

無袋リング「ふじ」果実の臭化メチル処理が内部褐変の発生、 果肉硬度、果肉の弾性に及ぼす影響

長内敬明[§], 元村佳恵*, 桜井直樹**

青森県りんご試験場

* 弘前大学農学生命科学部

** 広島大学総合科学部

Effect of Methyl Bromide on the Internal Browning, Firmness and Elasticity of Flesh in Un-bagged Apple 'Fuji' Fruit

Yoshiaki Osanai[§], Yoshie Motomura* and Naoki Sakurai**

Aomori Apple Experiment Station, 24, Fukutami, Botandaira, Kuroishi-shi, Aomori 036-0332

* Fac. Agr. Life Sci., Hirosaki Univ., 3, Bunkyo-cho, Hirosaki-shi, Aomori 036-8561

** Fac. Integr. Art and Sci., Hiroshima Univ., 1-7-1, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima-shi, Hiroshima 739-8511

For the investigation of physical properties of the internal-browning-affected fruit, un-bagged 'Fuji' apple fruit was sealed in stylofoam box with methyl bromide (MB). Internal browning was detected in all fruit treated with MB. No significant difference in flesh firmness measured by ordinary destructive methods was detected between MB-treated and non-treated fruit. In the MB-treated fruit, the frequencies of 2nd and 3rd resonance measured non-destructively by a Laser Doppler Vibrometer were lower than non-treated fruit. The elastic index, calculated with the frequency of 2nd resonance and fresh weight, total intensity of the vibration of fruit in the period from 2nd or 3rd resonance to 2 kHz were low in the MB-treated fruit. By elastic index and gain of the vibration of fruit measured by Laser Doppler Vibrometer, a possibility of the non-destructive detection of fruit with internal browning induced by MB was suggested.

(Received Nov. 26, 2002 ; Accepted Feb. 17, 2003)

最近、リングの無袋栽培の増加に伴って、無袋「ふじ」の輸出入量が増加し、これらに対する病害虫の防除を目的とした殺虫・殺菌処理が植物検疫上必要とされている。従来から、リングでは臭化メチルくん蒸が行われ、薬害を最小限にとどめ、できるだけ殺虫効果をあげるための濃度や処理（くん蒸）時間、回数、温度、処理方法など、技術的な面からの検討が行われてきた^{1)~9)}。

リングでは臭化メチルくん蒸処理による薬害の一つとして、内部褐変発生の問題があり⁹⁾、品種によってその発生程度に大きな違いがあることが知られている⁷⁾⁸⁾。内部褐変はCA貯蔵や長期貯蔵でも問題であるが、内部褐変果を外から見分けることが大変困難なため、非破壊的検出法の開発研究が行われている⁹⁾。

内部褐変は果肉や果心の色が褐色に変化したものであるが、褐変部位では色の変化ばかりでなく、肉質にも何らか

の物理的な変化が起こっている可能性が考えられる。しかし、臭化メチルくん蒸によって発生した内部褐変果の肉質については報告がほとんどない。

本研究では、臭化メチル処理が果肉の物理性に及ぼす影響を調査することを目的として、破壊法による果肉硬度の測定、レーザー・ドップラー法による弾性率及び振動強度の測定を行うとともに、果肉の細胞壁多糖類の化学分析を行った。

材料と方法

1. 供試果実と臭化メチル処理方法

青森県りんご試験場で栽培している無袋「ふじ」を2001年11月6日に収穫し、0℃に10日間保存した。これを発泡スチロール箱（内寸36cm×43cm×17cm）に厚さ0.03mmのポリエチレンフィルム袋を内装したものの中に13個ずつ入れ、輪ゴムで袋の口をしっかりと閉じた後、蓋を閉め、粘着テープで密閉した。この発泡スチロール箱の壁にゴムの注入口を取り付け、そこから臭化メチルを20.1g/m³となるように注射器で注入した。この箱を16日間15℃

〒036-0332 青森県黒石市大字牡丹平字福民24

* 〒036-8561 青森県弘前市文京町3

** 〒739-8511 広島県東広島市鏡山-1-7-1

§ 連絡先(Corresponding author), malus1@infoaomori.ne.jp

に保持した。別に果実を同様の容器に入れて臭化メチル処理をしないで密閉状態で保持した区、及び多数の通気孔のあるプラスチック・コンテナに入れて15°Cに保持した区の3区を設けた。

2. レーザー・ドップラー法による果実の弾性率の測定

果実を各包装容器から取り出し、Muramatsuらの方法に準じて¹⁰⁾レーザー・ドップラー振動装置(加振装置:振動試験装置 エミック株式会社製512A, 増幅装置:増幅器 エミック株式会社製371-A, 振動測定計:レーザー・ドップラー振動計 株式会社小野測器製LV-1300, データ解析装置:マルチパーパスFFTアナライザ, 株式会社小野測器製CF-5210)を用い、10~2000 Hzまでの振動を与えて、10 Hzごとに振動強度を測定し、第2, 3共鳴周波数を調査した。果実の新鮮重と第2共鳴周波数を用いて以下の式で弾性率(E: Elastic index)を算出した。

$$E = m^{2/3} \times f_2^2$$

弾性率(E), 新鮮重(m), 第2共鳴周波数(f_2)

また、10~2000 Hzまでの10 Hzごとの振動強度の合計値(全強度), 及び第2共鳴周波数から2000 Hzまでの10 Hzごとの振動強度の合計値(部分強度)を算出した。

3. 破壊法による果肉硬度の測定

(1) 果実の赤道部付近2ヶ所の果皮を直径約2 cmの円形に除去して、果実硬度計(Penetrometer, Fruit tester FT-327 FACCHINI製, Italy)に直径11 mm, 高さ22 mmの円筒形プランジャーを装着して、果肉に常法により深さ6 mmまでプランジャーを侵入させた時の破断強度(最大抵抗)を測定した。

(2) 果実を赤道面で横断し、果肉の果皮に近い部位(非褐変化部位)と果芯に近い部位(臭化メチル処理果では果肉褐変部位)に、ユニバーサル硬度計(木屋製作所, Model 166-UA型)に直径5 mm, 高さ10 mmの円筒形のプランジャーを装着し、果肉にプランジャーを10 mm侵入させた時の破断強度(果肉硬度)を測定した。無処理果についても同様の部位を測定した。

(3) 果実を赤道面で横断し、果肉の果皮に近い部位(非褐変部位)と果芯に近い部位(臭化メチル処理果では褐変部位)から、直径15 mm, 高さ10 mmのディスクを作成した。レオメーター(山電, Rheoner RE 3305)に、直径8 mm, 高さ20 mmの円筒形プランジャーを装着し、ディスクにプランジャーを1 mm/minの速度で5 mm侵入させた時の破断強度(最大抵抗)を測定した。

4. 果肉褐変の測定

果実を赤道付近で横断し、横断面における褐変の発生個体数を数えた。個々の果実の横断面において、果皮に近い部位(褐変の見られない部位)と果芯に近い部位(臭化メチル処理果では褐変化部位)について、色差計(ミノルタ製, CR-300)でL値(明るさ), a値(赤色)及びb値(黄色)を測定した。

5. 細胞壁多糖類の分別定量

臭化メチル処理果と無処理果の果心に近い部位の果肉を-20°Cで保存した。凍結果肉を80%アルコールにより80°Cで数回抽出し、可溶性画分と不溶性画分に分けた。不溶性画分を凍結乾燥し、乾燥重量(AIS: Alcohol insoluble solid)を測定した後、粉碎した。AISを水(20°C, 2時間, 2回), EDTA(100 mM, 20°C, 2時間, 2回), 及び0.05 M塩酸(85°C, 1時間, 2回)で順次抽出し、それぞれを水可溶性画分(WSP), EDTA可溶性画分(ESP)及び塩酸可溶性画分(HCP)とした(以上ペクチン画分)。その残さを4%及び24%水酸化カリウム(各20°C, 24時間, 2回)で順次抽出した(以上ヘミセルロース画分)。各画分のウロン酸含量をm-hydroxydiphenyl法¹¹⁾で、中性糖含量をphenol硫酸法¹²⁾で定量し、それぞれガラクトロン酸またはグルコースに換算した。

結果と考察

1. 内部褐変の発生とその程度

発泡スチロール箱で密閉保存した場合、臭化メチル処理区ではすべての果実で褐変が認められたが、無処理区では発生が見られなかった。褐変の症状を見ると、臭化メチル処理果の約80%で同一果実内に果肉褐変とみつ褐変の両方が認められ、残りの約20%では果肉褐変のみが認められた。

果芯に近い果肉の色(褐変程度)を見ると、臭化メチル処理区では無処理区よりL値とb値が低く、a値が高かった。果皮に近い褐変化していない果肉部位でも処理区ではL値が低く、a値が高かったが、b値には差がみられなかった。無処理果を多数の通気孔のあるコンテナで保存した区と、発泡スチロール箱で密閉保存した区では差が認められなかった(表1)。これらの結果から、内部褐変は臭化メチル処理によって発生したもので、果実を密閉保存したことによって発生したのではないと考えられる。臭化メチル処理果の褐変していない果皮付近の果肉は褐変化が見

表1 果肉褐変に対する臭化メチル処理の影響

	果心側果肉			有意性	果皮側果肉			有意性
	無処理開放	無処理密閉	処理密閉		無処理開放	無処理密閉	処理密閉	
L 値	65.8 ^b	64.7 ^b	38.9 ^a	**	78.8 ^b	78.7 ^b	65.1 ^a	**
a 値	-3.25 ^b	-2.96 ^b	2.09 ^a	**	-3.03 ^b	-3.12 ^b	-0.15 ^a	**
b 値	22 ^b	20.57 ^b	7.7 ^a	**	20.03 ^a	19.07 ^a	18.69 ^a	ns

られなかったが、無処理果に比べて明度が低く、赤色味が強いことは、褐変の程度が進んでいることを示している。

一般に殺虫を目的とした場合、臭化メチルくん蒸した後、輸出用カートン（10kg ダンボール箱）に入れられるが、このカートンの側面には大小 12ヶ所の通気孔があり、気体の拡散を助けている。しかし、本実験では臭化メチルの影響を調査することを目的としているので、発泡スチロール箱に果実と臭化メチルを密閉する方法を採用した。そのため、実用場面で行われているくん蒸の場合よりも、褐変が顕著に現れたと考えられる。

2. 果肉硬度への影響

Penetrometer（マグネシウム型硬度計）で常法により測定した値には、臭化メチル処理の影響は認められなかった（表 2）。この方法は一般に実用場面でも用いられている方法であるが、果皮の下 6-7mm の果肉硬度を測定しており、果肉の部位による硬度の違いや、果実全体の硬度を表すとは限らない。そこで、果皮側果肉と果心側果肉を Universal 硬度計とレオメーターで測定したところ、果心側の果肉が果皮側の果肉より硬度が明らかに高かった。しかし、臭化メチル処理の影響は認められなかった。

3. 共鳴周波数、弾性率及び振動強度への影響

リンゴ果実をレーザー・ドップラー（LDV）法で非破壊的に測定した時の波形（図 1）から、第 2 共鳴周波数及び第 3 共鳴周波数を調査したところ、臭化メチル処理果では無処理果に比べて低い値を示した（表 3）。この値と果実の新鮮重を用いて算出した弾性率も、臭化メチル処理果で低い値を示した（表 3）。また、果実硬度計で測定した硬度（表 2）と弾性率の間には相関が見られなかった（図 2）。これらの結果から、第 2 共鳴周波数から算出した弾性率から、臭化メチル処理果を非破壊・非接触で検出できる可能性が示

された。

LDV 法でキウイフルーツ、モモ、ニホンナシ、リンゴ、カキ、ハッサク¹⁰⁾¹³⁾¹⁴⁾などを測定した結果、果実の軟化に伴って共鳴周波数や弾性率が低下することが報告されている。

本実験に用いたリンゴ‘ふじ’果実の硬度を常法により測定した値及び果肉を果皮に近い部位と果芯に近い部位に分けて測定した値には、臭化メチル処理の影響は認められなかった（表 2）。LDV 法は従来の破壊法で求めた果肉硬度では検出できないわずかな物理的な変化を検知しているのではないかと推定される。

リンゴ‘スターキング・デリシャス’では褐変果の冷蔵を数週間続けた場合、褐変部位は正常部位より硬度が低いことが報告されている¹⁵⁾。本実験は、‘ふじ’を用いているので、軟化の進行が遅く、臭化メチル処理後 16 日という短期間の試験であったため、破壊測定による硬度には変化がほとんど見られなかったとも考えられる。今後、臭化メチ

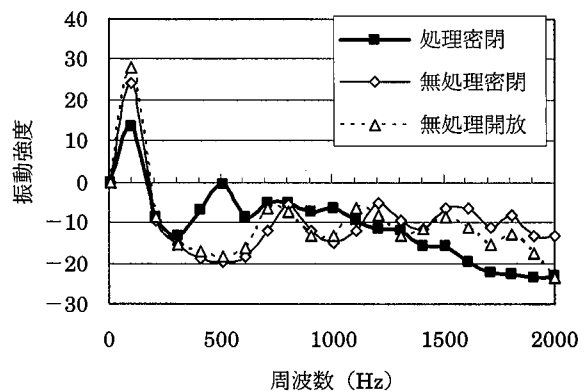


図 1 臭化メチル処理果と無処理果実のレーザー・ドップラー法による波形

表 2 リンゴ果肉硬度に対する臭化メチル処理の影響

	無処理開放	無処理密閉	処理密閉	有意性	単位	
果肉硬度 (Penetrometer)	42.3	44.9	46.7	ns	N	
果肉硬度 (Universal hardness meter)	果皮側果肉	7.5	8.7	8.8	ns	N
	果心側果肉	13.7	13.7	14.5	ns	N
果肉硬度 (Rheometer)	果皮側果肉	3.161	3.743	3.797	ns	$N/m^2 \times 10^5$
	果心側果肉	4.670	4.846	4.927	ns	$N/m^2 \times 10^5$

表 3 リンゴの物理性に対する臭化メチル処理の影響

	無処理開放	無処理密閉	処理密閉	有意性
果重 (g)	320	318	314	ns
第 2 共鳴周波数 (Hz)	758 ^b	840 ^a	543 ^c	**
第 3 共鳴周波数 (Hz)	1169 ^b	1279 ^a	797 ^c	**
弾性率 (Ef2)	27.17 ^b	32.74 ^a	13.13 ^c	**
第 3 共鳴振動強度	-4.187 ^a	-4.569 ^{ab}	-7.378 ^b	*
振動強度の合計 (10-2000 Hz)	-1950.57 ^a	-2140.61 ^{ab}	-2622.31 ^b	**
振動強度の合計 (f2-2000 Hz)	-1233.65 ^a	-1253.11 ^a	-2218.8 ^b	**

ル処理した果実を長期貯蔵した場合の褐変部位の果肉硬度や肉質の変化と、弾性率との関係を検討する必要がある。

4. 周波数ごとの振動強度の変化

内部褐変果をLDV法で測定した場合、寺崎らは第3共鳴周波数における振動強度 (gain) が低くなることを示唆している⁹⁾。そこで、第3共鳴周波数における振動強度を比較したところ、臭化メチル処理区では無処理区よりも低い値を示した (表3)。

LDV法による測定波形を見ると (図1)、第3共鳴周波数ばかりでなく、それより高い周波数における振動強度も低くなる傾向が見られた。そこで、第2共鳴周波数よりも高い周波数 (2 kHz まで) の振動強度の合計値 (部分強度)、及び測定したすべての周波数 (10 Hz~2 kHz) の振動強度の合計値 (全強度) を算出したところ、両者とも臭化メチル処理区で低い値を示した (表3)。

LDV法による測定において、高い周波数における振動強度の減衰の程度が臭化メチル処理区で大きく、またピークの幅も広がっていることから、振動エネルギーを吸収するような物理的変化 (粘性) が起こっているものと考えられる。

これらの結果から、LDV法を用いて、第2及び第3共鳴

周波数、弾性率、及び10 Hz~2 kHzの振動強度の減衰程度を検討することによって、内部褐変果 (果実の内部の物理的変化) を検出できる可能性が示唆された。

5. 細胞壁多糖類含量への影響

果肉の物理性の変化には果肉細胞壁多糖類の化学的変化が関与している可能性があると考え、細胞壁多糖類の中で、ペクチン画分及びヘミセルロース画分のウロン酸及び中性糖の定量を行った。

その結果、水溶性ペクチン画分のウロン酸含量のみが、臭化メチル処理区でわずかに低かった (表4) 他は、すべての画分で処理区の間には差が認められなかった。

一般に正常な果実の軟化過程では、プロトペクチンやヘミセルロースが減少し、水溶性ペクチンが増加することが知られている¹⁶⁾。また、寺崎らによると、LDV法は細胞壁多糖類の中でペクチンとヘミセルロースの変化を検知するのではないかと推定している¹⁷⁾。本実験では、臭化メチル処理によって、細胞壁多糖類にも果肉硬度にもほとんど変化が起こっていなかったのに弾性率に変化が見られたことは、正常な果実の軟化とは異なった変化であることを示していると考えられる。

レーザー・ドップラー法で検知した臭化メチル処理果と

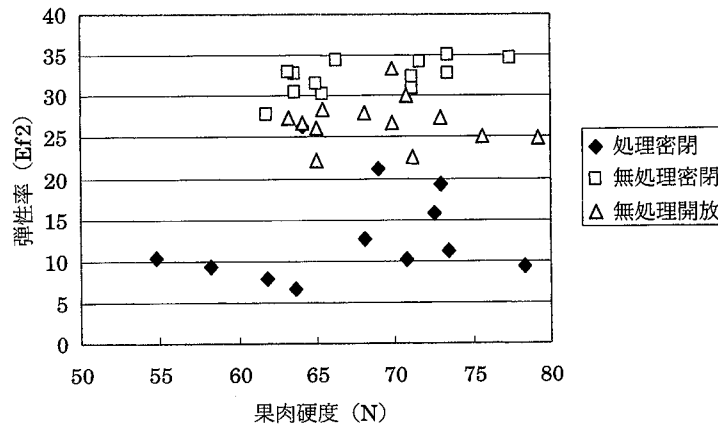


図2 第2共鳴周波数から算出した弾性率と果肉硬度の関係

表4 細胞壁多糖類に対する臭化メチル処理の影響

(mg/gAIS)

可溶性画分	ウロン酸			有意性	中性糖			有意性
	無処理開放	無処理密閉	処理密閉		無処理開放	無処理密閉	処理密閉	
水	62.7 ^a	62.8 ^a	41.8 ^b	**	34.6	37	29.1	ns
EDTA	31.8	31.9	31.8	ns	9.9	10	9	ns
塩酸	112.3	114.3	113.7	ns	69.1	69.5	70.2	ns
ペクチン	206.8	209	187.3	ns	113.6	116.5	108.3	ns
4% KOH	22.4	22.7	25.9	ns	32.9	36.8	36.6	ns
24% KOH	6.6	6.5	7.7	ns	64.1	69.2	68.8	ns
ヘミセルロース	29	29.2	33.6	ns	97	106	105.4	ns
合計	235.8	238.2	220.9	ns	210.6	222.5	213.7	ns
残さ	633.3	604.5	611.7	ns				

無処理果の弾性率の違いが、果実内のどのような変化を反映しているのかについて、今後検討する必要がある。

要 約

リンゴ果実に及ぼす臭化メチルくん蒸処理の影響についての研究の一環として、本報では‘ふじ’（無袋）果実を密閉容器に入れ、その中に直接臭化メチルを注入した場合の影響を果肉の物理性の側面から検討した。臭化メチル処理区ではすべての果実で果肉褐変が認められた。通常の破壊法で測定した果肉硬度には処理果（褐変果）と無処理果の間で有意差が認められなかった。レーザー・ドップラー法で果実全体を非破壊的に測定して検出した第2, 3共鳴周波数及び果肉の弾性率は処理果で低かった。同法で測定した、第2共鳴周波数から2kHzまでの間の振動強度の合計値は、いずれも処理果で低かった。これらの結果から、臭化メチル処理によって発生した内部褐変果の物理性の変化をレーザー・ドップラー法で測定した第2及び第3共鳴周波数、果実の弾性率、高周波における振動強度の低下によって非破壊的に検出できることが示された。

本研究の遂行にあたって、果実材料や装置等を提供し、多くの有益な助言を下された青森県りんご試験場の研究員の方々に感謝の意を表す。また、レーザー・ドップラー装置の設置や果実の物理性の測定について多くの助言を下された松下寿電子(株)の和田直樹氏及び寺崎章二氏に感謝する。

文 献

- 1) 安部凱裕, 川上房男, くん蒸による青果物害虫の殺虫効果と薬害に関する試験, 植防研報, 16, 11-25 (1980).
- 2) Drake, S.R., Moffitt, H.R. and Matheis, J.P., Methyl bromide. Time and temperature of exposure on apple quality. *J. Food Process. Preserve.* 14, 85-92 (1990).
- 3) Galletti, G.L. and Berger, S.H., Effects of methyl bromide on apples intended for export. *Simiente*, 57, 201-206 (1987).
- 4) 川上房男, 元島俊治, 宮本憲治, 相馬幸博, 溝淵三必, 中村三恵子, 三角 隆, 砂川邦男, 杵 雅雄, 赤川敏幸, 加藤利之, 秋山博志, 今村哲夫, 田尾正博, 金田昌士, 杉本俊一郎, 米田雅典, 加土井仁, 勝又 肇, 永井宏志, 佐々木幹了, 一戸文彦, 川嶋浩三, 工藤亜義, 長内敬明, 斎藤 彰, 対米輸出りんご‘ふじ’の植物検疫処理, 植防研報, 30, 81-140

- (1994).
 - 5) 森 武雄, 川本 登, 小田 保, Studies on the fumigation injuries of fruits and vegetables. *Res. Bull. Pl. Prot. Japan.* 2, 51-64 (1963).
 - 6) Drake, S.R., Moffitt, H.R., Fellman, J.K. and Cell, C.R., Apple quality as influenced by fumigation with methyl bromide. *J. Food Sci.*, 53, 1710-1712 (1988).
 - 7) Meheriuk, M., Gaunce, A.P. and Dick, V.A., Response of apple cultivars to fumigation with methyl bromide. *Hort Sci.*, 25, 538-540 (1990).
 - 8) Rippon, L.E., Singh, G., Sproul, A.N. and Gilbert, W.S., Methyl bromide fumigation and cold storage for disinfection of Granny Smith apples against Queensland and Mediterranean fruitlet flies. *Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb.*, 22, 116-123 (1982).
 - 9) 寺崎章二, 桜井直樹, 和田直樹, 山本良一, レーザー・ドップラー法による果実軟化の非破壊・非接触測定法 (第3報), 園学雑 68, 別2, 437, 奈良 (1999).
 - 10) Muramatsu, N., Sakurai, N., Wada, N., Yamamoto, R., Takahara, T., Ogata, T., Tanaka, K., Asakura, T., Takano, Y.I. and Nevins, D.J., Evaluation of fruit tissue texture and internal disorders by laser Doppler detection. *Postharv. Biol. Technol.*, 15, 83-88 (1999 a).
 - 11) Blunmenklanz, N. and Asboe-Hansen, G., New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.*, 54, 484-489 (1973).
 - 12) Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, A., Rebers, P.A. and Smith, F., Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356 (1956).
 - 13) Muramatsu, N., Sakurai, N., Yamamoto, R., Tanaka, K., Asakura, T., Takano, Y.I. and Nevins, D.J., Remote sensing of fruit textural changes with a laser dopplar vibrometer. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 125, 120-127 (1999 b).
 - 14) Muramatsu, N., Sakurai, N., Wada, N., Yamamoto, R., Tanaka, K., Asakura, T., Takano, Y.T. and Nevins, D.J., Critical comparison of an accelerometer and laser Doppler vibrometer for measuring fruit firmness. *Hort. Tech.*, 7, 434-438 (1997).
 - 15) 浦野 敬, リンゴ果実の貯蔵中における内部褐変に関する研究, 弘前大学修士論文 (1998).
 - 16) Yamaki, S., Machida, Y. and Kakiuchi, N., Changes in cell wall polysaccharides and monosaccharides during development and ripening of Japanese pear fruit. *Plant Cell Physiol.*, 20, 311-321 (1979).
 - 17) Terasaki, S., Sakurai, N., Yamamoto, R., Wada, N. and Nevins, D.J., Changes in cell wall polysaccharides of kiwifruit and the visco-elastic properties detected by a laser Doppler method. 園学雑. 70, 572-580 (2001).
- (平成14年11月26日受付, 平成15年2月17日受理)