

ブルーベリー果実のLIFスペクトル

福地 健一¹, 佐合 智弘¹, 小田 功²

¹木更津工業高等専門学校 基礎学系 (〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1)

²木更津工業高等専門学校 機械工学科 (〒292-0041 千葉県木更津市清見台東 2-11-1)

Laser-Induced Fluorescence Spectra in Blueberry Fruits

Ken'ichi FUKUCHI¹, Tomohiro SAGO¹, and Isao ODA²

¹ National Institute of Technology, Kisarazu College, Natural Science, 2-11-1 Kiyomidai-Higashi, Kisarazu, Chiba, 292-0041

² National Institute of Technology, Kisarazu College, Department of Mechanical Engineering

LIF spectra in blueberry fruits were measured by laser excitation at wavelengths of 405 nm and 532 nm. The ratio of the fluorescence intensity F685/F595 under excitation at 532 nm is considered to be a good index for estimating the anthocyanin content of the blueberry fruits.

Key Words: LIF, Chlorophyll fluorescence, Blueberry, Anthocyanin

1. はじめに

木更津市は千葉県内のブルーベリー主産地として知られている。ブルーベリー果実には抗酸化作用を示すアントシアニン (Ant) 類が豊富に含まれることから、機能性材料として注目されている¹⁾。果実中の Ant 量を非破壊で見積もる方法として、近赤外分光法などが知られている²⁾。本研究では、LIF 法によりブルーベリー果実の成熟度と蛍光スペクトルの関係を調査し、より簡便な手法によって、果実の熟度および Ant 量を推定することが可能であるか検討した。

2. 実験方法

2015年8月にエザワフルーツランド(千葉県木更津市)で採取したブルーベリーラビットアイ (*Vaccinium virgatum*) 系のノピリスの果実を、目視により4段階の熟度(未熟白色:W, 中成熟ピンク色:P, 成熟赤色:R, 完熟濃紺色:D)に分け、それぞれ6~9個を供試実とした。

ブルーレーザー (MLX-J12-405-20, 405 nm, 10 mW, KIKOH) 及び Ant の吸収帯付近であるグリーンレーザー (Civil Laser, 12 mW, 532 nm) を励起光源とした。尚、グリーンレーザー照射時は、中心波長以外の発光を除去するため、バンドパスフィルター (MZ0530, 中心波長 530 nm, 半値幅 10 nm, 朝日分光) を併用した。

供試実の萼あ部を上にして、試料ホルダー (SHA-40R0, シグマ光機) に固定し、各レーザーを実赤道面の同一部位2カ所に照射して、各部のLIFを測定した。蛍光はマルチチャンネル分光器 (PMA-50, ハマホト³⁾) を用い、露光時間 100 ms, スリット幅 100 μ m で測定した。励起光自身を除

去するために、蛍光誘導用光ファイバー入射部の直前に、ブルーレーザー照射時は限界波長 410 nm (L41) と 440 nm (Y44) のロングパスフィルターを設置、グリーンレーザー照射時は、限界透過波長 570 nm のロングパスフィルター (O57, 東芝) を設置した。

各熟度の供試実より、LIF 測定で得られた F685/F595 の値を目安として、それが近い2つのサンプルを1セットにし、1%塩酸メタノール溶液で Ant の超音波抽出 (40℃で10分) を行い、抽出液の 530 nm 付近の吸光度換算値 (単位質量、単位抽出液量あたり) を求めた。

3. 結果および考察

3.1 LIF スペクトル

Fig.1 に熟度毎の平均 LIF スペクトルを励起波長別に示す。両励起波長とも 595 nm 付近のフラボノイド類からの蛍光 (F595) と 685 nm 付近および 740 nm 付近のクロロフィル (Chl) 蛍光 (F685, F740) が観察された。

Chl は果実内部に、Ant は表皮に多く含まれる。表皮中の Ant 量が多いほど、その吸収ピーク波長にあたる 532 nm の励起光は、果実内部に侵入し

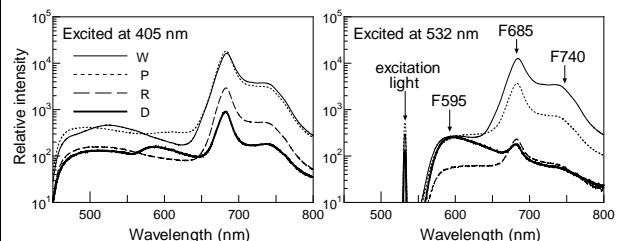


Fig.1 Typical LIF spectra of Blueberry Fruits. W: white fruits, P: pink fruits, R: red fruits and D: dark-blue fruits.

にくくなるため、Chl 蛍光強度 (F685₅₃₂) が小さく観察されると予想される。一方で 405 nm の励起光は、Ant にほとんど吸収されないため、Chl 蛍光強度 (F685₄₀₅) は実内部の Chl 濃度等に依存すると考えられる。そこで、それらの比 F685₅₃₂/F685₄₀₅ を求めれば、各供試実の Chl 濃度等に依存せず、単純に表皮の Ant 量を推定できると考えられる。Fig.2 に結果を示す。

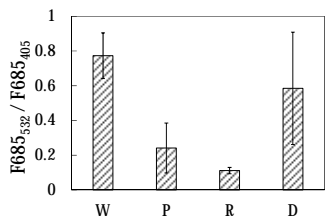


Fig.2 Ratio of F685 under excitation at 532 nm (F685₅₃₂) and that of excitation at 405 nm (F685₄₀₅).

W (未熟) から R (成熟) までは、F685₅₃₂/F685₄₀₅ が単調に減少しており、前述の考えで説明できるが、D (完熟) では一転して増加し、偏差も大きくなった。このことは、完熟した実では、532 nm の光だけでなく、405 nm の光も表皮で吸収されてしまい、図 1 に示したようにともに F685 が小さくなり、F595 が F685 に重なりその影響が無視できなくなったためと考えられる。

3.2 蛍光強度比

蛍光強度比 F740/F685 は、Chl 濃度と相関があることから⁴⁾、各供試実の F740/F685 を比較した。

Fig.3 に示すように、両励起波長ともに、実の熟度に関係なく、F685/F740 は、ほぼ一定の値を示していることから、果実表皮付近の Chl 濃度は、熟度に依存せずほぼ一定であると推測することができる。そうであれば F685 は、Chl に到達する励起光強度すなわち、表皮中の Ant 量のみで決まるはずである。果実の形状は一定でなく、励起光入射軸と蛍光検出系の計測条件が、常に異なるた

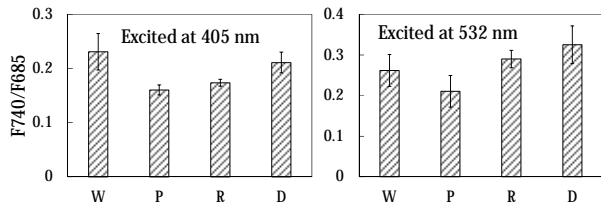


Fig.3 Fluorescence ratio F740/F685.

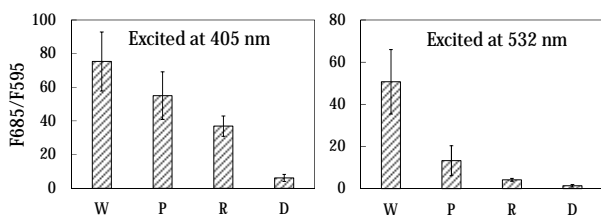


Fig.4 Fluorescence ratio F685/F595.

め、その影響をキャンセルするために、F685 と F595 の比を、供試実毎に比較した (Fig.4)。

405 nm 励起、532 nm 励起ともに成熟度が高いほど、F685/F595 の値は小さくなっている。これは、成熟した実の方が、表皮に多くの Ant を含むため、励起光が吸収され、果実中の Chl まで到達する励起光強度が弱くなるため F685 の値は減少するが、F595 は表皮中のフラボノイドからの発光と考えられ、Ant による励起光吸収の影響を受けず、実の成熟度に依存しないことが理由であると考えられる。

3.3 F685/F595 と相対アントシアニン量

前述の F685/F595 が Ant 指標として有効かを検証するため、塩酸メタノール溶液で超音波抽出を行い、抽出液の 530 nm 付近の吸光度換算値 (単位質量、単位抽出液量あたり) との関係性を調べた。Fig.5 に示す通り、ほぼ白色であった未熟実 W を除くと、吸光度換算値と、532 nm 励起で得られた F685/F595 の対数の間に、非常によい相関 ($R^2=0.892$) があることが分かった。

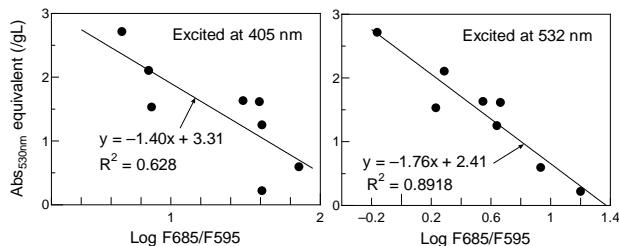


Fig.5 Relationship between Abs equivalent around 530 nm and logarithm of F685/F595.

4. まとめ

ブルーベリー果実に対し 405 nm および 532 nm のレーザー励起による LIF スペクトル計測を行った結果、532 nm 励起での F685/F595 を指標として、アントシアニン量を推定できる可能性があることが分かった。

謝辞

試料を提供して下さった江澤貞雄氏 (エザワフルーツランド代表) に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 入間 順平等: 鹿大農学術報告 63 (2013) p.27-38
- 2) 白 文明: 映像情報メディア学会技術報告 38 (2014) p.33-38
- 3) 嘉数 (大野) 祐子, 福地 健一等: 植物環境工学. 22 (2010) p.100-106
- 4) 高橋 邦夫等: 照明学会誌 79 (1995) p.86-92