

以近紅外線分光光度計偵測梨果採收前之糖度

李汪盛

摘要

利用化學分析方法分析梨果化學組成，可以用來評估梨果品質，但是費時且容易造成環境污染。本研究研發之近紅外線分光光度計包括光纖探針、分光光度計（範圍 400--2498 nm）及電腦等設備，可應用於快速偵測未成熟梨果糖度做為水果生產、管理及採收時間之參考。經由一階差分轉換處理後之光譜，再利用部分最小平方法分析，結果顯示，利用6個因子之部分最小平方法，所建立之梨果糖度校正線，交叉驗證之判定係數（ r^2_{cv} ）為 0.86，交叉證標均方根誤差（RMSECV）為 0.29 °Brix。

關鍵詞：近紅外線、水果、糖度。

前言

因應市場消費型態之轉變，「以量為主」的生產方式已轉變為以「品質為主」之生產導向。國內目前在高品質水果生產方面之研究成果相當豐碩，舉凡品種改良、栽培技術之改進等方面均有顯著成果。另外，有關水果採收後品質檢測方面，國內外有相關品質分析之研究報告，但大部分僅限於實驗階段之破壞性品質檢測，無法應用於快速、非破壞性線上檢測之需求。至於水果採收前糖度檢測之技術開發並配合調整生產管理方式，達到建立優良水果生產體系之目的，以確保生產水果品質之技術開發，相當重要，但目前國內在這方面的研究有待加強。

傳統上水果採收時間之選定，主要根據果農之經驗以目測方式決定，採收時期完全根據水果顏色、大小、重量、外觀有無瑕疵等外部品質，至於影響水果品質之內部品質如糖度及酸度等成分含量則未予考慮。利用人工檢視水果外部品質以決定採收時間，容易造成品質落差。因此，本計畫將利用近紅外線分光光度計以非破壞性方式偵測水果採收前糖度，可作為水果採收時間選定之參考，確保水果品質，提昇市場競爭力。

材料與方法

一、材料

2002 年 8 月新竹縣新埔鎮生產接近採收期（農民根據經驗判定）之寄接梨，數量為 130 個，品種

為新興梨 (*Pyrus serotina* Rehd. cv. 'Sinse')，去皮樣本品種與未去皮樣本相同，由原來 130 個樣本當中隨機選取 68 個樣本為校正樣本。

二、 分析方法

(一) 近紅外線光譜分析

1. 以白色陶瓷為白板，取得反射光譜之參考值。將光纖探針置於自製之光纖固定架上，以左手固定果體，右手調整光纖探針使光纖探針頂部輕觸果體表面，進行光譜掃描。
2. 以近紅外線分光光度計對不同生殖生長期之水果樣本進行照射，照射部位為水果樣本長軸1/2 高度位置。
3. 掃描波長範圍從 400--2498 nm，波長間隔為 2 nm。
4. 將上二步驟中照射近紅外線之位置點，去除果皮，以近紅外線分光光度計照射此點之去皮果肉。
5. 每照射五次樣本後重新取白板反射光譜之參考值，以減少基線飄移與溫度變化的誤差影響。

(二) 糖度測定：將經過近紅外線分光光度計掃描過之樣品，以電動榨汁機榨汁，以滴管取一滴果汁滴在手持屈折計上測定其糖度 (°Brix)。進行二重覆。若兩次之誤差值超過 5%，則再進行一次分析。分析值取較接近值的平均值為糖度含量。

(三) 建立嫁接梨採收前糖度非破壞檢測模式：將取得之完整果實和果肉之光譜與糖度分析所得到的值以部分最小平方法 (PLSR) 進行分析，建立帶皮果實及果肉之糖度與近紅外線光譜校正線。其方法敘述如下：

1. 將化學分析值 (參考值) 輸入電腦後，配合已獲得的各波長吸收量值，配合光譜差分等前處理方法建立校正線。
2. 校正線驗證方式採交叉驗證方式進行，將原校正樣本隨機分為 20 個組進行交叉驗證，校正線選取的標準以 r 愈接近 1、交叉驗證標準差 (SECV) 之值愈小為主。
3. 若有驗證樣本之分量測值落在校正範圍以外之值 (Outlier) 時，則將該樣本之量測值加入校正組，重覆以上步驟重新建立校正線。
4. 探討果皮對果肉糖度檢測之影響：比較整粒 (非破壞) 與去皮 (破壞) 方式進行近紅外光分析對模式精度之影響。

三、 試驗設備

本設備是由分光光度計、光纖固定架、控制軟體、控制電腦及不斷電系統等設備組合而成，分述如下：

- (一) 分光光度計：Foss NIRSystems 6500 (Silver Spring, MD, USA)，如圖 1，波長範圍 400--2498 nm。波長間距 2 nm。
- (二) 光纖固定架：本光纖固定架為自行設計製造，如圖 2 所示，光纖探針可上下自由移動於兩個塑膠固定座，塑膠固定座與水果間相對位置可依不同需求進行調整。

- (三) 控制軟體：美國 Foss NIRSystems 公司 Vision 軟體。
- (四) 統計分析軟體：Camo 公司 (Nedre Vollgate, OSLO, Norway) Unscrambler 7.6。
- (五) 控制電腦：PIII 等級個人電腦。
- (六) 不斷電系統：台灣科風公司智能在線互動式 2000 VA 不斷電系統。

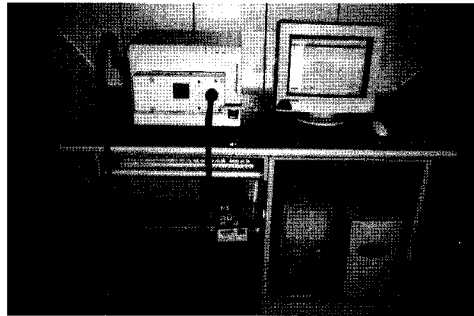


圖1. Foss NIRSystems 6500 分光光度計

Fig. 1. Foss NIRSystems 6500 spectrophotometer

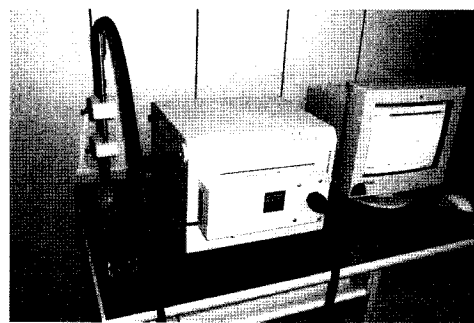


圖2. Foss NIRSystems 6500 分光光度計連接光纖固定架情形

Fig. 2. Foss NIRSystems 6500 spectrophotometer with fiber optic probe seat

四、 有關建立校正線之相關理論

有關建立校正線之基本相關理論如部分最小平方迴歸分析 (Partial Least-Squares Regression : PLSR)及 PLSR 模式選擇最佳因子的方法，請參考 Marten 及 Naes⁽⁸⁾研究，Haaland 及 Thomas⁽⁶⁾研究。

五、 有關性能評估的相關統計定義

下列有關性能評估的相關統計符號說明如下： Y 為校正組之實驗室化學成分分析值， \hat{Y} 為校正線預測值， \bar{Y} 為校正組之實驗室化學成分分析值之平均值， \bar{Y}_p 為校正線預測值之平均值， n_{cal} 為校正樣本數目， A 為 PLSR 校正線使用之因子數目。

(一) 校正標準偏差 (SEC) :

$$SEC = \left[\frac{\sum_{i=1}^{n_{cal}} (Y - \hat{Y})^2}{(n_{cal} - A - 1)} \right]^{1/2} \quad (1)$$

(二) 交叉證標準偏差 (SECV) :

$$SECV = \left[\frac{\sum_{i=1}^{n_{cal}} (Y - \hat{Y})^2}{(n_{cal} - A - 1)} \right]^{1/2} \quad (2)$$

(三) 交叉驗證相關係數 (r_{cv}) :

$$r = \left[\frac{\sum (\hat{Y} - \bar{Y}_p)^2}{\sum (Y - \bar{Y}_c)^2} \right]^{1/2} \quad (3)$$

(四) 交叉驗證判定係數為 r_{cv}^2

(五) 交叉驗證之均方根誤差 (Root mean square error of cross-calibration; RMSECV):

$$RMSECV = \left(\frac{\sum_{i=1}^{n_{cal}} (Y - \hat{Y})^2}{n_{cal}} \right)^{0.5} \quad (4)$$

(六) 界外值之剔除 :

$$(Y - \hat{Y}) > \left(3 \times RMSEC \times \sqrt{\frac{n_{cal} - 1 - A}{n_{cal}}} \right) \quad (5)$$

六、 符號說明

$D_w(\text{left}, \text{right}, \text{polynomial})$: D 表示差分法, w 表示差分法之階次, 小括號內之 left 代表欲進行差分處理之點左邊使用之點數, right 代表欲進行差分處理之點右邊使用之點數, polynomial 代表使用之迴歸曲線次數, 迴歸區間內參與迴歸之點數為 (left + right + 1) 點, 如 $D_1(2, 2, 2)$ 表示為 5 點 Savitsky-Golay 一階差分, 使用之迴歸多項式為 2 次曲線。

結果與討論

一、 梨果之糖度分佈

梨果糖度校正樣本化學分析相關統計資料，如表 1。未去皮整粒樣本糖度分佈範圍在 6.3--13.05 °Brix 之間，平均值為 11.24 °Brix，標準偏差為 1.056 °Brix，樣本數為 130 個。去皮整粒樣本糖度分佈範圍在 6.3--13.00 °Brix 之間，平均值為 11.17 °Brix，標準偏差為 1.214 °Brix，樣本數為 68 個。

表 1. 梨果之糖度含量

Table 1. Sugar content of pear fruits.

	糖度值 (°Brix)	
	Sugar content	
	Intact	Peeled
最小值 Minimum	6.30	6.30
最大值 Maximum	13.05	13.00
平均值 Mean	11.24	11.17
標準差 Standard deviation	1.056	1.214
樣本數 Size	130	68

二、 梨果採收前糖度校正線之建立

將近紅外線分光光度計所取得之光譜資料與化學分析資料，以部分最小平方迴歸法 (PLSR) 建立糖度校正線。同時為了節省化學分析所需時間與經費及增加校正樣本數目，驗證部分捨棄一般認為較佳之不同樣本之驗證方式而採用原校正樣本進行驗證，驗證方法為交叉驗證，將所有校正樣本以隨機方式分為 20 個群組，然後進行驗證，不去皮校正樣本平均光譜、最大光譜及最小光譜，如圖 3 所示。

因為限於光纖使用上之限制，2100 nm 以上波長之光譜雜訊相當大，應捨棄大於 2100 nm 之波長以減少雜訊之影響，如圖 3。圖 4 為原始光譜所有校正樣本各個波長吸收值之標準差曲線圖，標準差大者表示存在較大之光譜變異，這些波段可嘗試用於校正線建立。原始光譜資料利用一階差分或二階差分可以有效克服儀器因為光程差異及表面粗糙度不同引起之基線偏移現象。圖 5 為校正樣本一階差分 $D_1(2,2,2)$ 吸收光譜各個波長吸收值之標準差曲線圖，由圖中觀察得知，波長範圍 1250--1650 nm 及 1800--1900 nm 標準差較大，表示此波段包含較大光譜吸收值變化。梨果糖度去皮及未去皮校正線不同分析方法性能之相關統計資料，列於表 2。利用一階差分 $D_1(2, 2, 2)$ 或二階差分 $D_2(3, 3, 2)$ 處理所建立之糖度校正線之校正相關係數 (r_{cal}) 及判定係數 (r^2_{cal}) 分別為 0.95、0.90 及 0.94、0.87，交叉驗證判定係數及均方根誤差分別 (RMSECV) 分別為 0.86、0.29 °Brix 及 0.80、0.34 °Brix。

果皮對糖度校正線性能之影響由圖 6 中觀察得知，去皮水果由於果肉之表面反射較果皮小，所以

去皮梨果之近紅外光吸收光譜較未去皮梨果之近紅外光吸收光譜有較大之吸收值，但同樣的雜訊部分（波長 > 2100 nm 波段）亦有放大現象，故分析時此波段光譜必須捨棄。去皮及未去皮近紅外線分光光度計之梨果校正線性能比較，如表二所示。去皮樣本由於表皮之去除減少可見光部分顏色影響，為探討 400--1100 nm 波段對性能影響，因此針對 400--2100 nm 波段與 1100--2100 nm 波段分別進行分析，分析結果顯示，12 個因子數之 1100--2100 nm 及 400--2100 nm 波段之原始光譜 PLSR 模式校正線校正相關係數 (r_{cal}) 及判定係數 (r_{val}^2) 分別為 1.0、0.99 及 1.0、1.0，交叉驗證判定係數及均方根誤差分別 (RMSECV) 分別為 0.81、0.38 °Brix 及 0.85、0.39 °Brix。與未去皮近紅外線校正線性能比較，發現去皮對可近紅外線校正線性能之提昇沒有助益，推究其原因可能是梨果進行光譜分析時去皮厚度不一造成，去皮梨果果皮厚度平均值為 0.15 cm，最小值為 0.04 cm，最大值為 0.34 cm，標準差為 0.054 cm。

本研究結果與其他文獻糖度校正線性能之比較，如表 3。Irawan 等⁽⁷⁾ 富士蘋果糖度校正線， r_{val}^2 為 0.74、SEP 為 1.64 °Brix。邱等⁽¹⁾ 芒果汁糖度校正線， r_{val}^2 為 0.99、SEP 為 0.32 °Brix，惟屬破壞性。陳等⁽⁴⁾ 整粒樣本芒果糖度校正線， r_{val}^2 為 0.82、SEP 為 0.65 °Brix。Tanabe⁽⁹⁾ 等芒果汁糖度校正線， r_{val}^2 為 0.88、SEP 為 1.16 °Brix，鳳梨汁糖度校正線， r_{val}^2 為 0.88，SEP 為 1.02 °Brix。陳等⁽⁵⁾ 整粒樣本梨糖度校正線， r_{val}^2 為 0.85、SEP 為 0.49 °Brix。區等⁽²⁾ 整粒樣本椪柑糖度校正線， r_{val}^2 為 0.74，SEP 為 0.45 °Brix。陳等⁽³⁾ 蓮霧整粒樣本糖度校正線， r_{val}^2 為 0.92、SEP 為 0.48 °Brix。上述相關研究有關破壞性糖度檢測（果汁）判定係數約為 0.88--0.99，非破壞性糖度檢測模式判定係數約為 0.74--0.92，本研究針對寄接梨以非破壞性方式，利用 PLSR 模式建立之糖度校正線， r_{cv}^2 為 0.86，SECVCV 為 0.29 °Brix，本研究結果與其他文獻相較並不遜於其他文獻之研究結果。

表2. 近紅外線分光光度計之梨果採收前糖度PLSR校正線之性能檢定

Table 2. PLSR model performances for sugar content in immature pear fruits by a near-infrared spectrophotometer.

樣本型態 Status	處理方法 Treatment	波長範圍 Wavelength range (nm)	樣本數 ^z Size	因子數 PCs	r_{cal}	r_{cal}^2	r_{cv}	r_{cv}^2	RMSECV
整粒 Intact	D ₁ (2,2,2)	400-2100	128	6	0.9350	0.8742	0.9134	0.8343	0.3212
		400-2100	120	6	0.9475	0.8978	0.9285	0.8621	0.2900
	D ₂ (3,3,2)	400-2100	127	5	0.9249	0.8554	0.8734	0.7628	0.3826
		400-2100	121	5	0.9348	0.8739	0.8925	0.7966	0.3542
		400-2100	117	5	0.9394	0.8740	0.8989	0.8080	0.3415
去皮 Peeled	0	1100-2100	68	10	0.9808	0.9619	0.8435	0.7714	0.4818
		1100-2100	62	12	0.9956	0.9912	0.8972	0.8049	0.3806
		400-2100	68	12	0.9945	0.9890	0.8927	0.7969	0.4276
		400-2100	64	13	0.9967	0.9934	0.8971	0.8047	0.4142
		400-2100	59	13	0.9981	0.9962	0.9194	0.8452	0.3847

^zThe outliers had been deleted by equation five.

表 3. 本研究與其他文獻偵測水果糖度校正線性能之比較

Table 3. Comparison of different calibration performance for sugar content of fruits with those of other's calibration results.

水果 Fruits	成分 Attribute	狀態 Status	r^2_{val}	r^2_{cv}	SEP	RMSECV	作者 Authors
蘋果 Apple	糖度 Sugar	整粒 Intact	0.74		1.64		Irawan etc. ⁽⁷⁾
梨 Pear	糖度 Sugar	整粒 Intact	-	0.86	-	0.29	This study
芒果 Mango	糖度 Sugar	果汁 Juice	0.99		0.32		Chou etc. ⁽¹⁾
芒果 Mango	糖度 Sugar	整粒 Intact	0.82		0.65		Chen etc. ⁽⁴⁾
芒果 Mango	糖度 Sugar	果汁 Juice	0.88		1.16		Tanabe etc. ⁽⁹⁾
鳳梨 Pineapple	糖度 Sugar	果汁 Juice	0.88		1.02		Tanabe etc. ⁽⁹⁾
梨 Pear	糖度 Sugar	整粒 Intact	0.85		0.49		Chen etc. ⁽⁵⁾
碰柑 Ponkang	糖度 Sugar	整粒 Intact	0.74		0.45		Ou etc. ⁽²⁾
蓮霧 Wax apple	糖度 Sugar	整粒 Intact	0.92		0.48		Chen etc. ⁽³⁾

SEP: Standard error of prediction. r^2_{val} : Determination of validation. r^2_{cv} : Determination of cross validation. RMSECV: Root mean square error of cross-calibration.

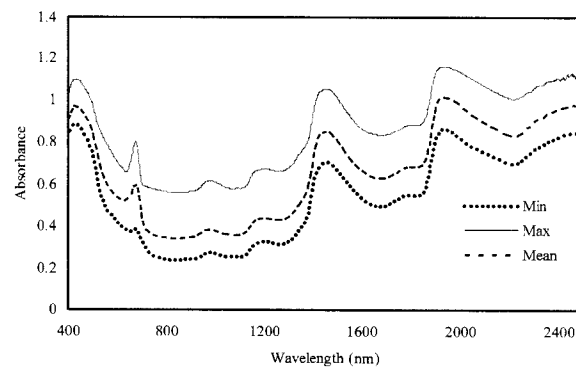


圖 3. 校正樣本平均光譜、最大光譜及最小光譜

Fig. 3. The average, maximum, and minimum spectrum of calibration

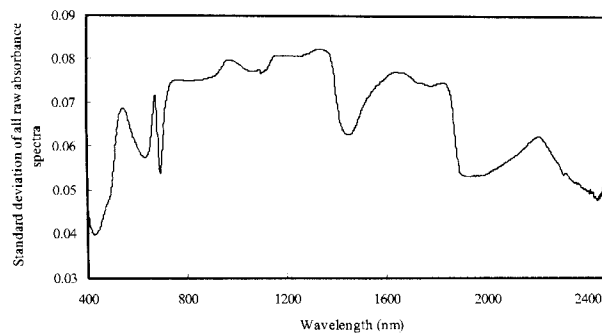


圖 4. 梨果校正樣本之近紅外線原始吸收光譜吸收值之標準差圖

Fig. 4. Standard deviation of absorbance of original spectra of pear fruits.

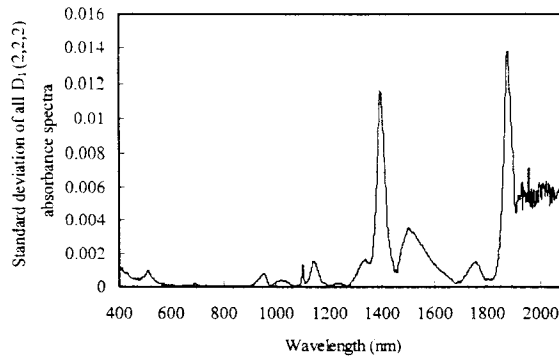


圖 5. 梨果校正樣本之近紅外線一階差分 $D_1(2,2,2)$ 吸收光譜標準插圖

Fig. 5. Standard deviation of first derivative $D_1(2,2,2)$ absorbance spectra of pear fruits.

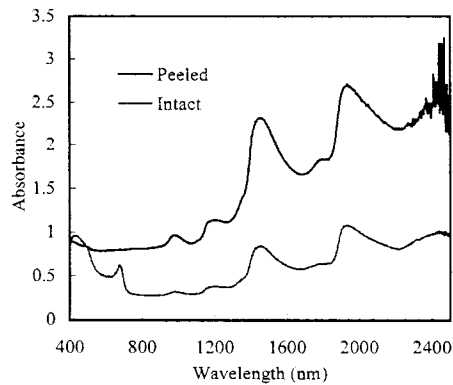


圖 6. 梨果去皮及未去皮整粒樣本之原始吸收光譜圖，糖度 11.8°Brix 。

Fig. 6. Original absorbance spectra of peeled and unpeeled fruit sample with sugar content 11.8°Brix .

結 論

利用近紅外線分光光度計偵測 2002 年新埔地區所產之未成熟新興梨，並利用化學方法分析樣本的糖度，並進行 PLSR 模式分析，實驗結果顯示，經由一階差分轉換處理後之光譜，再利用部分最小平方方法分析，結果顯示，利用 6 個因子之部分最小平方方法所建立之梨果糖度校正線，交叉驗證之判定係數 (r_{cv}^2) 為 0.86，交叉證標均方根誤差 (RMSECV) 為 0.29°Brix 。

誌 謝

本研究進行期間承蒙新埔鎮劉漢榮先生提供試驗材料，林金隆先生、陳國元先生及黃芬芳小姐協助進行化學分析試驗，謹此致謝。

參考文獻

1. 邱鶴園、陳世銘、林宗賢。1999。近紅外光應用於芒果內部品質分析之研究。國立嘉義技術學院。八十八年農業機械論文發表會論文摘要集。pp. 71--72。
2. 區少梅、林聖敦、林添立、吳松杰、田美純。1997。近紅外線光譜技術分析椪柑品質相關成分之研究。中國農業化學會誌。35 (4): 462--474。
3. 陳文誠、謝俊夫、謝欽城。以近紅外線光譜分析蓮霧之糖度。國立嘉義技術學院。八十八年農業機械論文發表會論文摘要集。pp. 105--106。
4. 陳加增、陳世銘、黃峻吉、楊宜璋。2000。近紅外光應用於芒果內部品質分析之研究。國立屏東科技大學。八十九年農業機械論文發表會論文摘要集。pp. 111--112。
5. 陳致平，蕭介宗。1999。以手提式近紅外線分光光度計偵測梨的糖度及酸度。農業機械學刊。89 (1): 49--57。
6. Haaland, D. M., and E. V. Thomas. 1988. Partial least-squares methods for spectral analyses. Anal. Chem. 60: 1193--1202.
7. Irawan, R. S., Y. Ikeda, and T. Nishizu. 1995. Determination of individual sugars and acid content in apple by NIRS. In: Proceedings of ARBIP95, Kobe, Japan. pp. 103--108.
8. Marten, H., and T. Naes. 1989. Methods for calibration. In: Multivariate calibration. John Wiley & Sons, New York.
9. Tanabe, T., Y. Kohda, and T. Akinaga. 1995. Fundamental studies on NIR technique for measurement of internal quality of pineapple and mangoes grown on Okinawa. In: Proceedings of ARBIP95. Kobe, Japan. pp. 109--115.

Determining the Sugar Content of Immature Pear Fruits by Near-infrared Spectrophotometer

Wang-Sheng Li

Summary

Measurement of the chemical compositions for pear fruits by wet chemical methods can be used for evaluating the pear quality, but they are time-consuming, and polluting. A near-infrared reflectance spectrophotometer system, including an optical fiber probe, a spectrophotometer ranging from 400 nm to 2498 nm, and a computer were developed to calibrate sugar content in immature pear fruits, which can be employed to fruit's production, management and timing of harvest. The PLSR model based on the six principal components accounted for 86% of variation in sugar content data with first derivative pretreatment and root mean square error of cross-calibration (RMSECV) was 0.29 °Brix.

Key words: Near-infrared, fruit, sugar content.