

散乱光による豆腐製造過程モニタリングに向けた
豆腐凝固状態と光散乱特性の相関関係の解明

北海道大学大学院 工学研究院

藤井 宏之

健康食品や代替肉としての豆腐や大豆食品の需要は年々増加している。凝固剤を添加した豆乳から豆腐へと至る一連の凝固過程を定量評価することは、製造工程を制御する上で重要であり、非破壊のインライン検査技術の開発が求められている。豆腐の凝固状態は油滴（大きさ約 400 nm）やタンパク質（大きさ約 80 nm）で形成される網目構造サイズなどより定量化される¹⁾。様々な測定法の中で、水に対して透過性の高い近赤外光を用いた分光法は、水分量の多い媒体の化学特性を非破壊的に測定することができ、農芸化学の分野で広く使用されている²⁾。通常、近赤外分光法では、光の吸収と媒体の化学特性に着目する。他方、豆乳や豆腐の場合には適用方法が異なる。豆腐に入射した光は網目構造によって幾度も強く散乱され、内部に伝播する。豆腐の凝固状態に応じて光の散乱が変化するため、散乱光を用いた近赤外分光法「近赤外散乱分光法」による豆腐の凝固状態の非破壊検査が期待される^{3,4)}。しかし、凝固状態は豆腐温度、凝固剤添加量、豆乳濃度などに複雑に依存し、凝固状態と光散乱特性との相関が明らかにされていないため、近赤外散乱分光法は未だ開発途上である。

本研究の目的は、散乱分光法による豆腐製造工程の非破壊検査の実現を目指し、豆腐の凝固状態と光の散乱特性との相関関係について体系的に明らかにすることとした。特に、豆乳の固形分濃度による光散乱特性への影響について明らかにすることを目的とした。

【実験方法】

A. 実験試料の作製

豆乳試料として、大豆固形分濃度 11%の豆乳（マルサンアイ株式会社）を用いた。固形分は 100ml あたり、脂質 3.6g、タンパク質 5.1g、炭水化物 2.1g である。凝固剤として、（六水和物）塩化マグネシウム（小西利七商店）を用いた。濃度 11%の豆乳そのものと、豆乳を純水で希釈し、濃度 8.25%と 5.5%としたもの、3種類の試料 400ml をそれぞれ作製した。試料を耐熱ガラス（Iwaki）に入れ、室温（21℃）下で各試料に対して光計測を行った。その後、凝固剤を添加した豆乳試料を作製した。豆乳試料を電子レンジ（YRL-F180 YAMAZEN）より 80℃に加熱し、凝固剤を 3.2g 添加、1 分間ガラス棒で攪拌した。循環恒温槽（RTE-111、NESLAB）にて 20 分間、80℃の状態を保持し、凝固過程を促進させた。恒温槽から試料を取り出し、室温（21℃）で 24 時間静置し、凝固過程が終了した試料に対して再度光計測を行った。温度管理として、温度ロガー（TSP01、Thorlabs）及びデジタル温度計（TT-583、タニタ）を用いた。図 1 に凝固剤添加した場合の試料を示す。濃度によって凝固状態が異なり、試料を傾けた際の変形の挙動が異なることがわかる。

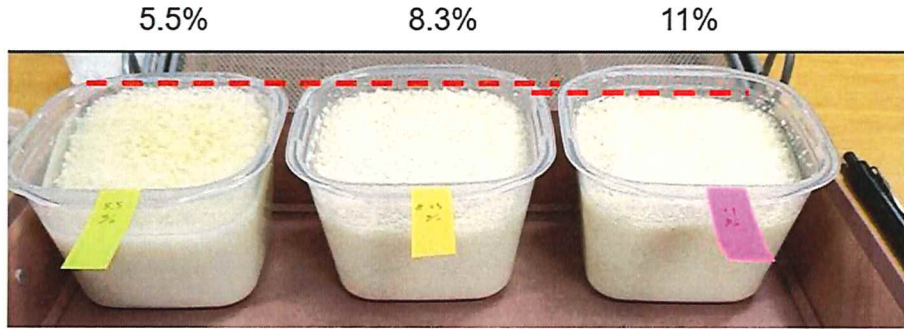


図1 凝固剤添加後の豆乳試料、左から濃度 5.5%、8.3%、11%。

B. 光計測

図2に構築した計測システムの概要を示す。試料に対して波長 780 nm、繰り返し 20 MHz のパルスレーザー (CFL-04RFF, Calmar Laser) を照射し、時間相関単一光子計数法により反射光強度の時間応答波形を計測した。レーザー光を 2 分岐ファイバーで 99:1 に分け、比率 99 の光を試料へと入射させた。入射光強度は、カウンタにおける光子数が繰り返しの 1/100 以下という条件のもと調整した。比率 1 の光を、再度 99:1 に分け、一方を PM (Power Meter, S151C+PM100USB, Thorlabs) において入射光強度のモニターに使用し、もう一方をファイバーで経由させたのち、VOA (Variable Optical Attenuator, Thorlabs) で減光、検出光に混ぜ、時間基準に使用した。光源と検出器間の距離を 1.5 cm で固定し、ファイバーを 3D プリンターより作製したホルダーで固定した上、試料界面に対して水平に設置した。試料内で散乱・吸収を経た伝播光を SPAD (Single Photon Avalanche Photodiode, SPD-050-CTE-FC, Micro Photon Devices) に入射させた。SPAD より検出された光子を TCSPC (Time-Correlated Single-Photon Counting, SPC-130EM, Becker & Hickel GmbH) により時間応答性を計測した。外界からの光の入射を防ぐため、試料と照射と検出ファイバーを暗箱で囲い、更に暗幕で覆った。実験は 3 種類の濃度、凝固剤添加の有無の合計 6 条件、各条件で計 5 回行い統計誤差を評価した。

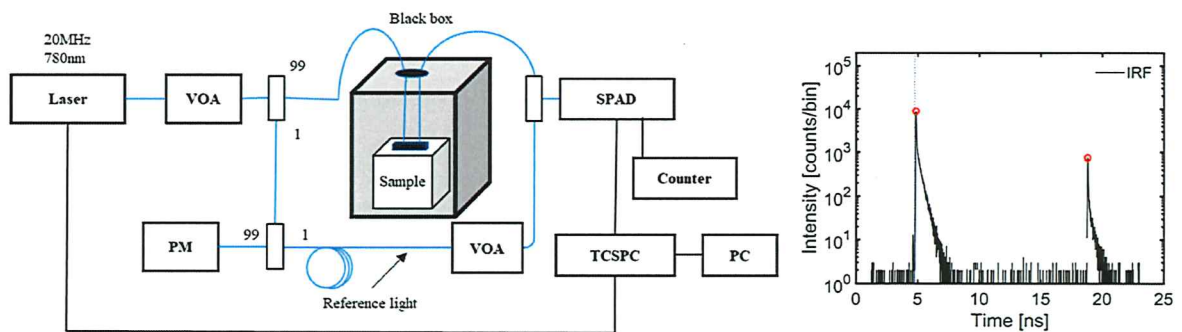


図2 (左) 光計測システム概要、(右) 装置関数 (IRF) の時間分解波形。赤丸で示した 2 つのピークの内、左がアダプターより検出した光、右が参照光である。

C. 光散乱特性の算出

光強度の時間応答計測データに対して、光伝播モデルによる逆解析を行い、光の散乱特性である換算散乱係数を算出した。光伝播モデルは、散乱と吸収を素過程とした光伝播を記述する物理モデルであり、光散乱特性を入力パラメータとする。光伝播モデルとして、非定常の光拡散方程式を使用した。この方程式は十分に散乱された拡散光の伝播を記述する⁵⁾。境界面における光の反射・屈折を考慮した、半無限媒体の解析解を用いた⁶⁾。入射光に対応する装置関数（図2右）と解析解を畳み込んだものを順計算として、計測データとの二乗誤差を目的関数とした。装置関数(IRF:Instrument response function)は試料の代わりにアダプターを通して計測した、計測システム特有の波形である。逆解析手法はLevenberg-Marquardt法を用いた。全時間領域で生じているダークカウントなどのノイズは、逆解析の際には処理した。逆解析にはMATLAB(MathWorks, Inc.)を使用した。

D. 光伝播の数値解析

本研究では、逆解析の際に使用する光伝播モデルとして、計算速度が速い半無限媒体における光拡散方程式の解析解を使用した。このモデルでは、液面のみ境界として考慮しており、容器の有限サイズを考慮していない。この妥当性を検証するため、半無限媒体と円筒媒体における解析解⁷⁾を比較した。円筒媒体として、高さは3cmで固定し、半径を1.5cm、2.0cm、2.5cmとした（図3）。円筒媒体における解析解は第一種のベッセル関数の級数和で記述されており、本研究では100次まで考慮した。実験と同様に、円筒容器上面に光源と検出点を設置した。体積分率は1%から20%まで、1%刻みで計算した。換算散乱係数の値は、電磁波理論である干渉散乱理論⁸⁾より計算した。光の波長は実験と同じ780nmとした。半無限媒体と円筒媒体における解析解の計算はMATLABで行った。計算時間は各体積分率に対してそれぞれ、2sと1minであった。光拡散方程式の適用妥当性については、事前に検証し、妥当であることを確認した。

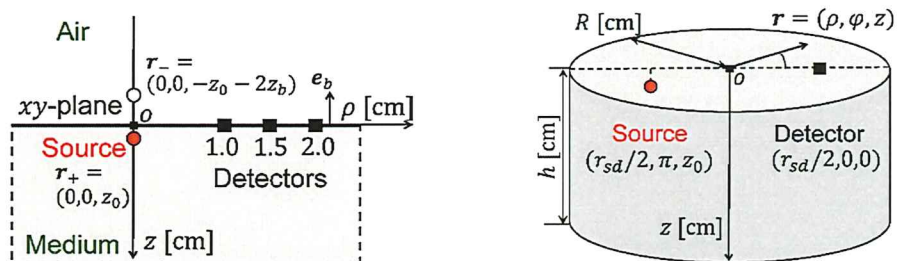


図3 半無限媒体と円筒媒体。

【実験結果及び考察】

3種類の濃度における豆乳試料の時間分解波形を図4に示す。図2右に示したIRFの波形に比べて豆乳試料の波形は広がった。これは、散乱によって光路長が長くなり、光の到着時間が遅れていることを意味している。また、図4に凝固剤添加前後の変化も比較した。全ての濃度において、凝固過程によって、時間的に波形が広がり、強度が低くなり、5.5 ns付近の最大値をとる緩やかなピーク時間の遅れが見られた。これら波形の変化は、凝固過程により光散乱の挙動が変化していることを示している。

図4の(b)、(c)において赤矢印で示す、凝固後の波形に現れる鋭いピークは、緩やかなピークよりも早い時間に観測された。このピークは、固形成分が沈殿することによって水が上面に出て、固形成分と水の間で光が反射することにより生じたと考えられた。ピーク時間から反射面の位置を推定することができ、直接分離面を観察した場合と概ね同じ値となった。濃度11%の場合(図4(a))では凝固後においても固形成分と水がほとんど分離しておらず、このような鋭いピークは観測されなかった。この理由は、濃度11%では固形成分による網目構造が水を十分に抱え込むことができている一方で、濃度が低い場合には、水を保持できていないと考えられた。この仮説を検証するためには、濃度をより細かく変化させ、光計測することが必要であり、今後の課題である。

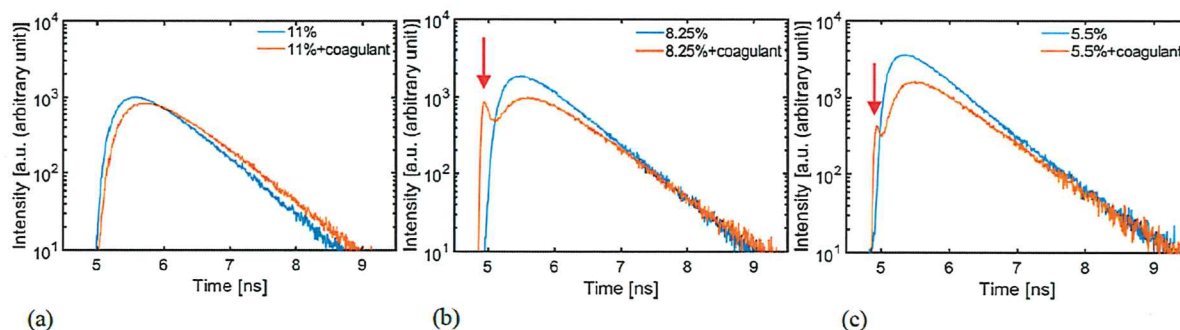


図4 3種類の濃度((a)11%、(b)8.3%、(c)5.5%)における豆乳試料の光強度の時間分解波形、青色は凝固剤添加前、オレンジ色は凝固剤添加後の試料の場合の波形。

図5(a)に3種類の濃度、凝固前後の豆乳試料における換算散乱係数を示す。濃度が増加すると、換算散乱係数は増加する。これは、光の散乱体である固形成分が多くなるためである。凝固剤添加の前と後で換算散乱係数の増加がみられた。これは凝固により、網目構造を形成し、散乱体のサイズが大きくなったことが要因と考えられた。凝固後の結果において、濃度が低くなると、換算散乱係数も小さくなった。これは、濃度が低いほど凝固過程が進んでいないことを示唆する。電子顕微鏡などの画像観察で、実際の試料の構造を解析することが今後の課題である。

図 5 (b) に凝固剤添加前から添加後における換算散乱係数の変化量 (増加量) を示す。濃度が高くなるに従い、換算散乱係数の増加量は有意に大きくなった。この結果は、試料に含まれる固形分量に応じて凝固度合いが変化し、換算散乱係数が変化したと考えられた。

本研究では凝固剤添加量や保温温度を固定しているが、事前検証で凝固剤添加量や保温温度を変化させると、凝固状態や光散乱特性が変化することを確認している。これは今後の課題である。

豆乳試料における換算散乱係数の濃度依存性 (体積分率依存性) の測定は基礎研究で非常に重要であるが、研究代表者らが調べた限り、1 件しか報告されていない⁹⁾。電磁波理論より換算散乱係数を直接計算することができる¹⁰⁾。数値計算では、体積分率 20% までの範囲において、直線よりもやや緩やかに変化し、固形成分から散乱された電磁波の干渉に起因している¹¹⁾。本研究の結果の 3 種類の濃度では、ほぼ直線的であり、明確な干渉効果は観測されなかった。今後は、より濃度の高い豆乳試料を用いて、光散乱特性の濃度依存性を解析することが重要である。

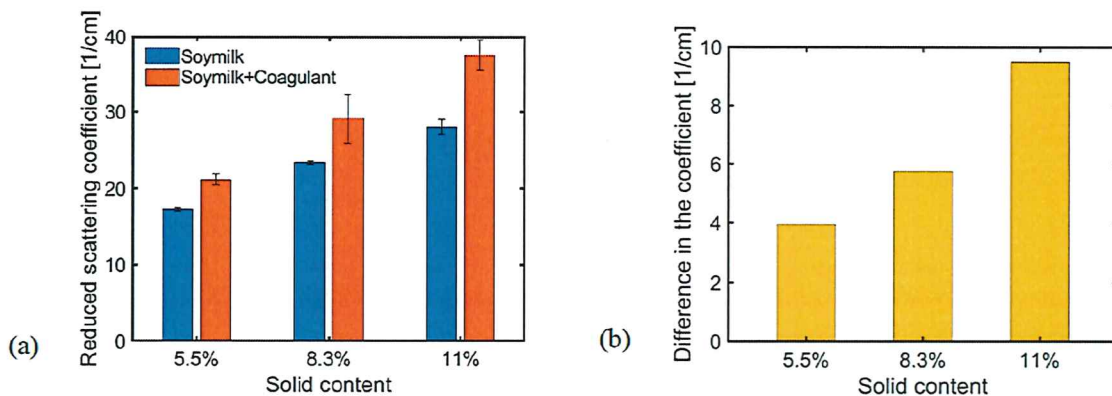


図 5 (a) 3 種類の濃度における豆乳試料の換算散乱係数、(b)凝固剤添加前から添加後における換算散乱係数の変化。

半無限媒体の解析解の適用妥当性について、数値計算より検証した。図 6 左に体積分率 1%、半無限媒体と半径 1.5cm における円筒媒体における時間分解波形を示す。光源と検出点 (SD) 間距離が 1cm の場合には、両計算結果はほぼ一致した。一方で、SD 間距離が 2cm の場合には、両者の結果に相違がみられた。これは有限サイズ効果であり、液面以外の境界からの影響である。図 6 右に、SD 間距離を 2cm に固定し、円筒半径を変化させた場合の相対誤差を示す。半径 2cm 以上であれば、今考えている体積分率範囲では有限サイズ効果は無視できることが明らかとなった。従って、半無限媒体の解析解の妥当性を確認した¹¹⁾。

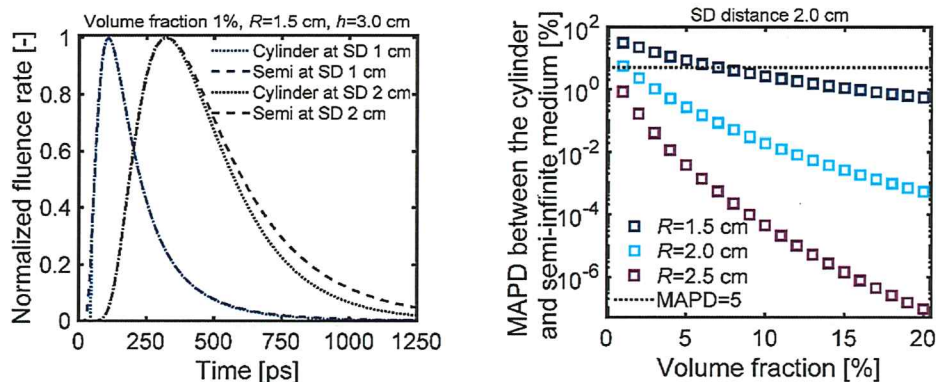


図6 (左) 体積分率 1%、半無限媒体と半径 1.5cm における円筒媒体における時間分解波形、(右)半無限媒体と円筒媒体における解析解の相対誤差。

【要約】

散乱光を用いた近赤外分光法「近赤外散乱分光法」による豆腐の凝固状態の非破壊検査が期待されている。しかし、凝固状態は豆腐温度、凝固剤添加量、豆乳濃度などに複雑に依存し、凝固状態と光散乱特性との相関が明らかにされていないため、近赤外散乱分光法は未だ開発途上である。本研究の目的は、散乱分光法による豆腐製造工程の非破壊検査の実現を目指し、豆腐の凝固状態と光の散乱特性との相関関係について体系的に明らかにすることとした。特に、豆乳の固形分濃度による光散乱特性への影響について明らかにすることを目的とした。3種類の濃度の豆乳試料に対して、光強度の時間応答を計測し、光散乱特性を算出した。凝固状態に応じて、光散乱特性が有意に変化することが明らかとなった。この結果は、豆乳試料に含まれる固形分量に応じて凝固度合いが変化し、光散乱特性が変化したと考えられた。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人タカノ農芸化学研究助成財団様に厚くお礼申し上げます。研究の実施にあたり、共同研究者の西村吾朗先生と研究協力者の西川小彌太君には感謝いたします。

【文献】

- 1) Y. Chen, T. Ono (2014) Protein particle and soluble protein structure in prepared soymilk, Food Hydrocoll., 39, 120-126.
- 2) J. Qin, R. Lu (2008) Measurement of the optical properties of fruits and

- vegetables using spatially resolved hyperspectral diffuse reflectance imaging technique, *Postharvest Biol. Technol.*, 49 (3) 355-365.
- 3) Y. Saito, K. Konagaya, T. Suzuki, N. Kondo (2018) Determination of optical coefficients of tofu using spatially resolved diffuse reflectance at 633 nm, *Eng. Agric. Environ. Food.* 11 (1) 38-42.
 - 4) Y. Saito, T. Suzuki, N. Kondo (2022) Evaluation of optical properties of tofu samples produced with different coagulation temperatures and times using near-infrared transmission spectroscopy, *Infrared Phys. Technol.*, 123, 104149.
 - 5) Y. Hoshi, Y. Yamada (2016) Overview of diffuse optical tomography and its clinical applications, *J. Biomed. Opt.* 21 (9), 091312, 1-11.
 - 6) M. S. Patterson, B. Chance, B. C. Wilson (1989) Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties, *Appl. Opt.* 28 (12), 2331-2336.
 - 7) A. Liemert, A. Kienle (2010) Light diffusion in a turbid cylinder I: homogeneous case, *Opt. Express* 18, 9456-9473.
 - 8) H. Fujii, L. Tsang, J. Zhu, K. Nomura, K. Kobayashi, M. Watanabe (2020) Photon transport model for dense polydisperse colloidal suspensions using the radiative transfer equation combined with the dependent scattering theory, *Opt. Express* 28 (15), 22962-22977.
 - 9) E. Ringgenberg, M. Corredig, M. Alexander (2012) Physico-Chemical Characterization of Soymilk Particles as a Function of Their Volume Fraction: Comparison with Theoretical Systems, *Food Biophys.*, 7, 244-257.
 - 10) J.D. Cartigny, Y. Yamada, C.L. Tien (1986) Radiative transfer with dependent scattering by particles: Part 1 - theoretical investigation, *J. Heat Transf.* 108, 608-613.
 - 11) H. Fujii, K. Nishikawa, H. Na, Y. Inoue, K. Kobayashi, M. Watanabe (2023) Numerical study of light scattering and propagation in soymilk: effects of particle size distributions, concentrations, and medium sizes, *Infrared Phys. Technol.*, 132, 104753 1-9