

フラベド上の蛍光スポットの計数による中晩柑類‘清見’ 貯蔵果の選別法

永井佐采 伊藤史朗 河野靖 田内亮彦* 中里圭佑* 小長谷圭志**

Sorting and grading method for the stored fruits of the medium-late ripening citrus ‘Kiyomi’ by the measuring fluorescent spots on the flavedo

NAGAI Saaya, ITOU Fumiaki, KOHNO Yasushi, TAUCHI Akihiko, NAKAZATO Keisuke
and KONAGAYA Keiji

要 旨

中晩柑類‘清見’貯蔵果の光学的な選別を目指して、紫外光を用いてフラベド上の蛍光スポットの計数による選果法を検討した。はじめに、分光蛍光光度計を用いて‘清見’の健全果、傷果および腐敗果それぞれの励起・蛍光マトリックスを取得した結果、傷果と腐敗果において励起波長370nm付近で蛍光強度が高まる状態を確認した。次に、市販のUVランプ機器（励起波長：365nm）を用いて供試試料500果に照射し、フラベド上の蛍光スポット数を目視調査した。蛍光スポット数別に区分した試料を3か月間5℃下で保管し、約2週間間隔で商品性を調査した。その結果、保管試料の商品性は、貯蔵前の蛍光スポット数が30個以上だった果実群(n=6)は1か月以内に全てが商品性なしとなった。一方、貯蔵前の蛍光スポット数が0個(n=132)の果実群は、2か月が経過した時点で80%以上の果実が商品性を保持していた。

キーワード：選別，貯蔵性，紫外光

1. 緒言

愛媛県における中晩柑類‘清見’の2020年産収穫量は5,822tであり、全国一位の生産量となっている（農林水産省，2023）。県内における主要産地は西宇和地域であり、熟期である3月以降に順次収穫され出荷される。ただし、当該産地では一部の収穫果実を数か月貯蔵した後に出荷しており、計画的出荷による高単価販売に繋げている。貯蔵にあたり、カワラヨモギ抽出物（井上ら，2013；井上ら，2015）の塗布と鮮度保持効果のあるプラスチックフィルムによる個包装の処理が行われている。

当該産地の関係者への聞き取りにより、低温条件下であっても貯蔵中に腐敗果が発生する場合があります。それによる経済的損失が大きいことから、果実の選別には多大な労力を払っており、貯蔵用果実の高精度選別法や鮮度保持効果

の高い資材について高い関心を示していることが確認された。

一方、柑橘類の果皮の油胞には蛍光物質が含まれることが知られている（魚住ら，1987）。また、小川ら（2011）、野方（2005）は温州ミカンの果皮に対してNMRによる構造分析、紫外可視分光蛍光光度計による蛍光スペクトルの解析および文献調査を行い、果皮の油胞の破損により表層に浸み出る蛍光物質はポリメトキシフラボン類であり、さらにその中でもシネンセチン、ノビレチン、タンゲレチンおよびヘプタメトキシフラボンの可能性があること、加えて、‘清見’を含む14品種の柑橘系果実の果皮からヘキサニにより抽出した物質の蛍光強度を比較すると3つに分類され、‘清見’は中程度を示すグループに属することも報告している。この柑橘の品種別の蛍光特性を利用し、選果機に腐敗果を検出するシステムが搭載されている。

* 東芝ライテック株式会社

** 愛媛大学社会共創学部

しかし、当該機は経済的な理由により導入できない場合やシステム全体の構成により選果中に果実同士の接触の機会が増えダメージを受ける可能性が高まることから貯蔵用果実の選別に向かないことがある。

このため、作業者が貯蔵用果実の選別を行う場合を想定し、市販のUVランプ機器を用いて目視による高精度選別の可能性について検討した。

2. 材料および方法

2.1 中晩柑類‘清見’の励起・蛍光マトリックス (EEM) 計測

‘清見’の健全果、傷果および腐敗果における励起・蛍光マトリックスを計測した。供試果実は愛媛県西宇和産の‘清見’で、傷や腐敗が見られない果実を健全果区、健全果の赤道部に剣山で5mm間隔に傷をつけた果実を傷果区、カンキツ緑かび病 (*Penicillium digitatum* Persoon ex Saccardo) による腐敗が生じた果実を腐敗果区とした。各区に対して3果用意し、計9個の果皮の切片を供試し、対象部位を直径20mmの穴あけポンチを用いて、果皮の切片を作製し、分光蛍光光度計 (島津社製 RF-6000) で蛍光波長および蛍光強度 (任意単位を示す arbitrary unit; 以降 a. u. と表記) を測定した。励起波長は250~450nmの間を10nm間隔で変え、蛍光波長は300~750nmの間を1nm間隔で測定した。測定した各データをもとに励起・蛍光マトリックス (Excitation - Emission Matrix; 以降 EEM と表記) を整理し、試験区間で比較した。ただし、これまでの EEM 測定事例をみると、測定試料による EEM の他に外乱光や散乱光が観測されることがあり、その場合は藤田ら (2008) に従い測定試料の蛍光特性を把握しやすくするため外乱光や散乱光が観測された波長領域のデータを除外することとした。

2.2 フラベド上の蛍光スポットに着目した中晩柑類‘清見’貯蔵果の選別調査

供試試料は愛媛県西宇和産の‘清見’500果を用い、365nmのUVランプ (アズワン社製 LUV-16) を果実上10cmに設置し、フラベド上の蛍光スポット数を目視で計数した。なお、照

射は果実上部からであるため、果実の赤道部より上側 (果柄側) と下側 (果頂側) の2回に分けて蛍光スポット数を計数し、その合算値を1果あたりの蛍光スポット数とした。

2022年4月8日に供試果実として、目視により選果された外観が健全な果実を入手し、4月18日に蛍光スポット数を計数した。蛍光スポット数毎に0個、1個以上10個未満、10個以上20個未満、20個以上30個未満、30個以上に区分した。すべての果実を区分した後、供試果実をプラスチックフィルム (住友ベークライト社製 P プラス) により個包装し、予冷库 (TABAI ESPEC 社製 EX-101) を用いて5℃の条件下で貯蔵した。貯蔵期間は4月20日から7月22日までの3か月間とした。貯蔵期間中の果実の状態を調査するため、2週間間隔で蛍光スポット数を調査し商品性の有無を確認した。カンキツ緑かび病などの貯蔵病害が発生した果実、あるいは蛍光スポット数が50個以上確認された果実は外観が明らかに悪く出荷できないと判断したため、それぞれ商品性なしとし除去した。商品性ありの果実の割合を貯蔵前の個数から求め、これを商品果率 (%) とした。

3. 結果および考察

3.1 中晩柑類‘清見’の励起・蛍光マトリックス (EEM) 調査

‘清見’果皮の腐敗部、傷部、健全部から取得した EEM を図1~3に示す。各図の励起波長250~370nm、蛍光波長500~700nmの領域に蛍光強度の高まりが見られたが、これは果皮自体の蛍光特性によるものではなく、散乱もしくは外乱光が観測された結果 (藤田ら, 2008) と判断されたため、その領域のデータを除外して表示した。

最も強い蛍光を示したのは腐敗果で、励起波長360~370nm、蛍光波長550nm付近において蛍光強度66429a. u. を示した (図1)。

一方、傷果の同領域の励起波長、蛍光波長付近で10037a. u. を示し、腐敗果と比較すると約1/6であった (図2)。また健全果の同領域の蛍光強度は1411a. u. を示し、腐敗果と比較すると約1/47と小さかった (図3)。

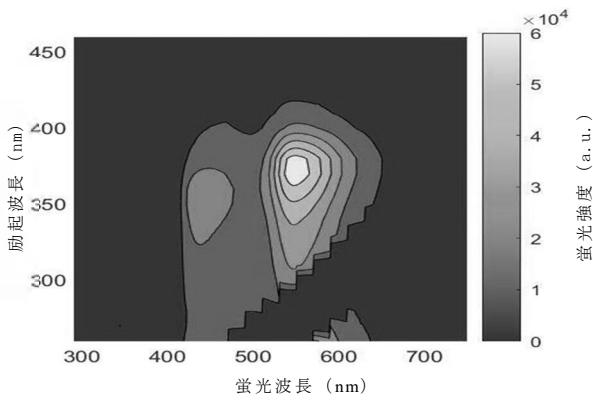


図1 中晩柑‘清見’果皮の腐敗部の
励起・蛍光マトリックス (EEM)
[カラー47 頁]

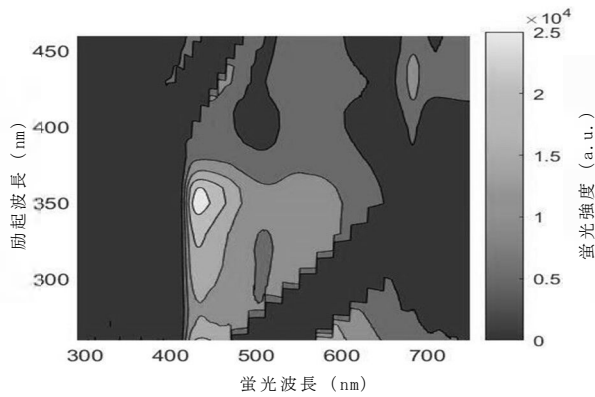


図2 中晩柑‘清見’果皮の傷部の
励起・蛍光マトリックス (EEM)
[カラー47 頁]

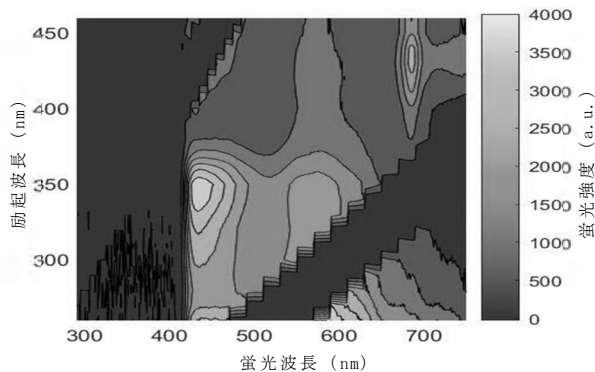


図3 中晩柑‘清見’果皮の健全部の
励起・蛍光マトリックス (EEM)
[カラー47 頁]

を用いて抽出した物質の蛍光特性は、励起波長が 365nm, 蛍光波長が 530nm の領域で最大となることを報告している. 蛍光波長は若干の差異がみられるが、励起波長は今回の調査結果と近似した. そこで、貯蔵試験の選別には 360~370nm の励起波長を用いることとした. なお、小川ら (2011) が報告している蛍光波長 (530nm) と今回明らかとなった蛍光波長 (550nm) に違いが生じた理由については、対象果実の状態が影響し、具体的には健全果もしくは腐敗果の違い (魚住ら, 1987), あるいは果実熟度の違いなどが考えられる.

EEM 測定に使用した機器は感度が高いため、蛍光強度が弱い場合目視確認できない可能性がある. そこで、励起波長 360~370nm の照射下で果実の健全、傷および腐敗部を目視で確認した結果、果皮の健全部は暗紫色に映り蛍光を確認できなかった. 一方、傷部と腐敗部は、それぞれ淡黄色に蛍光していることを確認できた. さらに、傷部については油胞単位で、腐敗部については罹病部の面的な蛍光が見え蛍光スポットの面積に差異がみられた (図4).

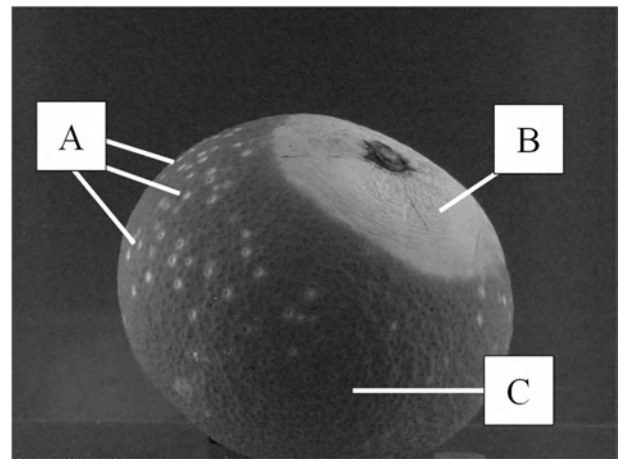


図4 紫外光^Z照射下の中晩柑類‘清見’の
蛍光の様子 [カラー47 頁]
^Z照射波長は 365nm

A : 傷部 (蛍光スポット), B : 腐敗部, C : 健全部

3.2 フラベド上の蛍光スポットに着目した中晩柑類‘清見’貯蔵果の選別調査

貯蔵開始前の供試果実の蛍光スポットの数を目視で調査した結果を表1に示す. 4月20日の時点で蛍光スポットが0個の健全果に相当する果実数は132個であり、これは全体の26.4%

小川ら (2011) は‘清見’果皮からヘキサシ

であった。同様に1～10個未満の果実は297個(59.4%)、10～20個未満の果実は54個(10.8%)、20～30個未満の果実は11個(2.2%)、30個以上の果実は6個(1.2%)となった。よって傷果の総数は368個となり、全体の73.6%であった。

表1 果実表面の蛍光スポット数に着目^zした貯蔵果‘清見’の果実数

| 区分 | 果実数 (個) | 割合 (%) |
|----------|------------|-----------|
| 0個 | 132 | 26.4 |
| 1～10個未満 | 297 | 59.4 |
| 10～20個未満 | 54 | 10.8 |
| 20～30個未満 | 11 | 2.2 |
| 30個以上 | 6 | 1.2 |
| 計 | 500 | 100 |

^z調査月日：2022/4/20

この結果から、貯蔵を目的に目視により選別した同一の時期、産地および規格から入手した果実群の中でも、フラベド上の蛍光スポットの数に差異があることが明らかとなった。衝撃により損傷した果実や腐敗のみられる果実は呼吸量を増加させることから、貯蔵性が著しく低いことが知られている(株式会社流通システム研究センター, 2000)。そのため、貯蔵開始前の蛍光スポット数の多少が果実の貯蔵性に影響

する可能性が考えられるため、蛍光スポット数に基づいて5つに区分し、商品果率を調査した。その結果を表2に示す。各区分の果実数は異なるものの、蛍光スポット数が多い区分ほど貯蔵性が悪い傾向がみられた。貯蔵開始前の蛍光スポット数が30個以上だった果実群(n=6)は、貯蔵して約3週間後の5月9日には全果実の商品性が失われた。一方、蛍光スポット数が0個、1～10個未満の果実群は、貯蔵して約2か月後の6月16日時点の商品果率がそれぞれ92%、82%と高い商品性を維持していた。10～20個未満、20個～30個未満の果実群は30個以上の果実群に比べると高い商品果率であったが、0個および1～10個未満の商品果率を上回ることにはなかった。

今回の測定結果から、フラベド上の蛍光スポット数が多く生じた貯蔵果実は早期の出荷、蛍光スポット数の少ない果実は1か月程度、蛍光スポットのみられない果実は2か月程度貯蔵するなどの選果基準が適用できれば貯蔵果の廃棄率を低減できるだけでなく、新たな数値化によって作業員間の個人差が解消されることも期待できる。今後は、選果ラインに現状の作業性を損なわないUVランプの設置や利用によって今回明らかとなった目視観察の成果を実装する工夫が望まれる。

表2 貯蔵期間中における中晩柑類‘清見’の商品性^z調査結果

| 果実における 蛍光スポット 数 | 商品性 | 単位 | 調査月日(貯蔵後日数) | | | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------|----|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | | 4/20 (0) | 4/25 (5) | 5/9 (19) | 5/16 (26) | 5/26 (36) | 6/3 (44) | 6/16 (57) | 6/30 (71) | 7/11 (82) | 7/22 (93) |
| 0個 | あり | 個 | 132 | 132 | 132 | 129 | 128 | 126 | 122 | 118 | 116 | 113 |
| | なし | 個 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 6 | 10 | 14 | 16 | 19 |
| | 商品果率 ^y | % | 100 | 100 | 100 | 98 | 97 | 95 | 92 | 89 | 88 | 86 |
| 1～10個未満 | あり | 個 | 297 | 296 | 292 | 278 | 269 | 259 | 244 | 236 | 221 | 200 |
| | なし | 個 | 0 | 1 | 5 | 19 | 28 | 38 | 53 | 61 | 76 | 97 |
| | 商品果率 | % | 100 | 100 | 98 | 94 | 91 | 87 | 82 | 79 | 74 | 67 |
| 10～20個未満 | あり | 個 | 54 | 53 | 46 | 39 | 35 | 34 | 34 | 29 | 23 | 19 |
| | なし | 個 | 0 | 1 | 8 | 15 | 19 | 20 | 20 | 25 | 31 | 35 |
| | 商品果率 | % | 100 | 98 | 85 | 72 | 65 | 63 | 63 | 54 | 43 | 35 |
| 20～30個未満 | あり | 個 | 11 | 11 | 5 | 5 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| | なし | 個 | 0 | 0 | 6 | 6 | 8 | 8 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| | 商品果率 | % | 100 | 100 | 45 | 45 | 27 | 27 | 18 | 18 | 9 | 9 |
| 30個以上 | あり | 個 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | なし | 個 | 1 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | 商品果率 | % | 100 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 計 | | | 499 | 493 | 475 | 451 | 435 | 422 | 402 | 385 | 361 | 333 |

^z蛍光スポットが50個以上、または腐敗が見られた果実は商品性なし

^y調査開始時(4/20)と比較した割合(%)

謝辞

調査の実施にあたり、多大なるご協力を頂きました JA 西宇和三崎出張所の藤原誠氏、愛媛県病害虫防除所の崎山進二氏、篠崎毅氏（現愛媛県立農業大学校）に対しまして厚く御礼を申し上げます。

引用文献

藤田かおり，蔦瑞樹，杉山純一（2008）：励起蛍光マトリクス計測に基づくデオキシニバレンール検知法の開発，食総研報，72，23 - 30.
井上久雄，大嶋悟士，三好孝典，熱田博之，羽山裕子（2013）：カワラヨモギ抽出物含有製剤処理が中晩生カンキツ‘清見’，‘不知火’および‘河内晩柑’のエチレン生成，呼吸および果皮障害に及ぼす影響，園学研，12（3），303 - 309.
井上久雄，大嶋悟士，熱田博之，三好孝典，菊地毅洋，越智洋之，羽山裕子（2015）：大型選

果機を用いたカワラヨモギ抽出物含有製剤処理が‘清見’の果皮障害および腐敗に及ぼす影響，園学研，14（1），51 - 59.
株式会社流通システム研究センター（2000）：果実の鮮度保持マニュアル，東京，1 - 195.
野方洋一（2005）：カンキツ果実の機能性成分の検索とその有効利用に関する研究，近畿中国四国農研，（5），19 - 84.
農林水産省（2023）：令和2年産特産果樹生産動態等調査，年次別栽培状況，1）かんきつ類の果樹．http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokusan_kazyu/index.html
小川雄一，Momin Md. ABDUL，倉本誠，河野靖，椎木友朗，山本一哉，近藤直（2011）：蛍光画像を用いた柑橘系果実の腐敗果検出，レーザー研究，39（4），255 - 261.
魚住純，河野澄夫，岩元睦夫，西成勝好（1987）：色むらのある食品の品質評価のための可視分光分析装置の試作，日本食品工業学会誌，34（3），163 - 170.

Abstract

We evaluated the fluorescent spots on the flavedo of stored fruits of the medium-late ripening citrus ‘Kiyomi’ for establishing optical sorting and grading method. Firstly, we measured the fluorescence intensity of healthy, wounded and rotten fruits of ‘Kiyomi’ by spectrofluorophotometer. On the wounded or rotten fruits, we confirmed that the state of fluorescence intensity increased at excitation wavelengths around 370 nm. Secondly, 500 samples were irradiated using commercial UV lamp device (excitation wavelength: 365 nm), the number of fluorescent spots on the flavedo were visually counted. These samples were stored at 5°C for 3 months, and their marketability were assessed at approximately 2-week intervals. The results showed that all samples with more than 30 fluorescent spots on the flavedo, after storage (n=6) had become unmarketable within one month. On the other hand, more than 80% of the samples with no fluorescent spot before storage (n=132) was still unchanged marketable after two months storage.

Key Words : sort, storability, ultraviolet light