

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-57591
(P2015-57591A)

(43) 公開日 平成27年3月26日(2015.3.26)

(51) Int.Cl.
GO1N 21/47 (2006.01)

F I
GO1N 21/47

テーマコード(参考)
2G059

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2014-128971 (P2014-128971)
(22) 出願日 平成26年6月24日(2014.6.24)
(31) 優先権主張番号 特願2013-165668 (P2013-165668)
(32) 優先日 平成25年8月9日(2013.8.9)
(33) 優先権主張国 日本国(JP)

(71) 出願人 000001993
株式会社島津製作所
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
(74) 代理人 100114030
弁理士 鹿島 義雄
(72) 発明者 杉岡 幹生
京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会
社島津製作所内
Fターム(参考) 2G059 AA01 BB06 BB11 CC13 CC19
DD13 EE02 EE12 FF08 GG05
HH01 HH02 HH03 JJ01 JJ16
KK01 MM01 MM02 MM03 MM09
MM12 MM16 MM17 PP04

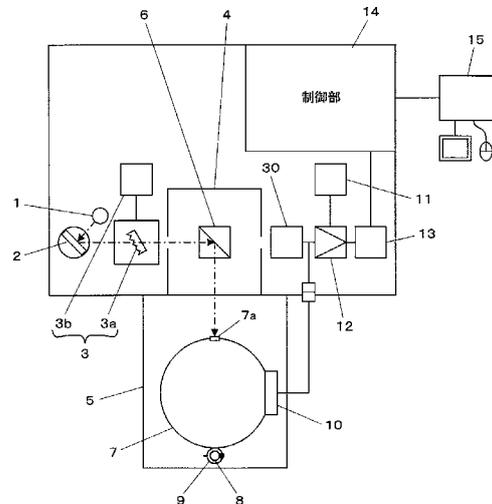
(54) 【発明の名称】 懸濁液中の懸濁物濃度の分析方法および分析装置

(57) 【要約】

【課題】 通常の前分光の分光光度計の構造に殆ど変更を加えることなく、簡便かつ迅速に懸濁液中の懸濁物濃度を高精度に測定することのできる方法および装置を提供する。

【解決手段】 積分球を装着した分光光度計を用い、容器に収容した懸濁液に対して近赤外領域を含む波長範囲で選択した測定光を照射してその反射スペクトルを測定し、懸濁物濃度既知の複数種の標準サンプルの反射スペクトルを用い、回帰法に基づく定量手法で作成した検量モデルを用いて懸濁液中の懸濁物濃度を求めることで、汎用の分光光度計ほぼそのまま用いることを可能とし、かつ、透過測定に比して試料を収容する容器の制約をなくし、簡便かつ迅速な高精度測定を実現する。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

懸濁液中の懸濁物濃度の分析方法であって、積分球を装着した分光光度計を用い、分析対象の懸濁液を収容した試料容器を上記積分球の開口部からその内部に臨ませた状態で、測定した波長範囲で順次波長選択した測定光を、上記積分球の別の開口部を通じて上記試料容器内の懸濁液に照射し、その反射光を当該積分球に設けられた検出器で検出することにより反射スペクトルを測定し、その測定結果と、懸濁物濃度既知の複数種の標準サンプルの各反射スペクトルを用いた回帰法に基づく定量手法で作成した検量モデルとから、上記分析対象の懸濁液中の懸濁物濃度を求めることを特徴とする懸濁液中の懸濁物濃度分析方法。

10

【請求項 2】

上記回帰法に基づく定量手法が、多変量解析に基づく定量手法であることを特徴とする請求項 1 に記載の懸濁液中の懸濁物濃度分析方法。

【請求項 3】

上記試料容器としてスクリー管瓶を用いることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の牛乳類の脂質量分析方法。

【請求項 4】

上記試料容器として分析対象の懸濁液が収容されて流通に供される容器を用い、分析対象の懸濁液が当該容器に封入された流通状態のままで分析に供することを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の懸濁液中の懸濁物濃度分析装置。

20

【請求項 5】

懸濁液中の懸濁物濃度を分析するための分析装置であって、紫外から近赤外の領域の白色光を発生する光源と、その光源からの光を分光する分光器と、その分光器により順次波長選択された測定光が導入される測定光導入用開口部、および、その導入された測定光の光路上に形成された反射測定試料設置用開口部を備えた積分球と、その積分球の内部に臨み、当該積分球の内面で集光された反射光を検出する検出器と、その検出器の出力に基づいて試料の反射スペクトルを算出する反射スペクトル算出手段と、懸濁物濃度既知の複数の標準サンプルの各反射スペクトルを用いた回帰法による定量手法に基づいて検量モデルを作成する検量モデル演算手段と、分析対象の懸濁液の反射スペクトルの測定結果と検量モデルとから、その懸濁液中の懸濁物濃度を算出する懸濁物濃度算出手段を備えとともに、上記積分球の外側には、分析対象の懸濁液を収容した容器を上記反射測定試料設置用開口部に対し、一定の位置関係のもとに固定するための保持機構が設けられていることを特徴とする懸濁液中の懸濁物濃度分析装置。

30

【請求項 6】

懸濁液中の懸濁物濃度を分析するための分析装置であって、紫外から近赤外の領域の白色光を発生する光源と、その光源からの光を分光する分光器と、その分光器により順次波長選択された測定光が導入される測定光導入用開口部、および、その導入された測定光の光路上に形成された反射測定試料設置用開口部を備えた積分球と、その積分球の内部に臨み、当該積分球の内面で集光された反射光を検出する検出器と、その検出器の出力に基づいて試料の反射スペクトルを算出する反射スペクトル算出手段と、懸濁物濃度既知の複数の標準サンプルの各反射スペクトルを用いた回帰法による定量手法に基づいて検量モデルを作成する検量モデル演算手段と、分析対象の懸濁液の反射スペクトルの測定結果と検量モデルとから、その懸濁液中の懸濁物濃度を算出する懸濁物濃度算出手段を備えとともに、上記積分球の外側に、分析対象の懸濁液を収容した容器を上記反射測定試料設置用開口部に対して一定の位置関係で停止するよう、反射スペクトルの測定動作に同期して順次供給する試料容器供給手段を備えていることを特徴とする懸濁液中の懸濁物濃度分析装置。

40

【請求項 7】

上記検量モデル演算手段による定量手法が、多変量解析に基づく定量手法であることを特徴とする請求項 5 または 6 に記載の懸濁液中の懸濁物濃度分析装置。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】**【0001】**

本発明は懸濁液中の懸濁物濃度の分析方法および分析装置に関し、特に濁りの大きな懸濁液中の懸濁物濃度の分析、例えば牛乳類の脂質量の分析や青汁の濃度、あるいは水中に浮遊する微細藻類（いわゆる鞭毛藻類）の濃度の分析に適した分析方法および装置に関する。

【背景技術】**【0002】**

牛乳や加工乳（本明細書においてこれらを総称して牛乳類と称する）に含まれている脂質（乳脂肪）の量の測定は、従来から、ゲルベル法やバブコック法が用いられている。これらの方法は、いずれも、乳に濃硫酸を加えて脂肪球を含む皮膜を破壊し、濃硫酸溶液中に浮遊した乳脂肪の小滴を遠心分離して収集し、体積を読み取るという方法である。

10

【0003】

また、このような従来からの手法に代えて、近赤外分光法を利用して脂質量を測定する方法が実用化されている。この近赤外分光法を利用した測定方法においては、液体試料測定用の試料セルに牛乳類を収容し、その試料セルに向けて測定光を照射し、その透過光を検出して牛乳類による吸収スペクトルを測定する。そして、脂質量が既知の複数種の牛乳の吸収スペクトルを測定してあらかじめ作成した検量モデルから測定対象の牛乳類の脂質量を算出する。

【0004】

このような近赤外分光法を利用した牛乳類の脂質量の測定方法としては、また、オンライン測定方法も提案されている（例えば非特許文献1参照）。この提案技術によれば、牛乳が流される試料室内に向けてハロゲンランプからの光を照射し、牛乳による拡散透過光を光ファイバにより分光器に導いて分光し、試料室内を流れる牛乳類による光の吸収スペクトルを刻々と測定し、あらかじめ求めた検量モデルに基づいて試料室内を流れる牛乳の脂質量をオンラインで連続的に測定する。

20

【先行技術文献】**【非特許文献】****【0005】**

【非特許文献1】于 長華「近赤外分光法による搾乳時生乳成分の連続測定」（北海道大学大学院 農学研究科 生物資源生産学専攻 生物生産工学講座 1999年度修士論文発表会講演要旨 2000年2月10日）

30

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0006】**

ところで、牛乳類の脂質量を測定する従来のゲルベル法やバブコック法は、測定に長時間を要するとともに、硫酸を用いるため危険であるという問題もある。

【0007】

また、オンラインで脂質量を測定する非特許文献1に開示の技術によれば、通常分光光度計の構造を大幅に変更して全く違う形にする必要がある。しかも、この非特許文献1に開示されている技術によると、分析対象を透過した光を光ファイバで分光器に導いて後分光を行う構成となっているため、測定精度も期待できない。

40

【0008】

一方、紫外から近赤外までの領域を測定できる通常分光光度計を用いる方法は、前分光での測定を行うことができるため、高い測定精度を期待することができるが、以下の問題がある。

【0009】

紫外可視近赤外分光光度計の透過測定では、牛乳の濁りの影響で光が散乱し検出器まで光が届かず測定が困難となる。また特に近赤外域（波長約900nm～2500nm）では、水の吸収の影響が非常に大きく、透過測定（吸収測定）では良好なスペクトルを得る

50

ことが難しい。そこで水の吸収を抑えるため、光路長 10 mm の石英セルではなく、光路長 2 mm 以下の角セルを用いる必要がある。

【0010】

また、牛乳類以外の懸濁液、すなわち濁ったドリンクや微細藻類、青汁などの比較的濁りの大きな懸濁液について、その液に濁りを与えている粒子の濃度を分光光度計で測定する場合も同様である。すなわち、濁りのある液ではその液を希釈して角セルに収容し、透過測定でスペクトルを測定する。濁りが非常に薄い場合は希釈することなく測定可能である場合もあるが、濁りの大きな液では光の散乱が大きく、検出器まで十分に透過光が届かず、測定不能となる。よって、その場合は被測定液を希釈するなど面倒な作業を行う必要がある。また、角セルを用いた測定では、同一セルを共洗いして繰り返し使うため、毎回セルの洗浄が必要であり、前記したように光路長 2 mm 以下のセルを用いる場合には、洗浄作業が困難となるという問題が生じることもあって、迅速かつ簡便に濃度測定を行うことができない。

10

【0011】

本発明はこのような実情に鑑みてなされたもので、通常の前分光の分光光度計の構造に殆ど変更を加えることなく、簡便かつ迅速に牛乳類の脂質量など、濁りの大きな懸濁液中の懸濁物濃度を高精度に測定することのできる方法および装置の提供をその課題としている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明の懸濁液中の懸濁物濃度分析方法は、積分球を装着した分光光度計を用い、分析対象の懸濁液を収容した試料容器を上記積分球の開口部からその内部に臨ませた状態で、近赤外領域を含む波長範囲で順次波長選択した測定光を、上記積分球の別の開口部を通じて上記試料容器内の懸濁液に照射し、その反射光を当該積分球に設けられた検出器で検出することにより反射スペクトルを測定し、その測定結果と、懸濁物濃度既知の複数種の標準サンプルの各反射スペクトルを用いた回帰法に基づく定量手法で作成した検量モデルとから、上記分析対象の懸濁液中の懸濁物濃度を求めることによって特徴づけられる。

20

【0013】

本発明は、汎用の前分光方式の分光光度計の構造と精度を維持しながら、セルの洗浄時に発生する問題や試料の希釈作業等の問題を解消して、簡便かつ迅速に濁りの大きな懸濁液中の懸濁物濃度の分析の実行を目的として鋭意検討および研究を重ねた結果なされたものであり、分光光度計の積分球を用いた反射測定を行うことにより、懸濁液中の懸濁物濃度を正確に測定できる、という結論に達した。

30

【0014】

すなわち、積分球を用いた反射測定により懸濁液の反射スペクトルを測定することで、回帰法に基づく検量モデルから、例えば牛乳類の脂質量や青汁の濃度、あるいは水中に浮遊する微細藻類の濃度を正確に求め得ることを確認した。

【0015】

この発明方法は、分析対象の懸濁液中の粒子（懸濁物）が増えるほど、測定光の照射部位における液界面近傍で当該測定光が反射・散乱する場所が増えて反射率が高くなる、という関係を利用したものである。

40

【0016】

すなわち、図 1 に本発明方法の測定原理を概念的に示すように、液中の粒子 P の密度が高い（A）の場合は、測定光 L の照射部位における液界面近傍に多く存在する粒子 P により、測定光 L はその多くが反射されて容器 V の外部に拡散することになるが、液中の粒子 P の密度が低い（B）の場合には、測定光 L の照射部位における液界面近傍に存在する粒子 P は少なく、したがって粒子 P により反射されて容器 V の外部に拡散する光も少なくなり、測定光の多くは液中を進んで減衰してしまうか、あるいは液界面から遠い粒子によって反射されるものの、容器 V の外部へ到達するまでに液中で減衰してしまい、結果として反射光強度は（A）の場合に比して小さくなる。

50

【0017】

容器Vの外部へ拡散した反射光を積分球により集積して検出器に導き、分析対象の懸濁液の反射スペクトルを測定すれば、その測定結果と、あらかじめ懸濁物濃度既知の複数の標準サンプルの各反射スペクトルの反射率を用いて回帰法に基づく定量手法で作成した検量モデルとから、分析対象の懸濁液中の懸濁物濃度を求めることができる。

【0018】

検量モデルは、反射スペクトル中の一つの波長の反射率を使う定量である単回帰と、複数波長の反射率を使う定量である多変量解析（重回帰やPLS等）のいずれでも良いが、多変量解析に基づく検量モデルの方がより正確な懸濁物濃度分析を行い得ることが確かめられている。

10

【0019】

そして、本発明は反射測定であるため、透過測定の場合のように光路長に起因するセル（試料容器）の制約がなく、洗浄作業についての問題は生じない。また、安価なスクリー管瓶などを用いて試料容器を使い捨てとしたり、あるいは懸濁液が透明容器に収容されて市販されている場合には、その製品形態のまま測定に供することも可能である。しかも、積分球を用いた前分光としているため、汎用の分光光度計の構造を大幅に改造する必要もなく、高い精度でのスペクトル測定が可能となる。

【0020】

本発明の懸濁液中の懸濁物濃度分析装置は、本発明の分析方法を実現する装置であり、請求項5に係る発明の分析装置は、紫外から近赤外の領域を含む波長範囲の白色光を発生する光源と、その光源からの光を分光する分光器と、その分光器により順次波長選択された測定光が導入される測定光導入用開口部、および、その導入された測定光の光路上に形成された反射測定試料設置用開口部を備えた積分球と、その積分球の内部に臨み、当該積分球の内面で集光された反射光を検出する検出器と、その検出器の出力に基づいて試料の反射スペクトルを算出する反射スペクトル算出手段と、懸濁物濃度既知の複数の標準サンプルの各反射スペクトルを用いた回帰法による定量手法に基づいて検量モデルを作成する検量モデル演算手段と、分析対象の懸濁液の反射スペクトルの測定結果と検量モデルとから、その懸濁液中の懸濁物濃度を算出する懸濁物濃度算出手段を備えるとともに、上記積分球の外側には、分析対象の懸濁液を収容した容器を上記反射測定試料設置用開口部に対し、一定の位置関係のもとに固定するための保持機構が設けられていることによって特徴づけられる。

20

30

【0021】

一方、請求項6に係る発明の分析装置は、積分球の外側に、分析対象の懸濁液を収容した容器を上記反射測定試料設置用開口部に対して一定の位置関係で停止するよう、反射スペクトルの測定動作に同期して順次供給する試料容器供給手段を備えていることを特徴としている。

【0022】

以上の請求項5および6に係る発明の分析装置は、汎用の分光光度計の基本構成を維持しながら、液体試料の反射測定を可能とするものであって、請求項5に係る発明では、積分球の反射測定試料設置用開口部に対して一定の位置関係のもとに試料容器を固定するための保持機構を設け、これにより、液体試料の反射測定の繰り返し精度を向上させることが可能となる。

40

【0023】

これに対し請求項6に係る発明では、同じく積分球の反射試料設置用開口部に対して一定の位置関係で試料容器が停止するよう、反射スペクトルの測定動作に同期させて自動的に試料容器を順次供給することで、正確な反射スペクトルの測定をオンラインで実現することを可能としている。

【発明の効果】

【0024】

本発明によれば、前分光で積分球を用いた反射測定によって懸濁液の反射スペクトルを

50

測定し、回帰法の定量手法に基づいて作成した検量モデルを用いてその懸濁物濃度を求めるので、従来の分光光度計を利用した透過測定による吸収スペクトルから懸濁物濃度を求める場合に比して、試料容器（セル）の形態に光路長による制約を受けることなく、試料容器を任意のものとすることができ、例えば安価なスクリー管瓶を測定時の試料容器に供して使い捨てとしたり、あるいは製品として透明容器に収容された流通形態での懸濁液をそのまま測定に供することなどが可能となり、迅速かつ簡便で正確に懸濁液中の懸濁物濃度を測定することが可能となった。

【 0 0 2 5 】

しかも、分析装置は汎用の紫外可視近赤外分光光度計に積分球を装着し、その反射測定試料設置用開口部に対して試料容器の保持機構を設けるか、あるいはその開口部に対して順次試料容器を供給する供給手段を設けるだけで良く、汎用の分光光度計に対して大幅な構造変更を行う必要がなく、装置コストを低く抑えることができるとともに、オンライン測定をも実現することができる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 6 】

【 図 1 】本発明方法の原理を説明する概念図。

【 図 2 】本発明の実施形態の構成を示す模式図。

【 図 3 】本発明の実施形態における積分球内部での測定光の光路と、分析対象の牛乳類を収容した試料容器の保持状態を表す概略模式図（ A ）と、その保持機構の開放状態を示す模式図（ B ）。

【 図 4 】本発明の実施形態による牛乳類の脂質量の測定手順を示すフローチャート。

【 図 5 】実験に用いた 9 種の牛乳類の反射スペクトルの測定結果を表すグラフ。

【 図 6 】重回帰検量モデルによる予測結果と実際の脂質量との相関を表すグラフ。

【 図 7 】 P L S 検量モデルによる予測結果と実際の脂質量との相関を表すグラフ。

【 図 8 】本発明の他の実施形態の要部構成を示す模式図。

【 図 9 】実験に用いた 1 1 種の青汁の反射スペクトルの測定結果を表すグラフ。

【 図 1 0 】単回帰検量モデルによる青汁の濃度予測結果と実際の濃度との相関を表すグラフ。

【 図 1 1 】重回帰検量モデルによる青汁の濃度予測結果と実際の濃度との相関を表すグラフ。

【 図 1 2 】微細藻類懸濁液中の微細藻類の濃度測定の実験に用いた 1 2 種類のナンノクロロプシス（登録商標）懸濁液の反射スペクトルの測定結果を表すグラフ。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 7 】

以下、図面を参照しつつ本発明の実施の形態について説明する。図 2 にその構成を模式図で示す。

この例は、汎用の紫外可視近赤外分光光度計に外付け部品として積分球を装着したものを基本構成とするものであり、光源 1 からの光はミラー 2 により光路の向きが調整されて分光器 3 に向かう。分光器 3 は回折格子 3 a とその角度を調整する波長送り機構 3 b を主体とし、回折格子 3 a の角度を変化させることによって、試料室 4 に向かう単色光の波長が変化する。つまり、分光器 3 によって試料室 4 内に導かれる測定光の波長が選択される。

【 0 0 2 8 】

試料室 4 内には、分光器 3 により波長選択された測定光を、外付けされた筐体 5 内へと向かわせるミラー 6 が配置されている。筐体 5 内には積分球 7 が設けられており、ミラー 6 で反射した測定光は、積分球 7 に設けられた測定光導入用開口部 7 a を介してその内部に入射し、当該積分球 7 に設けられている反射測定試料設置用開口部 7 b（図 3 参照）を介して試料容器 8 に照射される。

【 0 0 2 9 】

ここで、積分球 7 内部における測定光の光路と、分析対象の牛乳類を収容した試料容器

8の保持状態を表す概略的な模式図を図3(A)に示す。積分球7には、測定光が入射する測定光導入用開口部7aと、反射測定試料設置用開口部7bとが少なくとも形成されており、反射測定試料設置用開口部7bの外側に、分析対象である牛乳類を収容する試料容器8が位置決め固定され、この試料容器8の側面が積分球7の内側に臨み、そこに測定光が照射される。この例では、全光線反射測定が採用され、試料容器8の法線に対して8°程度傾いた方向から測定光が照射される。なお、必ずしも全光線反射測定である必要はなく、拡散反射測定を採用することもできる。

【0030】

積分球7はその内面が球面で、その内表面は硫酸バリウムなどの反射率の高い光散乱素材で作製されるとともに、反射測定試料設置用開口部7bに近接して積分球7の外側には、試料容器8を積分球7に対して常に一定の位置関係のもとに位置決め固定するための保持機構9が設けられている。

10

【0031】

この例では、試料容器8として円筒形のスクリュ管瓶を用いており、保持機構9は全体として鉛直方向に伸びる略円筒形をなし、筐体5に対して下端部分が固定される本体部9aと、その本体部9aに対してヒンジ機構9bを介して開閉自在に支持された蓋体部9cを備えている。この保持機構9の蓋体部9cを開いた状態の模式図を図3(B)に示す。蓋体部9cの内面にはスポンジ等の弱い弾性材料9dが貼着され、これにより蓋体部9cを閉じた状態では、試料容器8は本体部9aに対して押し付けられることになり、試料容器8は積分球7の反射測定試料設置用開口部7bに対して一定の位置関係のもとに位置決め固定された状態となる。

20

【0032】

また、図2に示すように、積分球7には、測定光導入用開口部7aおよび反射測定試料設置用開口部7bのいずれに対しても約90°離れた位置に検出器10が取り付けられている。この検出器10は、その有感面が積分球7に形成された開口を塞ぐように取り付けられており、試料容器8内の牛乳類により反射した測定光が積分球7の内面で散乱反射して集光され、その反射光強度を検出する。なお、図3においては図面の複雑化を避けるため、検出器10の図示を省略している。また、実際の装置においては、光源変動モニタ用のリファレンス光が積分球7内に照射される、いわゆるダブルビーム型式が用いられるが、図2, 3ではその図示も省略している。

30

【0033】

さて、積分球7内の反射光を検出する検出器10からの出力は、ゲイン設定機構11により所望の増幅率に設定された増幅器12で増幅され、A/D変換器13でデジタル化されたうえで制御部14に取り込まれる。制御部14は装置制御に必要なプログラムや設定パラメータなどの情報を記憶し、装置全体の制御を行う。また、後述する基準試料を用いてベースライン補正を行うことにより、分析対象の反射光の検出データは基準試料の反射率に対する相対反射率データに換算される。

【0034】

制御部14はパーソナルコンピュータ15と接続されており、このパーソナルコンピュータ15では、制御部14から取り込んだ各波長ごとの相対反射率データ、つまり試料の反射スペクトルを表示する他、後述する多変量解析の定量手法に基づく検量モデルの作成、その検量モデルと分析対象の反射スペクトルから、その分析試料の脂質量の算出・表示などを行う。

40

【0035】

なお、この実施の形態は汎用の分光分析装置をベースとして用いているため、分光器3からの測定光を積分球7側に向かわせるミラー6は着脱自在であり、積分球7を使用しない場合はミラー6に代えてセルホルダが取り付けられる。セルホルダは試料セルを保持するものであり、この場合、分光器3からの測定光は試料室4内の試料セルを透過して検出器30によって検出され、その出力が増幅器12により増幅される。

【0036】

50

以上の構成からなる本発明の実施の形態を用いて、牛乳類の脂質量の分析を行う際の手順について以下に説明する。図4はその手順を表すフローチャートである。

【0037】

汎用の分光光度計に積分球7と試料容器8の保持機構9を備えた外付けの筐体5を取り付けるとともに、光路変更用のミラー6を装着する。その後、積分球7の反射測定試料設置用開口部7b(図3(A)参照)に、セラミック白板や硫酸バリウム板などの標準白板を設置してベースライン補正を行う。

【0038】

次に、脂質量既知の複数の標準サンプルを用い、それぞれを試料容器8に収容して保持機構9に保持し、順次反射スペクトルを求める。そして、これらのスペクトルデータを用いて検量モデルを作成する。この検量モデルは、例えば重回帰やPLSなどの多変量解析の定量手法に基づいて作成するのであるが、この検量モデルに関しては後述する。

10

【0039】

その後、未知の試料を試料容器8に収容して上記と同様に保持機構9に保持し、反射スペクトルを測定する。そして、測定する必要がある試料を測定した後、検量モデルを用いて全ての未知試料の脂質量を算出する。

【0040】

以上のように積分球を用いて牛乳類の反射スペクトルを測定することにより、その牛乳類に含まれる脂質の定量が有効であることは、以下の実験により確認されている。

【0041】

それぞれ市販されている濃い牛乳3種と、普通の牛乳3種、および低脂肪乳3種の合計9種類の牛乳類を用意した。各牛乳類は、[表1]に成分ごとの量を示すように、脂質だけでなくたんぱく質や炭水化物といった他の成分もそれぞれ相違しているが、このような状況において、脂質量のみを正確に測定できるかを実験した。なお[表1]は各牛乳パックに表示されている値であり、メーカーは脂質量をゲルベル法やレーゼゴットリーブ法で測定している。また、牛乳パックに表示されている値は年平均であり、脂質の量は季節によって若干変動する。

20

【0042】

【表1】

サンプル名	たんぱく質 (g/200ml or 200g)	脂質 (g/200ml or 200g)	炭水化物 (g/200ml or 200g)
濃1	6.6	9.3	10.0
濃2	6.4	9.5	10.7
濃3	6.6	9.4	10.3
普通1	6.5	7.6	9.6
普通2	6.4	7.6	9.6
普通3	7.2	7.8	9.4
低脂肪1	7.6	0.2	10.8
低脂肪2	7.6	2.0	11.4
低脂肪3	6.0	1.0	9.2

30

40

【0043】

用意した9種の牛乳類についてスクリー管瓶からなる試料容器に収容して、それぞれ2回ずつ反射スペクトルを測定した。その結果を図5に示す。この図5と、前記した[表1]とから、反射スペクトルの差は主として脂質量の相違を反映していると考えられ、脂

50

質量が少ないほど反射スペクトルは総じて低い値を示している。

【0044】

[表1]に示した濃い牛乳1~3、普通の牛乳1~3、および低脂肪乳1~3の各サンプルのうち、各1と3のサンプルを標準サンプル(計12データ)とし、その各反射スペクトルの反射率データを説明変数、脂質量を目的変数として検量モデルを作成した。検量モデルの作成に用いた解析手法は、重回帰とPLS(Partial Least Squares)の二手法とし、それぞれの手法で作成した検量モデルによる定量精度を比較した。なお、重回帰では、1000nm, 1200nm, 1500nm, 1800nmの4波長のデータを用いた。一方、PLSは1100nm~1500nm間の全データを用いた。また、PLSではデータの中心平均化を行った。

10

【0045】

そして、濃い牛乳1~3、普通の牛乳1~3、および低脂肪乳1~3のうち、残る各2のサンプルを検証用サンプル(計6データ)として使うことで検量モデルを検証した。

【0046】

[表2]に重回帰とPLSの各検量モデルを用いて各検証用サンプルの脂質量を予測した結果と、実際の脂質量(牛乳パックに表示された脂質量)とを示す。また、図6に重回帰に基づく検量モデルによる予測結果と実際の脂質量(パック表示値)との相関を表すグラフを、図7には同じくPLSに基づく検量モデルによる予測結果と実際の脂質量(牛乳パック表示値)との相関を表すグラフをそれぞれ示す。

20

【0047】

【表2】

サンプル名	牛乳パック表示値 (g/200ml or 200g)	重回帰による予測結果	PLSによる予測結果
濃2-1	9.5	8.87	9.57
濃2-2	9.5	8.89	9.65
普通2-1	7.6	8.04	8.40
普通2-2	7.6	7.59	7.71
低脂肪2-1	2.0	2.24	1.78
低脂肪2-2	2.0	2.36	1.72

30

【0048】

これらの[表2]および図6, 7から明らかなように、重回帰およびPLSにそれぞれ基づく検量モデルの双方とも良好な結果を示し、積分球を装着した分光分析装置により牛乳類の反射測定を行い、多変量解析に基づく定量手法で作成した検量モデルを用いて脂質量を定量する方法が有効であることが確かめられた。

【0049】

なお、以上の実験では、定量モデルとして重回帰およびPLSを用いて作成したが、多変量解析の他の定量手法であるPCR(Principal Component Regression)やカーネル法、サポートベクター回帰(SVR: Support Vector Regression)等についても同様に用いることができる。

40

【0050】

また、図2に示した実施の形態においては、試料をスクリー管瓶に収容して分析装置にセットした例を示したが、試料を収容する容器は特に限定されるものではなく、例えば、試験管やまた分光分析で一般的に用いられるガラス製のセルを用いることもできる。

【0051】

さらに、図2の実施の形態では試料容器を個々に手動で分析装置にセットする例を示し

50

たが、これに代えてオンライン測定を行うこともできる。その要部構成例を図 8 に示す。

【 0 0 5 2 】

この図 8 の例は、分析装置および積分球を含む測定系については図 2 の例と同じであるが、積分球 7 の反射測定試料設置用開口部 7 b の外側に配置される保持機構 9 に代えて、試料を収容した試料容器 2 1 を反射測定試料設置用開口部 7 b の直近に順次供給する供給機構 2 0 を設けている点が相違している。供給機構 2 0 は、分析装置による反射スペクトルの測定動作と同期し、一つの試料の測定を完了するごとに、次の試料を積分球 7 の反射測定試料設置用開口部 7 b の外側の規定位置に移動させる。また、この例では、試料容器 2 1 として実際の流通に供される牛乳瓶を用いることができ、牛乳瓶に瓶詰めした牛乳類をそのまま測定に供することを可能とし、製造時の瓶詰め工程におけるオンライン測定を実現している。

10

【 0 0 5 3 】

次に、図 2 の実施の形態を用いて、青汁の濃度を測定した例について述べる。青汁は、一般的に大麦、ケールなど野菜を搾った汁であり、本発明では、それに含まれる葉緑素などを含む食物繊維等の野菜由来成分の懸濁物の濃度を測定することができる。

この例においても、試料容器 8 として先の牛乳類の測定例と同様のスクリー管瓶を用い、分析対象である青汁 1 種を順次希釈して [表 3] および [表 4] に示す 1 1 種のサンプルを作成し、[表 3] のサンプルを標準サンプル、[表 4] のサンプルを検証用サンプルとして用いた。

20

【 0 0 5 4 】

なお、[表 3] に示すように、これらのサンプルのうち、(1) は原液、(1 1) は純水であり、濃度は (1) の原液を 1 . 0、(1 1) の純水を 0 とする相対値として表している。

【 0 0 5 5 】

【 表 3 】

標準サンプル	濃度
(1)	1.0 (原液)
(3)	0.8
(4)	0.7
(6)	0.5
(7)	0.4
(9)	0.2
(10)	0.1
(11)	0 (純水)

30

【 0 0 5 6 】

【 表 4 】

検証用サンプル	濃度
(2)	0.9
(5)	0.6
(8)	0.3

40

【 0 0 5 7 】

各サンプルをそれぞれスクリー管瓶に収容して、図 2 の装置で反射スペクトルを測定

50

した結果を図9に示す。この図9に示す反射スペクトルにおいて、上から下へ順番に濃度の濃いものから薄いものとなっており、濃度に相関のある反射スペクトルが得られたことが判る。また、スクリー管瓶を取り替えて繰り返し測定を行ったが、再現性も良いことが確かめられた。

【0058】

定量のための検量モデルは、[表3]に掲げた8種の標準サンプルの各反射スペクトルを用いて2種類作成した。その一つは、各反射スペクトル中の一つの波長を用いた定量である単回帰で、他の一つは、同じく各反射スペクトル中の複数波長を用いた定量である多変量解析の重回帰である。そして、これらの2つの検量モデルによる定量精度を比較した。

10

【0059】

すなわち、[表4]に示した3種の検証用サンプルについて、それぞれ2回ずつ反射スペクトルを測定し、合計6個のデータから、上記の2つの検量モデルをそれぞれ用いて濃度の推定を行った。その結果を[表5]に示す。この[表5]においてRMSEPとは、真値と予測値の平均的な誤差であり、小さいほど定量精度が良いことを表す値である。

【0060】

【表5】

検証用サンプル	真の濃度	単回帰による予測結果	重回帰による予測結果
(2)-1	0.9	0.887	0.886
(2)-2	0.9	0.896	0.900
(5)-1	0.6	0.623	0.598
(5)-2	0.6	0.627	0.600
(8)-1	0.3	0.301	0.307
(8)-2	0.3	0.299	0.296
RMSEP	—	0.016	0.007

20

30

【0061】

また、図10に単回帰に基づく検量モデルによる予測結果と真の濃度との相関を表すグラフを、図11には重回帰に基づく検量モデルによる予測結果と真の濃度との相関を表すグラフを示す。[表5]および図10, 11から、検量モデルの作成に重回帰(多変量解析)を用いると、定量精度がより高くなることが確かめられた。これは、測定光の反射率と懸濁液濃度とが完全な比例関係(線形関係)ではないため、単回帰よりも重回帰を用いた方の精度が良くなるという一般論に合致している。

【0062】

次に、微細藻類懸濁液中の微細藻類の濃度を測定した例について述べる。

使用する微細藻類懸濁液のサンプルとして、ナンクロロプシス液(ヒガシマル社製、100億セル/ml)を用いた。また、この例においても、分析装置は図2に示した実施の形態のものを用い、試料容器としてスクリー管瓶を用いて定量実験を行った。

40

【0063】

上記のナンクロロプシス液を順次希釈して、[表6]および[表7]に示す12種のサンプルを作成し、[表6]のサンプルを標準サンプル、[表7]のサンプルを検証用サンプルとして用いた。

【0064】

【表 6】

標準サンプル	濃度
(1)	1.0 (原液)
(2)	0.9
(3)	0.8
(5)	0.6
(6)	0.5
(7)	0.4
(9)	0.2
(10)	0.1
(12)	0 (純水)

10

【 0 0 6 5 】

【表 7】

検証用サンプル	濃度
(4)	0.7
(8)	0.3
(11)	0.05

20

【 0 0 6 6 】

また、この例においても、[表 6]に示すように、各サンプルのうち、(1)は原液、(12)は純水であり、濃度は(1)の原液を1.0、(12)の純水を0とする相対値として表している。

【 0 0 6 7 】

30

各サンプルをそれぞれ2つのスクリー管瓶に収容して、図2の装置で反射スペクトルを測定した結果(12点×2=24データ)を図12に示す。この図12に示す反射スペクトルにおいて、上から下へ順番に濃度の濃いものから薄いものとなっており、微細藻類が懸濁している液でも、その濃度に相関のある反射スペクトルが得られることが確かめられた。また、スクリー管瓶を取り替えて繰り返し測定を行ったところ、ほぼ同等のスペクトルが得られ、再現性も良いことが確かめられた。

【 0 0 6 8 】

定量のための検量モデルは、[表 6]に掲げた9種の標準サンプルの各反射スペクトルを用いて2種類作成した。その一つは、各反射スペクトル中の一つの波長を用いた定量である単回帰で、他の一つは、同じく各反射スペクトル中の複数波長を用いた定量である多変量解析の重回帰である。なお、単回帰では910nmの反射率を採用し、重回帰では870nm、910nm、980nm、1070nmの4波長の反射率を採用した。

40

【 0 0 6 9 】

そして、[表 7]に示した検証用サンプルについてそれぞれ2つずつ測定した反射スペクトル(3点×3=6データ)から、上記の2種類の検量モデルをそれぞれ用いて濃度の推定を行った。その結果を[表 8]に示す。

【 0 0 7 0 】

【表 8】

検証用サンプル	真の濃度	単回帰による予測結果	重回帰による予測結果
(4)－1	0.7	0.729	0.692
(4)－2	0.7	0.734	0.691
(8)－1	0.3	0.324	0.283
(8)－2	0.3	0.323	0.300
(11)－1	0.05	0.014	0.053
(11)－2	0.05	0.015	0.054
RMSEP	—	0.031	0.0087

10

【0071】

【表 8】から明らかなように、重回帰による検量モデルを用いることにより、液中に懸濁している微細藻類の濃度を正確に推定し得ることが確かめられた。

【0072】

以上、牛乳類の脂質量、青汁の濃度および液中に懸濁している微細藻類の濃度についての実験結果をもとに説明したが、他の懸濁液についても同様の結果を得ることができる。懸濁液の定義としては、おおよそ 0.1 ~ 数百 μm の粒子が液中に多数存在する場合に、一般に濁った溶液、つまり懸濁液となる。その大きさの粒子が多数存在すると、溶液の界面近傍で測定光が反射・散乱することになる。本発明はその反射光を捉えて定量分析に利用しているものであり、上記の粒径範囲の粒子が液中に懸濁している懸濁液に対して本発明を等しく適用することができる。

20

【0073】

すなわち、本発明は、牛乳類の脂質、青汁、微細藻類懸濁液の他、濁った（透明度の低い）ドリンク等の濃度の測定に供することができる。微細藻類に関しては、近年オイルを生産する微細藻類の研究が盛んに行われているが、藻類バイオマスの分野では、微細藻類の成長度合いを知ることが必要となる。微細藻類は経時的に絶えず細胞数を増やしていくので、その細胞数の刻々の濃度を知ることが重要である。本発明を適用することにより、その濃度を簡便に測定することが可能となる。すなわち、検量モデルで使用した数波長の反射率を測定するだけで定量が可能であり、1 サンプルの測定所要時間は約 1 分程度で良い。また、本発明は、食品や化学の分野など、濁りのある液の濃度管理などに有用である。

30

【符号の説明】

【0074】

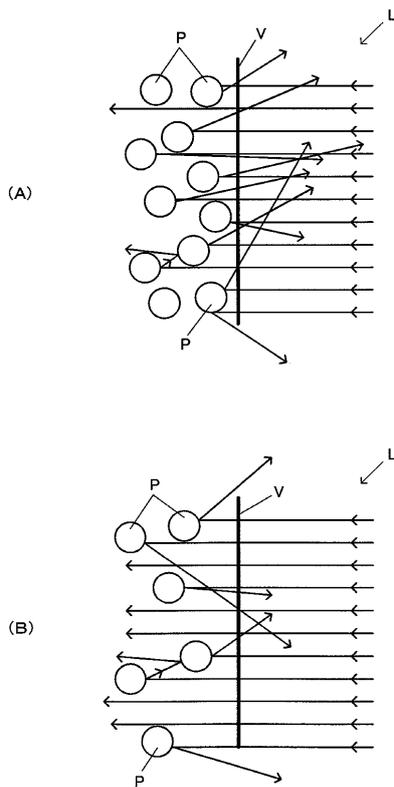
- 1 光源
- 3 分光器
- 3 a 回折格子
- 3 b 波長送り機構
- 4 試料室
- 5 筐体
- 6 ミラー
- 7 積分球
- 7 a 測定光入射用開口部
- 7 b 反射測定試料設置用開口部
- 8 試料容器
- 9 保持機構
- 9 a 本体部

40

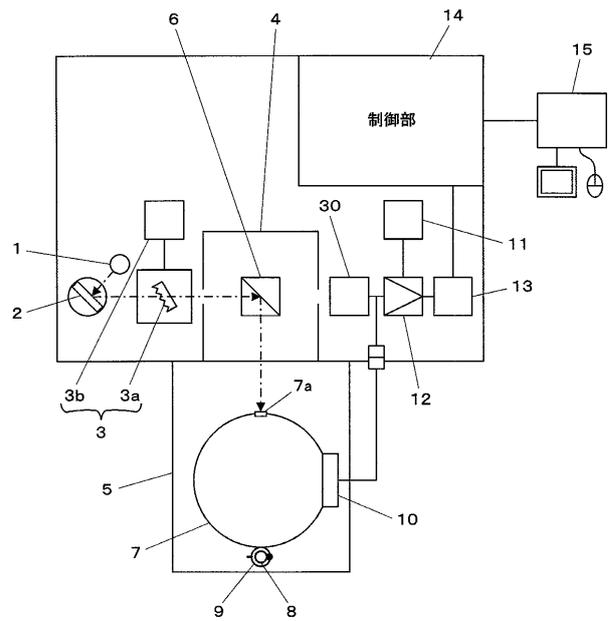
50

- 9 b ヒンジ機構
- 9 c 蓋体部
- 9 d 弾性材料
- 10 検出器
- 11 ゲイン設定機構
- 12 増幅器
- 13 A / D 変換器
- 14 制御部
- 15 パーソナルコンピュータ
- 20 供給機構
- 21 試料容器 (牛乳瓶)

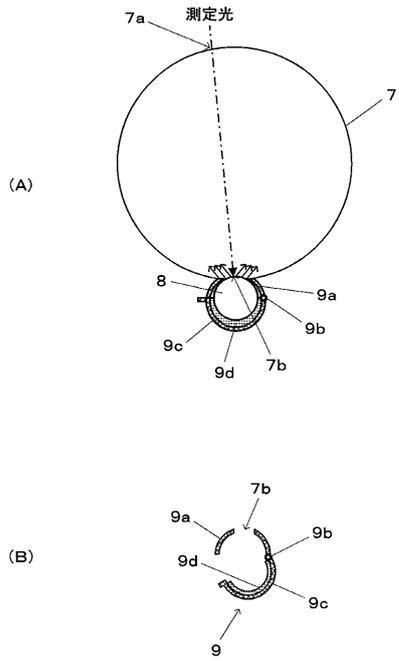
【 図 1 】



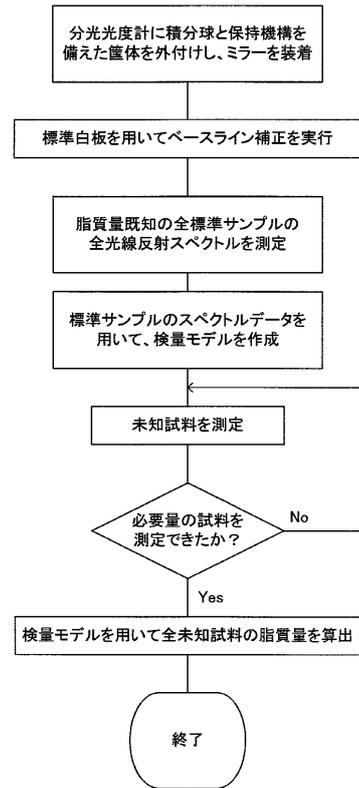
【 図 2 】



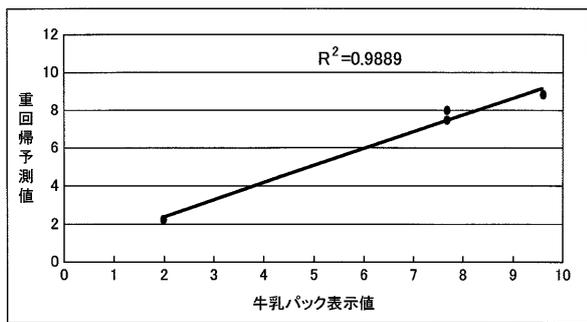
【 図 3 】



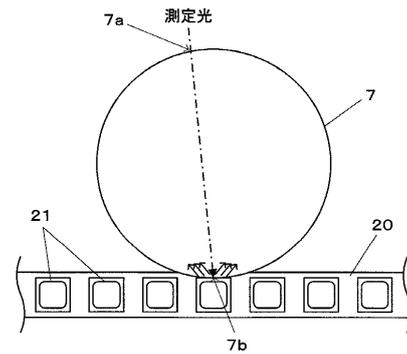
【 図 4 】



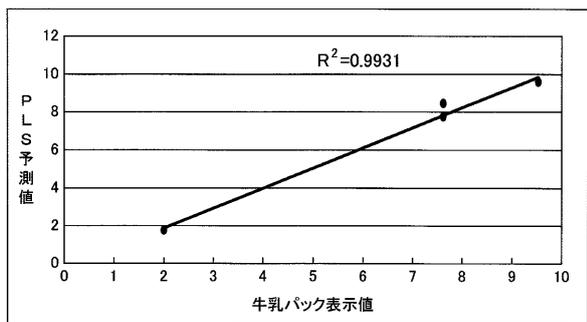
【 図 6 】



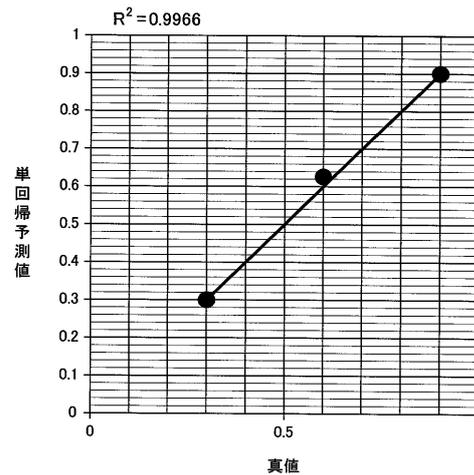
【 図 8 】



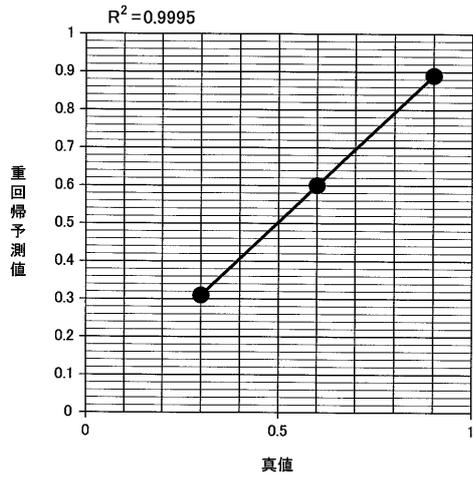
【 図 7 】



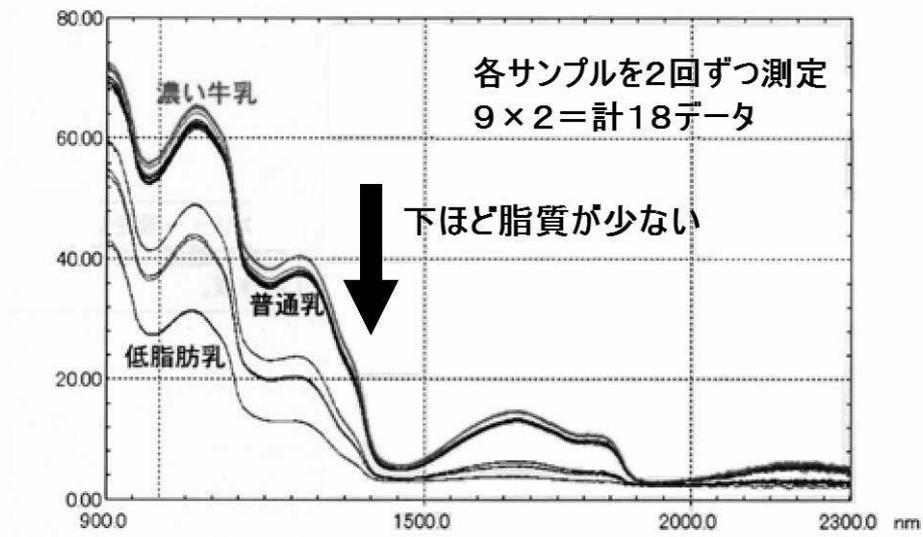
【 図 10 】



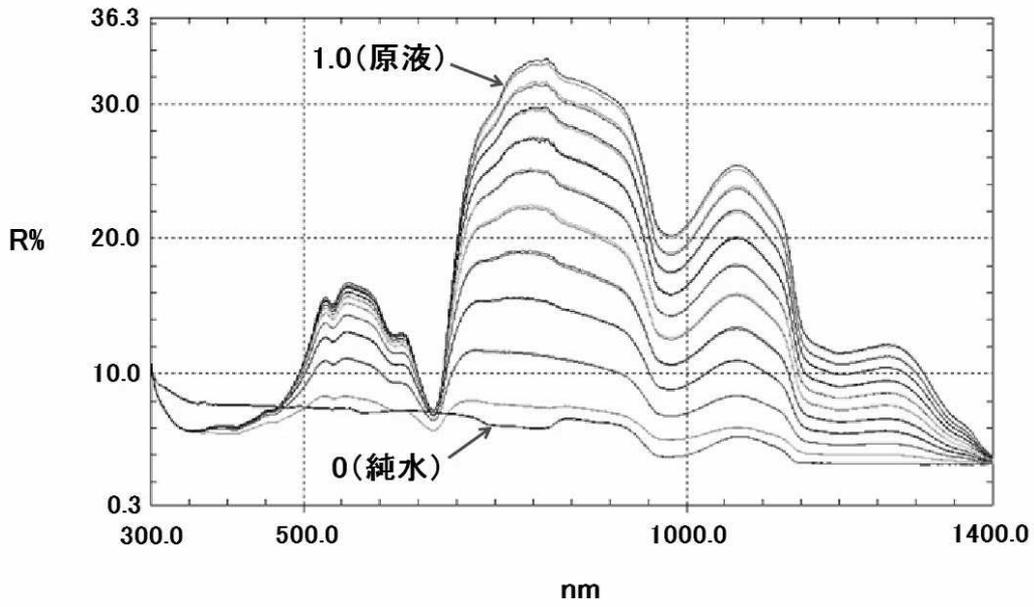
【 図 1 1 】



【 図 5 】



【 図 9 】



【 図 1 2 】

