

マルチバンドイメージスキャナの開発と近赤外分光イメージングへの 応用：メロンの糖度分布可視化

蔦 瑞樹^{*1,*2}, 一ノ瀬修一^{*3}, 小川紋弘^{*4}, 杉山純一^{*1§}, 相良泰行^{*2}

^{*1} 独立行政法人食品総合研究所

^{*2} 東京大学大学院農学生命科学研究科

^{*3} アイメジャー有限会社

^{*4} 有限会社ダット

Development and Application of a Multi-Band Image Scanner : Visualization of Sugar Distribution of Melons

Mizuki Tsuta^{*1,*2}, Shuichi Ichinose^{*3}, Fumihiko Ogawa^{*4},
Junichi Sugiyama^{*1§} and Yasuyuki Sagara^{*2}

^{*1} National Food Research Institute, 2-1-12 Kan-nondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642

^{*2} Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,
1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657

^{*3} iMeasure Inc., 2941-4 Uchida, Matsumoto, Nagano 399-0023

^{*4} Dat Inc., 3-7-32 Nabeshima, Saga, Saga 849-0937

A multi-band image scanner was developed in order to scan a sample at a specific wavelength. A band-pass filter inserted in the light path of the scanner enabled us to acquire the image information at the specific wavelength. An *Andes* melon was cut into halves and its cut surface was scanned at 676 nm, at which the absorbance was reported to correlate inversely with sugar content. The intensity at each pixel of the acquired image was converted into absorbance based on the definition of absorbance. Then cylindrical flesh was extracted from the half-cut sample as a calibration sample. The image scanning and the Brix sugar content measurement of the calibration sample were repeated to acquire a series of data of the absorbance and the sugar content. Linear regression analysis was applied to these data to develop a calibration curve of sugar content versus absorbance. The calibration curve was applied to each pixel of the half-cut sample image in order to construct a sugar distribution map. In the same way, the calibration curve and the sugar distribution map of a *Quincy* melon were developed. The correlation coefficients of these calibration curves were 0.980 and 0.956, respectively, and their actual sugar distributions were accurately reflected in the sugar distribution maps. Therefore, it can be concluded that the multi-band image scanner is useful for the near-infrared imaging spectrometry.

(Received Nov. 4, 2003 ; Accepted Feb. 26, 2004)

近年、消費者の健康志向・安全志向が高まり、農産物の安全性に対する関心が一層強まっている。また、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。力学的手法、電磁気学的手法、光学的手法など様々ある品質計測の手法の中でも、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。近赤外分光法の利点は、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点である。1999年末の時点で、全国の選果場に471台の糖度選別機が導入されており、ミカン、リンゴ、ナシ、モモ、スイカ、メロン、トマトなどの農産物について、糖度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⁾。

広く普及している近赤外分光法であるが、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、その分布を測定することができないという限界がある。成分分布は、青果物の品質を決定づける重

^{*1} 〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

^{*2} 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

^{*3} 〒399-0023 長野県松本市内田 2941-4

^{*4} 〒849-0937 佐賀県佐賀市鍋島 3-7-32

[§] 連絡先 (Corresponding author), sugiyama@affrc.go.jp

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」の研究が報告されている。例えば、筆者らは CCD カメラの各画素を近赤外分光分析装置の受光部として扱うことにより、メロンの糖度分布を可視化した^{2)~4)}。しかしながら、この可視化手法では、以下のような原因で安定した計測が困難であった。

1) サンプルの撮影面を均一に照明するのは困難であり、画像処理を行っても、照明ムラによる測定誤差を完全に除去することは出来ない。

2) サンプルの位置決めと保持、CCD カメラの焦点調節などの作業に熟練を要するため、サンプル間で測定誤差が生じる。

3) CCD 素子の冷却温度や環境温の変動により CCD 素子の感度が変化するため、経時的な測定誤差が生じる。

そこで本研究では、取り扱いが簡便で、常に一定の条件で対象をスキャンするイメージスキャナに着目し、任意波長におけるサンプルのスキャンを安定して行う「マルチバンドイメージスキャナ」を開発し、これを用いてより簡便かつ安定した成分分布の可視化手法を開発することとした。さらに、その有効性を検証するため、メロンの糖度分布可視化に取り組んだ。

実験方法

1. イメージスキャナの特性⁵⁾

(1) 構造

書類や写真、フィルムをデジタル画像ファイルとして取り込むイメージスキャナは、デジタルカメラと並ぶデジタル画像入力装置である。図1に市場で普及しているフラットヘッドタイプのイメージスキャナのご概念図を示す。このタイプのイメージスキャナにはキャリッジと呼ばれる箱が内蔵されており、図2aに示す通り、この中に光源、ミラー、レンズ及び CCD ラインセンサよりなる光学系が配置されている。CCD ラインセンサには数千個のフォトダイオードが直線状に配列してあり、イメージスキャナ上に置かれたサンプルの画像情報を一次的に取得する（主走

査）。また、キャリッジ全体を CCD ラインセンサの配列と直角な方向に移動することにより、サンプル全体の2次元的な画像情報を得ることが可能である（副走査）。副走査の際、キャリッジ内の光学系とサンプル間の距離及び角度は常に一定に保たれるため、光源の光量変動が生じない限り、スキャン画像における副走査方向の輝度ムラは発生しない。

(2) シェーディング補正

サンプルをなるべく均一に照明するため、図2aに示す通り、イメージスキャナにはライン型の光源が搭載されている。しかしながら、サンプルにおける照度分布には若干のムラが生じる⁶⁾。また、レンズのコサイン4乗則により、レンズの周辺部を透過する光は中心部を透過する光よりも暗くなる⁷⁾。さらに、CCD ラインセンサの個々のフォトダイオードには感度ムラがあり、暗電流ノイズの大きさもまちまちである⁸⁾。従って、CCD ラインセンサに入力される画像信号には、これらの不均一要因を反映した強度ムラが生じていると考えられる。そのため、市販のイメージスキャナにはシェーディング補正と呼ばれる機能が備わっており、スキャンに際しては、以下の手順で画像校正が行われる。まず、サンプルスキャンに先立ち、イメージスキャナに内蔵された一様な反射率からなる標準白色板をスキャ

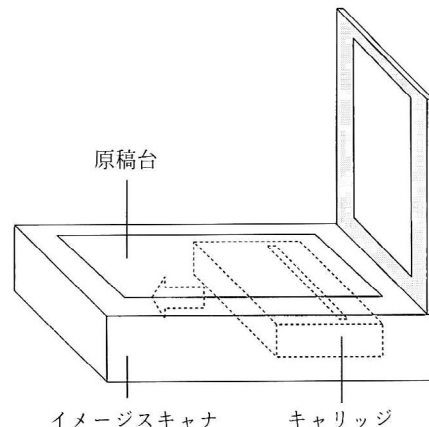


図1 イメージスキャナのご概念図

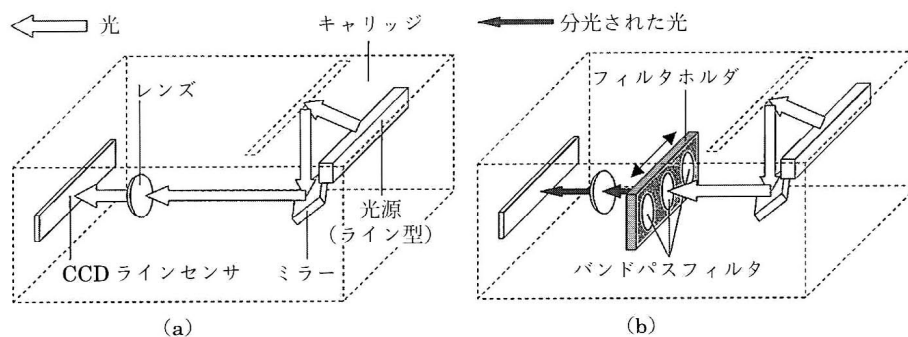


図2 キャリッジ内の光学系配置

(a: 通常のイメージスキャナ, b: マルチバンドイメージスキャナ)

ンし、その輝度値を白基準 (l_w) とする。また、ランプを消灯してスキャンすることにより黒基準 (l_b) を計測する。次に、サンプルをスキャンして画像の入力データ (l_{in}) を得る。以上で得られたデータに対し、下記の式1を適用して、シェーディングを補正した出力データ (l_s) を得る。

$$l_s = 2^N \times (l_{in} - l_b) / (l_w - l_b) \quad (1)$$

(N : A/D 変換のビット数)

すなわち、画像の入力データ及び白基準から黒基準を差し引くことによって暗電流ノイズによる誤差を除去し、前者を後者で除算することによって、画像の入力データを白基準で標準化する。次に、イメージスキャナの階調度を乗じることにより、出力データに変換する。以上の過程を各画素に適用することにより、CCD ラインセンサの画素間の輝度ムラ、すなわち主走査方向の輝度ムラを校正した出力データが得られる。また、シェーディング補正はサンプルスキャン毎に行われるので、電圧・室温などの環境変動に伴う経時的な測定誤差も低減されるものと考えられる。

(3) γ 補正

コンピュータ等のディスプレイにおいて、入力信号 (i_{in}) と画面上の輝度値 (i_{out}) には

$$i_{out} = i_{in}^\gamma \quad (2)$$

の関係が成り立つ。このような入出力特性は γ 特性と呼ばれ、値 γ の大ききで特徴づけられる⁹⁾。ディスプレイにおいては γ の値は 1 よりも大きき、入力信号-出力信号曲線は下に凸となるので、入力信号強度が半分になると、画面上の輝度値は半分よりも暗くなる。そのため、市販のイメージスキャナにおいては、取得したサンプルの反射率とディスプレイ上の輝度値の関係を線形にするため、下記式3に示すように、シェーディング補正されたデータ (l_s) を $1/\gamma$ 乗した値が最終的な出力データ (l_{out}) として出力される。

$$l_{out} / l_s^{1/\gamma} \quad (3)$$

この結果、 i_{out} と l_s の関係は下記式4の示す通り線形となり、サンプルの反射率はディスプレイ上で正確に再現される。

$$i_{out} = i_{in}^\gamma = \alpha \times l_{out}^\gamma = \alpha \times (l_s^{1/\gamma})^\gamma = \alpha \times l_s \quad (4)$$

(α : イメージスキャナとディスプレイ間のデータ転送特性) 以上の過程は γ 補正と呼ばれ、ディスプレイ上での表示を前提とした通常のスキャン画像取り込みにおいては自動的に行われている。

2. マルチバンドイメージスキャナの開発

本研究では市販のイメージスキャナ (ES-2200, セイコーエプソン(株)) をベースに、図2bに示す通り、キャリアジ内のミラーとレンズの間に、新たにバンドパスフィルタを挿入することにより、任意の波長におけるスキャン画像の取得が可能なマルチバンドイメージスキャナを開発

した(図3上)。バンドパスフィルタは図3下に示すフィルタホルダに3枚搭載可能であり、フィルタホルダを左右にスライドさせることにより、スキャン波長を選択することが可能となった。また、副走査時の光量変動を極力抑えるため、ES-2200に使用されているキセノンランプ光源に代わり、定電圧電源を搭載したハロゲンランプを光源として用いた。本装置のスキャナとしてのスペックはベースであるES-2200に等しく、最大スキャン寸法は216×297mm、最大有効画素数は13600×18720画素(1600dpi時)であり、その際の実効解像度は約32ミクロンである。また、階調度は16bit(65536段階)であり、従来の近赤外分光分析装置と同等であるので、本装置は近赤外分光分析による定量解析にも利用可能であると考えられた。さらに、本装置はイメージスキャナとしての特性を備えているため、輝度ムラがなく、経時的な測定誤差の少ない、安定した計測が期待された。

3. γ 特性の検証実験

1-(3)項で述べたとおり、市販のイメージスキャナにおいては出力画像に対して自動的に γ 補正が適用される。マルチバンドイメージスキャナを用いて近赤外分光法で定量解析を行うためには、 γ 補正を無効化してデータを線形化する必要があると考えられたが、そのためには「twain」と呼ばれるイメージスキャナのデータ転送仕様を学び、特殊なプログラムを構築する必要があった。そこで、出力画像に対して再度 γ 補正を行い、サンプルの反射率と出力データ間の線形性を確保することとした。イメージスキャナの γ 補正における γ 値の大ききを検証するため、予備試験を行った。具体的には、反射率が既知の標準板を複数用意し、それぞれをマルチバンドイメージスキャナにてスキャンし



図3 マルチバンドイメージスキャナの外観(上)と、バンドパスフィルタホルダ(下)

た. 出力画像の輝度値と実際の反射率を比較することにより, $\gamma=1.8$ であることが確認された. よって, 出力画像に対して $\gamma=1/1.8=0.56$ となるように再度 γ 補正を適用することにより, 定量解析に必要なデータの線形性が確保されることが明らかとなった.

4. メロンの糖度分布可視化実験

(1) サンプル

本装置の有効性を確認するため, メロンの糖度分布可視化を試みた. サンプルにはスーパーマーケットで入手した高知県産アンデスメロン (緑肉) 及び熊本県産クインシーメロン (赤肉) を用いた. 品温変動による測定誤差の低減

を図るため, それぞれ室温で一昼夜放置した後, 実験に供試した.

(2) 果肉断面の分光スキャン

近赤外分光分析装置を用いた実験により, メロン果肉の 676 nm における吸光度と糖度に逆相関関係があることが報告されている²⁾. そこで, マルチバンドイメージスキャナのフィルタホルダに, 676 nm のバンドパスフィルタ (43192-E, エドモンド・オプティクス・ジャパン(株)) を装着し, この波長で試料をスキャンすることとした. 次に, サンプルを半分に分割し, その切断面を 300 dpi にてスキャンし, 果肉断面のスキャン画像を得た (図 4 a, b).

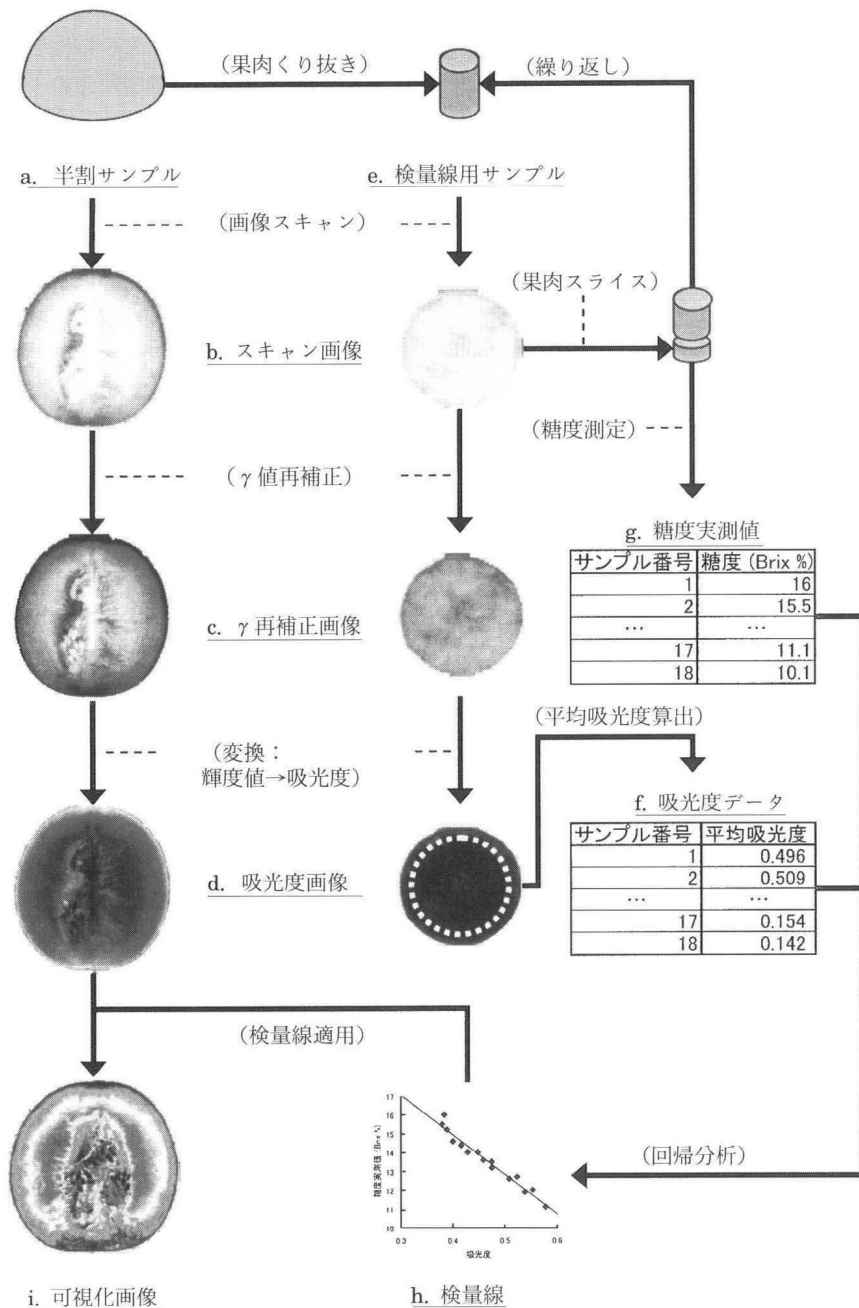


図 4 糖度分布の可視化手順

(3) 画像処理

定量解析に必要なデータの線形性を確保するため、得られたスキャン画像の γ 値が0.56になるように、 γ 特性を再補正した(図4c). さらに、吸光度の定義に従い¹⁰⁾、得られたスキャン画像の各画素に下記の式5を適用することにより、図4dに示す吸光度画像を得た.

$$\begin{aligned} \text{吸光度} &= -\log_{10}\left(\frac{\text{サンプルの輝度値}}{\text{標準白色板の輝度値}}\right) \\ &= \log_{10}\left(\frac{65535}{\text{サンプルの輝度値}}\right) \end{aligned} \quad (5)$$

ここで、標準白色板の輝度値が65535となっているのは、式1において標準白色板の輝度値がサンプル輝度値の基準になっており、かつ本装置においてN=16であるためである.

(4) 検量線の作成

断面をスキャンしたサンプルより円柱状に果肉を抜き取り、これを検量線用サンプルとしてその内側果肉断面をスキャンした(図4e, b). 得られた画像の γ 値を再補正したのち、各画素に式5を適用して吸光度画像に変換した(図4c). 次に、図4cに示す白点線の範囲内にある画素の平均吸光度を算出した(図4f). さらに、スキャンした部分から1mm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(PR-100, (株)アタゴ)で測定した(図4g). 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、検量線用サンプルの様々な深さにおける吸光度と糖度実測値を得た. さらに、両者に線形回帰分析を適用し、実験に供試した2つの試料それぞれについて、図5に示す吸光度と糖度の検量線を作成した.

(5) 糖度分布の可視化

作成した検量線を、半割サンプル断面の吸光度画像の各画素に適用し、吸光度を糖度に変換した. さらに、糖度の大小をカラーマッピングすることにより、図6に示す糖度

分布の可視化画像を得た. なお、サンプルの分光スキャンから糖度分布の可視化に至る過程のうち、スキャン画像の取得及び γ 特性の再補正には画像処理ソフト(Adobe Photoshop 6.0, Adobe Inc.), 吸光度画像の作成, 平均吸光度算出及び糖度分布の可視化には数値解析ソフト(MatLab 6.1, The Mathworks Inc.), 回帰分析及び検量線の作成には表計算ソフト(Microsoft Excel 2002, Microsoft Inc.)を用いた.

実験結果及び考察

1. 糖度の検量線

図5に示す通り、検量線の相関係数(R)と標準誤差(SEC)はアンデスメロンで0.980及び0.289、クインシーメロンで0.956及び0.546であり、従来の近赤外分光装置を用いた果実の糖度推定とほぼ等しい精度であった^{11)~13)}. これは、マルチバンドイメージスキャナの階調度が近赤外

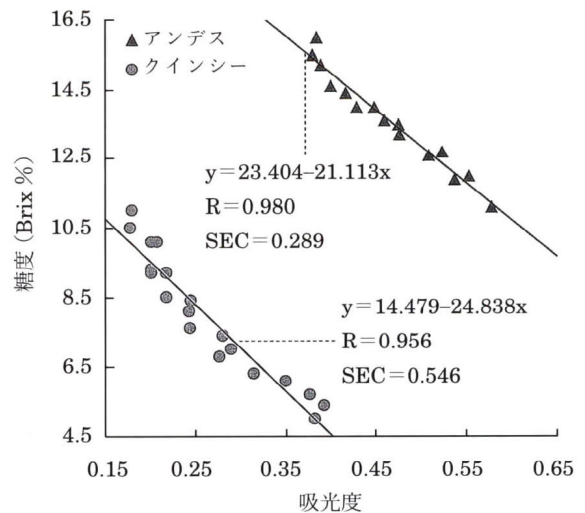


図5 吸光度と糖度の検量線

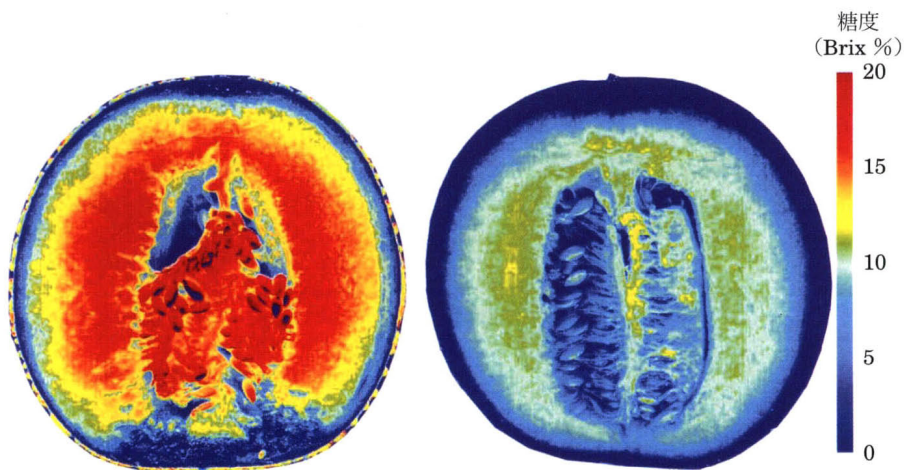


図6 メロンの果肉断面における糖度分布可視化画像 (左:アンデスメロン, 右:クインシーメロン)

分光装置と同程度であり、吸光度の微少な差を捉えることが可能であること、そして、サンプルスキャン毎のシェーディング補正により、経時的な誤差が低減されたことによるものと考えられる。今後は、複数の個体から検量線用サンプルをくり抜き、データ数を増やした上で4-(4)項に述べた手法で検量線を作成し、糖度未知の試料を用いてその精度を検証することにより、様々な個体の糖度分布可視化に適用可能な、実用的かつ汎用的な検量線を開発することが期待される。

2. 糖度分布の可視化画像

図6に示す糖度分布の可視化画像において、糖度分布の異常な勾配は見られないことから、照明ムラなどの空間的な誤差要因は除去されたと考えられた。これは、シェーディング補正による主走査方向の画像校正と、光学系とサンプル間の距離及び角度が常に一定に保たれ、副走査方向の輝度ムラがほぼ生じないというマルチバンドイメージスキャナの特性によるものと思われる。また、検量線の精度が高いことと、アンデスメロン及びクインシーメロンの糖度分布可視化画像における糖度の範囲が、検量線用サンプルの実測糖度の範囲（アンデスメロン 11.1~16.0, クインシーメロンで 5.0~10.5）とほぼ等しいことから、実際の糖度を反映した正確な糖度分布可視化画像が構築されたと考えられた。さらに、CCDカメラよりも高精細な画像が取得可能になったため、アンデスメロンの断面において、果肉上部の水平方向に走る繊維状組織の糖度が周囲よりも高くなっている様子が明らかになるなど、より細かい構造・成分分布解析が可能となった。

以上のことから、マルチバンドイメージスキャナは安定・高精度・高精細という特徴を有し、近赤外分光イメージングによる成分分布可視化に有用であることが明らかとなった。また、現在市販されているイメージスキャナの解像度は4800 dpi（約10.5ミクロン/一画素相当）であり、今後も解像度の向上が予想されること、またその取り扱いが簡便であることから、簡易型分光顕微鏡として利用可能なマルチバンドイメージスキャナの開発も可能であると考えられる。今後は、青果物の品種や栽培方法による成分分布の違いを定量的に明らかにする基礎研究や、ブルーベリー等の小果実の成分を一括して計測する実用研究など、様々な現場における食品の成分分布可視化に、マルチバンドイメージスキャナを応用することが期待される。

要 約

特定の波長で対象をスキャンすることが可能なマルチバンドイメージスキャナを開発した。また、その有効性を検証するため、メロンの糖度分布可視化に取り組んだ。

1) アンデスメロン及びクインシーメロンをサンプルとし、それぞれを半分に分割して、糖度と吸光度が逆相関関係にあると報告されている676 nmでその果肉断面をス

キャンした。

2) 得られたスキャン画像の γ 値を補正し、サンプルの反射率と輝度値間の線形性を確保した。次に、各画素の輝度値を吸光度に変換した。

3) 半割サンプルから円柱状に果肉をくり抜き、検量線サンプルとした。検量線サンプルのスキャンと糖度測定を繰り返し行い、吸光度と糖度実測値のデータを得た。これに線形回帰分析を適用し、吸光度と糖度の検量線を得た。

4) 得られた検量線を半割サンプルのスキャン画像の各画素に適用し、糖度分布の可視化画像を構築した。

吸光度と糖度の検量線の精度は、従来の近赤外分光装置を用いた果実の糖度推定とほぼ等しかった。また、糖度分布の可視化画像において、照明ムラなど空間的な誤差要因の影響は小さく、実際の糖度分布が正確に再現されていると考えられた。さらに、CCDカメラによる可視化手法よりも細かい構造・成分分布解析が可能となった。以上より、マルチバンドイメージスキャナは安定・高精度・高精細という特徴を有し、近赤外分光イメージングによる成分分布可視化に有用であることが明らかとなった。今後は、簡易型分光顕微鏡として利用することや、様々な食品における成分分布可視化への応用が期待される。

文 献

- 1) 河野澄夫, 糖度選別機(光センサー)がもたらす新しい流通技術の展望—果実の品質も味の時代—, 果実日本, **56**, 80-82 (2001).
- 2) Sugiyama, J., Visualization of Sugar Content in the Flesh of a Melon by Near-Infrared Imaging, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2715-2718 (1999).
- 3) Tsuta, M., Sugiyama, J. and Sagara, Y., Near-Infrared Imaging Spectroscopy Based on Sugar Absorption Band for Melons, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 48-52 (2002).
- 4) 蔦 瑞樹, 杉山純一, 相良泰行, ハイパースペクトルシステムによる近赤外分光イメージング手法—メロン糖度分布の可視化事例—, 映像情報メディア学会誌, **56**, 2037-2040 (2002).
- 5) 一ノ瀬修一, カラーイメージスキャナの設計技術, 第47回日本画像学会技術講習会要旨集, 521c1-521c9, 東京 (1999).
- 6) 日本ピー・アイ(株) ホームページ, <http://www.npinet.co.jp/ColdSpot/LinearBright/LinearBright-index.html> (2003).
- 7) 北村智史, 工藤智道, 田中達也, 浜口俊之, 森脇章彦, レンズの種類とメカニズム, 「図解レンズ選択 BOOK イラストでよくわかる基礎から応用」, 阿部庄之助編, ((株)学習研究社, 東京), pp. 75 (1997).
- 8) 福島英雄, 天体観測のためのイメージセンサ, 「天文アマチュアのための冷却 CCD 入門」, (誠文堂新光社, 東京), pp. 30 (1996).
- 9) 木原 章, 画像入力時の注意点, 「医師・研究者のためのPhotoshop3 時間攻略法」, (羊土社, 東京), pp. 80 (1998).
- 10) 岩本睦夫, 河野澄夫, 魚住 純, 近赤外分光法の理論, 「近赤外分光法入門」, (幸書房, 東京), pp. 46-49 (1994).
- 11) Kawano, S., Watanabe, H. and Iwamoto, M., Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance

-
- Mode, *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, **61**, 445-451 (1992).
- 12) Kawano, S., Fujiwara, T. and Iwamoto, M., Nondestructive Determination of Sugar Content in Satsuma Mandarin using Near Infrared (NIR) Transmittance, *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, **62**, 465-470 (1992).
- 13) Kawano, S. and Abe, H., Development of a calibration equation with temperature compensation for determining the Brix value in intact peaches, *J. Near Infrared Spectrosc.*, **3**, 211-218 (1995).
- (平成 15 年 11 月 4 日受付, 平成 16 年 2 月 26 日受理)
-