

光の指紋（蛍光指紋）による食品成分と危害物質の可視化

Visualization of Food Ingredients and Food Safety Hazards using Fluorescence Fingerprint

(独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品工学研究領域

National Food Research Institute, Food Engineering division

計測情報工学ユニット 杉山純一

Instrumentation and Information Engineering Laboratory, Junichi Sugiyama

1. 蛍光指紋（励起蛍光マトリクス：EEM）とは

近年のセンサ技術とコンピュータの進展は、我々の身の回りに大きな変化をもたらしている。センサ技術は、コスト低下とともに、検知精度が飛躍的に向上し、コンピュータは演算速度が昔の大型コンピュータを遙かに超え、また、メモリのコストは下がり、ほとんど記憶媒体のコストは無視できるくらいになっている。これらの進展をうまく利用すれば、食品の計測分野にもイノベーションともいえる技術革新をもたらす可能性がある。

我々は、これらを背景に、従来の「蛍光」を、「蛍光指紋（励起蛍光マトリクス）」に発展させ、さらに新しく「蛍光指紋イメージング」という技術の開発を行っている。その基本的なストラテジーは、1) “感度”の高い蛍光を活かし、2) 多重計測により得られる情報量を増やし、3) コンピュータの演算能力をフルに活かして多変量解析あるいは網羅的解析によるデータマイニングを行うことを特徴とし、これまで不可能であった様々な判別あるいは定量を実現することにある。また、この方法を画素単位の多点計測に展開して、見えない成分や物質の分布を可視化する蛍光指紋イメージングも現実的に可能になりつつある。（図1）

図2に示すように、本研究は、蛍光指紋を試料の構成成分に由来する固有の情報であることから、個体を特定する「指紋」の役割を果たすものと考え、蛍光指紋

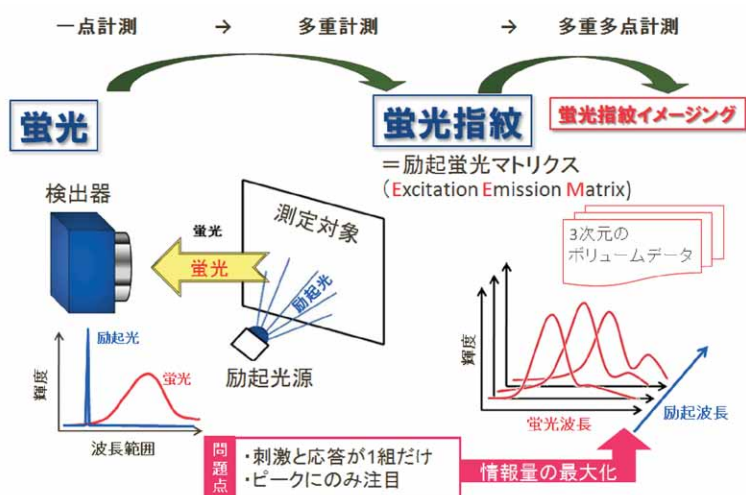


図1 蛍光から蛍光指紋へ

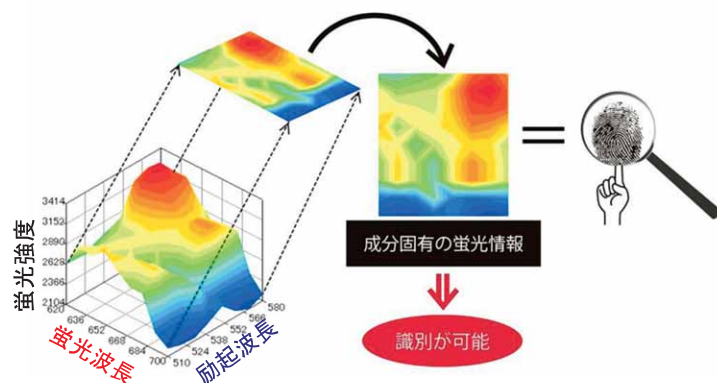


図2 蛍光指紋の特徴

により様々な食品の産地判別や加工履歴の判別、あるいは特定物質の定量を試みるものである。従来の「蛍光」は、蛍光強度の高い頂点のみの情報を用いているが、蛍光指紋は頂点のみならず裾野の広がり方を含め全ての情報を用いる。そのため、通常の蛍光測定と同様に非破壊・非接触で試料を測定できるだけでなく、従来法よりも高精度な成分判別や定量が期待される。この蛍光指紋技術を活用した一例として、そば乾麺におけるそば粉割合の推定、マンゴーの産地判別、小麦かび毒の非破壊定量、パン生地のみキシング時におけるグルテン・デンプンの可視化、清浄度（ATP）の可視化などの研究成果を紹介する。

2. そば乾麺におけるそば粉割合の推定¹⁾²⁾

最初に、小麦粉だけからなるモデル試料で、そば粉混入割合の推定を行った結果、バリデーション（検証用試料）においても $R^2=0.99$ という非常に高い精度で推定できた¹⁾。このように、原理的に推定可能であることを確認した上で、市販のそば乾麺 96 点を収集し、そのうち 45 点をキャリブレーション、51 点をバリデーションで推定したのが、図 3（上）である。市販のそば乾麺には様々な副原料が含まれているものがあり、それによる蛍光指紋のパターンの違いは明かに異なり、推定精度への影響は著しいと考えられたので、蛍光指紋パターンの異なる海藻、増粘多糖類、山芋を除外した結果、図 3（下）のような良好な結果が得られた。従って、精度よく推定するには、異なる副原料を考慮してキャリブレーションをすることで、実用的な判別が可能になると推察された。

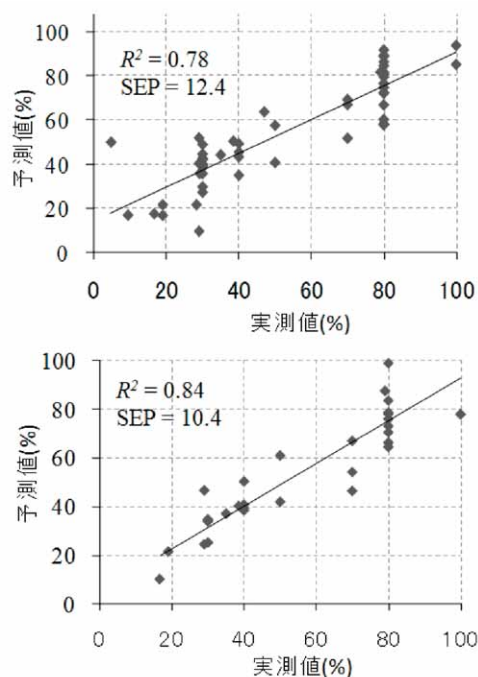


図 3 そば粉割合の推定
上：検証用試料 51 点、下：副原料で除外した残り 30 点

3. マンゴーの産地判別³⁾

宮崎産マンゴーがブランドとして確立され、それを偽装した台湾産マンゴーが市場に出回って問題になった。蛍光指紋は、これまでにない詳細な蛍光特性が含まれ、そこには、様々な物質の化学特性、物理特性が反映されている。従って、その中から、判別に必要な情報を探索することで、宮崎、沖縄、台湾の 3 つの産地の判別を行った。図 4 は、蛍光指紋として計測された 2063 点にわたる輝度値パラメータを正準判別分析にかけ、プロットしたものである。3 つの産地は、ほぼ判別されているのがわかる。また、蛍光指紋は、果肉部分より、表皮部分における情報の方が判別に有効なことが明かにされ、天候や外的環境条件がなんらかの形で表皮に表れているのではないかと考えられた。

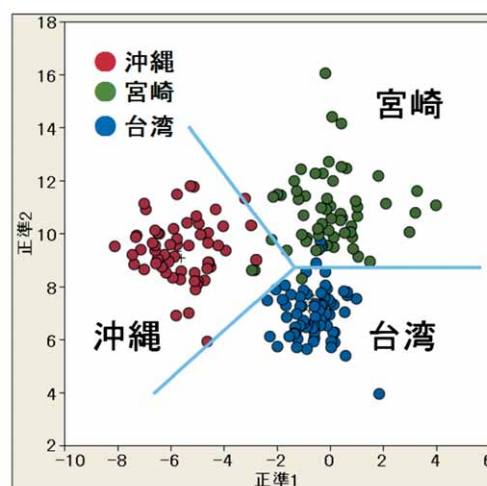


図 4 マンゴーの産地判別

4. 小麦かび毒の非破壊定量計測⁴⁾⁵⁾

デオキシニバレノール

(Deoxynivalenol, DON) は、特に小麦やトウモロコシ類において、赤カビ病菌が産生するカビ毒の一種である。DON の汚染は、穀類の収量・品質低下を招くばかりでなく、汚染穀物を摂取したヒトや動物に嘔吐、下痢、頭痛などの有害作用を示すため、世界中で重大な問題となっている。通常は、公定法

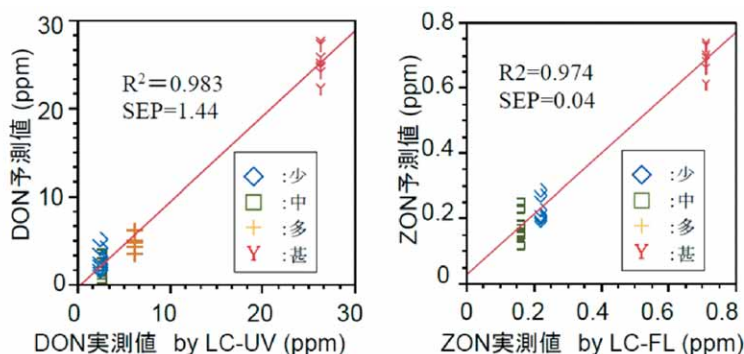


図5 かび毒の非破壊定量推定

で定められた化学分析にて定量されるが、非常に煩雑な前処理を必要とし、時間もかかるため、現場で使いやすい検知手法が望まれている。現場での簡易スクリーニングを目的として、粉体の状態（小麦粉）で、蛍光指紋を計測することにより、定量測定を試みた。図5は、DON および ZON（ゼアラレノン、やはり小麦に発生するかび毒の一種）の自然汚染粒に対する化学分析値と蛍光指紋による予測値の検証結果（バリデーション試料）であり、DON は ppm、ZON は ppb オーダーの定量が蛍光指紋で可能なことが明らかになった。従来から、蛍光は、精度よく検知でき様々な分析装置にも使われているが、1点での励起波長よりも、複数の励起波長に対する応答情報（＝複数の蛍光スペクトル）を使うことで、精度がさらに上げられることを示した好事例といえる。

5. パン生地のみキシング時におけるグルテン・デンプンの可視化⁶⁾⁷⁾

蛍光指紋を各画素毎に取得できれば、画素毎に判別結果をカラーマッピングすることにより可視化技術へと発展させることができる。

図6は、そのような可視化を目的として画素単位で蛍光指紋を取得するために開発した蛍光指紋イメージング装置である。

光源の直後と CCD カメラの直後にフィルタ・ホイールを設置し、試料に照射する励起光と観察する蛍光のそれぞれの波長を PC で制御しながら、CCD カメラを通じて画像を取得する。設定した波長条件の数だけ、蛍光画像を撮像後、画素毎に輝度値を収集すればその画素における蛍光指紋が再構築できる。グルテンとデンプンの純品の蛍光指紋を事前に計測しておけば、それぞれの蛍光指紋との類似度を各成分の存在量という仮定のもとに、色をマッピングすることで可視化ができる。（図7）

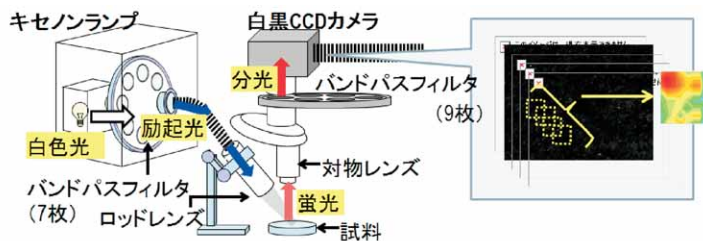


図6 蛍光指紋イメージング装置

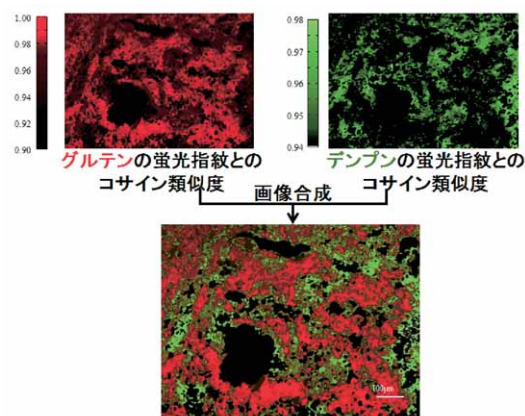


図7 類似度によるグルテンとデンプンの可視化

6. 清浄度（ATP）の可視化

工場での清浄度確認には、ATP の蛍光検知による拭き取り検査がもっぱら使われている。この場合は、試薬を介して蛍光を測らねばならないが、蛍光指紋により直接、ATP 量を推定できれば、前述のイメージング装置により、清浄度の可視化が可能となる。図 8 は、その一連の流れを示したもので、ステンレス上に既知の濃度の ATP を滴下し、乾燥させた後に、蛍光指紋で濃度推定を行ったところ、高い精度で ATP 濃度が推定できた。次に、蛍光指紋イメージング装置で、中濃度の ATP で「A」という文字を描き、乾燥後に蛍光指紋イメージングで可視化を試みたところ、もとの「A」がきれいに再現できた事例である。今後、さらに研究推進を図って、実用レベルに持っていくことが期待される。

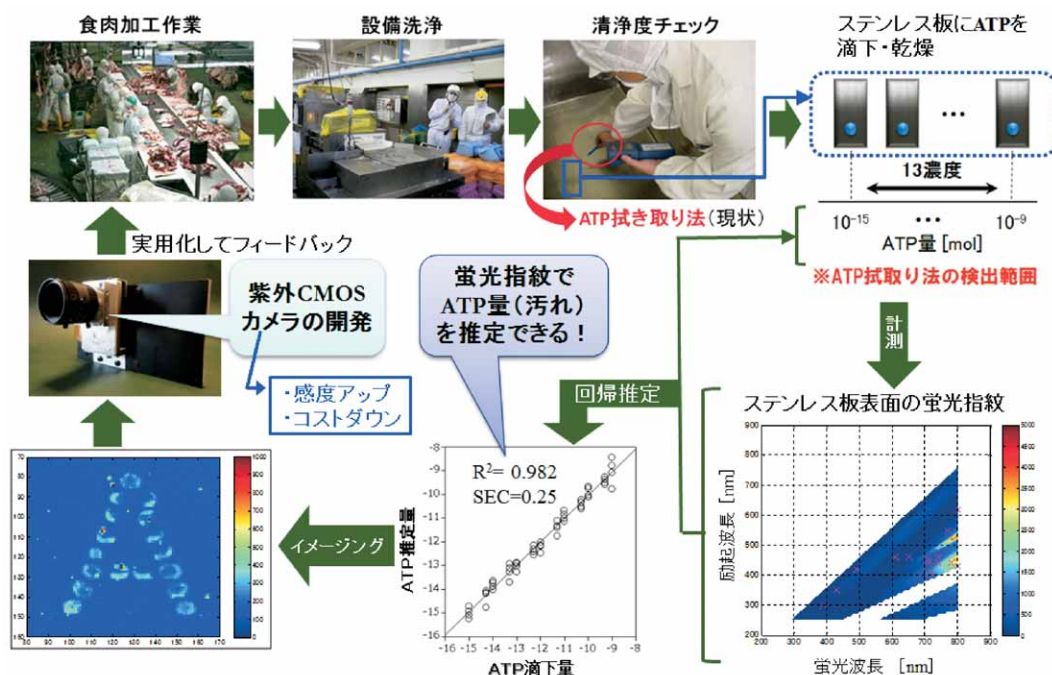


図 8 ステンレス表面における清浄度（ATP 濃度）の可視化

7. 今後の展開

蛍光指紋は、非破壊・非接触で計測でき、その情報量は膨大なものであるが、成分特有情報が含まれているため、食品における判別や可視化に有用な手段となりうる。今後は、精緻な 1 点計測と空間情報を伴ったイメージング計測を使い分けながら、食品分野において実用的に使える応用事例の展開を進める予定である。

8. 参考文献

- 1) 杉山武裕 他：日本食品科学工学会誌, **57**(6), 238-242(2010)
- 2) M. Shibata et al. : Biosci. Biotechnol. Biochem., **75**(7), 1312-1316 (2011)
- 3) 中村結花子 他：日本食品科学工学会誌, **59**(8), 387-393 (2012)
- 4) 藤田かおり 他：日本食品科学工学会誌, **58**(8), 375-381 (2011)
- 5) 藤田かおり 他：農業情報研究, **21**(1), 11-19(2011)
- 6) M. Kokawa et al. : Biosci. Biotechnol. Biochem., **75**(11), 2112-2118 (2011)
- 7) M. Kokawa et al. : Journal of Cereal Science, **55**, 15-21 (2011)