

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14000

研究課題名(和文)特に中間赤外領域を中心とした超広帯域スペクトル計測に基づく植物健康診断法

研究課題名(英文)Plant Dock: Plant physical check-up system using wide-band optical imaging

研究代表者

齊藤 保典 (SAITO, Yasunori)

信州大学・学術研究院工学系・教授

研究者番号：40135166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：植物生育状況を判断するための光スペクトル計測技術に関する研究を行った。特に「中赤外」スペクトルを中心にして、X線からテラヘルツまでの超広帯域スペクトル計測に関する研究を行った。

セラミックヒーター中赤外光源、共焦点結像系、空間冷却フィルタとテルル化水銀カドミウム検出器からなる検出システムを新規に開発した事で、超広帯域スペクトル計測システムが完成した。レッドロビン、アオキ、クヌギなどの葉を用いた実験により、葉構造、光合成活性、水分含有量、葉面温度の指標等に関する生理生態情報を画像として表現することができた。植物健康診断に向けた基盤技術を確立した。

研究成果の概要(英文)：We developed a plant monitoring system based on optical technique which could cover a wide spectrum region from X-ray to Terahertz, named a ultra-wide-band spectral(UWBS) monitoring system. A mid-infrared spectrum (MIFS) monitoring system was newly developed and built into the UWBS monitoring system. The MIFS monitoring system was consisted of a ceramic-heater as an MIF source, a confocal imaging system and a HgCdTe detector with a peltier-cooled spatial filter. System performance was investigated by monitoring spectrum of some plant leaves (REDROBINI, AOKI, KUNUGI and others). Plant physical information as leaf inside structure in X-ray and physiological information such as photochemical reflectance in visible, water content in near-infrared and Terahertz, and leaf-surface temperature in thermal infrared. Through these experiments, technological basics of a plant health diagnosis was established.

研究分野：光情報計測

キーワード：植物計測 超広帯域 スペクトル 健康診断

1. 研究開始当初の背景

持続可能な社会形成においては、植物の生産能力を取り入れた工業技術が、将来必ず必要になる。有機物質を毎年確実にかつ大量に生産するのは植物以外に見つからないからである。そのためにはまず、採取や薬品処理等の破壊手法では不可能な、植物生理機能の“生”情報を、精密に計測し正確に評価する手法の開発が重要である。従来、非破壊植物計測技術においては電磁波計測が基本となって進められてきたが、植物体内有機物の情報を多く含むとされている中間赤外域での計測技術開発が遅れている。近年ポストゲノムとしての形質表現解析の研究が盛んになりつつある状況で、構造と生理情報の融合情報を提供可能な計測技術やシステム開発が強く望まれている。

2. 研究の目的

最終目標を「植物ホスピタルの実現」に置き、その中で本研究の役割を中間目標としての「非侵襲植物健康診断の確立」の中の「植物生体情報抽出に関わるスペクトル計測基盤技術の確立」とする。

3. 研究の方法

X線からテラヘルツまでの連続的なスペクトル計測が可能なシステムを開発し、植物の超広帯域スペクトル特性データから植物生理機能の“生”情報を取得する。次に、広帯域スペクトルの中から植物生理情報の抽出を行い、健康診断の指標を作る。概念設計を図1に示す。

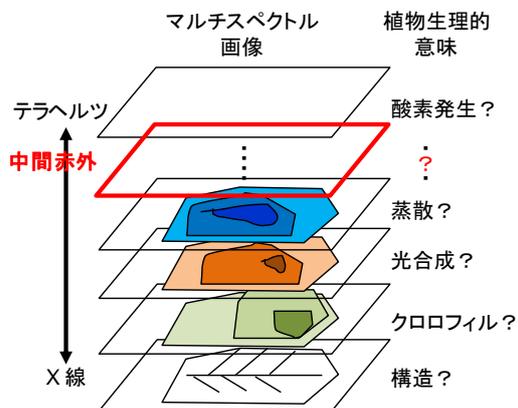


図1 広帯域スペクトル植物生理情報抽出による植物健康診断の概念。

(1) 超広帯域スペクトル計測装置の準備

- ① X線、可視、近赤外、熱赤外、テラヘルツ計測装置
基本的には、申請者や申請者研究機関で保有している装置を用いる。またはその改良により準備する。
- ② 中間赤外域スペクトル計測装置の試作
中間赤外域は分子の指紋領域と呼ばれているため、本研究において重要な意味

を持つ。しかしながら、中赤外カメラは非常に高価であり、残念ながら常時使用出来る状況にはない。本研究では製作を試み実用化の目途をつける。

(2) スペクトルと植物生理状態との意味づけ

- 申請者等の先行実験や論文調査などにより、各スペクトル帯が有する植物生理情報を次のように想定した。
- ・ X線では透過強度が、植物(葉)構造の情報を有する。
- ・ 可視では反射スペクトルが、クロロフィル(緑色)を中心とした光合成等に関する生理情報を有する。
- ・ 近赤外では吸収スペクトルが、葉内水分含有量情報を有する。
- ・ 中赤外では吸収スペクトルが、生体成分情報を有する。
- ・ 熱赤外では表面温度情報が、蒸散作用等の活動情報を有する。
- ・ テラヘルツに関しては植物生葉に関する実験例が不足しておりトライアンドエラーを基本とするが、吸収スペクトルが水分情報を有する。

4. 研究成果

(1) 超広帯域スペクトル計測装置の完成
開発した装置の全体構成図を図2に示す。

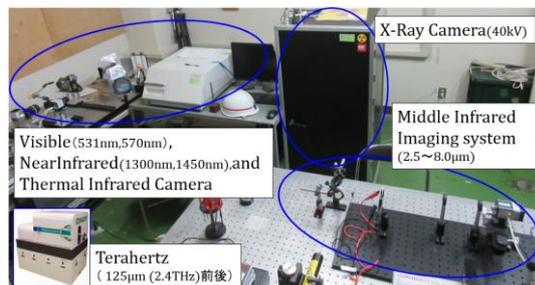


図2 開発した超広帯域スペクトル計測装置の外観(テラヘルツ計測装置は別室設置)。

① X線、可視、近赤外、熱赤外、テラヘルツ帯域

- ・ X線画像計測：デジタルX線装置(アールエフ Naomi; 加速電圧 40 kV, 630×630 pixels)を用意した。
- ・ 可視スペクトル画像計測：蛍光分光光度計(日立ハイテクノロジ; 200nm-800nm)を波長可変光源としデジタルカメラ(ビットラン BJ-40L・USET; CCD, 300-810 nm, 772×580 pixels)により画像化した。照射強度の面積拡大と面内強度の均一化のため、凹レンズと拡散版からなる照射光学系を自作で追加した。
- ・ 近赤外スペクトル画像計測：近赤外LED(1300 nm, 1450 nm)を光源にその葉からの反射光をデジタルカメラ(ARTRAY ARTCAM-008TNIR InGaAs, 960 nm-1670 nm, 320×x256 pixels)により画像化し

た。

- ・熱赤外面像計測:熱赤外カメラ (FLIR T250, 240x180 pixels, 7.5-13 μm , -20 to +350 $^{\circ}\text{C}$) を用意した。
- ・テラヘルツスペクトル計測:テラヘルツ分光解析システム (共和ファインテック IZNAGY 75 μm -300 μm) を用意した。

②中赤外スペクトル計測装置

新たに設計製作を行った中赤外スペクトル計測装置 (図3) について述べる。

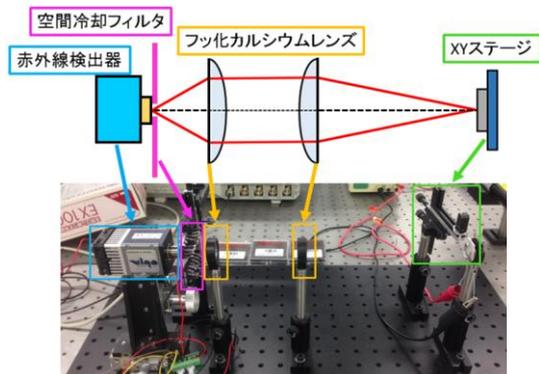


図3 開発した中間赤外域スペクトル計測装置.

a) 装置構成

・光源

植物生体構成物質である脂質、植物揮発性有機物質のメタンやピネン等の吸収を想定して、3 μm 近辺の中赤外光発生とした。金属セラミックヒーター (THORABS, HT24S, 20mm x 20mm) の温度設定により必要な波長を得る。図4は、メタンの吸収線3.3 μm を想定してウィーンの変位測より求めた黒体輻射エネルギーの波長特性である。セラミックヒーターの温度を878K (605 $^{\circ}\text{C}$) に設定すれば良いことがわかった。

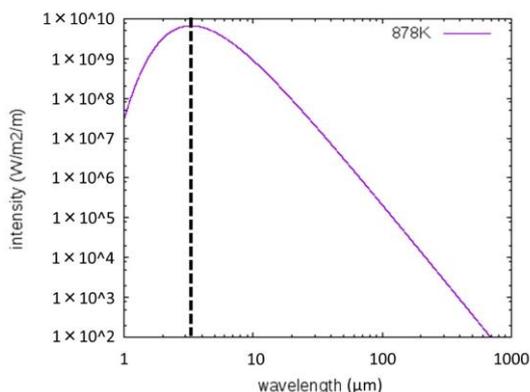


図4 セラミックヒーター温度特性計算結果.

・光学系

植物葉を精密微動が可能な二次元掃印台に設置した。光学系は対物側と結像側のレンズをいわゆる共焦点型に配置し、周囲からの散乱光の影響を排除する構成とした。対物側レンズの焦点距離を長

くする (20cm) ことで植物葉表面の凹凸の影響を受けスポットサイズが変化することを避ける、また対物側レンズの焦点距離を短く (4cm) して装置の小型化を図る等、の工夫を施した。レンズの材質は中赤外全域にかけて透過率の高いフッ化カルシウムとした。本材質は可視域でも同様の透過率を有するため、He-Ne レーザーを使用した光軸調整にも有用であった。

・検出系

中赤外線検出器には光起電力型水銀カドミウムテルル (MCT: Mercury Cadmium Tellurid) 検出器 (vigo, PVI-3TE-6-1 \times 1-T08BaF2) を用いた。光起電力型の検出器を用いたのは、検出部分に入ってきた光子によって動作するためにバイアス電圧を必要としないこと、感度の線形性が高いこと、の理由からである。波長感度領域は2.5-8.0 μm である。

・空間冷却フィルタ

周辺環境からの熱雑音の低減を図るため、結像側レンズと検出器の間に、空間冷却フィルタ (図5) を自作して配置した。ペルチェ冷却ユニットと直径約2mmの円形スリットから成る。検出器側に向けた冷却面側を約0 $^{\circ}\text{C}$ まで冷却する事により、フィルタ自体の熱由来の中赤雑音や周囲からの熱雑音を除去しつつ検出器の視野を絞るものである。

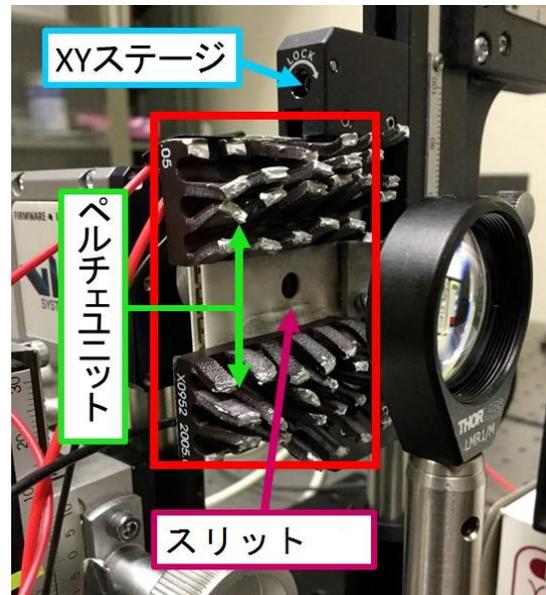


図5 空間冷却フィルタの外観.

・画像ソフトウェア

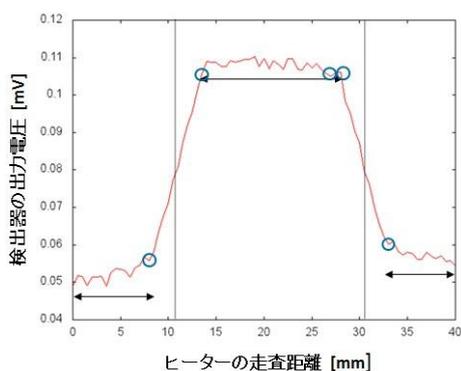
共焦点光学系では対物レンズの焦点に合った一点のデータのみが計測されるため、画像化のためのソフトウェアを作成した。赤外線検出器の出力をオシロスコープを用いて CSV ファイル形式で保存し、二次元掃引計測の各位置ごとに順番に並べる。次に各計測値の大小を比較し、最大値で比較した結果を

Gnuplot のカラーマッピングで色で重みづけして画像を作成した。言語は C を用いた。

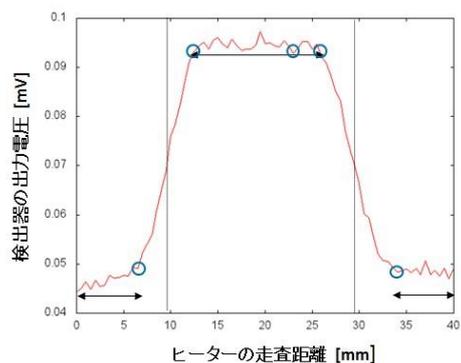
b) 基本動作特性

・空間分解能

まず空間冷却フィルタの円形スリットの位置調整を行い、結像側レンズの焦点と検出器面上に配置した後、中赤外スペクトル計測装置の分解能調査を次のようにして行った。XY ステージにセラミックヒーターを置き温度を 50℃に設定した。セラミックヒーターの背後にアイスノン置いてヒーターからの熱を遮断する事で、ヒーター部分とそれ以外の箇所とに境界を作った。この状態でセラミックヒーターを縦方向及び横方向に 0.5mm ずつ XY ステージを走査しながら MCT 検出器で計測を行い、それぞれの走査点における検出器の出力値を記録した。結果を図 6 に示す。出力値の半値幅から割り出した縦横方向での空間分解能はどちらも 2.5mm であった。葉の大きさにもよるが十分な分解能を有していると判断した。



(a)



(b)

図 6 空間分解能：縦方向 (a)、横方法 (b)。

・画像ソフトウェアの動作確認

セラミックヒーターの下半分を 10mm 四方の厚紙で覆い、セラミックヒーターの左上の位置から縦横 2mm ごとに計 132 点での計測を行った。図 7 に出力画像を

示す。背景 (アイスノン)、セラミックヒーター、厚紙部分の温度差が確認できた。これにより画像化プログラムは正常に動作しているものと判断した。

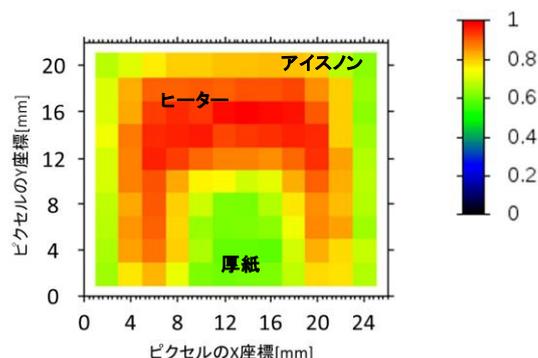


図 7 プログラムによる画像化。

(2) 超広帯域スペクトル計測結果

① X 線、可視、近赤外、中赤外、熱赤外計測結果

a) 試料

計測試料をレッドロビン葉に選んだ (8(a))。新芽時期に濃い紅色を呈し成長につれて緑色となる常緑広葉木小高木である。紅葉成分はアントシアニン、緑色成分はクロロフィルである事が知られている。レッドロビンでは両者の違いが明瞭に現れることから、成分情報を抽出し易いと考えた。また生垣や公園等の植栽樹として、私達の日常生活に広く溶け込んでいることも選定理由の一つである。

b) スペクトル計測結果

X 線計測結果は透過画像である。検出器より葉が大きく、位置をずらして撮影し合成して一枚の葉画像とした。可視スペクトル計測結果は反射画像である。光化学的分光反射係数 PRI を $(R531-R570)/(R531+R570)$ により求めた。R531 は 531nm での葉の反射係数を意味する (これ以降の表現も同様である)。

近赤外スペクトル計測結果は反射画像である。葉水分指数 LWI を $R1300/R1450$ により求めた。

熱赤外スペクトルは 7.5-13 μ m の熱輻射を温度で表現した。

② 中赤外計測結果

中赤外画像結果を図 9 に示す。ヒーター温度を 50℃とした時の透過画像である。図 4 で 3 μ m 周辺にピークを得るには温度を 878K (605℃) に設定すれば良い、と述べたが、熱による葉やレンズへの影響を考え 50℃での実験となった。

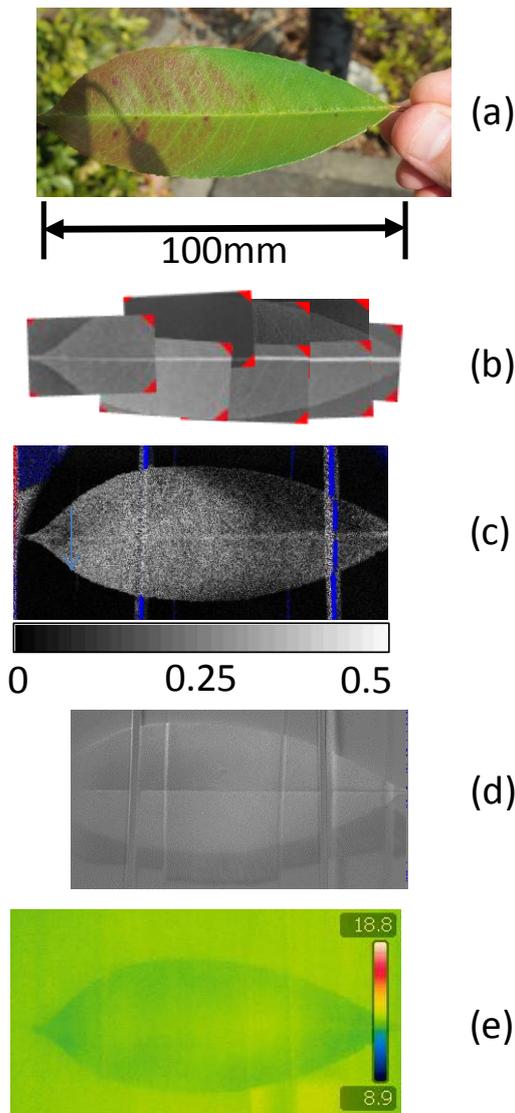


図8 試料およびスペクトル画像結果: 試料 (a)、X線画像(b)、可視画像(c)、近赤外画像(d)、熱赤外画像(e).

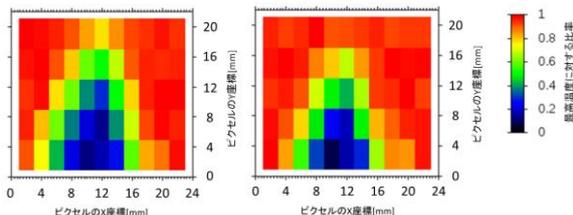


図9 中赤外画像結果: 採取直後(左)、3週間放置後(右).

③テラヘルツ計測結果

a) 試料: テラヘルツに関しては装置準備の都合上、初冬期での計測となったため、この時期に採集可能な、常緑樹のアオキ生葉と枯葉、広葉樹のクヌギ枯葉を選んだ。種類及び生理状態の差の情報抽出を試みた。試料は直径6mmの円形に加工後、真空チャンバー内で計測された。

b) スペクトル計測結果

図10にテラヘルツの透過強度より得ら

れたパワースペクトルと吸光度の計算結果を示す。四角で囲った部分での吸収が大きい。

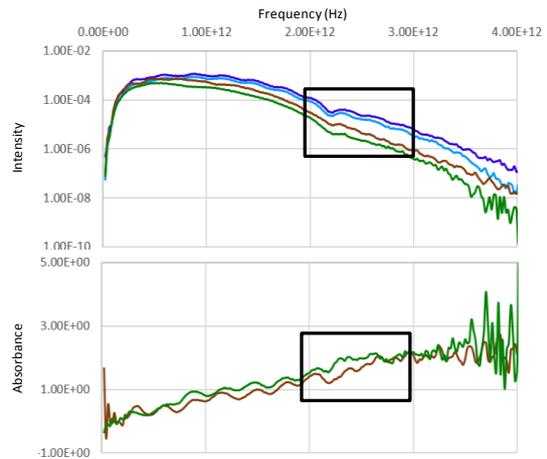


図10 テラヘルツ計測結果: パワースペクトル(上)(青と水色; 参照用ポリエチレン、茶; クヌギ枯葉、緑; アオキ生葉)、吸光度スペクトル(下)(緑; アオキ生葉、茶; アオキ枯葉).

(3) 考察

X線画像では葉脈構造が見えている。可視RGB画像でも葉脈構造が確認されるが、これは表面構造情報であり、X線画像は透過画像で内部構造を表していると考えた。葉内部の水分や金属元素成分に関する成分情報を担っていると思われる。現在のX線計測装置では単一エネルギー(40keV)であるため、元素成分の同定は行えないが、今後蛍光X線や元素同定用特種フトウェアの導入¹⁾等を考えていく。

可視スペクトルのPRI画像から、アントシアニン量とクロロフィル量との比とPRI値が良く対応していることが分かる。アントシアニン量が多い葉上部ほどPRI値が高い。PRIはキサントフィルサイクルの色素組成を検出する指標である事が知られており²⁾、光利用効率に関する画像が得られたものと考えている。

近赤外スペクトルのうち1450nmは水における強い吸収を示す波長で、1300nmはその参照波長で水吸収が弱い。つまりLWI値が大きいほど葉内水分量が多いことになる。結果としては、全体的に一樣の水分含有量であるが、葉先部分が若干少ないように見受けられる。ピクセル数が少ないため主葉脈以外の測脈や網状脈が表現できていない。

中赤外画像では、採取直後と水を与えず3週間放置しておいたものとを比較した。3週間後の画像では、葉周辺がセラミックヒーター部分の強度とほぼ同じになった。つまり透過率が上がったことを意味する。また、どちらも中心部に近づくほど透過率が下がった。吸収を与える葉内成分が葉周辺ほど減少し枯れた状態に近づいたものと思

われる。
熱赤外画像からは、全体的にほぼ同じ温度を示したが、葉周辺ほど室内温度に近く中心部分は若干高い値を示した。葉中心部ほど、熱蓄積効果が大きいと判断される。テラヘルツ計測では、緑葉の125 μ m(2.4THz)前後に吸収領域が見られた。水による吸収スペクトル³⁾と似ており、乾燥葉や枯死葉との区別が可能である。現在、テラヘルツ装置への二次元掃引機構の導入を行っており、テラヘルツでも画像化を進めていく。

5 まとめ

中間赤外域での植物画像スペクトル計測を中心として、超広帯域スペクトル計測装置を製作した。動作検証のため、植物葉を用いたスペクトル計測を実施し、実用に供する事を確認した。今後は環境変化シミュレーションとして「温暖化」や「砂漠化」などの条件下で生育させた植物試料を用いて、データ蓄積を進める。上記条件では、特に水ストレスに対する各スペクトル変化の計測になると考えているが、その基盤技術は本実験で確立済みである。

参考文献

- 1) W. Zhao & K. Sakurai, SCIENTIFIC REPORTS DOI:10.1038/srep45472.
- 2) H. G. Jones and R. A. Vaughan (久米篤, 大政謙次 監訳), 植生のリモートセンシング, 森北出版, 2013.
- 3) 碓 智文等, 日本赤外線学会, 第 18 卷 (2009) 11.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 齊藤保典, 片岡圭司, 西村 彬, 大谷武志, 富田孝幸, 児島祥平, 石澤広明, 亀岡孝治, 丸山次郎, 小平計美, (広帯域多波長画像の組み合わせによる植物健康診断システムⅡ), 第 64 回応用物理学会春季学術講演会, 2017. 03. 17, 東京
- ② 西村 彬, 片岡圭司, 富田孝幸, 齊藤保典, (植物の生理情報取得に向けた中赤外域分光画像装置の開発), 平成 28 年度 応用物理学会北陸・信越支部学術講演会, 2016. 12. 10, 富山市
- ③ 西村 彬, 片岡圭司, 富田孝幸, 齊藤保典, (植物の生理情報取得に向けた中赤外域分光画像装置の開発), 第 34 回レーザセンシングシンポジウム, 2016. 09. 08-09, 長野県野沢温泉村
- ④ Yasunori Saito, Vegetation fluorescence monitoring using a LIFS (laser-induced fluorescence spectrum) lidar, AgriBigData 2016, 2016. 07. 03-07,

Montopellie, France

- ⑤ 清野恵祐, 富田孝幸, 齊藤保典, (中赤外検出システムの開発), 平成 27 年度 応用物理学会北陸・信越支部学術講演会, 2015. 12. 12, 長野市

[その他]

ホームページ等

<http://www.cs.shinshu-u.ac.jp/~tomida/pukiwiki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊藤 保典 (SAITO, Yasunori)
信州大学・学術研究院工学系・教授
研究者番号: 4 0 1 3 5 1 6 6

(2) 連携研究者

亀岡 孝治 (KAMEOKA, Takaharu)
三重大学・生物資源学研究科・教授
研究者番号: 9 0 1 7 7 6 0 0