

近赤外分光イメージング手法の基礎と応用

-メロン糖度分布の可視化事例-

薦 瑞樹(食品総合研究所、東京大学大学院)

杉山 純一(食品総合研究所)

相良 泰行(東京大学大学院)

〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

食品総合研究所 電磁波情報工学研究室 薦 瑞樹

Tel: 0298-38-8047/ E-mail: mizukit@affrc.go.jp

あらまし

青肉メロン果肉の糖度が676 nmの吸光度と逆相関にあることを見いだした。また、冷却CCDカメラに同波長のバンドパスフィルターを取り付けた撮像装置でメロン果肉の断面を撮影し、画素毎に近赤外分光法に基づいて糖度推定を行い、その結果をカラーマッピングして糖度分布を可視化した。次に、より普遍的な可視化手法を開発するため、透過波長可変の液晶チューナブルフィルターを導入してハイパースペクトルカメラを構築し、青肉・赤肉メロン果肉の連続スペクトル画像を取得して糖の吸収帯と特定した。さらに、糖の吸収帯における2次微分吸光度を用いて検量線を作成し、これを果肉断面の各画素に適用して青肉・赤肉メロン断面の糖度分布を可視化した。

キーワード

近赤外分光法、メロン、糖度、可視化、ハイパースペクトルカメラ

Basics and Applications of the Near-Infrared Imaging Spectroscopy - Visualization of the Sugar Distribution in the Flesh of Melons -

Mizuki Tsuta (National Food Research Institute and The University of Tokyo)

Junichi Sugiyama (National Food Research Institute)

Yasuyuki Sagara (The University of Tokyo)

Mizuki Tsuta

2-1-12 Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642 JAPAN

Radiation & Information Technology Lab., National Food Research Institute

Tel: 0298-38-8047/ E-mail: mizukit@affrc.go.jp

Abstract

The absorbance by the green-flesh melon at 676 nm was found to be highly correlated with the sugar content. A CCD camera with a band-pass filter of 676 nm was utilized to capture the surface of green-fresh melons, so that the intensity of each pixel of the images was converted into sugar content. By assigning the sugar content with a linear color scale, sugar distribution of the green-fresh melons were visualized. Then, a liquid crystal tunable filter was adopted to the CCD camera in order to acquire hyper-spectral images, with which more universal visualization method can be developed. Hyper-spectral images of melons were captured and sugar distribution maps of both green- and red-flesh melons were developed by applying the near-infrared spectroscopic technique.

key words

near-infrared spectroscopy, melon, sugar content, visualization, hyper-spectra

近赤外分光イメージング手法の基礎と応用

-メロン糖度分布の可視化事例-

葛瑞樹^{1,2}、杉山純一¹、相良泰行²

1. 緒言

1.1. 農産物の品質計測

近年、消費者の健康志向・安全志向が高まり、農産物の安全性、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、高品質な農産物を生産するためにも、品質計測は重要である。品質計測の手法としては、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計測技術は日本全国で広く普及している。

1.2. 近赤外分光法の原理

ある成分 X の吸収帯が波長 λ であり、測定対象への入射光強度が I_0 、測定対象からの反射光強度が I であるとき、波長 λ における吸光度 $A(\lambda)$ は

$$A(\lambda) = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) \dots\dots\dots (1)$$

と定義され、 X の含量 $C(X)$ と $A(\lambda)$ の間には比例関係が成立することが、「Lambert-Beer」の法則¹として知られている¹。近赤外分光法は、この法則に基づき、対象の吸光度を測定し、成分の含有量を推定する手法である。近赤外分光法は、必要な作業が光の照射と透過光の測定、そしてパソコンによる単純な回帰計算のみであるため、簡便かつ迅速であるという利点がある。現在、全国の多くの選果場において、ミカン・リンゴ・ナシ・モモ・スイカ・メロン・トマトなど、様々な農産物の品質が近赤外分光法で測定され、その結果に基づいて等級・階級が選別されている。

1.3. 近赤外分光イメージング手法の概要

広く普及している近赤外分光法であるが、欠点の一つある。それは、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、分布を測定することができないということである。成分分布は、青果物の品質を決定づける重要な要素であるため、ポイント測定を2次元・3次元測定に拡張し、対象成分の分布を計測する「近赤外分光イメージング手法」の研究が種々行われている。本稿ではそのうちメロンの糖度分布を可視化した事例を紹介する。

2. 青肉メロン糖度分布の可視化

2.1. 近赤外分光分析

糖度と高い相関を持つ波長を決定するために、3個の青肉メロンに対して近赤外分光分析を行った。図1に示すように、メロンの赤道線上から直径25 mm の円筒状に果肉をくり抜き、その内側果肉断面の400nm~1,100 nm における吸光スペクトル

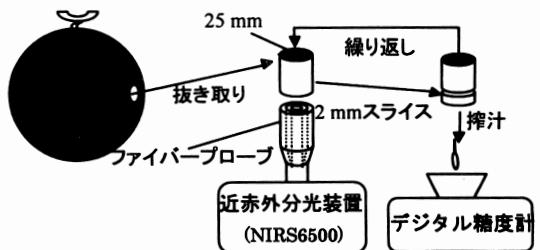


図1 メロンの近赤外分光分析

¹ 独立行政法人食品総合研究所 電磁波情報工学研究室 (E-mail: mizukit@affrc.go.jp)

² 東京大学大学院 農学生命科学研究科

を、近赤外分光分析装置（Foss NIR Systems 社製 NIRS 6500）の光ファイバースコープで測定した。スペクトルを測定した部分から 2 mm 厚のスライスを切り出し、その果汁を絞って糖度をデジタル糖度計（アタゴ社製 PR-100）で測定した。以上の作業を果肉の内側から果皮付近まで繰り返すことにより、様々な深さにおけるメロン果肉の吸光スペクトルと糖度のデータを得た。これらのデータに対して回帰分析を行ったところ、676 nm における吸光度と糖度の間に高い相関があることが分かった。これはクロロフィルの吸収帯にほぼ一致し、逆相関であることから、クロロフィルの少ない部分ほど糖度が高いことが示唆された。

2.2. 試料

山形県鶴岡市産のアンデスメロンで、未熟・適熟・過熟の個体各一個を供試材料とした。未熟果は収穫適期よりも 6 日前に、適熟果は収穫適期に、果熟果はそれよりも 5 日後に収穫された個体を用いた。いずれも収穫翌日に宅配便で送られた試料を 25℃の暗室で測定した。

2.3. 撮像装置

図 2 に分光画像の撮影に用いた撮像装置を示した。通常、撮影に使用する CCD カメラは 8-bit (256 階調) であるが、本研究では 40 万画素 16-bit (65,536 階調) の冷却 CCD カメラ（武藤工業社製 CV-04 II）を使用した。この CCD カメラは高い階調度を持つ上、線形特性が $\gamma=1$ であることから、各画素が近赤外分光分析装置の受光器と同様の働きをすると考えられる。カメラレンズの前面には、前項の近赤外分光分析実験で特定した 676 nm のバンドパスフィルターを装着し、照明にはタングステンハロゲンランプを光源とする光ファイバ冷却照明装置を用いた。また、CCD カメラとサンプル表面の焦点距離が一定となるよう、石英ガラスをカメラレンズと水平に設置し、その表面にサンプルを密着させた。

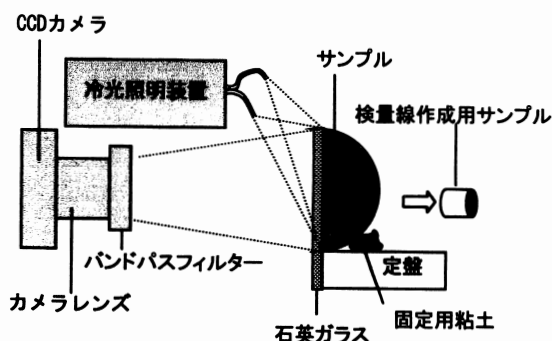


図2 分光画像撮像装置

また、CCD カメラとサンプル表面の焦点距離が一定となるよう、石英ガラスをカメラレンズと水平に設置し、その表面にサンプルを密着させた。

2.4. 分光画像の取得

未熟・適熟・果熟のサンプルをそれぞれ半分に切断して、その断面の 676 nm における分光画像を撮像装置で撮影した。画像サイズは 768×512 ピクセル、露光時間は 0.5 秒であった。さらに、撮影したサンプルから直径 25 mm の円柱状に果肉をくり抜き、これを検量線作成用サンプルとし、2.1.項の近赤外分光分析と同様にして分光画像の撮影と糖度測定を繰り返し行った。

2.5. 画像処理ⁱⁱ

得られた画像に含まれる①暗電流ノイズ、②パイアス電圧、③各ピクセルの感度ムラ、④不均一な照明に起因する光量ムラを画像処理によって補正した。さらに、吸光度の定義に従い、以下のように補正画像の輝度値を 676 nm における吸光度に変換した。

$$A(676) = -\log\left(\frac{\text{補正画像}}{M}\right) = \log\left(\frac{M}{R}\right) \dots\dots\dots (2)$$

ここで、 M は標準白色板の画像全体の平均輝度値、 R は補正画像の各画素における輝度値であり、それぞれ(1)式における入射光強度 I_0 、反射光強度 I に相当する。676 nm における吸光度と糖度に高い相関が

あることに基づき、分光画像を用いて糖度の検量線を作成した。すなわち、2.4項で得られた検量線作成用サンプルの分光画像に上記の画像処理を行い、φ 25 mm 内の平均吸光度を求め、糖度データとの相関関係を求めた結果が図3である。いずれにサンプルにおいても 676 nm における吸光度と糖度には高い相関関係が見られ、本研究で用いた撮像装置を用いて、糖度の推定に十分な精度の検量線が得られることが分かった。

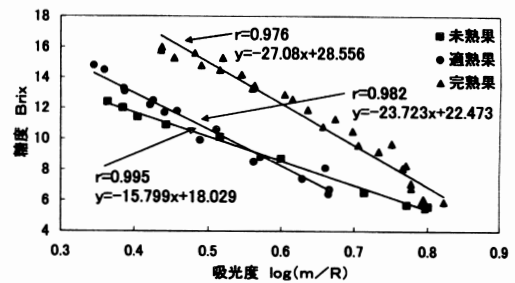


図3 吸光度と糖度の検量線

2.6. 糖度分布の可視化

2.4項で得られたメロン果肉の断面画像に対し、前項で述べた画像処理を行って吸光度を求め、さらに図3の検量線を適用して画素ごとに糖度を算出した。さらに、糖度の大小をカラーマッピングし、図4に示す糖度分布の可視化画像を得た。実画像から熟度や部位による糖度の違いを見分けることは困難であるが、可視化画像では熟すにつれて糖が蓄積していく様子や、部位による糖度の違いが分かる。さらに、いずれの熟度においても底部よりも頭部の方において糖度が高く、軟化が先に始まる底部の方が甘い、という一般通念が必ずしもあてはまらないことを示唆していた。

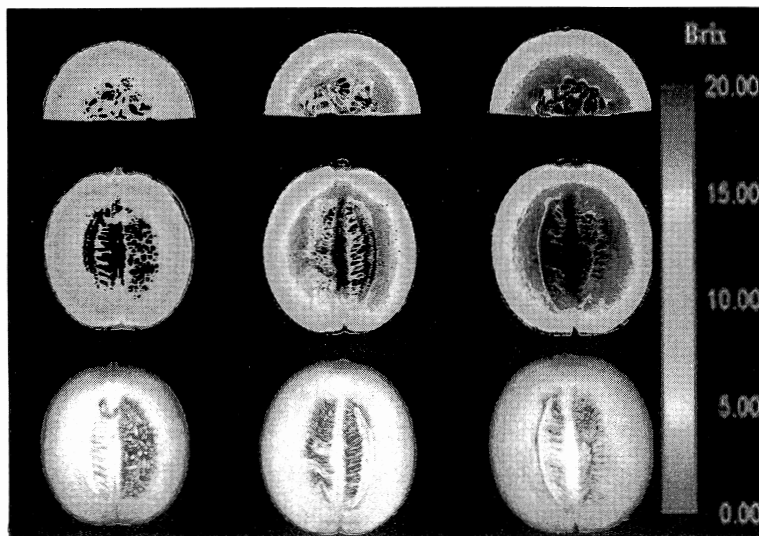


図4 青肉メロンの糖度分布可視化画像

(左から未熟果、適熟果、過熟果; 上段から水平断面、垂直断面、実画像)

3. ハイパースペクトルカメラによる可視化手法の改良

前節で紹介した糖度分布の可視化手法には、以下のような3点の課題が残った。

- ①バンドパスフィルター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に対応できない上、異なる波長に吸収帯を持つ成分の可視化には適用不能である。
- ②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前実験が必要である。

③676 nmはクロロフィルの吸収帯であり、全てのメロンにおいてこの波長における吸光度と糖度に相関関係があるとは限らない。実際、本手法は赤肉メロンには適用できないことが分かった。

これらの課題を解決するには、様々な波長の分光画像を撮影できる撮像装置を構築した上で、画像データを用いた回帰分析で糖の吸収帯を特定し、そのデータに基づいた可視化手法を開発する必要があると考えられたⁱⁱⁱ。以下では、この手法について述べる。

3.1. 試料

北海道産のらいでん（青肉メロン）およびらいでんレッド（赤肉メロン）各1個を試料とした。温度変化によるスペクトルのシフトを防ぐため、それぞれ室温25℃で一晩放置した後、暗室にて実験を行った。

3.2. ハイパースペクトルカメラ

2.3.項で述べた撮像装置のうち、分光部をバンドパスフィルターから液晶チューナブルフィルター（Varispec社製 VS-NIR1-10-LC-20）に交換した。液晶チューナブルフィルターは液晶チューニングエレメントと複屈折フィルターを組み合わせた構造で、印可電圧を変化させることにより、透過波長を400 nm～1,100 nmの任意の波長に設定することが可能である。したがって、この撮像装置では従来の近赤外分光装置と同様に測定対象の連続スペクトルを取得することが可能であり、ハイパースペクトルカメラとしての機能を有していると言える。

3.3. 分光画像の取得

サンプルを半分に分割し、その断面画像を800 nm～1,100 nmの範囲で5 nmおきに撮影した。画像サイズは384×192ピクセルであり、露光時間は各波長におけるハイパースペクトルカメラの感度にあわせて0.2～5秒の範囲で変化させた。さらに、2.4.項と同様に検量線作成用サンプルのくり抜き、分光画像の撮影および糖度を行った。

3.4. 検量線の作成

得られた検量線作成用サンプルの分光画像に、2.5.項と同様の画像処理を行い、800 nm～1,100 nmにおけるφ25 mm内の平均吸光度を求めた。図4にこれを連続的にプロットした吸光スペクトルを示す。スペクトルの加算的・乗算的な変動の影響を軽減し、吸光ピークを強調するため、得られたスペクトルを波長で2次微分した。2次微分は、近赤外分光分析において一般的に用いられるスペクトル処理法である。さらに、2次微分スペクトルと糖度の実測値について統計解析を行い、らいでんと

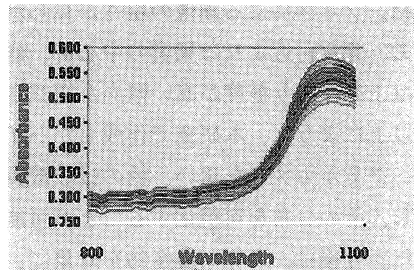
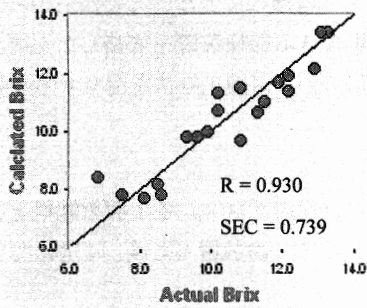
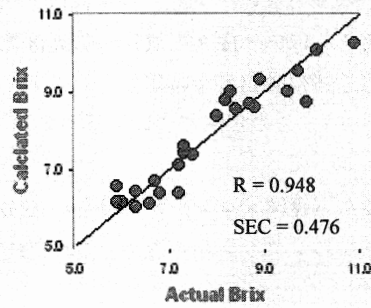


図4 メロン果肉のスペクトル(らいでん)

らいでんレッドについてそれぞれ図5に示す検量線を作成した。その結果、らいでんにおいては910 nmと880 nm、らいでんレッドにおいては915 nmと955 nmにおける2次微分吸光度の組み合わせと、糖度の間に高い相関があることが分かった。910 nm近辺には糖の吸収帯があり^{iv}、880 nmと955 nmにおける2次微分吸光度はそれぞれ果肉厚および含水率による誤差を補正する効果があると考えられた。また、2つの検量線は共に高い精度を示し、本研究で用いたハイパースペクトルカメラを用いて、糖度の推定に十分な精度の検量線が得られることが分かった。



(a) らいでん: 910 nm + 880 nm



(b) らいでんレッド: 915nm + 955 nm

図5 2次微分吸光度と糖度の検量線

3.5. 糖度分布の可視化

3.3.項で得られたサンプルの断面画像について、検量線作成用サンプルと同様の画像処理を行い、各画素における2次微分スペクトルを求めた。次に、らいでんにおいては910 nmと880 nm、らいでんレッドにおいては915 nmと965 nmにおける2次微分吸光度に図5の検量線を適用し、各画素における糖度を求めた。最後に、糖度の大小をカラーマッピングし、図6に示す糖度分布の可視化画像が得られた。ノイズによる画像の粗さが見られるものの、果皮付近よりは果実の中心部、底部よりは上部がより糖度が高い傾向が観察された。

以上のように、本研究で作成したハイパースペクトルカメラを用い、糖の吸収波長を特定し、その分布を可視化することが可能となった。今後は、多様な農産物を対象に、様々な成分の分布を可視化することが期待される。

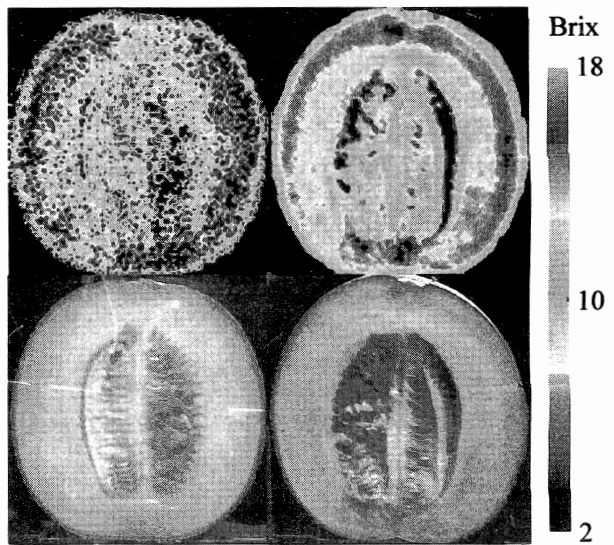


図6 マルチスペクトルカメラによる糖度分布可視化画像
(左列かららいでん、らいでんレッド; 上段から水平断面、実画像)

ⁱ岩元陸夫, 河野澄夫, 魚住純 近赤外分光法入門; 幸書房: 1994; pp. 46-51

ⁱⁱSugiyama, J. Visualization of Sugar Content in the Flesh of a Melon by Near-Infrared Imaging. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 2715-2718.

ⁱⁱⁱTsuta, M.; Sugiyama, J.; Sagara, Y. NIR Imaging Spectroscopy Based on Sugar Absorption Band for Melons. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 48-52.

^{iv}Kawano, S.; Fujiwara, T.; Iwamoto, M. Nondestructive Determination of Sugar Content in Satsuma Mandarin using Near Infrared (NIR) Transmittance. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 1993, 62, 465-470