

# 近赤外線分光法によるニホンナシの非破壊糖度測定

坂本真理・吉田 誠・小清水正美\*

## Constructing Calibration Equations of Sugar Content in Japanese Pear by Near Infrared Spectroscopy

Mari SAKAMOTO, Makoto YOSHIDA, Masami KOSHIMIZU\*

### 摘 要

近赤外分光分析法による、ニホンナシの糖度の非破壊測定について検討を行った。長波長域(1,100~2,500 nm)及び短波長域(700~1,100nm)において近赤外スペクトルを測定し、検量線の作成、評価を行った。その結果、長波長域においては3~4波長からなる検量線が得られ、検量線評価時の標準誤差(SEP)は、いずれの品種においても0.5程度であった。短波長域においては4波長からなる検量線が得られ、SEPは0.3~0.4程度で、長波長域で作成された検量線より精度が高かった。どちらの波長域の検量線も、糖度に基づいて果実を選別するには実用的な精度であると判断されたが、ニホンナシにおける近赤外線分光法による糖度測定には、短波長域でのスペクトル測定が優れていることが明らかになった。複数品種を合わせた検量線を作成したところ、SEPは品種別の検量線と大差なく、糖組成の異なる品種間で適用できる検量線を作成することができた。また、波長の帰属を考慮し、波長を指定して検量線を作成したところ、918, 996, 882nmの各波長を含む検量線で、各品種とも、解析ソフトウェアの自動選択波長による検量線より精度のよい検量線が得られた。これらの結果より、品種によらないグローバル検量線の作成と、固定波長での検量線作成の可能性が示された。

キーワード：非破壊品質評価法、近赤外分光法、糖度、ナシ、検量線

### Summary

Nondestructive quality evaluation of Brix value in Japanese pear was investigated by near infrared (NIR) spectroscopy. NIR spectra were measured in the long (1,100~2,500nm) and short (700~1,100nm) wavelength regions. And in both regions, calibration equations were made and assessed. In result, in the long wavelength region, calibration equations constructed for 3 or 4 wavelengths were obtained, and those bias-corrected standard errors of prediction (SEP) were on the order 0.5° Brix. In the short wavelength region, calibration equations constructed for 4 wavelengths were obtained, and those SEP were on the order 0.3-0.4° Brix. Calibration equations obtained the both wavelength regions had the practical precision for selecting fruits from Brix Value. Nevertheless the short wavelength region was better than long to measure spectra predicting Brix Value by NIR spectroscopy in Japanese pear. Calibration equations were made in several varieties, these SEP were as same as separate varieties. Calibration equations specified wavelengths which considered belonging were made, the precision of calibration equations included 918, 996 and 882nm wavelengths were better than auto-selected by the analysis software.

**Key words:** nondestructive quality evaluation, near infrared spectroscopy, brix value, Japanese pear, calibration equation

## 緒 言

近赤外線とは、厳密な定義はないが、可視光線と赤外線との間の800~2,500nmの波長域の電磁波であり、近赤外分光法は、物質の分子による近赤外光の吸収に基づく分光法である(岩元ら 1994, 尾崎ら 1996)。

近赤外分光法の最も大きな利点は、エネルギーの低い電磁波を用いるため、非破壊分析を行えることである。近赤外分光法による非破壊品質評価の研究は、1960年代にアメリカで穀物中の水分の定量を行ったことから始まり、現在では米国連邦穀物検査局等の機関が、近赤外分光法を小麦タンパク質の公定分析法として採用している(岩元ら 1994, 尾崎ら 1996)。日本においても、醤油製造におけるJAS格付検査の分析法として採用され、食品工場等における工程管理にも広く用いられている(岩元ら 1994, 尾崎ら 1996)。

現在、農産物の選別は主に外観によって行われているが、非破壊品質評価による内部品質に基づく選別が可能になれば、生産者、消費者ともにさまざまなメリットが得られる。近赤外分光法による果実類の品質評価は、近年、モモ等の糖度測定で実用化されている(岩元ら 1994, 尾崎ら 1996, Kawanoら 1992)が、検量線の精度管理やコスト面等で問題もある。

ニホンナシに関しては、小島ら(1994)による近赤外線の1,100~2,500nmの波長域(以下長波長域)における糖度測定の報告があるが、果実のような水分含量の多い対象物を測定するのに適した1,100nm以下の波長域(以下短波長域)での報告は見られない。そこで、本研究ではニホンナシ3品種の、短波長域及び長波長域における近赤外スペクトルを測定し、糖度との相関から近赤外分光法によるナシ果実の非破壊評価法について検討を行った。

## 材料及び方法

### 1. 供試材料

本研究圃場及び中郡三宮町の元園芸試験場において露地栽培された、‘あけみず’、‘幸水’及び‘豊水’の3品種の果実を試験に供した。それぞれの試料の産地、収穫日及び供試数を第1表に示した。

### 2. 方法

#### (1) ナシ果実の近赤外スペクトルの測定

果実の品温を一定(22℃)にするため、収穫後果実を一晩実験室内に放置し、翌日近赤外スペクトルを測定した。近赤外分光分析計は、NIR System社製NIRS6500(以下NIRS6500)及びBran+Luebbe社製InfraAlyzer500(以

第1表 試料果実の産地・収穫日及び供試数

| 品 種  | 産 地      | 収 穫 日          | 供 試 数 |
|------|----------|----------------|-------|
| あけみず | 旧園試及び農総研 | 1996年8月7日      | 45果   |
| 幸 水  | 農 総 研    | 1996年8月26, 28日 | 40果   |
| 豊 水  | 農 総 研    | 1996年9月11, 17日 | 40果   |

下IA500)を用いた。NIRS6500では同軸ファイバーケーブルを用い、透過反射法により400~1,100nmの短波長域のスペクトルを2nm間隔で測定した。IA500では光ファイバーケーブルを用い、反射方式により1,100~2,500nmの長波長域のスペクトルを2nm間隔で測定した。スペクトルの測定は、果実の赤道部にファイバースローブを垂直に密着させて行い、1果につき90°間隔で4点測定した。

#### (2) 水及び糖標準品の近赤外スペクトルの測定

糖の特性吸収波長の確認と、検量線の採用波長の帰属を考察するために、水及び乳糖で粉碎したショ糖、ブドウ糖、果糖の結晶を、粉体用試料セルに入れ、果実と同様にスペクトルを測定した。

#### (3) 従来法による糖度・糖及び有機酸含量の分析

スペクトル測定後、測定部位を直径1.5cmのコルクボーラーでくり抜き、果実表面から2cm切り出した切片の果汁を搾汁した。果汁の糖度は、アタゴ社製デジタル糖度計RX-1000で測定した。糖及び有機酸含量は、果汁を水で100倍に希釈後、0.45µmのメンブランフィルターでろ過し、下記条件の高速液体クロマトグラフにより定量した。糖含量、カラム：Shim-pack SCR-101C(内径7.9mm×長さ300mm, 島津製作所)、カラム温度：80℃、流速：1.0ml/min、注入量：10µl、移動相：水、検出器：示差屈折計(RID-6A, 島津製作所)。有機酸含量、カラム：Sim-pack SCR-102H(内径8.0mm×長さ300mm, 島津製作所)、カラム温度：40℃、流速：0.8ml/min、注入量：10µl、移動相：5mM p-トルエンスルホン酸水溶液、反応相：5mM p-トルエンスルホン酸、100µM EDTA、20mM Bis-Tris水溶液)、検出器：電気伝導度検出器(CDD-6A, 島津製作所)。

#### (4) 検量線の作成及び評価

試料は、糖度の分布が等しくなるように、検量線作成用試料と評価用試料に分けた。近赤外スペクトルの解析には、ベースラインのシフトを除外するため、重なり合ったピークの分離を行うため、原スペクトルの吸光度を2次微分処理した2次微分スペクトルを用いた。2次微分の条件は、微分セグメントの波長間隔を20nm、微分

第2表 ナシの糖・有機酸含量及び組成

| 品 種  | 全 糖          | ショ糖    | ブドウ糖   | 果 糖    | ソルビトール | 全有機酸        | リンゴ酸   | クエン酸   |
|------|--------------|--------|--------|--------|--------|-------------|--------|--------|
|      | <b>10.58</b> | 1.53   | 1.51   | 4.73   | 2.81   | <b>0.29</b> | 0.21   | 0.08   |
| あけみず | <b>0.74</b>  | 0.68   | 0.31   | 0.39   | 0.42   | <b>0.06</b> | 0.05   | 0.02   |
|      |              | (14.5) | (14.3) | (44.7) | (26.6) |             | (70.8) | (29.2) |
| 幸 水  | <b>9.91</b>  | 3.61   | 1.25   | 3.63   | 1.42   | <b>0.28</b> | 0.23   | 0.05   |
|      | <b>0.53</b>  | 0.64   | 0.17   | 0.26   | 0.19   | <b>0.03</b> | 0.02   | 0.01   |
|      |              | (36.4) | (12.6) | (36.6) | (14.3) |             | (82.5) | (17.5) |
| 豊 水  | <b>9.49</b>  | 2.70   | 1.31   | 4.13   | 1.35   | <b>0.44</b> | 0.26   | 0.18   |
|      | <b>0.87</b>  | 0.86   | 0.19   | 0.27   | 0.21   | <b>0.06</b> | 0.02   | 0.05   |
|      |              | (28.5) | (13.8) | (43.5) | (14.3) |             | (58.9) | (41.1) |

(上段：含量%(w/v), 中段：標準偏差, 下段：組成%)

セグメント間の波長間隔を0nmとした。

検量線の作成は、重回帰分析により、近赤外スペクトルを説明変数、糖度を目的変数にして、短波長域では700~1,100nm、長波長域では1,100~2,500nmの波長のスペクトルを用いて、NIR Spectral Analysis Software Ver.3.30(以下NSAS)の標準回帰分析を用いて変数増加法により行った。検量線の説明変数の数は最大4波長とした。

## 結果及び考察

### 1. ナシの糖・有機酸の含量及び組成

供試したナシ果実の糖、有機酸の含量及び組成を第2表に、構成糖の含量と糖度との相関を第3表に示した。糖組成は、品種によりショ糖とソルビトールの割合が大きく異なったが、ブドウ糖では差がほとんどなかった。糖度と糖含量との相関は、‘あけみず’では糖度と相関が高い糖はなく、‘幸水’と‘豊水’ではショ糖との相関がやや高かった。有機酸含量は、リンゴ酸とクエン酸の含量の合計で、‘あけみず’と‘幸水’では平均0.3%(w/v)、『豊水’では平均0.4%(w/v)であった。クエン酸において、1%(w/w)が0.9°Brixを示す(藤原ら 1994)ことから、有機酸の糖度に及ぼす影響を考慮して、糖及び有機酸含量の合計値と糖度との相関を求めたが、糖含量のみの場合と比較して相関の向上は認められなかった。

第3表 糖含量と糖度との相関

|        | あけみず  | 幸 水    | 豊 水    |
|--------|-------|--------|--------|
| 全 糖    | 0.881 | 0.921  | 0.946  |
| ショ糖    | 0.359 | 0.852  | 0.849  |
| ブドウ糖   | 0.084 | -0.300 | -0.205 |
| 果 糖    | 0.262 | -0.495 | -0.118 |
| ソルビトール | 0.669 | 0.660  | 0.747  |

このことから、ナシの糖度を近赤外分光法で予測する場合、有機酸含量の影響は考慮する必要がないと考えられた。

### 2. 糖及び水の近赤外スペクトル

短波長域におけるショ糖の結晶粉末及び水のスペクトルを第1図に、各糖及び水の2次微分スペクトルのピーク波長を第4表に示した。970nm付近のピークは短波長域における水の代表的なピークで、910nm付近のピークは糖の代表的なピークである。長波長域におけるショ糖と水のスペクトルを第2図に示した。長波長域は測定範囲が1,100~2,500nmと広いため、この波長域における各糖のピークは20前後あった。長波長域における水の2次微分スペクトルのピークは、1,418nm及び1,914nmの2波長であった。

第4表 糖及び水の2次微分スペクトルピーク波長

|      | 波長(nm) |     |     |     |      |
|------|--------|-----|-----|-----|------|
| ショ糖  | 756    | 820 | 912 | 982 | 1026 |
| ブドウ糖 | 754    | 830 | 918 |     | 1024 |
| 果 糖  | 768    |     | 914 | 996 |      |
| 水    | 756    | 844 |     | 968 |      |

### 3. ナシの近赤外スペクトル

供試した果実の糖度分布は第5表のとおりである。‘あけみず’が他の2品種より平均糖度が1°Brix高く、‘豊水’が最もばらつきが大きかった。

各品種における、糖度が12.4°Brixであった試料の短波長域のスペクトルの平均を第3図に、長波長域のスペクトルの平均を第4図に示した。原スペクトルにおいて見られたベースラインのシフトは、2次微分処理を行うことで除外されることが確認された。短波長域において、水のピークである970nm付近に差が見られたが、これは

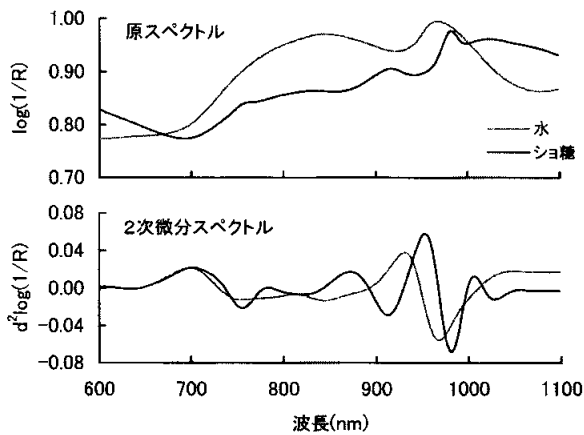
第5表 供試試料の糖度

|      | あけみず   |        | 幸水     |        | 豊水     |        |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|      | 検量線作成用 | 検量線評価用 | 検量線作成用 | 検量線評価用 | 検量線作成用 | 検量線評価用 |
| 試料点数 | 110    | 70     | 100    | 60     | 100    | 60     |
| 最高   | 14.8   | 14.7   | 13.1   | 13.1   | 14.9   | 13.7   |
| 最低   | 10.7   | 11.5   | 9.6    | 9.6    | 9.6    | 9.7    |
| 平均   | 13.0   | 13.0   | 12.0   | 12.1   | 12.2   | 12.2   |
| 標準偏差 | 0.7    | 0.7    | 0.5    | 0.6    | 0.9    | 0.8    |

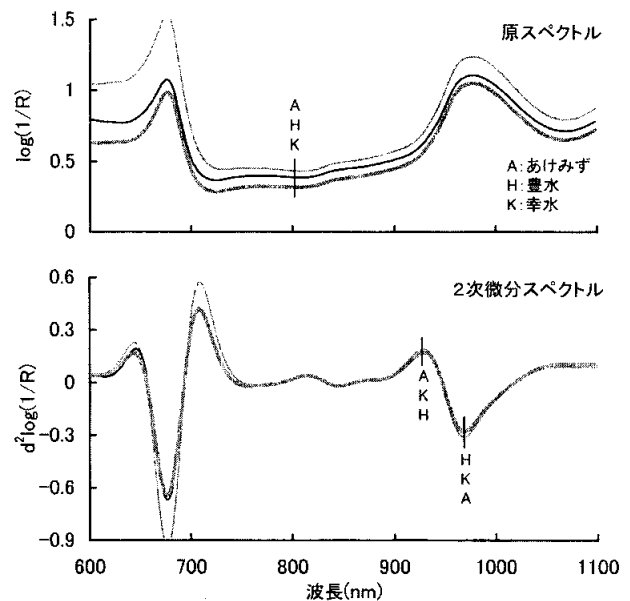
水分含量の違いによるものと考えられた。長波長域においても、水のピークである1,418, 1,914nm付近に差が見られた。

‘あけみず’について、糖度が14°Brix以上(High), 13°Brix(Medium), 12°Brix以下(Low)の試料の、短波長域における2次微分スペクトルの平均を第5図に示した。760nm付近の負のピークは糖度が高いほど大きく

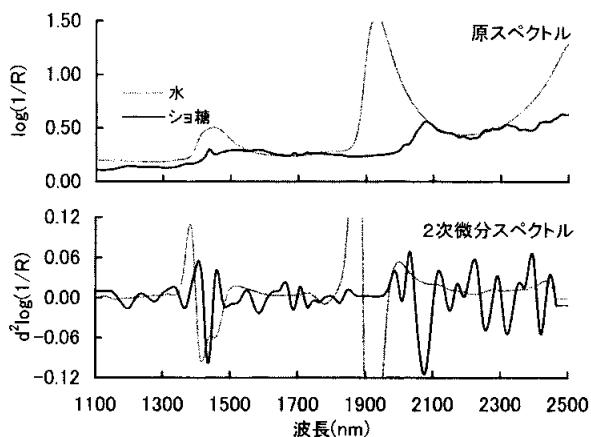
なったが、この付近の波長は水のピーク波長でもあるが、各糖の吸収も存在するため、糖含量を反映していると考えられた。同様に、長波長域における糖度別の2次微分



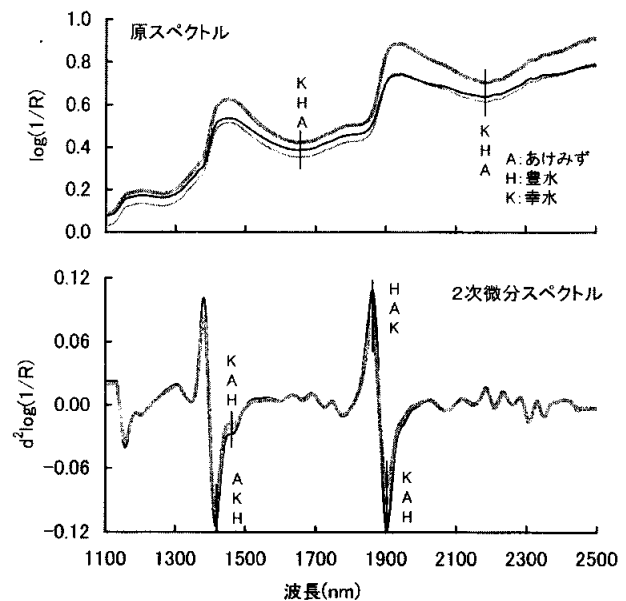
第1図 ショ糖及び水の短波長域スペクトル



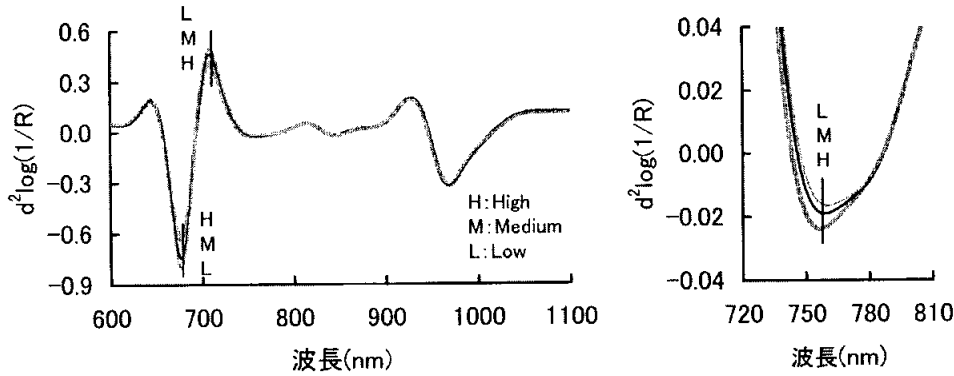
第3図 短波長域品種別スペクトル(12.4°Brix)



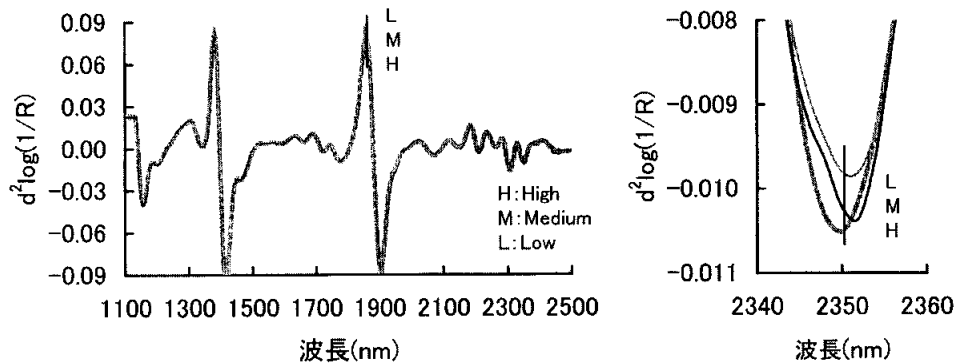
第2図 ショ糖及び水の長波長域スペクトル



第4図 長波長域品種別スペクトル(12.4°Brix)



第5図 短波長域糖度別2次微分スペクトル(あけみず)



第6図 長波長域糖度別2次微分スペクトル(あけみず)

スペクトルを第6図に示した。2,350nm付近の負のピークは糖度が高いほど大きくなり、この付近には各糖の吸収が存在することから、糖含量を反映していると考えられた。

#### 4. 長波長域における検量線の作成及び評価

長波長域において、品種ごとにNSASによる自動選択波長で検量線を作成、評価を行った結果を第6表に示した。‘あけみず’では、4波長の検量線において、検量線評価時の標準誤差(以下SEP)が3波長の値より大きくなり、検量線が検量線作成用試料のみに適合するオーバーフィッティングとなった。選択された波長は品種により異なったが、1,236nm付近と1,668nm付近の2波長が2品種で選択された。このうち1,668nmは、ショ糖と果糖の吸収帯である1,680nmに近かった。SEPはいずれの品種においても0.5程度で、糖度に基づいて果実を選別するには実用的な精度であると判断された。また、3品種を合わせて検量線の作成、評価を行ったところ、品種別の検量線と同程度の精度の検量線を得ることができた。

小島ら(1994)は、幸水の糖度において、1,508, 1,668, 1,932, 2,132, 2,212, 2,400nmの波長を用い、検量線作成時の標準誤差(以下SEC)が0.50, SEPが0.49の検量線を報告しており、そこで2,132nmを果糖の吸収に由来す

る検量線のキーバンドとしている。本報告との波長の差異は、測定条件や果実の栽培条件の違い等に起因していると考えられた。しかし、共通に選択された1,668nmも果糖及びショ糖の吸収波長であり、2,132nmと同様にキーバンドであると考えられた。

#### 5. 短波長域における検量線の作成及び評価

短波長域において、品種ごとに自動選択波長で検量線を作成、評価を行った結果を第7表に示した。いずれの品種においても、4波長までオーバーフィッティングを起こさなかった。950nmの波長は3品種で選択され、836nm付近、876nm及び900nm付近の波長は、それぞれ2品種で選択された。これらの波長の帰属を検討すると、836nmはショ糖、ブドウ糖、水の吸収波長に近く、900nmは各糖の吸収波長に近かった。SEPは、‘幸水’では0.46であったが、他の2品種では0.35以下で、いずれも長波長域で作成された検量線より精度が高く、果実の選別に十分適用できる精度であった。重相関係数の値も長波長域より高く、ナシにおける近赤外分光法による糖度測定には、短波長域でのスペクトル測定が優れていることが明らかになった。3品種を合わせた検量線においても、SEPは0.34と小さかった。

第6表 長波長域における自動選択波長による検量線の作成及び評価

| 品 種   | 波長(nm) |      |      |      | R <sup>z</sup> | SEC <sup>y</sup> | SEP <sup>x</sup> | Bias  |
|-------|--------|------|------|------|----------------|------------------|------------------|-------|
|       | λ 1    | λ 2  | λ 3  | λ 4  |                |                  |                  |       |
| あけみず  | 1236   | 1574 | 1670 |      | 0.650          | 0.54             | 0.49             | -0.02 |
|       | 1236   | 1574 | 1670 | 1808 | 0.703          | 0.51             | 0.50             | -0.04 |
| 幸 水   | 1238   | 1668 | 1814 | 1526 | 0.768          | 0.34             | 0.45             | -0.02 |
| 豊 水   | 1748   | 2242 | 1210 | 1266 | 0.693          | 0.67             | 0.54             | 0.00  |
| 3 品 種 | 1742   | 1210 | 2240 | 1796 | 0.731          | 0.57             | 0.54             | -0.02 |

第7表 短波長域における自動選択波長による検量線の作成及び評価

| 品 種   | 波長(nm) |     |     |      | R <sup>z</sup> | SEC <sup>y</sup> | SEP <sup>x</sup> | Bias  |
|-------|--------|-----|-----|------|----------------|------------------|------------------|-------|
|       | λ 1    | λ 2 | λ 3 | λ 4  |                |                  |                  |       |
| あけみず  | 834    | 950 | 876 | 900  | 0.804          | 0.42             | 0.35             | -0.07 |
| 幸 水   | 950    | 838 | 760 | 1018 | 0.710          | 0.37             | 0.46             | -0.03 |
| 豊 水   | 710    | 950 | 876 | 898  | 0.837          | 0.51             | 0.33             | 0.02  |
| 3 品 種 | 860    | 700 | 878 | 896  | 0.881          | 0.40             | 0.34             | 0.03  |

第8表 短波長域における指定波長<sup>w</sup>による検量線の作成及び評価

| 品 種   | 波長(nm) <sup>w</sup> |     |     |     | R <sup>z</sup> | SEC <sup>y</sup> | SEP <sup>x</sup> | Bias  |
|-------|---------------------|-----|-----|-----|----------------|------------------|------------------|-------|
|       | λ 1                 | λ 2 | λ 3 | λ 4 |                |                  |                  |       |
| あけみず  | 918                 | 996 | 882 | 700 | 0.885          | 0.33             | 0.32             | -0.07 |
| 幸 水   | 918                 | 996 | 882 | 798 | 0.837          | 0.29             | 0.35             | -0.06 |
| 豊 水   | 918                 | 996 | 882 | 900 | 0.837          | 0.49             | 0.32             | -0.00 |
| 3 品 種 | 918                 | 996 | 882 | 700 | 0.880          | 0.40             | 0.34             | -0.01 |

z : 重相関係数

y : 検量線作成時の標準誤差

x : 検量線評価時の標準誤差

w : 第1波長~第3波長(自動選択波長:第4波長)

## 6. 波長の指定による検量線の作成及び評価

NSASにより自動選択された波長は品種により異なる場合が多く、同一品種においても栽培年次によって選択される波長が異なる(小島ら1994)ことから、短波長域において、波長を指定して精度のよい検量線が得られるか試みた。用いた波長は、ブドウ糖の吸収波長でショ糖と果糖の吸収波長にも近い918nm、果糖の吸収波長でショ糖の吸収波長にも近い996nm、糖の吸収波長を第1波長にした場合に自動選択でどの品種においても選択された波長である882nmとし、残りの1波長を自動選択にした。880nmは、糖の吸収帯である910nm付近の波長と組み合わせると、検量線の精度が向上するとの報告があり(Kawanoら 1992)、本報告における882nmもそのために選択されたと考えられた。検量線の作成、評価の結果を第8表に示した。いずれの品種においても、自動選択波長による検量線より精度の向上が認められた。3品種を合わせた検量線において、SECが0.40、SEPが0.34と

なり、前述の小島ら(1994)のナシでの検量線、また、河野ら(1992)のモモでの検量線(SEC=0.48, SEP=0.50)と比較して、実用的な糖度推定に十分な精度であると考えられた。

以上の結果により、ナシにおいて、品種によらないグローバル検量線と、固定波長での検量線を作成することができた。

## 引用文献

- 藤原孝之・本庄達之助. 1995. 近赤外分光法によるウンシュウミカン果汁の糖および酸含量の測定. 日本食品科学工学会誌. 42: 109-117
- 岩元睦夫ら. 1994. 近赤外分光法入門. p.40-49, p.130-147. 幸書房. 東京.
- Kawano, S. et al. 1992. Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode. J. Japan. Soc. Hort. Sci.,

61(2):445-451

- 小島孝之ら. 1994. 近赤外分光法による生育肥大及び成熟  
ナシ果実の糖度測定. 佐賀大学農学部彙報.77:1-10
- 尾崎幸洋ら. 1996. 近赤外分光法. p.16-21, p.157-172. 学会  
出版センター.東京.