

博 士 論 文

マルチスペクトルイメージングによる食品の品質・安全性
評価技術の開発

2003 年 12 月

薦 瑞樹

論文の内容の要旨

農学国際専攻

平成 13 年度博士課程 進学

氏 名 蔦 瑞 樹

指導教官名 相 良 泰 行

論文題目 マルチスペクトルイメージングによる食品の品質・安全性評価技術の開発

近年、消費者の健康志向が高まり、食生活の面でも食品の品質や安全性に対する関心が一層強まっている。また、「おいしいものを食べたい」という普遍の欲求に応え、高品質な食品を生産するためにも、品質評価は重要視されている。現在利用されている多様な品質評価手法のなかでも、近赤外分光法に基づく非破壊計測・評価技術は、いわゆる光センシング技術として広く普及している。しかしながら、近赤外分光法では 1 つの受光部によるポイント測定を行っているため、特定部位における対象成分の平均値は測定できても、食品内部の成分分布を測定することができないという限界がある。食品内部の成分分布は、その品質を左右する重要な指標であるので、これを簡便かつ視覚的に把握する手法の開発が求められている。

そこで本研究では、対象の分光特性や蛍光特性と空間情報を同時に取得し、これを解析することにより、対象の成分分布や内部構造を明らかにする「マルチスペクトルイメージング」に着目した。この手法を適用することにより、成分分布や内部構造の定量的な計測が可能になり、より正確な食品の品質や安全性評価に応用可能であると考えられた。そこで本研究ではマルチスペクトルイメージングの課題を明らかにし、それらを解決する手法を新たに提案することとした。また、この提案に基づき新規に開発した手法やシステムを実際の食品試料に適用し、そ

の有効性を確認することとした。すなわち本研究の目的は、マルチスペクトルイメージングによる食品の品質及び安全性評価技術を開発し、それらの応用面における有効性を確認することにある。

本研究では、まず、マルチスペクトルイメージングの一つの手法である「近赤外分光イメージング手法」に関する既往の研究例について検討し、この手法をさらに発展させるための課題として、(1) 1,800nm 以上の長波長領域では、安定した計測が困難であり、検出器が高価である、(2) 試料または計測器の物理的移動を伴う計測法は位置情報の取得に長時間を要する、(3) バンドパスフィルタによる分光方式は対象成分の吸収帯特定に予備実験が必要である上、多様な青果物や食品内部の成分分布可視化に対応できない、などの点を明らかにした。

このような課題を解決するため、(1) 検出器が比較的安価であり、物質の光吸収が少ない波長範囲 400~1,100 nm のスペクトルの測定を行う、(2) 試料厚さの影響が少ない反射スペクトル測定を行う、(3) 位置情報の取得を高速化するため、イメージ撮影法を採用する、(4) 吸収帯の特定から成分分布可視化までを一括して行うため、また様々な食品や成分に対応するため、連続スペクトルが測定可能な分光法を採用する、の 4 条件を満足するシステムとして、「近赤外高速ハイパースペクトルシステム」を開発した。これらの条件に基づき試作したシステムは、冷却 CCD カメラと液晶チューナブルフィルタより構成され、400~1,100 nm の範囲でハイパースペクトルの取得が可能であることが分かったので、メロンの果肉断面における糖度分布の可視化を試みた。その結果、得られた検量線の精度は高く、糖度分布の可視化画像は実際の糖度分布を正確に反映していることが確認された。すなわち、本システムを用いて精度の高い検量線の作成と様々な食品の成分分布可視化が可能であると考えられた。そこで、本システムを応用してブルーベリー果実原料に混入する異物の検知技術を開発した。その結果、異物を正確に検知でき、加工現場で要求される広範囲の検査にも適用可能であることが明らかになった。

これまでに開発した近赤外高速ハイパースペクトルシステムは成分分布可視化や安全性評価に有用であるが、(1) サンプルの位置決めと保持、CCD カメラの焦点調節などの作業に熟練を要する、(2) サンプルの撮影面を均一に照明するのは困難であり、画像処理を行っても、照明ムラによる測定誤差を完全に除去することは出来ない、(3) CCD 素子の冷却温度や環境温の変動により CCD 素子の感度が増減するため、経時的な測定誤差が生じる、という課題が残された。そこで、これらの課題を解決すべく、取り扱いが簡便で、常に一定の条件で対象をスキャンできるイメージスキャナに着目し、任意の波長で対象をスキャン可能な「マルチバンドイメージスキャナ」を開発した。さらに、試作した装置を用いてメロン

の果肉断面における糖度分布を可視化した。この試作装置により作成した検量線の精度は高く、実際の果実内糖度分布を反映した正確な可視化画像を、近赤外高速ハイパースペクトルシステムよりも高精細に構築することが可能となった。

次に、近赤外分光イメージング手法の計測対象である吸光スペクトルと、励起・蛍光マトリックス (Excitation-Emission Matrix: EEM) の特性を比較した。EEM は対象の蛍光強度を、励起波長及び蛍光波長を独立して走査しながら計測して得られ、等高線状のグラフとして表示される。したがって、EEM は吸収と発光の 2 過程を観察して得られる 3 次元データであり、2 次元データである吸光スペクトルと比較すると取得できる情報量は膨大である。また、EEM 計測の既往研究を検討した結果、EEM が生理機能の情報取得や成分同定に有効であると考えられた。

このような EEM の膨大な情報量を活かし、EEM と位置情報を同時に取得して解析する「EEM イメージング手法」を開発することにより、近赤外分光イメージング手法よりも詳細に成分分布を可視化できると考えられた。しかしながら、既往の研究例から、(1) EEM と位置情報を同時に取得する計測システムを開発した報告例がない、(2) EEM の膨大な情報量を損なわずに、その特性を解析した研究が数少ない、などの課題が明らかとなった。そこで、(1) 任意波長での対象の励起が可能、(2) 任意波長で対象の蛍光観察が可能、(3) 対象の任意の位置を計測可能、という 3 点の特徴を備えた「3 次元スペクトルイメージングシステム (Three-Dimensional Spectral Imaging System: 3D-SIS)」を開発した。

本システムは近赤外高速ハイパースペクトルシステムと、任意の波長で試料を照明する分光照明部及び試料の任意の深さにおける断面を連続的に露出させる「マイクロスライサ」より構成され、励起波長範囲 200~1,000 nm、蛍光波長範囲 400~1,100 nm で、任意の深さにおける試料断面を計測可能である。さらに、3D-SIS を用いて得られる膨大なデータを、その情報量を損なうことなく解析するため、EEM の主成分分析と、主成分プロットの $L^*a^*b^*$ 色空間への変換、及び計測データの人工彩色により、立体試料における EEM 特性分布を可視化する手法を開発した。次に、開発した 3D-SIS 及び EEM イメージングデータの解析・可視化手法の有効性を実証するために、大豆の立体的構造の可視化を試みた。その結果、アリュールン層、胚及び葉脈状構造の存在部位が観察可能となり、それぞれが全く異なる EEM 特性を持っていることが明らかとなった。特に、葉脈状構造の特徴的な分布形態が明確に観察でき、本研究で開発した 3D-SIS 及び EEM イメージングデータの解析・可視化法は、多成分からなる食品の内部構造可視化に有用であることが分かった。そこで、3D-SIS 及び EEM イメージングデータの解析・可視化手法を応用し、コショウにおける γ 線照射処理の検知可能性を検討した。その結果、 γ 線照射の線量が増加するにつれて EEM 特性が変化していくことが

明らかとなった。したがって、本研究で開発した EEM イメージング手法により、農産物や食品の流通・処理・加工などの過程における成分やその分布の変質を定量的にモニタリングすることが可能であると考えられ、食品の品質・安全性評価に EEM イメージング手法を応用することの有効性が実証された。

以上のように、本論文ではマルチスペクトルイメージングの課題を解決するために新しい計測システムとデータ解析手法を開発し、実際の食品試料に適用することにより、それぞれのシステムや手法の有用性を確認した。その結果、本研究により開発した近赤外分光イメージング手法と試作システムは実用的技術として有効であることを立証したと考えられる。また、EEM イメージング手法における EEM と位置情報を同時に取得する試みは、その新規性と有用性に於いて高い評価を受けるものと考えられる。しかも、この手法が食品の内部構造や成分の変質の検知に有効であることを実証できたことにより、マルチスペクトルイメージングの研究・開発分野にブレークスルーをもたらす成果が得られたと考えられた。

今後、本研究の成果を融合してシステム化することにより、近赤外分光イメージングと EEM イメージングの手法の双方による計測が可能な「汎用型マルチスペクトルイメージングシステム」の開発が可能となり、このようなシステムにより臨機応変なマルチスペクトルイメージングの利用が実現すると考えられる。また、本研究の成果は、食品内の成分分布と官能評価スコアを比較・検討することにより、消費者の嗜好特性にマッチした新食品の開発を行う研究や、青果物における残留農薬の分布を明らかにして可食部の安全性を定量的に評価する研究など、消費者に安全と安心を届け、食生活にアメニティーをもたらすための食品の品質・安全性評価に応用することが期待される。

目次

論文の内容の要旨	i
目次	1
図表目次	4
第1章 緒論	7
1-1 食品の品質評価	7
1-2 近赤外分光法の限界	9
1-3 本研究の目的	9
1-4 本論文の構成	10
第2章 近赤外分光イメージング手法	12
2-1 近赤外分光法の概要	12
2-2 理論	13
2-2-1 近赤外領域の範囲	13
2-2-2 光の吸収と吸収スペクトル	13
2-2-3 分子の振動エネルギー準位と遷移	14
2-2-4 近赤外光の特徴	14
2-2-5 Lambert-Beer の法則と吸光度	15
2-3 近赤外分光法による定量分析	16
2-3-1 スペクトルの測定	17
2-3-2 化学分析	17
2-3-3 スペクトルの前処理	17
2-3-4 重回帰分析と検量線の評価	19
2-4 近赤外分光イメージング手法の概要	20
2-4-1 位置情報取得法による分類	21
2-4-2 分光法による分類	23
2-4-3 一次元位置情報－スペクトル同時取得法	25
2-5 近赤外分光イメージング手法の既往研究	26
2-5-1 米の成分分布可視化	26
2-5-2 キウイフルーツの糖度分布可視化	27
2-5-3 メロンの糖度分布可視化	30

2-6 まとめ	33
第3章 近赤外高速ハイパースペクトルシステムの開発とその応用	35
3-1 新規手法の提案	35
3-2 近赤外高速ハイパースペクトルシステムの開発	35
3-3 メロンの糖度分布可視化への応用	37
3-3-1 実験手順	37
3-3-2 結果及び考察	42
3-4 ブルーベリー果実原料中の混入異物検知への応用	44
3-4-1 実験手順	45
3-4-2 結果及び考察	47
3-4-3 フィージビリティスタディ	49
3-5 まとめ	51
第4章 マルチバンドイメージスキャナの開発とその応用	53
4-1 新規手法の提案	53
4-2 イメージスキャナの特性	53
4-2-1 構造	54
4-2-2 シェーディング補正	55
4-2-3 γ 補正	56
4-3 マルチバンドイメージスキャナの開発	57
4-3-1 構造と特徴	57
4-3-2 γ 特性の検証実験	58
4-4 メロンの糖度分布可視化への応用	58
4-4-1 実験手順	58
4-4-2 実験結果及び考察	61
4-5 まとめ	63
第5章 励起-蛍光マトリックスイメージング手法の開発とその応用	64
5-1 吸光スペクトルと励起・蛍光マトリックス	64
5-2 蛍光測定の原理	64
5-2-1 ルミネッセンス	64
5-2-2 蛍光と燐光	65
5-2-3 蛍光測定装置	66
5-2-4 励起・蛍光スペクトルと EEM	67

5-3 EEM 計測の既往研究	67
5-3-1 ホウレンソウ葉の相対含水率計測	67
5-3-2 古代染色遺物・浮世絵の染料同定	68
5-3-3 カーバメイト系農薬の検知	68
5-4 新規手法の提案	69
5-5 3次元スペクトルイメージングシステムの開発	70
5-6 EEM イメージングデータの解析・可視化法	73
5-6-1 EEM データの圧縮	75
5-6-2 色空間への変換	75
5-6-3 成分分布・内部構造の可視化	76
5-7 大豆の内部構造可視化への応用	77
5-7-1 実験手順	77
5-7-2 結果及び考察	80
5-7-3 計測条件の簡略化	81
5-7-4 大豆の立体計測及び内部構造の立体再構築	83
5-8 コシヨウにおける γ 線照射処理の検知への応用	86
5-8-1 実験手順	87
5-8-2 結果及び考察	87
5-9 まとめ	88
 第 6 章 結論と今後の展望	 91
 参考文献	 94
 研究業績	 100
 謝辞	 104

図表目次

第 1 章

図 1-1 スイカの選別機 ¹⁾	7
図 1-2 果実内の糖度分布（上：スイカ ¹⁾ 、下：ニホンナシ ¹⁾ ）	8
図 1-3 糖度分布の影響（左：糖度分布あり、右：糖度分布なし）	9
図 1-4 本研究の流れ	11

第 2 章

図 2-1 緑肉メロンの吸収スペクトル	13
図 2-2 試料における光の吸収	15
図 2-3 吸光度の測定法	16
図 2-4 緑肉メロンのスペクトル（上：原スペクトル 下：2 次微分スペクトル）	18
図 2-5 スキューとバイアス（上：スキューの例 下：バイアスの例）	20
図 2-6 ハイパースペクトル	21
図 2-7 XY 走査法	22
図 2-8 イメージ撮影法	23
図 2-9 FFT 法	24
図 2-10 AOTF 法の原理	25
図 2-11 一次元位置情報—スペクトル同時取得法	26
図 2-12 米の成分分布可視化手順	27
図 2-13 キウイフルーツ計測システム	28
図 2-14 キウイ果肉断面の糖度分布可視化画像	29
図 2-15 検量線作成用データの取得	29
図 2-16 冷却 CCD カメラによる計測システム	30
図 2-17 近赤外分光装置による検量線	31
図 2-18 検量線の作成手順	31
図 2-19 分光画像に基づく検量線	32
図 2-20 メロンの糖度分布可視化画像	33

第 3 章

図 3-1 液晶チューナブルフィルタの透過特性	37
図 3-2 近赤外高速ハイパースペクトルシステム（カメラレンズ仕様）	38

図 3-3	標準白色板	38
図 3-4	検量線作成手順（らいでんの例）	41
図 3-5	検量線用サンプルのスペクトル	41
図 3-6	検量線用サンプルの 2 次微分スペクトル	42
図 3-7	2 次微分吸光度と糖度の検量線（左：らいでん（910 nm 及び 880 nm）、 右：らいでんレッド（915 nm 及び 955 nm））	42
図 3-8	サンプルの実画像と糖度分布可視化画像（上段：らいでん，下段：らいでんレッド）	44
図 3-9	液晶チューナブルフィルタ（可視領域）の透過特性	46
図 3-10	近赤外高速ハイパースペクトルシステム（実体顕微鏡仕様）	45
図 3-11	果実及び異物の原スペクトル（上）と二次微分スペクトル（下）	47
図 3-12	異物検知画像の作成手順（上：石、下：葉及び枝）	48
図 3-13	異物検知画像	49
図 3-14	フィージビリティスタディ用計測システム	50
図 3-15	フィージビリティスタディにおける異物検知結果	51

第 4 章

図 4-1	フラットヘッド型イメージスキャナ の概念図	54
図 4-2	キャリッジ内の光学系配置（a：通常のイメージスキャナ、b：マルチバンドイメージスキャナ）	55
図 4-3	マルチバンドイメージスキャナ（左）とバンドパスフィルタホルダ（右）	57
図 4-4	糖度分布の可視化手順	59
図 4-5	吸光度と糖度の検量線	60
図 4-6	メロンの糖度分布可視化画像（上：アンデスメロン、下：クインシーメロン）	62

第 5 章

図 5-1	ローダミン B の EEM（左：3 次元表示、右：俯瞰図）	64
図 5-2	蛍光及び燐光の発生原理	65
図 5-3	蛍光測定装置の概要	66
図 5-4	様々な染料の EEM（I～VI）と浮世絵の一部の EEM（a、b）	69
図 5-5	分光照明装置	71
図 5-6	マイクロスライサ	71
図 5-7	3D-SIS の構成	72

表 5-1	3D-SIS の仕様.....	73
図 5-8	3D-SIS により計測可能なデータ	74
図 5-9	主成分分析における新たな座標軸の導出	75
図 5-10	L*a*b*色空間における等明度面	76
図 5-11	納豆小粒.....	77
図 5-12	蛍光画像の取得手順	78
図 5-13	可視化画像の作成手順	79
表 5-2	主成分分析の寄与率と累積寄与率（大豆）	80
図 5-14	試料断面の蛍光画像（上）と EEM 特性分布の可視化画像（下）	80
図 5-15	各主成分の固有ベクトル.....	82
表 5-3	固有ベクトルの係数の絶対値が最大となる計測条件	82
表 5-4	簡略化計測条件	83
図 5-16	立体可視化画像の作成手順	84
図 5-17	様々な角度から見た立体可視化画像.....	85
図 5-18	粉末試料計測用サンプルホルダ	86
表 5-5	主成分分析の寄与率と累積寄与率（コショウ）	87
図 5-19	粉末コショウ試料のカラー画像（左）及び EEM 特性分布の可視化画像 （右）	88

第1章 緒論

1-1 食品の品質評価

近年、消費者の健康志向・安全志向が高まり、食品の安全性、品質に対する関心が一層強まっている。また、「おいしいものを食べたい」という普遍の欲求に応え、高品質な食品を生産するためにも、品質評価は重要である。品質評価の手法は力学的手法、電磁気学的手法、光学的手法など様々あり、中でも近赤外分光法に基づいた評価技術は、いわゆる光センシング技術として日本全国で広く普及している¹⁾。例えば、1999年末の時点で、全国の選果場に471台の近赤外分光法を利用した糖度選別機が導入されており、ミカン、リンゴ、ナシ、モモ、スイカ、メロン、トマトなどの農産物について、糖度が近赤外分光法で測定され、その結果に基づいて等級選別がなされている²⁾。図1-1に示すように、これらの選別機は対象とする果実に向けて強力な光を照射し、果実下部に配置された検出器で、果実内を透過した光の強度を計測することにより糖度を測定している³⁾。果実はベルトコンベアに載せられて次々に計測部に投入され、1秒間に4個～7個の速度で糖度測定を行うことが可能である⁴⁾。

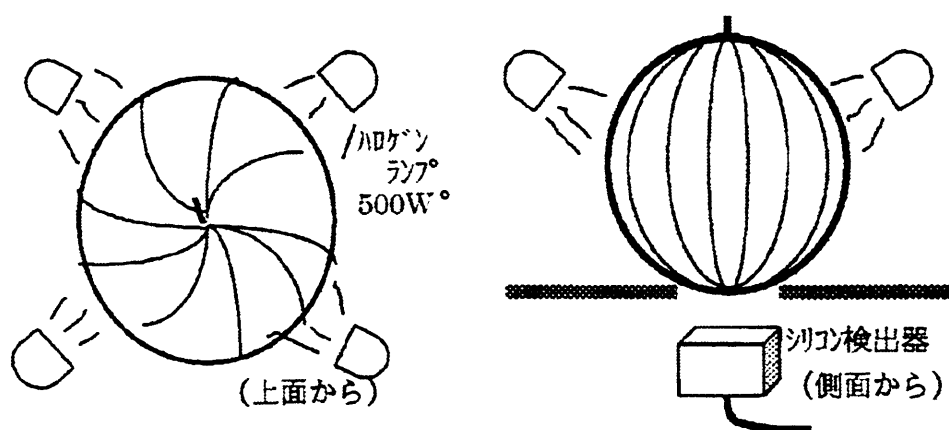


図 1-1 スイカの選別機³⁾

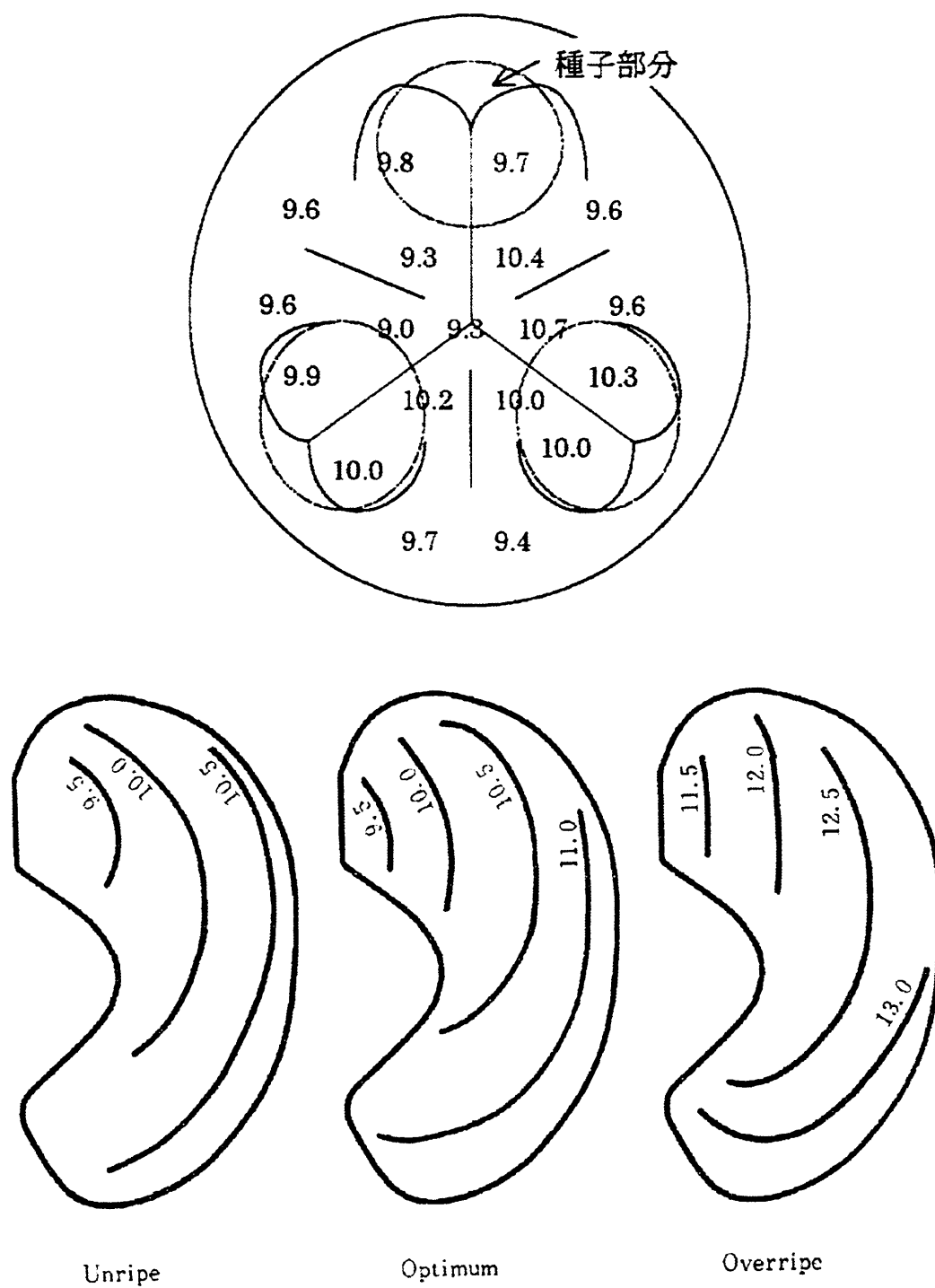


図 1-2 果実内の糖度分布 (上: スイカ³⁾、下: ニホンナシ⁵⁾)

1-2 近赤外分光法の限界

上述したように広く普及している近赤外分光法であるが、1つの受光部によるポイント測定を行っているため、対象成分の平均値は測定できても、図 1-2 に示すような果実内の成分分布^{3), 5)}を測定することができないという限界がある。したがって、選果機による選別と消費者の評価が全く異なる場合もある。例えば、図 1-3 に示すように、平均糖度は等しいが糖度分布が異なる2つの果実がある場合、選果機は両者を等価と判断する。しかしながら、消費者がこれらの果実を食べ比べた場合、図 1-3 の左図に示した果実の方が甘いと判断するのは明らかだと考えられる。したがって、消費者が満足できる選果を行うためには、果実内の糖度分布を把握することが必須である。しかしながら、果実の成分分布を測定する場合は1個体から多数の試料を切り取り、それら全てについて化学分析を行う必要があり、多大な労力と時間を必要とするのが現状である⁶⁾。また、試料の破壊を伴うため成分分布を視覚的に把握することが困難である。食品内の成分分布は、果実のみならず全ての食品の品質を左右する重要な指標であるので、これを簡便かつ視覚的に把握する手法の開発が求められている。

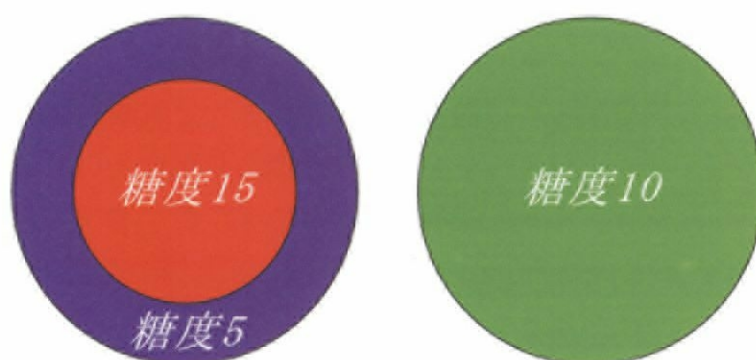


図 1-3 糖度分布の影響（左：糖度分布あり、右：糖度分布なし）

1-3 本研究の目的

本研究ではポイント測定を2次元・3次元測定に拡張する「マルチスペクトルイメージング」に着目した。マルチスペクトルイメージングは、対象の分光特性や蛍光特性と空間情報を同時に取得、解析することにより、対象の成分分布や内部構造を明らかにする手法である。そのため、食品の品質計測に応用して成分分布を定量的に計測することにより、より正確な品質評価が可能となると考えられ

る。また、輸入農産物の残留農薬問題や BSE 問題で消費者の関心が高い食品の安全性評価に応用し、可食部・非可食部における危害物質分布の計測、画像処理によるサンプルの全数検査等を実現することにより、消費者の食品に対する不信感を和らげる一助になると考えられる。

本研究の目的は、発展途上にあるマルチスペクトルイメージングの課題を明らかにし、それらを解決する手法を新たに提案すること、また、新規提案手法を実際の食品試料に適用し、その有効性を確認すること、さらに、以上の過程を通じてマルチスペクトルイメージングによる食品の品質及び安全性評価技術を開発することにある。

1-4 本論文の構成

本論文の構成を図 1-4 に示す。まず、第 2 章において、本研究で取り扱うマルチスペクトルイメージングの 1 つの手法である「近赤外分光イメージング手法」について解説し、既存の研究を紹介する。次に、第 3 章、第 4 章では、それらの課題を検討し、課題解決に向けた新規手法を提案する。具体的には、第 3 章では「ハイパースペクトルシステム」について、第 4 章では「マルチバンドイメージスキャナ」の開発を提案し、その構造及び特徴について述べる。また、それぞれのシステムを食品の品質評価に応用した「メロンの糖度分布可視化」についての研究（第 3 章、第 4 章）、さらに前者を食品の安全性評価に応用した「ブルーベリー果実原料中の異物検知」についての研究について述べる（第 3 章）。一方、マルチスペクトルイメージングのもう 1 つの手法である励起蛍光マトリックスイメージング手法については、第 5 章でその概要と既存の研究を紹介する。また、それらの課題を検討し、課題解決に向けた新規手法を提案する。具体的には、新規提案手法に基づいた計測システムである「3 次元スペクトルイメージングシステム」の構造と特徴について述べた後、本システムで得られたデータを解析し、対象における立体的な蛍光特性分布を可視化するために開発した手法について解説する。また、本システムを食品の品質評価に応用した「大豆の内部構造可視化」の研究、食品の安全性評価に応用した「コショウにおける γ 線照射処理の検知」について述べる（第 5 章）。最後に、第 6 章では第 2 章、第 5 章で提案した新規手法及び第 3 章、第 4 章、第 5 章で述べた研究事例について総括した上で、マルチスペクトルイメージングによる食品の品質・安全性評価技術の今後の展望を述べる。

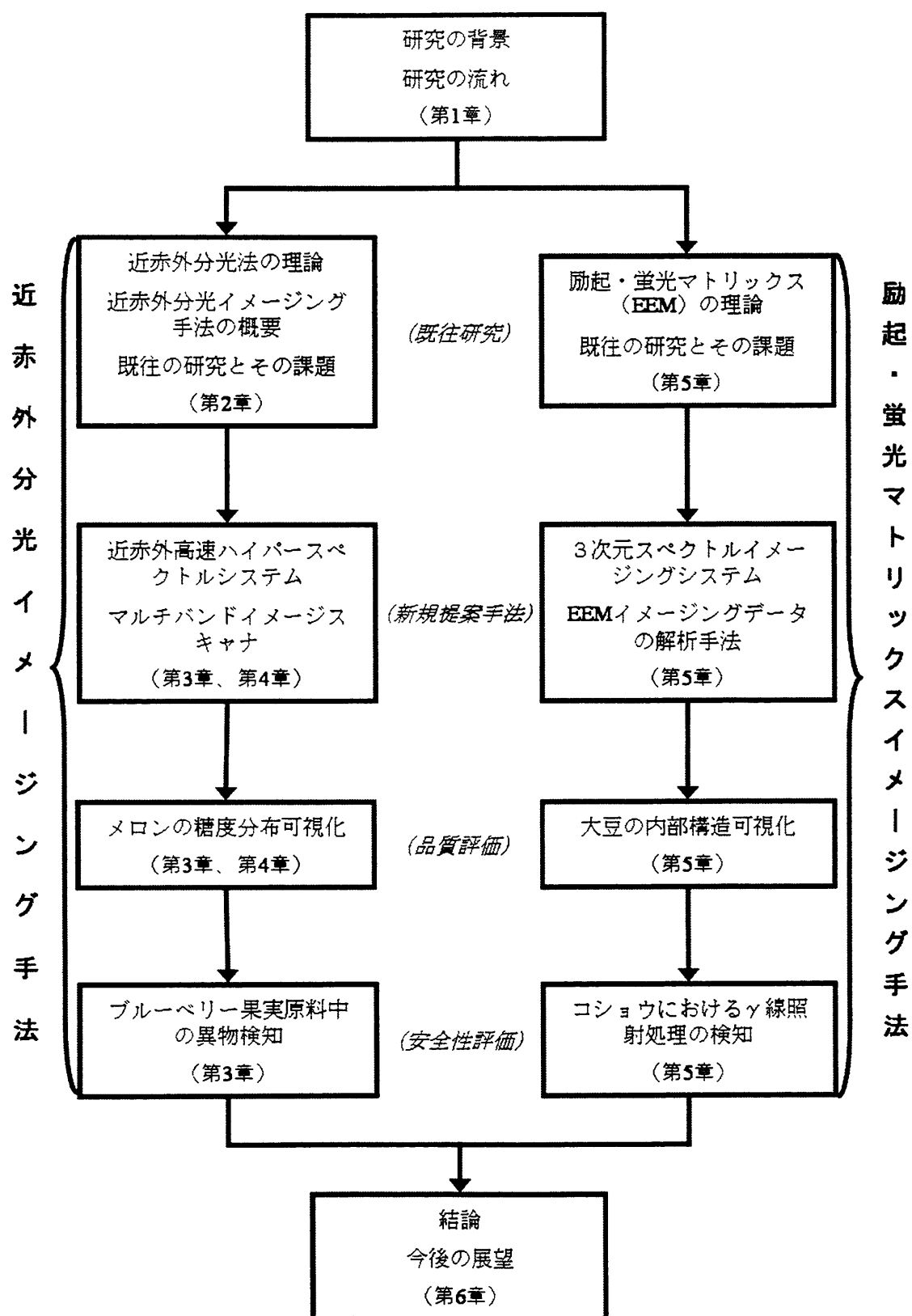


図 1-4 本研究の流れ

第2章 近赤外分光イメージング手法

2-1 近赤外分光法の概要^{7), 8)}

前章で述べたとおり、本研究の目的はマルチスペクトルイメージングに着目し、中でも「近赤外分光イメージング手法」と「励起・蛍光マトリックスイメージング手法」を食品の品質・安全性評価に応用することにある。そこで、まず前者の手法の基礎となっている「近赤外分光法」について、その概要を説明する。

近赤外分光法は、近赤外領域の光を試料に照射して試料が光を吸収する強度を測定し、それをもとに試料成分の定量・定性分析を行う手法である。近赤外分光法は1940年代から研究されていたが、注目されるようになったのは1960年代になって米国農務省ベルツビル農業研究センターの Norris らが近赤外分光法を用いて穀物の水分定量に成功してからである。1970年代になると Norris らは小麦中のタンパク質を定量する手法を確立し、従来の化学分析法と比較して格段に簡便かつ迅速な測定が可能であったことから、カナダ穀物委員会、米国連邦穀物検査局などが相次いで近赤外分光法をタンパク質の公定分析法として採用した。そのため、近赤外分光法は優れた分析法であるという評価が定着し、計測機器及び分析に用いるコンピュータの性能向上も相まって、1980年代に近赤外分光法は対象分野と対象成分の拡大、精度の向上など飛躍的な発展を遂げた。現在では、食品工業、化学工業、医療分野など幅広い分野で研究と応用が進んでいる。食品工業での応用例に、醤油の製造過程における近赤外分光法の利用がある。醤油の製造過程では全窒素、食塩、アルコール、還元糖、乳酸など多項目にわたる品質管理が必要とされ、従来の化学分析法では多大な労力を要するので、現在では近赤外分光法による JAS 格付分析が行われている⁹⁾。また、化学工業の分野では、ガソリンのオクタン価をオンラインプロセスで管理するために、近赤外分光分析を応用する研究が進められている。さらに、近年では医療分野での応用例も増加している。例えば、人間の指に近赤外光を照射し、透過光強度の時間変化を測定することにより、動脈血の酸素飽和度を測定するパルスオキシメーター¹⁰⁾が開発されている。この装置は無侵襲で簡便なため、手術中の患者をモニターするために利用されている。また、唾液などの生体液を近赤外分光法で計測し、口腔癌や顎関節症を診断する手法も開発されている¹¹⁾。

2-2 理論^{7)、8)}

2-2-1 近赤外領域の範囲

赤外線は波長の短い方から近赤外領域、中赤外領域、遠赤外領域の3つに分類される。それぞれの境界は明確に規定されてはいないが、参考文献7の記述に従い、本論では800 nm～2,500 nmを近赤外領域、2,500 nm～25,000 nmを中赤外領域、及び25,000 nm以上を遠赤外領域と定義する。

2-2-2 光の吸収と吸収スペクトル

分子を構成する原子は、平衡位置の近傍で振動しており、この分子振動と振動数が等しい光が分子に照射されると、光の一部は分子に吸収され、分子の振動エネルギーは増加する。このため、ある物質に波長を変化させながら光を照射すると、特定の波長で光が吸収される。このとき、物質を透過もしくは反射した光の強度を測定し、照射した光の波長と光の吸収の強さをプロットすると、光が強く吸収された波長にピークがあらわれる。これが吸収スペクトルである。図2-1に緑肉メロンの吸収スペクトルの測定例を示す。この図の縦軸の値が大きいほど光が強く吸収されたことを示しており、波長444 nm、676 nm及び978 nm近傍で光が強く吸収されていることが分かる。

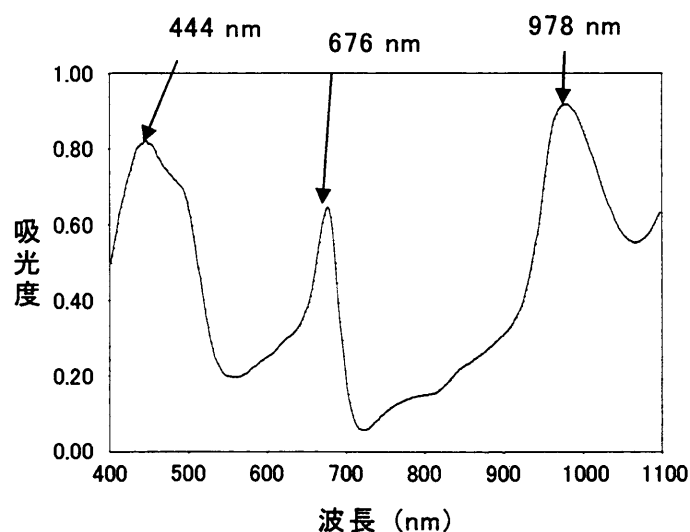


図 2-1 緑肉メロンの吸収スペクトル

2-2-3 分子の振動エネルギー準位と遷移

量子力学の理論によると、2原子分子の伸縮振動のエネルギー E は、次式で表される。

$$E_v = h\nu \{1 - \chi(\nu + 0.5)\}(\nu + 0.5) \quad (\nu = 0, 1, 2, 3 \dots) \quad (2-1)$$

ここで、 ν は振動量子数、 h はプランク定数、 ν は波数、すなわち振動数を光速で割った値であり、 χ は非調和定数である。 $\nu = 0, 1, 2, 3$ に対し、分子振動のエネルギーは以下のように示される。

$$\left. \begin{aligned} E_0 &= 0.5h\nu(1 - 0.5\chi) \\ E_1 &= 1.5h\nu(1 - 1.5\chi) \\ E_2 &= 2.5h\nu(1 - 2.5\chi) \\ E_3 &= 3.5h\nu(1 - 3.5\chi) \end{aligned} \right\} \quad (2-2)$$

したがって、分子振動のエネルギーは不連続であることがわかる。また、 E_0 を基底状態、 $E_0, E_1, E_2, E_3, \dots$ の不連続な値は分子振動のエネルギー準位と呼ばれる。また、室温においてはほぼ全ての分子が基底状態にあることが知られており、吸収スペクトルに見られるピークは、分子が $E_1 - E_0, E_2 - E_0, E_3 - E_0, \dots$ に相当するエネルギーを吸収し、 E_1, E_2, E_3, \dots のエネルギー準位に遷移するために観察される。これらの遷移に必要なエネルギーをそれぞれ $\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3, \dots$ とすると、 χ は 0.01 程度の値なので、

$$\left. \begin{aligned} \Delta E_1 &= h\nu(1 - 2\chi) \cong h\nu \\ \Delta E_2 &= 2h\nu(1 - 3\chi) \cong 2h\nu \\ \Delta E_3 &= 3h\nu(1 - 4\chi) \cong 3h\nu \\ &\vdots \end{aligned} \right\} \quad (2-3)$$

となる。したがって、吸収スペクトルのピークは $\nu, 2\nu, 3\nu, \dots$ に相当する波数に現れる。このうち、 ν を基準振動、 $2\nu, 3\nu, \dots$ を第1倍音、第2倍音...といい、基準振動による吸収は中赤外領域、倍音による吸収は近赤外領域で観察されることが知られている。

2-2-4 近赤外光の特徴

量子力学の理論によると、分子に光を照射した際、ある一定の確率にしたがっ

てエネルギー状態の遷移が起こる。この確率を遷移確率といい、照射する光の波数が $\nu, 2\nu, 3\nu, \dots$ と増加するにつれて急激に減少することが知られている。したがって、基準振動による吸収強度と倍音による吸収強度を比較すると、後者は前者の 100 分の 1 から 10 分の 1 程度の強度となる。また、結合音による吸収の強度も、水分子によるものを除いて小さい。よって、近赤外光を物体に照射してもあまり吸収されず、中赤外光に比較して近赤外光は透過性に優れていると言える。このような性質を持つため、近赤外光は対象を非破壊で計測する場合や、光を吸収しやすい水溶液の分析に用いることが可能である。特に、800 nm～1,100 nm の波長域では、第 2 倍音、第 3 倍音による弱い吸収がほとんどであるため、水分を多く含む人体、多水分系食品及び果実などの非破壊計測に用いられている。

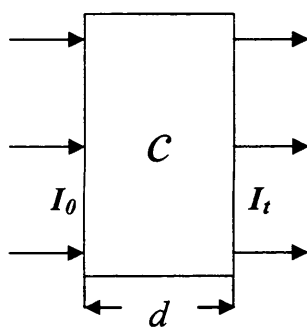


図 2-2 試料における光の吸収

2-2-5 Lambert-Beer の法則と吸光度

Lambert-Beer の法則は物質における光を吸収する強さ、すなわち吸光度と光を吸収する物質の関係を定量的に示すものである。図 2-2 に示すように、試料の左側から照射した光の強度を I_0 、試料を通過した光の強度を I_t とする。また、試料に含まれる吸光物質の濃度を c ($\text{mol}/\text{dm}^{-3}$)、試料厚さを d とする。ここでは、試料内では光の反射、散乱、蛍光などの現象は起こらず、光の吸収のみが生ずると仮定する。この時、 I_0 と I_t の間には次式に示す関係が成立する。

$$\log\left(\frac{I_0}{I_t}\right) = cd\varepsilon \quad (2-4)$$

ただし、 ε は吸光係数と呼ばれる定数である。これを Lambert-Beer の法則といい、式 (2-4) 左辺の $\log(I_0/I_t)$ を吸光度 (Absorbance) という。この法則は吸光度と吸光物質の濃度が比例することを示しており、これを利用して分光分析が行われ

る。また、複数の吸光成分が試料内に含まれている場合、その濃度を c_1, c_2, \dots, c_n 、吸光係数を $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_n$ とすると、試料の吸光度はそれぞれの吸光成分による吸光度の和で表される。すなわち、

$$\log(I_0/I_t) = \sum_{i=1}^n c_i d \varepsilon_i \quad (2-5)$$

となる。また、試料に光を照射し、試料内で拡散反射した光の吸光度を測定する場合も、Lambert-Beer の法則が近似的に成立することが知られている。

2-3 近赤外分光法による定量分析 ^{7), 8)}

Lambert-Beer の法則は、吸光度と吸光物質の濃度が比例関係にあることを示している。したがって、ある物質が光を特異的に吸収する波長を明らかにし、その波長における吸光度を計測することにより、物質の濃度を推定することが可能となる。次項以下に、吸光度の測定と定量分析の手法について述べる。

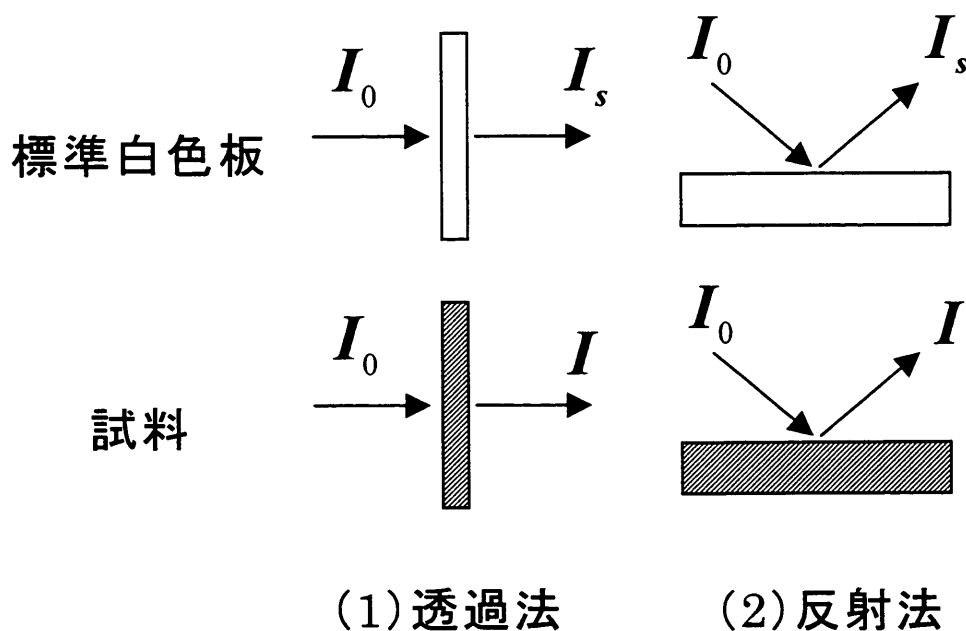


図 2-3 吸光度の測定法

2-3-1 スペクトルの測定

試料の吸光度を測定する際、入射光の強度を直接測定することは困難である。そこで、図 2-3 に示すように、標準白色板を使用し、まず標準白色板の透過光（反射光）の強度 I_s を測定する。次に試料の透過光（反射光）の強度 I を測定し、次式を用いて試料の見かけの吸光度 A を求める。

$$A = \log\left(\frac{I_s}{I}\right) \quad (2-6)$$

入射光の波長を連続的に変化させ、波長と吸光度の関係をプロットすると、試料のスペクトルが得られる。ここで、入射光の強度を I_0 とすると、式 (2-6) は次のように変形することができる。

$$A = \log\left(\frac{I_s}{I}\right) = \log\left(\frac{I_s}{I_0} \cdot \frac{I_0}{I}\right) = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) - \log\left(\frac{I_0}{I_s}\right) \quad (2-7)$$

したがって、試料の見かけの吸光度は、試料の真の吸光度から標準白色板の真の吸光度を差し引いたものであることが分かる。したがって、一連の近赤外分光分析においては、同一の標準白色板を使用しなければならない。なお、標準白色板には近赤外領域に特異的な吸収を持たず、長期間安定したセラミック板が用いられる場合が多い。

2-3-2 化学分析

試料のスペクトルを測定した後、分析対象とする成分を化学分析によって定量する。この作業によって得られたデータは、後述する検量線作成に用いる。

2-3-3 スペクトルの前処理

試料温度の変動や試料の物理的特性の違い等の要因により、スペクトルには試料ごとにスペクトルが上下する、あるいは波長によってスペクトルが上下するベースライン変動や、試料ごとにスペクトルのピークの高さが上下する乗算的な変動などが生じる。また、近赤外域の吸収ピークは微弱であるため、測定機器の光電変換や電氣的信号処理の際に生じるランダムノイズがスペクトルの誤差となる場合がある。これらの誤差を除去するために、以下に挙げるスペクトルの前処理が行われる。

1) 積算平均

同じ試料のスペクトルを複数回測定し、得られた多数のスペクトルを積算平均する手法で、測定機器のランダムノイズを低減し、S/N 比を向上させる効果を持つ。通常はスペクトルの測定プロセスに組み込まれており、1つの試料につき20回～50回程度スペクトルを測定し、積算平均を行う。

2) 移動平均

積算平均を行っても十分な S/N 比が得られない場合は、スペクトルの各データ点を中心とする近傍のデータを加算平均し、その点における新しいデータとする。この処理を移動平均といい、以下の式で表される。

$$A'_i = \frac{1}{2n+1} \sum_{k=-n}^n A_{i+k} \quad (2-8)$$

この式で A_i は波長 λ_i nm における元の吸光度、 A'_i は移動平均後の吸光度である。また、 $2n+1$ にスペクトルのサンプリング間隔 δ (nm) を乗じたものは移動平均を行う範囲であり、Segment 区間と呼ばれる。移動平均は波長幅 $(2n+1) \cdot \delta$ nm の矩形窓関数による平滑化に相当し、ランダムノイズの標準偏差を $1/\sqrt{2n+1}$ に減少させる効果がある。一方で、スペクトル中の信号成分をも平滑化し、スペクトルの波長分解能を低下するという副作用を持つことから、Segment 区間は δ と比較してあまり大きくない範囲に設定する必要がある。

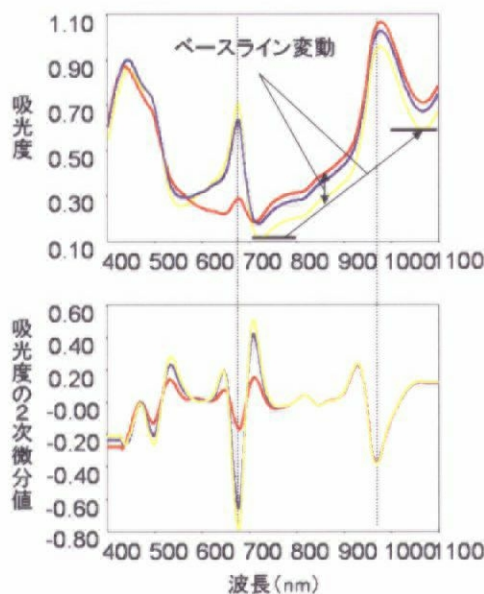


図 2-4 緑肉メロンのスペクトル
(上：原スペクトル 下：2次微分スペクトル)

3) 微分

スペクトルを波長で微分すると、1次微分によって、波長に依存しない一定のベースライン変動が除去できる。さらに2次微分処理を行うと、波長の1次関数で表される線形なベースライン変動も除去できる。また、2次微分処理は、原スペクトルの吸収ピークを符号が逆のピークに変換するため、吸光ピークが視覚的に把握しやすいという利点がある。図 2-4 に緑肉メロン果肉の原スペクトル及び2次微分スペクトルを示す。700 nm 以上の波長帯に見られるベースライン変動が除去されていることと、原スペクトルの 680 nm 及び 970 nm 付近における吸光ピークが、2次微分スペクトルにおいては負の吸光ピークに変換されたことが分かる。スペクトル測定は離散的に行われるため、実際の微分処理は差分処理で近似して行われる。スペクトルの1次微分、2次微分は以下のように表される。

$$dA_i = A_{i+k} - A_{i-k} \quad (2-9)$$

$$d^2 A_i = (A_{i+2k} - A_i) - (A_i - A_{i-2k}) = A_{i+2k} - 2A_i + A_{i-2k} \quad (2-10)$$

ここで dA_i は波長 λ_i nm における吸光度の1次微分値、 $d^2 A_i$ は2次微分値であり、式 (2-10) は微分を波長差 $2k\delta$ で近似したものである。なお、波長差 $2k\delta$ は Gap と呼ばれる。2次微分は近赤外分光分析で多く用いられているスペクトル前処理法であるが、吸光ピークがシフトするという副作用がある¹²⁾。近年、吸光ピークのシフトをとみなわない新しい微分法として、微分演算次数を実数に拡張し、位相変化を除去した一般化絶対微分が提案されている¹³⁾。この手法により重回帰分析における波長選択や結果の解釈が容易になると考えられるが、新しい手法であるため一般的には用いられていない。

2-3-4 重回帰分析と検量線の評価

以上の過程で得られた前処理済みスペクトルと化学分析値について重回帰分析を行い、スペクトルから成分値を予測する検量線を作成する。まず、スペクトル解析専用のソフトウェアを用い、吸光度と化学分析値の相関が最も高い波長を最小2乗法で求め、第1波長とする。以下同様にして第2波長、第3波長...を順次選択する。また、対象成分の吸光ピークが予想できる場合は、手動で波長を選択することも可能である。この結果得られた検量線は以下のように表される。

$$c = a_0 + a_1 L(\lambda_1) + a_2 L(\lambda_2) + \cdots + a_n L(\lambda_n) \quad (2-11)$$

ここで、 c は対象成分の予測値、 a_i は比例定数、 $L(\lambda_i)$ は波長 λ_i nm における前処理済みスペクトルの吸光度である。近赤外分光法による予測値と化学分析値が完全に一致する場合、両者の回帰直線は原点を通り、軸に対して45°の直線となる。図2-5の上図の点線に示すように、回帰直線が45°線に対して傾いている場合、その回帰直線にはskew（スキュー）があるという。また、図2-5の下図の点線に示すように、回帰式が45°線に対して上下にずれている場合、その回帰式にはbias（バイアス）があるという。スキューやバイアスがある回帰式は検量線として不適當であり、再度検量線を作り直す必要がある。スキューやバイアスのない検量線が得られると、試料のスペクトルから成分値を予測することが可能となり、化学分析と比較して飛躍的に簡便かつ高速な定量分析が可能となる。

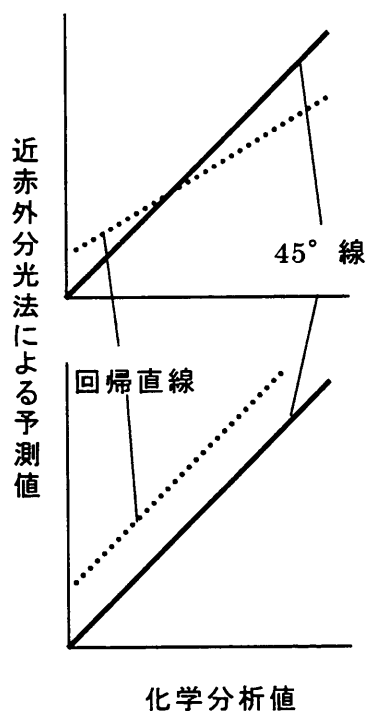


図 2-5 スキューとバイアス
(上：スキューの例 下：バイアスの例)

2-4 近赤外分光イメージング手法の概要^{14)、15)}

従来の近赤外分光法では試料の1点においてスペクトルを測定するのに対し、近赤外分光イメージングでは図2-6に示すように、ある平面領域内の一点ごとにスペクトルを測定する¹⁶⁾。例えば縦756×横512の393,216点のスペクトルを取得

する場合、約40万個の近赤外検出器を並べてスペクトル測定を行うことに相当し、従来の近赤外分光と比較して約40万倍という膨大な量のデータを取り扱うことになる。このようにして得られたデータ全体はハイパースペクトルと呼ばれ、従来のスペクトルと同様に試料の光学的情報を含んでいるのに加えて、位置情報も含まれているというのが特徴である。ハイパースペクトルを解析することにより、試料成分の定量解析とともに、成分分布を可視化できる点が、近赤外分光イメージングの大きな利点である。一方で、大量のデータを扱うため、データ取得・解析には従来の近赤外分光法よりも時間を要する。また、大量にある各画素のスペクトルに対応する化学分析値を測定する必要があるため、検量線を作成する手法に工夫を要する。

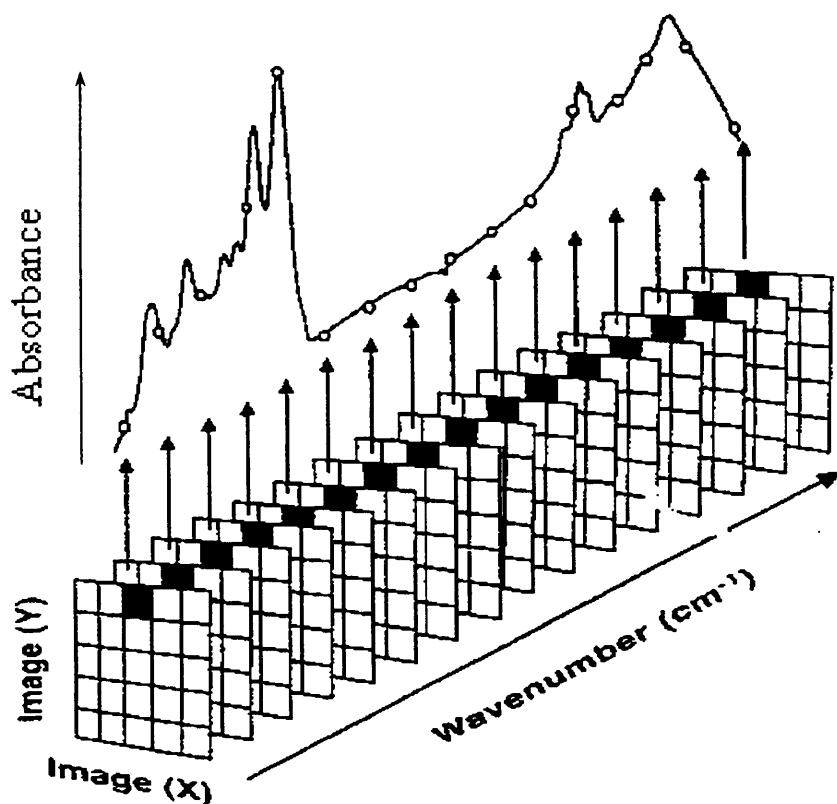


図 2-6 ハイパースペクトル¹⁶⁾

2-4-1 位置情報取得法による分類

近赤外分光イメージングで用いられる位置情報取得システムには以下の3つがある。

1) XY 走査法

図 2-7 に示すように、分光された光が試料の1画素に相当する範囲を透過し、単素子の検出器で透過光の強度を測定する方法である。従来の近赤外分光法と異

なる点は、試料を XY 方向に走査することにより、位置情報を取得する点である。共焦点顕微鏡や X 線蛍光顕微鏡などでよく用いられている方法であるが、画像の取得に時間を要する。

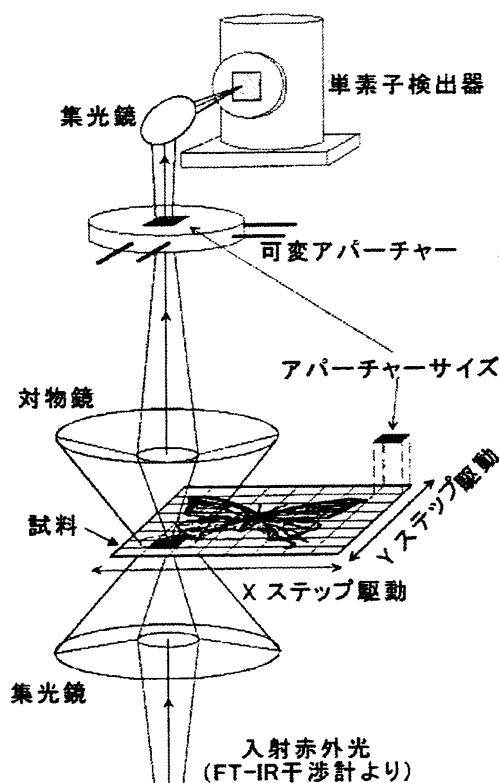


図 2-7 XY 走査法¹⁶⁾

2) ライン走査法

検出器をライン状に並べ、1 回の測定で検出器の数だけスペクトルを測定する方法である。試料を検出器が並ぶ方向と垂直に走査することにより、位置情報を取得することが可能である。

3) イメージ撮影法

図 2-8 に示すように、面状の検出器を用い、1 回の測定で位置情報を取得する方法である。画像の取得が迅速に行えるのが特徴である。例えば、 64×64 画素の領域を計測する場合、XY 走査法とイメージ撮影法を比較すると、後者の方が 120 倍以上迅速に測定を行えるという報告がある¹⁶⁾。主な面状の検出器には、CCD 素子と 2 次元アレイ検出器がある。前者は安価にかつ解像度の高いイメージを得ることが可能であるが、 $1,000 \text{ nm}$ 付近で急激に感度が低下し、長波長域のハイパースペクトルを得ることはできない。一方、後者は従来の近赤外分光装置に搭載されているインジウム・ガリウム・ヒ素 (InGaAs) 検出器を面状に配置したもの

で、幅広い波長域のハイパースペクトルを得ることが可能である反面、従来の近赤外分光装置を上回るコストがかかるため、容易には導入できない。

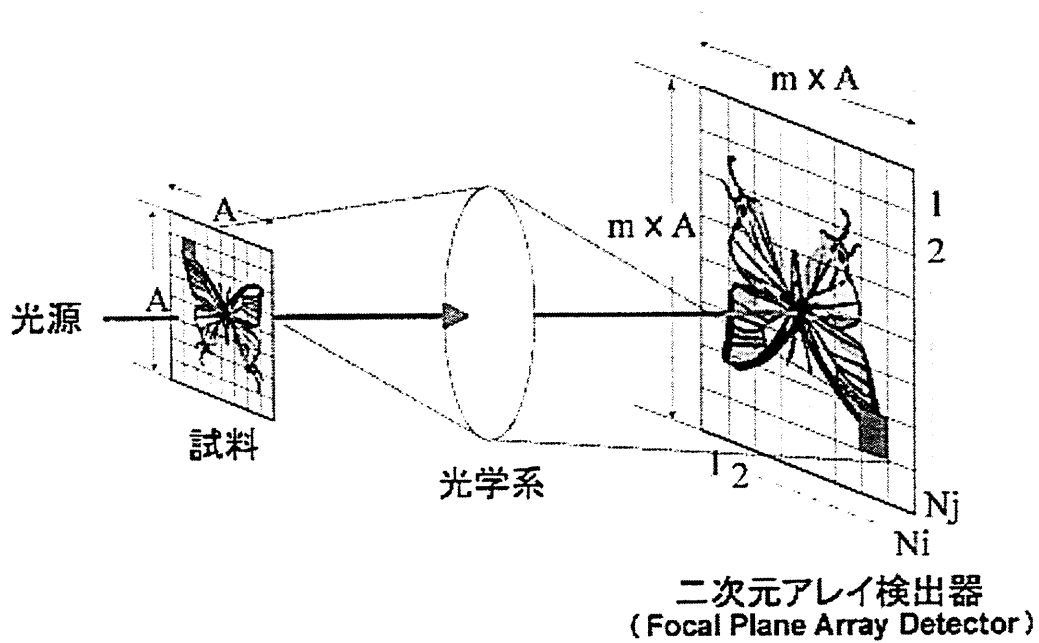


図 2-8 イメージ撮影法¹⁶⁾

2-4-2 分光法による分類

近赤外分光イメージングで用いられる主な分光システムには、以下に挙げる 5 種類がある。

1) バンドパスフィルタ法

特定の波長のみを透過させるバンドパスフィルタを用いて分光を行う方法である。安価にシステムが構築できる反面、1 波長につき 1 枚のバンドパスフィルタが必要であり、連続スペクトルの測定は困難である。

2) グレーティング法

従来の近赤外分光法で用いられているグレーティング（回折格子）を用いて分光する方法である。連続スペクトルの測定が可能であるが、光がスリットを通過するために試料の空間情報は x 方向の 1 次元に制限される。したがって、2 次元の空間情報を取得するには試料を機械的に y 方向に走査する必要があり、ハイパースペクトルの取得に時間を要する。

3) 高速フーリエ変換 (FFT) 法¹⁷⁾

図 2-9 に示すように干渉計を用いて分光する方法である。試料からの反射光はビームスプリッター（半透鏡）により 2 分され、それぞれ反射鏡で反射した後、

再び半透鏡を通過して重ね合わされ、検出器に向かう。この時、一方の反射鏡を光軸上で移動させると、2 光束の光路差 d が変化し、検出器上では干渉光強度 $i(d)$ が測定される。 $i(d)$ はインターフェログラムと呼ばれ、一度各画素のインターフェログラムを記録した後、コンピュータで画素ごとにフーリエ変換を行うことによりハイパースペクトルが得られる。グレーティング法と異なり一度に 2 次元の空間情報が得られるため、計測時間が短いのが特徴である。

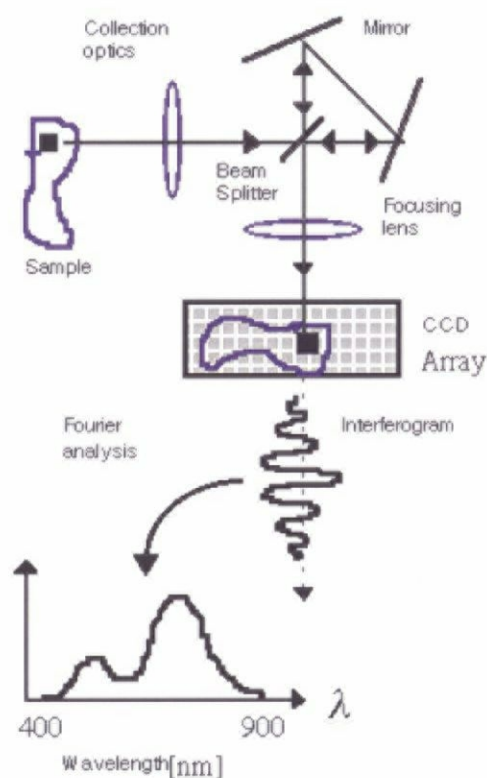


図 2-9 FFT 法¹⁷⁾

4) AOTF 法¹⁸⁾

音響光学素子の一種である AOTF (Acoustic Optical Tunable Filter)を用いて分光する方法である。図 2-10 に示すように、光学素子に超音波を印加すると、光学素子中を伝導する超音波がグレーティングと同様の役割を果たし、公差方向から入射する光を分光する。光の透過効率が高いこと、可動部分がなく保守性に優れることが特徴である。

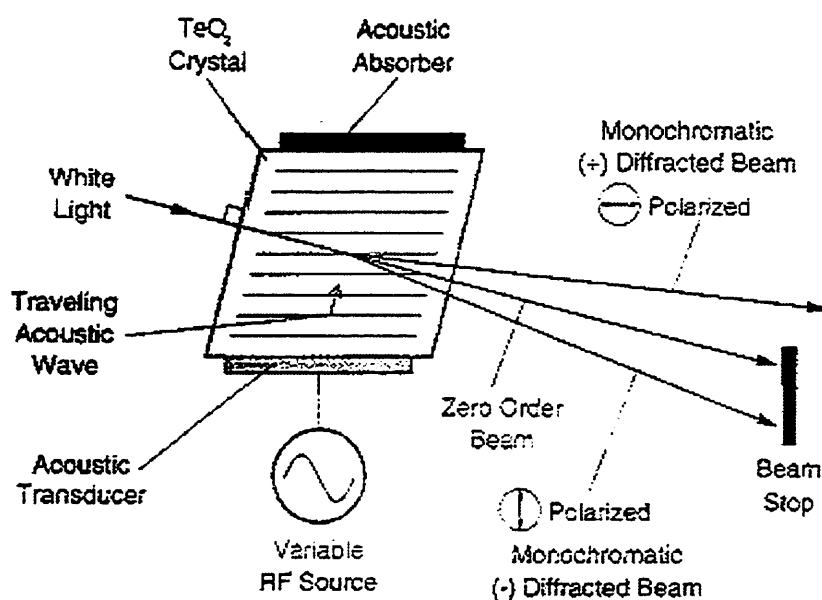


図 2-10 AOTF 法の原理¹⁸⁾

5) 液晶チューナブルフィルタ法¹⁹⁾

液晶チューニングエレメントと複屈折フィルタを組み合わせたモジュールに電圧を印可し、その電圧を変化させることにより、透過波長を任意の波長に設定する方法である。通常のパンドパスフィルタと異なり、1枚のフィルタで連続スペクトルの測定が可能であること、50 ms 以下の短時間で透過波長を選択することが可能なことが特徴である。難点としては、視野角が上下左右それぞれ約 7° ずつと狭いことが挙げられるが、測定対象との距離を大きくとるか、測定範囲を限定することにより回避することが可能である。

2-4-3 一次元位置情報－スペクトル同時取得法²⁰⁾

上記で述べた方法以外に、面状検出器と分光器を組合せ、一次元の位置情報と分光スペクトルを同時に取得するシステムがある。具体的には、図 2-11 に示すように、一次元的に取得した対象の位置情報を分光し、面状検出器の一方の方向で位置情報を、他方でスペクトル情報を取得するシステムである。位置情報の取得には CCD 素子や 2 次元アレイ検出器、分光にはスリットやプリズムが用いられる。XY 走査法に比べて計測に要する時間が短く、可動部分がなく保守性に優れることが特徴であるが、2 次的に位置情報を取得するために試料の一方向を走査する必要がある。

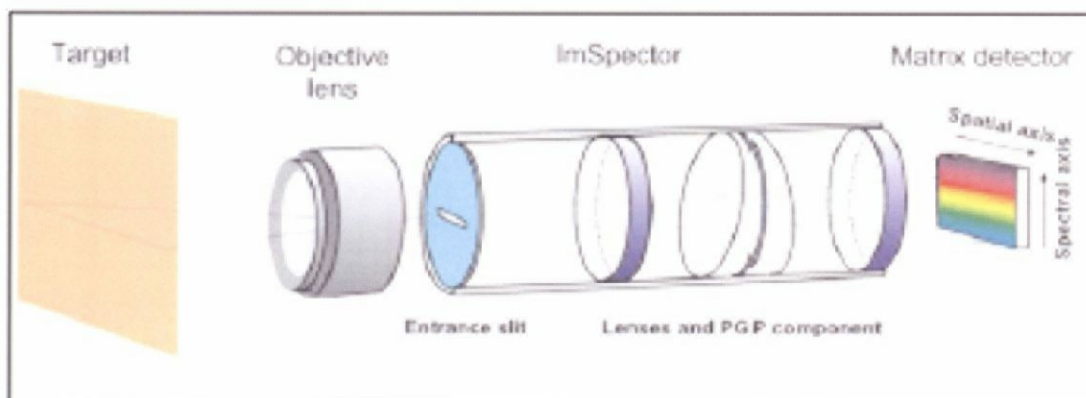


図 2-11 一次元位置情報－スペクトル同時取得法²⁰⁾

2-5 近赤外分光イメージング手法の既往研究

前節で述べた位置情報取得法と分光法を様々に組合せ、近赤外分光イメージングを構築することが可能である。迅速かつ広範囲の波長帯でハイパースペクトルを取得するためには、2次元アレイ検出器によるイメージ撮影法とFFT法を組み合わせることが望ましい。しかしながら、こうしたシステムを構築するためには数千万円のコストがかかるため、実際の研究では目的に合わせ、機能を限定してシステムを構築することが多い。以下では、XY走査法-FFT法、一次元位置情報－スペクトル同時取得法及びイメージ撮影法-バンドパスフィルタ法のそれぞれの組合せについて、既往の研究を紹介し、その課題について述べる。

2-5-1 米の成分分布可視化^{21)、22)、23)}

小山らはFFT型近赤外分光分析装置に顕微鏡とXYステージを取り付け、薄切片状試料の任意の位置における透過スペクトルを取得するシステムを開発した。図2-12に示すように、パラフィンに包埋された米一粒から薄切片を作成し、そのハイパースペクトルを取得・解析することにより、切片上におけるデンプン、タンパク質及び脂質の分布が可視化された。さらに、切片作成と可視化を繰り返し行い、得られた複数の可視化画像を重ね合わせることで、3次元的な成分分布が可視化された。この研究においては、FFT分光法を採用することにより、穀物の成分測定に用いられている長波長領域（1,800 nm以上）におけるハイパースペクトルを利用可能としたことと、米の主要成分の分布を可視化した点が高く評価された。しかしながら、透過スペクトルを測定するため、試料厚が100 µm以上になると吸光が飽和して計測が不可能な点がネックとなり、成分濃度既知の標準試料を用いても、十分な精度の検量線は得られなかった。すなわち、試料厚

が数十 μm と薄いため、充填率や切断面形状が一定とならず、得られたスペクトルにノイズが多く含まれていたと考えられる。したがって、可視化された成分分布は実際の成分分布を正確に再現していなかった可能性がある。また、FFT型近赤外分光分析装置は高価である上、フーリエ変換の性質上、ノイズを多く含むスペクトル計測には適さない。さらに、XY走査法を採用したため、位置情報の取得に膨大な時間がかかる点、果実などの比較的大きなサンプルを計測することが不可能な点などが課題として残された。

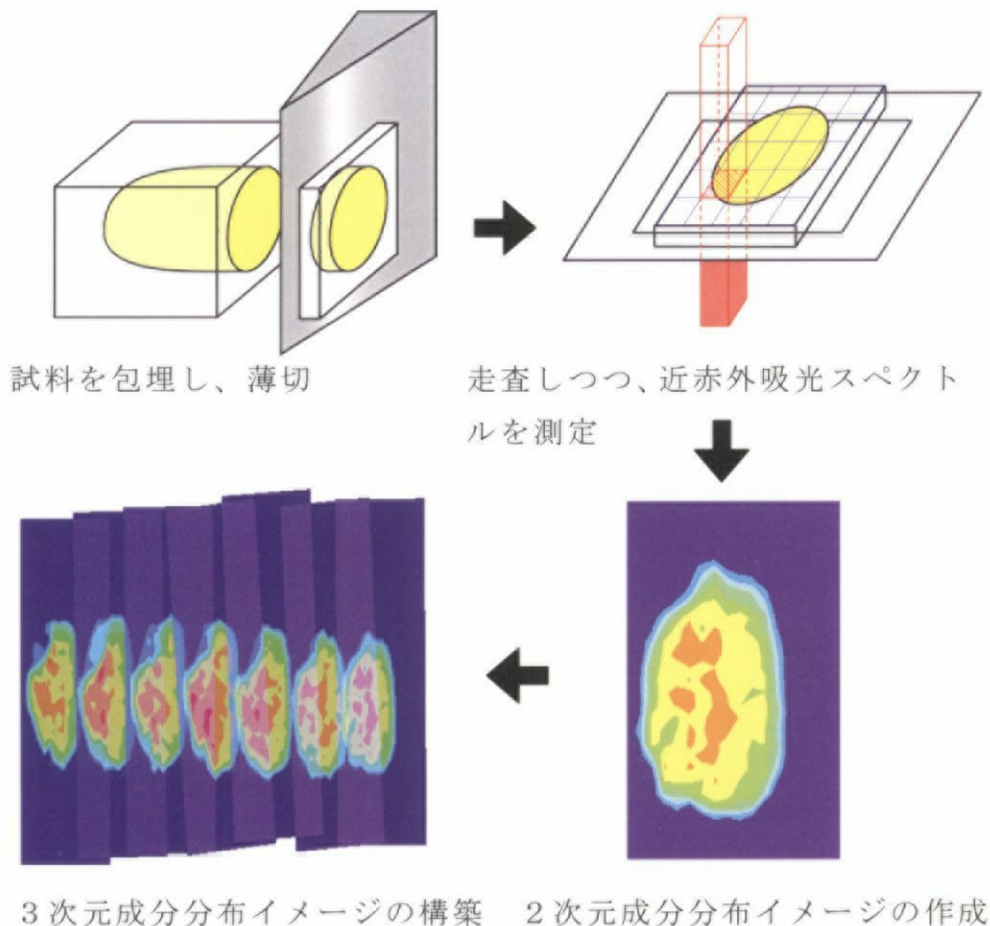


図 2-12 米の成分分布可視化手順²³⁾

2-5-2 キウイフルーツの糖度分布可視化²⁴⁾

Martinsen らは図 2-13 に示すような計測システムを用い、半分に切断したキウイフルーツ断面のハイパースペクトルを計測した。このシステムは一次元位置情報－スペクトル同時取得法を採用しており、キウイフルーツ断面の $150 \times 242 = 36,300$ 点における 650 nm から 1,100 nm までのスペクトルが測定された。得られたハイ

パースペクトルと、直径 6 mm の円柱状に果肉をくり抜き、その果汁を測定して得られた糖度実測値について重回帰分析を行い、相関係数 0.925、標準偏差 1.11 の検量線が得られた。この検量線を先に得られてキウイフルーツ断面の各画素のスペクトルに適用し、図 2-14 に示すようにキウイフルーツ断面の糖度分布が可視化された。なお、糖度実測値には試料全体の糖度ではなく、図 2-15 左下に示すように、1 つの試料から数カ所の果肉を抜き出し、それぞれの糖度を測定した値が使用されたため、糖度のばらつきが保たれた。また、図 2-15 右上に示すように、抜き出した果肉に対応するスペクトルとして、抜き出した部分全体のスペクトルではなく、3 点の加算平均スペクトルを用いたことにより、データサイズの縮小が図られた。以上のように正確かつ簡略な検量線作成法を開発した点が、この研究の大きな成果と言える。しかしながら、本研究で採用されたライン走査法及び一次元位置情報－スペクトル同時取得法は、試料の一方向を走査する必要があり、計測に時間を要するという難点がある。具体的には、一波長の撮影に 0.4 秒を要し、位置情報取得のためのライン走査が 242 回であったので、1 サンプルの計測に少なくとも $0.4 \times 242 = 96.8$ 秒、走査のための機械的動作にかかる時間を考慮に入れば、2 分以上の時間を要したと考えられる。キウイフルーツのような青果物を対象にする場合、果肉表面からの水分蒸発に伴う糖度変化などが予想されるため、計測時間の短縮が課題であると考えられた。

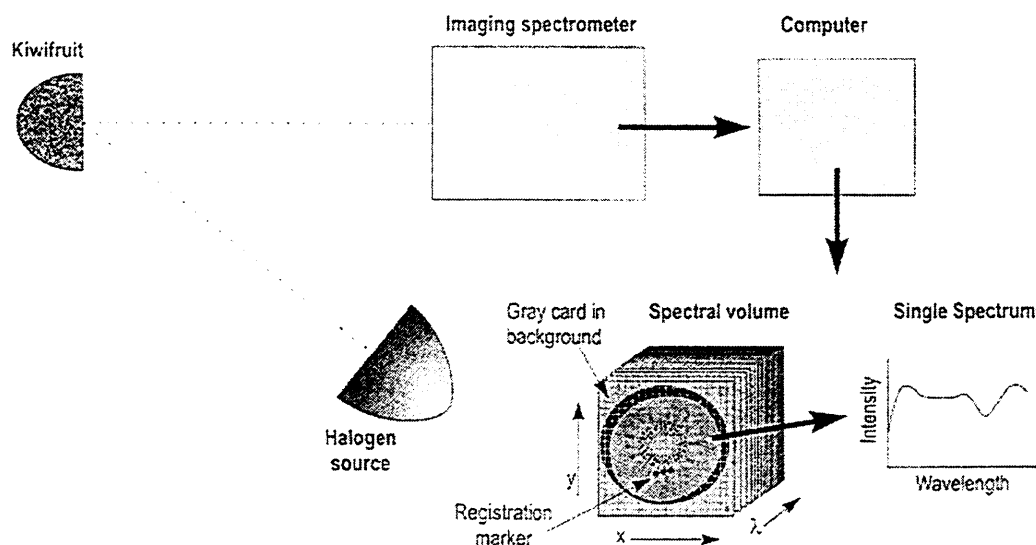


図 2-13 キウイフルーツ計測システム ²⁴⁾

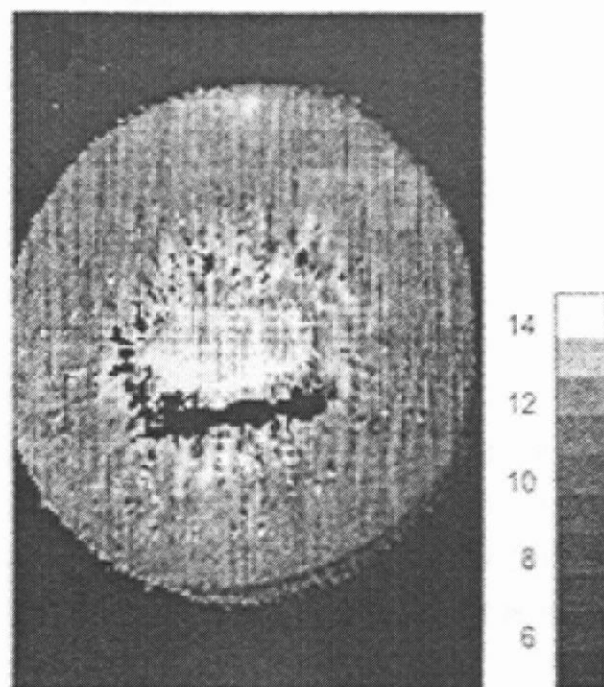


図 2-14 キウイ果肉断面の糖度分布可視化画像²⁴⁾

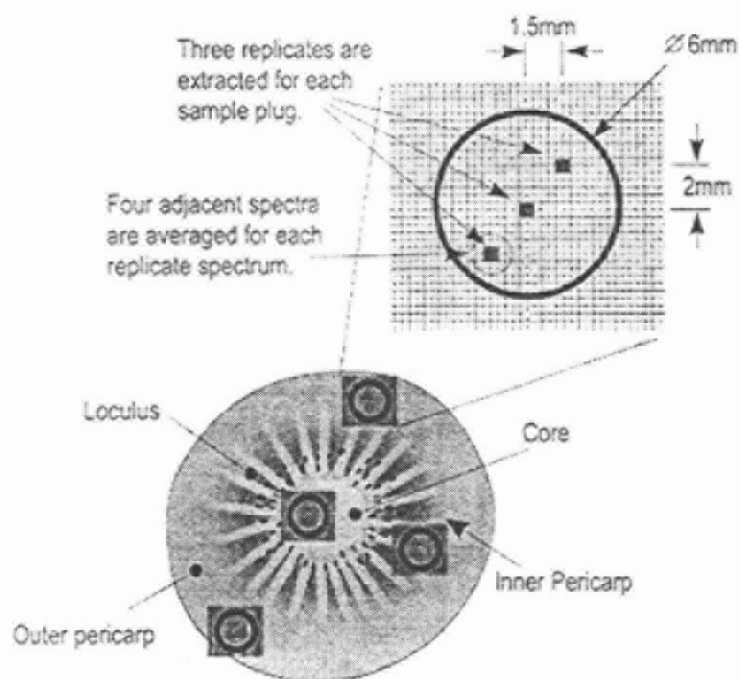


図 2-15 検量線作成用データの取得²⁴⁾

2-5-3 メロンの糖度分布可視化^{25)、26)、27)、28)、29)}

筆者らは、図 2-16 に示す冷却 CCD カメラにバンドパスフィルタを取り付けた計測システムを用い、メロンの糖度分布可視化を試みた。まず、バンドパスフィルタの波長を決定するため、従来の近赤外分光法により図 2-17 に示す糖の検量線を作成した。その結果、874 nm と 902 nm における二次微分吸光度を採用することにより、精度の高い検量線を作成できることが明らかとなった。そこで、846、874、902 及び 930 nm の 4 枚のバンドパスフィルタをフィルタホルダに入れ、冷却 CCD カメラに装着した。メロンを半分に切断し、その断面を上記 4 つの波長で撮影した。また、撮影を終えた試料から直径 25 mm の円柱状に果肉をくり抜き、検量線用サンプルとした。検量線サンプルについては、撮影と糖度実測値の測定を繰り返し行った。図 2-18 に示すように、このようにして得られた分光画像に対して、天体観測の手法を応用し、暗電流ノイズを除去するダーク補正、照明ムラを補正するフラット補正を行った。さらに、各画素の輝度値を吸光度に変換し、画像間で差分処理を行うことにより、各画素が 874 nm と 902 nm における二次微分吸光度を示す画像を 2 枚作成した。検量線サンプルについては分光画像における二次微分吸光度の平均値を求め、これと糖度の実測データに対して重回帰分析を行い、図 2-19 に示す糖度の検量線を作成した。また、得られた検量線を果肉

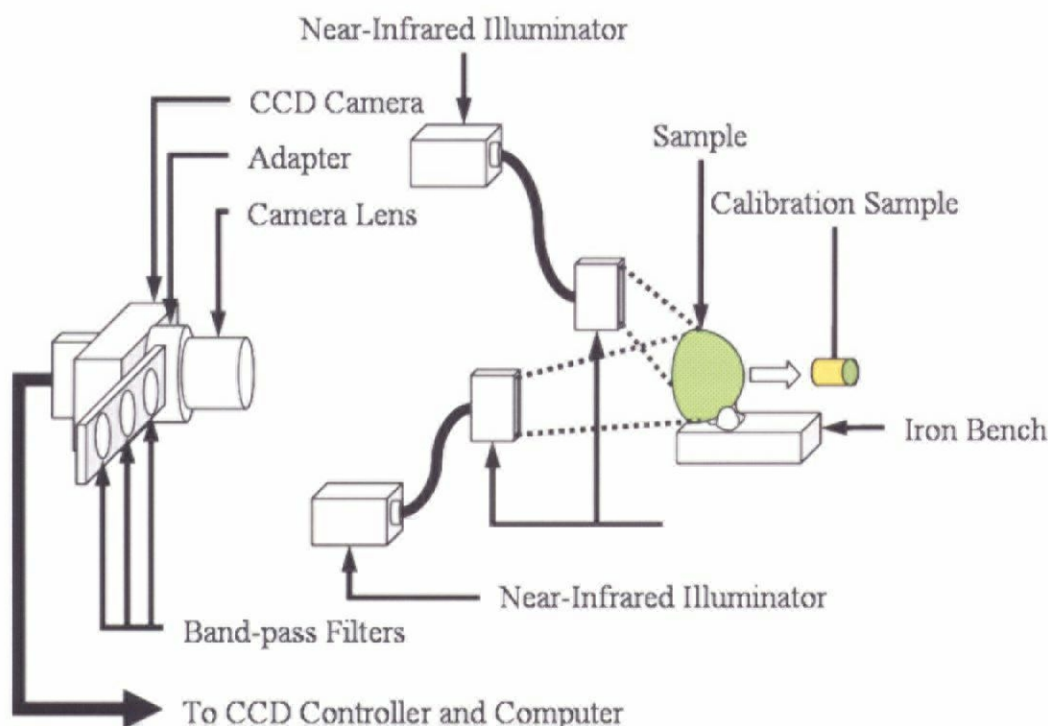


図 2-16 冷却 CCD カメラによる計測システム²⁹⁾

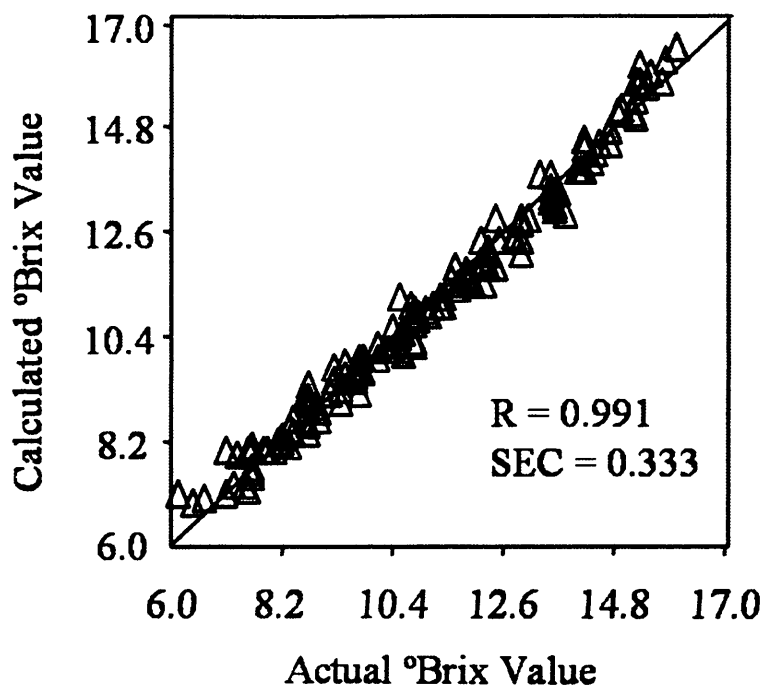


図 2-17 近赤外分光装置による検量線²⁹⁾

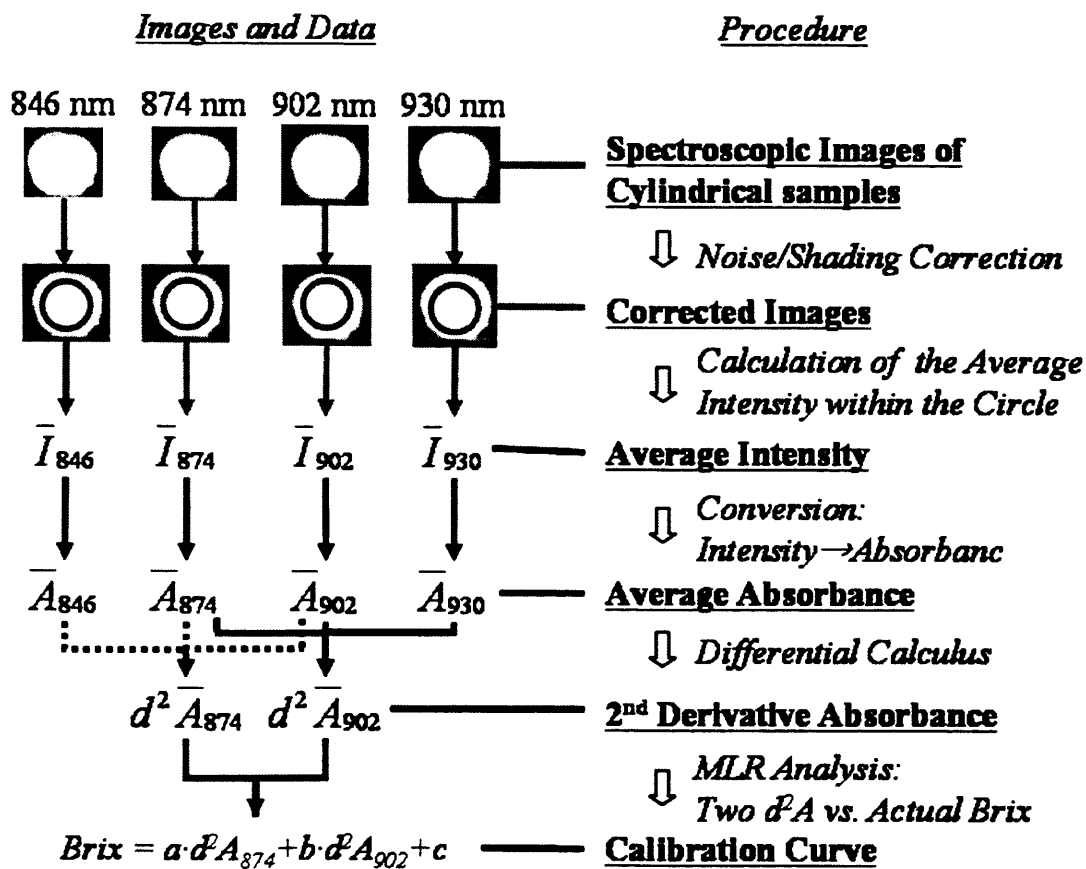


図 2-18 検量線の作成手順²⁹⁾

断面の二次微分吸光度画像に適用することにより、図 2-20 に示すように、メロンの果肉断面における糖度分布が可視化された。この研究の成果は、天体観測の手法を応用し、近赤外分光イメージング手法に照明ムラ・暗電流ノイズの影響を除去する画像処理を採用したこと、また輝度値を吸光度に変換する手法を開発することにより、従来の近赤外分光装置と比較して格段に安価な CCD カメラとバンドパスフィルターの組合せで、成分分布の可視化が可能であることを示したことにある。しかしながら、測定成分の吸収帯を特定するために、近赤外分光分析装置による予備実験が必要である点や、バンドパスフィルタによる分光方式のため、実験条件の変化に伴う吸収帯のシフトや、他の青果物・他の成分分布可視化に対応できない、という課題が残された。

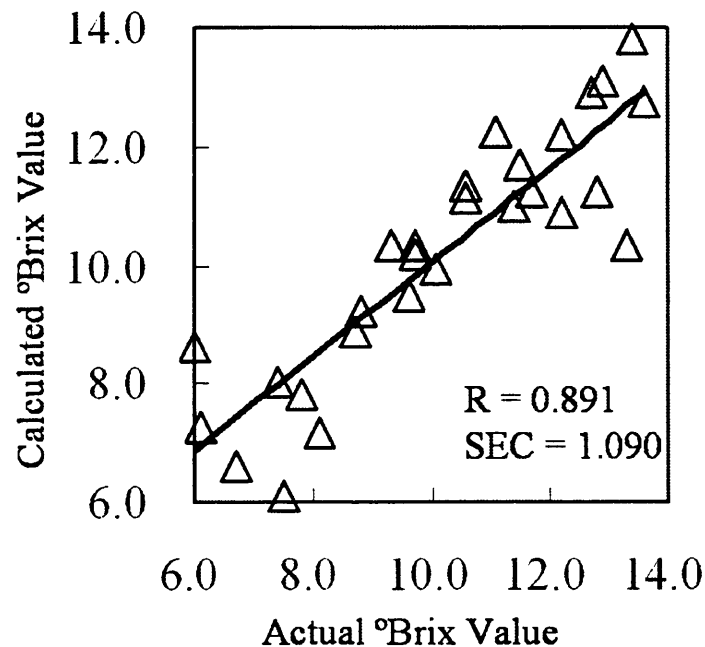


図 2-19 分光画像に基づく検量線²⁹⁾

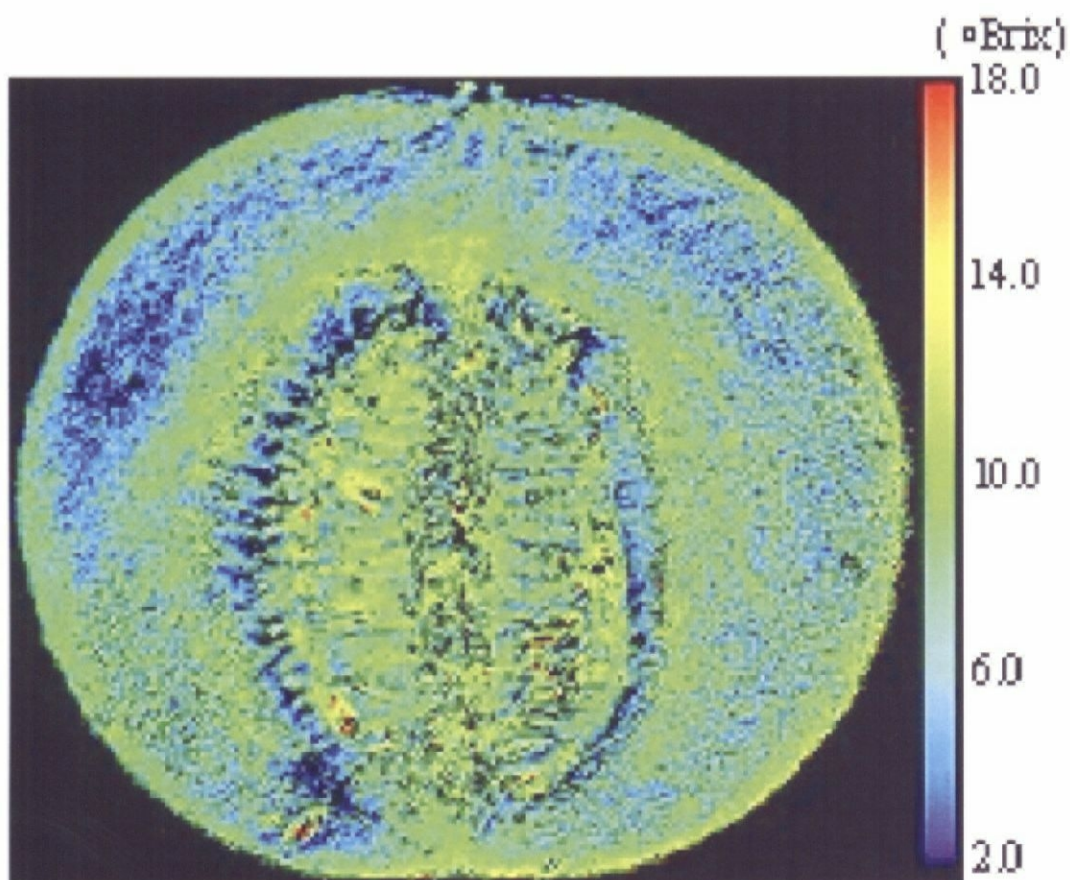


図 2-20 メロンの糖度分布可視化画像²⁹⁾

2-6 まとめ

- 1) 近赤外分光法とは、Lambert-Beer の法則に基づき、対象の吸光スペクトルを解析し、その成分含量を予測する手法である。簡便かつ迅速な測定法であるので、食品工業、化学工業、医療分野など幅広い分野で応用されている。
- 2) 従来の近赤外分光法では試料の 1 点においてスペクトルを測定するのに対し、近赤外分光イメージングにおいては、ある平面領域内の一点ごとにスペクトルを測定することにより、スペクトル情報と同時に位置情報を含むハイパースペクトルを取得する。ハイパースペクトルを解析することにより、試料成分の定量解析とともに成分分布を可視化できる点が、近赤外分光イメージング手法の大きな利点である。また、近赤外分光イメージング

手法の位置情報取得手法や分光手法には様々な組合せがある。

- 3) 近赤外分光イメージング手法により、米の成分分布や、キウイ及びメロンの糖度分布を可視化した研究が報告されている。