判別・定量のための蛍光指紋フィルタ設計法とその食品評価への適用 —ヨーグルトのリボフラビン含量推定を例に—

薦 瑞樹¹, 中内茂樹², 西野 顕², 杉山純一^{1*}

¹(独)農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所

²豊橋技術科学大学情報・知能工学系

A Novel Method for Designing Fluorescence Fingerprint Filters and Its Application to Discrimination and Quantification in Food Evaluation

Mizuki Tsuta¹, Shigeki Nakauchi², Ken Nishino² and Junichi Sugiyama^{1*}

¹ National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-12 Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

² Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology,
1-1 Hibarigaoka Tenpaku, Toyohashi, Aichi 441-8580

A novel method for designing fluorescence fingerprint (FF) filters was proposed by applying the band-pass filter (BPF) design method, which is based on 2-dimensional reflectance spectra data, and expanding this method to 3-dimensional data analysis. This method consists of two steps: 1) the conversion of FF data into sensor output, and 2) selection of optimal BPFs. In the former step, BPFs with various light transmission properties are assumed to be put in front of the excitation light source and fluorescence detector. Then, the fluorescence intensities when measured with the above mentioned BPFs are calculated from the original FF data. In the selection of optimal filters, the best BPFs with the highest prediction or discrimination power are selected. "Yogurt multi-way fluorescence data", in which FFs of yogurt samples had been measured under 225 different wavelength conditions, was used as a test data set for the proposed method. It was reported that partial least squares regression (PLSR) had been applied to the data set for the prediction of riboflavin content with root mean squared error of cross-validation (RMSECV) of 0.092 ppm. When the proposed method was applied to this data set with 3 or 4 variables, better prediction results were obtained with RMSECV of 0.081 or 0.074 ppm, indicating the potential of the proposed method for more accurate FF analysis with smaller number of wavelength conditions than conventional methods.

(Received Oct. 18, 2011; Accepted Dec. 13, 2011)

Keywords : Excitation-Emission Matrix, Fluorescence Spectroscopy, Optimization, Multivariate Analysis, Chemometrics

キーワード : 励起蛍光マトリクス, 蛍光スペクトル, 最適化, 多変量解析, ケモメトリクス

蛍光指紋 (Fluorescence Fingerprint)^{1)~4)} は, 励起蛍光マトリクス (Excitation Emission Matrix) と呼ばれ, 試料に照射する励起波長と試料から発する蛍光の観測波長を変化させながら, 試料の蛍光強度を計測して得られる. 蛍光指紋は励起波長, 蛍光波長および蛍光強度の3軸からなる等高線状の3次元データであり, そのパターンは成分に固有である. 蛍光指紋の特徴的なパターンは成分の「指紋」の役割を果たし, 成分特定に有効である. また, 従来の蛍光計測が多くても2, 3の励起・蛍光波長条件においてのみ行われているのに対し, 蛍光指紋計測は数百から数千の波長条件において行われ, 等高線のピークのみならず, その

裾野の高さや勾配といった膨大な情報が含まれている. そのため, 蛍光指紋は従来法で得られる蛍光データに比べて情報量が多く⁵⁾, その解析により微量成分の検知や定量も可能になると期待される.

蛍光指紋による食品計測の事例として, ヨーグルトにおけるリボフラビン含量の推定⁶⁾, 小麦粉とそば粉の混合割合推定^{7,8)}, カビ毒であるデオキシニパレノールの検知および定量^{9)~11)}, さらには, 蛍光指紋計測と画像計測を組み合わせた「蛍光指紋イメージング」による, 大豆の内部構造^{12,13)} やパン生地におけるグルテン・デンプンの分布の可視化¹⁴⁾ が挙げられる. 蛍光指紋の解析には, その膨大な情報量を活かすため, 主成分分析 (Principal Component Analysis: PCA)¹⁵⁾, 部分最小二乗回帰 (Partial Least Squares Regression: PLSR)^{16,17)}, PLSRを多次元データの解析に拡張したN-PLSR¹⁸⁾, 平行因

¹ 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

² 〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1

* 連絡先 (Corresponding author), sugiyama@affrc.go.jp

図1 分光フィルタ設計法におけるセンサ出力の算出方法

子分析 (Parallel Factor Analysis : PARAFAC)¹⁹⁾ 等の多変量解析手法が用いられることが多い。

これらの多変量解析手法は、蛍光指紋のような高次元データを、元データの持つ情報量を可能な限り保持しつつ数次元の潜在変数に変換し、これを定性・定量分析に用いることを特徴とする²⁰⁾。また、元データに含まれる情報を活かせるので高精度である、元データに含まれるノイズや外乱の影響が低減される、潜在変数のプロット等により元データの構造や分析精度を視覚的に評価できる等の利点がある²⁰⁾。しかしながら、蛍光指紋の計測には長時間を要する。例えば、杉山ら⁷⁾は5393波長条件における蛍光指紋の計測に8分以上を要したと報告している。したがって、蛍光指紋全ての情報を必要とする多変量解析手法は、製品ラインでの計測や画像計測への展開など、計測・解析共に迅速性が要求される分野で応用することが困難である。

一方、中内ら²¹⁾²²⁾は少数の広帯域干渉フィルタを用いて対象の定性・定量分析を行う際に、その精度が最適となるようなフィルタの分光特性を設計する手法を提案している(以下、分光フィルタ設計法とする)。この設計手法は、ごく少数の波長条件における情報のみを利用するステップワイズ線形判別分析²³⁾や重回帰分析²⁴⁾²⁵⁾とも、上述したような全ての波長条件における計測データを用いる多変量解析手法とも異なり、広範囲の波長帯における情報を含みつつ、計測条件をごく少数に抑えることができるという特徴を持つ。しかしながら、分光フィルタ設計法は波長および反射率よりなる2次元データである分光スペクトルのみを対象としており、そのままでは蛍光指紋の解析に用いることはできない。

そこで本研究では、分光フィルタ設計手法を3次元データの解析にも適用できるように拡張し、蛍光指紋の膨大な情報量を活かしつつ、少数の変数で、かつ高精度な定性・定量分析を行う手法を開発することを目的とした。また、開発した手法を、ヨーグルトの蛍光指紋およびリボフラビン含量のデータに適用し、本手法と従来の多変量解析手法によるリボフラビン含量推定の精度を比較することにより、その有効性を検証することとした。

実験方法

1. 理論

(1) 分光フィルタ設計法

中内らが提唱した分光フィルタ設計法²²⁾では、分光器やカメラ等のセンサに干渉フィルタを装着し、その際にセンサから出力される信号を用いて、対象の状態を判定する判別問題、あるいは対象の量を計測する定量問題を想定する。図1にセンサ出力算出方法の模式図を示す。試料の反射・吸収スペクトルを $S(\lambda)$ 、 i 番目のフィルタの透過特性を $T_i(\lambda)$ としたとき、このフィルタを装着した際のセンサ出力は図1(c)の塗りつぶし部分の面積に等しく、下記の式(1)で示される。

$$O_i = \int_{\lambda} T_i(\lambda) S(\lambda) d\lambda \quad (i=1, 2, \dots, n) \quad (1)$$

この出力 O_i を用いた判別あるいは定量の精度が最も高くなるよう、フィルタの光学特性を最適化するのが、分光フィルタ設計法の目的である。

図2に分光フィルタ設計法による分光フィルタの透過特性最適化のアルゴリズムを示す。まず、 n 枚のフィルタの透過特性をそれぞれ設定する。次に、対象のスペクトルを、フィルタを通して観察して得られるセンサ出力に変換し、この値を用いて判別問題の場合は判別関数を、定量問題の場合は検量線を作成する。さらに、判別関数あるいは検量線の精度を、誤判別率、決定係数、予測値の平均二乗誤差(Root mean square error of prediction : RMSEP)等の指標²⁶⁾を用いて評価する。上記の手順を繰り返し行い、最も精度の高くなるフィルタの透過特性を選択することにより、フィルタの透過特性を最適化することが可能である。

中内らは、上述の手法を路面凍結検知に応用し、その精度を検証した。具体的には、近赤外カメラに液晶チューナブルフィルタを装着したシステムを用いて、アスファルト上の水および氷の分光画像を計測し、水と氷を最も精度良く判別可能なフィルタの透過特性を算出した。この際、問題設定を単純化して計算量を減らすために、使用するフィルタの枚数を2枚に限定するとともに、フィルタの透過特性を下記のように定めた。

図 2 分光フィルタの光透過特性最適化アルゴリズム

$$T_i(\lambda) = \begin{cases} 1 (\lambda_{cut-in} \leq \lambda < \lambda_{cut-off}) \\ 0 (otherwise) \end{cases} \quad (i=1, 2) \quad (2)$$

すなわち，図 1 (b) に示すように，波長がカットイン波長以上カットオフ波長未満の場合は光を全て透過し，それ以外の場合は全て遮断するという特性である．これにより，波長特性の最適化は 2 枚のフィルタのカットインおよびカットオフ波長，すなわち 4 つのパラメータの最適値を求める問題に単純化された．以上の条件でフィルタの最適化を行ったところ，狭帯域透過フィルタ 2 枚を用いた従来法²⁷⁾²⁸⁾の誤判別率が 13.9% だったのに対し，分光フィルタ設計法で設計したフィルタ 2 枚を用いた場合は誤判別率が 0% になることが明らかとなった．また，一枚のフィルタの透過波長範囲（カットイン波長からカットオフ波長までの範囲）が，もう一枚のフィルタよりも広がるような，「入れ子型」の 2 枚のフィルタを組み合わせた際に，最も判別精度が高くなることが分かった²²⁾．

(2) 分光フィルタ設計法の 3 次元への拡張²⁹⁾

従来の分光スペクトルが 1 つの波長軸および輝度値から成るのに対し，蛍光指紋は励起，蛍光の 2 つ波長軸と蛍光強度からなる．また，分光フィルタを用いて蛍光を計測する場合，1 つの波長条件につき，励起側，蛍光側の 2 枚の分光フィルタが必要となる．そのため，中内らが提唱した分光フィルタ設計法に基づいて式 1 を用いても，分光フィルタを通して蛍光指紋を観察した際のセンサ出力は表現できない．そこで，本研究では，式 1 の右辺を二重積分に変えることによって拡張し，これをセンサ出力の算出に用いた．

$$O_i = \int_{\lambda_{ex}} \int_{\lambda_{em}} T_i(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) S_i(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) d\lambda_{ex} d\lambda_{em}$$

$$(i=1, 2 \dots n) \quad (3)$$

ここで， λ_{ex} は励起波長， λ_{em} は蛍光波長を指す．また， T_i において λ_{ex} により規定される特性が励起側の干渉フィルタ， λ_{em} により規定される特性が干渉側の光学フィルタに対応する．以下，式 3 によるセンサ出力の算出と，それに基づく分光フィルタの透過特性最適化を，「蛍光指紋フィルタ設計法」と呼ぶ．

2. 供試データ

本研究では Christensen ら⁶⁾ が Web ページ上¹⁾ で公開している Yogurt multi-way fluorescence data（以下「ヨーグルトデータ」とする）を用い，蛍光指紋フィルタ設計法に基づく定量分析の精度を検証した．以下，ヨーグルトデータの由来および Christensen らによるデータ解析について述べる．

Christensen らはポリラクテートとポリスチレンの 2 種類の容器に詰めたヨーグルトを 2 バッチ用意し，蛍光灯下および暗室内で 5 週間にわたり保存した．1 週間に 1 度試料を少量取り出し，蛍光指紋計測および AOAC 公定法に基づくリボフラビン含量計測を行った．蛍光指紋計測は励起波長範囲 270–550 nm，蛍光波長範囲 310–590 nm，波長間隔 20 nm の条件下で行われ，15×15=225 波長条件からなる蛍光指紋が得られた．以上により，(5 週間×容器 2 種×照明環境 2 種+初期サンプル 1 つ)×2 バッチ=42 個のデータが得られた．データに対して PLSR，N-PLSR および PARAFAC を適用して蛍光指紋からリボフラビン含量を予測する検量線を作成し，手法による予測精度の違いを交差検証法（Cross Validation：CV）³⁰⁾における決定係数（R²CV）と予測誤差（Root Mean Square Error of Cross Validation：RMSECV）によって比較した．その結果，PLS 回帰を用いた場合，R²CV=0.97，RMSECV=0.092 (ppm) となり，最も予測精度が高いことが明らかになった．

3. 蛍光指紋フィルタ設計法の適用

(1) 蛍光指紋からセンサ出力への変換

図 3 に，ヨーグルトデータに対する蛍光指紋フィルタ設計法適用の流れを示す．蛍光指紋フィルタ設計法は大きく「センサ出力への変換（図 3 左列）」と「最適フィルタの選択（図 3 右列）」の 2 つの過程に分かれる．センサ出力への変換においては，まず，蛍光指紋に式 3 を適用し，蛍光指紋をセンサ出力に変換した．この際，図 4 に示すように，励起側のカットイン・カットオフ波長 λ_1 および λ_2 ，蛍光側のカットイン・カットオフ波長 λ_3 および λ_4 を定め，式 4 に示すとおり，この範囲内の波長条件では光を全て透過し，それ以外では全て遮断するというフィルタ特性を設定した．

$$T_i(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) = \begin{cases} 1 (\lambda_1 \leq \lambda_{ex} < \lambda_2, \lambda_3 \leq \lambda_{em} < \lambda_4) \\ 0 (otherwise) \end{cases} \quad (i=1, 2 \dots n) \quad (4)$$

図3 蛍光指紋フィルタ設計法によるフィルタ特性の最適化手順

図4 蛍光指紋フィルタ設計法におけるカットイン・カットオフ波長の設定

ここで、設定可能なカットイン・カットオフ波長の組み合わせは、励起側、蛍光側それぞれ $15C_2=105$ 通りであり、全体では $105 \times 105=11025$ 通りであった。この全ての組み合わせについてセンサ出力を算出した後、励起波長が蛍光波長よりも大きい、すなわち蛍光が観察されない波長領域を含むデータを削除した。残った1820の組み合わせにおけるセンサ出力を1820条件における独立変数、ヨーグル

トデータにおけるリボフラビン含量の実測値を従属変数と見なし、以下の解析に用いた。

(2) 変数増減法および交差検証法による最適フィルタの選択

図3右列に示す最適フィルタの選択過程により、リボフラビン含量の推定に最適なフィルタ特性を探索した。まず、1820の独立変数のうち1つを選択し、リボフラビン含量を推定する重回帰式に必ず含まれるように固定した。次に、変数増減法³⁰⁾より重回帰式に含まれる変数を決定した。このとき、リボフラビン含量を推定する重回帰式は次のように示せる。

$$Y=a_0+a_1 \times O_p+a_2 \times O_j+a_3 \times O_k+a_4 \times O_l+\cdots \quad (5)$$

ここで、 Y はリボフラビン含量、 $a_0, a_1, a_2, \dots$ は回帰係数、 p は固定した変数の番号、 $j, k, l, \dots$ は変数増減法により選択された変数の番号を示す。続いて、交差検証法により重回帰式の推定精度を評価した。まず、42個のサンプルのうち最初のサンプルをテストサンプルとし、残りのサンプルを用いて、変数増減法により決定した変数により重回帰式を作成した。これをテストサンプルに適用して、リボフ

図 5 選択された変数の数のヒストグラム

図 6 変数の数とリボフラビン含量推定精度の推移

ラビン含量の実測値と推定値の誤差，すなわち RMSEP 算出した．この作業を全てのサンプルに対して繰り返し行い，RMSEP の平均値である RMSECV を算出した．上記の変数固定，変数増減法および交差検証法の作業を 1820 の独立変数全てに対して繰り返し適用し，それぞれの変数を固定した際に重回帰式に組み込まれた変数の組み合わせと RMSECV の値を記録した．固定する変数をどれにするかによって最終的に選択される変数の数は異なるため，選ばれた変数の数によって場合分けし，それぞれについて RMSECV が最小となる変数の組み合わせを選択して，これをリボフラビン含量推定に最適なフィルタ特性とした．なお，上述した解析には数値解析ソフト Matlab R2010b (The Mathworks, Inc.) および Matlab 用の多変量解析アドオンソフト PLS-Toolbox 5 (Eigenvector Research, Inc.) を用いた．

(3) 従来法との精度比較

変数増減法により選ばれた変数の数が 2, 3, 4...の場合それぞれについて，蛍光指紋フィルタ設計法による R²CV および RMSECV と Christensen ら⁶⁾ による PLS 回帰のそれとを比較し，その精度を検証した．

実験結果および考察

1. 最適フィルタの選択

図 5 に変数増減法により選択された変数の数のヒストグラムを示す．全部で 1820 の重回帰式のうち，変数の数が 1 つあるいは 8 つ以上となる場合はないこと，また変数の数が 3 つの場合が 1200 以上と最も多く，5 つ以上の場合ほとんどないことが明らかになった．また，図 6 に，示した通り，変数の数を 2 から 3 に増加させた際にリボフラビン含量の推定精度が大幅に向上し，その後は推定精度が大きく変化しないことが分かった．さらに，実際に干渉フィルタで試料の蛍光を計測する場合，励起側，蛍光側それぞれに変数の数だけフィルタが必要となるため，フィルタ製造のコストと，計測に際してのフィルタ交換の手間を考慮すると，5 つ以上の変数を用いるのは現実的ではない

と考えられた．そこで，変数の数が 2~4 の場合に限り，RMSECV が最も小さい変数の組み合わせ，すなわちリボフラビン含量の推定に最も有効なフィルタ条件を選択することにした．その結果選ばれたフィルタ特性を表 1 に示す．また，各フィルタが光を透過する波長範囲を蛍光指紋上に重ね合わせた結果を図 7 に示す．ここで，図 7 の点線枠内に示された番号は表 1 に記したフィルタ番号に対応しており，図中右下に記した数値は重回帰式における係数を示す．リボフラビンの蛍光スペクトルには，525nm 近傍に発光極大があり，その蛍光強度を用いてリボフラビンの分解程度を推定できるという報告がなされている³¹⁾．一方，図 7 より，リボフラビン含量の推定に有効なフィルタの透過波長範囲は，この蛍光ピークと一致しない範囲にも存在することが明らかとなった．これは，リボフラビン含量の推定に関連が深い情報が，蛍光ピークのみならず，その裾野の高さや蛍光ピークから離れた位置に点在する蛍光などの二次情報，三次情報にも含まれていることを示唆しており，蛍光指紋の計測および解析によりこれらの持つ膨大な情報が活かされた結果と考えられた．また，蛍光指紋が計測された励起波長 270-550nm，蛍光波長 310-590nm の範囲に比べて，各フィルタが光を透過する範囲は著しく小さく，蛍光指紋の計測に必要な波長条件を大幅に削減することも可能であることが分かった．具体的には，変数の数が 2, 3, 4 の場合に用いられた波長条件数は，それぞれ 10, 22, 18 であった．加えて，変数の数が 3 および 4 の場合は，中内らの報告と同様に，変数の数が同じ重回帰式の中では，「入れ子構造」を持つフィルタの組み合わせが有効であることが分かった．さらに，入れ子構造を成す 2 つのフィルタに対応する回帰係数の符号がいずれの場合でも正負反対となっていることから，スペクトルの差分によるベースライン変動の軽減³²⁾と同様の効果により，リボフラビン含量を精度良く推定可能になった可能性が示唆された．

2. 従来法との精度比較

図 8 に変数の数が 2~4 の場合のリボフラビン含量を推定する検量線を示す．変数の数が 2 つの場合は R²CV が 0.959，

RMSECV が 0.113 (ppm) で Christensen らによる PLSR に比べて精度が劣ったが、変数の数を 3 つあるいは 4 つに増やした場合、 R^2CV が 0.979 および 0.982、RMSECV が 0.081 (ppm) および 0.074 (ppm) となり、PLSR よりも推定精度が高くなることが分かった。以上の結果から、蛍光指紋フィルタ設計法をヨーグルトデータに適用することにより、蛍光指紋を計測する波長条件数を元の 225 から 18 あるいは 22 に縮減しつつ、PLSR よりも高精度にリボフラビン含量を推定可能なことが明らかとなった。また、表 1 に示したカットイン・カットオフ波長を持つバンドパス

フィルタを実際に作成すれば、3 あるいは 4 つという少数の波長条件における蛍光計測のみで、高精度にリボフラビン含量を推定することが可能になると考えられた。

今後の課題として、ヨーグルトデータ以外の蛍光指紋データに本手法を適用すること、また定量分析だけでなく判別分析にも用いることにより、その有効性を検証していくことが挙げられる。また、蛍光指紋フィルタ設計法に基づいて実際に干渉フィルタを作成し、それを用いた簡易・高速な分光蛍光測定システムの開発や、蛍光指紋イメージングに応用していくことが期待される。

要 約

本研究では、2 次元データである分光スペクトルを対象とした分光フィルタ設計法を応用し、かつそれを 3 次元データにも適用できるように拡張することにより、蛍光指紋の膨大な情報量を活かしつつ、計測波長条件数ごく少数に絞り、なおかつ高精度な定性・定量分析を行う蛍光指紋フィルタ設計法を提唱した。また本手法を Yogurt multi-way fluorescence data に適用したところ、計測波長条件数を元の 225 から 18 または 22 に減らしつつ、蛍光指紋解析の従来法である Partial Least Squares Regression よりも高精度にリボフラビン含量を推定可能であることが明らかとなった。今後は、本手法を蛍光指紋の新しい解析法とし

表 1 リボフラビン含量推定に最適なフィルタ特性

変数の数	フィルタ番号	カットイン・カットオフ波長 (nm)			
		λ_1	λ_2	λ_3	λ_4
2	1	390	430	470	490
	2	430	450	510	530
3	1	330	370	490	590
	2	330	370	510	530
	3	270	290	570	590
4	1	370	390	490	590
	2	370	390	510	530
	3	270	290	570	590
	4	270	310	570	590

図 7 最適なフィルタの光透過波長範囲

図 8 蛍光指紋フィルタ設計法に基づくリボフラビン含量の検量線

て活用していくこと、また本手法に基づいて実際に干渉フィルタを設計し、簡易分光蛍光測定システムや蛍光指紋イメージングに応用していくことが期待される。

文 献

- Sorrell, M. J., Tribble, J., Reinisch, L., Werkhaven, J. A. and Ossoff, R. H., Bacteria identification of otitis media with fluorescence spectroscopy. *Lasers in Surgery and Medicine*, **14**, 155-163 (1994).
- Werkhaven, J. A., Reinisch, L., Sorrell, M., Tribble, J. and Ossoff, R. H., Noninvasive optical diagnosis of bacteria causing otitis media. *The Laryngoscope*, **264**-268 (1994).
- Wolf, G., Almeida, J. S., Pinheir 104o, C., Correia, V., Rodrigues, C., Reis, M. A. M., Crespo, J. G., Two-dimensional fluorometry coupled with artificial neural networks : A novel method for on-line monitoring of complex biological processes. *Biotechnology and Bioengineering*, **72**, 297-306 (2001).
- 薦 瑞樹, 励起・蛍光マトリックス. 冷凍, **80**, 1068-1069 (2005).
- Sadecka, J. and Tothova, J., Fluorescence spectroscopy and chemometrics in the food classification - a review. *Czech Journal of Food Sciences*, **25**, 159-173 (2007).
- Christensen, J., Becker, E. M. and Frederiksen, C. S., Fluorescence spectroscopy and PARAFAC in the analysis of yogurt. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **75**, 201-208 (2005).
- 杉山武裕, 藤田かおり, 薦 瑞樹, 杉山純一, 柴田真理朗, 粉川美踏, 荒木徹也, 鍋谷浩志, 相良泰行, 励起蛍光マトリックスによるそば粉と小麦粉の混合割合の推定. 日本食品科学工学会誌, **57**, 238-242 (2010).
- Shibata, M., Fujita, K., Sugiyama, J., Tsuta, M., Kokawa, M., Mori, Y. and Sakabe, H., Predicting the Buckwheat Flour Ratio for Commercial Dried Buckwheat Noodles Based on the Fluorescence Fingerprint. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **75**, 1312-1316 (2011).
- 藤田かおり, 薦 瑞樹, 杉山純一, 励起蛍光マトリックス計測を応用したデオキシニバレノールの新規判別法. 日本食品科学工学会誌, **55**, 177-182 (2008).
- Fujita, K., Tsuta, M., Kokawa, M. and Sugiyama, J., Detection of Deoxynivalenol Using Fluorescence Excitation Emission Matrix. *Food and Bioprocess Technology*, **3**, 922-927 (2010).
- 藤田かおり, 薦 瑞樹, 杉山純一, 久城真代, 柴田真理朗, 蛍光指紋による小麦粉中のデオキシニバレノールの非破壊計測. 日本食品科学工学会誌, **58**, 375-381 (2011).
- 宮下一成, 薦 瑞樹, 鈴木崇之, 都甲 洙, 杉山純一, 中内茂樹, 清水 浩, 3次元スペクトルイメージングによるダイズ種子の内部構造の可視化. 日本食品科学工学会誌, **51**, 656-664 (2004).
- Tsuta, M., Miyashita, K., Suzuki, T., Nakauchi, S., Sagara, Y. and Sugiyama, J., Three-dimensional visualization of internal structural changes in soybean seeds during germination by excitation-emission matrix imaging. *Transactions of the Asabe*, **50**, 2127-2136 (2007).
- Kokawa, M., Fujita, K., Sugiyama, J., Tsuta, M., Shibata, M., Araki, T. and Nabetani, H., Visualization of Gluten and Starch Distributions in Dough by Fluorescence Fingerprint Imaging. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, (in press).
- Wold, S., Esbensen, K. and Geladi, P., Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **2**, 37-52 (1987).
- Höskuldsson, A., PLS regression methods. *Journal of Chemometrics*, **2**, 211-228 (1998).
- Wold, S., Sjöström, M. and Eriksson, L., PLS-regression : a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **58**, 109-130 (2001).
- Bro, R., Multiway calibration. Multilinear PLS. *Journal of Chemometrics*, **10**, 47-61 (1996).
- Bro, R., PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **38**, 149-171 (1997).
- Bro, R., Multivariate calibration : What is in chemometrics for the analytical chemist? *Analytica Chimica Acta*, **500**, 185-194 (2003).
- Nakauchi, S., Nishino, K. and Yamashita, T., Selection of optimal combinations of band-pass filters for ice detection by hyperspectral imaging. *Optical Express* (in press).
- 山下卓也, 西野 顕, 豊田敏裕, 中内茂樹, 近赤外スペクトル分離に基づく水・氷の状態判別. Optics & Photonics Japan 2009 講演要旨集, 354-355, 新潟 (2009).
- Iizuka, K. and Aishima, T., Differentiation of Soy Sauce by Pattern Recognition Analysis of Mid- and Near-IR Spectra. *Journal of Food Composition and Analysis* **1999**, **12**, 197-209.
- Tsuta, M., Sugiyama, J. and Sagara, Y., Near-infrared imaging spectroscopy based on sugar absorption band for melons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 48-52 (2002).
- 薦 瑞樹, 丸林夏彦, 等々力節子, 杉山純一, 相良泰行, 近赤外分光法によるデンブレン γ 線照射の影響評価. 日本食品科学工学会誌, **52**, 183-189 (2005).
- Davies, A. M. C. and Fearn, T., Back to basics : calibration statistics. *Spectroscopy Europe*, **18**, 31-32 (2006).
- 波 通隆, 堤 大祐, 長尾信一, 土井義明, 石川光浩, 渡辺恭吾, 近赤外光吸収画像を用いた路面凍結検知に関する研究. 北海道立工業試験場報告, **296**, 159-168 (1997).
- 波 通隆, 本間稔規, 宮崎俊之, 池上真志樹, 磯田和志, 村上康之, 金村直俊, 安藤浩司, 路面上の水と氷と雪の検知方法および路面上の水と氷と雪の検知装置. 特開 2003-156430 (2003.5.30).
- 薦 瑞樹, 杉山純一, 中内茂樹, 西野 顕, 判別フィルタ設計方法, 判別方法, 判別フィルタセット, 判別装置, および, プログラム. 特願 2011-254438 (2011.11.21).
- Martens, H. and Naes, T., "Multivariate calibration". 1st Ed., John Wiley & Sons (1992).
- Wold, J. P., Jorgensen, K. and Lundby, F., Nondestructive Measurement of Light-induced Oxidation in Dairy Products by Fluorescence Spectroscopy and Imaging. *Journal of Dairy Science*, **85**, 1693-1704 (2002).
- 岩本睦夫, 河野澄夫, 魚住 純, 「近赤外分光法入門」, 初版, p. 155 (1994).

URL cited

- <http://www.models.kvl.dk/Yogurt> (Oct. 18, 2011).
- (平成 23 年 10 月 18 日受付, 平成 23 年 12 月 13 日受理)