

## リンゴ果実の臭化メチルくん蒸による果実内褐変に関する研究

長 内 敬 明

(青森県農林総合研究センター りんご試験場)

## Studies on Internal Browning Induced by Methyl Bromide Fumigation on Apples

Yoshiaki Osanai

Apple Experiment Station, Aomori Prefectural Agriculture and Forestry Research Center  
Kuroishi, Aomori, 036-0332 Japan

キーワード：果実内褐変，くん蒸，リンゴ，臭化メチル，有機酸，エチレン，  
果肉の弾性，レーザードップラー法，非破壊，細胞壁多糖類

## 目 次

I	緒 言	4
II	りんご無袋‘ふじ’の臭化メチルくん蒸処理後の包装形態が、容器内空気組成、果肉褐変及びフェノール性物質に及ぼす影響	6
	1. 材料および方法	6
	1) くん蒸方法	6
	2) 包装方法	6
	3) 空気組成の測定	6
	4) 褐変の発生程度の測定	6
	5) ポリフェノールとフェノール性物質の測定	7
	2. 結果および考察	7
	1) 各容器内の酸素と二酸化炭素濃度	7
	2) 果実内褐変の発生率と程度および蜜発生率と程度	7
	3) 各処理区の褐変度	8
	4) 各処理区のフェノール性物質の含量とポリフェノール含量	8
	5) 褐変度とポリフェノール含量の関係	9
	3. 摘 要	9
III	りんご9品種の臭化メチルくん蒸処理が、果実の呼吸、エチレン生成、及び果実品質に及ぼす影響	10
	1. 材料および方法	11
	1) 材 料	11
	2) 臭化メチルくん蒸処理	11
	3) 容器内空気組成の分析	11
	4) 果実品質の測定	11
	2. 結果および考察	11
	1) 臭化メチル処理後の容器内酸素及び二酸化炭素濃度	11
	2) 臭化メチル処理後の容器内エチレン濃度	12
	3) 果実内褐変発生状況と果実品質の変化	12
	3. 摘 要	14
IV	りんご無袋‘ふじ’の臭化メチル処理による果実内褐変果の発生と呼吸に及ぼす処理前貯蔵期間の影響	14
	1. 材料および方法	14
	1) 臭化メチルくん蒸および処理後の保持方法	14
	2) 容器内の空気組成および果実内褐変の測定	15
	3) 果実の滴定酸度および有機酸の測定	15
	4) 抗酸化能の測定	15
	2. 結果および考察	15
	3. 摘 要	19

V	リンゴ無袋‘ふじ’の果実内褐変と有機酸含量に及ぼす臭化メチル処理の影響	19
1.	材料および方法	19
1)	果実内褐変の発生と呼吸に及ぼす臭化メチル処理濃度の影響	19
(1)	臭化メチル処理および処理後の保持方法	19
(2)	容器内の空気組成および果実内褐変の測定	19
(3)	臭化メチル処理果の果肉硬度と滴定酸度の測定	20
2)	果実内褐変の発生と呼吸および有機酸組成に及ぼす臭化メチル処理後の通気の影響	20
(1)	臭化メチル処理および処理後の保持方法	20
(2)	有機酸の含量および組成の測定	20
2.	結果および考察	20
1)	果実内褐変の発生と呼吸に及ぼす臭化メチルくん蒸処理濃度の影響	20
2)	果実内褐変の発生と呼吸および有機酸組成に及ぼす臭化メチル処理後の通気の影響	22
3.	摘 要	24
VI	リンゴ無袋‘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	24
1.	材料および方法	24
1)	供試果実と臭化メチル処理方法	24
2)	レーザードップラー法による果実の弾性率の測定	24
3)	破壊法による果肉硬度の測定	24
4)	果肉褐変の測定	25
5)	細胞壁多糖類の分別定量	25
2.	結果および考察	25
1)	果実内褐変の発生とその程度	25
2)	果肉硬度への影響	25
3)	共鳴周波数、弾性率及び振動強度への影響	25
4)	周波数ごとの振動強度の変化	27
5)	細胞壁多糖類含量への影響	27
3.	摘 要	27
VII	総合考察	28
VIII	総合摘要	31
	引用文献	33
	写 真	37
	Summary	39

## I 緒 言

りんご果実の褐変現象には様々なものが知られているが、身近なものとしてりんごの果実を切ったとき、時間が経つにつれて果実断面が褐色に変色する酵素的褐変がある。これは果肉中のポリフェノールがポリフェノール酸化酵素の働きにより、キノン体に酸化され、それが重合することによってメラニンに似た高重合体を形成するために着色する現象で、これについては体系的にまとめられている(村田・本間, 1998; 村田, 2001)。他にりんご果実の貯蔵中に発生する果実内褐変があり、これには蜜褐変(写真-1)、炭酸ガス障害による褐変(写真-2)、内部褐変(写真-3)などが知られている(工藤, 1984; 福田, 1985)。これらの果実内褐変は、気象条件や栽培条件(有袋栽培・無袋栽培)、貯蔵条件(普通冷蔵・CA貯蔵)などの違いにより、その発生程度や症状が異なることが知られている。近年では、気象条件が原因となって平成4年、7年、10年、13年産の果実で貯蔵中に果実内褐変が多く発生し、価格の暴落を引き起こした。この背景として、無袋りんごの生産と貯蔵の増加が考えられる。無袋りんごは食味評価が高いことや、労力軽減による生産コストの低減が可能などの理由で、その生産が増加し、青森県の‘ふじ’の栽培においては無袋実施率が平成14年で57.8%となっている(青森県りんご果樹課, 2002a)。それに伴って無袋果の貯蔵が増えてきたため、無袋果が長期貯蔵され、気象的な要因と相まって果実内褐変の発生が増加したと考えられる(青森県りんご果樹課, 2002b)。従来は、‘ふじ’の大部分が有袋であったため、有袋果の貯蔵については条件検討が進んでいるが、無袋果の貯蔵については条件検討が充分ではないことも原因の一つとなっている。

そのほかに最近問題となっている臭化メチルによる葉害として起こる果実内褐変がある。この背景として果実の輸出入の増加に伴う国際間の病害虫防除の問題がある。わが国の果樹産業は、国内産果実類の生産の増加と国内における果実消費量の漸減に加えて、輸入果実の増加などによって、果実の国内市場価格が低迷し、生産者も流通業者も、きわめて厳しい状況に直面している。そのため、果樹生産地では高品質果実を諸外国へ積極的に輸出しようとする機運が高まっている(青森県りんご果樹課, 2002c)。しかし、多くの国では輸入農産物とともに侵入する可能性のある病害虫から自国の農業を保護するため、果実の輸入を制限、または禁止するなどの規制を課している。日本産の果実をこれらの国へ輸出するためには、病害虫の防除のための薬剤処理が必要である。

青果物のくん蒸については、わが国では諸外国、特にアメリカ合衆国に比べて十分な研究がなされてこなかつ

たが、それは、植物防疫上必要性が低かったことも理由の一つと考えられる。最近では青果物輸出入量の増大に伴って検疫消毒の品目や件数が増えているばかりでなく、自動車などの日本からの輸出品の見返りとして、アメリカをはじめ東南アジア諸国から輸入禁止果実の解禁を要請されるなど、この分野の研究についての要望が高まり情勢が変化してきている。しかし、これらの研究の多くは、青果物に付着している害虫類がどの程度の投薬量で殺虫できるかの限界濃度や時間の検討、害虫の発生防止という観点からの研究が大部分であった。一般に青果物はこれらのくん蒸剤に対して耐性が低く、葉害が発生しやすい品目がある。そこで、青果物の一般的なくん蒸剤である臭化メチル、二臭化エチレン及び青酸ガスによって発生する葉害の諸様相が研究されるようになった(森ら, 1962)。また、近年の残留農薬に対する一般の関心の高まりもあって、品目ごとにできるだけ低濃度のガスによる短時間くん蒸が研究されてきた。

輸出用りんごでは一般に臭化メチルくん蒸処理が行われている。アメリカ合衆国では日本産りんごを輸入するにあたって、解禁条件として、数種の特定害虫に対する消毒技術開発試験を行い、完全殺虫に関する科学的データの提出を求めている。そのため日本でも1987年から1990年にかけて、横浜植物防疫所調査研究部及び青森県りんご試験場病虫部が共同で各種の試験を実施し、筆者もその試験研究に従事した。それ以来、日本各地で多くの研究が行われるようになった。しかし、臭化メチルくん蒸処理果には時々果皮障害(写真-4)や果実内褐変(写真-5)の発生が問題となることがある。これらの障害は臭化メチル処理後、通気の悪い状態におかれた場合に発生が多いことが経験的に知られている。輸出用りんごでは通常は臭化メチルくん蒸後、果実を輸出用カートンに入れて出荷されることが多い。輸出用カートンの側面には大小12か所の通気孔があり、果実中に残留している臭化メチルの拡散を助けている。近年、輸出品の増加に伴って、臭化メチル処理後もコンテナなどの中で、ある期間は通気性が悪い状態におかれる可能性が高まってきた。

臭化メチル処理がりんご果実に及ぼす影響については、1930年代から多くの研究が行われ(Phillips・Monro, 1936; 森, 1963; Chapman, 1940; Kentworthy, 1944, 1946; Monro, 1969; 安部, 1980; Ripponら, 1982; Gallettiら, 1987)、品種間差(O’Loughlin・Ireson, 1977; Drakeら, 1988; Meheriukら, 1990)、生育期の気候の影響(Claypool・Vines, 1956)、地域性の影響(O’Loughlin・Ireson, 1977)、収穫日の影響(Sanford, 1962)について報告され

ている。しかし、くん蒸後の果実における呼吸の変化についての報告は少なく（Claypool・Vines, 1956; 相馬ら, 1994）、その生理学的な面からの解析、特に呼吸代謝関連物質についての研究はほとんど見あたらない。

臭化メチル処理後、果実が閉塞状態におかれた場合、果実自身のガス交換によって容器内の空気組成が変化し、そのために果実に障害が発生する可能性があると考えられる（長内・元村, 2000）。従来の研究では果実に障害を出さない範囲で殺虫効果をあげることを目的として、臭化メチルの濃度や処理方法、処理後の取り扱いを検討し、現在のマニュアルが作られている（川上・相馬, 1991）。上記の横浜植物防疫所調査研究部及び青森県りんご試験場病虫部の共同試験においても、有袋‘ふじ’と無袋‘ふじ’について、薬害耐性や、対米輸出用に確立した低温と臭化メチルくん蒸の組み合わせ処理における障害の発生についても調査を行った。しかし、対米輸出だけでなく多くの国への輸出の拡大を考える場合、流通条件の変化に合わせて、処理方法や処理後の取り扱いについても検討が必要となってくる。それに加えて、農薬の人体に対する影響を懸念する動きが大きく影響して、臭化メチルの土壌消毒への使用は禁止されることになった。しかし、果実の消毒にはそれに換わる薬剤がないため、まだ禁止されていないが、呼吸などの生理的な影響がある場合、植物のみならず人体への影響も懸念される状況にあり、臭化メチルの果実生理への影響はその基礎資料となる可能性が考えられる。

リンゴ果実についてみると、果実内褐変はC A貯蔵や長期貯蔵でも問題であるが（上藤, 1990）、果実内褐変果を外部分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。近赤外分光法は果実の糖度の非破壊法に応用され、モモ、ナシ、リンゴなどの果実では選果場に導入され成果を上げている（長谷川, 1999）。さらに近赤外分光法により酸の測定にも応用されている（Cho, 1996; Kawanoら, 1992）。このほかに核磁気共鳴装置を利用して糖や酸の測定（Chen, 1996）、X線CTにより押し傷や蜜症などの障害果の検出（Abbottら, 1997）、蛍光発光法によるクロロフィル量や光合成能の測定（Abbottら, 1996）による品質評価についても研究が進んでいる。

果実硬度の非破壊測定には、打音による硬度測定（Yamamotoら, 1981; Yamamoto・Haginuma, 1984; 水野, 1991）が試みられている。この方法は昔からスイカなどの熟度を人間の感覚で判断する方法として広く用いられてきた方法を、マイクロフォンや音波の解析装置を使って、人間の感覚にたよらずに、機械的に判定する方法として有望視されてきたが、モモなどの柔らかい果実に応用すると、果実表面にキズがつく可能性が高い。さらに最近注目されているレーザー・ドップラー法を用い

た非破壊・非接触による硬度測定装置が研究されている（Muramatu, 1997; 桜井ら, 1998; 寺崎ら, 1999; 元村ら, 2001）。この方法は果実に振動を与え、共鳴周波数をレーザー光を使って検出する方法なので、非接触で測定でき、柔らかい果実にも利用できるため、注目されはじめている。

本研究では、このレーザー・ドップラー法により非破壊的に果実内褐変の判別の可能性について検討した。果実内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果実内褐変果の肉質については報告がほとんどない。また、臭化メチルくん蒸によって、呼吸の促進やエチレン生成の抑制が起こることも知られている（Drake, 1990）が、二酸化炭素濃度との関連は複雑で解明が進んでいない（Young, 1962; Kerbelら, 1988）。

これらの背景から、本研究では、臭化メチルくん蒸処理によって発生する果実内褐変について様々な角度から発生要因の解明を行なった後、発生の機作について検討し、さらに、非破壊的に果実内褐変の選別が可能か検討した。

Ⅱでは、くん蒸処理での果実内褐変防止方法開発の基礎資料を得るために、臭化メチルくん蒸処理後の包装形態の違いによる果実内褐変の発生状況、包装内における空気組成及びフェノール性物質の含量を測定し、果実内褐変との関連を検討した。

Ⅲでは、臭化メチル処理後の果実内褐変発生について、品種間差を調査することを目的として、現在市場で流通している9品種について、臭化メチルくん蒸後の果実を発泡スチロール箱中に密閉した場合の呼吸、エチレン生成、果実品質について調査を行い、品種による臭化メチルに対する感受性の違いを調査した。

Ⅳでは、臭化メチルの影響を生理的側面から解析することを目的として、収穫後の貯蔵期間が臭化メチルくん蒸による果実内褐変の発生と、包装容器内空気組成に及ぼす影響を検討した。

Ⅴでは、臭化メチルくん蒸処理時の濃度、処理後の通気の遮断が果実内褐変の発生に及ぼす影響を、呼吸および有機酸含量の面から検討した。

Ⅵ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。さらに、臭化メチル処理によって発生した果実内褐変果を非破壊的に検出できるかどうかを検討した。

本研究の遂行及び論文作成にあたり、終始全般にわた

りご親切なるご指導とご教示を賜った弘前大学農学生命科学部園芸産物利用学研究室教授元村佳恵博士に謹んで深謝申し上げます。

また、投稿論文のご校閲をいただいた、広島大学総合科学部桜井直樹博士、東北大学農学部金浜耕基博士に衷心より感謝申し上げます。レーザー・ドップラー装置につ

いて、専門的なご助言を下さった松下寿電子(株)の寺崎章二博士にお礼を申し上げます。

また研究遂行にあたり、多大な援助をくださった弘前大学農学生命科学部園芸産物利用学研究室の院生・学生の方々、さらに青森県りんご試験場の職員の方々に感謝申し上げます。

## Ⅱ リンゴ無袋‘ふじ’の臭化メチルくん蒸処理後の包装形態が、容器内空気組成、果実内褐変及びフェノール性物質に及ぼす影響

青森県では、最近リンゴの無袋栽培の増加に伴って、無袋‘ふじ’の生産量が増加し、長期貯蔵果や輸出用臭化メチルくん蒸果での果実内褐変発生が問題となることがある。本章では、くん蒸処理によって発生する果実内褐変防止方法開発のための基礎資料を得ることを目的として、臭化メチルくん蒸処理後の包装形態の違いによる果実内褐変の発生状況、包装内における空気組成及びフェノール性物質の含量を測定し、果実内褐変との関連を検討した。

### 1. 材料および方法

#### 1) くん蒸方法

青森県りんご試験場で栽培している無袋‘ふじ’を1999年11月6日に収穫して、冷蔵庫(0℃)に搬入し、10日後に果実をプラスチックコンテナ(10kg)に入れたまま内容積1.0m<sup>3</sup>のステンレス製くん蒸箱(大きさ0.86m×1.18m×0.92m、循環・排気装置、計量分注投薬装置、ガス採取・圧力測定用マノメーター付き)に収容し(第1図)、臭化メチルの薬量を38g/m<sup>3</sup>、処理時間2時間、処理温度15℃でくん蒸処理を行った。その後、臭化メチルくん蒸処理装置(箱)内に空気を1時間通気して、臭化メチルをできるだけ除去した。

#### 2) 包装方法

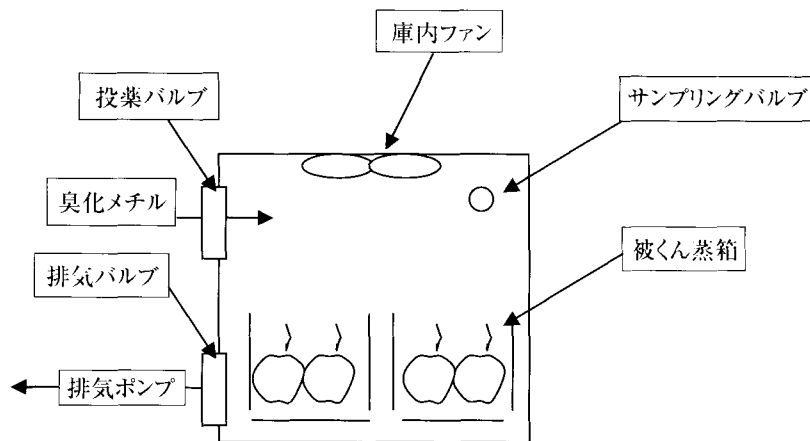
通気処理終了後、果実を次の5種の形態で包装して貯蔵した。A、輸出用カートン10kg(大きさ:幅38cm×奥行き44cm×高さ25cm、内容積0.043m<sup>3</sup>で4つの側面に大、小計12個の通気口(大:2cm×5cm、6穴、小:2cm×2cm、6穴)付き)区。B、輸出用カートン10kgの内装として厚さ0.03mmのポリエチレンフィルム包装した区。C、発砲スチロール箱10kg(大きさ:幅41cm×奥行き48cm×高さ25cm、内容積0.049m<sup>3</sup>)区。D、発砲スチロール箱(10kg)にBと同様にポリエチレンフィルム(0.03mm)で内装した区。E、発砲スチロール箱(10kg)にBと同様にポリエチレンフィルム(0.03mm)で内装し、その内部に鮮度保持剤15g(三菱ガス化学社製:エージレスC(成分:活性炭他))を2パック入れた区の5区とし、各区に対照としてくん蒸なしの区を設けた。

#### 3) 空気組成の測定

くん蒸処理後それぞれの区毎に10果入れて包装し、7日間冷蔵(0℃)後15℃で3日間加温した。これらの処理終了日に容器内の酸素および二酸化炭素濃度をガスクロマトグラフ(日立(株)、263-50型、カラム:Unibeads 1s60/80mesh, 0.4cm×100cm)を用いて測定した。

#### 4) 褐変の発生程度の測定

果実縦断面における褐変の発生状況を観察した後、果肉を内側と外側の部位に分けて液体窒素で急速凍結した



第1図 くん蒸装置の概略

後、 $-20^{\circ}\text{C}$ に保存した。この試料を10g秤取り、乳鉢に入れ、100%メタノールを8ml、10%メタリン酸を2ml加えよくすり潰し、 $4^{\circ}\text{C} \cdot 12000\text{rpm}$ で遠心分離した。上清を濾過し、沈殿物に80%メタノールを加えて再びすり潰し、同様に遠心分離をおこなった。これらの上清を集めて25mlに定容とし、この一部を用いて420nmの吸光度を測定し、褐変度として表した。

#### 5) ポリフェノールとフェノール性物質の測定

上記の上清をナス型フラスコに入れロータリーエバポレーターで減圧乾固した。これに20%硫酸アンモニウム水溶液を5ml加えよく溶かし、これを酢酸エチルで3回分液し、上層部分を集め $35^{\circ}\text{C}$ で減圧濃縮し、80%メタノールで5mlに定容した。ポリフェノールの定量にはこの抽出液を用い、フェノール試薬と10%炭酸ナトリウムを加えともによく混合し1時間放置した後700nmで吸光度を測定し、クロロゲン酸に換算し値を求めた(フォーリン法(Folin, 1915))。フェノール性物質の定量は同様の抽出液に、2MのNaOHと酢酸、ヒドロキシルアミン塩酸塩酢酸溶液を加えよく混合し、280nmで吸光度を測定しクロロゲン酸に換算し値とした(作物分析委員会編, 1975)。

## 2. 結果及び考察

### 1) 各容器内の酸素と二酸化炭素濃度

各区の空気組成をみると、酸素濃度には包装形態による差は見られなかった。また、くん蒸処理区の酸素濃度は対照区に比べて低いものの有意差ではなかった。二酸化炭素濃度は包装形態では、発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム区(D)と、発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム+鮮度保持剤区(E)で高く、次が発砲スチロール箱区(C)で、輸出用カートン区(A)と輸出用カートン+ポリエチレンフィルム区(B)では低かった(第1表)。鮮度保持剤(活性炭)をいれた区で、二酸化炭素濃度が低下しなかったのは、活性炭そのものは二酸化炭

素を吸着しにくいためと考えられた。相馬ら(1994)もこの点に関して同様な結果を得ており、さらに60gのソーダライムを包装容器内に入れることにより二酸化炭素濃度の低下を見ている。臭化メチルくん蒸処理したリンゴ果実を、密閉度の高い発砲スチロール箱や発砲スチロールの箱内にポリエチレンフィルムを内装した中に梱包すると包装容器内の二酸化炭素濃度が高まることから、くん蒸処理後の密閉が二酸化炭素の上昇に関与していることを示している。しかし、酸素濃度には大きな変動は見られなかった。このことからくん蒸処理後に密閉容器内にリンゴ果実を包装することにより、有機酸を基質とした呼吸が盛んになることが推定された。

### 2) 果実内褐変の発生率と程度および蜜果率と程度

果実内褐変の発生率を個体数で見ると、くん蒸処理の発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム区(D)が78%、発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム+鮮度保持剤区(E)が61%と高く、次に発砲スチロール箱区(C)の39%で、輸出用カートン区(A)と輸出用カートン+ポリエチレンフィルム区(B)が0%でともに発生がなかった。対照無処理区でも輸出用カートン+ポリエチレンフィルム区(B)で11%、発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム+鮮度保持剤区(E)で6%の発生があり、その他では0%であった。また、褐変の発生程度を面積で見ると、発砲スチロール箱+ポリエチレンフィルム区(D)が0.52で最も高かった。対照区では発生しているものの0.02と0.01で低かった(第2表)。発砲スチロールや、ポリエチレンフィルムを内装した容器内にリンゴ果実を梱包した時、くん蒸した区では果実内褐変が発生し、二酸化炭素濃度も高くなったことから、二酸化炭素の上昇と障害発生に何らかの関係があることが伺えた。

蜜果率は、包装形態による差が見られなかったが、くん蒸区が、対照区に比べて高い傾向であった(第3表)。くん蒸処理後の蜜果率と程度はくん蒸区が、いずれの包装容器中でも有意に高かったことから臭化メチルあるい

第1表 くん蒸処理後の包装形態の違いと容器内空気組成

包装形態	O <sub>2</sub> (%)		CO <sub>2</sub> (%)	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A. 輸出用カートン	20.9	20.9	0.03	0.03
B. 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	20.9	20.7	0.61	0.66
C. 発砲スチロール箱	20.2	20.3	4.55	3.85
D. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	19.8	20.2	6.55	4.82
E. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC(15g×2)	20.0	20.2	6.30	5.02
有意性 <sup>2)</sup> 包装形態	*		**	
くん蒸の有無	ns		ns	

<sup>2)</sup> 二元配置法により、ns: 有意性なし、\*、\*\* : 0.05 および 0.01 水準で有意性あり。

第2表 くん蒸処理後の包装形態の違いと果実内褐変発生率と程度

貯蔵形態	褐変発生率 <sup>z</sup> (%)		褐変程度 <sup>y</sup>	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A, 輸出用カートン	0	0	0	0
B, 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	0	11	0	0.02
C, 発砲スチロール箱	39	0	0.2	0
D, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	78	0	0.52	0
E, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC (15g × 2)	61	6	0.28	0.01
有意性 <sup>x</sup> 包装形態	ns		ns	
くん蒸の有無	ns		ns	

<sup>z</sup> 褐変発生率 = (褐変個体数 / 調査個体数) × 100.

<sup>y</sup> 0 : 発生なし ~ 1 : 全面に発生.

<sup>x</sup> 二元配置法により, ns : 有意差なし.

第3表 くん蒸処理後の包装形態の違いと蜜果率と程度

貯蔵形態	蜜果率 (%)		蜜程度 <sup>z</sup>	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A, 輸出用カートン	72	33	0.9	0.3
B, 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	39	33	0.5	0.5
C, 発砲スチロール箱	44	22	0.6	0.2
D, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	50	28	0.7	0.3
E, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC (15g × 2)	61	50	0.3	0.3
有意性 <sup>y</sup> 包装形態	ns		ns	
くん蒸の有無	*		ns	

<sup>z</sup> 0 : 発生なし ~ 1 : 全面に発生.

<sup>y</sup> 二元配置法により \* : 0.05 水準で有意差有り.

は二酸化炭素ガスが蜜消失を抑制したことが考えられたが、この点についてはさらに検討が必要である。また、褐変防止には、輸出用カートンのような密閉度の低い包装を用いることが有効であることがわかった。

### 3) 各処理区の褐変度

褐変度は、くん蒸処理区で果心側果肉が果皮側果肉より1.2～1.7倍高く、対照区でも果心側果肉が果皮側果肉より1.1～1.3倍高かった。くん蒸の有無では、くん蒸処理区で高い傾向があった。また、果肉の部位とくん蒸の有無で交互作用が見られ、くん蒸を行った果心側果肉部位で褐変度が高い傾向であった(第4表)。

このことから、果実内褐変は果皮側の果肉部より果心側の果肉部で進んでおり、くん蒸によりさらに促進されることがわかった。

### 4) 各処理区のフェノール性物質の含量とポリフェノール含量

フェノール性物質含量は、果肉の部位、くん蒸の有無、

包装の種類で差が見られなかった(第5表)。

ポリフェノール含量は、果肉の部位別では果皮側果肉で高く、果心側果肉部位で低い傾向であった。くん蒸の有無と包装の種類では差が見られなかった。果肉の部位とくん蒸の有無の間に、くん蒸の有無と包装の種類の間でそれぞれ交互作用が見られた(第6表)。くん蒸処理後の包装形態の違いによる果肉のフェノール性物質含量では一定の傾向は見られなかったが、ポリフェノール含量では果心側果肉部位で有意に低かった。

ナシでは、可食部よりも果心部でポリフェノール含量や、フラバノール、ロイコアントシアニンなどのフェノール性物質含量が顕著に高いことが報告されている(伊庭, 1985)。しかし、第6表の対照区で果皮側と果心側の果肉を比べると有意な差はなかった。ナシ果実にある石細胞は、フェノール性物質の高重合体であるリグニンを多く含み、石細胞は特に果心線付近に集中して存在することが果心で含量が多いことに関与していると考えられる。



第4表 くん蒸処理後の包装形態の違いによる果肉の褐変度の比較

貯蔵形態	褐変度			
	果皮側果肉		果心側果肉	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A. 輸出用カートン	0.12	0.16	0.19	0.19
B. 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	0.13	0.13	0.22	0.17
C. 発砲スチロール箱	0.11	0.08	0.13	0.10
D. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	0.13	0.11	0.17	0.14
E. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC (15g × 2)	0.13	0.13	0.18	0.16

分散分析の結果F値

果肉の部位 (X) 85.8\*\* (XY) 7.8\*

くん蒸有無 (Y) 16.7\* (XZ) 3.2

包装の種類 (Z) 21.2\*\* (YZ) 1.2

第5表 くん蒸処理後の包装形態の違いによる果肉のフェノール性物質含量の比較

貯蔵形態	フェノール性物質 ( $\mu\text{g gFW}$ )			
	果皮側果肉		果心側果肉	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A. 輸出用カートン	76.4	54.4	68.8	51.6
B. 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	72.4	70.3	55.2	65.3
C. 発砲スチロール箱	62.7	60.0	67.7	69.2
D. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	85.2	65.8	67.4	73.8
E. 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC (15g × 2)	73.9	57.1	69.2	62.3

分散分析の結果F値

果肉の部位 (X) 2.1 (XY) 7.5

くん蒸有無 (Y) 0.6 (XZ) 2.3

包装の種類 (Z) 5.2 (YZ) 2.9

### 5) 褐変度とポリフェノール含量の関係

くん蒸処理後の果実からのアルコール抽出液の褐変度とポリフェノール含量の関係を見ると、褐変度が高いとポリフェノール含量が低い傾向が伺えた。また、果皮側果肉は果心側果肉に比べ褐変度が低く、ポリフェノール含量も高い傾向であった。くん蒸区の果心側果肉は最も褐変が進みポリフェノール含量も低かった(第2図)。

アルコール抽出液の褐変度とポリフェノール含量には負の相関が見られ(相関係数 $= -0.48^*$ )、褐変の進んだ果肉ではポリフェノール含量が少なくなると考えられた。村田ら(1998)は、リンゴの酵素的褐変は果心の周辺にポリフェノール酸化酵素が多いため果心の周辺が一番褐変する、としているが、本試験の褐変は臭化メチルそれ自体によるものか、臭化メチルくん蒸により二酸化炭素濃度が増加したことによるのか判然としなかった。しかし、臭化メチルくん蒸によりポリフェノール物質が何ら

かの変性を受けたことが褐変につながったと考えられるが、詳細については更に検討が必要である。

### 3. 摘 要

臭化メチルくん蒸処理後の包装形態の違いによる果実内褐変の発生状況、包装容器内における空気組成及びフェノール性物質の含量を測定し、果実内褐変との関連を検討した。

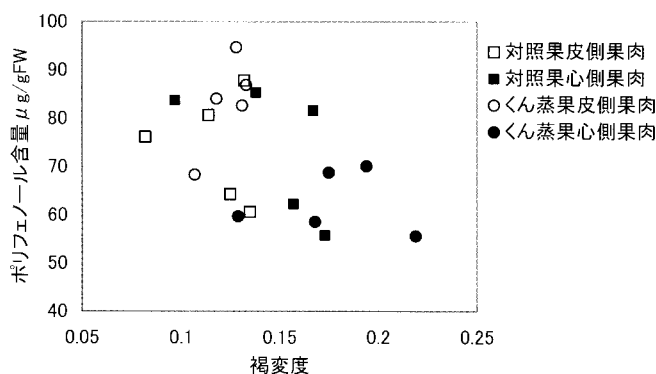
臭化メチルくん蒸処理したリンゴ果実を、密閉度の高い発砲スチロール箱や発砲スチロールの箱内にポリエチレンフィルムを内装した中に包装すると、酸素濃度には大きな変動は見られなかったが、二酸化炭素濃度が高まり、果実内褐変が発生した。蜜褐変発生率には、包装形態による差が見られなかったが、くん蒸区が、無処理区に比べて高い傾向であった。果実内褐変は果皮側果肉部より果心側果肉部で進んでおり、くん蒸によりさらに促

第6表 くん蒸処理後の包装形態の違いによる果肉のポリフェノール含量の比較

貯蔵形態	フェノール性物質 ( $\mu\text{g/gFW}$ )			
	果皮側果肉		果心側果肉	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
A, 輸出用カートン	84.0	60.6	70.0	55.7
B, 輸出用カートン+ポリエチレンフィルム	82.6	87.7	55.6	81.6
C, 発砲スチロール箱	68.3	76.1	59.7	83.7
D, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム	94.7	80.6	58.5	85.3
E, 発砲スチロール+ポリエチレンフィルム +エージレスC (15g×2)	86.8	64.3	68.8	62.3

分散分析の結果F値

果肉の部位 (X)	15.1*	(XY)	14.6*
くん蒸有無 (Y)	0.1	(XZ)	1.1
包装の種類 (Z)	2.7	(YZ)	7.6*



第2図 くん蒸処理後の果肉の部位別ポリフェノール含量と褐変度の関係 相関係数 =  $-0.48^*$

進されることがわかった。フェノール性物質含量は、果肉の部位、くん蒸の有無、包装の種類で差が見られなかったが、ポリフェノール含量は、果皮側果肉部で高く、果心側果肉部で低い傾向であった。くん蒸の有無と包装の種類では差が見られなかった。褐変度とポリフェノール

含量には負の相関（相関係数 =  $-0.48^*$ ）が見られ、褐変の進んだ果肉ではポリフェノール含量が少なくなる傾向が認められた。以上の結果、褐変防止には、輸出用カートンのような通気性のある容器や密閉度の低い包装を用いることが有効であることがわかった。

### Ⅲ リンゴ9品種の臭化メチル処理が、果実の呼吸、エチレン生成、及び果実品質に及ぼす影響

前章で無袋‘ふじ’では臭化メチル処理後の果実を密閉度の高い容器に保存することによって果実内褐変が発生しやすいことが明らかになり、果実内褐変の防止には、密閉度の低い容器を用いることが望ましいことが判った。しかし、従来の研究では、リンゴの品種によって臭化メチル処理による褐変が進みやすい品種と進みにくい品種があることが報告されている (O'Loughlin・Ireson, 1977; Drake ら, 1988; Meheriuk ら, 1990)。また、果実内褐変の発生機構を解明するには、褐変発生の限界付近

の条件で実験を行うことが必要である。本章では、臭化メチル処理による果実内褐変の品種間差を検討することを目的として、現在市場でも流通している9品種について、臭化メチルクん蒸後の果実を発砲スチロール箱中に密閉した場合の果実内褐変の発生率、呼吸、エチレン生成、果実品質について調査を行った。

## 1. 材料および方法

### 1) 材 料

青森県りんご試験場で栽培している7品種と、弘前大学農学生命科学部附属農場で栽培している2品種を2000年秋にそれぞれの果実の通常の収穫適期に収穫した。収穫直後から0℃に保存し、保存開始からほぼ40～90日後に下記の方法で臭化メチルくん蒸処理を行った。供試品種名、果数、収穫日、臭化メチルくん蒸を行った日などを第7表に示した。

### 2) 臭化メチルくん蒸処理

各品種の果実をプラスチックコンテナ(10kg)に入れたまま内容積1.0m<sup>3</sup>のステンレス製くん蒸箱(大きさ0.86m×1.18m×0.92m、循環・排気装置、計量分注投薬装置、ガス採取・圧力測定用マノメーター付き)に收容し(第1図)、臭化メチルの葉量を38g/m<sup>3</sup>、処理時間2時間、処理温度15℃でくん蒸処理を行った後、臭化メチル処理装置(箱)内を1時間通気して、臭化メチルを除去した(臭化メチル処理)。この条件は、日本の輸出基準に沿ったくん蒸方法である。臭化メチルくん蒸処理終了後に果実をポリエチレン袋(厚さ0.03mm)にいれ、袋の口を閉じた。これを発泡スチロール製の容器(10kg容、幅41cm×奥行48cm×高さ25cm)に入れ、蓋をして粘着テープで密閉し、0℃で7日間保持した後、15℃に8日間保持した。対照区として、くん蒸なしの果実を同様のポリエチレン袋にいれ、それを同様の容器に入れ、同様の温度処理を行った。

### 3) 容器内空気組成の分析

くん蒸処理後、3日ごとに容器内の空気をシリンジで一定量抜き取り、ガスクロマトグラフ装置で分析した。酸素及び二酸化炭素濃度をガスクロマトグラフ(日立(株)、263-50型、カラム:Unibeads 1s60/80mesh, 0.4cm×100cm)を用いて測定した。また、エチレンガス濃度と臭化メチル残存量をガスクロマトグラフ(島津(株)、GC-17A型、カラム:GS-Q, 0.53mm×30m)で測定した。

### 4) 果実品質の測定

温度処理終了日に果実を発泡スチロール容器から取り出し、以下の測定を行った。赤道付近の果皮を直径約2cm程度切除し、硬度計(Penetrometer, Instituto per la Vaorizzazione del Prodotti Agricoli 製)に円筒形プランジャー(太さ11mm×高さ25mm)を装着し、果肉の表面から深さ7mmまでプランジャーを侵入させたときの最大抵抗を測定し、果肉硬度とした。果実を赤道面で横断し、その断面における褐変の発生状況を観察した。また、横断面の果皮に近い果肉と果芯に近い果肉の色彩を色差計(ミノルタ製, CR-300)で測定した。果汁の可溶性固形物量を糖度計(アタゴ製, N1型)で測定した。また、常法により果汁の滴定酸度を測定した。

## 2. 結果および考察

### 1) 臭化メチル処理後の容器内酸素及び二酸化炭素濃度

供試したどの品種でも、酸素濃度は0℃保持期間中も15℃保持期間中もほとんど変化が見られず、ほぼ一定の値を維持していた(第3図)。臭化メチル処理区と無処理区を比べると、‘つがる’と‘ふじ’の臭化メチルくん蒸処理区で無処理区より高かった。品種間では酸素濃度は、‘世界一’、‘王林’では1.2～1.4%/100gFW/10Lと、常に高い値を維持していたが、‘祝’、‘あかね’と‘陸奥’では0.8～1.0%/100gFW/10L、その他の品種では0.4～0.6%/100gFW/10Lのレベルにあった。この結果は品種によって密閉状態における酸素吸収力に違いのあることを示している。

二酸化炭素濃度は、どの品種でも0℃保持期間中はほとんど変化がなく、臭化メチル処理区と無処理区の間にも差が認められなかった(第3図)。15℃処理期間中には臭化メチル処理区でも無処理区でも二酸化炭素濃度は上昇し、臭化メチル処理区では無処理区よりも高い値で推移した。温度処理終了日の二酸化炭素濃度を見ると、‘祝’

第7表 それぞれの品種の収穫日とくん蒸処理日

品種	供試果数	収穫日	貯蔵期間	くん蒸日	収穫場所
祝	13	9月8日	88日	12月6日	弘前大学藤崎農場 <sup>2)</sup>
あかね	12	9月8日	88日	12月6日	弘前大学藤崎農場
つがる	10	10月3日	30日	11月3日	青森県りんご試験場
世界一	3	10月9日	45日	11月24日	青森県りんご試験場
陸奥	6	10月16日	50日	12月6日	青森県りんご試験場
デリシャス	12	10月27日	30日	11月27日	青森県りんご試験場
王林	6	10月27日	46日	12月13日	青森県りんご試験場
メロー	13	10月27日	46日	12月13日	青森県りんご試験場
ふじ	13	11月6日	43日	12月18日	青森県りんご試験場

<sup>2)</sup> 弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター

で最も高く、'あかね'、'陸奥'、'メロー'および'デリシャス'が比較的高く、'世界一'では最も低かった。臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の差が最も大きかったのは、'デリシャス'および'ふじ'であり、'メロー'及び'祝'ではわずかであった。

これらの結果は、臭化メチルくん蒸処理に対する感受性が品種によって異なることを示している。また、臭化メチルくん蒸処理によって、果実の二酸化炭素排出が促進されたが、酸素吸収はほとんど影響されなかったことから、臭化メチルくん蒸処理区では、果実の呼吸基質として有機酸が使われた可能性が示唆された。

### 2) 臭化メチル処理後の容器内エチレン濃度

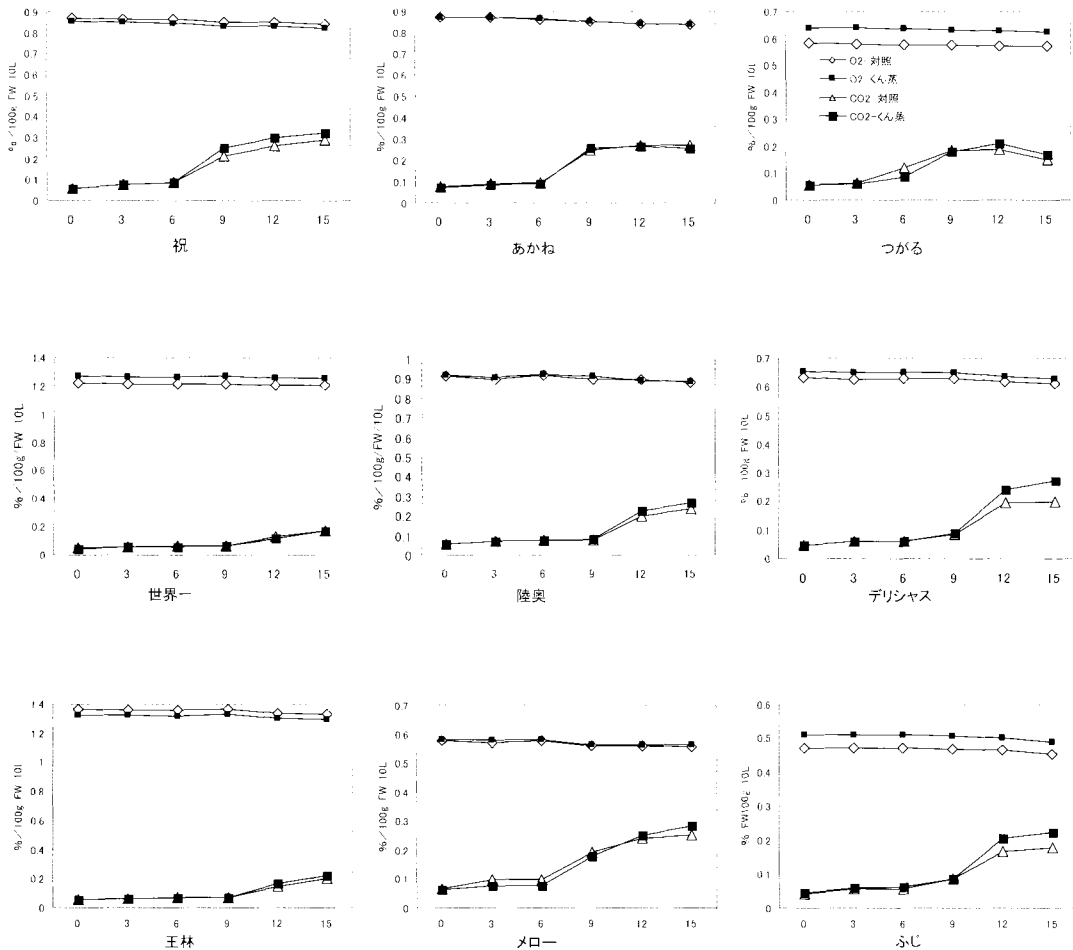
供試したすべての品種で、臭化メチルくん蒸処理区のエチレン濃度は無処理区より低かった(第4図)。品種間で見ると、比較的にエチレン生成が多かったのは'祝'と'つがる'であり、'あかね'と'世界一'ではほとんど検出されなかった。臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の差が比較的大きかったのは、'祝'、'メロー'、'つがる'であった。

りんご果実の成熟期の呼吸はクライマクテリック型であり、エチレンによってクライマクテリックの時期が早

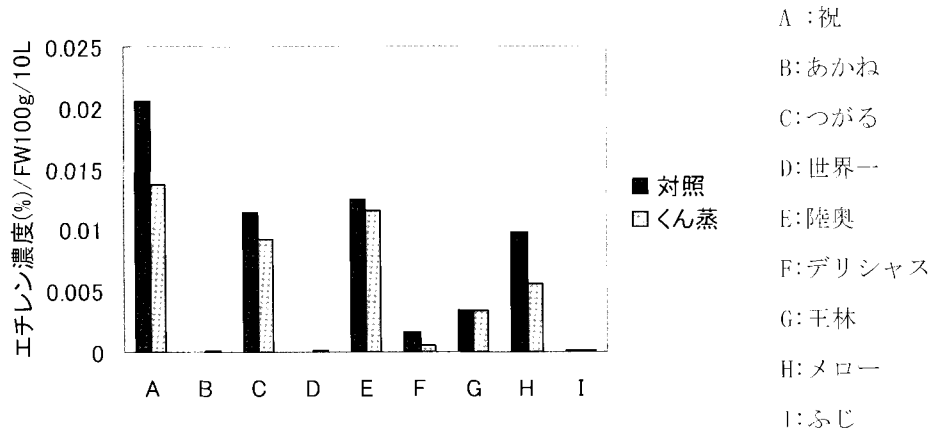
められることが知られているが、臭化メチルくん蒸処理によって、エチレン生成が抑制されたにも関わらず、二酸化炭素排出量が増加したこと、及びエチレン濃度と二酸化炭素濃度の間には関連性が見出せなかったことから、臭化メチルくん蒸処理による呼吸の促進は、エチレンとは直接関係しない反応である可能性があると考えられる。

### 3) 果実内褐変発生状況と果実品質の変化

果実横断面の肉眼による観察では、供試個体数の中で果実内褐変果数は'ふじ'で約50%、'祝'および'あかね'では80%以上の個体で検出され、その他の品種では認められなかった。しかし、'祝'および'あかね'では、無処理区でも果実内褐変がほとんど全部の個体で認められるので、これらは臭化メチルくん蒸処理によって発生したものではないと考えられた。臭化メチルくん蒸処理による果肉の色彩変化の有無を調査することを目的として、果実の横断面を色差計で測定したところ(第8表)、'ふじ'の臭化メチルくん蒸区では、L値(明るさ)とb値(黄色)が無処理区に比べて低く、'ふじ'と'あかね'ではa値(赤色)が高いことが認められた。'あかね'で臭化メチルくん蒸処理区、無処理区ともにa値が他の品種に



第3図 密閉発砲スチロール箱内の酸素と二酸化炭素濃度に及ぼす臭化メチルくん蒸の影響



第4図 密閉発砲スチロール箱内のエチレン濃度に及ぼす臭化メチルくん蒸の影響

第8表 果肉の色差に及ぼす臭化メチルくん蒸の影響

果肉位置	品種	L 値		a 値		b 値	
		対照	くん蒸	対照	くん蒸	対照	くん蒸
果心側 果肉	祝	83.1	83.1	-2.93	-3.55	17.2	18.0
	あかね	79.6	77.8*	0	0.95*	19.0	18.2
	つがる	83.4	81.6	-2.49	-3.33	15.7	18.7
	世界一	83.0	82.5	-2.75	-3.00	16.7	16.5
	陸奥	80.5	81.5	-2.33	-3.01	19.7	20.9
	デリシャス	73.1	72.0	-0.82	-0.82	19.8	19.6
	王林	80.1	81.4	-2.91	-3.21	20.3	18.0
	メロー	81.9	81.8	-3.97	-4.13	21.4	22.1
	ふじ	71.4	62.6**	-1.54	0.96*	25.8	23.1
果皮側 果肉	祝	83.9	82.4	-3.02	-2.89	15.6	17.1
	あかね	80.2	79.2	0.70	-0.43	16.1	14.6
	つがる	81.0	83.0	-1.80	-3.03	18.4	16.5
	世界一	82.3	81.5	-2.66	-2.81	15.5	16.3
	陸奥	80.7	81.1	-3.00	-3.42	21.6	22.0
	デリシャス	77.5	76.2	-1.00	-0.72	19.7	18.9
	王林	80.3	81.4	-3.32	-3.43	18.8	17.0
	メロー	82.8	82.3	-3.70	-3.86	21.9	22.6
	ふじ	76.5	76.4	-1.43	-1.74	23.7	21.0

\* , \*\* : 5%と1%水準で対照区と臭化メチル処理区間で有意差 (t検定) 有り.

比べて高いのは、どちらも褐変していたことを示している。'祝'ではa値が処理区、無処理区とも低かったのは褐色が非常に薄いことを示している。その他の品種では臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の間ほとんど差が見られなかった。また、品種間では色差計による測定で、L、a、b値には若干の差が見られたが、それは果肉の色彩の品種間差を検知していると考えられた。

これらの結果から、褐変部位では色彩がやや暗くなり、赤味が増すこと、その度合いが褐変の度合いを表す指標となり得ることを示している。今回の供試品種の中では、

'ふじ'が臭化メチルくん蒸処理によって、果実内褐変が発生しやすい品種であると考えられた。

これらの結果は、品種による果肉の色彩の差や、臭化メチルくん蒸処理による果肉色の変化を色差計によって色彩を測定することによって、数量的に検知できることを示唆している。この方法は、臭化メチルくん蒸処理の場合だけでなく、貯蔵中の果肉色の変化を数量的に把握する手段として利用できる可能性を示唆していると考えられる。

果実の糖度、酸度、硬度には臭化メチルくん蒸処理区

第9表 糖度、酸度、果肉硬度に対する臭化メチル処理の影響

品種	糖度 (Brix)		酸度 (%)		硬度 (Lbs)	
	対照	くん蒸	対照	くん蒸	対照	くん蒸
祝	12.8	12.5	0.43	0.48	7.5	6.3
あかね	13.0	12.8	0.54	0.42	9.6	8.0
つがる	14.8	14.3	0.19	0.22	9.1	9.1
世界一	12.1	12.8	0.19	0.25	10.9	13.1
陸奥	12.5	12.5	0.42	0.41	10.9	11.4
デリシャス	15.5	15.0	0.26	0.29	11.5	12.3
王林	15.2	15.1	0.21	0.23	11.4	11.0
メロー	12.9	13.0	0.34	0.37	11.9	11.5
ふじ	14.4	14.1	0.31	0.33	13.4	14.3

対照区と臭化メチル処理区における有意性 (t検定) はすべての組合わせでなし。

と無処理区の間には差は認められなかった (第9表)。今回のくん蒸処理では輸出用のマニュアル通りの方法で処理した場合、処理後、果実を密閉状態においても、15日間という短期間であれば、果実内褐変はほとんど発生しないことが判った。しかし、くん蒸処理後さらに長期間密閉状態が継続した場合については、今後の検討が必要である。

臭化メチルクん蒸処理による果実内褐変の発生については、くん蒸後の果実を密閉状態においた場合、くん蒸処理果では果実から排出される二酸化炭素の増加によって、容器内の二酸化炭素濃度の上昇が促進され、高二酸化炭素によって果実内褐変が発生する可能性が指摘されている (Hulme, 1965; Monning, 1983)。しかし、本章の結果は、臭化メチルに対する反応性の品種間差と、二酸化炭素に対する反応性の品種間差は異なる可能性があり、今後、両者について検討する必要があることを示している。

### 3. 摘 要

現在市場で流通している9品種について、臭化メチルクん蒸後の果実を発泡スチロール箱中に密閉した場合の果実内褐変の発生率、呼吸、エチレン生成、果実品質について調査を行った。供試したどの品種でも、酸素濃度は0℃保持期間中も15℃保持期間中もほとんど変化が見られず、ほぼ一定の値を維持していた。二酸化炭素濃度は、どの品種でも0℃保持期間中はほとんど変化がなく、臭化メチルクん蒸区と無処理区の間にも差が認められなかった。15℃処理期間中には臭化メチルクん蒸区でも無処理区でも二酸化炭素濃度は上昇し、臭化メチルクん蒸区では無処理区よりも高い値で推移した。供試したすべての品種で、臭化メチルクん蒸区のエチレン濃度は無処理区より低かった。褐変部位では色彩がやや暗くなり、赤味が増すこと、その度合いが褐変の度合いを表す指標となり得ることを示している。供試品種の中では、'ふじ'が臭化メチルクん蒸処理によって、果実内褐変が発生しやすい品種であると考えられた。

## IV リンゴ無袋'ふじ'の臭化メチル処理による果実内褐変果の発生と呼吸に及ぼす処理前貯蔵期間の影響

リンゴ果実に臭化メチルクん蒸処理を行うことによって、果皮褐変障害や果実内褐変がおこることがある。果実内褐変は、品種や貯蔵条件、栽培条件などによって、障害の発生程度や症状に差があることが知られている。しかし、臭化メチルクん蒸による果実内褐変発生の要因解明についての報告は少ない。筆者らは、'ふじ'を臭化メチルクん蒸した後の包装形態の違いが果実品質に及ぼす影響を検討したところ、密閉度の高い発泡スチロールを用いた区で果実内褐変の発生が多かった (長内・元村, 2000, II)。'ふじ'における臭化メチルクん蒸による果実

内褐変の軽減を目的とした研究の一環として、臭化メチルの影響を生理的側面から解析することが必要と考えた。本章では臭化メチル処理の影響を呼吸生理の面から検討することを目的として、収穫後の貯蔵期間が臭化メチルクん蒸による果実内褐変の発生と、包装容器内空気組成に及ぼす影響を検討した。

### 1. 材料および方法

#### 1) 臭化メチルクん蒸および処理後の保持方法

青森県りんご試験場で栽培している無袋'ふじ'を2000

年11月6日に収穫し、冷蔵(0℃)した。冷蔵開始のそれぞれ10日、20日、30日、40日、50日後に果実をプラスチックコンテナ(10 kg容)に入れたまま内容積1.0 m<sup>3</sup>のステンレス製くん蒸箱(大きさ0.86 m × 1.18 m × 0.92 m、循環・排気装置、計量分注投葉装置、ガス採取・圧力測定用マンローメーター付き)に収容し(第1図)、臭化メチルの薬量を38 g/m<sup>3</sup>、処理時間2時間、処理温度15℃でくん蒸処理を行った。その後、臭化メチル処理装置(箱)内の空気を1時間通して、臭化メチルを除去した(臭化メチル処理)。これは輸出基準に沿ったくん蒸方法である。臭化メチル処理直後に、果実を発泡スチロール箱(10 kg容、幅41 cm × 奥行48 cm × 高さ25 cm、ポリフィルム(0.03 mm)の袋で内装し、果実を入れた袋の口を密閉)に各10果を入れた区を設けた。対照区としてくん蒸なしの区を設けた。果実を容器のまま0℃で10日間冷蔵後、15℃で7日間保持した。

## 2) 容器内の空気組成および果実内褐変の測定

くん蒸処理後は3~4日ごとに、包装容器内の酸素及び二酸化炭素濃度をガスクロマトグラフ(日立(株)、263-50型、カラム: Unibeads Is 60/80mesh, 0.4 cm × 100 cm)を用いて測定した。また、エチレンガス濃度と臭化メチル残存量をガスクロマトグラフ(島津(株)、GC-17A型、カラム: GS-Q, 0.53 mm × 30 m)で測定した。果実横断面における褐変の発生状況を観察した後、果皮に近い果肉部位と果心に近い果肉部位の褐変程度を色差計(ミノルタ製、CR-300型)で測定した。

## 3) 果実の滴定酸度および有機酸の測定

果皮から果心にかけての果肉を半円形に相対する2箇所を切り取り搾汁し、ガーゼ2枚で濾した果汁を用いて滴定酸度を測定した。果肉を果皮側と果心側の部位に分けて液体窒素で急速凍結した後、-20℃に保持した。果肉を80%熱エタノール中で15分間環流後、摩砕し、濾過して抽出液を得た。抽出液を減圧乾固後、蒸留水で溶解した。その一部を用いて、HPLC(日本分光875-UV); カラム LiChrospher 100 RP-18 (250 × 10 mm); カラム温度、室温; 移動相、H<sub>2</sub>O; 流速、1.0 ml/min.)で有機酸組成を分析した。

## 4) 抗酸化能の測定

上記のアルコール可溶性画分の抗酸化能を津志田らの方法(津志田ら、1994)により測定した。即ち、β-カロチン溶液(100 mg/100mlクロロホルム)、リノール酸溶液(10 g/100mlクロロホルム)、Tween40溶液(20 g/100mlクロロホルム)を作成し、それぞれを0.5 ml、0.2 ml、1.0 mlずつ200 mlの三角フラスコに取り、窒素ガスでクロロホルムを完全にとばした後、100mlの蒸留水を加え溶解し、リノール酸-β-カロチン溶液を作成した。次に、この溶液45 mlに4 mlの0.2 M リン酸緩衝液を加え、静かに攪拌した後、4.9 mlを試験管に分注し、これに100 μlの

被検液を添加し、すばやく50℃の反応槽に移し、5分毎にO.D.470 nmを測定した。ブチルヒドロキシルアニソール(BHC)1 mg/100mlを標準溶液として、β-カロチンの退色速度を被検液と比較することにより、相対的な抗酸化活性を測定した。

## 2. 結果および考察

くん蒸処理後(温度処理中)の容器内空気組成をみると、酸素濃度には変動がほとんど見られず、ほぼ一定の値を保持していた(第5、6、7、8、9図)。また、処理区と無処理区に間に差が見られなかった。二酸化炭素濃度は、くん蒸処理区、無処理区ともに0℃に保持した期間中はほとんど変動が見られなかったが、15℃の温度処理開始とともに上昇し、温度処理終了時には、臭化メチルくん蒸区で高くなる傾向がみられた。加温後の二酸化炭素濃度の上昇は、処理前10日間貯蔵と20日間貯蔵では対照区とくん蒸区であまり差が見られなかったが、30日間貯蔵、40日間貯蔵、50日間貯蔵ではくん蒸区がいずれの処理時期でも高い傾向にあり、中でも30日間貯蔵が高かった(第7、8、9図)。

温度処理終了時において、酸素濃度では、くん蒸処理区と対照区に間に差が認められなかった(第10表)。貯蔵期間では差が見られ、30日間貯蔵果と40日間貯蔵果で低い傾向であった。また、温度処理終了時の二酸化炭素濃度を見ると、貯蔵期間でもくん蒸の有無でも差が見られなかった(第10表)。

エチレン濃度は、貯蔵期間とくん蒸の有無で有意な差がなかった(第11表)。

臭化メチル残存量は、時期により程度差がみられたが、くん蒸処理区では温度処理終了時にはどの区でも2000 μg/l以上が残存していた(第11表)。

温度処理終了時の果実内褐変の発生を見ると、収穫後10日から40日貯蔵果の処理では供試果実10個体中5~9個の割合で発生がみられたが、50日経過後の処理では1個と低率となった(第12表)。温度処理終了時に観察された果実内褐変はすべて果心付近に発生していた。

果実内褐変の程度を果実断面中の褐色部分の面積比で見ると(第12表)、収穫後40日までのくん蒸処理果では(20日後のくん蒸を除いて)20%以上であったが、50日目のくん蒸処理では1%と低い値を示した。果実断面の色を見ると、くん蒸処理区の果心側果肉では、L値とb値が低く、a値が高い傾向が認められた(第13表)。L値について、貯蔵期間ごとにくん蒸処理区と対照区を比較したところ、収穫40日後までの処理区と50日目の処理区で差が認められ、対照区は差が見られなかった(第13表)。

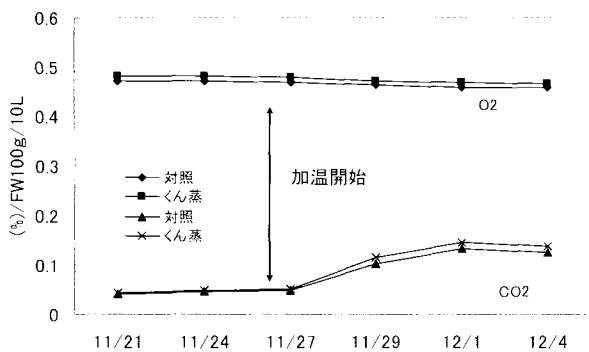
果汁の滴定酸度は貯蔵日数が長くなるほど低くなった。有機酸組成ではリンゴ酸は貯蔵日数が長くなるほど減り、クエン酸では逆に増加した(第14表)。コハク酸はくん

蒸前貯蔵期間20日間、30日間で対照区に比較して高い傾向が見られた(第14表)。

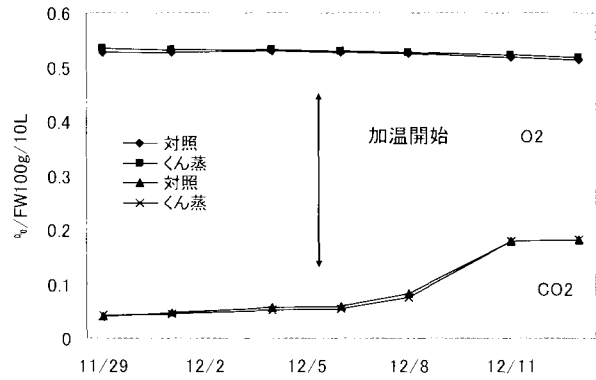
くん蒸前貯蔵期間の違いと、くん蒸の有無および貯蔵容器の違いによる抗酸化能について比べたところ、貯蔵容器間と貯蔵期間で差が見られた(第15表)。貯蔵容器別では輸出用カートンで貯蔵した果実が発泡スチロール箱で貯蔵した果実より抗酸化能が高い傾向であった。この結果から、発泡スチロール箱貯蔵果で抗酸化能が低く、酸化が進んでいることが推定された。また、貯蔵期間別に見ると、10日間貯蔵と50日間貯蔵で高い傾向であった(第15表)。しかし、くん蒸処理区と無処理区の間では有意差は見られなかった。この結果は、臭化メチルくん蒸は果実内の抗酸化能にはほとんど影響しないことを示している。しかし、ポリフェノールの明らかな減少がみられたことから、抗酸化能の測定方法を含めて、果実内物質の酸化機構の検討が必要と考えられる。

果実内褐変の発生要因を探るために臭化メチル処理後のガス組成の変化を調べたところ、二酸化炭素濃度の上昇の程度が高い場合、褐変の程度も高いことが認められた。さらに、相馬ら(1994)は、くん蒸後に果実を梱包した箱に活性炭とソーダライムを入れると二酸化炭素がほとんど吸収除去され、褐変がほとんど発生しないことを見だしている。このことから臭化メチルによる果実内褐変は、高二酸化炭素による褐変(Hulme, A. C., 1965; Monning, A. 1983)と類似の過程で起こると推察される。高二酸化炭素によって褐変が発生するのは、高二酸化炭素によってコハク酸脱水素酵素活性が抑制されるために褐変が発生するとする報告(Frenkelら, 1973)がある。

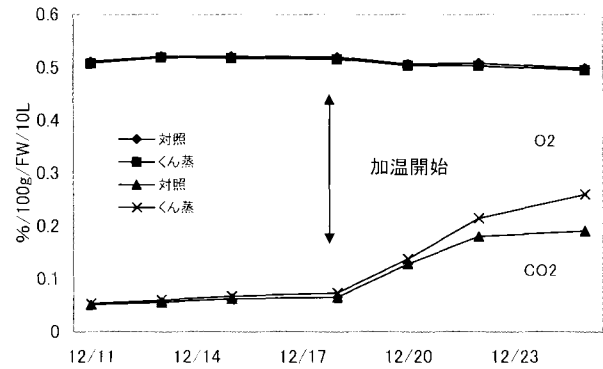
しかし、我々の実験や、相馬ら(1994)の実験においても臭化メチルくん蒸処理後の対照区の二酸化炭素濃度は比較的高濃度(約7~8%)になっているにもかかわらず褐変が発生していない。くん蒸区で褐変が高程度で発生しているのは30及び40日間貯蔵区(第12表)で、二酸化炭素濃度は9%以上であった(第10表)。しかし、10日間貯蔵区では二酸化炭素濃度が約6%であるにもかかわらず褐変が高程度で発生していることから、単なる高



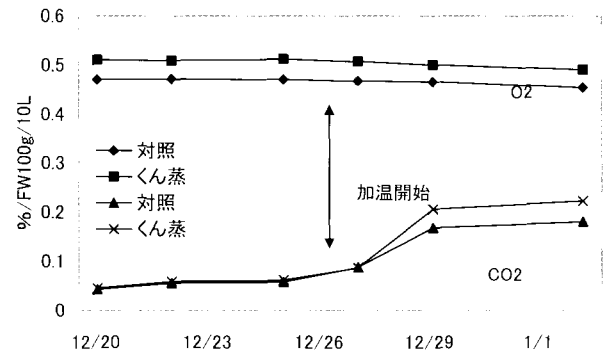
第5図 くん蒸前10日間貯蔵の容器内空気組成



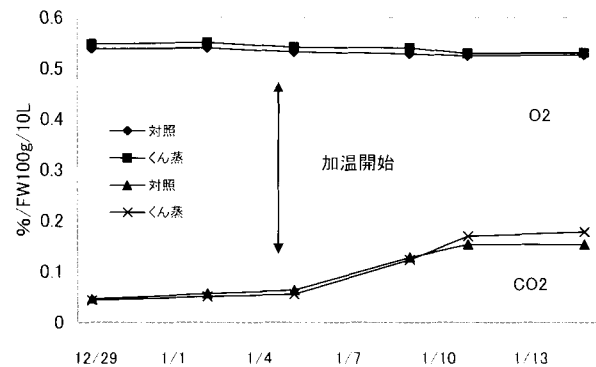
第6図 くん蒸前20日間貯蔵の容器内空気組成



第7図 くん蒸前30日間貯蔵の容器内空気組成



第8図 くん蒸前40日間貯蔵の容器内空気組成



第9図 くん蒸前50日間貯蔵の容器内空気組成



二酸化炭素障害とは言い難い。果実の収穫後の長期貯蔵果では臭化メチル処理による果実内褐変の発生が少なくなるとの報告もある（相馬ら, 1994）。相馬ら（1994）は長期貯蔵果を輸出することを想定し、本実験と同様に発泡スチロール箱に密閉した無袋‘ふじ’では収穫後の貯蔵期間が70日までは臭化メチルくん蒸処理による果実褐変が発生すること、有袋‘ふじ’でも貯蔵期間が70日までは発生が多いが、110日になると少なくなり、150日ではほとんど発生しないことを報告している。しかし、本実験は50日までの貯蔵実験なので、この点については明らかではない。

臭化メチルは一般的にSH基酵素阻害剤であり、コハク酸脱水素酵素はSH基を持った酵素であることから、臭化メチルくん蒸によりコハク酸脱水素酵素が阻害を受け果肉褐変が誘導され、その後二酸化炭素の上昇を伴い褐変が促進されたと考えられた。

エチレン濃度は、くん蒸前貯蔵期間が長くなるにしたがって高くなったが、これは相馬ら（1994）が行った結果と同様な傾向を示した。相馬らは、活性炭とソーダライムを用いて二酸化炭素を吸着するとエチレンの発生量が増加することを確認した。本試験において、くん蒸処理区でエチレンの発生量が対照に比べて低い傾向であったのは、くん蒸処理区の高い二酸化炭素濃度がエチレンの発生を阻害したと考えられ、Drakeら（1988）の試験結果と一致している。

高二酸化炭素濃度とエチレン生合成との関係については、Cheverryら（1988）が、リンゴで20%の二酸化炭

素濃度で処理した結果、ACC含量の増加とACC酸化酵素活性の抑制を確認している。しかし、呼吸活性に及ぼす影響と同じように、高二酸化炭素が、エチレン生成を抑制するだけでなく、逆に促進するという報告もあり（Kuboら, 1989, 1990; Mathookoら, 1995）。高二酸化炭素の作用は複雑で不明な点も多い。

第12表で、温度処理終了時の果実内褐変の発生を見ると、10日間から40日間貯蔵果の処理では50～90%の割合で発生がみられたが、50日間貯蔵果の処理では10%と低い発生量となり、果実内褐変の程度を果実断面中の褐色部分の面積比で見ても、40日までの貯蔵果に対する処理では、20日間貯蔵果のくん蒸を除いて、20%以上であったが、50日間貯蔵果の処理では1%と低い値を示した。果実横断面の色差（第13表）について検討したところ、くん蒸処理区の果心に近い果肉では、L値とb値が低くa値が高い傾向が認められた。このことから、果心付近の果肉は明度が低く、赤色が強く、褐変の程度が強いことを示している。この傾向は10日間貯蔵果と20日間貯蔵果で顕著な傾向であり、50日間貯蔵果には対照とほとんど差が見られなかった。この結果から、0℃で50日以上貯蔵した果実に臭化メチルくん蒸を行うことによって、臭化メチルくん蒸による果実内褐変をできるだけ少なくすることができると考えられる。これは、貯蔵日数が長くなるほど果汁の滴定酸度が低くなったこと（第14表）が果実の呼吸活性、ひいては生理活性の低下を意味し、臭化メチルに対して感受性が低下していることが考えられるが、本実験では明らかにできなかった。

第10表 温度処理終了時の貯蔵期間の違いと容器内空気組成

貯蔵期間	O <sub>2</sub> (%)		CO <sub>2</sub> (%)	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
10日	20.15	20.22	6.02	5.52
20日	20.12	20.09	7.32	7.13
30日	19.83	19.89	10.75	7.59
40日	19.87	19.94	9.36	7.92
50日	20.15	20.34	7.01	5.92
貯蔵期間 <sup>z</sup>	**		ns	
くん蒸処理	ns		ns	

<sup>z</sup>二元配置法により ns:有意差なし, \*\*:0.01水準で有意差あり。

第11表 温度処理終了時の貯蔵期間の違いと容器内エチレンおよび臭化メチル濃度

貯蔵期間	エチレン (μg/l)		臭化メチル (μg/l)	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
10日	8	18	2,769	0
20日	12	69	4,343	0
30日	22	32	2,163	0
40日	30	108	4,864	0
50日	100	121	3,344	0
貯蔵期間 <sup>z</sup>	ns		ns	
くん蒸処理	ns		**	

<sup>z</sup>二元配置法により ns:有意差なし, \*\*:0.01水準で有意差あり。

第12表 貯蔵期間の違いと果心内褐変発生率と程度

貯蔵期間	果心内褐変発生率(%)		発生程度 <sup>z</sup> (%)	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
10 H	90	0	26	0
20 H	50	0	8	0
30 日	80	0	34	0
40 日	50	0	22	0
50 日	10	0	1	0
貯蔵期間 <sup>y</sup>	ns		ns	
くん蒸処理	*		*	

<sup>z</sup>0：発生が全くなし～100：全面に発生

<sup>y</sup>二元配置法により ns：有意差なし，\*：0.05水準で有意差あり。

第13表 貯蔵期間が臭化メチルくん蒸処理後の果肉色差への影響

貯蔵期間	くん蒸の有無	果心側果肉			果皮側果肉		
		L	a	B	L	a	b
10 日	有り	50.3c	2.0a	14.4c	78.1a	-3.5b	21.1
	無し	65.2ab	-3.3c	25.0a	77.4a	-3.1b	21.8
20 日	有り	61.8bc	-0.4abc	23.3ab	77.1a	-2.7ab	22.4
	無し	67.7ab	-2.4bc	23.6ab	78.3a	-2.8ab	23.3
30 日	有り	64.9ab	-0.4abc	18.6bc	66.9b	-0.8a	19.7
	無し	70.9ab	-3.5c	24.0ab	79.2a	-3.4b	21.4
40 日	有り	62.6bc	1.0ab	23.1ab	76.4a	-1.7ab	24.0
	無し	71.4ab	-1.5abc	25.8a	76.5a	-1.4ab	23.7
50 日	有り	78.9a	-3.3c	24.7ab	80.0a	-3.2b	23.0
	無し	78.3a	-2.5bc	25.7a	79.5a	-2.9ab	22.9
有意性 <sup>z</sup>		**	**	**	**	**	ns

<sup>z</sup>Tukeyの多重比較により、ns：有意差なし，異なる文字間に\*\*：0.01水準で有意差あり。

第14表 果汁の滴定酸度と果心側果肉における有機酸組成

貯蔵期間	滴定酸度 (g/100ml)		リンゴ酸 (%)		クエン酸 (%)		コハク酸 (%)	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照	くん蒸	対照	くん蒸	対照
10 日	0.38	0.37	99.7	99.7	0.23	0.31	0.06	0.07
20 日	0.36	0.34	99.1	99.6	0.72	0.35	0.16	0.08
30 日	0.36	0.37	98.9	98.7	0.98	1.2	0.15	0.03
40 日	0.33	0.31	99.2	99.2	0.8	0.68	0.1	0.1
50 日	0.33	0.33	98.8	98.9	1.1	0.9	0.05	0.08
貯蔵期間 <sup>z</sup>	*		*		*		ns	
くん蒸処理	ns		ns		ns		ns	

<sup>z</sup>2元配置法により、ns：差がない，\*：0.05水準で有意差有り。

第 15 表 貯蔵期間、貯蔵容器、およびくん蒸有無と抗酸化能

貯蔵期間	スチロール		カートン	
	くん蒸	対照	くん蒸	対照
10 日	1.19	1.21	1.50	1.20
20 日	1.02	1.07	0.96	1.16
30 日	1.21	1.09	1.33	1.24
40 日	0.99	1.12	1.02	1.05
50 日	1.10	1.12	1.44	1.57

3 元配置法により、貯蔵期間と貯蔵容器ともに 0.05 水準で有意差有り。

### 3. 摘 要

収穫後くん蒸までの貯蔵期間の長短が臭化メチルくん蒸による果実内褐変の発生と、包装容器内空気組成に及ぼす影響を検討した。くん蒸後の温度処理終了時において、酸素濃度には、くん蒸処理区と無処理区間に差が認められなかったが、貯蔵期間の長短によって差が見られ、30 日間貯蔵果と 40 日間貯蔵果で低い傾向であった。また、二酸化炭素濃度には、貯蔵期間の長短でもくん蒸の有無でも差が見られなかった。エチレン濃度にも、貯蔵期間の長短とくん蒸の有無で有意な差がなかった。果実内褐変の程度を果実断面中の褐色部分の面積比で見ると、収穫後 40 日までのくん蒸処理果では、20 日後のくん蒸を除いて、20%以上であったが、収穫後 50 日のくん

蒸処理では 1%と低い値を示した。果汁の滴定酸度は貯蔵日数が長くなるほど低く、リンゴ酸の減少が顕著であった。有機酸組成ではリンゴ酸の有機酸に占める比率は貯蔵日数が長くなるほど減り、クエン酸の比率が増加した。コハク酸の比率は 20 日間貯蔵、30 日間貯蔵でそれぞれの対照区に比較して高い傾向が見られた。貯蔵容器別では輸出用カートンで貯蔵した果実で抗酸化能が高い傾向であった。また、貯蔵期間別に見ると、10 日間貯蔵と 50 日間貯蔵で高い傾向であった。以上の結果、0℃で 50 日以上貯蔵した果実に臭化メチルくん蒸を行うことによって、臭化メチルくん蒸による果実内褐変を若干少なくすることができる可能性があると考えられる。

## V リンゴ無袋‘ふじ’の果実内褐変と有機酸含量に及ぼす臭化メチル処理の影響

輸出用‘ふじ’の果実では、病害虫防除を目的として臭化メチルでのくん蒸処理が行われている。臭化メチルでくん蒸処理すると、‘ふじ’の果実に褐変などのくん蒸障害が発生することがある。臭化メチルでのくん蒸障害については 1930 年代から数多くの報告 (Phillips・Monro, 1936) があって、果皮障害 (Meheriuk ら, 1990) や果実内褐変 (Drake ら, 1988) との関係について調べられている。特に、果実内褐変は外部から見分けることが困難な場合が多く、流通上において深刻な問題となっている。

臭化メチルによるくん蒸障害の発生原因としては、くん蒸処理後、果実から発生する二酸化炭素の濃度が密閉容器内で高くなることに関連があるとした報告 (川上・相馬, 1991) もある。しかし、そのほかには、臭化メチルでのくん蒸障害について生理的な観点から調べた研究はあまりみられない。

本章では、無袋栽培された‘ふじ’について、くん蒸処理時の臭化メチルの濃度や、くん蒸処理後の通気が果実内褐変の発生に及ぼす影響を、呼吸および有機酸代謝の面から検討した。

### 1. 材料および方法

#### 1) 果実内褐変の発生と呼吸に及ぼす臭化メチル処理濃度の影響

##### (1) 臭化メチルのくん蒸処理方法とくん蒸処理後の保持方法

青森県りんご試験場で無袋栽培された‘ふじ’を 2000 年 11 月 6 日に収穫し、0℃で冷蔵した。貯蔵開始後 65 日後にあたる 2001 年 1 月 9 日に、臭化メチル処理濃度として 38, 48, 58g/m<sup>3</sup>の 3 段階を設け、15℃で 2 時間処理した。臭化メチル処理濃度は輸出用の処理濃度を参考とした。処理後、空気を 1 時間通気して、臭化メチルを除去した。通気処理終了後の果実を厚さ 0.03mm のポリエチレン袋に入れて密閉し、幅 41cm × 奥行 48cm × 高さ 25cm の発泡スチロール箱 (リンゴ果実の 10kg 詰め容器) に入れて貯蔵した。対照区として、臭化メチルくん蒸処理をしない果実を同様の袋と容器に貯蔵した区を設けた。各区とも 1 箱当たり 10 果ずつ入れて対米輸出条件である 0℃に 10 日間、15℃に 7 日間貯蔵した。

##### (2) 容器内の空気組成と果実内褐変の測定

臭化メチルでくん蒸処理後、3～4 日ごとに、密閉した

発泡スチロールのポリエチレン袋内からガスを注射器で採取して、酸素濃度と二酸化炭素濃度をガスクロマトグラフ (日立 (株), 263-50 型, カラム: Unibeads 1s, 0.4cm × 100cm) で測定した。また、同様にポリエチレン袋内からガスを採取して、エチレンガス濃度と臭化メチル残存量をガスクロマトグラフ (島津 (株), GC-17A 型, カラム: GS-Q, 0.53mm × 30m) で測定した。果実横断面における果実内褐変の程度を果心内部と果肉部とに分けて肉眼で調査した後、それを果実内褐変の発生個体率 (%) として算出した。さらに、果心に近い果肉部位の褐変程度を色差計 (ミノルタ (株) CR-300 型) で測定し、ハンター L 値 (数値の高いほど明るい)、a 値 (数値の高いほど赤みが強い)、および b 値 (数値の高いほど黄色味が強い) で表した。

### (3) 臭化メチル処理果の果肉硬度と滴定酸度の測定

果実の赤道部付近の2か所において果皮を直径約2cmの円形に除去して果肉部を露出させた後に、果肉の硬度を測定した。果肉の硬度は、果実硬度計 (Penetrometer, FACCHINI Co.Ltd., FT-327 型, Italy) に、直径11mm、高さ22mmの円筒形プランジャーを装着して、果肉部に深さ6mmまでプランジャーを突き挿した時の最大抵抗値を果肉硬度として測定した。また、滴定酸度は果肉部を磨砕して果汁を採取して測定し、リンゴ酸に換算して表した。

## 2) 果実内褐変の発生と呼吸および有機酸組成に及ぼす臭化メチル処理後の通気の影響

### (1) 臭化メチル処理および処理後の保持方法

2001年11月6日に前項の実験と同様に収穫し、0℃で貯蔵した果実を供試した。11月26日に前項の実験と同様にポリエチレン袋と発泡スチロール箱に入れて密閉した。この箱にシリンジ採取用のコネクターを取り付け、ポリエチレン袋内にシリンジで臭化メチル 20.1 g/m<sup>3</sup>を直接注入した (臭化メチル処理密閉区)。果実を同様の容器に密閉し、臭化メチルを注入しない区を設けた (臭化メチル無処理密閉区)。さらに、側面に多数の通気孔のあるプラスチックコンテナに臭化メチルくん蒸処理をしない果実を入れた区を設けた (臭化メチル無処理開放区)。これら3区の果実を15℃で10日間貯蔵した。密閉した容器内のガス組成と褐変の発生状況を、前項の実験と同様の方法で測定した。

### (2) 有機酸の含量および組成の測定

各処理区の果実から果心に近い果肉を採取して、液体窒素で凍結した後、-20℃に保存した。この果肉20gを80%熱エタノール中で15分間環流抽出した。磨砕後、抽出液を濾過し、減圧乾固してから蒸留水で溶解した。有機酸含量は、HPLC (日本分光 (株), 875-UV 型; カラム, LiChrospher 100 RP-18(250 × 10mm), カラム温度: 室温, 移動相: H<sub>2</sub>O, 流速: 1.0ml/min) で分析した。

## 2. 結果および考察

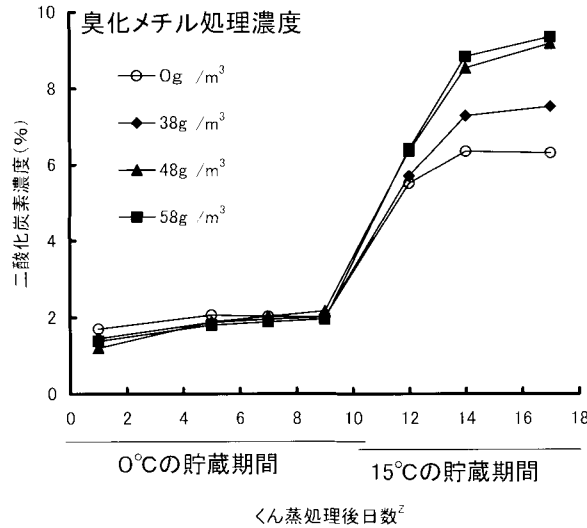
### 1) 果実内褐変の発生と呼吸に及ぼす臭化メチルくん蒸処理濃度の影響

本実験で用いた臭化メチル濃度は、輸出入における基準濃度を参考とした。すなわち、アメリカ向け日本産リンゴでは48g/m<sup>3</sup>、カナダ向け日本産リンゴでは24~64g/m<sup>3</sup>、日本向けアメリカ産リンゴでは56g/m<sup>3</sup>、日本向けニュージーランド産リンゴでは24g/m<sup>3</sup>など、国によって基準が異なっている。それらの濃度を考慮して38~58g/m<sup>3</sup>で処理を行った。臭化メチルでくん蒸処理後、ポリエチレン袋内の二酸化炭素濃度は、0℃で貯蔵中ほとんど増加しなかったが、その後15℃で貯蔵すると上昇した。その程度は48g/m<sup>3</sup>処理区と58g/m<sup>3</sup>処理区が最も高く、次いで38g/m<sup>3</sup>処理区であり、対照区の0g/m<sup>3</sup>処理区が最も低かった (第10図)。この結果は臭化メチル処理による二酸化炭素の発生量は、処理した臭化メチルの量が48g/m<sup>3</sup>まではほぼ平行的なことを示している。それ以上の濃度になると二酸化炭素濃度が上昇しないのは、果実の呼吸が抑制されることを示唆していると考えられる。

17日間の貯蔵終了日におけるポリエチレン袋内の酸素濃度は処理濃度区間で差が認められなかった (第16表)。エチレン濃度も同様であった。17日間の貯蔵終了後において、臭化メチルが残存しているかどうかを調べたところ、対照区 (0g/m<sup>3</sup>処理区) と38g/m<sup>3</sup>処理区で検出されなかったが、48g/m<sup>3</sup>処理区と58g/m<sup>3</sup>処理区では0.19~0.22%の臭化メチルが検出された (第16表)。果心における褐変は、対照区と58g/m<sup>3</sup>処理区で全く発生しなかったが、38g/m<sup>3</sup>処理区で10果当たり3果、48g/m<sup>3</sup>処理区で6果発生した (第16表)。

果心に近い果肉の色について色差として測定したところ、ハンターL値が60以下 (肉眼では判定しづらいが、色差計により色調が暗いと判定される限界点) と低くて、果肉の色が暗い状態の果実が38g/m<sup>3</sup>処理区で10果中の5果、48g/m<sup>3</sup>処理区と58g/m<sup>3</sup>処理区でそれぞれ3果ずつ認められたが、有意な差でなかった (第17表)。

果肉の硬度および果汁の糖度と滴定酸度には臭化メチルの処理濃度による影響は認められなかった (第18表)。果心部における褐変と果肉部における褐変の発生の違いは、臭化メチルに対する反応性が発生部位によって異なることを示唆している。すなわち、リンゴやナシなどの仁果類は、子房が発達した果心部と、果托が発達した果肉部では酸度や糖度に違いがあることが知られており (三上・横田, 1982)、褐変の発生にこれらの因子が関与していることがうかがわれた。



第10図 臭化メチル処理後の密閉容器中の二酸化炭素濃度の変化  
<sup>z</sup> 0°Cで10日間貯蔵後、15°Cで7日間貯蔵後

第 16 表 温度処理終了日における発泡スチロール容器内の空気組成

処理濃度	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> (%)	CH <sub>3</sub> Br (%)	果心褐変 発生程度 (%)	果肉褐変 発生程度 (%)
0 g	20.22	6.31	0.01	0.00	0	0
38 g	20.11	7.52	0.01	0.00	4	0
48 g	19.94	9.17	0.01	0.22	9	0
58 g	19.87	9.34	0	0.19	0	0
有意性 <sup>y</sup>	ns	*	ns	*	*	ns

<sup>z</sup> 0°Cで10日間貯蔵後、15°Cで7日間貯蔵。

<sup>y</sup> 分散分析により、ns：有意差なし、\*：0.05水準で有意差あり。

第 17 表 臭化メチル処理が果肉の色彩に及ぼす影響

処理濃度	果心に近い果肉			果皮に近い果肉		
	L 値 <sup>z</sup>	a 値 <sup>y</sup>	b 値 <sup>x</sup>	L 値	a 値	b 値
0g	67.4	-3.2	24.7	76.5	-2.9	21.8
38g	61.8	-2.8	23.5	77.5	-3.2	21.5
48g	68.5	-2.1	20.0	72.3	-3.7	24.4
58g	67.0	-3.8	23.5	79.2	-3.6	21.3
有意性 <sup>w</sup>	ns	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>z</sup> 数値の高いほど明るい。

<sup>y</sup> 数値の高いほど赤みが強い。

<sup>x</sup> 数値の高いほど黄色みが強い。

<sup>w</sup> 分散分析により、ns：有意差なし、\*：0.05水準で有意差あり。

第18表 果実品質に及ぼす影響

処理濃度	硬度 (Lbs)	糖度 (Brix)	酸度 (%)	L 値が 60 以下の数
0g	12.1	13.8	0.26	1
38g	11.9	14.7	0.33	5
48g	13.1	14.2	0.31	3
58g	13.6	12.5	0.27	3
有意性 <sup>z</sup>	ns	ns	ns	ns

<sup>z</sup>分散分析により、ns：有意差なし、\*：0.05水準で有意差あり。

## 2) 果実内褐変の発生と呼吸および有機酸組成に及ぼす臭化メチル処理後の通気の影響

臭化メチルでくん蒸処理後、いずれの処理区も15℃で10日間貯蔵したときの密閉容器内の酸素濃度は貯蔵期間中ほとんど低下しなかった(第11図)。二酸化炭素濃度は貯蔵中臭化メチル無処理密閉区でほとんど変化しなかったが、臭化メチル処理密閉区では経時的に高くなった。

果実内褐変は臭化メチル処理密閉区の全果実で発生し、果心側果肉の色について色差として見ると、ハンターL値およびb値が臭化メチル無処理密閉区や臭化メチル無処理開放区に比べて明らかに低く、a値が高かった。この結果は、褐変部位で明るさと黄色味が減少し、赤味が強く、褐変が進んでいることを示している(第19表)。

滴定酸度は臭化メチル処理密閉区が臭化メチル無処理密閉区と臭化メチル無処理開放区に比べて有意に低かった。有機酸のうち、リンゴ酸含量は臭化メチル処理密閉区が、臭化メチル無処理密閉区と、臭化メチル無処理開放区に比べて有意に低かったが、クエン酸含量とコハク酸含量は各処理区で差が見られなかった(第20表)。

本実験では使用した臭化メチル濃度が低いにも関わらず全個体に褐変が発生し、褐変の程度も高かった。これは前項の実験で臭化メチルくん蒸処理後1時間の通気を行ったことが褐変発生に抑制的に影響したと考えられ、臭化メチルくん蒸直後の通気が果実内褐変の発生回避に有効なことを示している。臭化メチルの高濃度処理では温度処理終了日にもまだ臭化メチルが残存しているので、くん蒸処理果の保管においても、通気性のある場所に保管する必要があることを示している。

臭化メチル処理後のガス組成の変化を調べたところ、前項の実験でも本実験でも二酸化炭素濃度の明らかな上昇が認められ、上昇の程度は本実験で高く、果肉褐変は本実験でのみ認められた。

臭化メチルくん蒸による果実内褐変発生要因について相馬ら(1994)は、臭化メチルくん蒸後に果実を密閉容器中に保管したとき発生が多いこと、容器内の二酸化炭素濃度が高くなること、その容器に活性炭やソーダ

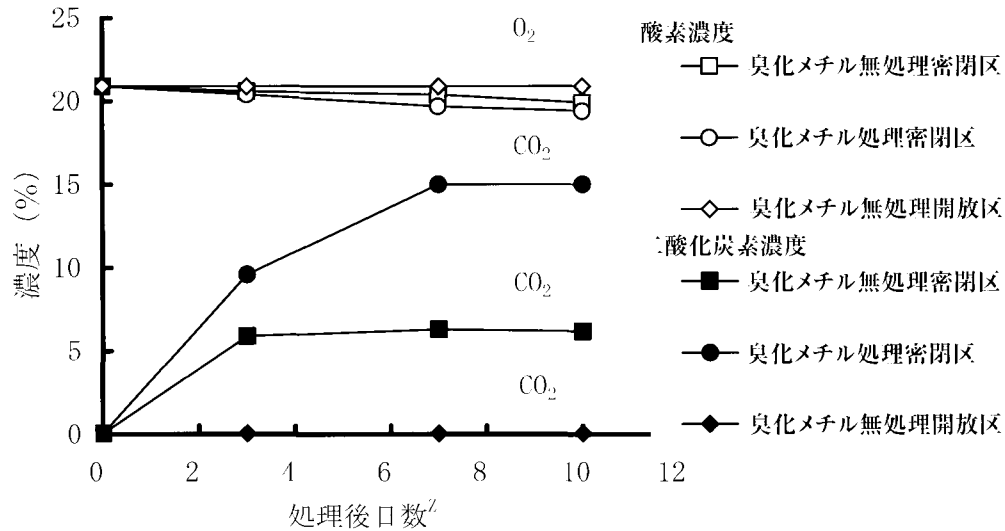
ライムを入れると二酸化炭素が吸収除去され、褐変がほとんど発生しないことから、臭化メチルによる果実内褐変は、高二酸化炭素による褐変(Hulme, 1956; Monning, 1983)と類似の過程で起こると推察している。著者らも収穫された無袋‘ふじ’の臭化メチル処理後の包装容器の違いが果実品質に及ぼす影響を検討し、密閉度の高い発泡スチロール容器を用いた区で果実内褐変の発生が多いことを確認した(II)。前項の実験では二酸化炭素濃度は最低6.31%～最高9.34%であったが、本実験の臭化メチル処理密閉区では14.77%と顕著に高い値を示し、全果に褐変が見られた。しかし、無処理密閉区では両実験ともに6.31%と6.25%と6%台で比較的高濃度になっているにもかかわらず褐変が発生しないことから、単なる高二酸化炭素障害とは言い難い。

前項の実験で、臭化メチル処理によって容器内二酸化炭素濃度が上昇したが、酸素濃度には処理区間で差がみられなかったことから、呼吸基質として有機酸が使われている可能性が考えられる。しかし、前項の実験では滴定酸度には処理による影響が見られなかった。そこで本実験では、発泡スチロール箱に直接臭化メチルを注入し、通気を行わずに密閉貯蔵した。その結果、臭化メチル処理区では前項の実験よりも高い二酸化炭素の排出が見られ、有機酸含量が顕著に低下したことから、呼吸基質として有機酸が利用された可能性が考えられた。有機酸組成の分析ではリンゴ酸の減少が最も顕著であった(第20表)。本実験ではリンゴ酸の割合が従来の報告よりやや高かった理由は明らかではない。また、有機酸の中でコハク酸の占める割合が増加した。この結果から、臭化メチルが呼吸系のTCA回路において、コハク酸の生成促進、またはコハク酸からフマル酸への代謝抑制に影響を及ぼした可能性が考えられた。

臭化メチルは一般的にSH基酵素阻害剤であり、コハク酸脱水素酵素はSH基を持った酵素であることから、昆虫では臭化メチルくん蒸によりコハク酸脱水素酵素が阻害を受けることによって殺虫効果が発現するとされている(浜, 1997)。また、リンゴでは、高濃度炭酸ガスによりコハク酸脱水素酵素活性が抑制されるという報告が

ある (Michael, 1973, Ranson ら, 1957). 本実験の結果は、リンゴにおいても臭化メチルによってコハク酸脱水素酵素が阻害されることを示唆している。この酵素の阻害と果実内褐変の関係は明らかではないが、二酸化炭素濃度の上昇とともに、褐変の発生に関与しているのかもしれない。

臭化メチル処理後の通気や、通気性のある場所での保管は、残存臭化メチルの影響を軽減するばかりでなく、果実の呼吸による高二酸化炭素状態になることから回避できると考えられる。呼吸の促進や呼吸関連物質への臭化メチルの影響と褐変の発生との関連については、今後の研究が必要である。



第 11 図 密閉処理が容器内酸素および二酸化炭素濃度に及ぼす影響  
<sup>z</sup> 15°C で 12 日間貯蔵後

第 19 表 密閉処理が果実断面の色彩に及ぼす影響

処理区	果心側果肉			果皮側果肉		
	L 値 <sup>z</sup>	a 値 <sup>y</sup>	b 値 <sup>x</sup>	L 値	a 値	b 値
処理密封	38.9a	2.09a	7.70a	65.1a	-0.15a	19
無処理密封	64.7b	-2.96b	20.57b	78.7b	-3.12b	19
無処理開放	65.8b	-3.25b	22.00b	78.8b	-3.03b	20
有意性 <sup>w</sup>	**	**	**	**	**	ns

<sup>z</sup> 数値の高いほど明るい。

<sup>y</sup> 数値の高いほど赤みが強い。

<sup>x</sup> 数値の高いほど黄色みが強い。

<sup>w</sup> 分散分析により、ns：有意差なし、\*、\*\*：0.05 および 0.01 水準で有意差あり。

添え字は Tukey 法による多重比較 (0.05 水準)。

第 20 表 密閉処理が果汁の滴定酸度と果心側果肉の有機酸組成に及ぼす影響

処理区	滴定酸度 (g/100ml)	リンゴ酸 (%)	クエン酸 (%)	コハク酸 (%)
処理密閉	0.283a	99.68	0.227	0.096a
無処理密閉	0.458b	99.63	0.305	0.061b
無処理開放	0.463b	99.71	0.219	0.073ab
有意性 <sup>z</sup>	**	ns	ns	**

<sup>z</sup> 分散分析により、ns：有意差なし、\*、\*\*：0.05 および 0.01 水準で有意差あり。

添え字は Tukey 法による多重比較 (0.05 水準)。

### 3. 摘 要

リンゴ‘ふじ’について臭化メチルクん蒸処理濃度の違いによる果実内褐変の発生への影響を調べた。その結果、臭化メチル濃度を 38g/m<sup>3</sup>、48g/m<sup>3</sup>および 58g/m<sup>3</sup>と変えてくん蒸処理した後に通気によって臭化メチルを除去した後、0℃7日間と15℃10日間の密閉貯蔵を連続して行ったところ、果心内褐変がわずかに発生し、密閉容器内の二酸化炭素濃度は臭化メチルクん蒸処理濃度が高いほど高くなった。果実を入れた密閉容器内に 21g/m<sup>3</sup>の臭化

メチルを注入し、15℃で10日間貯蔵したところ、すべての果実で褐変が発生した。この結果から、臭化メチルクん蒸処理濃度に関わらず、処理直後の通気が果実内褐変の軽減に有効であることが明らかになった。容器内の酸素濃度はやや減少したものの、二酸化炭素濃度の上昇が著しかった。また、くん蒸処理によって滴定酸度と、リンゴ酸含量が有意に低下した。以上の結果、臭化メチルは呼吸に関わる有機酸代謝に影響を及ぼしていると考えられた。

## VI リンゴ無袋‘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

リンゴでは臭化メチルクん蒸処理による葉害の一つとして、内部褐変発生の問題があり (Drake et al., 1988)、品種やくん蒸条件、くん蒸後の保存条件など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 (Meheriuk et al., 1990, Rippon, 1982)。内部褐変は臭化メチルクん蒸果ばかりでなく、C貯蔵や長期貯蔵でも問題であるが、内部褐変果を外部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期待されており、その一つとしてレーザー・ドップラー法の研究が行われている (寺崎, 1999)。

リンゴの内部褐変は果肉や果心の色が褐色に変化したものや、蜜入り部位が褐色に変化したもの、ゴム病などいくつかの現象を観察されているが、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。リンゴの貯蔵果では、蜜入り部位が褐変した場合、褐変部位の果肉がゼリー状に軟化することや、果肉が褐色に変化したあと、すりり状態になって組織が崩壊するなどいくつかの事例を観察している。しかし、臭化メチルクん蒸によって発生した内部褐変果の果肉の物理性 (肉質) の変化については報告がほとんどない。

この章では、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、及び臭化メチル処理によって発生した褐変果をレーザー・ドップラー法で非破壊的に検出できるかどうかを検討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共鳴周波数、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。

### 1. 材料および方法

#### 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/m<sup>3</sup>となるように注射器で注入した。この箱を16日間15℃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℃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 (Muramatsu, 1999a) 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: マルチパス FFT アナライザ, 株式会社小野測器製 CF-5210) を用い、10~2000Hzまでの振動を与えて、10Hzごとに振動強度を測定し、第2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、10~2000Hzまでの10Hz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2000Hzまでの10Hz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か所の果皮を直径約2cmの円形に除去して、果実硬度計 (Penetrometer, Fruit tester FT-327 FACCHINI 製, Italy) に直径11mm、高さ22mm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6mm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（非褐変部位）と果心に近い部位（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（最大抵抗）を測定し、果肉硬度とした。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）と果心に近い部位（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果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）と果心に近い部位（臭化メチル処理果では褐変部位）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℃ で保存した。凍結果肉を 80% アルコールにより 80℃ 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℃、2 時間、2 回）、EDTA（100 mM、20℃、2 時間、2 回）、及び 0.05 M 塩酸（85℃、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℃、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（Blumenkranz, 1973）で、中性糖含量を phenol 硫酸法（Dubois, 1956）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。

## 2. 結果および考察

### 1) 果実内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蜜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。

果心に近い果肉の色（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（第 21 表）。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も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が見られなかったが、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（10 kg 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 か所の通気孔があり、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（第 22 表）。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 - 7 mm 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（第 12 図）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（第 23 表）。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（第 23 表）。また、果実硬度計で測定した硬度（第 22 表）と弾性率の間には相関が見られなかった（第 13 図）。これらの結果から、第 2、3 共鳴周波数、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（Muramatu, 1997, 1999a, b）、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

第21表 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 <sup>z</sup>	果皮側果肉			有意性 <sup>z</sup>
	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 <sup>y</sup>	65.8b	64.7b	38.9a	**	78.8b	78.7b	65.1a	**
A 値 <sup>x</sup>	-3.25b	-2.96b	2.09a	**	-3.03b	-3.12b	-0.15a	**
B 値 <sup>w</sup>	22b	20.57b	7.7a	**	20.03a	19.07a	18.69a	ns

<sup>y</sup> 数値の高いほど明るい, <sup>x</sup> 数値の高いほど赤みが強い.

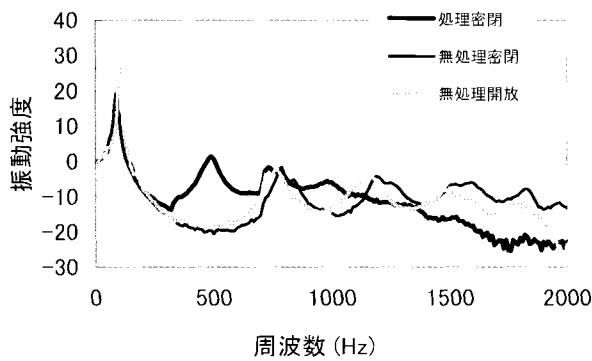
<sup>w</sup> 数値の高いほど黄色みが強い.

<sup>z</sup> 分散分析により, ns: 有意差なし, \*, \*\*: 0.05 および 0.01 水準で有意差あり.

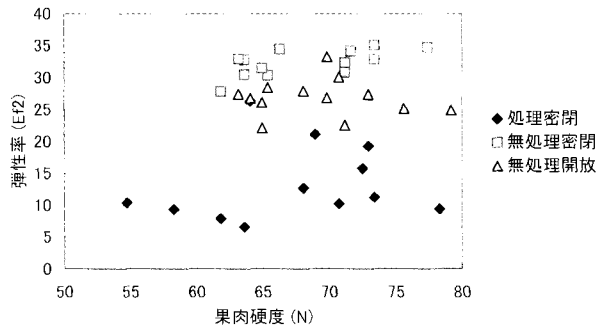
第22表 果肉硬度に対する臭化メチル処理の影響

		無処理 開放	無処理 密閉	処理 密閉	有意性 <sup>z</sup>	単位
Penetrometer		42.3	44.9	46.7	ns	N
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	4.5	ns	N
Rheometer	果皮側果肉	3.161	3.743	3.797	ns	N/m <sup>2</sup> x10 <sup>5</sup>
	果心側果肉	4.670	4.846	4.927	ns	N/m <sup>2</sup> x10 <sup>5</sup>

<sup>z</sup> 分散分析により, ns: 有意差なし.



第12図 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



第13図 第2共鳴周波数から算出した弾性率と果肉硬度の関係

第23表 果肉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 <sup>z</sup>
果重 (g)	320	318	314	ns
第2共鳴周波数 (Hz)	758b	840a	543c	**
第3共鳴周波数 (Hz)	1169b	1279a	797c	**
弾性率 (E/f2)	27.17b	32.74a	13.13c	**
第3共鳴振動強度	-4.187a	-4.569ab	-7.378b	*
振動強度の合計 (10-2000Hz)	-1950.57a	-2140.61ab	-2622.31b	**
振動強度の合計 (f2-2000Hz)	-1233.65a	-1253.11a	-2218.8b	**

<sup>z</sup> 分散分析により, ns: 有意差なし, \*, \*\*: 0.05 および 0.01 水準で有意差あり.

第24表 果肉細胞壁多糖類に対する臭化メチル処理の影響

画分	ウロン酸				中性糖			
	無処理 開放	無処理 密閉	処理 密閉	有意 性 <sup>2</sup>	無処理 開放	無処理 密閉	処理 密閉	有意 性 <sup>2</sup>
水溶性ペクチン	62.7a	62.8a	41.8b	**	34.6	37	29.1	ns
EDTA可溶性ペクチン	31.8	31.9	31.8	ns	9.9	10	9	ns
塩酸可溶性ペクチン	112.3	114.3	113.7	ns	69.1	69.5	70.2	ns
ペクチン合計	206.8	209	187.3	ns	113.6	116.5	108.3	ns
4% KOH可溶性ヘミセルロース	22.4	22.7	25.9	ns	32.9	36.8	36.6	ns
24% KOH可溶性 ヘミセルロース	6.6	6.5	7.7	ns	64.1	69.2	68.8	ns
ヘミセルロース合計	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				

<sup>2</sup> 分散分析により、ns：有意差なし、\*\*：0.01水準で有意差あり。

測定した値及び果肉を果皮に近い部位と果心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（第22表）。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（浦野，1998）。本実験では、‘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

内部褐変果をレーザー・ドップラー法（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（寺崎，1999）。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（第23表）。

LDV法による測定波形を見ると（第12図）、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（2KHz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（10Hz～2KHz）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（第23表）。

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10Hz～2KHz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（第24表）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（Yamaki, 1979）。また、寺崎らによると、レーザー・ドップラー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（Terasaki, 2001）。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。

### 3. 摘 要

臭化メチルくん蒸処理の果肉の物理性への影響を解析することを目的とした‘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、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、得られた第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褐変果を非破壊的に検出できることが示された。

## VII 総 合 考 察

### 1. 臭化メチル処理後の呼吸量とエチレンおよび臭化メチルガス濃度

緒論で述べたように、臭化メチルでのくん蒸障害については1930年代から数多くの報告があり(Phillips・Monro, 1936)、果皮障害(Meheriukら, 1990)や果実内褐変(Drakeら, 1988)との関係について調べられている。しかし、臭化メチルによるくん蒸障害について呼吸との関連について調べた研究は、Claypool・Vines(1956)と川上・相馬(1991)によるものだけである。

そこでまず、本研究では、臭化メチルくん蒸処理後の果実の呼吸という観点から考察を行った。りんご果実を臭化メチルでくん蒸処理した後の容器内ガス組成を測定した結果、いずれも酸素濃度はほとんど変化しないにもかかわらず、二酸化炭素濃度は15℃で保管後にはくん蒸処理区で対照区より高い濃度を示した。Ⅱでは、無袋・ふじを臭化メチルでくん蒸処理した後、密閉度の高い発泡スチロール箱や発泡スチロールの箱内にポリエチレンフィルムを内装して、これらの中にくん蒸したりんご果実を包装すると包装容器内の二酸化炭素濃度が高まった。しかし、酸素濃度には大きな変動は見られなかった。このことからくん蒸処理後に密閉容器内にりんご果実を包装することにより、二酸化炭素濃度が高まり、酸を基質とした呼吸が盛んになることが示唆された。Ⅲでは、'祝'、'あかね'、'つがる'、'世界一'、'陸奥'、'デリシャス'、'王林'、'メロー'、'ふじ'の9品種を用いて、くん蒸後の容器内空気組成を見た。その結果、品種間で酸素濃度に差が見られ、'世界一'、'王林'では1.2~1.4%/100gFW/10Lと、常に高い値を維持していたが、'祝'、'あかね'と'陸奥'では0.8~1.0%/100gFW/10L、その他の品種では0.4~0.6%/100gFW/10Lのレベルにあった。この結果は品種によって密閉状態における酸素吸収力に違いのあることを示している。温度処理終了日の二酸化炭素濃度を見ると、'祝'で最も高く、'あかね'、'陸奥'、'メロー'および'デリシャス'が比較的高く、'世界一'では最も低かった。二酸化炭素濃度において、臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の差が最も大きかったのは、'デリシャス'および'ふじ'であり、'メロー'及び'祝'でもわずかに差が見られた。これらの結果は、臭化メチルくん蒸処理に対す

る感受性が品種によって異なることを示している。また、臭化メチルくん蒸処理によって、果実の二酸化炭素排出が促進されたが、酸素吸収はほとんど影響されなかったことから、ここでも臭化メチルくん蒸処理区では、果実の呼吸基質として有機酸が使われた可能性を示唆するものと考えられる(長内・元村, 2003)。Ⅳでは、くん蒸処理前の貯蔵期間と容器内空気組成を検討した結果、温度処理終了時において、果実の貯蔵日数にかかわらず、くん蒸処理区と対照区の間には酸素濃度に差が認められなかった。また、温度処理終了時の二酸化炭素濃度を見ると、貯蔵期間に関わらず、くん蒸処理区で高い傾向が見られた。Ⅴでは、くん蒸処理時の濃度と容器内空気組成を検討した結果、実験Ⅰで、臭化メチルくん蒸処理によって密閉容器内の二酸化炭素濃度が上昇したが、酸素濃度は貯蔵期間中ほとんど変化が見られなかったことから、呼吸基質として有機酸が使われている可能性が考えられた(長内・元村, 2002)。このように、ⅡからⅤの実験Ⅰまでは、輸出のマニュアル(全農青森経済連, 1995)にしたがったくん蒸方法、つまり所定の濃度で2時間くん蒸した後、1時間の通気処理を行っている。したがって、臭化メチルでのくん蒸処理により、極度の果実内褐変の発生や、果汁の滴定酸度に影響を及ぼさなかった。そこでⅤでは臭化メチルの影響を確実に発生させるために、発泡スチロール箱のポリ袋内に臭化メチルを注入し、通気処理を行わずに密閉貯蔵した結果、臭化メチルくん蒸処理区では実験Ⅰよりも二酸化炭素濃度が14.77%と顕著に高まって、滴定酸度が有意に低下した。この滴定酸度の低下は、有機酸中の大部分を占めるリンゴ酸の低下によるものである。これらのことから、臭化メチルくん蒸により、二酸化炭素濃度の排出量が増加し、呼吸商の上昇によって有機酸を基質とした嫌氣的な呼吸が促進されたことが明らかとなった。臭化メチル処理によって二酸化炭素の排出量が増加する現象は、Ⅱ~Ⅴのすべてで観察され、そのレベルが14.77%と顕著に高くなった場合には褐変が発生するが、6~8%では発生する場合としない場合があり、6%以下では発生が少ないことから、二酸化炭素濃度を褐変発生危険域の判定に使うことができるのではないかと期待されるが、今後の検討が必要で

ある。

次に臭化メチルくん蒸処理とエチレンとの関連についてであるが、Ⅲにおいて、9品種のくん蒸後のエチレン濃度を測定した結果、供試したすべての品種で、臭化メチルくん蒸処理区のエチレン濃度は無処理区より低かった。品種間で見ると、比較的エチレン生成が多かったのは‘祝’と‘つがる’であり、‘あかね’と‘世界一’ではほとんど検出されなかった。臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の差が比較的大きかったのは、‘祝’、‘メロー’、‘つがる’であった。これらの結果は、エチレン生成量に関して品種間に差があることや、品種ごとにクライマクテリックに達する時間差があることが考えられる。Ⅳでは、くん蒸処理前の貯蔵期間とエチレンの生成を見た結果、エチレン濃度は、くん蒸前貯蔵期間が長くなるにしたがって高くなったが、これは相馬ら（1994）がおこなった結果と同様な傾向を示した。相馬らは、活性炭とソーダライムを用いて二酸化炭素を吸着させるとエチレンの発生量が増加することを確認した。本試験において、くん蒸処理区でエチレンの発生量が対照に比べて低い傾向であったのは、くん蒸処理区の高い二酸化炭素濃度がエチレンの発生を阻害したと考えられ、Drakeら（1988）の試験結果と一致している。高二酸化炭素濃度とエチレン生成との関係については、Cheverryら（1988）が、リンゴ果実で20%の二酸化炭素濃度で処理した結果、ACC含量の増加とACC酸化酵素活性の抑制を確認している。しかし、呼吸活性に及ぼす影響と同じように、高二酸化炭素が、エチレン生成を抑制するだけでなく、逆に促進するという報告もあり（Kuboら、1989、1990、Mathookoら、1995）、高二酸化炭素の作用は複雑で不明な点も多い。Ⅴでは、臭化メチルくん蒸処理時の濃度とエチレンとの関係を見たが、いずれの濃度でもエチレンの発生量に影響は見られなかった。Ⅱにおいて、蜜の消失が臭化メチル処理区で低かったが、エチレン生成の抑制と関係があるかもしれない。

リンゴ果実の成熟期の呼吸はクライマクテリック型（Biale, 1964）であり、エチレンによってクライマクテリックの時期が早められることが知られているが、臭化メチルくん蒸処理によって、エチレン生成が抑制されたにも関わらず、二酸化炭素排出量が増加したこと、及びエチレン濃度と二酸化炭素濃度の間には関連性が見出せなかったことから、臭化メチルくん蒸処理による呼吸の促進は、エチレンとは直接関係しない反応と考えられる。

つぎに、臭化メチルの容器内への残存量を調査した結果、Ⅴで臭化メチル0g/m<sup>3</sup>と38g/m<sup>3</sup>処理区では検出されなかったが、48g/m<sup>3</sup>処理区と58g/m<sup>3</sup>では検出された。また、Ⅱでくん蒸前貯蔵期間と残存量を調査した結果いずれの処理区でも残存を確認した。これらはいずれも発泡スチロール箱に密閉包装した場合であり、対照の輸出

用カートンでは残存していない。Ⅱで明らかになったように、密閉度の高い容器内で褐変が多かったことから、臭化メチルの残存量との関係から褐変防止には、輸出用カートンのような密閉度の低い容器を用いることが有効であることがわかった。

## 2. 臭化メチルくん蒸と果実内褐変

臭化メチルくん蒸処理による果実内褐変の褐色程度を測定する手法として、Ⅱでは、果肉を80%アルコールで抽出した上清について420nmの吸光度を測定して行った。この手法では、果肉の褐変程度を直接測定できないことや、時間がかかるため、Ⅲにおいて、臭化メチルくん蒸処理による果肉の色彩変化の有無を調査することを目的として、果実の横断面を色差計（ミノルタ製、CR-300）で測定した。その結果‘ふじ’の臭化メチルくん蒸区では、L値（明るさ）とb値（黄色）が無処理区に比べて低く、‘ふじ’と‘あかね’ではa値（赤色）が高いことが認められた。その他の品種では臭化メチルくん蒸処理区と無処理区の間にはほとんど差が見られなかった。また、色差計による測定で、L、a、b値には若干の差が見られたが、それは果肉の色彩の品種間差を検知していると考えられた。今回の供試品種の中では、‘ふじ’が臭化メチルくん蒸処理によって、果実内褐変が発生しやすい品種であると考えられた。

これらの結果から、褐変果ではL値が低くa値が高いことが明らかとなり、品種による果肉の色彩の差や、臭化メチルくん蒸処理による果肉色の変化を色差計によって色彩を測定することによって、数量的に検知できることを明らかにした。Ⅳでは、臭化メチルくん蒸処理前の貯蔵期間と褐変との関係を見たところ、くん蒸処理区の果心に近い果肉では、L値とb値が低くa値が高い傾向が認められた。このことから、果心付近の果肉は明度が低く、赤色が強く、褐変の程度が強いことを示した。この傾向は貯蔵10日と20日で顕著な傾向であり、50日後には対照とほとんど差が見られなかった。相馬らは‘ふじ’の有袋果と無袋果について、収穫後の貯蔵期間と果実内褐変の関係を調査し、有袋果では0℃150日間貯蔵した果実では褐変果が少なくなるが、無袋果では70日間貯蔵では40日貯蔵果に処理した場合と同程度の褐変がであることを報告している（相馬ら1994）。しかし、Ⅳの結果では、無袋果の場合0℃で50日以上貯蔵した果実に臭化メチルくん蒸を行うことによって、臭化メチルくん蒸による果実内褐変を少なくすることができると考えられる。相馬らの結果とⅣの結果との違いの原因は明らかではないが、どちらも青森産（相馬らは1991年弘前産、本研究では2000年黒石産）の‘ふじ’を材料としているが、栽培年の違いによる影響かもしれない。くん蒸処理濃度と褐変について検討した結果、果心に近い果肉の色差は、L値が

60以下と低くて果肉の明るさが暗い状態の果実が38g/m<sup>2</sup>処理区で10果中の5果、48/m<sup>2</sup>処理区と58g/m<sup>2</sup>処理区でそれぞれ3果ずつ見られた。これらの結果から、褐変部位では色彩がやや暗くなり、赤味が増すこと、その度合いが褐変の度合いを表す指標となり得ることを示している。この方法は、果実などの表面色を見る手法として使われているが(梅田・毛利, 1985; 城島, 1994; 津田ら, 1999; 毛利, 2003)、臭化メチルくん蒸処理の場合だけでなく、貯蔵中の果肉色の変化を数量的に把握する手段として利用できる可能性を示唆していると考えられる。

臭化メチルくん蒸処理後の果実内褐変の発生は、Ⅱにおいては、くん蒸処理果の発泡スチロール箱+ポリエチレンフィルム区(D)が78%、発泡スチロール箱+ポリエチレンフィルム+鮮度保持剤区(E)が61%と高く、密閉度の高い処理区での発生が多かった。Ⅲにおいては、9品種について、臭化メチル処理後の褐変発生を見たが、ふじで50%の発生があった他は臭化メチルが原因と思われる褐変は見られなかった。このことから、主要品種の中では無袋ふじが最も臭化メチルに対する耐性が弱い品種であった。Ⅳにおいては、臭化メチルくん蒸処理前の貯蔵期間と褐変の発生を見たが、収穫後10日から40日までは果心内褐変の発生が50%をこえる発生率であったが、50日では10%でしかも褐変程度も低かった。このことから、収穫後50日間0℃で貯蔵した果実にくん蒸処理することにより褐変の発生を最小限に抑えられることが示唆された。Ⅴにおいては、くん蒸処理時における臭化メチルの濃度と褐変の発生を見たが、0から58g/m<sup>2</sup>の濃度範囲では、濃度と褐変の発生には相関が見られなかった。また、臭化メチル処理後に通気処理をしないと高率に褐変が発生した。このことから臭化メチルでくん蒸処理を行う際は、マニュアルにしたがった濃度範囲では、収穫後50日を経過した果実を用いて、通気処理を1時間以上行い、輸出用カートンを使用することによって、果実内褐変を最小限度に抑える可能性が示唆された。

### 3. 臭化メチルくん蒸による褐変とフェノール性物質

Ⅱにおいて、臭化メチルくん蒸による褐変とフェノール性物質の関係について検討した。リンゴ果実の褐変現象として、酵素的褐変については多くの報告があり(Murataら, 1995a, 1995b; 山丸丸ら, 1998a, 1998b)、体系的にまとめられている。臭化メチルくん蒸による褐変は、果心内部から果心に近い果肉部分に発生することが多く(長内・元村, 2001)、つまり、空気に触れる部位から遠い部位での褐変であり、酵素的な褐変によるものではないと考えられる。臭化メチルくん蒸により、果皮側果肉は果心側果肉に比べ褐変度が低く、ポリフェノール含量は高い傾向であった。くん蒸区の果心側果肉は最も褐変が進み

ポリフェノール含量も低かった。最近では、ポリフェノールは機能性成分、特に抗酸化成分として知られており(吉川, 1997; 篠原, 1990; 濱渦, 1999)、この観点からも、くん蒸処理された果実ではポリフェノール含量が減り、抗酸化性が低下していると推測される。

### 4. 臭化メチルくん蒸と有機酸

次に臭化メチルくん蒸と有機酸に関する検討であるが、Ⅳにおいて、くん蒸処理前の貯蔵日数と果実の有機酸組成について検討したところ、果汁の滴定酸度は貯蔵日数が長くなるほど低くなり、有機酸組成ではリンゴ酸の相対比率は貯蔵日数が長くなるほど減り、クエン酸の相対比率が増加した。一方コハク酸の相対比率はくん蒸処理20日後、30日後で対照区に比較して高い傾向が見られた。このことから、くん蒸のあるなしにかかわらず、貯蔵期間が長くなるにしたがって酸度の低下とともにリンゴ酸の相対比率が低下し、クエン酸の相対比率が高まる傾向であった。また有意差はないものの、くん蒸処理区ではコハク酸が高まる傾向が見られた。さらにⅤの実験1では、臭化メチルの処理濃度と有機酸の関係を検討した結果、酸度の低下や有機酸の組成に違いが見られなかった。そこで、実験2では、臭化メチル処理後通気処理を行わず密閉状態でリンゴ果実を貯蔵したところ、酸度の低下と有機酸組成に違いが見られた。すなわちコハク酸の有機酸中に占める割合が有意に高まった。この結果から、臭化メチルがTCA回路において、コハク酸の生成促進、またはコハク酸からフマル酸への代謝抑制に影響を及ぼした可能性が考えられた。しかし、本実験ではリンゴ酸の比率が従来の報告(三浦・荒木, 1988)よりやや高かった理由は明らかではない。臭化メチルは一般的にSH基酵素阻害剤であり、コハク酸脱水素酵素はSH基を持った酵素であることから、昆虫では臭化メチルくん蒸によりコハク酸脱水素酵素が阻害を受けることによって殺虫効果が発現するとされている(浜, 1997)。また、リンゴ果実では、高濃度炭酸ガスによりコハク酸脱水素酵素活性が抑制されるという報告がある(Michael, 1973; Ransonら, 1957)。実験2の結果は、リンゴ果実においても臭化メチルによってコハク酸脱水素酵素が阻害されることを示している。この酵素の阻害と果実内褐変の関係は明らかではないが、二酸化炭素濃度の上昇とともに、褐変の発生に関与しているのかもしれない。

臭化メチル処理後の通気や、通気性のある場所での保管は、残存臭化メチルの影響を軽減するばかりでなく、果実の呼吸による高濃度炭酸状態になることから回避できると考えられる。呼吸の促進や呼吸関連物質への臭化メチルの影響と褐変の発生との関連については、今後の研究が必要である。

## 5. 臭化メチルクン蒸による果実内褐変のレーザー・ドップラー法による測定

最後に、臭化メチル処理を行い、果実内褐変を発生させた果実をレーザー・ドップラー法により、果肉の物理性の変化を見るとともに非破壊的に判別できるかどうかを検討した。レーザー・ドップラー法はそもそも果実の硬度を非破壊的に測定するために開発された装置であり (Muramatu, 1997, 1999a, b; 桜井ら, 1998; 寺崎ら, 1999; Terasaki ら, 2001a, b, c; 元村ら, 2001)、現在実用化に向けて研究中である。これまで生産現場では、マグネステイラー型硬度計を用いて測定した硬度が収穫時期の判定などに用いられてきた (Westwood, 1977)。しかしこの硬度計による測定は測定者によって異なるなどの欠点も多く (Abbott ら, 1976)、非破壊で果物一個一個の品質評価を行うことが望まれていた。寺崎らはレー

ザー・ドップラー法でリンゴ果肉の弾性率を測定中に、果実内褐変の発生果で第3共鳴が低下する現象を見だしている (寺崎ら, 1999)。本研究では、くん蒸処理した果実内褐変と正常果では、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。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。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。実用場面では、レーザー・ドップラー装置を選果ラインに組み込むことにより、果肉硬度を測定し、さらに果実内褐変を判別することができればこれからのリンゴ販売戦略上有利になるものと期待される。

## Ⅷ 総 合 摘 要

輸出用‘ふじ’の果実では、病害虫防除を目的として臭化メチルクン蒸処理が行われている。臭化メチルクン蒸処理すると、‘ふじ’の果実に褐変などのくん蒸障害が発生することがある。臭化メチルクン蒸障害については1930年代から数多くの報告があり、果皮障害や果実内褐変が起こることが報告されているが、臭化メチルクン蒸障害について生理的な観点から調べた研究はみられない。そこで、臭化メチルクン蒸処理によって発生する果実内褐変についてくん蒸後の密閉度、収穫後の貯蔵期間、処理濃度など様々な角度から発生要因の解明を行なった後、発生の機作について呼吸生理の面から検討し、さらに、果実内褐変果の非破壊的検出の可能性を検討した。

### 1. リンゴ無袋‘ふじ’の臭化メチルクン蒸処理後の包装形態が、容器内空気組成、果実内褐変及びフェノール性物質に及ぼす影響

臭化メチルクン蒸処理後の包装形態の違いによる果実内褐変の発生状況、包装容器内における空気組成及びフェノール性物質の含量を測定し、果実内褐変との関連を検討した。

臭化メチルクン蒸処理したリンゴ果実を、密閉度の高い発泡スチロール箱や発泡スチロールの箱内にポリエチレンフィルムを内装した中に包装すると、酸素濃度には大きな変動は見られなかったが、二酸化炭素濃度が高まり、果実内褐変が発生した。密褐変発生率には、包装形態による差が見られなかったが、くん蒸区が、無処理区に比べて高い傾向であった。果実内褐変は果皮側果肉部より果心側果肉部で進んでおり、くん蒸によりさらに促進されることがわかった。フェノール性物質含量は、果

肉の部位、くん蒸の有無、包装の種類で差が見られなかったが、ポリフェノール含量は、果皮側果肉部が高く、果心側果肉部で低い傾向であった。くん蒸の有無と包装の種類では差が見られなかった。褐変度とポリフェノール含量には負の相関 (相関係数 = -0.48\*) が見られ、褐変の進んだ果肉ではポリフェノール含量が少なくなる傾向が認められた。以上の結果、褐変防止には、輸出用カートンのような通気性のある容器や密閉度の低い包装を用いることが有効であることがわかった。

### 2. リンゴ9品種の臭化メチル処理が、果実の呼吸、エチレン生成、及び果実品質に及ぼす影響

リンゴ9品種 (‘祝’、‘あかね’、‘つがる’、‘世界一’、‘むつ’、‘Delicious’、‘王林’、‘Mellow’及び‘ふじ’) について、臭化メチルクン蒸後の果実を発泡スチロール箱中に密閉した場合の果実内褐変の発生率、呼吸、エチレン生成、果実品質について調査を行った。供試したどの品種でも、酸素濃度は0℃保持期間中も15℃保持期間中もほとんど変化が見られず、ほぼ一定の値を維持していた。二酸化炭素濃度は、どの品種でも0℃保持期間中はほとんど変化がなく、臭化メチルクン蒸区と無処理区の間にも差が認められなかった。15℃処理期間中には臭化メチルクン蒸区でも無処理区でも二酸化炭素濃度は上昇し、臭化メチルクン蒸区では無処理区よりも高い値で推移した。供試したすべての品種で、臭化メチルクン蒸区のエチレン濃度は無処理区より低かった。褐変部位では色彩がやや暗くなり、赤味が増すこと、その度合いが褐変の度合いを表す指標となり得ることを示している。供試品種の中

では、'ふじ'が臭化メチルくん蒸処理によって、果実内褐変が発生しやすい品種であると考えられた。

### 3. リンゴ無袋'ふじ'の臭化メチル処理による果実内褐変の発生と呼吸に及ぼす処理前貯蔵期間の影響

収穫後くん蒸までの貯蔵期間の長短が臭化メチルくん蒸による果実内褐変の発生と、包装容器内空気組成に及ぼす影響を検討した。くん蒸後の温度処理終了時において、酸素濃度には、くん蒸処理区と無処理区に差が認められなかったが、貯蔵期間の長短によって差が見られ、30日間貯蔵果と40日間貯蔵果で低い傾向であった。また、二酸化炭素濃度には、貯蔵期間の長短でもくん蒸の有無でも差が見られなかった。エチレン濃度にも、貯蔵期間の長短とくん蒸の有無で有意な差がなかった。果実内褐変の程度を果実断面中の褐色部分の面積比で見ると、収穫後40日までのくん蒸処理果では、20日後のくん蒸を除いて、20%以上であったが、収穫後50日のくん蒸処理では1%と低い値を示した。果汁の滴定酸度は貯蔵日数が長くなるほど低く、リンゴ酸の減少が顕著であった。有機酸組成ではリンゴ酸の有機酸に占める比率は貯蔵日数が長くなるほど減り、クエン酸の比率が増加した。コハク酸の比率は20日間貯蔵、30日間貯蔵でそれぞれの対照区に比較して高い傾向が見られた。貯蔵容器別では輸出用カートンで貯蔵した果実で抗酸化能が高い傾向であった。また、貯蔵期間別に見ると、10日間貯蔵と50日間貯蔵で高い傾向であった。以上の結果、0℃で50日以上貯蔵した果実に臭化メチルくん蒸を行うことによって、臭化メチルくん蒸による果実内褐変を若干少なくすることができる可能性があると考えられる。

### 4. リンゴ無袋'ふじ'の果実内褐変と有機酸含量に及ぼす臭化メチル処理の影響

リンゴ'ふじ'について臭化メチルくん蒸処理濃度の違いによる果実内褐変の発生への影響を調べた。その結果、

臭化メチル濃度を38g/m<sup>3</sup>、48g/m<sup>3</sup>および58g/m<sup>3</sup>と変えてくん蒸処理した後に通気によって臭化メチルを除去した後、0℃7日間と15℃10日間の密閉貯蔵を連続して行ったところ、果心内褐変がわずかに発生し、密閉容器内の二酸化炭素濃度は臭化メチルのくん蒸処理濃度が高いほど高くなった。果実を入れた密閉容器内に21g/m<sup>3</sup>の臭化メチルを注入し、15℃で10日間貯蔵したところ、すべての果実で褐変が発生した。この結果から、臭化メチルのくん蒸処理濃度に関わらず、処理直後の通気が果実内褐変の軽減に有効であることが明らかになった。容器内の酸素濃度はやや減少したものの、二酸化炭素濃度の上昇が著しかった。また、くん蒸処理によって滴定酸度とリンゴ酸含量が有意に低下した。以上の結果、臭化メチルは呼吸に関わる有機酸代謝に影響を及ぼしていると考えられた。

### 5. リンゴ無袋'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

臭化メチルくん蒸処理の果肉の物理性への影響を解析することを目的とした'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、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、得られた第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褐変果を非破壊的に検出できることが示された。



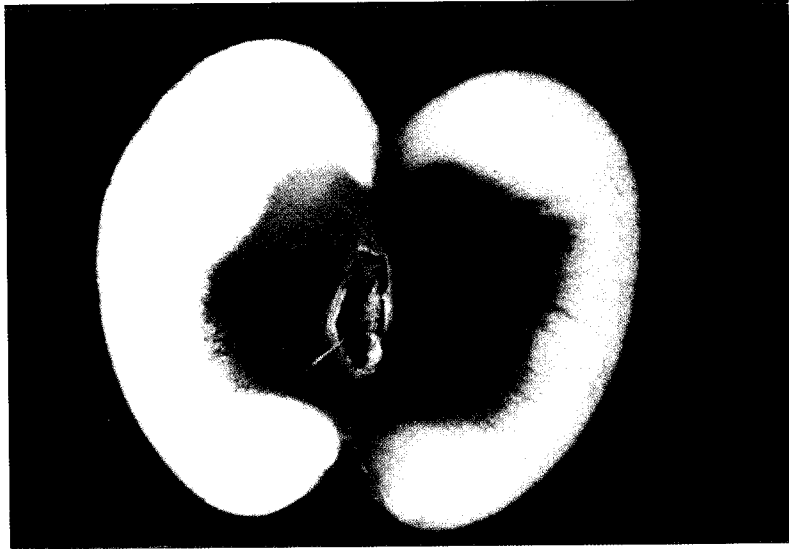
## 引用文献

- Abbott, J. A., A. E. Watada and D. R. Massie. 1976. Effe-gi, Magness-Taylor, Instron fruit pressure testing devices for apples, peaches, and nectarines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101: 698-700.
- Abbott, J. A., 1996. Quality measurement by delayed light emission and fluorescence. P. 24-23. In: G. G. Dull, M. Iwamoto and S. kawano (eds.) . *Nondestructive quality evaluation of horticultural crop.* Saiwai Shobo. Tokyo.
- Abbott, J. A., R. Lu, B. L. Upchurch and R. L. Stroshine. 1997. *Tecnologies for nondestructive quality evaluation of fruits.* Hort. Rev. 20: 1-120.
- 青森県りんご果樹課編. 2002a. 年産別・品種別青森県りんご無袋実施率. 平成14年産りんご流通対策要項. p. 80.
- 青森県りんご果樹課編. 2002b. 果肉褐変の発生しやすい気象条件. りんご果肉褐変対策マニュアル. p. 5-6.
- 青森県りんご果樹課編. 2002c. りんご生産の現状と方向. りんご指導要項. p.1-66.
- 安部凱裕・川上房男. 1980. くん蒸による青果物害虫の殺虫効果と葉害に関する試験. *植防研報*, 16:11-25.
- Biale, J. B. 1964. *Science*, 146:880-888.
- Blunmenklanz, N., and G. Alsboe-Hansen. 1973. New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.* 54:481-489.
- Chapman, P. J. 1940. Effect of methyl bromide on apple maggots in apples. *J. Econ. Entomol.* 33:817.
- Chen, P. 1996. Magnetic resonance sensing of fruit quality. p. 15-23. In: G. G. Dull, M. Iwamoto and S. kawano (eds.) . *Nondestructive quality evaluation of horticultural crop.* Saiwaishobo. Tokyo.
- Cheverry, J. L., M. O. Sy, J. Pouliqueen, and P. Macellin. 1988. Regulation by CO<sub>2</sub> of 1-aminocyclopropane-1-Carboxylic acid conversion to ethylene in climacteric fruits. *Plant Physiol.* 72:535-540.
- Cho, R. K. 1996. Nondestructive quality evaluation of intact fruits and vegetables by near infrared spectroscopy. P. 8-14. In: G. G. Dull, M. Iwamoto and S. Kawano (eds.) . *Nondestructive quality evaluation of horticultural crop.* Saiwai Shobo. Tokyo.
- Claypool, L. L. and H. M. Vines. 1956. Commodity tolerance studies of deciduous fruits to moist heat and fumigants. *Hilgardia* 24: 297-355.
- Drake, S. R., H. R. Moffitt, J. K. Fellman and C. R. Cell. 1988. Apple quality as influenced by fumigation with methyl bromide. *J. Food Sci.* 53 (6) :1710-1712.
- Drake, S. R., H. R. Moffitt, and J. P. Matheis. 1990. Methyl bromide time and temperature of exposure on apple quality. *J. Food Process. Preserve.* 14 (2) :85-92.
- Dubois, M., K. Gilles, A. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Folin, O. and Denis, W., 1915. *J. Biol. Chem.* 22, 305-308.
- 福田博之. 1985. 果実の生理障害. 果実の成熟と貯蔵. 伊庭慶昭・福田博之・垣内典夫・荒木忠治. 252-257. 養賢堂. 東京.
- Frenkel C. and M. E. Patterson. 1973. Effect of carbon dioxide on activity of succinic dehydrogenase in 'Bartlett' pears during cold storage. *HortScience.* 8: 395-396.
- Galleti, G. L., and S. H. Berger. 1987. Effects of methyl bromide on apples intended for export. *Simiente.* 57 (4) :201-206.
- 長谷川美典・山西弘恭・中尾誠司・中島教博・伊庭慶昭. 1999. 果実の内部品質評価装置（光センサー）に関する調査研究（第2報）光センサー導入後の問題点と機械精度. *園学雑*, 68（別1）.339.
- 浜 弘司. 1997. 害虫防除剤の種類と特徴. 212-247. *植物防疫講座*, 第3版. 雑草・農薬・行政編. 日本植物防疫協会. 東京.
- 濱渦康範・上田裕子・伴野潔. 1999. リンゴ・つがる果実の抗酸化能と含有ポリフェノール成分の関係. *園学雑*. 68 (3) :675-682.
- Hulme, A. C. 1956. Carbon dioxide injury and the presence of succinic acid in apples. *Nature* 178:218.
- 城島十三夫. 1994. 種々の遺伝子型トマト系統のカロチン色素の形成と着色特性. *園学雑*, 63（1）:109-114.
- 川上房男・相馬幸博. 1991. 臭化メチル処理されたりんご果実の障害発生要因と障害防止. *植防研報*, 27:41-46.

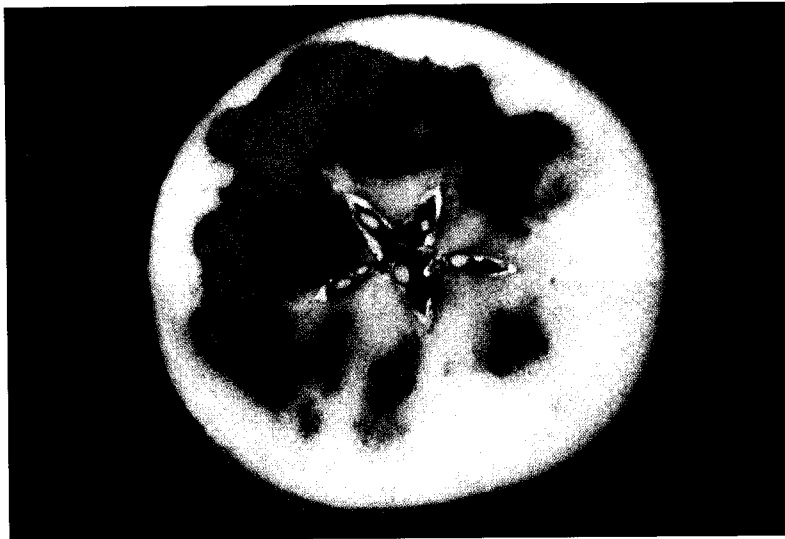
- 川上房男・元島俊治・宮本憲治・相馬幸博・溝渕三必・中村三恵子・三角隆・砂川邦男・空雅雄・赤川敏幸・加藤利之・秋山博志・今村哲夫・田尾正博・金田昌士・杉本俊一郎・米田雅典・加土井仁・勝又肇・永井宏志・佐々木幹了・戸文彦・川島浩三・工藤亜義・長内敬明・斉藤彰. 1994. 対米輸出りんご‘ふじ’の植物検疫処理. 植防研報. 30. 第2部:81~140.
- Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Japan. Hort. Sci.* 61:445-451.
- Kenworthy, H. R. 1944. Injury to Williams apple resulting from fumigation with methyl bromide. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 45:141.
- Kenworthy, H. R. and Gaddis, C. H. 1946. Tolerance of apple varieties to methyl bromide fumigation *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 47:64
- Kerbel E. L., A. A. Kader and R. J. Romani. 1988. Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on glycolysis in intact ‘Bartlett’ pear fruit. *Plant Physiol.* 86:1205-1209.
- Kubo, Y., A. Inaba. and R. Nakamura. 1989. Effects of high CO<sub>2</sub> on respiration in various fruits and vegetables. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 58:731-736.
- Kubo, Y., A. Inaba. and R. Nakamura. 1990. Respiration and C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> production in various harvested crop held in CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 115:975-978.
- 工藤亜義. 1984. 収穫と貯蔵. 201-211. 津川力編著. リンゴ栽培技術. 養賢堂. 東京.
- 工藤亜義. 1990. 我が国のCA貯蔵の現状. 農産物流通技術年報. 135:50-56
- Magness, J. R. and G. F. Taylor. 1925. An improved type of pressure tester for the determination of fruit maturity. *USDA Dept. Circ.* 350.
- Mathooko F. M., Y. Kubo., A. Inaba. and R. Nakamura. 1993. Regulation by carbon dioxide of wound-induced ethylene biosynthesis in tomato pericarp and winter apuash mesocarp tissues. *Postharvest Biol. Technol.* 3:27-38.
- Meheriuk, M., A. P. Gaunce and V. A. Dick. 1990. Response of apple cultivars to fumigation with methyl bromide. *Hort. Sci.* 25 (5) :538-540.
- 三浦洋・荒木忠治. 1988. 果実とその加工. p. 59-63. 建帛社. 東京.
- Michael Kneec. 1973. Effect of controlled atmosphere storage on respiratory metabolism of apple fruit tissue. *J. Sci. Fd. Agric.* 24:1289-1298.
- 三上敏弘・横田清. 1982. リンゴ栽培の実際. p132-134. 農山漁村文化協会. 東京.
- 水野雅史・土田広信・本郷昭三・伊地知武吉・水野進・渡辺一憲. 1991. 打音解析によるメロン果実の熟度判定. 園学雑. 60:83-88.
- 毛利建太郎. 2003. 果物の非破壊品質評価. 岡山大学農学部学術報告. 92. 111-115.
- Monning, A. 1983. Studies on the reaction of krebs cycle enzymes from apple tissue (cv. Cox Orange) to increased levels of CO<sub>2</sub>. *Acta Horticulturae.* 138: 113-119.
- 森武雄・川本登・小田保. 1963. くん蒸による青果物の薬害. 植防研報. 2:51-64.
- Monro, H. A. U. 1969. Manual of fumigation for insect control. *FAO Agr. Stud.* 79:381.
- 元村佳恵・奈良一寛・長内敬明・長尾多実子・桜井直樹・和田直樹・寺崎章二・村山秀樹. 2001. リンゴの非破壊硬度測定へのレーザー・ドップラー法の利用. 園学雑. 70. (別2):380.
- Muramatsu, N., N. Sakurai, N. Wada, R. Yamamoto, T. Takahara, T. Ogata, K. Tanaka, T. Asakura, Y. I. Takano and D. J. Nevins. 1999a. Evaluation of fruit tissue texture and internal disorders by laser Doppler detection. *Postharv. Biol. Technol.* 15:83-88.
- Muramatsu, N., N. Sakurai, R. Yamamoto, K. Tanaka, T. Asakura Y. I. Takano, and D. J. Navins. 1999b. Remote sensing of fruit textural changes with a laser dopplar vibrometer. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125 (1) :120-127.
- Muramatsu, N., N. Sakurai, N. Wada, R. Yamamoto, K. Tanaka, T. Asakura Y. T. Takano, and D. J. Nevins. 1997. Critical comparison of an accelerometer and laser Doppler vibrometer for measuring fruit firmness. *Hort. Tech.* 7:434-438.
- 村田容常. 2001. フェノール類と食品の品質に関する化学的・生化学的研究. 生物活性, 分析法, 酵素的褐変. (総説).

- 日食科工誌, 48 (1) :1-7.
- 村田容常・本間清, 1998. ポリフェノールオキシダーゼと褐変制御 (総説), 日食科工誌, 45 (3) :177-185.
- Murata, M., Noda, I. and Homma, S. 1995b. Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi, 42, 820-826.
- Murata, M., Tsurutani, M., Tomita M., Homma, S., and Kaneko, K. 1995a. Relationship between Apple Ripening and Browning: Changes in Polyphenol Content and Polyphenol Oxidase. J. Agric. And Food Chem. 43 (5) . 1115-1121.
- O'Loughlin, J. B. and J. E. Ireson. 1977. Phytotoxicity of methyl bromide fumigation to a range of apple cultivars. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 17: 853-857.
- 長内敬明・元村佳恵, 2000. リンゴ'ふじ'(無袋)の臭化メチルくん蒸処理後の包装形態が, 容器内空気組成, 果肉褐変及びフェノール性物質に及ぼす影響. 園学要旨, 平12東北支部: 91-92.
- 長内敬明・元村佳恵, 2001. リンゴ'ふじ'(無袋)の臭化メチルくん蒸による褐変果の発生に及ぼす貯蔵期間の影響. 園学雑, 70, (別2) : 368.
- 長内敬明・元村佳恵, 2002. リンゴ'ふじ'(無袋)の臭化メチル処理が果実の呼吸, 内部褐変の発生及び有機酸に及ぼす影響. 園学要旨, 平14東北支部: 63-64.
- 長内敬明・元村佳恵, 2003. リンゴ9品種の臭化メチル処理が果実の呼吸, エチレン生成および果実内褐変の発生に及ぼす影響. 弘大農生科学部学術報, 33-38.
- Phillips, W. R. and H. A. U. Monro. 1936. Methyl bromide injury to apples. J. Econ. Entomol. 32:334
- Ranson, S. L., D. A. Walker and I. D. Clarke. 1957. The inhibition of succinic oxidase by high CO<sub>2</sub> concentrations. Proc. Biochem. Soc. 66: 57.
- Rippon, L. E., G. Singh, A. N. Sproul and W. S. Gilbert. 1982. Methyl bromide fumigation and cold storage for disinfection of Granny Smith apples against Queensland and Mediterranean fruit flies. *Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb.*, 22:116-123.
- 作物分析委員会編, 1975. 栄養診断のための栽培植物測定法, p.422-423. 養賢堂, 東京.
- 桜井直樹・寺崎章二・和田直樹・山本良一, 1998. 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. 園学雑, 67, (別2) : 194.
- 山王丸靖子・片山脩・櫻村芳記・金子勝芳, 1998a. りんごの褐変に及ぼすポリフェノール成分とポリフェノールオキシダーゼ活性の影響. 45 (1) :28-36.
- 山王丸靖子・片山脩・櫻村芳記・金子勝芳, 1998a. りんごの部位別および成熟過程におけるポリフェノール成分とポリフェノールオキシダーゼ活性の変化. 45 (1) :37-43.
- Sanford, K. H. 1962. Fumigation of apples to control the maggot, *Rhagoletis pomonella*. J. Econ. Entomol. 55:724-727
- 篠原和毅, 1990. 食の科学, 151:8-12
- 相馬幸博・砂川邦男・赤川敏幸・三角 隆・中村三恵子・川上房男, 1994. 臭化メチルくん蒸によるりんご果実の障害防止と貯蔵条件. 植防研報, 30:47-56.
- 寺崎章二, 桜井直樹, 和田直樹, 山本良一, 1999. 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.
- Terasaki, S., N. Wada, N. Sakurai, R. Yamamoto, and D. J. Nevins. 2001a. Nondestructive mesurment of kiwifruit ripeness using laser doppler vibrometer. *ASAE* 44 (1) :81-87.
- Terasaki, S., N. Sakurai, N. Wada, T Yamanishi, R. Yamamoto, and D. J. Nevins. 2001b. Analysis of vibration mode of apple tissue using electric speckle pattern interferometry. *ASAE* 44 (6) :1697-1705.
- Terasaki, S., N. Sakurai, R. Yamamoto, N. Wada, and D. J. Nevins. 2001c. Changes in cell wall polysaccharides of kiwifruit and the Visco-elastic properties detected by a laser doppler method. 園学雑, 70 (5) :572-580.
- 津田智美・茶珍和雄・上田悦範, 1999. 輸入フィリピン産'Carabao'マンゴー果実の品質保持に関する研究. 園学雑 68, (3) :669-674.
- 津志田藤二郎, 鈴木雅博, 黒木柁吉, 1994. 各種野菜類の抗酸化性の評価および数種の抗酸化成分の同定. 食科工, 41, 611.
- 梅田重夫・毛利建太郎, 1985. 農産物の光学的特性. 農産物性研究 第2集. 農業機械学会, p. 112-134.
- Westwoods, M. N. 1977. 13 Postharvest storage and maturation value. P. 261-282. Temperate zone pomology. W.

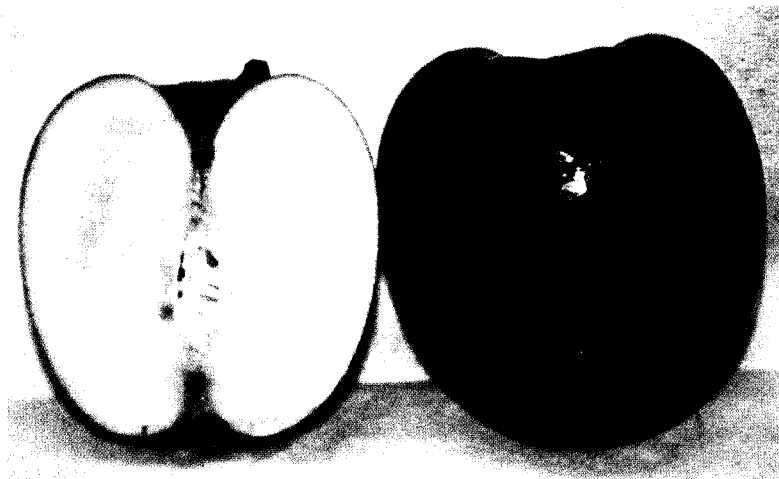
- H. Freeman Co. San Francisco.
- Yamaki, S., Y. Machida, and N. Kakiuchi. 1979. Changes in cell wall polysaccharides and monosaccharides during development and ripening of Japanese pear fruit. *Plant and Cell Physiol.* 20:311-321.
- Yamamoto, H. and S. Haginuma. 1982. Vibrating reed method and nondestructive acoustic impulse response method for measuring textural quality of apple flesh. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 51: 210-218.
- Yamamoto, H. and S. Haginuma. 1984. Dynamic viscoelastic properties and acoustic of Japanese radish (Shogoin) roots. *Rept. Natl. Food Res. Inst.* 44: 36-41.
- 吉川敏一. 1997. フリーラジカル、活性酸素の発生. フリーラジカルの科学. P.43-76. 講談社サイエンティフィック. 東京.
- Young R. E., R. J. Romani and J. B. Biale. 1962. Carbon dioxide effects on fruit respiration. II. Response of avocados, bananas, & lemons. *Plant Physiol.* 37:416-422.
- 浦野 敬. 1998. 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.
- 全農青森経済連編. 1995. りんご生果実の検疫措置の流れ, りんご輸出に関する手引き. p.39-43.



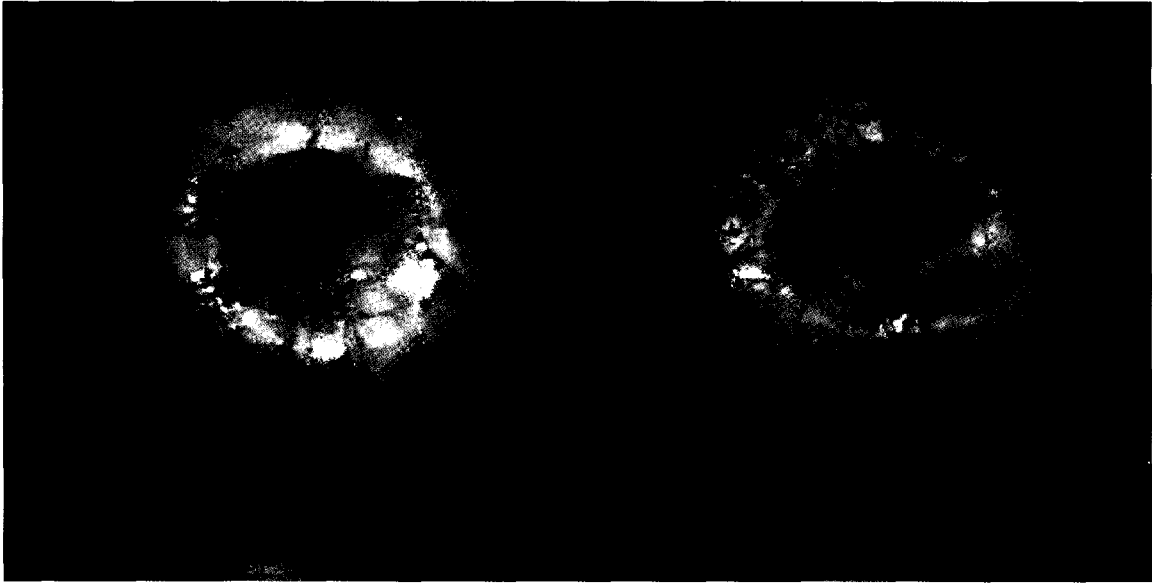
写真一 蜜褐変



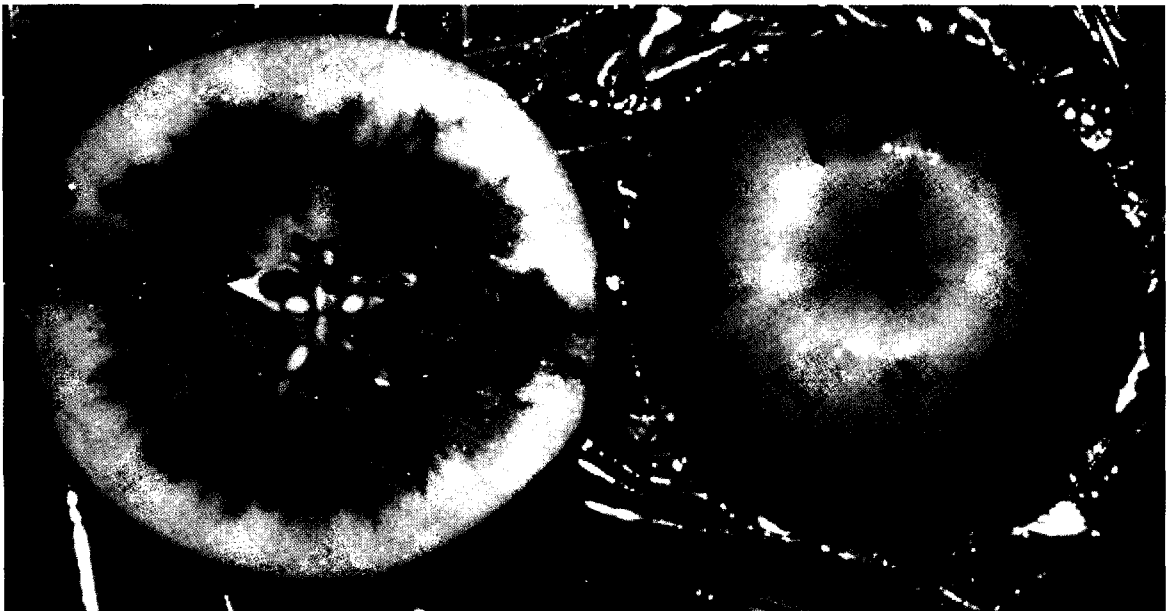
写真二 炭酸ガス障害による褐変



写真三 内部褐変



写真一4 臭化メチルくん蒸による果皮障害(陸奥)



写真一5 臭化メチルくん蒸による果実内褐変(ふじ)

## Studies on Internal Browning Induced by Methyl Bromide Fumigation on Apples

Yoshiaki Osanai

Apple Experiment Station, Aomori Prefectural Agriculture and Forestry Research Center

Key words : internal browning, fumigation, apple, methyl bromide,  
organic acid, ethylene, elasticity of flesh, Laser Doppler method,  
non-destructive, cell wall polysaccharides

### Summary

The fumigation treatment in the methyl bromide is carried out for the purpose of the prevention of disease and insect pest in 'Fuji' fruits for export. When a fumigation is processed with a methyl bromide, disorders of fumigation sometimes occur to 'Fuji' fruits.

It is reported that the disorder of skin and internal browning. Although numerous reports have been made since 1930's, there is little attempt from a physiological view point. Thereon, we examined it about the mechanism of occurrence, after the occurrence factor is clarified from various angles about the internal disorders caused by the methyl bromide fumigation. Furthermore, the possibility of detection of the internal disorder with the non-destructive method or the sorting of the internal disorder examined it.

1. Induction of the physiological disorder of apple 'Fuji' fruit after methyl bromide fumigation was investigated in different packing structures, (A) carton with twelve vents, (B) carton with twelve vents and polyethylene film sheet was used as an inner layer, (C) Styrofoam box, (D) Styrofoam box with polyethylene film sheet was used as an inner layer, (E) Styrofoam box with polyethylene film sheet was used as an inner layer, and ethylene absorbent was placed inside, followed by temperature treatments of 0°C for 2 weeks and 15°C for 7 days. Control fruits were not fumigated and packed in each packing structure.

Percentages of internal browning in each packing structure were 0%, 0%, 10(39)%, 30(78)% and 10(61)%, respectively. No symptom was observed in control fruits of all packing structures. In the closed packages (B, C, D), comparatively severe browning symptom was observed. Water core in fruit decreased during temperature treatment in control fruits, while it remained in the fumigated fruits. Inside of each package, carbon dioxide concentration was highest in (D), comparatively higher in (C), (E), and (B), and lowest in (A), while no difference in the concentration of oxygen was observed. Polyphenol content in fruit skin side fresh was higher than that of fruit core side fresh. Negative correlation was found between the degree of browning and polyphenol content. It was suggested that in closed packages methyl bromide remained in fruit by less evaporation. Thus we see that it is effective to use a carton for exportation (type A) for prevention from internal browning by the methyl bromide fumigation.

2. Nine cultivars ('Iwai', 'Akane', 'Tugaru', 'Sekaiichi', 'Mutsu', 'Delicious', 'Orin', 'Mellow' and 'Fuji') of apple fruit was fumigated with methyl bromide by ordinary method for export of apple fruit, and sealed in styrofoam box for 7days at 0°C and then 8 days at 15°C. In the box included with fumigated fruit, carbon dioxide concentration

was higher and ethylene concentration was lower than that included with unfumigated fruit. Internal browning was observed only in fumigated 'Fuji', and even the fumigated fruits were kept in a sealed box for 15 days in total, it was not appeared in the other cultivars. The reason of the development of internal browning responded to methyl bromide fumigation, varied with cultivars, should be investigated thereafter.

3. We examined the influence that the storage period after the harvest on the air concentration within occurrence and, packing container of the internal browning by the methyl bromide fumigation. Putting it at the time of temperature processing completion the difference was not admitted between the fumigation treatment and control in the oxygen concentration. The difference was seen in the storage period and was a low trend with the storage fruit for 40 days and 30 days. Also, the carbon dioxide concentration the difference was not seen even the presence of the fumigation also in the storage period. As for ethylene concentration, there was not a significant difference with the presence of the storage period and fumigation. It was (eliminate the fumigation of 20 days later) 20% or more in the fumigation treated fruit until 40th after the harvest, when we see the degree of the internal browning in comparison to the area of the brown part in the fruit section. It was shown that proportion of internal browning was 1% and low value in the fumigation treatment of the 50th day. The titratable acidity became low as the storage period becomes long. In an organic acid concentration as the storage period is long, malic acid decreases indeed and increased conversely in citric acid. The higher trend the succinic acid was seen in comparison with the control with storage, 30 days and 20 days before the fumigation. The difference was seen to anti oxidization ability in storage container period and storage period. It is different a storage container and the anti oxidization ability was a high trend with the fruits that stored it with the carton for exportation. It is conceivable that it can decrease the internal browning by the methyl bromide fumigation as much as possible, by giving a methyl bromide fumigation to the fruit that stored it for more than 50 days at 0°C as a result.

4. Unbagged 'Fuji' apple fruits were fumigated with different concentrations (38, 48 and 58g · m<sup>-3</sup>) of methyl bromide (MB) for 2 hrs at 15°C, then aerated for 1 hr. These fruits were then stored at 0°C for 10 days followed by 15°C for 7 days in a sealed styrofoam box. Carbon dioxide concentration in the box containing the fruits fumigated with MB increased during storage. In the fruits that had been fumigated with MB (20.1g · m<sup>-3</sup>) and stored at 15°C for 10 days in the sealed box without aeration, internal browning was observed in all fruits. These results indicated that aeration to reduce internal browning by MB fumigation was important. Carbon dioxide concentration in sealed box containing fruits fumigated with MB increased, but oxygen concentration slightly decreased. It was suggested that the organic acid could be utilized as a respiration substrate in fruits fumigated with MB. Titratable acidity in this fumigated fruits was remarkably lower than that of other fumigated fruits. Concentration of malic acid in these fumigated fruits decreased. These results showed that MB fumigation affected organic acid metabolism in relation to respiration.

5. For the investigation of physical properties of the internal browning affected fruit, un-bagged 'Fuji' apple fruit was sealed in styrofoam 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 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> resonance measured non-destructively by Laser Doppler Vibrometer were lower than non-treated fruit. The elastic index, calculated with the frequency of 2<sup>nd</sup> resonance and fresh weight, total intensity of the vibration of fruit in the period from 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> resonance to 2KHz 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.