

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：52501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05913

研究課題名（和文）蛍光計測に基づく青果物熟度の評価手法の確立と非破壊測定器の開発

研究課題名（英文）Development of technique and nondestructive measuring instrument to evaluate vegetables and fruits maturity based on fluorescence measurement

研究代表者

福地 健一（Fukuchi, Ken'ichi）

木更津工業高等専門学校・基礎学系・教授

研究者番号：00218942

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,800,000円

研究成果の概要（和文）：620 nmの光で励起して果実内部から放出されるクロロフィル蛍光を測定し、685 nmと740 nmのスペクトル強度比（F685/F740）を求め、その対数を指標（Fluorescence, Maturity Index, FMI）として果実の熟度を非破壊で評価する手法の開発に成功した。
トマトでは果皮色に変化が表れる数日前からFMIが変化すること、キウイフルーツでは追熟温度によりFMI変化の様子が大きく異なりFMIと糖酸比および果実硬度との間に良い相関があることなどを突き止め、本手法を利用して、果実の出荷時期や食べ頃の判定が可能であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果実は追熟により品質が大きく変化し、品質管理が難しいというえ、熟度により食味評価が大きく異なるため、消費者が食べ頃に口にすることが難しいという問題がある。本研究の成果により、果実内部から放出される蛍光の測定に基づき、非破壊で熟度を評価できるようになり、勘と経験に頼っていた果実の品質管理や食べ頃の判断を客観的に行うことが可能となった。本手法は、果実の流通の適正化及び消費の活性化に大きく貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed a non-destructive technique to evaluate fruit maturity based on fluorescence measurement. We excited fruits using a light wavelength of 620 nm and measured the fluorescence spectra emitted from the inside of the fruit. The fluorescence maturity index (FMI), which is defined as the logarithm of F685/F740, was used for the evaluation. Here, F685 and F740 were the chlorophyll-a fluorescence intensity at 685 and 740 nm, respectively. We ripened mature-green tomatoes and examined the relationship between FMI and chromaticity. We clarified that FMI began to increase several days before changes in chromaticity. Experimental results on kiwi fruits revealed that the FMI changes differed greatly depending on the ripening temperature, and there were good linear correlations between FMI and fruit firmness as well as between FMI and sugar/acid ratio. It is thought that this technique can be effectively applied to judge the shipment time and edible period of fruits.

研究分野：光応用計測

キーワード：蛍光スペクトル 熟度 非破壊計測 果実

1. 研究開始当初の背景

果実は、消費者にも人気があり、生産者の大きな収入源となるが、追熟により品質が大きく変化する品種も多く、品質管理が難しいという問題がある。そのため、果実の熟度を精度よく非破壊で評価する技術の開発が求められる。

果実に含まれるクロロフィルは、成熟に伴い分解されて減少することが知られている。我々は、植物葉のクロロフィル蛍光スペクトルを測定し、波長 685 nm 付近のピーク (F685) および 740 nm 付近のピーク (F740) の強度比 F685/F740 とクロロフィル濃度との関係を調べた結果、図 1 に示すように、クロロフィル濃度が高い場合、F685 がクロロフィル a に強く再吸収されるために、F685/F740 が減少することを明らかにした^①。このことから、果実の内部まで到達する光を用いて、内部のクロロフィルを励起し、そこから放出されるクロロフィル蛍光のスペクトル強度比 F685/F740 を調べることで、熟度の評価が可能になると考えられる。果実内部から放出される蛍光スペクトルの計測は、果実表面における光の反射、吸収、散乱等の影響を受けにくいいため、それらの影響を複雑に受ける分光反射スペクトルおよび分光透過スペクトルの計測と比較すると容易であり、大きさおよび凹凸や柔毛の有無等の表面状態が、種類あるいは個体間で異なる様々な果実の評価に適していると考えられる。

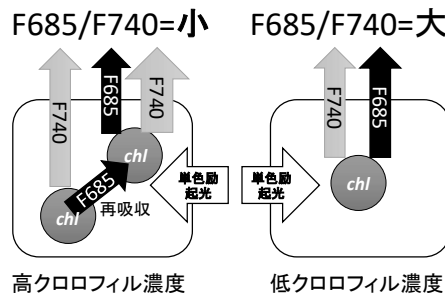


図 1 クロロフィル蛍光の再吸収

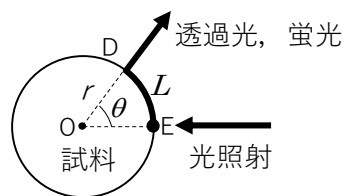
2. 研究の目的

本研究は、青果物の熟度を非破壊で精度よく評価する工学的手法を確立することを目的とし、多くの品種の測定に対応できる測定手法と操作性の良い測定装置の開発を目指す。クロロフィルは、葉物野菜はもちろんのこと、キノコ類を除くほとんどの青果物に含まれており、熟度が増すと分解され減少することを利用し、青果物中のクロロフィル濃度を蛍光スペクトル計測により求め、それを指標とした熟度の評価を試みる。

3. 研究の方法

(1) 測定装置および手法の開発

大玉トマトの主要品種であるホームモモタロウを用いて、追熟に伴う蛍光スペクトルおよび透過スペクトルの変化等を測定する。図 2 のように、試料に対して光を照射し、中心から θ の方向に放出される透過光および蛍光をマルチチャンネル分光器で測定する。蛍光スペクトルを測定する際の励起波長や測定角 θ を様々に変化させて、熟度評価に最適な測定条件および蛍光熟度指標 (Fluorescence Maturity Index, 以下 FMI とする) を求める。



(2) 熟度評価

① トマト

ホームモモタロウを栽培し、緑熟の段階で収穫する。一定温度で追熟させながら蛍光スペクトル変化を測定し、FMI と果皮色度との関係を調査する。

② キウイフルーツ

異なる温度で追熟して FMI 変化を調査するとともに、FMI と果実硬度および糖酸比の関係を調査する。

(3) 汎用測定器の開発

屋外計測に向けた小型装置の開発を行う。

4. 研究成果

(1) 測定装置および手法の開発

① 測定装置

蛍光スペクトルおよび透過スペクトル測定に用いた光学測定装置の概要を図 3 に示す。光照射には、100 W のキセノン光源 (LAX-103, 朝日分光製) を用いた。可視光照射用のミラーモジュール (MM-VIS, 朝日分光製) を併用して、あらかじめ紫外および赤外領域の余分な光は除去した。回転式自動フィルターチェンジャーに設置した半値幅

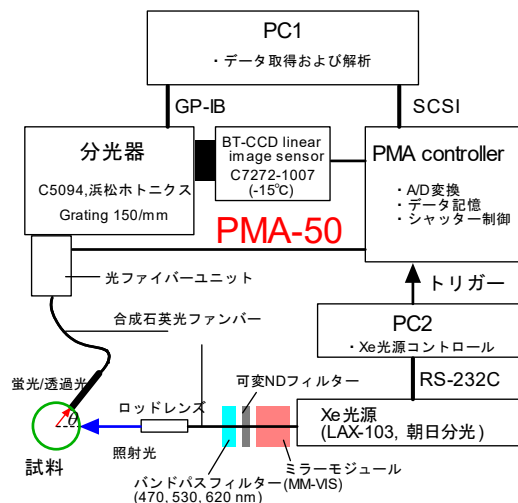


図 3 光学測定装置の概要

約 10 nm, 中心波長 470 nm, 530 nm, 620 nm の各バンドパスフィルター(MX シリーズ, 朝日分光製)によって光を単色化した後, 合成石英製の光ファイバー(φ5×1000L, 朝日分光製)とロッドレンズ(RLQL80-1, 朝日分光製)を通して集光し, 試料に照射した。試料表面における光強度は, 連続可変 ND フィルターを用いて, 各波長ともに約 100 Wm⁻² となるよう調整した。透過スペクトル測定時には, 前述のバンドパスフィルターを通さず, 直接, キセノン光源から放出される可視領域の白色光を試料に照射した。試料内部より放出された透過光および蛍光を試料表面に設置した光ファイバーよりマルチチャンネル分光器(PMA-50, 浜松ホトニクス製)に導き, 各スペクトル計測を行った。

② 蛍光スペクトルの励起波長依存

図 4 に, $\theta = 45^\circ$ で測定した緑熟期および完熟期におけるホームモモタロウの蛍光スペクトルを励起波長毎に示す。緑熟期では, 全励起波長において, F740 が強く F685 は, 非常に弱く観察された。一方, 完熟期になると, 620 nm での励起時に F740 は緑熟期の十分の一程度まで減少したが, 逆に F685 は強く観察されるようになった。このことは, 緑熟期には果実中に多くのクロロフィルが存在するため, 果実内部において F685 および F740 の両クロロフィル蛍光はともに強く放出されるのだが, 短波長側の F685 は, クロロフィルによって再吸収されるため, 表皮付近まで到達できないものと考えられる。完熟期になると, 果実中のクロロフィルが減少するために, 果実内部における F685, F740 はともに減少するが, F685 は再吸収されることなく果皮表面付近まで到達することが可能となり, 相対的に強く観察されるようになったものと考えられる。また, 完熟期では, 470 nm および 530 nm で励起した場合, F685, F740 が両方とも全く観察されなかった。これは, それらの波長領域に強い吸収帯を持つ β カロテンおよびリコペンが追熟に伴って生成され²⁾, 励起光が試料表面付近で強く吸収されてしまい, 果実の内部まで到達できなかったためと考えられる。緑熟から完熟までの全ステージで熟度評価を行うためには, 波長 620 nm で励起する必要があることが分かった。

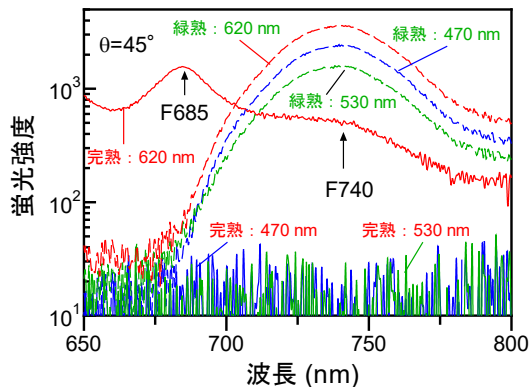


図 4 蛍光スペクトルの励起波長依存

③ 蛍光スペクトルの測定角度依存

図 5 にホームモモタロウの緑熟実および完熟実における F685, F740 の値を測定角度毎に示す。完熟実では, 全ての測定角度で F685, F740 とともに解析可能であったが, 緑熟実では, 測定角度 75° において F685 がノイズレベルと同等となり, 測定角度 90° 以上では解析が困難であった。これは, 測定角度が大きくなると, 励起光照射点と蛍光検出点間の距離が増加し, 果実中の光路が長くなるために, 前述の通り F685 がクロロフィルに強く再吸収されるためと考えられる。以上の結果より, F685/F740 の蛍光強度比を精度よく求めるためには, 測定角度 60° 以内で行う必要があることが分かった。図 6 に $\theta = 45^\circ$, 励起波長 620 nm で測定した蛍光スペクトル変化を示す。追熟に伴い F740 は減少し, F685 が増加している。図 7 に追熟に伴う 620 nm 励起時の蛍光強度比 F685/F740 の変化の様子を, 60° 以内の測定角度について示す。あわせて角度 45° で測定した透過スペ

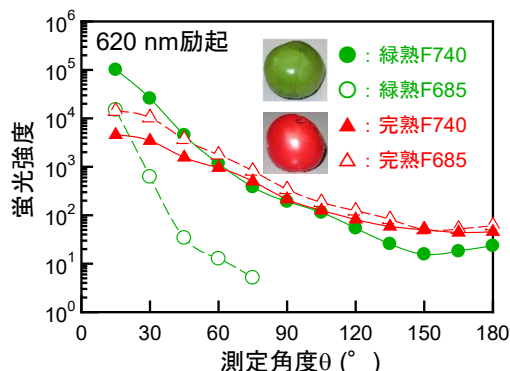


図 5 緑熟実および完熟実における F685, F740 の測定角度依存

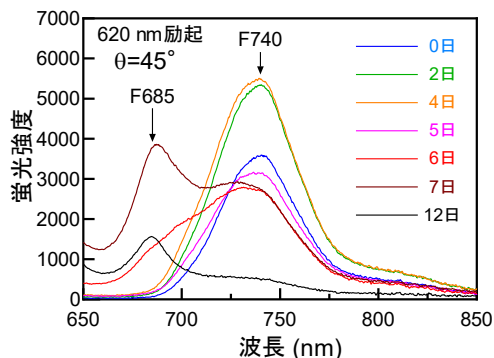


図 6 追熟に伴うホームモモタロウの蛍光スペクトル変化

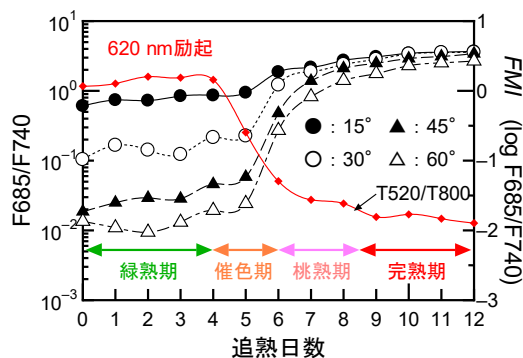


図 7 蛍光強度比 F685/F740 の測定角度依存と透過光強度比 T520/T800 の変化

クトルより求めた、520 nm の透過光強度 (T520) と 800 nm の透過光強度 (T800) の比である T520/T800 の変化も示す。520 nm はリコペン特有の吸収帯であり、トマト果実中に波長 800 nm 付近に吸収をもつ特定の色素は存在しない^③ことから、試料に含まれるリコペン量が増加すると T520/T800 は減少すると考えられる。緑熟期では果実内に豊富に含まれるクロロフィルによって F685 が強く再吸収されるため F685/F740 は小さくなった。測定角度が大きくなり、果実中の光路が長くなると、その傾向が顕著となった。T520/T800 が減少しはじめると、急激に F685/F740 は増加し、T520/T800 が最小となりほぼ変化しなくなった完熟期では、測定角度によらず F685/F740 \approx 3 に収束した。これらのことから、全成熟ステージにわたって精度よく F685 を測定することが可能であり、F685/F740 が成熟に伴って感度よく変化する、角度 45 ° ~ 60 ° の方向の計測が熟度評価に最適であることが分かった。

④ 蛍光スペクトル強度比と相対透過率の関係

緑熟期から催色期にかけて採取した 9 個のホームモモタロウを追熟させながら、励起波長 620 nm で得られた蛍光スペクトルと透過スペクトルを測定した。図 8 に蛍光スペクトルより求めた $\log F685/F740$ と透過スペクトルより求めた $\log T520/T800$ および $\log T650/T800$ の関係を示す ($\theta = 45^\circ$, T650 は 650 nm の透過光強度)。既述通り $\log T520/T800$ は果実中のリコペン濃度の増加に比例して減少すると考えられる。一方の $\log T650/T800$ は、T650 がクロロフィル a の吸収帯付近であることから、クロロフィル濃度の減少に比例して増加すると考えられる。図 7 より、 $\log F685/F740$ と $\log T650/T800$ との間、良い相関が見られることから、 $\log F685/F740$ は果実中のクロロフィル濃度の変化に対応した量であることが分かる。このことから、透過率測定を行わずとも、トマト果実中のクロロフィル濃度を蛍光計測に基づき見積ることができることが明らかとなった。蛍光計測は、励起光の波長と測定対象である蛍光の波長が異なるため、透過率計測より迷光の影響を受けにくいことから、精度よく熟度の評価ができると考えている。また、非接触での遠隔計測もできるため、樹上における収穫前の果物に対する計測も可能になると考える。以後、 $\log F685/F740$ を蛍光熟度指標 (FMI) とすることとする。

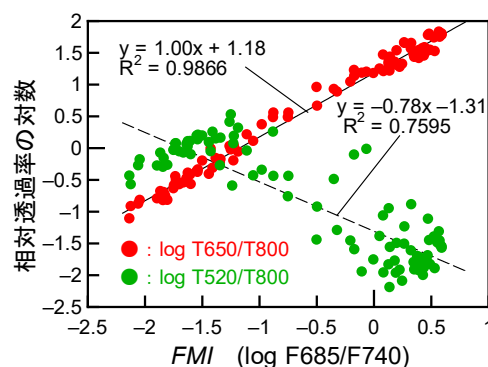


図 8 蛍光強度比と相対透過率の関係

(2) 熟度評価

① ホームモモタロウにおける FMI と果皮色度の関係

ホームモモタロウを緑熟で採取し、25 °C で追熟し、1 日ごとに蛍光スペクトルと果皮色度 ($L^*a^*b^*$ 表色系) を測定した。図 2 に示すように、 L が異なれば、試料中のクロロフィルによる F685 の再吸収の割合が異なるため、 r を 30 mm、 θ を 45 ° に設定し、 L を約 24 mm に固定して蛍光スペクトルの測定を行った。FMI と a^* 値および a^*/b^* 値の変化の割合を比較するため、各指標の -8 日の値を 0、+8 日の値を 1 として正規化を行い、図 9 にプロットした結果を示す。尚、各試料の a^* 値が負 (緑色方向) から正 (赤色方向) に転じた日を基準とし、基準日 (0 日) の前後 8 日間 (-8 日 ~ +8 日) の値を比較した。図より、FMI は -5 日から基準日 (0 日) までの間、 a^* 値および a^*/b^* 値を上回る割合で増加したことがわかる。また、完熟したと考えられる +2 日から過熟となったと考えられる +8 日までの間、FMI は a^*/b^* 値とほぼ同じ割合で変化をした。抽出法により求めたトマト果実の各追熟段階における色素含有量を見ると^④、緑熟期から半熟期にかけて、クロロフィルは最大含有量に対して約 7 割の減少、同じくリコペンおよび β -カロテンはそれぞれ約 1 割および約 3 割の増加であった。緑熟期から半熟期におけるクロロフィル含有量の変化の割合が、リコペンおよび β -カロテンのそれより大きいため、-5 日から 0 日まで FMI の変化の割合が a^* 値および a^*/b^* 値の変化の割合を上回ったと考えられる。これらのことから、FMI を指標として、緑熟期から過熟期のすべての段階でトマトの熟度評価を行うことが可能であることがわかった。特に、果皮色度に変化があらわれる数日前より FMI の増加が始まることから、出荷時期の判断を行う上で、本手法を有効に利用できると考えられる。

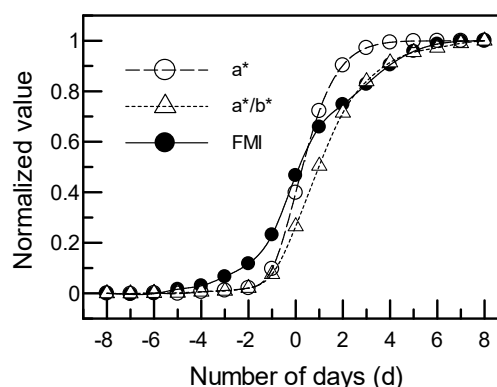


図 9 追熟に伴う FMI と果皮色度 (a^* , a^*/b^*) の変化

②キウイフルーツにおける FMI 変化と果実硬度および糖酸比の関係

果樹園にて質量 100 g 程度のヘイワードを採取し、果実表面に傷および色ムラがあるものを除き、計 35 個の果実を実験に供試した。試料は各実験操作に応じて A 群(5 個)、B 群(5 個)、C 群(3 個)および D 群(22 個)の 4 つの群に分類した。A 群は、未処理のまま 3 °C で冷蔵保存、B 群と C 群は、エチレン処理を施した後、B 群は 17.5 °C、C 群は 25 °C にて追熟を行い、それぞれホームモモタロウと同じ方法で蛍光スペクトル測定を行った。これとは別に、採取約 6 週間後、3 °C で貯蔵していた D 群(22 個)を室温に取り出し、エチレン処理後に追熟しながら FMI と硬度および糖酸比との関係を調べた。

A~C 群の FMI 変化を図 10 に示す。追熟前の FMI は、全群とも約-2.5 であった。追熟処理を行っていない A 群でも 10 日目以降に FMI は少しずつ増加し、クロロフィルが僅かずつ分解されたと考えられる。B 群の FMI 変化だが、4 日目~10 日目にかけて急激に増加し、22 日目にかけて約-1.4 まで緩やかに増加、24 日目以降は再び急増に転じ、30 日目に約-0.8 となった。C 群の場合、変化の傾向は、B 群と似ているものの、B 群の約 2/3 の日数で、FMI が同程度まで増加した。これより、追熟温度が高い C 群の方が B 群より追熟速度が速いと判断できる。

D 群における、FMI 値と硬度および糖酸比との関係を図 11 に示す。追熟初期には硬度は、FMI に比例して減少し、FMI が約-1.6 のときに硬度は約 1.2 kg cm⁻²(約 1.2×10² kPa)となった。その後の変化は極めて緩やかなものとなり、FMI が-1.0 になると約 0.55 kg cm⁻²(約 5.4×10 kPa)となった。本実験においては、硬度の減少が緩やかになり始める FMI 値-1.6 前後が可食期と考えられる。果実のおいしさを最も直接的に表すパラメータである糖酸比に関しては、追熟前の約 7 から完熟後の約 18 まで増加し、未熟から完熟に至るまでの全段階にわたって FMI との間に直線関係がみられた。図 11 を参照すれば、FMI の値から硬度と糖酸比の両方を推定することが可能となるため、消費者の好み(硬度、味覚)にあった食べ頃の判断に利用できると考えられる。

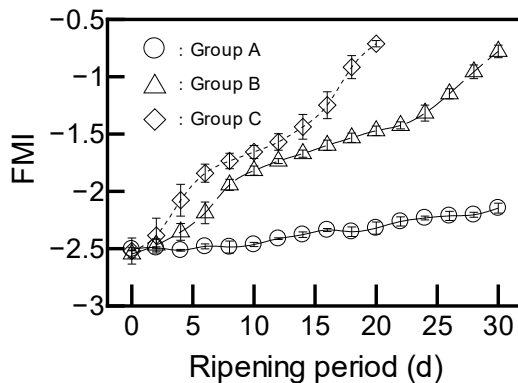


図 10 ヘイワードの追熟温度と FMI 変化

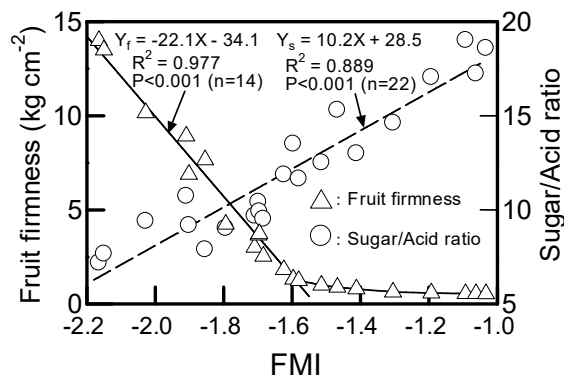


図 11 ヘイワードの FMI 変化と果実硬度および糖酸比の関係

(3) 汎用測定器の開発

新たな励起光源として、出力波長が約 620 nm である LED ヘッド(615-900A, 朝日分光製)を採用し、従来のキセノン光源との特性比較を行った。試料と光照射ヘッド間の距離を 5 cm とした場合、照射面積はキセノン光源と同等 (16 mm×16 mm) であるにも関わらず、LED ヘッドの最大照射強度 (出力 100 %時) は 1 平方メートルあたり 1350 W であり、キセノン光源の約 10 倍を確保できることが確認できた。この LED ヘッドを用いてトマトを励起し、室内蛍光灯照射下においてミニ分光器 (TM-UV/VIS C10082CA, 浜松ホトニクス製) で蛍光を測定したところ、従来装置と同様に、追熟に伴う FMI の変化が観察可能であった。また、装置全体の消費電力は約 50 W であり、リチウムイオン電池式のポータブル電源 (質量 6.0 kg, 容量 630 Wh) を用いて、1 時間以上、安定した動作を維持することが可能であった。以上のことから、本装置を用いることで、屋外においても果実の熟度評価が可能になると考えられる。

<引用文献>

- ①高橋邦夫, 峰内(福地)健一等, レーザ誘起蛍光法による植物の生育状態のモニタリングに関する基礎的研究, 照明学会誌, 79 巻, 1995, 86-92
- ②永田雅靖, 山下市二, トマト果実に含まれるクロロフィルおよびカロテノイドの同時, 簡便定量法, 日本食品工業学会誌, 39 巻, 1992, 925-928
- ③伊藤秀和, 森本進, 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 巻, 2009, 510-513
- ④永田雅靖, 山下市二, トマト果実に含まれるクロロフィルおよびカロテノイドの同時, 簡便定量法, 日本食品工業学会誌, 39 巻, 1992, 925-928

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 FUKUCHI Ken'ichi, KAKAZU-OHNO Yuko	4. 巻 32
2. 論文標題 Characteristics of Chlorophyll Fluorescence Spectra Variations in Tomato and Kiwi Fruits During Ripening	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Shokubutsu Kankyo Kogaku	6. 最初と最後の頁 221 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2525/shita.32.221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 福地 健一、嘉数 祐子	4. 巻 52
2. 論文標題 クロロフィル蛍光計測による大玉トマトの熟度評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 木更津工業高等専門学校紀要	6. 最初と最後の頁 41 ~ 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.19025/bnltk.52.0_41	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福地健一、嘉数祐子
2. 発表標題 蛍光計測によるキウイフルーツの熟度評価
3. 学会等名 日本生物環境工学会2019年千葉大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福地健一、嘉数祐子
2. 発表標題 蛍光計測によるトマト果実の熟度評価
3. 学会等名 日本生物環境工学会2018東京大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	嘉数 祐子 (大野祐子) (Kakazu-Ohno Yuko) (30455117)	木更津工業高等専門学校・基礎学系・准教授 (52501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------