

博士學位論文

高 CO₂ 雰囲気貯蔵におけるベリー類果実の
微生物学および生理・生化学的研究

近畿大学大学院
生物理工学研究科生物工学専攻

中 田 有 社

目次

序論	1
第1章 イチゴ	
第1節 高CO ₂ CA貯蔵	
1. 微生物学的品質	4
2. 生理・生化学的品質	11
第2節 高CO ₂ active MAP貯蔵	
1. ガス組成と微生物学的品質	20
2. 生理・生化学的品質	31
第3節 高CO ₂ MAパレット輸送	52
第4節 総合考察	65
第2章 ブドウ	
第1節 高CO ₂ CA貯蔵	
1. 微生物学的品質	68
2. 生理・生化学的品質	72
第2節 高CO ₂ active MAP貯蔵	
1. ガス組成と微生物学的品質	81
2. 生理・生化学的品質	86
第3節 高CO ₂ MAパレット貯蔵	96
第4節 総合考察	105
総括	108
文献	112
謝辞	

序 論

イチゴ、ブルーベリー、ラズベリーおよびブドウなどの果実は、熟すると果皮内側の果肉部の細胞はほぼ液胞で占められ、多量の果汁を含んで軟化することから、ベリー類（液果類または漿果類）果実と称される。ベリー類果実は、輸送および市場流通中に発生するカビによる病害（ポストハーベスト病害）の発生が貯蔵中の主な品質劣化要因となっており、それに伴う経済的損失が引き起こされている¹⁾。ベリー果実類で発生する主なポストハーベスト病害は、イチゴでの灰色カビ病²⁾、黒班病³⁾、軟腐病²⁾、ブルーベリー⁴⁾の灰色カビ病、炭疽病、ラズベリー⁴⁾の炭疽病、ブドウ⁵⁾の灰色カビ病、ばら色カビ病があり、これらの市場流通中の微生物による病害および腐敗を発生させることなく、消費者まで果実を流通させることは、ベリー類の流通における重要な課題である。特にベリー類の中でもイチゴおよびブドウは、国内の生産量が多い主要な果実であり、「農林水産業・地域の活力創造プラン」⁶⁾の中で、新たな需要の創出として、平成 25 年から政府主導で取り組む食品および農畜産物の輸出拡大においても主要な果実となっている⁷⁾。そのため、イチゴおよびブドウにおける貯蔵および流通中のポストハーベスト病害の抑制に取り組むことは、国内での市場流通中の貯蔵期間の延長と青果物輸出の拡大を実現するために重要である。

イチゴおよびブドウのポストハーベスト病害の主要因である灰色カビ病の原因菌は、*Botrytis cinerea* であり、栽培環境中に汚染した *B. cinerea* がその後の輸送および市場流通中に発病し、灰色カビ病として確認される^{2)、5)}。栽培環境における化学物質や他の微生物を用いた農薬は、その発生を抑制させるのに有効であることが報告され⁸⁾、イチゴおよびブドウの栽培環境においてもすでに日常的にその使用が行われている。さらに、収穫後処理として、塩化カルシウム⁹⁾、キトサン¹⁰⁾ 溶液への浸漬および酢酸による燻蒸¹¹⁾ などの化学的処理や UV-C 照射^{12)、13)}、温水への浸漬¹⁴⁾ などの物理的処理もその効果が確認されているが、収穫後の調整作業において洗浄や殺菌工程のない国内のイチゴおよびブドウにおける適用は困難である。そのため、収穫後に市場および流通環境中でのポストハーベスト病害の発生を抑制し、長期貯蔵を実現するより実用的な技術開発が求められている。

市場および流通環境中における *B. cinerea* の制御については、*in vitro* 試験およびイチゴおよびブドウを用いた *in vivo* 試験において、低温に加えての高 CO₂ 雰囲気での

の貯蔵が有効であることが示されている。García-Gimeno ら¹⁵⁾ は、*in vitro* 試験において、培地上に接種した *B. cinerea* は、18℃で 10 日間培養した際には、30%CO₂ 条件下では、空気条件よりもその菌糸体の形成が抑制されることを報告している。一方で、イチゴ上での *B. cinerea* への抑制効果は、Chambroy ら¹⁶⁾ によって、10~20% CO₂ 雰囲気での貯蔵が *B. cinerea* が接種されたイチゴの 10℃で 7 日間貯蔵後の腐敗の発生を抑制することが報告されている。ブドウでの灰色カビ病の発生抑制効果についても、同様に Retamales ら¹⁷⁾ によって、*B. cinerea* が接種されたブドウへの 15% よりも高い CO₂ 濃度での貯蔵がその発生を抑制することが報告されている。

このように高 CO₂ 雰囲気でのイチゴおよびブドウの貯蔵は、*B. cinerea* による灰色カビ病の発生抑制とその後の腐敗の抑制に効果的である。しかし、過度な高 CO₂ 雰囲気は、貯蔵中の果実に生理・生化学的な変化をもたらすことが明らかになっている。イチゴでは、20% よりも高い CO₂ 濃度では、0℃または 5℃で 10 日間の貯蔵後に果実表面が黒色化する高 CO₂ 障害の発生を引き起こし^{18)、19)}、イチゴ果実の表面色に影響を及ぼすアントシアニンの生成^{20~22)}、果実の pH^{20~22)} および果実硬度^{18)、23)} にも影響を及ぼすことが報告されている。一方で、ブドウに対する高 CO₂ 雰囲気による貯蔵の影響は、15% よりも高い CO₂ 濃度での穂軸の褐変^{24)、25)} や 20% よりも高い CO₂ 濃度でのオフフレーバーの発生とエタノールの蓄積²⁶⁾ による品質低下が報告されている。

しかし、これらの高 CO₂ 雰囲気がベリー類の品質に及ぼす影響は、品種や収穫熟度によって異なることがイチゴ^{27~29)} およびブドウ^{24)、25)} で確認されており、他の国とは異なる品質を有する国産品種においてもその影響が同様に異なることが考えられる。また、高 CO₂ 雰囲気の影響をイチゴおよびブドウの微生物学的品質と生理・生化学的品質の両面から詳細に検討した研究は少なく、高 CO₂ による障害や品質低下を発生させることなく、微生物学的品質を維持することができる最適な CO₂ 濃度を確定することが重要である。

青果物の貯蔵中のガス組成を制御する主な鮮度保持技術は、設備を用いて、強制的に作製したガス環境下での貯蔵を行う Controlled Atmosphere (CA) 貯蔵と青果物をフィルム密封することで、貯蔵中の青果物の呼吸量とフィルムの透過性のバランスから最適なガス組成となるように調整する Modified Atmosphere Packaging (MAP) 貯

蔵がある³⁰⁾。CA貯蔵は、専用の施設が必要であることから、国内での商業的な利用は、リンゴやニンニクのような一部青果物に限られ、日本の種々の青果物におけるCA研究は最適なガス組成を検討する研究手段として利用されることが多い。一方で、MAP貯蔵は、より安価での実現が可能であるため、様々な青果物で実用化されており、従来から使用される青果物の呼吸による受動的なCO₂ガスの蓄積によるpassive MAP貯蔵とフィルムの密封前に最適なガスを充填するactive MAP貯蔵がある³⁰⁾。active MAP貯蔵は、充填の追加のコストは必要であるが、フィルム内のガス濃度が平衡状態になるまで時間を要するpassive MAPに比べて、貯蔵開始時から高CO₂による影響を得ることが可能である。

そこで本研究では、高CO₂雰囲気での貯蔵が微生物学および生理・生化学的にイチゴおよびブドウに及ぼす影響を明らかにすることを目的に、第1章ではイチゴ、第2章ではブドウを対象として、CA貯蔵による高CO₂雰囲気がイチゴおよびブドウの品質に及ぼす影響をそれぞれ検討し、最適なCO₂濃度の決定を行った。続いて、その結果を基に作製した高CO₂ active MAP条件での国内流通を想定した個包装でのMAP貯蔵および海外輸出を想定したパレット単位での包装が可能なMAパレットのそれぞれの適用が、イチゴおよびブドウの貯蔵中の品質に及ぼす影響を貯蔵後の一般消費者による消費を想定したフィルム開封後の品質に与える影響までを考慮して検討を行った。

第1章 イチゴ

第1節 高CO₂ CA貯蔵

1. 微生物学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

2017年4月12日に収穫した岐阜県産イチゴ‘美濃娘’（JA 岐阜）を45パック購入し、10℃で冷蔵輸送した。冷蔵輸送後の4月13日に外観の痛みや熟度から選別し、別途準備したプラスチックパックに8個を1パックとして入れ、それを39パック作製し、供試材料とした。供試したイチゴの1個の平均重量は、 22.1 ± 0.8 gであり、1パック（8個入り）当たりの果実の平均重量は、 183 ± 1.9 gであった。

(2) 高CO₂ CA貯蔵

高CO₂ CA貯蔵は作成したイチゴパックを7L容のガラスデシケーターに入れ、20 ml/minの流速で空気または、20%、30%および40%CO₂濃度（バランス：空気）の雰囲気連続通気しながら、5℃で10日間貯蔵した。イチゴの乾燥防止のため、ガラスデシケーター内には、蒸留水を5 ml入れたプラスチックビーカーを入れた。各処理区のガラスデシケーター内には、外観分析用に3パック、貯蔵5および10日目時の分析用に各3パックの計9パックを用意し、1パックを1反復として、3反復の分析を実施した。また、外観分析用のパックについては、5℃で10日間の貯蔵後に、空気環境下に10℃で3日間貯蔵し、その後の外観についても評価した。

(3) 一般生菌数および真菌数の測定

ガク片付きのイチゴ果実2個を滅菌生理食塩水（NaCl 0.85%）200mlに入れ、マグネットスターラーを用いて、1分間攪拌し、懸濁液とした。一般生菌数の測定は、この懸濁液を1枚のシャーレに出現するコロニー数が30から300になるよう適宜連続希釈し、得られた菌液を各シャーレに1mlずつ加え、標準寒天培地（日水製薬株式会社製）を約20mlずつ分注後、混釈し、凝固させた。真菌数の測定は、ポテトデキストロース寒天培地（日水製薬株式会社製）にクロラムフェニコール（ナカライテスク株式会社製）を100mg/Lを加えた培地をシャーレに約20ml分注し、凝固させた培地

に1枚のシャーレに出現するコロニーが10から100になるように適宜連続希釈した菌液を0.1ml加え、コンラージ棒を用いて培地表面に塗布した。菌液が混釈および塗布された各シャーレは、パラフィルムでシーリングし、標準寒天培地では37℃で48±3時間、ポテトデキストロース寒天培地では25℃で72±3時間培養した。培養後に出現したコロニー数をカウントし、1g当たりのイチゴ表面から検出された菌数として対数値で示した。

(4) カビの発生スコア

外観のカビの発生スコアを0から3の4段階で評価した。カビの発生スコアの評価基準は、0＝カビの発生なし、1＝わずかに発生（パック全体でのカビの占める割合：<10%）、2＝発生（10～30%）、3＝ひどく発生（<30%）で1パックごとに評価し、3パックの平均値を示した（表1-1）。また、カビの発生スコアの評価における商品限界値は、スコア1とした。

(5) カビの *in vitro* 試験

イチゴを用いたCA貯蔵での試験において、カビの発生がほぼ確認されなかったことから、別途イチゴを空気環境下で10℃貯蔵し、図1-1のとおりを目視で確認されたカビ3種を単離、同定後に高CO₂CA雰囲気における菌糸体の形成抑制の評価試験に供試した。

i) 真菌種の同定

(i) イチゴのカビ発生部位から検出された糸状菌の単離

貯蔵中のイチゴ果実に発生したカビを白金耳を用いて釣菌し、ポテトデキストロース寒天培地上に接種し、25℃で72時間培養した。培養後のシャーレからイチゴ表面で確認されたカビの形状と同様のコロニーを釣菌し、新たに準備したポテトデキストロース寒天培地に接種し、25℃で72時間培養することで単離した。イチゴ表面から形状の違う3種の糸状菌の単離を行った。

(ii) ゲノムDNAの抽出

形成したシングルコロニーをイノキュレーティンググループで釣菌し、100μlのPrepman™ Ultra Sample Preparation Reagent（Applied Biosystems社製）に懸濁した。懸濁されたサンプルをサーマルサイクラー（Applied Biosystems社製：2720 Thermal Cycler）により100℃で10分間加熱した。加熱後、16,000×g、20℃、3

分の条件で遠心分離を行い、上澄みを回収し、これをゲノム DNA 抽出液とした。

(iii) D2 LSU rDNA 領域の PCR 増幅

1 μ L の鋳型 DNA を 0.5 μ L RNAse と 49 μ L 滅菌超純水の混合液で希釈し、37°C で 30 分間反応させた。真菌の LSU rDNA D2 ドメイン領域の増幅には、ユニバーサルプライマーとして、0308F および 630R (TaKaRa 社製) を用いて、Speed STARTM HS DNA Polymerase (TaKaRa 社製 : 250Units) により行った。反応液は、ゲノム DNA 抽出液 1 μ l に対し、Speed STARTM HS DNA Polymerase (5 units/ml) 0.1 μ l、各プライマー (4 pmol/ μ l) 0.25 μ l、dNTP Mixture (2.5mM each) 0.625 μ l、10 \times FastBuffer I (30mMMg²⁺plus) 0.625 μ l および滅菌超純水 4.15 μ l を混合し作製した。反応液 6 μ l とゲノム DNA 抽出液 1 μ l を混合し、サーマルサイクラーにより 94°C で 1 分、95°C で 5 秒、65°C で 20 秒の条件で 30 サイクルの PCR 反応を行い、D2 LSU rDNA 領域の上流 500bp を増幅させた。PCR 後のサンプルは、電気泳動装置 (TOYOBO 社製 : Gelmete2000) を用いて、0.8%アガロースゲルで 100V、20 分間泳動を行い、マーカーは λ HindIII digest (TaKaRa 社製) を使用した。泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、紫外線下でゲノム DNA の増幅を確認した。

(iv) 塩基配列の決定

DNA の精製のため、PCR サンプル 1 μ l に illustraTMEXOSTAR (GE Healthcare 社製) 0.8 μ l を氷上で混合し、サーマルサイクラーを用いて、37°C で 15 分および 80°C で 15 分間加熱した。精製後、D2LSU rDNA Fungal Sequencing Kits (Applied Biosystems 社製) を使用し、サーマルサイクラーを用いて、96°C で 10 秒、50°C で 5 秒および 60°C で 4 分の反応を 25 サイクル行うことによりサイクルシーケンス反応させた。反応後のサンプルをエタノール沈殿により DNA 精製し、氷上で Hi-DiTM Formamide (Applied Biosystems 社製) 20 μ l に溶解した。溶解されたサンプルを室温で 5 分間放置したのち、サーマルサイクラーにより 95°C で 3 分間加熱した。加熱後、直ちに氷上で 5 分間冷却したのち、シーケンサー (Applied Biosystems 社製 : ABIPRISM310 Genetic Analyzer) により塩基配列の決定を行った。

(v) ホモロジー検索による真菌同定

MicroSeq システム (Applied Biosystems 社製 : MicroSeq[®] ID Analysis v2.0) のホモロジー検索を行い、データベースとの相同性が 80%以上の真菌を結果として用い

た。

ii) 高 CO₂ 雰囲気における菌糸体の形成抑制評価

供試菌株を前培養として、ポテトデキストロース寒天培地に植菌し、25℃で5日間培養した。前培養したシャーレの培地を菌体ごと直径4 mmのコルクボーラーでくり抜き、新たに準備したポテトデキストロース寒天培地に培地ごと植菌した。植菌した培地は、空気または10%、20%および30%CO₂濃度（バランス：空気）の雰囲気を連続通気しながら、1℃または5℃で10日間培養し、5および10日後にその菌糸体の直径の測定を行い、高CO₂雰囲気による抑制効果を評価した。また、10日間の培養後に空気下にて10℃・3日間培養し、その後の菌糸体の直径についても測定を行い、その後の空気環境下での影響についても評価した。

(6) 統計分析

in vivo 試験における一般生菌数、真菌数、カビの発生スコアおよび *in vitro* 試験における菌糸体の直径の各項目における処理区間の比較は、SASシステム(9.4: SAS社製)を用いて、ANOVAによる分散分析を行い、各処理区の平均値をTukeyによる多重比較により5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

5℃で10日間の高CO₂ CA貯蔵中にイチゴから検出された一般生菌数および真菌数の結果を図1-2に示した。貯蔵開始時のイチゴから検出された一般生菌数は、 $3.3 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ であった。これを高CO₂ CA貯蔵により5日間貯蔵すると、空気区では $2.8 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ であったのに対して、20%、30%および40%CO₂区では、それぞれ 3.1 ± 0.2 、 3.4 ± 0.3 および $3.5 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ であり、すべての処理区間で有意な差は、認められなかった。しかし、貯蔵10日目では、空気区の一般生菌数が貯蔵開始時の菌数よりも低い $2.6 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ を示し、30%および40%CO₂区の 4.0 ± 0.3 および $3.5 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ よりも低い値を示した。一般的に高CO₂条件でのCA貯蔵は、一般生菌数の増殖を抑制するとされており、Izumi³¹⁾は、10%以上の高CO₂雰囲気ではカット野菜や果実上における中温性細菌や低温性細菌の増殖を抑制することをまとめている。本試験の結果では、貯蔵10日目に空気区の一般生菌数が30%および40%CO₂区よりも低い値を示したが、これは空気区の菌数が貯蔵開始時よりも低い値となったため、後述するように空気区の真菌数の貯蔵中の増殖による菌の拮抗作用が影響したのかもしれない。

高CO₂ CA貯蔵中のイチゴから検出された真菌数は、貯蔵開始時で $4.2 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ であり、空気区ではその後の貯蔵中に増加し、貯蔵10日目には、 $4.9 \pm 0.1 \log \text{CFU/g}$ に達した。一方で、20%、30%および40%CO₂区の貯蔵中の真菌数の増加は、認められず、貯蔵10日目においても、それぞれ 3.9 ± 0.0 、 3.9 ± 0.0 および $3.8 \pm 0.0 \log \text{CFU/g}$ と真菌に対する増殖抑制効果が確認された。また、この結果と同様に外観におけるカビの発生スコアの結果についても空気区では、貯蔵5日目からカビの発生が確認されたのに対して、20%、30%および40%CO₂区では貯蔵期間を通して、カビの発生が確認されず、カビの発生の抑制効果が確認された(図1-3)。高CO₂雰囲気によるイチゴの灰色カビ病に対する抑制効果は、Chambroyら¹⁶⁾やNielsenら²⁹⁾、Wszelakiら³²⁾など多くの報告がされており、本試験で供試した国産のイチゴ‘美濃娘’においても20%以上のCO₂雰囲気は、カビの発生抑制に有効であった。

高CO₂雰囲気がイチゴで発生したカビの増殖に及ぼす影響をより明確に確認するために *in vitro* 試験として、イチゴでのカビの発生に有効であった最低濃度である20%CO₂を基準に10%、20%および30%CO₂雰囲気でのイチゴでのカビ発生部位か

ら単離した菌株の菌糸体の成長に及ぼす影響を評価した。培養温度は、1℃培養 10 日から 10℃培養 3 日（図 1 - 4）および 5℃培養 10 日から 10℃培養 3 日（図 1 - 5）とした。

イチゴ 10℃貯蔵中に発生したカビから単離した 3 菌株の菌種は、それぞれ *Botrytis cinerea*、*Alternaria alternata* および *Penicillium olsonii* であった。灰色カビ病の原因菌の *B. cinerea* は、1℃培養中では、培養 5 および 10 日目ともに、高 CO₂ 雰囲気での培養に比べて空気区の菌糸体の形成は顕著であり、高 CO₂ 雰囲気内では 10%CO₂ 区よりも 20 および 30%CO₂ 区の方がより菌糸体の形成を抑制した。その後、空気環境下での 10℃での培養は、20%および 30%CO₂ 区が空気区および 10%CO₂ 区よりも菌糸体の形成は遅く、菌糸体の形成抑制が引き続き確認された。また、5℃培養中においても菌糸体の形成速度は早い傾向にあったが、処理区による傾向は 1℃培養と同様であった。イチゴの黒斑病の原因菌である *A. alternata* は、*B. cinerea* に比べて菌糸体の成長の速度は、遅い傾向が認められ、1℃培養中では、培養 5 日目まで顕著な菌糸体形成が確認されなかったが、その後の空気環境下での 10℃・3 日間の培養後では、空気区に比べて、高 CO₂ 雰囲気での培養は菌糸体形成が抑制された。またその際の高 CO₂ 雰囲気内での比較では、10%CO₂ 区に比べて、30%CO₂ 区の菌糸体形成の顕著な抑制が確認されたが、20%CO₂ 区とは有意な差は確認されなかった。5℃での培養の結果においても高 CO₂ 雰囲気による菌糸体形成の抑制が確認され、その傾向は、空気環境下での 10℃培養中でも維持された。植物病原菌の *Penicillium* 属の *Penicillium olsonii* は、*B. cinerea* や *A. alternata* に比べてさらに 1 および 5℃の低温環境下での成長速度は遅く、菌糸体の直径は 6 mm 以下に止まった。高 CO₂ 雰囲気は、空気区に比べて菌糸体形成を抑制したが、その程度は他の 2 菌株よりも小さかった。微生物に対する高 CO₂ 雰囲気の直接的な影響は、*in vitro* 試験で、本試験の結果と同様に García-Gimeno ら¹⁵⁾ によって、培地上に接種した *B. cinerea* は、18℃で 10 日間培養した際には、30%CO₂ 条件下では、空気条件よりもその菌糸体の形成が抑制されることを報告されている。Hoogerwerf ら³³⁾ もまた *B. cinerea* の 20%CO₂ 条件下での 10℃での培養は、空気条件下よりもその菌糸体の形成を遅らせることを報告している。微生物に対する高 CO₂ 雰囲気が与える影響は、細胞内の pH の低下により、細胞膜の代謝抑制、細胞内の酵素活性の低下やタンパク質の物理化学的性質の変化を

引き起こし、微生物の誘導期の延長や対数増殖期の増殖割合の低下が起こるとされている³⁴⁾。本試験の *in vitro* 試験においても高 CO₂ 雰囲気による直接的なカビの菌糸体の形成抑制効果が確認され、その濃度は、イチゴの高 CO₂ CA 貯蔵の結果と同様に 20%以上が有効であることが明らかとなった。

2. 生理・生化学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

イチゴは、微生物学的品質測定のため、空気および高 CO₂ CA 貯蔵（10%、20% および 30% CO₂）されたイチゴ‘美濃娘’を生理・生化学的品質においても供試した。

(2) 測定項目および方法

i) 外観評価

生理・生化学的品質における外観評価について果肉色の黒変、果肉表面の傷害およびガク片の褐変をそれぞれ0から3の4段階でパックごとにスコア評価した。それぞれの外観評価は、表1-1を基準に評価を行い、イチゴ1パックを1反復として、3反復の平均値を結果に示した。また、この3項目については、スコア2を商品限界値として定めた。

ii) 重量損失

貯蔵前後のパック重量を測定し、貯蔵開始時からの減少割合を重量損失として算出し、%単位で示した。結果については、3パックの平均値を示した。

iii) 果実硬度

果実硬度は、イチゴ果実1個につき果肉部の側面1か所とその側面から90°回転させた別の側面の計2か所の測定を果実硬度計（藤原製作所製：KM-1）を用いて行い、1反復につき3個の分析を行った。結果については、3反復で9個18か所の測定値の平均値をkg単位で示した。

iv) L*値およびC*値

果皮色の分析として、L*値（明度）およびC*値（彩度）の分析をハンディカラーメーター（日本電色工業製：NR12-A）を用いて分析し、1個につき果肉の側面1か所とそこから90°回転させた別の側面の計2か所を分析した。1反復につき3個を分析し、結果については、3反復で9個18か所の測定値の平均値をそれぞれ示した。

(3) 統計分析

生理・生化学的品質に関する各測定項目における処理区間の比較は、1. 微生物学的品質と同様にANOVAによる分散分析および各処理区の平均値をTukeyによる多重比較により5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

高 CO₂ CA 貯蔵がイチゴの生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価するため、高 CO₂ CA 貯蔵中のイチゴの外観評価として、果肉の黒変、果肉の傷害およびガク片の褐変の進行をそれぞれ評価した。果肉の黒変の発生は、30%および 40%CO₂ 区では貯蔵 5 日目から確認され、貯蔵 10 日目にはほぼ商品限界に達した (図 1-6 A および D)。それに比べて空気区および 20%CO₂ 区では、貯蔵 10 日目までのその発生は確認されず、貯蔵 10 日目についてもスコア 1 以下であった。また、その後の空気環境下での 10°C での貯蔵後にも空気区および 20%CO₂ 区については、商品限界に達することはなかった。Ke ら¹⁸⁾ は、0 または 5°C 下の 50% および 80% の CO₂ 雰囲気での 10 日間の貯蔵を行うことで高 CO₂ 障害として、果肉の黒変を引き起こすことを報告している。また、Gil ら²⁰⁾ は、5°C での 20% および 40%CO₂ 雰囲気では、貯蔵中のアントシアニンの生成抑制および果実中の pH の上昇が引き起こされ、それに伴う退色が引き起こされると報告している。本試験における果肉色の黒変は、過度な高 CO₂ 雰囲気での貯蔵による高 CO₂ 障害が原因であると考えられ、20% よりも高い CO₂ 濃度の雰囲気での貯蔵は避けるべきであると考えられた。

高 CO₂ CA 貯蔵中の果肉の傷害の進行は、すべての処理区でその進行が確認され、処理区間に有意な差は認められなかった (図 1-6 B)。一方で、ガク片の褐変の進行は、30% および 40%CO₂ 区の進行が空気区および 20%CO₂ 区に比べて顕著であり、貯蔵 10 日目には、30% および 40%CO₂ 区では商品限界に達した (図 1-6 C)。その後の空気環境下での 10°C・3 日間の貯蔵後においては、すべての処理区に有意な差は認められなかったが、果肉の黒変と同様に、高 CO₂ 雰囲気での貯蔵時には、ガク片の褐変にも留意する必要がある。

高 CO₂ CA 貯蔵中のイチゴの重量損失および果実硬度の結果を図 1-7 に示した。高 CO₂ CA 貯蔵中のイチゴの重量損失の進行は、貯蔵期間を通して顕著に確認されず、貯蔵 10 日目においてもすべての処理区で 0.5% よりも低い値であった。青果物での重量損失は、3 から 6% に達すると商品限界に達することが報告されており³⁵⁾、本試験の結果については、それに比べて非常に低い値であった。果実硬度については、すべての処理区で貯蔵 5 日目まで減少は確認されず、その後の貯蔵 10 日目では、40%CO₂ 区を除く 20% および 30%CO₂ 区の高 CO₂ 雰囲気での貯蔵では、空気区よりも果実硬

度を維持した。高 CO₂ 雰囲気でのイチゴの貯蔵は、多くの文献で果実硬度の維持または貯蔵中に高くなることが報告されており^{18)、23)、27)、36)、37)}、近年では Bang ら³⁸⁾ によって、トランスクリプトーム解析により、細胞壁分解酵素をコードする遺伝子の発現レベルが 30%CO₂ での処理に応答して減少することが明らかにされている。また、果実硬度が高く保たれることによって、カビの発生を抑制することも報告されており³⁸⁾、本試験の微生物解析の結果と符合した。一方で、40%CO₂ 区で果実硬度の低下が確認されたことについては、Gil ら²⁰⁾ によって、40%CO₂ 雰囲気での 5℃で 10 日間貯蔵した場合に、本試験の 40%CO₂ 区と同様に果実硬度の維持が行われなかったとの報告しており、40%CO₂ 雰囲気による特異的な影響なのかどうかについては、更なる検討が必要である。

高 CO₂ CA 貯蔵がイチゴの果肉部の色調に及ぼす影響を評価するため、明度を示す L*値および彩度を示す C*値の分析を行った (図 1-8)。貯蔵中の L*値は、貯蔵期間を通して一定の影響は確認されず、処理区による影響についても一定の傾向は認められなかった。一方で、貯蔵中の C*値は、貯蔵期間を通して、すべての処理区で減少傾向を示し、貯蔵 10 日目には、外観評価で黒変の発生が確認された 40%CO₂ 区が他の処理区よりも低い値を示したが、同様に黒変の進行が確認された 30%CO₂ 区では、空気区および 20%CO₂ 区との間に有意な差は見られなかった。

以上より高 CO₂ CA 貯蔵は、すでに上述した微生物学的品質においては、20%以上の CO₂ 濃度による雰囲気での貯蔵がカビの発生抑制に有効であったが、生理・生化学的品質を見ると、30%を超える CO₂ 濃度での貯蔵は、果肉色の黒変の発生およびガク片の褐変が発生するため、20%CO₂ が最適な濃度であることが明らかになった。続く第 2 節からは、この結果を基に作製した高 CO₂ active MAP 条件での国内流通を想定した個包装での MAP 貯蔵がイチゴの品質に及ぼす影響を評価することとした。

表 1-1 イチゴの外観評価のスコア指標

項目	スコア			
	0	1	2	3
カビの発生 ^a	0%	0~15%	15~30%	>30%
ガク片の褐変	緑	やや黄	黄色	茶色
果肉の傷み	発生なし	わずかに発生	発生	顕著に発生
果肉の黒変	発生なし	わずかに発生	発生	顕著に発生

a : 1パックに占めるカビ発生果実の割合



図 1-1 . イチゴを10℃貯蔵中に確認されたカビ発生部位とそこから釣菌されたカビ

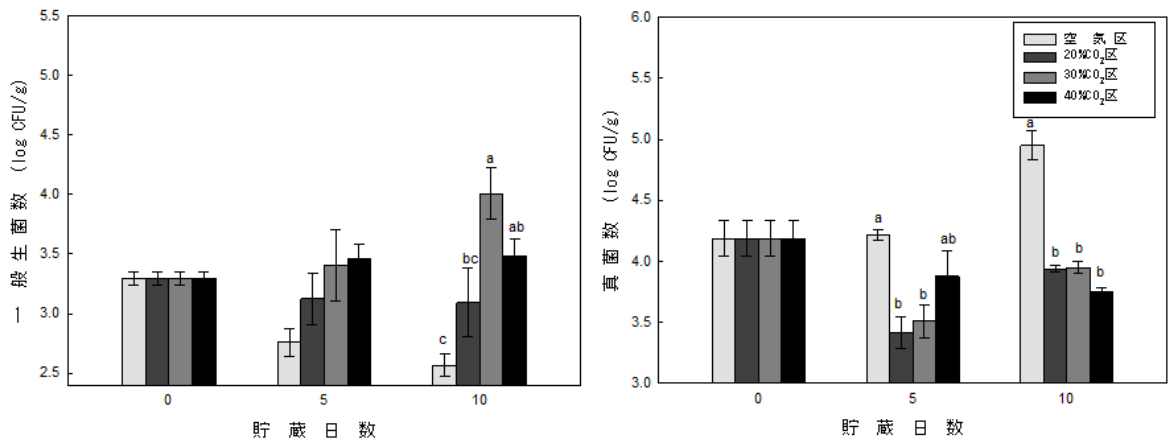


図1-2. 5°Cで10日間の高CO₂ CA貯蔵（20%、30%および40%CO₂）中にイチゴ‘美濃娘’から検出された一般生菌数（左）および真菌数（右）

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

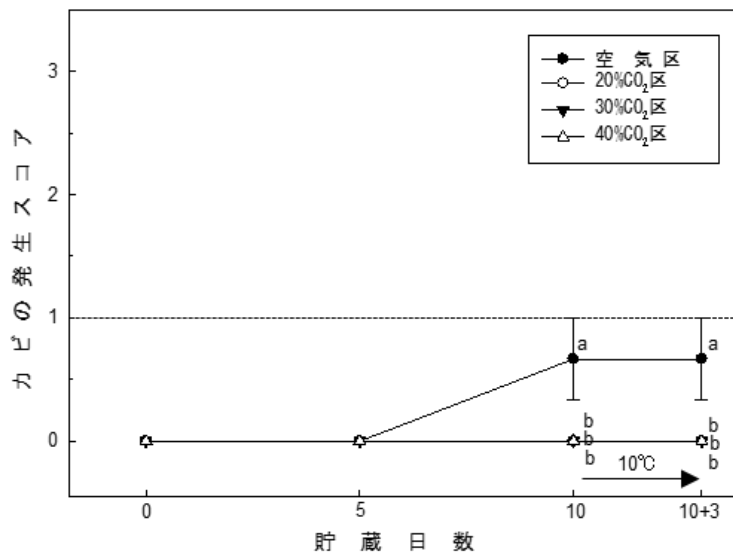


図1-3. 5°Cで10日間高CO₂ CA貯蔵（20%、30%および40%CO₂）した後、空気環境下で10°C・3日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’のカビの発生スコア

異なるアルファベットは、同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

破線：商品限界値を示す

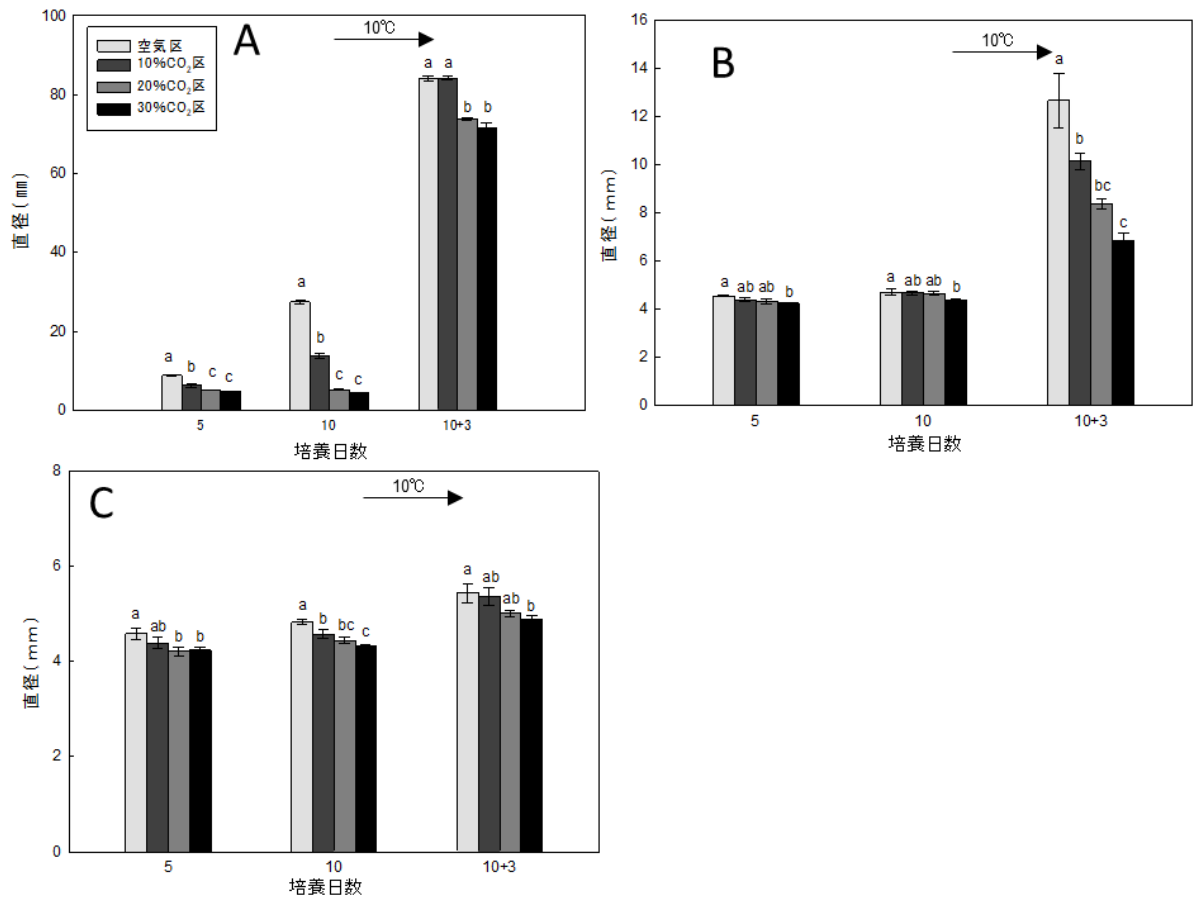


図1-4. 1°Cで10日間高CO₂ CA雰囲気(10%、20%および30%CO₂)で培養した後、空気環境下で10°C・3日間培養した *Botrytis cinerea* (A)、*Alternaria alternate* (B) および *Penicillium olsonii* (C) の菌糸体の直径

菌株ごとの異なるアルファベットは、同一培養日における処理区間の5%水準における有意差を示す

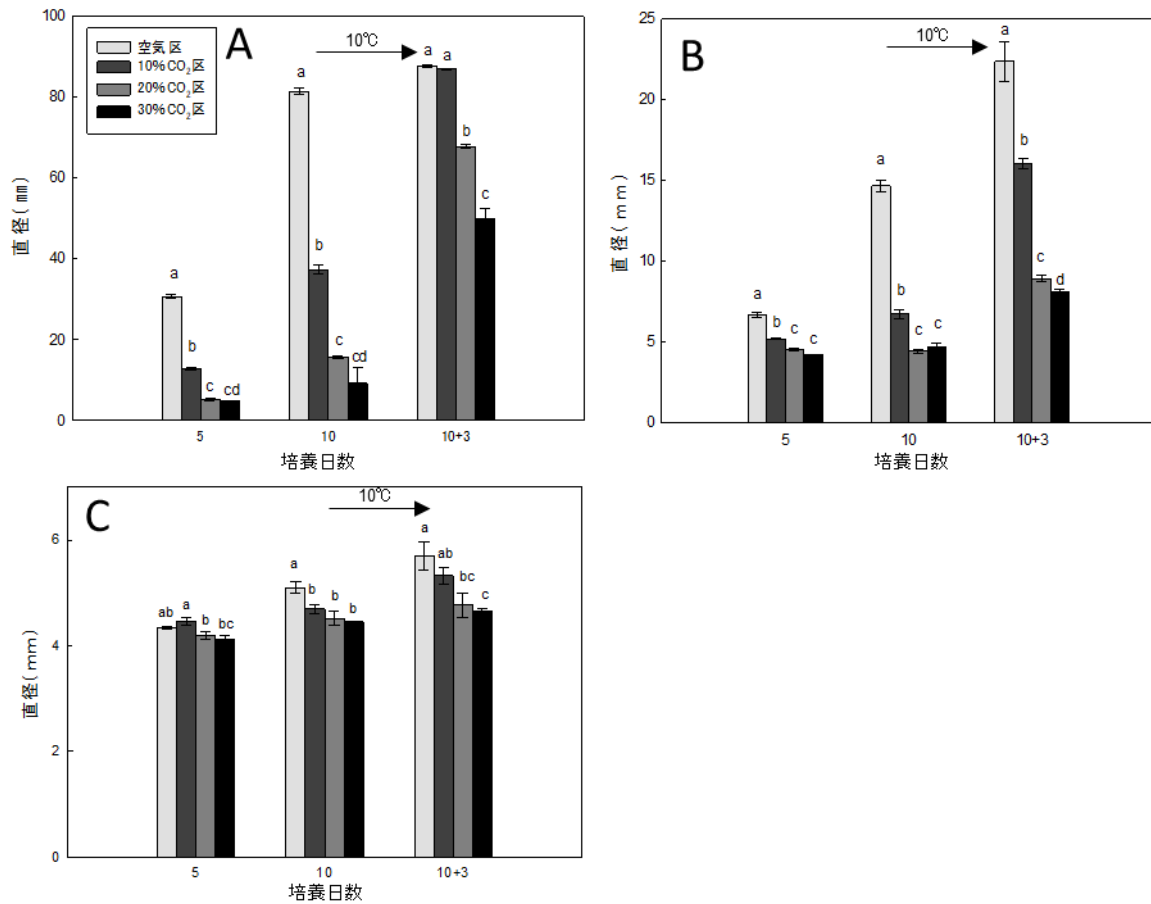


図1-5. 5℃で10日間高CO₂ CA雰囲気(10%、20%および30%CO₂)で培養した後、空気環境下で10℃・3日間培養した *Botrytis cinerea* (A)、*Alternaria alternata* (B) および *Penicillium olsonii* (C) の菌糸体の直径

菌株ごとの異なるアルファベットは、同一培養日における処理区間の5%水準における有意差を示す

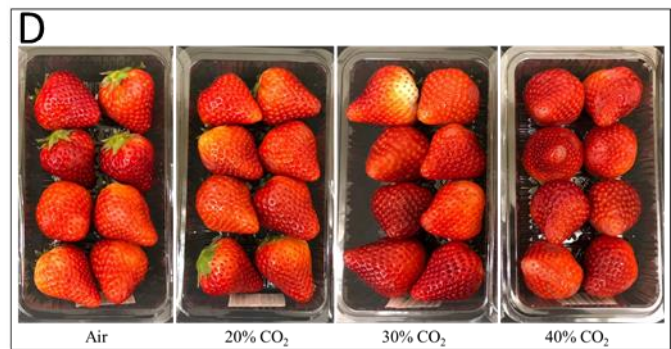
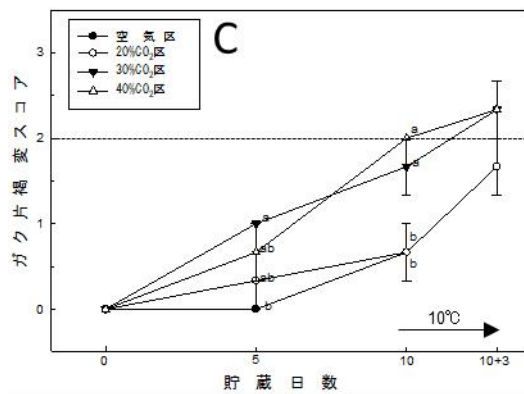
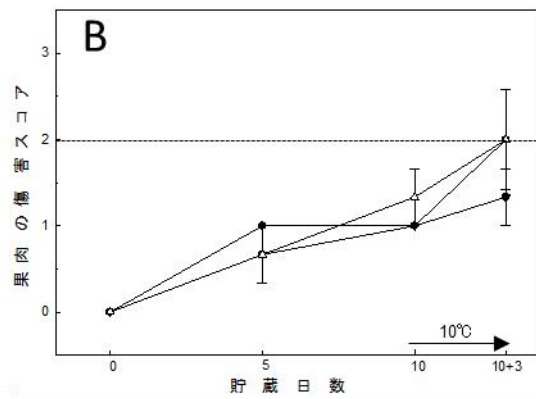
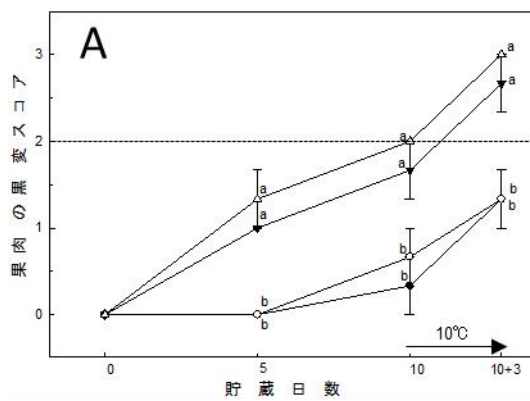


図1-6. 5°Cで10日間高CO₂ CA貯蔵(20%、30%および40%CO₂)した後、空気環境下で10°C・3日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’の外観品質(A:果肉の黒変、B:果肉の傷害、C:ガク片の褐変)と貯蔵10日目時点での果実の状態(D)

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す
破線：商品限界値を示す

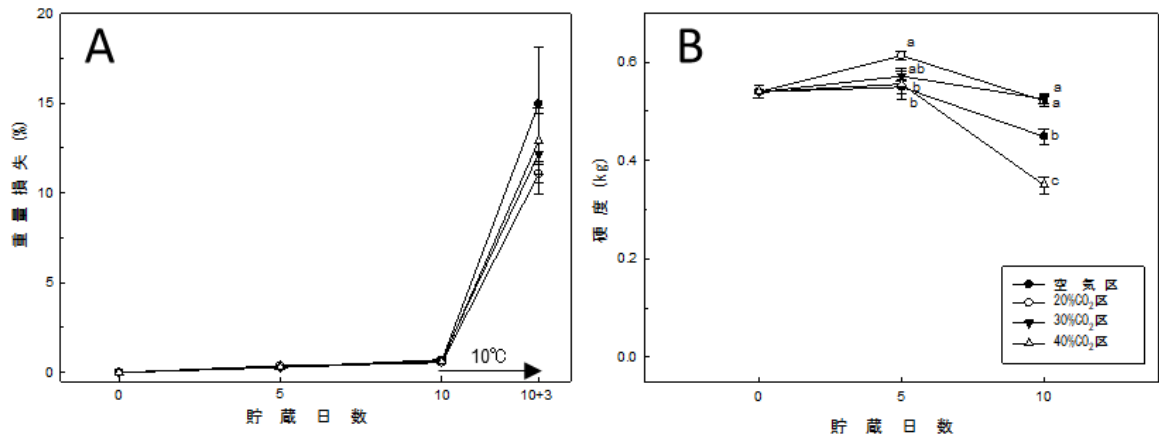


図1-7. 5°Cで10日間高CO₂ CA貯蔵（20%、30%および40%CO₂）した後、空気環境下で10°C・3日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’の重量損失（A）および5°Cで10日間の高CO₂ CA貯蔵中（20%、30%および40%CO₂）のイチゴ‘美濃娘’の果実硬度（B）

異なるアルファベットは、硬度の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

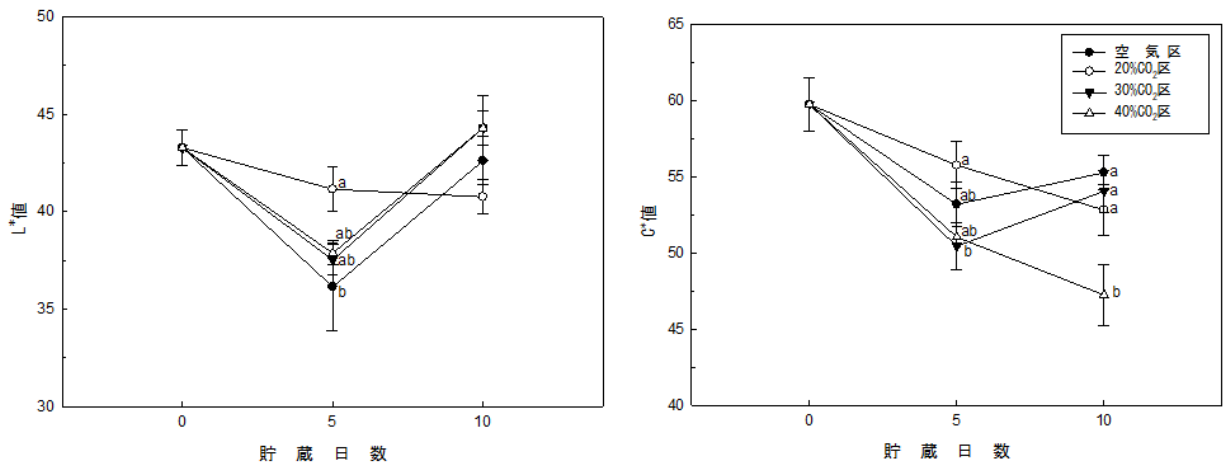


図1-8. 5°Cで10日間の高CO₂ CA貯蔵（20%、30%および40%CO₂）中のイチゴ‘美濃娘’の果実の表面色（L*値：左、C*値：右）

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

第2節 高CO₂ active MAP貯蔵

1. ガス組成と微生物学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

10%、15%および20%CO₂ active MAP貯蔵試験用の供試検体として和歌山県産イチゴ‘まりひめ’ (JA紀の里) を、20%、30%および40%CO₂ active MAP貯蔵試験用の供試検体として岐阜県産イチゴ‘美濃娘’ (JA岐阜) を、また接種試験の供試検体として栃木県産‘とちおとめ’ (JAはが野) をそれぞれ準備し、試験に供試した。和歌山県産イチゴ‘まりひめ’は、2017年12月6日に購入し、その日に研究室に持ち込み試験に供試した。和歌山県産イチゴ‘まりひめ’の1果の平均重量は、28.4±0.4gであり、パック当たりの平均重量は、287.2±5.1gであった。岐阜県産イチゴ‘美濃娘’は、2018年5月14日に購入し、産地から10℃で冷蔵輸送を行い、翌5月15日から試験に供試した。岐阜県産イチゴ‘美濃娘’の1果の平均重量は、19.5±1.0gであり、パック当たりの平均重量は、278.0±1.0gであった。和歌山県産‘まりひめ’および岐阜県産‘美濃娘’は、それぞれ、45パック購入し、その中から外観の痛みや熟度から選別した39パックを試験に供試した。栃木県産‘とちおとめ’は、産地から2018年2月12日に購入後、翌日にその中から平均的な大きさの果実を15個選別し、果実同士が接触しない区切りのあるトレーを敷いたプラスチックパックに移し、これを36パック作製し、試験に供試した。

(2) 高CO₂ active MAP貯蔵

イチゴ1パックをOriented Polypropylene (OPP)フィルム(酸素透過度: OTR = 1170ml/m²/day/atm、25cm×26cm、厚さ: 30μm)に入れ、10%、15%、20%、30%および40%CO₂ガス(バランス: 空気)を用いて、充填および脱気を5回くり返し行うことで、フィルム内の二酸化炭素濃度が10%、15%、20%、30%および40%になるように置換した。その後、置換したフィルムをシーリングし、5℃で10日間貯蔵した。また、ガス置換を行わない空気区を同様に準備し、5℃で10日間貯蔵した。

貯蔵期間中の分析は、貯蔵0、5および10日目にそれぞれ実施し、1反復につき各処理区で貯蔵されたイチゴ1パック使用し、処理区ごとに3反復の分析を行った。す

すべての処理区は、貯蔵 10 日後に開封し、その後 10℃で 10%、15%および 20%CO₂ active MAP 貯蔵試験では 3 日間、20%、30%および 40%CO₂ active MAP 貯蔵試験では 6 日間貯蔵し、開封後の一般消費者の消費までを想定したフィルム開封後の品質に与える影響についても評価した。

(3) *B. cinerea* 接種試験

イチゴの主なポストハーベスト病害の灰色カビ病の原因菌の *B. cinerea* を用いて、高 CO₂ active MAP 貯蔵が微生物学的品質に及ぼす影響をより明確に評価するため、イチゴに *B. cinerea* を接種し、高 CO₂ active MAP 貯蔵中の灰色カビ病の発生割合を評価した。供試菌株は、第 1 節の *in vitro* 試験で供試した *B. cinerea* を供試した。スラントで保管していたこの菌株をポテトデキストロース寒天培地に接種し、25℃で 5 日間前培養を行った。培養後のシャーレに界面活性剤 (Tween80、0.05%) 添加滅菌生理食塩水 3ml を加え、得られた懸濁液をガーゼで濾し、これを孢子液とした。この孢子液に含まれる孢子数を血球計算盤を用いて確認し、適宜希釈を行い、1 ml 中に 10⁴ および 10⁶ の孢子数となるように調整した。調整後の孢子液は、噴霧器を用いて、イチゴ表面に 1 パックあたり 5 ml を均等に噴霧した。菌接種後のイチゴは、クリーンベンチ内で 1 時間の風乾後に OPP フィルム (OTR=1170ml/m²/day/atm、25cm×26cm 厚さ: 30μm) に入れた後、高 CO₂ active MAP 処理が行われ、1℃で 14 および 17 日間貯蔵された。また接種試験では、酸素透過度の高いアドフレッシュ M30 (OTR=14000ml/m²/day/atm、25cm×26cm、厚さ: 50μm) に空気を充填した処理区についても準備し、供試した。また、それぞれの貯蔵終了後、フィルムを開封し、10℃で 3 および 5 日間貯蔵した後のカビの発生割合についても評価を行った。

(4) 測定項目および方法

i) フィルム内ガス組成

CO₂ 濃度および O₂ 濃度は、各サンプルのフィルム内からガス 1 ml を採取し、熱伝導検出器 (TCD) を装備したガスクロマトグラフ (島津製作所製: GC-8AIT) を用いて測定した。CO₂ 濃度測定の場合は、カラム Porapak Q60-80mesh/A. 7646G(3.2mm×1.5m) を使用し、カラム温度を 90℃、検出器温度を 100℃とした。O₂ 濃度測定の場合は、使用したカラム Molecular Sieve 60-80mesh/A. 7646G(3.2mm×1.5m)、カラム温度を 60℃、検出器温度を 100℃とした。また、それぞれのキャリアガスはアル

ゴンガスを用いて分析し、貯蔵開始時から貯蔵最終日まで1日1回の分析を行った。

ii) 微生物数

各処理区につき、イチゴ果実2個を使用し、その表面に付着する一般生菌数および真菌数の測定を各分析日にそれぞれ実施した。また、20%、30%および40%CO₂ active MAP貯蔵試験については、5℃で10日間貯蔵後にフィルムを開封し、更に10℃で6日間貯蔵した各処理区のイチゴについても分析を行い、その結果についても示した。

iii) 菌種同定

高CO₂ active MAP貯蔵中のイチゴ表面から検出された細菌種および真菌種の同定を微生物数の測定と同時に行った。

(i) 細菌種の同定

a. 細菌の培養および分離

細菌用として標準寒天培地をシャーレに約20mlずつ分注して凝固させ、凝固した培地上に1枚のシャーレに出現するコロニーが10から100になるように適宜連続希釈したイチゴ表面の菌懸濁液を0.1mlずつ分注し、コンラージ棒を用いて培地表面に塗抹した。塗抹したシャーレは、37℃で48±3時間培養し、コロニーの形成を行った。培養後のシャーレに出現したコロニーを目視で観察し、形状の異なるコロニーを釣菌し、新たに準備した標準寒天培地に画線塗抹し、培養を行うことで細菌の単離を行った。

b. ゲノムDNAの抽出

単離した培地に形成したシングルコロニーをイノキュレーティンググループで釣菌し、30μlのPrepman™ Ultra Sample Preparation Reagentに懸濁し、サーマルサイクラーにより100℃で10分間加熱した。加熱後、16,000×g、20℃、3分の条件で遠心分離を行い、上澄みを回収し、これをゲノムDNA抽出液とした。

c. 16S rDNA領域のPCR増幅

16S rDNA領域の増幅は、ユニバーサルプライマー(0005F, 0531R: TaKaRa社製)を用いて、Speed STAR™ HS DNA Polymeraseにより行った。反応液は、ゲノムDNA抽出液1μl、Speed STAR™ HS DNA Polymerase(5 units/ml) 0.1μl、各プライマー(4 pmol/μl) 0.25μl、dNTP Mixture(2.5mM each) 0.625μl、10×FastBuffer I(30mMMg²⁺plus) 0.625μl、滅菌超純水 4.15μlを混合し、サーマルサイクラーによ

り 94°Cで1分、95°Cで5秒、65°Cで20秒の条件で30サイクルのPCR反応を行い、16S rDNA領域の上流500bpを増幅させた。PCR後のサンプルは、電気泳動装置を用いて、真菌種の同定と同様にゲノムDNAを増幅を確認した。

d. 塩基配列の決定

DNAの精製のため、PCRサンプル1µlにillustra™EXOSTAR 0.8µlを混合し、サーマルサイクラーを用いて、37°Cで15分および80°Cで15分間加熱した。精製後、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kitを使用し、サーマルサイクラーを用いて、96°Cで10秒、50°Cで5秒および60°Cで4分の反応を25サイクル行うことによりサイクルシーケンス反応させた。反応後のサンプルをエタノール沈殿によりDNA精製し、氷上でHi-Di™ Formamide 20µlに溶解した。溶解されたサンプルを室温で5分間放置したのち、サーマルサイクラーにより95°Cで3分間加熱した。加熱後、直ちに氷上で5分間冷却したのち、シーケンサーにより塩基配列の決定を行った。

e. ホモロジー検索による同定

MicroSeqシステムのホモロジー検索を行い、データベースとの相同性が80%以上の細菌種を結果として用いた。

(ii) 真菌種の単離および同定

a. 真菌種の単離

真菌数測定用の培地から目視で観察し、形状の異なるコロニーを釣菌し、新たに準備したポテトデキストロース寒天培地に植菌し、72±3時間培養し、真菌の単離を行った。また、イチゴに発生したカビの単離については、第1節のイチゴのカビ発生部位から検出された糸状菌の単離と同様の方法で行った。

b. 真菌種の同定

単離した真菌の同定は、第1節と同様にMicroSeq法で、ゲノムDNAの抽出、D2 LSU rDNA領域のPCR増幅、塩基配列の決定およびホモロジー検索により行った。

iv) カビの発生スコア

貯蔵中およびその後フィルム開封し、10°Cの貯蔵後の各処理区のイチゴのカビの発生スコアをパックごとに0から3の4段階で評価し、結果については3パックの平均値を示した。接種試験の灰色カビ病の発生については、各処理区3パックの発生割合の平均値をそれぞれ示した。

(5) 統計分析

フィルム内のガス組成および微生物学的品質評価における各測定項目の処理区間の比較は、ANOVAによる分散分析を行い、各処理区の平均値をTukeyによる多重比較により5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

国内流通を想定した個包装による高 CO₂ active MAP 貯蔵がイチゴの微生物的品質に及ぼす影響を評価するため、高 CO₂ CA 貯蔵の試験結果から明らかとなった微生物学的品質および生理・生化学的品質の両面で最適な濃度であった 20%CO₂ を基準に、一般的に青果物の包装に使用される OPP フィルムを用いて、10%、15%および 20% CO₂ を充填した高 CO₂ active MAP 貯蔵試験と 20%、30%および 40%CO₂ を充填した高 CO₂ active MAP 貯蔵試験を実施した。

(1) 10%、15%および 20%CO₂ active MAP

10%、15%および 20%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵試験の 5℃貯蔵中のフィルム内の O₂ および CO₂ 濃度の測定結果を図 1-9 に示した。フィルム内の CO₂ 濃度は、10%、15%および 20%CO₂ 充填直後の 8.8%、12.8%および 18%から、貯蔵 3 日目までそれぞれ増加し、12.8%、16.0%および 19.8%に達した。貯蔵 3 日以降の貯蔵中の CO₂ 濃度は、3 処理区ともに平衡状態に達し、貯蔵最終日まで高い値を維持した。貯蔵 10 日目の 10%、15%および 20%CO₂ 区の CO₂ 濃度は、それぞれ 14.5%、19.3%および 22.6%であった。一方で、CO₂ ガスを充填しなかった空気区では、貯蔵中に顕著な CO₂ 濃度の蓄積が確認され、貯蔵 3 日目にはすでに 10%に達した。その後の貯蔵中にも引き続き CO₂ 濃度の蓄積が確認され、貯蔵 10 日目には、18.8%に達した。貯蔵中のフィルム内の O₂ 濃度は、すべての処理区で減少し、空気区では貯蔵 5 日目に、15%および 20%CO₂ 区では貯蔵 7 日目に 1%に達し、その後は、平衡状態となった。一方で、10%CO₂ 区では、他の処理区に比べ、その減少は緩やかであり、貯蔵 10 日目においても 3%程度であった。

このようなフィルム内の雰囲気での貯蔵されたイチゴの一般生菌数および真菌数の結果を図 1-10 に示した。貯蔵開始時のイチゴから検出された一般生菌数は、 4.4 ± 0.3 log CFU/g であった。その後の 5℃貯蔵中の 5 日目の結果では、すべての処理区で菌数の増加は見られず、処理区間にも有意な差は認められなかった。しかし、貯蔵 10 日目の一般生菌数の結果は、空気区に比べて、15%CO₂ 区では 4.3 ± 0.0 log CFU/g とわずかに低い値を示した。一方で、高 CO₂ active MAP 貯蔵中の真菌数の結果は、貯蔵開始時では 4.8 ± 0.2 log CFU/g の真菌数が検出され、その後の貯蔵中では、空気区および 10%CO₂ 区では、 4.8 ± 0.0 および 4.8 ± 0.1 log CFU/g と同程度であったが、

20%CO₂区では4.3±0.2 log CFU/gと空気区および10%CO₂区に比べて、わずかに低い値を示した。その後の貯蔵10日目では、処理区内でのバラツキが大きいこともあり、処理区間に有意な差は認められなかった。これらの微生物数の結果を基に、一般生菌数では空気区よりも15%CO₂区で低い菌数を示した貯蔵10日目の細菌種を、真菌数では空気区および10%CO₂区よりも20%CO₂区で低い菌数を示した貯蔵5日目の真菌種をそれぞれ同定し、検出された微生物種を評価した(表1-2)。貯蔵10日目のイチゴからは合計49菌株の細菌が単離され、貯蔵10日目のイチゴから検出された細菌種は、空気区では4属4種、10%CO₂区では3属5種、15%CO₂区では5属6種、20%CO₂区では4属4種が検出された。これらの細菌は、植物病原性のある *Pantoea* 属や *Brevundimonas* 属、土壌細菌の *Curtobacterium* 属や *Bacillus* 属などが中心で、処理区による顕著な細菌種の違いは確認されなかった。一方で、貯蔵5日目のイチゴからは合計72菌株の真菌が単離され、各処理区からは、空気区では3属3種、10%、15%および20%CO₂区では4属4種の真菌が検出された。検出された真菌種は、すべての処理区で検出された植物病原性のある *Cladosporium cladosporioides* や土壌由来の *Pseudozyma antarctica* などで、細菌種と同様に真菌種においても検出された真菌種に処理区による顕著な違いは確認されなかった。貯蔵中の外観評価におけるカビの発生割合の結果では、5℃貯蔵中およびその後のフィルム開封後の貯蔵中においても、すべての処理区で顕著なカビの発生は確認されず、処理区による影響も確認されなかった(図1-11)。

以上より和歌山県産‘まりひめ’を供試した10%、15%および20%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵は、一般生菌数および真菌数において、15%CO₂区および20%CO₂区が空気区に比べて低い菌数を示したが、高CO₂が微生物学的品質に及ぼす影響は、CA貯蔵ほど顕著ではなかった。一般的に active MAP貯蔵は、貯蔵開始時から最適な雰囲気での貯蔵が可能であることから本試験の空気区のような passive MAP貯蔵よりもその効果が得やすいとされている³⁰⁾。しかし、上述したように10%、15%および20%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵の結果では、貯蔵開始時から貯蔵最終日までの最適なCO₂濃度を維持した20%CO₂区であっても空気区よりも明確に高い微生物制御効果が得られたとは言い難い結果となった。国内のイチゴ生産は、クリスマス需要に合わせた12月上旬からの収穫が行われ、関東近

郊では5月上旬、東北地方では5月下旬まで収穫が行われる。このような長い収穫期間の中で、イチゴの品質は常に一定であるわけではなく、気温が高くなる3月中旬以降は、果肉の軟化が進み、ポストハーベスト病害の発生が大きな問題となる³⁹⁾。また、収穫シーズンがイチゴの貯蔵性に影響を及ぼすことが Nunes ら⁴⁰⁾によっても報告されている。本試験で供試した和歌山県産イチゴ‘まりひめ’は、12月収穫の比較的早い収穫時期のイチゴであったため、このことが影響し、5℃での10日間の貯蔵およびその後のフィルム開封後の10℃貯蔵中でもカビの発生はほとんど確認されず、空気区との明確な差を確認しにくい状況にあったと考えられた。

(2) 20%、30%および40%CO₂ active MAP

岐阜県産イチゴ‘美濃娘’を用いた試験では、最適なCO₂濃度の20%よりも高いCO₂濃度を充填した20%、30%および40%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵が微生物学的品質に及ぼす影響を評価した。貯蔵開始時に高CO₂ガスを充填した処理区のフィルム内のCO₂濃度は、20%CO₂区では20.1%、30%CO₂区では30.0%、40%CO₂区では40.0%であった(図1-12)。この貯蔵開始時のCO₂濃度が20%CO₂区では、貯蔵期間を通して大きく変化することなく、ほぼ平衡状態を保ち、貯蔵最終日の貯蔵10日目においても17.8%を維持した。一方で最適なCO₂濃度よりも高いCO₂ガスを充填した30%および40%CO₂区では、両処理区とも貯蔵期間を通して、徐々に減少し、貯蔵10日目には両処理区ともに22.1%および23.5%まで低下したが、貯蔵期間を通して、20%以上のCO₂濃度を維持した。CO₂ガスを充填しなかった空気区では、貯蔵期間が進むに従い、CO₂濃度の蓄積が確認され、貯蔵8日目には、19.7%に達し、その後は、平衡状態を保ち、貯蔵10日目では16.9%であった。貯蔵中のフィルム内のO₂濃度は、すべての処理区で貯蔵8日目まで顕著に減少し、貯蔵8日目には、すべての処理区で約1%に達し、その後の貯蔵中ではほぼ平衡状態を保った。

このような雰囲気では貯蔵されたイチゴから検出された一般生菌数は、貯蔵開始時から反復内の菌数のバラツキが大きく、貯蔵期間を通して、処理区による影響は確認されなかった(図1-13)。貯蔵0および10日目の各処理区のイチゴから単離された61菌株の細菌種を同定し、その結果を表1-3に示した。貯蔵0日目のイチゴから検出された細菌種は、土壌由来の *Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属、植物病原菌の *Pantaea* 属および *Pseudomonas* 属を含む5属5種が検出された。貯蔵10日目に各処理区のイ

イチゴから検出された細菌種は、空気区では6属6種、20%CO₂区では3属3種、30%CO₂区では6属6種、40%CO₂区では4属4種が検出され、その多くが貯蔵0日目に検出された細菌種と近縁であり、処理区間の細菌種についても顕著な違いは確認されなかった。

一方で、貯蔵中のイチゴの真菌数は、貯蔵開始時では、 $3.7 \pm 0.3 \log \text{CFU/g}$ を示し、その後5℃貯蔵中では、すべての処理区で真菌数の増加は確認されず、処理区による影響も確認されなかった(図1-13)。その後、フィルムを開封し、10℃で6日間の貯蔵を行った時の真菌数は、すべての処理区で増加が確認されたが、処理区による影響は開封後も確認されなかった。これに対して、外観評価によるカビの発生スコアでは、5℃での貯蔵中には、すべての処理区でカビの発生が確認されず、処理区による影響は確認されなかったが、その後のフィルム開封後の10℃で6日間の貯蔵した際には、空気区に比べて、すべての高CO₂ガス充填区でカビの発生が抑制された(図1-14)。真菌種の同定については、細菌種の同定と同様に貯蔵0および10日目のイチゴ表面から単離された真菌に加えて、フィルム開封後の10℃貯蔵中のイチゴの真菌およびカビ発生部位からも単離した合計135菌株の同定を行った(表1-4および5)。貯蔵0日目のイチゴから検出された真菌は、土壌由来の *Pseudozyma* 属や植物病原菌の *Cladosporium cladosporioides* を含む3属3種が検出された。貯蔵10日目におけるイチゴから検出された真菌種は、貯蔵0日目にも検出された *C. cladosporioides* がすべての処理区から検出され、糸状菌として検出されたその他の菌種は、40%CO₂区の植物病原菌の *Penicillium olsonii* のみであり、*Rhodotorula* 属や *Cryptococcus* 属を含む酵母が多く検出された。また、処理区による影響については、細菌種の同定結果と同様に顕著な違いは確認されなかった。フィルム開封後の10℃貯蔵中のイチゴ表面から検出された真菌種についても検出された真菌種に大きな変化はなく、10℃貯蔵中と同様に *C. cladosporioides* はすべての処理区から検出された。*C. cladosporioides* はイチゴ栽培中の花に感染し、その後の果実を奇形果にする可能性があるイチゴ栽培環境から検出される一般的な糸状菌である⁴¹⁾。しかし、灰色カビ病に対する抵抗性品種の間では、発生率が増加する可能性があることが報告されており²⁾、イチゴの灰色カビ病の抑制について検討する際には、その存在を確認すべき菌種と考えられる。一方で、イチゴのカビの発生部位から検出された真菌種は、すべての処理区で *C.*

cladosporioides と *B. cinerea* が検出され、目視で観察されたカビは、主に灰色カビ病の原因菌である *B. cinerea* であったと考えられた。以上より 5 月収穫されたイチゴ‘美濃娘’への 20% よりも高い CO₂ ガスを充填する高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用は、passive MAP 貯蔵よりもカビの発生抑制に有効であり、貯蔵中のイチゴの高い微生物学的品質を保つことができる有用な技術であることが明らかとなった。

(3) *B. cinerea* 接種後の 20%CO₂ active MAP

そこでさらに、高 CO₂ active MAP 貯蔵が微生物学的品質に及ぼす影響を詳細に評価するため、均一に *B. cinerea* を接種したイチゴを用いた高 CO₂ active MAP 貯蔵試験を実施した。また、この試験では、酸素透過度の低いフィルム (OPP フィルム) と高いフィルム (アドフレッシュ M30 フィルム) を用いて passive MAP 貯蔵を行う処理区も設け、CO₂ 濃度の蓄積が行われない空気条件に近い雰囲気との比較についても検討した。貯蔵中のフィルム内の CO₂ 濃度は、すべての処理区で接種した菌液の濃度の違いによる影響は認められず、OPP-20%CO₂ 区では、貯蔵開始時から貯蔵 6 日目までは減少した後は、平衡状態に達し、貯蔵最終日まで 15% 程度で維持された (図 1-15)。OPP-空気区では、貯蔵開始時から徐々に CO₂ 濃度が高くなり、貯蔵最終日では約 10% に達した。高 OTR のアドフレッシュ M30 フィルムに空気を充填した M30-空気区では、CO₂ 濃度の蓄積はほぼ行われず、貯蔵最終日においても 1% 程度であった。貯蔵中のフィルム内の O₂ 濃度は、貯蔵開始時の濃度が OPP-20%CO₂ 区および OPP-空気区でそれぞれ 16.4% と 20.5% と差が認められたが、両処理区ともに減少し、貯蔵 6 日目以降は、両処理区間に差は認められず、貯蔵最終日では約 4% に達した。アドフレッシュ M30 区では、貯蔵開始時からやや減少し、貯蔵 6 日目以降は、平衡状態に達し、貯蔵最終日まで 17% 程度を維持した。

このような雰囲気で貯蔵されたイチゴの貯蔵中のカビの発生割合は、1℃貯蔵中では、貯蔵 17 日目まですべての処理区でカビの顕著な発生は確認されなかった (図 1-16)。しかし、その後のフィルム開封後の貯蔵中の結果では、接種濃度の低い 10⁴ 孢子/ml 菌液接種区では 17 日間貯蔵後のフィルム開封後の貯蔵中に、10⁶ 孢子/ml を接種した区では、貯蔵 14 日目の開封後の貯蔵中にそれぞれカビの発生が顕著に確認された。フィルム開封後の貯蔵中のイチゴのカビの発生割合に対する処理区による影響は、CO₂ 濃度の蓄積が行われなかった M30-空気区でカビの発生が他の 2 処理区よりも顕

著で、active および passive MAP 貯蔵に関わらず、CO₂ 濃度の蓄積がカビの発生の抑制に有効であることが改めて明らかとなった。一方で、高 CO₂ active MAP 貯蔵となる OPP-20%CO₂ 区と passive MAP 貯蔵となる OPP-空気区との比較では、接種濃度が高かった 10⁶ 孢子/ml 接種区において、OPP-20%CO₂ 区の方がカビの発生抑制に対する顕著な効果が確認された。前述したように、一般的に active MAP 貯蔵は、passive MAP 貯蔵に比べて、貯蔵開始時から最適な雰囲気での貯蔵が行えることから高い品質を保持することができるとされており³⁰⁾、接種試験の結果からも、より微生物による汚染度が高い状況の場合には、明確に高 CO₂ active MAP 貯蔵の方が、より高い微生物学的品質を維持することが可能であり、有用な技術であることが示された。

2. 生理・生化学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

イチゴは、微生物学的品質の測定に用いた 10%、15%および 20%CO₂ 充填の active MAP 貯蔵したイチゴ‘まりひめ’、20%、30%および 40%CO₂ 充填の active MAP 貯蔵したイチゴ‘美濃娘’を生理・生化学的品質の測定においても供試した。また、収穫熟度が高 CO₂ active MAP 貯蔵中のイチゴの品質に及ぼす影響を評価することを目的に、宮城県産‘とちおとめ’の果実の赤色着色が 8 割程度の着色果および 10 割着色果をそれぞれ準備し、供試した。

(2) 高 CO₂ active MAP 貯蔵

イチゴ‘まりひめ’および‘美濃娘’の高 CO₂ active MAP 条件は、微生物学的品質評価時と同じ、OPP フィルムを使用した。収穫熟度が高 CO₂ active MAP 貯蔵中のイチゴの品質に及ぼす影響を評価する試験の高 CO₂ active MAP 貯蔵は、OPP フィルムとアドフレッシュ M30 の 2 種類のフィルムに異なる収穫熟度のイチゴを入れ、OPP フィルムでは、30%CO₂ ガスおよび空気の充填を行い、アドフレッシュ M30 では、空気のみ充填を行い、それぞれの処理区を準備した。その後、各処理区のイチゴを 1℃で 14 日間貯蔵した後、フィルムを開封し、10℃で 3 日間貯蔵した。

(3) 測定項目および方法

i) 外観評価

外観評価の項目は、果肉色の黒変および果肉表面の傷害、ガク片の褐変の 3 項目について行い、それぞれ 0 から 3 の 4 段階でパックごとにスコア評価した。

ii) 重量損失

貯蔵前後のパックごとの重量を測定し、その減少割合を重量損失として、%単位で分析した。1 処理区につき、3 パックの分析を行い、その平均値を結果に示した。

iii) 果実硬度

イチゴ果実の果肉部の硬度を果実 1 個につき 2 か所を果実硬度計を用いて分析し、1 反復につき 3 個の分析を行い、3 反復計の 18 測定値の平均値を結果に示した。

iv) L*値および C*値

果肉色の分析をハンディカラーメーターを用いて分析し、L*値およびC*値の結果をそれぞれ示した。イチゴ果実の果肉色を1個につき2か所測定し、1反復につき3個の分析を行い、3反復で計18の測定値の平均値を結果として示した。

v) pH

イチゴ果実の表面のpHは、サンプルシートを果肉部につけた後、そのサンプルシートをTwin pHメーター（株式会社堀場製作所製：B-211）で測定することで分析した。1反復につき3個の分析を行い、3反復で計9測定値の平均値を結果として示した。

vi) アスコルビン酸

20%、30%および40%CO₂ガス充填の高CO₂ active MAP貯蔵では、アスコルビン酸含量の測定も実施した。1反復につき3個の果実をナイフを用いて細かく刻み、均一になるようによく混ぜた。そのサンプル2.5gに4%メタリン酸水溶液を20ml加え、ホモジナイザー(IKA社製：T25 digital ULTRA-TURRAX)を用いて、磨砕した。その後、ひだ濾紙を用いて濾過した濾液をアスコルビン酸抽出液とした。L-アスコルビン酸(L-ASA)含量の測定はこのアスコルビン酸抽出液を希釈したサンプルをバイアルビンに入れ、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて測定した。HPLCに使用した装置は、システムコントローラー(島津製作所製：SCL-10A)、オートインジェクター(島津製作所製：SIL-10A)、オンライン脱気装置(島津製作所製：DGU-4A)、ポンプ(島津製作所製：LC-10AD)および検出器(エイコム社製：ECD-300)で行った。HPLCに用いたカラムはPLRP-S 250×4.6mm(Polymer Laboratories社製)で、移動相は5ppmエチレンジアミン四酢酸を加えた0.02Mリン酸二水素カリウム水溶液(pH2.2)を用いた。カラムの温度は常温で流量は1ml/minの速さで流し、注入量は20μlで分析時間は8分の条件で行った。酸化型アスコルビン酸(DHA)含量はアスコルビン酸抽出液に含まれるDHAをL-ASAに還元し、上記のカラム、移動相および条件を用いて同様のHPLCにより測定した値(総アスコルビン酸含量)をL-ASA含量から差し引いた値をDHA含量とした。DHAからL-ASAへの還元は遮光試験管にアスコルビン酸抽出液を2ml入れ、3%ジチオスレイトール水溶液と66mMリン酸バッファー(pH7.5)を1:1の割合で混合した溶液2mlを加えて混合し、30°Cで30分反応させることにより行った。各処理区につき3反復の分析を行い、その平均の

値をそれぞれ L-ASA および DHA 含量とした。

(4) 統計分析

生理・生化学的品質評価における各測定項目の処理区間の比較は、ANOVA による分散分析を行い、各処理区の平均値を Tukey による多重比較により 5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

前項で微生物学的品質を評価した10%、15%および20%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP 貯蔵された和歌山県産イチゴ‘まりひめ’および20%、30%および40% CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP 貯蔵された岐阜県産イチゴ‘美濃娘’の生理・生化学的品質をそれぞれ評価し、高CO₂ active MAP 貯蔵が貯蔵中のイチゴの生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価した。

(1) 10%、15%および20%CO₂ active MAP

10%、15%および20%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP 貯蔵中のイチゴの外観評価は、貯蔵中の果実の傷害とガク片の褐変を対象とし、その結果を図1-17に示した。貯蔵中の果実の傷害の発生およびガク片の褐変のスコアは、貯蔵期間を通して、処理区に関わらず増加傾向にあり、それぞれの進行が確認された。しかし、処理区による影響は、すべての処理区間で有意な差は認められず、10%、15%および20% CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP 貯蔵の影響は確認されなかった。第1節の高CO₂ CA 貯蔵の試験において、20%よりも高いCO₂濃度では、ガク片の褐変の進行が助長されると報告したが、貯蔵中のフィルム内のCO₂濃度が15%から22%で最終的に維持した本試験の高CO₂ active MAP 貯蔵では、品質劣化の要因にならないことが明らかとなった。一方で、果肉色の黒変の発生については、すべての処理区で貯蔵期間を通して、その発生が確認されず、ガク片の褐変と同様に10%から20%ガス充填による本試験の高CO₂ active MAP 貯蔵では、品質に影響を及ぼすことはないことが明らかとなった（データ省略）。

貯蔵中のイチゴの重量損失の進行は、貯蔵期間を通して、その進行が確認されたが、処理区による有意な差は認められず、貯蔵最終日においても0.4%以下であり、商品限界に達するほどの進行は確認されなかった（図1-18A）。貯蔵中の果実硬度は、すべての処理区で貯蔵期間を通して、その維持が確認され、貯蔵10日目には、20%CO₂区における果実硬度が他の処理区よりもわずかに高い値を示した（図1-18B）。MAP貯蔵における果実硬度の維持は、Garcíaら⁴²⁾によって passive MAP 貯蔵により作られたCO₂雰囲気においても無包装のイチゴよりも果実硬度が維持されることが報告されている。そのため、本試験の結果において、空気区を含むすべての処理区で貯蔵期間を通して、果実硬度の維持が確認されたのは、本試験のMA貯蔵によって蓄積また

は維持された CO₂ 雰囲気による影響と推察される。貯蔵中の果皮色の L*値および C*値の結果は、ともに貯蔵期間を通して一定の値を維持し、処理区による影響は確認されなかった (図 1-19)。以上より本試験で和歌山県産イチゴ‘まりひめ’に適用した 10%、15%および 20%CO₂ ガス充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵は、貯蔵中の生理・生化学的品質に顕著な影響を及ぼさない結果となった。

(2) 20%、30%および 40%CO₂ active MAP

20%、30%および 40%CO₂ ガス充填を行ったイチゴへの高 CO₂ active MAP 貯蔵の外観評価の結果を図 1-20 に示した。貯蔵中の果肉色の黒変のスコアは、貯蔵最終日まで 20%以上の高 CO₂ 濃度が維持された 30%および 40%CO₂ 区で、5℃貯蔵後にフィルム開封した後の 10℃貯蔵中に、黒色化の発生が確認され、その値は商品限界のスコア 2 に達した (図 1-20A)。これは、30%および 40%CO₂ 雰囲気による高 CO₂ CA 貯蔵中に発生した障害と同様の過度な高 CO₂ 雰囲気での貯蔵が原因と考えられる。一方で、その他の果肉部の傷害およびガク片の褐変の進行については、10%、15%および 20%の CO₂ ガス充填をした高 CO₂ active MAP 貯蔵の結果と同様に、その処理が品質に影響を及ぼすことはなかった (図 1-20B および C)。

貯蔵中の重量損失に及ぼす影響は、貯蔵最終日に空気区および 30%CO₂ 区が他の 2 処理区よりも高い値を示したが、0.8%以下とその値は低く、品質に影響を及ぼすほどではなかった (図 1-21A)。貯蔵中の果実硬度の結果は、5℃貯蔵中では、貯蔵期間を通して、処理区による一定の影響は確認されず、高 CO₂ active MAP 貯蔵による一定の効果は確認されなかった (図 1-21B)。20%および 30%CO₂ 区で果実硬度の維持が確認された CA 貯蔵試験およびすべての処理区で果実硬度の維持が確認された和歌山県産イチゴ‘まりひめ’での高 CO₂ active MAP 貯蔵試験の結果と一致せず、本試験の結果からは何による影響なのかは明らかにならなかった。貯蔵中の果皮色の結果は、L*値および C*値ともに処理区による有意な差は、貯蔵期間を通して確認されず、10%、15%および 20%の CO₂ ガス充填をした高 CO₂ active MAP 貯蔵の結果と同様に処理による影響は確認されなかった (図 1-22)。貯蔵中の pH および還元型、酸化型の両アスコルビン酸の含量は、ともに貯蔵期間を通して、ほぼ一定の値を示した (図 1-23)。pH は 4.5 から 5.0 の範囲、還元型アスコルビン酸含量が 60 から 65mg/100g、酸化型アスコルビン酸含量が 10 から 20mg/100g の範囲を示し、処理区による影響は確認さ

れなかった。Li ら⁴³⁾ は、2℃での10から20%CO₂雰囲気での7日間の貯蔵では、pH およびアスコルビン酸含量に影響を及ぼさなかったことを報告しており、本試験の結果と一致した。以上より20%、30%および40%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵がイチゴの生理・生化学的品質に影響を及ぼしたのは、30%および40%CO₂区による果肉色の黒変の発生のみであった。そのため、国産のイチゴへの高CO₂ active MAP貯蔵の適用においては、微生物学的品質の維持に有効であったとしてもCO₂濃度が20%を超えて維持されるようなCO₂濃度のガス充填やフィルムの選択は果肉色の黒色化の発生させないために避けられるべきであると結論付けた。

(3) 収穫熟度別果実の30%CO₂ active MAP

高CO₂雰囲気での貯蔵がイチゴの生理・生化学的品質に及ぼす影響は、その供試されるイチゴの収穫時の熟度による影響を受けることが報告されており²⁷⁾、国産のイチゴにおいても同様に影響があることが想定される。また、国産のイチゴについては、収穫終盤の時期には、果実の軟化を避けるため、8割程度の着色での収穫が行われている。そのため、国内流通での高CO₂ active MAP貯蔵の適用を検討するにあたり、熟度が高CO₂ active MAP貯蔵中のイチゴの生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価することは、重要であると考え、宮城県産のイチゴ‘とちおとめ’を用いて、8割着色および10割着色の収穫熟度の異なるイチゴでの高CO₂ active MAP貯蔵による品質評価を行った。また、この熟度による影響を検討する試験では、過度な高CO₂雰囲気による果肉色の黒変が発生する可能性が高い30%CO₂ガスを充填する高CO₂ active MAP貯蔵をあえて適用し、それに及ぼす影響やCO₂濃度の蓄積が起こりにくい酸素透過度の高いアドフレッシュ M30 フィルムを用いた passive MAP貯蔵を行うことで、収穫熟度の違いのみによる影響についても併せて評価した。

最初に貯蔵中のフィルム内のCO₂濃度およびO₂濃度の結果を図1-24に示した。貯蔵開始時のOPP-30%CO₂区のフィルム内のCO₂濃度は、充填した濃度よりも低い25%であり、貯蔵2日以降では、わずかに10割着色区の方が高い値を示し、貯蔵最終日の10割着色および8割着色区のそれぞれのCO₂濃度は、24%および22%であった。一方で、OPP-空気区では、貯蔵期間を通して徐々にCO₂濃度の蓄積が確認され、貯蔵最終日には、両着色区ともに約8%に達した。M30-空気区のCO₂濃度は、CO₂濃度の蓄積はほぼ行われず、両着色区ともに最終日まで2%程度を維持した。一方で、

貯蔵中の O₂ 濃度は、OPP-30%CO₂ 区では、着色区の違いに関わらず、貯蔵開始時の 15%から貯蔵 12 日目まで減少し、その後は 1 %程度で維持した。OPP-空気区では、貯蔵開始時の 20%から貯蔵最終日まで徐々に低下し、最終日には両着色区ともに約 9 %に達した。M30-空気区のフィルム内の O₂ 濃度は、OPP-空気区の低下よりも緩やかに低下し、貯蔵最終日には両着色区ともに 15%程度であった。このような環境下で貯蔵されたイチゴの貯蔵中の外観を評価した (図 1 -25)。果肉色の黒変の発生は、1 °C での貯蔵 14 日目では、10 割着色の各処理区のスコアが 8 割着色区よりも高い値を示し、果肉色の黒変のより早い進行が確認された (図 1 -25A)。その後のフィルム開封後の 10°C貯蔵 3 日目の結果では、10 割着色の OPP-30%CO₂ 区が他の処理区に比べての果肉色の黒変のスコアが高く、10 割着色の OPP-30%CO₂ 区では過度な高 CO₂ 雰囲気の原因と考えられる黒変のより顕著な進行が確認された。貯蔵中の CO₂ 濃度は、10 割着色の OPP-30%CO₂ 区の方が 8 割着色の OPP-30%CO₂ 区よりもわずかに高い値を示しており、20%を超える過度な高 CO₂ 雰囲気での黒変の発生については、10 割着色の方が発生するリスクは高い可能性が示唆された。果実の傷害の評価では、収穫時の着色割合および貯蔵中の処理に関わらず進行し、1 °C貯蔵中およびその後のフィルム開封後の 10°C中の両方で収穫時の着色割合および貯蔵中の処理による顕著な違いは確認されなかった (図 1 -25B)。続いて、貯蔵中のガク片の褐変の進行については、第 1 節の CA 貯蔵結果と同様に 20%を超える高 CO₂ 雰囲気での貯蔵がその進行を助長することが、両着色区の OPP-30%CO₂ 区の結果から確認され、その程度は、8 割着色区よりも 10 割着色区の方が顕著であった (図 1 -25C)。また、その他の処理区内においても 10 割着色区の方が 8 割着色区よりもガク片の褐変の進行は顕著であった。加えて、微生物学的品質にあたるカビの発生のスコアについても確認してみると、フィルム開封後の 10°C貯蔵 3 日目の結果で CO₂ 濃度の蓄積が行われなかった 10 割着色の M30-空気区で顕著なカビの発生が確認されたのに対して、他の処理区ではわずかな発生のみであった (図 1 -25D)。このことから高 CO₂ active MAP 貯蔵がカビの発生を抑制することが改めて確認されたのと同時に 8 割着色区の方が 10 割着色区よりもカビの発生を引き起こしにくいことが明らかとなった。収穫熟度がイチゴのカビの発生割合に及ぼす影響は、10 割着色と 3/4 割着色のイチゴを比較した際に 10 割着色の方がカビの発生が顕著となることが Nunes²⁷⁾によって報告されており、本試

験の結果と一致した。

貯蔵中の重量損失の結果は、貯蔵期間を通して、すべての処理区に有意な差は認められず、収穫熟度および高 CO₂ active MAP 貯蔵による影響は確認されなかった (図 1-26A)。貯蔵中の果実硬度は、貯蔵期間を通して、顕著な変化は確認されず、フィルム開封後の 10℃貯蔵 3 日目において、すべての処理区で 10 割着色区が 8 割着色区よりわずかに高い値を示し、10 割着色区においては OPP-30%CO₂ 区が最も高かった (図 1-26B)。果実硬度に関しては、これまでの高 CO₂ CA 貯蔵試験および高 CO₂ active MAP 貯蔵試験の結果、高 CO₂ 雰囲気は果実硬度に与える影響は、その試験によって傾向が異なる結果となっており、これが品種や収穫時期、熟度による影響なのかは一連の試験からは明らかにならず、この点については引き続き検討が必要である。最後に貯蔵中の L*値および C*値の結果は、貯蔵開始時の L*値および C*値ともに 8 割着色区の方が L*値で 5.6、C*値で 2.4 ほど高い値を示した (図 1-27)。その後の 1℃貯蔵中の L*値は、貯蔵 14 日目では 8 割着色区の OPP-空気区および M30-空気区で 10 割着色区のそれぞれの処理区より高い値を示したが、その後のフィルム開封後の 10℃・3 日間の貯蔵中では、すべての処理区に有意な差は認められなかった。また、貯蔵中の C*値は、貯蔵期間を通して、減少傾向を示したが、着色区および処理区の違いによる有意な差は認められなかった。以上より、収穫熟度が高 CO₂ active MAP 貯蔵中のイチゴの品質に及ぼす影響は、外観評価における果肉色の黒変とガク片の褐変として観察され、過度な高 CO₂ 雰囲気により助長されるこれらの変色については、8 割着色の果実を供試することでそのリスクを下げられる可能性が示唆された。また、8 割着色のイチゴでは、カビの発生を抑制することも確認されたため、すでに行われている産地もあるが、収穫時期に合わせた収穫熟度の検討を行うことが今後の課題である。

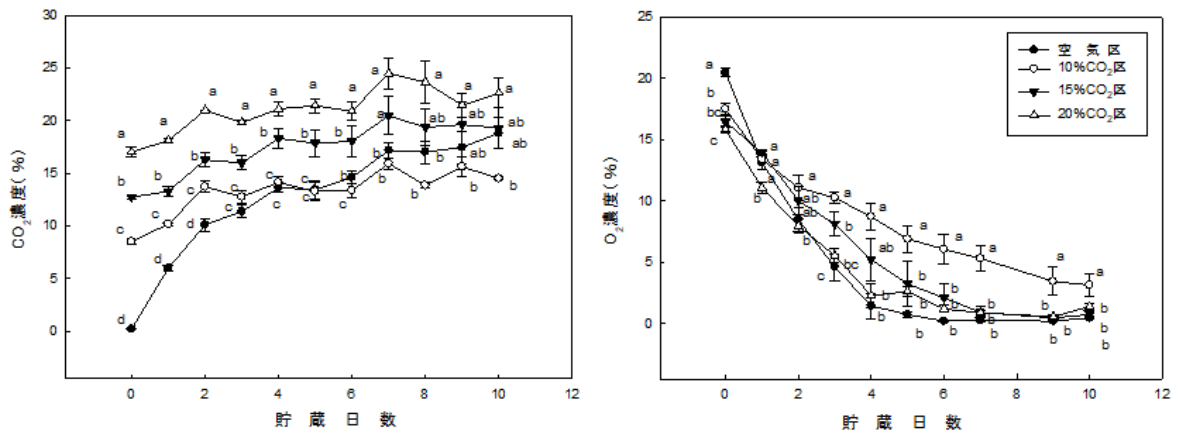


図1-9. イチゴ‘まりひめ’を5°Cで10日間の active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）中のフィルム内のCO₂濃度（左）およびO₂濃度（右）

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

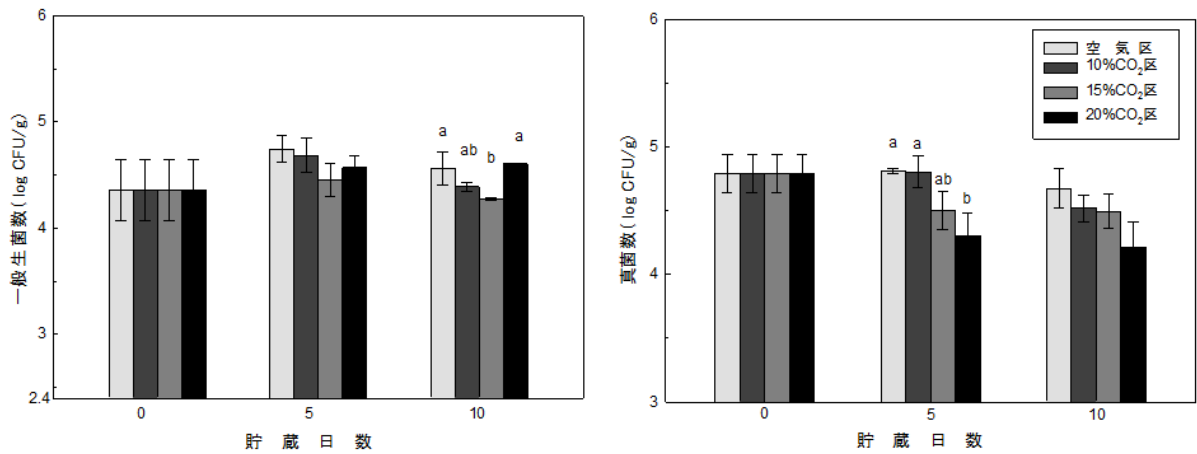


図1-10. 5°Cで10日間の active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘まりひめ’から検出された一般細菌数（左）および真菌数（右）

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

表1-2. 5℃で10日間のactive MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）中にイチゴ‘まりひめ’から検出された貯蔵10日目の細菌種および貯蔵5日目の真菌種

処理区	細菌(貯蔵10日目)			真菌(貯蔵5日目)		
	グラム型	属	種	カビ/酵母	属	種
空気	陽性	<i>Curtobacterium</i>	<i>albidum</i>	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
	陰性	<i>Brevundimonas</i>	<i>intermedia</i>	酵母	<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
		<i>Chryseobacterium</i>	<i>bovis</i>	<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>	
10%CO ₂	陽性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
		<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>		<i>Fusarium</i>	<i>anthophilum</i>
		<i>Curtobacterium</i>	<i>albidum</i>	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>
	陰性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>		<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
15%CO ₂	陽性	<i>Curtobacterium</i>	<i>albidum</i>	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
	陰性	<i>Propionibacterium</i>	<i>acnes</i>		<i>Colletotrichum</i>	<i>coccodes</i>
		<i>Brevundimonas</i>	<i>intermedia</i>	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>
	陰性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>		<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
		<i>Pseudomonas</i>	<i>fulva</i>			
		<i>oryzihabitans</i>				
20%CO ₂	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>atrophaeus</i>	カビ	<i>Acremonium</i>	<i>breve</i>
		<i>Microbacterium</i>	<i>testaceum</i>		<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
		<i>Staphylococcus</i>	<i>gallinarum</i>		<i>Fusarium</i>	<i>anthophilum</i>
	陰性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>	酵母	<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>

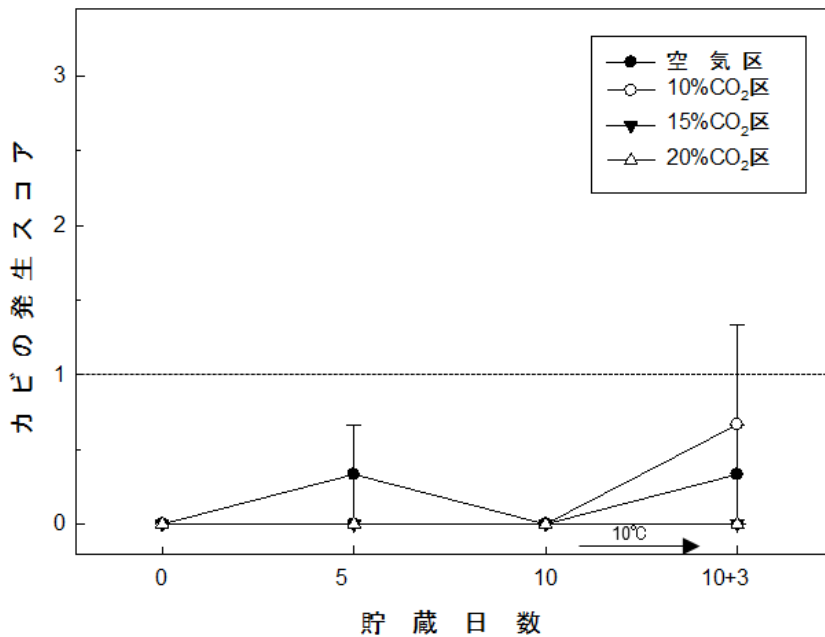


図1-11. 5℃で10日間 active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10℃で3日間貯蔵したイチゴ‘まりひめ’のカビの発生スコア

破線：商品限界値を示す

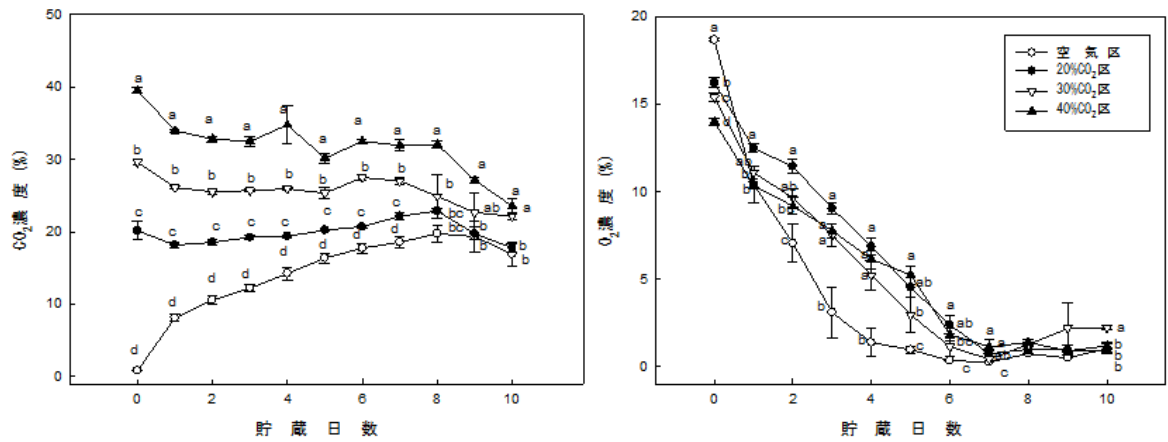


図1-12. イチゴ‘美濃娘’を5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40% CO₂ガス充填）中のフィルム内CO₂濃度（左）およびO₂濃度（右）

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

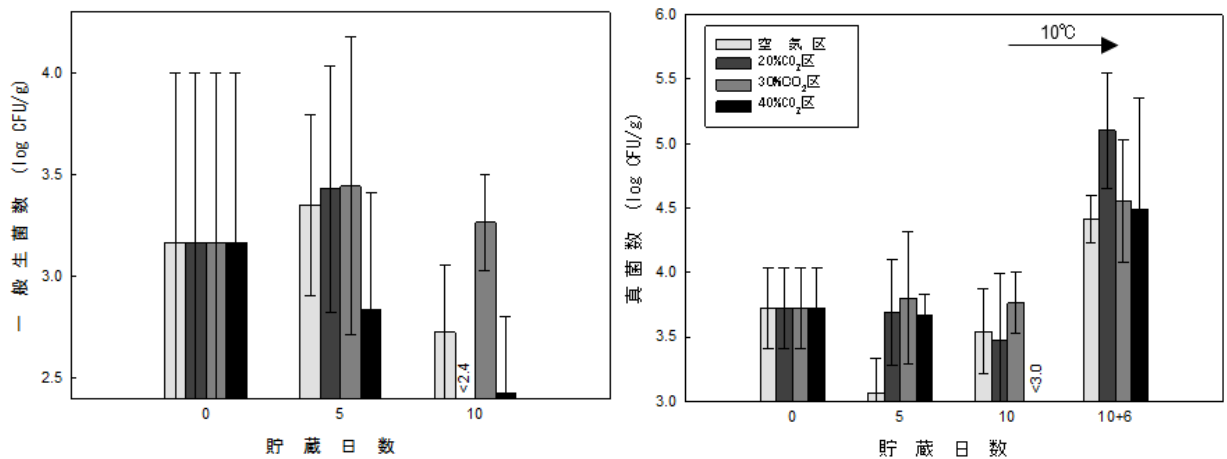


図1-13. 5°Cで10日間の active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘美濃娘’から検出された一般細菌数（左）および5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで6日間の貯蔵したイチゴ‘美濃娘’から検出された真菌数（右）

表 1-3. 貯蔵前および5℃で10日間 active MAP貯蔵後のイチゴ‘美濃娘’から検出された細菌種

貯蔵0日目			貯蔵10日目			
グラム型	属	種	処理区	グラム型	属	種
陽性	<i>Bacillus</i>	<i>atrophaeus</i>	空気口	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>
	<i>Kocuria</i>	<i>palustris</i>			<i>Curtobacterium</i>	<i>luteum</i>
	<i>Paenibacillus</i>	<i>illinoisensis</i>			<i>Microbacterium</i>	<i>trichothecenolyticum</i>
陰性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>	20%CO ₂	陰性	<i>Chryseobacterium</i>	<i>gleum</i>
	<i>Pseudomonas</i>	<i>oryzihabitans</i>			<i>Pseudomonas</i>	<i>oryzihabitans</i>
陰性			30%CO ₂	陽性	<i>Sphingomonas</i>	<i>sanguinis</i>
					<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>
					<i>Curtobacterium</i>	<i>albidum</i>
					<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>
					<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>
			陰性	<i>Kocuria</i>	<i>palustris</i>	
				<i>Microbacterium</i>	<i>trichothecenolyticum</i>	
				<i>Methylobacterium</i>	<i>tardum</i>	
				<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>	
				<i>Pseudomonas</i>	<i>oryzihabitans</i>	
陰性			40%CO ₂	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i>
					<i>Kocuria</i>	<i>palustris</i>
					<i>Methylobacterium</i>	<i>tardum</i>
				陰性	<i>Pantoea</i>	<i>ananatis</i>

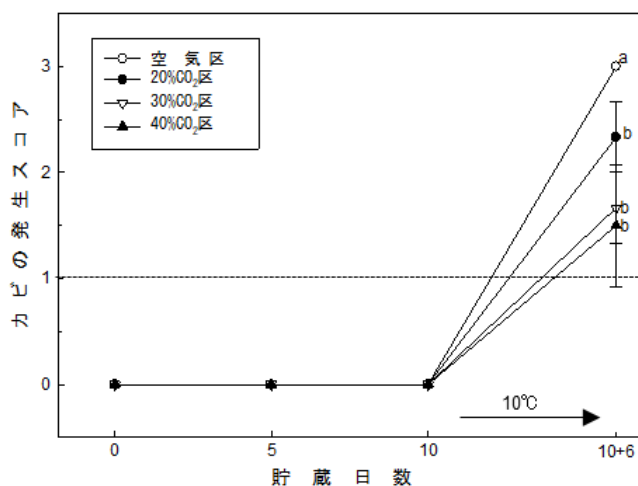


図 1-14. 5℃で10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10℃で3日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’のカビの発生スコア

異なるアルファベットは、同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

破線：商品限界値を示す

表 1-4. 貯蔵前および5℃で10日間 active MAP貯蔵後のイチゴ‘美濃娘’から検出された真菌種

貯蔵0日目			貯蔵10日目			
カビ・酵母	属	種	処理区	カビ・酵母	属	種
酵母	<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>	空気	酵母	<i>Candida</i>	<i>geochares</i>
	<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>			<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>			<i>Rhodotorula</i>	<i>mucilaginosa</i>
			20%CO ₂	カビ	<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
				酵母	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
					<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>
					<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
					<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
			30%CO ₂	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
				酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>
					<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
					<i>Rhodotorula</i>	<i>graminis</i>
			40%CO ₂	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
				酵母	<i>Aureobasidium</i>	<i>pullulans</i>
					<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>
					<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
				カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
					<i>Penicillium</i>	<i>olsonii</i>

表 1-5. 5℃で10日間 active MAP貯蔵後にフィルムを開封し、10℃で6日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’から検出された真菌種およびその際に目視で確認された菌糸体の真菌種

貯蔵10+6日目 (イチゴ付着菌)				貯蔵10+6日目 (目視された菌糸体)			
処理区	カビ・酵母	属	種	処理区	カビ・酵母	属	種
空気	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>	空気	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
		<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>			<i>Botrytis</i>	<i>cinerea</i>
		<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>	20%CO ₂	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>			<i>Botrytis</i>	<i>cinerea</i>
		<i>Penicillium</i>	<i>camembertii</i>	30%CO ₂	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
20%CO ₂	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>			<i>Botrytis</i>	<i>cinerea</i>
	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>	40%CO ₂	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
		<i>Sydowia</i>	<i>polyspora</i>			<i>Botrytis</i>	<i>cinerea</i>
30%CO ₂	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>			<i>Epicoccum</i>	<i>nigrum</i>
		<i>Pichia</i>	<i>barkeri</i>				
		<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>				
		<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>				
	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>				
40%CO ₂	酵母	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>				
		<i>Pseudozyma</i>	<i>antarctica</i>				
		<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>				
	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>				

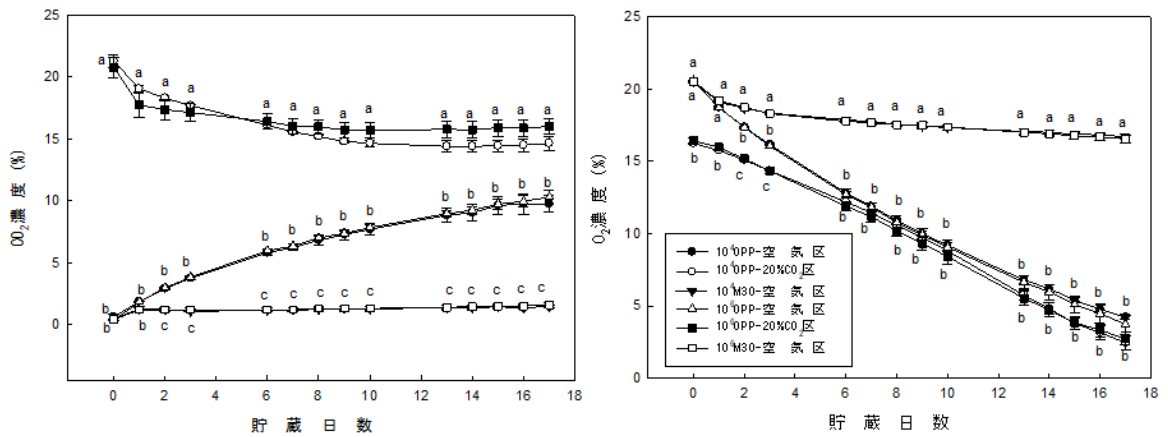


図1-15. *Botrytis cinerea*を接種したイチゴ‘とちおとめ’をOPPフィルムおよびM30アドフレッシュフィルムを用いて1°Cで17日間の active MA貯蔵中(20%CO₂ガス充填)のフィルム内のCO₂濃度(左)およびO₂濃度(右)

異なるアルファベットは、各項目内の同一貯蔵日における接種菌液の違いを除く処理区間の5%水準における有意差を示す

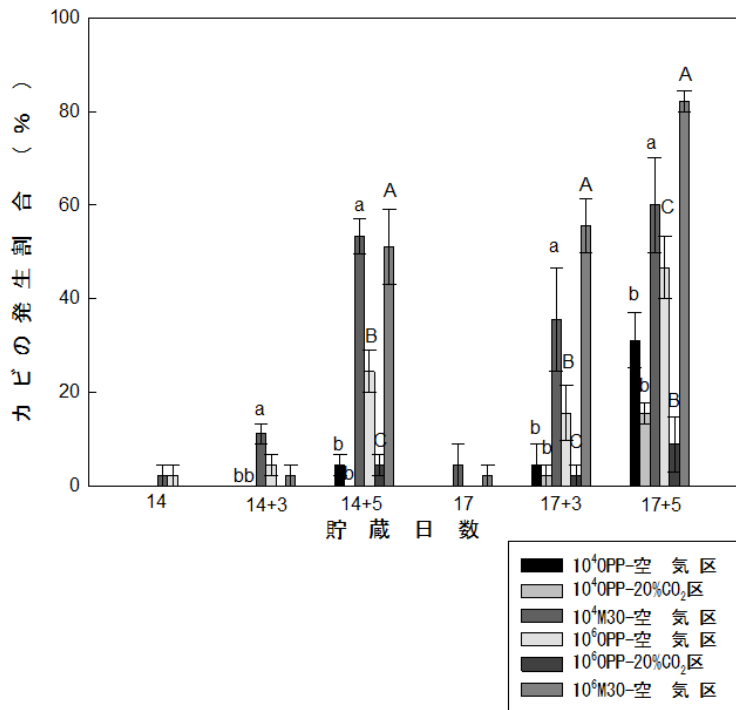


図1-16. 10⁴および10⁶孢子数/mlに調整した*Botrytis cinerea*の菌液接種後に1°Cで14および17日間 active MA貯蔵(20%CO₂ガス充填)した後、フィルムを開封し、10°Cで3および5日間の貯蔵したイチゴ‘とちおとめ’のカビの発生割合

異なるアルファベットは、同一貯蔵日における処理区間の5%水準における有意差を示す

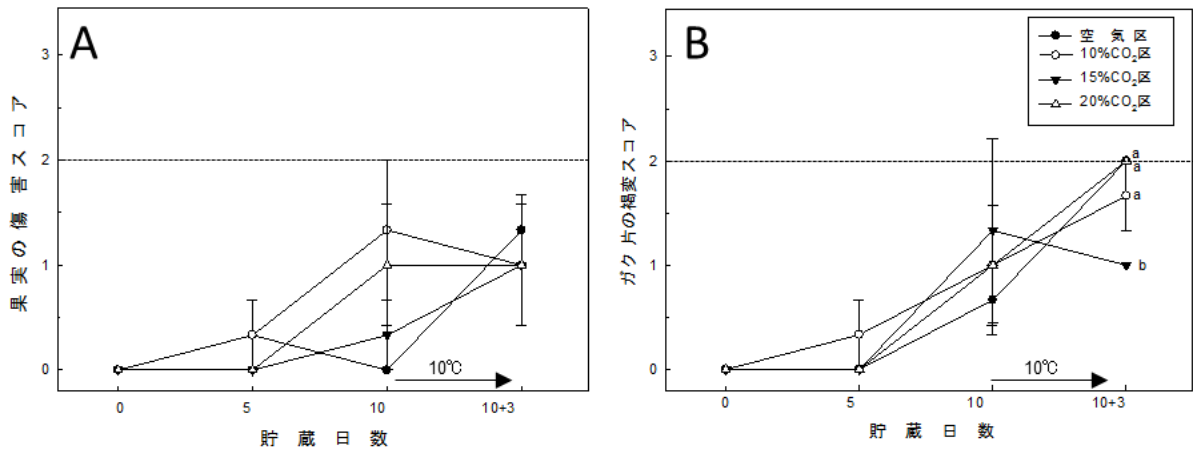


図1-17. 5℃で10日間 active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10℃で3日間の貯蔵したイチゴ‘まりひめ’の外観評価（A:果実の傷害、B:ガク片の褐変）

異なるアルファベットは、ガク片の褐変スコアにおける同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す。
破線：各評価項目の商品限界値を示す。

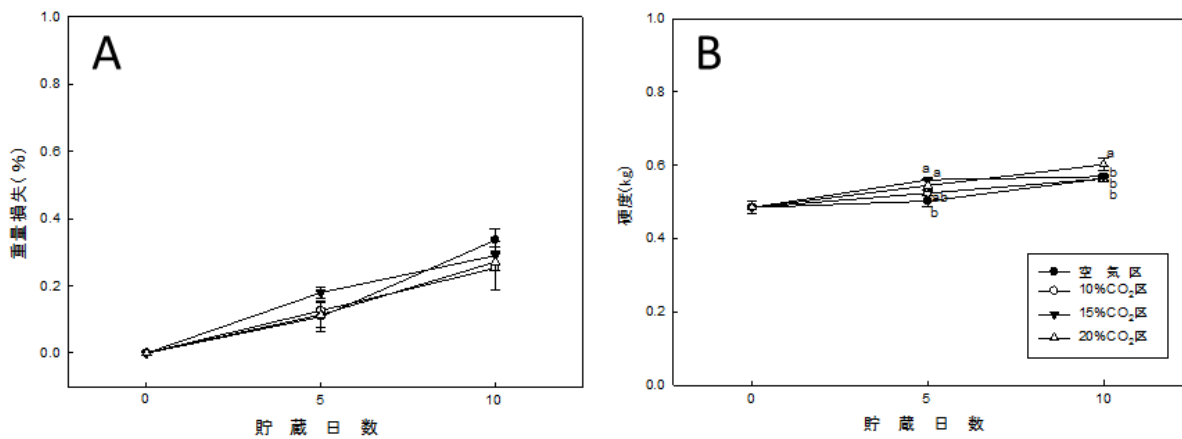


図1-18. 5℃で10日間の active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘まりひめ’の重量損失（A）および硬度（B）

異なるアルファベットは、果実硬度における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

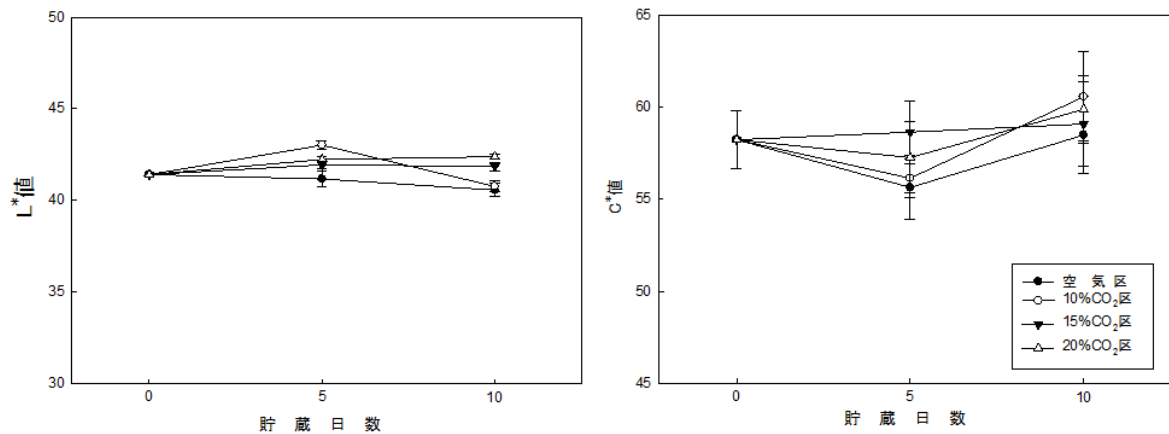


図1-19. 5°Cで10日間の active MAP貯蔵（10%、15%および20%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘まりひめ’の果実の表面色（L*値：左、C*値：右）

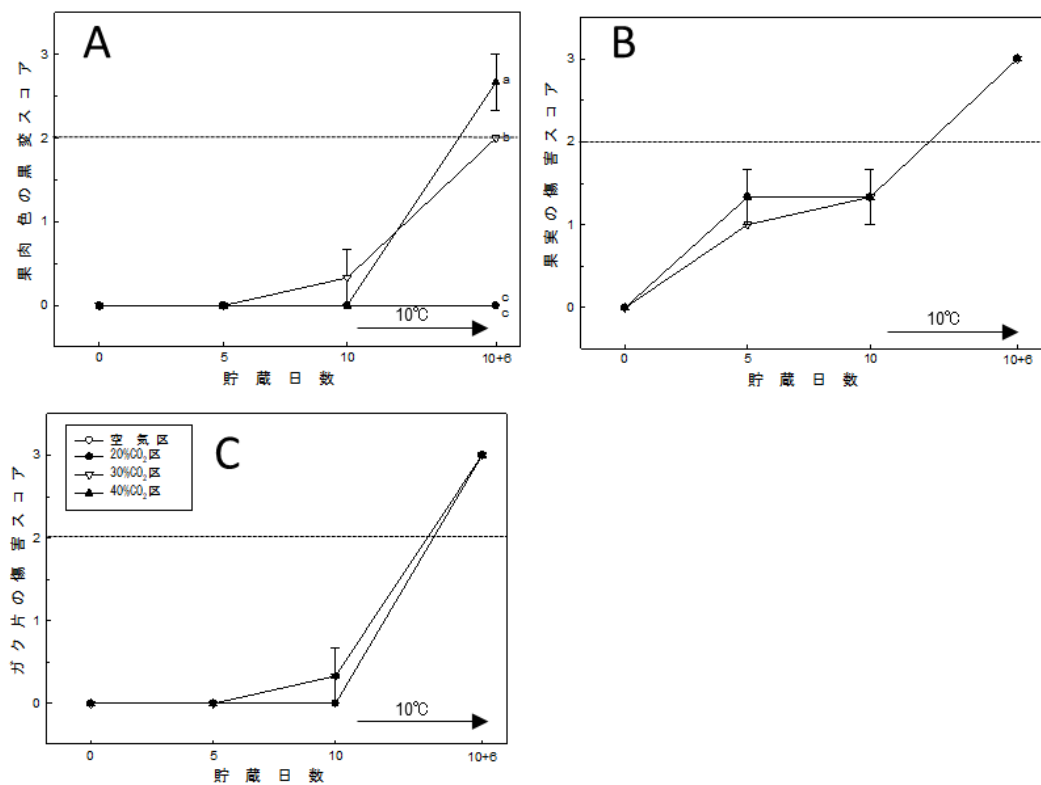


図1-20. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで6日間の貯蔵したイチゴ‘美濃娘’外観評価（A:果肉の黒変、B:果実の傷害、C:ガク片の褐変）

異なるアルファベットは、果肉の黒変の項目の同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す
破線：各評価項目の商品限界値を示す

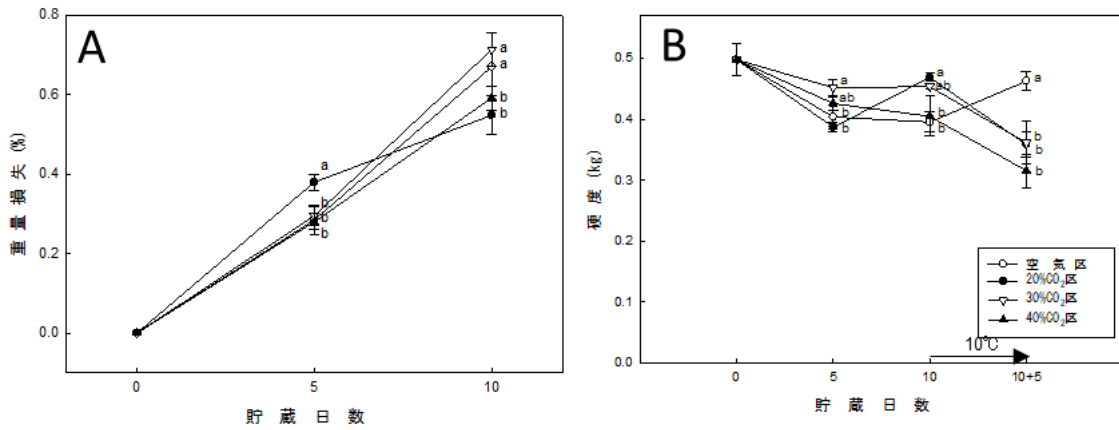


図1-21. 5°Cで10日間の active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘美濃娘’の重量損失（A）および5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで5日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’の果実硬度（B）

異なるアルファベットは、各項目内における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す。

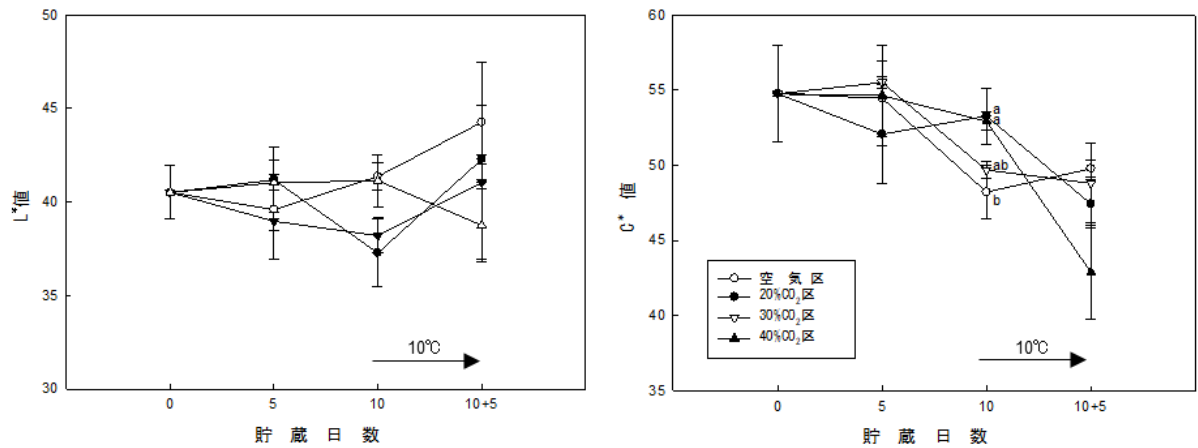


図1-22. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで5日間貯蔵したイチゴ‘美濃娘’の果実の表面色（L*値：左、C*値：右）

異なるアルファベットは、C*値における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

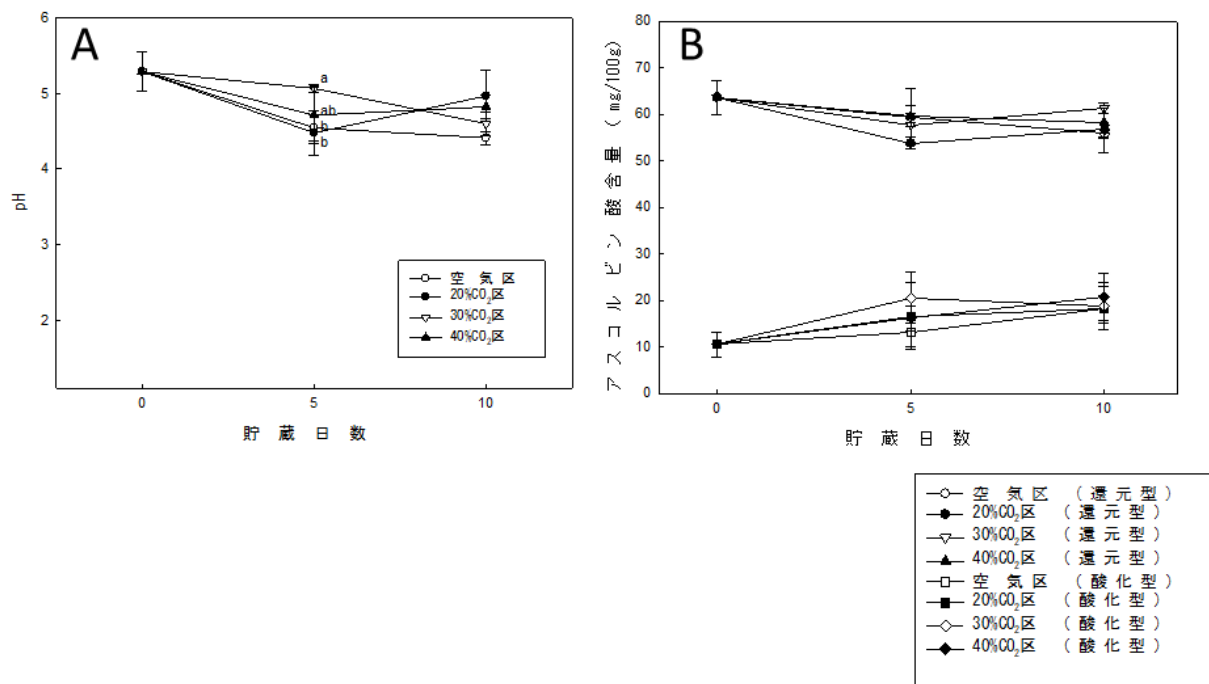


図1-23. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（20%、30%および40%CO₂ガス充填）中のイチゴ‘美濃娘’の果実表面のpH（A）およびアスコルビン酸含量（B）

異なるアルファベットは、果実表面のpHにおける同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す。

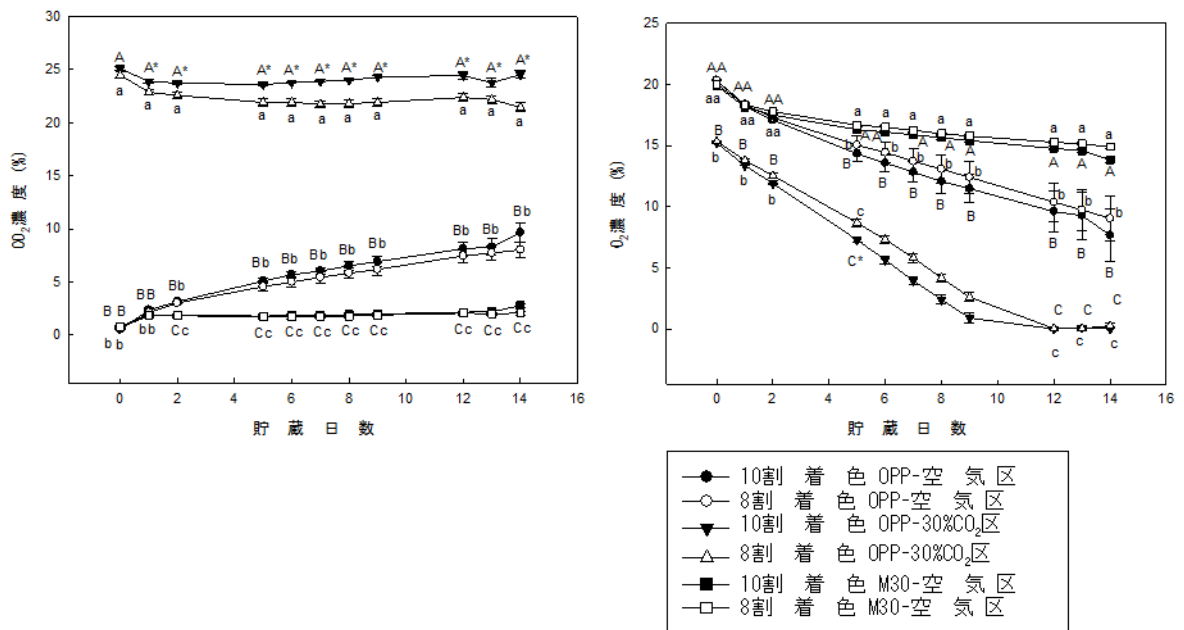


図1-24. 10割および8割着色で収穫したイチゴ‘とちおとめ’を1℃で14日間の active MAP貯蔵（30%CO₂ガス充填）中のフィルム内のCO₂濃度（左）およびO₂濃度（右）

異なるアルファベットは、各項目内における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

*：各項目内における同一貯蔵日での10割着色および8割着色収穫の間の5%水準における有意差を示す

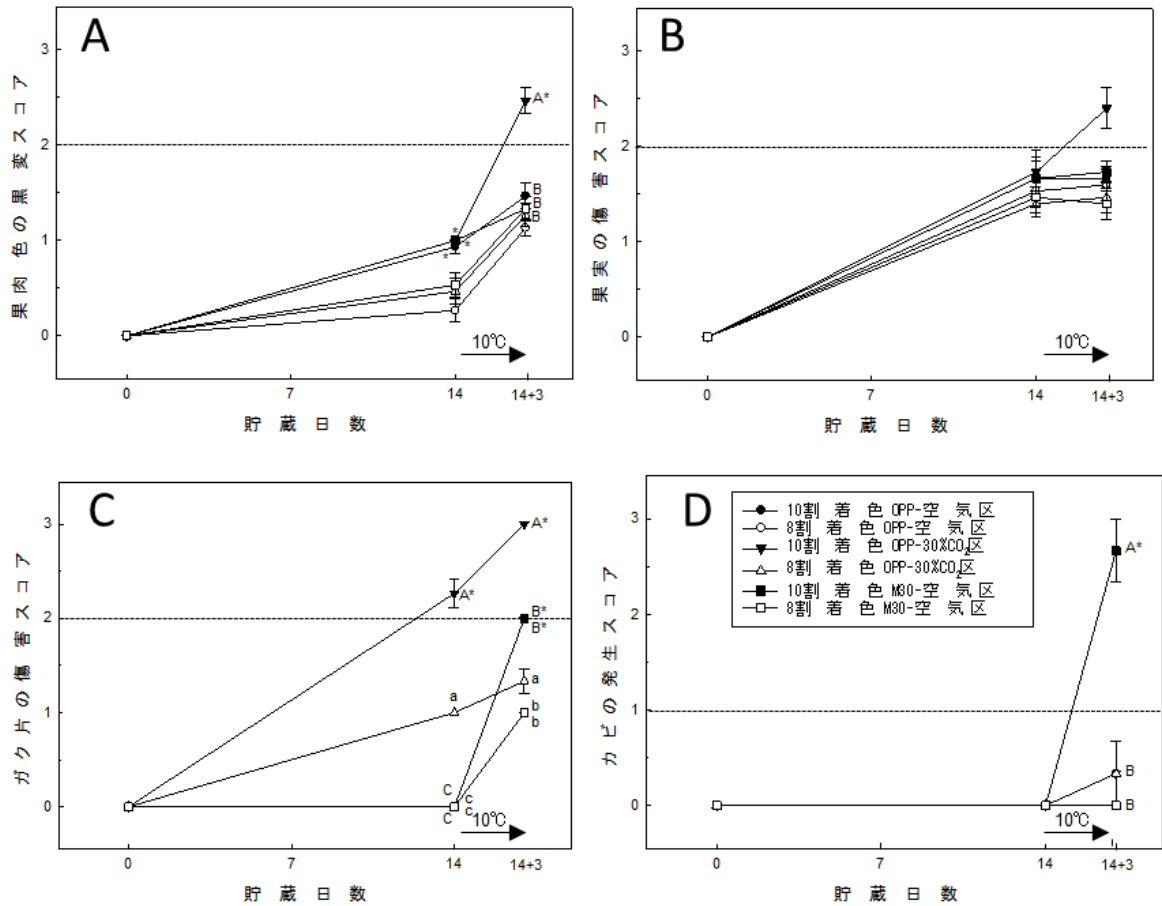


図1-25. 1°Cで14日間 active MAP貯蔵 (30%CO₂ガス充填) した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵した10割および8割着色で収穫したイチゴ‘とちおとめ’の外観評価 (A:果肉の黒変、B:果実の傷害、C:ガク片の褐変、D:カビの発生)

異なるアルファベットは、各項目内における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

*: 各項目内における同一貯蔵日での10割着色および8割着色収穫の間の5%水準における有意差を示す

破線: 各評価項目の商品限界値を示す。

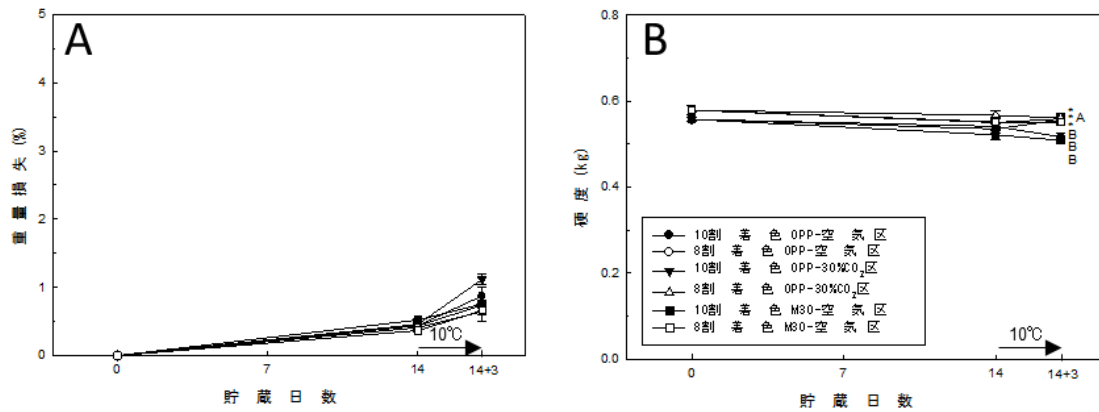


図1-26. 1°Cで14日間 active MAP貯蔵（30%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵した10割および8割着色で収穫したイチゴ‘とちおとめ’の重量損失（A）および硬度（B）

異なるアルファベットは、硬度における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

*：硬度における同一貯蔵日での10割着色および8割着色収穫の間の5%水準における有意差を示す

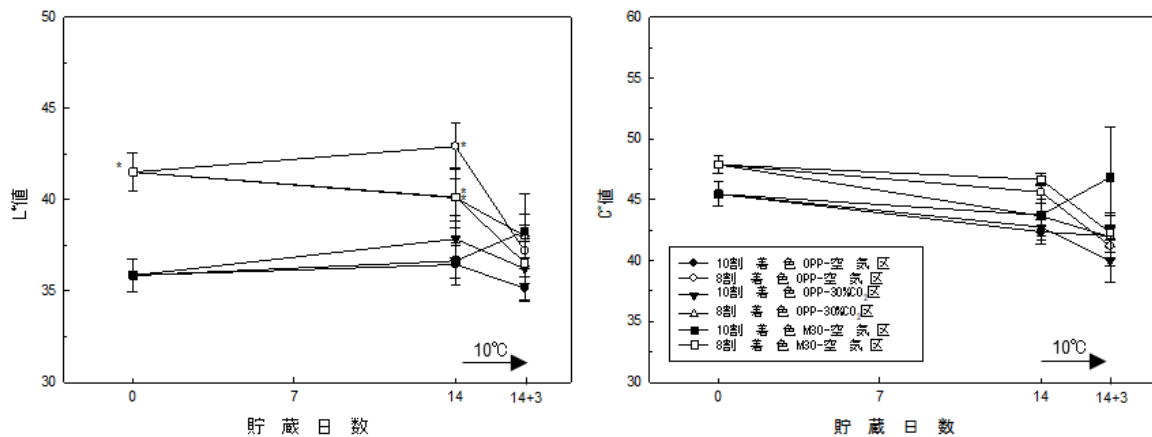


図1-27. 1°Cで14日間 active MAP貯蔵（30%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵した10割および8割着色で収穫したイチゴ‘とちおとめ’の果実の表面色（L*値：左、C*値：右）

*：各項目内における同一貯蔵日での10割着色および8割着色収穫の間の5%水準における有意差を示す

第3節 高CO₂ MAパレット輸送

1. 材料および方法

1) 供試材料

栃木県産‘スカイベリー’の1ケース2パック入りを passive MA 区および active MA 区用の検体として各 320 ケースと対照区用の検体として 30 ケースを準備し、試験に供試した。また、栃木県産‘スカイベリー’は、平トレーを使用した1段積み of 包装形態のイチゴを使用した。2019年3月3日中に産地から購入したイチゴを埼玉県戸田市の JA 全農青果センター株式会社（東京センター）に冷蔵輸送し、翌3月4日まで冷蔵貯蔵し、供試した。

2) MA パレット処理および保存条件

MA パレット処理は JA 全農青果センター株式会社で作業を行った。木製パレットの上に同サイズの段ボールを設置し、その上に塩化ビニール製のフィルムを設置し、その上に供試検体のイチゴを図1-28および29の状態に積載した。積載したイチゴの上からアドフレッシュ M30（OTR=14000ml/m²/day/atm、1,200mm×1,200mm×1500mm、厚さ：50μm、三井化学社製）を被せ、被せたフィルムと塩化ビニール製のフィルムをガス透過のないセロテープを用いて、封函した。封函後、passive MA 区についてはガス充填を行わず空気組成で、active MA 区については、40%CO₂ガス（バランス：空気）を充填および脱気を3回くり返し、フィルム内のCO₂濃度が20%となるように置換した（図1-30および31）。また、対照区については、木製パレットの上に設置した（図1-32）。その後、各パレットは、コンテナ内温度を1℃に設定した20フィートの冷蔵機能付きのコンテナに積載し、輸送を開始した。

3) 輸送経路

イチゴを積載したコンテナは、3月4日AM11:00にJA全農青果センター株式会社を出発し、横浜港まで陸路で輸送された。その後、3月5日に船への積載が行われ、海上輸送が行われた。3月16日にシンガポールの港に到着後、3月17日に陸路でイースタングリーン社倉庫に輸送された後、3月18日にイースタングリーン社倉庫で荷下ろしおよびフィルムの開封の作業が行われた。その後、イチゴの分析および消費

者までの消費を想定とした 10℃貯蔵を行うことを目的に三井化学株式会社の三井化学シンガポール R&D センターに冷蔵輸送した。

4) 測定項目および方法

測定項目としては、輸送中の環境測定およびイチゴの分析（外観評価および重量損失、果実硬度）をそれぞれ実施し、イチゴの分析に使用したサンプルは、MA パレット内の図 1-29 の位置のサンプルを供試した。イチゴの分析については、輸送前および到着時、到着後貯蔵 2 日目まで分析し、その結果をそれぞれ示した。

(1) 環境測定

i) 輸送中の温湿度および振動衝撃分析

輸送中の温度および湿度の分析は、温湿度データロガー（T&D 社製：TR-72nw）を用いて、分析を行った。温湿度データロガーの設置場所は、輸送用の冷蔵コンテナ内および passive および active MA 区の各段ボール内、対照区の段ボール内にそれぞれ設置し、10 分間隔での分析を実施した。振動衝撃の分析は、振動衝撃測定用のデータロガー（スリック社製：G-MEN DR20）を用いて分析し、代表値として、passive MA 区の木製パレット部に設置し、1 分間に検知した最も大きい上下の振動衝撃値を測定し、結果については、単位を G で示した。

ii) MA パレット内のガス濃度測定

MA パレット内のガス濃度は、積載前の MA パレット処理終了後と現地荷下ろし時に CO₂・O₂ アナライザー（mocon 社製：Check Point3）を用いて分析した。分析は、MA パレットの上中下の 3 か所の測定を行い、結果については、その平均値を示した。

(2) 外観評価

i) カビの発生割合

カビの発生割合は、積載位置の違いによる振動の影響を考慮し、MA パレット内の積載場所の異なる 4 か所から各 1 ケース（2 パック）計 8 パックを 1 反復として、計 5 反復におけるカビの発生割合をパック単位で分析し、その平均値を示した。また、MA パレット試験におけるカビの発生評価については、カビの発生程度に関わらず、その有無のみで判定し、その発生割合を算出した。

ii) 商品性評価

カビの発生割合を評価した検体と同様の検体を用いて、商品性の評価を行った。商

品性評価については、傷みや潰れ、果皮色、カビの発生、果梗部の状態を総合的に評価し、0から4の5段階評価で実施し、その評価基準は、0：輸送前の状態、1：やや傷みが発生、2：傷みが発生、3：商品限界、4：過度な傷みおよびカビの発生を基に評価した。また、結果については、それぞれの処理区ごとの商品性が分かるようにそれぞれの評価指数が占める割合を処理区ごとに示した。

(3) 重量損失

MA パレット最上段の5ケースに含まれる5パックの貯蔵前後の重量を測定し、その減少割合から重量損失を%単位で算出し、5パックの平均値をそれぞれ示した。

(4) 果実硬度

果実硬度の測定は、MA パレット最上段のサンプルを用いて、果実1個につき、2か所の分析を行い、1パックにつき3個の計3パックの分析で得られた18の測定値の平均値を結果として示した。

5) 統計分析

イチゴの品質評価におけるカビの発生割合、重量損失および果実硬度の処理区間の比較は、ANOVAによる分散分析を行い、各処理区の平均値をTukeyによる多重比較により5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2. 結果および考察

現在、日本では青果物の新たな需要の創出を目的とした青果物輸出が積極的に行われている^{6)、7)}。しかし、国産の青果物の現地での販売価格は高く、それが輸出拡大における一つの障壁となっている。それを改善するために航空輸送から海上輸送切り替えによる輸送コスト低減に向けた取り組みが進められており、農業・食品産業技術総合研究機構を中心とした革新的技術開発・緊急展開事業（うち先導プロジェクト）の中では、輸出の大幅な低コスト化に向けた鮮度保持技術の開発が行われている⁴⁴⁾。また、現在の国産青果物の輸出は、単一の青果物による輸出はほとんど行われておらず、その多くが冷蔵コンテナを用いた混載輸送による輸出である。そこで、コンテナ単位で最適な雰囲気調整する CA コンテナではなく、国内の青果物輸出の現状に合わせたパレット単位での輸送が可能な MA パレットを用いて、イチゴの輸出を想定とした高 CO₂ active MAP 貯蔵がイチゴの微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響をシンガポールへの輸送試験の結果から評価した。

1) 輸送環境

シンガポールに向けたイチゴ輸送中の環境条件の測定として、輸送中の温湿度および振動衝撃の項目の測定を行った（図 1-33 および 34）。輸送中のコンテナ内の設定温度は、1℃設定での輸送を行ったが、実際の輸送中の温度については、1から2℃内のほぼ設定どおりの輸送が行われ、その際のコンテナ内の湿度は、70 から 80%の間で推移した。一方で、各処理区内のイチゴケース内に設置したデータロガーが検出した輸送中の温度は、MA パレット処理をした active MA 区および passive MA 区ともに対照区よりも高い温度で推移し、両処理区ともに積載後の温度の低下が遅く、active MA 区では輸送 5 日後の 3 月 9 日に 3.8℃と最も低い値を示した後は、徐々に上昇し、輸送終了時では、5.5℃に達していた。一方で、passive MA 区では、輸送期間を通して、active MA 区よりも低い温度で推移し、輸送 5 日後の 3 月 9 日に 3.0℃と最も低い値を示した後、同様に上昇し、輸送最終時には 4.0℃であった。一方で、フィルムでの包装がない対照区では、輸送 3 日後以降は、輸送終了時まで 2℃で推移した。MA パレットでの輸送中の温度が高くなることは、Harvey ら⁴⁵⁾によって報告されており、本試験においても同様の結果となった。一方で、各処理区の輸送中の湿度は、すべての処理区で緩やかに上昇し、passive MA 区の湿度が他の 2 処理区よりわ

ずかに高い値を示したが、すべての処理区で 75 から 85%程度の間で推移した。イチゴにおける最適な湿度は、85 から 90%とされており⁴⁶⁾、本試験の輸送では、それよりもやや低い湿度条件での輸送となった。

輸送中の振動衝撃値は、船への積載が行われた 3 月 5 日に最も大きな振動衝撃が確認され、これは船へのコンテナ積載時に加えられた衝撃であると考えられた(図 1-34)。その後の海上輸送中は、3 月 8 日の原因不明の振動衝撃を除けば、大きな振動衝撃が加えられることなく輸送が行われた。3 月 16 日のシンガポール到着時には、再び船からの積み下ろしと考えられる振動衝撃が確認され、その後、シンガポールでの陸路での輸送の積み下ろし時にそれぞれ、大きな振動衝撃が確認された。遠藤ら⁴⁷⁾は、本試験と同様にシンガポールへの海上輸送でのイチゴ輸送中の振動衝撃値の測定を行い、その結果について報告している。その報告においても本試験と同様に船への積載時および積み下ろし時に最も大きな振動衝撃が検出されることを報告しており、その振動衝撃値は、本試験と同程度の値であり、本試験の輸送時に得られた振動衝撃は、海上輸送時の一般的な振動衝撃であったと考えられた。しかし、現地到着時のイチゴの状態は、図 1-35 の通り、荷崩れの発生が確認された。また、輸送前後の MA パレット内のガス組成は、処理直後の輸送開始時の active MA 区では、CO₂ 濃度が 16.0%、O₂ 濃度が 17.2%であり、ガス充填を行っていない passive MA 区では、CO₂ 濃度が 0.6%、O₂ 濃度が 20.6%であった(表 1-6)。これが輸送後の荷下ろし時には、active MA 区では CO₂ および O₂ 濃度の減少が確認され、それぞれの濃度は、8.9%および 10.3%であった。一方で、passive MA 区では、CO₂ 濃度の蓄積および O₂ 濃度の減少が確認され、それぞれの濃度は、6.6%および 13.7%であった。

2) 品質評価

このような輸送環境で輸出が行われたイチゴ‘スカイベリー’の微生物学的品質および生理・生化学的品質を評価するため、現地でも分析可能な外観評価によるカビの発生割合および商品性評価、重量損失、果実硬度の分析をそれぞれ実施した。輸送後のイチゴのカビの発生は、国内流通を想定した個包装での貯蔵試験では確認されない高い割合でのカビの発生が確認され、これは荷崩れの発生が影響したと考えられた(図 1-36)。イチゴ果実への物理的な傷害がその後の貯蔵性に影響を及ぼすことが多々良ら⁴⁸⁾によって報告されており、本試験の結果においてもこのことが大きく影響した

と考えられた。しかし、このような状況下においても active MA 区は、passive MA 区および荷崩れの発生がなかった対照区のイチゴよりカビの発生が少なく、MA パレットにおいても高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用によるカビの発生抑制効果が確認された。Macnish ら⁴⁹⁾ は、本試験と同様に MA パレットでの高 CO₂ active MAP 貯蔵が輸送中および輸送後のイチゴの品質に及ぼす影響を検討し、MA パレットでの高 CO₂ active MAP 貯蔵で維持された 11 から 16%の CO₂ 雰囲気腐敗の発生を抑制することを報告しており、本試験の結果はこの報告と同様となった。商品性評価の結果では、passive MA 区および対照区の評価でカビの発生が確認されたこともあり、評価 3 の商品限界値に達した割合が到着時で 90%に達しており、その後の現地での 10℃貯蔵 1 日目ではすべてのイチゴで評価 4 となった。しかし、active MA 区の商品性評価の結果は、現地到着時では 45%が販売可能な評価 2 以下を占め、その後の現地での 10℃貯蔵 1 日目では 30%を維持した。輸送後の各処理区の重量損失の割合は、passive MA 区が active MA 区および対照区よりも高い 1.2%を示し、その後貯蔵中にもその傾向が維持された (図 1-37A)。重量損失の進行は、振動衝撃を受けた程度にも影響を受けると考えられるため、そのことが本試験の結果にも影響を及ぼしたのかもしれない。輸送後の各処理区の果実硬度は、輸送直後およびその後の現地貯蔵 1 日目まですべての処理区で果実硬度の維持が確認され、処理区による影響は確認されなかった (図 1-37B)。しかし、貯蔵 2 日目では、すべての処理区で顕著な果実硬度の低下が確認され、これはイチゴ果実の腐敗による果実硬度の低下が影響したと考えられた。

また、航空輸送から MA パレットを用いた高 CO₂ active MAP 貯蔵による海上輸送への切り替えが輸送コストに及ぼす影響を考察するため、各輸送方法のコスト試算を実施した。その結果、海上輸送にすることで、コンテナの輸送費が大幅に削減され、1 パックにかかる輸送コストが MA パレット処理を行ったとしても航空輸送よりも大幅に低くすることが可能であった (表 1-7)。そのため、現地でのロスを経済的に航空輸送の 85%に見積もり、現地での販売価格を低く設定したとしても 1 パックあたりの利益を高く維持することが可能であった。

以上より、シンガポールへのイチゴ輸送時における MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用は、国内の流通を想定した個包装試験の結果と同様に、カビの発生を抑制およびそれに伴う商品性の維持が可能であることが明らかとなった。

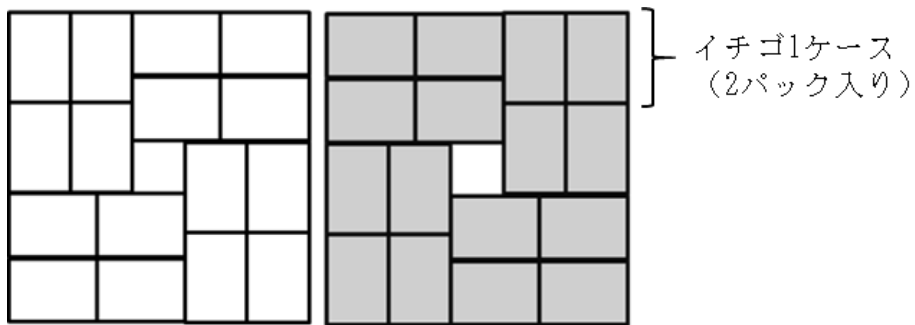


図 1 -28. MAパレットに設置したイチゴのケースの上からの配置図 (左) 1, 3段目 (右) 2, 4段目

イチゴ1ケース
(2パック入り)

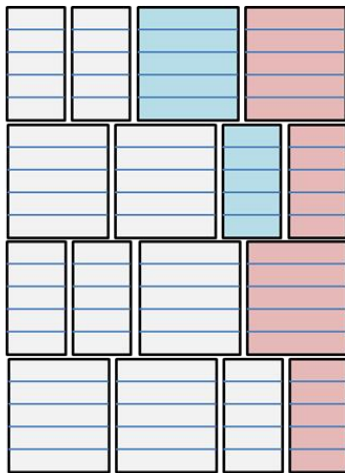


図 1 -29. MAパレットに設置したイチゴのケースの横から配置図 (左) とその外観写真 (右)

赤色か所：外観評価用に使用したイチゴの配置箇所
青色か所：重量損失および果実硬度の分析に使用したイチゴの配置箇所

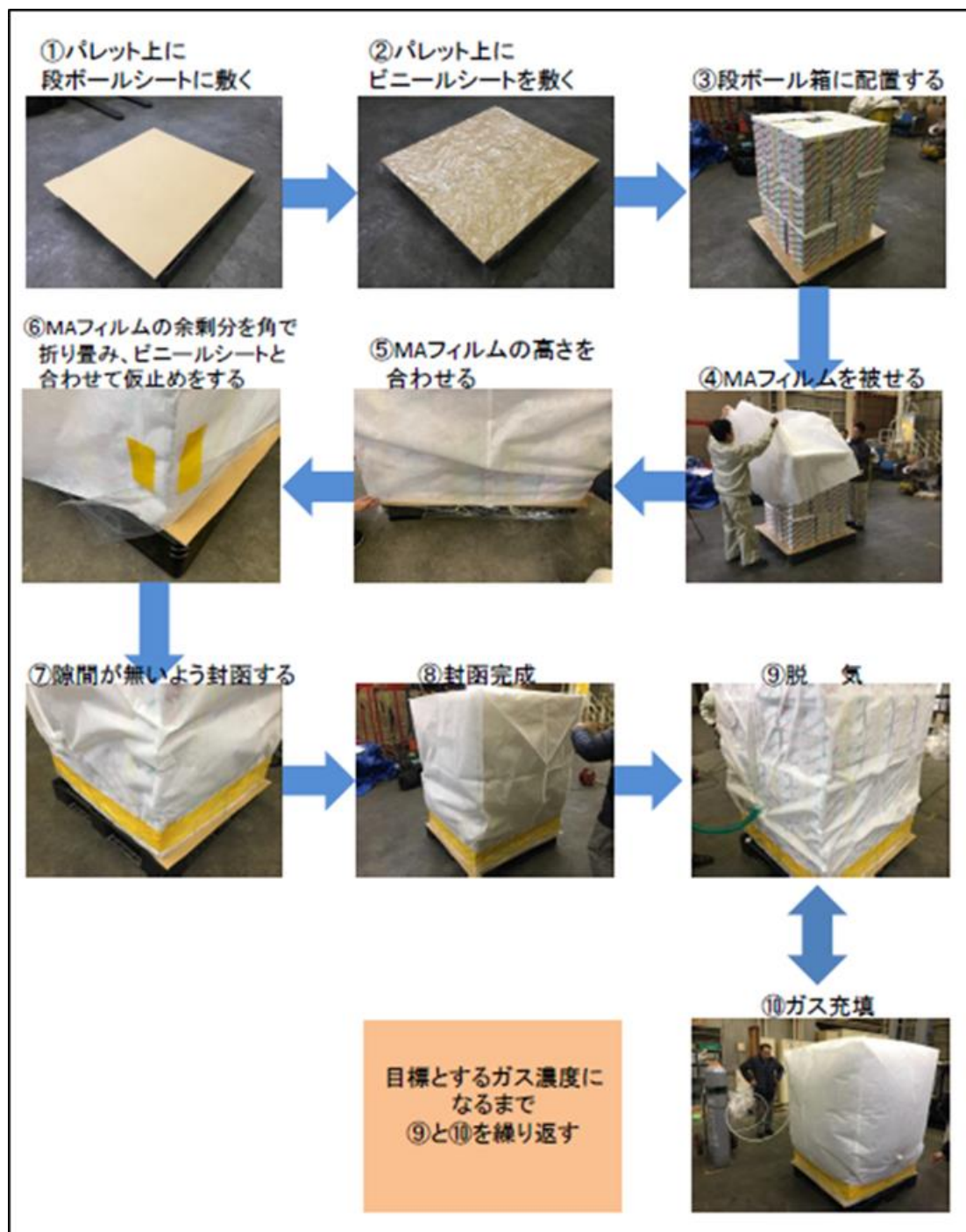


図 1 -30. MAパレット処理作業概要



図 1 -31. MAパレット処理後の状態（左）およびコンテナへの積載作業（右）



図 1 -32. 対照区の輸送形態

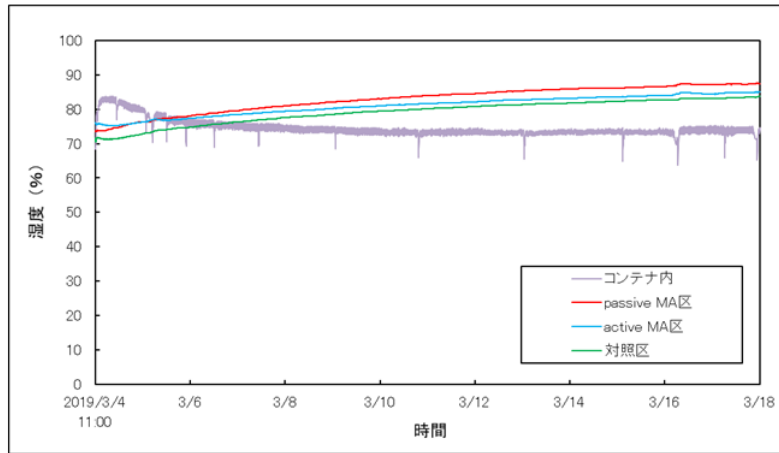
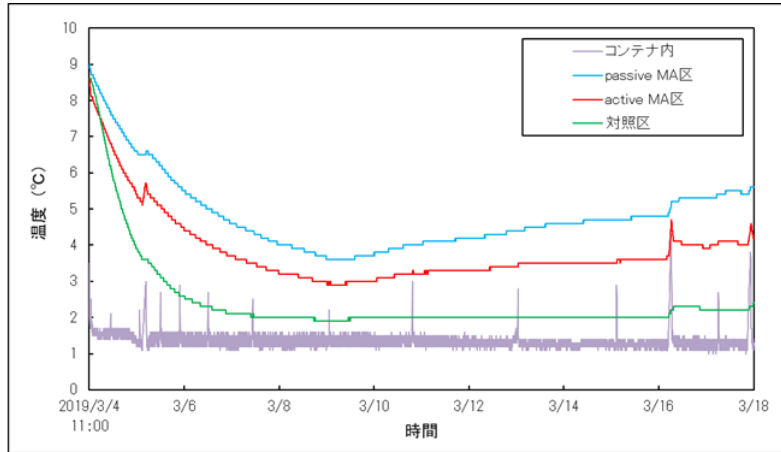


図 1 -33. シンガポールへの輸送中のコンテナ内およびMAパレット (passiveおよびactive) と对照区のイチゴのケース内の温湿度状況 (上: 温度、下: 湿度)

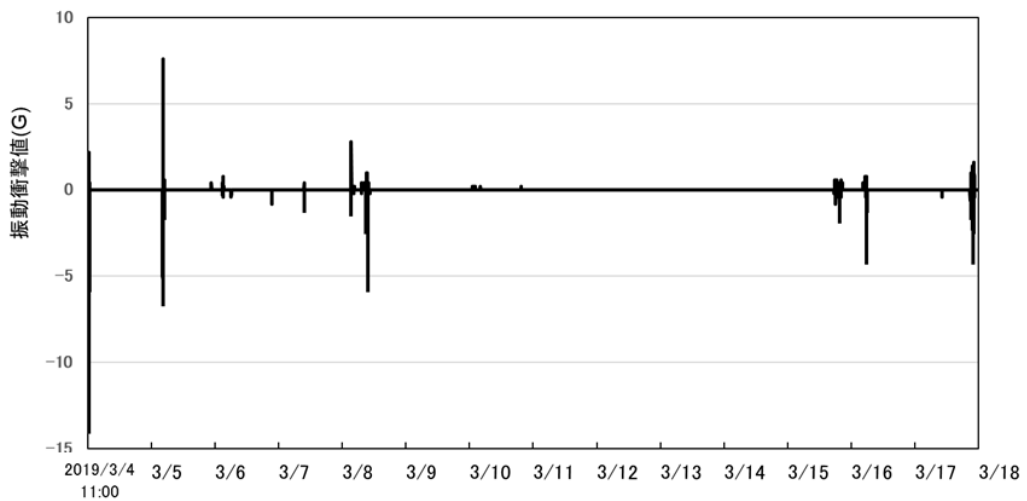


図 1 -34. シンガポールへの輸送中のコンテナ内から検出された振動衝撃値



図1-35. シンガポールでの荷下ろし時（上）およびMAパレット開封後（下）のイチゴの様子

表1-6. シンガポールへの輸送前後のMAパレット(passiveおよびactive)のフィルム内およびコンテナ内のCO₂およびO₂濃度

分析実施	処理区					
	passive MA区		active MA区		コンテナ内	
	O ₂ 濃度(%)	CO ₂ 濃度(%)	O ₂ 濃度(%)	CO ₂ 濃度(%)	O ₂ 濃度(%)	CO ₂ 濃度(%)
輸送前	20.6	0.6	17.2	16.0	-	-
輸送後	13.7	6.6	10.3	8.9	20.3	0.6

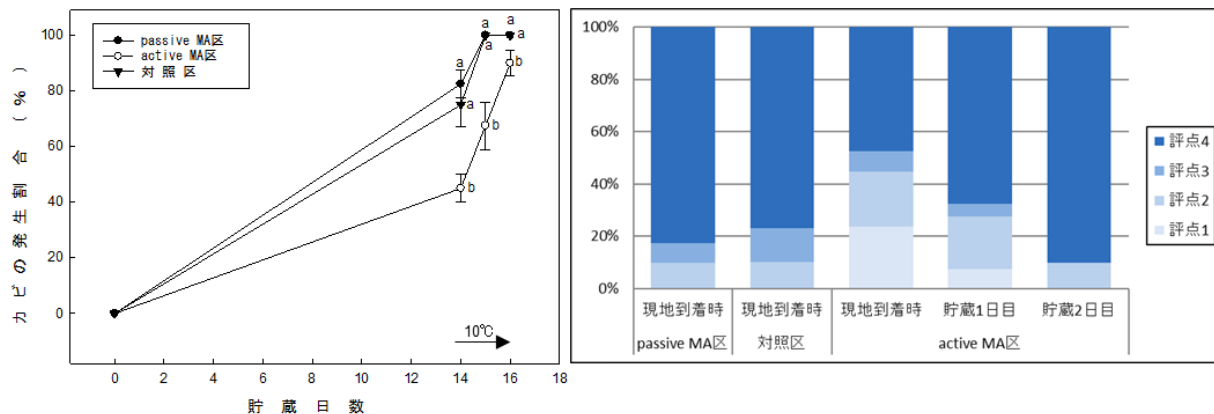


図1-36. 1°Cで14日間、MAパレット (active およびpassive) による海上輸送した後、フィルムを開封し、10°Cで2日間の貯蔵したイチゴ‘スカイベリー’のカビの発生割合 (左) および商品性評価 (右)

異なるアルファベットは、カビの発生割合における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す
 商品性評価における評点は、1：やや傷みが発生、2：傷みが発生、3：商品限界、4：過度な傷みおよびカビの発生を基に評価

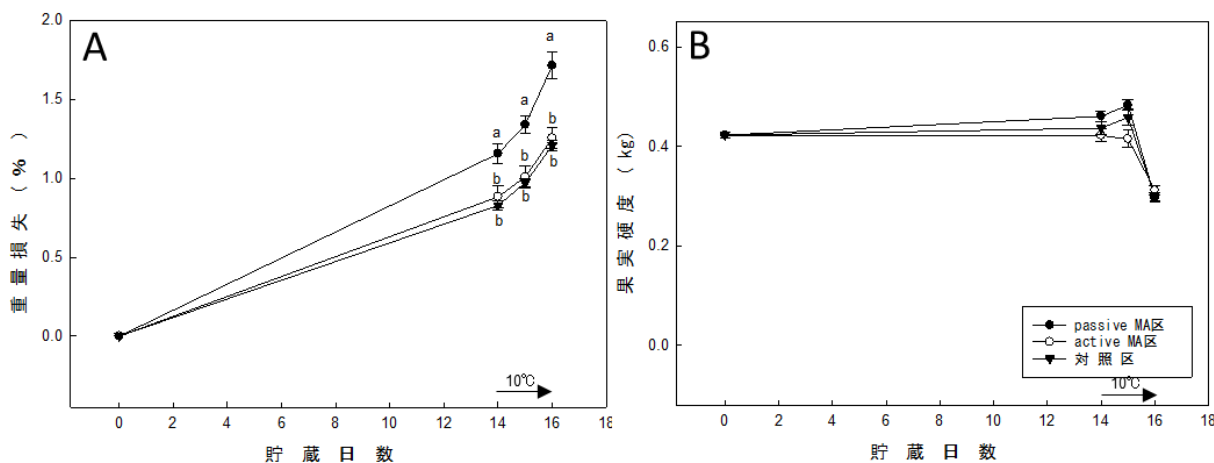


図1-37. 1°Cで14日間、MAパレット (active およびpassive) による海上輸送した後、フィルムを開封し、10°Cで2日間の貯蔵したイチゴ‘スカイベリー’の重量損失 (A) および果実硬度 (B)

異なるアルファベットは、重量損失における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

表1-7. シンガポールへの航空輸送およびMAパレットによる高CO₂ active MAP貯蔵を用いた海上輸送のコスト試算

項目	海上輸送 (FCコンテナ:20フィート)		備考
	航空輸送	MAパレット (8パレット積載)	
1コンテナ当たりのイチゴ代 (B)	(円)	1,536,000	192,000
イチゴ単価 (1パック)	(円)	300	300
1コンテナ積載量 (パック数)	(ケース/パック数)	2,560 (5,120)	320 (640)
出荷経費合計 (C)	(円)	315,328	35,892
コンテナ輸送費 (e)	(円)	253,728	28,192
出荷資材費合計 (b)	(円)	49,600	6,200
フィルム代	(円)	48,000	6,000
充填ガス代	(円)	1,600	200
出荷作業費 (c)	(円)	12,000	1,500
イチゴ1パック当たりの輸送費	(円/1パック)	61.6	56.1
イチゴ現地販売収益 (A)	(円)	1,249,280	446,080
イチゴ現地販売価格	(円)	976	820
現地単価 (1パック)	(\$)	11.9	10
シンガポールドル(レート)	(円/\$)	82	82
可販率	(%)	100%	85%
粗収益 (1コンテナ) (D)	(円)	108,220	218,188
粗収益 (1パック)	(円)	845	340.9

MAパレット輸送時の試算: 20フィートコンテナに最大積載可能な8パレット積載の場合 (イチゴMAパレットのみ積載を想定) と1パレットのみ積載の場合をそれぞれ試算
MAパレット (8パレット積載) がコストが高くなる理由: 20フィートコンテナは、8パレット+バラ1パレット積載のため、1パレット分コンテナ輸送費でマイナスが発生するため
航空輸送費: 輸送関税5,900円を除いた金額で算出

MAパレット (1パレット積載) MAパレット (1パレット積載)
= a+b+c
MAパレット (1パレット積載) は、積載量の1/9として計算
三井化学回答金額 (出荷量次第)
= 時給1,500円 × 3人 / 20分 × 1パレット作成
出荷経費合計 / イチゴのパック数
= D / パック数
4月時イチゴ価格 (全農シンガポール事務所調べ)
5月時レート
現地販売可能割合
= A-B-C

第4節 総合考察

ベリー類果実であるイチゴは、ポストハーベスト病害の発生が国内の市場流通における課題となっている。また、イチゴは、青果物輸出における主要品目であり、海上輸送による輸出拡大を実現する上でもその改善に取り組む必要がある。そこで、国産イチゴ果実‘美濃娘’、‘まりひめ’および‘とちおとめ’を対象に、イチゴの主要なポストハーベスト病害である灰色カビ病の発生抑制に効果があるとされる高 CO₂ 雰囲気での貯蔵がイチゴの貯蔵中の微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響を高 CO₂ CA 貯蔵を用いて評価し、最適な CO₂ 濃度の決定を行った。その後、その決定した高 CO₂ 濃度を基に作製した国内流通を想定した個包装および海上輸送を想定した MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用が、イチゴの品質に及ぼす影響を評価した。

その結果、20%、30%および40%による高 CO₂ CA 貯蔵が貯蔵中のイチゴの微生物学的品質に及ぼす影響について確認すると、空気での貯蔵に比べて、20%以上の高 CO₂ 雰囲気で貯蔵されることで、真菌数の増加抑制および外観評価におけるカビの発生を抑制することが可能であった。一方で、生理・生化学的品質に及ぼす影響は、30%以上の高 CO₂ 雰囲気で貯蔵されることによって、果肉色の黒変およびガク片の褐変を引き起されることが確認され、高い微生物学的品質を維持することができたとしても30%以上の CO₂ 濃度で貯蔵されることは、避けられるべきであることが確認された。そのため、本試験の結果からは、CA 貯蔵における最適な CO₂ 濃度は、20%であると決定された。高 CO₂ 雰囲気が微生物の増殖に直接的に影響を及ぼすことは、García-Gimeno ら¹⁵⁾ や Hoogerwerf ら³³⁾ の *in vitro* 試験や本試験のイチゴに発生したカビを用いた *in vitro* 試験により確認されており、これは高 CO₂ 雰囲気が微生物の代謝や細胞膜の機能性等に影響を及ぼすためであるとされている。一方で、Molin⁵⁰⁾ は、高 CO₂ 雰囲気での貯蔵が微生物に対する青果物の抵抗性を維持し、それにより微生物が増殖しにくい状態を作ること報告している。そのため、本試験の高 CO₂ 雰囲気によるカビの増殖抑制についても高 CO₂ 雰囲気がイチゴ上の微生物およびイチゴの双方に影響を及ぼし、カビの増殖抑制を引き起こしたと考えられた。

決定した最適な CO₂ 濃度である20%の CO₂ ガスを基準に作製した国内流通を想定した高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用が、微生物学的品質に及ぼす影響を評価すると、

20%以上の CO₂ ガスの充填により、貯蔵期間を通して、20%またはそれ以上の CO₂ 濃度の維持が可能であり、その雰囲気での貯蔵が passive MAP 貯蔵となる空気区よりもカビの発生を抑制できることが明らかとなった。これは、海外産イチゴ‘Honeoye’および‘Korona’²⁹⁾と同様の結果である。しかし、12月収穫のイチゴを用いた高 CO₂ active MAP 試験の結果では、同様の 20%CO₂ のガス充填を行い、貯蔵中も 20%程度の CO₂ 濃度の維持が行われたが、空気区との間で有意な差が確認されたのは、わずかに低い真菌数のみであった。これは、12月収穫のイチゴは、収穫時期の初期にあたり、5月収穫の果実の軟化が進みやすいイチゴに比べて、微生物学的品質の維持が容易であったことが影響し、passive MAP 貯蔵となる空気区でも微生物学的品質の維持が可能であったためであると考えられた。一般的に active MAP 貯蔵は、passive MAP 貯蔵より最適な雰囲気になるのが早く、それによりその雰囲気による効果が得やすいとされており³⁰⁾、本試験の接種試験の結果からも微生物汚染度が高い場合にその傾向が確認された。また、接種試験の結果では、CO₂ 濃度の蓄積が行われなかった区よりも CO₂ 濃度の蓄積が行われた貯蔵区の方がカビの発生を抑制することが可能であったことも確認された。一方で、高 CO₂ active MAP 貯蔵が生理・生化学的品質に及ぼす影響は、30%および 40%の CO₂ ガス充填を行った処理区で、貯蔵後も 20%以上を維持した場合には、生理障害と判断された¹⁹⁾ 果肉色の黒色化の発生が確認されており、微生物学的品質の維持に有効であったとしても、CO₂ 濃度が 20%を超えて維持されるような CO₂ 濃度のガス充填やフィルムの選択は避けられるべきであると考えられた。また、この黒色化の発生については、果実の着色割合が低い 8 割着色果では 10 割着色果で黒色化の発生が確認される濃度であっても、果肉色の黒変は確認されないことが本試験からは確認されており、高 CO₂ active MAP 貯蔵における果肉色の黒変のリスクを下げるのに役立つかもしれない。

輸出を想定とした MA パレットでの高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用が品質に及ぼす影響の評価については、実際のシンガポールへの輸送試験によって確認した。16%の CO₂ ガスの充填が行われた MA パレットのシンガポールへの輸送後のフィルム内の CO₂ 濃度は、約 9%であった。このような CO₂ 濃度で維持されたイチゴの微生物的品質に与える影響は、MA パレットの passive MA 区および空気区よりも顕著にカビの発生を抑制することが可能であった。しかし、本試験での MA パレットの active MA

区であっても、荷崩れの発生もあり、40%ものカビの発生が確認されており、実用化のためには更なる改善が必要である。イチゴへの物理的な傷害は、カビの発生を助長することが報告されており、遠藤ら⁴⁶⁾は衝撃緩衝用機能のあるパックとMA貯蔵との組み合わせによって、カビの発生を抑制することが可能であることを報告している。MAパレットによる高CO₂ active MAP貯蔵についても包装資材等による物理的な傷害の抑制を行うこのような技術との組み合わせは可能であり、その点については今後の検討課題である。

以上より国産のイチゴのCA貯蔵中の最適なCO₂濃度は、20%であり、高CO₂ active MAP貯蔵でその雰囲気を再現することで、国内流通を想定した個包装および輸出を想定としたMAパレットともに過度な雰囲気による果肉色の黒変等の負の影響を与えることなく、カビの発生抑制が可能であり、国内流通でのフードロスの低減や海上輸送による輸出の拡大等に活用可能な技術であることが明らかとなった。

第2章 ブドウ果実

第1節 高 CO₂ CA 貯蔵

1. 微生物学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

本試験では、国産のブドウ品種の中でも貯蔵中のポストハーベスト病害が発生しやすいとされているブドウ‘デラウェア’を供試した。2017年6月25日に収穫した島根県産ブドウ‘デラウェア’（JA 島根）を50房購入し、10℃で冷蔵輸送を行い、輸送後の6月26日に果実の痛みや脱粒の発生のない39房（1房の平均重量：147.2±2.1g）を選定し、供試した。

(2) 高 CO₂ CA 貯蔵

ブドウへの高 CO₂ CA 貯蔵は、ブドウを房ごとトレーに置き、処理区ごとに準備した7L容のデシケーターに貯蔵5および10日目の分析用に6房、その後の空気環境下の貯蔵後の分析用に3房を置き、乾燥防止用の蒸留水入りのプラスチックビーカーを入れた。その後、空気または10%、20%および30%CO₂雰囲気（バランス：空気）を20ml/分の流速で連続通気しながら、5℃で10日間貯蔵した。高 CO₂ CA 貯蔵終了後のブドウは、さらに10℃の空気環境下で3日間貯蔵し、その後の外観評価も実施した。

(3) 微生物数

微生物数の測定は、1反復につき1房を供試した。ブドウ1房の上中下段から均等に回収した皮付きのブドウ果粒10gをストマフィルター（栄研科学社製）に入れ、更に0.85%滅菌生理食塩水90mlを加え、1分間ストマッカー（オルガノ株式会社製：EXNIZER-400）で磨砕し、懸濁液を作製した。この懸濁液を適宜連続希釈し、一般生菌数の測定用に標準寒天培地への混釈および真菌数の測定用にポテトデキストロース寒天培地に塗布を行い、それぞれ37℃で48±3時間および25℃で72±3時間の条件で培養した後、各培地に発生したコロニー数をカウントした。微生物数の測定は、測定項目ごとに3反復測定し、結果については、その平均値をブドウ果実1g当たりの

対数値で示した。

(4) カビの発生スコア

カビの発生スコアは、ブドウ 1 房当たりのカビの発生程度を 0 から 3 の 4 段階で評価し、その評価の指標は、表 2 - 1 に示した基準に従った。1 反復につき 1 房のブドウを用いて評価し、各処理区 3 反復の平均値を結果に示した。

(5) *in vitro* 試験

外観評価の試験において、カビの発生が確認された部位から単離された菌株の培地上での高 CO₂ CA 培養が菌糸体の形成抑制に及ぼす影響を評価した。ブドウで発生したカビ部位からは、目視により判断した形状のことなる 2 菌株の単離を行い、その真菌種の同定を第 1 章イチゴの第 1 節の微生物学的品質の方法と同様に MicroSeq 法で、ゲノム DNA の抽出、D2 LSU rDNA 領域の PCR 増幅、塩基配列の決定およびホモロジー検索により行った。その同定された 2 菌株をポテトデキストロース寒天培地に接種し、10%、20%および 30%の CO₂ 雰囲気での 1℃または 5℃で 10 日間培養し、その菌糸体の直径を測定した。また、その後の空気環境下での 10℃・3 日間の培養後にも測定し、その影響についても評価した。

(6) 統計分析

in vivo 試験および *in vitro* 試験の各項目における処理区間の比較は、ANOVA による分散分析を行い、各処理区の平均値を Tukey による多重比較により 5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

高 CO₂ 雰囲気での貯蔵がブドウの微生物学的品質に及ぼす影響を評価するため、同じ灰色カビ病をポストハーベスト病害に持つイチゴで高い微生物学的品質を保つことが可能であった。20%CO₂ 雰囲気を基準に、10%、20%および 30%CO₂ 雰囲気での 5℃・10 日間の貯蔵中およびその後の空気環境下で 10℃・3 日間の貯蔵中のブドウ‘デラウェア’の微生物数およびカビの発生スコアを評価した。

貯蔵中のブドウの一般生菌数は、貯蔵開始時で $3.0 \pm 0.3 \log \text{CFU/g}$ であり、貯蔵 5 日目まで顕著な菌数の増加は確認されなかった (図 2-1)。貯蔵 10 日目では、空気区の一般生菌数が $3.6 \pm 0.3 \log \text{CFU/g}$ と貯蔵開始時からわずかな増殖が確認されたが、高 CO₂ 雰囲気で貯蔵された 3 処理区からは確認されず、高 CO₂ 雰囲気による一般生菌に対する静菌効果が確認された。一般的に、高 CO₂ 雰囲気での貯蔵は、10%以上の高 CO₂ 雰囲気ではカット野菜や果実上における中温性細菌や低温性細菌の増殖を抑制するとされており³¹⁾、本試験においてもその傾向が確認された。その後の空気環境下での 10℃・3 日間の貯蔵中の一般生菌数は、20%および 30%CO₂ 区でわずかに菌数の増加が確認されたが、空気区および 10%CO₂ 区では、検出限界値以下となった。これは、後述する真菌数の増加やカビの発生に伴う菌の拮抗作用による影響であると推察された。

その貯蔵中の真菌数は、貯蔵開始時では $4.1 \pm 0.2 \log \text{CFU/g}$ と一般生菌数に比べて高く、貯蔵中には空気区の菌数の増加が確認された。しかし、高 CO₂ 雰囲気で貯蔵されたブドウの貯蔵中の真菌数は、貯蔵期間を通して、その増殖が抑制され、貯蔵 10 日目では、空気区より 20%および 30%CO₂ 区の方が低い菌数を示した。その後の空気環境下での 10℃・3 日間の貯蔵中では、処理区内のバラツキが大きく、処理区間に有意な差は認められなかったが、高 CO₂ 雰囲気で貯蔵されブドウの真菌数は、貯蔵開始からの顕著な増殖は確認されず、高い微生物学的品質を維持したと考えられた。また、貯蔵中のカビの発生スコアについても空気区では、貯蔵 5 日目からカビの発生が確認されたが、高 CO₂ 雰囲気で貯蔵された 3 処理区では貯蔵期間を通して、カビの発生は確認されず、このことから高 CO₂ 雰囲気での貯蔵が高い微生物学的品質を維持することが可能であることが明らかとなった (図 2-2)。Retamales ら¹⁷⁾ は、ブドウでの灰色カビ病の発生抑制効果について、*B. cinerea* が接種されたブドウへの 15%よりも

高い CO₂ 濃度での貯蔵がその発生を抑制することが報告している。また、Crisosto ら⁵⁾ は、適期収穫されたブドウよりもそれ以降に収穫されたブドウの方がカビの発生が顕著となり、そのカビの発生が顕著なブドウに対する高 CO₂ 雰囲気での貯蔵は、15% 以上の CO₂ 濃度が 10% 以下に比べて、高いカビの抑制効果があることを報告している。本試験のカビの発生のスコア評価においては、10%CO₂ 区と 20% および 30%CO₂ 区との間に差は確認されなかったが、真菌数や一般生菌数の結果も踏まえて考えた際には、20% 以上の CO₂ 濃度が微生物学的品質を維持する上では、最適であると考えられた。

CA 貯蔵試験の空気区でカビの発生が確認された部位から菌糸体の形状の異なるカビを 2 菌株を単離し、その真菌種の同定を行うと、*B. cinerea* と *C. cladosporioides* であった。そこで、第 1 章 イチゴ、第 1 節 高 CO₂ CA 貯蔵試験の *in vitro* 試験で供試しなかった *C. cladosporioides* の高 CO₂ 雰囲気における培地上での菌糸形成に与える影響を評価した。1 °C 培養中の *C. cladosporioides* の菌糸形成は、処理区に関わらず、ほぼ菌糸形成の進行は確認されず、処理区間に有意な差は認められなかった (図 2-3)。しかし、その後の空気環境下での 10°C での培養中では、空気区に比べて、高 CO₂ 雰囲気区の菌糸形成が遅く、その濃度による影響は、10%CO₂ 区よりも 20% および 30% 区の方が高い抑制の効果が確認された。一方で、5 °C 培養中の *C. cladosporioides* の菌糸形成は、培養 5 日目から空気区よりも高 CO₂ 雰囲気区の菌糸形成の速度が遅く、その傾向は培養 10 日目およびその後の空気環境下での培養中まで引き続き確認された。5 °C 培養中での CO₂ 濃度が菌糸形成に与える影響は、全培養期間を通して、10%CO₂ 区よりも 20% および 30%CO₂ の方が菌糸形成抑制の効果は高かった。ここまでに実施した *in vitro* 試験では、*B. cinerea*、*A. alternate*、*P. olsonii* および *C. cladosporioides* についてそれぞれ評価した。これらの菌は、4 菌株すべてイチゴおよびブドウの双方の真菌叢を構成する主要な糸状菌である⁴⁾。そのため、これらを抑制することが可能な 20% 以上の高 CO₂ 雰囲気は、イチゴのみならずブドウのカビの増殖を抑制する上で、基準となる濃度であると結論付けた。

2. 生理・生化学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

生理・生化学的品質の評価に供試した検体は、2. 微生物学的品質で使用された 10%、20%および 30%CO₂ 雰囲気中で 5℃・10 日間貯蔵された島根県産ブドウ‘デラウェア’を使用した。また、外観評価については、その後の空気環境下で 10℃・3 日間貯蔵されたブドウについても評価した。

(2) 測定項目および方法

i) 外観評価

外観評価は、穂軸の褐変および果実の傷害の項目を表 2・1 に示した指標を基に 0 から 3 の 4 段階で評価した。評価は、1 反復につき 1 房の評価を行い、結果については、3 反復の平均値を示した。また、穂軸の褐変および果実の傷害の項目の商品限界値は、両項目ともにスコア 2 とした。

ii) 重量損失

ブドウ 1 房の貯蔵前後の重量を測定し、その減少割合から重量損失の算出を行った。処理区ごとに 3 反復の分析を行い、結果については、その平均値を%単位で示した。

iii) 脱粒割合

貯蔵後の 1 房から脱粒したブドウ果粒の個数をカウントし、1 房の全果粒数に対する脱粒果粒の割合を算出し、それを%単位で示した。結果については、3 反復の平均値をそれぞれ示した。

iv) 穂軸の水分含量

穂軸の水分含量は、果実をすべて取り除き、作製した穂軸をミキサーを用いて、細かくなるまで磨砕した。磨砕後、重量の測定を行った秤量缶に入れ、恒温機内で、105℃で完全に乾燥するまで、乾燥させた。その後、乾燥後のサンプルを秤量缶ごと測定し、乾燥前後のサンプルの重量の減少割合から水分含量の算出を行った。各処理区 3 反復の測定を行い、結果については、それぞれの平均値を示した。

v) 糖度

ブドウ 1 房の上中下段からそれぞれ 2 粒の計 6 粒を使用し、果皮付きのままハンドジューサーで潰し、得られた搾汁液を糖度計 (ATAGO 社: Pocket Refractometer PAL-

1) を用いて測定した。1 房を用いた分析を 1 反復として、3 房 (3 反復) の分析を行い、その平均値を結果に示した。

vi) 果実中のエタノール含量

果皮付きのブドウ果実 5 g と蒸留水 30ml をホモジナイザーで磨砕後、遠心分離 (8000×g、20 分、2℃) した。上澄み液 5 ml を試験管に移した後、ダブルキャップをして、65℃のウォーターバスで 60 分間インキュベーションし、エタノールを気化させた。試験管のヘッドスペースからガス 1 ml 採取し、水素炎イオン検出器 (FID) を装備したガスクロマトグラフ (島津製作所: GC-8AIF) を用いて測定した。エタノール含量測定条件は、キャリアガスに窒素ガスを用いて、使用したカラムは Celite545U / 液相 5% Tween20 (1.5m×3.2 mm)、カラム温度は 60℃、検出器温度は 150℃とした。結果については、各処理区 3 反復の平均値を求めた。

(3) 統計分析

生理・生化学的品質評価における各測定項目の処理区間の比較は、ANOVA による分散分析を行い、各処理区の平均値を Tukey による多重比較により 5%水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

ブドウにおいても高い微生物学的品質を保つことが示された高 CO₂ 雰囲気での貯蔵がブドウの生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価した。高 CO₂ 雰囲気での貯蔵中の穂軸の褐変に及ぼす影響は、貯蔵期間を通して、顕著な進行は確認されず、すべての処理区で商品限界値のスコア 2 に達しなかった (図 2-4 A)。また、貯蔵期間を通して、処理区間に有意な差は認められなかった。高 CO₂ 雰囲気が穂軸の褐変に及ぼす影響は、Crisosto ら^{24)、25)} によって、15% よりも高い CO₂ 濃度でその進行が報告されている。また、Deng ら⁵²⁾ は、4% の O₂ 濃度と 9% または 30% CO₂ 濃度の雰囲気下で貯蔵されたブドウ ‘巨峰’ の穂軸の褐変は、9% CO₂ 濃度では空気環境下よりもその進行の抑制が確認され、30% CO₂ 雰囲気では空気環境下よりも顕著に進行することを報告している。一方で、Rosales ら⁵³⁾ は、20% CO₂ 雰囲気での貯蔵は、穂軸の水分含量が抑制されることにより、その褐変の進行を空気区よりも抑制することを報告している。このように高 CO₂ 雰囲気がブドウ穂軸の褐変に及ぼす影響は、その報告により結果が異なっており、またこれについては、収穫時期による影響も受けるとされている^{24)、25)、51)}。そのため、本試験に供試した 6 月下旬の適期収穫の島根県産ブドウ ‘デラウェア’ では、高 CO₂ 雰囲気による影響は確認されなかったが、収穫熟度や供試材料の違いが高 CO₂ 雰囲気で貯蔵されたブドウの穂軸褐変の進行に影響するかどうかは引き続き検討していく必要がある。

貯蔵中の果実の傷害は、すべての処理区で貯蔵期間を通しての進行が確認され、その程度は処理区により異なっており、空気区の進行が高 CO₂ 雰囲気区の 3 処理区に比べて早い傾向を示した (図 2-4 B)。また、その後の空気環境下での貯蔵中においても同様に空気区の進行が高 CO₂ 雰囲気区の 3 処理区よりも顕著であり、空気環境下での貯蔵 3 日目では、商品限界に達した。CO₂ 濃度による影響は、貯蔵 10 日目の 20% CO₂ 区が他の処理区よりも低いスコアを示したが、その後の空気環境下での貯蔵中では、CO₂ 濃度による違いは確認されなかった。Deng ら⁵²⁾ は、高 CO₂ 雰囲気でのブドウを貯蔵することで、果実の硬度が維持されることを報告している。本試験の果実の傷害進行が空気区に比べて遅かったのは、果実硬度が高く維持されたことが影響したのかもしれない。

貯蔵中の重量損失は、5℃貯蔵中では顕著な進行は確認されなかったが、その後の

空気環境下での 10℃貯蔵中では、すべての処理区で顕著に進行し、空気環境下での貯蔵 3 日目では、すべての処理区で、1.7～2.4%に達した (図 2-5 A)。高 CO₂ 雰囲気貯蔵中に重量損失に及ぼす影響は、貯蔵期間を通して、すべての処理区に有意な差は認められず、その影響は確認されなかった。Deng ら⁵²⁾ は、高 CO₂ 雰囲気でのブドウを貯蔵することで、重量損失を抑制することを報告している。この報告と本試験の結果とは一致しなかったが、本試験の重量損失の進行程度であれば、商品性には影響を及ぼさない範囲であった。貯蔵中の脱粒の進行は、すべての処理区で非常に少なく、処理区による影響も確認されなかった (図 2-5 B)。高 CO₂ 雰囲気でのブドウの貯蔵は、貯蔵中の脱粒の発生を抑制することが報告されている^{52)、54)}。また、Deng ら⁵⁴⁾ は、この高 CO₂ CA 貯蔵による脱粒の抑制は、果実中のセルラーゼ、ポリガラクトナーゼやペルオキシダーゼの活性を抑制することにより行われると報告している。脱粒はブドウの品質劣化要因の 1 つであるが、本試験の‘デラウェア’では、ほぼ脱粒の発生が確認されず、高 CO₂ 雰囲気での貯蔵が脱粒に及ぼす影響は確認できなかった。

貯蔵中の穂軸の水分含量は、貯蔵期間を通して、ほぼ一定の値を示し、処理区による影響も確認されなかった (図 2-6 A)。穂軸の水分含量は、穂軸の褐変の進行に影響を及ぼすことが報告されているが、本試験の穂軸の褐変は、高 CO₂ 雰囲気による影響は確認されず、同様に穂軸の水分含量についても処理区による影響は確認されなかった。貯蔵中の糖度についても貯蔵期間を通して、処理区による影響は確認されず、ほぼ一定の値を示した (図 2-6 B)。貯蔵中の果実中のエタノール含量の結果を図 2-7 に示した。貯蔵中の果実中のエタノール含量は、バラツキが大きく、貯蔵 5 日目までは処理区間に有意な差は認められなかったが、貯蔵 10 日目では空気区より 20%および 30%CO₂ 区の含量が高い値を示し、高 CO₂ 雰囲気での貯蔵によるエタノールの蓄積が確認された。その後の空気環境下での 10℃貯蔵中では、高 CO₂ 雰囲気区のエタノール含量は、減少傾向にあったが、10%および 20%CO₂ 区が空気区よりも高い値を示し、引き続き高 CO₂ 雰囲気による影響が確認された。一般に、青果物は極度の低酸素あるいは高二酸化炭素の雰囲気に貯蔵されると、呼吸の代謝が好気性から嫌気性にシフトし、解糖系で合成されたピルビン酸が還元されてアセトアルデヒドおよび/あるいはエタノールを生成することが知られている⁵⁵⁾。Cefola ら²⁶⁾ は、ブドウ‘Italia’が 20%よりも高い CO₂ 濃度で貯蔵されることによって、果実中のエタノールおよび

アセトアルデヒドの蓄積によるオフフレーバーやオフオーダーの品質低下を引き起こすことを報告している。また、Chen ら⁵⁶⁾は高 CO₂ 雰囲気による貯蔵で蓄積したブドウ果実内のエタノール含量は、その後の空気環境下での貯蔵によって再び減少することを報告している。これらの試験結果と本試験の結果は一致したが、オフフレーバーやオフオーダーの発生は確認されておらず、品質低下を引き起こすレベルでの蓄積ではなかったと考えられた。

以上より、本試験において、高 CO₂ 雰囲気が生理・生化学的品質に及ぼした影響は、果実の傷害の抑制のみで、高 CO₂ 雰囲気が原因と考えられる品質劣化は、30%より低い CO₂ 濃度であれば確認されなかった。これらの結果からブドウ‘デラウェア’は、イチゴほど CO₂ に対する感受性は高くなく、30%CO₂ 濃度に対しても耐性があるため、微生物学的品質の抑制に有効である 30%CO₂ の CA 貯蔵が最適な濃度であると決定した。

表 2-1. ブドウの外観評価のスコア指標

項目	スコア			
	0	1	2	3
カビの発生 ^a	なし	1~4粒	5粒以上	半分
果実の傷み	なし	1~2粒	3~4粒	5粒以上
穂軸の褐変	緑	黄緑	黄色	茶色

a: 1房に含まれる発生したカビの果粒数

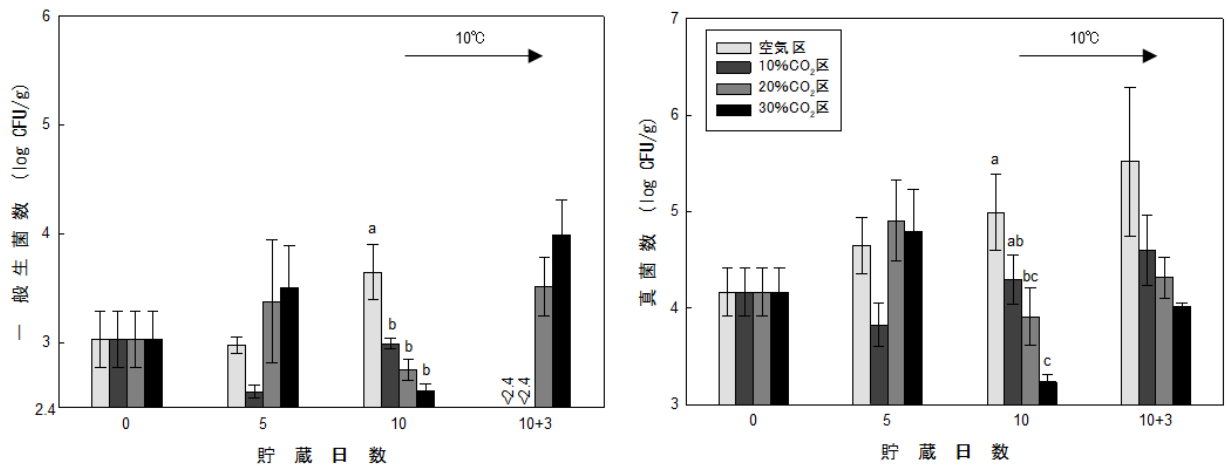


図 2-1. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵（10%、20%および30%CO₂）した後、空気環境下で10℃・3日間の貯蔵したブドウ‘デラウェア’から検出された一般細菌数（左）および真菌数（右）

異なるアルファベットは、各項目内における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

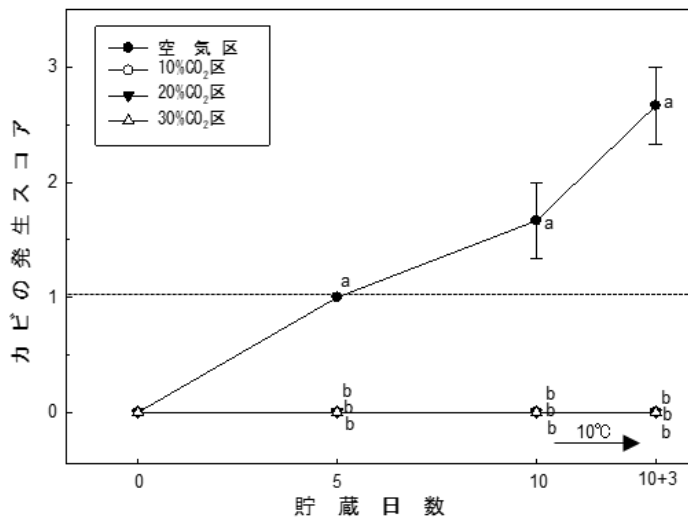


図 2-2. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵（10%、20%および30%CO₂）した後、空気環境下で10℃・3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’のカビの発生スコア

異なるアルファベットは、同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

破線：商品限界値を示す

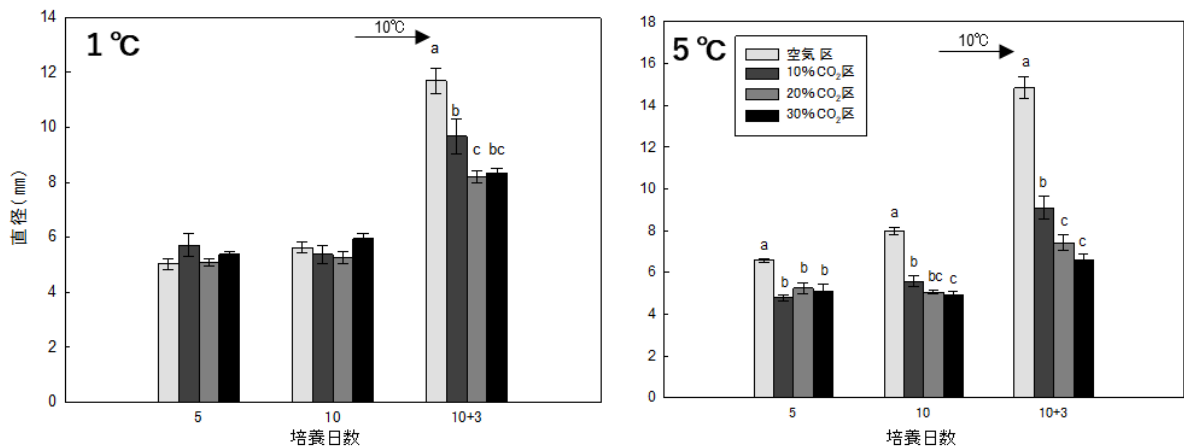


図 2-3. 1℃（左）または5℃（右）で10日間高CO₂ CA雰囲気（10%、20%および30%CO₂）で培養した後、10℃・3日間培養した *Cladosporium cladosporioides* の菌糸体の直径

異なるアルファベットは、培養温度ごとの同一培養日における処理区間の5%水準における有意差を示す

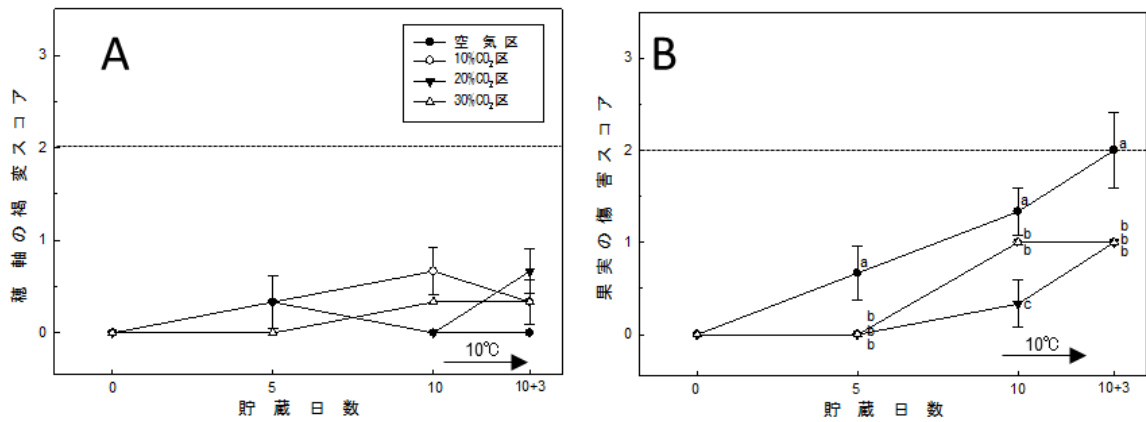


図 2-4. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵 (10%、20%および30%CO₂) した後、空気環境下で10℃・3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の外観評価 (A:穂軸の褐変、B:果実の傷害)

異なるアルファベットは、果実の傷害スコアにおける同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

破線：各項目における商品限界値を示す

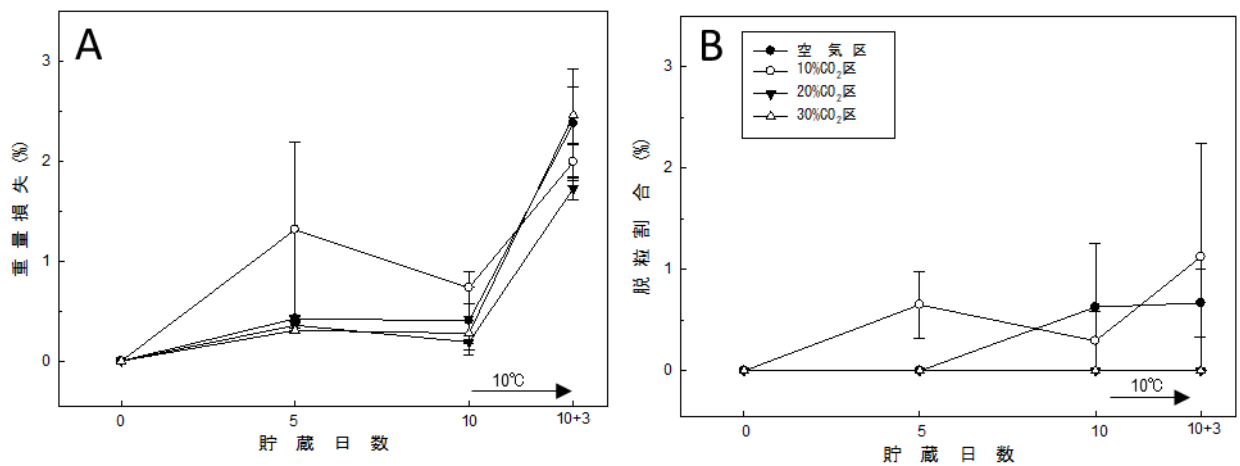


図 2-5. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵 (10%、20%および30%CO₂) した後、空気環境下で10℃・3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の重量損失 (A) および脱粒割合 (B)

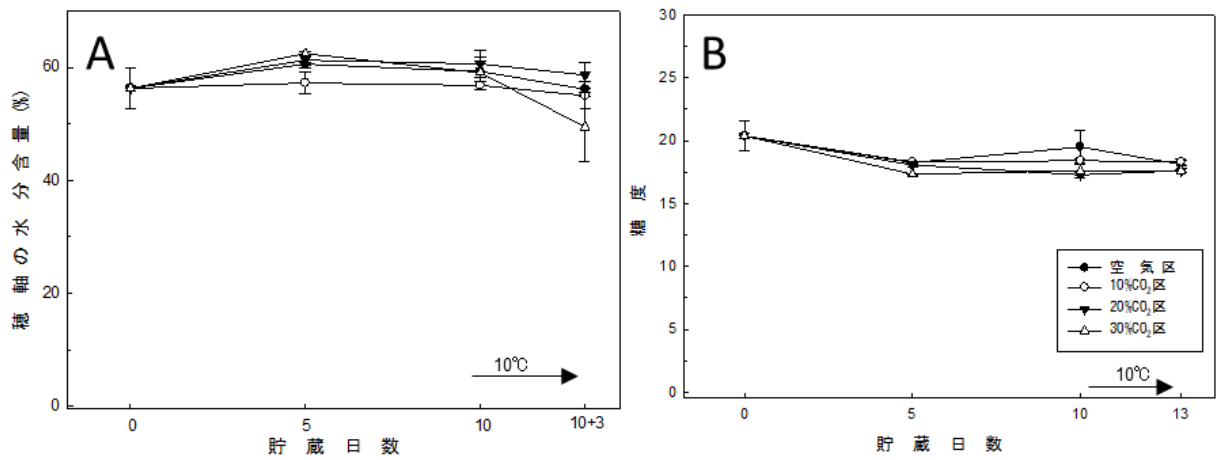


図 2-6. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵（10%、20%および30%CO₂）した後、空気環境下で10℃・3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の穂軸の水分含量（A）および糖度（B）

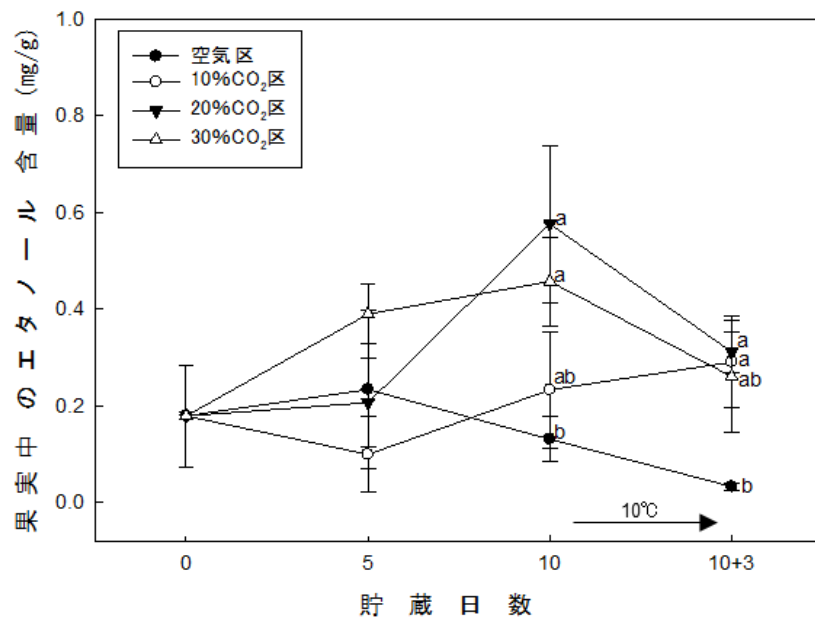


図 2-7. 5℃で10日間高CO₂ CA貯蔵（10%、20%および30%CO₂）した後、空気環境下で10℃・3日間の貯蔵したブドウ‘デラウェア’の果実中のエタノール含量

異なるアルファベットは、同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

第2節 高CO₂ active MAP貯蔵

1. ガス組成と微生物学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

2018年9月2日収穫された山形県産ブドウ‘デラウェア’45房を10℃で冷蔵輸送を行い、9月4日に果実の傷みのないブドウを39房を選定し、試験に供試した。ブドウ1房の平均重量は、 122.9 ± 1.4 gであった。

(2) 高CO₂ active MAP貯蔵

高CO₂ active MAP処理は、ブドウを1房ごとにプラスチックトレーに置き、プラスチックトレーごとOPPフィルム(OTR=1170ml/m²/day/atm、20cm×26cm、厚さ:30μm)に入れた後、フィルム内に10%、30%および50%CO₂ガスの充填し、シーリングすることで行われた。高CO₂ active MAP処理されたブドウおよび空気が充填された空気区のブドウは、5℃で10日間貯蔵した。また、その後フィルムを開封し、さらに10℃で3日間の貯蔵を行い、貯蔵後のカビの発生スコアを評価した。各処理区につき、貯蔵5および10日目の分析用に6房、その後のフィルム開封後の10℃貯蔵3日目の分析用に3房の計9房の準備を行い貯蔵した。

(3) 測定項目および方法

i) フィルム内ガス組成

CO₂濃度およびO₂濃度の測定をTCDを装備したガスクロマトグラフを用いて測定した。各分析条件は、第1章イチゴの第2節高CO₂ active MAP貯蔵の条件と同様に行い、貯蔵開始時から貯蔵最終日まで2日に1回の分析を行った。

ii) 微生物数

微生物数の分析は、ブドウ果粒10gをストマフィルターに90ml滅菌生理食塩水と併せて入れ、ストマッカーで1分間磨砕し、懸濁液を作製した。作製した懸濁液を適宜連続希釈し、一般生菌数測定用に標準寒天培地に混釈を、真菌数測定用にポテトデキストロース寒天培地に塗布をそれぞれ行った。混釈および塗布後の各培地は、それぞれ37℃で48±3時間および25℃で72±3時間の条件で培養を行い、培養後に発生したコロニー数のカウントを行った。結果については、各処理区3反復の平均値をブ

ドウ 1 g 当たりの対数值として示した。

iii) 菌種同定

菌種同定は、一般生菌数および真菌数の測定と同時に単離した一般生菌および真菌種の同定を行い、第 1 章イチゴと同様に、一般生菌では 16S rDNA 領域を、真菌では D2 LSU rDNA 領域を MicroSeq 法で、ゲノム DNA の抽出、PCR による増幅、塩基配列の決定およびホモロジー検索による同定を行った。

iv) カビの発生スコア

貯蔵中およびその後フィルム開封し、10°C の貯蔵後の各処理区のブドウのカビの発生スコアを 1 房ずつ表 2-1 の評価基準に従って、0 から 3 の 4 段階で評価した。結果については、3 房を 3 反復として評価し、その平均値を示した。

(4) 統計分析

フィルム内のガス組成および微生物学的品質評価における各測定項目の処理区間の比較は、ANOVA による分散分析を行い、各処理区の平均値を Tukey による多重比較により 5 % 水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

ブドウでの国内流通を想定した個包装による高 CO₂ active MAP 貯蔵を実施するにあたり、第1節で決定した CA 貯蔵における最適な CO₂ 濃度である 30%CO₂ ガス充填を基準として、それよりも高い 50%CO₂ ガス充填と低い 10%CO₂ ガス充填の区を設け、空気充填と合わせて計4処理区による active MAP 貯蔵が微生物学的品質に及ぼす影響を評価した。

(1) フィルム内ガス組成

10%、30%および 50%CO₂ ガス充填した高 CO₂ active MAP 貯蔵開始時のフィルム内の CO₂ 濃度は、それぞれ 10.4%、30.7%および 49.6%であった(図2-8)。その後の貯蔵中では、30%および 50%CO₂ 区では、貯蔵期間を通して減少し、貯蔵最終日の貯蔵 10 日目では、それぞれ 9.6%および 19.7%に達した。10%CO₂ 区では、貯蔵 7 日目までわずかに減少し、その後は平衡状態を維持し、貯蔵 10 日目では 4.7%であった。一方で、空気区の貯蔵中のフィルム内の CO₂ 濃度は、貯蔵開始時からのわずかな上昇が確認された後、貯蔵 7 日目から平衡状態を維持し、貯蔵最終日には 3.2%であった。

貯蔵中のフィルム内の O₂ 濃度は、空気区、10%CO₂ 区および 30%CO₂ 区では、3 処理区ともに約 19%から貯蔵が開始され、10%および 30%CO₂ 区では、それぞれ貯蔵 0 日目から 1 日目の間に減少が確認された後は、平衡状態を維持し、貯蔵最終日にはそれぞれ 15.0%および 14.6%であった。空気区のその後の貯蔵中の O₂ 濃度は、貯蔵期間を通して減少傾向を示し、貯蔵 10 日目では 14.2%であった。50%CO₂ 区の貯蔵開始時の O₂ 濃度は、貯蔵開始時から他の処理区に比べて低く、貯蔵初期にわずかな減少が見られたが、その後はやや上昇し、貯蔵 10 日目では 12.8%であった。ブドウの呼吸量は、イチゴの呼吸量よりも低く、5℃貯蔵時には、5~10 mg CO₂/kg/hr であるとされている⁵⁷⁾。このことから、イチゴと同じ酸素透過度のフィルムを使用したブドウのフィルム内 CO₂ 濃度は、高 CO₂ ガス充填区では低下が顕著で、空気区では蓄積が少なく、またフィルム内の O₂ 濃度にも呼吸量が強く影響し、イチゴの場合に比べて、O₂ 濃度の経時的な減少量は少なくなったと考えられた。

(2) 微生物学的品質

このようなフィルム内のガス組成で貯蔵されたブドウの微生物学的品質を評価する

ため、微生物数の測定、菌種同定およびカビの発生スコアについて、それぞれ分析した。貯蔵中の一般生菌数は、すべての処理区で一般生菌数が検出限界値以下を示し、処理区による影響は確認されなかった（図2-9）。その検出された一般生菌の同定を行うと、貯蔵開始時からは、動物系の食品付着菌の *Microbacterium* 属が検出され、その後の貯蔵中に検出された細菌種においては、土壌細菌の *Bacillus* 属や *Paenibacillus* 属、動物由来の *Microbacterium* 属や *Staphylococcus* 属、植物由来の *Roseomonas* 属や *Brevundimonas* 属が検出されたが、一般生菌数と同様に処理区による影響は確認されなかった（表2-2）。ブドウのような果実から検出される微生物が占める割合は、野菜では細菌が占める割合が多いのに対して、果実では真菌が占める割合が多く、これは果実の低い pH と高い糖含量が影響しているとされている⁵⁸⁾。第1節の高 CO₂ 雰囲気による CA 貯蔵試験においても一般生菌数は、わずかな検出に止まり、その値は真菌数に比べて少なく、ブドウの微生物学的品質を評価する上では、より真菌を主とした検討が重要である。

その貯蔵中の真菌数は、貯蔵開始時では、 $5.1 \pm 0.5 \log \text{CFU/g}$ が検出されたが、その後の貯蔵中では、すべての処理区で減少傾向を示し、処理区間に有意な差は認められず、処理区による影響は確認されなかった（図2-9）。また、その後のフィルム開封後の 10℃貯蔵中においてもすべての処理区で真菌数は減少傾向を示し、引き続き処理区による影響は確認されず、高 CO₂ active MAP 貯蔵による抑制効果は見られなかった。そのブドウから検出された真菌は、貯蔵開始時から植物病原菌の *Cladosporium* 属および *Penicillium* 属を含むカビ3種と酵母1種が検出された（表2-3）。その後の貯蔵中では、空気区で5属7種、10%CO₂ 区で2属6種、30%CO₂ 区で3属4種、50%CO₂ 区で4属5種の真菌が検出され、検出された真菌種に処理区による影響は確認されず、構成する真菌種は、貯蔵開始時と同様に *Cladosporium* 属および *Penicillium* 属が中心であった。その後のフィルム開封後の 10℃貯蔵中に検出された真菌種においても *Cladosporium* 属および *Penicillium* 属が中心に検出され、高 CO₂ active MAP 貯蔵が真菌種に与える影響は、真菌数と同様に確認されなかった（表2-4）。しかし、カビの発生スコア評価では、空気区および 10%CO₂ 区でそれぞれ貯蔵5および10日目からカビの発生が確認されたのに対して、30%および 50%CO₂ 区では、貯蔵期間を通して、カビの発生が抑制された（図2-10）。ブドウへの高 CO₂ 雰囲気

気による貯蔵は、貯蔵初期の短期間の高 CO₂ 雰囲気（40%）での貯蔵であっても、そのカビの抑制に効果があることが報告されている⁵⁹⁾。30%および 50%CO₂ 区は、フィルム内の CO₂ 濃度が最終的には、それぞれ 10%および 20%になったが、貯蔵期間中 10%以下の CO₂ 濃度を維持した空気および 10%CO₂ 区よりもカビの発生を抑制できたのは、貯蔵開始時の 30%以上の高 CO₂ 濃度での貯蔵が行われたことが影響したのかもしれない。

2. 生理・生化学的品質

1) 材料および方法

(1) 供試材料

微生物学的品質の測定に用いた 10%、30%および 50%CO₂ ガス充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵された山形県産ブドウ‘デラウェア’を供試し、5℃で 10 日間の貯蔵中およびその後フィルム開封後の 10℃・3 日間の貯蔵中の生理・生化学的品質を評価した。

(2) 測定項目および方法

i) 外観評価

外観評価は、穂軸の褐変および果実の傷害の項目を 0 から 3 の 4 段階でブドウ 1 房ごとに表 2-1 の指標に準じてスコア評価し、その 3 房 3 反復のスコアの平均値を結果として示した。

ii) 重量損失

貯蔵前後のブドウ 1 房の重量を測定し、その減少割合を重量損失として%単位で算出した。各処理区につき 3 反復の分析を行い、その平均値を結果に示した。

iii) 脱粒割合

貯蔵後にブドウ 1 房から発生した脱粒をカウントし、1 房の全果粒数に占める脱粒の割合として%単位で算出した。結果については、各処理区 3 反復の分析を行い、その平均値を示した。

iv) 糖度

ブドウ 1 房の上中下段からそれぞれ 2 果粒ずつ計 6 果粒回収したブドウ果粒をハンドジュースャーで潰し、得られた搾汁液を糖度計を用いて分析した。各処理区 3 反復から得た測定値の平均値を結果として示した。

v) 果実中のエタノール含量

第 2 章 ブドウの第 1 節 高 CO₂ CA 貯蔵の生理・生化学的品質の果実中のエタノール含量の測定と同様に、ブドウ果実に含まれるエタノール含量を FID を装備したガスクロマトグラフを用いて、測定した。結果については、各処理区 3 反復の平均値をそれぞれ示した。

(3) 統計分析

生理・生化学的品質評価における各測定項目の処理区間の比較は、ANOVA による分散分析を行い、各処理区の平均値を Tukey による多重比較により 5 %水準における有意差を検定し、結果に示した。

2) 結果および考察

30%および50%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵は、カビの発生を抑制することが可能であり、高い微生物学的品質を維持した。そこで、ここでは10%、30%および50%CO₂ガス充填による高CO₂ active MAP貯蔵が生理・生化学的品質に与える影響を評価した。貯蔵中の外観評価における穂軸の褐変の進行は、貯蔵5日目にすでにすべての処理区で商品限界に到達しており、処理区間に有意な差は認められず、高CO₂ active MAP貯蔵による影響は確認されなかった(図2-11A)。穂軸の褐変の進行は、収穫時期による影響を受け、早く収穫されたブドウの方がその進行が早いことが報告されている^{24, 25, 51)}。本試験の結果においてもCA貯蔵試験の結果よりもその進行は顕著であり、これは供試したブドウの状態による影響であると考えられた。一方で、貯蔵中の果実の傷害のスコアは、5℃貯蔵中には、その発生は確認されず、その後フィルム開封後、10℃・3日間の貯蔵中では、わずかな進行が確認されたが、処理区による影響は確認されなかった(図2-11B)。高CO₂雰囲気での貯蔵は、空気区よりも果実の傷害を抑制することを第1節では報告したが、本試験では、その進行がほとんど確認されなかったこともあり、20~50%CO₂濃度で維持された50%CO₂区においても空気区に対して、その抑制効果が確認されることはなかった。

貯蔵中の重量損失は、10℃貯蔵中における大きな変化は確認されなかったが、その後のフィルム開封後の10℃貯蔵中では、その進行は顕著となり、貯蔵最終日にはすべての処理区で、1.8~2.5%に達した(図2-12A)。しかし、処理区による影響はCA貯蔵試験の結果と同様に、貯蔵期間を通して確認されず、高CO₂ active MAP貯蔵が重量損失の進行に影響を及ぼすことはなかった。高CO₂雰囲気が重量損失に与える影響は、前述したように重量損失の進行を抑制することが報告されている⁵²⁾。また、Martínez-Romeroら⁶⁰⁾は、酸素透過度の異なるフィルムを用いたpassive MAP貯蔵において、低い酸素透過度のフィルムによって作製されたCO₂濃度5%およびO₂濃度5%の雰囲気で貯蔵されたブドウの重量損失は、酸素透過度の高いフィルムによって作成されたCO₂濃度0%およびO₂濃度12%の雰囲気で貯蔵されたブドウよりも抑制されることを報告している。しかし、上述したように本試験では、高CO₂ active MAP貯蔵による重量損失の抑制は確認されず、重量損失の抑制が微生物学的品質の維持に加えて、物理化学的な品質の維持に貢献することはなかった。

貯蔵中の脱粒の進行は、CA 貯蔵試験の結果よりも顕著であり、貯蔵 10 日目では、すべての処理区で 4～8%に達した(図 2-12B)。また、その後フィルム開封後の 10℃・3 日間の貯蔵後では、更なる進行は確認されず同程度の値を示した。CA 貯蔵試験の結果と同様に、高 CO₂ active MAP 貯蔵により作製された高 CO₂ 雰囲気においても、CO₂ 濃度の違いが脱粒の進行に影響を及ぼすことはなかった。本試験の結果では、穂軸の褐変の進行も CA 貯蔵試験時よりも早く、このことが脱粒の進行に影響を及ぼしたのかもしれない。貯蔵中の糖度は、貯蔵期間を通して、25°Brix 程度を維持し、処理区による影響は確認されなかった(図 2-13A)。貯蔵中の果実中のエタノール含量は、貯蔵開始時の 1.0 mg/g から貯蔵 10 日目までにすべての処理区で増加し、貯蔵終了時まで 20～50%高 CO₂ 濃度が維持された 50%CO₂ 区では、空気区および 10%CO₂ 区に比べて高く、3.4 mg/g に達した(図 2-13B)。しかし、この 50%CO₂ 区においてもオフフレーバーやオフオーダーの発生は確認されておらず、品質劣化に影響を及ぼすレベルでの蓄積ではなかったと考えられた。

以上より、10%、30%および 50%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵は、ブドウの生理・生化学的品質を損ねることは観察されなかったことから、カビの発生の抑制を行うことが可能な 30%および 50%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵が最適であると判断した。

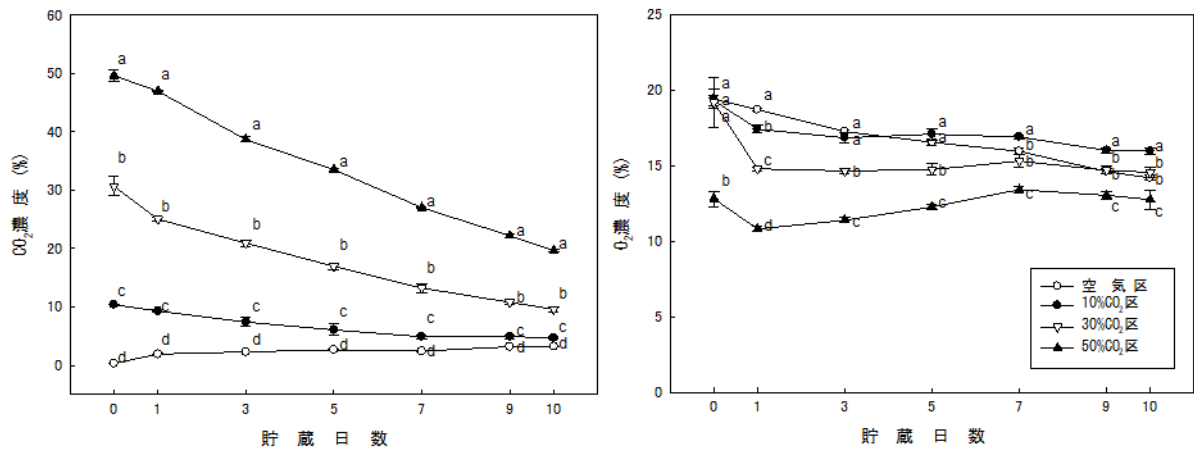


図2-8. ブドウ‘デラウェア’を5°Cで10日間の active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）中のフィルム内のCO₂濃度（左）およびO₂濃度（右）

異なるアルファベットは、各項目内における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

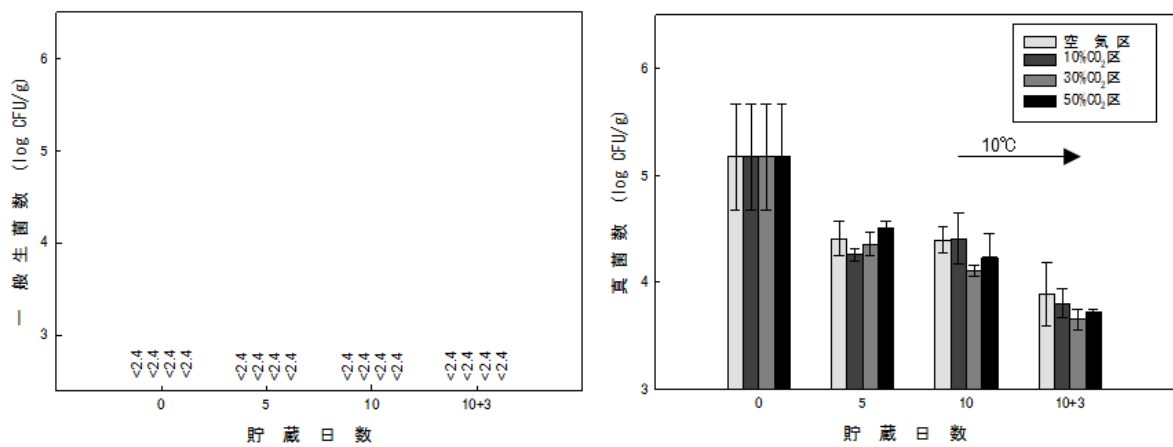


図2-9. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’から検出された一般細菌数（左）および真菌数（右）

表 2-2. 5℃で10日間高CO₂ active MAP貯蔵中およびその後のフィルム開封後の10℃で3日間の貯蔵されたブドウ‘デラウェア’から検出された細菌種

貯蔵日数	処理区	グラム型	属	種	
0日目		陽性	<i>Microbacterium</i>	<i>trichothecenolyticum</i>	
10日目	空気区	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>	
				<i>simplex</i>	
				<i>thuringiensis</i>	
				<i>Paenibacillus</i>	<i>pabuli</i>
	10% CO ₂ 区	陰性	<i>Moraxella</i>	<i>osloensis</i>	
	30% CO ₂ 区	陽性	<i>Microbacterium</i>	<i>testaceum</i>	
				<i>Staphylococcus</i>	<i>cohnii urealyticum</i> <i>cohnii cohnii</i>
	50% CO ₂ 区	陰性	<i>Roseomonas</i>	<i>mucosa</i>	
		陽性	<i>Bacillus</i>	<i>novalis</i>	
				<i>sonorensis</i>	
			<i>Paenibacillus</i>	<i>tarimensis</i>	
10+3日目	空気区	陽性	<i>Microbacterium</i>	<i>liquefaciens</i>	
		陰性	<i>Brevundimonas</i>	<i>intermedia</i>	
				<i>Pseudomonas</i>	<i>luteola</i>
	10% CO ₂ 区	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>simplex</i>	
		陰性	<i>Pseudomonas</i>	<i>stutzeri</i>	
	30% CO ₂ 区	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>	
	50% CO ₂ 区	陽性	<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>	

表 2-3. 貯蔵前および 5℃ で 10 日間高 CO₂ active MAP 貯蔵中の
ブドウ‘デラウェア’から検出された真菌種

貯蔵日数	処理区	カビ・酵母	属	種	
0 日目		カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>	
			<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i> <i>spinulosum</i>	
		酵母	<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>	
10 日目	空気区	カビ	<i>Acremonium</i>	<i>sclerotigenum</i>	
			<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>	
			<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i> <i>citrinum</i> <i>spinulosum/thomii</i>	
			酵母	<i>Debaryomyces</i>	<i>hansenii</i>
				<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
	10% CO ₂ 区	カビ	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
				<i>Penicillium</i>	<i>brevicompactum</i> <i>chrysogenum</i> <i>citreonigrum</i> <i>citrinum</i> <i>spinulosum</i>
	30% CO ₂ 区	カビ	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
				<i>Penicillium</i>	<i>brevicompactum</i> <i>spinulosum</i>
	50% CO ₂ 区	カビ	カビ		<i>Kloeckera</i>
				<i>Aspergillus</i>	<i>niger ficuum</i>
				<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
				<i>Penicillium</i>	<i>citrinum</i> <i>spinulosum</i>
				酵母	<i>Sporidiobolus</i>

表 2-4. 5℃で10日間の高CO₂ active MAP貯蔵後にフィルム開封し、10℃で3日間貯蔵されたブドウ‘デラウェア’から検出された真菌種

貯蔵日数	処理区	カビ・酵母	属	種
10+3日目	空気区	カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
			<i>Penicillium</i>	<i>citreonigrum</i>
				<i>citrinum</i>
				<i>rubrum</i>
				<i>spinulosum</i>
	10% CO ₂ 区	カビ	<i>Acremonium</i>	<i>sclerotigenum</i>
			<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
			<i>Penicillium</i>	<i>camembertii</i>
				<i>citrinum</i>
				<i>spinulosum/thomii</i>
	30% CO ₂ 区	酵母	<i>Sporidiobolus</i>	<i>johnsonii</i>
		カビ	<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>
			<i>Penicillium</i>	<i>chrysogenum</i>
				<i>spinulosum</i>
	50% CO ₂ 区	酵母	<i>Debaryomyces</i>	<i>hansenii</i>
カビ		<i>Acremonium</i>	<i>breve</i>	
		<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporioides</i>	
		<i>Penicillium</i>	<i>chrysogenum</i>	
			<i>citreonigrum</i>	
			<i>citrinum</i>	
	酵母	<i>Debaryomyces</i>	<i>hansenii</i>	

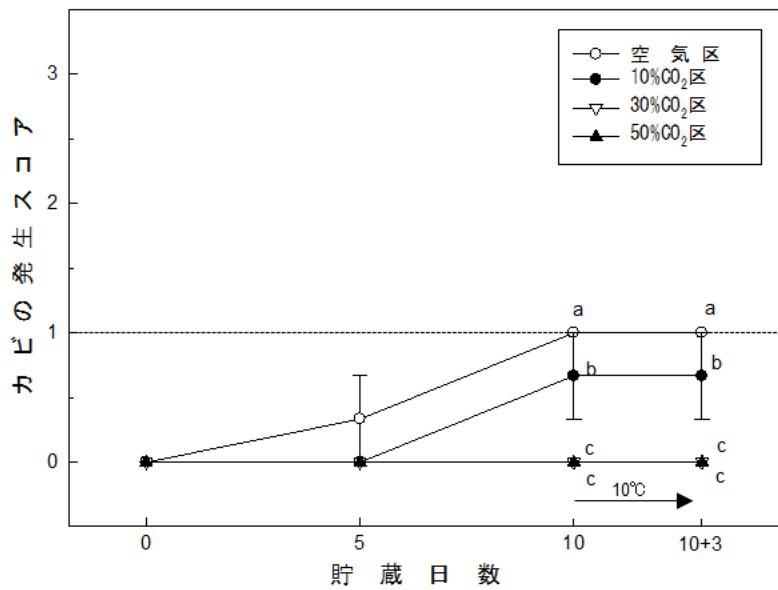


図 2-10. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵されたブドウ‘デラウェア’のカビの発生スコア

異なるアルファベットは、同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す
破線：商品限界値を示す

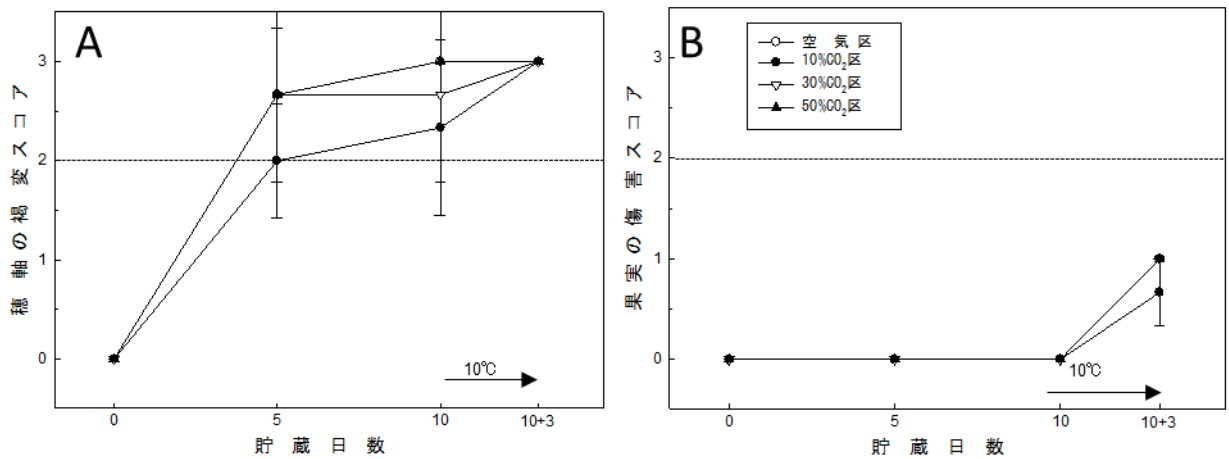


図 2-11. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間の貯蔵したブドウ‘デラウェア’の外観評価（A：穂軸の褐変、B：果実の傷害）

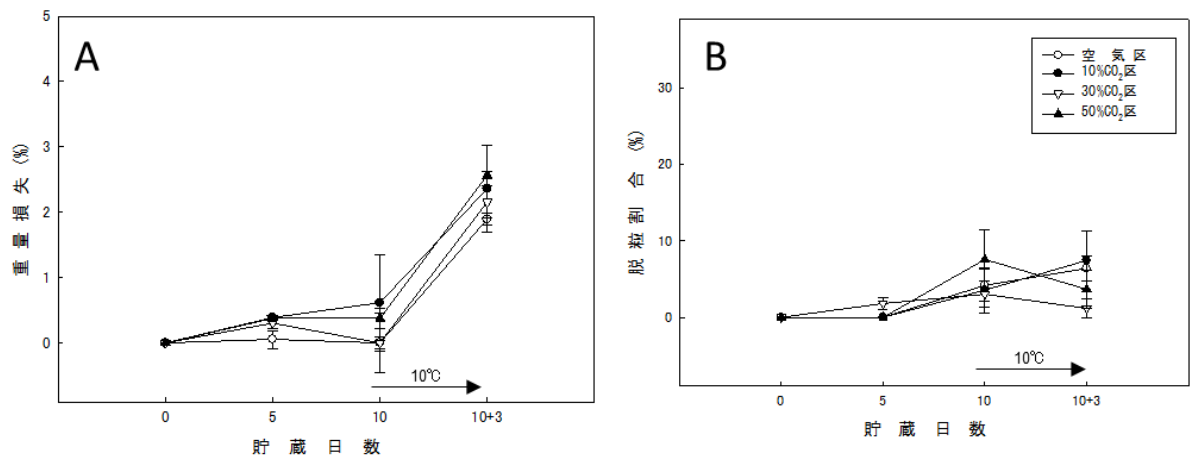


図 2-12. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の重量損失（A）および脱粒割合（B）

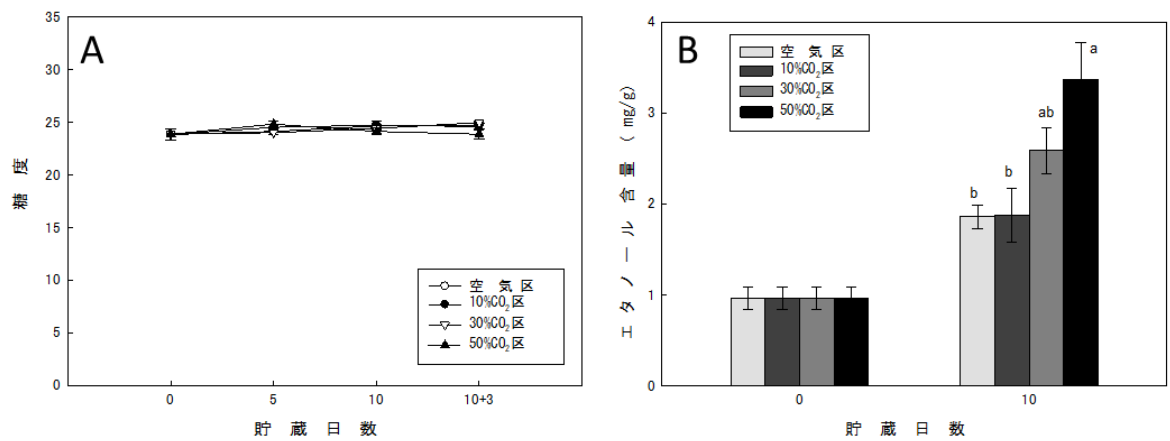


図 2-13. 5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）した後、フィルムを開封し、10°Cで3日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の糖度（A）および5°Cで10日間 active MAP貯蔵（10%、30%および50%CO₂ガス充填）中の果実中のエタノール含量（B）

異なるアルファベットは、エタノール含量における貯蔵10日目での処理区間の5%水準における有意差を示す

第3節 高CO₂ MAパレット貯蔵

1. 材料および方法

1) 供試材料

2019年8月7日に集荷した山形県産ブドウ‘デラウェア’を陸路で冷蔵輸送し、8月8日に神奈川県平塚市の青果センター（神奈川センター）にて引き取りを行い、そこから平塚市内のプレハブ型冷蔵庫の設置場所まで車にて輸送し、試験に供試した。1ケース3kgのブドウをMAパレット区用に188ケース、対照区分析用に12ケースの計200ケースを試験に供試した。

2) MAパレット処理および貯蔵条件

MAパレット処理は、イチゴ試験の際と同様に実施し、188ケースを図2-14の配置図で発泡パレットに設置し、アドフレッシュ M30 フィルム（111×111×150cm、OTR=14000ml/m²/day/atm）を被せ、両面テープで発泡パレットに固定し、その上からさらにセロハンテープで固定することで梱包した。その後、50%CO₂ガスの充填および脱気を繰り返し行い、CO₂濃度が30%になるように置換した。処理後のMAパレット区および処理を行わなかった対照区のサンプルは、冷蔵庫内に設置し、輸出を想定して1℃設定で14日間の貯蔵を実施した。また、その後フィルムを開封し、10℃で7日間貯蔵し、その後の影響についても評価した。貯蔵中の分析は、外観評価用に各処理区10ケースおよび分析用に分析日1日につき6ケースを用いて実施した。

3) 測定項目および方法

(1) 環境測定

貯蔵中のMAパレットフィルム内および上下ケース内に温湿度データロガーを設置し、貯蔵中の温湿度状況の確認を行った。また、貯蔵中のMAパレット内のガス組成の分析として、CO₂濃度およびO₂濃度の測定をCO₂・O₂アナライザー（mocon社製：Check Point3）により定期的に測定した。

(2) 微生物数

貯蔵中の微生物数は、一般生菌数および真菌数の測定を行った。ブドウ1房の上中下段の3か所から均等に回収したブドウ果実10gを滅菌生理食塩水90mlと磨砕することで懸濁液を得た。得られた懸濁液は、適宜連続希釈し、一般生菌数の測定では標

準寒天培地に混釈し、真菌数の測定ではポテトデキストロース寒天培地に塗布し後にそれぞれ 37℃で 48±3 時間および 25℃で 72±3 時間の条件により培養した。培養後の各培地から発生したコロニー数をカウントし、ブドウ 1 g 当たりの菌数を対数値で示した。分析は、1 ケース内から 3 房を取り出し、1 反復につき 1 房を用いて分析し、3 反復の分析値を結果に示した。

(3) カビの発生スコア

貯蔵中のカビの発生スコアの評価は、ケース内にあるブドウ 1 房のカビの発生の程度を表 2-1 の指標を基準に 0 から 3 の 4 段階で評価し、3 房の平均を 1 ケースのスコアとして評価した。結果については、10 ケースの平均値により示した。

(4) 外観評価

外観評価として、穂軸の褐変および果実の傷害について評価し、ケース内にあるブドウ 1 房の外観を表 2-1 の指標を基準に 0 から 3 の 4 段階で評価し、3 房の平均を 1 ケースのスコアとして評価した。結果については、10 ケースの平均値により示した。

(5) 穂軸の水分含量

穂軸の水分含量は、第 1 節 CA 貯蔵と同様に実施し、ブドウの穂軸を磨砕後、105℃で完全に乾燥するまで熱乾燥を行い、乾燥前後の重量の減少割合から水分含量を算出した。各処理区でブドウ 3 房の穂軸の水分含量を分析し、その平均値を結果に示した。

(6) 果実中のエタノール含量

果実中のエタノール含量は、第 1 節 CA 貯蔵と同様に実施し、果実から取り出したエタノールの濃度を FID が装備されたガスクロマトグラフを用いて分析した。その結果については、各処理区でブドウ 3 房の分析を行い、その平均値を示した。

4) 統計分析

ブドウの品質評価として実施した微生物数、カビの発生スコア、外観評価、穂軸の水分含量および果実中のエタノール含量の MA パレット区および対照区の平均値の比較は、5%水準における処理区間の有意差を t 検定により評価し、結果に示した。

2. 結果および考察

ブドウでの MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵がブドウの微生物学的品質および生理・生化学的品質が及ぼす影響の検討は、イチゴに比べて振動衝撃等の輸送が品質に及ぼす影響が少ないと考え、輸出試験よりも詳細に分析ができる蔵置での試験により実施した。

1) 環境測定

貯蔵中のフィルム内の温度状況は、貯蔵開始時から貯蔵 4 日目にあたる 8 月 12 日まで顕著に低下し、設置場所に関わらず約 2℃に達した。その後の貯蔵中では、その値を維持し、貯蔵 14 日目まで顕著な変動は確認されなかった (図 2-15)。本試験において、対照区内および冷蔵庫内の温湿度の測定は、貯蔵中の温湿度データロガーの不具合により、測定が行われなかったが、上述したように MA パレット内の温度についても設定温度の 1℃に近い温度で維持されていた。イチゴのシンガポールへの輸送試験では、MA パレット処理した区が対照区に比べて高い温度を示すことが確認されたが、本試験についてはこのような影響はなかった。これは、イチゴより低いブドウの呼吸量が影響し、呼吸熱の発生がイチゴよりもブドウの方が低かったことが影響したと考えられた。貯蔵中の湿度状況は、設置場所によってやや差はあるが、ケース内に設置したデータロガーが計測した湿度は、85%以上で保たれ、ブドウの最適な湿度である 85%から 90%⁴⁶⁾に近い湿度での貯蔵が行われていた。貯蔵中の MA パレットのフィルム内の CO₂ 濃度は、充填直後では、25.0%であったのに対して、その後の貯蔵中には、徐々に減少し、貯蔵 7 日目では 5.0%に達し、貯蔵最終日では 3.1%であった (図 2-16)。貯蔵中のフィルム内の O₂ 濃度は、充填直後で 15.3%であり、その後の貯蔵中には顕著な変動は認められず、約 17%程度で推移した。

2) 品質評価

貯蔵後の MA パレットは、図 2-17 の状態であり、フィルム内は多量の結露が発生し、それによる段ボールの強度低下が原因と考えられる最下段のケースの潰れが確認された。これは、イチゴのシンガポールへの輸送試験の際には確認されておらず、夏場 30℃近い気温の中での梱包された MA パレットを 1℃の低温環境で貯蔵したことが影響し、それにより多量の結露が発生したと考えられた。そのため、実際の輸出現場での活用の際には、時期によっては、作業環境についても配慮し、コールドチェー

ンが維持された環境での作業が行われることが、好ましいと考えられた。このような環境で 14 日間貯蔵されたブドウの一般生菌数は、開封後の 10℃貯蔵中も含めて、貯蔵期間を通して検出限界値以下を示し、処理区による影響は確認されなかった（データ省略）。一方で、1℃・14 日間の MA パレットでの高 CO₂ active MAP 貯蔵後の真菌数は、貯蔵開始時からの真菌数の顕著な増加は見られず、処理区による影響も確認されなかった（図 2-18）。また、その後のフィルム開封後の 10℃貯蔵中の真菌数は、開封後貯蔵 7 日目に菌数の増殖が認められたが、処理区間に有意な差は認められず、MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵が真菌数に影響を及ぼすことはなかった。また、MA パレットによる 1℃貯蔵中およびその後のフィルム開封後 10℃での貯蔵 7 日目まで、MA パレット区および対照区ともに顕著なカビの発生についても確認されず、本試験の結果からは、MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵が微生物学的品質に影響を及ぼすことはなかった。本試験のガス組成は、個包装による高 CO₂ active MAP 貯蔵試験で微生物学的品質を維持した 30%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵区よりも低く、貯蔵最終日には 3%に達した。そのため、この低く維持された CO₂ 濃度が MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵で高い微生物学的品質の維持が確認されなかった一つの要因であると考えられた。また、ブドウの多くの文献^{24)、25)、51)、54)、56)}では、1℃やそれに近い低温での貯蔵が行われる場合には、1 か月以上の貯蔵期間での試験が行われており、現在の日本の輸出の中心である東南アジアへの輸出を想定し、決定した本試験の 14 日間の貯蔵期間では、十分にその効果を確認することができなかったことも影響したと考えられた。

貯蔵中の外観評価における穂軸の褐変のスコア評価は、1℃・14 日間の貯蔵後では、MA パレット区よりも対照区の方が高いスコアを示したが、その後のフィルム開封後の 10℃での貯蔵中では、処理区による有意な差は認められず、この差は商品性に影響を及ぼすほどではなかった（図 2-19A）。この結果は、ここまでの高 CO₂ CA 貯蔵試験および個包装での高 CO₂ active MAP 貯蔵と同様の結果であり、‘デラウェア’という品種では、高 CO₂ 雰囲気はその穂軸の褐変に影響を及ぼすことはないと考えられた。貯蔵中の果実の傷害の発生は、1℃貯蔵後には確認されず、その後のフィルム開封後ではわずかにその進行が確認されたが、そのスコアが商品性に及ぼすレベルではなかった（図 2-19B）。また、処理区による影響は、貯蔵期間を通して確認されず、MA パ

レットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵が果実の傷害には影響を及ぼさない結果となった。貯蔵中の穂軸の水分含量は、1℃貯蔵後およびその後のフィルム開封後 10℃・5 日間の貯蔵までは対照区よりも MA パレット区の方が低い値を示したが、その後のフィルム開封後 10℃貯蔵 7 日目ではその差は確認されなかった (図 2-20A)。このフィルム開封後 10℃・5 日間まで確認された対照区よりも低い MA パレット区の穂軸の水分含量は、CA 貯蔵試験では確認されなかった処理区間の差ではあったが、その後は確認されておらず、穂軸の褐変との関係についても確認されていないことから、品質に影響を及ぼすレベルではなかったと考えられた。貯蔵中の果実中のエタノール含量は、1℃貯蔵終了後では、対照区の方が MA パレット区よりも高い値を示したが、その後のフィルム開封後の 10℃貯蔵中では、両処理区間に有意な差は認められず、処理による一定の影響は確認されなかった (図 2-20B)。そのため、エタノールの蓄積についても MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵を行ったとしても本試験のような貯蔵中のガス組成の消長であれば、品質劣化を引き起こすことはないことが明らかとなった。

以上より、MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵がブドウ‘デラウェア’の貯蔵中の微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響は、本蔵置試験の設定条件では、顕著には得られなかった。今後は、イチゴで実施したように海上輸送の実証試験に合わせて、振動衝撃をシミュレーションした外因ファクターを加えた実験系を構築していく必要がある。

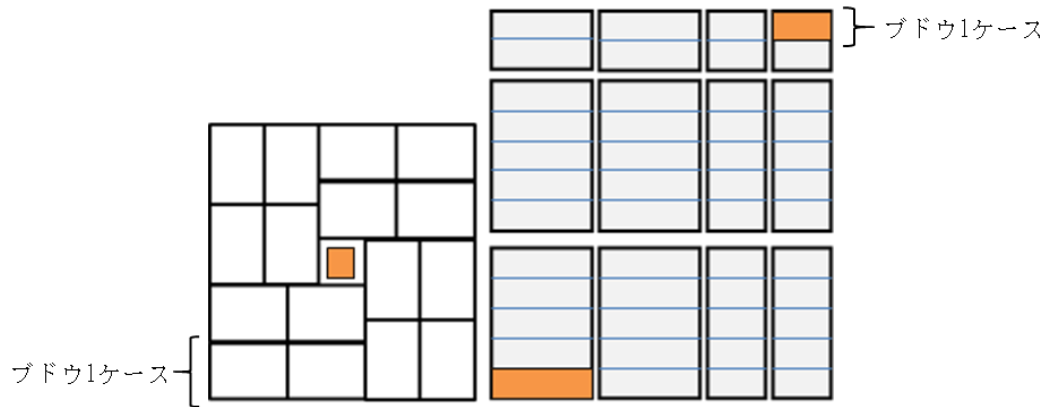


図2-14. MAパレットに設置したブドウのケースの配置図
(左：上から、右：横から)

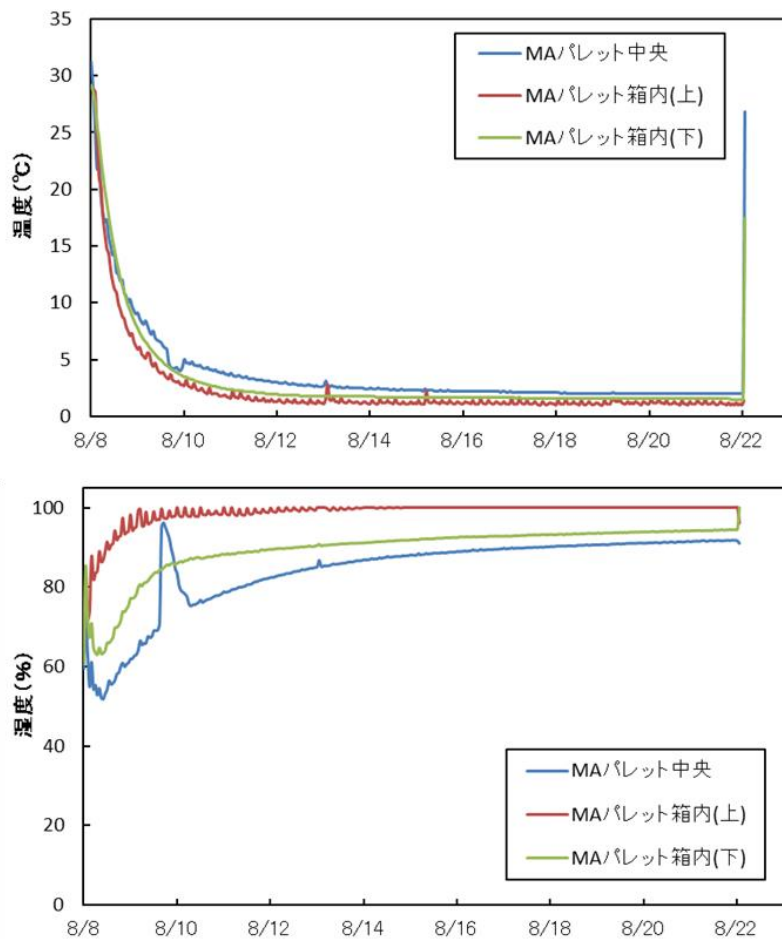


図2-15. ブドウ‘デラウェア’を1℃設定で14日間のMAパレットを用いた active MAP貯蔵中(30%CO₂ガス充填)のフィルム内およびケース内の温湿度状況(上：温度、下：湿度)

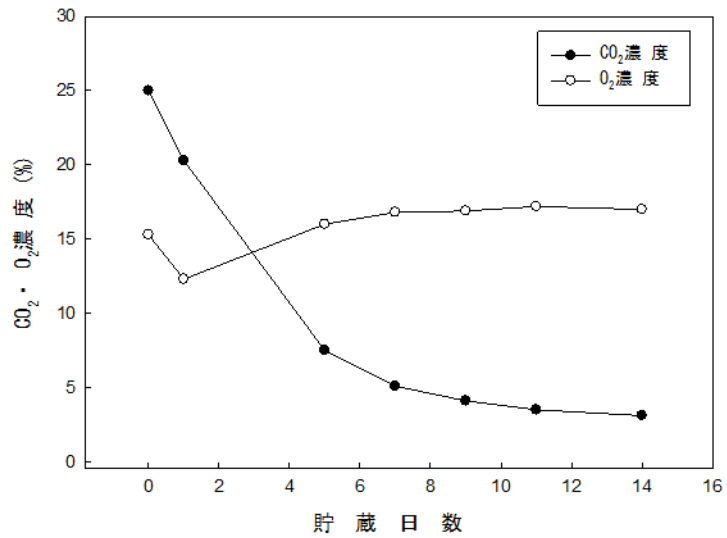


図 2-16. ブドウ‘デラウェア’を 1℃設定で14日間のMAパレットを用いた active MAP貯蔵中（30%CO₂ガス充填）のフィルム内ガス組成



図 2-17. フィルム内の結露の状態（左）とそれに伴う段ボールの潰れの発生（右）

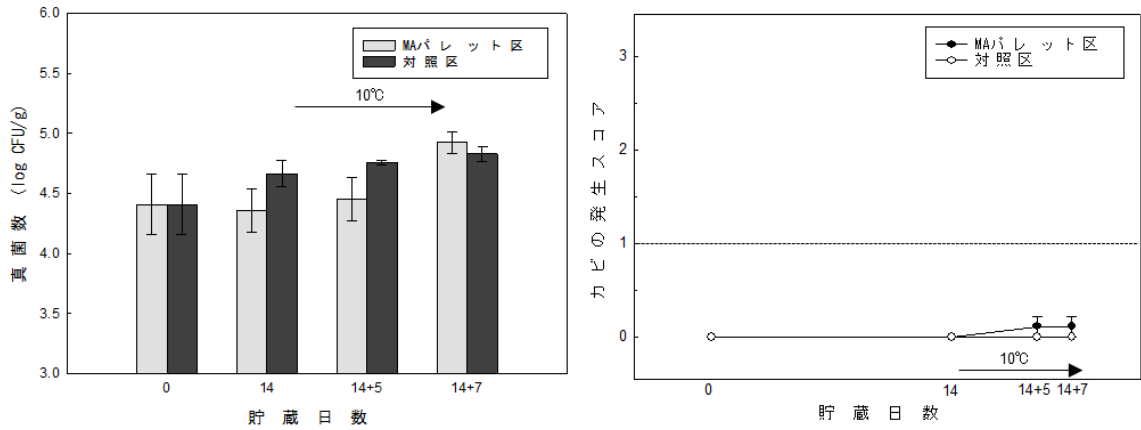


図2-18. 1°Cで14日間 MAパレットを用いた active MAP貯蔵 (30%CO₂ガス充填) した後、フィルムを開封し、10°Cで7日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’から検出された真菌数 (左) およびカビの発生スコア (右)

破線：カビの発生スコアにおける商品限界値を示す

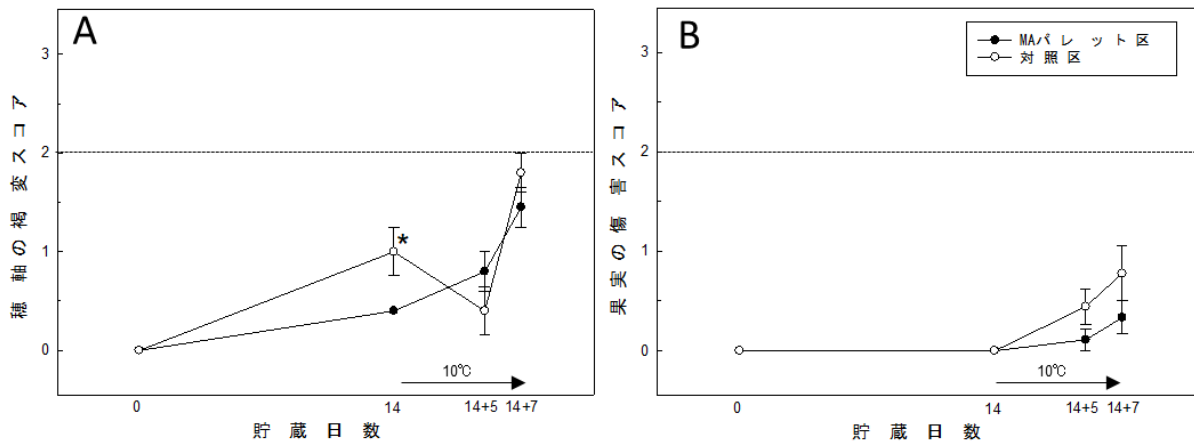


図2-19. 1°Cで14日間 MAパレットを用いた active MAP貯蔵 (30%CO₂ガス充填) した後、フィルムを開封し、10°Cで7日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の外観評価 (A:穂軸の褐変、B:果実の傷害)

破線：各項目における商品限界値を示す

*：穂軸の褐変スコアにおける同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

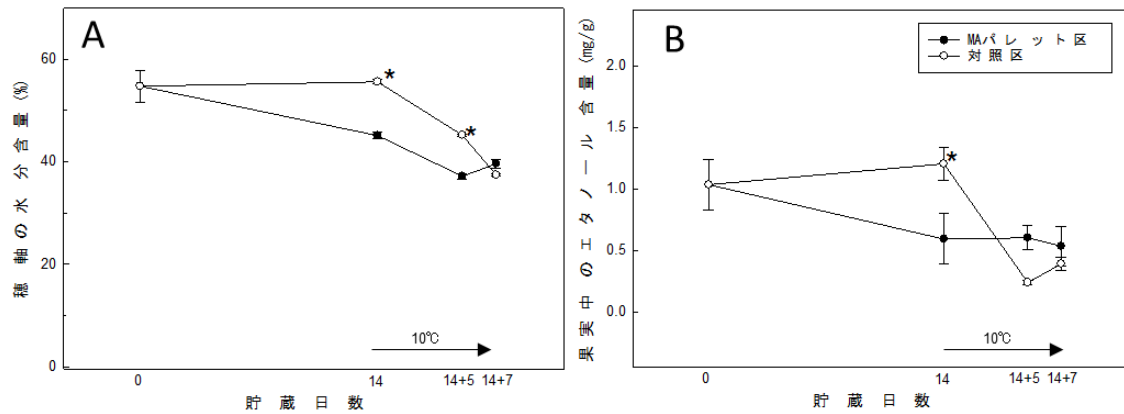


図2-20. 1°Cで14日間 MAパレットを用いた active MAP貯蔵(30%CO₂ガス充填)した後、フィルムを開封し、10°Cで7日間貯蔵したブドウ‘デラウェア’の穂軸の水分含量(A)および果実中のエタノール含量(B)

*: 各項目における同一貯蔵日での処理区間の5%水準における有意差を示す

第4節 総合考察

ベリー類果実に含まれるブドウの貯蔵中の主な商品性の損失は、市場流通中に発生するポストハーベスト病害の発生により引き起こされ、その抑制を行うことは安定的な国内流通および輸出の拡大を実現する上での重要な課題となっている。特に国産のブドウ品種の中でも‘デラウェア’は、大粒系の他の品種に比べて、ポストハーベスト病害の進行が顕著に進むとされている。そこで、国産のブドウ‘デラウェア’を対象にポストハーベスト病害の抑制に有効であるとされる高 CO₂ 雰囲気ブドウの微生物学的品質および生理・生化学的品質の及ぼす影響を評価し、最適な CO₂ 濃度の決定を行った。その後、その決定した高 CO₂ 濃度を基に作製した国内流通を想定した個包装および海上輸送を想定した MA パレットによる高 CO₂ active MAP 貯蔵の適用が、ブドウの品質に及ぼす影響を評価した。

最適な CO₂ 濃度の決定を目的とした 10%、20%および 30%CO₂ 雰囲気による CA 貯蔵試験の結果では、同じくポストハーベスト病害の発生が課題となるイチゴと同様に、20%以上の CO₂ 雰囲気での貯蔵されたブドウは、空気環境下での貯蔵よりも低い真菌数を維持することが可能であり、カビの発生抑制にも有効であった。また、そのカビの発生部位からは、*B. cinerea* および *C. cladosporioides* が検出され、これらのカビの *in vitro* 試験の結果とイチゴの *in vitro* 試験の結果を併せると、ブドウから検出される主なカビである *B. cinerea*、*C. cladosporioides*、*A. alternate* および *P. olsonii* のすべてのカビに対して、高 CO₂ 雰囲気は、その菌糸体の成長を抑制することが明らかとなった。ブドウに対する高 CO₂ 雰囲気での貯蔵は、カビの発生の抑制が可能であると多くの文献で報告されている^{17)、24)、25)、51)}が、それと同時に高 CO₂ 雰囲気による穂軸の褐変やエタノールの蓄積による品質劣化、オフフレーバーの発生が引き起こされることが報告されている²⁶⁾。そこで本 CA 試験においても生理・生化学的な品質に及ぼす影響を評価したが、穂軸の褐変は確認されず、エタノールの蓄積は確認されたが、異臭等の発生はなく、それにより品質劣化が引き起こされることはなかった。一方で、高 CO₂ 雰囲気が果実硬度の維持に影響したと考えられる果実の傷害の抑制が確認され、微生物学的品質の維持に加えて、物理化学的品質の維持にも貢献が期待された。そのため、ブドウ‘デラウェア’では、30%までの CO₂ 濃度であれば、高 CO₂

雰囲気による障害を発生させることなく、微生物学的品質を高く維持することが可能であることから、より微生物学的品質の維持に有効であると考えられる 30%が最適な CO₂ 濃度であると決定した。

この決定した最適な CO₂ 濃度にあたる 30%CO₂ を基準に国内流通を想定とした高 CO₂ active MAP 貯蔵が品質に及ぼす影響を評価すると、イチゴに比べて呼吸量の少ないブドウでは、すべてのガス充填を行った処理区で CO₂ 濃度の減少が確認され、最終的に各処理区の CO₂ 濃度は、10%、30%および 50%CO₂ 充填したそれぞれの処理区で、5%、10%および 20%となった。このような CO₂ 雰囲気で貯蔵されたブドウの微生物学的品質は、20%以上の CO₂ 濃度が維持された 50%CO₂ ガス充填区および 10%以上の CO₂ 濃度を保った 30%CO₂ 充填区で、10%以下の CO₂ 濃度を示した空気充填区よりも高く評価された。これは、ブドウへの貯蔵前の短期的な高 CO₂ 処理においても微生物学的品質の維持が報告されている⁵⁹⁾ ことから、貯蔵開始時の 30%以上の高 CO₂ 濃度がその後の貯蔵中の微生物制御にも影響を及ぼしたのかもしれない。一方で、これらの微生物学的品質の維持に有効であった処理区がブドウの生理・生化学的品質に与える影響は、50%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵で、空気区よりも高いエタノールの蓄積が確認されたが、オフフレーバーやオフオーダーの発生はなく、品質に影響を及ぼすレベルではなかった。また、その他の穂軸の褐変、重量損失、脱粒割合および糖度の項目については、高 CO₂ active MAP 貯蔵による影響は確認されず、高 CO₂ active MAP 貯蔵が生理・生化学的品質に影響を及ぼすことはなかった。そのため、30%および 50%CO₂ ガス充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵は、生理・生化学的品質に影響を及ぼすことなく、微生物学的品質を維持することが可能であることが明らかとなった。

一方で、輸出を想定とした MA パレットによる高 CO₂ 貯蔵試験の結果では、貯蔵期間を通して、いずれの処理区でも微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響は確認されず、対照区に対する有用性を確認することはできなかった。これは、今回設定した東南アジアまでの輸出を想定した 1℃で 14 日間という条件では、品質劣化が引き起こされなかったことが影響していると考えられる。しかし、フィルム内の CO₂ 濃度は、貯蔵最終日には最適と考えられる濃度よりも低い 3%となっており、微生物学的品質の維持に有効である CO₂ 濃度を保つことが可能となるように、より高

い CO₂ 濃度のガス充填や低い酸素透過度のフィルムの選定等について検討を行う必要がある。そうすることで、現状の輸出先である東南アジアへの輸出におけるリスクの低減やさらに遠方への輸出の可能性が期待される。最後に本試験では、カビの発生が顕著とされるブドウ‘デラウェア’での検討を行ってきた。しかし、イチゴよりもブドウは、品種によりその特性が大きく異なることが想定されるため、本試験で明らかになったことを基準に更なる他の品種での高 CO₂ active MAP 貯蔵の検討を進めていくことも今後の重要な課題である。

総 括

本研究は、ポストハーベスト病害を主な品質劣化要因とするベリー類果実の中で、国内流通および海外輸出における主要な果実であるイチゴおよびブドウを対象に、その抑制を目的とした高 CO₂ 雰囲気による貯蔵がイチゴおよびブドウの微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響を明らかにすることを目的に行った。第1章ではイチゴ、第2章ではブドウを対象として、5℃下での高 CO₂ CA 貯蔵による高 CO₂ 雰囲気がイチゴおよびブドウの品質に及ぼす影響を検討し、最適な CO₂ 濃度を決定した。続いて、その結果を基に作製した高 CO₂ active MAP 条件での国内流通を想定とした個包装での高 CO₂ active MAP 貯蔵（5℃）および海外輸出を想定としたパレットを用いた高 CO₂ active MA パレット貯蔵（1℃）がイチゴおよびブドウの品質に及ぼす影響をそれぞれ評価した。

第1章

高 CO₂ CA 貯蔵がイチゴの微生物学的品質に及ぼす影響を見ると、20%以上の高 CO₂ 雰囲気での貯蔵により真菌数およびカビの発生を抑制することが確認された。また、高 CO₂ 雰囲気が直接的に微生物の菌糸体の形成に及ぼす影響を評価した *in vitro* 試験では、同様に20%以上の高 CO₂ 雰囲気での培養が *Botrytis cinerea*、*Alternaria alternata* および *Penicillium olsonii* の培養中の菌糸体の形成を抑制した。一方で、高 CO₂ CA 貯蔵がイチゴの生理・生化学的品質に及ぼす影響は、30%以上の高 CO₂ 雰囲気では、果肉部の褐変およびガク片の褐変の発生による品質劣化が確認され、これらの障害が発生しない CO₂ 濃度での貯蔵が望まれた。そのため、微生物学的品質の抑制に有効であり、高 CO₂ 雰囲気による障害の発生が起こらない 20%CO₂ がイチゴの CA 貯蔵における最適な CO₂ 濃度であると決定した。

この 20%CO₂ を基準に、国内流通を想定とした個包装での高 CO₂ active MAP 貯蔵試験として、OPP フィルムに 10%、15%、20%、30%および 40%CO₂ ガス充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵が微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価した。高 CO₂ active MAP 貯蔵が真菌数あるいはカビの発生の抑制に対する影響は、貯蔵中に 20%以上の CO₂ 濃度の維持が可能であった 20%、30%および 40% CO₂ ガス充填が行われた処理区で、その効果が確認された。また、*B. cinerea* を接種したイチゴへの 20%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵は、微生物汚染の高いイ

イチゴでは、空気充填した MAP 貯蔵よりもカビの発生を抑制することが可能であり、接種試験の結果からも高 CO₂ active MAP 貯蔵は、微生物的品質を高く維持できることが明らかとなった。一方で、10%~40%CO₂ガス充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵が生理・生化学的品質に及ぼす影響では、30%および 40%CO₂ガスを充填した active MAP 貯蔵区で、CA 貯蔵試験と同様に果肉部の黒変の発生が確認された。また、その果肉色の黒変の進行は、収穫熟度による影響を受け、10割着色の果実よりも、8割着色の果実で顕著に少なかった。そのため8割着色での収穫は、高 CO₂ active MAP 貯蔵における果肉色の黒変の発生のリスクを下げることに役立つことが示唆された。また、高 CO₂ active MAP 貯蔵は、重量損失、果実硬度、果実表面の pH およびアスコルビン酸含量に貯蔵期間を通して影響を及ぼさなかった。

高 CO₂ active MA パレット貯蔵がイチゴの品質に与える影響は、実際のシンガポールへの輸送試験により評価した。MA パレット内の CO₂ 濃度は、輸送開始時に 20% CO₂ガスを充填した active MA 区では、輸送中の CO₂濃度が輸送開始時の 16%から輸送終了後では 9%となった。一方で、CO₂ガス充填を行わなかった passive MA 区の輸送終了後の MA パレット内の CO₂濃度は 7%であった。高 CO₂濃度を維持した active MA パレットでは、カビの発生が少なく、微生物学的品質の保持に有効であった。しかし、いずれの MA パレットのイチゴにおいても、荷崩れが発生したこともあり、現地到着後には 40%のカビの発生が確認されており、今後も輸送環境の改善に取り組む必要があると考えられた。

以上より、国産イチゴの貯蔵中の最適な CO₂濃度は 20%であり、その濃度に近い高 CO₂ガスを充填することによって、国内流通を想定した active MAP および輸出を想定した active MA パレットともに果肉色の黒変やガク片の褐変のような高 CO₂による品質低下を引き起こすことなく、イチゴの高い微生物学的品質を維持することが可能であった。

第2章

高 CO₂雰囲気はブドウの微生物学的品質に及ぼす影響に関しては、20%および 30% CO₂雰囲気で貯蔵されたブドウから検出された真菌数が空気区よりも低く、20%以上の CO₂濃度は高い微生物学的品質を維持することが確認された。また、ブドウのカビ発生部位からは *B. cinerea* および *Cladosporium cladosporioides* が検出され、*C.*

cladosporioides についても *in vitro* 試験では、20%以上の CO₂ 雰囲気中で菌糸体の形成が抑制された。イチゴの *in vitro* 試験に供試した *B. cinerea*、*A. alternate* および *P. olsoni* に *C. cladosporioides* を加えた 4 菌種は、イチゴおよびブドウの真菌叢を構成するカビであり、イチゴのみならずブドウにおいても 20%以上の CO₂ 濃度による微生物制御が期待される。一方で、高 CO₂ 雰囲気がブドウの生理・生化学的品質に及ぼす影響は、高 CO₂ 雰囲気による貯蔵では、空気区に比べて果実の傷害の進行が遅く、高 CO₂ 雰囲気による品質の維持が確認された。また、高 CO₂ 雰囲気による貯蔵は、貯蔵中のエタノールの蓄積を引き起こすことが確認されたが、それに伴うオフフレーバーやオフオーダーの発生はなく、品質に影響を及ぼすことはなかった。またその他のブドウの穂軸の褐変、重量損失、脱粒の発生および糖度については、高 CO₂ 雰囲気による影響は確認されなかった。これらの結果からブドウ‘デラウェア’は、イチゴほど CO₂ に対する感受性は高くなく、30%CO₂ 濃度に対しても耐性があるため、微生物学的品質の抑制に有効である 30%CO₂ の CA 貯蔵が最適な濃度であると決定した。

そこで、この 30%CO₂ を基準に作製した 10%、30%および 50%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵が微生物学的品質および生理・生化学的品質に及ぼす影響を評価した。貯蔵中のフィルム内の CO₂ 濃度は、イチゴに比べて低い呼吸量が影響し、すべての CO₂ 充填区で減少傾向を示し、それぞれの貯蔵終了時の CO₂ 濃度は、10%CO₂ 区で 5%、30%CO₂ 区で 10%、50%CO₂ 区で 20%であった。このようなガス環境で貯蔵されたブドウの微生物学的品質は、30%および 50%CO₂ 区で空気区に比べてカビの発生を抑制することが確認された。一方で、生理・生化学的品質に及ぼす影響は、50%CO₂ 区でエタノールの蓄積が見られたが、それに伴うオフフレーバーやオフオーダーの発生はなく、品質に影響を及ぼすレベルではなかった。また高 CO₂ active MAP 貯蔵が他の生理・生化学的品質（穂軸の褐変、重量損失、脱粒の発生および糖度）に及ぼす影響は確認されなかった。そのため、高い微生物学的品質を維持することが可能であった 30%および 50%CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵は、国内流通に活用可能な技術であると判断した。

輸出を想定した高 CO₂ active MA パレット貯蔵は、30%CO₂ ガス充填による MA パレット区と対照区の比較を蔵置試験により行い、それが品質に及ぼす影響を評価した。貯蔵後の MA パレット内の CO₂ 濃度は、貯蔵開始時の 25%から 5%まで低下した。

このような雰囲気では、微生物学的品質（一般生菌数、真菌数およびカビの発生スコア）および生理・生化学的品質（穂軸の褐変、重量損失、脱粒の発生、糖度およびエタノール含量）において、高 CO₂ MA パレットの有効な効果は得られなかった。そのため、今後は、微生物学的品質の維持に有効である CO₂ 濃度を維持することが可能となるように、より高い CO₂ ガスの充填や低い酸素透過度のフィルムの選定等について検討を行い、品質劣化が起これずに微生物学的品質を維持できる MA パレットの構築に取り組みたい。

以上より、国産ブドウ‘デラウェア’の貯蔵中の最適な CO₂ 濃度は 30% であり、個包装での試験においては、30% および 50% CO₂ 充填による高 CO₂ active MAP 貯蔵が、微生物学的品質の維持に有効であった。また、高 CO₂ active MA パレット貯蔵については、フィルムや充填濃度について検討を行い、その影響を引き続き明らかにしていく必要がある。

文 献

- 1) 山口 行雄. 2006. 第7章. ポストハーベスト病害における微生物の挙動と増殖制御. P323-330. 茶塚 和雄. 園芸作物保蔵論 収穫後生理と品質保全. 株式会社建帛社. 東京.
- 2) Feliziani, E., and G. Romanazzi. 2016. Postharvest decay of strawberry fruit: etiology, epidemiology, and disease management. J. Berry Res. 6:47-63.
- 3) Maekawa.N., M. Yamamoto, S.Nisimura, K, Kohmoto, M.Kuwada and Y.Watanabe. 1984. Studies on host-specific af-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing alternaria black spot of strawberry (1) production of host-specific toxins and their biological activities. Ann. Phytopath. Soc. Japan.50: 600-609
- 4) Tournas, V.H., and E. Katsoudas. 2005. Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. Intl. J. Food Microbiol. 105:11-17.
- 5) Crisosto,H.C., J.L.Smilanick., N.K.Dokoozlian and D.A.Luvisi. 1994. Maintaining table grape post harvest quality for long distant markets. International symposium on table grape production.195-199.
- 6) 農林水産業・地域の活力創造本部. 2013. 農林水産業・地域の活力創造プラン https://www.kantei.go.jp/jp/singi/nousui/pdf/20191210plan_honbun.pdf
- 7) 農林水産業・地域の活力創造本部. 2015. 品目別の輸出力強化に向けた対応方向 https://www.kantei.go.jp/jp/singi/nousui/pdf/all_himmoku.pdf
- 8) Romanazzi, G., J.L. Smilanick, E. Feliziani, and S. Droby. 2016. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. Postharvest Biol. Technol. 113:69-76.
- 9) Langer, S.E., M. Marina, J. L. Burgos, G.A. Martínez, P.M. Civello, and N.M. Villarreal. 2019. Calcium chloride treatment modifies cell wall metabolism and activates defense responses in strawberry fruit (*Fragaria* × *ananassa*, Duch). J. Sci. Food Agric. 99:4003-4010.
- 10) Romanazzi, G. 2010. Chitosan treatment for the control postharvest decay

- of table grapes, strawberries and sweet cherries. *Fresh Produce*. 4:111-115.
- 11) Moyls, A.L., P.L. Sholberg, and A.P. Gaunce. 1996. Modified-atmosphere packing of grape and strawberries fumigated with acetic acid. *HortScience*. 31:414-416.
 - 12) Allende, A., A. Marín, B. Buendía, F. Tomás-Barberán, and M.I. Gil. 2007. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 46:201-211.
 - 13) Romanazzi, G., F.M. Gabler, and J.L. Smilanick. 2006. Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. *Plant Disease*. 90:445-450.
 - 14) Wszelaki, A.L., and E.J. Mitcham. 2003. Effect of combinations of hot water dips, biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 27:255-264.
 - 15) García-Gimeno, R.M., C. Sanz-Martínez, J.M. García-Martos, and G. Zurera-Cosano. 2002. Modeling *Botrytis cinerea* spores growth in carbon dioxide enriched atmospheres. *J. Food Sci.* 67:1904-1907.
 - 16) Chambroy, Y., M. Guinebretiere, G. Jacquemin, M. Reich, L. Breuils, and M. Souty. 1993. Effects of carbon dioxide on shelf-life and post harvest decay of strawberries fruit. *Sci. Des Aliments*. 13:409-423.
 - 17) Retamales, J., B.G. Defilippi, M. Arias, P. Castillo, and D. Manríquez. 2003. High-CO₂ controlled atmospheres reduce decay incidence in Thompson Seedless and Red Globe table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 29:177-182.
 - 18) Ke, D., L. Goldstein, M. O'Mahony, and A.A. Kader. 1991. Effects of short-term exposure to low O₂ and high CO₂ atmospheres on Quality attributes of strawberries. *J. Food Sci.* 56:50-54.
 - 19) Watkins, C.B. 2000. Responses of horticultural commodities to high carbon dioxide as related to modified atmosphere packaging. *HortTechnology*.

10(3):501-506.

- 20) Gil, M.I., D.M. Holcroft, and A.A. Kader 1997. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J. Agr. Food Chem.* 45:1662-1667.
- 21) Holcroft, D.M., and A.A. Kader. 1999. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 17:19-32.
- 22) Holcroft, D.M., and A.A. Kader. 1999. Carbon dioxide-induced changes in color and anthocyanin synthesis of stored strawberry fruit. *HortScience.* 34: 1244-1248.
- 23) Chandra, D., A.J. Choi, J.S. Lee, J. Lee, J.G. Kim. 2015. Changes in physicochemical and sensory qualities of “Goha” Strawberries treated with different conditions of carbon dioxide. *Agr. Sci.* 6:325-334.
- 24) Crisosto, C.H., D. Garner, and G. Crisosto. 2002. Carbon dioxide-enriched atmospheres during cold storage limit loss from Botritis but accelerate rachis browning of ‘Redglobe’ table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 26:181-189.
- 25) Crisosto, C.H., D. Garner, and G. Crisosto. 2003. Developing optimal controlled atmosphere conditions for ‘Thomson’ seedless table grapes. *Acta Hort.* 600:817-821.
- 26) Cefola, M., A. Damascelli, V. Lippolis, S. Gervellieri, V. Limsalata, A. F. Logrieco, and B. Pace. 2018. Relationships among volatile metabolites, quality and sensory parameters of ‘Italia’ table grapes assessed during cold storage in low or high CO₂ modified atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.* 142:124-134.
- 27) Nunes, M.C.N., and A.M.M.B. Morais. 2002. Fruit maturity and storage temperature influence response of strawberries to controlled atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127(5):836-842.
- 28) Watkins, C.B., J.E. Manzano-Mendez, J.F. Nock, J. Zhang, and K.E. Maloney.

1999. Cultivar variation in response of strawberry fruit to high carbon dioxide treatments. *J. Sci. Food Agr.* 79:886-890.
- 29) Nielsen, T., and A. Leufvén. 2008. The effect of modified atmosphere packaging on the quality of Honeoye and Korona strawberries. *Food Chem.* 107:1053-1063.
- 30) Izumi, H., V. Rodov, J. Bai, and S.K. Wendakoon. 2017. Physiology and Quality of fresh-cut produce in CA/MA storage, p.253-305. In: S. Pareek (ed.). *Fresh-cut fruits and vegetables: Technology, Physiology, and Safety.* CRC Press, Boca Raton, FL.
- 31) Izumi, H. 2020. CA/MA requirements for spoilage microorganisms and human pathogens. *Controlled and modified atmospheres for fresh and fresh-cut produce.* In: M. Gill and R. Beaudry (eds.). *Academic press,* Cambridge, MA. (In press)
- 32) Wszelaki, A.L., and E.J. Mitcham. 2000. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. *Postharvest Biol. Technol.* 20:125-133.
- 33) Hoogerwerf, S.W., E.P.W. Kets, and J. Dijksterhuis, 2002. High-oxygen and high-carbon dioxide containing atmospheres inhibit growth of food associated moulds. *The Soc. for Appl. Microbiol.* 35:419-422.
- 34) Farber, J.M. 1991. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology – A review. *J. Food Protection.* 54:58-70.
- 35) Hardenburg, R.E., A.E. Watada, and C.Y. Wang. 1986. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks: Weight loss in storage. *Agriculture Handbook,* 66:19-21. U.S. Dept. of Agr., Agricultural Res. Service.
- 36) Choi, H.J., Y.S. Bae, J.S. Lee, M.H. Park, and J.G. Kim. 2016. Effects of carbon dioxide treatment and modified atmosphere packaging on the quality of long distance transporting “Maehyang” Strawberry. *Agr. Sci.* 7:813-821.

- 37) Shin, Y., J.A. Ryu, R.H. Liu, J.F. Nock, K. Polar-Cabrera, and C.B. Watkins. 2008. Fruit quality, antioxidant contents and activity, and antiproliferative activity of strawberry fruit stored in elevated CO₂ atmospheres. *J. Food Sci.* 73:S339-S344.
- 38) Bang, J., S. Lim, G. Yi, J.G. Lee, and E.J. Lee. 2019. Integrated transcriptomic-metabolomic analysis reveals cellular responses of harvested strawberry fruit subjected to short-term exposure to high levels of carbon dioxide. *Postharvest Biol. Technol.* 148:120-131.
- 39) 佐藤 光洋, 北島 信之. 2007. イチゴ‘あまおう’における果実品質の収穫時期別推移および果実品質と成熟期間中の温度との関係. 福岡県農業総合試験場研究報告 26.
- 40) Nunes, M.C.N., and A.M.M.B. Morais. 1995. Quality of strawberries after storage in controlled atmospheres at above optimum storage temperatures. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 108:273-278.
- 41) Koike, S.T. 2003. Fungal ecology of strawberry flower anthers and the saprobic role of *Cladosporium cladosporioides* in relation to fruit deformity problems. *HortScience.* 38:246-250.
- 42) García, J.M., R.J. Medina, and J.M. Olías. 1998. Quality of strawberries automatically packed in different plastic films. *J Food Sci.* 63:1037-1041.
- 43) Li, C., and A.A. Kader. 1989. Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114:629-634.
- 44) 農業・食品産業技術総合研究機構・生物系特定産業技術研究支援センター. 2019. 革新的技術開発・緊急展開事業(うち先導プロジェクト)
http://www.naro.affrc.go.jp/laboratory/brain/h27kakushin/files/itakukenkyukanren_jissiyouryoutou_sendo.pdf
- 45) Harvey, J.M., C.M. Harris, W.J. Tietjen, and T. Seiro. 1980. Quality maintenance of truck shipments of California strawberries. U.S. Dept. Agr, Sci. Edu. Admin., Adv. Agr. Technol. AAt-W-12/July.

- 46) 細田 浩. 第Ⅱ部青果物変質の環境要因. 第1章. 温度, 湿度. p.63-70. 岩本 睦夫. 青果物・花き鮮度管理ハンドブック. 株式会社サイエンスフォーラム. 東京.
- 47) 遠藤 (飛川) みのり, 曾根 一純. 2017. 航空便および船便輸送において新型 包装容器および MA 包装がイチゴ果実にもたらす損傷低減効果の評価. 園学 研. 16(1):95-104.
- 48) 多々良 泉, 辻 聡宏, 御厨 初子, 田中 政信, 劉 蛟艶, 小島 孝之, 太 田 英明. 1999. 輸送過程で発生する振動がイチゴの呼吸速度および品質に 及ぼす影響. 日食保. 25(1):15-19.
- 49) Macnish, A.J., M.S. Padda, F. Pupin, P.I. Tsouvaltzis, A.I. Deltsidis, C.A. Sims, J.K. Brecht, and E.J. Mitcham. 2012. Comparison of pallet cover systems to maintain strawberry fruit quality during transport. Horttechnology. 22:493-501.
- 50) Molin, G. 2000. Modified atmospheres, p. 214-234. In: B.M. Lund, T.C. Baird-Parker, and G.W. Gould (eds.). The microbiological safety and quality of food. Vol.1. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
- 51) Crisosto, C.H., D. Garner, and G. Crisosto. 2002. High carbon dioxide atmospheres affect stored 'Thompson seedless' table grape. Hortscience. 37:1074-1078.
- 52) Deng, Y., Y. Wu, and Y. Li. 2006. Physiological responses and quality attributes of 'Kyoho' grapes to controlled atmosphere storage. LWT. 39:584-590.
- 53) Rosales, R., C. Fernandez-Caballero, I. Romero, M.I. Escribano, C. Merodio, and M.T. Sanchez-Ballesta. 2013. Molecular analysis of the improvement in rachis quality by high CO₂ levels in table grapes stored at low temperature. Postharvest Biol. Technol. 77:50-58.
- 54) Deng, Y., Y. Wu, and Y. Li. 2007. Effect of high CO₂ and low O₂ atmospheres on the berry drop of 'Kyoho' grapes. Food Chem. 100:768-763.
- 55) 辰巳 崇禪. 2006. 第4章 16節. 収穫後の生理機能の低下および生理傷害.

- P193-201. 茶珍 和雄. 園芸作物保蔵論 収穫後生理と品質保全. 株式会社建帛社. 東京.
- 56) Chen, S., M. Zhang, and S. Wang. 2011. Effect of initial hermetic sealing on quality of 'Kyoho' grapes during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 59:194-199.
- 57) Kader, A.A. 2002. Postharvest biology and technology: an overview. p.39-48. In: A.A. Kader (eds.). *Postharvest technology of horticultural crops.* University of California Agriculture and Natural Resources.
- 58) 泉 秀実. 2008. 青果物およびカット青果物の微生物学的安全性に関する研究. *日食保.* 34 (2) : 85-95.
- 59) Tales, C.S., B.C. Benedetti, W.D. Gubler, and C.H. Crisosto. 2014. Prestorage application of high carbon dioxide combined with controlled atmosphere storage as a dual approach to control *Botritis cinerea* in organic 'Flame Seedless' and 'Crimson seedless' table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 89:32-39.
- 60) Martínez-Romero, D., F. Guillén, S. Castillo, D. Valero, and M. Serrano. 2003. Modified atmosphere packaging maintains quality of table grape. *J. Food Sci.* 68:1838-1843.

謝辞

本研究を行うにあたり、終始一貫してご指導頂きました指導教員（副主査）の泉秀実教授に深く感謝致します。本論文の主査を引き受けて頂きました阿野貴司教授、副主査を引き受けて頂きました尾崎嘉彦教授にも厚く御礼申し上げます。そして、このような学位取得という機会を頂きました全国農業協同組合連合会の久保常務、耕種総合対策部の永島部長、松澤次長、上野前次長、粉河前センター長、森永前室長、東野室長、室谷室長代理には深く感謝いたします。今回の経験を活かし、今後も引き続き、業務に邁進してまいります。

また、本研究を行うにあたり、MA パレット資材開発を共同研究として進めさせて頂き、シンガポールへの輸出試験時においても多大なるご支援頂きました三井化学株式会社の皆様にも深く御礼申し上げます。

最後に研究を進めるにあたり、数多くのご指導や助言をして頂いた研究員の井上あやのさんおよび実験を共に進めて頂きました食品保全学研究室および農産物商品開発室の皆様にも御礼申し上げます。