

近赤外分光法

1 はじめに

近赤外分光法 (near-infrared spectroscopy, NIRS) は、化学、農業、食品、薬品、医学など様々な分野で基礎研究から応用までされている。近赤外波長域を用いた分光は透過性に優れ、分子振動の情報を捉えることができるといった特徴を持っているが、測定の際の試料の配置やスペクトル解析において考慮すべき点も多い。そこで、本稿では近赤外分光の特徴や測定手法、解析手法、発展的な近赤外分光法について紹介する。

2 近赤外分光の特徴

近赤外 (NIR) 光は一般に、800~2500 nm (波数 12500~4000 cm^{-1}) の波長領域のことを指す。この領域における物質の吸収スペクトルを分析する手法を特に近赤外分光法と呼ぶ。この分光法は赤外分光のように分子振動に由来するスペクトルや、紫外可視分光のように電子遷移に由来するスペクトルを取得できる手法として知られている。まず、分子振動分光法としては以下のような特徴がある。近赤外領域は調和振動近似の下では禁制遷移に相当するが、分子振動の非調和性から倍音・結合音に相当する波長域で、赤外領域に現れる基本準位のバンドと比べて 100 分の 1 程度の非常に微弱な光吸収が起こる。そのため、非調和性の大きい水素原子を含む官能基などの伸縮振動に由来する情報が取得できる。例えば、可視では透明な樹脂も図 1 に示すように、組成の違いが近赤外領域のスペクトルに現れる。また、赤外域では一般に吸収が大きく光路長を非常に短くする必要があるが、近赤外域は微弱な吸収であるため光路長を自由に扱うことができることから、試料の薄膜化、希釈等の前処理なく測定可能である。そして、可視・紫外光に

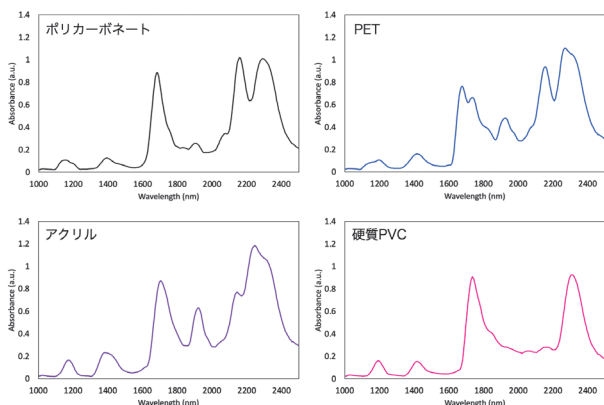


図 1 各種樹脂の近赤外吸収スペクトル

比べ 1 光子あたりの光エネルギーが弱く低エネルギーであるため、非破壊的な測定が可能であり、粉体、繊維、ペースト、溶液、気体などいろいろな状態にある試料に適用することができる。このような特徴から近赤外の吸収スペクトルを解析することで有機物の同定や濃度の推定が可能であるため、化学分析にかかわるさまざまな分野で研究、応用が行われている¹⁾。電子遷移分光法としては、800~1100 nm 程度に d-d 遷移や電荷移動遷移などが観測される領域がある。そのため、例えば酸素化型・脱酸素型ヘモグロビンの電子吸収スペクトルが見られるため、酸素飽和度を測定するパルスオキシメーターなど医学分野でも応用されている²⁾。

3 近赤外分光の測定手法

前述のように、さまざまな試料が測定対象となるため、対象物や測定場面に応じて適切な測定方法を選択する必要がある。具体的には、各近赤外波長における測定対象の吸光度を解析することになるため、照明、試料、検出器の配置が重要となる³⁾。代表的な試料の配置を、図 2 に示す。測定波長域で透明な対象に対しては図 2 (a) や (b) のように試料に透過または透過反射させて吸収特性を測定する分光法を選択することができる。また、含有成分が既知で溶液のように均一に分散した対象ではランベルト-ベールの法則が適用でき、各種濃度で検量線を作成して定量測定が可能である。透過しにくい対象や大型の試料に対しては図 2 (c) のように拡散反射した光を検出できる配置とすることで、入射された光が対象物内部に透過し、反射や拡散を繰り返した後に再度外へ出た光を分光計測することができる。また、散乱因子がすべて同一物質でサイズ・形状、分布が均一であ

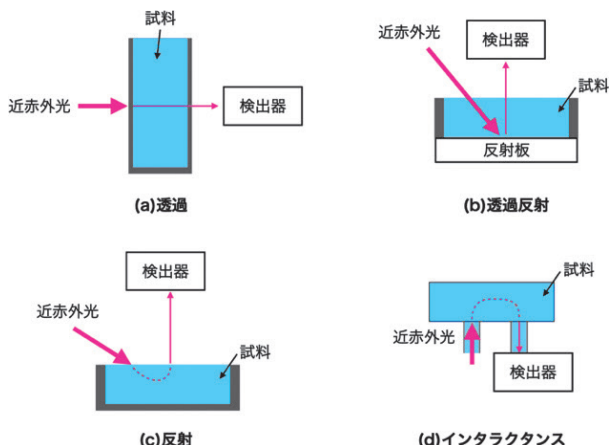


図 2 近赤外分光における代表的な試料の配置

るという仮定の下では、クベルカムシートの式によって散乱因子の濃度を定性・定量分析することができる。図2(d)のインタラクタンス方式は透過と反射の組み合わせであるが、主に固体試料で用いられる。この方式は試料表面に接触した光ファイバー等によって試料に光が入射され、試料内部を伝播し、透過、吸収、反射といった内部での相互作用を経て検出器に到達した光が分光される。この方式は、光源と検出器の両方が試料に接触するため、表面反射の影響を排除して透過深度を最大化して測定できるといったメリットがある。

4 近赤外スペクトルの解析手法

機器分析において、装置の仕様や測定条件、試料の状態などによって、ノイズやベースラインが本来得られるスペクトルに加わって分析精度を低下させることがある。そのため、積算回数を増やすなどして、それらの影響を小さくする手法が用いられるが、測定時間の制限や温度等の測定環境の揺らぎなどによって積算回数を増やせない、または増やしても有効でない場合もある。そのため、測定データを補正する前処理を行って解析を行うことで、分析精度の向上が可能になることが知られている。例えばノイズ除去方法として、単純移動平均(simple moving average, SMA)や加重移動平均(weighted moving average, WMA)などといった手法がある。これらの処理により、スペクトルを平滑化することができるが、ピークの情報を除去してしまう可能性もあるため、得られるスペクトルの形状を考慮しておく必要がある。ベースライン補正としては、複数本測定したスペクトルの標準偏差をとってばらつきを補正する standard normal validate (SNV) や乗算的散乱因子及び加算的散乱因子を最小二乗法により推定して補正する multiplicative scatter correction (MSC) がある。これらを用いる際の注意点としては、定量性にかかわるバンドの強度を強制的に補正する可能性もあるため、ベースライン補正する波長域を考慮しておく必要がある。

以上の前処理を検討し、定性・定量分析を行うこととなるが、近赤外分光では倍音や結合音バンドが互いに重なり合って多重共線性の影響を受けることがあるため、原スペクトルをそのまま利用することが難しい場合が多い。そのため、二次微分や差分スペクトルによって大きなスペクトルに隠れた小さなスペクトル変化の情報を読み取る方法や、統計学的な技法を用いたケモメトリックスを行う必要がある。ケモメトリックスには、定性分析として、主成分分析、クラスター分析等があり、定量分析の方法として、重回帰分析(multiple linear regression, MLR)、主成分回帰分析(principal component regression, PCR)、部分最小二乗法(partial least square, PLS)等がある¹⁾。

5 近赤外分光の発展的な利用法

これまでの近赤外分光法では、試料のある一点におい

て吸光度及び散乱強度のスペクトルを計測する手法が一般的であった。しかし、近年では、従来の分光情報に位置情報を付加した分光画像取得技術であるハイパースペクトラルイメージング(hyper spectral imaging, HSI)が注目されている。これはカメラの1画素ごとにスペクトルデータを格納して3次元データを構築する方法で、NIR領域でHSIを取得する方法を特にNIR-HSIと呼んでいる。1回の測定でカメラの画素分のスペクトルデータが取得されるが、近年のAI研究の流行に伴い、計算機のスペックが飛躍的に向上し、support vector machine (SVM) やニューラルネットワーク、その他高度な多変量解析などの計算コストが高い演算を比較的高速で行うことができるようになったため、NIR-HSI研究が盛んになってきている。

NIR-HSIは、食品分野で不透明な包装の中身を非破壊的に成分分析できることや、可視光では判別のつかない食肉の脂質成分分析が可能であることが報告されている⁴⁾。また、近赤外光は、生体内における水の吸収や短波長由来の光散乱による光損失が少なく、可視光や紫外光に比べて生体透過性が高いといった特徴も持っている。特に、1450 nm 及び 1900 nm 付近の水による吸収を避けた光損失が比較的少ない領域は、生体の窓(biological window)と呼ばれている。この生体の窓では生体深部の分光情報も取得できるため、正常組織に隠れた病変を正常組織領域と分類して可視化する研究も行われている⁵⁾⁶⁾。

6 おわりに

本稿では、近赤外分光法の特徴、測定・解析手法や考慮する点、発展的な利用方法について述べた。近赤外分光する機器の導入コストはまだ高額と言えるが、近年急速に近赤外の光源や検出器などのラインナップが増え、また、高性能かつ廉価になってきている。そのため、今後多くの研究者がこの分野に参入し、更なる基礎研究や応用の広がりを見せると考えられる。

文 献

- 1) Y. Roggo, P. Chaluz, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmond, N. Jent : *J. Pharm. Anal.*, **44**, 3 (2007).
- 2) M. Nitzan, A. Romem, R. Koppel : *Medical Devices: Evidence and Research*, **2014**, 231.
- 3) J. T. Alander, V. Bochko, B. Martinkauppi, S. Saranwong, and T. Mantere : *Int. J. Spectrosc.*, **2013**, 341402.
- 4) G. ElMasry, D.-W. Sun, P. Allen : *J. Food Eng.*, **117**, 2 (2013).
- 5) D. Sato, T. Takamatsu, M. Umezawa, Y. Kitagawa, K. Maeda, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, T. Kadota, T. Akimoto, T. Kinoshita, T. Yano, T. Kuwata, H. Ikematsu, H. Takemura, H. Yokota, K. Soga : *Sci. Rep.*, **10**, 1 (2020).
- 6) T. Mitsui, A. Mori, T. Takamatsu, T. Kadota, K. Sato, R. Fukushima, K. Okubo, M. Umezawa, H. Takemura, H. Yokota, T. Kuwata, T. Kinoshita, H. Ikematsu, T. Yano, S. Maeda, K. Soga : *J. Biomed. Opt.*, **28**, 8 (2023).

[東京理科大学生命医学研究所 高松 利寛]