Yukio Akiyama, Yoshinori Takahara and Koji Yamamoto : The Application of Image Analysis to Valuation on White-core in Kernel of Rice for Sake Brewery. (English Summary on p. 371)

酒米における心白評価への画像解析の適用

秋山征夫・高原美規・山元皓二

(長岡技術科学大学工学部生物機能工学, 長岡市, 〒940-21)

摘 要

酒造好適米を選定する際にはその品種のもつ心白量やその位置情報が必要となっている。本研究は、画像解析法を利用して客観的かつ精確に酒造好適米の心白を評価する方法を確立することを目的に行った。

一本メと五百万石を用いて粒内の心白程度(粒の断面積中に占める心白部分の面積の割合)を調査した結果、同じ品種内でも粒ごとに大きなばらつきがあることがわかった。一本メと五百万石の心白程度の平均値についてt検定と比較した結果、両者間で有意な差はなかった。しかしながら、粒を4つの領域に分割し粒内での心白位置情報を用いた比較では、明らかな品種間差が見られた。また、品種の持つ心白発現位置の特徴を顕示する標準画像の作成に成功した。本研究から画像解析による酒造好適米の心白評価は非常に有効であることが示された。

Key Words : rice for sake brewing, white-core, image analysis, NIH image, matrix calculator.

緒 言

酒造の原料米には、食用米品種とは異なり大粒で心白粒を発生する品種が適しているとされてきた。醸造原料米はもと麴米、掛米に大別され、もと麴米として心白米が使用されている。心白の持つ組織構造が吸水速度、はぜ込みに大きく影響するために、酒造好適米の重要な形質として心白が求められるのである(花本 1976)。それゆえ、粒内に入る心白量は多いほど良いと考えられていたが、近年では酒造の目的によって要求される心白量が異なってきている(池上・瀬古 1995)。例えば吟醸酒などの高級酒に利用される酒米では高い搗精が行われるので、物理的に硬度が低い心白の量が多い品種は精米時の負荷で粒が破碎しやすいため不向きであると言われている。逆に一般酒では搗精率が低いので心白量は多くても良いとされている。それゆえ、酒造好適米を選定するにはその品種のもつ心白量を把握していることが望ましい。

しかし心白量を測定することは困難で、現状では熟練した杜氏の選眼が酒米評価に必要とされている。また、醸造用玄米の農産物規格では心白発現率(心白の有無)を重要視しており、心白量に関する評価は直接行なわれていない。この問題の解決のために視覚情報を客観的な数値データへ変換する画像解析法を心白量の測定に応用することは非常に有効であると考えられる。一方、最近では安価で高性能なパーソナルコンピュータが供給され、操作の簡易なソフトウェアも流通しているため、以前と比べて画像処理、解析を容易に行える状況にある。

本研究では、画像解析法を利用して客観的かつ精確に酒米の心白量を評価する方法を確立することを目的とした。

材料および方法

酒造好適米品種の一本メ、五百万石(朝日酒造提供)各85粒を試料として用いた。一本メに関しては玄米と90, 80, 70, 60%精米(真精米歩合:90.2, 80.4, 70.7, 60.9%)されたものを使用した。

画像解析システムは、実体顕微鏡の像を撮影するCCDカメラと、画像をコンピュータに取り込ませるためのキャプチャーボードを増設したMacintosh II vxで構成されている簡便なものを使用した。画像処理ソフトには市販ソフトのAdobe PhotoshopとFreewareであるNIH-Imageおよびmc(matrix calculator)を利用した。

内部の心白部を明瞭にするため、ピンセットで挟んで固定した粒をデザインナイフを用いて長軸方向で腹側から背側へ切断した後、切断面を実体顕微鏡を用いてコンピュータに入力、解析を行った。

原画像の濃淡値から粒と背景を分けるために二値変換を行い、粒部のピクセル数を数え面積とした。同様に心白とそれ以外の部分を二値変換により分離し、心白面積を算出した。この際、通常は心白として扱われない胚周辺部位も、心白とつながり同一化している粒が見られたので一応、心白領域として処理した。

調査対象にした85粒について、全ての粒が同一方向にそろうように画像の調整を行い、品種内の粒の平均サイズを求めた。それぞれの粒について画像の拡大または縮小により平均サイズに変換した後、二値化により心白

1996年2月23日受理 1996年9月6日受理

部を抽出した画像を得た。画像を行列に変換し、行列で加算した値を画像数で割り、その数値を濃淡値として心白標準画像を作成した。同様にして粒の輪郭標準画像を得、両者の画像を重ねることで標準画像を作成した。この方法の詳細については別途報告する。

結果および考察

一本メでの粒ごとの粒面積と心白面積の相互関係を表したのが Fig. 1 である。一粒ごとにそのサイズと粒内心白面積が異なっており、粒面積と心白面積間に相関は見られなかった。搗精後の粒に関しても同様に、粒面積は小さくなるが粒ごとの心白面積には玄米と同程度のばらつきが存在し、相関は認められなかった。また、玄米とほぼ同程度の心白面積を有している。このことは、搗精によって粒の外側が削られ、心白を含む中心部が保持されたことを意味している。粒の大きさや心白面積にばらつきが見られることから、心白の量を粒ごとに比較する指標として、心白程度（全面積に対する心白の割合）を採用することにした。

Fig. 2 に一本メの搗精率による心白程度の変化を示す。玄米では心白程度が 30~40 % でもっとも高い頻度を持つが、心白程度は粒ごとに大きく異なり広い範囲に分布していた。搗精歩合が高くなるにつれて山のすそは心白程度の高い方向へ広がる傾向があることから、搗精過程で表面を削ることで全体の心白程度が向上することがわかる。

つぎに品種間差を評価できるかどうかを検討してみた。玄米における一本メと五百万石の心白程度の違いを Fig. 3 に示す。モード値は同じ位置にあるが、五百万石は一本メに比べて心白程度の小さい粒の頻度が高く、平

均心白程度は一本メが 35.1 %、五百万石が 30.1 % であり、一本メに比べて五百万石は心白程度の小さい品種であると考えられた。しかし t 検定を行った結果 ($t=1.84$)、これら 2 品種間で心白程度の差は有意なもので

Fig. 2. Frequency distribution of rice grains with various rates of white-core (cv. Ipponjime).
○ : Non : polished rice, △ : 90% polished rice, □ : 80% polished rice, ● : 70% polished rice, ▲ : 60% polished rice

Fig. 3. Difference of the white-core rates between cv. Ipponjime and cv. Gohyakumangoku.
○ : Ipponjime, ● : Gohyakumangoku

Fig. 1. Scatter diagram of non-polished rice grains on the plain with axes of the area of grain and the area of white-core (cv. Ipponjime).
○ : Non : polished rice, △ : 90% polished rice, □ : 80% polished rice, ● : 70% polished rice, ▲ : 60% polished rice

Fig. 4. Four regions of the grain.
I : The first quadrant, II : The second quadrant, III : The third quadrant, IV : The fourth quadrant

はないことがわかった。この結果は品種内でのばらつき（分散）が大きいと思われる、一本メと五百万石では心白形質の品種間差はないと結論付けるには早計であると判断した。そこで粒の断面を Fig. 4 のように、胚のある部分を第一象限として領域ごとの心白の発現率を測定した。用いた2品種についてそれぞれの領域における心白の割合（各象限中の心白面積/全心白面積）を調査した結果が Fig. 5 である。

五百万石では第一、第二象限に心白が偏っており、第三、第四象限までには達していない心白を持つ粒が半分ほどあることが分かる。一方、一本メは主として第一、第二象限に心白が入っているが、明らかに第三、第四象限まで広がった心白を持つものが多いことが分かる。そこで、各象限に含まれる心白の割合は品種によって違うことを明らかにするために、各象限ごとに両品種の心白の割合の平均値の違いについて Cochran 法による近似的t検定を行った。その結果、第一象限 ($t=3.74$)、第二象限 ($t=3.12$)、第三象限 ($t=4.27$)、第四象限 ($t=6.32$) となり、全て有意水準1%で有意な差がある

ことが分かった。すなわち Fig. 5 は五百万石、一本メともに腹側に心白が広がった粒が多いが、さらに一本メは腹側だけでなく中央点から背側方向でも心白を発現している粒も多いという特徴があることを示している。これらのことから全粒の心白程度は品種間差を調査するための指標としては適していないが、4分割して心白の割合を測定することにより粒内に入る心白の位置の情報が得られ、品種間差を調査できる可能性があると考えられた。

以上のように、粒ごとにばらつきが大きいので心白の量についてのデータだけでは十分とは言えず、品種に特徴的な心白の情報をより明確にするためには心白が入る位置の情報を利用しなければならないと考えた。これらの条件を満たすためにはそれぞれの品種の特徴を一枚にまとめた標準的な画像を作成することが最も適している。そこで1品種について多数の粒の画像から大きさの平均を求め、それぞれの画像を平均の大きさへ拡大又は縮小し、それらを加算した後に濃淡値を粒数で割ったものをその品種の標準画像とした。この画像では横のカラーバ

Fig. 5. Difference of white-core rate among four regions of the grains.

○ : Ipponjime, ● : Gohyakumangoku

I : The first quadrant, II : The second quadrant, III : The third quadrant, IV : The fourth quadrant

一が頻度を表し、粒内のそれぞれの位置で心白が出現する確率の高低が色調によって表現されている。一本丕と五百万石について標準画像を作成した結果、Fig. 6 a, b が得られた。この図は心白の平均的な大きさと心白があらわれる位置の情報を示しており、一本丕と五百万石の心白の特徴の違いを明らかにすることができた。すなわち、五百万石は腹側より心白が入る確率が高く、一本丕は腹側と同時に背側にも入る確率が高いことを示している。また、胚との境界に心白様の白濁が入る確率も高いことが分かる。心白標準画像の原画像には心白と胚周辺部位が連絡している粒が含まれているものの、心白標準画像の段階では心白部位と胚周辺部位は分離しており、この図を利用することにより心白のみに関する評価が可能である。

酒米の心白については遺伝学的（上島ら 1981, 上島・高谷 1984）、作物栽培学的（木戸・梁取 1968, 上島・村本 1979）、組織学的（安藤・市川 1974）な研究が積み重ねられてきた。しかし、心白の発現については不明な点も多く、品種間の遺伝的な差や、栽培環境の差による発現の振れを数量化してとらえるまでには至っていない。本研究で報告したように画像解析法によって数量化が可能になれば、心白発現のメカニズムについてより細かい研究が行えるようになるであろう。

本研究では粒を腹側から背側に向かって長軸方向に割った縦断面において心白の観察を行った。以前にも玄米に含まれる心白の分布について粒の断面図を観察した報告はあるが（木戸・梁取 1968）、それらは全て横断面による観察である。これらの観察結果は本報告と同様に、心白が背腹径に沿って細長く分布していることを示している。酒造工程における搗精の段階では粒全体が均一に

削られるのではなく、粒長が削られる歩合が最も高く、粒幅もかなり削られるが、粒厚はあまり削られない。横断面での観察では粒幅、粒厚と心白との関係を観察することができるが、搗精に深く関係のある粒長と心白との関係を知ることはできない。本研究の結果から搗精による粒長の短縮は心白部位に影響を及ぼしにくく、横断面での観察でも妥当であることがわかった。

一方、実際の育種選抜で利用されているのは縦断面方向を見た心白形状である。そのために粒を割断することなく透過光を当てることで、縦断面方向の心白の形状を観察、分類した結果が報告されている（植田幸輔・太田勇 1962）。これは、本研究と同様に粒内部に2つの心白を持つ粒が存在することを示している。育種における実際の選抜と同条件での観察なのでこの手法が適していると考えられる。我々もいろいろな光源を用いて同様の画像の取り込みを試みたが、粒は膨らみを持っており、割断せずに観察した場合には心白の形状は不明瞭となった。そのため、正確に心白形状による分類を行うためには粒の割断が必要であると判断した。

従来の横断面における観察結果に、本研究の様な縦断面での観察結果を付加することで、さらに詳細な心白に関する知見が得られるものと期待できる。今後、品種間差や産地間差、年次間差について縦、横断面のデータを得ることにより、心白の発現についてさらに厳密な考察を行う予定である。

引用文献

- 安藤孝雄・市川邦介（1974）透過型および走査型顕微鏡による米粒の胚乳構造の観察。醸工 52：46-57。
- 江幡守衛・長戸一男（1960）胚乳澱粉細胞組織の発達と心白との関係。日作紀 29：93-96。
- 花本秀生（1976）清酒醸造過程における酒造米の適性評価。育種学最近の進歩 17：55-59。
- 池上 勝・瀬古晴美（1995）酒米育種における最近の取り組みと成果。育種学最近の進歩 37：49-52。
- 上島脩志・村本正昭（1979）窒素施用量、登熟期における温度および1穂粒数の制限が酒米の心白発現に及ぼす影響。近畿作物・育種談話会報 24：94-99。
- ・山本 仁・中西恵子（1981）F₂集団における心白発現率、玄米粒重および稈長の分離と、それら諸形質間の相互関係。神大農研報 14：265-272。
- ・高谷信之（1984）イネ穀粒における心白発現と粒重との関係。神大農研報 16：19-25。
- 植田幸輔・太田 勇（1962）心白米の作物学的研究 第6報心白米の種類とその特性。三重大農報 32：1-15。
- 木戸三夫・梁取昭三（1968）腹白、基白、心白状乳白、乳白米における着粒位置と不透明部の形に関する研究。日作紀 37：534-538。

Fig. 6. The standard image of white-core in rice for sake brewing.
(a) : cv. Ipponjime, (b) : cv. Gohyakumangoku

Summary

It is expected by rice breeders and sake brewers to establish the simple means for evaluating the size of white-core in grains of rice for sake brewing. In this study, we measured the white-core of each grain in two cultivars, Ipponjime and Gohyakumangoku, by using the image analysis.

The results showed that the relative size of white-core to the whole size of grain, i.e. white-core rate, varied widely from grain to grain (0 ~ 100 %) in the same cultivar. Although the average of white-core rate in Ipponjime seemed to be larger than that in Gohyakumangoku, there was no significant difference between them. But the region where the white-core was

expressed in grains was different between two cultivars. Then we divided a grain in four parts, i. e. the 1 st, 2 nd, 3 rd and 4 th quadrants, and examined relative size of white-core in each quadrant. The results showed that, in Gohyakumangoku, the white-core was expressed mostly in the 1 st and 2 nd quadrant, but in all quadrants in Ipponjime.

Based on the findings, we made the standard image of grains which have variable size of white-core by superimposing the image of 85 grains in each cultivar.

Y. Akiyama

Y. Takahara

K. Yamamoto

BioEngineering, Nagaoka Univ. of Tech., Nagaoka 940-21, Japan