

## 野菜生産への分光スペクトル情報の応用例

石澤 広 明

### Application of Spectroscopic Method for Vegetable Cultivation

Hiroaki ISHIZAWA

Attenuated total reflection of infrared spectroscopy (ATR-IR) and laser induced fluorescence spectroscopy (LIF) have been described as to their application to vegetable cultivation. Calibration models to measure the several pesticide residues in Chinese cabbages were proposed based on the partial least squares regression (PLSR) of ATR-IR spectra. A field measuring system of LIF spectroscopy has been developed to monitor the growth condition of the lettuces. Daily variations of the LIF spectra were measured and the relations were considered between the spectral change and chemical changes in lettuces. This paper also introduces the diffuse reflectance IR spectroscopy and diffuse reflectance near infrared spectral image measurement for the vegetable production.

**Key words:** attenuated total reflectance infrared spectroscopy, laser induced fluorescence spectroscopy, vegetable cultivation, cultivation support, field monitor, pesticide residues

農作物の生産・流通において、食味や安全性などの品質要因および作付面積や生産高などの量的要因の重要性が非常に高まっている。これは、食生活が安定化し、さらに多様化、高級化あるいは健康安全志向を背景とした消費者ニーズに対する生産流通サイドの対応のひとつであるともいわれている。このような消費者サイドの要望に対応して、栽培段階から流通を開始する段階まで一貫した品質計測システムの実現が強く望まれている。

分光計測は、非破壊で迅速・簡便にスペクトルを測定可能であり、対象物の物理・化学的性質に関する情報を効率的に抽出できる。このような特徴をもとにして、最近、これまで化学的測定法が主に用いられてきた農産物や食品の成分分析に近赤外分光法が適用されてきている<sup>1,2)</sup>。

本文では、レタスやハクサイなどの生育状態計測や残留農薬計測に分光計測技術を適用し、迅速・簡便に品質要因を計測・制御するための非破壊計測技術開発を紹介する。まず、全反射減衰赤外分光計測 (ATR 赤外分光法) および

レーザー誘起蛍光分光計測 (LIF 法) を概説した後、野菜における残留農薬測定や生育状態診断への適用について筆者らの検討結果を示す。さらに、近い将来圃場において作物の生育状態を計測し、収穫時期・収量・品質予測情報などを総合的に発信するため、より簡便な計測法として、拡散反射型赤外分光計測および近赤外分光画像計測の適用に関する最近の検討例を概観する。

### 1. 分 光 分 析

#### 1.1 全反射減衰赤外分光計測 (ATR 赤外分光法)

全反射減衰赤外分光法は、野菜表面層での赤外線の吸収情報から、試料葉に付着して残留する農薬を検出する方法である。図1に野菜類におけるATR赤外スペクトル測定の概要を示す。試料葉はATRプリズムに密着している。干渉光がプリズム内を導波する間にエバネセント光が試料表面において吸収される。この吸収が、試料の残留農薬に関する情報を含んでいる。すなわち、農薬の有効成分によ

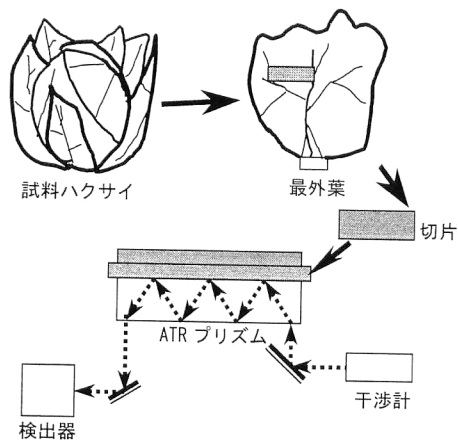


図1 ATR赤外分光法による残留農薬計測の概要。

って、吸収される赤外線波長の長が異なり、農薬の濃度が吸収の強弱になってスペクトル上に現れることを利用したものである。なお、本計測では、フーリエ変換型赤外分光光度計（島津製作所製 FT-IR8200D）および水平型 ATR（Spectra Tech., Inc. 製）を用いている。また、ATR プリズムの測定面の寸法は 7 mm×90 mm、反射回数 11 回のセレン化亜鉛（ZnSe）のものを使用し、スペクトル測定における分解能および積算回数は  $2\text{ cm}^{-1}$  および 100 回である<sup>3-5)</sup>。

### 1.2 レーザー誘起蛍光分光計測（LIF 法）

レーザー誘起蛍光分光法（LIF: laser induced fluorescence）は、レーザー光で分子、原子を誘起し、それによって引き起こされる蛍光スペクトルを観測する手法である<sup>6,7)</sup>。すなわち、レタスなどから蛍光を誘起させ、蛍光パターンから生育状態や病害などに関する情報を抽出しようとする分光学的方法である<sup>8-11)</sup>。LIF 法の特徴として、対象物を非破壊で測定可能であること、レーザーを光源に使用しているため遠隔計測が可能であること、農生産物等へ適用することで、枯死情報および水分ストレスなど植物内部に関する情報を抽出することが可能であることである<sup>7)</sup>。

実験室規模の計測システムを開発した後、同システムを自動車でもち運べる可搬型装置へと改善した。図2に可搬型装置の概要を示す。本装置は、レタスやハクサイの圃場における分光測定を可能にし、測定情報を携帯電話を利用して管理用サーバーへ高速通信する分散型情報サーバーを志向したものである。

## 2. 分光情報の抽出

### 2.1 ATR 赤外分光スペクトルによる残留農薬測定<sup>5)</sup>

実験で測定したハクサイの ATR スペクトル例およびその試料個体のガスクロマトグラフ法による残留濃度（参照

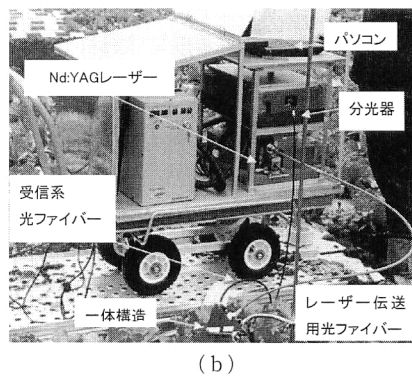
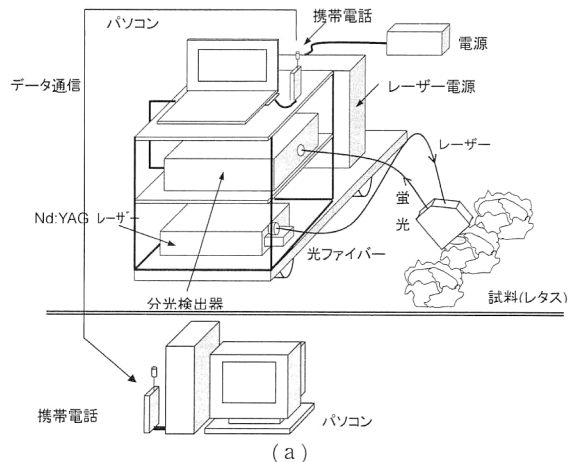


図2 可搬型 LIF 分光装置の概要 (a) 概略, (b) 外観。

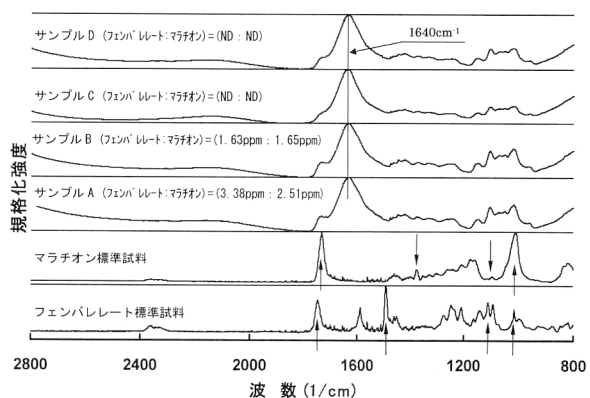


図3 ハクサイ試料および殺虫剤成分の ATR 赤外スペクトル。分解能： $2\text{ cm}^{-1}$ 、積算回数：100 回、測定時間：10 分/スペクトル。

値) を図3に示す。ハクサイ栽培でよく用いられる殺虫剤フェンプロレートおよびマラチオン標準試料の ATR スペクトルを、ハクサイのものと比較するため図3に示し、表1にそれぞれの特性吸収波数帯を示す。これらの農薬成分は  $1700\sim 1000\text{ cm}^{-1}$  で特徴的な吸収帯を有している。この領域において試料ハクサイの ATR スペクトル変化が観察される波数帯は、農薬成分の特性吸収波数（図3矢印）に対応しており、ハクサイの農薬残留濃度と対応するものと

表1 殺虫剤の特性吸収波数.

殺虫剤有効成分	特性吸収波数 (cm <sup>-1</sup> )		
フェンバレーレート	1749.3*	1585.4	1488.0
	1457.1	1447.5	1411.8
	1388.7	1272.0	1245.9
	1208.3	1140.8	1110.9
	1091.6	1014.5	997.1
マラチオン	1732.0	1456.2	1445.5
	1407.0	1393.5	1371.3
	1206.4	1174.6	1158.2
	1113.8	1095.5	1010.6

\*アンダーラインの波数は図3の矢印に対応

考えられる。一方、スペクトル測定に用いる試料切片の厚さは一定ではなく、スペクトルは試料とプリズムの密着度を反映したのとなり、密着度によって、水分による吸収強度が変化するとともに、2350 cm<sup>-1</sup> 付近に吸収が現れる。これは、密着していない空隙の気体成分(二酸化炭素)による吸収と考えられる。野菜類の栽培では、ほとんどの農薬が散布法により使用され、農薬成分は野菜の表面に付着して残留する。一方、ATR 赤外分光における光の侵入深さは、入射光の波長に比例し、試料および ATR プリズムの屈折率と光の入射角に依存する。本法では、ATR プリズムとして入射角 45°のセレン化亜鉛(屈折率 2.4)を用いている。ハクサイの搾汁液の屈折率 1.27 をハクサイのみかけ上の屈折率とした場合、波長 5~10 μm の赤外線の侵入深さは、1.7~3 μm である。また、一般的な有機物の赤外域の屈折率 1.5 を用いた場合、同様の侵入深さは 2.4~4.8 μm である。スペクトルは非破壊で測定され、1 回の測定に要する時間は約 10 分であり、実用的な計測として必要な迅速性を具備している。

以上のことから、ATR 赤外分光法が、これまで残留農薬測定で用いられてきた手法や新たに提案されている手法の中で最も迅速な手法であり、クロマトグラフィーで必要とされる抽出・分画・精製などの化学的操作は不必要となり簡便な方法である。

ハクサイ中に残留する殺虫剤フェンバレーレート濃度およびマラチオン濃度を目的変数とし、生の ATR スペクトルデータ(測定後未処理のもの)、および水分吸収で規格化した ATR スペクトルデータを説明変数として、それぞれ PLS (partial least squares) 回帰分析<sup>12)</sup> によって検量モデルを作成した結果、生の ATR スペクトルを用いた場合には、因子数が増加しても検量誤差 (SEC) は改善されず、検量には適当でないことが明らかとなった。これは、試料の ATR プリズムへの密着度によって、水分の吸収強度が変化するとともに、空隙の気体成分による吸収と考えられる 2350 cm<sup>-1</sup> 付近に吸収が現れるなどの影響によって、ス

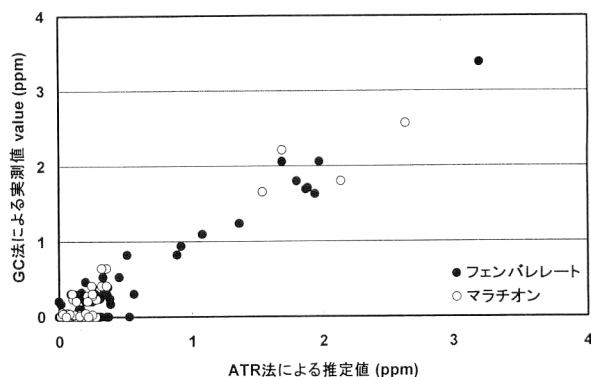


図4 残留殺虫剤の PLS 検量モデルの散布図(因子数 6). ●: フェンバレーレート(基準値 3 ppm), 相関係数: 0.922, SEC: 0.217. ○: マラチオン(基準値 3 ppm), 相関係数: 0.894, SEC: 0.168.

ペクトルデータに過大な誤差が生じたためであると考えられる。これに対して、水分吸収で規格化した ATR スペクトルを用いた場合には、因子数の増加に対して SEC は減少し、相関係数は増加した。したがって、ATR スペクトルは、水分の吸収波数である 1640 cm<sup>-1</sup> 近傍の吸収強度で規格化して用いることが妥当であると考えられる。これは、スペクトルデータが水分濃度との相対値に対応する情報としてとらえられることで、水分を内部標準とした効果によるものと考えられる。因子数が 6 の場合について、フェンバレーレートおよびマラチオン検量モデルの推算値とガスクロマトグラフによる測定値(参照値)の散布図を図 4 に示す。相関係数はフェンバレーレートおよびマラチオンで、それぞれ 0.922 および 0.894 である。また、標準誤差 SEC はそれぞれ、0.217 および 0.168 である。この値は、ハクサイ中のフェンバレーレートおよびマラチオン各成分の残留基準値、3.0ppm および 2.0ppm と比較して十分小さい値である。したがって、残留基準値を超えて残留する成分がないことを確認するうえでは、これら検量モデルは実用上良好な精度であると考えられる。実栽培ハクサイ 70 個体を検量モデル評価用試料として、規格化 ATR スペクトルの PLS 検量モデルを適用した結果、残留するフェンバレーレートおよびマラチオンの PLS 検量モデルの因子数は、標準誤差が極小となる 6 が最適と考えられる。また、因子数 6 で傾きの補正を行った場合の残留濃度の推算値と参照値の散布図を図 5 に示す。評価用試料は目的の 2 成分以外の農薬が存在していると考えられるが、それらの影響を受けずに PLS 検量モデルによってフェンバレーレートおよびマラチオンを定量可能であることが明らかとなった。これは、スペクトル全体にわたるスペクトルデータを検量モデル作成に利用したために、農薬成分に関する情報量が増大し、さらにスペクトルデータが水分濃度との相対値に対応する

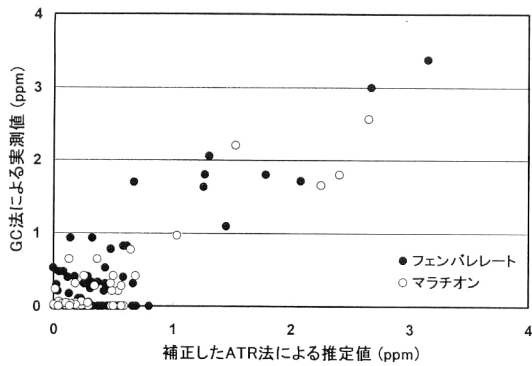


図5 残留殺虫剤の残留濃度の推算値と参照値の散布図 (因子数6), ●: フェンバレレート (基準値3 ppm), SEP: 0.428. ○: マラチオン (基準値2 ppm), SEP: 0.268.

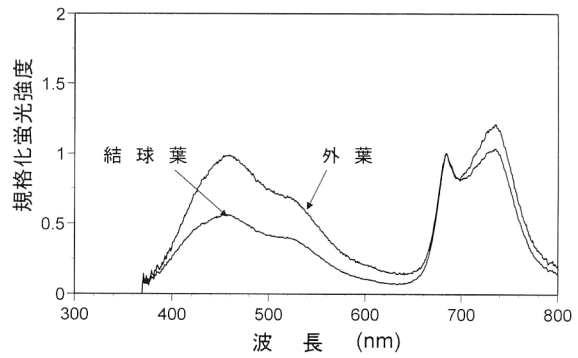


図7 フィールドにおいて実測したレタスのLIFスペクトル例.



図6 可搬型レーザー誘起蛍光分光計測システムによる圃場計測.

情報としてとらえられ, 水分を内部標準とした効果などによって, 得られたPLS検量モデルが対象成分を適切に抽出した結果と考えられる.

## 2.2 LIFスペクトルによる生育状態計測<sup>8-11)</sup>

レタスが圃場に定植されてから収穫を迎えるまでの間, ほぼ1週間間隔 (収穫期近傍では1~2日間隔) でLIFスペクトルを計測した. 図6は本システムによる定期計測風景 (長野県松代町・長野県野菜花き試験場) である. 試料6株について外葉3枚および結球葉2枚を選び1枚につき3~5ポイントで測定し, 全試料の平均スペクトルをその生育時点における代表とみなした. なお, 1ポイントの測定は1分程度で終了した. LIF計測システムを用いてフィールドにおいて実測したレタスのスペクトル例を図7に示す. スペクトルは大別して650 nm以上の長波長 (red fluorescence) 成分と短波長 (blue-green fluorescence) 成分から構成されている. 外葉と結球葉とでは短波長スペクトル成分に大きな強度差がみられる. この短波長スペクトルには, 糖, ビタミン, ポリフェノールなどの構成成分に関す

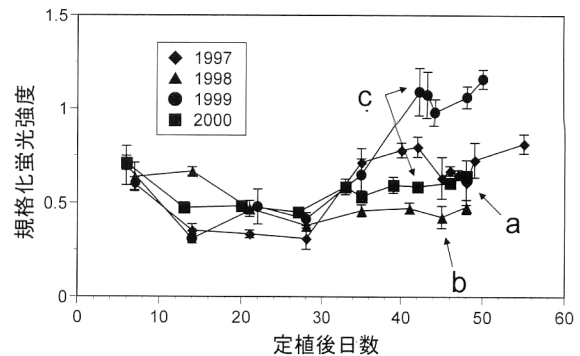


図8 生育過程での短波長 (460 nm) におけるLIFスペクトル強度変化.

る情報が含まれていることが報告されている<sup>11)</sup>. また, 長波長成分にみられる2つの蛍光ピークはクロロフィルによるもので, これらの強度比 (750 nm/685 nm) によりクロロフィル濃度推定も可能である<sup>7)</sup>.

図8に生育過程での短波長 (460 nm) におけるLIFスペクトル強度変化を示す. 形状, 色, 重量, 硬さ, 品種の特性等を総合的に判断し, 1997年が定植後47日 (図8の矢印a), 1998年は定植後44日 (図8の矢印b), 1999および2000年は定植後42日 (図8の矢印c) を収穫適期とした. 測定ポイント数は実験日につき約50ポイントである. いずれの年も, 測定開始から2週間ほどは相対強度は一定の値を示し, 結球時期にあたる30日付近から日数とともに増加していく傾向がみられる. その後40日付近から相対強度は緩やかな減少傾向が続くが, 収穫適期が過ぎたあたりから再び増加する傾向を示した. 以上, レタスのLIFスペクトルにおいて, 460 nmの相対強度は, 結球開始から収穫期付近で特徴的な変化を示すことが確認された. また, このような標準的なスペクトル変化から大きく逸脱しているものについては, 生育異常の可能性が考えられる. この兆候を早期に検出することができれば, 栽培上あるいは流通上なんらかの調整を加えるなどの対応が考えられ

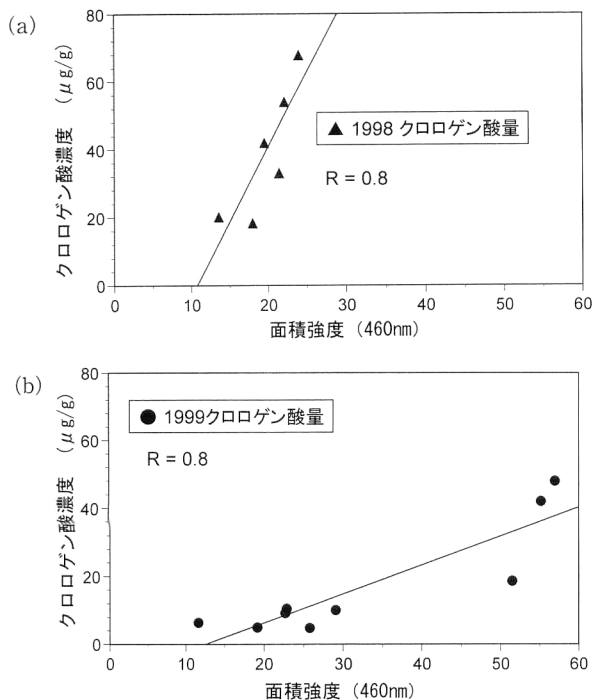


図9 レタス中のクロロゲン酸量とLIFスペクトルの面積強度(460nm)。(a)1998年,(b)1999年。

る。このような実用計測のため、スペクトルデータベースの充実による標準パターンの確立および診断の安定性確認などが今後の課題である。

レタスのLIFデータの短波長成分がどの物質に帰属するかについて、スペクトルの波形分離法により検討した結果を図9および図10に示す。結果として、460nmおよび430nmにおける蛍光の面積強度(横軸)は、それぞれクロロゲン酸(ポリフェノール類)およびショ糖濃度(縦軸)と正の相関関係があることが示唆される。短波長成分が収穫時期を過ぎると増加すること、レタスが過熟になると苦味を増すこと、および収穫適期以降、クロロゲン酸がポリフェノール組成の大半を占めるという化学測定結果<sup>13)</sup>などは、お互いに対応する現象と考えられる。

以上のことから、LIF分光法によって野菜類など農産物の生育状態や収穫時期に関する情報が獲得できると考えられ、農業生産において、有力な現場獲得情報手段となることが期待される。

### 2.3 分光スペクトル情報利用の展望<sup>13,14)</sup>

農業生産現場において効率的かつ可能な限り簡便に作物情報を測定する必要がある。ATR赤外分光法およびLIF分光法に関する知見をもとにして、現在筆者らは、拡散反射に関する分光分析および分光画像計測の適用を検討している。これらの装置構成はいまだに実験室レベルを脱していないが、さらなる簡便化、迅速化が期待される。拡散反

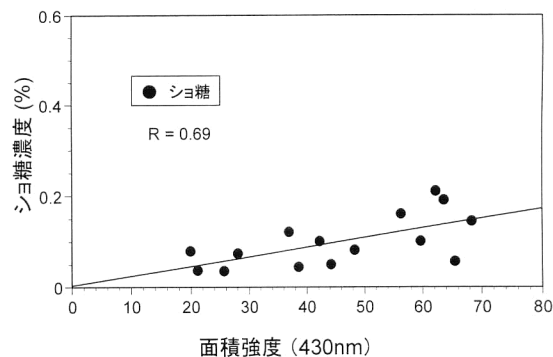


図10 レタス中のショ糖量とLIFスペクトルの面積強度(430nm)。

射赤外分光では、ATR赤外分光に比べて約4倍の効率化が可能になり、残留農薬の検出限界は1桁程度向上可能であることが判明している<sup>14)</sup>。また、近赤外分光画像計測においては、目視では判別できない微小な傷が判別可能であり<sup>15)</sup>、レタスのクロロフィル量や全糖量などの内容成分量が画像情報から測定可能であることが報告されている<sup>16)</sup>。

### 3. 野菜生産への適用

ATR赤外分光法による野菜類(レタス、ハクサイ)の残留農薬測定は、現在長野県下の産地JAに導入され、実用的な運用が開始されている。主要な農薬の残留程度を簡便に測定・管理して安全性を確認して出荷するうえで、有力な手段となりつつある。しかしながら、農薬の種類が13種類程度に限られている、測定操作が煩雑であるなどの課題が残されている。今後、未知の農薬をスペクトルの特徴から判別し、濃度レベルを出力する、あるいは本文で触れた拡散反射赤外分光法をさらにすすめるなどの研究開発が必要である。

LIF分光法は、現在農林水産省によって進められているプロジェクト研究「データベース・モデル分散協調システムの開発」の一環として現場発生情報の分散協調収集・伝達システムの開発において、広範囲な実用化の検討がすすめられている。LIF法による生育情報獲得に加えて、情報ネットワーク上におけるデータベース構築および生育診断モデルの提供などを目指している。近い将来、本システムが野菜生産現場で日常的に利用され、野菜生産に活用されることが期待される。さらに、現場における計測情報が流通全般に発信され、消費者ニーズを満足させることにより、より強固で持続的な農業生産基盤確保に結びつくことが望まれている。

野菜生産における利用を目標とした分光分析法の適用に

ついて、ATR 赤外分光法および LIF 分光法を解説した。また、最近の検討例として、筆者らの拡散反射型分光法に関する研究を述べた。

これらの計測法は、より簡便で低コストであることが求められている。それは、農業生産における利用を前提にしたときに避けては通れない要求であるし、農業生産基盤を強固にして持続させるための要求である。したがって、本文において欠落しているこれらの点に関する積極的な提言を読者に期待したい。拙文が、本誌読者の興味を引き、新たな計測法やセンサーの出現の契機となれば幸いである。

なお、本文はいくつかの研究開発事業の成果をとりまとめて紹介したものである。以下に列記して関係者各位に深甚なる謝意を表するものである。

- ・社団法人農林水産先端産業振興センター (STAFF)・農林水産新産業技術開発事業 (平成 9~11 年度)
- ・文部科学省科学研究費基盤研究 B (2) 11555110 および B (2) 11450119 (平成 11~14 年度)
- ・農林水産省プロジェクト研究「データベース・モデル分散協調システムの開発」(平成 13~15 年度)

## 文 献

- 1) S. Kawano, H. Watanabe and M. Iwamoto: "Measurement of sugar contents in intact peaches by NIRS," *Proceedings of the 2nd International NIRS Conference* (Tsukuba, 1989) pp. 343-352.
- 2) 前田 弘: "透過式近赤外分光分析による青果物の内部品質検査", 第 24 回光波センシング技術研究会講演論文集 (1999) pp. 49-54.
- 3) 石澤広明, 中村昌子, 松澤恒友, 高野利康, 鳥羽栄治: "全反射減衰赤外分光法による野菜農薬残留量の迅速計測", 計測自動制御学会論文集, **29** (1993) 993-999.
- 4) 石澤広明, 鳥羽栄治, 柳原政利: "全反射減衰赤外分光分析による野菜類の残留農薬量の判別", 計測自動制御学会論文集, **30** (1994) 1436-1441.
- 5) 石澤広明, 鳥羽栄治, 中村昌子: "全反射減衰赤外分光法によるハクサイ残留殺菌剤の非破壊計測", 農業機械学会誌, **62** (2000) 106-114.
- 6) Y. Saito, M. Kanoh, K. Hatake, T. D. Kawahara and A. Nomura: "Investigation of laser-induced fluorescence of several natural leaves for application to lidar vegetation monitoring," *Appl. Opt.*, **37** (1998) 431-437.
- 7) Y. Saito, K. Kurihara, H. Takahashi, F. Kobayashi, T. Kawahara, A. Nomura and S. Takeda: "Remote estimation of the chlorophyll concentration of living trees using laser-induced fluorescence imaging lidar," *Opt. Rev.*, **9** (2002) 37-39.
- 8) 雨宮貴明, 斉藤保典, 野村彰夫, 石澤広明, 小松和彦: "レーザー誘起蛍光法を用いた農産物非破壊計測法のフィールド非破壊計測", 第 39 回計測自動制御学会学術講演会講演予稿集 (2000) 101A-5.
- 9) 石澤広明, 斉藤保典, 雨宮貴明, 小松和彦: "レーザー誘起蛍光法によるレタス生育モニタリング", 農業機械学会誌 (2002) **64**, 89-94.
- 10) Y. Saito, M. Kanoh, A. Takeuchi, T. D. Kawahara, A. Nomura, H. Ishizawa, T. Matsuzawa and K. Komatsu: "Application of laser-induced fluorescence to growth monitoring of agricultural products (lettuce)," *Proceedings of the First International Conference Geospatial Information in Agriculture and Forestry*, Vol. 2 (1998) pp. 509-515.
- 11) A. Takeuchi, Y. Saito, M. Kanoh, T. D. Kawahara, A. Nomura, H. Ishizawa, T. Matsuzawa and K. Komatsu: "Laser-induced fluorescence detection of plant and optimal harvest time of agricultural products (lettuce)," *Appl. Eng. Agric.*, **18** (2002) in press.
- 12) H. Martens and T. Naes: "Partial least squares regression (PLSR)," *Multivariate Calibration* (John Wiley & Sons Ltd., New York, 1993) pp. 116-125.
- 13) 石澤広明, 松澤恒友, 斉藤保典, 野村彰夫, 鳥羽栄治, 小松和彦: "レーザー誘起蛍光分光計測による野菜類の生育状態モニタリング", 第 38 回計測自動制御学会学術講演会講演予稿集 (1999) pp. 653-654.
- 14) H. Ishizawa, T. Nishimatsu and E. Toba: "Measurement of pesticide residues in food based on diffuse reflectance IR spectroscopy," *Proceedings of the 18th IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference*, Budapest, Hungary (2001) pp. 884-887; *IEEE Transaction on Instrumentation and Measurement* (in press).
- 15) H. Ishizawa, M. Takeuchi, T. Nishimatsu and E. Toba: "Diffuse reflectance near-infrared spectral image measurement for field monitoring of agricultural products," *Proceedings of the 19th IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference*, Anchorage, USA (2002) pp. 3-6.
- 16) M. Takeuchi, K. Miyamoto, H. Ishizawa, T. Nishimatsu and E. Toba: "Near infrared spectral imaging for the field server of lettuce growth," 第 41 回計測自動制御学会学術講演会講演予稿集 (2002) pp. 1120-1121.  
(2002 年 6 月 12 日受理)