

# 可視・近赤外分光法を用いるブラッドオレンジ‘タロッコ’ 粒化症果における果皮厚および果肉歩合の非破壊計測

伊藤史朗 大内優一郎\* 越智洋之\*\*

Non-destructively determining of peel thickness and pulp percentage in blood orange ‘Tarocco’ granulated juice sacs using visible / near-infrared spectroscopy

ITOU Fumiaki, OOUCHI Yuichiro and OCHI Hiroyuki

## 要 旨

ブラッドオレンジ‘タロッコ’粒化症果の発生を確認した。本果実の粒化症程度と相関の高い品質である果皮厚と果肉歩合の2項目を対象に可視・近赤外分光法を用いる非破壊計測の精度を検討した。可視・近赤外光を照射し果実赤道部2か所の拡散反射光(500~1010nm)を非破壊計測した。得られたデータは多変量解析を行って重回帰式で検量線を作成した。5波長で構成される果皮厚の検量線の相関係数(r), 予測標準誤差(SEP), 残差平均(Bias)は0.911, 0.452, 0.072であり, 同様に果肉歩合は0.940, 2.350, 0.117であった。どちらの検量線も計測精度は良好であった。

**キーワード** : ブラッドオレンジ‘タロッコ’, 粒化症, 非破壊計測, 果皮厚, 果肉歩合

## Abstract

Granulation of Juice Sacs in blood orange ‘Tarocco’ occurred in Ehime. We examined the accuracy of non-destructive measurement using visible / near-infrared spectroscopy for peel thickness and pulp percentage, which are highly correlated with the degree of granulation. Irradiated with visible / near-infrared light (500~1010nm), non-destructive measurement of diffuse reflected light at two places in the fruit equator. After that, multivariate analysis was performed to create a multiple linear regression equation calibration curve. The calibration curve for peel thickness composed of five wavelengths had a correlation coefficient of 0.911, bias-corrected standard error of prediction of 0.452, and the average of difference between actual predicted of 0.072. Similarly, the calibration curve for the pulp percentage had a correlation coefficient of 0.940, bias-corrected standard error of prediction of 2.350, and the average of difference between actual predicted of 0.117. The measurement accuracy of the two calibration curves was good.

**Key Words** : blood orange ‘Tarocco’, granulation, non-destructive measurement, peel thickness, pulp percentage

## 1. 緒言

可視・近赤外分光法とは、可視領域(波長: 380~780nm)および近赤外領域(波長: 800~2500nm)の光を用いた吸収分光法であり、振動分光法の一つにあたる。O-HあるいはC-Hのような主に水素末端の官能基の倍音や結合音が確認されるほか、前処理が簡単で迅速な分析が可能、同時に多項目の情報収集が可

能などの特徴が挙げられる(池羽田, 2019; 河野, 1990)。その利用価値はカール・ノリスら(1968)の小麦の品質評価の取り組みによって見出され実用化に至っている(土川, 2016)。現在はその計測対象が農産物にとどまらず、薬品、化学工業、繊維、木材など応用に限りがない(尾崎ら, 2004)。今後、センサー感度の向上、低コスト化あるいはポータブル化など装置に関する技術進化に伴って

\*現 愛媛県中予地方局産地戦略推進室

\*\*現 愛媛県果樹研究センターみかん研究所

利用場面は更に拡大すると考えられる。

一方、愛媛県では気候温暖化に対応可能な新たなカンキツとしてブラッドオレンジが2004年以降導入されている(菊池, 2013; 愛媛県南予地方局産業振興課産地育成室, 2013; 愛媛県農林水産部農産園芸課, 2019)。品種として‘タロッコ’, ‘モロ’, ‘サンギネロ’が存在する(山口ら, 1977)。なかでも‘タロッコ’は比較的大果で良食味であることから生食に適し、宇和島市などで産地化が進んでいる(愛媛県南予地方局産業振興課, 2011)。このようななか‘タロッコ’の一部圃場で果肉部の砂じょうに果汁が蓄積されていない果実(以降、粒化症果と呼ぶ)が発生した(Fig.1)。10月での確認事例があり、冬季の寒波襲来による発生事例(文室ら, 2014; 伊藤ら, 2015)とは明らかに要因が異なる。甘夏の事例では粒化症程度は時間の経過とともに重症化しており(河瀬, 2000)、『タロッコ』においても同様に重症化する可能性がある。本果実は外観上、正常果と酷似するため、目視による判別は困難である。本果実が市場に流出すると産地ブランドの低下に繋がる恐れがあり対策が必要である。



Fig.1 Granulation of juice sacs (GJS) in blood orange (‘Tarocco’) Harvested in October and March 【73page】

そこで、本県においてはカンキツの糖度確認のため光センサー選果機が複数導入されている現状を鑑み、本果実の市場流出防止策の一つとして可視・近赤外分光法を用いる非破壊計測の精度を検討した。検討にあたっては、現場において果実赤道部で切断し形態的異常がみられる砂じょうの範囲を目視で確認する方法(粒化症程度と呼ばれる。0～3の4段階評価。基準はTable 1)があるが、この方法で得られるデータは離散値となり、計測精度

を検討する上で課題を残す(中元ら, 2003)。このことに対応するため、筆者らはこれまでに粒化症程度の外に、何らかの計測機器を用いながら連続値として得られる果実品質10項目をあわせて調査した。その結果、果肉歩合、変形量、硬度、果皮厚および比重の5項目においては粒化症程度との間に高い相関がみられることを報告している(伊藤ら, 2020)。この知見から粒化症程度と関連のある果実品質を対象とした非破壊計測精度の検討は、間接的ではあるが粒化症果の判別に繋がる可能性がある。さらに、5項目のうち果皮厚と果肉歩合はノギスと電子天秤を用いてそれぞれ確認できる。その調査手順は簡単で、各機器の価格は比較的安価であることから生産現場において即応できる可能性は高い。以上のことを総合的に勘案し、本果実の特徴的品質である果皮厚と果肉歩合の2項目を対象に、可視・近赤外分光法を用いる非破壊計測の精度を検討したので報告する。

Table 1. Evaluation criteria of granulation of juice sacs (GJS)

Degree	Characteristic
0	Normal
1	Slight occurrence of GJS
	No fruit juice reduction
2	Partial occurrence of GJS
	Partly confirmed fruit juice reduction
3	Overall occurrence of GJS
	Reduced fruit juice overall

## 2. 材料および方法

供試果実は愛媛県宇和島市にあるみかん研究所内の圃場から2017年3月8日に収穫した個体群(n=159)とした。調査は3月14～17日に実施した。

非破壊計測データの取得にあたってはクボタ製可視・近赤外分光光度計 K-BA100 を用いた。本機はハロゲン光源(20W)を使用し果実に対して直径38mmの円状に可視・近赤外光が放射され、その中心にある受光部(直径5mm)で拡散反射光が検出される(Fig.2)。

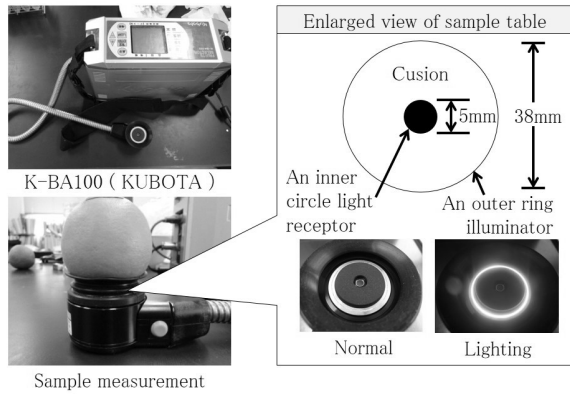


Fig.2 Spectrum measurement of blood orange ('Tarocco').

非破壊計測の波長領域は 500~1010nm, 波長間隔は 2nm であり, 1 回の計測で 256 波長に対応した非破壊計測値が得られる. なお, 果実の測定部位は対極する赤道部 2 か所とし, 得られるデータは平均処理した.

果皮厚の調査方法は果実赤道部で切断し果皮にあたるフラベド部とアルベド部の合計をノギスにより 0.1mm 単位で計測した. また, 果肉歩合については剥皮前後の果実重量を電子天秤により 0.1 g 単位で計測し, 剥皮前に占める剥皮後の重量割合を算出した.

検量線の作成および評価にあたっては外部 Validation 方式を選択した. まず, 供試果実 159 個を 80 個と 79 個の 2 群に分け, 前群を検量線作成用果実 (Calibration set), 後群を検量線評価用果実 (Validation set) とした. 次に Calibration set における果皮厚 (mm) と果肉歩合 (%) のデータをそれぞれ目的変数とし, 可視・近赤外分光光度計を用いて取得した非破壊計測データを説明変数とした. 検量線の作成にあたっては重回帰式とし, 最適な説明変数の選択においては変数増減法を用いた. 選択基準については, 多重共線性がみられない, 相関係数  $r$  における  $p$  値が 0.05 以下, 選択波長の数には上限を設けない, こととした. この基準を満たす波長は  $p$  値の低

い順に加え重回帰式による検量線を作成した. 作成した 2 つの検量線は, 相関係数 ( $r$ ) と予測標準誤差 (SEC) を別途, 算出した. さらに, 検量線の評価にあたっては作成した検量線を Validation set にあてはめ, 相関係数 ( $r$ ), 予測標準誤差 (SEP), 残差平均 (Bias) を求めた. 非破壊計測データの取得にあたっては本機器付属のサポートソフトを, 検量線の作成と評価は表計算ソフト Excel 2010 をそれぞれ使用した.

### 3. 結果および考察

まず, 供試果実の品質を Calibration Set と Validation Set の群間で比較した. 果皮厚および果肉歩合は群間において  $t$  検定による 5 % 水準での有意差はみられなかった. このことから, 供試果実を品質上, 同水準に 2 分割できたと推察された (Table 2).

次に Calibration set の非破壊計測値を示す (Fig.3). 500~600nm に色調由来, 900~1010nm に水分由来のピークをそれぞれ確認でき, また, 分光器の感度が高いことによって減光しながらリファレンスを測定したことによる影響で負の吸光度が 650~850nm の領域でみられた (伊藤ら, 2012). 加えて, このスペクトルにはノイズ由来の微動を含む可能性がある (吉村ら, 2012). 微動は検量線の計測精度の低下を招きやすい. そこで, 25pt のサイズで Savitzky-Golay 法による平滑化と 2 次微分処理を行い, 微分スペクトルを作成した (岩元, 1980; Fig.4). なお, 平滑化処理の際に 500~522nm と 988~1010nm の領域にデータ欠落が生じたため, これらの領域は検量線作成時における説明変数選択検討の対象から除外した.

続いて, 2 次微分値 232 波長を対象とし,

Table 2. Fruit quality

Category	Survey item	Unit	Calibration set (n=80)		Validation set (n=79)		p-value
			Average	± SD	Average	± SD	
Form	Peel thickness	mm	4.2	0.1	4.2	0.1	0.969
Weight	Pulp percentage	%	75.5	0.9	75.9	0.8	0.690

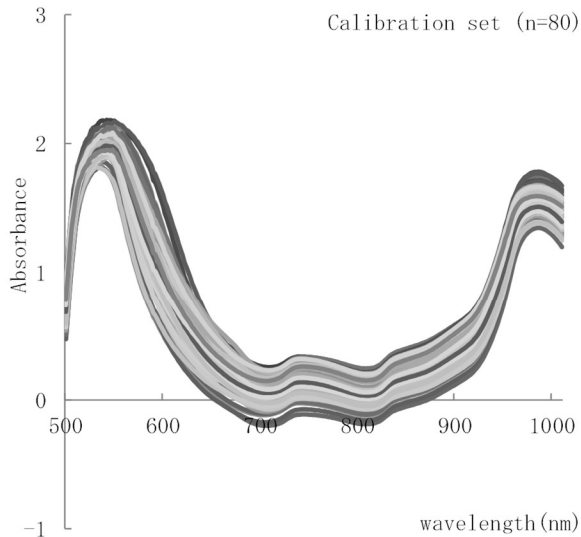


Fig. 3 Spectra of blood orange

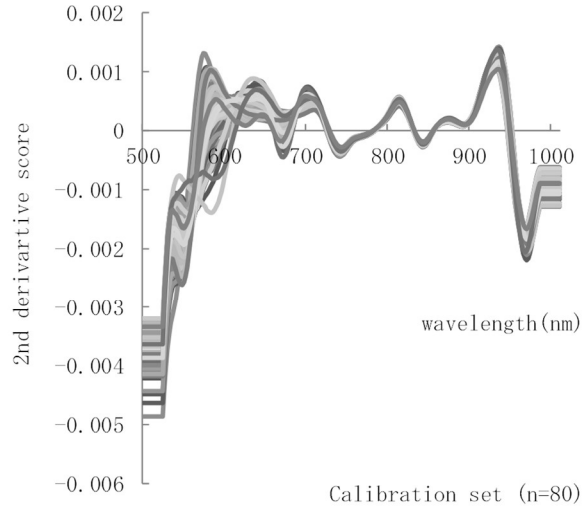


Fig. 4 2nd derivative spectra of blood orange (‘Tarocco’)

この中から果皮厚と果肉歩合の非破壊計測に最適となる波長を変数増減法により検討した。その結果、果皮厚および果肉歩合とも5つの波長が選択された。これらの波長を $p$ 値の順に説明変数へ加えながら作成した検量線(重回帰式)を以下に示す。

$$\begin{aligned} \text{果皮厚 (mm)} &= 6.559 + 76022.172 \times 898\text{nm} \\ &\quad - 7305.514 \times 926\text{nm} + 33475.972 \times 834\text{nm} \\ &\quad + 1695.001 \times 986\text{nm} + 783.955 \times 602\text{nm} \\ \text{果肉歩合 (\%)} &= 87.219 - 537910.344 \times \\ &\quad 900\text{nm} + 80880.880 \times 920\text{nm} - 273046.399 \\ &\quad \times 832\text{nm} + 6604.737 \times 558\text{nm} + 14400.482 \\ &\quad \times 618\text{nm} \end{aligned}$$

(各波長で示す箇所には2次微分スペクトルの吸光度をそれぞれ代入)

選択波長を個別に検討した。まず、900nmと920nm付近の波長は、前述のとおり水分ピークの立ち上がり部分に該当することから、水分由来の情報を含んでいる(伊藤ら, 2012)。この2波長のみで構成される検量線を別途作成したところ、Calibration setに対し果皮厚では0.840、果肉歩合では0.858の相関係数を示した。このことから900nmと920nm付近の波長は検量線における主波長と考えられ、果皮厚と果肉歩合の非破壊計測には水分情報が役立つことが明らかとなった。次に832nm付近の波長は、温州みかんで

は果実の大きさと相関が高く(Miyamoto et.al, 1995)、メロンでは糖度(伊藤, 2007)、本品種においては果肉部の紫色の着色程度(伊藤ら, 2012)に関する報告がある。いずれも主波長ではないが、様々な品質の非破壊計測にあたって補正的な役割を期待できる。粒化症果においてもこれら事例と同様に補正する効果が認められたためこの波長が選択されたと推察した。果皮厚の986nmは水分ピーク付近にあたり900nmや920nmと同様に水分情報を含む。残りの558, 602および618nmは可視領域の波長であり、果実の色調に関する情報を含む。先行調査(伊藤ら, 2020)によると果皮色調(色彩色差計による $a^*$ 値)は、果皮厚、果肉歩合および粒化症程度のいずれの品質とも高い相関はみられていない。しかし、今回供試した機器によって得られる拡散反射光の可視領域には832nm付近の波長と同様に補正効果が認められるため選択されたと推察した。以上のように果皮厚と果肉歩合の検量線は、近赤外領域の2波長を主波長としながら補正的な役割を持つ可視および近赤外領域の3波長で構成されたものと表現できる。

さらに、果皮厚と果肉歩合と全波長の非破壊計測値の関係を確認するため、波長別に相関係数を求めて相関スペクトルを作成した。なお、2つのスペクトルを対比しやすくするために果肉歩合のみ正負を逆転させ表示した

(Fig.5) . 先行調査では果皮厚と果肉歩合の間に  $r = -0.899$  の高い相関がみられている (伊藤ら, 2020) . そのことも影響し相関スペクトルの増減は同調する傾向を示した. なお, 単波長でみると果皮厚, 果肉歩合ともに 858nm において 0.737 と 0.835 (実際は -0.835) となり, 最も高い値を示した. しかし, 前述のとおり水分情報を含む 900nm と 920nm の 2 波長を組み合わせることで

858nm を上回る相関を示すことから, 結果的にこの波長は選択されなかったと推察した.

Validation set に対する検量線の計測精度 ( $r$ , SEP, Bias) を算出し Table 3 に示した. 各検量線の相関係数  $r$  は 0.9 を超えた. 残差平均である Bias にも大きな偏りはなかった. これらのことから作成した 2 つの検量線の計測精度は良好と推察した.

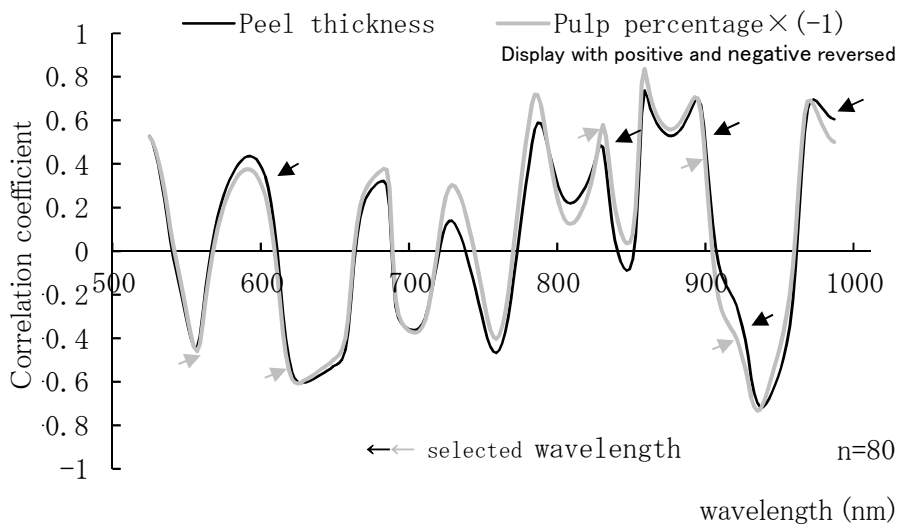


Fig.5 A correlation spectra of 2nd derivartive and actual scores of peel thickness and pulp percentage in blood orange ('Tarocco')

Table 3. Multiple linear regression result for predicting quality in blood orange ('Tarocco')

Name	Unit	Selected wavelength <sup>2</sup> (nm)					Calibration set (n=80)		Validation set (n=79)		
		$\lambda_1$	$\lambda_2$	$\lambda_3$	$\lambda_4$	$\lambda_5$	r	SEC	r	SEP	Bias
Peel thickness	mm	898	926	834	986	602	0.894	0.546	0.911	0.452	0.072
Pulp percentage	%	900	920	832	558	618	0.957	2.203	0.940	2.350	0.117

r: Multiple correlation coefficient

SEC: Standard error of calibration

SEP: Bias-corrected standard error of prediction

Bias: The average of difference between actual predicted

<sup>2</sup> 2nd derivative score

Validation set における実測値と 2 つの検量線により算出した非破壊計測値の関係を散布図で示した (Fig.6, 7) . このとき, 粒化症程度についても Table1 に示す基準で果樹分野の研究者 3 名が別途調査して結果に反映させた. 前述のとおり果皮厚と果肉歩合の非破壊計測精度は良好であることを再確認した. ただし, 粒化症程度に注目すると, 程度 0 と 1, また, 程度 2 と 3 を明確に区分することは困難であると推察された. 程度 3 以上

の果実が市場流出すると消費者からのクレームに繋がりがやすい. そこで, この粒化症程度 3 の果実の選別基準を検討すると果皮厚では 4.5mm, 果肉歩合では 74% がそれぞれ挙げられる. これら基準については単年度かつ一部圃場の結果であるため, 追跡調査の実施など更なる検証が必要と考える.

これまで 'タロッコ' 粒化症程度と相関の高い品質である果皮厚と果肉歩合を対象として非破壊計測精度の検討を進めてきた. 結果

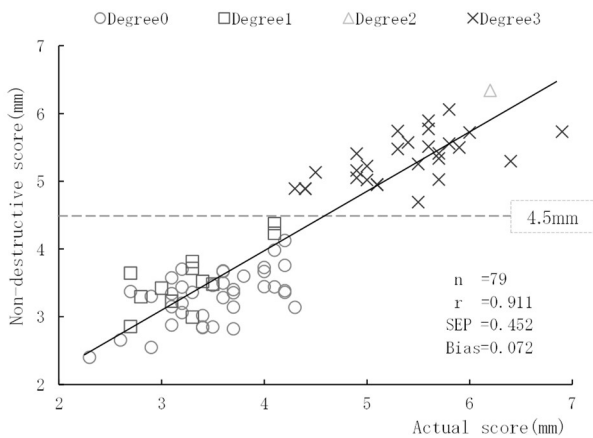


Fig. 6 Plots of actual vs. non-destructive score of the peel thickness of flesh in blood orange

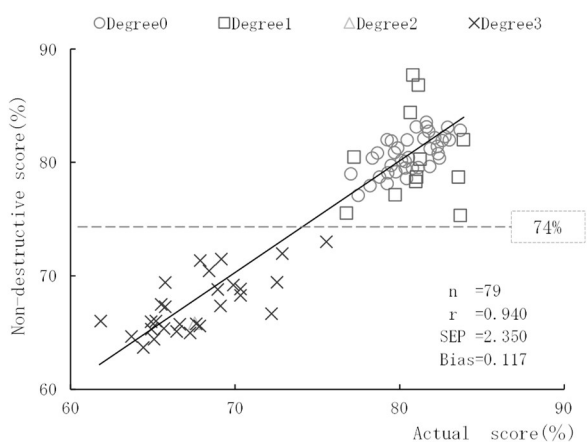


Fig. 7 Plots of actual vs. non-destructive score of the pulp percentage of flesh in blood orange

として、果皮厚や果肉歩合に対する計測精度は概ね良好であったが、最終的な計測対象となる粒化症果への応用にあたっては検量線の改良の余地があると考えられる。改良の方向性の一つとして果実の計測部位に着目した検討が挙げられる。本調査では作業性の面から果実赤道部の2か所に限定して非破壊計測を実施した。この場合、計測部位に近接しない部分で砂じょうの形態的異常が発生した果実の判定は難しくなる。このような事例への対応策としてハイパースペクトルイメージングカメラの利用が挙げられる。この機器は仕様に応じた異なる波長で計測対象を面的に画像として捉える機構を有する(池羽田, 2019)。このことから計測部位に関する課題を解消し、結果的に粒化症果の判別精度が向上すると予測する。園地の今後の動向や新機構を有する機器の計測精度などの様々な検討を産地

レベルで重ね、ブランド維持に繋げて参りたい。

### 謝辞

調査に御協力頂きましたブラッドオレンジコンソーシアム、愛媛県南予地方局産業振興課の皆様に対し厚くお礼を申し上げます。

### 引用文献

- 愛媛県南予地方局産業振興課. 2011. 温暖化を逆手に～ブラッドオレンジ産地化確立への取り組み～, 近畿中国四国農研, **18**. 54-56.
- 愛媛県南予地方局産業振興課産地育成室. 2013. 宇和島発地球温暖化対策－全国初のブラッドオレンジ産地化を目指した攻めの普及活動－, 技術と普及, **50**(4). 26-31.
- 愛媛県農林水産部農産園芸課. 2019. 平成29年産果樹栽培状況等表式調査. 24.
- I. Ben-Gera and K. H. Norris. 1968. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products., *J Food. Sci.*, **33** (1) . 64-67.
- 池羽田晶文. 2019. 食品表示のための非破壊計測, *Foods & Food Ingredients J. Jpn.*, **224** (1) . 46-53.
- 伊藤史朗・大内優一郎・越智洋之. 2020. ブラッドオレンジ‘タロッコ’粒化症果における果実品質の特徴, 愛媛農林水研報, **12**. 9-14.
- 伊藤史朗・森本進・服部玄・伊藤秀和. 2012. 可視・近赤外分光法を用いるブラッドオレンジ果肉における紫色の着色程度の非破壊計測の可能性, 照明学会誌, **96**(11). 747-751.
- 伊藤史朗・菊池孝. 2015. 現地で発生した中晩柑‘せとか’の寒害果と人工的低温処理果の品質比較, 近畿中国四国農研報, **26**. 47-53.
- 伊藤秀和. 2007. 近赤外分光法によるメロン品質の非破壊計測法の開発, 野菜茶業研究所研報, **6**. 83-115.
- 岩元睦夫. 1980. 近赤外分光法による食品成分の非破壊測定, 日食工誌, **27**. 464-472.
- 河野澄夫. 1990. 近赤外分光法による非破壊

- 品質評価, 化学と生物, **28** (6) . 380-386.
- 河瀬憲次. 2000. 生理障害と栽培技術上の重要病害(4. ス上がり). 果樹園芸大百科1カンキツ. 811-814. 農文協.
- 菊池泰志. 2013. 全国初のブラッドオレンジ産地化への取り組み, 果実日本, **68** (12) . 38-42.
- Miyamoto, K. and Kitano, Y. 1995. Non-destructive determination of sugar content in Satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy., *J. Near Infrared Spectrosc.*, **3**, 227-237.
- 中元陽一・増田哲男・藤澤弘幸・水野俊博・別所英男・工藤和典. 2003. 非破壊品質評価技術の高精度化に関する研究 - リンゴ果実内の蜜の分布について -, 農業機械学会誌, **65**. 23-24.
- 越智洋之. 2012. ブラッドオレンジの低温貯蔵によるアントシアニン含有量増加技術, 農林水産技術研究ジャーナル, **35** (12) . 38.
- 尾崎幸洋・池羽田晶文. 2004. 近赤外分光(I. 概論), 分光研究, **53** (1) . 43-53.
- 土川覚. 2016. 異分野との接点が生み出す新学問 - 近赤外分光計測を例として, 学術の動向, **21** (2) . 66-71.
- 山口勝市・大和田厚・水谷恒雄. 1977. 話題の柑橘100品種, 愛媛県青果農業協同組合連合会, 134-137.
- 柳井久江. 2013. 4Step エクセル統計【第3版】, (有)オーエムエス出版, 184-185. 東京.
- 吉村季織・高柳正夫. 2012. Microsoft Excelを用いたケモメトリクス計算(5) - 平滑化と数値微分 -, *J. Comput. Chem. Jpn.*, **11** (3) . 149-158.