

近赤外分光法によるウンシュウミカン (*Citrus unshiu Marc.*) の糖度計測法に関する基礎的研究

小林太一・ジャスパ タラダ・永田雅輝

宮崎大学農学部生産環境システム講座

(2005年1月28日 受理)

Basic Study on Measurement of Sugar Content for *Citrus unshiu* fruit using NIR Spectrophotometer

Taichi KOBAYASHI, Jasper TALLADA, Masateru NAGATA

Division of Agricultural Environmental Systems, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki

Summary: Recently, consumers are demanding for higher quality and better safety of agricultural produce. While external food quality inspection is now more commonly done during post-harvest processing, the measurement of internal quality such as sugar content and firmness is becoming more important. Thus, in order to better respond to changing consumer preferences, more accurate quality measurement techniques are needed.

This research is based on NIR spectrophotometry for non-destructive measurement of sugar content of *Citrus unshiu* fruit. The main goals are to develop fundamental techniques to accurately measure the NIR spectra using transmittance mode, and to develop calibration equation that relates the sugar content (Brix) to the spectra.

The results showed higher precision of measurement of sugar content with the fiber-optic probe at a distance of about 3 mm, and from measurement points taken from the equatorial part of the fruits, and with a 15 mm aperture because of higher incidence of light.

Key words: Near Infrared Spectrophotometry, Non-Destructive, Quality Evaluation, Sugar Content, *Citrus unshiu Marc.*

緒言

近年の農産物の高付加価値化や消費者の高品質指向の高まりから、農産物の高品質生産技術開発は重要な課題となっている。これに伴って、品質評価・検査の計測技術向上も重要な課題といえる。青果物の品質評価は、外部・内部・安全評価に

大別できる。これら进行评估する手法には、官能検査法、化学分析、機器分析法があるが、近年のIT技術の発達によって、光センサーや画像等を用いた非破壊的な評価方法が開発され、一部の青果物ではJA等の大規模な選果場で使用されている(永田2002;永田2004a;尾崎1997;佐竹他2004)。

内部品質計測の中で非破壊による評価・検査の研究が盛んに行われているのは、分光器を用いた近赤外分光法による糖酸度計測であり、ミカン・メロン・トマト・モモ・スイカ・リンゴ等の様々な果実類の糖度や酸度の等級選別に用いられている(蔦他 2002; M. Tsuta et al. 2002). しかし、上述の計測法による選果機において甘いと品質保証された果実が、食べてみるとそれほど甘くないといった消費者の声もある。今後は、高度化・多様化する食の消費者ニーズに応えるために、より精度の高い計測が求められる(永田他 2004b; 杉山, 小川 2001a; J. Sugiyama 1999).

そこで、本論文は、近赤外分光法によるミカンの糖度予測において高精度な糖度計測法の確立を目指して、計測精度に影響があると考えられるところの分光器のファイバースコープの計測距離、光量、測定部位の3要因について検討したので報告する。

装置および方法

1. 近赤外分光法の原理

近赤外分光法とは、800~2,500 nm付近の波長を占める電磁波領域において、物質の近赤外線エネルギー吸収を利用した振動分光法の一手法である。近赤外スペクトル(波長-吸光度曲線)そのものが物質構造の特定部位(官能基)による共振に由来することを利用して、特定波長の吸光度から注目する成分の含有などの定量化を行う手法である。実際には、試料の吸収スペクトルは、様々な成分の分子構造に由来する吸収波長が重なって計測されるので、注目する成分に関する情報を取り出すため、目的に応じて重回帰分析、主成分分析、判別分析などの統計手法が用いられる。このように、光と物質との相互作用によって生じる光の強度やエネルギー変化を利用することで、農産物などの非破壊計測が可能となる(岩元他 2002; 河野 2003; 尾崎, 河田 1997; 杉山, 小川 2001b).

2. 供試材料

供試したウンシュウミカン (*Citrus unshiu* Marc.) は、宮崎県宮崎市木花地区で栽培されたもので、品種は興津 'Okitsu' である。試料は、階級S~3L, 着色7~8分を平成15年12月上旬、中旬に収穫し、総計70個供試した。本実験では、検量線作成用試料として60個、検量線評価用試料として10個を供試した。試料の性状を表1に示した。

3. 測定装置

1) スペクトルの測定

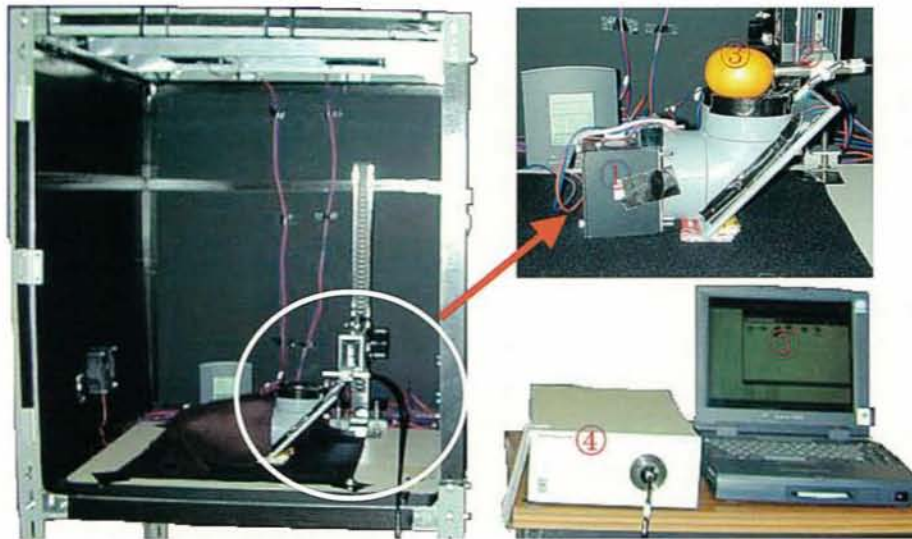
図1に測定装置を示す。主な構成は、ハロゲンランプ①(フィリップス社製50 W, 色温度3200 K), プローブ②, 試料台③, 近赤外分光器④(浜松ホトニクス社製 PMA-11), パーソナルコンピュータ⑤(NEC Lavie /Nr13 PC-9821)である。なお、外乱光の影響を除くために装置全体をブラックボードと暗幕で覆った。測定方法はミカン内部を通過した光を計測する透過光型とした。照明は光源を水平に置き塩化ビニル管の末端を45°にカットした部位に鏡を取付け、下方から上方へ垂直方向に光が試料に対して照射するようにした。光源から試料までの照射距離は230 mmとした。ミカンに入射する光量が調節できるように、照射光の出口に穴を開け、3種類の穴径(5 mm, 10 mm, 15 mm)を用いて照射条件を変えられるようにした。

スペクトルの測定は、スキャン範囲の600~1,000 nmを5 nm間隔で、各波長毎の透過光強度を求めた。近赤外分光器(PMA)の設定は、暗電流および感度ムラ補正の設定、SN比を10、スキャン回数3回の平均値をデータとして用いた。

ファイバースコープに入射した透過光強度のデータは、近赤外分光器と接続されたコンピュータにより付属ソフト(PMA application for Windows Version 1.0)を用いて吸光度値に変換した。

Table 1. Size profile of orange fruit samples

試料	試料(個)	直径(mm)	高さ(mm)	重量(g)
検量線作成用試料	60	48~73	39~55	51~151
検量線評価用試料	10	63~77	42~55	101~151



①ハロゲンランプ ②ファイバースコープ
③試料 ④近赤外分光器 ⑤パソコン

Fig. 1. NIR spectrophotometer set-up

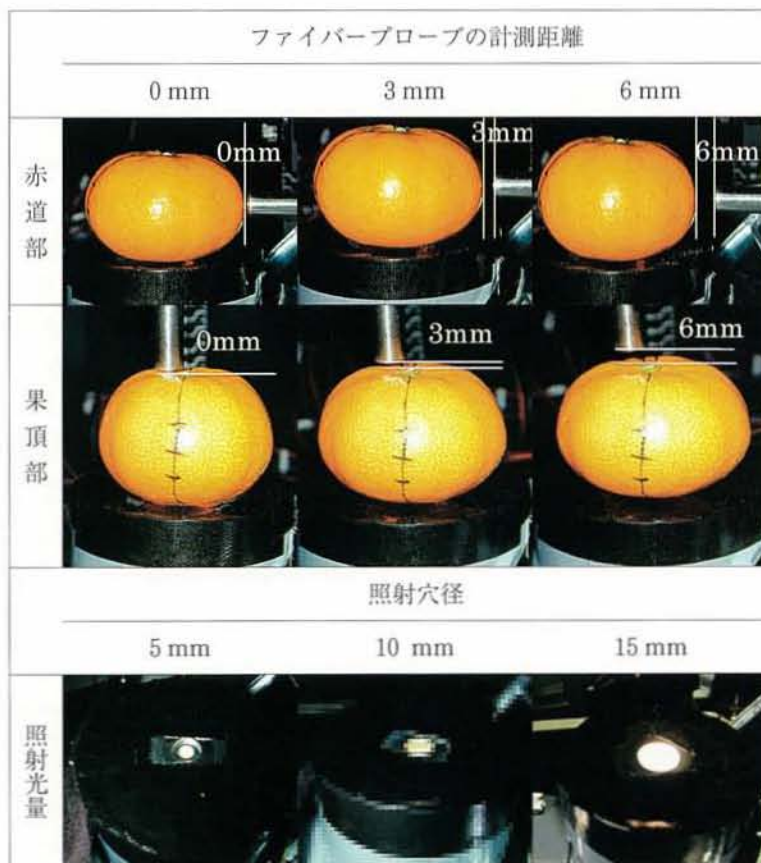


Fig. 2. Experimental conditions for NIR spectral measurements.

2) 糖度の測定

糖度測定は、ファイバークローブによる吸光度測定部位から約15 mm角の果肉切片を切り出し、その果汁を搾取し、デジタルブリックス計（京都電子工業社製RA-410）を用いて測定した。信頼度を高めるために3回計測し、その平均値を求めた。

4. 測定条件および項目

図2に示すように、測定条件は、ファイバークローブと果実との距離（接触および非接触）を0 mm, 3 mm, 6 mmとし、ミカンに入射する光量の照射穴径を5 mm, 10 mm, 15 mmとした。測定ポイントは、全透過光型では果頂部を、半透過光型では赤道部とした。測定項目は、ファイバークローブの計測距離における精度、測定ポイントにおける精度および光量（照射穴径）における精度とし、表2のようにそれぞれの項目ごとに、実験I, II, IIIの測定条件で行った。

5. スペクトル解析

上述した測定条件で求めた吸光度スペクトルにおいて、加算的ベースライン変動の除去や微小ピーク等を強調するために、二次微分処理を行った。次に、各波長における吸光度二次微分を説明変数、Brix計で測定した糖度値を目的変数として統計解析ソフトウェア（SPSS ver 10.0）を用いて、変数増減法で糖度と相関の高い波長を5波長まで自動選択し、重回帰分析により検量線の作成および評価を行った。測定条件ごとの検量線から標準誤差（SEC）、Biasおよび検量線評価時の標準誤差（SEP）を、次式の(1)~(3)式により算出した後、最適な検量線の選定を行った（岩元他 2002）。

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_c} (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{N_c - p - 1}} \quad (1)$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_p} (Y_i - \hat{Y}_i - bias)^2}{N_p - 1}} \quad (2)$$

$$Bias = \frac{\sum_{i=1}^{N_p} Y_i}{N_p} - \frac{\sum_{i=1}^{N_p} \hat{Y}_i}{N_p} = \bar{y}_i - \bar{\hat{y}}_i \quad (3)$$

ここで

Y_i : 対象とする成分の実測値

\hat{Y}_i : 対象とする成分の予測値

\bar{y}_i : Y_i の平均値

$\bar{\hat{y}}_i$: \hat{Y}_i の平均値

N_c : 検量線作成用試料数（本実験では60個）

N_p : 検量線評価用試料数（本実験では10個）

p : 検量線作成に用いた波長数

結果および考察

1. ファイバークローブの計測距離における精度の比較

ファイバークローブ計測距離の各条件下において検量線の結果から最適と判断された吸光度スペクトルおよび吸光度二次微分スペクトルを図3と図4に示す。また、表3に検量線とその評価結果を示す。これより、吸光度スペクトルは、ファイバークローブ計測距離6 mmの時に光の吸収が最も大きく、次いで0 mm, 3 mmの順となった。二次微分スペクトルにおいては、0 mm, 3 mmの波形の差はあまり見られないが、960 nm以降ではその差が見られた。また、0 mm, 3 mmに比べ6 mmでは振幅が大きくなった。これは、試料からファイバークローブが離れるために、大気中に含まれる何らかの吸収帯が影響したとも思われる（尾崎 1998）。また、ファイバークローブと果実との距離を3 mm以上離れた場合は大気中の物質の影響を受けること、接触（0 mm）の場合は果実表面の微細な形状の影響を受けるな

Table 2. Various combinations of settings for NIR spectral measurements.

測定条件	ファイバークローブ距離 (mm)	照射穴径 (mm)	測定ポイント
実験 I	0, 3, 6	15	赤道部
実験 II	3	5, 10, 15	赤道部
実験 III	3	15	赤道部, 果頂部

どして精度は低下するとする従来の結果（木村 2003；山内 2004）とも類似した。

表 3 より，計測精度を相関係数Rで判断すると，ファイバースコープの計測距離が 0 mm の場合が $R=0.80$ ，3 mm の場合が $R=0.83$ ，6 mm の場合が $R=0.63$ となり，今回のミカン果実の計測では，ファイバースコープを果実から 3 mm 離れた非接触型が最適な測定条件であることが示唆された。

2. 測定ポイントにおける精度の比較

測定ポイントである果実の赤道部と果頂部において検量線の結果から最適と判断した吸光度スペクトルおよび吸光度二次微分スペクトルを図 5 と図 6 に示す。また，表 4 に検量線とその評価結果を示す。これより，吸光度スペクトルの波形の差はそれほど見られないが，果頂部で測定した場合に光の吸収が大きくなることが観察された。また，

Table 3. Comparison of accuracy of prediction of different distances of probe from the fruits

ファイバースコープ 距離 (mm)	検量線作成用試料		検量線評価用試料		
	R	SEC	R	SEP	Bias
0	0.90	0.46	0.80	0.72	0.46
3	0.92	0.44	0.83	0.91	0.41
6	0.77	0.46	0.63	1.07	0.61

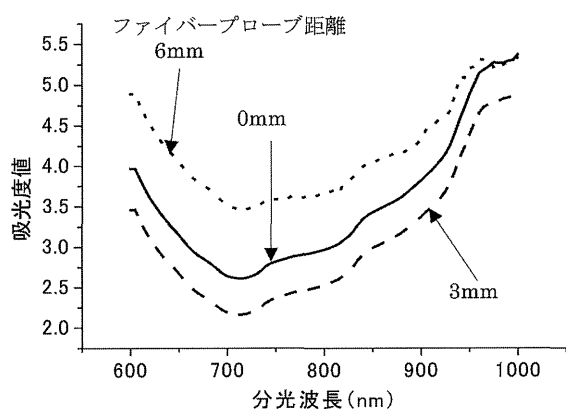


Fig. 3. Absorbance spectra at different distances of probe from the fruits

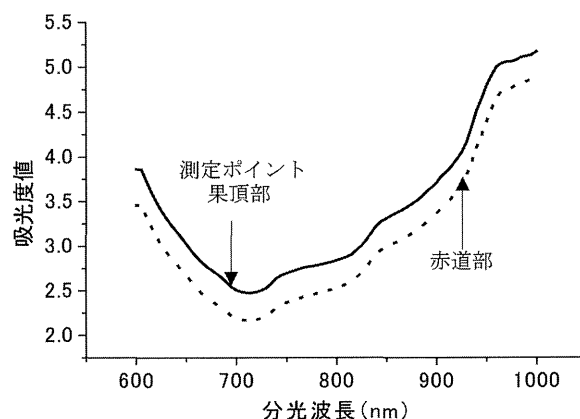


Fig. 5. Absorbance spectra at two measurement point positions on the fruits

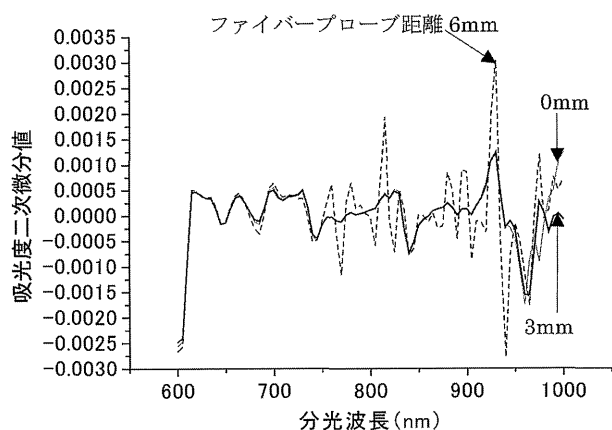


Fig. 4. Second derivative of NIR spectra at different distances of probe from the fruits

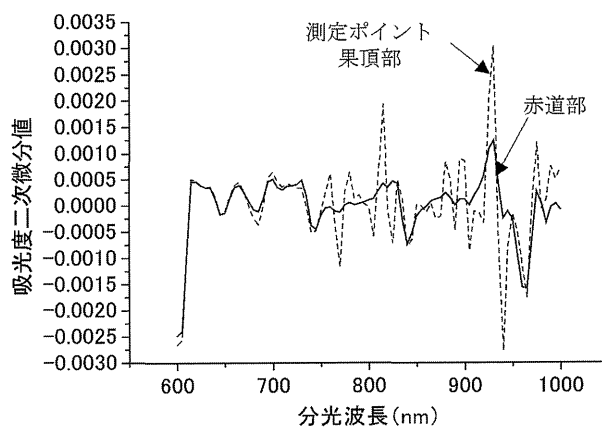


Fig. 6. Second derivative of NIR spectra at two measurement point positions on the fruits

二次微分スペクトルにおいては、果頂部での測定時に大きな振幅が観察された。これは、果実内部での拡散された光の吸収が赤道部に比べて果頂部で大きくなることに起因すると言える（木村 2003）。

表4より、計測精度を相関係数Rで判断すると、赤道部で測定した場合が $R=0.83$ 、果頂部の場合が $R=0.51$ となり、測定ポイントを赤道部とした半透過光型が果頂部とした全透過光型より最適な測定条件であることが示唆された。しかし、半透過光型の方式で得られる果実の内部情報は、全体ではなく受光部側の半分であることから、全透過光型で計測するには光量を大きくするか、あるいはダイナミックレンジの大きな信号処理系が必要となる（木村 2003；近藤他 2004）。

3. 光量（照射穴径）における精度の比較

照射穴径 5 mm, 10 mm, 15 mmにおいて検量線の結果から最適と判断した吸光度スペクトルおよび吸光度二次微分スペクトルを図7と図8に示す。また、表5に検量線とその評価結果を示す。これより、吸光度スペクトルの波形にはそれほど差は見られないが、照射穴径が小さくなるにしたがって、果実内で光が吸収され透過光の量が少なくなるのが観察された。二次微分スペクトルにおいては、900 nm以下では照射穴径10 mmと15 mmとの差はさほど見られないが、960 nm以上では差が見られた。また、照射穴径 5 mmの振幅は10 mm, 15 mmに比べ大きくなった。これは、果実に入射される光の量が少なく、そのほとんどが果実内で拡散吸収され、ファイバースコープで

Table 4. Comparison of accuracy of prediction of two measurement point positions on the fruits

測定ポイント	検量線作成用試料		検量線評価用試料		
	R	SEC	R	SEP	Bias
果頂部	0.77	0.42	0.68	0.55	0.47
赤道部	0.92	0.44	0.83	0.91	0.41

Table 5. Comparison of accuracy of prediction of different aperture sizes for illumination

照射穴径 (mm)	検量線作成用試料		検量線評価用試料		
	R	SEC	R	SEP	Bias
5	0.77	0.42	0.68	0.55	0.47
10	0.90	0.45	0.82	0.69	0.44
15	0.92	0.44	0.83	0.91	0.41

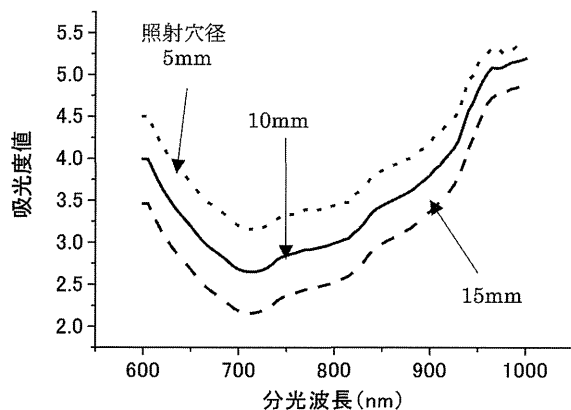


Fig. 7. Absorbance spectra at different aperture sizes for illumination

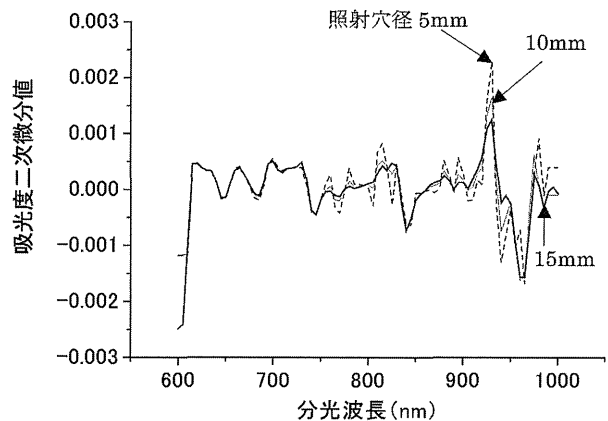


Fig. 8. Second derivative of NIR spectra at different aperture sizes for illumination

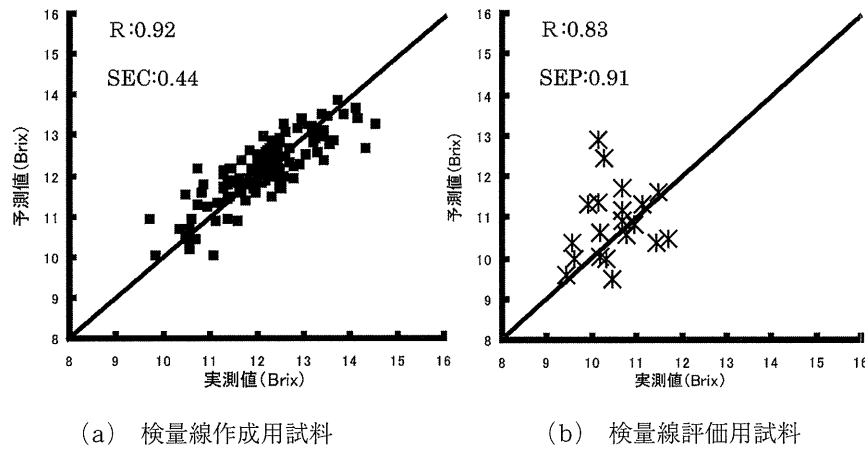


Fig. 9. Plot of measured and predicted sugar content (% Brix)

検出する透過光が微弱であるためと推測される。

表5より、計測精度を相関係数Rで判断すると、照射穴径5 mmで測定した場合がR=0.64、10 mmの場合がR=0.71、15 mmの場合がR=0.83となり、照射穴径が大きい場合（すなわち光量が多い場合）が最適な測定条件であることが示唆された。

以上の結果から、最も良好な測定精度が得られたところのファイバースコープと果実との距離が3 mm、測定ポイントが赤道部、照射穴径が15 mmの条件下における検量線図を図9(a)、その評価図を図9(b)に示す。この時の重相関係数は0.83、SECは0.44、SEPは0.91、Biasは0.41であり、t検定の結果、1%の危険率で有意であった。この時の検量線は(4)式で示された。

$$\text{Brix}(\%) = \lambda_{625} \times 9286.9 + \lambda_{635} \times 8673.7 + \lambda_{655} \times 8075.4 + \lambda_{710} \times -15935.8 + \lambda_{720} \times 23720.1$$

式中の λ は各波長における吸光度値の二次微分値を示す。

今回は、ウンシュウミカンを対象に計測法を検討したが、今後、果実の種類を増やし、果実ごとに最適な計測条件を明らかにしていきたい。

要約

農産物の品質や安全性に対する消費者の要求は高く、収穫や選果段階での品質検査が重要な課題になってきている。特に、外観からは判断できない内部の品質検査が重要であり、高度化・多様化

する食の消費者ニーズに応えるために、より精度の高い計測が求められる。

本研究は、近赤外分光法によるウンシュウミカンの高精度な糖度予測を行うために、ウンシュウミカンのスペクトル計測法について検討を行った。

その結果、ファイバースコープの計測距離は果実から3 mm離れた位置での非接触型による測定、測定ポイントはファイバースコープを赤道部に設置した半透過光型、照射光量は照射穴径15 mmの測定条件が最も良好な糖度予測ができた。

キーワード：近赤外分光法、非破壊計測、品質検査、糖度、ウンシュウミカン

謝辞

本研究を遂行するにあたり、本研究室専攻学生諸氏（戸次里枝、後藤有美子、永富昇子）の協力を得た。ここに深く感謝の意を表す。また、本研究は、平成15年度文部科学省科学研究費基盤研究(B)(2)(課題番号15380175)の支援を受けて実施したものである。ここに、関係者各位に感謝申し上げる。

参考文献

- 岩元陸夫・河野澄夫・魚住 純(2002) 近赤外分光法入門. 幸書房. 東京. pp 45-51
- Junichi Sugiyama (1999) Visualization of Sugar Content in the Flesh of a Melon by Near-Infrared Imaging. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 2715-2718

- 河野澄夫 (2003) 近赤外線の利用—近赤外分光法—。食品の非破壊計測ハンドブック (河野澄夫編)。サイエンスフォーラム。東京。pp 34-40
- 木村美紀夫 (2003) Qscopeシリーズの開発。食品の非破壊計測ハンドブック (河野澄夫編)。サイエンスフォーラム。東京。pp 216-220
- 近藤 直・門田充司・野口 伸 (2004) マシンビジョン。農業ロボット—基礎と理論—。コロナ社。東京。pp 18-41
- Mizuki Tsuta, Junichi Sugiyama, Yasuyuki Sagara (2002) Near - Infrared Imaging Spectroscopy Based on Sugar Absorption Band for Meron. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 48-52
- 永田雅輝 (2002) 農産物の品質判定・評価について。農機学会九州支部誌 **51**, 59-64
- 永田雅輝 (2004a) 品質評価。新農業情報工学—21世紀のパーспекティブ— (農業情報学会編)。養賢堂。東京。pp 134-135
- 永田雅輝・小林太一・ジャスパー タラダ・豊田寛 (2004b) 液晶フィルターを用いた近赤外分光画像によるトマトの糖度予測の試み。農業機械学会九州支部誌。 **53**. 11-15
- 尾崎幸洋 (1997) 分光学への招待。産業図書。東京。pp 2-4
- 尾崎幸洋・河田 聡 (1998) 近赤外分光法。日本分光学会出版センター。東京。pp 1-9
- 佐竹隆顕・中島教博・大森定夫 (2004) 青果物流通施設の研究・技術動向。農業施設。 **34**(4)。49-56
- 杉山純一・小川幸春 (2001a) メロンの糖度分布の3次元可視化。日本食品化学工学会誌。 **48**(4)。263-267
- 杉山純一・小川幸春 (2001b) 力学的および光学的手法による農産物の品質評価。応用物理。 **70** (8)。989-994
- 薦 瑞樹・杉山純一・相良泰幸 (2002) ハイパースペクトルシステムによる近赤外分光イメージング手法。映像情報メディア学会誌。 **56**(12)。159-162
- 山内 悟・澤田敏雄・河野澄夫 (2004) 非接触反射型近赤外分光法による冷凍カツオ粗脂肪量の非破壊測定。農業施設。 **35**(1)。25-31