Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek

3438

Ontwikkeling van objectieve meetmethoden ter detectie en voorspelling van de aflevingsaspecten 'stevigheid' en 'meligheid' bij appels

Drs. F. Koppenaal (ATO-DLO), projectleider
R. Frankenhuizen (RIKILT-DLO), sub-projectleider
A.C.R. van Schaik

ato-dlo



2253131

Wageningen, mei 1993

Eindrapportage van het ATO/Rikilt project:

ONTWIKKELING VAN OBJECTIEVE MEETMETHODEN TER DETECTIE EN VOORSPELLING VAN DE AFLEVINGSASPECTEN 'STEVIGHEID' EN 'MELIGHEID' BIJ APPELS

F. Koppenaal en A.C.R. van Schaik

Projectleider: Drs F. Koppenaal (ATO-DLO)
Sub-Projectleider: R. Frankhuizen (Rikilt-DLO)

Medewerkers ATO-DLO:

A.C.R. van Schaik
R.G. v.d. Vuurst de Vries
Dr P. de Waard
P. v.d. Meer

Medewerkers Rikilt-DLO:

M.A.H. Tusveld
Drs. W.J.H.J. de Jong

INHOUDSOPGAVE

	blz.
1 Samenvatting en Conclusies	1
2 Introductie	2
3 Destructieve meetmethoden seizoen '89-'90	3
3.1 Inleiding	3
3.2 Materiaal en Methoden	3
3.2.1 Beoordelingsmethodiek	3
3.2.2 Proefplan	4
3.2.3 Metingen	4
3.2.4 Parameters en meetmethoden	4
3.2.5 Toelichting op de parameters en meetmethoden	5
3.2.6 Statistische analyse	7
3.3 Resultaten en Discussie	7
3.3.1 Elstar	7
3.3.2 Cox	10
3.4 Conclusies	12
4 Nabij Infrarood metingen met NIRSystem-6500: non-destructieve metingen	13
4.1 Inleiding	13
4.2 Resultaten en Discussie	13
4.3 Conclusies	14
5 Chlorofylfluorescentie en Lichtreflectiemetingen	14
5.1 Inleiding	14
5.2 Materiaal en Methoden	15
5.2.1 Meetopstelling	15
5.2.2 Meetparameters	15
5.2.3 Proefopzet Cox	15
5.2.4 Proefopzet Elstar	16
5.2.5 Lichtreflectiemetingen	17
5.3 Resultaten en Discussie	17
5.3.1 Chlorofylfluorescentie	17
5.3.2 Lichtreflectiemetingen	24
5.4 Conclusies	24
6 Nuclear Magnetic Resonance (NMR)	24
6.1 Inleiding	24
6.2 Materiaal en Methoden	25
6.3 Resultaten en Discussie	25
6.4 Conclusies	28
7 Overige meetmethoden	28
7.1 Akoestische resonantie	28
7.2 Vibration Respons Measurement	29
7.3 Electronic Pressure Tester (EPT)	29
8 Eindconlusies en aanbevelingen	31
9 Literatuur	32
10 Bijlage	34

1. SAMENVATTING EN CONCLUSIES.

De onderzoeksresultaten in het kader van het project "ontwikkeling objectieve meetmethoden ter detectie en voorspelling van de stevigheid en meligheid van appels" gesubsidieerd door de directie MKV van het LNV, over de periode oktober 1989-oktober 1992, worden in dit rapport beschreven. Het onderzoek is uitgevoerd door ATO-DLO in samenwerking met RIKILT-DLO.

Het doel van het project was de ontwikkeling van een objectieve, snelle en liefst niet-destructieve meetmethode welke bij de kwaliteitskeuring ingezet kan worden.

Omdat de stevigheid van appels de belangrijkste kwaliteitsparameter is t.a.v. van smaak en rijping, zijn de penetrometerwaarden en de Instronwaarden steeds als referentie gebruikt. Afhankelijk van de onderzoeksproblematiek, zijn de sensorische stevigheid en meligheid bepaald. In het onderzoek zijn de rassen Cox's Orange Pippin en Elstar gemeten omdat stevigheidsverlies bij deze cultivars een belangrijk kwaliteitsprobleem is. De getoetste meetmethoden waren NIRS (Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie), NITS (Nabij Infrarood Transmissie Spectroscopie), vochtuittreding, katalaseactiviteit, titreerbaar zuur, chlorofylfluorescentie, lichtreflectie, NMR (Nuclear Magnetic Resonance), akoestische resonantie en de EPT (Electronic Pressure Tester). Om kwaliteitsverschillen te induceren werden appels van diverse oogsttijdstippen en bewaarregimes in verschillende stadia van stevigheid en meligheid gebracht door temperatuurvariatie en verschillen in bewaartijd aan te brengen.

Van de destructieve metingen bleek de combinatie Instronwaarde en vochtuittreding de sensorische stevigheid en meligheid het beste te kunnen meten, echter alleen voor het ras Elstar. Voor de praktijk is deze methode minder aantrekkelijk door de lage meetsnelheid en het destructieve karakter van de methode. Als tussenoplossing lijkt de EPT methode aantrekkelijker omdat deze sneller is dan de huidige penetrometer, niet persoonsafhankelijk is en tevens de meetwaarden automatisch registreert en bewerkt.

Van de niet-destructieve methoden bleek chlorofylfluorescentie, voor beide onderzochte appelrassen, niet geschikt omdat het verband met de stevigheid sterk afhankelijk was van de temperatuur waarbij de appels het rijpingsproces ondergingen.

De bepaling van de grondkleur met lichtreflectiemetingen bleek ook geen geschikte methode te zijn om de hardheidsmeting te vervangen, gezien het slechte verband met de stevigheid.

Ook de diverse geteste niet-destructieve NIR technieken vertoonden onvoldoende relaties met stevigheid en meligheid zodat een mogelijke toepassing voor praktische doeleinden vooralsnog onmogelijk lijkt.

Een meetmethode welke perspectief biedt is de NMR. In een aantal experimenten met Cox en Elstar werd een goed verband gevonden tussen de NMR-waarde en de referentie metingen. Omdat deze methode potentieel niet-destructief, snel en objectief is zou een praktijktoepassing interessant zijn. Echter, aanvullend onderzoek is nog een belangrijke noodzaak.

Geconcludeerd kan worden dat bij de destructieve meetmethoden alleen de EPT een mogelijke

verbetering is van de bestaande methode. Bij de niet-destructieve methoden is er nog geen goede alternatieve meetmethode gevonden welke de penetrometer kan vervangen. Alleen de NMR-methode lijkt perspectiefvol. Een aanbeveling daarom is om de mogelijkheden van deze methode verder te onderzoeken.

2. INTRODUCTIE.

Tijdens de bewaar-en afzetfase van hardfruit kan door verkeerde handling en door sub-optimale opslagomstandigheden ernstig kwaliteitsverlies optreden. Het kwaliteitsverlies bestaat uit het zacht en eventueel melig worden van het fruit waardoor de smaak onacceptabel kan worden. Om de kwaliteitsinspectie te verbeteren is het van groot belang dat er een objectieve , snelle, betrouwbare en liefst niet-destructieve meetmethode wordt ontwikkeld. De methode moet de kwaliteit van fruit kunnen vaststellen en het verdere kwaliteitsverlies kunnen voorspellen. Een eventuele meetmethode kan gebruikt worden bij de classificatie van de kwaliteit op veilingen en bij een on-line toepassing op sorteerapparatuur. Het zwaartepunt van het onderzoek ligt op methoden waarmee de consistentie gemeten wordt of waarvan verwacht kan worden dat ze hiermee een duidelijke relatie vertonen. Het is van belang dat een dergelijke methode een causaal verband vertoont met de stevigheid en meligheid aangezien verwacht wordt dat in dat geval de methode beter bestand is tegen invloedsfactoren zoals we die in de praktijk kunnen tegenkomen. Voorbeelden van invloedsfactoren zijn: seizoensinvloeden, bewaaromstandigheden, rasverschillen, boomgaardfactoren en pluktijdstippen. Vanuit theoretische overwegingen en uit eerder uitgevoerd onderzoek (o.a. op het ATO-DLO) lijkt het stevigheidsverlies de voornaamste parameter voor smaakverlies en afleving bij appels te zijn: als er geen minimale stevigheid meer aanwezig is worden andere smaakaspecten ook als minimaal beoordeeld.

De te kiezen meetmethode zou bij voorkeur moeten voldoen aan de volgende criteria:

a) Goede correlatie met sensorisch gemeten afleving.

   Het belangrijkste criterium, gesteld aan de objectieve meetmethode, is dat er een goed verband bestaat met de sensorisch gemeten afleving en met name met het stevigheidsverlies. Deze correlatie dient onafhankelijk te zijn van factoren die de afleving veroorzaken, zoals oogsttijdstip, bewaartemperaturen, CA omstandigheden, herkomst, klimaatfactoren en de eventuele interacties hiervan.

b) Toepasbaar tijdens de gehele aflevingsfase van de appel.

   Dit is met name van belang om te kunnen voorspellen wanneer een onacceptabel niveau van afleving wordt bereikt. Deze voorspelling zal plaats vinden vòòr of tijdens de keuring wanneer de appels zich in het algemeen bevinden in een fase die voorafgaat aan meligheid.

c) Snel en eenvoudig toepasbaar.

Het uiteindelijke streven is de meetmethode te betrekken bij de keuring (klassificatie) van appels in de distributiefase. Voorwaarde hierbij is dat de meetmethode, vooral in verband met procesbesturing, snel en eenvoudig toepasbaar is.

d) Voorkeur voor niet-destructieve methode.

De voorkeur gaat uit naar een niet-destructieve methode omdat daarbij geen appels worden verbruikt. Ook in verband met het streven naar on-line toepassing van de meetmethode (mogelijke toepassing op sorteerinstallaties) is het belangrijk dat de methode niet-destructief is.

3. DESTRUCTIEVE MEETMETHODEN SEIZOEN '89-'90.

3.1 Inleiding

In het eerste seizoen van het project is een aantal instrumentele meetmethoden getoetst waarvan uit vooronderzoek op het ATO en het RIKILT was gebleken dat deze bij appels van het ras bij Cox's Orange Pippin een verband vertoonden met de sensorische stevigheid en meligheid. In dit betreffende vooronderzoek [1] werden 29 verschillende chemische en fysische metingen vergeleken met 6 verschillende sensorische parameters. Hieruit bleek o.a. dat de twee sensorische parameters meligheid en stevigheid de smaakeigenschappen van appels voor het grootste deel bepaalden en dat een aantal meetmethoden overbleef dat een verband vertoonde met de sensorische waarnemingen.

Deze kansrijke meetmethoden werden in ons onderzoek uitgebreid onderzocht op hun relatie met de sensorische meligheid en stevigheid van de appelrassen Elstar en Cox's Orange Pippin. Het gaat hierbij om de volgende meetmethoden: penetrometer, Instron, uittredend vocht bij compressie, Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie, katalaseactiviteit, titreerbaar zuur en drogestof-gehalte.

3.2 Materiaal en Methoden

3.2.1 Beoordelingsmethodiek

Om binnenmonstervariantie te vermijden werden alle metingen verricht aan individuele vruchten in diverse gradaties van stevigheid en meligheid. Aan dezelfde vruchten werd ook een sensorische beoordeling uitgevoerd. Omdat alle methoden aan dezelfde appel werden gedaan is de produkthoeveelheid kritisch.

Partijen appels met dezelfde achtergrond qua herkomst, pluktijdstip, bewaring of bewaartijd kunnen in zeer verschillende gradaties van stevigheid en meligheid worden gebracht door deze nog een korte tijd bij diverse temperaturen na te bewaren. De afzonderlijke invloedsfactoren kunnen op deze

wijze bekeken worden en in een latere fase ook gecombineerd worden.

3.2.2 Proefplan

Appels van de rassen Elstar en Cox's Orange Pippin afkomstig van diverse herkomsten, maatsorteringen en oogsttijdstippen werden onder verschillende bewaaromstandigheden opgeslagen en op diverse momenten beoordeeld. Hierdoor ontstond een veelheid aan monstermateriaal waarvan de achtergronden bekend waren en die op elk gewenst moment gemeten konden worden. Concreet werden de volgende niveaus voor deze factoren ingesteld:

Herkomst: Van ieder appelras werden 2 herkomsten gebruikt, gekarakteriseerd door resp. een hoog en een laag calciumgehalte.

Pluktijdstip: Voor het ras Cox 3 tijdstippen nl. vroeg, middentijds en laat geplukt fruit. Voor Elstar 1e, 2e en 3e doorpluk.

Maatsortering: Elke ontstane partij (experimentele eenheid) werd verdeeld in 2 maatsorteringen, nl. grove en kleine vruchten.

Bewaaromstandigheden: Om gedurende lange tijd over, qua stevigheid en meligheid, uiteenlopende vruchten te kunnen beschikken werden de appels op verschillende manieren bewaard. Voor beoordeling in oktober/november werd onder koelhuisomstandigheden bewaard. Produkt bestemd voor december-februari werd in 2-3% O_2 opgeslagen, terwijl voor maart-mei fruit in 1,25% O_2 werd bewaard.

Aangezien men in de praktijk te maken heeft met produkt dat vanuit de bovengenoemde bewaarcondities bij diverse (combinaties van) temperaturen nabewaard wordt werden de vruchten bij verschillende temperaturen weggezet: 3, 13 en 23°C bij een r.v. van ca. 95%.

3.2.3 Metingen

Aan iedere te meten appel werden de instrumentele en sensorische bepalingen verricht. Per experimentele eenheid werden aan 2 vruchten de bepalingen verricht (2 appels per experimentele eenheid werden in reserve gehouden tijdens de nabewaring). Bij de hoogste temperatuur werden extra appels bewaard om het moment van beoordeling vast te kunnen stellen. Als een aantal appels bij deze hoogste temperatuur (23°C) melig waren werden binnen enkele dagen alle appels uit alle temperaturen gemeten.

Vanaf oktober t/m mei werd iedere maand 1 meetset per ras doorgemeten. Eén meetset bestond uit 18 experimentele eenheden á 2 appels. Per meetdag werden dus in totaal 36 appels doorgemeten.

3.2.4 Parameters en meetmethoden (in volgorde van meting):

- Penetrometer
- Nabij infrarood reflectie spectropscopie (NIRS) stevigheid/meligheid

- Titreerbaar zuur (NIRS meting)
- Drogestof gehalte (NIRS meting)
- Katalaseactiviteit
- Instron
- uittredend vocht bij compressie in de Instron
- Sensorische keuring

3.2.5 Toelichting op de parameters en meetmethoden.

Instron (ATO)

De Instron is een geautomatiseerd instrument dat bij een scala aan fruit- en groenteprodukten gebruikt wordt om de stevigheid te meten [2-4].

Voor deze texturele meting werden uit een equatoriale appelschijf met een dikte van 8 mm met een kurkboor van 17 mm diameter, 3 submonsters uit het vruchtvleesgedeelte genomen. De meting werd per submonster uitgevoerd, dus 3 per vrucht. Het schijfje werd tussen 2 vlakke platen gelegd en met de Instron gecomprimeerd. Uit eerder onderzoek [1] is gebleken dat met name de breukwaarde van belang is aangezien deze het beste verband vertoonde met de sensorische stevigheid en meligheid. De breukwaarde is de benodigde kracht om een stukje appelweefsel te breken en wordt uitgedrukt in Newtons.

Uittredend vocht bij compressie (ATO)

Deze meting is gebaseerd op het feit dat bij stevigheidsafname van het appelweefsel de cellen niet meer breken maar langs elkaar heen schuiven bij compressie [1]. Hierdoor ontstaat een verminderde vochtuittreding bij afgeleefde appels.

Door een appelschijfje te comprimeren tot ca. 75% van de oorspronkelijke dikte kan het uittredend vocht worden opgevangen in filtreerpapier en gewogen. De meting werd uitgevoerd aan dezelfde schijf waaraan ook de Instronmeting is uitgevoerd, zodat de monsterspecificaties dezelfde zijn.

Penetrometerwaarde (ATO)

Deze meetmethode wordt ondanks bepaalde onvolkomenheden in de praktijk gebruikt om de stevigheid van fruit te meten [5]. Dit gebeurt zowel ter bepaling van het pluktijdstip alswel ter kwaliteitsbepaling in de afzetfase.

Het werkingsprincipe berust op de meting van de indringweerstand van een plunjer in het vruchtvlees van de appel. Zowel aan de groene zijde als aan de bloszijde van de appel werd een meting gedaan. Deze 2 metingen werden vervolgens gemiddeld.

Drogestofgehalte en titreerbaar zuur (RIKILT)

Deze parameters mogen als bekend worden verondersteld en werden bij geselecteerde golflengten op een indirecte wijze gemeten via de NIRS. Hiervoor zijn op het RIKILT ijklijnen gemaakt op basis van een vergelijking van chemische gemeten drogestofgehaltes en titreerbaar zuur hoeveelheden

met NIRS metingen.

Meligheid/stevigheid bepaald met NIRS (RIKILT)

Voor een uitgebreide beschrijving van de achtergronden, meetmethodiek en samenstelling van calibratiesets wordt verwezen naar RIKILT rapporten [6,7]. Eerder uitgevoerd onderzoek laat zien dat Nabij Infrarood metingen mogelijkheden bieden om snel, objectief en niet-destructief kwaliteitskenmerkende parameters van onder andere groente en fruit te bepalen [8,9]. Tevens is gebleken dat de sensorische meligheid van doperwten goed kan worden geschat met Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie [15,16].

De NIRS-metingen zijn uitgevoerd met een Technicon InfraAnalyzer-500 (IA-500), gekoppeld aan een HP-1000 minicomputer. De spectra werden opgenomen van 600-2500 nm. Hierbij werd om de 4 nm de reflectie gemeten.

Van ieder appelmonster is voor de NIRS-meting een deelmonster genomen. Met behulp van een snijmachine werden 2 plakken van 8 mm van de appel gesneden. De eerste plak werd niet gebruikt, waarna van de 2e plak m.b.v. een kurkboor, op het grensvlak van de bloszijde/niet bloszijde, een deelmonster werd genomen met een doorsnede van 26 mm. Het deelmonster werd vervolgens geplaatst in een open monstercup, waarna bij kamertemperatuur een reflectiespectrum werd opgenomen. In totaal zijn er van 432 monsters Elstar en 321 monsters Cox reflectiespectra opgenomen.

Katalase activiteit (RIKILT).

Het enzym katalase katalyseert de afbraak van waterstofperoxide dat vrijkomt bij allerlei biochemische processen in de vrucht. Verwacht werd dat de activiteit zal toenemen bij verdere afleving van de appels.

M.b.v. een kurkboor werden 2 submonsters van een appel genomen. Van deze 2 submonsters werd 1 cm lengte afgesneden en gewogen (samen ca. 1 g). De katalaseactiviteit werd bepaald volgens Intern Analysevoorschrift M-19 (Rikilt). De katalaseactiviteit is het aantal ml zuurstof dat per 24 uur door 1 gram van het appelweefsel wordt vrijgemaakt uit een oplossing van 0.5% waterstofperoxyde.

Sensorische beoordeling (referentiemeting, ATO).

Voor meer achtergronden omtrent sensorische bepalingen en vergelijking van sensorische met instrumentele metingen wordt verwezen naar [2,3,10,11]. Iedere vrucht werd beoordeeld op stevigheid en meligheid door een (expert) proefpanel van 3 personen. Beoordeling vond plaats op een grafische schaal van 0 t/m 99 mm, aan beide uiteinden geankerd. Voor de meligheid geldt: 0 = niet melig en 99 = melig, terwijl voor stevigheid geldt: 0 = stevig en 99 = zacht. Om rekening te houden met verschillen in schaalgebruik tussen de proefpersonen zijn de resultaten omgerekend naar zgn. z-scores (aantal standaarddeviaties van het gemiddelde) van de keurders. De meligheids- en stevigheidswaarden zijn door een panel van 3 personen bepaald aan het kelkgedeelte van

iedere vrucht (resterende deel van de appel na alle instrumentele metingen). De scores van de verschillende panelleden zijn uiteindelijk gemiddeld.

3.2.6 Statistische analyse.

De analyses zijn primair gericht op het aantonen van relaties tussen de meetmethoden en de sensorische stevigheid en meligheid. Voor een vergelijking van de meetmethoden (uitgezonderd de NIRS data) met de sensorische stevigheid/meligheid is gebruik gemaakt van een statistische benadering zoals beschreven is in bijlage 8.1 van dit rapport.

3.3 Resultaten en Discussie

3.3.1 Elstar

Voor het ras Elstar zijn gedurende het seizoen '89-'90 in totaal 12 meetsets á 36 appels doorgemeten op bovengenoemde parameters. In totaal zijn er dus 432 monsters gemeten.

Wanneer de sensorische stevigheid in een plot wordt uitgezet tegen de sensorische meligheid (fig. 1) kan een uitspraak worden gedaan omtrent de spreiding van de monsters over de gehele range. Ieder punt in de figuur is het gemiddelde van de 3 proefpanelleden. Hoe negatiever de waarde voor de z-score, hoe minder melig en steviger het monster is. Belangrijk is dat het hele traject goed bezet is. Opvallend is de lineariteit over vrijwel het hele gebied. Alleen in het begin van het traject wanneer de sensorische stevigheid afneemt is nog geen verandering van de meligheid waarneembaar. De sensorische meligheid en stevigheid zijn in principe uitwisselbaar met elkaar. De figuren 2-7 geven het verband weer tussen de sensorische meligheid en de resultaten van de instrumentele metingen (behalve de NIRS). Vergelijking met de sensorische stevigheid geeft hetzelfde beeld te zien (bijbehorende figuren niet vertoond, Fig. 7a geeft het verband weer tussen de sensorische stevigheid en de penetrometer). Bij vergelijking van de sensorische meligheid met de resultaten van de instrumentele metingen zijn alleen duidelijke verbanden zichtbaar met de penetrometer, Instron en vochtuittreding. Duidelijk is dat de relaties niet-lineair zijn, maar een enigszins exponentieel karakter vertonen.

De andere parameters (drogestofgehalte, titreerbaar zuur, katalase activiteit) correleren op zich slecht met de sensorische data, maar kunnen in combinatie met andere parameters wèl belangrijk zijn. Dit is met behulp van statistiek uitgezocht (zie bijlage 8.2). Hierbij werd gezocht naar een model dat zo goed mogelijk de sensorische waarnemingen voorspelde.

Fig. 1: Verband tussen stevigheid en meligheid bij Elstar

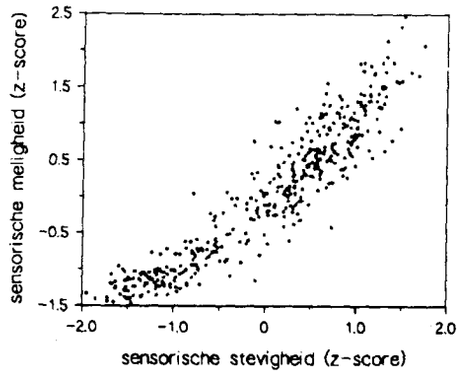


Fig. 2: Verband tussen penetrometer en meligheid bij Elstar

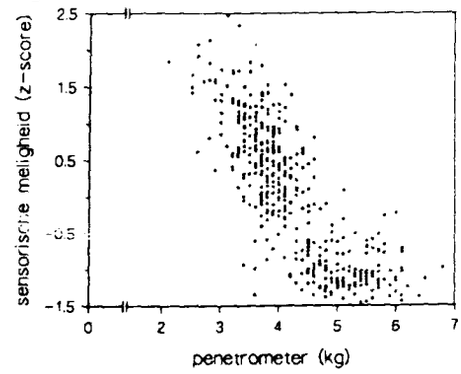


Fig. 3: Verband tussen Instron-breuk en meligheid bij Elstar

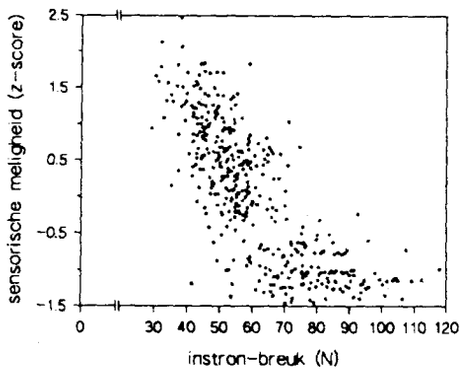


Fig. 4: Verband tussen %vochtuittreding en meligheid bij Elstar

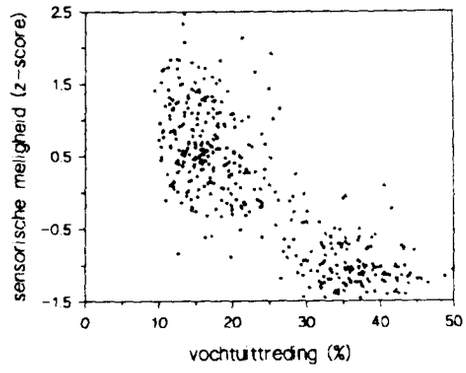


Fig. 5: Verband tussen drogestofgehalte en meligheid bij Elstar

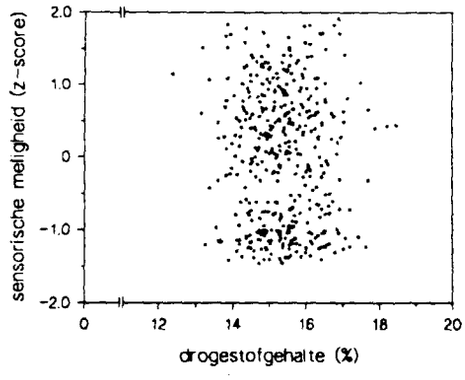


Fig. 6: Verband tussen titreerbaar zuur en meligheid bij Elstar

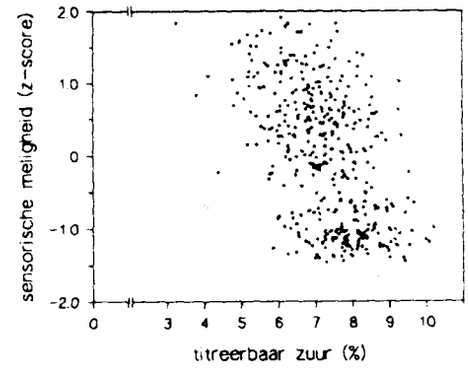


Fig. 7: Verband tussen katalaseactiviteit en meligheid bij Elstar

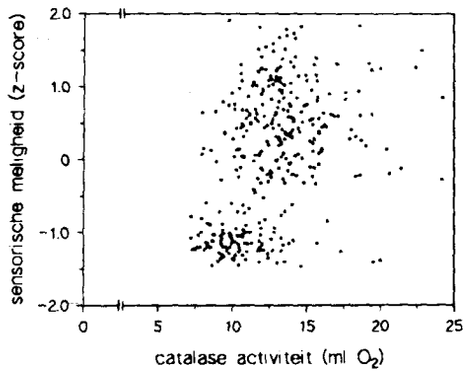
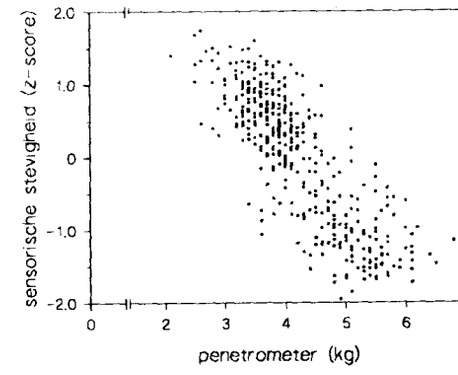


Fig. 7a: Verband tussen penetrometer en stevigheid bij Elstar



Het is mogelijk dat samenvoeging van een aantal meetmethoden de sensorische waarnemingen beter kan voorspellen dan de individuele meetmethoden. Uit de resultaten van deze analyse (tabel 1 en 2) bleek dat de beste modellen al bereikt werden bij 3 en 4 verklarende variabelen (= meetmethoden). Toevoeging van nog meer variabelen verbeterden het model niet significant. Uit de tabel blijkt dat voor het ras Elstar de penetrometer en/of de Instron als stevigheidsmeting gecombineerd met het percentage vochtuittreding de sensorische variantie voor een groot deel kan verklaren, nl. voor zo'n 80%. Uittredend vocht alleen verklaard 70% van de variantie, de penetrometer 68% en de Instron (breuk) 64%. Combinatie van meetmethoden en interactie van variabelen geven dus nog een belangrijke verbetering. Omdat het verband tussen bv. de sensorische meligheid en de stevigheid gemeten met de Instron of penetrometer niet lineair is over het gehele traject is dit vervolgens opgedeeld in 4 klassen. Dit is gedaan op basis van de intrumenteel gemeten stevigheid. Per deeltraject is vervolgens gekeken of het percentage verklaarde variantie nog toenam. Na statistische analyse bleek duidelijk dat hiermee geen significante winst kon worden behaald.

Tabel 1. Percentage verklaarde variantie met 3 voorspellende variabelen

variabelen	%
penetrometer; vocht; penetrometer x vocht	79
penetrometer; vocht; $(\text{penetrometer})^2$	79
penetrometer; $(\text{penetrometer})^2$; vocht x penetrometer	78
penetrometer; $(\text{vocht})^2$; $(\text{penetrometer})^2$	77
vocht; Instron-breuk; vocht x Instron-breuk	77

Tabel 2. Percentage verklaarde variantie met 4 voorspellende variabelen.

variabelen	%
penetrometer; vocht; Instron-breuk; vocht x penetrometer	80
penetrometer; vocht; $(\text{penetrometer})^2$; vocht x penetrometer	80
penetrometer; vocht; Instron-breuk; vocht x penetrometer	80
penetrometer; vocht; $(\text{vocht})^2$; $(\text{penetrometer})^2$	79

Verband tussen sensoriek en NIRS.

Na uitgebreide statistische analyse van de resultaten blijkt duidelijk dat het niet mogelijk is om, volgens de methode beschreven in bijlage 8.1, de sensorische meligheid goed te voorspellen. Dit

kan enerzijds het gevolg zijn van het gekozen model en anderzijds kan dit liggen aan de NIRS gegevens zelf.

3.3.2 Cox

Voor het ras Cox's Orange Pippin zijn in totaal 10 meetsets a 36 appels doorgemeten. In totaal zijn dit dus 360 monsters (fig. 8-14a). Uit figuur 8 blijkt dat de monsters goed over de hele ruimte verdeeld zijn, zij het iets minder dan bij de experimenten met Elstar. Overeenkomstig de resultaten met de Elstar bestaat ook bij de Cox een vrijwel lineair verband tussen de sensorische meligheid en stevigheid. Uit de figuren 9, 10 en 11 blijkt dat het verband tussen de sensorische meligheid en de vochtuittreding, penetrometer en Instron minder is dan bij de Elstar.

Fig. 8: Verband tussen stevigheid en meligheid bij Cox

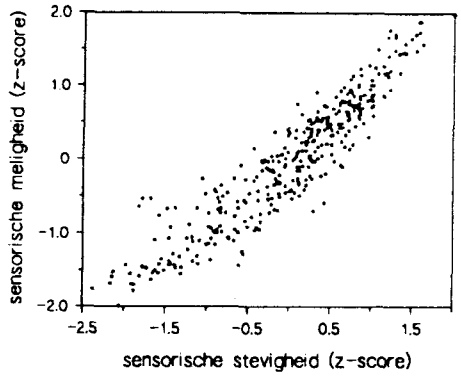


Fig. 9: Verband tussen penetrometer en meligheid bij Cox

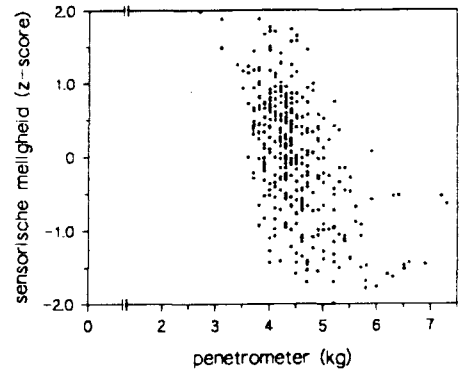


Fig. 10: Verband tussen instron-breuk en meligheid bij Cox

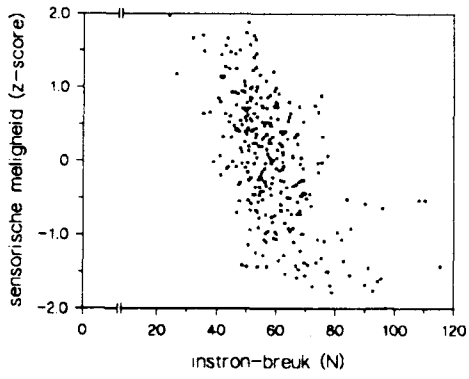


Fig. 11: Verband tussen %vochtuittreding en meligheid bij Cox

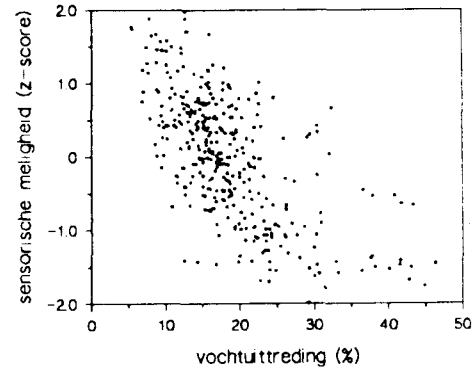


Fig. 12: Verband tussen titreerbaar zuur en meligheid bij Cox

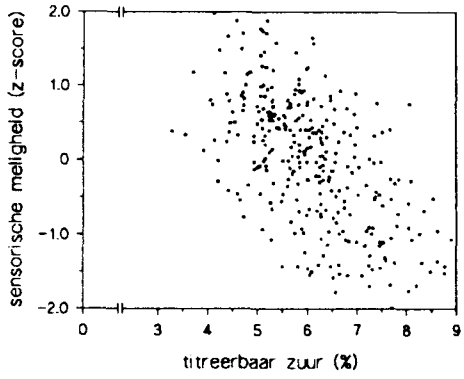


Fig. 13: Verband tussen drogestofgehalte en meligheid bij Cox

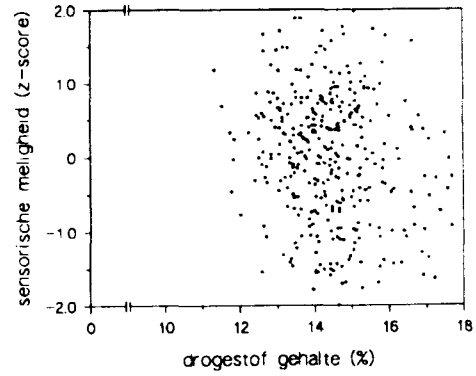


Fig. 14: Verband tussen katalaseactiviteit en meligheid bij Cox

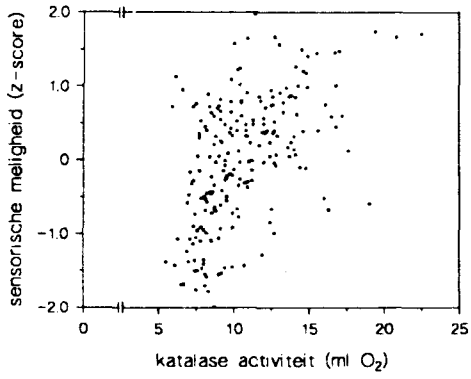
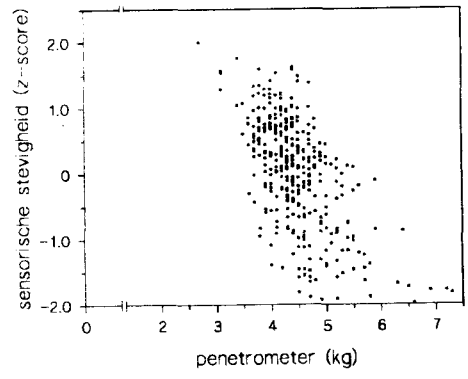


Fig. 14a: Verband tussen penetrometer en stevigheid bij Cox



Het verband tussen de meligheid en de penetrometer en Instron is gering. Alleen in het gebied van de harde vruchten (negatieve z-scores) vindt enige differentiatie plaats. De spreiding van de punten in dit gebied is echter groot. Er is enig verband tussen de sensorische meligheid en het percentage vochtuittreding, hoewel dit verband minder is als bij de Elstar.

Opvallend is bij het ras Cox dat er een duidelijk verband bestaat tussen de sensorische meligheid en de hoeveelheid titreerbaar zuur, gemeten met de NIRS (fig. 12).

Uit de regressie-analyse (selectie van variabelen), op dezelfde wijze verricht als voor de Elstar, bleek dat het beste model bereikt werd bij 5 verklarende variabelen. Toevoeging van meer variabelen had weinig zin aangezien géén significante verbetering van het model werd bereikt. Het percentage verklaarde variantie is echter 20% lager vergeleken met Elstar, nl. slechts 60%. De variabelen die in dit model een rol spelen zijn: penetrometer, vochtuittreding, titreerbaar zuur, $(vocht)^2$ en $(penetrometer)^2$. Apart verklaren penetrometer, Instron en titreerbaar zuur respectievelijk 36%, 41% en 29%. Uittredend vocht apart verklaart slechts 39% van de variantie van zowel de sensorische meligheid als stevigheid. Uit deze resultaten blijkt o.m. dat de penetrometer als stevigheidsmeting slecht scoort. Een verklaring voor deze resultaten kan zijn dat het sensorische gedeelte niet voldoende beschreven kan worden met meligheid en stevigheid. De proefpersonen zouden misschien behoefte kunnen hebben aan meerdere sensorische kwaliteitskenmerken. Een andere, meer voor de hand liggende, verklaring is dat de geteste objectieve meetmethoden niet voldoende de sensorische meligheid en stevigheid kunnen voorspellen.

Aangezien het verband tussen de sensorische attributen en de overige metingen bij Cox minder zijn dan bij Elstar zijn deze resultaten niet uitgebreid aan een statistische test onderworpen.

Uit statistische analyse van een beperkte Cox dataset bleek dat, zoals verwacht, de NIRS de sensorische meligheid slecht kon voorspellen.

3.4 Conclusies

De experimenten (verricht in het seizoen '89-'90) hebben voor beide appelrassen geresulteerd in een zeer uitgebreide dataset die de gehele range van stevig tot zacht bestrijkt. Statistische analyse laat zien dat de sensorische meligheid en stevigheid voor Elstar goed te voorspellen is uit een stevigheidsmeting gecombineerd met de hoeveelheid uittredend vocht na compressie met de Instron. Voor de stevigheidsmeting zijn de penetrometer en de Instron in principe uitwisselbaar, zie ook [3]. Uit praktische overwegingen is de combinatie Instron/uittredend vocht optimaal aangezien deze metingen aan elkaar gekoppeld zijn.

Voor de Cox is het verhaal nog onduidelijk aangezien er géén objectieve meetmethoden, of combinatie van meetmethoden, zijn gevonden die de sensorische meligheid en stevigheid enigszins kunnen verklaren.

Uit de analyses van de NIRS data van de Elstar dataset bleek dat de NIRS, met de gebruikte statistische modellen, slecht de sensorische meligheid en de penetrometerwaarden kon voorspellen.

4. NABIJ INFRAROOD METINGEN MET NIRSystem-6500: NIET-DESTRUCTIEVE METINGEN

4.1 Inleiding.

Op het Rikilt is oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheden van niet-destructieve Nabij Infrarood metingen met behulp van een NIRSystem-6500, een nieuw instrument [3]. Het betreft hier een modulair systeem waarmee zowel in transmissie als interactief gemeten kan worden over een breed golflengtegebied (400-2500 nm). In het oriënterende onderzoek zijn de volgende methoden voor het meten aan hele appels (mèt schil) onderzocht:

Transmissiemeting: Hierbij wordt het monster tussen twee bundels transmissiefibers geplaatst, waarbij de ene fiberbundel het licht geleidt naar het monster en de andere bundel het doorgelaten licht terugvoert naar de detector. De fiberbundels worden hierbij aan weerszijden van het monster in elkaars verlengde geplaatst.

Interactieve meting: Hierbij wordt gebruik gemaakt van een zogenaamde interactance probe. Deze probe is opgebouwd uit twee fiberbundels, te weten een centrale bundel en een ringvormige bundel. Via de centrale bundel wordt de lichtstraal op het monster gebracht en via de ringvormige bundel wordt het gereflecteerde licht teruggeleidt naar de detector. Deze meting onderscheidt zich van 'normale' reflectiemetingen doordat oppervlaktereflectie wordt genegeerd: alleen het licht dat, na binnendringen in de appel, diffuus wordt gereflecteerd wordt gedetecteerd. De interactance probe is geschikt voor het golflengtegebied van 680-1700 nm.

Reflectiemeting: Bij deze meting wordt het monster direct voor de uittredende bundel geplaatst. Het door het monster gereflecteerde licht wordt vervolgens door 4 loodsulfide- en 2 siliciumdetectoren, onder een hoek van 45°, gedetecteerd.
Op deze manier kunnen spectra worden opgenomen van 400-2500 nm.

4.2 Resultaten en Discussie

Transmissiemeting: Uit metingen m.b.v. transmissiefibers bleek dat er onvoldoende licht door de appel heen komt, dan wel onvoldoende licht teruggeleid wordt naar de detector. Dit geldt voor het gehele golflengtegebied (680-1800 nm).
Interactieve meting: Metingen m.b.v. een interactance probe resulteerden alleen in een bruikbaar signaal in het golflengtegebied van 680-1100 nm en van 1100-1380 nm. In het gebied van 1380-1700 nm was de hoeveelheid ruis te groot. Aangezien slechts een klein gedeelte van het hele golflengtegebied bruikbaar was is het nog niet te zeggen of deze meetmethode gebruikt kan worden. Het is namelijk mogelijk dat juist in het deel van het spectrum met de meeste ruis relevante

spectrale informatie aanwezig is.

Reflectiemeting: Reflectiemetingen aan hele appels resulteerden in een goed signaal over het hele golflengtegebied. Het probleem hierbij is wel dat er slechts informatie wordt gekregen van een klein gedeelte van de appel (indringdiepte afhankelijk van het golflengtegebied van enkele mm tot ca. 1-2 cm) en dat er relatief veel oppervlaktereflectie optreedt.

4.3 Conclusies

Uit oriënterend onderzoek naar niet-destructieve metingen met behulp van een NIRSystem-6500 blijkt dat reflectiemetingen aan hele appels weinig perspectief bieden. Voor wat betreft niet-destructieve transmissiemetingen moet(en) de meetconfiguratie/fiberbundels aangepast worden, waarbij de vraag blijft of het transmissiesignaal van voldoende niveau zal zijn voor kwantitatieve metingen. Het feit dat de Nabij Infrarood metingen tot weinig resultaat geleid hebben is waarschijnlijk het gevolg van het aspecifieke karakter van de methode zoals die in dit onderzoek gebruikt is. Omdat nog nauwelijks informatie beschikbaar is omtrent de chemische en fysische achtergronden van meligheid en stevigheid is het niet mogelijk om met de NIR-methode gerichte metingen te verrichten bij specifieke golflengtes van het infrarode licht. Wanneer je bijvoorbeeld zou weten dat de meligheid en/of de stevigheid bij appels door één of enkele chemische parameters wordt bepaald en je kunt deze parameters bij een bepaalde golflengte (of combinatie van golflengtes) met de NIR meten, wordt het natuurlijk interessanter. Gerichte experimenten kunnen dan sneller de vraag beantwoorden of NIR geschikt is om de sensorische kenmerken te meten.
Tevens is het mogelijk dat toepassing van andere statistische regressietechnieken, naast die in dit onderzoek werden gebruikt, bij het vinden van onderlinge verbanden nog verbeteringen kunnen geven.

5. CHLOROFYLFLUORESCENTIE EN LICHTREFLECTIEMETINGEN

5.1 Inleiding

In de groene delen van planten wordt het door het chlorofyl geabsorbeerde licht voor een belangrijk deel gebruikt voor de vorming van chemische energie. De primaire reacties vinden plaats in twee verschillende fotosystemen (PSI en PSII) welke gelocaliseerd zijn in de chloroplasten (bladgroenkorrels). Uit diverse onderzoeken zijn aanwijzingen gevonden dat er verbanden bestaan tussen de 'kwaliteit' van (groene) plantaardige materialen en de mate van fluorescentie van PSII [12-14]. Aangezien de appelschil (zowel de blos als niet-bloszijde) chloroplasten bevat kan de fluorescentiemethode in principe uitgetest worden. Onderzocht werd of er een verband is tussen chlorofylfluorescentie van de schil en stevigheidsverlies. Verondersteld werd dat tijdens veroudering van de vrucht de efficiëntie van het fotosyntheseproces in de schil minder wordt.

5.2 Materiaal en Methoden

5.2.1 Meetopstelling

De metingen zijn uitgevoerd met een PAM-fluorometer. PAM staat voor pulse amplitude modulated. Zeer beknopt weergegeven is het principe als volgt: zwakke lichtpulsjes (meetlicht) met een golflengte van 650 nm worden via een glasfiber naar het te meten object gestuurd. Deze lichtpulsjes leiden tot het ontstaan van fluorescentiepulsjes. Deze worden via een glasfiber weer naar de detector geleid. Dit signaal wordt versterkt. Door een aantal specifieke eigenschappen van het apparaat geeft de signaal-output van de versterker uitsluitend de intensiteit van de fluorescentiepulsjes weer.

5.2.2 Meetparameters

Bij de meting van chlorofylfluorescentie worden twee belangrijke methoden onderscheiden. De eerste methode is de zogenaamde donkerfluorescentie (F_v/F_m). Hierbij wordt de appel ongeveer 30 minuten in donker geincubeerd. In deze donkersituatie is het fotosysteem maximaal ingesteld op fotosynthese omdat de energie overdrachtsystemen en receptoren onbezet zijn met elektronen. Na het geven van een verzadigende lichtpuls kan de maximale fotosynthesecapaciteit berekend worden. Voordelen meting zijn: snel en temperatuuronafhankelijk.

De tweede methode betreft meting onder lichtomstandigheden (Phi2). Hierbij moeten de vruchten een bepaalde tijd onder specifieke lichtcondities worden geincubeerd. Vervolgens wordt een korte tijd meetbelichting gerealiseerd waarna een verzadigde lichtpuls wordt gegeven. Nadelen zijn: specifieke lichtincubatie noodzakelijk, meetbelichting nodig en sterk temperatuursafhankelijke meting.

Uit oriënterende experimenten met Elstar appels [12] is gebleken dat de donker-fluorescentie, gemeten als F_v/F_m, een grote verandering ondergaat gedurende de rijping. Vooral bij appels die bij 20°C werden nabewaard was deze verandering duidelijk. Op de eerste meetdag was de F_v/F_m zeer hoog terwijl bij volledig afgeleefde appels deze zeer laag is. Tussen deze twee extremen verliep de F_v/F_m vrijwel lineair. Verder bleek er een duidelijk verband te zijn tussen de F_v/F_m en de stevigheid (gemeten met de penetrometer en de Instron) en de ethyleenproductie. Echter appels van dezelfde meetset welke bij 10°C bewaard werden vertoonden een slechter verband. Het lijkt er dus op dat de temperatuur effect heeft op het verband tussen de F_v/F_m en de hardheid. Het is daarom wenselijk metingen te verrichten waarbij meetlichtintensiteit, meettijd en bewaartemperatuur als factoren worden ingevoerd.

5.2.3 Proefopzet Cox

Cox appels uit de CA-bewaring (0.7% CO2-1.2% O2) werden bij resp. 4, 10 en 20°C geplaatst verpakt in polyethyleen zakken om een constante r.v. te handhaven. Op een aantal relevante

tijdstippen per bewaartemperatuur (zie schema) werd de chlorofylfluorescentie bij 20°C gemeten. De metingen bij een aantal lichtomstandigheden (6, 17 en 30 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$) werden uitgevoerd nadat de appels 30 minuten bij een lichtintensiteit van 400 lux waren geincubeerd. Bij iedere meetlichtintensiteit werd na 1, 2, en 3 minuten een verzadigende lichtpuls gegeven en vervolgens werd de meting uitgevoerd. Na minimaal 25 minuten donkerincubatie werd tenslotte de donkerfluorescentie gemeten.

De fluorescentie werd steeds bepaald aan de groene zijde van de vrucht. De lichtfluorescentie, donkerfluorescentie, lichtreflectie (Minolta meting) en penetrometerwaarden werden op dezelfde plek bepaald. Per meetset werden steeds 10 appels gebruikt waarvan de data ook individueel werden opgeslagen. De appels van iedere bewaartemperatuur werden 1 dag bij 20°C geplaatst voorafgaande aan de meting.

Bij de dataverwerking zijn alle variabelen (ook originele meetwaarden van de licht-en donkerfluorescentie) onderling, maar ook met de penetrometerwaarden vergeleken. De meetwaarden welke ogenschijnlijk het beste verband vertoonden met de stevigheidswaarde zijn getoetst via lineaire en multiple regressie. De samenhang tussen de meetwaarden is vergeleken tot het moment dat de penetrometerwaarde een niveau bereikt had wat voor praktische doeleinden niet meer interressant was.

Schema beoordelingstijdstippen Cox'-appels

	aantal dagen na startmeting														
temp	start	3	7	10	14	17	21	24	28	35	42	49	56	63	70	87
20°C	x	x	x	x	x	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-
10°C	x	x	-	x	-	x	-	x	-	x	x	x	x	x	-	-
4°C	x	-	-	x	-	-	-	x	-	x	-	x	-	-	x	x

5.2.4 Proefopzet Elstar

Ook appels van dit ras, uit CA-bewaring (2% CO2-1.2% O2), werden bewaard in resp. 20, 10 en 4°C en volgens onderstaand schema gemeten. Meting onder lichtomstandigheden gebeurde bij 6 en 17 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, beide na een meetlichtperiode van 1 minuut. De donkerfluorescentie werd gemeten als bij het ras Cox, dus bij 20°C. Ook de incubatietijden voor licht en donker waren hetzelfde. Toegevoegd aan het schema was bij licht- en donkerfluorescentie de continumeting. Eén set appels (10), bij iedere bewaartemperatuur, werd gedurende de hele proefperiode gevolgd. Iedere meetset bij de destructieve metingen bestond steeds uit 10 appels. De handelwijze qua opwarming van de appels voordat de meting plaatsvond was overeenkomstig met Cox's. De metingen werden ook steeds aan de groene zijde van de vrucht op een vooraf gemerkte plaats verricht.

Schema beoordelingstijdstippen Elstar

	aantal dagen na startmeting													
temp.	start	2	7	9	13	16	21	23	27	30	34	37	44	50	64
20°C	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	-	-	-	-
10°C	x	-	-	x	-	x	-	x	-	x	-	x	x	x	x
4°C	x	-	-	x	-	-	-	x	-	-	-	x	-	x	x

5.2.5 Lichtreflectiemetingen

Kleurmetingen zijn uitgevoerd in combinatie met chlorofylfluorescentiemetingen zodat op dezelfde tijdstippen is gemeten voor zowel Cox's als Elstar. De metingen zijn uitgevoerd met een Minolta chromometer, type CR 200. Bij de metingen werden de L, a en b-waarden geregistreerd. De belangrijkste waarde hierbij is de a-waarde welke de range aangeeft tussen groen en rood. De kleur is altijd op de groene zijde van de vrucht gemeten op dezelfde meetplaats van de chlorofylfluorescentie. Omdat in de praktijk steeds meer mogelijkheden bij de sortering ontstaan om kleur ook on-line te meten zijn directe toepassingsmogelijkheden aanwezig.

5.3 Resultaten en Discussie

5.3.1 Chlorofylfluorescentie

Allereerst is nagegaan (bij Cox) onder welke condities de Phi2 metingen het beste uitgevoerd konden worden. In figuur 15 is het verloop van de Phi2 weergegeven bij 20°C. Duidelijk is te zien dat de belichtingsintensiteit de belangrijkste factor is bij het bepalen van de hoogte van de Phi2, waarbij een toename in de intensiteit leidt tot een duidelijke afname in de Phi2. Binnen één belichtingsintensiteit is te zien dat de verlenging van de duur van de belichting tot een kleine daling van de Phi2 leidt. Hetzelfde beeld is zichtbaar bij 10°C (fig. 16), zij het dat alle lijnen veel minder stijl verlopen. Bij 4°C (figuur niet getoond) lopen alle lijnen min of meer horizontaal. Op basis van deze resultaten lijkt een belichtingsintensiteit van 30 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ in combinatie met een belichtingsduur van 1 minuut geschikt om bij Cox gebruikt te worden bij vergelijking met andere parameters. Onder deze meetcondities is de verandering van de Phi2 het grootst, met name in het gebied dat qua stevigheid het belangrijkst is.

Voor Elstar waren de optimale meetomstandigheden 17 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ bij een belichtingsduur van 1 minuut. In de figuren 17-22 is het verloop tijdens de nabewaring weergegeven (bij 3 verschillende temperaturen) van de volgende parameters: F_v/F_m, Phi2 (condities zoals hierboven vermeld), penetrometer en kleur. Ieder punt is het gemiddelde van 10 monsters. De data van de penetrometer en kleurmetingen zijn gedeeld door resp. een factor 10 en 20. Bij 20°C werd voor beide rassen een duidelijk verband gevonden tussen de chlorofylfluorescentie parameters en de stevigheid, gemeten met de penetrometer (fig. 17 en 20). Bij 10°C was er eveneens een verband (fig. 18 en 21).

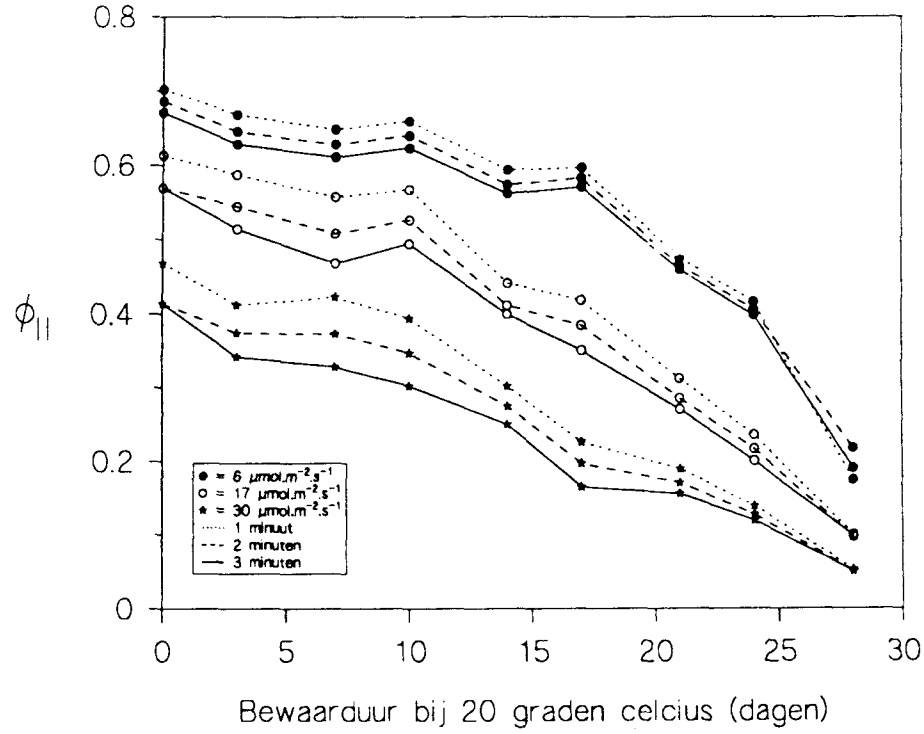


Fig. 15: **Invloed van belichtingsintensiteit en belichtingsduur op verloop van de Phi2 tijdens nabewaring van Cox bij 20°C**

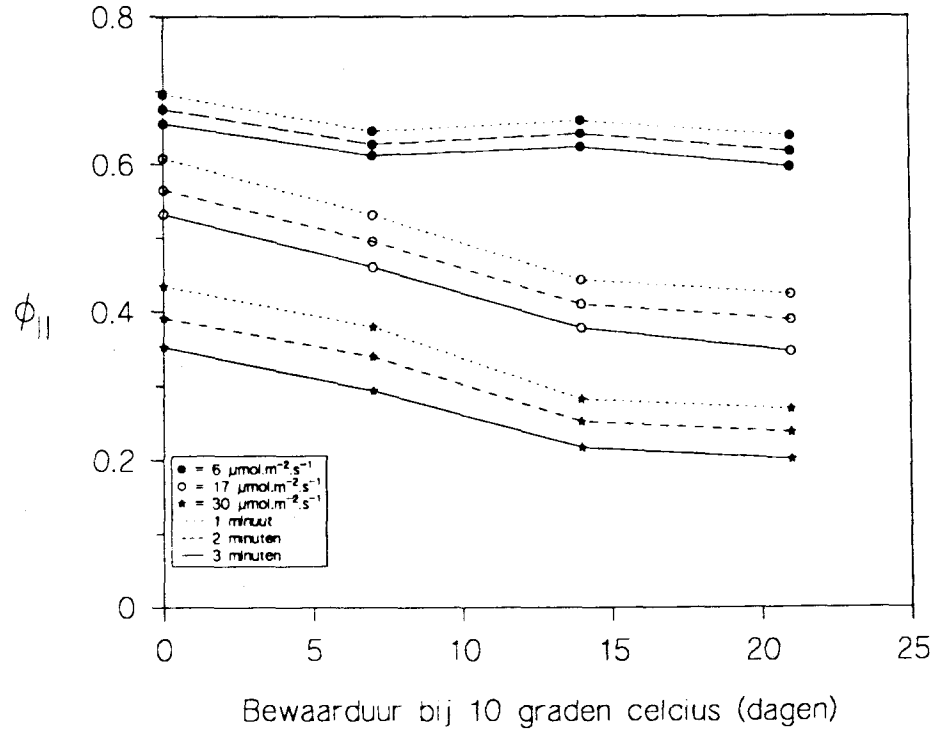


Fig 16: **Invloed van belichtingsintensiteit en belichtingsduur op verloop van de Phi 2 tijdens nabewaring van Cox bij 10°C**

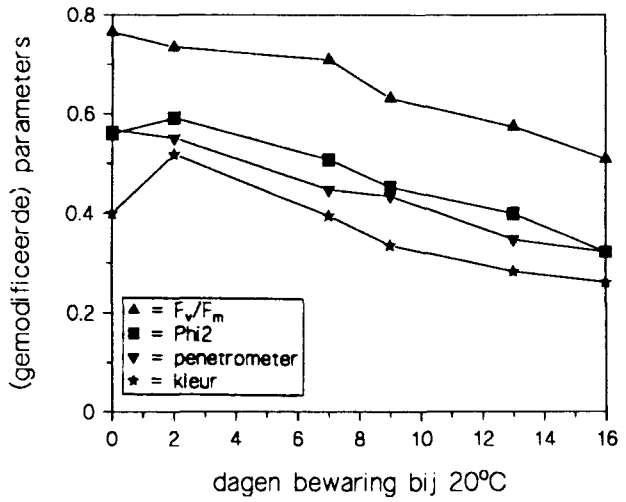


Fig. 17: Verloop parameters bij 20°C (Elstar)

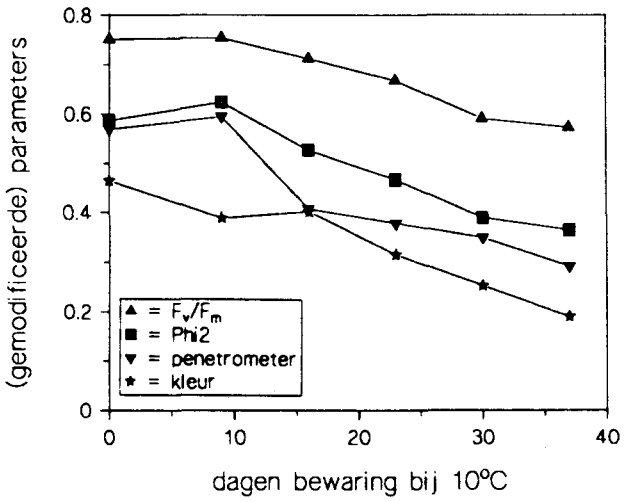


Fig. 18: Verloop parameters bij 10°C (Elstar)

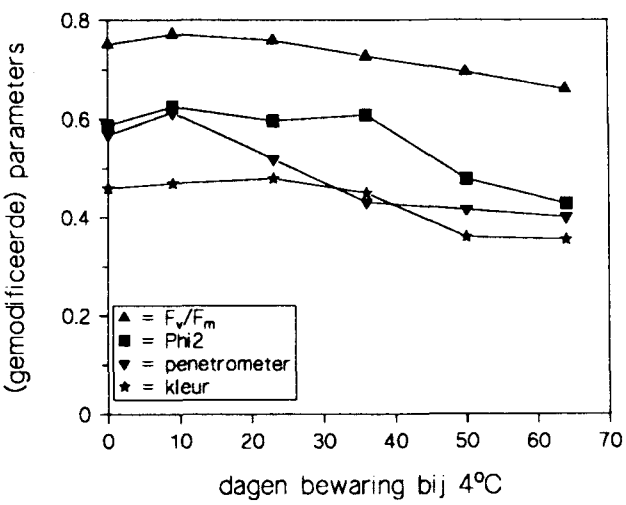


Fig. 19: Verloop parameters bij 4°C (Elstar)

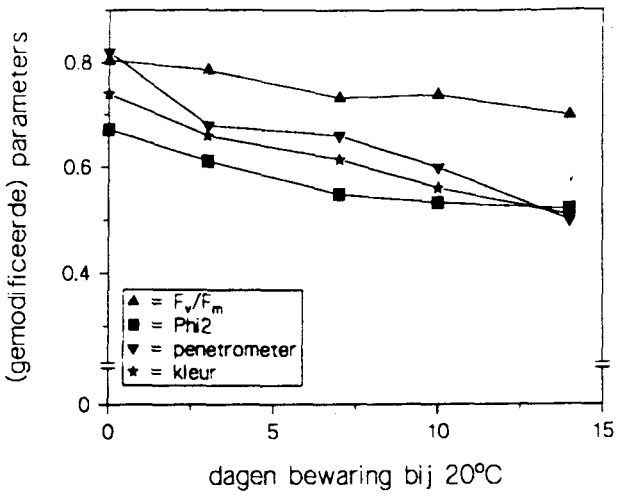


Fig. 20: Verloop parameters bij 20°C (Cox)

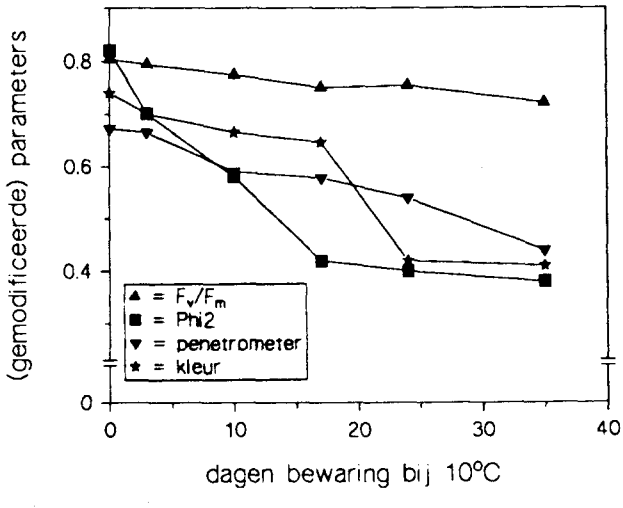


Fig. 21: Verloop parameters bij 10°C (Cox)

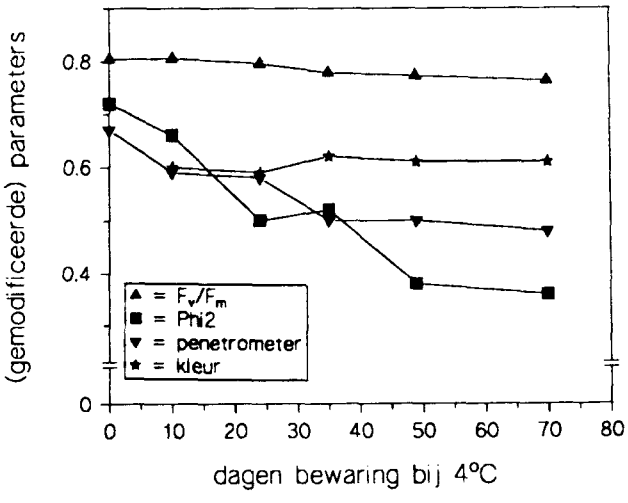


Fig. 22: Verloop parameters bij 4°C (Cox)

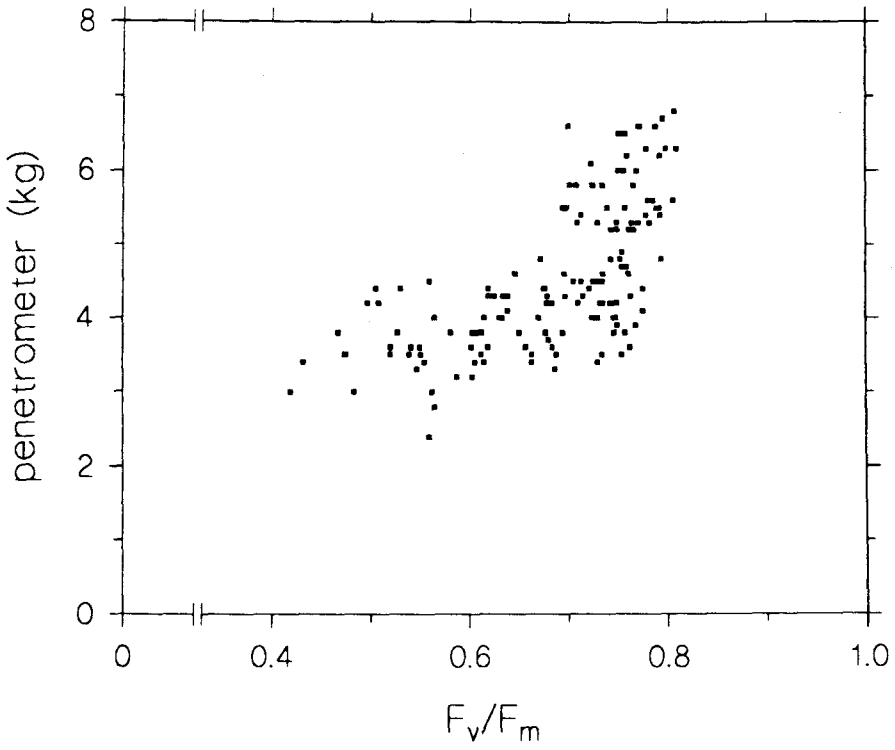


Fig. 23: Verband tussen F_v/F_m en penetrometerwaarden bij Elstar (alle data van 4, 10 en 20°C)

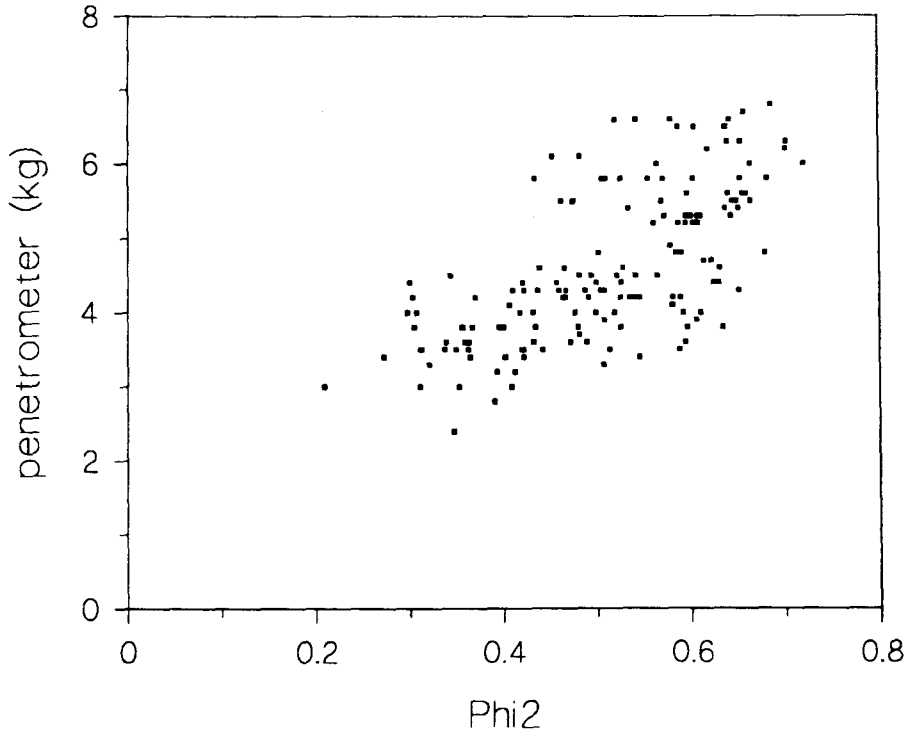


Fig. 24: Verband tussen Phi2 en penetrometerwaarden bij Elstar (alle data van 4, 10 en 20°C)

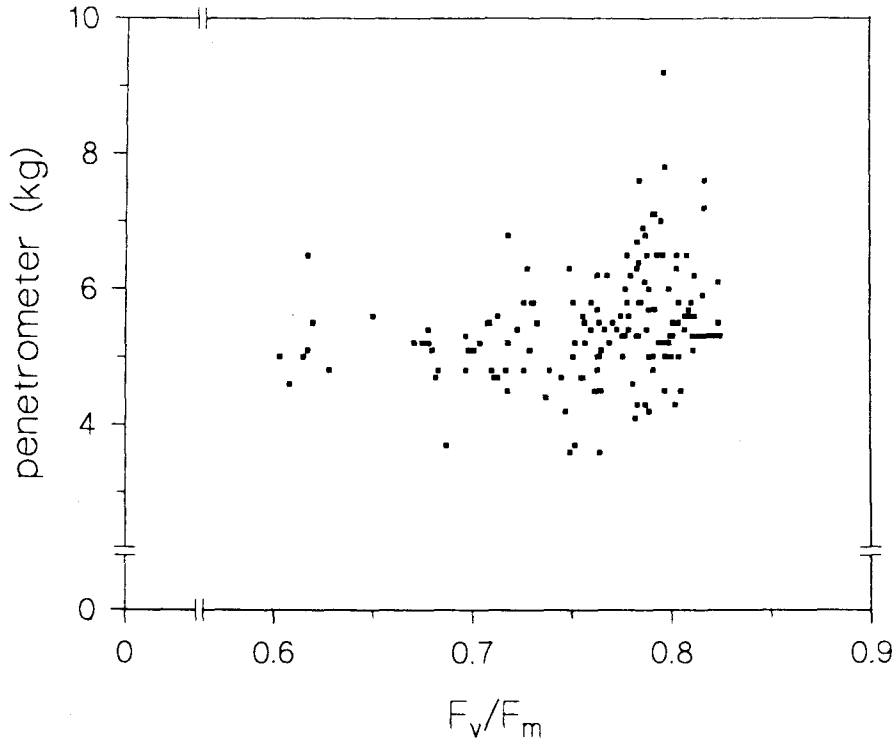


Fig. 25: Verband tussen F_v/F_m en penetrometerwaarden bij Cox
(alle data van 4, 10 en 20°C)

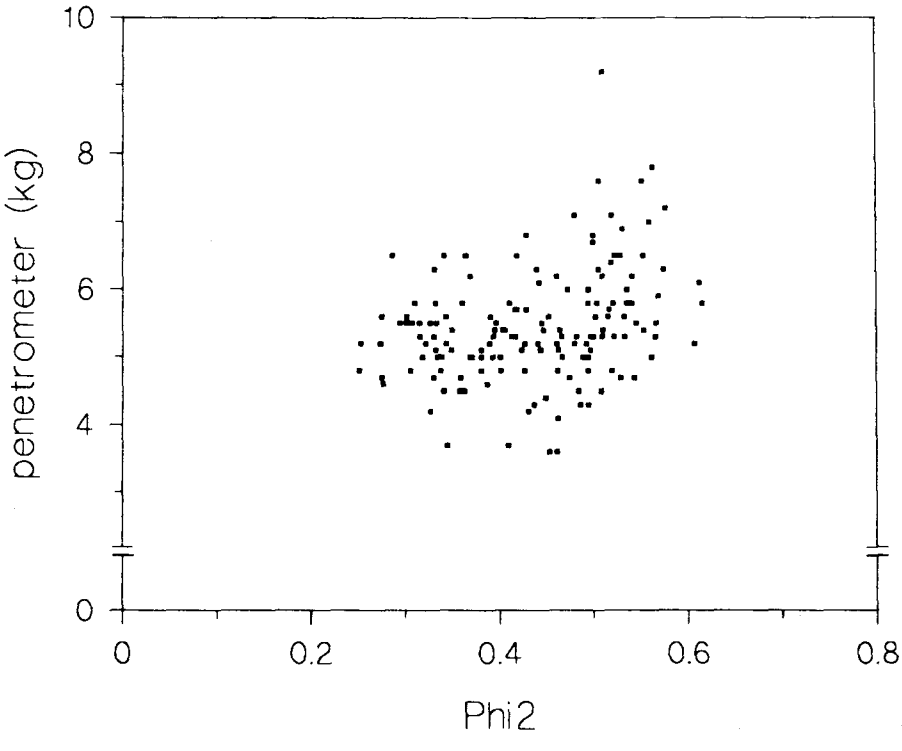


Fig. 26: Verband tussen Phi2 en penetrometerwaarden bij Cox
(alle data van 4, 10 en 20°C)

Dit in tegenstelling tot vruchten die bij 4°C na-bewaard werden. Onder deze condities was het duidelijk dat de fluorescentie parameters nauwelijks veranderingen vertoonden tijdens de initiële stevigheidsafname (fig. 19 en 22). Enkel bij verregaand stevigheidsverlies, in het gebied dat voor de praktijk oninteressant is, vindt een daling plaats van de fluorescentie parameters. Bovenstaande gegevens hebben betrekking op de gemiddelde meetwaarde per meetset van 10 appels. Omdat je altijd te maken hebt met een zekere binnenmonstervariatie zijn in de figuren 23-26 de meetwaarden per vrucht weergegeven voor beide rassen. Hierbij zijn de meetwaarden van alle bewaartemperaturen samengenomen. Uit de figuren blijkt dat er bij Cox vrijwel geen verband is tussen de stevigheid en de fluorescentieparameters (fig. 25 en 26). Bij Elstar daarentegen is wel sprake van enig verband, hoewel duidelijk is dat de monstervariatie redelijk groot is (fig. 23 en 24). Dit beeld wordt bevestigd bij de statistische analyse van alle data (per ras).

Tabel 4: Percentage verklaarde variantie penetrometerwaarden door de F_v / F_m, Phi2 en kleur van Elstar appels bewaard bij verschillende temperaturen.

bewaartemp. (°C)	F_v / F_m	Phi2	grondkleur
4	16.4	21	1.5
10	40.5	44.5	4.0
20	61.7	60	23.6
totaal (alle temp.)	42.5	44	10.9

Tabel 5: Percentage verklaarde variantie penetrometerwaarden door de F_v / F_m, Phi2 en kleur van Cox appels bewaard bij verschillende temperaturen.

bewaartemp. (°C)	F_v / F_m	Phi2	grondkleur
4	0.2	22.4	6.8
10	8.4	16.4	9.3
20	13.9	18.4	13.9
totaal (alle temp.)	9.2	22.3	14.3

Tabel 4 toont voor Elstar dat het percentage verklaarde variantie groter wordt bij een hogere bewaartemperatuur. Bij 20°C is deze 60%. Wanneer allen temperaturen worden samengevoegd is dit percentage nog maar 44%. Bij Cox (tabel 5) blijkt dat de percentages verklaarde variantie nog veel lager liggen dan bij Elstar.

5.3.2 Lichtreflectiemetingen

De kleurmeting als mogelijke voorspeller of indicator voor meligheid en stevigheid lijkt ook weinig geschikt. Overeenkomstig met de chlorofylfluorescentie (zie tabel 4 en 5) is het percentage verklaarde variantie, voor zowel Cox's als Elstar appelen, laag. Hierbij speelt een rol op welke wijze de afleving tot stand gekomen is. Afleving bij een lage bewaartemperatuur geeft een lager percentage verklaarde variantie dan bij een hogere bewaartemperatuur. Hieruit kan worden geconcludeerd dat stevigheidsverlies en kleurverandering processen zijn die grotendeels onafhankelijk van elkaar verlopen.

5.4 Conclusies

Uit de resultaten blijkt duidelijk dat het verband tussen fluorescentie, gemeten als F_v/F_m en Phi2, en stevigheid bij Elstar en Cox sterk afhankelijk is van de temperatuur tijdens de nabewaring. De beste relatie tussen de penetrometer en de beide fluorescentieparameters wordt bij een relatief hoge bewaartemperatuur (20°C) gevonden. Het lijkt er dus sterk op dat het fotosynthese apparaat in de schil van appels die bij een lage temperatuur rijpen (en zacht worden) vrijwel intact en functioneel blijft. Bij stijging van de bewaartemperatuur vindt er wel functieverlies plaats tijdens de rijping. Dit gaat dan, toevallig, samen met stevigheidsverlies. Aangezien we in het handelskanaal te maken hebben met produkt afkomstig van verschillende herkomsten, bewaartemperaturen (relatief lage temperatuur!), etc. is het gebruik van fluorescentiemetingen als vervanging van de penetrometer dan ook niet erg waarschijnlijk.

Voor beide rassen is de grondkleurmeting ook weinig geschikt om kwaliteitsverschillen op basis van textuur te kunnen detecteren. De oorzaak is waarschijnlijk dat kleurverandering en textuurverandering processen zijn die onafhankelijk van elkaar verlopen.

6. NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (NMR)

6.1 Inleiding

De werking berust op het principe dat protonen van water in een sterk magneetveld verschillende energieniveau's kunnen bezetten. De snelheid waarmee deze protonen terugvallen naar hun oorspronkelijke energieniveau (relaxatietijd, T2) is een maat voor de gebondenheid van water. Bij het water wat gebonden is aan vaste bestanddelen in het weefsel valt het energieniveau van de protonen sneller terug. Een belangrijke observatie tijdens rijping van appelweefsel op microscopisch niveau is dat een deel van de celwand (middenlamel) afgebroken wordt. Dit resulteert in een situatie waarbij op celwandniveau een lossere structuur ontstaat. Het is voor te stellen dat als gevolg hiervan de gebondenheid van water aan celwandcomponenten toeneemt tijdens het verouderingsproces. Op basis van deze hypothese is onderzoek verricht naar de relatie tussen de gebondenheid van water, gemeten via NMR, en de veroudering van de vrucht.

6.2 Materiaal en Methoden

Bij Elstar en Cox's appels is aan een meetset van 30 appels de gebondenheid van het water bepaald. De meetset, bestaande uit 30 appels per ras, had een grote variatie aan rijpheid, gerealiseerd door appels bij diverse temperaturen te plaatsen voorafgaande aan de metingen. De gebondenheid van het water werd bepaald aan een monster uit de vrucht. Met een kurkboor van 20 mm werd een verticaal monster genomen uit de vrucht op het scheidingsvlak van de blos-zijde en de niet blos-zijde. De metingen werden verricht met een hoge-resolutie NMR (400 MHz), gelocaliseerd op het RIKILT. De penetrometerwaarde werd bepaald direkt naast de monsternameplaats voor de NMR. Analyse van de resultaten werd via multi exponentiële analyse gedaan. Hiermee kan het aantal relaxatietijden en de bijbehorende hoeveelheden vrij en gebonden water worden bepaald. Uiteindelijk kunnen de NMR resultaten vergeleken worden met de stevigheidsmetingen.

In een aanvullend onderzoek met beide rassen, werd aan een meetset van 30 appels, met een grote rijpheidsvariatie, aan intacte vruchten de gebondenheid van water via NMR meting vastgesteld. dit gebeurde met een wide bore imaging system, werkend bij 200 MHz. De rijpheidsvariatie werd gerealiseerd door 5 vruchten per set respectievelijk 2 weken en 1 week voor de meetdatum bij 20°C, 10°C en 4°C te plaatsen in afgesloten pastic zakken. Hierdoor was het hele scala van stevig tot zacht binnen de meetset aanwezig. Daarnaast werden appels direkt uit de CA-bewaring gemeten na 1 dag opwarming. Als referentiemetingen werden CO2- en ethyleenproduktie, chlorofyl-fluorescentie (donker + lichtmeting), penetrometerwaarde, Instronwaarde, en lichtreflectie vergeleken. Alle metingen werden verricht aan individuele appels.

6.3 Resultaten en Discussie

Uit de resultaten met de 400 MHz NMR bleek dat er 2 verschillende relaxatietijden meetbaar waren: een korte relaxatietijd (T2-kort) van ca. 75 ms en een langere relaxatietijd (T2-lang) van ca. 185 ms. Beide T2's bleken vrijwel niet afhankelijk te zijn van de stevigheid. Er werden echter wel duidelijke verschillen gevonden in de bij de beide T2's behorende waterhoeveelheden, waarbij opgemerkt moet worden dat de T2-kort het gebonden water betreft en de T2-lang het vrije water.

Voor het ras Elstar werd een vrijwel lineair verband gevonden tussen de stevigheid en beide T2's (fig. 27). Tijdens het stevigheidsverlies werd de hoeveelheid gebonden water groter, ten koste van een, even grote, afname van de hoeveelheid vrij water. De totale hoeveelheid water, gemeten met de NMR, blijft ongeveer constant.

Voor het ras Cox was het verband veel minder (fig. 28). Dit is zeer waarschijnlijk te wijten aan de onbetrouwbaarheid van de stevigheidsmeting (penetrometer) bij dit ras. Wanneer de appels in groepen ingedeeld worden op basis van de bewaarcondities (CA-bewaring, 2 weken 10°C, 2 weken 20°C) is na vergelijking van de groepsgemiddelden een duidelijke toename van de hoeveelheid gebonden water tijdens de ontwikkeling zichtbaar. Voor Elstar is dit te zien in fig. 29 en voor Cox in fig. 30.

Fig. 27: Verband tussen penetrometerwaarden en T2 bij Elstar

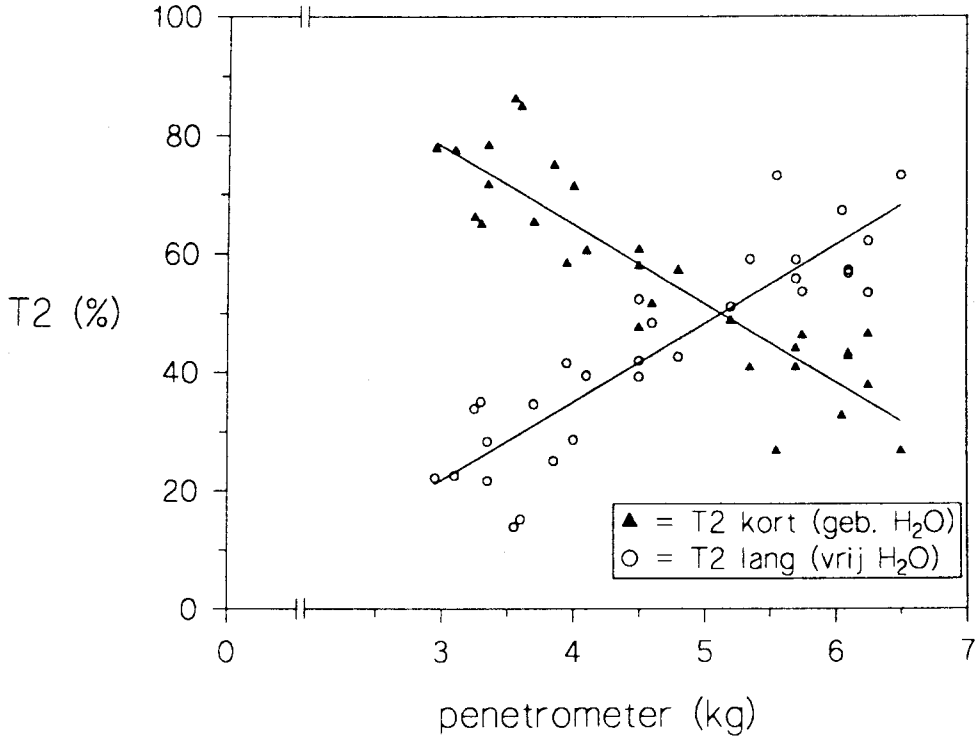
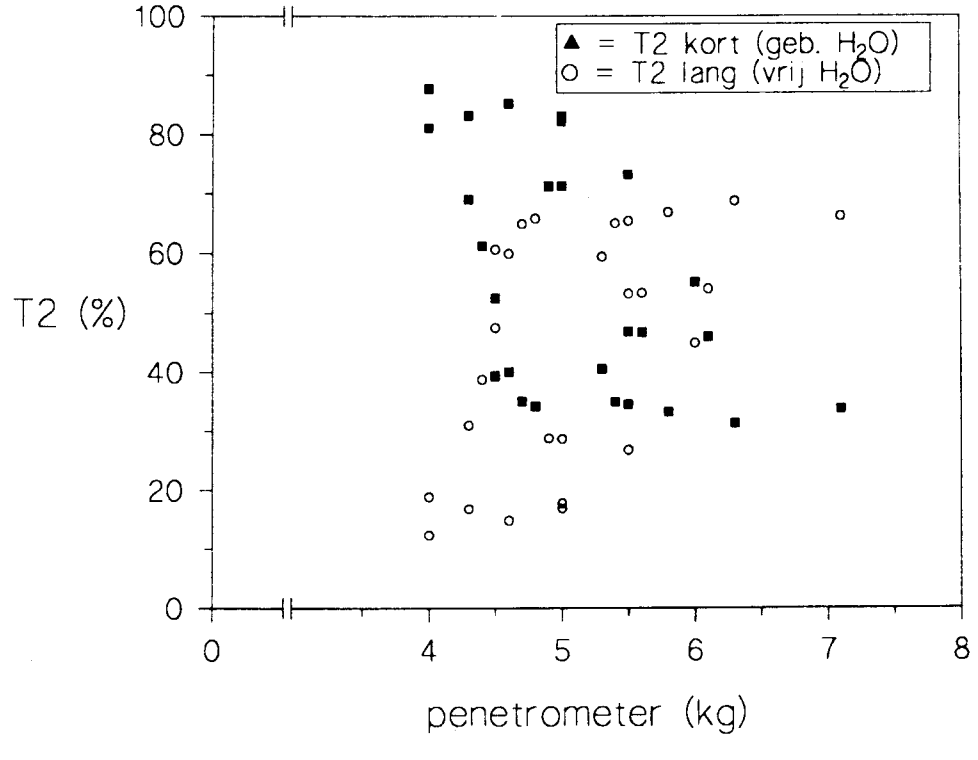


Fig. 28: Verband tussen penetrometerwaarden en T2 bij Cox



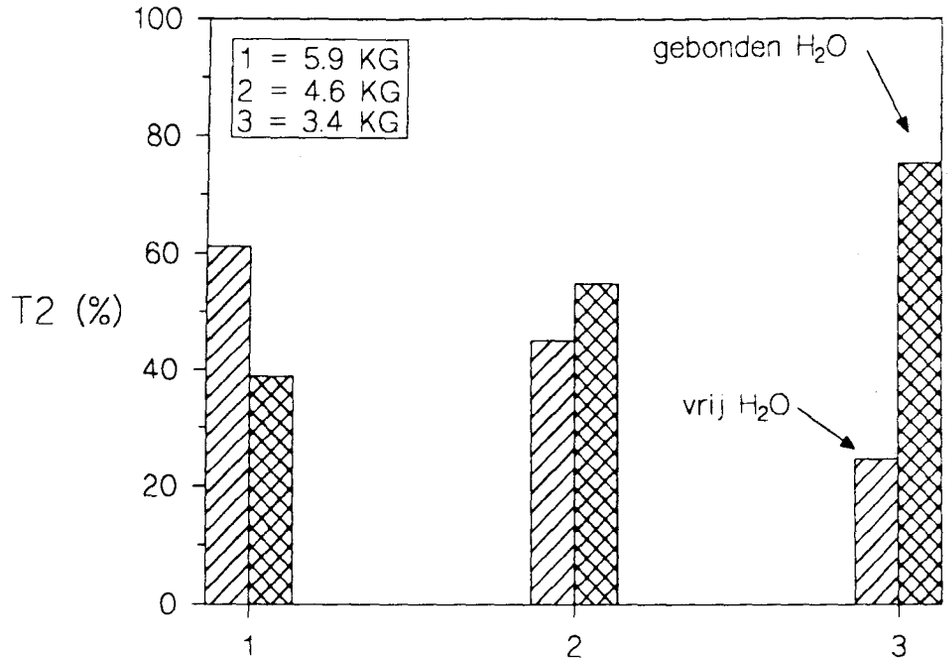


Fig. 29: Indeling gemiddelde T2 op basis van herkomst Elstar appelen. 1 = CA-bewaring, 2 = 10°C nabewaring, 3 = 20°C nabewaring. Gemiddelde hardheid per klasse van 10 appelen zoals aangegeven.

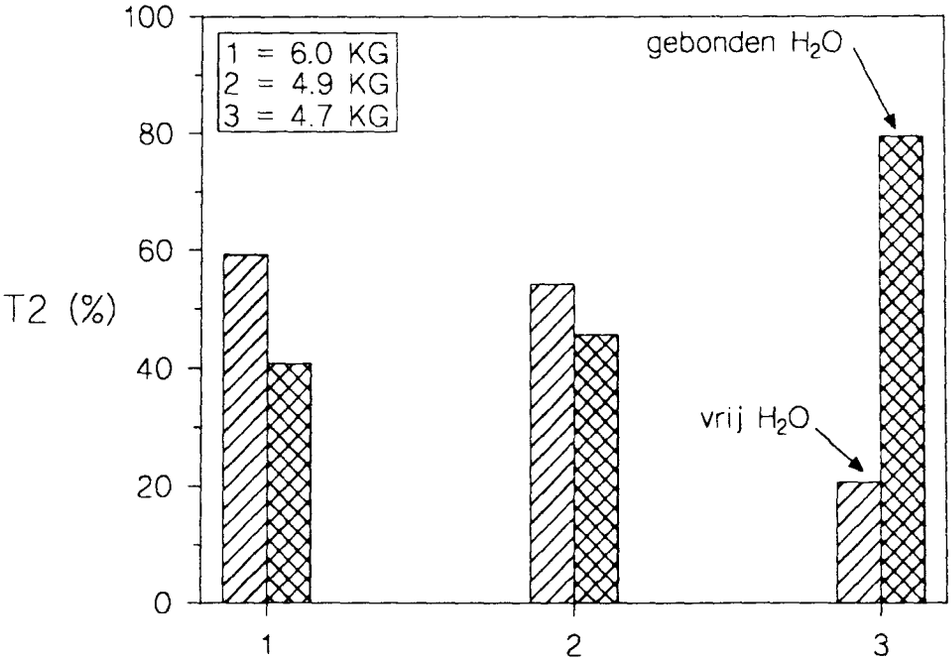


Fig. 30: Indeling gemiddelde T2 op basis van herkomst Cox appelen. 1 = CA-bewaring, 2 = 10°C nabewaring, 3 = 20°C nabewaring. Gemiddelde hardheid per klasse van 10 appelen zoals aangegeven.

Bovenstaande experimenten zijn verricht met appels welke 2 maanden in de CA-bewaring hebben gelegen. Het experiment is na 6 maanden CA-bewaring nog een keer herhaald (resultaten niet getoond). Deze keer kon er vrijwel geen relatie worden aangetoond tussen NMR en penetrometer. Het is mogelijk dat er een effect is van de bewaarduur of van de mate van vochtverlies op het verband tussen de NMR metingen en de stevigheid.
De NMR experimenten met Elstar en Cox appels waarbij bij een lage veldsterkte werd gemeten hebben nog geen resultaat opgeleverd. Theoretisch gezien zou de meting bij een lagere veldsterkte juist gevoeliger moeten zijn. Voor een deel ligt het probleem bij de analyse van het NMR signaal. Doordat de meting gevoeliger is worden er meerdere watersignalen behorend bij meerdere cellulaire compartimenten (o.a. celwand, vacuole, cytoplasma) opgepikt. Tot nu toe is er nog geen geschikte analysemethode ontwikkeld om het signaal in z'n oorspronkelijke componenten te ontleden.

6.4 Conclusies

Uit de resultaten met de NMR blijkt dat er perspectieven zijn om de kwaliteit van appels te meten met behulp van relaxatietijd metingen. Een belangrijk voordeel is dat, in ieder geval voor het ras Elstar, het verband tussen de stevigheid en de hoeveelheid gebonden (en vrij) water over het gehele traject lineair is. Duidelijk is echter ook dat onderzoek moet worden verricht naar de invloed van factoren zoals bewaarduur, -omstandigheden en de mate van vochtverlies tijdens bewaring op de gevonden relatie. Aangezien in een mogelijke toepassingsfase, zowel uit practische als financiële overwegingen, alleen bij een lage veldsterkte zal kunnen worden gemeten, verdiend het aanbeveling om ook onderzoek onder deze condities te verrichten.

7 OVERIGE MEETMETHODEN

7.1 Akoestische resonantie

In het kader van een oriënterend onderzoek op het Rikilt (ir. H. Oortwijn, rapport 90.12) is nagegaan of er mogelijkheden zijn om de rijpheid van appels met geluidstrillingen te bepalen, er van uitgaande dat de frequentie waarbij lichamen resoneren afhankelijk is van de stevigheid van deze lichamen. Met een sinusgenerator werden vruchten in trilling gebracht, waarna de trilling met behulp van een laservibrometer werd geregistreerd. Van enkele rassen (Alkmene, Elstar) is in de loop van de rijping het resonantiegedrag bepaald. De belangrijkste resultaten uit het onderzoek waren dat er een aanzienlijke verschuiving naar lagere waarden van de resonantiefrequenties werd geconstateerd en dat er een duidelijk verschil in de resonantiespectra is tussen onrijpe en rijpe vruchten. Verder zijn er aanwijzingen dat de grootte van de appel het resonantiegedrag beïnvloed. De resultaten uit het betreffende onderzoek zijn niet zodanig dat er al een uitspraak gedaan kan worden over de toepasbaarheid van deze methode in de praktijk, maar rechtvaardigen wel het doen

van verder onderzoek. Hierbij is echter meer theoretische kennis vereist over de verschillende trillingswijzen die in een appel optreden en over de interferenties hier tussen.

7.2 Vibration Respons Measurement

Recentelijk is door dr. K. Peleg (Israël) een meetopstelling ontwikkeld waarmee de stevigheid van o.a. avocado's en appels bepaald zou kunnen worden. In onderzoek in de VS werd een goede correlatie gevonden tussen deze methode en instrumentele stevigheidsmetingen. Deze methode is gebaseerd op het trillingsgedrag van een door een vallende appel in trilling gebracht plaatje. Dit principe is op zichzelf niet nieuw maar de verbetering zou met name zitten in de methode waarmee het trillingspatroon ontleed wordt. In eerste instantie zou er op het ATO, via een sorteerfabrikant, een prototype geplaatst worden om onderzoek mee te verrichten. Echter de fabrikant heeft afgezien van de methode omdat de technische uitvoering en toepassing op de sorteerinstallatie (nog) te ingewikkeld was.

7.3 Electronic Pressure Tester (EPT)

Inleiding:
Recentelijk is er in Canada een soort van semi-geautomatiseerde versie van de penetrometer ontwikkeld, de zogenaamde Electronic Pressure Tester (EPT). Dit ontwerp is o.a. in gebruik bij het Europese onderzoekscentrum van het Amerikaanse ministerie van landbouw (USDA) in Rotterdam. In samenwerking met de USDA, CBT en het IKC (fruit) is op beperkte schaal onderzoek gedaan naar de mogelijkheden van de EPT als alternatief voor de penetrometer [17].

Proefopzet:
In het onderzoek is bekeken hoe betrouwbaar de penetrometer en de EPT zijn in vergelijking met de Instron-stevigheidsmeting. De Instronmeting in dus als objectieve referentie genomen. De Instronmeting vond plaats met een op het PFW gehanteerde methode waarbij een plunjer in een geschild stukje van de verder intacte vrucht wordt gedrukt. De methode is dus vergelijkbaar met de penetrometermeting, met het verschil dat de Instronmeting geheel geautomatiseerd verloopt. Bij de rassen Cox, Elstar en Jonagold is van een groot aantal appels de hardheid gemeten door in totaal 4 personen. Bij elke appel zijn de drie methoden toegepast door in de grondkleur op enige afstand van elkaar drie metingen te verrichten met in het midden de meting van de Instron. Door de vruchten van drie rassen te betrekken van twee bedrijven en te plukken op twee tijdstippen werd een grote variatie in hardheid bereikt (4-8 $kg.cm^{-2}$) wat voor de algemene geldigheid van de conclusies van belang is.

Resultaten.

Figuur 31 geeft het verband weer tussen de EPT en penetrometerwaarden enerzijds en de Instronwaarden (referentiemethode) anderzijds. De resultaten zijn gemiddeld over de drie rassen omdat uit statistische analyse bleek dat er geen significante verschillen waren tussen de rassen onderling. De vergelijking tussen penetrometer en EPT valt in twee opzichten in het voordeel van de penetrometer uit. De data liggen het dichtst bij die van de Instron. In de figuur is dit te zien omdat de gemeten lijn dichter bij de gestippelde 45° ligt. In de tweede plaats liggen de meetpunten voor de penetrometer dichter om de lijn heen.

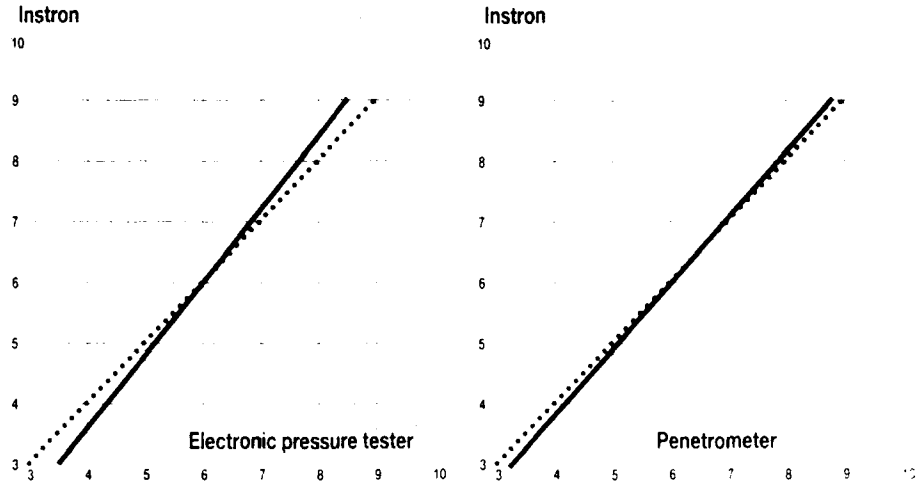


Fig. 31: Verband tussen hardheid ($kg.cm^{-2}$), gemeten met de penetrometer of EPT, en de hardheid gemeten met de instron. De 45° lijn is gestippeld, en geeft de ideale situatie aan. In beide delen van de figuur is ook de lijn (doorgetrokken) gegeven die het verband met de instron waarde weergeeft.

Tenslotte is gekeken wat de invloed van de proefpersonen is op de meetresultaten. Uit de resultaten bleek duidelijk dat de onderlinge verschillen tussen personen bij de penetrometer niet groter zijn dan bij de twee andere methoden.

Conclusies.

Bij grote hoeveelheden metingen kan een apparaat als de EPT een alternatief zijn voor de penetrometer omdat de meetresultaten automatisch omgerekend kunnen worden in bv.Instron of penetrometer eenheden en omdat de gegevens automatisch worden gemiddeld en uitgeprint.

8 EINDCONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

De resultaten van het onderzoek naar de geschiktheid van objectieve meetmethoden zijn in de onderstaande tabel samengevat op basis van hun verband met de stevigheid/meligheid.

MEETMETHODE	VERBAND MET STEVIGHEID/MELIGHEID
Instron/vochtuittreding	+/+
penetrometer	+
drogestof	-
titreerbaar zuur	+/-
katalase	-
NIRS	-
chlorofylfluorescentie	+/-
kleurmeting	-
NMR	+
Electronic Pressure Tester	+
Akoestische Resonantie	+/-
Vibration Respons Measurement	n.v.t.

Van de meetmethoden die in dit onderzoek zijn uitgetest is gebleken dat van de destructieve metingen de Instron (stevigheids)meting in combinatie met de vochtuittredingsmethode de sensorische stevigheid en meligheid het beste kan voorspellen. Dit geldt echter alleen voor het ras Elstar. Deze methode is een belangrijke verbetering vergeleken met de penetrometer methode, ook wat betreft de objectiviteit van de methode. Voor de praktijk is de methode door z'n lage meetsnelheid en te uitgebreide monstervoorbehandelingen niet erg aantrekkelijk. Wat dit betreft is het voor de praktijk aantrekkelijker om, als tussenoplossing, te kiezen voor de EPT methode.
Chlorofylfluorescentie als niet-destructieve meetmethode bleek niet bestand tegen de factor bewaartemperatuur en is als zodanig als alternatieve methode afgevallen. Het is echter goed voor te stellen dat deze methode wel bruikbaar is als een soort monitoring methode om kwaliteitsveranderingen van fruit te volgen dat zich onder standaard condities bevindt (bv. Controlled Atmosphere bewaring).

De mogelijkheid om via de kleur stevigheid te detecteren is zeer aantrekkelijk omdat er directe toepassingsmogelijkheden zijn in de praktijk. Echter het verband met de stevigheid is, bij zowel Elstar als Cox's, dusdanig laag dat een betrouwbare practische toepassing onmogelijk lijkt. Bij sortering van partijen fruit op bv. kleursorteerders kan van de kleurmeting alleen gebruik gemaakt worden als voor de partij eerst een kleurstandaard wordt vastgesteld in relatie met de stevigheid.
Van de uitgeteste niet-destructieve methoden is tot dusver gebleken dat de NMR methode het meeste perspectief biedt. Deze conclusie is met name gebaseerd op experimenten met Elstar appels welke 2 maanden onder CA-condities bewaard waren. Hierbij is een goed verband gevonden tussen de penetrometerwaarden en de mate van gebondenheid van water, gemeten als T2 met de NMR. Het verband bij Cox is minder duidelijk, maar dit is waarschijnlijk meer het gevolg van de onbetrouwbaarheid van de penetrometer als stevigheidsmeter bij dit ras. Belangrijk is echter dat de gebondenheid van water tijdens het aflevingsproces bij beide rassen belangrijk toeneemt. De NMR methode lijkt dus aan een aantal, in het begin van het onderzoek opgestelde, criteria te voldoen: (in potentie) niet-destructief, objectief en redelijk snel. Duidelijk is echter ook dat er meer onderzoek moet plaatsvinden waarbij aandacht besteedt moet worden aan de invloed van factoren zoals de mate van vochtverlies tijdens de bewaring, bewaarduur, oogsttijdstip en herkomst (calciumgehalte bv.) op het verband tussen stevigheid en de gebondenheid van water bij verschillende appelrassen. Tevens moet gekeken worden in hoeverre het mogelijk is om dezelfde metingen te verrichten bij een lage veldsterkte. Wanneer dit lukt ligt de weg open naar het gebruik van kleinere, goedkopere en beter handelbare NMR opstellingen en kan gedacht worden aan een mogelijke practische toepassing.

9. LITERATUUR

[1] Tijskens, L. en van Schaik, A.C.R. (1988) Onderzoek meligheid Cox. Intern rapport Sprenger no. 347

[2] Szczesniak, A.S. (1987) Correlating sensory with instrumental texture measurements. An overview of recent developments. Journal of Texture Studies 18, 1-15

[3] Abbott, J.A., Watada, A.E. en Massie, D.R. (1984) Sensory and instrument measurement of apple texture. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109, 221-228

[4] Abbott, J.A., Massie, D.R. en Watada, A.E (1982) The use of a computer with an Instron for textural measurements. Journal of Texture Studies 13, 413-422

[5] Bramlage, W.J. (1983) Measuring fruit firmness with a penetrometer. Posth. Pom. Newsl. 1, 5-9

[6] Frankhuizen, R. (1988) Ontwikkeling methoden van onderzoek voor voedings- en voedermiddelen met behulp van NIRS. Rikilt-DLO Rapport nr. 88.66

[7] Tusveld, M.A.H. en Frankhuizen, R. (1991) Onderzoek naar de meligheid en stevigheid bij appelen; Tussenrapportage NIRS. Rikilt-DLO Rapport nr. 91.06

[8] Frankhuizen, R. en van Munsteren, A.J. (1987) Literatuuronderzoek naar niet-destructieve metingen bij de kwaliteitscontrole van fruit en groente met behulp van Lichttransmissie. Rikilt-DLO Rapport nr. 87.54

[9] Watada, A.E. (1989) Nondestructive methods of evaluating quality of fresh fruits and vegetables. Acta Horticulturae 258, 321-329

[10] Civille, G.V. en Szczesniak, A.S. (1973) Guidelines to training a texture profile panel. Journal of Texture Studies 4, 204-223)

[11] Abbott, J.A. (1982) Sensory and mechanical measurement of fresh apple texture. PhD Thesis, University of Maryland, College Park

[12] Adriaans, A. (1991) Gebruik van chlorofylfluorescentie als kwaliteitsparameter bij appelen. Stageverslag ATO-DLO, Wageningen

[13] Haalstra, S.R. (1990) Chlorofylfluorescentie, achtergronden en gebruiksmogelijkheden. Wageningen, Stichting voor plantenveredeling.

[14] Hove, L.W.A. van, van Kooten, O. en Snel, J.F.H. (1991) Assesment of stress in plants by analysis of photosynthetic performance. Trends in Analytical Chemistry 10, 26-30

[15] Schijvens, E. en Frankhuizen, R. (1992) Meetmethoden voor de rijpheid van doperwten getoetst. Voedingsmiddelentechnologie 5, 23-26

[16] Schijvens, E.P.H.M., Frankhuizen, R. en van de Vuurst de Vries, R.G. (1988) De sensorische meligheid van doperwten geschat met instrumentele methoden. Rapport no. 2340. Sprenger Instituut

[17] de Jager, A. (1992) Penetrometer voldoet alleen in boorstandaard. Groenten + Fruit, no. 7

10. BIJLAGE

De in deze bijlage vermelde gegevens hebben betrekking op de statistische analyses die gebruikt zijn bij de verwerking van de resultaten.

8.1 Destructieve meetmethoden seizoen '89-'90.

Analyse van de data werd verricht m.b.v. multiple regressie en selectie van variabelen (Genstat procedure RSELECT). Hiermee werd gezocht naar een model dat het beste de sensorische waarnemingen kon voorspellen. Dit werd apart voor stevigheid en meligheid gedaan. Ook werd gezocht naar modellen die bijna even goed waren als het beste.
Dit hoeft niet te betekenen dat één voorspellende variabele genoeg is. Meer aannemelijk is dat er meerdere voorspellende variabelen nodig zijn om de sensorische meligheid en stevigheid voor een groot deel te verklaren.
Om het verband tussen de sensoriek en NIRS te onderzoeken kan multiple regressie niet gebruikt worden omdat de NIRS golflengten sterk met elkaar gecorreleerd zijn. Met behulp van Partial Least Squares (PLS) kan men zulke data wel analyseren. PLS is beschikbaar in het PC pakket Unscrambler en in Genstat. Aangezien binnen Genstat de mogelijkheden beperkt zijn is in beginsel gekozen voor Unscrambler. Een probleem binnen dit pakket is dat grote datasets niet geanalyseerd kunnen worden. Datareductie was daarom noodzakelijk, zowel wat betreft het aantal monsters als wel het aantal golflengten.

8.2 Verband tussen sensoriek en NIRS.

De PLS analyse, om het verband tussen de sensorische metingen en de NIRS metingen te onderzoeken, is toegepast op 2 meetseries Elstar à 36 monsters (serie D en E). Deze selectie moest worden gedaan omdat door het grote aantal golflengtepunten per NIRS spectrum het computergeheugen ontoereikend is om alle data in een keer te analyseren. Bij de analyse in Unscrambler werden twee modificaties uitgeprobeerd:
a) Gewichten: bij het berekenen van de regressiecoefficienten krijgt iedere golflengte een gewicht van 1/s.d. (s.d. = standaard deviatie). Dat wil zeggen, golflengten die meer variatie (tussen de appels) tonen, krijgen minder gewicht bij het berekenen van een model. Dit zou tot een stabieler model leiden.
b) Multiplicative Scatter Correction (MSC): de golflengtegevens worden gecorrigeerd voor verschillen in monster dikte en 'light scattering'.

Het voorspellend vermogen van NIRS werd beoordeeld door middel van 'cross-validatie'. Cross validatie werkt als volgt: de monsters worden in een aantal groepen ingedeeld, bv. in dit geval in 18

groepen van 2 monsters. Groep 1 wordt apart gezet (de validatie set) en een model wordt aangepast aan de resterende 17 groepen (de calibratie set). Dit geschatte model wordt vervolgens gebruikt, samen met de Groep 1 NIRS gegevens, om de meligheid voor de validatie set te voorspellen. Het verschil tussen de werkelijke en de voorspelde meligheid wordt berekend. Deze stappen worden 18 keer herhaald, elke keer met een andere groep als validatie set. Alle monsters worden zowel voor validatie als voor calibratie gebruikt. Het gemiddelde van de kwadraatverschillen tussen voorspelde en werkelijke meligheid (Mean Square Prediction Error, MSPE) kan worden uitgerekend en geeft aan hoe nauwkeurig de voorspellingen zijn. De MSPE kan worden vergeleken met de MSPE voor een model zonder verklarende variabelen, waar de voorspelde validatie-meligheid gewoon het gemiddelde is van de calibratie-meligheid.

Bij de analyse van de NIRS data is iedere 4e golflengte tussen 600 en 2500 nm bewaard. Met deze dataset kan in Unscrambler voor een serie van 36 appels maximaal 9 factoren worden berekend. Daarom werd een tweede dataset gemaakt met het gemiddelde van twee naast elkaar liggende golflengten. Deze dataset heeft dus 238 X-variabelen. In eerste instantie werd de analyse uitgevoerd aan èèn serie van 36 appels (serie E) waarbij gebruik gemaakt werd van de dataset met 476 golflengten (dus 467 X-variabelen). Met deze dataset kunnen maximaal 9 factoren worden berekend. De resultaten zijn in tabel 3 samengevat.

Tabel 3: Pecentage vermindering in MSPE door 'beste' model

Calibratie	98% (9 factoren)
Leverage correction valid.	96% (9 factoren)
Cross-validatie	38% (5 factoren)

Dezelfde analyse werd uitgevoerd, maar met de serie E gegevens uit de tweede dataset van 238 golflengtegemiddelden (238 X-variabelen dus). Hiermee kunnen maximaal 16 factoren worden berekend. Hiermee wordt 100% verklaring van de calibratie variantie verkregen (met 16 factoren), maar cross-validatie met 18 groepen geeft een vermindering van slechts 30% van de MSPE (ook met 16 factoren).
Een cross-validatie werd ook in Genstat uitgevoerd met de penetrometer-waarden. Het model betrof een enkelvoudig regressie model. Het percentage verklaarde variantie van het calibratiemodel 77% (dus minder dan bij NIRS) maar cross-validatie leverde een MSPE van 0.1902, in vergelijking met de MSPE van 0.8436 voor een model zonder verklarende variabelen, een vermindering van 77%.

Tenslotte werd een analyse uitgevoerd met serie D als test dataset. Een model werd aangepast aan de serie E gegevens in de tweede dataset (238 X-variabelen) en het geschatte model werd vervolgens gebruikt om de meligheid van serie D te voorspellen. De MSPE voor serie D werd berekend. De MSPE voor een model zonder verklarende variabelen is 0.9296 (de voorspelde meligheid voor serie D is gewoon de gemiddelde meligheid voor serie E). Het beste NIRS model met 2 factoren geeft een MSPE van 0.6354, terwijl een enkelvoudige regressie met de penetrometer een MSPE van 0.3493 geeft. NIRS geeft dus betere resultaten dan de penetrometer voor een calibratiemodel, maar slechtere resultaten voor cross-validatie met een test dataset. Het is niet duidelijk of dit aan de NIRS gegevens zelf ligt of aan het gekozen model.