

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18228

研究課題名（和文） 孵卵早期の採卵鶏雌雄判定のための光散乱を克服する非破壊計測手法開発

研究課題名（英文） Non-destructive measurement method that overcomes light scattering to determine the sex of chicken eggs in early incubation

研究代表者

近藤 直（Kondo, Naoshi）

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：20183353

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,900,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究は、孵化直後の採卵鶏雄雛の70億羽殺処分という大きな未解決課題の解決を目的としている。そのために、雌雄と関係の深い鶏卵内の生物学的現象を、従来の透過分光だけでなく、画像解析やレーザースペックル技術を活用した高度な非破壊計測技術によってセンシングする技術の開発を目指した。卵殻の光透過性を調査し、ヘモグロビンとの関係を調べた結果、500nm付近の透過画像で鶏卵胚の可視化が可能であることを示し、その画像解析の結果から孵卵3日目の胚と血管の面積およびフラクタル次元は雄が雌より有意に大きかった。一方、スペックル画像を利用することでも胚成長の様子を卵殻越しに計測できることを実験で明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鶏卵の非破壊雌雄判定法は、昨今のアニマルウェルフェアの観点からも極めて重要であり、世界的にも求められている技術である。鶏卵中の胚形成が孵化後の雌雄と関係があることは示唆されていたが、その成長に伴う血液量に着目した分光学的研究に留まっていた。本研究のように、鶏卵の光透過性を考慮し、胚成長を直接評価することで雌雄との関係を明らかにした例は少ない。また卵殻には点斑が存在しており、その存在が透過画像の精度を低減させていることを明確にした。さらに、これを解決する方法としてスペックルイメージングが有効であることを見出し、特許出願を行っており、社会的意義も大きい研究であると言える。

研究成果の概要（英文）：This research aims to solve the major unsolved problem of killing 7 billion male egg-laying hens after hatching. For this purpose, we aimed to develop a sensing technology for biological phenomena in the hen's egg, which are closely related to the sex of the egg, not only by conventional transmission spectroscopy but also by advanced nondestructive measurement techniques utilizing image analysis and laser speckle technology. As a result of investigating the light transmissivity of eggshells and their relationship with hemoglobin, we showed that it is possible to visualize the egg embryo using transmission images at around 500 nm. The image analysis results showed that the area and fractal dimension of the embryo and blood vessels on the third day of egg hatching were significantly more prominent in males than in females. On the other hand, experiments showed that speckle images can also be used to measure embryonic growth through the eggshell.

研究分野：生物センシング工学

キーワード：鶏卵 胚成長 非破壊計測 レーザー 透過画像 血管

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

採卵鶏となる雛には様々な個体差があるが、中でも性別を理解することは産業的に重要性が高い。採卵鶏生産では、産卵能力をもたない雄雛は、肉用鶏への転用も不可能であるため不要とされる。慣習的にこの雄雛は孵化直後にすべて殺処分されており、殺処分数は世界で年間70億羽以上に及ぶ。これは動物福祉の観点で大きく問題視されているだけでなく、孵化前に性別を明らかにすることができれば、殺処分数を削減し、加えて孵卵に要するエネルギーや孵化後に雛を選別する労働力を削減することもできる。ただし、雛は約21日間の孵卵期間の7日目(以下、Day 7)に痛覚を獲得するという生物学的な背景をふまえると、Day 7以前に性別が判明することが望ましい。Day 7以前に性別を予測する手段として、血液由来のラマン散乱や蛍光を利用する方法が報告されているが、殻への穿孔を伴うため菌の侵入や孵化率低下の恐れがあり、非破壊的な代替手法の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では卵殻による光散乱を理解し、新たな光学技術の開発により胚成長初期の4日間までに非破壊で雌雄判定を判別する技術を目指し、卵殻越しの蛍光計測技術、透過画像による胚成長観察技術、レーザースペックル法による非破壊観察技術を開発した。

3. 研究の方法

非破壊による鶏卵の雌雄判定技術を開発するために、まずは卵殻の透過特性を詳細に調査し、鶏卵内の腐敗菌が生じさせる蛍光物質を卵殻越しに評価する方法を検討した。また、卵殻の透過特性やヘモグロビンの吸収との関係性から、緑色光の透過画像が適切であると評価し、その透過画像から雌雄判定を試みた。さらに、スペックルイメージングの光学系を構築し、血流に伴うスペックル像のコントラスト値を評価指標とし、胚成長を非破壊計測の可能性を探索した。

(1) 透過画像による雌雄判別

白色有精卵(ジュリアライト, 日本レイヤー)(以下、卵)84個を供試した。画像の取得用試料には、Day 3の卵を用いた。光源にはキセノンランプを用いて、横向きに静置した卵の下から鉛直上向きに照射した。ヘモグロビンの吸収を利用して胚と血管の影をコントラストよく撮影するため、ランプと卵の間にバンドパスフィルタ(中心波長: 550 nm, 半値全幅: 50 nm)を挟んだ。照射軸から30°の角度をつけてカラーカメラを設置した。レンズのF値4, 露光時間80 msで撮影し、画像はサイズ1280×960 pixel, bmp形式で保存した。

(2) スペックルイメージングによる鶏卵胚の画像化

先と同様の白色鶏卵を3個、孵卵器(P-008A, 昭和フランキ)で3日間孵卵して実験に供試した。波長785 nm(L785H1, Thorlabs)のレーザーを横向きに置いた卵の鈍端側から100 mWで照射し、カメラ(CS135MUN, Thorlabs)で撮影した(露光時間20 ms, 300フレーム)。スペックルデータの解析結果はコントラスト値と呼ばれるが、本実験では空間的なスペックル輝度値の統計量を解析するSpatial Contrast Analysis (SCA)と経時的なスペックル輝度値の統計量を解析するTemporal Contrast Analysis (TCA)の2種類を用い、比較した。SCAでは5×5ピクセル領域ごとにコントラスト値を算出し300フレーム分の平均値を算出した。

4. 研究成果

卵黄濃度が汚染菌である*Pseudomonas* 属の生成する蛍光物質の強度変化と、菌の増殖との関係性を探索したところ、含水率が高いほど、蛍光強度が強くなる傾向が確認された。また、試験区内の菌の増減とは反対に蛍光強度の増減が確認されたことから本菌の鶏卵における蛍光特性変化には、菌数よりも溶液環境の含水率や卵黄濃度が影響を与えることが分かった。卵殻の光透過特性についても詳細に調べた結果、短波長になるにつれて光透過性が低くなる理由は、主に散乱に由来している事が分かった。具体的には、500 nmより長波長側では散乱に起因する光学密度の傾きが穏やかであり、吸収ピークに由来する光学密度の変化の方が大きいと予想されることから、鶏卵の早期雌雄判別を行ううえでは血液の吸収波長である500~600 nm帯が最適であり、さらにスペックルイメージングについては、近赤外光を利用することが効果的であるとの知見を得た。その結果を踏まえて以下の実験結果を得た。

(1) 透過画像による雌雄判別

図1に緑色光による透過画像を示す。卵の上側に、円に近い形の暗い領域がみられ、その中に曲線を描く影を確認できた。前者は卵黄、後者は胚と血管の影と考えられる。透過画像全体に、斑点模様がみられ、その大きさや発生頻度は個体ごとに異なっていた。これは斑状卵殻と呼ばれる異常卵殻の一種で、室内光では正常に見えるが暗室で可視光を照射すると透明な斑点を示す。原因は、卵殻の構造が粗雑であることによる水分の不

均一性であり，多くの鶏卵が持つ特性である。

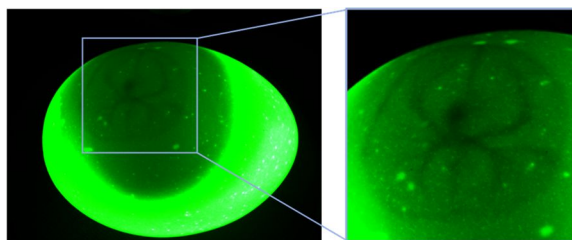


図 1 透過画像の例（右は明るさとコントラスト調整後の枠内拡大図）

透過画像を用いて，孵卵 3, 4 日目の割卵後の胚血管の形態的な特徴量と，PCR によって決定した雌雄との関係を調べた結果，Day 3 の胚と血管の面積およびフラクタル次元は雄が雌より有意に大きかった（各 $p < 0.002$, $p < 0.01$ ）。

割卵前の卵の透過画像を用いて血管形態の特徴量抽出を試みたところ，卵殻による散乱が原因で，高いコントラストで血管領域周縁部の細い血管を認識することができなかった。また，卵殻中における水分の不均一性が原因で現れる点斑が血管の影に重なることで，血管形状の抽出が難しくなることがわかった。以上の結果から，非破壊計測による雌雄判定を実現するためには，Day 3 の血管成長の差異を評価できる分光法の改良や卵殻の特性を克服する計測手法が有効であると考えられる。

(2) スペックルイメージングによる鶏卵胚の画像化

図 2 にスペックルデータを解析した結果を掲載した。カラーバーはコントラスト値を示す。左側が SCA によるもの，右側が TCA によるものである。SCA により解析すると空間的な情報が残ってしまうため，血管像が点斑ノイズにより阻害されている。一方で TCA により解析すると点斑が見えず，血管のみの画像が得られた。レーザースペックルのデータには試料内部の粒子による散乱光の動的変化に関する情報が含まれている。後者の解析では血管部分とその周囲の卵黄部分で，粒子による散乱光の動的性質が異なるために画像内で異なるコントラスト値の結果として表れるが，卵殻部分では点斑部分も含めて散乱光の動的性質が一樣であるため，結果画像内では点斑が強調されず，内部からの動的散乱光の違いを反映した結果，このような結果が得られたと考えられる。このことから，スペックルデータの経時的な輝度値変動解析は鶏卵の内部の血管を撮像するのに適していると結論づけられた。

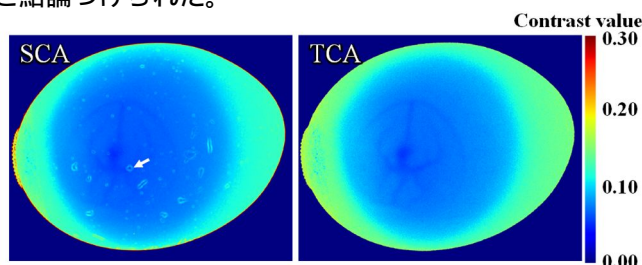


図 2 スペックルイメージング後の 2 種類の解析（SCA と TCA）の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takato Ikebe, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Keiichiro Shiraga, Naoshi Kondo	4. 巻 -
2. 論文標題 Fluorescence Properties and Growth Conditions of Pseudomonas fluorescens in Chicken Egg	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of CIGR The XX CIGR World Congress 2022	6. 最初と最後の頁 279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazumasa Iwasaki, Yuichi Ogawa, Tetsuhito Suzuki, Keiichiro Shiraga, Naoshi Kondo	4. 巻 -
2. 論文標題 Investigation of Scattering Property of Eggshell for Nondestructive Measurement of Chicken Egg	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of CIGR The XX CIGR World Congress 2022	6. 最初と最後の頁 279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuhito Suzuki, Maho Chihara, Shinichi Naogaoka, Tomohiko Tasaka, Yuchi Ogawa, Naoshi Kondo	4. 巻 -
2. 論文標題 Gender Prediction of Hatching Chicken Eggs by Integrated Analysis of Visible Spectroscopy and Imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of CIGR The XX CIGR World Congress 2022	6. 最初と最後の頁 280
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池邊貴、鈴木哲仁、榎森亜由子、白神慧一郎、小川雄一、近藤直	4. 巻 130
2. 論文標題 鶏卵におけるPseudomonas fluorescensの増殖条件と蛍光特性変化	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 関西農業食料工学会会報	6. 最初と最後の頁 50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池邊貴、鈴木哲仁、櫻森亜由子、白神慧一郎、小川雄一、近藤直	4. 巻 131
2. 論文標題 鶏卵の卵白濃度がPseudomonas fluorescensの増殖と蛍光特性に与える影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 関西農業食料工学会会報	6. 最初と最後の頁 31-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 知原麻歩、鈴木哲仁、櫻森亜由子、白神慧一郎、小川雄一、近藤直	4. 巻 131
2. 論文標題 孵卵初期鶏卵の撮像系構築および透過画像解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 関西農業食料工学会会報	6. 最初と最後の頁 33-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木哲仁	4. 巻 135
2. 論文標題 蛍光特性に基づく魚の鮮度評価および農畜産分野への展開	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 関西農業食料工学会会報	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 鈴木哲仁、知原麻歩、長岡伸一、尾上魁、田坂友彦、田村洋樹、小川雄一、近藤直	4. 巻 -
2. 論文標題 可視分光および透過画像による孵卵初期鶏胚の新規診断手法の可能性	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 農業環境工学関連学会2023年合同大会要旨集	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maho Chihara, Shinichi Nagaoka, Akane Ogino, Hiroki Tamura, Tomohiko Tasaka, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Keiichiro Shiraga, Naoshi Kondo	4. 巻 458
2. 論文標題 Sexing of Chicken Egg in the Early Incubation Based on the Analysis of Transmission Image	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lecture Notes in Civil Engineering	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中島慶	4. 巻 -
2. 論文標題 孵卵中鶏胚の心拍信号における経験的モード分解の適用	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 日本設備管理学会東海支部令和 5 年度学生研究発表会要旨集	6. 最初と最後の頁 17 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中島慶, 知原麻歩, 尾上魁, 小川雄一, 近藤直, 陳山鵬, 鈴木哲仁	4. 巻 136
2. 論文標題 孵化予測のための鶏胚バイタルデータの経験的モード分解および特徴分析	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 関西農業食料工学会会報	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 Digital Transformation for Sustainable Asian Small Scale Intensive Agriculture
3. 学会等名 International Joint Workshop on DX Research and Education to Realize Sustainable Food Production (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsuhito Suzuki
2. 発表標題 Light & sound-based sensing technologies for products of agriculture, livestock and aquaculture
3. 学会等名 International Webinar of "Technology Innovation Towards Smart and Sustainable Future (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takato Ikebe, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Keiishiro Shiraga, Naoshi Kondo
2. 発表標題 Fluorescence Properties and Growth Conditions of Pseudomonas fluorescens in Chicken Egg
3. 学会等名 CIGR 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazumasa Iwasaki, Yuichi Ogawa, Tetsuhito Suzuki, Keiishiro Shiraga, Naoshi Kondo
2. 発表標題 Investigation of Scattering Property of Eggshell for Nondestructive Measurement of Chicken Egg
3. 学会等名 CIGR 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuhito Suzuki, Maho Chihara, Shin-ichi Nagaoka, Tomohiko Tasaka, Yuichi Ogawa, Naoshi Kondo
2. 発表標題 Gender Prediction of Hatching Chicken Eggs by Integrated Analysis of Visible Spectroscopy and Imaging
3. 学会等名 CIGR 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 Super Precision Agriculture to Food Tech for Consumers' Diversified Preference and Sustainable Agriculture
3. 学会等名 ISMAB 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 Collaboration with Companies and Governmental Research Institutes for Modernization of Agriculture
3. 学会等名 ISMAB 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木哲仁、知原麻歩、樫森亜由子、小川雄一、近藤直
2. 発表標題 高効率・高品質な雛生産のための孵卵中鶏卵の分光及び画像測定装置の構築
3. 学会等名 農業食料工学会 第79回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池邊貴、鈴木哲仁、樫森亜由子、白神慧一郎、小川雄一、近藤直
2. 発表標題 鶏卵の卵白濃度がPseudomonas fluorescensの増殖と蛍光特性に与える影響
3. 学会等名 関西農業食料工学会 第146回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 知原麻歩、鈴木哲仁、櫻森亜由子、白神慧一郎、小川雄一、近藤直
2. 発表標題 孵卵初期鶏卵の撮像系構築および透過画像解析
3. 学会等名 関西農業食料工学会 第146回例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 知原麻歩、鈴木哲仁、櫻森亜由子、長岡伸一、白神慧一郎、小川雄一、近藤直
2. 発表標題 孵卵初期鶏卵の可視透過画像および分光分析による雌雄判別
3. 学会等名 関西農業食料工学会 第147回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 A Consideration for Sustainable Livestock Farming
3. 学会等名 農業食料工学会 第79回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Alin Khalidduzzaman、Keiichiro Shiraga、Tetsuhito Suzuki、Naoshi Kondo、Yuichi Ogawa
2. 発表標題 Optical Property of Eggshell from Younger and Older Hens in Terahertz Region
3. 学会等名 農業食料工学会 第79回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Maho Chihara, Shinichi Nagaoka, Akane Ogino, Hiroki Tamura, Tomohiko Tasaka, Tetsuhito Suzuki, Yuichi Ogawa, Keiichiro Shiraga, Naoshi Kondo
2. 発表標題 Sexing of Chicken Egg in the Early Incubation Based on the Analysis of Transmission Image
3. 学会等名 15th International congress of Agricultural Mechanization and Energy in Agriculture (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木哲仁
2. 発表標題 蛍光特性に基づく魚の鮮度評価および農畜産分野への展開
3. 学会等名 関西農業食料工学会第150回例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木哲仁, 知原麻歩, 長岡伸一, 尾上魁, 田坂友彦, 田村洋樹, 小川雄一, 近藤直
2. 発表標題 可視分光および透過画像による孵卵初期鶏胚の新規診断手法の可能性
3. 学会等名 農業環境工学関連学会2023年合同大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中島慶
2. 発表標題 孵卵中鶏胚の心拍信号における経験的モード分解の適用
3. 学会等名 日本設備管理学会東海支部学生研究発表会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 中島慶，知原麻歩，尾上魁，小川雄一，近藤直，陳山鵬，鈴木哲仁
2. 発表標題 孵化予測のための鶏胚バイタルデータの経験的モード分解および特徴分析
3. 学会等名 関西農業食料工学会第151回例会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 Innovations in protected cultivation: Automation and robotics for crop production-Start with Fluorescence Sensing for Solving the Trade-off Problem “ Food-Environment ”
3. 学会等名 Global Conference on Sustainable Agricultural Mechanization (GAMC) (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Naoshi Kondo
2. 発表標題 Smart Livestock for sustainable animal production with higher welfare
3. 学会等名 the 7th World Intelligence Congress Intelligent Agriculture Summit Forum & International Conference on Intelligent Agriculture (ICIA 2023) (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 近藤 直
2. 発表標題 スマート農食産業に貢献する光センシング
3. 学会等名 (一社)電子情報通信学会 光通信システム研究専門委員会，第37回光通信システムシンポジウム「国際社会を支える光通信技術が向かう先～新しい社会に期待されるイノベーション～(招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 種卵の非破壊検査装置及び種卵の非破壊検査方法	発明者 小川雄一，近藤直， 鈴木哲仁	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-115339	出願年 2022年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 種卵の非破壊検査装置及びそれに用いる種卵検査プログラム	発明者 鈴木哲仁、知原麻 歩、近藤直、小川雄 一、田原孝嗣	権利者 京都大学，ナベ ル
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-028941	出願年 2022年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 鶏卵状態判定装置	発明者 小川雄一，知原麻 歩，田村洋樹，尾上 魁	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2024-023092	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小川 雄一 (Ogawa Yuichi) (20373285)	京都大学・農学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	鈴木 哲仁 (Suzuki Tetsuhito) (00723115)	三重大学・生物資源学研究科・准教授 (14101)	
研究分担者	白神 慧一郎 (Shiraga Keiichiro) (80795021)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------