

【研究論文】

【令和4～6年度 県単独試験研究】

多変量解析を活用した工程管理技術の検討

羽生 幸弘

食品バイオ技術部

食品の香味評価には、官能評価と機器分析が広く用いられるが、前者は評価者の個人差、かつ外的要因による影響、後者は網羅的な評価が難しいなど、それぞれ課題がある。本研究では、各種機器分析結果を多変量解析による解析を行うことで総合的な評価を行い工程管理の一助とすることを試みた。

仙台味噌の熟成工程において、味噌の味や香り、一般成分を分析し、その分析値を統合して判別分析を行った結果、熟成期間毎のグループとして分かれた。さらに、未知サンプルの熟成期間の判定を試みた結果、実際の熟成期間と一致した。また、因子負荷量を基にして各データのグループ間の判別への寄与の大きさを確認したところ、従来用いられている熟成指標に加え、香氣成分の1つである3-メチルブタナールが指標として利用できる可能性があることが示唆された。

キーワード：多変量解析、官能評価、仙台味噌、味覚センサー、ヘッドスペースガスクロマトグラフ (HSGC)

1 緒言

食品の製造管理に際しては、多くの場合、熟練工による官能評価が欠かせない。官能評価はあらゆる要素を網羅的に評価できるが、個人の能力差が大きく、温度、照明の明るさなど外的要因の影響も少なくない。一方、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) やガスクロマトグラフィー (GC) などの装置を用いた味や香りの成分分析も広く用いられているが、網羅的に評価するには限界がある。

そのため官能評価の可視化に向け複数の機器分析結果の関連性を検討するため多変量解析が用いられることが多い。多変量解析とは変数間の相互関連を分析する統計処理手法の総称であり、複数のデータを要約する主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) や類似するグループを判定する判別分析 (Discriminant Analysis, DA) などが挙げられる¹⁾。

そこで本研究では、本県特産品である仙台味噌の熟成工程をモデルケースとして取り上げ、分析結果を多変量解析により可視化、熟成程度の判定など製造現場の判断に利用可能か検討した。

令和4年度は、味覚センサーでの評価と香氣成分分析で得られたデータを結合して実施したPCAにより、熟成期間との相関を検討し機器分析により味噌の熟成を評価できる可能性が示唆された²⁾。

前報 (令和5年度) では、香りの評価の精度向上を目指し、香氣成分分析データのDAへの活用を試みた結

果、未知サンプルの熟成程度の判定の可能性が示唆された。さらにガスクロマトグラフ質量分析装置 (GCMS) による化合物の推定結果をヘッドスペースガスクロマトグラフ (HSGC) へ適応したことにより、データ収集を効率化することができた³⁾。

今年度は、昨年度までの香りの機器分析結果に、味覚センサーやpH、アルコール等の一般成分分析の結果を統合することによる未知サンプルの熟成期間判定の精度向上、そして因子負荷量を基に判別への寄与が高いデータの抽出を試みたので報告する。

2 実験方法

本研究では、前報のHSGCの熟成期間をグループとしたDAについて、さらに、味覚センサーおよびpH、アルコール等の一般成分分析のデータを加えてDAを行った。各グループの分離状況の評価するとともに、未知サンプルの熟成期間の判定および判別への寄与が大きいデータを因子負荷量から確認した。

2.1 供試試料

昨年度分析した試料に加え、製造ラインの熟成工程より、仕込時および熟成1ヵ月ごと3ヵ月までの味噌を県内味噌製造業2社から、また、仕込時および熟成1ヵ月ごと2ヵ月までの味噌を1社からそれぞれ約1 kg提供されたものを用いた (合計35サンプル)。試料は約100 gに分

け、試験に供するまで -20°C で保管した。

2.2 香気成分分析

提供されたサンプルを前報と同様にHSGCにより香気成分分析を行った。つまり、サンプルを5 g採取し、密封したのち 50°C で30分インキュベートした際の香気成分を分析した。得られたクロマトグラムから、前報にて化合物を推定したピークのピーク面積を測定値とした。

2.3 味覚センサーによる味評価

味噌に10倍量の蒸留水を加えホモジナイズし、遠心分離(4,000 rpm、10 分)を行った後、上清をさらに10倍希釈したものを測定サンプルとして、味覚センサー(α Astree, アルファ・モス株式会社)に供した。測定はサンプルに7つのセンサー(AHS、PKS、CTS、NMS、CPS、ANS、SCS)を浸して攪拌しながら行い、応答値が安定する120秒後の値を測定値とした。

2.4 一般成分分析

試験に用いた味噌の水分、総窒素、塩分、pH、酸度Ⅰ、酸度Ⅱ、総酸度、アルコール、直接還元糖、アミノ態窒素、水溶性窒素、タンパク分解率、タンパク溶解率、色調(Yxy表色系)を基準味噌分析法⁴⁾により測定した。測定は宮城県味噌醤油工業協同組合(以下、味噌組合)で実施した。

2.5 DAによる味噌の熟成期間の判定

味噌の熟成期間の判定をHSGCによる測定値(以下、HSGCデータ)、味覚センサーによる測定値(以下、

Astreeデータ)および一般成分分析結果(以下、一般成分データ)を用いて、DAにより行った。DAはAlphaSoft(アルファ・モス(株))を用いた。

前報と同様に供試サンプルの熟成期間(仕込時、1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月)をグループとして設定した後、各期間の味噌のHSGCデータ、Astreeデータ、一般成分データをソフトウェアの判別分析機能を用いて処理し、グループの分離状況を確認した。その後、熟成期間の判定を行いたいサンプル(以下、未知サンプル)AからFの各測定データを読み込み、未知サンプルが帰属するグループを判定した。

さらに、各成分の因子負荷量を算出し、グループの判別に大きく寄与する成分の抽出を行った。

3 実験結果及び考察

3.1 DAによる味噌の熟成期間の判定

前報のデータに今年度の分析データを加えて判別分析を行った。HSGCデータのみで処理をした結果(図1(a))、熟成期間毎のグループが重なり、十分に分離できなかったが、HSGCデータとAstreeデータ、一般成分データを統合して判別分析を行った結果(図1(b))、仕込時のグループとそれ以外のグループに分かれ、熟成の期間で判別される結果となった。

今回の目的は未知サンプルの熟成期間の推定であることから、仕込時を除いた残りのグループ(熟成開始後1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月)のデータを用いて再度判別分析を試みた。その結果、熟成期間が長いグループの一部の測定結果が短いグループと重なる傾向が見られた(図未掲載)。そこでサンプルの提供元に確認を行ったところ、熟成温度に異常があり進行が遅かったとのことであった。このため、該当するサンプルのデータを異常

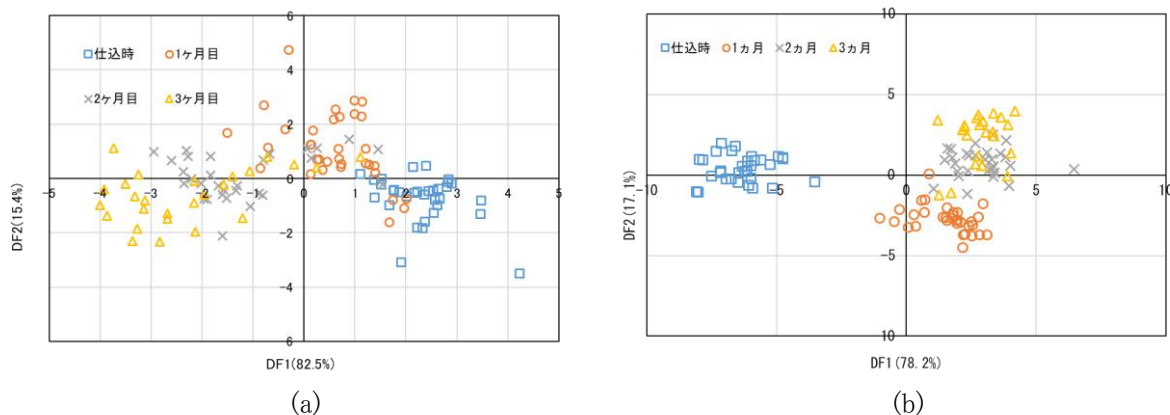


図1 判別分析結果((a)HSGCデータのみ、(b)HSGCデータ、Astreeデータ、一般分析データを統合)

値として除外し、再度判別分析を実施したところ、熟成期間の異なる各グループがまとまって配置され、熟成が進むと変化量が変換することが確認でき、さらに、DF1の寄与率が89.8%であることから各グループはDF1で判別されていることが示唆された。この結果を用い、未知サンプル6点の熟成期間の判定を行った(図2)。

判定結果を表1に示す。未知サンプルAおよびFについては、実際の熟成期間と同じ期間のグループがないため、最も近いグループに帰属されたが、他のサンプルについては実際の熟成期間と同じグループに帰属された。特にサンプルCは前報では判定結果と実際の熟成期間が異なっていたが、香り・味・一般成分データの統合により、判定結果と熟成期間が一致し、判定精度の向上が見られた。

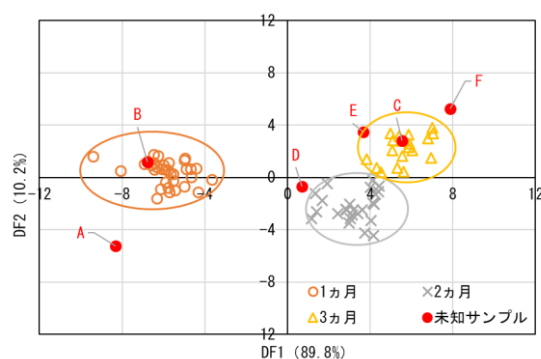


図2 熟成1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月の判別分析結果
および未知サンプル判定結果

表1 未知サンプルの判定結果と実際の熟成期間

サンプル	判定結果	実際の期間
A	1ヵ月	仕込時
B	1ヵ月	1ヵ月
C	3ヵ月	3ヵ月
D	2ヵ月	2ヵ月
E	3ヵ月	3ヵ月
F	3ヵ月	出荷時(4ヵ月)

3.2 因子負荷量を用いた寄与データの確認

判別分析の結果、未知サンプルの熟成状態がどの熟成期間に相当するかを判定することが可能となったが、判別に用いるデータ数としてHSGCが15、Astreeが7、一般成分が14であることから因子負荷量を参考にしてグループ間の判別に寄与の大きいデータの抽出を試みた。因子負荷量とは各因子(データ)と各成分との相関係数であり、数値の絶対値が大きいほどその因子は成分との相関が高いとされている。

各データの因子負荷量を図示した結果を図3に示す。判別分析の結果、DF1の正の方向に熟成期間が長いグループが配置されていることから、因子負荷量が正の値を示すデータは熟成期間が長くなるほど数値が大きくなることを示し、逆に負の値を示すデータは熟成期間が長くなるほど数値が小さくなることを示している。各データのDF1に対する因子負荷量(表2)を見ると、正の値を示すデータのうち、寄与が大きいものは酸度I、総酸度、3-メチルブタナールであり、負の値を示すデータで寄与が大きいのはY(%)、pH、AHS(味覚センサー)であった。

味噌は熟成が進むとともに、アミノ酸や有機酸が生成されることから、熟成に伴い酸度は増大し、pHは減少することが知られている。さらに、Y(%)は明度を表しており、本場仙台味噌統一仕込要領⁵⁾においても、熟成管理のため色の測定を推奨している。今回、これまで用いていたこれらの指標の重要性が示される結果となった。また、香気成分として因子負荷量が高かった3-メチルブタナールは濃度が低いものの、熟成の進行の指標の一つとして活用できる可能性が示唆された。

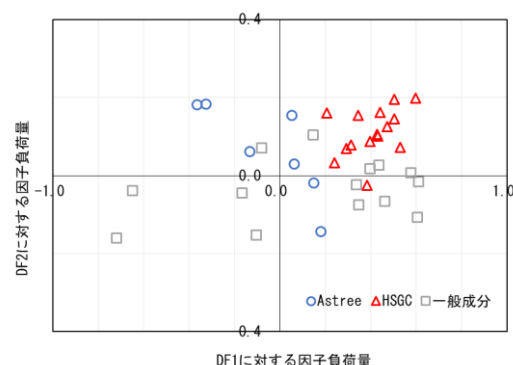


図3 熟成1ヵ月、2ヵ月、3ヵ月の判別分析における各データの因子負荷量

4 結言

本研究では仙台味噌の熟成工程において、味や香り、一般成分などの機器分析結果について、統計処理の一つの手法である多変量解析を用いた熟成期間の判定についての検討を行ったところ、以下が明らかになった。

- (1) HSGCデータに、Astreeデータ、一般成分分析データを統合して判別分析を行ったところ、未知サンプルの熟成期間判定の精度が向上し、客観的な工程管理につながることを示唆された。
- (2) 因子負荷量からグループ間の判別への寄与が大きい

い測定データは、既に指標として利用されているpHや酸度、色調を表すY(%)等が挙げられ、さらに香気成分の1つである3-メチルブタナールが熟成の指標となる可能性が示唆された。

謝辞

本研究の推進に当たり、宮城県味噌醤油工業協同組合および組合員の皆様にはサンプル提供やご助言を頂くなど多大なるご協力を頂きました。ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) 佐藤信. 食品を対象とした多変量解析法. 化学と生物. 1982, 20(6), p.390-398
- 2) 羽生幸弘, 浅野壮宏, 小山誠司. 多変量解析による工程管理手法の検討. 令和4年度宮城県産業技術総合センター研究報告. 2023, 20, p.69-73
- 3) 羽生幸弘. 多変量解析による工程管理手法の検討. 令和5年度宮城県産業技術総合センター研究報告. 2024, 21, p.45-50
- 4) 全国味噌技術会. 新・味噌技術ハンドブック 付基準みそ分析法. 2006
- 5) 宮城県味噌醤油工業協同組合. 本場仙台味噌統一仕込要領. 2024

表2 各測定データのDF1に対する因子負荷量

データ名	因子負荷量	データ名	因子負荷量	データ名	因子負荷量
酸度Ⅱ	0.61	メチオノール	0.43	CPS	0.15
総酸度	0.61	アルコール	0.40	水分	0.15
3-メチルブタナール	0.60	酢酸エチル	0.40	NMS	0.064
酸度Ⅰ	0.58	ヘキサン酸エチル	0.38	ANS	0.053
酢酸イソamil	0.53	2,3-ブタンジオール	0.35	塩分	-0.082
2-メチルブタナール	0.50	アミノ態窒素	0.35	総窒素	-0.10
イソペンチルアルコール	0.50	タンパク分解率	0.34	PKS	-0.13
2-メチル-1-プロパノール	0.47	フルフラール	0.31	直接還元糖	-0.17
可溶性窒素	0.46	2-メチルブタン酸エチル	0.29	SCS	-0.33
イソ吉草酸	0.44	酢酸イソブチル	0.24	AHS	-0.37
タンパク溶解率	0.44	1-ブタノール	0.21	pH	-0.65
エタノール	0.43	CTS	0.18	Y(%)	-0.72