

主成分分析法による振動・落下衝撃のミカン果実の揮発性物質に及ぼす影響の解析

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
著者名	河野,澄夫 椎名,武夫 金子,勝芳 岩元,睦夫
発行元	園藝學會
巻/号	56巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 101-106
発行年月	1987年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



主成分分析法による振動・落下衝撃のミカン果実の 揮発性物質に及ぼす影響の解析¹

河野澄夫・椎名(小野寺)武夫・金子勝芳・岩元睦夫

農林水産省食品総合研究所 305 筑波郡谷田部町

Principal Component Analysis of Effects of Dropping Impact and Vibration on Volatiles of Satsuma Mandarin Fruit¹

Sumio KAWANO, Takeo ONODERA SHIINA, Katsuyoshi KANEKO
and Mutsuo IWAMOTO

National Food Research Institute, Yatabe, Tsukuba 305

Summary

Effects of dropping and vibration received during distribution process on the volatiles accumulated in satsuma mandarin fruit were studied. Gas chromatograms of volatiles from extracted fruit juice were analyzed by principal component analysis (PCA). Results obtained are as follows:

(1) Gas chromatography gave ten major peaks of volatile components within 30 minutes of retention time. Of these, ethanol is the most predominant, accounting for 80% of the total peak area, followed by acetaldehyde.

(2) In dropped fruit, volatile components such as ethanol, acetaldehyde, and others are accumulated. The same tendency is also observed in vibrated fruit. However, the accumulation in the fruit is not so appreciable as that in dropped fruit.

(3) Gas chromatograms were analyzed by the PCA, in which peaks from 1 to 6 on the gas chromatogram were used as independent variables. Consequently 80% of total information of the gas chromatogram data can be interpreted by the first (Z1) and the second (Z2) principal component.

(4) The first principal component indicates the amount of volatiles while the second one shows the relative contribution of each component.

(5) Dropped and non-dropped fruits are clearly discriminated between in the plane with axis of Z1 and Z2. Also, fruit dropped 30 times can be distinguished from fruit dropped less than 20 times. However, there were no differences between vibrated and non-vibrated fruits.

(6) The effect of dropping on the volatiles of fruit juice is more significant than the effect of vibration.

緒 言

流通過程で受ける振動、衝撃が温州ミカンの果実品質に及ぼす影響に関しては、多くの研究がある。それらは、果実表皮(6)及び果肉組織の破壊(11,12)の物理的変質に加え、呼吸の増大(1,3)、酸含量の低下(5)、ビタミンCの酸化(5)、エタノールの蓄積と異臭の発現(5)などの生理的変質としてとらえられ、特に、選果工程に受ける落下衝撃等が変質に対して極めて大きな影響を及ぼ

すことが報告されている。

本研究においては、食味と密切な関係にあると考えられる果実の揮発性物質に注目し、果汁のヘッドスペースガスをガスクロマトグラフにより分析した。ガスクロマトグラムパターンを主成分分析法により解析し、振動、落下衝撃の揮発性成分に及ぼす影響に関し興味ある知見を得た。

材料及び方法

1. 供試材料

農林水産省果樹試験場興津支場で栽培された普通温州

¹ 1986年6月6日受理

(品種：シルバーヒル)で、昭和60年12月13日樹上より採取したものを供試した。

2. 実験方法

振動処理及び落下処理した果実を室温 (10~15℃) の暗所に保存し、保存3日及び7日後の果汁の揮発性物質をガスクロマトグラフ (島津製, GC-7 AG) で分析した。保存中、果実の水分の蒸発を抑制するため、小型のプラスチックコンテナに一層に並べた果実は、直径 5.5 mm の穴を8個有したポリエチレン袋 (厚さ: 40 μ m, 大きさ: 80 cm $\times$ 90 cm) に入れ、その袋の口をテープでとめた。

(1) 振動処理 振動処理には電気油圧式振動試験機 (鷺宮製, EVH-20) を用いた。段ボール箱 (15 kg 詰) に詰めた果実を振動台に固定し、掃引法により加振した。加振時の振動台上の振動加速度の大きさは 0.5, 1.0, 1.5 G の3段階とし、5~10 Hz の振動数の範囲を往復50秒で掃引させながら30分間加振処理した。試験用の果実は段ボール箱の下層に配置し、振動処理中に割れたものは実験から除外した。

(2) 落下処理 落下処理は果実をコンクリート製の床面に 30 cm の高さから自由落下させることにより行った。果実の衝突面は赤道部とし、赤道部全周が一樣に当たるようにした。落下回数は10, 20, 30回の3段階とした。

(3) 揮発性物質の分析 揮発性物質の分析には、金子ら(7)と同様の方法を採用した。操作手順の概要は以下のとおりである。①果皮の精油が混入しないように注意深くむいた3個の果実からじょうのうを5~6個ずつ取り、これをガーゼで包んでハンドジュースで搾る。②得られたジュース 50 ml を試料管にとり、内部標準液として n-hexanol (0.01%) を 0.5 ml 添加する。③ 30℃ の恒温水槽で10分間予熱した後、窒素ガスを 20 ml/min の速度で約10分間通気する。④ 0.3 g の Tenax TA を充てんした試料捕集管 (3 mm ϕ $\times$ 17 cm) を試料管につなぎ、ヘッドスペースの揮発性物質を捕集する。⑤捕集中の窒素ガス流量は 20 ml/min, 捕集時間は5分間とする。⑥ガスクロマトグラフへの導入には加熱導入装置 (島津製, FLS-3型) を使用し、導入時間は2分間とする。

なお、ガスクロマトグラフの操作条件は以下のとおりであった。

検出器: FID

カラム: 3 mm ϕ (内径) $\times$ 3 m, ガラスカラム

充てん剤: メッシュ60~80の Uniport B に含浸させた PEG-6000 (15%)

カラム温度: 最初の4分間を 60℃, 以後 165℃ まで 5℃/min の速度で昇温

試料気化室温度: 200℃

キャリアガス: 窒素 35 ml/min

(4) 解析 インテグレーター (YHP 製, 3380 A) に記録されたピーク面積は内部標準の n-hexanol で補正し、この値をもとに主成分分析を行った。計算には農林水産研究計算センターの大型計算機 (日本電気製, ACOS 800 II) にライブラリ・プログラムとして登録されている主成分分析(4)を用いた。

結果及び考察

1. 温州ミカン果汁の揮発性成分

果皮を除いて搾った温州ミカン果汁の揮発性成分のガスクロマトグラムの例を第1図に示す。温州ミカン果汁のほとんどの揮発性成分は試料注入後30分以内にガスクロマトグラム上に現れる。図中、最も大きいピークは P5 で、その面積はピーク全部の面積の 80% 前後を占めた。次いで、P1, P4, P6 の順で、それぞれのピーク面積の割合は、10%, 1%, 1% 前後であった。なお、P11 は内部標準として用いた n-hexanol のピークである。

温州ミカン果汁の揮発性成分の同定に関する金子ら(7)の報告と、第1図のガスクロマトグラムパターン及び保持時間を比べた結果、ピークのうち P1, P5, P9, P10 については、P1: Acetaldehyde, P5: Ethanol, P9: d-Limonene, P10: γ -Terpinene と判断される。

2. 各揮発性成分の挙動

(1) エタノール

ガスクロマトグラムにおけるエタノールのピーク面積と処理区の関係を示す。エタノールは落下処理

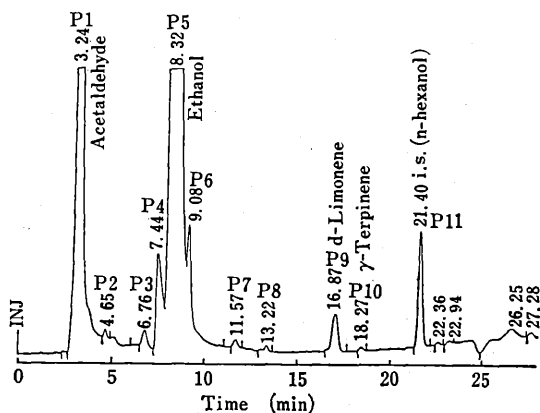


Fig. 1. Gas Chromatogram of Volatiles captured from extracted fruit juice.

Table 1. Peak area of ethanol on gas chromatogram.
($\times 10^3$)

Treatment	Storage period (days)		
	0	3	7
Control	3.15	3.78 (100)	4.08 (100)
0.5 G, Vibrated		5.19 (137)	3.12 (76)
1.0 G, Vibrated		4.48 (119)	4.57 (112)
1.5 G, Vibrated		4.31 (114)	4.37 (107)
Control	4.39	3.60 (100)	4.18 (100)
10 times, Dropped		6.28 (174)	6.72 (161)
20 times, Dropped		6.02 (167)	4.72 (113)
30 times, Dropped		4.13 (115)	4.18 (100)

Table 2. Peak area of acetaldehyde on gas chromatogram.
($\times 10^4$)

Treatment	Storage period (days)		
	0	3	7
Control	3.43	3.77 (100)	3.85 (100)
0.5 G, Vibrated		4.62 (123)	4.87 (126)
1.0 G, Vibrated		4.64 (123)	4.45 (116)
1.5 G, Vibrated		4.64 (123)	4.49 (116)
Control	3.74	3.57 (100)	4.28 (100)
10 times, Dropped		8.81 (247)	8.76 (205)
20 times, Dropped		9.72 (273)	9.66 (226)
30 times, Dropped		7.90 (221)	8.85 (207)

によって著しく増加する。落下処理のうち10回処理区では、3日間保存したもので対照区の1.74倍に達し、落下回数が増加するとその値は低下の傾向を示す。振動処理においても多少増加の傾向が認められたが、落下処理区ほど対照区との差は明確でない。

落下衝撃などの物理的刺激により、果汁中にエタノールが蓄積する現象を生理学的に実証した報告は見られないが、岩元ら(5)は落下衝撃を受けた果実では、呼吸の急増に伴い果実内空隙中の酸素濃度が激減し、このことによって無気呼吸が始まり、その結果エタノールが蓄積すると考察している。また、ある限界以上の落下衝撃を受けるとエタノールの増加が鈍ることは、選果場の工程別にサンプリングした果実の分析結果(5)や岩元ら(5)の行ったシミュレーション結果と一致する。

(2) アセトアルデヒド

ガスクロマトグラムのピーク総面積に占める割合が、エタノールに次いで大きいアセトアルデヒドと各処理区の関係を示す。果汁中のアセトアルデヒドは、エタノールと同様、落下処理することにより著しく増加する。落下処理した果実におけるアセトアルデヒドの増加は、エタノールのそれより著しく、落下回数が10回、

Table 3. Peak area of P2, P3, P4 and P6 on gas chromatogram.
(3 day-storage)

Treatment	P2	P3	P4	P6
Control	173 (100)	1,454 (100)	2,858 (100)	5,893 (100)
0.5 G, Vibrated	294 (170)	1,857 (128)	3,002 (106)	6,717 (114)
1.0 G, Vibrated	352 (203)	1,962 (135)	2,888 (101)	7,111 (121)
1.5 G, Vibrated	214 (124)	1,316 (91)	3,071 (107)	5,655 (96)
Control	120 (100)	1,415 (100)	3,082 (100)	5,315 (100)
10 times, Dropped	1,000 (100)	1,099 (78)	7,117 (231)	9,411 (177)
20 times, Dropped	1,582 (1,318)	1,504 (106)	8,139 (264)	8,887 (167)
30 times, Dropped	602 (501)	676 (48)	7,110 (231)	5,847 (110)

20回と増加するにつれて増大し、20回処理では対照区の2.73倍となる。しかし、30回処理のアセトアルデヒドは20回のそれより少なく、エタノールと同様、アセトアルデヒドも過度の落下衝撃で低下する。振動処理によってもアセトアルデヒドは増加するが、最大1.23倍であってその影響は落下衝撃ほど顕著でない。

一般に、無気呼吸下ではブドウ糖が基質として使われ、ビルビン酸からアセトアルデヒドを経て最終的にはエタノールと炭酸ガスが生成される(8)。CA貯蔵下におけるオレンジの呼吸代謝の研究により、エタノール生成に使用される基質はビルビン酸であることが明らかにされ(2)、ビルビン酸は落下衝撃を受けた温州ミカンの場合、解糖作用によりブドウ糖から生成されるのではなく、果汁中の酸の多くを占めるクエン酸から生成されるとしている(5)。いずれにしろ、果実が無気呼吸に陥った場合は、揮発性成分としてエタノール生成の過程においてアセトアルデヒドも生成される。

(3) その他の揮発性成分

エタノール、アセトアルデヒド以外の主なピークと各処理区の関係を示す。P2, P3, P4, P6とも処理によって面積が増加し、その値は落下処理区においてより顕著である。特に落下処理区のP2は、20回処理の場合対照区の13倍にも達する。P2, P3, P4, P6の総面積のピーク総面積に対する割合は3%程度に過ぎないが、振動処理、落下処理によって量が変動することから、物理的刺激による果実の生理作用の変化に何らかの関連を持っているものと考えられる。

一方、P7, P8, P9, P10は処理とは関連なく不規則な変動を示す。これらの成分のうちP7, P8の成分は不明であるが、筆者らが先に行った予備実験の結果、保持

Table 4. Summary of the data.

Variable	$\bar{P}_i$	S_i	C. V. (%)
P1	57,808	24,177	41.8
P2	450	576	127.7
P3	1,663	788	47.4
P4	4,753	2,573	56.3
P5	464,049	139,165	30.0
P6	6,747	2,101	31.1

 $\bar{P}_i$: Mean. S_i : Standard deviation.

C. V.: Coefficient of variation.

Table 5. Matrix of correlation among peak areas on gas chromatogram.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
P1	1.00					
P2	0.61	1.00				
P3	-0.39	-0.17	1.00			
P4	0.88	0.57	-0.45	1.00		
P5	0.42	0.24	0.22	0.39	1.00	
P6	0.43	0.31	0.15	0.40	0.92	1.00

時間8.8~19.5分の範囲に多数の精油成分由来のピークが現れることや、第1図に示したガスクロマトグラム上では明確ではないがP7及びP8の前後に果皮の精油成分である α -Pinene, β -Pinene, Myrceneが存在する(7)ことから、精油成分に含まれるテルペン系炭化水素と推定される。はく皮の際、果皮の精油成分が混入したものと考えられ、本研究の目的と直接関係がないことから、以後の考察においてこれらのピークは除外した。

ちなみに、予備実験の結果、精油成分に由来する成分と振動処理や落下処理との間に特徴ある関係は認められなかった。

3. 主成分分析

揮発性成分に関する以上の結果及び考察より、落下処理や振動処理を受けた果汁の揮発性成分は、相互に何らかの関連を持ちながら変動することが明らかである。各成分の関連性を解明するため、54個の果実のデータをもとに主成分分析を行った。主成分分析法はコーヒーの香氣成分(9)や果汁の精油成分(7)などの解析に用いられ、有効な手法となっている。主成分分析の方法には相関行列から求める方法と、分散、共分散行列から求める方法とがある(11)が、各成分の濃度が不明なこと及び人間の知覚に対する閾値が不明であることから、本研究では相関行列から求める方法を採用した。

第4表にデータの平均、標準偏差、変動係数を、第5表に各成分間の相関係数を示す。変動係数は平均値の小さいP2において最も大きい128%の値を示し、これに

Table 6. Eigen value and cumulative contribution.

P. C.	E. V.	C. C.
1	3.13	0.52
2	1.67	0.80
3	0.67	0.91
4	0.34	0.96
5	0.12	0.99
6	0.07	1.00

P. C.: Principal component, E. V.: Eigen value($=\lambda_i$),

C. C.: Cumulative contribution.

Table 7. Eigen vector and factor loading.

Variable	Z1	Z2
P1	0.505 (0.89)	-0.213 (-0.27)
P2	0.392 (0.69)	-0.165 (-0.21)
P3	-0.160 (-0.28)	0.614 (0.79)
P4	0.494 (0.87)	-0.254 (-0.33)
P5	0.394 (0.70)	0.511 (0.66)
P6	0.409 (0.72)	0.475 (0.61)

Z1: First principal component.

Z2: Second principal component.

* Numbers in parenthesis are factor loadings.

比べ、エタノール(P5)及びアセトアルデヒド(P1)においてはそれぞれ30%及び42%と小さい。各成分間には高い相関があり、特にP1, P2, P4の各成分間及びP5, P6の成分間に高い正の相関がある。また、P3の成分はP1, P2, P4と負の相関が、P5, P6と正の相関がある。

第6表に示した固有値と累積寄与率から明らかなように、第2主成分まででデータの持つ情報の80%が集約できる。第3主成分は固有値が1以下になり、第2主成分の固有値と大きな差があるため、以後の考察は、第2主成分までの情報をもとに進める。

第7表に、第1主成分(Z1)と第2主成分(Z2)の固有ベクトル(特性値にかかる係数)及びもとの変数との相関係数である因子負荷量を示した。固有ベクトルを用いると、Z1, Z2は次のように表現される。

$$Z1 = 0.505 P1' + 0.392 P2' - 0.160 P3' + 0.494 P4' + 0.394 P5' + 0.409 P6' \quad (1)$$

$$Z2 = -0.213 P1' - 0.165 P2' + 0.614 P3' - 0.254 P4' + 0.511 P5' + 0.475 P6'$$

ここで、 $P_i' = (P_i - \bar{P}_i) / S_i / \sqrt{\lambda_i}$ である。

第1主成分の固有ベクトルを見ると、P3'以外の係数はすべて正で、0.39~0.50の範囲にある。負の値をとるP3'の係数の絶対値が小さいことを考慮すると、Z1の値は、P1, P2, P4, P5, P6の各成分が大きくなるにつれて増大することがわかる。このことから、第1主成

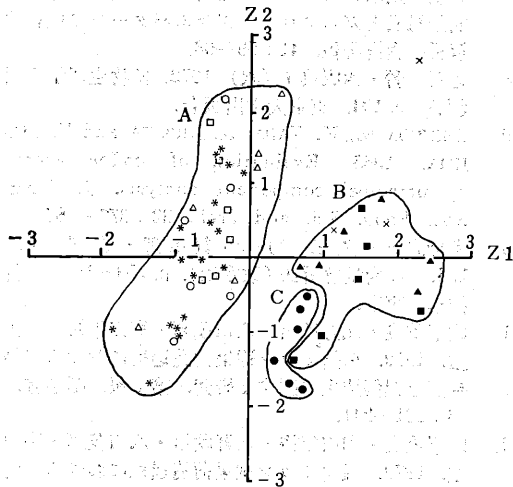


Fig. 2. Scatter diagram of samples on the plane with axis of the first (Z1) and second (Z2) principal component.

*: Control, Δ : 0.5 G, Vibrated, $\square$: 1.0 G, Vibrated, $\circ$: 1.5 G, Vibrated, $\blacktriangle$: 10 times, Dropped, $\blacksquare$: 20 times, Dropped, $\bullet$: 30 times, Dropped, $\times$: sold at retail.

分は揮発性成分の総量を表す因子と考えられる。一方、第2主成分では、P1', P2', P4' 係数が負で、P3', P5', P6' の係数が正であることから、P3, P5, P6が大きく、P1, P2, P4が小さくなると、Z2は正で大きくなり、逆にP1, P2, P4が大きくなると、Z2は負になる。このことから、第2主成分は揮発性成分の組成を表す因子と考えられる。

第2図に第1主成分と第2主成分による散布図を示す。3日間保存区及び7日間保存区の間に明確な差が観察されなかったため、両データを同一なデータと見なし散布図を作成した。対照区及び振動区は領域Aの範囲に混在して分布しており、両者は区別出来ない。10回、20回の落下処理では、散布位置は領域Aから領域Bへ移動する。さらに、落下回数が増えて30回になると、領域Cへ移動する傾向が認められる。

散布位置が領域Aから領域Bへ移動することは、揮発性成分の総量が多くなることを、また領域Bから領域Cへ移動することは、揮発性成分の総量が前者ほど増加しないものの、組成に変化があることを意味している。

以上のことから、1.5 G, 30分程度の振動処理では、温州ミカンの果汁のにおいはあまり変化しないが、30 cmの高さから10回、20回の落下処理を受けると、異臭の原因と考えられるP1, P2, P4, P5, P6の成分が増加すると判断される。また、30回処理の場合、揮発性成分の

総量はそれほど増加しないが、組成に変化が起こり、相対的にP1, P2, P4が増加し、P3, P5, P6が減少する。

本研究で実施した振動処理はかなり厳しい輸送条件に匹敵するが、果汁のにおいにはほとんど影響を及ぼさなかった。一方、落下処理は現在の選果場において果実が通常受ける程度のもので、輸送振動よりむしろ落下衝撃が温州ミカン果実の品質低下、特に異臭の原因になっているものと考えられる。

なお、市販されている温州ミカンの果汁の揮発性成分を同様に分析し、P1~P6の面積を求め、(1)式を用いてZ1, Z2の値を算出した結果を第2図に重ね示す。市販品は領域B及びその右上の領域に位置する。すなわち、データが全体的にZ2の正の方向に移動する傾向にあり、揮発性成分の総量も多く、エタノールの組成が大ききことを示している。

摘 要

選果工程中に受ける落下衝撃と輸送中の振動が温州ミカン果汁のにおい(異臭)に及ぼす影響について検討した。ガスクロマトグラフによる揮発性成分の分析結果を、主成分分析法を用いて解析し、次の結果を得た。

1. 温州ミカン果汁の揮発性成分は、試料注入後30分以内にガスクロマトグラムに主要な10個のピークとして現れる。各成分の中で、エタノールの占める面積が最も大きく成分全面積の80%に及ぶ。次いで、アセトアルデヒドが大きく全面積の10%を占める。

2. 落下処理された果実では、果汁内にエタノール、アセトアルデヒド並びにその他幾つかの揮発性成分が蓄積する。振動処理の場合も同様な傾向を示すが、影響の度合いは落下処理ほど明確でない。

3. ガスクロマトグラム上のピークP1~P6までの6成分を変数(特性値)として主成分分析を行った結果、第2主成分までで80%の情報を集約できる。

4. 第1主成分は、揮発性成分の総量を、また、第2主成分は、成分の組成を表す要因と考えられる。

5. 第1主成分と第2主成分による散布図において、落下処理を受けた果実は、対照区、振動区のものと同様に区別できる。また、落下処理を受けた果実のうち30回処理のものは、10回、20回のものに比較して、揮発性成分の総量は減少する。組成としては、相対的にエタノールに対しアセトアルデヒドが増加する。

6. 温州ミカン果汁の揮発性物質に及ぼす影響は振動処理よりも落下処理の方が大きい。

引用文献

1. 中馬 豊・泉 裕巳・松岡孝尚. 1967. 温州ミカ

- ンの輸送損傷に関する研究. 外力による表皮損傷と呼吸変化. 農機誌. 29: 104—108, 103.
2. DAVIS, P. L., B. ROE and J. H. BRUMMER. 1973. Biochemical changes in citrus fruit during controlled-atmosphere storage. J. Food Science 38: 225—229.
 3. HYODO, H., Y. HASEGAWA, Y. IBA and M. MANAGO. 1979. Enhancement of CO₂ evolution by Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit by dropping. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48: 353—359.
 4. 石間紀男. 1969. 主成分分析. 農林研究センター報告. A 5号: 75—92.
 5. 岩元睦夫・志賀 徹・中馬 豊. 1976. 選果工程における落下衝撃とワックス処理の温州ミカン品質に及ぼす影響. 園学雑. 45: 203—209.
 6. 岩元睦夫・早川 昭・河野澄夫・真子正史. 1977. 選果工程中に受ける落下衝撃の温州ミカン品質に及ぼす影響. 農機誌. 38: 539—544.
 7. 金子勝芳・石間紀男・片山 脩・門間 充・豊島英親・荒木忠治. 1982. 温州ミカン果汁の揮発性成分組成とガスクロマトグラムパターンの統計的解析. 食総研報. 41: 59—68.
 8. 倉石 晉・西成典子(訳). 1972. 植物生理学入門(上). p. 104. 東京大学出版会.
 9. SHIMODA, M., K. WADA, K. SHIBATA and Y. OSAJIMA. 1985. Evaluation of coffee aroma by principal component analysis. J. Japan Soc. Food. Sci. and Tech. 32: 377—385.
 10. 奥野忠一・久米 均・芳賀敏郎・吉澤 正. 1983. 多変量解析法(改定版). p. 159—160. 日科技連. 東京.
 11. 山下重良・北野欣信・八田茂嘉・和田年裕・宇田 弘. 1979. 温州ミカン選果荷造過程における損傷要因と損傷防止に関する研究. 第1報. 園学雑. 48: 231—241.
 12. 山下重良・和田年裕・北野欣信・八田茂嘉・宇田 弘. 1979. 温州ミカン選果荷造過程における損傷要因と損傷防止に関する研究. 第2報. 園学雑. 48: 242—247.