

紫外可視近赤外分光分析による農畜産食品の非破壊品質評価

牧野 義雄

(東京大学 大学院農学生命科学研究科)

1. 分光分析の概要

分光分析は光センシングと呼ばれる非破壊検査法の1種であり、操作が簡便な上に検査対象を傷つけないという長所がある。医療分野でのX線やMRIなど、多くの分野において、検査法は破壊法から非破壊法へと置き換えられる傾向にあり、農業分野では近赤外分光分析が、メロン、トマトなど幅広い品目の果実類に対する糖度測定法として実用化されている。当該手法は光を対象物に照射し、反射あるいは透過した光量を計測することにより、対象物に関する情報を得るものであり、地球環境の観測から電子部品の細かな傷の検出まで、あらゆる分野で応用されている、極めて汎用性の高い技術である¹⁾。最大の特徴は、非破壊かつ迅速なデータ取得が可能な点である。

なお、本稿では照射した光を分光し、試料を経由した光をそのまま受光する方法について述べる。従って、蛍光分光分析については、励起光（短波長）照射に由来する蛍光（長波長）を捉える機器分析法であることから、本稿の内容からは割愛する。

2. 分光分析に使用されるハードウェア

分光分析を行うにあたり、選択するハードウェアや、各光学部品の構成が使用可能な波長領域や測定精度に影響を及ぼすことから、最終的に適用可能な

対象物の選択にまで影響を及ぼすこととなる。ハードウェアは機器分析の基本をなすものであり、その詳細について説明する。

(1) 光源

光源には様々な種類があるが、照射が必要な光波長を考慮して種類を選択することとなる¹⁾。

紫外線照射には重水素ランプが使用され、紫外分光分析に使用される。Xeランプは近紫外～可視光の領域で強い照射強度を持ち、可視分光分析において高い精度を要する場合に選択される。分光分析で最も汎用的に使用されるのはタンゲステン-ハロゲンランプであり、赤色光（可視光）～赤外線の領域で強い光を発生し、特に近赤外、赤外分光分析に使用される。

(2) 分光器

最近の装置では、プリズムが使用されることは少なくなっており、ほとんどは回折格子と呼ばれる表面に細かい多くの溝を掘った光学部品を回転させて入射光の屈折率を変化させ、様々な波長の光を取り出す「モノクロメーター」が使用されている。

そのほか、光が透過しただけで様々な波長に分ける「透過型回折格子」もあり、後に解説するハイパースペクトルカメラ用の光学部品として使用されている。

(3) 光センサー

最も汎用的な光センサーは半導体である。これは、半導体に光が照射されれば電流が流れるという、アインシュタインが明らかにした光電効果²⁾を利用したものである。シリコンフォトダイオードは

平成28年11月10日受理

連絡先 〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1
東京大学 大学院農学生命科学研究科
TEL 03(5841)5361 FAX 03(5841)8174
Email amakino@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

従前より発電用の太陽電池パネルなどに利用され汎用性の高い受光素子として知られているが、近年はデジタルカメラや携帯電話用にも使用されていることから、不可欠な日用品としての位置づけを確立している。

シリコンフォトダイオードは上述のように汎用性の高い光学部品であるが、受光感度が可視光の領域では高いものの、近赤外領域では1,000nm以上になると感度が著しく落ちるという欠点がある。そこでさらに長波長の光をとらえる必要があるとき、PbSやInGaAsを受光素子として用いる必要がある。

ニュートリノ研究に使用されているスーパーカムイオカンデ³⁾に数多く設置されていることで有名になった光電子増倍管も光電効果を利用した光センサーである。わずかな光をとらえ、連鎖的に電流を増やすことにより、高い感度を実現している。

(4) 構成

分光分析に必要なハードウェアの基本構成は、光源、分光器、スリット、光センサーである(表1)。これらの光学部品には様々な種類があり、対象物質を計測するために必要な光波長を特定し、S/N比を最大限向上させることを考慮して、適切な光学部品とその構成を検討する。また、光学部品は製造ロットごとに若干性能が異なるため、標準白板や標準色板等基準となる対象を予め、あるいは試料と同時に計測することにより、測定データを普遍的な値に校正する必要がある。

分光光度計は、最も基本的かつ汎用的な分光分析装置である。研究用では近紫外～可視光領域を対象とするものが最も基本的であり、光源としてタンダ

ステン-ハロゲンランプを備え、照射光をモノクロメーターで分光し、スリットを通して試料に光を照射した後、反射光または透過光を光センサーで受光する。研究用の場合、光電子増倍管が使用されている。さらにグレードの高い装置になれば、複数の光源や光センサーを備え、測定可能な波長範囲が広がる。受光強度に応じて電気信号に変換され、測定シグナルとして記録される。なお、スリットは数nm単位で設定できる隙間のことであり、狭いほど波長の絞り込み精度が向上するものの、光量が少なくなりS/Nは低下する。広くすれば逆の現象が起きることとなるが、値は測定の目的や試料の状態に合わせて測定者が決めることとなる。

糖度センサーは、近赤外分光分析法を実用化した装置であり、農業分野では果実糖度の非破壊推定に利用されている。米の食味計はタンパク質など主要な成分濃度を推定し、おいしさを点数化する装置である。光源は長波長領域で強い光照射が可能なタンダステン-ハロゲンランプ、光センサーは汎用的光学部品であるシリコンフォトダイオードが使用されている。

近年、分光分析装置の中で、空間情報(2次元空間における位置情報)を併せて取得する研究用機器が普及し始めている。ハイパースペクトルカメラもその1種である。1画素ごとに分光吸収/反射スペクトルを格納したデータセットを取得可能な撮影装置であり⁴⁾、カメラというよりはむしろ、分光光度計に近い特徴を持つ。日常使用されているデジタルカメラも空間情報を取得可能な分光分析装置の1種と言える。各画素には、色の3原色(RGB)に係る光強度の情報のみが記録されており、統計解析に

表1 分光分析装置の種類と特徴

種類	測定波長	主な光源	主なセンサー	特徴	応用例
紫外可視分光光度計	330~1000nm	タンダステン-ハロゲン	光電子増倍管	安価	溶液中物質濃度定量
紫外可視近赤外分光光度計	190~3300nm	重水素、タンダステン-ハロゲン	光電子増倍管、InGaAs、PbS	高価、高精度	溶液中物質濃度定量
デジタルカメラ	700, 546.1, 435.8nm	D ₆₅	シリコンフォトダイオードアレイ	安価、操作が簡便、空間情報取得可能	物体の色彩評価
ハイパースペクトルカメラ	400~1000nm	キセノン、タンダステン-ハロゲン	シリコンフォトダイオードアレイ	高価、空間情報取得可能	物体の表面色評価、内部品質評価
近赤外分光分析装置	600~1000nm	タンダステン-ハロゲン	シリコンフォトダイオード	実用機	青果物の選果(糖度センサー)、米の食味計外

おける入力変数としては情報量が不足している。そこで研究用には、広い波長領域における反射光強度情報を格納できるハイパースペクトルカメラが用いられる。これは基本的にはラインセンサーであるため、撮影対象物あるいはカメラ自身を平行移動させることにより、面状の空間情報を持つデータが得られ、スペクトル解析のほか、画像解析も行うことが可能である。果実の糖度センサー等に用いられている分光分析装置は、1点測定型であり、果実の1部の箇所のデータあるいは1個体の平均値を取得するものである。しかし、空間での違いが重要な場合、即ち農畜産物であれば場所によって品質が異なり、それを適切に評価する必要がある場合には、ハイパースペクトルカメラのような、空間情報解析も可能な装置が必要となる。

ハイパースペクトルカメラを用いた研究は1990年代頃から盛んに行われ、当時はリモートセンシングによる植生の状態やそれらの将来予測に関する内容が中心であった⁵⁾。しかし2000年代に入ると、屋内での利用に関する研究事例が増え始め、現在では多くの知見が蓄積されている⁴⁾。

著者の研究室に導入している装置の概要を図1に示した⁶⁾。2種類の光源を備え、150Wキセノン光源は可視領域、150Wタングステンハロゲン光源は近赤外領域において、それぞれ強い光を照射する特徴がある。正確なデータを取得するためには強い光照射が必要であることから、上記光源の組み合わせは、可視～近赤外の広い波長領域において

正確なデータ計測を可能にする。試料から反射した光は16mmレンズと80 μ m幅のスリットを通過した後、透過型回折格子により400～1,000nmの波長に分解される。その後、光センサーであるCharge-Coupled Device (CCD, 電荷結合素子) で受光された光は光電効果により電気信号に変換され、「空間(縦)×空間(横)×波長(nm)×光強度」の4次元データとしてPCに記録される。なお、当該CCDは12-bitの分解能で、光の強弱を4,096階調の精度で判別可能である。なお、使用前には標準白板からの反射光強度を計測することにより、校正を行う。また、試料台の水平移動や反射光データのPCへの取り込みなど、システム全体の制御は、専用のソフトウェア(Spectrum Analyzer ver.1.8.0, JFEテクノロジーサーチ)で行う。

3. 分光分析の原理

(1) Lambert-Beerの法則

得られたデータの処理はPCを用いて解析されるが、その手法は千差万別である。物体に光を照射してセンシングされる光には、反射光、透過光の2種類があり、さらに、吸光度に換算される場合も多い。近赤外光の透過率を吸光度に換算する場合にはLambert-Beerの法則が用いられ⁷⁾：

$$A = -\log T = cde \tag{1}$$

ここで、 A は吸光度、 c は物質濃度(M)、 d は光

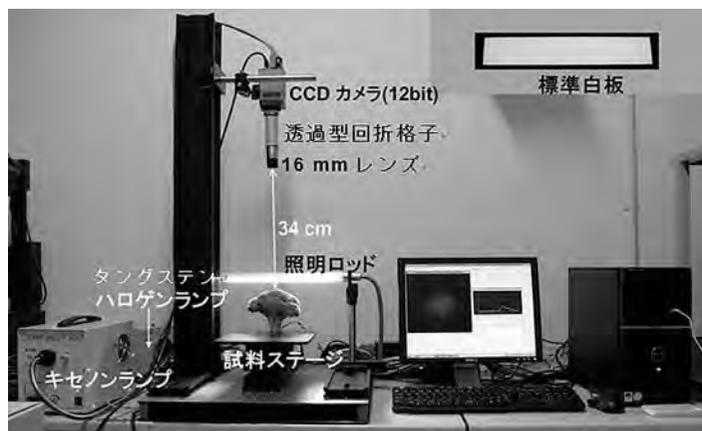


図1 ハイパースペクトルカメラの概要

路長 (cm), T は透過率, ε はモル吸光係数 ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)。反射率を吸光度に換算する場合, 主として2種類の計算式が使用される。可視~近赤外光の領域においてはLambert-Beerの法則に基づく換算が多用されており:

$$A = -\log R \quad (2)$$

ここで, R は反射率。

(2) Kubelka-Munk式

近赤外光の組織内部における拡散反射が無視できない水準である場合, Kubelka-Munkの式^{8, 9)}を用いた換算の方が有用である場合があり:

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} \quad (3)$$

ここで, K は吸収係数, S は散乱係数, ∞ は試料が光拡散距離に対して十分厚いことを示す。また, 次の式への誘導も可能である¹⁰⁾:

$$\frac{K}{S} = \cosh(-\ln R) - 1 \quad (4)$$

(3) ケモメトリクス

回折格子を使用して分光した場合, 分光スペクトルとしてデータを得ることとなる。これを解析し, 物質濃度等の推定を行うこととなるが, 推定精度を向上させることを目的として, 通常は前処理によるノイズ除去が行われる。その中でも最も多用されているのが, Savitzk-Golay法である¹¹⁾。これは, ある程度区切られた狭い範囲(解析者が適宜選択する。データポイント数ともいう。)のスペクトルを, 横軸を波長, 縦軸を光強度として2次式で近似し, 係数を求める作業から始める。次に2階微分を行うことにより2次の項の係数が残ることとなる。これをスペクトルの全領域で連続的に行うことにより, 2次の項の係数のスペクトルが形成される。その結果スペクトルは平滑化され, ノイズが除去される。さらに, 複数の物質による重なった光吸収ピークが分離される。この処理の結果, 必ずとは言い切れないが, 推定精度が向上する場合が多い。ただし, 光吸収ピークが原スペクトルとは逆の符号, 即ち, 正は

負に, 負は正になるという事に注意が必要である。また, Savitzk-Golay法を適用するデータポイント数を多くするほどノイズは減るが, 反面, 光吸収に関連する微弱なピークが消去されるなど, 重要な情報が失われるリスクもある。そのため, データポイント数は, 試行錯誤を繰り返すなどして, 慎重に決定する必要がある。

前処理が終われば, データ解析を行うこととなる。1960年代に米国農務省のNorris博士が明らかにした穀物による近赤外光の特殊な吸収特性に関する知見¹²⁾を端緒として, 近赤外分光分析と統計的数学モデル構築手法であるケモメトリクスの併用により穀物の成分分析を行う方法が急速に普及し, 我が国でも1990年代から徐々に果実の糖度判定を目的とした装置の導入が始まった。近赤外光は紫外/可視光に比べて物質による吸光が微弱であることから, 単一波長における吸光度/反射率と物質濃度を単回帰式で関連づけることは困難である。このため, ケモメトリクスを活用し, 複数波長における吸光度/反射率と物質濃度との関係を複雑かつ経験的な数学モデルで表す必要がある。初期の頃には重回帰分析(MLR)による線形モデルの作成が主流であったが, 異なる波長における反射率あるいは吸光度同士が高い相関関係を持つ「多重共線性」の問題が生じる恐れがあり, 予測精度低下の懸念がある。そこで現在は, 同じく線形モデル化手法である主成分回帰分析や部分最小2乗回帰分析(PLSR)等の手法が用いられる。これらは, 変数を波長ではなく, 主成分や潜在変数といった新たな変数の軸を作り出すもので, 変数同士が相関関係を持つことはない。さらに, ニューラルネットワーク(ANNs)のような非線形モデル化手法が用いられることもあるが, やはり変数は主成分分析で作出した変数が使用される場合が多い。

4. 農畜産食品の非破壊品質評価

(1) 糖度

近赤外光は, 物体による吸収が微弱であることから, 分析に利用するには感度が弱いと考えられるが, 反面透過力に優れ, 物体の内部品質の評価に利用されている。農業分野では, 果実の糖度センサー

が近赤外分光分析の応用例であり、広く普及している。我が国では1990年代から研究や実用化が始まり、平成18年青果物・花き集出荷機構調査¹³⁾によると、柑橘類、ナシ、モモ、リンゴ、トマトを中心に全国で621台の内部品質判定のための装置が導入されている。

光センシングの方式はおおよそ、反射光受光型と透過光受光型の2種類に分けられる(図2)。これらは、対象とする果実の皮の厚みによって使い分けられる。モモのように皮の薄い果実の場合、照射光は果実内部で拡散反射し、様々な方向から放出されるが、照射光と同方向に光センサーを置く反射光受光型であっても、果肉からの情報が十分に得られるため内部品質情報、すなわち糖度の推定が可能である。一方、柑橘類やメロンのように皮の厚い果実の場合、照射光は果実内部で拡散反射するものの、光センサーを照射光と同方向に置けば、皮に含まれる情報の割合が大きくなる。そのため、照射光と光センサーを逆方向に設置する透過光受光型が選択される。Kawano et al.¹⁴⁾によると、反射光受光型の分

光分析装置とMLRの組み合わせでモモの糖度を非破壊推定したところ、重相関係数0.97、予測標準誤差0.48° Brixの精度で糖度を予測可能であると報告されている。さらにKawano et al.¹⁵⁾は、温州みかんの糖度を透過光受光型の装置で非破壊推定したところ、重相関係数0.989、予測標準誤差0.32° Brixの精度で予測可能と報告した。その後も世界中で様々な青果物の糖度を非破壊推定する膨大な数の研究が行われることとなった。

(2) その他の内部品質

近赤外分光分析による内部品質の非破壊推定に関する研究例は、Nicolai et al.¹⁶⁾の総説に詳細が掲載されている。

測定対象はほとんどが果実類であり、内部品質として酸度、pH、乾物率、硬度、内部褐変、熟度等が選択されている。いずれも糖度とは異なり研究段階でとどまっており、実用化は進んでいない。その原因として考えられることは予測精度の問題である。通常化学分析と同様に、多く含まれる成分は精度良く測定可能であるが、少ないものはS/Nが低くなる。すなわち、糖は果実中に数%~十数%と比較的多く含まれる一方、例えば有機酸はその1割以下の水準でしか存在しない。物質による近赤外光の吸収は微弱であることから、精度の低い手法であることは否めず、低濃度の物質を直接非破壊推定することは困難と言わざるを得ない。

(3) 外観・色素

農畜産食品の外観品質は、消費者の第一印象を決定付ける重要な指標である。これは購買意欲に直結することから、選果段階において、外観を基準として等級が判定される。そのまま売価に反映されることから、生産者、消費者双方にとって最も関心の高い品質と考えられる。

外観は傷、病変によって損なわれることから、栽培中での果実の袋がけや病害虫防除のための農薬散布により、できる限り外観を損なわぬよう配慮がなされている。

色もまた、青果物の品質を評価する上で、重要な指標となる。青果物の色は、クロロフィル(緑)、カロテン(橙)、リコペン(赤)、アントシアニン

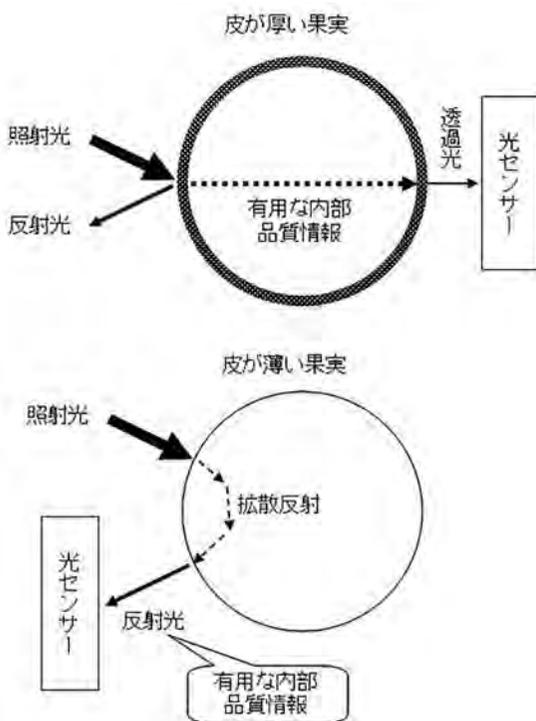


図2 果実の物理的特徴と光センシング法の関係

(赤、青、紫)等色素の存在によって決定されるが、追熟とともに色素濃度が変化し、外観品質に影響を及ぼす。主な変化として、クロロフィルの経時的な分解が認められる。一方、カロテンは安定的に存在するため、貯蔵期間が長くなるほど、青果物の外観色は黄化する傾向がみられる。トマト果実の例では、追熟とともにリコペンが合成され、赤味が増す傾向がみられる¹⁷⁾。

病変、色とも、目視により確認可能であるが、人による判定では主観的な基準で判定されるため、普遍的な選別方法とはいいがたい面がある。そこで分光分析による客観的方法が選択肢として挙がってくるが、目視で判定可能な指標であることから、利用波長領域は可視光に限られる。

分光分析による果実中色素濃度の非破壊推定に関する研究例を紹介する。マンゴー (*Mangifera indica* L.) 果実の等級は、果皮に占める鮮紅色の割合に基づいて決定される¹⁸⁾。すなわち、色の空間分布が重要であり、ハイパースペクトルカメラを使用した研究対象として有力な分野である。鮮紅色は植物色素「アントシアニン」に由来し、530nm付近の光を吸収することが知られている¹⁹⁾。そこで Makino et al.⁶⁾ は、ハイパースペクトルカメラでアーウィン種を撮影し、果皮中のアントシアニン濃度をPLSRで推定する方法を報告した。実測値と予測値の間の相関係数は0.88、交差検証最小2乗誤差は $29.6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (湿量基準) となり、スクリーニングおよびそれ以外のおおよその検量に供し得る精度で推定可能であった。

貯蔵中におけるマンゴー果実のアントシアニン濃度の経時変化を、部位ごと(果頂部と果梗部)に推定した結果、部位ごとに有意に異なり、果梗部の方が高くなる傾向がみられた²⁰⁾。外観上、果梗部の方が鮮紅色が強くなる傾向がみられることから¹⁸⁾、適切な推定結果と考えられた。

(4) 残留農薬

化学物質は、その利便性から健康で快適な生活をもたらす一方で、故意または過失による消費財等への汚染により、人の健康や環境に危害を及ぼす恐れがある。我が国でも過去に、食品に付着した有害化学物質による食中毒事件が発生し、食品への化学

物質の混入に関するニュースが継続的に報道された²¹⁾。すなわち、資源・食料の輸入大国である我が国の国民が、物流とともに運ばれてくる有害な物質に曝される危険性が高いことが示唆される。

リスクが懸念される化学物質の例として、残留農薬が挙げられる。従来から、農産物については残留農薬の抜き取り検査が行われている。しかし、ガスクロマトグラフ、高速液体クロマトグラフ、質量分析を組み合わせた方法や、抗原抗体反応を利用した方法で検査が行われていることから、破壊検査に依らざるを得ず、抜き取り検査となることは必然である。有害化学物質による食中毒を未然に防ぐには、製品の全数検査が有効であることは間違いないが、そのためには、有効な非破壊検査法を開発しなければならない。

紫外線は波長が10~400nmの電磁波であり、英語名であるUltravioletを省略したUVという表現でも一般的によく知られている。また、人体に照射されることで、エルゴステロールからのビタミンDの生合成²²⁾に関与するなど、化学的作用を示す事例が多いことから、化学線とも呼ばれる。紫外線は従来より、様々な有機化合物の同定や定量に利用されてきていることから²³⁾、光の中でも、特に化学物質の検出・定量に適した性質を持つ²⁴⁾。現在でも、遺伝子関連の実験において、DNA、RNA濃度の定量や純度の検定に、日常的に利用されている²⁵⁾。

光を利用した化学物質の同定には「光の吸収波長」、量の把握には「比吸光度」が明らかにされる必要がある。いくつかの化学物質の光吸収に関する性質は、The Merck Index²⁶⁾や学術論文等で公表されているが、多くの化学物質の情報については、いまだに研究者・技術者間で共有されていない。そこで、化学物質の非破壊検査に必要な基礎データを得るために著者が測定した、メタミドホス、ジクロロホスおよびクロロピリホスのUV領域における分光吸光スペクトルの例を図3に示した。メタミドホスは214nmに、クロロピリホスは229及び290nmに吸収極大が観察された。

食品から検出すべき化学物質として微生物汚染に起因する毒素や残留農薬が挙げられるが、UVを利用した非破壊検査に関する研究例は極めて少ない。McClure et al.²⁷⁾は、ピスタチオにUVを照射

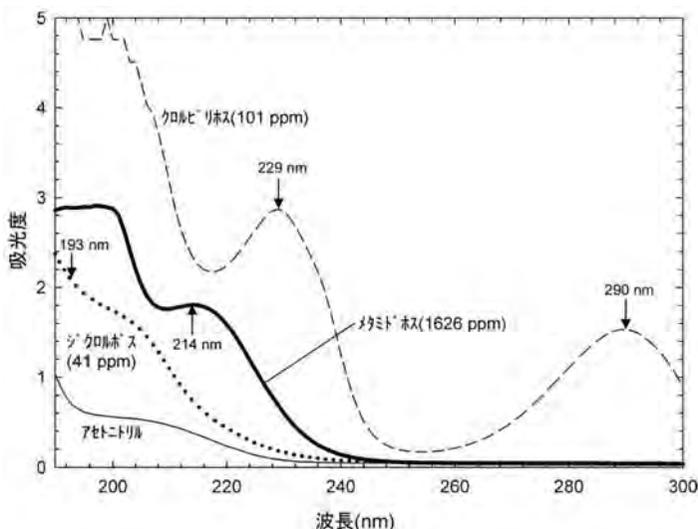


図3 化学物質の分光吸光スペクトル測定例
(©株シーエムシー出版)²⁴⁾

し、蛍光発光 (420, 490nm) を受光して、アフラトキシンを検出した。山本ら²⁸⁾は、農薬に検出薬を混合した検出薬混合農薬を農作物に散布し、農作物にUVを照射することにより生じた発光を受けて検出薬を検出する残留農薬検出方法を開示した。以上の試験研究は、いずれもUV照射によって生じた蛍光発光を可視光としてセンシングする方法である。

一方、UVを受光して農産物の品質を評価 (破壊分析) した研究例もある。Davis et al.²⁹⁾は、ハバネロ唐辛子抽出物の辛味成分濃度を、215~300nmの範囲の分光吸光スペクトルからPLSRによって予測した。

本稿では、UV反射光センシング (紫外可視近赤外分光光度計使用) により非破壊でリンゴ表皮に付着した化学物質量を予測した著者らの研究例^{30, 31)}について紹介する。

試料は国内で主に使用されている有機リン系殺虫剤の1種であるクロルピリホスと、当該物質を25%含むダズバン水和剤 (ダウケミカル株) を選択した。それぞれの試薬をリンゴ果皮に付着させ、付着箇所にてUVを照射して分光反射スペクトルを測定した。280nm付近に、クロルピリホス由来の光吸収が観測された。300nm付近には極大値があり、280nmの反射率と300nmの反射率の差が、クロルピリホス

付着量の増加とともに大きくなった。ダズバン水和剤が付着したリンゴ表皮の分光反射スペクトルの場合、290nm付近にクロルピリホス由来の光吸収が観測された。260nm付近には補助剤に由来する極大値があり、260nmの反射率と290nmの反射率の差が、クロルピリホス付着量の増加とともに大きくなった。いずれも2波長反射率差とクロルピリホス付着量とが正の相関関係にあり、UVを利用してリンゴ果皮に付着したクロルピリホスを検出しつつ定量できることが示された (検出限界: $0.000214\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$)。また、補助剤由来の光反射が残留農薬検出精度に影響を及ぼすことが明らかになったことから、代替補助剤として Al_2O_3 を選択し、クロルピリホスとの混合比を変動させて分光分析を行った。その結果、 Al_2O_3 含有率と350~380nmの範囲の光反射率の間に正の相関がみられ、明らかに分光分析結果に影響を及ぼすことが示された。クロルピリホスと Al_2O_3 の混合物を試料とする分光分析の場合、 $0.00491 \sim 0.0490\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ のクロルピリホス付着量範囲で定量可能であった。以上の結果は、UV反射スペクトル測定が農産物の残留農薬検出・定量に利用できる可能性を示すものであり、残留農薬検査への非破壊検査法導入の可能性をうかがわせる成果である。

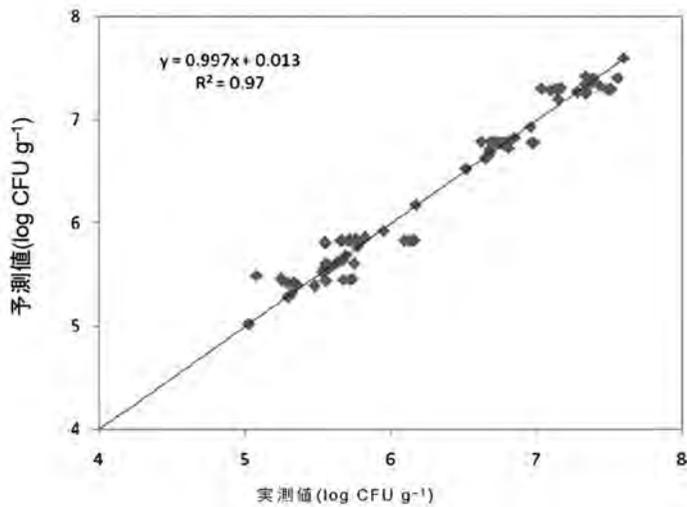


図4 ハイパースペクトルカメラとニューラルネットワークによるホウレンソウ葉を汚染した大腸菌数の非破壊推定 (©Elsevier B.V.)³⁶⁾

(5) 微生物

分光分析による農畜産物汚染状況の非破壊評価に関して2000年以降にいくつかの報告がある³²⁻³⁵⁾。これらは、固体試料に対し紫外光、可視光を照射して反射光を受光する方法、または紫外光を照射して蛍光を受光する方法である。これらは一点測定のため、空間的な菌数の分布を評価することはできない。そこでSiripatrawan, Makino et al.³⁶⁾はハイパースペクトルカメラでホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) 葉を汚染した大腸菌 (*Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919) の空間分布を評価する方法を報告した。分光反射スペクトル解析は、Savitzky-Golay法での前処理後、ANNsで大腸菌数予測モデルを作成した。モデルを用い、ホウレンソウを汚染した大腸菌数を決定係数 (R^2) 0.97, 予測最小2乗誤差 (RMSEP) $0.038 \log \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ の精度で予測した(図4)。同じモデルを用いて、ホウレンソウ葉を汚染した大腸菌の空間分布を推定した結果を図5に示す。人為的に接種した菌数が多くなるほど、全体的に菌数が増えることが示され、提案した方法が適切であることが確認された。さらに、1枚の葉の中でも空間分布に偏りがあることも併せて推定された。これらの結果は、固体試料を汚染した菌数は、空間情報と併せて評価す

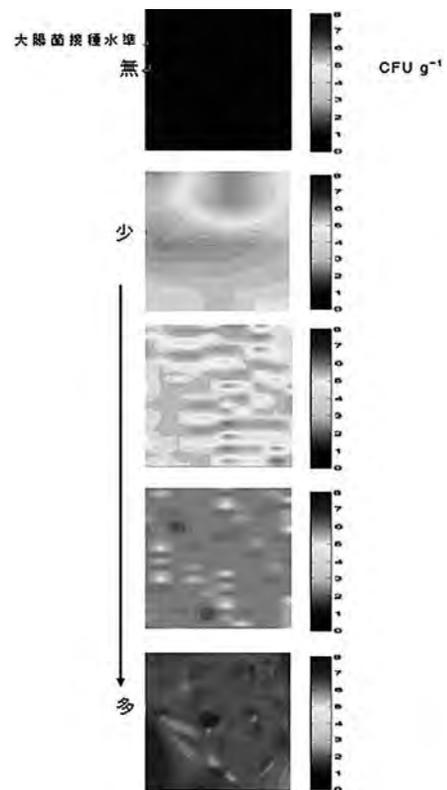


図5 ハイパースペクトルカメラを利用したホウレンソウ汚染大腸菌空間分布の可視化 (©Elsevier B.V.)³⁶⁾

ることが必要であることを示す。

Siripatrawan and Makino³⁷⁾ は、ハイパースペクトルカメラで得た分光反射スペクトルをSavitzky-Golay法での前処理後、PLSRで解析し、玄米に増殖した*Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn, 1884の数を R^2 0.97, RMSEP 0.39 log CFU \cdot g⁻¹の精度で予測した(図6)。ハウレンソウと同様に、玄米についても微生物数を空間分布とともに把握することが、衛生管理や発酵工程管理に有効であると考えられる。

(6) 食肉偽装

食肉の品質(理化学的性質, 外観, 微生物汚染, 外)推定へのハイパースペクトルカメラの応用が

活発に研究されている³⁸⁾。著者の研究室では、牛肉への異種の食肉の混入割合を非破壊で推定する研究を行った。Kamruzzaman, Makino et al.³⁹⁾ は、牛ミンチ肉に対し、馬ミンチ肉を2~50%の割合で混合してパテを試作し、ハイパースペクトルカメラで馬肉の混入率を非破壊で推定した。計測した分光反射スペクトルを前処理なしでPLSRにて解析し、ミンチ肉パテに含まれる牛肉と馬肉混入率を R^2 0.98, RMSEP 2.23%の精度で推定した。図7には、馬肉混入率の数学モデルによる推定結果を外観品質とともにグレースケールで示した。この結果、肉眼では混入率の推定が困難であるが、ハイパースペクトルカメラで撮影した結果を統計解析した上で可視化する

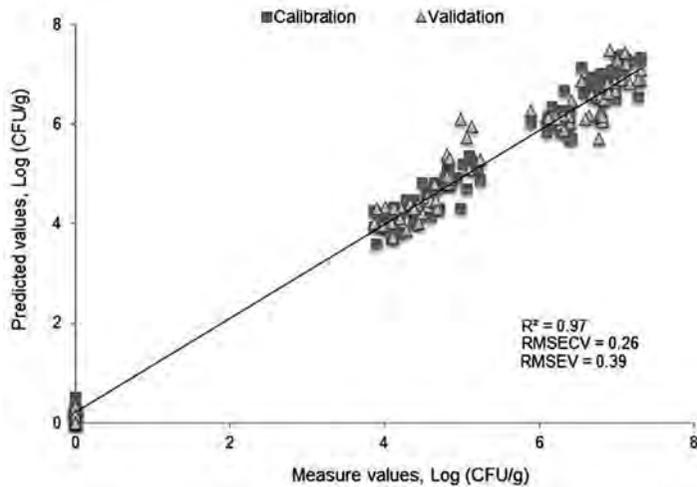


図6 ハイパースペクトルカメラと部分最小2乗回帰分析による玄米を汚染した*Aspergillus oryzae*数の非破壊推定 (©Elsevier B.V.)³⁷⁾

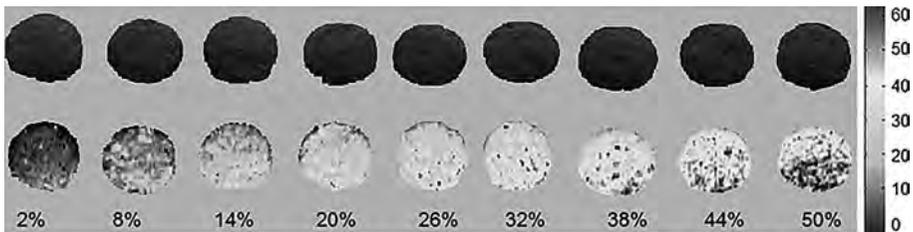


図7 ハイパースペクトルカメラと部分最小2乗回帰分析による牛ミンチ肉への馬ミンチ肉の混入割合の非破壊評価 (©Springer Science + Business Media New York)³⁹⁾

上段:混合ミンチ肉の外観;下段:非破壊法で可視化した画像;スケールバーは馬ミンチ肉の混入割合を示す。

参考文献

れば、非破壊での混入率評価が容易となることが示された。牛肉は馬肉に比べて脂肪が多く、牛肉の混入率が高いほど白色度が高くと考えられる。これは反射光強度が増すことを意味しており、これがハイパースペクトルカメラ画像に反映され、混入率の非破壊予測に寄与したと考えられた。

牛肉への他種食肉の混合については、我が国では現在、牛豚混合ミンチ肉と表示したり、コーンビーフ、コーンミートといった用語の使い分けによって、消費者に誤解を与えないよう工夫がなされている。ミンチ肉の用途はソーセージ、ハンバーグ、ミートボール、餃子・肉まんの具など多岐にわたり、利便性の高い食材として高い需要を維持している。しかし、原形をとどめない特徴であることを悪用した偽装事件が過去に起きている。我が国においては、2007年6月に発覚したミートホープ社による「牛肉ミンチの品質表示偽装事件」が知られている。隣国である中国でも、2007年7月に発覚した豚まん用ミンチ肉に段ボールが混合された事件をはじめ、同様の問題が後を絶たない。分光分析により食肉の混合割合を迅速かつ非破壊で推定する方法が確立されれば、ミンチ肉の偽装問題の抑止に有効であり、安心確保に貢献できると考える。

謝 辞

本報告の一部は科学研究費補助金（基盤研究A）研究課題番号25252045「呼吸酵素活性の可視化診断に基づく青果物の鮮度低下速度予測」および17208022「農業機械・施設・利用技術による耕地環境影響の広域分散ネットワーク型評価手法開発」、（基盤研究B）研究課題番号21380155「二次元分光吸光イメージ解析による収穫後緑色野菜の黄化速度予測に関する研究」、（特別研究員奨励費）研究課題番号08F08441「近赤外分光分析による青果物汚染食中毒菌の迅速検出」および13F03395「リアルタイム多波長可視化法による食肉品質及び安全性の非破壊評価」、日本学術振興会二国間交流事業（インドネシアとの共同研究）「近赤外分光分析と低温貯蔵を併用した熱帯果実の廃棄率抑制保存法に関する研究」、ビットラン(株)からの研究費の支援を受けて行った。

- 1) 宮尾亘, 中川靖夫, 白水俊次, 1995, 「光センシング工学」, 日本理工出版会, 東京
- 2) Einstein, A., 1905, Über einen die Erzeugung und Verwandlung des Lichtes betreffenden heuristischen Gesichtspunkt, *Annalen der Physik* (Germany), 17, 132-148.
- 3) 東京大学, 2016, <http://www.sk.icrr.u-tokyo.ac.jp/sk/>, Accessed Nov. 10, 2016.
- 4) Park, B., Lu, R. (Eds.), 2015, "Hyperspectral Imaging Technology in Food and Agriculture", New York.
- 5) Blackburn, G. A., 1998, Quantifying chlorophylls and carotenoids at leaf and canopy scales: An evaluation of some hyperspectral approaches. *Remote Sensing of Environment*, 66, 273-285.
- 6) Makino, Y, Isami, A., Suhara, T., Goto, K., Oshita, S., Kawagoe, Y., Kuroki, S., Purwanto, Y.A., Ahmad, U., Sutrisno. 2015, Nondestructive evaluation of anthocyanin concentration and soluble solid content at the vine and blossom ends of green mature mangoes during storage by hyperspectral spectroscopy, *Food Science and Technology Research*, 21, 59-65.
- 7) 尾崎幸洋, 河田聡, 1996, 「近赤外分光法」, 学会出版センター, 東京, p. 20.
- 8) Kubelka, P., 1948, New contribution to the optics of intensely light-scattering materials. Part I., *Journal of the Optical Society of America*, 38, 448-457.
- 9) Kubelka, P., 1954, New contribution to the optics of intensely light-scattering materials. Part II: Nonhomogeneous layers, *Journal of the Optical Society of America*, 44, 330-335.
- 10) Hoffmann, J., Lübbers, D. W., Heise, H. M., 1998, Applicability of the Kubelka-Munk theory for the evaluation of reflectance spectra demonstrated for haemoglobin-free perfused heart tissue, *Physics in Medicine and Biology*, 43, 3571-3587.
- 11) Savitzky, A., Golay, M. J. E., 1964, Smoothing

- and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures, *Analytical Chemistry*, **36**, 1627-1639.
- 12) 岩本陸夫, 河野澄夫, 魚住純, 1994, 近赤外分光法入門, 幸書房, 東京, p. 24, 168.
- 13) 農林水産省, 2008, http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/seika_syuka/#r, Accessed Nov. 10, 2016.
- 14) Kawano, S., Watanabe, H., Iwamoto, M., 1992, Determination of sugar content in intact peaches by fiber optics in interactance mode, *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, **61**, 445-451.
- 15) Kawano, S., Fujiwara, T., Iwamoto, M., 1993, Nondestructive determination of sugar content in Satsuma mandarin using near infrared (NIR) transmittance, *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, **62**, 445-451.
- 16) Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I., Lammertyn, J., 2007, Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review, *Postharvest Biology and Technology*, **46**, 99-118.
- 17) 南出隆久, 緒方邦安, 1977, 5. 追熟生理, 「青果物保蔵汎論」, 建帛社, 東京, p. 84.
- 18) 菊池ら, 2011, 「沖縄におけるマンゴー産地の課題と展望」, 農林統計出版, 東京
- 19) Medlicott, A.P., Bhogal, M., Reynolds, S.B. 1986, Change in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins), *Annals of Applied Biology*, **109**, 651-656.
- 20) 牧野義雄, 2015, 光センシングによる農畜産物の非破壊品質評価, 調理食品と技術, **21**, 55-65
- 21) Sumi, Y., Oode, Y., Tanaka, H., 2008, Chinese dumpling scare hits Japan - a case of methamidophos food poisoning, *The Journal of Toxicological Sciences*, **33**, 485-486.
- 22) 田宮信雄, 八木達彦訳, 1978, 「コーンスタンブ生化学 (第4版)」, 東京化学同人, 東京, p. 222.
- 23) 田中誠之, 飯田芳男, 1983, 「機器分析 (基礎化学選書)」, 裳華房, 東京, p. 60-69.
- 24) 牧野義雄, 2010, 「農産物・食品検査法の新展開」, 山本重夫編, シーエムシー出版, 東京, p. 47-55.
- 25) 中山広樹, 西方敬人, 1995, バイオ実験イラストレイテッド, 秀潤社, 東京, p. 61-62.
- 26) O'Neil, M. J. (Ed.), 2006, "The Merck Index 14th ed.", Merck and Co., Inc., The Kenilworth, USA.
- 27) McClure, W. F., Farsaie, A., 1980, Dual-wavelength fiber optic photometer measures fluorescence of aflatoxin contaminated pistachio nuts, *Transactions of the ASAE*, **23**, 204-207.
- 28) 山本郁夫, 黒田雅博, 原田亨, 2002, 出願人: 三菱重工株式会社, 残留農薬検査方法および装置ならびにそれに用いられる検出薬含有農薬, 特開 2002-139437.
- 29) Davis, C. B., Markey, C. E., Busch, M. A., Busch, K. W., 2007, Determination of capsaicinoids in Habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data, *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 5925-5933.
- 30) Makino, Y., Oshita, S., Murayama, Y., Mori, M., Kawagoe, Y., Sakai, K., 2009, Nondestructive analysis of chlorpyrifos on apple skin using UV reflectance, *Transactions of the ASABE*, **52**, 1955-1960.
- 31) Makino Y., Mori M., Kawagoe Y., Oshita S., 2012, Influence of aluminum oxide on estimation of chlorpyrifos dried on apple skin using UV spectral reflectance, *Environmental Control in Biology*, **50**, 255-262.
- 32) Oshita, S., Al-Haq, M. I., Kawagishi, S., Makino, Y., Kawagoe, Y., Ye, X., Shinozaki, S., Hiruma, N., 2011, Monitoring of ATP and viable cells on meat surface by UV-Vis reflectance spectrum analysis, *Journal of Food Engineering*, **107**, 262-267.
- 33) Oto, N., Oshita, S., Makino, Y., Kawagoe, Y., Sugiyama, J., Yoshimura, M., 2013, Non-

- destructive evaluation of ATP content and plate count on pork meat surface by fluorescence spectroscopy, *Meat Science*, **93**, 579–585.
- 34) Oto, N., Oshita, S., Kawagishi, S., Makino, Y., Kawagoe, Y., Al-Haq, M. I., Shinozaki, S., Hiruma, N., 2012, Non-destructive estimation of ATP contents and plate count on pork meat surface by UV-Vis reflectance spectrum analysis, *Journal of Food Engineering*, **110**, 9–17.
- 35) Shirai, H., Oshita, S., Makino, Y., Sugiyama, J., Yoshimura, M., 2014, Nondestructive hygiene monitoring on pork meat surface using excitation–emission matrices with two-dimensional Savitzky–Golay second-order differentiation, *Food and Bioprocess Technology*, **7**, 3455–3465.
- 36) Siripatrawan, U., Makino, Y., Kawagoe, Y., Oshita, S., 2011, Rapid detection of *Escherichia coli* contamination in packaged fresh spinach using hyperspectral imaging, *Talanta*, **85**, 276–281.
- 37) Siripatrawan, U., Makino, Y., 2015, Monitoring of *Aspergillus* on brown rice grains using a rapid and non-destructive hyperspectral imaging, *The International Journal of Food Microbiology*, **199**, 93–100.
- 38) Elmasry, G., Barbin, D. F., Sun, D. W., Allen, P., 2012, Meat quality evaluation by hyperspectral imaging technique: An overview, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **52**, 689–711.
- 39) Kamruzzaman, M., Makino, Y., Oshita, S., Liu, S., 2015, Assessment of visible near-infrared hyperspectral imaging as a tool for detection of horsemeat adulteration in minced beef, *Food and Bioprocess Technology*, **8**, 1054–1062.