

ノート

多変量解析法の税関分析への応用 - 混合油脂の分析 -

伊藤 聡美^{*}, 武藤 辰雄^{*}, 古橋 輝彦^{*}, 長井 哲也^{**}, 三井 利幸^{***}

Application of Multivariate Analysis at Customs Laboratory - Analysis of Mixed Fats -

Satomi ITO^{*}, Tatsuo MUTO^{*}, Teruhiko FURUHASHI^{*}, Tetsuya NAGAI^{**} and Toshiyuki MITSUI^{***}

^{*}Nagoya Customs Laboratory

2-3-12, Irifune, Minato-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken, 455-0032 Japan

^{**}Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531 Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 277-0076 Japan

^{***}Criminal Investigation Laboratory, Aichi Prefecture Police H. Q.

2-1-1, Sannomaru, Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken, 460-8502 Japan

Multivariate analysis was applied to determination of mixed ratios at the customs laboratory. In this method, the mixed ratio for a milk fat and coconut oil mixture was more accurately determined than in a conventional method. Both known blended samples and unknown samples were measured for triglyceride composition by GC. The 13 peaks and one peak (as an internal standard) at gas chromatograms were chosen by relative values to make a data base. These data were used for the multivariate analysis such as cluster analysis and principal component analysis.

1. 緒 言

ミルクを含有する調製食料品においては、ミルク成分の含有量により関税率表上の分類を異にし、税率格差も大きい。このため、脂肪分やたんぱく分については、ミルク由来分と、他の食品由来分との分離・定量が必要である。特に、脂肪分においては、原料ミルクが全脂粉乳から脱脂粉乳まで、脱脂程度により乳脂肪含有量が大きく異なることから、他のミルク成分から乳脂肪分を推定することができず、必ず脂肪分中の乳脂肪分の定量分析が必要となる。現在、混合油脂の混合割合は、トリグリセリドを直接ガスクロマトグラフィーで分離し、ピーク面積比から最小二乗法により求めている。¹⁾しかし、乳脂肪のトリグリセリド組成は、産地や時期により多少異なっており、標準として分析に用いた乳脂肪と輸入品の原料である乳脂肪のトリグリセリド組成が異なる場合には、必然的に定量誤差が生ずる。また、輸入申告時に原料ミルクが提出されることは稀であり、標準品として保管している数種の乳脂肪をやむを得ず分析に用いている。

ところで、三井ら^{2)~5)}は分析結果の信頼性の向上のために統計的な処理法である多変量解析法を鑑識科学の分野に応用し、成果をあげている。多変量解析法では、試料から得られる複数のデータから目的成分の定量に最も適するデータを一定の基準で選択するため、分析結果の客観性が確保できる。また、未知試料と既知試料のデータを併せて統計処理できるため未知試料の測定誤差がそのまま定量結果に影響することはなく、結果として精度の高い定量が期待できる。

私達は、この多変量解析法で混合油脂の定量を行えば、産地等によるトリグリセリド組成の違いによる定量誤差を客観的に小さくできるものと考えた。ここでは従来法との比較を含め多変量解析法による混合油脂の分析について報告する。

2. 実 験

2.1 試 料

乳脂肪（輸入品、国産品）6種類（乳脂肪 ~ ）
ヤシ油（試薬、SIGMA）

^{*} 名古屋税関業務部分析部門 〒455-0032 愛知県名古屋市中区入船 2-3-12

^{**} 大蔵省関税中央分析所 〒271-0076 千葉県松戸市岩瀬 531

^{***} 愛知県警察本部科学捜査研究所 〒460-8502 愛知県名古屋市中区三の丸 2-1-1

2.2 装置及び測定条件

GC : GC - 14B (島津)

カラム : ガラスカラム 20cm×3mm

Dexsil 300 GC(2%), Chromosorb WAW DMCS
(100 - 200 mesh)

キャリアーガス : He

オープン温度 : 250 - 6 /min - 380 (10min)

注入量 : 1 µl

注入口温度 : 385

検出器 : FID, 375

2.3 試料調製と GC 測定

2.1 の試料はあらかじめ 70 で 2 時間減圧乾燥し、各試料の適量を採取・混合し、加温溶解して、均一な試料とした。

Table1 に調製した既知試料 (No.1 ~ No.11) の組成割合と

Table 1 Composition of samples

(a) Known blend samples (mixture of milk fat① and coconut oil)

| Sample No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|----------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| Milk fat content (%) | 100.0 | 88.9 | 79.2 | 69.8 | 59.8 | 49.8 | 40.5 | 29.9 | 20.3 | 10.6 | 0.0 |

(b) Unknown samples

| Sample No. | uk1 | uk2 | uk3 | uk4 | uk5 | uk6 |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Number of milk fat | ① | ② | ③ | ④ | ⑤ | ⑥ |

未知試料に使用した原料乳脂肪を示す。調製した試料約 0.1g をクロロホルム 2ml に溶解させ、2.2 の条件で、直接ガスクロマトグラフィーに注入し、クロマトグラムを得た。

2.4 従来法 (最小二乗法)

乳脂肪とヤシ油の混合油脂について、2.3 で得られたトリグリセリドのガスクロマトグラム上の C₂₄ から C₅₄ までの 16 本のピークを用い、標準の乳脂肪とヤシ油のデータ及び未知試料のデータから、各ピークについて、

$$y_i = ax_{1i} + bx_{2i} + c$$

$$\begin{cases} y_i : \text{未知試料のピーク (i 本目)} \\ x_{1i} : \text{乳脂肪のピーク (i 本目)} \\ x_{2i} : \text{ヤシ油のピーク (i 本目)} \end{cases}$$

が成り立ち、16 本のピークについて誤差が最も小さくなる a, b を最小二乗法で求め、乳脂肪の含有率 (a / (a + b)) とヤシ油の含有率 (b / (a + b)) を算出した。

2.5 多変量解析法

2.5.1 データベースの作成

2.3 で調製した既知試料 No.1 ~ No.11 の 11 種の試料のガスクロマトグラム上の全てのピークを対象に以下のような数値化を行った。

全てのピーク面積値を試料間で同じ感度にするために特定のピーク (基本ピーク) 面積値で他のピーク面積値を割り、これを補正值とした。この補正值の最後の列に乳脂肪含有割合を加

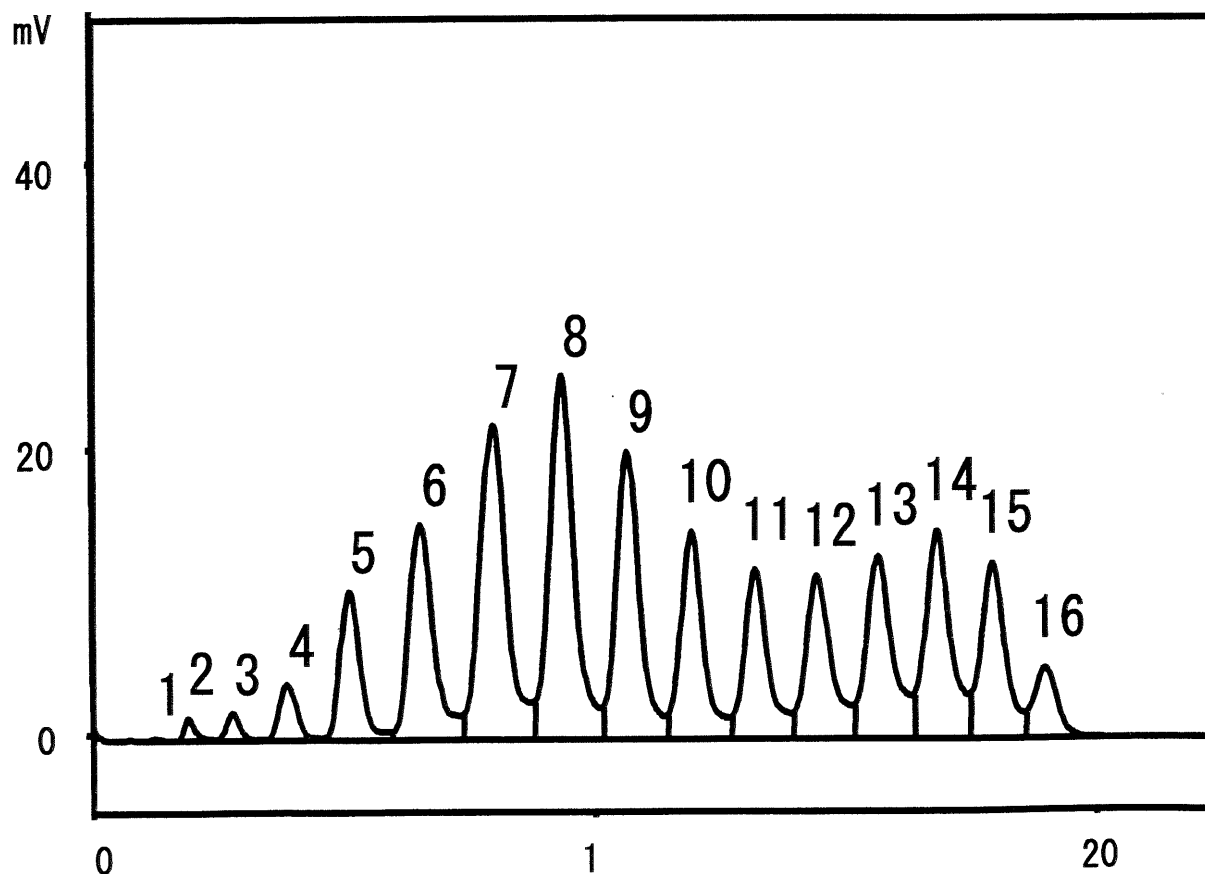


Fig.1 Chromatogram of Mixed Fats (Milk Fat : Coconut Oil = 80 : 20)

えた 11×16 行列を各ピークごとに平均を 50 とする偏差値に直すことで基準化した。この基準値を用いて各ピーク及び乳脂肪含有割合の相関係数を計算し主成分分析を行うことにより、乳脂肪含有割合に対して相関関係の低いピーク 1 及び 4 を排除した。

ここでは Fig.1 に示すピーク 6 を基本ピークとし、ピーク 1

及び 4 を除いた 13 個のピークが選択された。このようにして、前述した 11 個の試料を数値化してデータベースを作成した。混合比の明らかでない未知試料（原料乳脂肪もそれぞれ異なる）についても同様に数値化を行い、Table 2 に示すようにデータベースに未知試料を加えた 17×13 行列を用いて以下の解析を行った。

Table2 Filed data

| Sample | | Peak number ^{c)} | | | | | | | | | | | | |
|--------|----------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| No. | C ^{a)} :M ^{b)} | 2 | 3 | 5 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| 1 | 0:100 | 0.067 | 0.088 | 0.402 | 1.863 | 2.147 | 1.666 | 1.177 | 1.098 | 1.202 | 1.410 | 1.627 | 1.322 | 0.529 |
| 2 | 10:90 | 0.056 | 0.079 | 0.494 | 1.715 | 1.909 | 1.440 | 1.015 | 0.904 | 0.945 | 1.092 | 1.246 | 1.008 | 0.388 |
| 3 | 20:80 | 0.049 | 0.073 | 0.557 | 1.596 | 1.738 | 1.279 | 0.910 | 0.780 | 0.789 | 0.902 | 1.013 | 0.815 | 0.330 |
| 4 | 30:70 | 0.043 | 0.070 | 0.606 | 1.527 | 1.616 | 1.171 | 0.836 | 0.685 | 0.666 | 0.752 | 0.827 | 0.666 | 0.269 |
| 5 | 40:60 | 0.036 | 0.064 | 0.643 | 1.429 | 1.484 | 1.054 | 0.750 | 0.584 | 0.539 | 0.597 | 0.642 | 0.514 | 0.207 |
| 6 | 50:50 | 0.031 | 0.061 | 0.678 | 1.366 | 1.381 | 0.963 | 0.689 | 0.513 | 0.451 | 0.487 | 0.508 | 0.405 | 0.165 |
| 7 | 60:40 | 0.027 | 0.056 | 0.701 | 1.312 | 1.302 | 0.893 | 0.640 | 0.453 | 0.374 | 0.391 | 0.393 | 0.312 | 0.129 |
| 8 | 70:30 | 0.022 | 0.051 | 0.715 | 1.273 | 1.243 | 0.842 | 0.602 | 0.401 | 0.306 | 0.306 | 0.293 | 0.231 | 0.102 |
| 9 | 80:20 | 0.018 | 0.046 | 0.735 | 1.224 | 1.168 | 0.776 | 0.557 | 0.351 | 0.248 | 0.238 | 0.210 | 0.163 | 0.075 |
| 10 | 90:10 | 0.017 | 0.047 | 0.753 | 1.185 | 1.106 | 0.724 | 0.521 | 0.312 | 0.200 | 0.177 | 0.137 | 0.105 | 0.055 |
| 11 | 100:0 | 0.017 | 0.049 | 0.768 | 1.150 | 1.051 | 0.680 | 0.494 | 0.282 | 0.162 | 0.127 | 0.077 | 0.059 | 0.045 |
| uk1 | unknown | 0.013 | 0.044 | 0.761 | 1.173 | 1.098 | 0.718 | 0.507 | 0.291 | 0.175 | 0.147 | 0.111 | 0.093 | 0.053 |
| uk2 | unknown | 0.013 | 0.042 | 0.754 | 1.181 | 1.098 | 0.713 | 0.511 | 0.299 | 0.183 | 0.155 | 0.114 | 0.085 | 0.044 |
| uk3 | unknown | 0.010 | 0.038 | 0.756 | 1.174 | 1.088 | 0.705 | 0.505 | 0.295 | 0.181 | 0.154 | 0.111 | 0.082 | 0.039 |
| uk4 | unknown | 0.012 | 0.041 | 0.757 | 1.172 | 1.085 | 0.706 | 0.511 | 0.302 | 0.189 | 0.160 | 0.113 | 0.080 | 0.037 |
| uk5 | unknown | 0.013 | 0.044 | 0.761 | 1.159 | 1.058 | 0.684 | 0.498 | 0.289 | 0.172 | 0.138 | 0.088 | 0.060 | 0.031 |
| uk6 | unknown | 0.000 | 0.035 | 0.760 | 1.172 | 1.079 | 0.691 | 0.485 | 0.262 | 0.134 | 0.090 | 0.036 | 0.006 | 0.000 |

a) Coconut oil

b) Milk fat

c) This number corresponds to the number in Fig.1.

2.5.2 クラスター分析

2.5.1 で得られた行列を用いて、クラスター分析を行い、そのデンドログラムから未知試料に最も類似している既知試料を求めた。

2.5.3 主成分分析

主成分分析で得られた主成分得点から未知試料中の乳脂肪含有割合の定量を行った。

3. 結果及び考察

3.1 従来法での定量結果

従来法による定量結果を Table 3 に示す。標準とする乳脂肪が混合油脂中の乳脂肪と異なる～の場合には、定量値と理論値に大きな差異（誤差）が生じた。

トリグリセリドのガスクロマトグラムのパターンが比較的似ている乳脂肪とヤシ油との混合油脂では、原料油脂が提出され

Table 3 Result of conventional method

| Sample No. | Calculated value by conventional method | Theoretical content of milk fat |
|------------|---|---------------------------------|
| uk1 | 7.3% | 8.4% |
| uk2 | 6.5% | 8.0% |
| uk3 | 6.8% | 8.5% |
| uk4 | 6.9% | 8.4% |
| uk5 | 2.5% | 8.1% |
| uk6 | -2.4% | 7.8% |

ない限り、従来法では定量精度が期待できないと考えられる。

3.2 クラスター分析

11 種類の既知試料のデータベースに 6 種類の未知試料を加えた 17×14 行列を用いて、クラスター分析を行い、デンドログラムを作成した。得られたデンドログラムを Fig.2 に示す。この図では、試料間の類似性が強いほど下部で結合するため、未

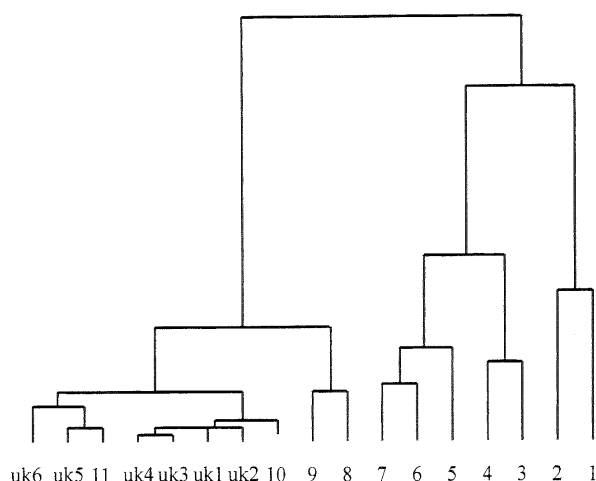


Fig.2 Dendrogram of Cluster Analysis

Table 4 Result of principal component analysis

| | | Factor loading | | | |
|-------------------|------------|----------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Data base and uk1 | D.P.C | 12.815 | 0.16 | 0.006 | 0.006 |
| | Proportion | 98.58% | 1.23% | 0.05% | 0.05% |
| Data base and uk2 | D.P.C | 12.795 | 0.192 | 0.005 | 0.002 |
| | Proportion | 98.42% | 1.48% | 0.04% | 0.02% |
| Data base and uk3 | D.P.C | 12.704 | 0.277 | 0.006 | 0.003 |
| | Proportion | 97.72% | 2.13% | 0.05% | 0.02% |
| Data base and uk4 | D.P.C | 12.769 | 0.211 | 0.005 | 0.003 |
| | Proportion | 98.22% | 1.62% | 0.04% | 0.02% |
| Data base and uk5 | D.P.C | 12.827 | 0.152 | 0.007 | 0.003 |
| | Proportion | 98.67% | 1.17% | 0.05% | 0.02% |
| Data base and uk6 | D.P.C | 12.458 | 0.527 | 0.007 | 0.002 |
| | Proportion | 95.83% | 4.05% | 0.05% | 0.02% |

D.P.C.:Dispersion of principal component

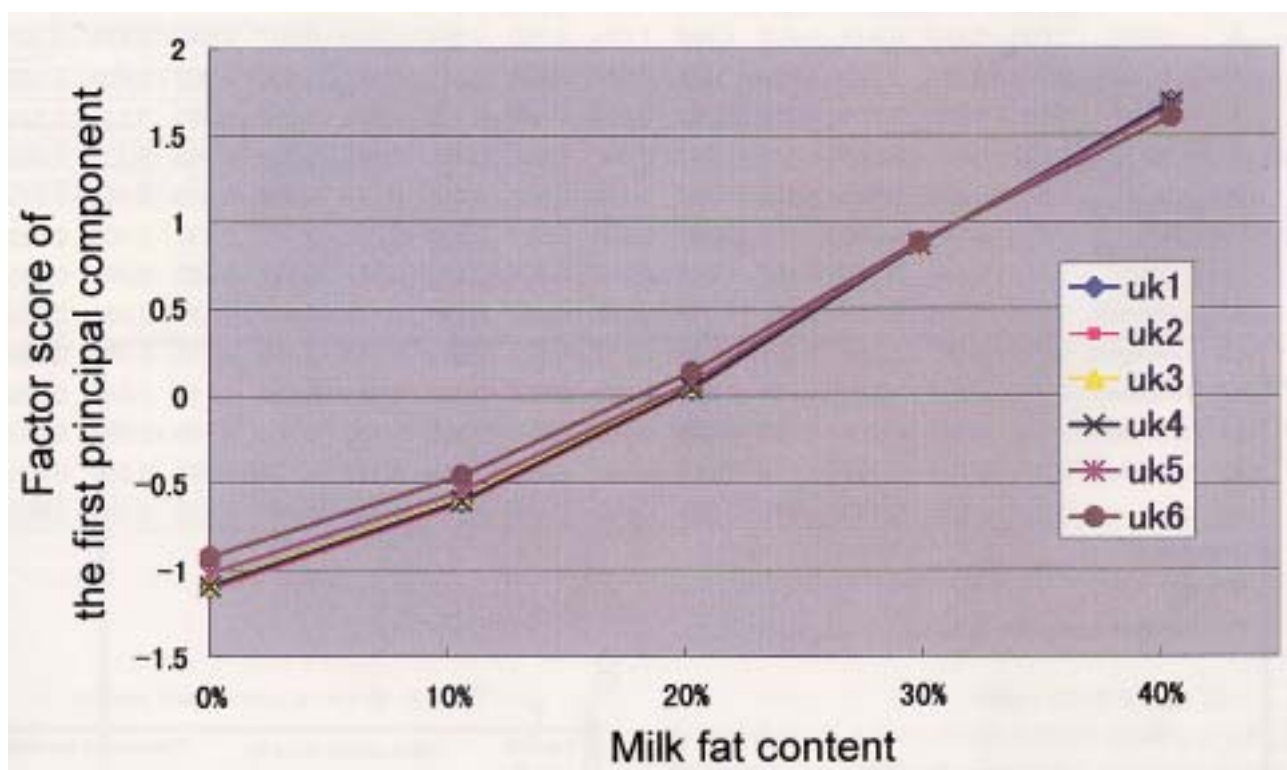


Fig.3 Calibration curve of principal component analysis

知試料 (uk1 ~ uk4) は試料番号 10 の即知試料と類似していることがわかった。また, uk5 及び uk6 は試料番号 11 の既知試料と類似していることがわかる。

3.3 主成分得点による乳脂肪含有割合の定量

3.2 の結果をもとに 6 種類の未知試料に比較的類似している既知試料 5 種類 (試料番号 7 ~ 11) をデータベースとして, 各未知試料中の乳脂肪含有割合を定量した。

ここでは, 未知試料ごとにデータベースに未知試料を加えた 6×13 行列を用いて, 偏差値に直した行列から求めた相関係数を用いて主成分分析を行い, 主成分得点を算出した。例えば未知試料 (uk1) における第 1 主成分の固有値は 12.815 (寄与率

98.63%), 第 2 主成分の固有値は 0.160 (寄与率 1.23%) で, 第 1 主成分が 6×13 行列の内容の約 99% を表しており, 第 1 主成分得点のみで定量可能と判断した (Table 4)。各未知試料から得られた主成分得点をもとに作成した検量線は, Fig.3 に示すように未知試料ごとに微妙に異なる検量線となる。このため, 未知試料の測定値に多少のばらつきがあっても, 各々の未知試料ごとに検量線用試料を含めて主成分得点を決定しているため, 結果として未知試料の定量値の誤差は小さくなる。

このようにして得られた未知試料ごとの検量線に, 未知試料の主成分得点を代入して乳脂肪含有割合を算出した。

これらの定量結果と従来法 (最小二乗法) による定量結果の

Table 5 Analytical results

| Sample No. | Calculated value | | Theoretical content of milk fat |
|---------------|-----------------------|---------------------|------------------------------------|
| | Multivariate analysis | Conventional method | |
| uk1 | 9.4% | 7.3% | 8.4% |
| uk2 | 9.0% | 6.5% | 8.0% |
| uk3 | 8.1% | 6.8% | 8.5% |
| uk4 | 8.6% | 6.9% | 8.4% |
| uk5 | 6.0% | 2.5% | 8.1% |
| uk6 | 1.9% | -2.4% | 7.8% |

比較を Table 5 に示す。いずれも従来法よりも理論値により近い値を得ることができ、原料乳脂肪の提出がなくても多変量解析法を用いることで測定誤差を小さくすることができた。

4. 要 約

税関分析に多変量解析法を応用して定量分析を行った。この

方法により乳脂肪とヤシ油の混合油脂中の乳脂肪含有割合を従来法より精度良く定量できた。既知試料と未知試料についてガスクロマトグラフィーによるトリグリセリド組成分析を行い、定量に用いる 13 個のピークと 1 つの基本ピークを相関係数をもとに選択し、データベースを作成した。このデータベースを用いて、クラスター分析、主成分分析を行い、乳脂肪含有割合の定量を行った。

文 献

- 1) 宮城好弘, 川端省三, 井上昭朗: 関税中央分析所報, 22, 1 (1981)
- 2) 三井利幸: 分析化学のための多変量解析法 (日本図書出版協会, 1993)
- 3) 奥山修司, 三井利幸, 藤村義和: 衛生化学, 39, 213 (1993)
- 4) 肥田宗政, 三井利幸: 分析化学, 47, 645 (1998)
- 5) 奥山修司, 三井利幸: 分析化学, 48, 505 (1999)