

マイクロスライサ画像処理システムによるブロッコリー
(*Brassica oleracea* L. var. *italica* PLEN.)の表面積および体積の計測*

都 甲 洙・相良 泰行・工藤 謙一
横田 秀夫・樋口 俊郎

Surface Area and Volume Measurements of a Broccoli (*Brassica oleracea* L.
var. *italica* PLEN.) with a Microslicer-Image Data Processing System

Gab-Soo DO · Yasuyuki SAGARA · Ken-ichi KUDOH ·
Hideo YOKOTA · Toshiro HIGUCHI

農業施設 第28巻第1号(通巻73号)別刷

1997年6月

Reprinted from

The Journal of the Society of Agricultural Structures, Japan

Vol. 28, No. 1 (Ser. No. 73) June, 1997

論 文

マイクロスライサ画像処理システムによるブロッコリー
(*Brassica oleracea* L. var. *italica* PLEN.)の表面積および体積の計測*

都 甲 洙**・相良泰行***・工藤謙一****
横田秀夫****・樋口俊郎*****

- * 平成8年度農業施設学会大会にて発表
- ** 日本大学生物資源科学部農業施設学研究室, 〒252 神奈川県
- *** 東京大学農学生命科学研究科農学国際専攻, 〒113 東京都
- **** 助神奈川科学技術アカデミー, 〒213 神奈川県
- ***** 東京大学工学系研究科精密機械工学専攻, 〒113 東京都

要 旨

複雑な形態を有する農産物の外観、内部構造および色彩分布等を観察し、その形態に関する定量的情報を得るための計測装置として、「マイクロスライサ画像処理システム」を開発した。ブロッコリーを測定対象として本システムの有効性を検討した結果、本システムは対象とする試料を連続的に切削して露出した断面の画像から3次元画像を再構築し、外観や任意切断面の内部構造・色分布を任意方向から観察できる機能を有することが確認された。

また、ブロッコリー個体から分割した試料を厚さ30 μ mでスライスして得られた断面画像の周囲長や面積等の定量的2次元情報に基づき、個体質量から表面積、比表面積および体積を推算する方法を提唱した。これらの結果、本システムは従来不可能であった複雑な形態を有する農産物の形態を定量的に計測する新しいシステムとして有用であることが検証された。

キーワード：マイクロスライサ、画像処理、ブロッコリー、表面積、体積

1. 緒 言

農産物の処理・加工に関する機械設備、あるいは施設の設計や操作に当たっては、対象とする農産物の生物学的特性と共に理工学的諸特性を把握しておく必要がある。しかし、生物体である農産物は一般の工業材料とは異なり均質等方性材料としての取り扱いが困難である。また、その理工学的特性も、種類、品種、熟度、生育環境等の他、多くの要因によって影響を受けることが知られている。このため、これまでに報告された農産物の理工学的特性に関するデータは数少なく、また、公表された測定値間のばらつきも大きい。信頼性や再現性に疑問が残されている現状にある。これらの現状を打破す

るためには、新しい計測装置や方法の開発と共に、これらの計測法や理工学的諸特性に関する用語等の定義についても標準化を促進する必要があると考えられる。

農産物の表面積はその必要度と測定法から葉片、果実及び根部に分けて測定されている。葉片の測定にはその投影面積をセクションペーパー、プランメータ、写真撮影、葉面積計及び画像処理装置等を用いて測定する方法が用いられ、果実・根部の表面積測定には、表皮を剥いて、その剥皮表面積を上記の方法を用いて測定する方法(石橋, 1968)が採られている。体積測定には各種の液体及び気体置法(Mohsenin, 1970)が用いられている他、近年、西津らは(1995)ヘルムホルツ共鳴器を用いる方法を提唱している。表面積と体積に共通した測定法

として、農産物がある特定の幾何学的形状を有するものと仮定し、互いに直角な三軸方向の直径と投影面積から、それぞれ表面積と体積を推算する方法が提唱されている (Houston, 1957)。また、これらの測定法の内、ヘルムホルツ共鳴器による方法を除いては、測定誤差の定量化が十分なされていないため、測定法上の検討課題として残されている。

本研究の目的は複雑な形態を有する農産物の外観、内部構造、色彩分布等を観察すると共に、その形態を定量的に計測をするための「マイクロスライサ画像処理システム」を開発し、プロッコリーを測定対象として本システムの有効性を確認すると共に、プロッコリー個体から分割した試料を連続的に切削して得られる断面画像の周囲長や面積等の情報に基づき、個体表面積と体積を推算する方法を提唱する事にある。測定対象にプロッコリーを選んだ主な理由は1) 形態が複雑で現在までその表面積や体積の測定データが報告されていないこと、2) これらのデータはプロッコリーの予冷機構の解明に有用であること等である。特に後者の目的のためには空気や水を冷却媒体とする場合の伝熱表面積が、また、真空冷却では水分の有効蒸発表面積が必要である。さらに、真空冷却速度は青果物の比表面積や水分蒸発速度に依存すると考えられているが、本研究で得られるデータはプロッコリーの冷却機構が他の青果物と比較してどちらの要因に依存する度合いが大きいかを定量的に検討するのにも有用であると考えられる。

II. 実験装置

1. マイクロスライサ画像処理システム

本研究用に試作したマイクロスライサ画像処理システムのブロック図を図1に、また、各ブロックの構成機器とその主要な諸元を表1に示す。本システムは対象とす

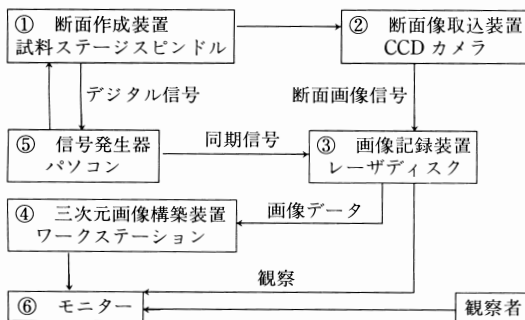


図1 マイクロスライサ画像解析システムブロック図

表1 立体画像構築・画像処理装置性能表

品名	グラフィックワークステーション
メーカー名	クボタコンピュータ株式会社
形式	TITAN2-900/ZLX
性能及び特徴 (CPU)	Alpha AXPTM 275MHz
整数演算能力	SPECint 92: 189.3
浮動小数点能力 (メモリ)	SPECfp 92: 264.1
搭載メモリ	640MB
キャッシュ (外部記憶装置)	2 MB
HD	8 GB
MO	1.3GB
(グラフィック処理装置)	ZLX
(画像入出装置)	J300
解像度	640×480フルカラー、ビデオレート
画像処理ソフトウェア	AVS(Application Visualization System)使用
画像処理使用可能色	フルカラー
色抽出法	HSV 表色法
立体画像構築法	ポリウムレンダリング法
構築可能なデータ量	320×240×300 (ボックス)

る試料を連続的に切削、すなわちマルチスライシングして、その断面を露出させるマイクロスライサ部を含む①断面画像作成装置、露出した二次元断面画像を CCD カラーカメラで取り込む②断面画像取込装置、取り込んだ原画像をレーザーディスクに収録する③画像記録装置、記録した原画像の情報に基づき周籐 (1992) が詳説しているポリウム・レンダリング法により三次元画像を再構築したり、実際には切断していない任意の試料断面画像を再構成して表示するなど、画像情報処理を行うワークステーションとしての機能を有する④三次元画像構築装置、マイクロコンピュータにより上記装置①のスライスと③の記録タイミングを同期させるための信号を発生する⑤信号発生器及び②で撮像中の画像や③に収録された原画像、さらに④で得られた再構築画像を観察者に表示するための⑥モニターで構成される。

2. スライサ部の構成と機能

本システムの特徴は図2に示したマイクロスライサ部における切削・撮像方式にある。すなわち、通常の顕微鏡観察等で行われるように試料から切り取った観察用切片の画像を取り込む方法を採らず、包埋剤で冷却固定化した試料をマイクロスライサによりマルチスライシングして得られる試料自体の露出断面画像を順次撮像する方式を採用した点にある。この方式の採用により試料の変形を少なくし、また、固定試料の作成にも熟練を要しない等の利点を得られた。

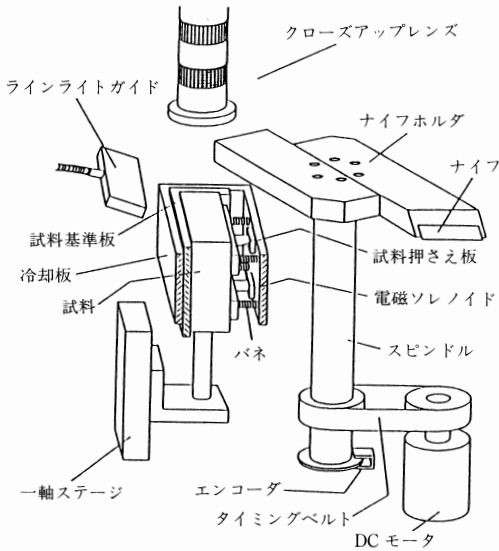


図2 マイクロスライサ部の構成

断面像は試料の大きさにより CCD カメラ (SONY: DXC-930) とこれに接続したレンズ (Canon: マクロレンズ PH×10BM, またはクローズアップレンズ CLUP67-240) を組み合わせて撮像した。試料はステップモータで駆動する一軸ステージで間欠的に押し上げ、その上端をマイクローム用ナイフ (80×8×0.254 mm) で連続的に切削した。切削用ナイフは回転数90 rpm で回転するスピンドル上端部に装着したナイフホルダの先端部分に取り付けられ、また、スピンドルは DC モータとタイミングベルトにより駆動する機構となっている。この機構による試料の最小切削厚さは、押し上げストローク100 mm に対し10 μm である。しかし、マイクロスライサに供する固定試料のサイズには(1)連続で高速度の切削を可能にし、(2)試料サイズや強度の増大による切削抵抗の増加によって、試料押さえ板上に試料が上方にスライドし、切削が不均一になる現象を防止するための制限があり、また、対象試料毎にこれらの条件を満足する切削厚さを設定する必要がある。予備実験の結果、ブロッコリーの切削断面像を恒常的かつ確実に露出させ得る最適切削厚さは30 μm であることが分った。試料の押し上げと断面画像の記録のタイミングは回転刃の主軸に取り付けたエンコーダからのトリガ信号により制御した。撮像断面画像は追記型レーザービデオディスクレコーダ (SONY: LVR-300AN) にアナログデータとして一時記録した。また、切削中の試料の融解を防止するために、試料を保持する冷却基準板の外側に冷却板を密着さ

せ、これの内部とマイクロスライサ部の外周部に設けたジャケットにブラインを循環させることにより装着した試料の温度を-25℃に維持した。

3. 画像処理法とシステムの測定精度

一時記録したアナログ画像データはビデオ入力ボードを介してワークステーションに送ってデジタルデータに変換後、光磁気ディスクに記録し、これを画像処理に供した。図3に画像処理により円錐試料の表面積と体積を求める手順を概念図として示した。この図に示すように、両者は切削厚さにそれぞれ断面画像の周囲長と面積を乗じることにより求められる。測定精度は1) 試料の切削厚さ、2) 切削した円錐台試片を円盤とみなして計算することによる誤差、3) ワークステーションで取り扱うデジタル画像データのピクセル長 (25.8または54 μm)、4) 撮像の2値化操作に必要な RGB スケールの閾値の設定変化に伴うピクセル・カウント数の変動等に依存するものと考えられる。ブロッコリーの表面積や体積の測定法は存在せず、本システムによるブロッコリーの測定精度を検証する事は困難であった。そこで、本システム自体の表面積・体積の大まかな測定精度を把握する事を目的とし、図に示すような色鉛筆芯用材料 (通称: クーピー色鉛筆) を旋盤で精密加工した円錐形テストピースを次項で述べるブロッコリーと同一条件、すなわち厚さ30 μm で切削し、表面積と体積を求めた。その結果、ピクセル長54 μm で画像処理した表面積には約

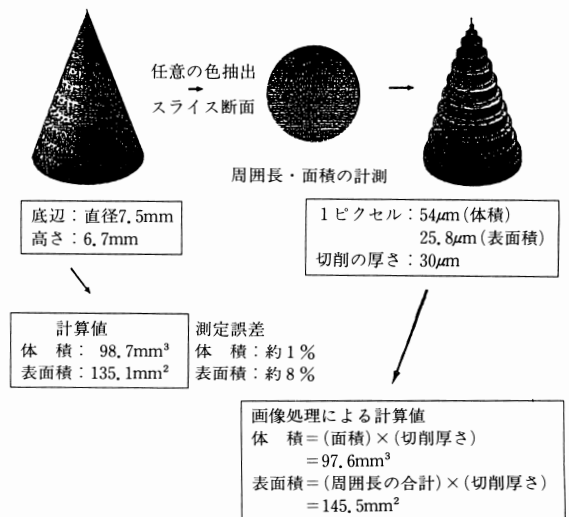


図3 計測法の手順と体積・表面積測定誤差の検証

10%、体積には約1%の誤差が含まれることが分った。さらに、表面積の測定精度を向上させるために、ピクセル長25.8 μm で処理した結果、測定誤差は約8%に減少することが分った。先に述べたように、当システムのブロッコリーに対する表面積および体積測定の精度を定量的に検証する方法は確立されていないが、ここに示した円錐に対する測定結果が本システム自体の測定精度の目安になるものと考えられた。

III. 実験材料及び方法

1. 試料の分割および選択法

スライサ部にセットする試料のサイズは、アルミ板を組み合わせてねじ止め固定される矩形型試料固定用容器の内寸法 (59×46×100 mm) に制限される。大部分のブロッコリーはこの内寸法より大きいので、1個体をあらかじめ分割して測定に供した。図4に試料の準備から面積・体積推算に至る計測手順をフローチャートにして示した。

まず、市販されているブロッコリー15個を任意に選んで、それぞれの固体質量を測定後、図5の切断面(A)(B)に示すように、側生花序の最初の葉が出ている箇所まで順次切断した。その結果、最初の分割によって得られる茎

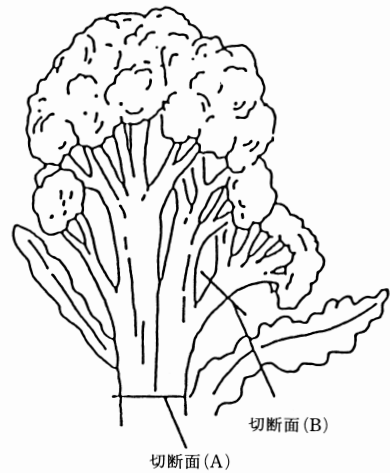


図5 試料の分割法

部分を除くと、1個体につき23~28個の分割試片が得られた。固体質量(142.0~282.0g)と分割試片質量(30.4~0.30g)に関する分散分析を行い、これらの質量の平均値及び正規分布に最も近い標準的な固体を選んで、その分割試片を測定用試料(写真1参照)として供した。

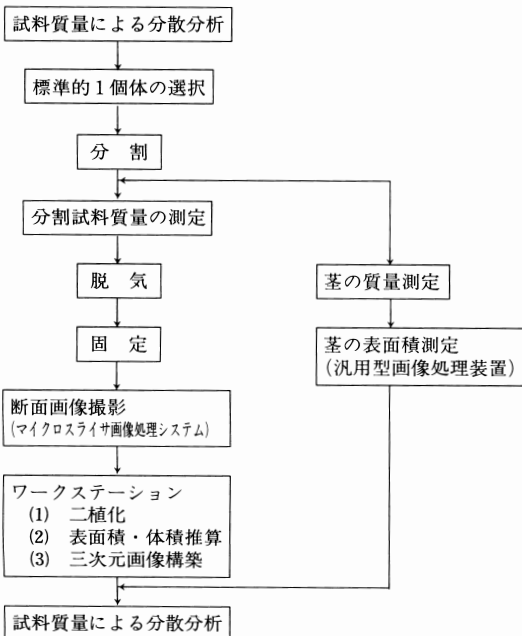


図4 表面積・体積推算に至る手順の流れ図

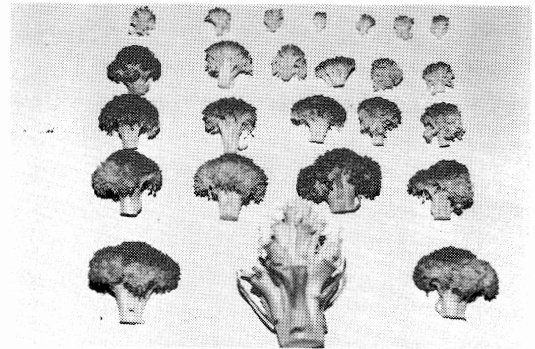


写真1 分割した表面積・体積測定用試料

この試料の固体と茎の質量はそれぞれ234.6gおよび81.1g、また、分割試片の数と質量の範囲は26個および24.3~0.46gであった。また、本実験に供したブロッコリーの含水率は個体質量に関係なく90.3%w.b.、とほぼ一定の値を示した。

2. 試料の包埋・固定法

図6に試料容器内に固定された試料の固定状態を示す。

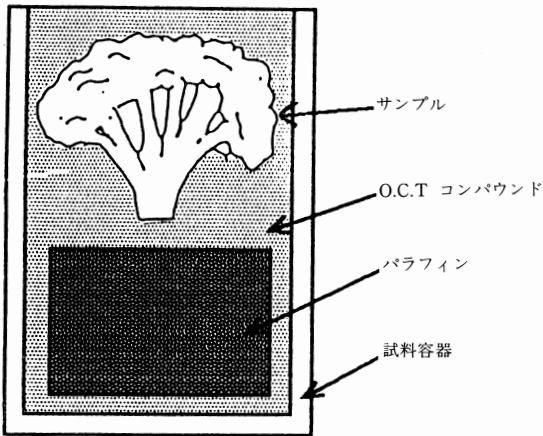


図6 試料容器と試料の固定状態

試料容器の中心部に試料を固定し、また、高価な包埋剤 (Miles 社製 OCT コンパウンド) の使用量を節約するために、まず、パラフィン台を試料容器底部に投入し、その上部に包埋剤を流し込みながら試料を取納した。次に、約0.67kPaに減圧したデシケータ内で包埋剤に含まれる空気を脱気した後、試料容器を-30℃に保たれた冷凍庫内に移し、約2時間かけて凍結固定した。その後、試料容器を解体して得られる固定試料をマイクロスライサ部にセットし、切削を開始した。また、茎の表面積はその表皮を約1mm厚さに剝離し、その表皮の投影面積を別途汎用型画像処理装置 (ピアス社製 LA-525) を用いて測定した。

IV. 結果及び考察

1. スライス画像と3次元画像

図7に示すように試料上部(A)、中心部(B)および下部(C)のそれぞれの切削断面で撮像したアナログ画像とこ



図7 分割試料の切削断面画像例表示部

れをワークステーションで2値化して得られた典型的デジタル画像の例を写真2に示す。また、これらのデジタル画像を用い、ワークステーション上でボリュームレンダリング法により再構築したブロッコリーの3次元画像とこれを任意の切断面で切断した画像の例をそれぞれ写真3と4に示す。

これらの写真より本システムは複雑な形状を有するブロッコリー等の生物材料の3次元内部構造と色彩の観察に有効であることが確認された。

2. 表面積と体積の推算法

ブロッコリー個体の表面積と体積を求めるためには、本装置で測定した分割試片の質量と表面積・体積の関係から個体の表面積と体積を推算する方法を考案する必要がある。以下に表面積測定を例に採り、その方法について述べる。

図8にブロッコリーの分割試料質量に対する表面積の測定データをプロットし、また、両者の多項式回帰曲線を求めて示した。なお、これらのプロットの中には試料として選択した固体の分割試料26個のデータに、別途準備した1個体から分割・選択した質量範囲8~20gの試料4個の測定データを追加して含めた。この測定値の追加は、質量と面積の関係を定量化するためには、上記質量範囲の分割試料の測定点数が少ないと判断して行ったが、これら4つの追加測定データも図中に示した回帰曲線の決定係数($R^2=0.949$)にはほとんど影響を及ぼさな

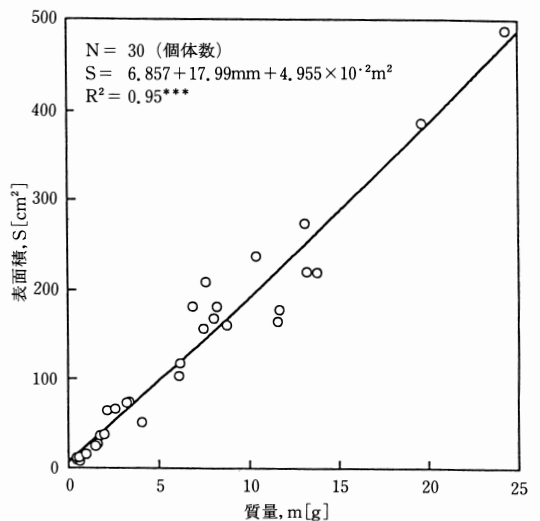
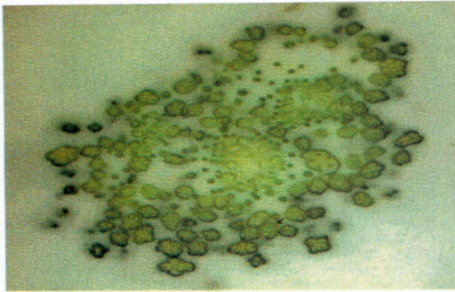
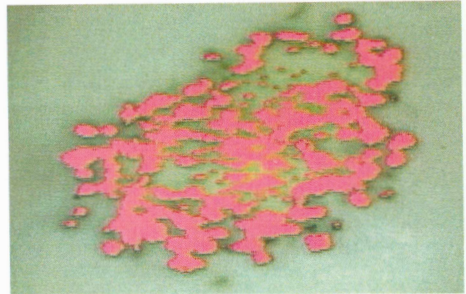


図8 分割試料の質量と表面積の関係

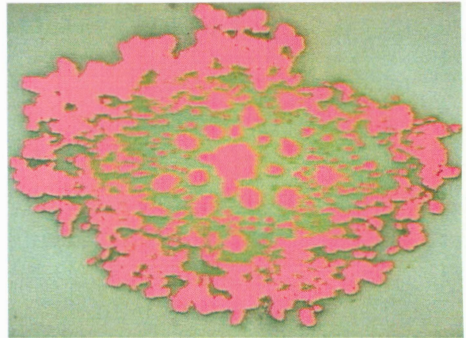
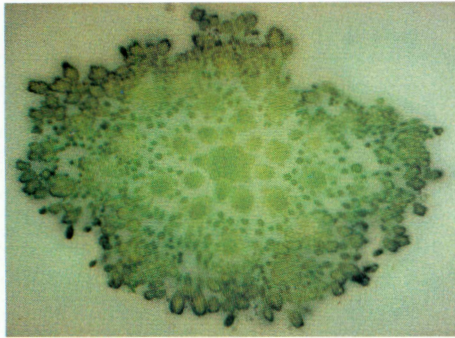
アナログ画像



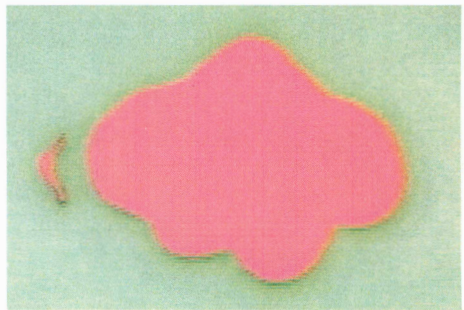
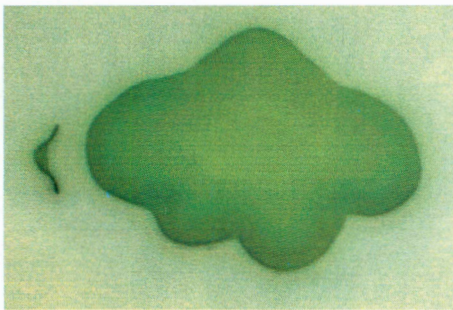
二植化画像



(a) 上部 (図7のA断面に相当)



(b) 中心部 (図7のB断面に相当)



(c) 下部 (図7のC断面に相当)

写真2 切断面のアナログ画像と二植化画像

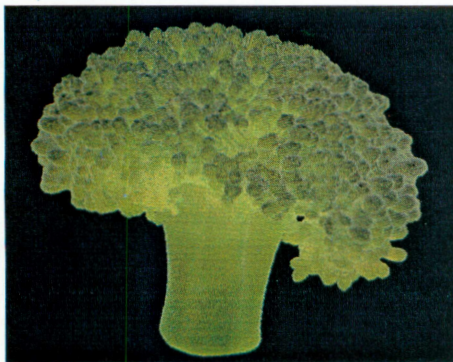


写真3 分割試料の3次元構築画像



写真4 任意の断面で切断した画像

いことが確認された。この決定係数にも示されるように、分割試料の表面積はその質量から図中の2次回帰曲線を利用して精度良く求められることが分かった。

以上の測定結果を踏まえ、次に、分散分析に用いた14個体について、それぞれの分割試料の質量から図中の式を用いて分割試料の表面積を求め、これらを積算して個体毎の質量と表面積を求めた。なお、表面積の積算に当たっては、汎用型画像処理装置で別途測定した各個体の茎部分の投影表面積を含めた。この投影表面積は図9に示す茎の質量と表面積の関係を示す回帰曲線を利用して求めた。

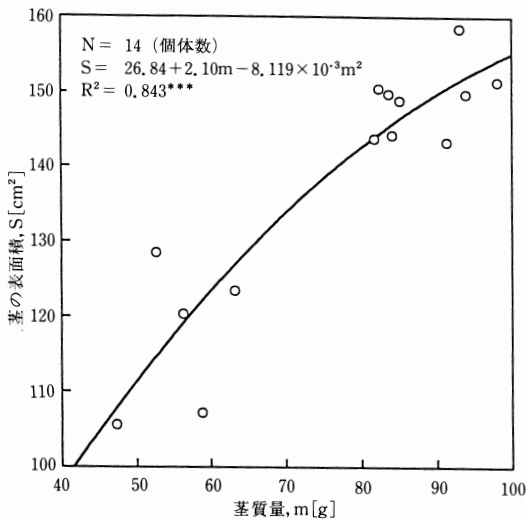


図9 茎部分の質量と表面積の関係

3. 個体質量と表面積・比表面積の関係

上述した方法によって得られたブロッコリー個体毎の総面積のデータをその質量に対してプロットして図10に示した。図中の回帰曲線に示されるように、両者には2次曲線で表される関係が存在するが、実用的な必要性から表面積を予測する場合、回帰式の2次項の影響は無視できるほど小さく、両者はほぼ直線関係にあることが分かった。同様にして個体質量と比表面積の関係を図11に示した。任意に選んだブロッコリーの形態が全て相似形であれば、その比表面積は個体の質量に依らず一定の値を採るものと考えられるが、実際には図中の回帰直線に示されるように、個体質量の増加に伴って比表面積は若干減少する傾向を示した。

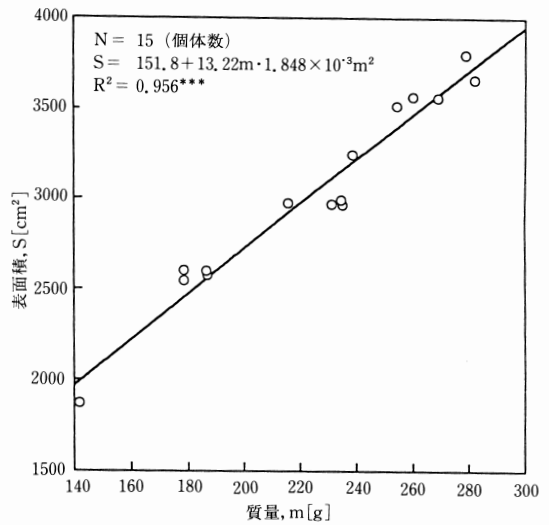


図10 個体質量と表面積の関係

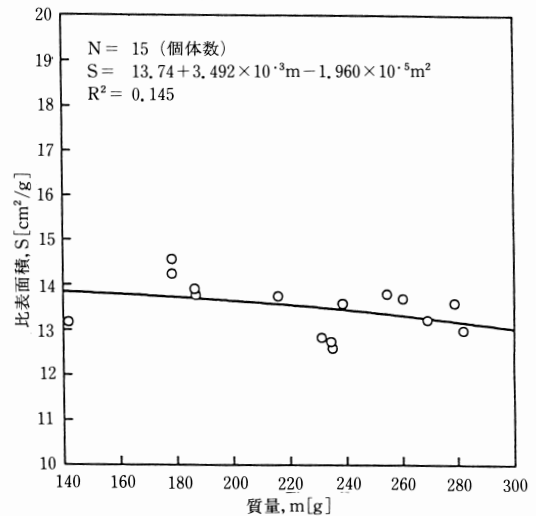


図11 個体質量と比表面積の関係

4. 個体の質量と体積の関係

図12にブロッコリーの分割試料質量に対する体積のデータをプロットして示した。また、前に述べた個体表面積の推算法と同様の方法を用いて求めた個体質量と体積の関係を図13に示した。ただし、図13にプロットした個体試料の質量と体積の値中には茎部分のデータを含めていない。その理由は茎部分の体積を水中での試料の水排除体積や浮力の測定により求めることを試み、質量と体

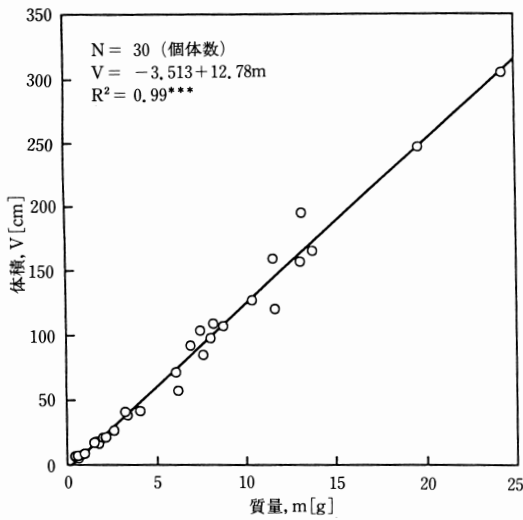


図12 分割試料の質量と体積の関係

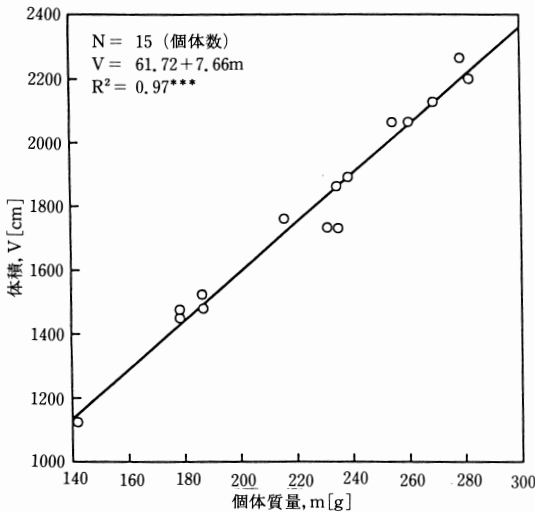


図13 個体質量と体積の関係

積の間にはほぼ線形関係があることが分かったが、測定データの変動が大きく、汎用型画像処理装置による表面積測定の精度に匹敵するデータが得られなかったためである。このために、これらのデータを含めると個体の体積推算誤差が大きくなり、本システムで得られた測定精度を低下させると考えられたためである。したがって、図13に示した試料の体積には茎側から見て最初の側葉直下で切断した茎部分の体積が含まれていないことに留意する必要がある。

これらの図中の回帰直線に示されるように、分割試料と個体試料の体積はそれぞれの質量と線形関係にあることが示された。また、個体試料に関する回帰直線の決定係数に示されるように、個体の体積はその質量から精度良く推算できることが分かった。

5. 結果の適用範囲

前項に示した図10, 11及び図13に示した回帰曲線式を利用することにより、市販されているブロッコリーの質量範囲において、その表面積、比表面積及び体積を求めることが可能となった。前に示したように、本研究に供したブロッコリーの含水率は個体の質量に関係なく約90.3%w.b.と高含水率であることから、個体質量は含水率に依存する度合いが大きいこと、また、個体質量とその体積の間には線形関係があることが分かった。このため、例えば、真空冷却により水分が3~5%蒸発して質量変化が生じた個体の表面積と体積は、収縮などの変形が無いものと仮定すれば、図10と13に示した回帰式により水分蒸発量にほぼ比例して、それぞれ最大約5%小さい値を採ることになる。このため、真空冷却後の試料に本研究の結果を適用する場合には、ここに示した程度の誤差が含まれることに留意する必要がある。一方、比表面積は図11の結果に示されるように、水分蒸発による質量変化の影響は少なく、冷却の前後でほぼ一定の値を示すものと考えられる。ただし、これらの検討は処理・加工操作によりブロッコリーの変形が無視できるほど小さいという前提に立って行ったものである。

本研究で提唱した方法はブロッコリーに限らず、農産物全般に適用可能であるが、特に、汎用型の画像処理装置で計測不可能な複雑な形態を有する材料に有用であると考えられる。ただし、測定精度の検討に当たっては、現在のところ本研究で提唱した方法に匹敵する精度を有する測定法が見あたらないため、同一試料を用いた他の測定法等との測定精度の比較等は困難な状況にある。

V. 摘要

農産物の外観や内部の構造・色等を観察し、その形態に関する定量的情報を得るための計測装置として、「マイクロスライサ画像処理システム」を開発した。ブロッコリーを対象として本システムの有効性を検討した結果、本システムは対象とする試料を連続的に切削して露出する断面画像から3次元画像を再構築し、外観や任意切断面の構造、色分布を任意方向から表示する機能を有することが確定された。また、ブロッコリー個体から分

割した試料を厚さ30 μm で連続的に切削して得られた画像の周囲長や面積に基づき、個体の質量から表面積、比表面積および体積を推算する方法を提唱した。

これらの結果、本システムは複雑な形態を有する農産物の外観や内部構造の3次元的観察、また、従来不可能であった表面積や体積の計測に有用であることが確認された。

参 考 文 献

1. Houston R. K. (1957): New criterion of size for agricultural products, *Agricultural Engineering* 39 (12): 856-858
2. 石橋真人 (1968) : 果実と野菜の理工学的性質, 包装技術, 6 (2) : 932-936
3. 工藤謙一・横田秀雄・樋口俊郎 (1995) : 3次元内部構造顕微鏡を用いた農作物の評価, 平成7年度農業施設学会講演要: 460-461
4. 小林賢知・樋口俊郎・青木勇・工藤謙一 (1995) : 3次元内部構造顕微鏡の開発, 精密工学会誌, 61 (1) : 100-106
5. Mohsenin (1970): *Physical Properties of Plant and Animal Materials*, Vol.1, Gordon and Breach Science Publishers, New York, 51-87
6. 西津貴久・池田善郎: 農産物の音響的体積測定法 (第1報) —ヘルムホルツ共鳴による体積測定法の推定精度—, *農機誌*, 57 (5) : 47-54
7. 周藤安造 (1992) : 医用画像の3次元可視可技術, *可視化情報*, 12 (45) : 13-19

Surface Area and Volume Measurements of a Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* PLEN.) with a Microslicer-Image Data Processing System

Gab-Soo DO** · Yasuyuki SAGARA*** · Ken-ichi KUDOH**** ·
Hideo YOKOTA***** · Toshiro HIGUCHI*****

** Department of Bioenvironmental and Agricultural Engineering,
College of Bioresource Science, NIHON University, Kanagawa 252

*** Department of Global Agricultural Sciences, Graduate School of Agriculture
and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113

**** Kanagawa Academy of Science and Technology, Kanagawa 213

***** Department of Precision Machinery Engineering, Graduate School of Engineering,
The University of Tokyo, Tokyo 113

Summary

A microslicer-image data processing system (MSIPS) has been developed to observe the external appearance and internal structure as well as color distribution and also to obtain the quantitative information on the morphology of agricultural products having complex forms. From the performance tests using an broccoli as the sample to be measured, it was demonstrated that the MSIPS had the functions to reconstruct the 3-dimensional image based on the image data of exposed cross sections obtained by multislicing of the sample with a thickness of 30 μm , and display the external appearance and the internal geometrical structure as well as color distribution of a arbitrary cross section of the sample choosing the free observation angles.

A prediction method was proposed to determine the surface area as well as volume of an broccoli from the mass of it, based on the 2-dimensional quantitative information such as the periphery and area of exposed cross sections for the specimens separated from an broccoli. These results indicated that the MSIPS was a useful new system for the quantitative morphological measurement of agricultural products having the complex forms. It had been difficult to measure such quantities in the past.

Keywords : microslicer, image data processing, broccoli, surface area, volume