

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03891

研究課題名(和文)生産・加工空間におけるストレス操作によるカンキツ成分制御法の確立

研究課題名(英文) Establishment of citrus ingredient control method by stress operation in production/processing space

研究代表者

北村 豊 (KITAMURA, Yutaka)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：20246672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：ウンシュウミカン'を対象に栽培過程で、かん水量を減らす水分ストレス、収穫果実を恒温で維持する温度ストレス、果皮に規定波長の光を照射する光ストレスを実施した。その結果、栽培期間中のストレス付与により糖・酸の成分変動を生じさせることが可能であること、カロテノイド類などの有用な機能性成分変動を制御できることを明らかにした。

また、ウンシュウミカン全果を原料とする粉末加工特性を微細湿式粉碎MWMによる粉碎と噴霧乾燥による加熱により実験的に解析した。その結果、粉碎・噴霧乾燥のストレスを経ても、材料の機能性成分を大きく損なうことなく、ウンシュウミカン全果を粉末にできることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カンキツは、デザートや間食として摂られることが多いが、人の健康保持に必要な不可欠な糖類や繊維質、ビタミン・ミネラルなどを手軽に補給できる栄養・保健食品としても注目されている。カンキツやその加工品が、保健機能をさらに発揮するには、それに蓄積される栄養成分をより増強・保持させることが有効である。また、カンキツ栽培・加工においては、栽培・加工条件を変えることによって、果実・加工食品中成分を人為的に制御することが可能となれば、これまでは廃棄物として扱われていた摘果果実や過熟果実も、成分抽出の原料あるいは加工食品として流通過程に乗せることが可能となり、生産者・過去業者の所得向上にも繋がることが考えられる。

研究成果の概要(英文)：We studied the citrus (*Citrus unshiu* Marc. var. Miyagawa-wase) responses to water stress in the field, heat stress during storage, and light stress in the postharvest. As the result, it was confirmed that it was possible to generate the component fluctuation of acid and sugar by the water stress during the cultivation period and that the change of the component fluctuation can be controlled by changing the temperature during the storage period, light, and etc. We also investigated the powder processing using whole Unshu mandarin fruits as raw materials. The effects of Micro Wet Milling (MWM) and spray drying, on the content characteristics of functional components of the powder were experimentally analyzed. As a result, it has been clarified that the whole fruits of Unshu mandarin can be made into powder without significantly impairing the functional components of the material even after the stress of milling and spray drying.

研究分野：農産食品加工

キーワード：温州ミカン 水分 温度 光照射 粉碎 乾燥 機能性成分

## 様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

カンキツは、デザートや間食として摂られることが多いが、ヒトの健康保持に必要な不可欠な糖類や繊維質、ビタミン・ミネラルなどを手軽に補給できる栄養・保健食品としても注目されている。すでに国内では、一部産地のウンシュウミカンを対象に、含有する クリプトキサンチンの保健機能によって、生鮮農産物としては初の機能性表示食品として認定され、消費者や健康食品産業界から大いに注目を集めている。カンキツやその加工品が、保健機能をさらに発揮するには、それに蓄積される栄養成分をより増強・保持させることが有効である。よって、カンキツ栽培・加工においては、栽培や加工条件を変えることによって、果実・加工食品中成分を人為的に制御することが可能となれば、これまでは廃棄物として扱われていた摘果果実や過熟果実も、成分抽出の原料としてあるいは加工食品として流過程に乗せることが可能となり、生産者・加工業者の所得向上にも繋がることが考えられる。

### 2. 研究の目的

食物繊維、糖、ビタミン、ミネラル、精油等を豊富に含むカンキツの果実や果皮を対象に、(1) 栽培空間において水分や温度調節、光照射により与えられるストレスを用いて、果実の有する保健機能成分の蓄積や糸状菌に対して抗菌活性のある有用成分を制御する手法の検討を行い、さらに

(2) 加工空間において湿式粉碎や熱風乾燥により与えられる力学的・熱的な加工ストレスに伴い変動する保健機能成分の定量的な影響の評価を通して、

(3) 加工時の賦形剤添加による保健機能成分の濃縮効果の検討し、  
以上により、多様な商品価値を有するカンキツの生産・加工を可能にすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 栽培空間におけるストレスの影響評価

農研機構西日本農研センター(香川県善通寺市所在)内の実験圃場に植栽されている早生温州みかん‘宮川早生’(21年生、カラタチ台)を用いて、これらに、さまざまな栽培ストレスを付与し供試果実とした。

#### 水環境・温度環境ストレス制御による応答生成物の評価

8月以降に樹への水分供給を最低限に保ち強いストレス状態を維持したした果実について、通常時期の収穫果実(11月23日:樹上完熟区)と収穫時期を遅延させた果実(翌年1月24日収穫:越年完熟区)、強いストレス状態を維持した果実を収穫後に恒温状態で保存した自然乾燥果実(完熟収穫越年貯蔵区)を供試材料とした。これらの果実について、それぞれの供試果実から任意に10個を選び、ハンディ搾汁器を用いて搾汁し、果汁液を酸糖度分析装置(堀場製作所、NH-2000形)で分析した。果実5個を1サンプルとし3回反復して糖度、酸濃度を求め、平均し、それぞれの供試果実の糖度、酸度とした。また、慣行栽培果実、ストレス付与果実について、それぞれ時期を変えて収穫し、温度条件を変えて4~10週間の保存を行い、上記と同様に果実を選択し、糖組成・酸組成の成分変動を検討した。

#### 光環境ストレス制御による応答生成物の評価

果皮の応答生成物質として、*Botrytis cinerea* Persoon等の糸状菌に対して抗菌活性がある物質スコパロンを取り上げた。2018年の栽培について、波長の異なるLED光を果皮に照射し、そのストレス付与による品質変化を検討した。照射したLED光は、白色(波長300-700nm)、赤色(波長700nm)、青色(波長450nm)、緑色(波長550nm)を用いて、宮川早生果実(10月収穫、2分着色)の果皮に照射処理を行った。処理は既報で生理効果の認められた光量とその半量の光量(40 $\mu$ M/s m<sup>2</sup>, 20 $\mu$ M/s m<sup>2</sup>(Half))とし、照射処理後、常温(15℃)に1週間静置した。処理果実の果皮色を色差計(RM200QC)にて測定、果皮をKunigaら(2006)の方法により抽出し試料を20-70%(メタノール:水)による勾配(26分)をかけたHPLC(カラム:GLサイエンス社InertsilODS-2,C18カラム(4.6 $\times$ 150mm)、高速液体クロマトグラフィー(日本分光LC2000Plus)を用い、カラム温度40℃、流量1.2mL/min、400nm蛍光照射、330nm励起光を測定してスコパロン成分を定量した。

#### (2) 加工空間における力学的・熱的な加工ストレスの影響評価

#### MWM(Micro Wet Milling)システムによる力学的ストレスの影響の解明

MWMシステムは、粗粉碎した食品系スラリを、ポンプを用いて回転式石臼の重ね合わせ面に送り込み、せん断力によって粉碎し、固形粒子のより小さいペーストを製造する特徴を持つ。MWMシステムは、原料であるスラリの供給流量、下臼の回転数などの制御によってせん断応力を変化させ、被粉碎物であるペーストのメディアン径を変化させる。ウンシュウミカン全果スラリの供給流量および下臼の回転数が、ペーストの成分や粒径へ与える影響を明らかにした。

#### 噴霧乾燥による熱ストレスの影響の解明

噴霧乾燥法は、感熱性成分を含有するスラリの粉末化に適している食品工業技術である。しかし、乾燥塔内における噴霧液滴と熱風の混合状態により、液滴の乾燥時間に影響を与え、感熱性成分の変質や消失などの望ましくない変化が起きる。噴霧乾燥法で熱ストレスに対処するには

目的物質を保持する賦形剤が添加される。そこで、噴霧乾燥の熱ストレス下において賦形剤が、ウンシュウミカン全果ペーストの粉末化特性に与える影響を検証した。

### (3) 加工時の賦形剤添加による保健機能成分の濃縮効果の検討

粉末加工を経て賦形剤の添加された試料について対照とともに Meleandez-martianez(2007)の方法に従い生体重 1g の試料を 20 mL のヘキサソ/アセトン/メタノールに溶解後けん化してカロテノイド類を抽出した。サンプルは 6:4 メタノール/ブチルメチルエーテル溶液に溶かし、0.45 μm のフィルターで濾過したものを乾固し、カロテノイド類の定量分析に用いた。カロテノイドの検出は高速液体クロマトグラフィー(日本分光 LC2000Plus)を用いて Kato らの方法(2004)により行った。

## 4. 研究成果

### (1) 栽培空間におけるストレスの影響評価

#### 栽培上の水分ストレス制御

水分ストレス付与の有無を要素として経時的に含量変動を追跡すると、ストレス処理を行わない果実では、収穫を過熟まで持ち越す場合・収穫後に貯蔵を行う場合のいずれにおいても著しい酸含量の変動は見られなかった。これは、収穫時点でストレスを付与した果実では、果実内で代謝活性が収穫時点においても引き続き高く、呼吸活性が高いと推測される。今後果実の呼吸活性の計測等により、原因の推定が可能である。一方で、ストレス付与を行った果実では、減少確認され、とりわけ、貯蔵果実における減少が顕著であった。水分ストレス付与の有無に着目すると、糖含量は樹上完熟区、越年完熟区、完熟収穫越年貯蔵区、全ての区で、いずれの糖(フルクトース・グルコース・スクロース)も含量増が認められた。なかでも、果実を越年完熟させた場合、糖の蓄積増が認められた(図1)。

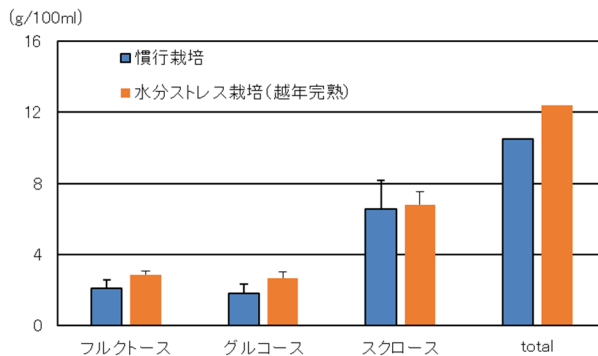


図1 栽培期間中のストレス付与の有無による果実中糖含量の変化

一方、糖と並び果実品質を大きく左右する酸成分について検討すると、慣行栽培(露地)果実では2の保存状態で、保存後4週時点で減酸が進行している(4週から10週にかけて明瞭な減少は認められない)。12保存では4週では減酸は進行していない一方、保存後10週経過果実では明瞭な減酸が認められた。ストレス付与果実においては、保存温度に対する減産反応が鈍く、顕著な成分変動は見られなかった(図2)。

すなわち、栽培期間中のストレス付与が保存時の成分変動(維持)にも影響を与えることを示している。糖含量については前倒し収穫後、2保存では4週後の段階で、12保存では10週後の段階でいずれの糖でも増糖が確認された。ストレス栽培の場合には収穫時はいずれの糖成分も慣行栽培に比べて30~40%程度高含量である。しかし、収穫後の貯蔵による増糖効果は僅かであり、貯蔵開始後10週時点では露地栽培とストレス処理栽培の糖含量は同程度になった。すなわち、果実のもつ糖蓄積のポテンシャルをストレス栽培の場合は早期に引き出していることが明らかとされた。これらの結果は、果実中酸組成・糖組成に注目した場合、水分ストレスの付与により成分変動が可能であることを示しており、酸組成や糖組成については、目的意識に沿ったオーダーメイド果実の生産が可能であることを示している。

#### 光環境ストレス制御による応答生成質の評価

糸状菌への抗菌作用のあるスコパロンは肝炎などの緩和作用も報告されており、これが人為的に制御可能となれば、機能性食品の開発に繋がる可能性もある。

人為的なLED照射処理による光ストレスによって、着色の変化を比較したところ、着色を示すb\*(黄色味)の相違、すなわち果皮の可視光

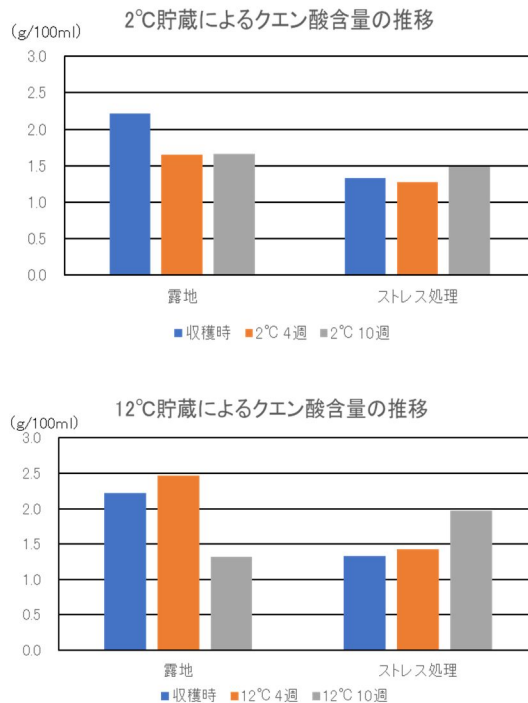


図2 栽培環境、保存温度・期間の相異によるクエン酸含量の変動

上:2 貯蔵時、下12 貯蔵時

成分の変化は、ほとんどみられなかった。しかしながら、青色照射でスコパロンが多く生成され、赤色がそれに次いだ。これらの結果から照射する光ストレスの波長を変えることによって抗菌作用があるスコパロンの生成量を比較的簡易に変化させることが可能であることを明らかとなった(図3)。

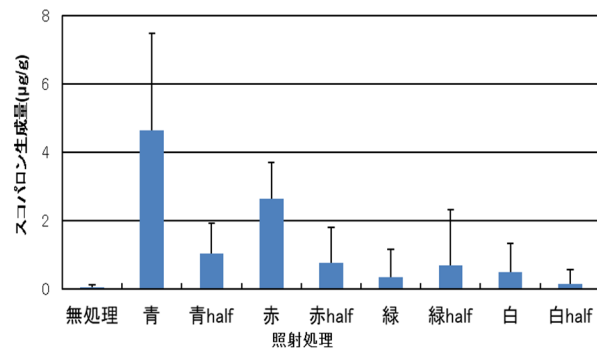


図3 ウンシュウ果皮への異なる波長の光照射ストレスによるスコパロンの生成量

## (2)加工空間における力学的・熱的な加工ストレスの影響評価

MWM (Micro Wet Milling) システムによる力学的ストレスの影響の解明

MWM システムを用いて、各操作条件で粉砕したペーストの粒径を図4に示す。原料の供給流量が上昇するにつれて、粒径は小さくなる傾向を示した。このことは、原料の供給流量が上昇するほど、原料スラリが十分に粉砕される前に石臼の外側に排出されたためだと考えられる。一方、原料の供給流量が減少するにつれて、石臼内で均一な粉砕が進行し、粒径は小さくなったと考えられた。

原料の供給流量が 40 mL/min では供給試料が MWM システムの供給口から溢れることが確認され、粒径にばらつきが生じたことから下臼の回転数が 20 rpm の条件を除く 30 mL/min が適していると考えられた。

下臼の回転数別にみたペーストの粒径は、下臼の回転数が増加するほど、スラリの粒径は小さくなる傾向が得られた。このことは下臼の回転数が増加することでせん断力が増加し、微細化につながったとする考察と一致している。以上より、ウンシュウミカン全果を原料とした MWM システムによる粉砕は、原料の供給流量を 30 mL/min、下臼の回転数を 50 rpm に設定することで、時間の効率良く、小さな粒径が得られると考えられた。

なお原料スラリと製品ペーストのビタミン C 含有量はともに 0.8g/100 mL と有意な差はなく、微細化による空気への暴露面積の増加が酸化を促進することはなかった。

### 噴霧乾燥による熱ストレスの影響の解明

いくつかの賦形剤 (マルトデキストリン MD および全卵粉 EP) 条件で作製した粉末の含水率と収率を表1に示す。これより EP の添加による含水率への影響は確認されなかった。この要因として、ウンシュウミカン全果の粉末に含まれる水分は、糖や有機酸が引き起こす吸水や吸湿によるものが多かったためだと考えられる。一方で、粉末の収率は EP の添加によって有意に上昇することが確認された。

表1 EP 添加有無の粉末の含水率と収率

MD (%)	30		70	
	Without EP	With EP	Without EP	With EP
Moisture content (%)	8.14±1.26	8.76±1.03	4.14±0.52	3.89±0.53
Yield (%)	20.92±4.12 <sup>ab</sup>	34.01±1.25 <sup>ab</sup>	45.89±0.53 <sup>aA</sup>	51.47±1.88 <sup>aA</sup>

The values are mean ± S.D.(n=3) The means with different script (capital letters compare MD

concentration, lower case letters compare EP addition) differs significantly (p<0.05).

図5に各 MD 濃度における EP 無添加区・添加区の粉末収率を表した。ここから MD30% において EP を添加することで収率は大幅に改善されたことが確認され、EP 添加区では 1.6 倍に増加する結果が得られた。さらに、MD70% の EP 添加区では、実験室規模の噴霧乾燥試験で成功とされる 50% を上回る結果が得られ、EP を添加することで、粉末の収率が向

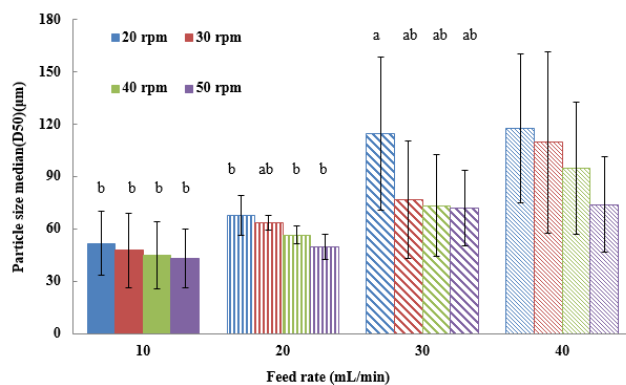


図4 ペースト中粒子の粒径

上することが明らかとなった。

表 2 は粉末の総ポリフェノール量の保持率を示す。MD70 %の EP 添加区では、保持率が有意に上昇することが示された。また、EP 添加区の MD 濃度による影響を確認したところ、保持率が有意に増加することが確認され、MD が原料に含まれる生理活性物質を保護する働きを示した。一方で、MD30 %では EP の添加によるポリフェノール保持率への影響は確認されなかった。

以上のことから、ウンシュウミカン全果のスラリを原料に乳化剤と MD を添加して粉末化する際も、生理化学的物質の保持率は MD 濃度に依存することが示され、また乳化剤の種類を検討する必要性があることが示唆された。

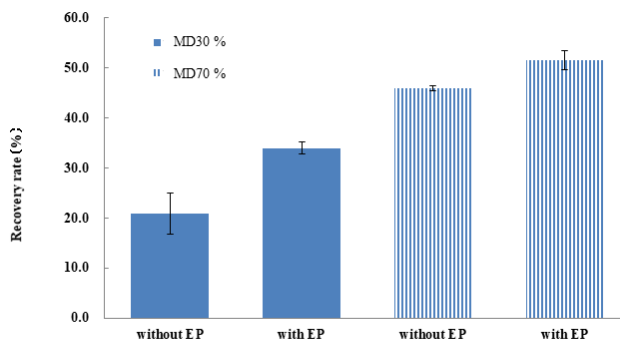


図 5 粉末の収率

表 2 EP 添加有無の粉末 PP の保持率

MD (%)	30		70	
	Without EP	With EP	Without EP	With EP
Retention rate (%)	28.0±2.8 <sup>aA</sup>	26.1±2.4 <sup>aB</sup>	15.1±2.6 <sup>bB</sup>	29.0±2.2 <sup>bA</sup>

The values are mean ± S.D.(n=3) The means with different script (capital letters compare MD concentration, lower case letters compare EP addition) differs significantly (p<0.05).

### (3) ストレス強度の操作による保健機能成分の人為的な制御方法

賦形剤の添加処理を行った試料の分析の結果、クリプトキサンチンの含有量は、添加量 40% の場合が最も多く、30% がそれに次いだ。クリプトキサンチンを保存する場合の賦形剤添加の量は 30% が適当であると推測された。また、カロテンは添加量 30%、ルテインは 40% の区分での量が多かった。ピオラキサンチンについては賦形剤による濃縮はみられず(データ省略)、加工の時に分解した可能性があると思われた(図 6)。カロテノイドの種類にもよるが多様な商品価値を有するカンキツの生産・加工を可能にすることを目的カンキツ類への賦形剤の添加は 30 - 40% が適当であると考えられた。

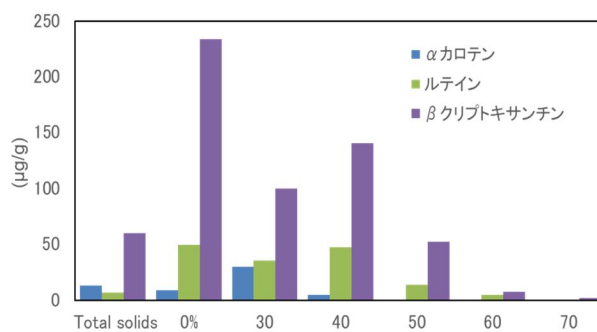


図 6 賦形剤添加量の違いによるカロテノイドの生成量

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 北村 豊, 粉川 美踏, 星 典宏, 喜多 正幸, 國賀 武
2. 発表標題 外果皮を含めた温州ミカン(Citrus Unshiu)粉末の作製
3. 学会等名 農業食料工学会関東支部
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野綾美・北村豊・粉川美踏
2. 発表標題 外果皮を含めた温州ミカン加工の検討
3. 学会等名 農業施設学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Kuniga, Norihiro Hoshi, Masayuki Kita
2. 発表標題 Reflective mulching sheets influences citrus tree growth
3. 学会等名 2018 XXI CIPA Congress on Agriculture, Plastics and Environment Abstracts, 71. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hongpu Wang, Yutaka Kitamura, Mito Kokawa
2. 発表標題 Development of Blueberry Wine with High Content of Polyphenol
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM, SASJ and 13th CIGR VI Technical Symposium FWFNWG and FSWG workshops (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rasool Khan Amini, Yutaka Kitamura, Mito Kokawa, M. Z. Islam
2. 発表標題 Optimization and Evaluating of Pomegranate Peel Extract by Micro Wet Milling Using Response Surface Methodology
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM, SASJ and 13th CIGR VI Technical Symposium FWFNNG and FSWG workshops (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Md Zohurul Islam, Yutaka Kitamura, Mito Kokawa, Shinya Fujii, Hisayuki Nakayama
2. 発表標題 Processing of Green Tea Paste by Micro Wet Milling and Quality Evaluation During Storage
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM, SASJ and 13th CIGR VI Technical Symposium FWFNNG and FSWG workshops (国際学会)
4. 発表年 2019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	喜多 正幸  (KITA Masayuki)  (10343972)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター・グループ長   (82111)	
研究分担者	粉川 美踏  (KOKAWA Mito)  (10732539)	筑波大学・生命環境系・助教   (12102)	
研究分担者	星 典宏  (HOSHI Norihiro)  (70414787)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター・上級研究員   (82111)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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	國賀 武  (KUNIGA Takeshi)  (80355411)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本 農業研究センター・上級研究員     (82111)	