミンを含有しており、近年では抗炎症作用や抗酸化作用の効果が期待されています。春ウコンは、飲料や健康食品素材として注目されています。秋ウコンは、カレーなどのスパイスや着色料として広く利用されています。

今回は、春ウコン粉と秋ウコン粉の3次元蛍光スペクトルを測定し、春ウコン粉に特異的な蛍光波長を用いて、春ウコン粉と秋ウコン粉の混合比の推定を行いました。図1はウコン粉末を試料セルに詰めた概観図、図2はその試料セルを試料室に設置した概観図です。図3-aに春ウコン粉0%、秋ウコン粉100%、図3-bに春ウコン粉100%、秋ウコン粉0%の3次元蛍光スペクトルを示します。励起波長340 nm、蛍光波長440 nmに春ウコン粉に特有の蛍光ピーク(蛍光指紋)が確認されます。春ウコン粉0%をSTD1とし、春ウコン粉100%をSTD2として、この波長における蛍光強度を用い、STD1とSTD2にて検量線を作成、春ウコン粉と秋ウコン粉の混合粉の蛍光強度から混合比を算出しました。なお、模擬試料として春ウコン粉にて25%、50%、75%となるように配合したものを用意しました。

測定の結果、測定誤差の範囲内で理論混合比との一致が確認されました。試料特有の蛍光指紋から識別波長を探索し、その蛍光強度を用いることで、粉末試料の混合比率推定が可能となりました。

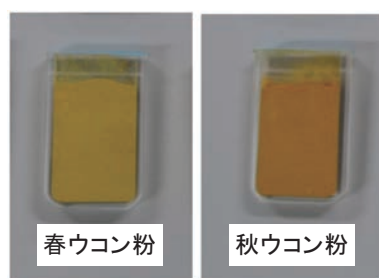


図1 曲底セルに詰めたウコン粉の概観図

- Photograph of Turmeric Powder in the Cells with Round Corner Bottom

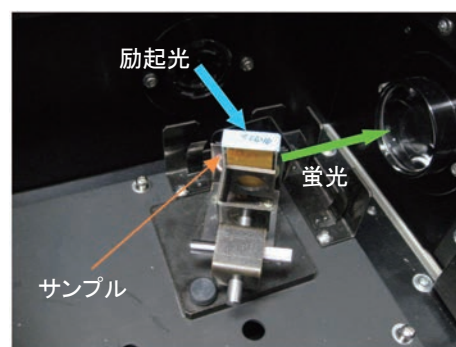


図2 試料設置の概観図

- Photograph of Sample Installation

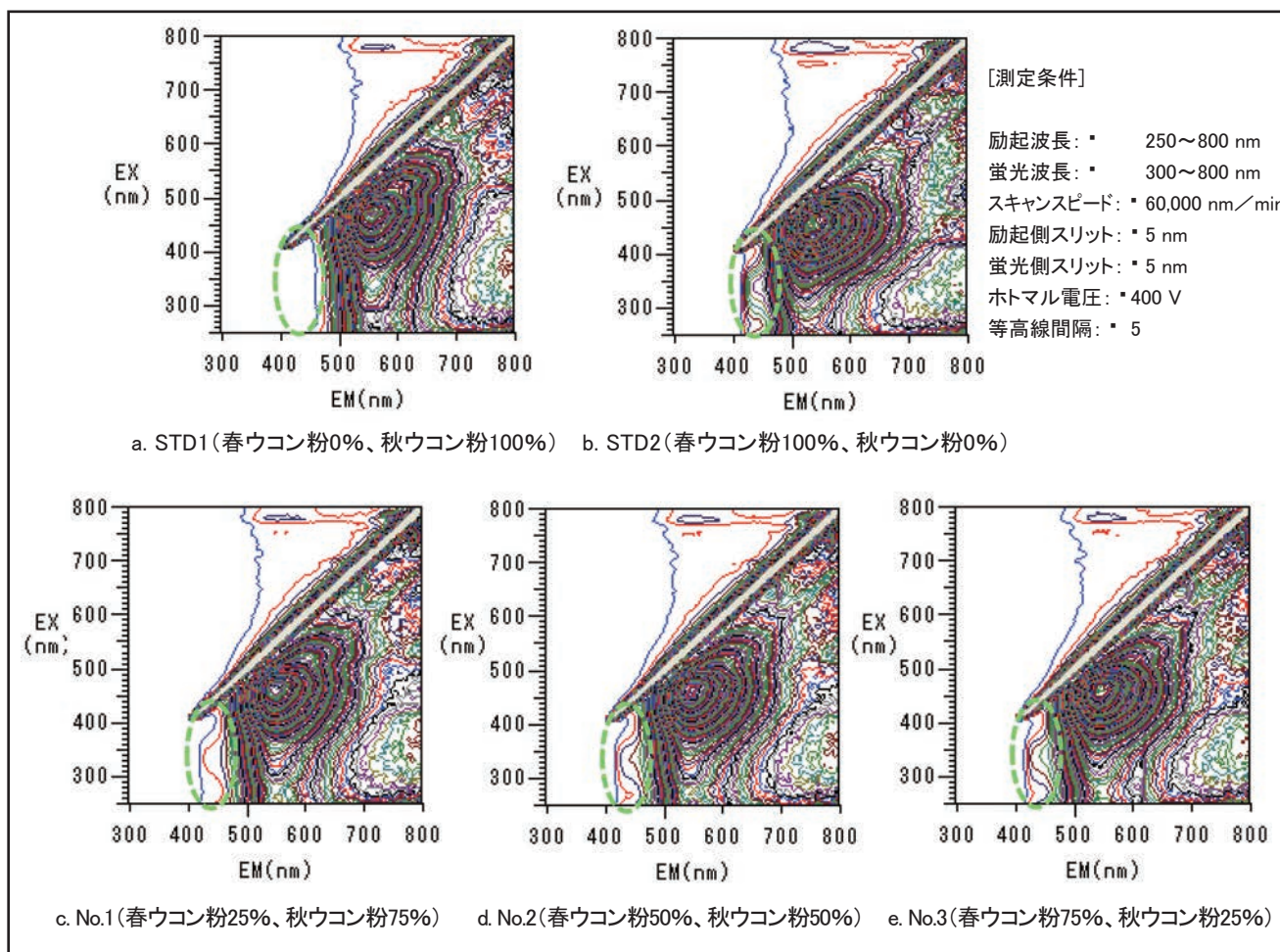


図3 ウコン粉の混合比別3次元蛍光スペクトル
 3-D Fluorescence Spectra of the Mixing Turmeric Powder

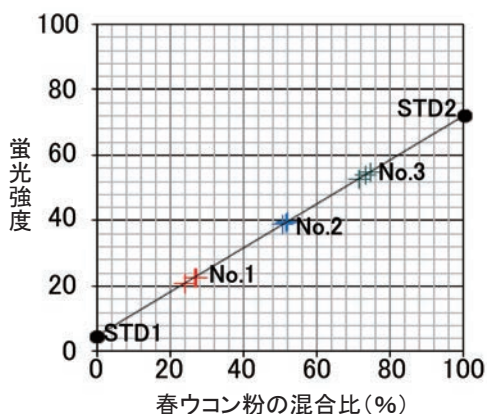


図4 蛍光強度と混合比(%)の相関
 The Correlation Between Fluorescence Intensity and the Mixing Ratio

試料の蛍光強度(N=3)

	STD1	STD2	No.1	No.2	No.3
1	5.51	72.58	22.90	39.86	54.10
2	4.68	72.76	20.96	39.51	55.15
3	4.91	71.29	22.98	38.94	53.05
平均値	5.04	72.21	22.28	39.44	54.10

春ウコン粉混合比(%)の算出結果(N=3)

	No.1	No.2	No.3
1	26.6	51.8	73.0
2	23.7	51.3	74.6
3	26.7	50.5	71.5
混合比算出値	25.7	51.2	73.0
理論混合比	25.0	50.0	75.0

[測定条件]
 励起波長: 340 nm 励起側スリット: 5 nm
 蛍光波長: 440 nm 蛍光側スリット: 5 nm ホトマル電圧: 400 V

図5 ウコン粉の混合比分析結果
 The Result of Mixing Turmeric Powder Ratio

3. 3次元蛍光スペクトルによる穀粉などの判別

一般的に食品や農作物の分析には化学分析が用いられますが、前処理が必要であり、多検体の測定には時間を要します。一方、試料特有の蛍光指紋を得る分光蛍光光度計を用いた分析では、試料を前処理せずに直接測定することを特長としています。ここでは、多検体試料を効率良く測定することが可能なマイクロプレートリーダー付属装置を用いた測定例を紹介いたします。マイクロプレートを用いると、一度に96検体まで試料を測定できます。その際、マイクロプレートが自動で移動し、指定されたウェルを連続して測定します。本付属装置は、3次元蛍光スペクトルの連続測定にも対応しています(図6)。

マイクロプレートは、通常溶液試料の多検体測定に用いますが、試料表面の蛍光を測光する構造となっているため、固

体試料の分析にも応用できます。今回、96穴マイクロプレート(Nunc フルオロヌンクプレート:Cat No.237108)に小麦粉(中力粉)、ライ麦粉、とうもろこし粉など穀粉8種類(N=3)を充填し、それぞれの3次元蛍光スペクトルを測定しました。なお、測光精度を確保するため、試料表面を均一にしました。

小麦粉の3次元蛍光スペクトルを測定したところ、2つの特有の蛍光指紋(蛍光ピークA:励起波長290 nm、蛍光波長330 nm、蛍光ピークB:励起波長335 nm、蛍光波長425 nm)が確認されました(図7-a)。他の穀粉の3次元蛍光スペクトル(図7、8)には、小麦粉の蛍光ピークA、Bを比較しやすいように併記しています。図7-bに示すライ麦粉では、小麦粉と同様の波長に蛍光ピークが得られましたが、小麦粉と比較して蛍光ピークAは0.7倍、蛍光ピークBは0.5倍の蛍光強度が得られました。

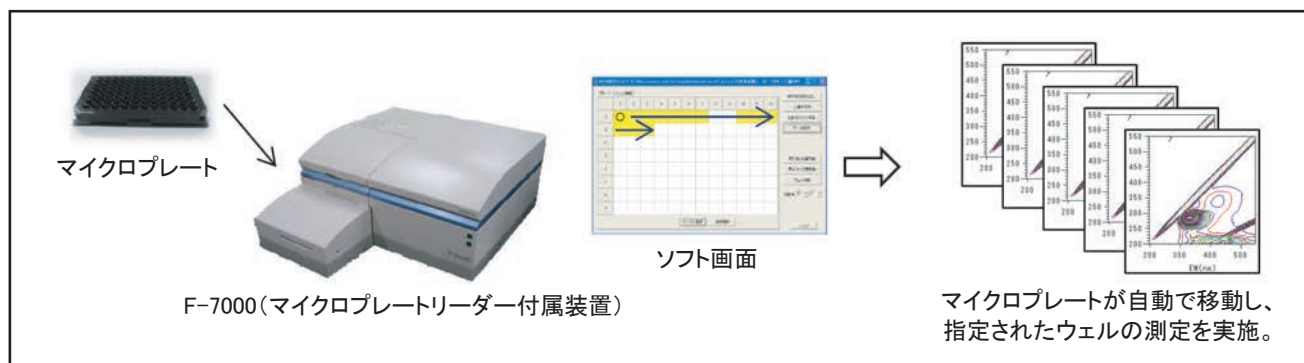


図6 マイクロプレートリーダー付属装置概要

The Summary of the Micro Plate Reader

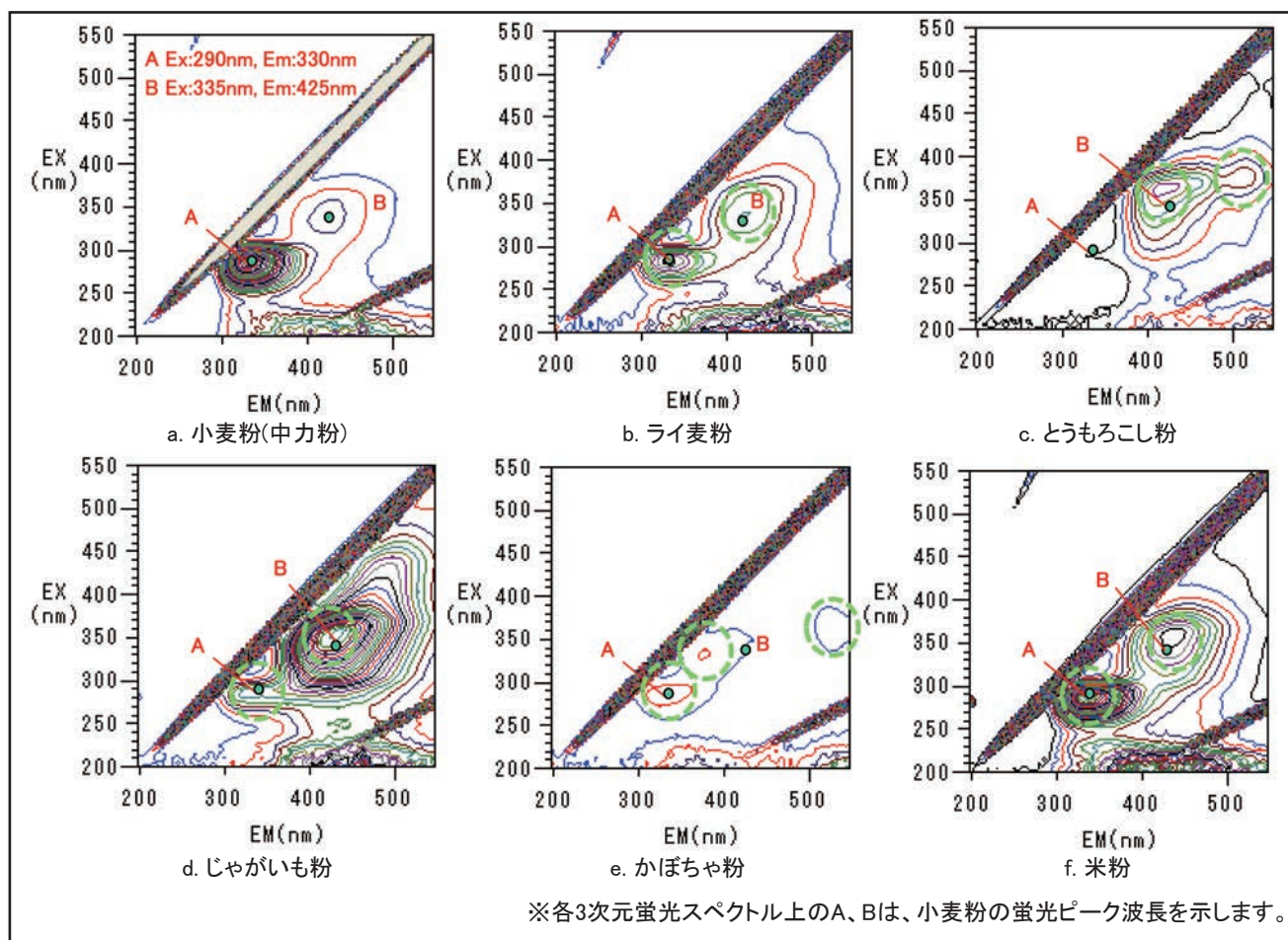


図7 穀粉などの3次元蛍光スペクトル(1)

3-D Fluorescence Spectra of the Grain Powder (1)

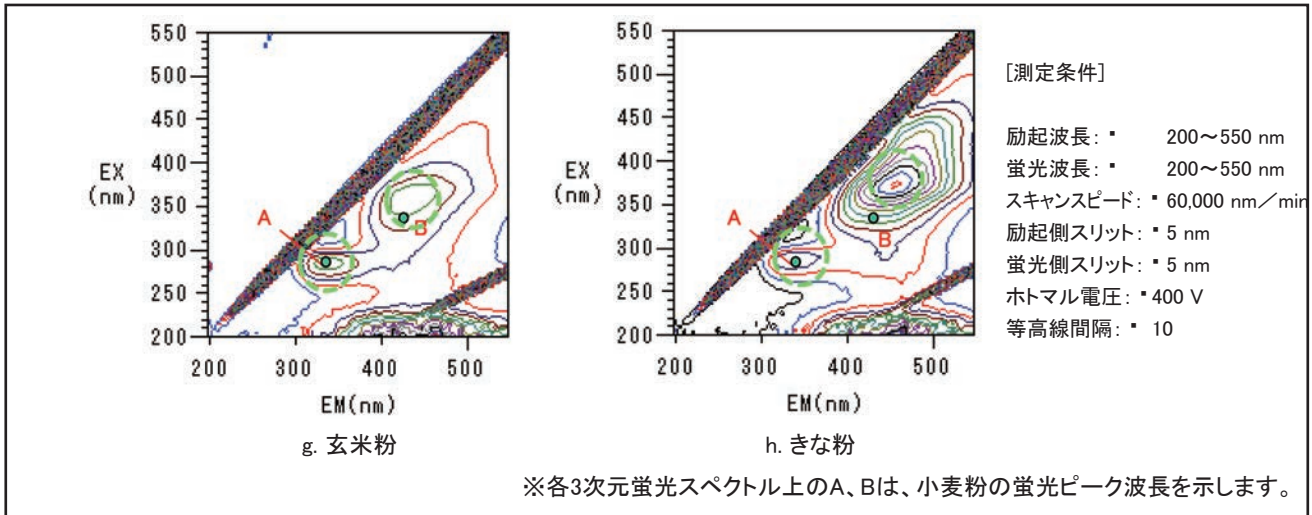


図8 穀粉などの3次元蛍光スペクトル(2)
 3-D Fluorescence Spectra of the Grain Powder (2)

とうもろこし粉(図7-c)およびかぼちゃ粉(図7-e)では、蛍光指紋の形状が小麦粉と比較し大きく異なりました。とうもろこし粉では、2つの特異的な蛍光ピークが励起波長370 nm付近に得られました。一方、かぼちゃ粉では微弱ですが、3つの蛍光指紋が得られました。じゃがいも粉(図7-d)では、励起波長355 nm、蛍光波長435 nmに蛍光強度の高い蛍光ピークが確認され、蛍光ピークBにおいて小麦粉と比較し1.8倍の高い蛍光強度を示しました。米粉(図7-f)、玄米粉(図8-g)、きな粉(図8-h)では、2か所に蛍光指紋が確認されました。どれも小麦粉の蛍光ピークA付近に1つの蛍光ピークが得られましたが、もう1つの蛍光ピークは小麦粉の蛍光ピークBの波長とは異なる波長に蛍光ピークが得られました。

ここでは、小麦粉で確認された蛍光ピークAおよび蛍光ピークBを用いて、種類の推定を行いました。得られた蛍光強度を基に標準化(小麦粉を標準)した結果を図9に示します。横軸は標準化した蛍光ピークA、縦軸は標準化した蛍光ピークBとしました。その結果、試料ごとに異なる傾向を示し、種類判別の可能性が確認できました。

マイクロプレートリーダー付属装置を用いることで、簡便かつ効率的に多検体の3次元蛍光スペクトルの測定が可能です。多品種の食品原材料を扱う研究分野で使用が期待できます。

4. まとめ

- (1) 試料特有の蛍光特性を数値解析することで、食品の判別や混合割合の推定が期待できます。
- (2) マイクロプレートリーダー付属装置を用いることで、簡便かつ効率的に多検体の測定が可能です。

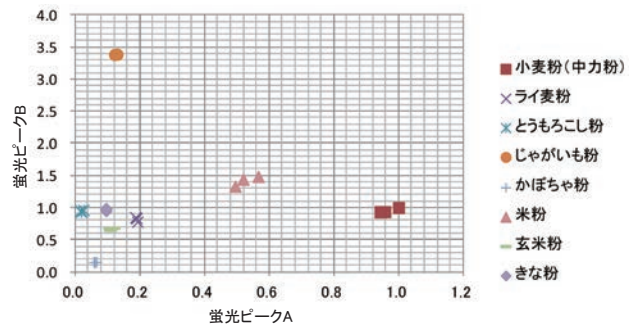


図9 穀粉などの種類の推定
 Presumption of the Sort of the Grain Powder

参考文献

- 1) 中村結花子、藤田かおり、杉山純一、蔦瑞樹、柴田真理朗、吉村正俊、粉川美踏、鍋谷浩志、荒木徹也、蛍光指紋計測によるマンゴーの産地判別、日本食品化学工学会誌、59(8)、387-393(2012)
- 2) 杉山武裕、藤田かおり、蔦瑞樹、杉山純一、柴田真理朗、粉川美踏、荒木徹也、鍋谷浩志、相良泰行、励起蛍光マトリクスによるそば粉と小麦粉の混合割合の推定、日本食品化学工学会誌、57(6)、238-242(2010)
- 3) 杉山純一、藤田かおり、蛍光指紋による食品の安全性検知技術、S.I NEWS、56(2)、4779-4783(2013)

キーワード F-7000、3次元蛍光スペクトル、マイクロプレート、食品、粉末、蛍光指紋、良否判別

執筆者 (株)日立ハイテクノロジーズ
 アプリケーション開発部 岩谷 有香、堀込 純

株式会社 日立ハイテクノロジーズ

- 本社 〒105-8717 東京都港区西新橋一丁目24番14号 電話 ダイヤルイン (03)3504-7211
- 科学・医用システム事業統括本部 科学システム営業本部
- URL: <http://www.hitachi-hitec.com/science/>