

近赤外分光法によるメロン品質の非破壊計測法の開発[†]

伊藤 秀和

(平成 18 年 11 月 13 日受理)

Development of a Non-destructive Near-infrared (NIR) Spectroscopy Method for Determining the Internal Quality of Melons

Hidekazu Ito

目 次

I 緒 言	83	V メロン水浸状果の非破壊検出法の開発	106
II 非接触スペクトル測定法の開発	85	1 緒 言	
1 緒 言		2 方 法	
2 方 法		3 結果および考察	
3 結果および考察		4 摘 要	
a 非接触スペクトル測定法の開発		VI 総合考察	111
b 糖度検量線の作成と評価		引用文献	112
c 糖標品を用いた検討		Summary	114
d 糖の検量線作成と評価			
4 摘 要			
III 樹上メロン糖度の非破壊計測法の開発	99		
1 緒 言			
2 方 法			
3 結果および考察			
4 摘 要			
IV クボタ K-BA100 によるメロン糖度の非破壊計測	103		
1 緒 言			
2 方 法			
3 結果および考察			
4 摘 要			

I 緒 言

園芸農産物の品質を非破壊計測できれば、計測した園芸農産物をそのまま商品として出荷でき、周囲を汚さず、廃棄物を出さないという利点がある。

農産物品質の非破壊計測法は光分析法、核磁気共鳴法、打音解析法、X線解析法等に大別される。前2者は成分分析に、後2者は物理的な測定に向く (Watada, 1989; 1995; Hakim ら, 1999)。打音解析法および核磁気共鳴法は測定に時間を要し、加えて、核磁気共鳴法は装置が高価である。一方、光分析法の中で、紫外波長域は様々な成分の吸収が存在するために多成分を含む農産物の非破壊計測には不向きであると考えられる。可視波長域はカロテノイドやクロロフィル等の非破壊分析が可能である (Watada ら, 1976)。2500 ~ 25000nm の赤外波長域は主に定性分析に利用される。近赤外分光法を使えば、安

〒 514-2392 三重県津市安濃町草生 360
野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム

[†] 本論文は明治大学農学部学位請求論文を加筆修正したものである。本論文の一部は Acta Hort. 566: 483-486, Acta Hort. 654: 229-234 において発表した。

価かつ迅速に果実糖度等の農産物の品質を非破壊計測することが可能である(岩元, 1980; 尾崎, 1998; Kaysら, 2000). 迅速に非破壊計測できるのであれば, 農産物品質の全量検査が可能となる.

近赤外波長域は800~2500nmと定義され, 広い意味での近赤外分光法は近赤外光励起のラマン分光法や近赤外円偏光二色性なども含むが, ここでは近赤外光吸収と拡散反射のみを対象とする. 近赤外光波長域は大まかに領域Ⅰ(800-1100nm), 領域Ⅱ(1100-1800nm)および領域Ⅲ(1800-2500nm)に分けることができる. それぞれの領域には, 主に赤外領域に観測される分子の基準振動の第2倍音(領域Ⅰ), 第1倍音(領域Ⅱ), 結合音(領域Ⅲ)によるバンドが観測される. 近赤外吸収バンドは次のような特徴を持つ.

- ①赤外吸収に比べ, はるかに微弱である.
- ②多数の倍音や結合音によるバンドが重なったり, フェルミ共鳴によるバンドが多く観察される.
- ③水素を含む官能基(OH, CH, NHなど)や赤外で比較的高波数域に吸収を与える官能基(C=Oなど)と関係のあるバンドが多い.

近赤外分光法は古くから知られていたにもかかわらず, その進歩あるいは応用は最近まで遅々としたものであった. その原因は上述した特徴の②のスペクトルが複雑であることに起因する. この近赤外分光法に夜明けが訪れたのは1968年のことである. この年, 米国農務省のNorrisらは「スペクトルの複雑さと解析の難しさ」という問題を統計処理によって解決する方法を提案したのである(尾崎ら, 1996). 1965年頃から小麦, トウモロコシ, エンバク, 米などの分光反射特性が測定され, 1978年には小麦のタンパク質定量においてFGIS(米国連邦穀物検査局)の公定法として採用されるに至った(岩元, 1980). 牧草に関しては, 1975年にUSDAにおいて研究されて以来, 蓄積が多く, フォローテスト用のルーチン分析法として広く利用されている(尾崎ら, 1996). このように, 近赤外分光法による非破壊計測法開発の初期は, 主な対象が比較的乾燥した農産物であった.

園芸分野における分光分析法による非破壊計測法において, 可視波長域を用いる方法が先に検討された. 可視波長域においてはカロテノイドやクロロフィルおよびアントシアンの吸収を測定することが比較的容易であったために, 研究が先行したものと推察される(Watadaら, 1976; Czabaffy, 1984). 糖度の非破壊計測法の開発においても, 初めに可視波長域の利用が検討されたが, 糖との吸収を直接関連づけるものではなかった(Birthら,

1984). しかし, この研究グループは翌年に「近赤外分光法によるタマネギの乾物と糖度の非破壊計測法」を発表し, 糖度の計測における決定的な発見を報告した. この決定的な発見とは, 糖度非破壊計測時のキイとなる2波長(近赤外短波長側)を見出し, そのキイ波長の一つである904nm付近は炭水化物の吸収であることを発見したことである(Birthら, 1985). その後, 多くの研究者がこれら2波長と似た組み合わせを選択しており, メロン糖度(Dullら, 1989b), 小玉スイカ糖度(Itoら, 2002), イチゴ糖度(Ito, 2002), モモ糖度(Kawanoら, 1992; Peirisら, 1998b), モモとネクタリン糖度(Slaughter, 1995), ミカン糖度(Miyamotoら, 1995)およびパイナップル糖度(Guthrieら, 1998)において904と880nm付近の波長組み合わせが選択され, これを基礎として果実の糖度非破壊計測法は発展してきており, メロン糖度をイメージング手法により計測する際にも同様の波長が利用された(Tsutaら, 2002). これらの研究で非破壊計測用検量線は重回帰式等の説明変数が2~4と比較的少なかった. 一方, 重回帰分析ではなく, 多数の説明変数を利用するPLS回帰分析を適用した論文が多数見受けられるようになった(Carliniら, 1998; 2000; Guthrieら, 1997; 1999; McGloneら, 1998; Moonsら, 2000; Peirisら, 1998a; Peirisら, 2000; Slaughterら, 1996; 2003).

スペクトルは近赤外域から赤外域へと右上がりとなり(吸光度が高くなる), 長波長側は果実のような厚みのある多水分試料の定量分析に使いにくい. 一方, 短波長側は試料に対する透過力があるとされる(Fraserら, 2001).

近赤外スペクトル測定モードは反射, インタラクタンス(拡散反射), 透過の3つに分けられる. 反射は主に粉体試料, 後二者は短波長側の近赤外波長域(800-1000nm)を使って, 多水分試料(例:果実)の計測に適用されることが多い. 反射モードは試料平面に対して45度の位置に検出部が配置されたもの等である(Fig.1(a)). インタラクタンスモードとは照射部と検出部が同一平面上に配置されたものである(Kawanoら, 1992; Slaughterら, 1995; Ito, 2002)(Fig.1(c), 2(b)). このモードは試料に照射部と検出部を同時にセットすることが可能である. 透過モードは照射部位に対して180度の位置に検出部が配置されている(Miyamotoら, 1995)(Fig.1(b)).

これらの3つの測定モードを使って, 可視・近赤外短波長域でキウイフルーツの糖度, 比重および果肉色を非破壊計測した結果, インタラクタンスモードが最も精度が良かった(Schaareら, 2000). 近赤外分光法による農

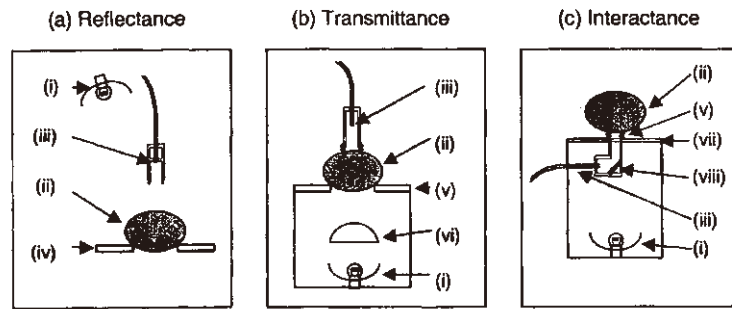


Fig. 1. The apparatus used for measuring (a) reflectance; (b) transmittance; and (c) interactance spectra of kiwifruit, showing (i) the light source; (ii) fruit; (iii) fibre bundle aperture; (iv) black foam holder; (v) light seal; (vi) condensing lens; (vii) glass top; and (viii) mirror.

Fig.1 Modes of near infrared spectra measurement
(Schaare et al., 2000)
(a:reflectance, b:transmittance, c:interactance)

産物品質の非破壊計測法が収穫後の農産物を対象に温度制御下の実験室内で開発されてきたのは、近赤外スペクトルが温度の影響を受けるためである。実用的には温度の影響を受けない方法の開発は必要であり、園芸農産物において近赤外短波長域を利用することで、その可能性は示されている (Miyamoto ら, 1995; Morimoto ら, 2002)。また、本分光光度計の小型化が可能となり、携帯が可能となった (Morimoto ら, 2001)。以上の3点に配慮すれば、生育中園芸農産物の非破壊計測が可能となるかもしれない。メロン果実の収穫時期は外観から判断することが困難であり、交配後日数 (佐藤, 1987)、積算温度 (鈴木ら, 1993) および振動の伝搬速度 (Ito ら, 2002) から非破壊的に判断することが可能であるが、これらは糖度を直接計測するものではなく、樹上果実糖度を直接非破壊計測することで低糖度果の流通防止の可能性がより一層高まるものと期待される。また、高糖度果の差別化販売の可能性もより一層高まるものと期待される。

計測対象は内容成分を中心に検討されてきたために生理障害の非破壊計測法開発は遅れていた。園芸分野において、果樹園芸で近赤外分光法による生理障害非破壊計測法が報告されているが、リンゴの密入り果 (Tsuchikawa ら, 2002) および褐変果肉果 (Clark ら, 2003) 計測法の報告のみでメロンを含めた野菜園芸で生理障害の非破壊計測法は報告されていない。

農産物の中では野菜を対象とした研究が遅れており、果樹よりも研究が先行した (Birth ら, 1985; Dull ら, 1989b) もの、実用的な研究は遅れていた。

近赤外分光法により果実糖度を非破壊計測する場合、実測値との間で大きな誤差を生じることがある (Peiris ら, 1998b)。特に、メロンのように果皮が厚く、表面に

凸凹がある果実では、さらに誤差を生じやすいものと推測される。メロンは果物的野菜であり、甘さの指標として糖度が重要視される (大和田ら, 1982)。また、果肉に水浸状症状が発生することがあり (加藤, 1985)、この症状が荷受け時に見つかり、そのロットの評価は悪い。これらの品質は外観からの判断が困難 (川上ら, 1994) であり、生産者および消費者双方の立場から非破壊計測法の開発が望まれる。

そこで、近赤外分光法によるメロン糖度非破壊計測時の推定精度向上のために、インタラクタンスモードを応用した新しい近赤外スペクトル測定手法を開発すると共に、「樹上メロン糖度の非破壊計測法」および「メロン水浸状果の非破壊検出法」を開発した。

Ⅱ 非接触スペクトル測定法の開発

1 緒言

近赤外分光法により果実糖度を非破壊計測する場合、実測値との間で大きな誤差を生じることがある (Peiris ら, 1998b)。メロンは果物的野菜であり、甘さの指標として糖度が重要視される (大和田ら, 1982)。特に、メロンのように果皮が厚く、表面に凸凹がある果実では、さらに誤差を生じやすいものと推測される。

先に述べたように、近赤外長波長側は果実のような厚みのある多水分試料の定量分析に使いにくい。一方、短波長側は試料に対する透過力があるとされる (Fraser ら, 2001)。この短波長域と可視域で3つの測定モード(反射, インタラクタンス, 透過) (Fig.1) を使って、キウイフルーツの糖度、比重および果肉色を計測した結果、インタラクタンスモードが最も精度が良かった (Schaare ら, 2000)。

果実の園芸農産物の糖度非破壊計測において、メロン糖度 (Dull ら, 1989b), 小玉スイカ糖度 (Ito ら, 2002), イチゴ糖度 (Ito, 2002), モモ糖度 (Kawano ら, 1992; Peiris ら, 1998b), モモとネクタリン糖度 (Slaughter, 1995), ミカン糖度 (Miyamoto ら, 1995) およびパイナップル糖度 (Guthrie ら, 1998) で 904 と 880nm 付近の波長組み合わせが選択された。904nm 付近は炭水化物の吸収である (Birth ら, 1985)。880nm 付近はそれに付随する補正的な波長である (Miyamoto ら, 1995)。

そこで、以上の知見を基に、近赤外分光法によるメロン糖度非破壊計測時の推定精度向上のために、インタラクタンスモードを応用した新しい近赤外スペクトル測定手法を開発した。

2 方 法

試料は品種‘アンデス’ (サカタのタネ), ‘アールスナイト夏系2号’ (サカタのタネ), ‘ティファニー328’ (横浜植木) (以後, 以上2品種を「アールスメロン」と呼ぶ), ‘しらゆきEL’ (大和農園) および PMAR No.5 と春系3号の交配後代 (以後, 「交配後代」と呼ぶ) を農林水産省野菜・茶業試験場 (2001年4月に「独立行政法人農業技術研究機構野菜茶業研究所」, 2003年10月に「独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構野菜茶業研究所」に組織名変更) 内ビニルハウスで栽培した。‘アンデス’ は複数の作型で栽培可能であり, 国内で生産の多い品種である。これら供試試料の特性を Table 1 に示

した。また, 別途2003年10月以降に供試した交配後代および市販メロンの特性を Table 2 に示した。

使用した近赤外分光光度計は光ファイバーを装着した NIRSystems 6500 (NIRSystems, Silver Spring, MA, USA) である。この分光光度計本体は世界的に使用されており, 光ファイバー末端の外側から近赤外光が試料に照射され, 内側に近赤外光を受光する部分がある (同軸型光ファイバー, インタラクタンスモード) (Fig.16 (a))。光ファイバー末端の外輪から果実に照射された近赤外光は組織と相互作用し, 吸収されない光の幾らかは反射されて果実を出て, 光ファイバー末端内側の同心円上の受光部によって集められる (Slaughter, 1995)。通常, 果実や野菜での糖度分布は不均一であり (Peiris ら, 1999), メロンでは果実花痕部果肉糖度が比較的高い (水野ら, 1971)。また, 果実花痕部は目視により容易に確認できるので, スペクトル測定部位としてセットすることが容易である。そこで, 果実の花痕部をスペクトル測定部位とした。インタラクタンスモードにおいて, 光ファイバー末端の受光部と試料 (果実) との間を最も近づけてスペクトルを測定する方法が従来法 (「接触スペクトル測定法」) (Kawano ら, 1992; Slaughter, 1995; Ito, 2002) であり, 光ファイバー末端と果実との間を2~3mm 離すスペクトル測定法が今回提案する「非接触スペクトル測定法」である (Fig.2 (b))。両方法で果実花痕部のスペクトルを測定 (原スペクトル) し, 糖度非破壊計測時の推定精度向上に配慮してセグメント10, ギャップ0mm

Table 1. Melon samples cultivated at NIVTS

Samples	Date (mm/yy)	Number of fruit (n)	Brix (%)		Note
			Range	Average ± Std	
‘Andes’	06/98	23	9.3 - 18.1	14.31 ± 3.10	For calibration
‘Andes’	10/98	24	9.9 - 14.4	11.74 ± 1.24	
‘Andes’	06/99	19	10.0 - 17.0	14.38 ± 2.26	
‘Andes’	07/02	18	10.4 - 18.3	15.76 ± 1.95	
‘Andes’	11, 12/02	10	11.8 - 20.2	16.64 ± 2.77	
Progeny*	06, 07/00	71	5.2 - 16.0	10.50 ± 2.36	For calibration
Progeny	06/01	26	8.2 - 15.8	11.61 ± 2.25	
Progeny	11/02	14	5.5 - 15.6	11.57 ± 3.28	
(Earl's melons)					
‘Earl's knight Natsu No.2’	07/99	12	8.5 - 15.2	12.63 ± 2.89	
‘Tiffany 328’	06/98	10	9.6 - 14.0	11.24 ± 1.39	
(Non-netted melons)					
‘Shirayuki EL’	05, 10/00	24	7.1 - 16.6	11.99 ± 3.58	

* Progeny from the cross between PMAR No.5 and Harukei No.3

Table 2. Melon samples(Progeny * and retailed melons, per flesh color)

Sample	Production	Date (mm/yy)	Brix (%)	Sampled chapter			Note
				II	IV	V	
(Yellow flesh)							
35	N I V T S	06/03	15.4	○	○	○	
45	N I V T S	06/03	13.8	○	○	○	
84	N I V T S	06/03	14.3	○	○	○	Water soaked flesh
25f12-2	N I V T S	11/05	5.4	○	○	×	
45f12-1	N I V T S	11/05	4.5	○	○	×	
45f12-2	N I V T S	11/05	4.8	○	○	×	
64f12-2	N I V T S	11/05	4.1	○	○	×	
33f11	N I V T S	11/05	3.9	○	○	×	
76f12-1	N I V T S	11/05	4.6	○	○	×	
25f12-1	N I V T S	11/05	9.7	○	○	×	
77f11	N I V T S	11/05	10.8	○	○	×	
'Otome' 2	Ibaragi prefecture	06/03	13.8	○	○	○	
Andes melon 1	Ibaragi prefecture	06/03	12.7	○	○	○	
Andes melon 2	JA Kashimanada	06/03	19.1	○	○	○	Water soaked flesh
Andes melon 3	Ibaragi prefecture	06/03	13.5	○	○	○	Water soaked flesh
Prince melon 1	-	06/03	17.0	○	○	○	
Prince melon 2	-	06/03	17.1	○	○	○	
Prince melon 3	-	06/03	11.9	○	○	○	
Andes melon 4	JA Shounai midori	10/04	5.7	×	○	×	
Andes melon 5	JA Shounai midori	10/04	13.7	×	○	×	
Andes melon 6	JA Shounai midori	10/04	10.2	×	○	×	
Raiden melon1	JA Kyouwa	10/04	14.1	×	○	×	
Raiden melon2	JA Kyouwa	10/04	11.6	×	○	×	
Earl's melon 1	JA Tosashi	11/05	14.1	○	○	×	
Earl's melon 2	JA Miyazakityuuou	11/05	13.8	○	○	×	
Earl's melon 3	JA Kamoto	12/05	10.6	○	○	×	
Earl's melon 4	JA Shimabaraunzen	12/05	10.1	○	○	×	
(Red flesh)							
29f8-2	N I V T S	06/03	6.8	○	○	○	
76	N I V T S	06/03	7.2	○	○	○	
20f11	N I V T S	11/05	7.3	○	○	×	
'Quincy' 1	Kumamoto prefecture	06/03	15.9	○	○	○	
'Quincy' 2	Kumamoto prefecture	06/03	15.4	○	○	○	
Rupia red melon 1	Ibaragi prefecture	06/03	11.4	○	○	○	
Red 113 melon	Hokkaido	10/04	10.0	×	○	×	
Rupia red melon 2	Hokkaido	10/04	15.3	×	○	×	
Earl's melon 5	JA Kobayashi	11/05	15.4	○	○	×	
Paris melon	-	12/05	14.8	○	○	×	
(Green flesh)							
'Takami' 1	-	06/03	12.6	○	○	○	
'Takami' 2	-	06/03	6.5	○	○	○	
'Takami' 3	-	06/03	14.2	○	○	○	
'Takami' 4	-	06/03	12.4	○	○	○	
'Takami' 5	JA Kumamotoshi	06/03	16.5	○	○	○	
(White flesh)							
Yellow king melon 1	-	06/03	13.0	○	○	○	
Yellow king melon 2	-	06/03	12.7	○	○	○	
Homeran star melon 1	Ooyodo	06/03	-	×	×	○	Browning flesh
Homeran star melon 2	Ooyodo	06/03	-	×	×	○	Browning flesh
Homeran star melon 3	Ooyodo	06/03	5.5	○	○	○	
Homeran star melon 4	Ooyodo	06/03	9.2	○	○	○	
Homeran star melon 5	Ooyodo	06/03	11.2	○	○	○	

* Progeny from the cross between PMAR No.5 and Harukei No.3:

の条件で2次微分スペクトルに変換した。スペクトル測定後、果実花痕部を光ファイバー末端光照射部の直径とほぼ同じである18mm径のコルクボーラーを使って切り抜いた。得られた果肉をおろし器を使っておろした後、

遠心分離し、得られた汁液の糖度を温度補償型糖度計(アタゴ, DBX55)を使って測定した。

果実花痕部2次微分スペクトル(750~1100nm, 2nm間隔)の吸光度を独立変数、花痕部果肉糖度の実測値

を従属変数とする重回帰式を作成した。糖度推定精度は重回帰分析時において、バイアスやスロープの発生が問題とならないので重相関係数 (MR) および独立変数の数を考慮した Standard error of calibration (SEC), 未知試料評価時において、糖度絶対値の推定精度を示すために Root mean square (RMS) により評価した。

SEC および RMS の説明を下に記す。

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (X-Y)^2}{(n-m-1)}}$$

X = 糖度の実測値

Y = 糖度の推定値

m = 重回帰式に採用した独立変数の数

n = 試料数

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum (X-Y)^2}{n}}$$

実験方法の概略を Fig.2 (a) に示した。

近赤外スペクトル測定および重回帰分析用ソフトウェアとして、上記近赤外分光光度計に付属した NSAS (Near Infrared Spectral Analysis Software) ver. 3.27 を使用した。両スペクトル測定法による推定値の平均値間の有意差検定は t 検定を行った。

糖標品 (スクロース, グルコース, フルクトース) として和光の特級試薬を用意し、粉末またはそれぞれ純水に溶かしたものをレファレンス板付きのサンプルカップに入れ、インタラクタンスモードでスペクトルを測定した。

糖の定量は高速液体クロマトグラフィーを用いて定量した。すなわち、カラムは Shodex Ionpak KS-801 を使用し、示差屈折検出器でピークを検出した。

3 結果および考察

a 非接触スペクトル測定法の開発

広い糖度範囲を得るために、'アンデス' では未熟からやや過熟な果実を供試した。一方、交配後代の果実の収穫時期は個別に果皮の黄化や離層形成等から判断されたので、'アンデス' の場合とは異なって熟した果実により糖度範囲が広がったと考えられた。供試した試料において、非接触測定した原スペクトルの吸光度は接触測定した原スペクトルの吸光度よりも必ず低くなった。また、2次微分スペクトルにおいても、前者の方が吸光度の絶対値が小さくなった。両スペクトル測定法において、832, 858, 950 および 1018nm 付近で吸光度の値がゼロ付近へと収束していた (Fig.3, 5)。

糖度と各波長の吸光度との相関係数を見ると、980nm 付近を除いて、非接触スペクトル測定法の方が負の相関係数が高くなる傾向があった。中でも 906nm 付近が最

も高い負の相関係数を示し、'アンデス' では接触スペクトル測定で相関係数は -0.24, 非接触スペクトル測定で -0.46 (Fig.4), 交配後代ではそれぞれ -0.23, -0.28 であった (Fig.6)。2次微分スペクトルでは原スペクトルと異なり、目的成分量との間に正ではなく負の相関が出現する。このように、非接触スペクトル測定法は 'アンデス' において糖や炭水化物の吸収帯といわれている 906nm 付近 (Birth ら, 1985) の相関係数を改善することが出来た。交配後代では同波長における相関係数はほぼ同じであったものの、非接触スペクトル測定による精度の良い糖度非破壊計測が期待された。

果実と光ファイバーとの距離の関係について、光ファイバー末端と果実との距離が離れるにつれて吸光度の絶対値が小さくなることが明らかとなった。メロンの表面は凸凹であり、光ファイバーと試料との間の距離は一定に設定することが困難であり、個体間で 1mm 程度は変わりうる。その分、吸光度の値は影響を受けると考えられた。また、光ファイバー末端と果実との距離を 1~6mm 離れた場合も、832, 856, 950 および 1020nm 付近で吸光度の値がゼロ付近へと収束していた。なお、スペクトル測定は暗箱内に試料をセットしており、どの距離においてもノイズが目立つことはなかった (Fig.7)。

b 糖度検量線の作成と評価

'アンデス' で両スペクトル測定法において重回帰式を作成した結果、その独立変数として 906, 884, 762nm を採用した。以下にその式を示す。

非接触スペクトル測定：

$$\text{糖度推定値 (Brix\%)} = 7.397 - 3008.493 \times 906\text{nm} + 11950.57 \times 884\text{nm} + 198.881 \times 762\text{nm}$$

接触スペクトル測定：

$$\text{糖度推定値 (Brix\%)} = 10.062 - 1820.161 \times 906\text{nm} + 6063.542 \times 884\text{nm} + 195.532 \times 762\text{nm}$$

示した波長は、各波長における 2次微分スペクトルの吸光度を指す。

なお、'アンデス' の非接触測定したスペクトルから作成した重回帰式では 1998 年 10 月収穫のロットを使って、バイアスを補正後に使用した。

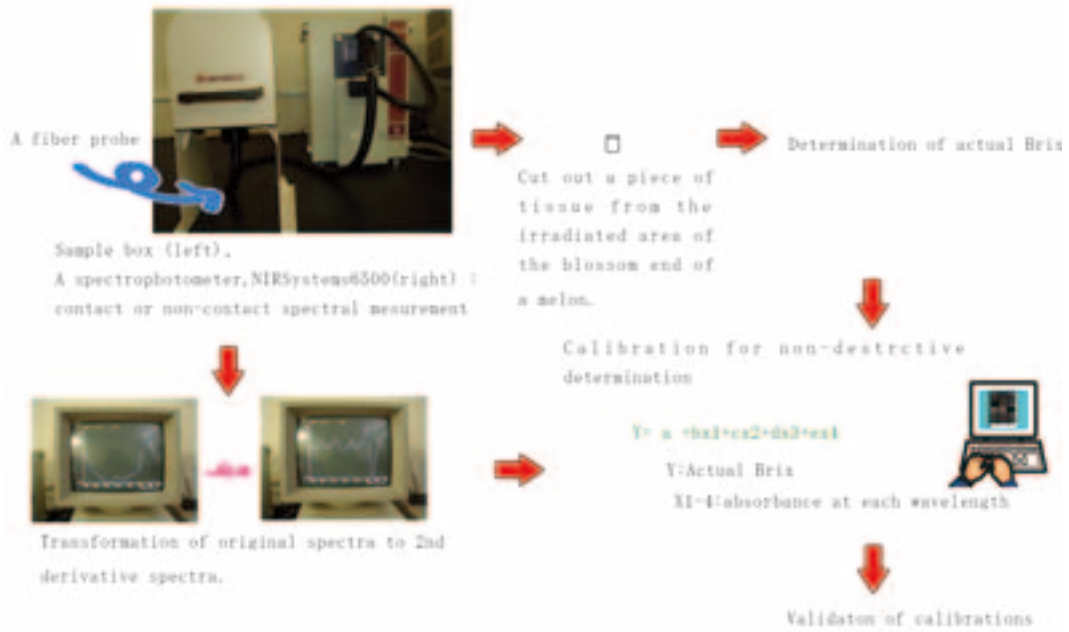
交配後代で両スペクトル測定法において作成した重回帰式を以下に示す。

非接触スペクトル測定：

$$\text{糖度推定値 (Brix\%)} = 14.488 - 5308.838 \times 902\text{nm} + 9930.148 \times 876\text{nm} - 4091.25 \times 856\text{nm} - 531.028 \times 828\text{nm}$$

接触スペクトル測定：

(a) Outline



(b) Measurement of spectra (in a interactance mode)

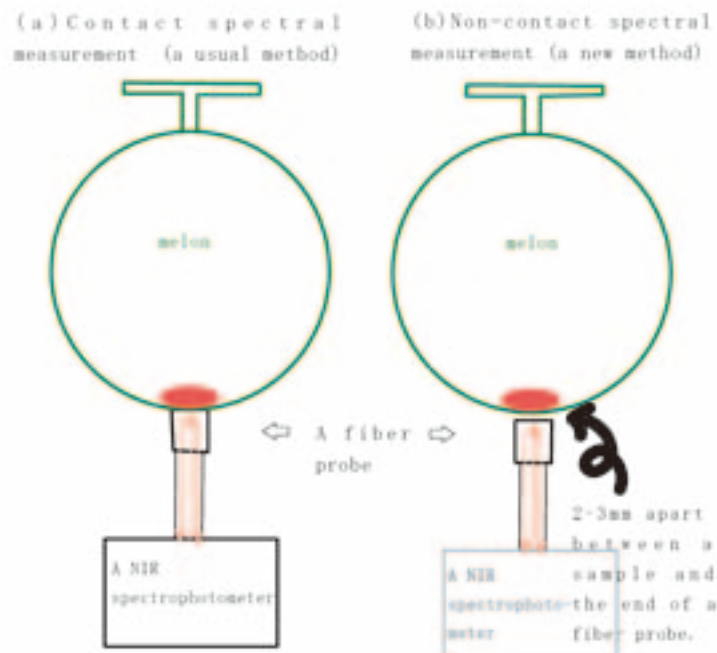


Fig.2 Procedures of experiment

(a) Outline

(b) Measurement of spectra (in a interactance mode)

糖度推定値 (Brix%) = $10.819 - 514.274 \times 902nm + 5595.917 \times 876nm + 382.004 \times 954nm + 1224.188 \times 1012nm$
示した波長は、各波長における2次微分スペクトルの吸光度を指す。

以上に示したように、非接触測定したスペクトルを使って作成した重回帰式は、採用した波長が同じ場合に、対応する傾きの値が大きくなった。また、どの重回帰式においても、第1波長として904nm付近、2波長として

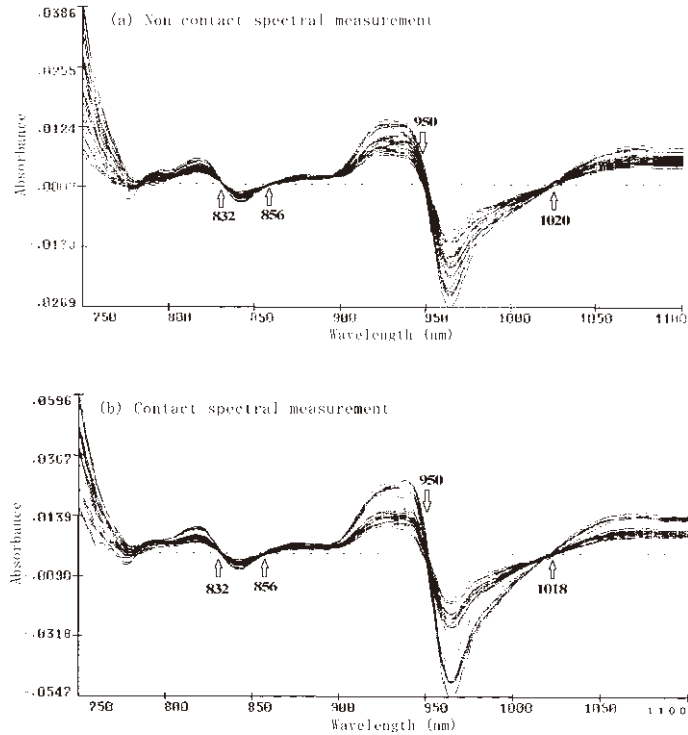


Fig.3 Second derivative spectra of melons
 (a) non-contact spectral measurement
 (b) contact spectral measurement
 (n=23, 'Andes', a sample set for calibration, NIRSystems 6500 spectrophotometer)

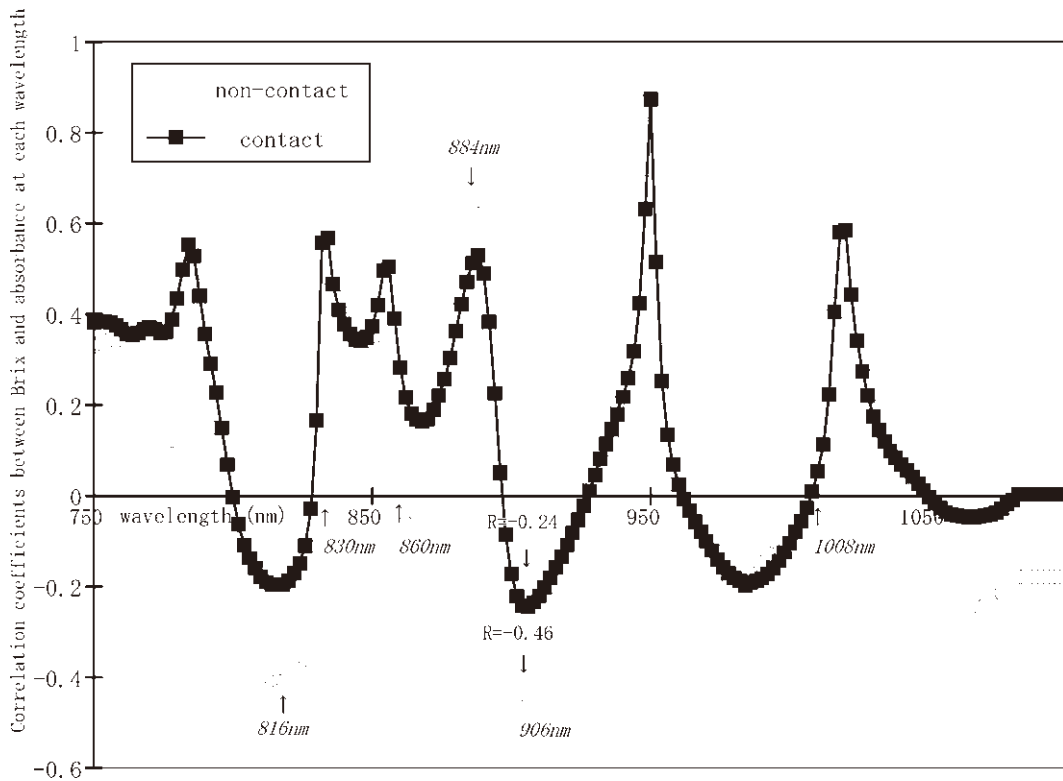


Fig.4 Correlation coefficients between Brix of blossom end and absorbance of second derivative spectra
 (n=23, 'Andes', a sample set for calibration)

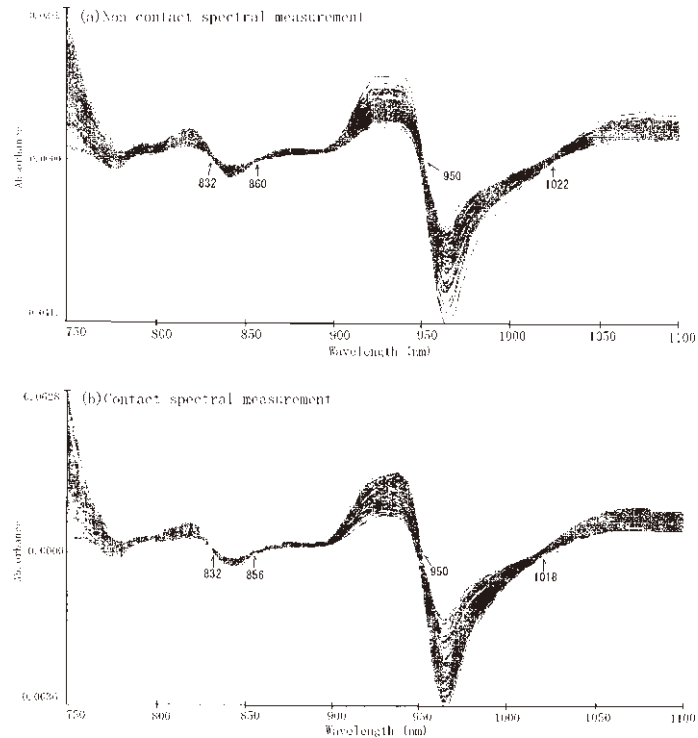


Fig.5 Second derivative spectra of melons
 (a) non-contact spectral measurement
 (b) contact spectral measurement
 (n=71, progeny from Hrukei No.3 × PMAR No.5, a sample set for calibration, NIRSystems 6500 spectrophotometer)

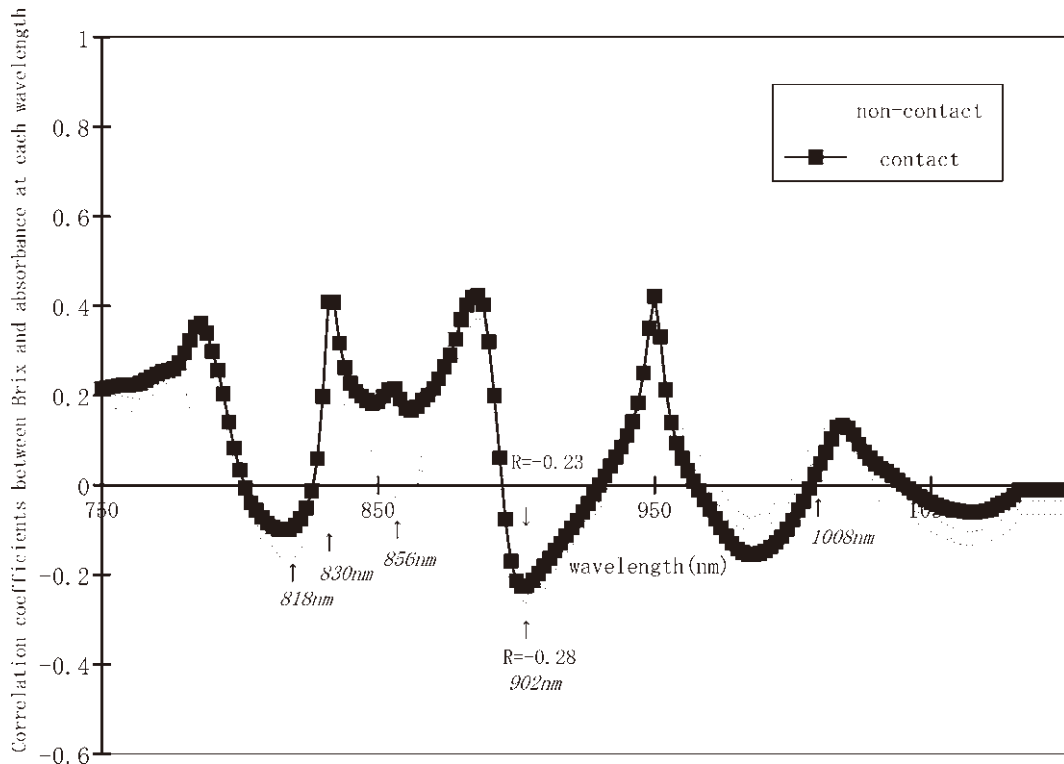


Fig.6 Correlation coefficients between Brix of blossom end and absorbance of second derivative spectra
 (n=71, progeny from Hrukei No.3 × PMAR No.5, a sample set for calibration)

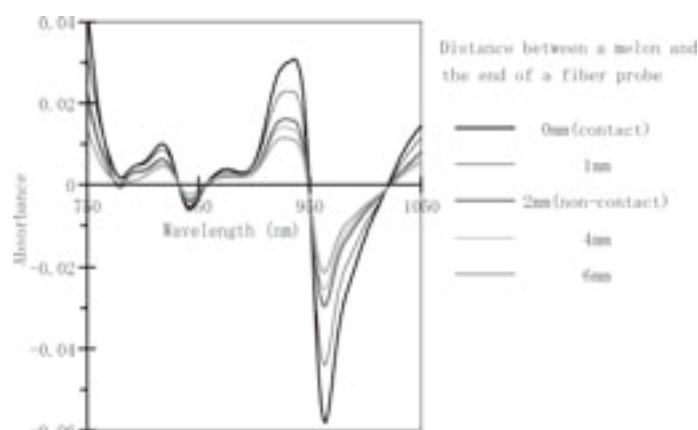


Fig.7 Second derivative spectra of melons influenced on the distance between a sample and the end of a fiber probe ('Andes', NIRSystems 6500 spectrophotometer)

880nm 付近を採用した。

これら第1, 2波長の組み合わせは、最初に、タマネギ乾物および糖度の非破壊計測法開発の際に採用された。904nm 付近は炭水化物の吸収である (Birthら, 1985)。多くの研究者がこれら2波長と似た組み合わせを選択しており、他にもメロン糖度 (Dullら, 1989b)、小玉スイカ糖度 (Itoら, 2002)、イチゴ糖度 (Ito, 2002)、モモ糖度 (Kawanoら, 1992; Peirisら, 1998b)、モモとネクタリン糖度 (Slaughter, 1995)、ミカン糖度 (Miyamotoら, 1995) およびパイナップル糖度 (Guthrieら, 1998) において904と880nm 付近の波長組み合わせが選択された。880nm 付近は補正的な波長である (Miyamotoら, 1995)。今後、これらの波長 (904と880nm 付近) の組み合わせを「糖度推定のキイ波長」と呼ぶ。なお、Kawanoら (1989) は、906nm 付近のバンドをC-H構造の第3倍音と推定した。

交配後代では重回帰式の第3, 4波長として、吸光度がゼロ付近に収束する波長が採用された。すなわち、非接触スペクトル測定法においては短波長側の856, 828nm、接触スペクトル測定では長波長側の954nm が採用された (Fig.3, 5)。加えて、830, 858nm 付近は非接触測定したスペクトルにおいて、糖度と無相関 (相関係数がゼロ付近) の波長、1008nm は接触測定したスペクトルにおいて、糖度と無相関の波長であった。954nm 付近は2次微分スペクトルの吸光度と糖度との間に比較的高い正の相関係数を示したので、糖度とは直接関係のない波長であると考えられた (Fig.4, 6)。

‘アンデス’では重回帰式の独立変数が糖度推定のキイ波長のみの場合に、直線よりも曲線にフィッティングする様子であり、特に、接触スペクトル測定した場合に

その傾向は強い様子であった (Fig.8 (b))。このことは重回帰式の直線性を向上させるために他の情報を取り込まなければならないことを示す。

上記の重回帰式を使って、それぞれに対応する未知試料の糖度を推定した。その結果、非接触スペクトル測定したメロンの吸光度は絶対値が小さいものの、‘アンデス’および交配後代の供試した全てのロットにおいて推定精度を改善した。すなわち、接触スペクトル測定よりもSECは低く、重相関係数は高くなり (Fig.8, 9)、作型、栽培年次の異なるメロンのRMSは低くなった (Fig.10, 11 左側)。ただし、これらの各ロットの中には対応する両推定値の平均値をt検定にかけた結果、有意差が認められず、両推定値の平均値が同等のロットも認められた。上述のように、糖度推定時に906nmと組み合わせられて使われる884nm 付近の波長は補正的な波長とされるが、‘アンデス’ではこの波長によって、かえってバイアスが大きくなり、推定精度の低下するロットが認められた。そこで、一部のロットでは906, 762nmの2波長を使用した。合計5ロット中で、接触スペクトル測定の3ロットでこの2波長の方が推定精度が良かった。一方、非接触スペクトル測定法でこの2波長の方が推定精度が良かったのは冬の1ロットのみであった (Fig.10)。

交配後代の収穫時期は個別に果皮の黄化や離層形成等から判断されたので、‘アンデス’の場合とは異なって熟した果実により糖度範囲が広がったと考えられたが、この試験においても、非接触スペクトル測定は接触スペクトル測定の糖度推定精度を改善し、検量線作成用試料で非接触スペクトル測定法の方が精度が高かった (Fig.9)。しかし、未知試料ではRMSの値はほぼ同じで、対応する両推定値をt検定にかけた結果も有意差は認め

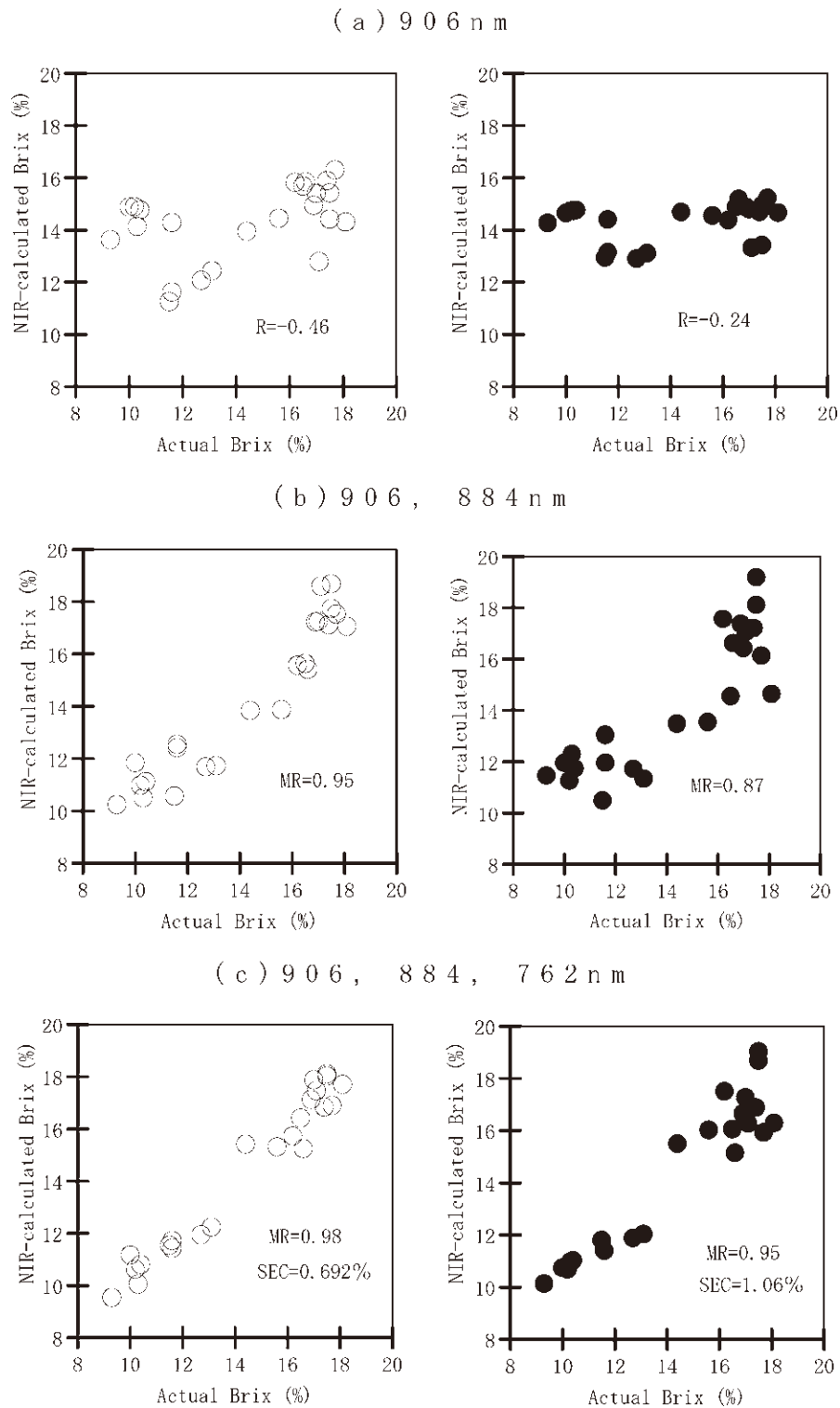


Fig.8 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
Comparison of non-contact spectral measurement (left, ○) with contact spectral measurement (right, ●). (n=23, 'Andes', a sample set for calibration)

られなかった (Fig.11 左側)。

先の‘アンデス’と交配後代の重回帰式を比較すると、独立変数に採用した第3および4波長は異なったので、出来るのであれば、一つの重回帰式で両方共に計測でき

ることが望まれた。そこで、上述の交配後代を使って作成した重回帰式を使って‘アンデス’の糖度を推定した結果、全ての5ロットにおいて非接触スペクトル測定は接触スペクトル測定の糖度推定精度を改善した。すなわ

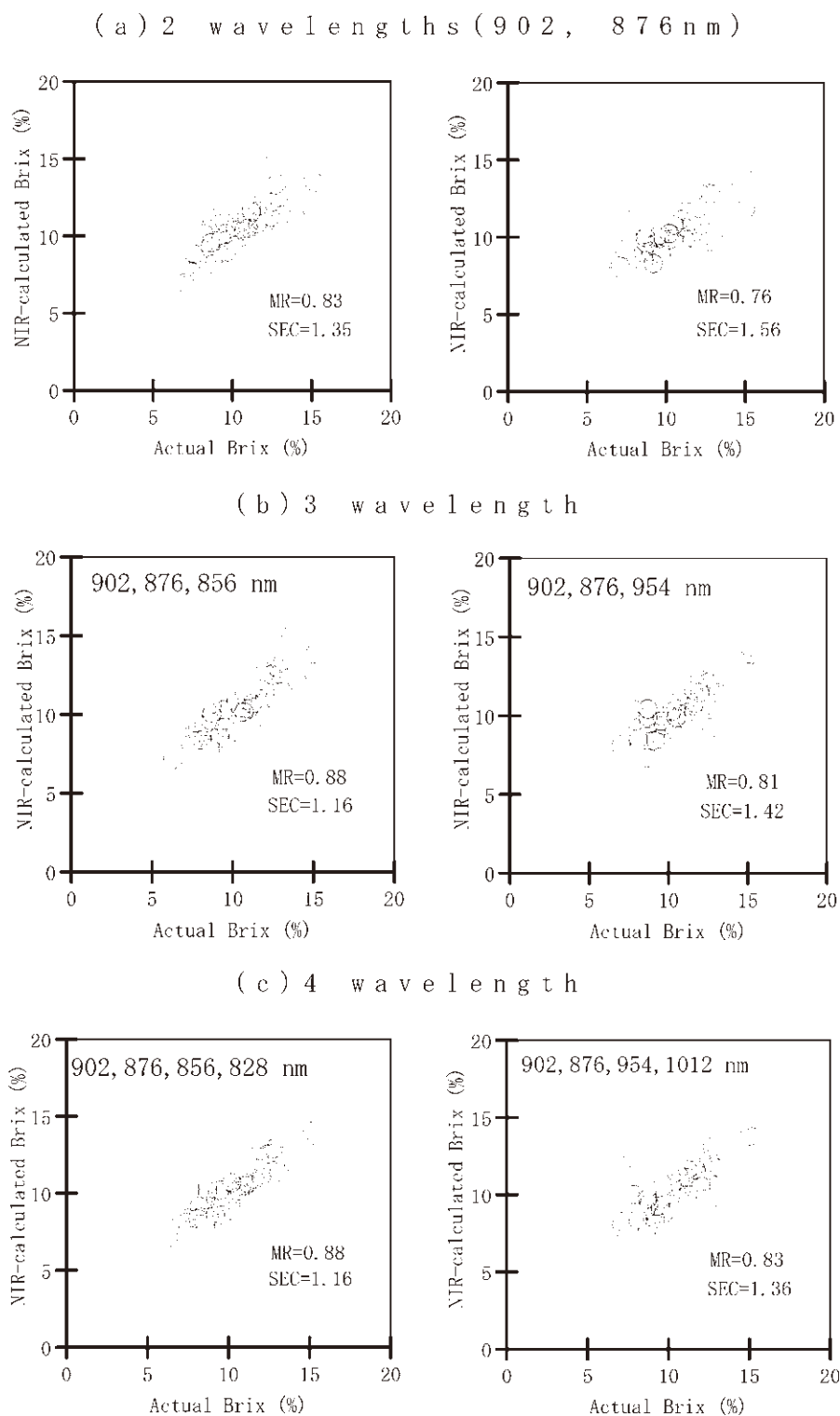


Fig.9 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
Comparison of non-contact spectral measurement (left) with contact spectral measurement (right) (n=71, progeny form Harukei No.3 × PMAR No.5, a sample set for calibration)

ち、全ての5ロットにおいて、接触スペクトル測定時よりもRMSは低くなり、加えて、5ロット中3ロットでt検定の結果は有意となった。このマルチ検量線をさらに評価するために、新たに未知試料として加えたアールス

メロン‘ティファニー328’では非接触スペクトル測定RMSの方が高くなったが、t検定の結果、有意差が認められなかった。アールスメロン‘アールスナイト夏系2号’でも非接触スペクトル測定は接触スペクトル測定

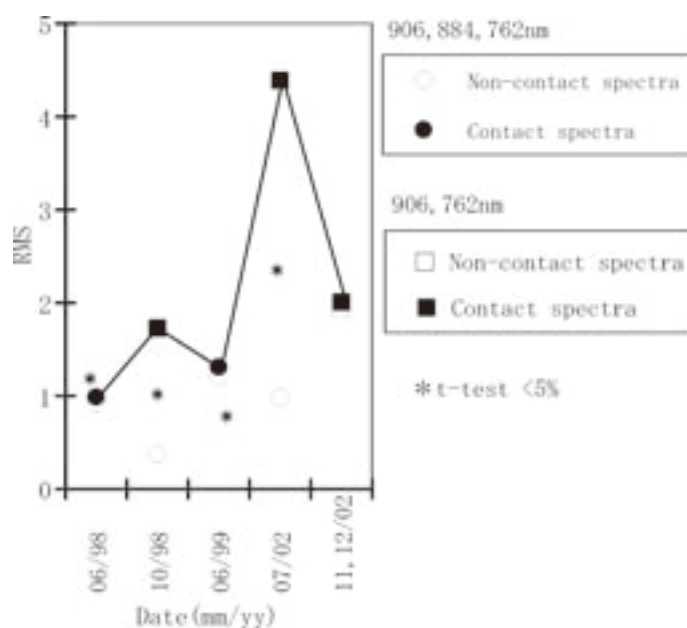


Fig.10 Accuracy of NIR - calculated Brix.
Comparison of non-contact spectral measurement (open plots) with contact spectral measurement (close plots) ('Andes')

の糖度推定精度を改善し、t検定の結果も有意となった。以上はどれもネットメロンの結果であったが、ノーネットメロンである「しらゆきEL」および交配後代と市販メロンで糖度範囲を最も広くしたロットにおいても非接触スペクトル測定は接触スペクトル測定の糖度推定精度を改善した。すなわち、接触スペクトル測定時よりもRMSは低くなった (Fig.11 中～右側)。

Fig.10 および 11 を見ると明らかなように、接触スペクトル測定時のRMSは非接触スペクトル測定時のそれと比較して、変動幅が大きかった。

接触スペクトル測定において、非接触スペクトル測定の重回帰式の独立変数として採用したのと同じ波長 (902, 876, 856, 828nm) を採用して重回帰式を作成しても、先に採用した4波長と比較すると、4/11ロットでRMSが低いのみであり、加えて、非接触スペクトル測定の重回帰式と比較すると、全てのロットでRMSが高くなった (データ略)。

非接触スペクトル測定を利用する場合に、従来法と比較して推定精度が同等以上であれば、全体として推定精度向上が期待でき、光ファイバー末端と試料を接触させる必要はないので、光ファイバー末端は汚れにくくなる。また、センサー部分是对象物と非接触であるので、究極の品質管理である「無侵襲プロセス管理」が可能となる (尾崎ら, 1996)。

‘アンデス’果実花痕部と光ファイバー末端の距離が2と4mmのときに、先に作成した重回帰式による糖度

推定値はそれぞれ15.514と15.031であり、ほぼ同じであった。そこで、今後も2～3mmに設定することとした。

以上のように、炭水化物や糖の吸収帯である904nm付近の波長を重回帰式の独立変数として含めることにより、従来法 (接触スペクトル測定) と比較して非接触スペクトル測定は糖度推定精度が同等か、改善することができ、安定した計測が可能となった。

c 糖標品を用いた検討

糖標品 (スクロース, グルコース, フルクトース) 粉末のスペクトルをメロンと同様にインタラクタンスモードで測定した結果、スクロースでは916, グルコースとフルクトースでは920nmをピークトップとするブロードな吸収帯を認めることができた。メロンのスペクトルを測定した近赤外短波長域において、これらメロンの主要な遊離糖の吸収帯が一致して認められたのはこの吸収帯のみであった (Fig.12)。先に、非破壊計測用検量線の独立変数として採用した、糖や炭水化物の吸収帯といわれている902nm付近 (Birthら, 1985) はこの吸収帯の裾に位置する。Ito (2002) はスクロース, グルコースおよびフルクトース粉末にて同様のスペクトルを得た。

さらに、糖標品をそれぞれ純水に溶解してスペクトルを測定した。各糖の濃度はメロンにおける濃度を考慮 (Itoら, 2002) して決定した。2次微分スペクトルにおける902nmの吸光度と濃度との相関係数はスクロース0～12%では-0.999, グルコース0～5%では-0.994, フルクトース0～5%では-0.996といずれも高い相関を示

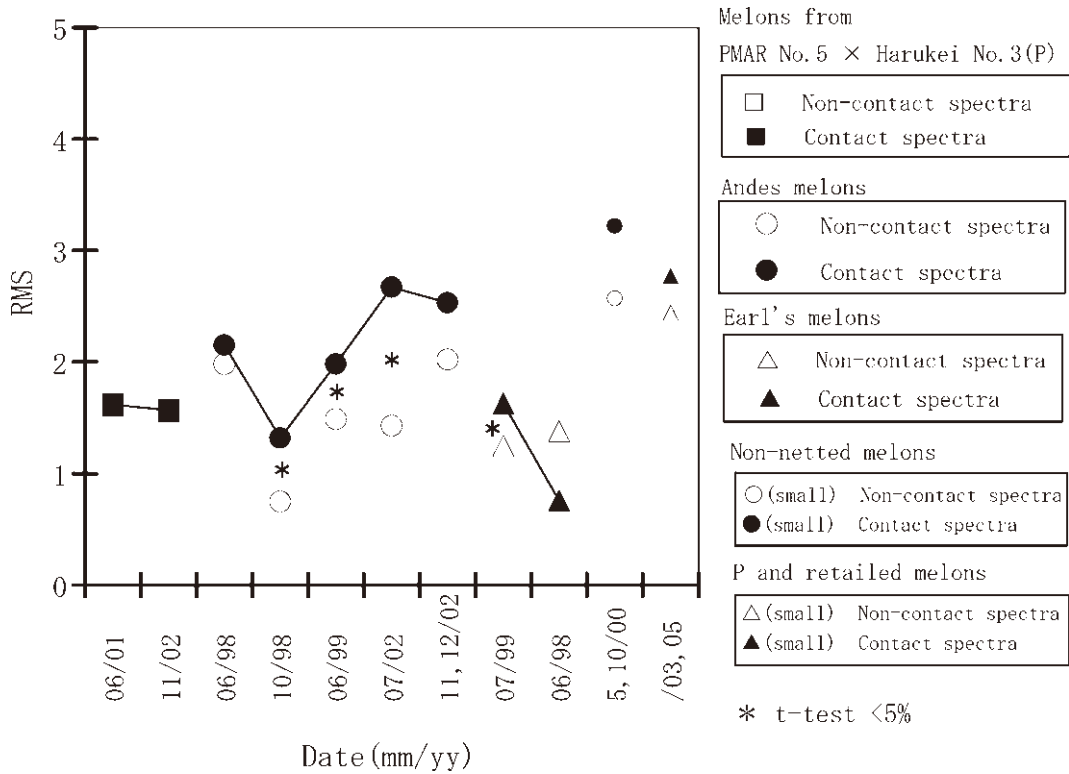


Fig.11 Accuracy of NIR – calculated Brix
 Comparison of non-contact spectral measurement (open plots) with contact spectral measurement (close plots) (progeny from Harukei No.3 × PMAR No.5 (P), 'Andes', Earl's, non-netted and purchased melons)

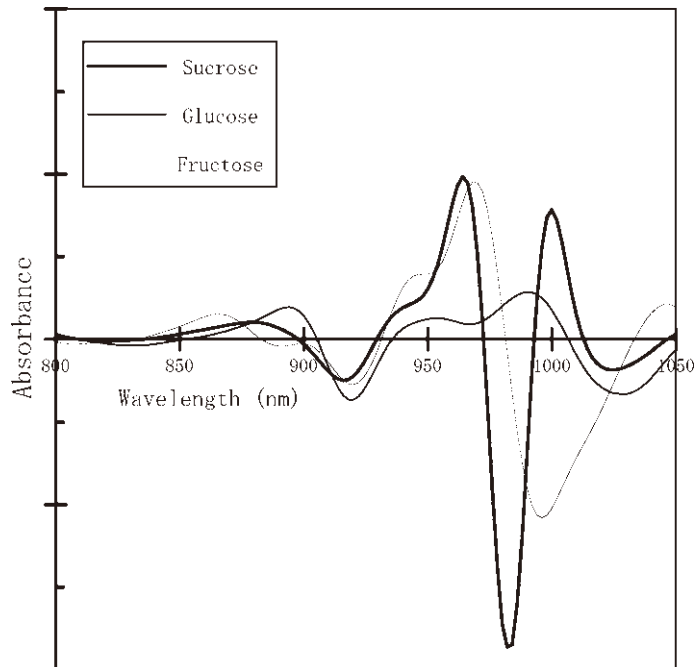


Fig.12 Second derivative spectra of sugar powders

した。また、831, 861, 951 および 1013nm で吸光度はゼロ付近となっており、メロンと同様に、832, 858 および 950nm 付近での吸光度はゼロ付近であった (Fig.13, 14, 15)。

以上の結果から、糖水溶液のスペクトルをインタラク

タンスモードで測定した結果、902nm 付近の吸光度と糖濃度との相関は高く、糖粉末のスペクトルを測定した結果も、この付近の波長は糖の吸収と関係があることを確認できた。また、糖水溶液のスペクトルにおいて、832 および 858nm 付近での吸光度はメロンと同様にゼロ付

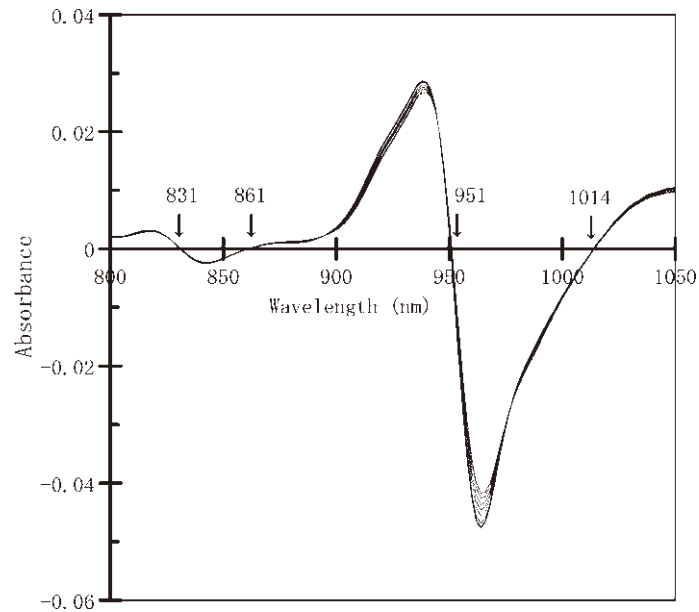


Fig.13 Second derivative spectra of aqueous solution of sucrose

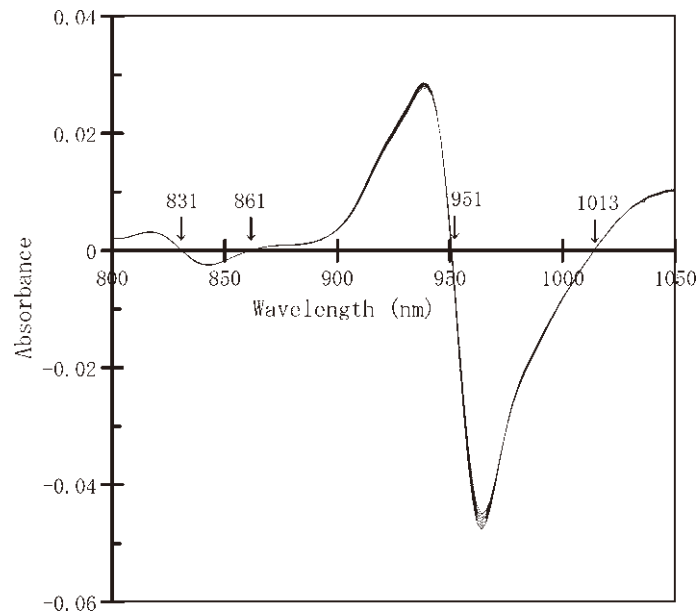


Fig.14 Second derivative spectra of aqueous solution of glucose

近であった。

d 糖の検量線作成と評価

Table 3 に示したように、糖度の検量線作成と評価に使用したのと同じ幾つかのロットを供試した。糖度の70～80%は糖含量で説明可能であり、主成分は糖であることを確認できた(大和田ら, 1982)。糖の検量線(重回帰式)の独立変数として、2次微分スペクトルの902, 876, 828および856nmの吸光度を採用した。これらの独立変数は糖度の検量線に採用した独立変数と同じである。検量線作成時の重相関係数は非接触スペクトル

測定法で0.91、接触スペクトル測定法で0.75であった。902nmの吸光度と糖実測値との相関は非接触スペクトル測定法で-0.45、接触スペクトル測定法で-0.24であり、糖度検量線作成時と同様に前者の方が高いマイナスの相関を示した。未知試料として、検量線作成用試料に含まれない‘アンデス’およびアールスメロンを供試した結果、糖/糖度の値が79%程度のロットでは両スペクトル測定法において同程度の推定精度を示し、それ以外のロットでは非接触スペクトル測定法の方が推定精度が高く、2002年7月に収穫した‘アンデス’では両推定値の平均値間に有意差が認められた(Table 3)。

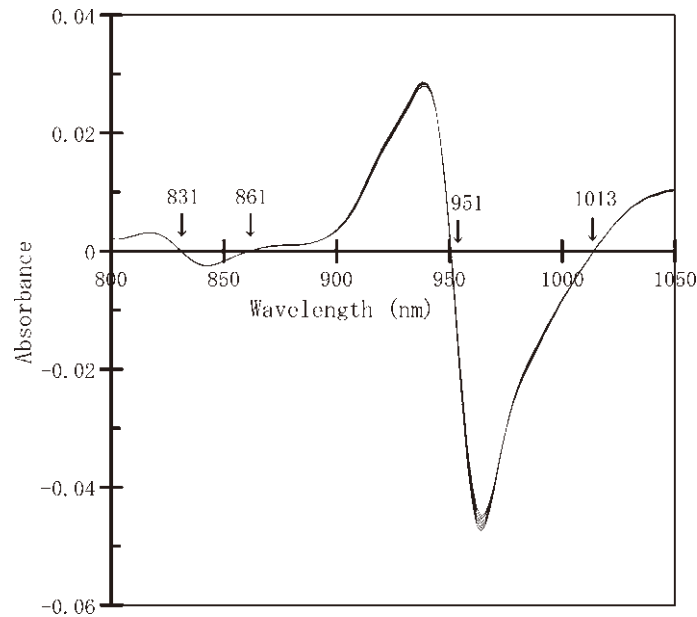


Fig.15 Second derivative spectra of aqueous solution of fructose

Table 3. Calibration and validation for sugar content in melons

Sample set	Date (mm/yy)	Sugar/Brix (%)	SEC or RMS	
			Non-contact *	Contact *
(Calibration)				
'Andes'	06/98	75.6 ± 4.7	1.23	1.99
(Validation)				
'Andes'	10/98	83.3 ± 4.0	1.39	1.52
'Andes'	06/99	78.7 ± 3.4	0.96	1.01
'Andes'	07/02	72.9 ± 1.6	1.08	2.92
'Earl's knight Natsu No.2'	07/99	79.6 ± 5.1	1.54	1.55
'Tiffany 328'	06/98	79.6 ± 2.7	1.46	1.45

* Indicated values mean SEC for the calibration sample set and RMS for the validation sets, respectively.

■:Significantly 5% level between the values (t-test) .

以上に示したように、非接触スペクトル測定法の糖推定精度は糖度推定時と同様に、接触スペクトル測定法(従来法)と同等か改善した。

4 摘 要

近赤外分光法によるメロン糖度非破壊計測時の推定精度向上のために、インタラクタンスモードを応用した新しい近赤外スペクトル測定手法を開発した。

インタラクタンスモードにおいて、光ファイバー末端と果実との距離が離れるにつれて吸光度の絶対値が小さくなったが、832、858、950 および 1020nm 付近で 2 次微分スペクトルの吸光度の値がゼロ付近へと収束していた。なお、スペクトル測定は暗箱内に試料をセットしており、どの距離においてもノイズが目立つことはなかった。

メロン果実と光ファイバー末端の距離が 2 と 4mm の

ときにはほぼ同じ推定値が得られた。そこで、メロン表面は凸凹なので、2～3mm に設定した。糖度と各波長の吸光度との相関係数を見ると、980nm 付近を除いて、従来のスペクトル測定法よりも、このスペクトル測定法の方が相関係数を改善する傾向があった。この新たに提案するスペクトル測定法を「非接触スペクトル測定法」と呼ぶことにし、従来法を「接触スペクトル測定法」と呼んで区別した。また、試料と非接触で測定できれば、究極の品質管理である無侵襲プロセス管理が可能となる。

炭水化物や糖の吸収帯である 904nm 付近の波長を重回帰式の独立変数として含めることにより、接触スペクトル測定と比較して非接触スペクトル測定は糖度推定精度が同等か、改善することができ、安定した計測が可能となった。この異なる品種・収穫時期・熟度・作型の試料に対して堅牢な重回帰式(非破壊計測用マルチ検量線)の独立変数として、糖度推定のキイ波長(902、

876nm) の他に, 856 および 828nm を採用した. 830 および 858nm 付近は 2 次微分スペクトルの吸光度の値がゼロに収束し, 糖度との相関がゼロ付近の波長であった.

糖水溶液のスペクトルをインタラクタンスモードで測定した結果, 902nm 付近の吸光度と糖濃度との相関は高く, 糖粉末のスペクトルを測定した結果も, この付近の波長は糖の吸収と関係があることを確認できた. また, 糖水溶液の吸光度はメロンと同様に, 830 および 858nm 付近でゼロ付近であった.

非接触スペクトル測定法の糖推定精度も糖度推定時と同様に, 接触スペクトル測定法 (従来法) と同等か改善した.

Ⅲ 樹上メロン糖度の非破壊計測法の開発

1 緒言

近赤外分光法による農産物品質の非破壊計測法が収穫後の農産物を対象に温度制御下の実験室内で開発されてきたのは, 近赤外スペクトルが温度の影響を受けるためである. 実用的には温度の影響を受けない方法の開発は必要であり, その可能性は示されている (Miyamoto ら, 1995; Morimoto ら, 2002). また, 本分光光度計の小型化が可能となった (Morimoto ら, 2001). これらにより, 環境温度の影響を受けやすい栽培現場においても, 世界にさきがけて生育中果実糖度の非破壊計測が可能となることが期待された. メロン果実の収穫時期は外観から判断することが困難であり, 交配後日数 (佐藤, 1987), 積算温度 (鈴木ら, 1993) および振動の伝搬速度 (Ito ら,

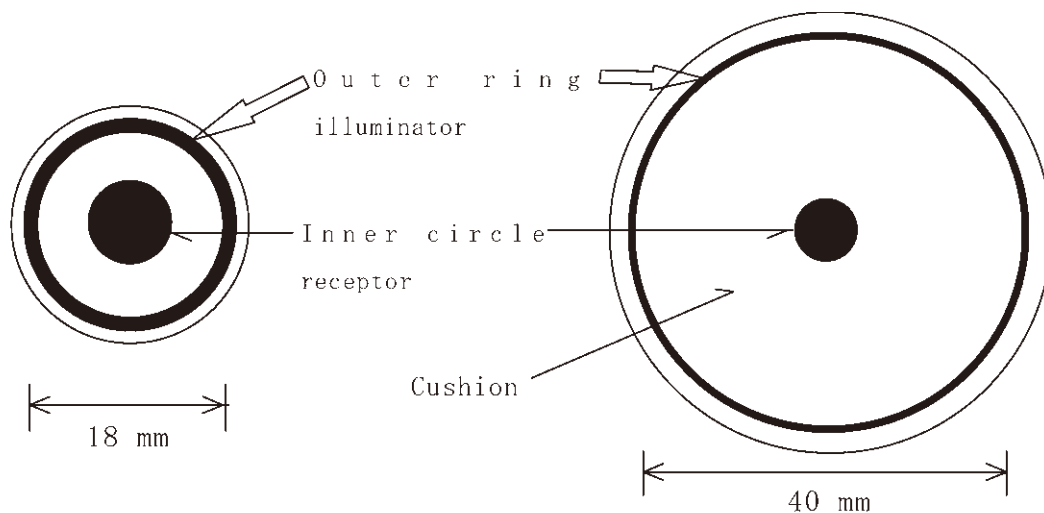
2002) から非破壊的に判断することが可能であるが, これらは糖度を直接計測するものではなく, 樹上果実糖度を直接非破壊計測することで低糖度果の流通防止の可能性がより一層高まるものと期待される. また, 高糖度果の差別化販売の可能性もより一層高まるものと期待される.

そこで, 本章においてはⅡ章において得られた知見を基に, 生育中メロン糖度非破壊計測の可能性を検討した.

2 方法

試料は品種 ‘アールスナイト盛夏系’ (サカタのタネ) を 2000 年に農林水産省野菜・茶業試験場内ビニルハウスで抑制栽培した.

使用した近赤外分光光度計は光ファイバーを装着したクボタ K-BA500 (Ⅳ章で使用する K-BA100 のプロトタイプ) である. 近赤外スペクトルの測定および変換は付属のソフトウェアをパソコンにインストールして行った. この光ファイバー末端の光照射部の直径は, 試料内部の情報得られるように, Ⅱ章で使用した近赤外分光光度計のそれと比較して 40mm と広い (Dull ら, 1989a) (Fig.16). ビニルハウス内では外光の影響を避けるために, メロンを黒布で覆い果実花痕部の原スペクトルを測定した. 原スペクトルは 13 ポイントの条件で 2 次微分スペクトルに変換した. スペクトルを測定後, 果実花痕部を光ファイバー照射部の直径とほぼ同じ 40mm 径のコルクローラーを使って切り抜いた. 得られた果肉をおろし器を使っておろした後, 遠心分離し, 得られた汁液の糖度を温度補償型糖度計 (アタゴ, DBX55) を使っ



(a) NIRSystems 6500

(b) K-BA 100 or K-BA 500

Fig.16 The end of fiber probes

て測定した。2000年9月1日に収穫した16果実を検量線作成用試料とし、果実花痕部2次微分スペクトルの吸光度を独立変数、花痕部果肉糖度の実測値を従属変数とする重回帰式を作成した。作成した重回帰式を使って、樹上6果実の花痕部糖度を推定し、その中の1果実は糖度推定値をモニタリングした。重回帰分析およびt検定(対応する糖度実測値と推定値の平均値間の有意差検定)はMicrosoft Excel 97を使用した。

糖度推定精度は重回帰分析時において、バイアスやスロープの発生が問題とならないので重相関係数(MR)および独立変数の数を考慮したStandard error of calibration (SEC), 未知試料評価時において、糖度絶対値の推定精度を示すためにRoot mean square (RMS)により評価した。

SECおよびRMSの説明を下に記す。

SEC= 平方根 $(\sum (X-Y)^2 / (n-m-1))$

X= 糖度の実測値

Y= 糖度の推定値

m= 重回帰式に採用した独立変数の数

n= 試料数

RMS= 平方根 $(\sum (X-Y)^2 / n)$

Photo 1に樹上メロン糖度非破壊計測時の様子を示した。

3 結果および考察

ビニルハウス内で測定した樹上メロンの2次微分スペ

クトルは、収穫後メロンのスペクトルと比べて吸光度の変動が大きかった(例: 906, 874, 950nm付近)。測定時のビニルハウス内の温度は40度を越えていた。一方、収穫後メロンは室温下でスペクトルを測定した(花痕部温度 $23.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$)ため、樹上メロンと収穫後メロンで品温は異なっていたと考えられた。なお、両メロンの糖度範囲はFig.19および20に示すようにほぼ同じであった。II章で示したように、近赤外分光光度計の機種や測定場所が異なっても、832, 856nm付近で2次微分スペクトルの吸光度はゼロ付近に収束していた。また、II章の結果と比較して、2次微分スペクトルの吸光度の絶対値はさらに一桁小さかった(Fig.17, 18)。

検量線作成時の重相関係数は糖度推定のキイ波長である906と874nmで0.923、第3波長として830nmを採用したときに0.932、さらに、第4波長として856nmを採用したときに0.937であった。このように、第3、第4波長として吸光度がゼロ付近で収束する波長を採用したが、収穫後メロンの糖度推定精度を大きく改善することはなかった(Fig.19)。II章の結果においても、828nmを第4波長として採用することで、検量線作成用試料の糖度推定精度を大きく改善することはなかった(Fig.9)。以下に作成した重回帰式を示す。

糖度推定値(Brix%) = $6.967 - 28714.585 \times 906\text{nm} + 99469.508 \times 874\text{nm} + 72413.86 \times 830\text{nm} + 83480.983 \times 856\text{nm}$

示した波長は各波長における2次微分スペクトルの吸光度を指す。



Photo.1 Non-destructive determination of Brix in a growing melon using Near Infrared spectroscopy (image)

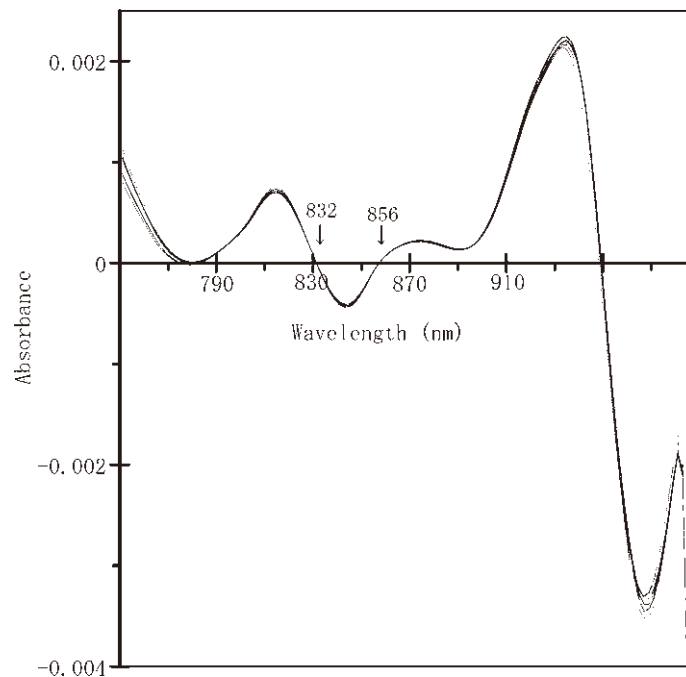


Fig.17 Second derivative spectra of harvested melons
(n=16, 'Earl' s knight Seika', a sample set for calibration, Kubota K-BA500 spectrophotometer)

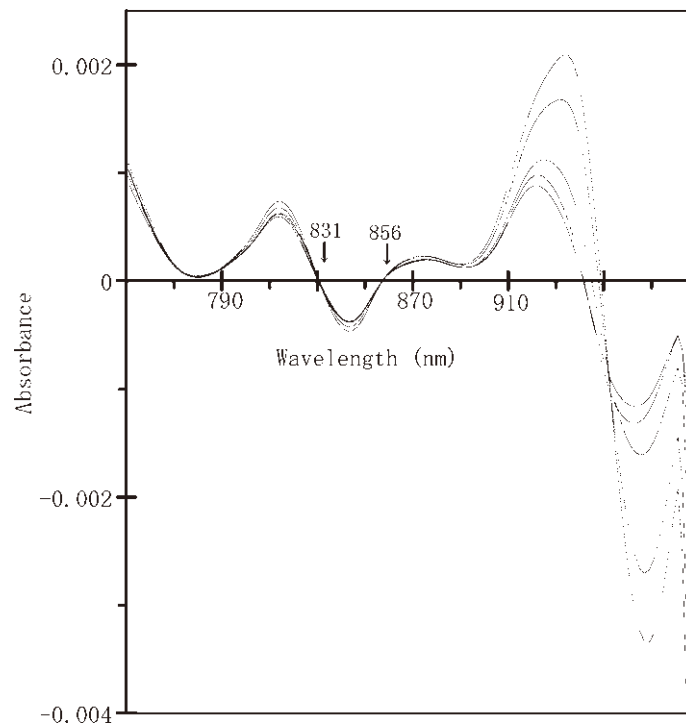


Fig.18 Second derivative spectra of growing melons
(n=5, 'Earl' s knight Seika', a sample set for validation, Kubota K-BA500 spectrophotometer)

樹上糖度を推定した結果、重回帰式の独立変数として糖度推定のキイ波長に830および856nmが加わると、糖度推定のキイ波長で発生した実測値との誤差を大きく改善し (Fig.20), t検定の結果、これら4波長による糖度推定値と実測値との平均値間に有意差は認められ

なかった。このように、温度40℃を越えたビニルハウス内で、RMSが±0.829 Brix (%)という精度で樹上メロン糖度の非破壊計測が可能となった。II章の‘アンデス’の結果においても糖度推定のキイ波長使用で比較的大きなバイアスが発生することが認められたが、類似の

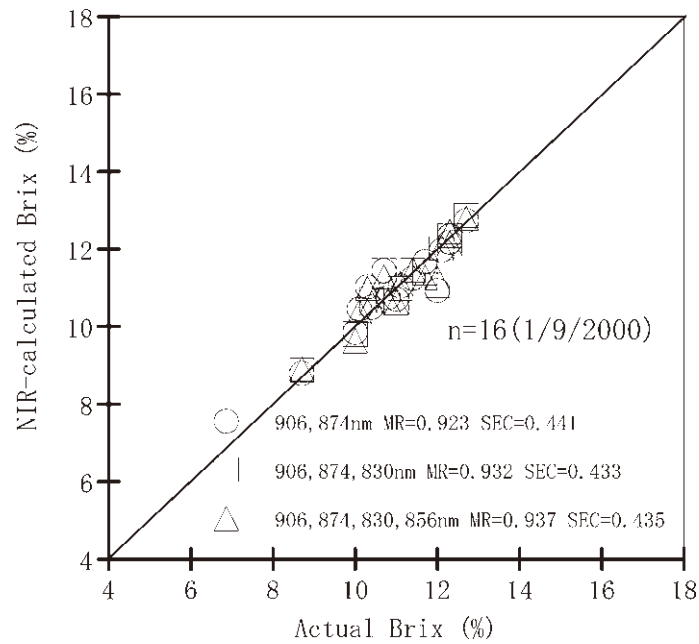


Fig.19 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
(n=16. 'Earl' s knight Seika', harvested melons for calibration)

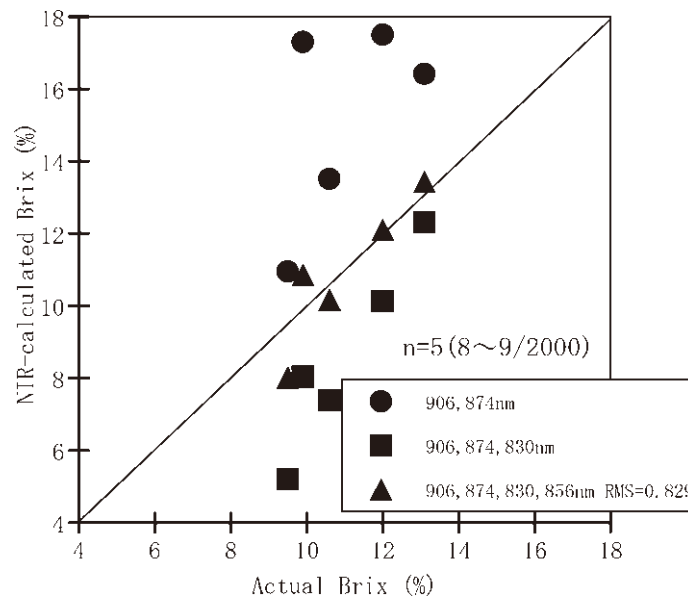


Fig.20 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
(n=5. 'Earl' s knight Seika', growing melons for validation)

4波長はⅡ章の交配後代から作成した重回帰式でも採用され、異なる品種・収穫時期・熟度・作型の試料に対しても接触スペクトル測定時の推定精度を改善したので、830および858nm付近は非接触スペクトル測定時にキイ波長の情報を補正する役割があるものと考えられた。なお、K-BAの機種ではFig.17および18に示したように、980nm以降で有効な計測が不可能であったので、これ以降の波長は検討できなかった。

上記重回帰式を使って1樹上果実の糖度をモニタリングした結果、収穫時期近くで糖度が急上昇し、その後安

定する様子を描くことができた (Fig.21)。

以上に示したように、収穫後果実のスペクトルとその糖度実測値から作成した重回帰式を用いて、樹上果実糖度を推定することが可能となった。

4 摘要

第三章においては第二章において得られた知見を基に、携帯型近赤外分光光度計ポタ K-BA500 (Ⅳ章で使用する K-BA100のプロトタイプ) を用いて、樹上果実の糖度非破壊計測の可能性を検討した。

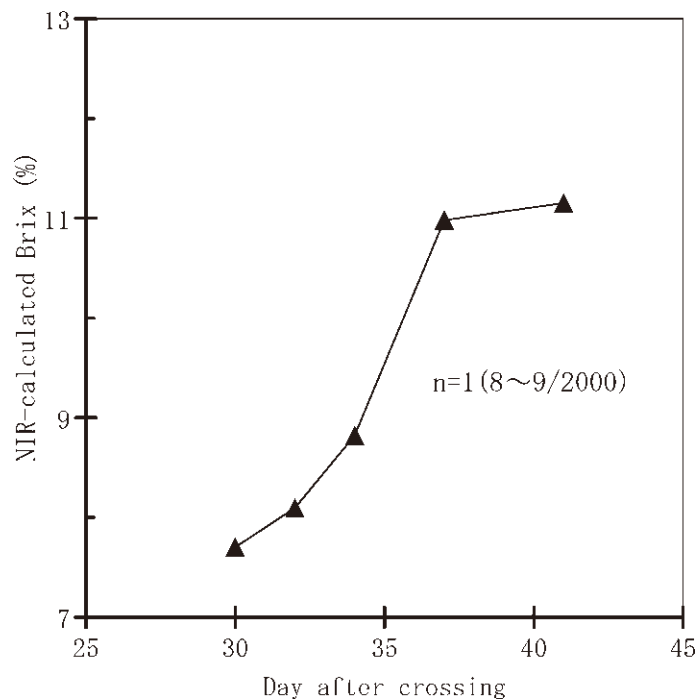


Fig.21 Monitoring of Brix in a growing melon
(n=1, 'Earl's knight Seika')

本機により得られたメロンの2次微分スペクトルは収穫後果実よりも樹上果実で変動が大きく、II章のメロン2次微分スペクトルと比較すると、吸光度値が一桁小さいものであった。それにもかかわらず、収穫後果実のスペクトルとその糖度実測値から作成した重回帰式を用いて、樹上果実糖度を推定することが出来、RMSが ± 0.829 Brix (%)という精度で樹上メロン糖度の非破壊計測が可能であった。加えて、本法により収穫期前に果実糖度が急上昇し、その後安定する様子をモニタリングすることができた。なお、本重回帰式の独立変数として採用した波長は906, 874, 830, 856nmであり、II章で作成したマルチ検量線の独立変数と似ていた。また、検量線作成用の収穫後果実と評価用の樹上果実では温度が異なっていたものと推察されたが、830および856nmは樹上果実の前2波長(「糖度推定のキイ波長」)で発生した大きなバイアスを改善できた。

IV クボタ K-BA100 によるメロン糖度の非破壊計測

1 緒言

農業等の技術開発において、基礎的な研究が先行するが、実用化に至るまではコスト、技術の精度等さらにクリアしなければならない問題が存在する。本研究においても第IIおよびIII章で開発した基礎的な技術を実用化する

ために、(株)クボタとK-BA100用のメロン糖度検量線の共同開発を行った。本研究ではK-BA100を使用し、実際に市販および栽培したメロンを計測して糖度推定精度を評価することとし、最終的にメロン糖度重回帰式の独立変数として採用した波長を調査した。

2 方法

試料のメロンは独立行政法人農業技術研究機構野菜茶業研究所(2003年10月に「独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構野菜茶業研究所」に組織名変更)内ビニルハウスで栽培したPMAR No.5と春系3号の交配後代(以後、「交配後代」と呼ぶ)および市販品を供試した(2003~2005年)(Table 2)。別途、樹上果実糖度計測用試料として、2002年冬に当所で収穫した「アンデス」(サカタのタネ)を供試した。

使用した近赤外分光光度計は光ファイバーを装着したクボタ K-BA100である。そのサイズは高さ240、幅300、奥行118mmで、重さはバッテリーを除いて約5kgである(Photo 2)。この光ファイバー末端の光照射部の直径はK-BA500と同様に、試料内部の情報が見られるように、II章で使用した近赤外分光光度計のそれと比較して40mmと広く(Dullら, 1989a)、III章で使用したものと同じサイズである。非破壊計測はパソコンを接続せずにインストールされた検量線(重回帰式)を利用して本分光光度計の外乱光除去モードで行った。ビニルハウ



Photo.2 A portable near infrared spectrophotometer
(Kubota K-BA100, Japan)

ス内での樹上果実非破壊計測時には付属の外光を遮断するためのアタッチメントを光ファイバー末端に装着した。スペクトルを測定後、果実花痕部を18mm径のコルクボーラーを使って切り抜いた。得られた果肉をおろし器を使っておろした後、遠心分離し、得られた汁液の糖度を温度補償型糖度計（アタゴ、DBX55）を使って測定した。

糖度推定精度は糖度絶対値の推定精度を示すために Root mean square (RMS) により評価した。

$$\text{RMS} = \sqrt{\frac{\sum (X-Y)^2}{n}}$$

X= 糖度の実測値

Y= 糖度の推定値

n= 試料数

3 結果および考察

携帯型近赤外分光光度計クボタ K-BA100 を使って樹上果実（‘アンデス’）および収穫後果実のスペクトルを測定した結果においても、第ⅡおよびⅢ章の結果と同様に、832と856nm付近で吸光度はゼロに収束していた。また、Ⅲ章の結果と同様に、Ⅱ章の結果と比べて吸光度が一桁小さかった（Fig.22, 23）。

K-BA100 を使って花痕部糖度を非破壊計測した結果、糖度推定値 8.9 以上では‘アンデス’樹上果実（n=11）で相関係数0.95, RMSは0.75 Brix(%), 収穫後果実(n=35)で相関係数0.93, RMSは1.09 Brix (%)であり（Fig.24, 25）、第ⅡおよびⅢ章の結果と比べて良い結果を得ることができたが、低糖度の収穫後果実では推定値がやや

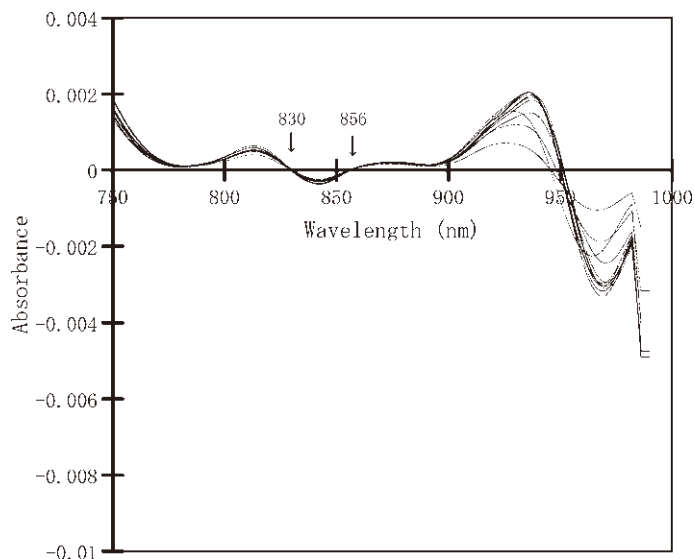


Fig.22 Second derivative spectra of growing melons
(n=11, ‘Andes’, Kubota K-BA100 spectrophotometer)

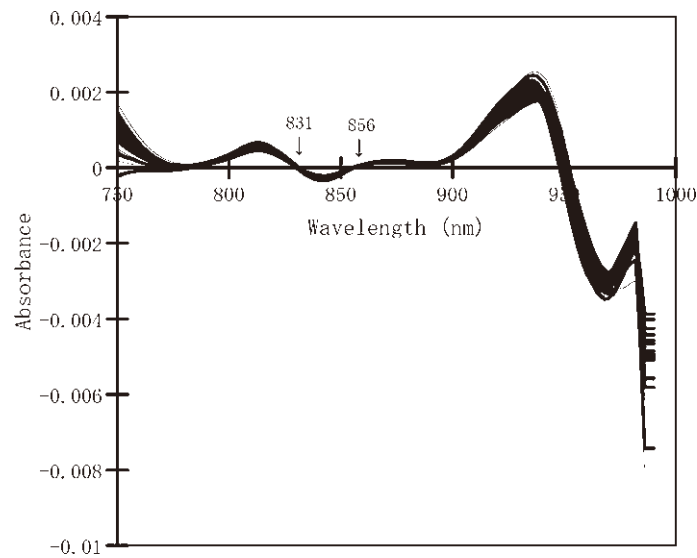


Fig.23 Second derivative spectra of harvested melons
(n=45, Kubota K-BA100 spectrophotometer)

高くなった。さらに、より糖度の低い果実を分析した結果、検量線のスロープの発生が明らかとなったが、推定値と実測値との相関係数は0.97 (n=45) と高く (Fig.25), スロープを修正することで、果肉色の違いが問題とならずに高精度な糖度非破壊計測が可能である (Fig.26) ことが明らかとなった。スロープの発生原因として、糖度実測部位におけるサンプリングの違いが考えられた。すなわち、K-BA100のメロン糖度検量線の糖度実測部位は、光ファイバー末端光照射部の直径 (40mm) に合わせているが、今回は18mmと小さくしたことがスロープ発生の原因の一つと考えられた。

K-BA100にインストールされた検量線は、品温の異

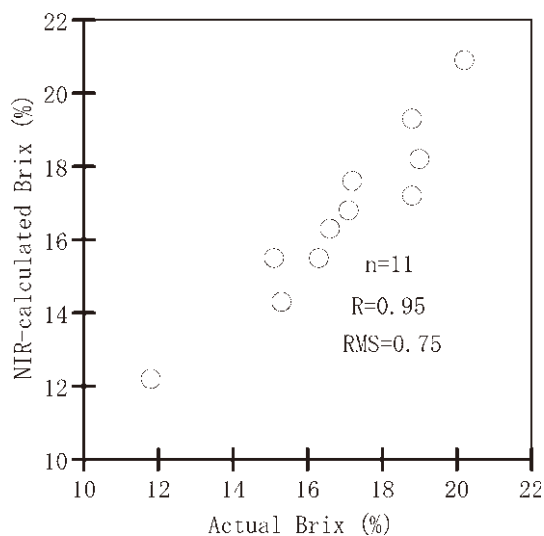


Fig.24 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
(Growing melons, 'Andes', Kubota K-BA100 spectrophotometer)

なる試料を供試して作成したものであるが、独立変数として採用した波長は示されなかった (Morimotoら, 2002). そこで、本分光光度計を調べた結果、糖度推定の際のキイ波長である2波長 (902, 876nm) の他に、838, 862nmが採用されていた。これらと似た4波長は先に、II章の交配後代から作成した重回帰式 (マルチ検量線) およびIII章の樹上メロン糖度の計測が可能な重回帰式に採用されており、III章の結果から品温補正の可能性があることが示唆されていた (Itoら, 2001).

884nm付近の波長も、補正的な波長とされるが (Miyamotoら, 1995), 'アンデス' では、この波長に

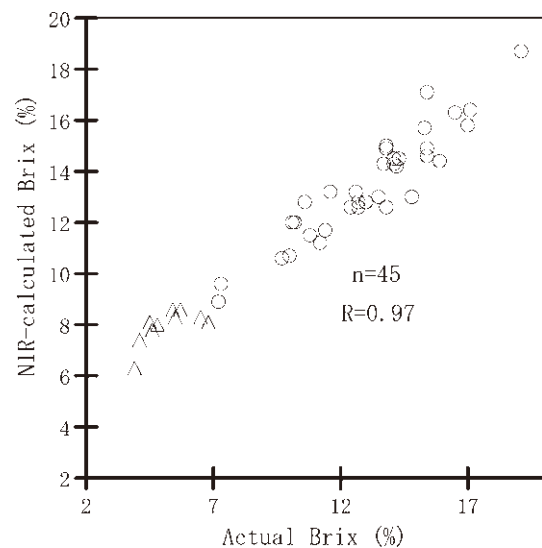


Fig.25 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
(Harvested melons, Kubota K-BA100 spectrophotometer, 2003-2005)
(circle: more than 8.9 of NIR-calculated Brix, triangle: less than 8.8 of NIR-calculated Brix)

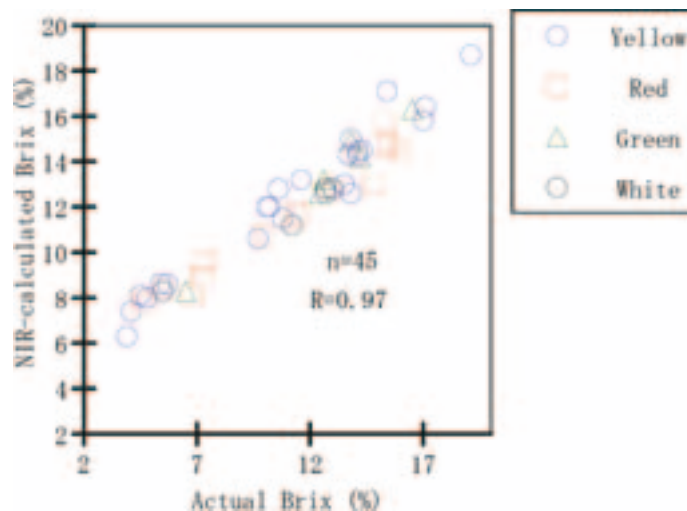


Fig.26 Plots of actual Brix v. NIR-calculated Brix
(Plots of each flesh color, Kubota K-BA100 spectrophotometer, 2003 ~ 2005)

よってかえってバイアスが大きくなり、推定精度の低下するロットが認められた。Ⅱ章の結果ではこの改善が望まれたが、非接触スペクトル測定法を適用した実用機は、一つの検量線で対象試料を問わずに相関係数が高くRMSが低く、より良い推定精度が可能となっていた (Fig.24, 25)。第2波長として、880nmよりやや低波長側を選択し、第3, 4波長として830, 856nm付近を選択することで大きな誤差を発生しないようになったものと考えられる。

本章において使用した近赤外分光光度計 K-BA100では比較的W数の低い20Wのハロゲンランプを使用しているが、この他に、本分光光度計では可動部のないポリクロメーターと今回使用した波長域に感度を強調した検出器が用いられており (Morimotoら, 2002)、糖度推定精度は良かった。

以上のように、糖度推定精度の改善において、スペクトル測定法や回帰式における波長選択等ソフト面だけでなく、光源やセンサ等ハード面での設計も考慮するべきであろう (Morimotoら, 2002)。

Photo 3に示したように、本機のカタログには (独) 農業技術研究機構野菜茶業研究所の研究成果を基に開発した旨を記載してある。

4 摘 要

Ⅱ章で開発した非接触スペクトル測定法は携帯型近赤外分光光度計クボタ K-BA100を使うメロン糖度非破壊計測で実用化した。そこで、実際に市販および栽培したメロンを計測して糖度推定精度を評価することとし、最終的にメロン糖度重回帰式の独立変数として採用した波

長を調査した。

本実用機を用いて樹上および市販果実を計測した結果、良い推定精度が得られた。その非破壊計測用検量線 (重回帰式) は品温の影響を受けにくいとされ、その独立変数として採用した波長は902, 876, 838, 862nmの4つであり、先にⅡ章マルチ重回帰式およびⅢ章で樹上果実糖度推定が可能であった重回帰式で採用した波長と似ていた。

本章で使用した近赤外分光光度計 K-BA100は可動部のない堅牢な作りとなっている。このように、スペクトル測定法や回帰式といったソフトウェア的な部分だけでなく、分光光度計というハードウェアの部分も推定精度の向上に寄与していると考えられる。

V メロン水浸状果の非破壊検出法の開発

1 緒 言

農産物内部の生理障害は、外部からその兆候を判断できない限り、非破壊的に診断することは困難である。農産物をカットして検査すると、カットした状態での販売しかできなくなる。また、広い範囲を検査するとその分、農産物が細断されることになる。メロンでは積極的なカット販売はされておらず、棚持ちが悪くなってくると、カットされて販売される場合がある。できれば、非破壊で全量検査することが望ましい。

メロンの生理障害の一つである水浸状症状は外観からの診断が困難で、その症状は見た目が悪く (加藤, 1985)、荷受け検査のときに発見されると、通常の実取りはされにくくなる。

機種名		クボタ青果物品質評価装置 フルーツセレクター	
型式	K-BA100(携帯型)	K-FS200(卓上型)	
測定可能な品目	 メロン、リンゴ、トマト、イチゴ、桃、梨、ブドウ、オレンジ、キウイ、イチゴ、マンゴー、パイナップル	 メロン、リンゴ、トマト、イチゴ、桃、梨、ブドウ、オレンジ、キウイ、イチゴ、マンゴー、パイナップル	
測定方法	近赤外分光分析(インタラクタンス方式) 600~1000nm		
測定時間	2秒〜 ※品別により測定時間は異なります。		
データ記憶量	約4,000件		
使用環境	高温湿度5~35℃ 相対湿度25~80% (結露防止)		
使用電源	①AC100V±10%(50/60Hz)50W以下 ②バッテリー(12V) ③シガーライター(12V)		
寸法	高さ240×幅300×奥行118mm ※専用ケース付		
重量	約5kg(バッテリー除く)		

ポータブル近赤外分光光度計 [K-BA100SP]
 米の食味分析計、青果物の品質評価装置で実績のある

Photo.3 A pamphlet of a near infrared spectrophotometer
(Non-destructive determination for Brix in melons using a near infrared spectrophotometer made fit for practical use. Then, the spectra are measured by developed non-contact spectral measurement.)

近赤外分光法による非破壊計測法の開発は精度等内容成分を中心に検討されてきたために生理障害の非破壊計測法開発は遅れていた。加えて、園芸農産物の中では野菜を対象とした研究が果樹よりも先行した(Birthら, 1985; Dullら, 1989b)ものの、特に遅れている。

園芸分野において、果樹で近赤外分光法による生理障害非破壊計測法が報告されているが、リンゴの密入り果(Tsuchikawaら, 2002)および褐変果肉果(Clarkら, 2003)計測法の報告のみでメロンを含めた野菜で生理障害の非破壊計測法は報告されていない。

また、近赤外分光法を用いると糖度との同時計測も可能となる。分光光度計の小型化および実用化が進んでいるので、樹上果実の水浸状果肉検出も可能となり、本技術を栽培技術等と併用することで、水浸状果肉を発生しない栽培システムの開発が期待される。そこで、本章においてはⅢ章までに得られた知見を基に、近赤外分光法によるメロン水浸状果の非破壊計測法開発の可能性を検討することとした。

2 方法

試料は独立行政法人農業技術研究機構野菜茶業研究所内ビニルハウスで栽培した‘アンデス’(サカタのタネ)、交配後代および市販メロンを供試した。所内で栽培し、

冬に収穫した‘アンデス’計8個体を検量線作成用試料とした。その他は検量線評価用試料(未知試料)とした(Table 4)。2003年には多くの種類のメロンを未知試料として供試したので、別途、それらのメロンの特性をTable 2に示した。

使用した近赤外分光光度計は光ファイバーを装着したNIRSystems 6500(NIRSystems, Silver Spring, MA, USA)である。近赤外スペクトル測定・変換および解析用ソフトウェアとして、上記近赤外分光光度計に付属したNSAS(Near Infrared Spectral Analysis Software) ver. 3.27を使用した。光ファイバー末端と果実花痕部との間を2~3mm離してスペクトルを測定した(非接触スペクトル測定法)。スペクトル測定後、果実を縦方向に2分割し、果肉水浸度は0から5で評価する(5は花痕部果肉全体が水浸状)と同時に、写真撮影した。測定した原スペクトルは、セグメント20、ギャップ0nmの条件で2次微分スペクトルに変換した。果実花痕部2次微分スペクトル(750~1100nm, 2nm間隔)の吸光度を独立変数、花痕部果肉水浸度を従属変数とする重回帰式を作成した。作成した重回帰式を使って、未知試料の水浸度を推定するとともに、褐変果肉果の非破壊検出も試みた。

3 結果および考察

Table 4. Melon samples and the results of non-destructive detection of physiologically disordered flesh

Date	Samples	Normal fruit		Disordered fruit 1)		Note
		normal or disordered (n)/ total (n), %				
Summer/02	Progeny 2) (including stored)	8/8	100%	1/1	100%	
	Progeny(including stored)	9/9	100%		—	
	Progeny(including stored)	6/6	100%		—	
	'Andes' (stored)	1/1	100%		—	
	'Andes'	18/18	100%		—	Different maturity
Winter/02	'Andes' (stored)	1/1	100%	4/7	57%	For calibration
	'Andes' (stored)		—	3/4	75%	
	'Andes'		—	7/7	100%	
06/03	Progeny, retailed	12/12	100%	3/3 *	100%	* Browning flesh 2
	Progeny, retailed	10/10	100%	1/1	100%	
	Retailed	2/2	100%	1/1	100%	
Total		67/67	100%	20/24	83%	

¹⁾ A disordered fruit means a melon having water soaked flesh except for 2 melons having browning flesh.

²⁾ Progeny from the cross between PMAR No.5 and Harukei No.3

メロン切断面の写真を Photo 4 に示した。このように、'アンデス'の水浸状果肉および'ホームランスター'の褐変果肉はスペクトル測定部位である花痕部果肉の胎座に近い方から症状が発生していた。Table 4 に示したように、栽培した'アンデス'で 18、交配後代で 2、市販果実で 2 果実にそれぞれ水浸状果肉が認められた。一方、褐変果肉は 2 果認められた。

'アンデス'のスペクトルを Fig.27 (a) に示した。花痕部果肉水浸度の高いメロンは 810nm 付近の吸光度が低下していた。

重回帰式の独立変数として 810 および 942nm の吸光度を採用した。以下に作成した検量線を示す。

花痕部果肉水浸度 = 2.310 - 312.204 × 810nm + 226.786 × 942nm

示した波長は、各波長における 2 次微分スペクトルの吸光度を指す。

近赤外分光法による非破壊計測において、同じ品種および時期の試料を使って検量線作成および評価を行った場合は良い結果が得られやすい (Peiris ら, 1998b)。そこで、質的に異なるメロン試料も供試することとし、所内で栽培した'アンデス'では夏および冬に収穫したものや収穫熟度の異なるものおよび様々な形質を持つ交配後代、市販メロンでは外観や果肉色の異なるメロンを

供試した (Table 2, 4)。それにもかかわらず、重回帰式による水浸度の推定値が 2.3 以上の果実は 100% 水浸状果肉であり (Fig.28)、作成した検量線の切片は 2.310 であった。一方、正常果の水浸度の推定値は常に検量線の切片値未満の値となった。この重回帰式は、'アンデス'と果皮および果肉色の異なる'ホームランスター'の褐変果肉も検出することが出来た。以上のように、一つの基準として、水浸度の推定値 2.31 に注目すると、この値以上の場合に生理障害 (水浸状および褐変) 果肉の正答率は 83% であり、この値未満では正常果の正答率は 100% であった (Table 4)。褐変果肉のスペクトルを Fig.27 (b) に示した。花痕部果肉褐変度の高いメロンもまた、810nm 付近の吸光度が低下していた。メロン水浸状果肉およびリング褐変果肉は果実が熟するほど発生しやすく (Toivonen ら, 2003)、810nm 付近はリング褐変果肉の検出にも有効な波長である (Clark ら, 2003)。なお、'ホームランスター'ではオレンジ色に着色した果肉も認められたが、正常な白色様果肉と同様に、本法による水浸度推定値は 1.366 以下であった。このことは、'ホームランスター'ではオレンジ色に着色した果肉は褐変および水浸状果肉の検出とは関係のないことを示すことと考えられた。

冬収穫の'アンデス'で花痕部水浸度をモニタリング

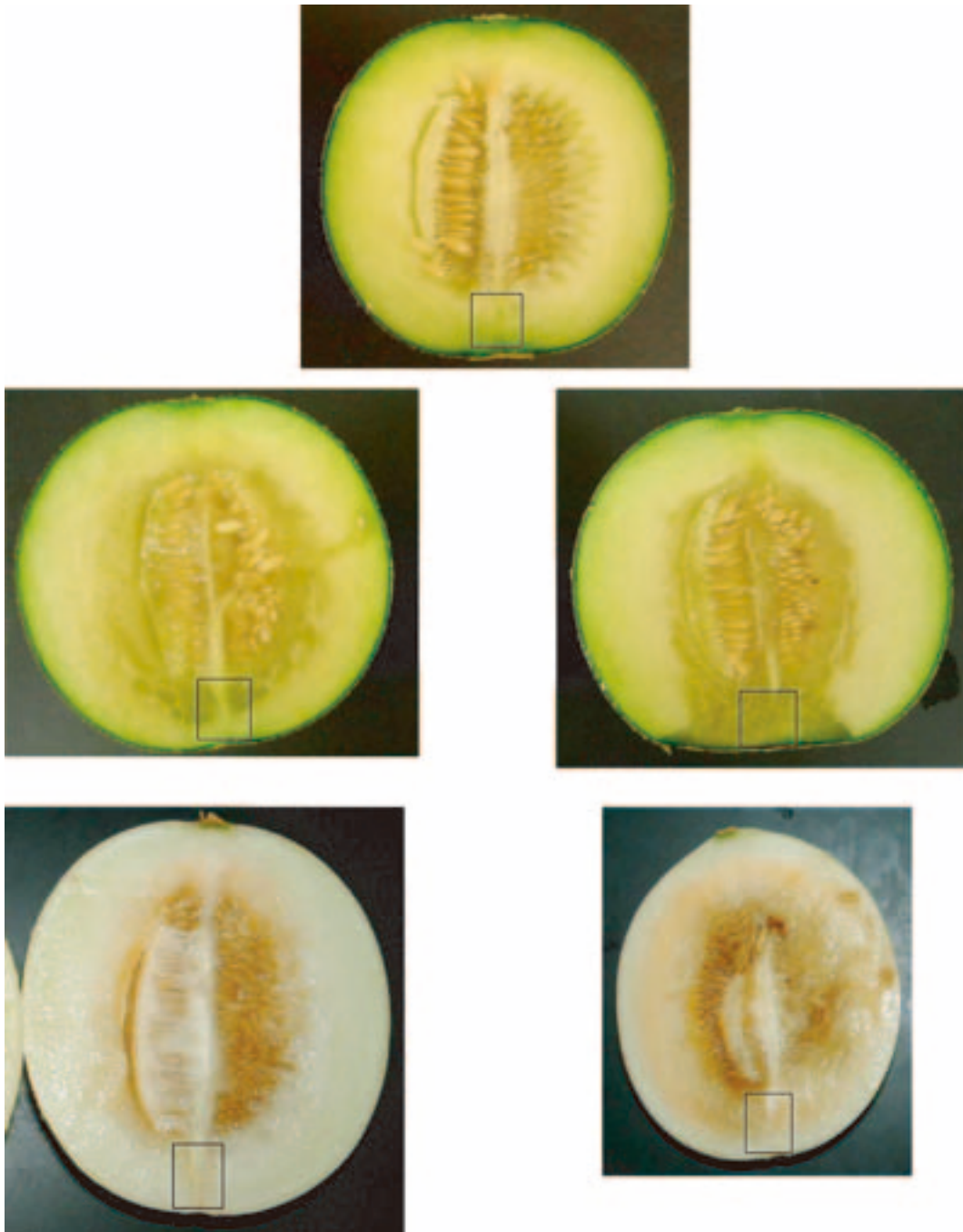


Photo.4 Symptoms of water soaked and browning flesh of melons
 (Visual score of water soaked flesh; upper : 0, middle left : 3, middle right : 5. 'Andes')
 (Visual score of browning flesh; bottom left : 0, Bottom right : 3. 'Homeranstar')

した結果、発生が近づくにつれて推定値は大きくなった (Fig.29). Toivonen ら (2003) もリンゴにおいて収穫時期が遅れるほど内部褐変が増えることを報告した。

メロン水浸状果肉はスペクトル利用において、メロンとリンゴの褐変果肉と同じ部分があり、メロン果肉の水浸症状は生理的にリンゴ果肉の褐変症状と似ていた。以上のように、近赤外分光法によりメロンの生理障害果(水浸状果肉および褐変果肉)を非破壊的に検出可能であり、

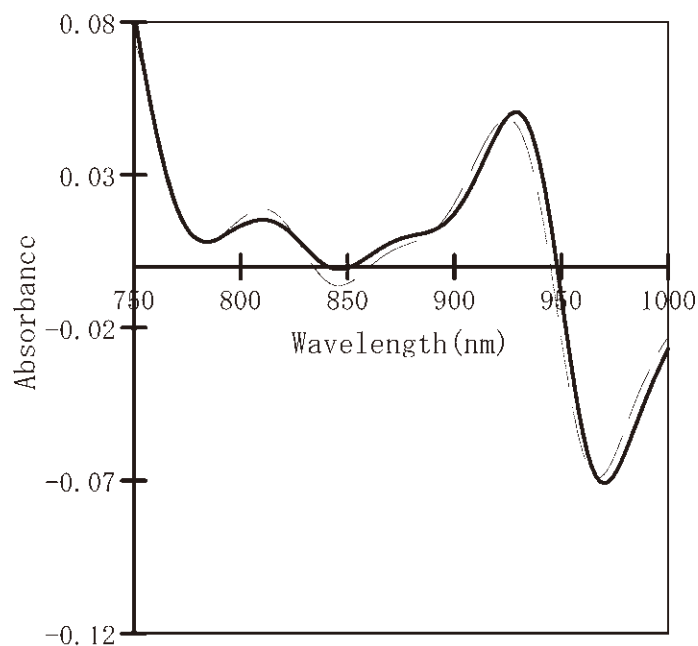
本法による非破壊計測の可能性を示すことができた。

今回の実験において、果肉の水浸度を3次元で評価できなかったので、2次元で評価した。この点を改善すれば、その分、推定精度が改善されると考えられた。

4 摘 要

Ⅲ章までに得られた知見を基に、近赤外分光法によるメロン水浸状果の非破壊計測法開発の可能性を検討した。

(a) 'Andes'



(b) 'Homeranstar'

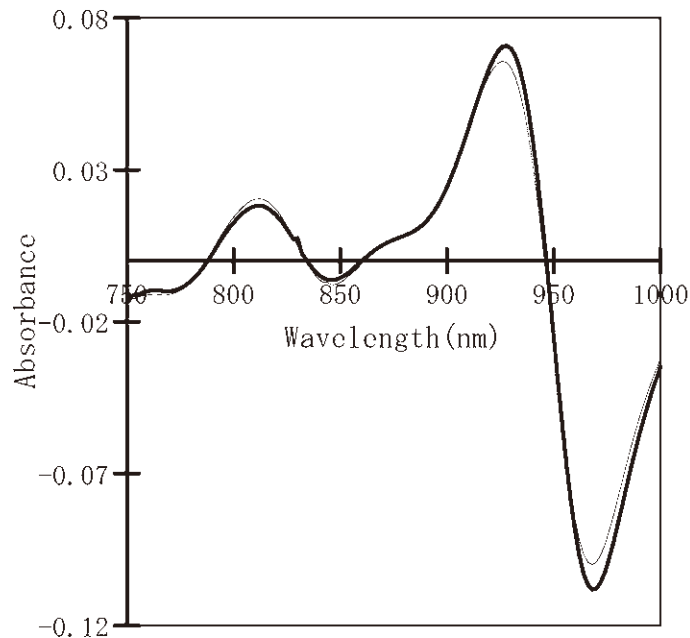


Fig.27 Second derivative spectra of melons

(a) 'Andes', (b) 'Homeranstar' (thin line: a normal melon, thick line: (a) a water soaked melon, (b) a browning melon, NIRSystems 6500 spectrophotometer)

メロン水浸状果肉はスペクトル利用において、メロンとリンゴの褐変果肉と同じ部分があり、メロン果肉の水浸症状は生理的にリンゴ果肉の褐変症状と似ていた。

810nm 付近はこれら症状を非破壊的に検出する際の

キイ波長であると考えられた。この波長を含めて2独立変数(810, 942 nm)からなる重回帰式を作成してメロン生理障害果(果実内部で発生する水浸状果肉および褐変果肉)の非破壊検出を試みた結果、正常果の正答率は

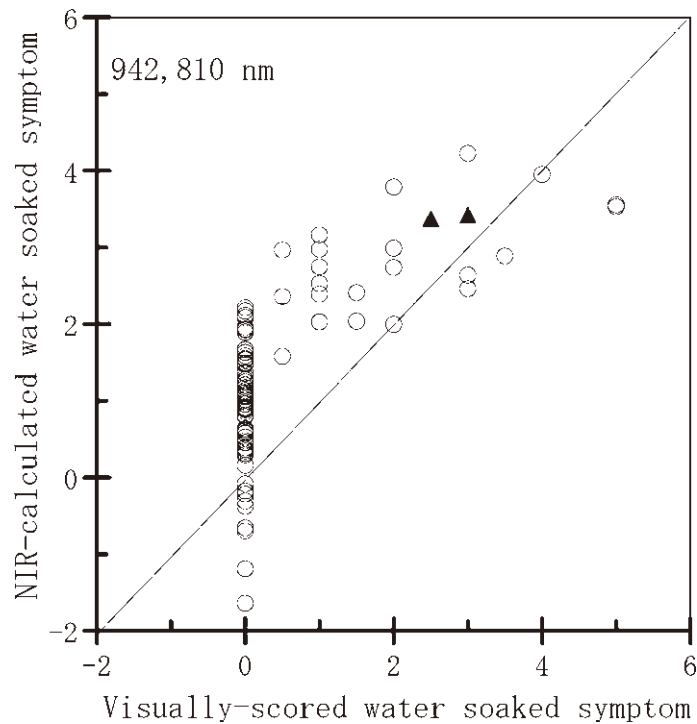


Fig.28 Plots of visually-scored v. NIR-calculated water soaked symptom
(▲ : browning flesh, broken line: NIR-calculated 2.31 line)

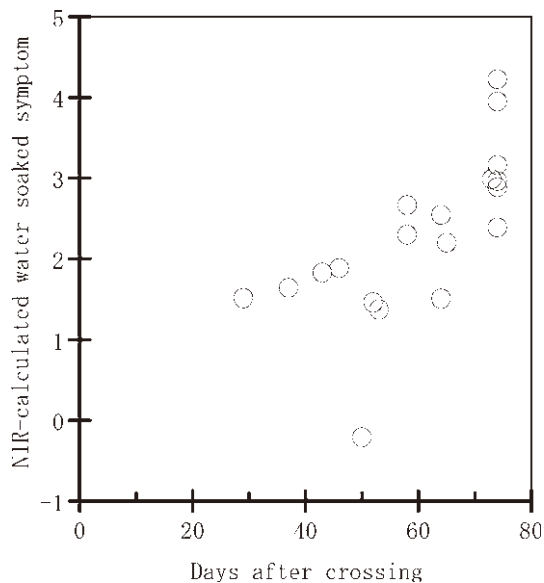


Fig.29 Plots of day after crossing v. NIR-calculated water soaked symptom
(‘Andes’)

100%, 生理障害果の正答率は83%であった. このように, 近赤外分光法によるメロン生理障害の非破壊計測の可能性を示すことができた.

VI 総合考察

本研究において, 吸光度の絶対値の大きいことが推定

精度の向上に必ずしも必要でないことが明らかとなった. このことは新知見であり, 吸光度の量よりも質が重要であることを示している. 今回は試料であるメロン果実と光ファイバー末端の距離が2と4mmのときにほぼ同じ推定値が得られた. そこで, メロン表面は凸凹なので, 2~3mmに設定した. 6mmのときに推定値がさらに低下したように, 距離を離しすぎると反射測定となって試料内部の情報が得られず, 推定精度が低下する (Tsuchikawa ら, 2004).

重回帰分析ではなく, PLS 回帰分析を適用した論文が多数見受けられる (Carlini ら, 1998; 2000; Guthrie ら, 1997; 1999; McGlone ら, 1998; Moons ら, 2000; Peirs ら, 1998a; Peirs ら, 2000; Slaughter ら, 1996; 2003) が, 多くの独立変数が利用されるので, 重回帰分析のように, どの波長がどのように推定に役立っているのかを具体的に解釈することが困難である.

近赤外分光光度計としてクボタ K-BA500, K-BA100 および NIRSystems 6500 を使用した試験において, 糖度を非破壊計測するための重回帰式の独立変数として, 糖度推定のキイ波長 (904, 880nm 付近) と吸光度がゼロ付近に収束する波長 (830, 858nm 付近) との組み合わせが選択された. II章の試験においては供試試料の温度はほぼ一定に保たれたので, ロットの影響の少ない重回帰式が出来上がったとも考えられたが, 森本らは実用機

である K-BA100 を使って品温の影響のない重回帰式を作成 (Morimoto ら, 2002) するとき、メロンで似た 4 波長を採用した。すなわち、これら 4 波長の吸光度を独立変数として採用することにより、品温のみならず、品種・収穫時期・熟度および作型の影響の少ない堅牢な検量線が最終的に作成されたものと考えられた。それだけでなく、近赤外分光光度計として NIRSystems 6500 を使用した試験において、内部果肉水浸度を非破壊計測するための重回帰式の独立変数として、水浸状症状に関連する波長 (810nm) と、補正的な波長 (942nm) が選択され、後者もまた吸光度がゼロに収縮する波長に近接していた。なお、非接触測定したスペクトルを用いた糖度推定時の補正的な波長として、吸光度がゼロに収縮する 950nm 付近が採用されなかったのは糖度との正の相関が高く (直接糖度との関連がない)、糖度推定のキイ波長に加わることで相関係数を改善できなかったためである。すなわち、重回帰式の従属変数が異なっても、重回帰式の独立変数として、従属変数と関連のある波長および吸光度がゼロ付近に収束する補正的な波長が選択された。II 章で 'アンデス' 糖度の重回帰式の独立変数として、糖度推定のキイ波長の他に、吸光度がゼロに収縮する波長である 832nm や 856nm が採用されずに他の波長 (762nm) が採用されたのは、単一品種で熟度の影響が大きかったためと考えられた。

非接触スペクトル測定による糖度推定精度改善機作は、第一に、糖や炭水化物の吸収帯である 904nm 付近の吸光度と従属変数である糖度との単相関係数を改善することによる。第二に、第 2 波長としてこれに対する補正的な波長である 880nm 付近、第 3・4 波長として、2 次微分スペクトルの吸光度がゼロに収束し、糖度と無相関である 830 と 858nm 付近を採用することで、これら 4 波長が共同して働き、品温のみならず、品種・収穫時期・熟度および作型の影響の少ない堅牢な検量線が最終的に作成されることによる。このように、糖度推定時における各独立変数の役割を考察することができた。

このように、スペクトル測定法や回帰式といったソフトウェア的な部分だけでなく、分光光度計というハードウェアの部分も推定精度の向上に寄与していると考えられる。特に、ランプ、光ファイバーおよび検出器の性質は重要である。光に関しては、目的とする試料測定部位の情報のみが得られるように光を正確に制御することが望ましいが、光の挙動を非破壊で測定することは困難であるので、現状では目的とする測定部位の情報のみが得られるように、光を正確に制御することは難し

い。今回の研究に使った近赤外分光光度計 K-BA100 では比較的 W 数の低い 20W のハロゲンランプを使用しているが、良い糖度推定精度が得られた。この他に、分光光度計では可動部のないポリクロメーターと今回使用した波長域に感度を強調した検出器が用いられている (Morimoto ら, 2002)。ランプの W 数を強くしすぎると、試料が焼けてしまう。最終的にはハードウェアとソフトウェアを有効に結合させて非破壊計測器としての能力を十分に引き出さなければならない。

以上のように、インタラクタンスモードを応用した新しいスペクトル測定手法である「非接触スペクトル測定法」を開発して携帯型近赤外分光光度計による精度の良い樹上および収穫後メロン糖度の非破壊計測を可能とし、非破壊糖度計クボタ K-BA100 が商品として国内に流通するに至った。また、メロン生理障害 (水浸状および褐変果肉) 非破壊計測の可能性も示すことができた。

引用文献

- 1) Birth, G.S., G.G. Dull, J.B. Magee, H.T. Chan and C.G. Cavaletto (1984) : An optical method for estimating papaya maturity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **109**, 62 - 66.
- 2) Birth, G.S., G.G. Dull, W.T. Renfore and S.J. Kays (1985) : Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **110**, 297 - 303.
- 3) Carlini, P., R. Massantini and F. Mencarelli (2000) : Vis-NIR measurement of soluble solids in cherry and apricot by PLS regression and wavelength selection. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5236 - 5242.
- 4) Carlini, P., R. Massantini, F. Mencarelli and R. Botondi (1998) : Determination of soluble solids content in apricot varieties by visible/near-infrared spectroscopy. *Agr. Med.*, **128**, 138 - 141.
- 5) Czabaffy, A. (1984) : Attempts to elaborate a non-destructive optical method for measuring cherry-ripeness. *Acta Alimentaria*, **13**, 83 - 95.
- 6) Clark, C.J., V.A. McGlone and R.B. Jordan (2003) : Detection of brownheart in 'Braeburn' apple by transmission NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.*, **28**, 87 - 96.
- 7) Dull, G.G., G.S. Birth and R.G. Leffler (1989a) : Exiting energy distribution in honeydew melon irradiated with a near infrared beam. *J. Food Quality*, **12**, 377 - 381.
- 8) Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler (1989b) : Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. *J. Food Sci.*, **54**, 393 - 395.
- 9) Fraser, D.G., R. Kunnemeyer, V.A. McGlone and R.B. Jordan (2001) : Near infra-red (NIR) light penetration into an apple. *Postharvest Biol. Technol.*, **22**, 191 - 194.
- 10) Guthrie, J. and K. Walsh (1997) : Non-invasive assessment of pineapple and mango fruit quality using near infra-red spectroscopy. *Aust. J. Exp. Agric.*, **37**, 253 - 263.
- 11) Guthrie, J. and K. Walsh (1999) : Influence of environmental and instrumental variables on the non-invasive prediction of Brix in pineapple using near infrared spectroscopy. *Aust. J. Exp. Agric.*, **39**, 73 - 80.
- 12) Guthrie, J. and B. Wedding (1998) : Robustness of NIR

- calibrations for soluble solids in intact melon and pineapple. *J. Near Infrared Spectrosc.*, **6**, 259 – 265.
- 13) Hakim, A., A.C. Purvis, I. Voipio, E. Pehu and M. Khatoun (1999) : Use of different nondestructive techniques to evaluate vegetable quality. *Acta Hort.*, **483**, 235 – 244.
- 14) Ito, H. (2002) : Potential of near infrared spectroscopy for nondestructive estimation of Brix in strawberries. *Acta Hort.*, **567**, 751 – 754.
- 15) Ito, H., S. Morimoto, and R. Yamauchi (2001) : Potential of near infrared spectroscopy for non-destructive estimation of soluble solids in growing melons. *Acta Hort.*, **566**, 483 – 486.
- 16) Ito, H., S. Morimoto, R. Yamauchi, K. Ippoushi, K. Azuma and H. Higashio (2002) : Potential of near infrared spectroscopy for non-destructive estimation of soluble solids in watermelons. *Acta Hort.*, **588**, 353 – 356.
- 17) Ito, H. and J. Sugiyama (2002) : Nondestructive harvest time decision of melons by a portable firmness tester. *Acta Hort.*, **579**, 367 – 371.
- 18) 岩元陸夫 (1980) : 近赤外分光法による食品成分の非破壊測定. 日本食品工業学会誌, **27**, 464 – 472.
- 19) 加藤徹 (監修) (1985) : 症状から見た野菜の生育障害診断, p72. (株) タキイ種苗, 京都.
- 20) 川上昭太郎, 早川千吉郎, 梅田重夫, 坂口栄一郎 (1994) : メロン表面色と品質. 農業機械学会誌, **56**, 117 – 122.
- 21) Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto (1989) : *Proceedings of 2nd intl. NIRS conf.*, p343 – 352. NIR publication, UK.
- 22) Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto (1992) : Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, **61**, 445 – 451.
- 23) Kays, S.J., G.G. Dull and R.G. Leffler (2000) : Challenges and opportunities in the use of near infrared for the analysis of intact, high moisture plant products. *Near infrared spectrosc.: Proceedings of 9th intl. conf.*, p841 – 847. NIR Publications, UK.
- 24) McGlone, V.A. and S. Kawano (1998) : Firmness, dry-matter and soluble solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. and Technol.*, **13**, 131 – 141.
- 25) Miyamoto, K. and Y. Kitano (1995) : Non-destructive determination of sugar content in satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.*, **3**, 227 – 237.
- 26) Moons, E., G. Sinnaeve and P. Dardenne (2000) : Nondestructive visible and NIR spectroscopy measurement for the determination of apple internal quality. *Acta Hort.*, **517**: 441 – 448.
- 27) Morimoto, S., H. Ishibashi, T. Takada, Y. Suzuki, M. Kashu and R. Yamauchi (2002) : Non-destructive near infrared spectrophotometers: development of portable fruit quality meters. *Near infrared spectroscopy: Proceedings of the 10th intl. conf.*, p155 – 159. NIR Publications, UK.
- 28) Morimoto, S., W.F. McClure and D.L. Stanfield (2001) : Hand-held NIR spectroscopy: part 1: an instrument based upon gap-second derivative theory. *Applied spectrosc.*, **55**, 182 – 189.
- 29) 水野卓, 加藤宏治, 原田政子, 宮島由恵, 鈴木栄次郎 (1971) : メロン果実の糖類と遊離アミノ酸. 日本食品工業学会誌, **18**, 319 – 325.
- 30) 大和田隆夫, 飯野久栄, 石間紀男 (1982) : 果実類の糖および酸含量と嗜好に関する研究 (第3報) 西瓜・メロンについて. 食総研報, **40**, 64 – 70.
- 31) 尾崎幸洋 (1998) : 光分析法による食品の非破壊分析. 日本食品科学工学会誌, **45**, 703 – 709.
- 32) 尾崎幸洋・河田聡編 (1996) : 日本分光学会測定法シリーズ **32**, 近赤外分光法, 学会出版センター, 東京.
- 33) Peiris, K.H.S., G.G. Dull, R.G. Leffler and S.J. Kays (1998a) : Near-infrared (NIR) spectrometric technique for nondestructive determination of soluble solids content in processing tomatoes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **123**, 1089 – 1093.
- 34) Peiris, K.H.S., G.G. Dull, R.G. Leffler and S.J. Kays (1998b) : Near-infrared spectrometric method for nondestructive determination of soluble solids content of peaches. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **123**, 898 – 905.
- 35) Peiris, K.H.S., G.G. Dull, R.G. Leffler and S.J. Kays (1999) : Spatial variability of soluble solids or dry-matter content within individual fruits, bulbs, or tubers: Implications for the development and use of NIR spectrometric techniques. *Hortsci.*, **34**, 114 – 118.
- 36) Peirs, A., J. Lammertyn, B. Nicolai and J. Baerdemaeker (2000) : Non-destructive quality measurements of apples by means of NIR-spectroscopy. *Acta Hort.*, **517**, 435 – 440.
- 37) 佐藤文夫 (1987) : やさしい園芸セミナー「図解野菜」, 10 – 13. (株) 農業図書, 東京.
- 38) Schaare, P.N. and D.G. Fraser (2000) : Comparison of reflectance, interactance and transmission modes of visible-near infrared spectroscopy for measuring internal properties of kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Postharvest Biol. and Technol.*, **20**, 175 – 184.
- 39) Slaughter, D.C. (1995) : Nondestructive determination of internal quality in peaches and nectarines. *Transactions of the ASAE*, **38**, 617 – 623.
- 40) Slaughter, D.C., D. Barrett and M. Boersig (1996) : Nondestructive determination of soluble solids in tomatoes using near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.*, **61**, 695 – 697.
- 41) Slaughter, D.C., J.F. Thompson and E.S. Tan (2003) : Nondestructive determination of total and soluble solids in prune using near infrared spectroscopy. *Postharvest Biol. and Technol.*, **28**, 437 – 444.
- 42) 鈴木雅人, 中原正一, 浅野伸幸 (1993) : ネット型メロンの抑制栽培における播種期, 特に積算温度と生育の関係. 茨城県農業総合センター園芸研究所研究報告, **1**, 57 – 64.
- 43) Toivonen, P.M.A., P.A. Wiersma, Y. Gong and O.L. Lau (2003) : Levels of antioxidant enzymes and lipid soluble antioxidants are associated with susceptibility to internal browning in 'Braeburn' apples. *Acta Hort.*, **600**, 57 – 61.
- 44) Tsuchikawa, S., S. Kumada and K. Inoue (2002) : Application of time-of-flight near-infrared spectroscopy for detecting water core in apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **127**, 303 – 308.
- 45) Tsuchikawa, S. and T. Hamada (2004) : Application of time-of-flight near infrared spectroscopy for detecting sugar and acid contents in apples. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2434 – 2439.
- 46) Tsuta, M., J. Sugiyama and Y. Sagara (2002) : Near-infrared imaging spectroscopy based on sugar absorption band for melons. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 48 – 52.
- 47) Watada, A.E. (1989) : Nondestructive methods of evaluating quality of fresh fruits and vegetables. *Acta Hort.*, **258**, 321 – 329.
- 48) Watada, A.E. (1995) : Methods for determining quality of fruits and vegetables. *Acta Hort.*, **379**, 559 – 567.
- 49) Watada, A.E., K.H. Norris, J.T. Worthington and D.R. Massie (1976) : Estimation of chlorophyll and carotenoid contents of whole tomato by light absorbance technique. *J. Food Sci.*, **41**, 329 – 332.

Development of a Non-destructive Near-infrared (NIR) Spectroscopy Method for Determining the Internal Quality of Melons

Hidekazu Ito

Summary

Chapter I: The background, purpose, and an outline of the remaining chapters are described briefly. The instrument used in this study was a near-infrared (NIR) spectrophotometer with a concentric fiber optic probe in interactance mode.

Chapter II: The optical absorption spectrum was measured using an NIRSystems model 6500 spectrophotometer. As the distance (0 to 6 mm) between the surface of the blossom end of a melon and the end of the fiber probe increased, the absorbance approached zero. The absorbances at 832, 858, and 950 nm also converged on zero for the sugar solution. These measured spectra had no problems with noise. When the distance between the surface of the blossom end and the end of the fiber probe was 2 and 4 mm, the two NIR-calculated Brix values were similar. Since melons have an uneven surface, each melon was hand placed a few mm from the end of the fiber optic probe to measure the optical spectrum. We called this new spectral measurement method 'Non-contact spectral measurement' in interactance mode. For correlation spectra, 'Non-contact spectral measurement' produced better correlation coefficients than the usual method, 'Contact spectral measurement', in which each melon was hand placed on the end of the fiber optic probe, except at around 980 nm in the shortwave NIR range. The absorbance around 904 nm is associated with a broad carbohydrate absorption band. When this wavelength was included as one of the independent variables in the multiple linear regression (MLR) equation for non-destructive Brix determination, 'Non-contact spectral measurement' resulted in a more accurate NIR-calculated Brix than the usual method. Therefore, the calibrations of the non-contact measurement were more robust than those of the contact measurement. The measurement of samples using a non-contact, non-invasive process enables the ultimate in quality management. The independent variables in the MLR calibration for Brix were 902, 876, 856, and 828 nm. The absorbances around 904 and 880 nm are both 'Key wavelengths for non-destructive Brix determination'. By contrast, the correlation coefficients between the absorbances at 830 or 858 nm and the Brix in the irradiated area of the melons were both almost zero.

Chapter III: Kubota corporation has recently developed a portable NIR spectrophotometer (Kubota K-BA 500, prototype of the K-BA 100) for field use. Therefore, this chapter determined the potential value of NIR spectroscopy for evaluating Brix in growing melons non-destructively. The variance in the spectra of growing melons was greater than that of harvested melons. In addition, the spectral absorbances were small and were an order of magnitude lower than those presented in chapter II. Nevertheless, the Brix could be estimated in the growing melons using an MLR equation calibrated using harvested melons. The root-mean-square (RMS) value was good (0.829 Brix). Monitoring Brix in a growing melon showed that the NIR-calculated Brix increased rapidly and became almost constant at a maximum value at harvest time. The wavelengths at 906, 874, 830,

and 856 nm were selected as independent variables in the MLR calibration for Brix. These were similar to the wavelengths selected in chapter II. The readings at 830 and 856 nm improved the large bias that occurred at key wavelengths for non-destructive Brix determination in growing melons.

Chapter IV: Kubota corporation enabled the practical use of non-contact Brix determination in melon by developing a portable NIR spectrophotometer, the Kubota K-BA 100. The calibration models of K-BA 100 were developed using samples at various temperatures to minimize the effect of temperature variation. We evaluated the accuracy of the NIR-calculated Brix and the results were good. The MLR calibration of Brix in melons identified 902, 876, 838 and 862 nm as independent variables, similar to the values discussed in chapters II and III.

Chapter V: The objective of this chapter was to assess the potential of NIR spectroscopy for the non-destructive detection of water-soaked and browning flesh in melons. NIR spectra were measured in non-contact mode. The symptom of water-soaking in melons has a similar physiological basis to browning in apples; browning in apples and melons, and the spectral availability, could allow the non-destructive detection of this physiological disorder. The absorbance around 810 nm was key to detecting this physiological disorder non-destructively in melons with water-soaked or browning flesh internally. Using a MLR calibration including 810 and 942 nm as independent variables, 100% of sound melons were detected, while 83% of internally water-soaked or browning melons were detected. Therefore, we concluded that NIR technology has potential for the non-destructive detection of water-soaked and browning flesh in melons.

Chapter VI: This chapter offers a discussion of how both the software for spectral measurements, like the regression equation, and the hardware, such as the spectrophotometer, contribute to improving the accuracy of NIR-calculated dependent variables.