

各種フィルム個装したブラッドオレンジ‘タロッコ’における 可視・近赤外分光法によるアントシアニン含量の非破壊計測

伊藤史朗

Non-destructive measurement for anthocyanin content with the individual film packaging on the fruits of
blood oranges ‘Tarocco’ using visible / near infrared spectroscopy

ITOU Fumiaki

要 旨

6種類のフィルム資材で個装したブラッドオレンジ‘タロッコ’の果肉中のアントシアニン含量の非破壊計測精度について、可視・近赤外分光光度計(K-BA100)を用いて果実赤道部から吸光度を取得した後、果肉中のアントシアニン含量を吸光度分析法により測定した。フィルム資材別に検量線を作成したところ、最適波長は724~732nmと決定され、検量線の計測精度は、相関係数(r)が0.929~0.950、標準誤差(SEP)が1.361~1.648、残差平均(Bias)が-0.005~0.247となり、これら数値は無包装の検量線の計測精度と近似した。フィルム資材で個装したブラッドオレンジ‘タロッコ’果実において拡散反射光の724~732nmの波長域を含めて検量線を作成することにより果肉中のアントシアニン含量の非破壊計測を可能とした。

キーワード：ブラッドオレンジ‘タロッコ’、アントシアニン、近赤外分光法、非破壊計測、フィルム個装

Abstract

We investigated the accuracy non-destructive measurement value of the anthocyanin content in the flesh fruits of blood oranges ‘Tarocco’ by individual packaging with various film materials. After non-destructive measuring on the equatorial region of the each fruit using a visible / near-infrared spectrophotometer (K-BA100, Kubota Corporation), the anthocyanin content in the flesh fruits were measured by absorptiometry immediately. The optimum wavelength was determined 724 to 732 nm, and these measurement accuracy, of the calibration curve was 0.929 to 0.950 for the correlation coefficient (r), 1.361 to 1.648 for the standard error (SEP), and -0.005 to 0.247 for the residual average (Bias), respectively. These values were close to the calibration curve on the unpackaged fruit. For blood orange ‘Tarocco’ fruits were individually packaged with film material, the anthocyanin content was able to measure non-destructively by preparing a calibration curve including the wavelength range from 724 to 732 nm of diffuse reflected light.

Key Words : Blood Orange ‘Tarocco’, Anthocyanin, Near infrared spectroscopy, Non-destructive measurement, Individual film packaging

1. 緒言

ブラッドオレンジとは、果皮及び果肉部にアントシアニン（以下、色素と記載）を含む柑橘の総称であり、品種として‘タロッコ’、‘モロ’、‘サンギネロ’等が存在する（高木, 2007）。なかでも‘タロッコ’は比較的大果で良食味であることから生食に適する（愛媛県南予地方局産業振興課, 2011）。愛媛県では温暖化に対応可能な新たな品種として2004年に試作導入され、以降、宇和島市等で生産量が増加している（愛媛県南予地方局産業振興課産地育成室, 2013; 菊池, 2013）. ‘タロッコ’の色素含量は、栽培時の環境要因等によって変動（高木, 2007）し、果肉部における量の多少は果実を切開後に果肉部を視認すれば容易に確認できるが、果皮色調と果肉中の色素含量の間には相関がみられない（平岡ら, 2010）ことから、果実外観からの目視によって果肉中の色素含量を推定することは困難とみられる。果肉中の色素含量が少ない果実は、消費者からの期待を裏切る可能性があるため、産地としては色素含量の豊富な果実を出荷したい意向がある。越智（2012）は温度と貯蔵期間に着目した試験を実施し、果実品質を低下させることなく果肉中の色素含量を増加させる貯蔵条件を見出した。また、筆者らは拡散反射型と透過型の異なる可視・近赤外分光光度計を供試し、‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトルを取得後、その多変量解析によって果肉部の色素含量の非破壊計測の可能性を示唆した（伊藤ら, 2012; 伊藤・二宮, 2013）。これらの取り組みは果肉中の色素含量が豊富な果実を産地から安定的に出荷するにあたって有効とみている。

一方、柑橘の中晩柑類においてフィルム資材を用いながら果実を個装することで鮮度保持期間を延長できた事例がある（藤田, 2009; 西山, 2011; 榊ら, 2013; 相川ら, 2013）。この技術はMA（Modified Atmosphere）包装と呼ばれ、幾つかの柑橘品種で実用化に至っている。フィルム資材はガス透過性に特徴がみられ、この資材を用いて包装された空間内は、果実の呼吸作用によってガス組成が低酸素・高二酸化炭素の状態となる（牧田・長谷川, 2000）。この貯蔵技術は今後、‘タロッコ’にも導入さ

れる可能性があり、貯蔵技術（高木, 2007; 越智, 2012）を適用しフィルム資材で個装された‘タロッコ’果実の色素含量の増加を前述の非破壊計測法によって確認することは産地ブランド維持の観点から極めて重要である。しかしながら、現在のところフィルム資材で個装された‘タロッコ’果肉中の色素含量を対象とした非破壊計測の試験事例はなく計測精度は不明である。

そこで、‘タロッコ’における果肉中の色素含量を増加させながら果実の鮮度保持効果がみられるMA包装による貯蔵と鮮度保持技術の将来的な産地導入を想定し、可視・近赤外分光法を用いて各種フィルム資材で個装した‘タロッコ’の非破壊計測を行うことで、果肉中の色素含量と非破壊計測値（2次微分）の相関を検討した。

2. 材料および方法

2.1 供試果実

果実は、愛媛県宇和島市から2015年2月24日に選果機を通していない無選別の64個を入手し、これを検量線作成用（ $n=32$ ）と検量線評価用（ $n=32$ ）の2つの果実群に無作為に分けて供試した。

2.2 フィルム資材

資材は本品種に利用の可能性がある6種類（以降、A～Fと記載）を供試した。各資材の材質、色調（ L^* 値、 a^* 値及び b^* 値）及び光透過率（%）をそれぞれ調査した（ $n=10$ ）。なお、色調と光透過率の測定にあたっては分光測色計（CM-5, (株)コニカミノルタ）を用い、光透過率の測定波長域は360～740 nm、測定間隔は10 nmとした。

2.3 非破壊計測機器

供試機器は拡散反射型の可視・近赤外分光光度計（K-BA100, (株)クボタ）とした。計測波長は500～1010 nm、波長間隔は2 nmの非接触計測とした。なお、受光量が適正電圧（2.5～7.0 V）外の果実については適正電圧内に収まるように蓄積時間の設定を900～1200 msの範囲で調整した。

2.4 個装, 非破壊計測及び果実品質の調査法

調査は、まず無包装の果実を非破壊計測後に資材 A を用いて個装し再度非破壊測定し、その作業を資材 F まで同様に繰り返すこととした。なお、各資材内に果実を封入する際はシーラーを使用せず、資材開口部を数回ひねり結び目を作ることで対応した。宮本 (2003) の指摘に基づき果実品温が非破壊計測値に及ぼす影響を除外するため、計測前に 15°C に設定したインキュベータ (CR-32, (株) 日立) 内に果実を静置した。

果実の非破壊計測に関し計測部位は対極となる赤道部 2 か所とし、資材開口部に発生した結び目は光受光部から回避させつつ果実を本機試料台に乗せて 3 回計測した (第 1 図)。



第1図 フィルム個装した‘タロッコ’の非破壊計測
可視・近赤外分光光度計の試料台に各種フィルムで個装した‘タロッコ’を静置

非破壊計測後の果実は果重 (g), 果皮色調 (L^* , a^* 及び b^*), 品温 ($^{\circ}\text{C}$), 糖度 ($^{\circ}\text{Brix}$) 及び色素含量 ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$) の各品質を調査した。品温は赤外放射温度計 (AD-5611A, (株) AND), 果皮色調は色彩色差計 (CR-300, (株) ミノルタ), Brix は屈折糖度計 (N-1, (株) アタゴ) をそれぞれ使用した。また、色素含量は既報 (伊藤ら, 2013) を参考に次の手順で進めた。まず、‘タロッコ’の外果皮を剥いた後、果肉部の粉碎試料 1 g に対し、9 ml の 1% 塩酸メタノール (v/v) を加えて室温で 16 時間浸漬振とうした。その後、遠心分離 (H-15FR, (株) KOKUSAN, 10,000 rpm, 5 min) して得られる上清の 530 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (Synergy HT, (株) バイオテック) により測定した。検量線は‘タロッコ’に含まれる主要なアントシアニンの一つ

(Hyoun, 2002) であるシアニジン 3-グルコシドを用いて作成した。

2.5 検量線の作成及び評価

取得した非破壊計測値の多変量解析にあたっては、まず、25 pt の Savitzky-Golay 法による平滑化と 2 次微分処理を実施した。次に検量線式は重回帰式とし、その目的変数には色素含量 ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$), また、説明変数には 2 次微分処理後の非破壊計測値の中から選択された最適波長とした。説明変数の選択には変数増減法を採用した (伊藤ら, 2012; 滝沢ら, 2012)。なお、変数選択時の条件は p 値が 0.05 以下として、多重共線性がみられる変数は除外した。選択された波長は p 値の順に重回帰式へ採用し各検量線を作成した。検量線の評価にあたっては、相関係数 (r), 標準誤差 (SEC 及び SEP), 残差平均 (Bias) を求めた。なお、平滑化と微分処理には可視・近赤外分光光度計に付属したサポートソフト、その他の処理は表計算ソフト Microsoft Excel を用いた。

3. 結果および考察

供試果実の品質を第 1 表に記載した。全ての品質項目において検量線作成用と評価用の果実群間に有意差はみられなかったことから今回の両果実群の品質は同水準とみなせた。

次に、果肉中の色素含量 ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$) の平均に着目すると作成用が 5.4mg, 評価用が 6.3mg であった。既報の分析事例 (平岡ら, 2010; 笹山ら, 2011; 愛媛県南予地方局産業振興課, 2011; 伊藤ら, 2013) と比較すると近似する含量であったことから、供試果実の色素含量は産地内の一般的な果実と考えられた。

供試したフィルム資材はいずれも無色透明なため外観上は酷似しており複数名の目視によっても違いは判然としなかったが、分光測色計を用いた調査結果では色調の違いが確認された (第 2 表)。同様に光透過率についても同一波長で資材間を比較すると 420nm では 2.9%, 740nm では 6.1% の違いが確認された (第 2 図)。これらの差異は果肉中の色素含量を対象とした非破壊計測精度に影響を及ぼす可能性が示唆された。

第1表 供試果実の品質

項目	単位	果実群	供試果数	最小	最大	平均	標準偏差	変動係数	判定 ^z
果重	g	作成用	32	118.7	190.6	161.4	20.1	0.12	ns
		評価用	32	116.0	220.9	162.0	24.3	0.15	
L*		作成用	32	49.6	70.4	62.9	4.6	0.07	ns
		評価用	32	57.0	68.7	62.8	3.1	0.05	
a*		作成用	32	19.4	32.8	25.9	3.4	0.13	ns
		評価用	32	19.6	30.8	26.1	2.7	0.10	
b*		作成用	32	37.3	70.7	58.7	7.1	0.12	ns
		評価用	32	48.5	67.3	58.4	5.1	0.09	
品温	℃	作成用	32	14.5	16.7	15.3	0.4	0.03	ns
		評価用	32	14.4	16.0	15.2	0.4	0.03	
糖度	° Brix	作成用	32	10.8	15.4	12.5	1.0	0.08	ns
		評価用	32	10.8	14.6	12.7	1.1	0.08	
色素含量	mg・100g ⁻¹ FW ^y	作成用	32	0.3	17.6	5.4	5.1	0.95	ns
		評価用	32	1.2	17.3	6.3	4.6	0.73	

^z t 検定による統計処理結果

nsは作成用と評価用の果実群間に5%水準で有意差がないことを示す

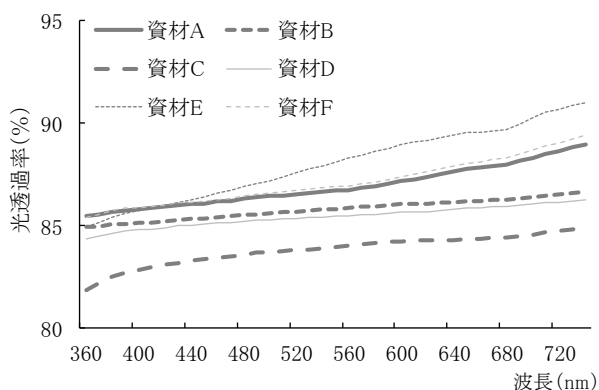
^y 果肉100g中のシアニジン3-グルコシド相当量

第2表 供試したフィルム資材^zの特性

資材名	材質	色調 ^y		
		L*	a*	b*
A	ポリエチレン	94.7	0.2	0.5
B	ポリエチレン	94.2	0.1	0.3
C	ポリエチレン	93.5	0.1	0.5
D	低密度ポリエチレン	94.1	0.1	0.4
E	ポリ乳酸	95.2	0.2	1.2
F	ポリプロピレン	94.8	0.2	0.5

^z n=10

^y 分光測色計 (コニカミノルタ製CM-5) により測定

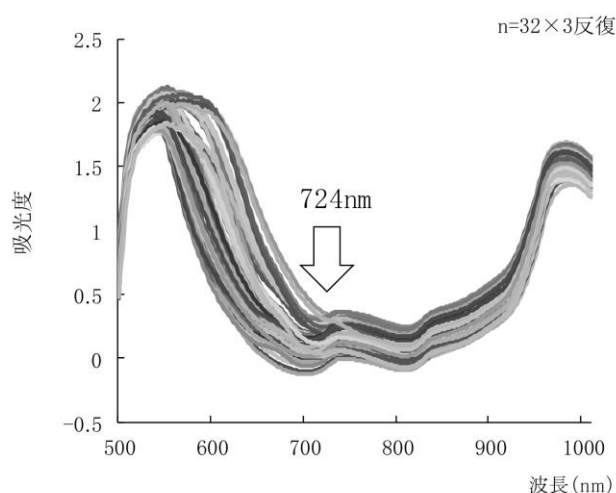


第2図 各フィルム資材の光透過

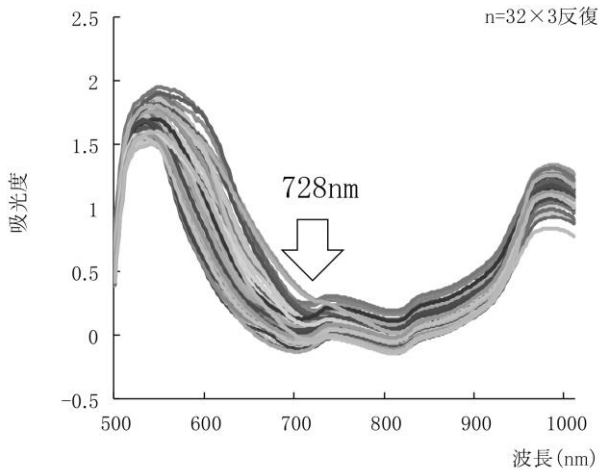
^z 分光測色計 (コニカミノルタCM-5) により

無包装と資材 A による個装‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトル (吸光度) を第 3, 4 図に示した. どちらのデータも 550 と 980 nm 付近に強い吸収がみられたが, 前者はカロテノイド色素, 後者は水分に由来することが知られている (伊藤ら, 2012). この可視・近赤外スペクトルに対しノイズ除去とベースライ

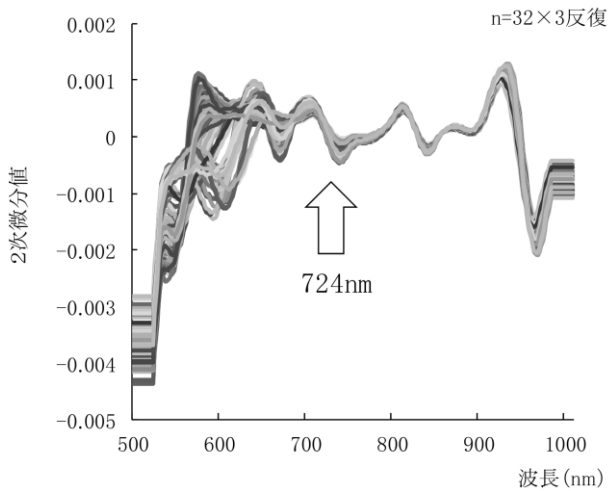
ン変動の解消のため (岩元, 1980; 恩田, 2002) 平滑化と 2 次微分処理を行った結果を第 5, 6 図に示した. 970 nm 付近に出現した負のピークは前述の水に帰属するピークであり, O-H 基準振動の第 2 倍音とする報告がある (尾崎・河田, 1996). このほか, 710~740, 820~840 nm 等で新たな負のピークが観察されたが, 500~680 nm で観察された負のピークは前述のピークと比べると個体間差が大きく判然としなかった. これらの傾向は資材 B~F のスペクトルにおいても同様に確認された.



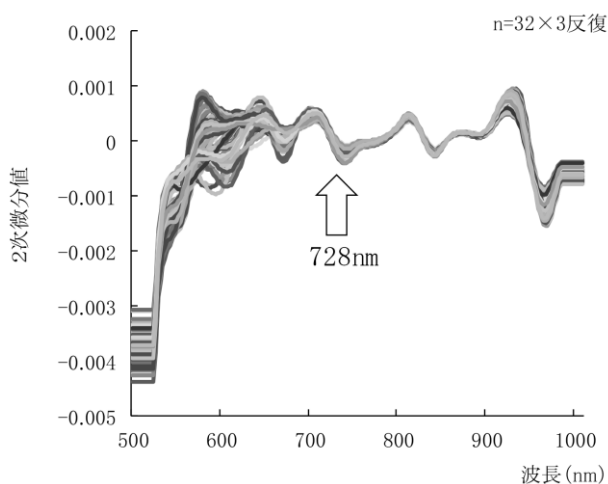
第3図 無包装‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトル (吸光度)
使用機器: (株)クボタK-BA100



第4図 資材Aで個装した‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトル(吸光度)
使用機器: (株)クボタ製K-BA100



第5図 無包装‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトル(2次微分値)



第6図 資材Aで個装した‘タロッコ’の可視・近赤外スペクトル(2次微分値)

平滑化及び2次微分処理した非破壊計測値に対し変数増減法によって選択された波長、回帰係数及びp値とこれら情報から作成した

第3表 変数増減法により選択された波長^z、回帰係数及びp値

試験区	選択波長	回帰係数	p値
個装資材A	λ_1 728nm	57676.004	1.339E-33
	λ_2 798nm	50918.546	1.337E-09
	λ_3 770nm	26623.728	1.411E-02
	定数項	0.005	9.981E-01
個装資材B	λ_1 724nm	55900.583	2.284E-33
	λ_2 774nm	80370.415	1.056E-14
	定数項	4.193	6.707E-09
	個装資材C	λ_1 732nm	58481.025
λ_2 816nm		40693.668	3.015E-08
λ_3 786nm		52999.631	5.161E-07
定数項		-4.026	9.424E-02
個装資材D	λ_1 726nm	46070.703	3.295E-30
	λ_2 772nm	75582.658	3.709E-16
	λ_3 822nm	36139.858	6.542E-07
	定数項	-2.337	2.644E-01
個装資材E	λ_1 726nm	48367.195	5.944E-30
	λ_2 764nm	69165.796	2.102E-14
	λ_3 816nm	29470.603	3.540E-11
	定数項	-2.679	1.381E-01
個装資材F	λ_1 726nm	59468.397	1.288E-26
	λ_2 800nm	44046.710	1.404E-12
	λ_3 760nm	26843.514	8.608E-03
	λ_4 638nm	-2904.624	1.068E-02
定数項	-2.443	1.425E-01	
無包装	λ_1 724nm	45455.056	1.162E-37
	λ_2 776nm	33569.913	1.231E-08
	λ_3 636nm	-2623.373	5.837E-06
	λ_4 688nm	9087.511	2.959E-02
	λ_5 686nm	7284.657	4.647E-02
定数項	-1.726	4.147E-02	

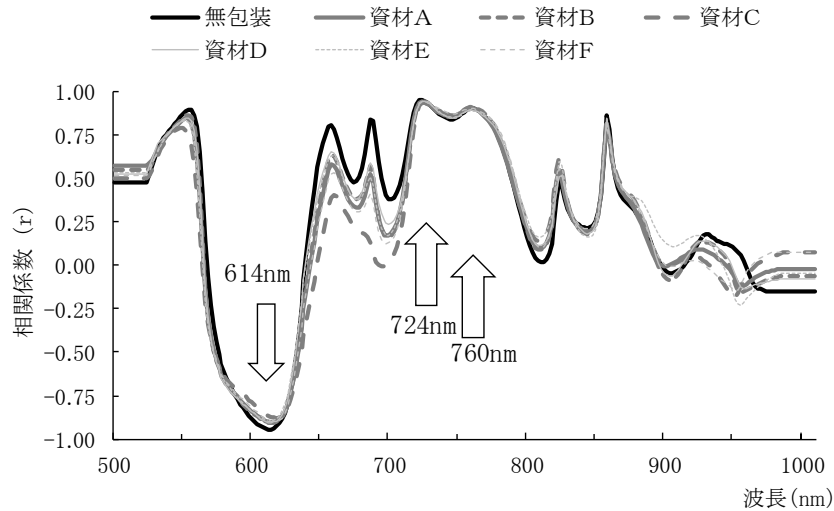
^z 2次微分値

検量線の各計測精度を示した(第3, 4表).
なお、検量線は選択された各波長をp値の順に回帰係数や定数項とともに重回帰式へ加えて作成した. そのうち資材Aの検量線例を以下に示す.

$$\text{フィルム資材Aで個装した‘タロッコ’果肉中の色素含量 (mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW)} = 0.005 + 57676.004 \times d^2A_{728\text{nm}} + 50918.546 \times d^2A_{798\text{nm}} + 26623.728 \times d^2A_{770\text{nm}}$$

($d^2A_{\text{〇nm}}$ 〇nm における2次微分値を示す)

今回、得られたデータは同一の果実群(n=32)を無包装あるいは資材別に個装した非破壊計測値である. 各資材による個装処理が非破壊



第7図 ‘タロッコ’²果肉中の色素含量と非破壊計測値(2次微分)の
 相関スペクトル³

² 検量線作成用果実(n=32×3反復) ³ 使用機器: (株)クボタ製K-BA100

となり、資材の違いによって若干の変動がみられている。一方、724及び760nmはいずれも正の相関が高い波長域であるが、なかでも724nmは614nmや760nmに比べて相関係数が高く、資材の違いによる変動も小さい。このことから、724nm近傍の波長を採用することで、資材の違いによる測定精度の変動を抑えられ、結果として検量線の堅牢性を高められることを確認した。

第5表 ‘タロッコ’²果肉中の色素含量と
 各波長における非破壊計測値³の相関

試験区	614nm	724nm	760nm
個装：資材A	-0.907	0.943	0.911
〃：資材B	-0.909	0.937	0.907
〃：資材C	-0.878	0.938	0.908
〃：資材D	-0.908	0.946	0.893
〃：資材E	-0.901	0.945	0.893
〃：資材F	-0.902	0.948	0.902
無包装	-0.944	0.956	0.903

² 検量線作成用果実 (n=32×3反復)

³ 2次微分値

以上の結果から、‘タロッコ’果肉中の色素含量を増加させつつ果実の鮮度保持を目的としたMA包装において、使用されるフィルム資材で個装した‘タロッコ’の果肉中の色素含量を非破壊計測するには724nm近傍を主波長として選択し、次に補正する働きをもつ波長を組み合わせることで無包装果実の場合と比較すると計測精度は多少低下するものの、許容できる範囲で近似した計測精度が得られる

ことが明らかとなった。なお、フィルム資材の中には材質の異なる新素材や顔料使用の場合には、可視・近赤外スペクトルに影響を与える可能性がある(李ら, 2005)ため、個別の非破壊計測試験により計測精度を確認していく必要性を付記したい。

謝辞

試験実施にあたりフィルム資材の情報をご提供頂いた愛媛県果樹研究センターの井上久雄センター長、愛南農業指導班の越智洋之担当係長および資材提供を頂いた住友ベークライト株式会社の各位に対し深謝する。

引用文献

- 相川博志, 北園邦弥, 藤田賢輔, 榎 英雄 (2013): カンキツ‘不知火’果実のMA包装資材活用による長期貯蔵技術 第2報‘不知火’果実の長期貯蔵に適する温度. 熊本農研セ研報, 20, 34-37.
- 愛媛県南予地方局産業振興課 (2011): 温暖化を逆手に~ブラッドオレンジ産地化確立への取り組み~, 近畿中国四国農研, 18, 54-56.
- 愛媛県南予地方局産業振興課産地育成室 (2013): 宇和島発地球温暖化対策-全国初のブラッドオレンジ産地化を目指した攻めの普及活動-, 技術と普及, 50, 26-31.

- 藤田信男 (2009) : カンキツの新規包装資材を用いた鮮度保持技術-えひめ南農業協同組合マルエム共撰場の取り組み, 果実日本, 64 (11), 30-33.
- Hyoung, S. L. (2002) : Characterization of major anthocyanins and the color of red-fleshed Budd Blood orange (*Citrus sinensis*), J. Agric. Food Chem, 50, 1243-1246.
- 平岡芳信, 逢阪江理, 開 俊夫 (2010) : ブラッドオレンジの加工に関する研究(第1報) -ブラッドオレンジの収穫時期別品質調査-, 48, 28-31.
- 伊藤史朗, 森本 進, 服部 玄, 伊藤秀和 (2012) : 可視・近赤外分光法を用いるブラッドオレンジ果肉における紫色の着色程度の非破壊計測の可能性, 照明学会誌, 96, 747-751.
- 伊藤史朗, 二宮和則 (2013) : ブラッドオレンジ‘タロッコ’果肉中のアントシアニン含量の非破壊計測法, 平成 25 年度近畿中国四国農業研究成果情報.
< http://www.naro.affrc.go.jp/org/warc/research_results/h25/pdf/01_sakumotu/09-0105.pdf >
- 伊藤史朗, 石々川英樹, 清水 篤, 菊地毅洋, 毛利幸喜, 森重陽子, 石川 (高野) 祐子 (2013) : ブラッドオレンジ‘タロッコ’果肉中のアントシアニンおよびフラボノイド含量が水溶性酸素ラジカル吸収能(H-ORAC)に及ぼす影響, 近畿中国四国農研, 22, 43-49.
- 伊藤秀和, 森本 進 (2009) : トマトに含まれるリコペンの可視・近赤外分光法を用いる非破壊計測の可能性について, 照明学会誌, 93, 510-513.
- 岩元睦夫 (1980) : 近赤外分光法による食品成分の非破壊測定, 日食工誌, 27, 464-472.
- 菊池泰志 (2013) : 全国初のブラッドオレンジ産地化への取り組み, 果実日本, 68 (12), 38-42.
- 李 華, 熊谷昌則, 高橋 豊, 天野敏男, 藤原一彦, 吉村 昇, 小川信明 (2005) : ポータブル近赤外分光装置を用いたプラスチック判別における顔料・形状の影響. 素材物性学雑誌, 17 (2), 33-38.
- 牧田好高, 長谷川美典 (2000) : 貯蔵・プラスチック包装, 果実の鮮度保持マニュアル, 44-53, 流通システム研究センター, 東京.
- 宮本久美 (2003) : ウンシュウミカン選果工程における近赤外分光法による内部品質管理に関する研究, 和歌山農林水産総技セ特別研報, 5, 1-94.
- 西山一成 (2011) : 「P-プラス」包装資材を活用したデコポンの長期販売, 果実日本, 66 (6), 61-64.
- 越智洋之 (2012) : ブラッドオレンジの低温貯蔵によるアントシアニン含有量増加技術, 農林水産技術研究ジャーナル, 35 (12), 38.
- 尾崎幸洋, 河田 聡 (1996) : 近赤外分光法, 1-224, 学会出版センター, 東京.
- 恩田 匠 (2002) : 食品の品質管理への近赤外分光分析法の応用に関する研究, 日食保蔵誌, 28, 341-351.
- 榎 英雄, 北園邦弥, 藤田賢輔 (2013) : カンキツ‘不知火’果実の MA 包装資材活用による長期貯蔵技術 第 1 報 貯蔵中の果実の糖度およびクエン酸濃度の推移, 熊本農研セ研報, 20, 26-33.
- 笹山新生, 開 俊夫, 武士末純夫 (2011) : ブラッドオレンジの加工技術に関する研究 (第 3 報), 愛媛産技研報, 49, 14-18.
- 高木信雄 (2007) : 地球温暖化に着目したブラッドオレンジ栽培は何を目指すか, 園学研, 6 (2), 74-75.
- 滝沢憲一, 中野和弘, 大橋慎太郎, 知野秀次, 松本辰也, 山澤康秀, 児島清秀 (2012) : 可視・近赤外分光法によるセイヨウナシ‘ル・レクチュエ’の渋味果評価の可能性, 新潟大農研報, 64 (2), 179-186.