

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14833

研究課題名(和文)ユニークな分光法のカップリングによる脱ケモメトリクス果実評価手法の構築

研究課題名(英文) Novel method to evaluate fruit quality by coupling unique spectroscopy without aid of chemometrics

研究代表者

土川 覚 (Tsuchikawa, Satoru)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：30227417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ピコ秒オーダーの極短時間パルス近赤外光の物質内部での時間変化を解析することにより、果実の吸収係数および等価散乱係数を厳密に求め(ToF-NIRS)、さらに果実に照射されたハロゲン光の拡散反射光強度を2本のファイバで検出し(TFDRS)、両者のパラメータから物質内部での光吸収量(化学成分値)を統計解析に頼らずに求めることに成功した。さらに計測した光学定数からモンテカルロシミュレーションを用いて、りんご内部での光挙動のシミュレーションを行った。これにより蜜部位の面積比率と透過光強度に相関があること、りんごの散乱係数が大きいことから、透過画像から蜜部位の特定が難しいことが判明した。

研究成果の概要(英文)：We determined the optical properties (reduced scattering coefficient and absorption coefficient) of apples in NIR region by time-of-flight spectroscopy. And we suggest to apply three-fiber-diffuse-reflectance spectroscopy (TFDRS), which detect the diffuse light intensity at couple of difference position from halogen light spot source, for the prediction of sugar content in apple without the use of chemometrics. It was shown that TFDRS can be used for the accurate prediction of apple, because the effect of light scattering in apple is not the significant. We applied Monte-carlo simulation using scattering and absorption coefficient decided to know the light propagation in apples and revealed that the transmission light intensity has the relation with the areal ratio of watercore.

研究分野：応用分光学

キーワード：非破壊計測 TOF TFDRS モンテカルロ法 果実 糖度

1. 研究開始当初の背景

分光学的手法の一つである近赤外分光法 (NIRS: Near Infrared Spectroscopy) は、国内外の選果場にも数多く導入されており、オンライン検査ツールとして活用されているが、検出方式や測定精度に改善すべき点が多い。とりわけ、「ケモメトリクス (計量化学) を援用して近赤外スペクトルを解析する、すなわち、複雑な統計処理に依存して試料成分を推定するため、得られた結果の分光学的・物理学的解釈が曖昧である」という点が問題視されていた。近赤外領域は特に光散乱の影響が大きい電磁気領域である。果実の散乱係数は、吸収係数よりも $10^3 \sim 10^4$ 倍大きいため、化学成分の多寡 (つまり、吸収係数の大小) を単独の波長における吸光度から決定することは困難となる。そのため、膨大なスペクトル情報から半ば強引に検量線を作成して定量・定性分析する研究報告がしばしば見受けられるが、このことが本法の普及・一般化の大きな障害となっていた。最近下村らによって TFDRS (Three-Fiber-based Diffuse Reflectance Spectroscopy) と呼ばれるユニークな分光法が提案された。同法では、1本のファイバを用いて試料にレーザー光を照射し、試料からの拡散反射光を2本のファイバを用いて受光する。2つの拡散反射光の強度比から相対反射率および相対吸光度比を算出して、目的とする化学成分値を求める。相対吸光度比は、検出距離や果実個々の散乱や光路長の変化に左右されない物理量となり、しかも果実糖度との直線相関を示すから、統計解析に頼らずに目的とする化学成分値を求めることができる。ただし、同法を適用するためには、試料の吸収係数と等価散乱係数が既知であることが前提となるが、果実のような多水の細胞構成体についての光学パラメータを正しく求めるのは極めて難しく、なんらかの条件下で見積もられた値を利用するのが一般的であった。そこで本研究では、応募者らが確立した飛行時間近赤外分光法 (TOF-NIRS: Time-of-Flight Near Infrared Spectroscopy、透過光の強度変化とともに試料内部における光伝播の極短時間変化を詳細に把握する手法) によって両係数の厳密解を求め、これらを TFDRS に導入して「分光学的、物理学的に曖昧さのない果実糖度推定方法を確立する」ことを考えた。

2. 研究の目的

本研究では、TFDRS を適用できる簡易光学系を設計・構築し、TOF-NIRS によって果実の吸収係数および散乱係数の厳密解を求め、これらからケモメトリクスに依存しない従来の NIRS の常識を破る果実非破壊計測方法を確立することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) TFDRS 用の簡易光学系の設計・構築

可視・近赤外分光器二台、ハロゲン光源およびセンサプローブから構成される TFDRS 対応の簡易光学系を設計・構築した。果実試料からの拡散反射光を高効率で検出できるようなセンサプローブを新たに設計した。下図に示すようなプローブを設計した。

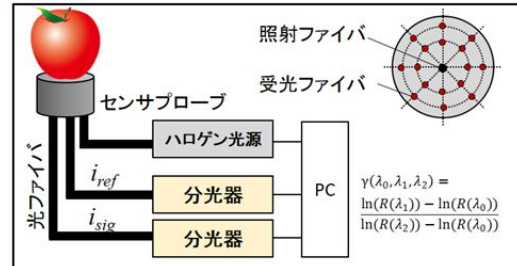


図1. 設計した簡易光学系

センサプローブ中央のファイバから試料に光を照射し、照射位置から2ミリおよび3ミリ離れた複数箇所での果実からの拡散反射光を捕捉できる光学系とした。

(2) 果実糖度・酸度に関する吸収係数および等価散乱係数の決定

TOF-NIRS を援用してりんご果実の吸収係数および等価散乱係数を厳密に求めた。リンゴを50検体 (厚さ1cm) 用意し、りんごにピコ秒時間幅のパルスレーザー光を照射した。透過パルス光の時間プロファイルをストリークカメラにより検出し、時間プロファイルに光拡散方程式の逆問題解法を適用することで、糖度・酸度に関する吸収係数および等価散乱係数をそれぞれ計算した (Patterson et al., 1989, Applied Optics 28: 2331-2336)。

(3) 果実糖度・酸度推定精度評価

次に完成させた TFDRS 対応簡易光学系を用いて、リンゴの糖度推定を試みた。まず、50個のリンゴを TFDRS 法 (露光時間200msec, 積算回数32回) により測定し、得られた拡散反射光から相対吸光度比を測定した。次に試料を絞汁し、糖度を定法に基づいて求めた。糖度の推定回帰直線を相対吸光度から作成し、予測精度を評価した。

(4) 果実内部での光伝播様式の推定および光散乱情報の活用

上記の実験で求めた吸収係数および等価散乱係数を用いて、モンテカルロシミュレーション解析を行い、果実内部での光伝播様式を推定した。特に、正常部位と蜜部位の吸収係数・等価散乱係数を求め、リンゴの蜜入りの状況の評価が可能かどうかを検討した。

4. 研究成果

初年度は当初予定通り、可視・近赤外分光器二台、ハロゲン光源およびセンサプローブから構成される TFDRS 対応簡易光学系の設計・構築を行った。このシステムを用いて、生物由来の高散乱物質であるラテックスの測定を行い、測定の妥当性を検証した。得られたラテックスの反射率はゴム成分量 (Total solid content: TSC) によって、変化した。特に、波長 908, 923nm 付近にラテックスイソプレン C-H 基第三倍音に起因する吸収が確認できた。また波長 980nm 付近では水による吸収が確認できた。TSC 濃度が高いサンプルのスペクトルでは水の吸収が小さく、相対的にイソプレン C-H 基による吸収が高くなっている事が確認できた。得られた反射率に輸送散乱方程式をフィッティングし、試料の吸収係数および等価散乱係数を算出したところ、既往の研究と同様の値が得られた。このことから、設計した光学系の妥当性が確認できた。

上記のように、構築した簡易分光システムを用いて、高光散乱物質であるラテックスの吸収情報および散乱情報を取得できることが分かった。そこで、平成 28 年度には完成させた TFDRS 対応簡易光学系を用いて、リンゴの糖度推定を試みた。50 個のリンゴの相対吸光度比を測定した後、試料を搾汁し糖度を定法に基づいて求めた。光源から異なる距離に設置した二本のファイバで取得した光強度の比率を図 2 に示す。

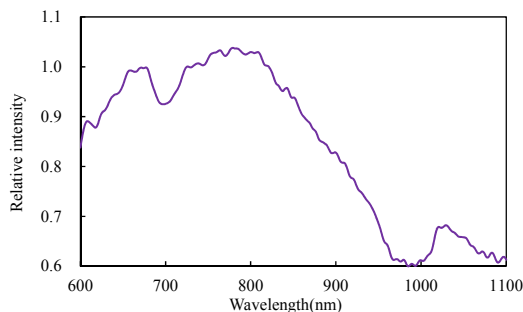


図 2 . リンゴの相対光強度比

その後、下記式で表される相対吸光度比を様々な波長の組み合わせで算出し、糖度との関係を調べた。

$$\gamma(\lambda_0, \lambda_1, \lambda_2) = \frac{\log(R_2) - \log(R_0)}{\log(R_1) - \log(R_0)}$$

図 3 に糖度と最も相関の高い波長組み合わせを用いた場合の相対吸光度比と糖度の関係を示す。決定係数 0.55 と十分な予測精度が得られた。次に TOF-NIRS を援用してりんご果実の吸収係数および等価散乱係数を厳密に求めた。図 4 に得られたりんご試料透過パルス波 (紫実線) と、フィッティングにより求められた吸収係数と等価散乱係数を用いて、輸送散乱方程式により算出されたパルス波 (黒破線) を示す。

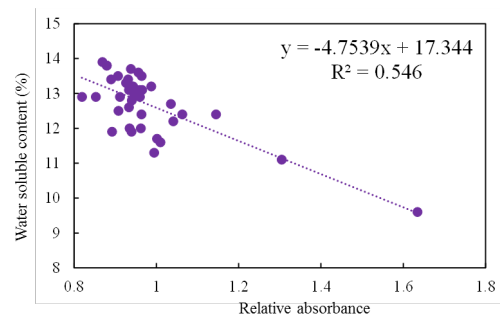


図 3 . 相対吸光度比 (λ_0 :933nm, λ_1 :1032nm, λ_2 :1027nm) とりんご糖度の関係

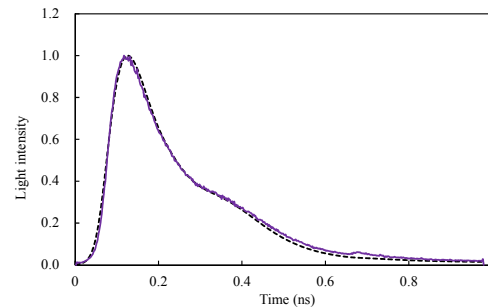


図 4 . リンゴ透過パルス波 (紫実線) とフィッティングパルス波 (黒破線)

図 5 A にりんご糖度と、TOF-NIRs によって得られた等価散乱係数の関係を示す。りんごの等価散乱係数は細胞構造による影響が大きく、糖度との相関が無いことが確認できた。また得られた等価散乱係数と吸収係数を用いて、(通常の分光法で用いられることの多い) 拡散反射光吸光度のシミュレーションを行った (図 5 B)。糖度による吸収係数の変化よりも細胞構造の影響が大きい等価散乱係数が吸光度に大きく影響していることがわかる。また、等価散乱係数を一定 (1mm^{-1}) とし吸収係数のみを変化させて吸光度をシミュレーションで求めた結果を図 5 C に示す。等価散乱係数が一定の場合は、拡散反射吸光度とりんご糖度の関係は線形となるが、吸収係数の変化による拡散反射吸光度変化量は、等価散乱係数による拡散反射吸光度よりもかなり小さいことがわかる。上記より、試料中の等価散乱係数の影響が小さい TFDRS 法の利点および、りんご糖度推定への可能性が示された。また、近赤外ハイパースペクトラルイメージングカメラと当研究分野で調整した点光源ユニットを用いて 1000-2500nm におけるりんご果肉および蜜部位の等価散乱係数および吸収係数を決定した。りんごの蜜部位では、等価散乱係数が小さいことが示された。また得られた吸収係数と糖度間で高い相関関係が認められた。さらに、計測した光学定数からモンテカルロシミュレーションを用いて、りんご内部での光挙動のシミュレーションを行った。

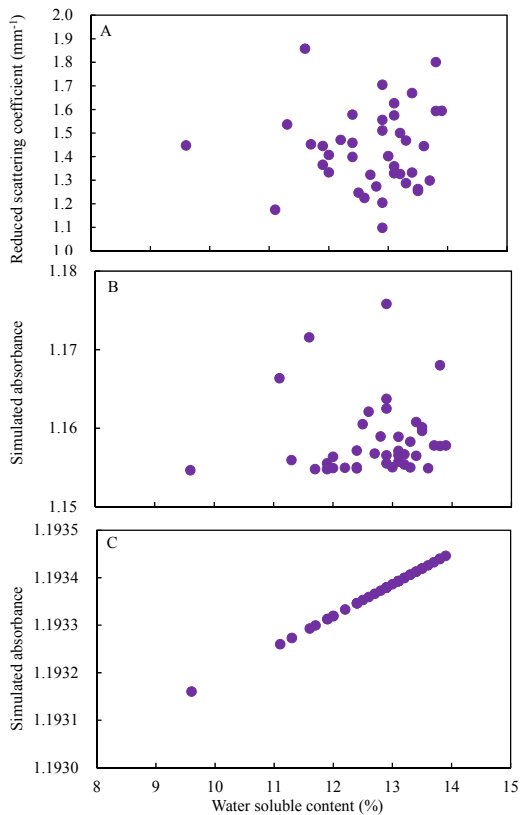


図5 . (A)りんご糖度と等価散乱係数 (846nm) の関係、(B)りんご糖度と、インタラクタンス方式によって得られる吸光度推定値の関係 (得られた等価係数と吸収係数から推定) (C)りんご糖度とインタラクタンス方式によって得られる吸光度推定値の関係 (等価散乱係数が一定である場合)

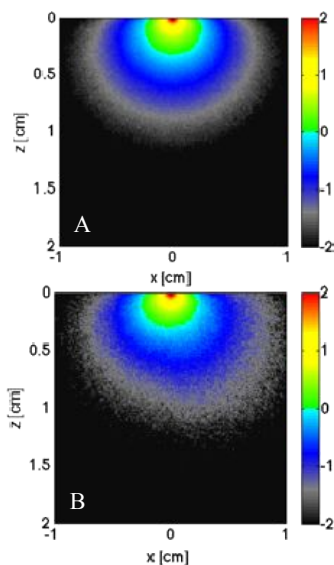


図6 . りんご内部での光伝播シミュレーション (1200nm) (A) 蜜部位がない場合 (B) 蜜部がある場合

図6にモンテカルロシミュレーションの一例を示す。図6Aは蜜部位が無い場合、図6Bは(図中右に)蜜部位があるりんご内部での光伝播をシミュレーションした結果である。図6Bでは光伝播距離がより長くなっていることが分かる。

これらの解析から 蜜部位の面積比率と透過光強度に相関があること、りんごの散乱係数が大きいことから、透過画像から蜜部位の特定が難しいことが判明しつつある。

上記のようにりんごの光学特性の厳密な把握によって、等価散乱係数がりんご内部の光挙動に及ぼす影響を把握するとともに、透過散乱係数を補正できる簡易なTFDRSが糖度測定に有用であることが示された。またその予測に適した波長の選別を行うことができた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 1件)

1 . 李 昕泽、馬 特、稲垣 哲也、土川 覚

“ Simultaneous prediction of sugar content and watercore position in apple by multispectral imaging ”, The 5th Asian NIR Symposium, 2016年12月, 城山観光ホテル(鹿児島)

[その他]

ホームページ等

<https://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~mechbio/member.html>

名大 MIRAI GSC 参加 (高校生受け入れ)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

土川 覚 (TSUCHIKAWA, Satoru)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号 : 30227417

(2)研究分担者

稲垣 哲也 (INAGAKI, Tetsuya)

名古屋大学・生命農学研究科・講師

研究者番号 : 70612878