

## ラマン分光法による農産物の計測技術

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者	大久保, 優晴
巻/号	24巻9号
掲載ページ	p. 12-16
発行年月	2001年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## ラマン分光法による農産物の計測技術

大久保 優 晴

日本分光株式会社

ラマン分光法は、レーザー、検出器などラマン分光を行うための周辺機器の発展に伴い、装置の小型化・高感度化が進み、操作性の向上と共に、その測定対象が急速に広がりつつある。ここでは、ラマン分光法および最近の装置的な発展についての紹介と、農産物への応用として水稲種子の発芽特性とラマンスペクトルの相関について検討した結果を紹介する。今後、ラマン分光法の持つ、微小領域の非破壊測定という特長を生かした応用範囲の拡大が期待される。

### 1. はじめに

農産物の分光分析は、紫外・可視・近赤外および赤外領域など様々な波長帯域で行われているが、ここでは、ラマン分光法を用いた計測技術について述べることにする。ラマン分光法のもつ有用性は、赤外分光法と同様、官能基レベルの分析法として広く知られているが、操作性、感度などの装置的な問題のために、農産物への実用的な応用は限られていた。近年、装置の小型化に伴う操作性の向上、さらに新しい測定技術の開発が進み、有用な情報を簡便に取り出せるようになってきた。ここでは、ラマン分光装置の最近の発展および農産物への応用例について述べる。

### 2. ラマン分光法および装置構成

ラマン分光法は、試料表面からの光散乱を測定するため、特別な前処理やサンプリング技術を必要とせず、非破壊で測定できるという特長がある。また、測定用プローブとしてレーザーを用いているため、微小領域の測定が可能となる。

その分析手法を簡単に述べると、測定対象にレーザーを照射し、試料から散乱されるラマン散乱光を集光・分光することにより、ラマンスペクトルを測定し、そのスペクトルを解析することにより定性・定量分析を行っている。ラマンスペクトルは、物質固有のパターンを示すため、成分の同定に用いたり、測定部位における含有成分の強度比から、含有成分の分布に関する情報を得ることができる。また、発芽過程における成分の移動など、動的な変化を追跡することも可能である。

ラマン分光法の大きな特長は、ラマンスペクトルが、励起レーザー波長からのシフト量として観測されることである。したがって、紫外・可視域から近赤外域の励起レーザー波長を選択することにより、ラマン散乱測定の妨害となる蛍光を回避したり、共鳴ラマン散乱を利用して、微量成分の検出が可能になる。実際、ラマン分光装置は、レーザー技術の進歩、各測定波長領域における分光技術および高感度検出器の進歩と密接に関連しながら発展してきている。

最近のシステムでは、励起レーザーとしてLD励起の固体レーザーおよび電子冷却式CCD検出器を採用することにより、従来の装置に比べて、操作性が著しく向上すると共に、スルー

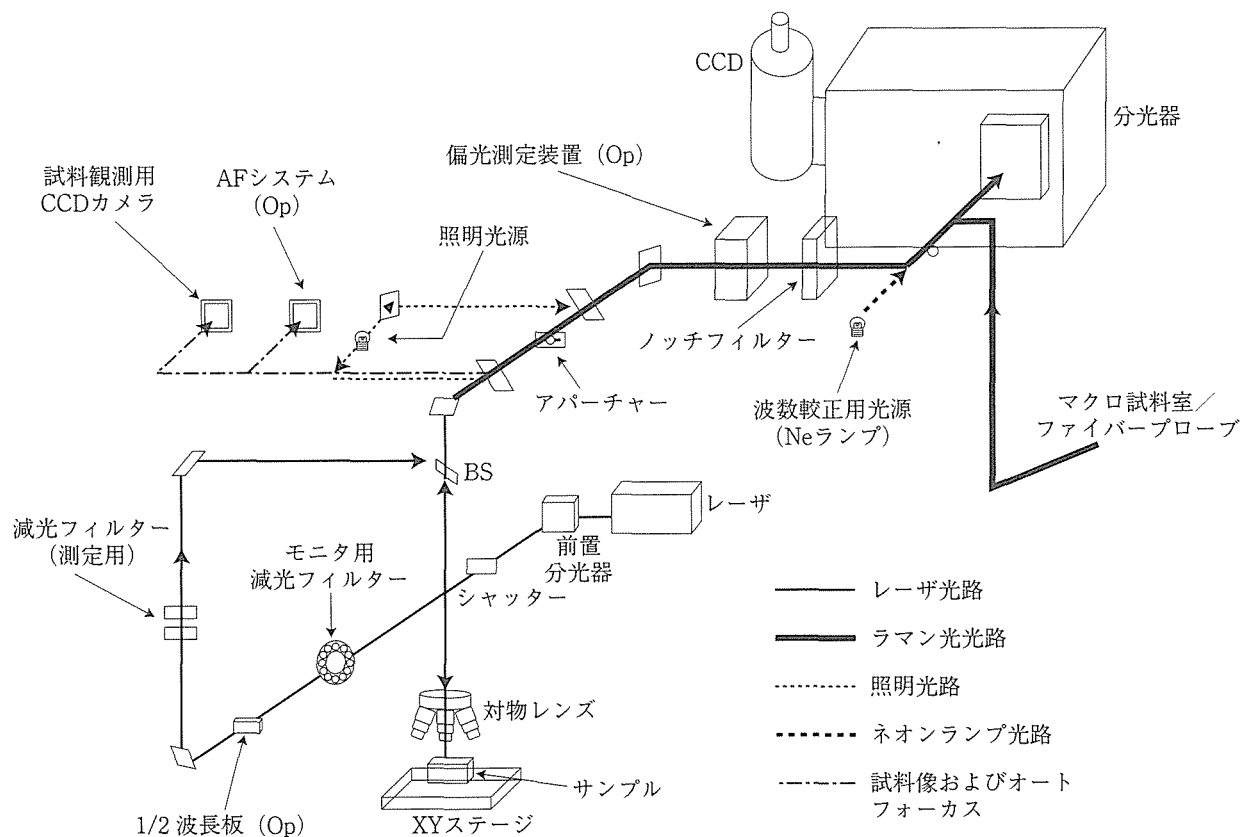


図1 NRS-1000型ラマン分光光度計の光学装置

プットの高い光学系により、高感度かつ迅速な分析が可能になっている。ラマン分光装置の概要を図1に示す。

一見、複雑な光学系に見えるが、光学系の切換えは、すべてコンピュータ制御になっており、操作は、モニタ上で、試料をセットし、測定部位を指定するだけである。インターロック機構により、レーザーが外部に漏れることはなく、安全性に関して、十分留意されている。最近では、レーザー照射部および集光部を一体化した、ファイバー型プローブも開発され、測定環境の自由度も広がり、高温・高圧下など様々な環境下での測定などにも、柔軟に対応することができるようになってきている。図2にファイバー型プローブを用いたポータブルラマン分光光度計 (RMP-200型) を示す。

また、これまで、可視域のレーザー励起により、蛍光を誘起するような試料では、蛍光が妨

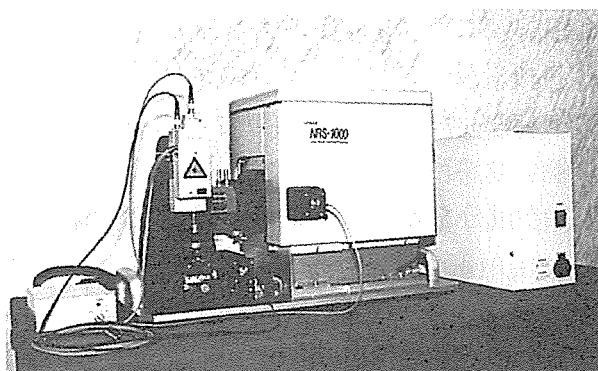


図2 RMP-200型ポータブルラマン分光光度計

害となり、ラマン測定は、非常に困難であったが、蛍光回避のため、励起光源として、近赤外域のYAGレーザー (1064nm) を用い、分光システムとしてフーリエ変換型分光光度計を用いたFTラマン分光光度計も開発されており、応用範囲が拡大すると共に、測定目的に応じて、最適なシステムを選択することが可能になっている。実際、農産物の場合、可視レーザー励起

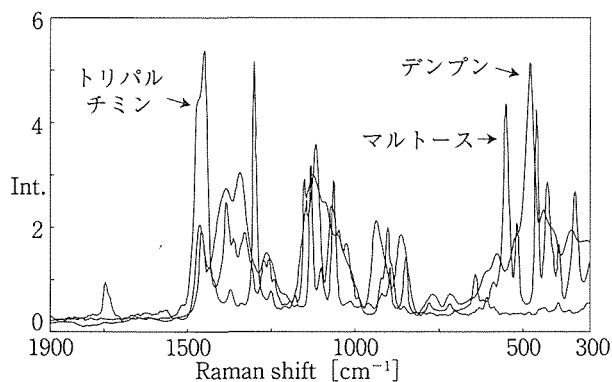


図3 コメのデンプン、糖類（マルトース）、脂肪類（トリパルチミン）のラマンスペクトル

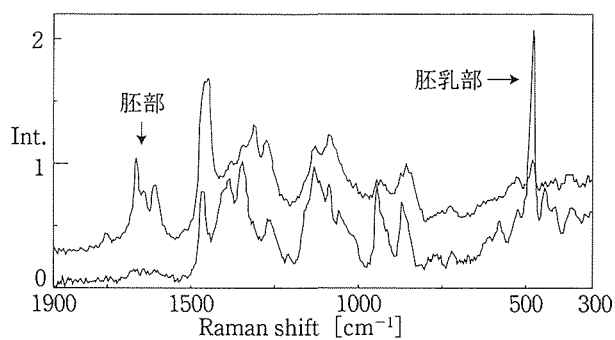


図4 水稻種子の胚部および胚乳部のラマンスペクトル

では、試料から蛍光を誘起する可能性が高く、半導体レーザー（785nm）を用いた測定システムあるいはFTラマンが有効な測定法になる。

### 3. ラマン分光法の農産物への応用

#### 1) ラマンスペクトルの測定例

典型的なラマンスペクトルの例として、米の含有成分である炭水化物（デンプン、糖類）、および脂肪類のラマンスペクトルを図3に示す。

各成分に特長的な官能基に着目することにより、成分の分布を測定することが可能になる。加熱・冷却など外部刺激に対する応答を分析する際にも、特定の官能基に着目することにより、各主要成分を独立に評価できるという利点がある。

#### 2) 水稻種子の胚部の分析

水稻種子の胚部および胚乳部のラマンスペクトルを図4に示す。測定は、籾殻を取り外した状態で、専用ホルダーにセットし、胚部あるいは胚乳部に直接、レーザー光を照射することにより行う。赤外分光法では、サンプリングの前処理が必要となり、微小領域での非破壊測定という点においては、ラマン分光法は、非常に有力な分析手法となる。胚乳部と胚部のラマンスペクトルを比較すると、明らかに違いが認められる。各ラマンスペクトルの特徴的なバンドに着目すると、胚乳

部の主成分は炭水化物であり、胚部はタンパク質と脂質が主成分と考えられる。

とくに、胚部に観測された $1600\sim 1660\text{cm}^{-1}$ のバンドは、タンパク質および脂質に関連したバンドと考えられる。この胚部に特徴的な $1600\sim 1650\text{cm}^{-1}$ バンドは、発芽特性の異なる水稻種子によって、そのバンドパターンが変化することがわかった。コシヒカリとキヌヒカリの測定例を図5-(a)に示すが、 $1656\text{cm}^{-1}$ 、 $1632\text{cm}^{-1}$ 、 $1600\text{cm}^{-1}$ の3本のバンド間に相対強度の差があることが認められる。検体数を増やして測定を行い、その差が有意であることを確認した。

さらに、発芽特性の異なる種子を用いて、分析を行い、胚部のラマンスペクトルと水稻種子の発芽特性との相関についての検討を行った。測定に用いた水稻種子は、コシヒカリ（温暖地用、難穂発芽性）、キヌヒカリ（温暖地用、易穂発芽性）さらには397（寒冷地用）、ヒノヒカリ（暖地用、難穂発芽性）の4種である。この胚部に特有なスペクトルパターンと種子特性の相関を見るために、パターン認識の手法である主成分分析（PCA）を行った。目的は、スペクトルデータ中に存在する共通因子の抽出および主成分得点の大きさによる試料の分類である。解析には、水稻種子4種、各4検体に対するラマンスペクトル（波数領域 $1500\sim 1800\text{cm}^{-1}$ ）を用いた。主成分分析の結果、得られた主成分スペクトルを図5-(b)に示す。また、各主成分スペク

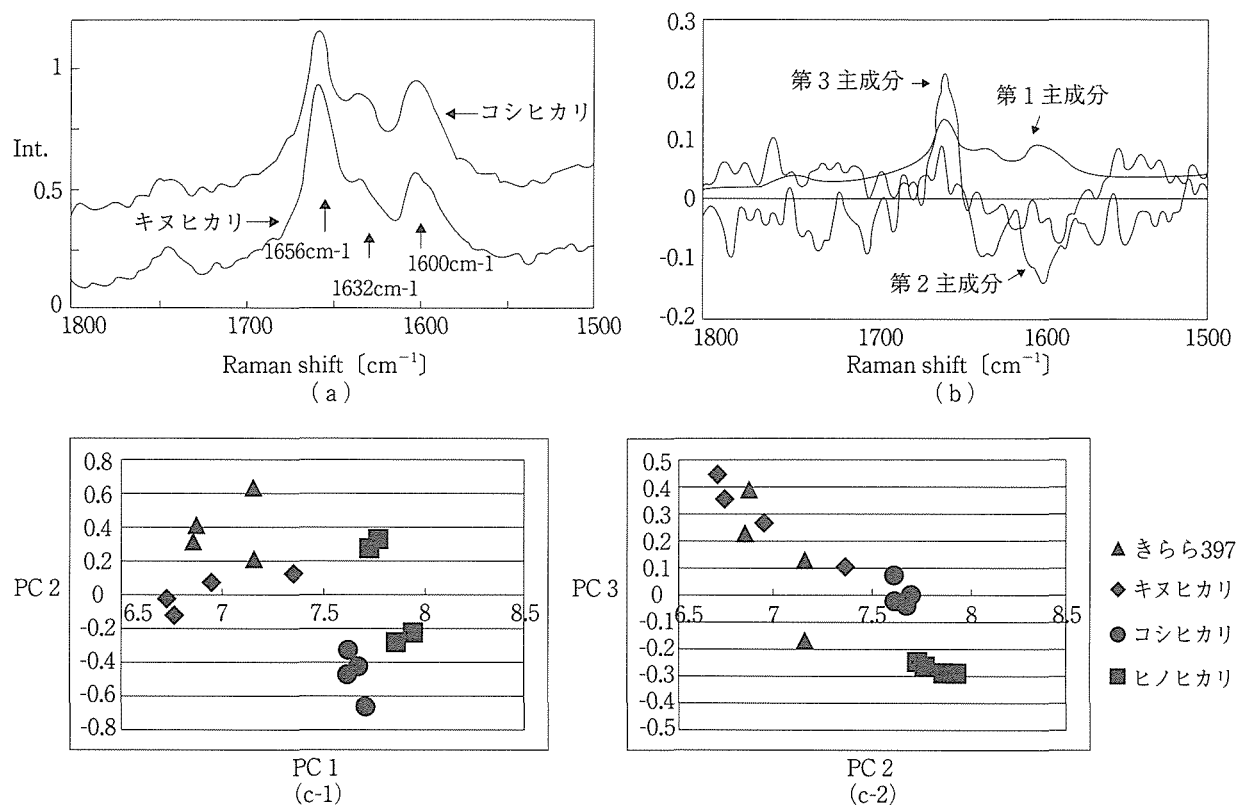


図5 水稻種子胚部のラマンスペクトルおよび主成分分析の結果

(a) コシヒカリおよびキヌヒカリの胚部のラマンスペクトル

(b) 主成分スペクトル

(c) 主成分得点プロット (1 : 第1主成分 x 第2主成分, 2 : 第1主成分 x 第3主成分)

トルに対する主成分得点プロットを図5-(c-1)および(c-2)に示す。

主成分分析の結果、ラマンスペクトルの変化として観測される胚部の成分の違いが、種子の特性と大きな相関があることがわかる。主成分得点プロットから、主成分スペクトル1の寄与が大きいほど難発芽性の傾向があり、主成分スペクトル3は、耐寒性に関係した成分の情報が含まれていると考えられる。定性的には、タンパク質成分、あるいは二次構造の違い、またタンパク質と脂質との結合状態に関する情報を反映していると考えられる。帰属に関しては、今後検討していく必要があるが、本分析結果から、胚部のラマンスペクトルから、種子特性の予測の可能性が示されており、非破壊計測による、種子特性の均一化、あるいは特定の発芽特性の持つ種子の選抜するための評価技術としての利用が考えられる。

つぎに、発芽過程における胚部の時間変化をラマンスペクトルによりモニタした測定例として、コシヒカリ胚部の水浸前と水浸後6時間後のスペクトルを図6に示す。成分に移動に関する情報が得られており、デンプンに特有の $480\text{cm}^{-1}$ の強度が増えていくと共に、 $1656\text{cm}^{-1}$ のタンパク質成分の減少が認められた。それに対して、 $1600\text{cm}^{-1}$ と $1632\text{cm}^{-1}$ のバンドは変化

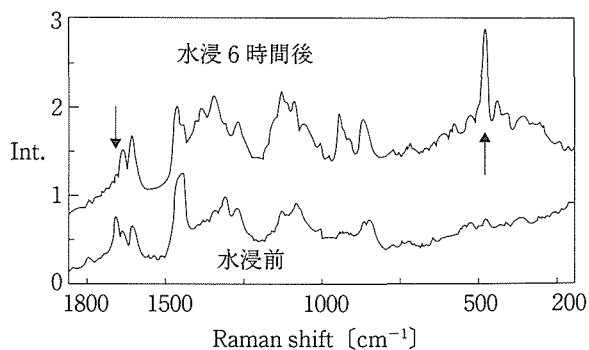


図6 水稻種子(コシヒカリ)胚部の水浸前後のラマンスペクトル変化

していないことがわかる。これは、各成分の水に対する溶解度の違いを反映していると考えられる。胚部成分のバンドの帰属を明確にする上でも重要な情報となる。

### 3) 水稻種子胚乳部の成分分布

特性の異なる水稻種子さらら、ヒノヒカリの胚乳部における成分分布の測定を行った結果を以下に示す。測定部位および各測定部位におけるタンパク質成分 ( $1656\text{cm}^{-1}$ ) とデンプン ( $480\text{cm}^{-1}$ ) の相対強度比分布を図7に示す。

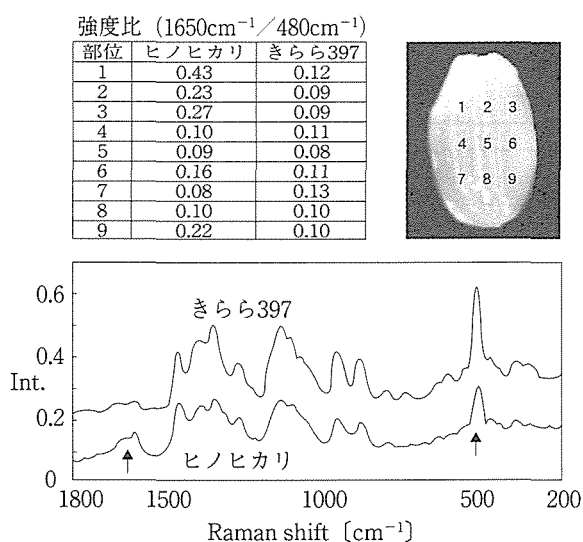


図7 胚乳部におけるタンパク質とデンプンの強度比分布

ヒノヒカリの方が、胚部周辺においてタンパク質成分の割合が多いこと、また、さらら397が、タンパク質とデンプンの分布に関しては、より均一な分布を示している傾向があることがわかった。

ラマン分光法により発芽特性の異なる水稻種子の分析した結果、胚部における成分の違い、また、胚乳部の主要成分の分布割合、その均一

性においても有意な差が認められた。

ラマン分光法は、農産物の分子レベルでの成分分析という、基礎的な研究に対しても有力な手法であるが、農産物の特性とラマンスペクトルの相関を用いた評価技術としての利用も考えられる。ラマン分光法は、分子の振動スペクトルに基づく官能基分析という点においては、赤外分光法と比較されるが、今回、紹介したような微小領域あるいは水の存在下での非破壊測定という点においては、ラマン分光法の方が有利になる。

### 4. おわりに

ラマン分光法は、微小領域の非破壊計測法として、非常に有力な手法であるが、これまで、その応用範囲は、無機材料、半導体分野が主な対象であった。農産物への応用が限られていた原因としては、試料からの蛍光の問題も大きな要因であったと考えられるが、従来の装置が、高分解能の大型ラマン分光装置が中心で、むしろ感度的な問題、あるいは操作の煩雑さの要素も大きかったと思われる。最近の装置的な発展により、蛍光回避、高感度化、ファイバースコープによる小型化が進み、ルーチン分析、あるいはフィールドでの計測も可能になり、農産物の計測手法としての環境が整いつつある。さらに、ラマン分光法の応用についても、水稻種子以外に、大豆、小麦への応用を広げていく予定である。赤外分光法と相補的に活用することにより、農産物の官能基分析における有力な計測技術になることが期待される。

〒192-8537 東京都八王子市石川町2967-5