



Title	マンゴーの親水性低分子代謝物と官能特性との相関解析
Author(s)	佐藤, 美和
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/103096
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

博士学位論文

マンゴーの親水性低分子代謝物と
官能特性との相関解析

佐 藤 美 和

2025年3月

大阪大学大学院工学研究科

目次

第 1 章 緒論	1
1.1 マンゴーについて.....	1
1.2 果実における味覚品質に対する需要.....	2
1.3 マンゴーにおける温室栽培	3
1.4 味に着目した品質評価.....	3
1.5 メタボロミクス技術	4
1.6 果実を対象にしたメタボロミクス研究.....	5
1.7 本研究の背景と目的.....	6
第 2 章 インドネシアマンゴー5 品種の官能特性と親水性低分子代謝物プロファイル との相関解析.....	8
2.1 緒言	8
2.2 実験材料と実験方法	9
2.2.1 マンゴーサンプル.....	9
2.2.2 サンプル前処理	12
2.2.3 形質調査	12
2.2.4 GC-MS 分析(親水性低分子ノンターゲット解析)	12
2.2.5 官能評価	14
2.2.6 データ処理	15
2.2.7 多変量解析	16
2.3 結果と考察	17
2.3.1 インドネシアマンゴー5品種の形質と官能評価	17
2.3.2 インドネシアマンゴー5 品種の主成分分析.....	20
2.3.3 インドネシアマンゴー5 品種の OPLS-DA の結果	25
2.3.4 インドネシアマンゴーと海外マンゴーの比較	32

2.4 小括	37
第3章 複数年度にわたる同一温室・同一品種のマンゴーの官能特性と親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析	38
3.1 緒言	38
3.2 実験材料と実験方法	39
3.2.1 マンゴーサンプル	39
3.2.2 サンプル前処理	41
3.2.3 形質調査	41
3.2.4 GC-MS 分析(親水性低分子ノンターゲット解析)	41
3.2.5 官能評価	43
3.2.6 データ処理	44
3.2.7 多変量解析	45
3.3 結果と考察	46
3.3.1 官能評価及び形質調査結果	46
3.3.2 官能評価サンプルの成分プロファイルによる主成分分析 (PCA)	48
3.3.3 OPLS によるヒトの官能評価予測モデルの構築	52
3.4 小括	62
第4章 総括と今後の展望	63
4.1 本研究の総括	63
4.2 今後の展望	65
引用文献	66
論文	79
謝辞	80
付録	81

用語集

GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry, ガスクロマトグラフィー質量分析計

EI: Electron ionization, 電子イオン化

PCA: Principal component analysis, 主成分分析

OPLS-DA: Partial least square-discriminant analysis, 部分的最小二乗-判別分析

OPLS: Orthogonal projection to latent structures, 直交部分最小二乗回帰

PLS: Partial least square regression, 部分的最小二乗回帰

RT: Retention time, 保持時間

RI: Retention index, 保持指標

VIP: The variable importance in projection, 射影に対する変数の重要性

RMSEE: Root mean squared error of estimation, 推定の平均自乗誤差の平方根

RMSEP: Root mean squared error of prediction, 予測の平均自乗誤差の平方根

RMSEcv: Root mean squared error with cross validation,

クロスバリデーション予測の平均自乗誤差の平方根

第1章 緒論

1.1 マンゴーについて

マンゴーは、生物学的分類のウルシ科マンゴー属 (*Mangifera*) に属し、その起源は、歴史的記録と古植物学的な知見によると、4000 年から 6000 年以上も前のインドからとされており、栽培歴史の長い果実である (1). その後、7 世紀までに中国、10 世紀ごろに東アフリカ、15 世紀初頭には、フィリピン、15 世紀以降は、アジアから熱帯、亜熱帯地域、16 世紀は、アフリカまで普及し、更に、18 世紀から 19 世紀初頭には、ブラジルやメキシコ、19 世紀後半までには、アメリカにまで拡大したとされている (1) (図 1-1). 現在は、100 カ国を越える国で生産されており、主要な産地は、インド、中国、タイ、インドネシア、ブラジル、フィリピン、パキスタン、メキシコなどの熱帯・亜熱帯地域である (2). マンゴー属には、約 100 種程度あるとされているが、今日、世界中で最も多く栽培されている主要な種は、*Mangifera indica* L. となっている. マンゴーの品種数は、*Mangifera indica* L. 種だけでも、数百品種が存在するとされており (3)、品種によって、味、香り、色、形質等が特徴的である (4,5).

また、マンゴーは、濃厚な甘さ、魅惑的で独特な味や芳醇な香気、ジューシーさに加え、抗酸化能の高いフェノール類、カロテノイド類やビタミン C、葉酸などの栄養成分も多く含まれていることから、多くの国で食されている (2,5). 生産量は、6110 万トン (2023 年) を誇り (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, Accessed 2025/2/4), 2029 年には、7280 万トンまで増加する見込みもあることから (<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/3e06309f-87b8-44ad-b58f-6c4c438b634d/content>, Accessed 2025/2/9), 経済的にも有望な果実である (6).

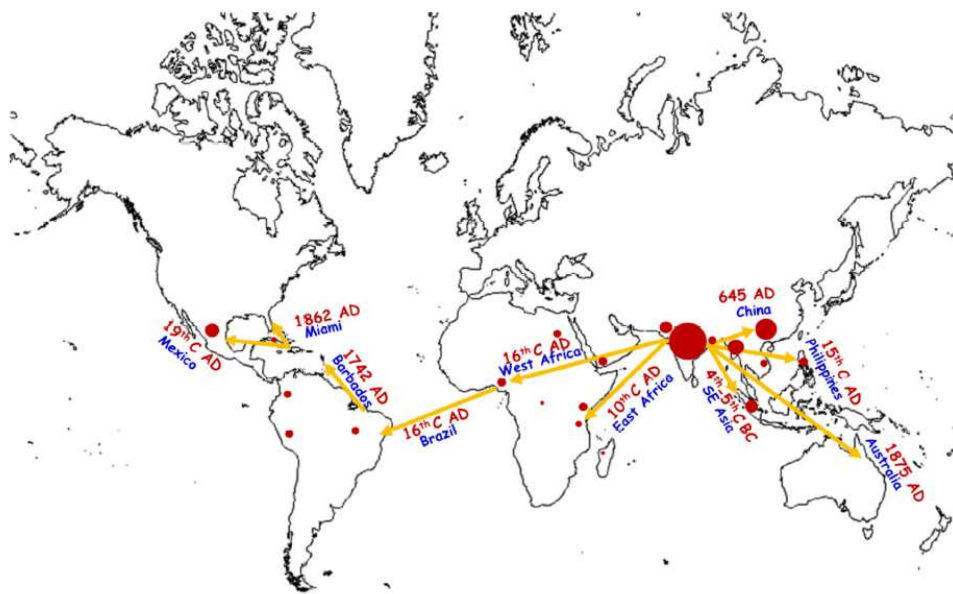


図 1-1 マンゴの起源⁽¹⁾

1.2 果実における味覚品質に対する需要

農産物においては、一般に、需給バランスに基づいた価格設定がなされている。これまで、収量を重視した栽培や育種等が行われていた(7)が、近年は、農産物においても、品質に対する消費者ニーズが高く、品質に着目した販売戦略が重要視されている(7)。

果実品質については、一般的に、色差(形質)、味、香り、テクスチャー、熟度などにより総合的に評価されている(8-10)が、嗜好性の高いマンゴーなどの果実においては、前述の品質評価項目の中でも、消費者嗜好に大きく影響する「味」に着目した品質に対する消費者ニーズが高い(11,12)。更に、流通における観点からは、消費者ニーズを満たす品質を有する果実の安定的な供給が求められている(8)。そのため、近年は、マンゴーなどの果実において、味に着目した果実品質の安定した供給を重視した育種や栽培条件の改良等への需要・関心が高まっている(7)。

1.3 マンゴーにおける温室栽培

マンゴーの栽培は、主に北緯 30 度から南緯 30 度の間の熱帯や亜熱帯気候の地域において、露地を中心に栽培されてきたが、近年は、露地栽培が可能である北限以北に位置する日本をはじめとする温帯地域においても栽培されている (13). これらの地域では、開花期の低温を回避するために、温室施設による栽培が必須となっている (13,14). マンゴーにおいて温室栽培が導入された目的は、前述のとおりであるが、一般的に温室栽培は、環境要因の制御がしやすく、害虫などの影響を受けにくいいため、安定した品質と収量についても期待できる (15). このようなことから、近年、マンゴーにおいても、温室栽培が着目されつつある (16) が、まだまだ、その歴史は浅く、報告等についても、少ない現状がある (17).

1.4 味に着目した品質評価

味を評価するために、最も一般的な手法は、ヒトによる官能評価である (18). しかしながら、ヒトの官能評価だけでは、多成分の複雑な相互作用により構成されている味の詳細かつ科学的な評価・理解までは困難であった (19).

そのような中、食品分野において、包括的な成分プロファイルと官能評価を関連づけて、品質を評価することが可能であるメタボロミクス技術の活用が注目されている (20-23). メタボロミクス技術は、特定の成分のみを対象とする分析に比べ、成分の包括的なプロファイリングに基づくため、味に着目した品質評価においても、官能評価だけでは難しかった味と成分情報との紐づけが可能である (20,24) ことから、官能評価予測モデルの構築や官能評価スコアに関連する主要な成分の特定など多くの報告がある (20, 25-30). そのため、これらの報告を活用した品質の改善、さらには、ヒトの官能評価の代替などへの活用が期待されている.

1.5 メタボロミクス技術

微生物, 植物, 動物等の生命体分子を網羅的に調べることをオミクス解析という (31). オミクス解析には, 生命の遺伝情報の上流から, DNA を対象とするゲノミクス, タンパク質を対象とするプロテオミクス, mRNA を対象とするトランスクリプトミクス, 代謝物を対象とするメタボロミクスがあり, ゲノム情報実行フローの最下流にあるメタボロミクスは, 表現型と直接的な相関関係を持つため, 表現型や代謝の変動等を理解しやすい (31).

また, 解析対象とする成分がゲノミクスは 25,000 種類, プロテオミクスは 100,000 種類であることに対し, メタボロミクスでは, 約 3,000-4,000 種類であるため, 比較的データが扱いやすく, 理解が容易である (31).

メタボロミクスは, 大きくノンターゲットメタボロミクスとターゲットメタボロミクスに分類される (32). ターゲットメタボロミクスは, 観測代謝物範囲に基づいて, 測定する代謝物をあらかじめ決定しているのに対し, ノンターゲットメタボロミクスは, 測定前に分析対象物を絞り込まずに一斉に測定できる可能な限り多くの代謝物を対象とする (32).

メタボロミクス分析装置(プラットフォーム)については, 核磁気共鳴分光分析法 (Nuclear magnetic resonance spectroscopy :NMR) (33), ガスクロマトグラフィー質量分析法 (Gas chromatography mass spectrometry :GC-MS) (34), 液体クロマトグラフィー質量分析法 (Liquid chromatography mass spectrometry:LC-MS/MS) (35), キャピラリー電気泳動質量分析法 (Capillary electrophoresis mass spectrometry:CE-MS) (36)等が広く利用されており, それぞれの装置において, 分析対象代謝物やその範囲, 特徴も様々である.

そのうち, GC-MS は, GC の持つ高い分離能力や保持時間再現性と, GC-MS に用いられる電子イオン化法 (electron ionization, EI) により得られるフラグメントイオンスペクトルの再現性が高いという特徴を有している (37). さらに, 安定性やデータの簡便性に加え, 比較的低コストであることから, メタボロミクス分析において, 最も多く使用されている装置であり, ノンターゲット分析においても汎用されている (37,38).

更に、メタボロミクス研究では、数十から数千に及ぶ代謝物の大量なデータを効果的に解釈するために多変量解析が用いられているが、解析手法の選択によって、分析の目的と結果情報の解釈のしやすさが異なることから、最適な手法を選択することが重要である。メタボロミクス研究において、一般的に使用される手法として、データの次元を減らしてパターンや傾向を特定するのに役立つ主成分分析（PCA）、サンプル、グループ間の分類と差異の特定に使用される直交部分最小二乗判別分析（OPLS-DA）などがある。また、代謝産物データを特定の対象変数と相関させる場合は、直交部分最小二乗回帰（OPLS-R）が用いられる。これらの手法は、複雑なメタボロミクスデータセットから意味のある洞察を引き出すために不可欠である (39)。

1.6 果実を対象にしたメタボロミクス研究

果物におけるメタボロミクス研究における報告は、2010年の年間約20件の記事から2019年の約200件に、過去10年間で大幅に増加している (40)。

特に、ハイスループットメタボロミクス技術により、さまざまな生物学的プロセスにわたる代謝物レベルを定量化し、果実の発達と成熟の根底にある遺伝子を特定することが可能となるなど、その成長は目まぐるしい (40)。

マンゴーにおいても、メタボロミクス技術を活用して、品種、栽培法、貯蔵条件の違い等の要因と成分を紐付けて、その要因の影響を評価した多くの報告がある (2,4,5,9,41-43)。そのような中、マンゴーは、前述したように、嗜好性の高い果実であり、味(官能特性)に対する消費者ニーズが高まっていることから、官能特性に着目した品質向上への関心も大きく、客観的な品質の評価、理解が必要となっている。しかしながら、現在、マンゴーの官能特性を客観的に評価する一般的な指標としては、糖度と酸度のみとなっており、実際の味を十分に評価することが難しい現状がある (44,45)。そのため、マンゴーの官能特性の客観的な評価へのメタボロミクス技術の活用が期待されるが、現在は、3品種のフロリダ産マンゴーの官能特性と成分との相関をPLSにより

解析した 1 報告に限られている (44).

1.7 本研究の背景と目的

ここまで述べたように、マンゴーの品質に関しては、近年の官能特性に対する消費者ニーズの高まりに伴い、官能特性を重視した品質を有する果実の安定した流通が望まれている。

それらに対応するため、マンゴーの温帯地域の栽培において導入されており、環境要因の制御のしやすさや害虫の影響を受けにくく、安定した品質と収量が期待される温室栽培の活用が有効であると考えられる (15). しかしながら、温室の全域が完全に均一の環境とは言えず、同一温室内で栽培されている果実において官能特性も含めて品質のばらつきが存在する。

このようなことから、温室栽培を品質向上や栽培法の改善等に活用するためには、温室栽培におけるマンゴーの品質を科学的に評価・理解することが必要であるが、官能特性に着目して品質を評価した報告はなかった。

そこで、本研究では、親水性低分子代謝物プロファイルを説明変数とした官能特性予測を検討した上で、温室栽培マンゴーの官能特性に着目した品質を評価することを試みた。

食品分野では、官能特性の評価において、親水性低分子代謝物プロファイルと官能特性を関連づけて品質を評価した多くの報告がある。しかしながら、マンゴーの官能特性において、親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析を用いて、実用性を鑑み、評価・活用した事例はなかった。そこで、第 2 章では、多様な品種が存在するマンゴーの生産量世界第 2 位であるインドネシアマンゴーを供試し、GC-MS を用いたノンターゲット親水性低分子代謝プロファイルによりマンゴーの官能特性との相関を解析し、客観的に品種ごとの官能特性を理解、説明するとともに、マンゴーの官能特性における GC-MS を用いたノンターゲット親水性低分子代謝プロファイリングの実用性

を確認することを試みた.

第 3 章では, 3 年間にわたり同一の温室で栽培された同一品種のサンプルを供試し, 官能評価と GC-MS を基盤とした親水性低分子代謝物プロファイルにより, 温室栽培マンゴーの官能特性に着目した品質を評価することを試みた. また, 本章で供試した同一の温室で栽培された同一品種のサンプルは, 異なる品種のサンプルに比べ, 僅差の品質を評価する必要があることから, より高い検出力が求められる. そのため, 官能評価と親水性低分子代謝物プロファイルのマンゴーの官能特性評価における検出力についても, 3 年間にわたる再現性及び官能評価予測モデルの精度により評価することを試みた.

第 4 章では, 第 2 章から第 3 章で得られた知見を総括し, 今後の展望を考察した.

第2章 インドネシアマンゴー5 品種の官能特性と親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析

2.1 緒言

前章でも述べたように、近年、マンゴーにおいても、「味」に対する消費者ニーズの高まり(13)に伴い、官能特性に着目した品質が重要視されている。官能特性を評価する手法として、ヒトによる官能評価が一般的であるが、これだけでは、官能特性を詳細に理解することまでは困難である。そこで、有効となるのが、包括的な成分プロファイルと官能評価を関連づけて、品質を評価することが可能なメタボロミクス技術 (17-20) である。種々の食品において、親水性低分子代謝物プロファイルと官能評価を紐付け、品質を評価した報告が多いことから、その有用性は明らかである。しかしながら、マンゴーの官能特性に関しては、実用性を鑑み、評価・活用した報告がなかった。

そこで、本章では、マンゴーの生産量世界第 2 位であり、多様な品種が存在するインドネシアの色・形・味など、一般的な情報を有する代表的なマンゴー5 品種を供試し、品種ごとのヒトによる官能評価 (CATA およびヘドニックテスト) と GC-MS におけるノンターゲット親水性低分子代謝物との相関を解析することで、それぞれの品種の官能特性を親水性低分子代謝物プロファイルにより説明することを試みた。また、マンゴーの官能特性評価における GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイリングの有用性についても検証した。その際、結果の解釈を明確化し、信頼性を得る (46,47) ために、多変量解析手法として、探索的アプローチである教師なしの PCA と教師ありの OPLS-DA を組み合わせて解析、評価した。更に、「品種」「産地」「栽培条件」が明らかに異なるインドネシア以外の海外産 3 品種を加えて比較することにより、親水性低分子代謝物プロファイルの官能特性評価における影響力についても評価した。

2.2 実験材料と実験方法

2.2.1 マンゴーサンプル

インドネシアで栽培された Arumanis 143, Gedong, Podang, Cengkir Indramayu (以下, Cengkir), Lalijiwo の 5 品種に加え, 海外産品種として購入した Chok Anan (タイ), Tommy Atkins (ブラジル), Irwin (日本) の 3 品種を本試験に供試した (図 2-2-1, 2-2-2 表 2-2-1, 2-2-2). なお, インドネシアマンゴー5 品種は, 形態学的特徴 (48) に基づいて選択し, 海外産品種は, 「品種」「産地」が 3 品種全てで異なり, 「栽培条件」については, Irwin (日本) のみが 露地栽培ではなく, 温室栽培である.



図 2-2-1 インドネシアマンゴー5 品種

表 2-2-1 インドネシアマンゴー5 品種サンプルリスト

サンプル 番号	種名	一般名	生産地	入手方法	果皮色	形質	一般的な 味覚品質
1	<i>Mangifera indica</i> L.	Arumanis143	インドネシア Cirebon, West Java	生産者	緑	楕円(卵型)	甘い
2	<i>Mangifera indica</i> L.	Gedong	インドネシア Cirebon, West Java	生産者	ラディッシュ オレンジ	円形	甘い
3	<i>Mangifera indica</i> L.	Podang	インドネシア Kediri, East Java	店舗	ラディッシュ オレンジ	楕円(卵型)	甘酸っぱい
4	<i>Mangifera indica</i> L.	Cengkir	インドネシア Cirebon, West Java	生産者	黄緑	楕円(卵型)	甘酸っぱい
5	<i>Mangifera indica</i> L.	Lalijiwo	インドネシア Cirebon, West Java	生産者	緑	楕円(卵型)	甘い



‘Chok Anan’(タイ) ‘Tommy atkins’(ブラジル) ‘Irwin’ (日本)

図 2-2-2 海外産 3 品種

表 2-2-2 海外産 3 品種サンプルリスト

サンプル 番号	種名	一般名	生産地	入手方法	果皮色	形質	一般的な 味覚品質
1	<i>Mangifera indica</i> L.	Chok Anan	タイ	店舗	黄	楕円(卵型)	甘い
2	<i>Mangifera indica</i> L.	Tommy Atkins	ブラジル	店舗	緑紫	楕円(卵型)	甘酸っぱい
3	<i>Mangifera indica</i> L.	Irwin	日本	店舗	ラディッシュ オレンジ	楕円(卵型)	甘い

2.2.2 サンプル前処理

各品種 5 果ずつを形質調査と官能評価 (CATA とヘドニックテスト) に供した。更に、それら 5 果のうち 3 果分の果肉をメタボロミクス分析に供した。

初めに、インドネシアにて、マンゴーを水洗いし、タオルで拭きあげた。その後、皮をむき、果肉と種に分けた。官能評価と形質調査用として、果肉をキューブ (約 $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$) にカットした。糖度 (Total soluble solid (TSS)) と酸度 (Titratable acidity (TA)) 用サンプルは、さらしにて、果肉を潰し、濾した果汁を測定した。メタボロミクス分析用には、果肉をキューブ (約 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$) にカットし、 -80°C で保存したのち、凍結乾燥した。その後、サンプルを日本に輸送し、到着後にマルチビーズショッカーで粉碎し、粉末にした。

2.2.3 形質調査

TSS (%) は、デジタル屈折糖度計 (PR-201 α (Brix 0%-60%), Atago, 東京, 日本), TA (%) は、水酸化ナトリウムとフェノールフタレイン指示薬を用いた測定法により測定した。硬度 (N) は、硬度計 (Model H1KF, Tinius Olsen, Horsham, ペンシルベニア州, アメリカ) により測定した。硬度計の測定パラメーターは、荷重 20 N, 変位 20 mm, 速度 100 mm min^{-1} であった。

2.2.4 GC-MS 分析 (親水性低分子ノンターゲット解析)

サンプル前処理に使用する試薬は以下を用いた。

メタノール, クロロホルム, 超純水, 脱水ピリジンは富士フィルム和光純薬株式会社から購入した。メトキシアミン塩酸塩と *n*-アルカン ($\text{C}_8\text{--C}_{40}$) はシグマアルドリッチ (ウィスコンシン, アメリカ) から購入した。*N*-メチル-*N*-トリメチル-トリフルオロアセタミド (MSTFA) は、ジーエルサイエンス株式会社 (東京, 日本) から購入した。

分析装置は以下を用いた.

GC 7890A に 5975 C Inert XL mass selective detector (MSD) と Agilent triple-axis detector を搭載した装置 (アジレントテクノロジー株式会社) と, InertCap5 MS/NP (0.25 mm i.d. \times 30 m, $df = 0.25 \mu\text{m}$, ジーエルサイエンス) を用いて実施した. データ取得は MSD ケミステーション (アジレントテクノロジー株式会社) を用いた.

サンプル前処理方法は以下を用いた.

前処理は, 2 日間の工程で実施し, 1 日目の工程は, マンゴーフリーズドライサンプル (5 mg) に, メタノール, クロロホルム, 超純粋 (5:2:2=v/v/v) 1,000 μL と内部標準として, 60 μL のリビトール (0.2 mg/100 mL) の溶媒を加え, ThermoMixer C (エッペンドルフ株式会社, ハンブルク, ドイツ) を用いて, 1,200 rpm, 37°C で 30 分間振盪した. インキュベーション後, 15,000 rpm, 4°C で 3 分間, 遠心分離 (クボタ, 東京, 日本) し, その上澄み 600 μL と 300 μL の超純水を新しいチューブに入れ, 再び, 15,000 rpm, 4°C で 3 分間, 遠心分離した. 遠心分離後, サンプル用と Quality control (QC) サンプル用として新しく準備したチューブに 200 μL ずつ分注した. QC サンプルは, この研究に供試したすべてのサンプルの上澄みを 200 μL ずつ 1 つのチューブに集め, 更に, それから, 新しいチューブに 200 μL ずつ分注したものである.

また, ブランクは, マンゴーフリーズドライサンプル (5 mg) を含まない, メタノール, クロロホルム, 超純水 (5:2:2=v/v/v) からの工程をサンプル同様に実施したものである.

それぞれのチューブの溶媒を遠心濃縮 (タイテック株式会社, 埼玉, 日本) したのち, 1 晩凍結乾燥 (東京理化器械株式会社, 東京, 日本) した.

2 日目の工程は, 凍結乾燥されたサンプルと QC 及びブランクに 100 μL のメキシアミンを加え, 1,200 rpm, 30°C で 90 分間振盪し, 更に, シリル化反応のため, MSTFA を 50 μL 加え, 1,200 rpm, 37°C で 30 分間振盪した.

その後、15,000 rpm, 25°C, 3 分間、遠心分離したのち、上澄み 100 μ L を GC-MS 用とし、GC-MS システムに 1 μ L 注入した。

分析条件は以下を用いた。

GC 条件は以下の通りであった。スプリット比は 25:1、インジェクション温度は、230°C、キャリアガスは、1.12 mL/分でヘリウムを流した。カラム温度は、80°C を 2 分間維持し、その後 15°C/分で 330°C まで上昇し、さらに 6 分間維持した。MS 条件は以下の通りだった。トランスファーラインとイオン源の温度はそれぞれ 250°C と 200°C だった。イオン化は電子イオン化法 (EI 法) によって電圧 70 eV で行った。質量範囲は m/z 85–500 でスキャンスピードは 3.46 スキャン/秒だった。

2.2.5 官能評価

官能評価は、Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) とインドネシアの Agency for the Assessment and Application of Technology から 50 名（内訳：年齢は、20 代から 60 代、男女比は、女 54%、男 46%）をパネリストとして募集し、実施した。官能評価を実施前に、パネリスト全員に、マンゴーの嗜好性及び購買意欲調査を実施した（付録 1）。官能評価は、ヘドニックテスト（付録 2）と check-all-that-apply (CATA)（付録 3,4）により評価した。

ヘドニックテストは、図 2-2-3 (49) に示すように、分析型と嗜好型の 2 つに分類した場合、嗜好型の官能評価に属し、評価尺度の段階ごと（本章においては、9 段階尺度）の点数を用い、評点法で評価する手法であり、好ましさに関する量的なデータが得られる (50)。

本章におけるヘドニックテストは、6 項目（香り、味、色、食感、後味、総合評価）について、9 段階の尺度（好ましくない（極めて嫌い）1-9 好ましい（極めて好き））により評価した。

CATA は、ヘドニックテストと同様に、嗜好型官能評価に分類されるが、ヘドニックテストに比べ、信頼性の高い情報が多く得られるため、図 2-2-3 においては、やや分析型官能評価に近い嗜好型の評価手法 (49) である。

本章における CATA は、付録 3 に示す質問に対して、当てはまる場合は、チェックし、スコア 1、当てはまらない場合は、チェックをせず、スコア 0 として評価した。また、解析においては、主に、スコア 1, 0 を名義尺度として解釈し、実施した。

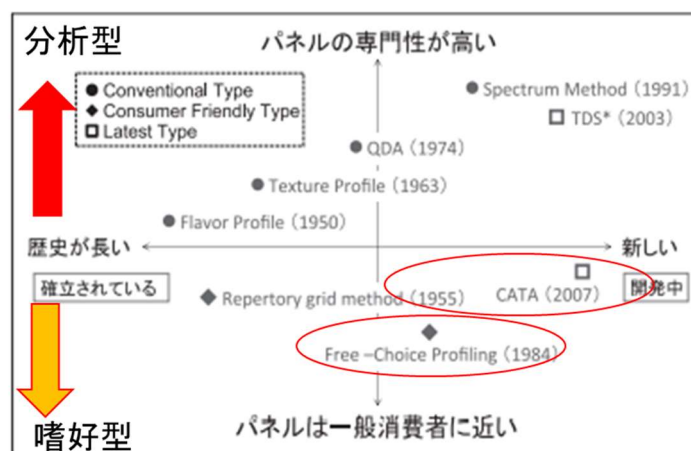


図 2-2-3 代表的な官能評価手法の位置づけ^(49 一部改良)

2.2.6 データ処理

データ処理方法として、既報を一部修正したものを用いた (24,30)。

GCMS クロマトグラフデータは、MSD Chemstation analysis software により、netCDF 形式に変換した。netCDF 形式に変換したファイルをフリーソフトである MS-DIAL ver.4.00 を使用してピーク検出、デコンボリューション、同定・アライメントした。ピーク検出のパラメーターについては、ピーク高を 1000 以上とし、スムージング方法は、liner weight moving average とした。スムージング値を 3 スキャンとし、ピーク幅の平均は、10 スキャンとした。デコンボリューションについては、sigma window value が 0.8, EI spectra cut off を 200 amplitudes に設定し、実施した。ピーク同定については、アルカン mix (C₈-C₄₀) をリテンションインデックス、Osaka University/GL-Science DB Library (Inert

Cap 5MS-NP, Kovats RI, 530 records)をライブラリーとして用いた。ピーク同定及びアラ
イメントのパラメーターに関しては、以下のとおり

Retention index (RI) tolerance: 10

Retention time (RT) tolerance: 0.075 min

EI similarity cut off: 70%

Identification score cut off: 70%

成分同定は、質量スペクトルと RI を Osaka University/GL-Science DB Library (Inert
Cap 5MS-NP, Kovats RI, 530 records))と比較して実施した。

ピーク検出と同定ののち、検出したピーク高を内部標準により平準化した。データマト
リックスとして、生及び平準化されたピーク高で構成された。平準化したデータマトリッ
クスを使用して、blankのデータを参考に、生物学的由来のピークではないものを除い
た。

2.2.7 多変量解析

Tukey の多重比較検定は、Excel Statistics version 6.05a (Esumi Company, 東京, 日
本)を用いて行い、95%信頼水準で有意差を判定した。

主成分分析 (PCA) 及び Orthogonal projection to latent structures (OPLS) 回帰分析
は、SIMCA P+ (Umetrix, ウーメオー, スウェーデン) バージョン 14 を用いた。データの
変換は行わず、スケーリングはオートスケーリングを用いた。

2.3 結果と考察

2.3.1 インドネシアマンゴー5品種の形質と官能評価

形質調査の結果を表 2-3-1 に示す。形質調査のテクスチャーについては、硬度 (N) により評価した。最も硬度の高い品種は Lalijiwo, 最も硬度が低い品種は Arumanis143 と Podang であった。TSS に関しては、最も高い品種が Gedong, 最も低い品種が Cengkir であった。TA については、Cengkir が最も高く、Gedong が最も低い傾向にあった。また、一般的に果実の味覚品質を評価する (45) 際に用いる TSS:TA 比については、Gedong で最も高く、Cengkir で低い傾向にあった。

官能評価の結果を表 2-3-2 に示す。総合評価が最も高い品種は、Arumanis 143, 反対に低い品種は、Cengkir であった。この結果は、味、色、食感、後味の評価においても同様の結果であり、Arumanis 143 が全ての項目で最も高い値であった。Arumanis 143 は、TSS:TA 比が高く、甘味が特徴的であることが以前から報告されている (51)。また、Arumanis 143 は、甘さが強く、食感のやわらかい品種としての報告 (51) があり、今回の結果と一致した。香りについては、Arumanis 143, Podang との有意差はないが、Gedong で最も高い値を示した。

一方、Cengkir は、香りと果肉色以外の項目で最も低い値を示し、Lalijiwo は、香りと果肉色で最も低い値であった。

したがって、今回供試された 5 品種は、官能評価によって、総合評価が高い傾向にある品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang) と総合評価が低い傾向にある品種 (Cengkir, Lalijiwo) の 2 つのクラスに分けることができた。

また、評価項目間の相関を確認するため、ピアソンの相関分析を実施した。その結果、全ての項目で総合評価との相関が最も高い傾向にあった (付録 5)。

上記結果より、以降については、5 品種を総合評価の高い傾向にあった品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang) と低い傾向にあった品種 (Cengkir, Lalijiwo) の 2 つに分類して考察した。

更に、パネリストにより、それぞれの品種に該当すると考えられる官能評価用語を選択する CATA を実施した。CATA は、パネリストにとって、評価尺度のある官能評価に比べ、評価しやすく、また、パネリストにおける官能評価用語等の認識度の結果への影響も小さいため、アントレインパネルによる評価が可能である (52)。

本研究では、マンゴーの品種の特徴を表現する官能評価用語 12 項目 (Sweet aftertaste, sweet, bitter aftertaste, citrus, honey, floral/perfume, chemical, juicy, sour, fruity, astringent) について、50 人のアントレインパネルが評価した。コレスポンデンス分析により、F1 が 89.76 %, F2 が 4.37 % 分離した (図 2-3-1)。総合評価の高い傾向にあった品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang) が F1 のネガティブ側に、総合評価の低い傾向にあった品種 (Cengkir, Lalijiwo) が F1 のポジティブ側に位置した。CATA の項目では、Sweet, floral, juicy, honey taste/aroma が総合評価の高い傾向にあった品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang), astringent, sour, bitter aftertaste などが総合評価の低い傾向にあった品種 (Cengkir, Lalijiwo) と相関が高かった。

また、ヘドニックテストの味と香りの項目において、スコアが高い傾向にあった Arumanis 143, Gedong, Podang に関連する CATA の評価項目である sweet, floral, juicy, honey taste/aroma は、味と香りにポジティブに寄与すると考えられ、反対に、ヘドニックテストの味と香りの評価項目でスコアが低い傾向にあった Cengkir と Lalijiwo に関連する CATA の項目 astringent, sour, bitter aftertaste は、味と香りにネガティブに寄与すると考えられた。

この傾向は、フロリダの主要 3 品種における品種比較等の報告 (44) においても、同様であり、総合評価の高い品種で sweet と juicy が、総合評価が低い品種では、sour と astringent の項目との相関が高かった (44)。Gentile ら (9) も同様に、イタリアの 9 品種のマンゴーで、juicy, peach, exotic flavors の項目が、マンゴーの風味とポジティブな相関関係にあると報告しており、本研究で観察された傾向と一致していた。

表 2-3-1 インドネシアマンゴー5 品種の形質調査結果

	Arumanis	Gedong	Podang	Cengkir	Lalijiwo
硬さ (N)	0.93 ^a	1.18 ^a	0.93 ^a	3.48 ^a	10.35 ^b
糖度 (TSS) (%)	17.82 ^{bc}	18.32 ^c	15.36 ^{abc}	12.94 ^a	14.18 ^{ab}
酸度 (TA) (%)	0.08 ^{ab}	0.06 ^a	0.08 ^{ab}	0.20 ^b	0.19 ^b
TSS/TA	336.80 ^{bc}	392.34 ^c	205.60 ^{abc}	70.52 ^a	97.42 ^{ab}

*異なるアルファベット間には有意差を示す (Tukey's HSD, $p < 0.05$). 全ての測定は $n = 5$ で実施した.

表 2-3-2 インドネシアマンゴー5 品種の官能評価(ヘドニックテスト)結果

	Arumanis	Gedong	Podang	Cengkir	Lalijiwo
香り	6.58 ^b	6.62 ^b	5.88 ^{ab}	5.42 ^a	5.34 ^a
味	7.30 ^d	6.72 ^{cd}	6.24 ^{bc}	4.64 ^a	5.34 ^{ab}
色	7.24 ^c	7.18 ^c	6.60 ^c	5.58 ^b	4.16 ^a
食感	7.10 ^c	6.32 ^{bc}	6.00 ^{ab}	5.14 ^a	5.18 ^a
後味	6.72 ^c	6.48 ^{bc}	5.82 ^b	4.42 ^a	4.90 ^a
総合評価	7.20 ^c	6.80 ^{bc}	6.28 ^b	5.02 ^a	5.28 ^a

*異なるアルファベット間には有意差を示す (Tukey's HSD, $p < 0.05$). 官能評価パネル 50 名の評価である.

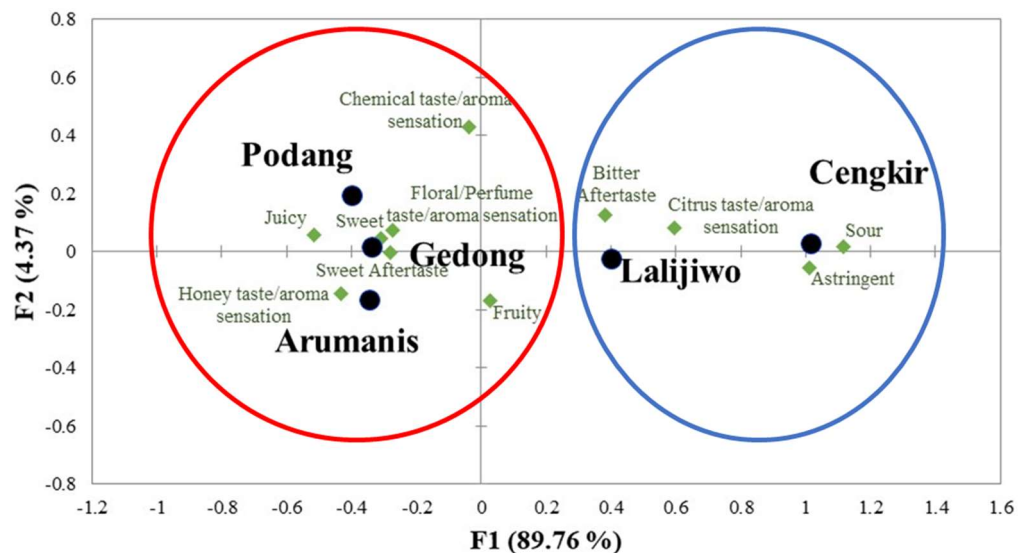


図 2-3-1 官能評価(CATA)とインドネシアマンゴー5 品種のコレスポンド分析によるバイプロット

●:品種名 ◆:CATA における官能評価用語

○:総合評価スコアの高い傾向にある品種群 ○:総合評価スコアの低い傾向にある品種群

2.3.2 インドネシアマンゴー5品種の主成分分析

GC-MS 分析では、糖、有機酸、アミノ酸を含む親水性低分子代謝物 95 種類 (Unknownを含む) が検出された (表 2-3-3)。GC-MS 分析で得られた成分プロファイルの主成分分析 (PCA) に供した。図 2-3-2 は GC-MS 分析データを用いた PCA のスコアプロットとローディングプロットを示している。図 2-3-2 のスコアプロットは、GC-MS 分析で得られた成分データを用いて、PC2 により、総合評価の高い傾向にあった品種 (Arumanis 143, Gedong) と低い傾向にあった品種 (Cengkir, Lalijiwo) 間の違いを首尾よく捉えることができたことを示していた。そのうち、他の品種と生産地と入手場所が異なり、生産地が East Java, 入手場所が店舗である Podang のみが PC1 により分離された。更に、ローディングプロットにおいては、PC2 のポジティブ側に、総合評価の高い傾向にあった品種 (Arumanis 143, Gedong) と関連のある成分 ribose, nicotinic acid, glycine, 2-aminoethanol, sorbitol が位置し、PC2 のネガティブ側に総合評価が低い傾向にあった品種 (Cengkir, Lalijiwo) と関連のある成分 methionine, aspartic acid, malic acid, proline, glutamine が位置した。総合評価が高い傾向にある品種と関連のある成分のうち ribose, sorbitol, glycine については、一般的に食味評価スコアにポジティブに寄与するとされている甘味に関連する報告 (53-56) がある。ビタミン B₃ である nicotinic acid (57) についても、総合評価とポジティブな相関がある可能性が考えられた。また、2-aminoethanol については、細胞膜の構成成分であるリン脂質に関連している重要な成分である (58)。マンゴスチンにおいても熟度ステージに関係なく一定量含まれる成分との報告がある (59) が、ストレスや成熟や老化の促進によりリン脂質が分解されることで増加するとの報告もある (60,61)。今回、総合評価の高い傾向にあった品種は、形質調査における硬度が低く、ヘドニックテストの食感のスコアが高かった。すなわち、これらの品種は、成熟や老化がわずかに進行しており、それに伴う、リン脂質の分解によって 2-aminoethanol が上昇した可能性も考えらえる。

総合評価の低い傾向にある品種に関連のある成分 methionine は、硫黄を含む揮発

性有機化合物の前駆体であり、硫黄を含む揮発性成分は、多量に存在すると不快な香りを発することがある (62). また, methionine は、エチレンの前駆体でもある (63). 一般的に、エチレンは、植物ホルモンの一つで、果実の成熟を誘発するため、それに伴い、糖含量は増加する(63). しかしながら、今回の結果において、総合評価が低い傾向にある品種は、methionine が多い傾向にはあるものの、ヘドニックテストの甘味の評価も低いことに加え、TSS:TA 比も低い傾向であったことから、その可能性についての考察は難しかった.

更に、総合評価の低い傾向にある品種においては、malic acid, aspartic acid, glutamic acid, proline などの有機酸、アミノ酸類との相関がみられた. これら成分の呈味に関しては、malic acid, aspartic acid, glutamic acid は、酸味 (56, 64), proline は、甘味と苦み (56)への寄与が報告されている.

このことから、総合評価スコアが低い傾向にある品種と相関のある成分が、酸味や苦み、不快な香りを発する揮発性物質の生成に関与する可能性も考えられた.

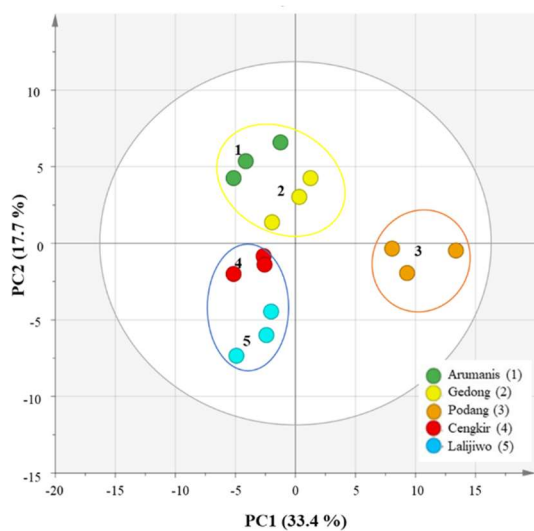
更に、PC1 により、その他の 4 品種と分離している Podang においては、propylene glycol, lyxose, threonine, xylose, galacturonic acid が多い傾向がみられた. Podang が他品種と異なる傾向を示す理由としては、①生産地が異なること ②入手方法が、生産者直接ではなく、市場からであることで、収穫後から販売されるまでの処理も影響している可能性 ③品種の違い が考えられた.

Podang に相関のある成分のうち、lyxose, xylose, threonine については、甘味に寄与するとの報告 (56,65) があり、galacturonic acid と xylose については、果実の成熟に伴う細胞壁分解により蓄積する成分 (59) であり、果実の軟化に寄与すると報告 (59,66) がある. そのため、これらの成分が、Podang の形質調査において、硬度が低かったことにも影響している可能性が考えられた.

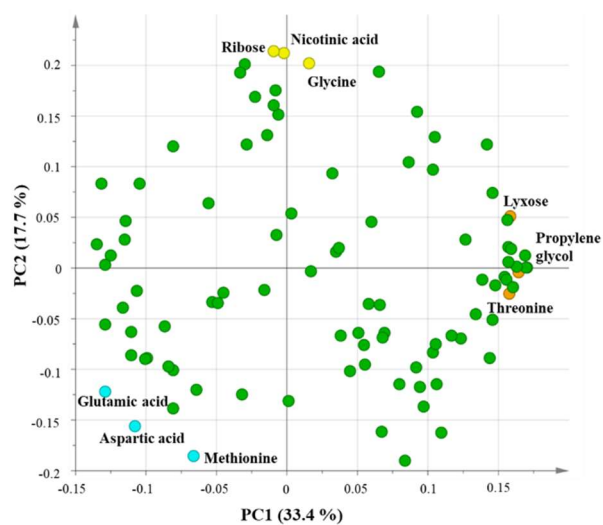
表 2-3-3 第 2 章同定成分一覽

No	Compounds	RT	RI	Quantitative m/z	Annotation
1	1,6-Anhydroglucose	10.934	1726.22	204	GL-sciences library
2	2-Aminoethanol	7.115	1275.80	174	GL-sciences library
3	2-Hydroxypyridine	4.578	1038.53	152	GL-sciences library
4	4-Aminobutyric acid	9.499	1541.66	174	GL-sciences library
5	Alanine	5.348	1107.39	116	GL-sciences library
6	Aspartic acid	9.418	1531.77	232	GL-sciences library
7	β -Alanine	8.614	1437.22	248	GL-sciences library
8	Fructose-6-phosphate	15.041	2372.84	387	GL-sciences library
9	Fructose	12.271	1916.30	103	GL-sciences library
10	Fucose	11.247	1769.26	117	GL-sciences library
11	Fumaric acid	7.818	1349.29	245	GL-sciences library
12	Galactose+Glucose	12.521	1954.26	319	GL-sciences library
13	Galacturonic acid	12.711	1982.99	333	GL-sciences library
14	Glucose	12.389	1934.21	319	GL-sciences library
15	Glutamic acid	10.207	1630.27	246	GL-sciences library
16	Glutamine	11.370	1786.19	156	GL-sciences library
17	Glycine	7.515	1316.74	147	GL-sciences library
18	Inositol	13.650	2132.52	217	GL-sciences library
19	Isocitric acid + Citric acid	11.757	1841.35	273	GL-sciences library
20	Leucine	7.155	1279.75	158	GL-sciences library
21	Xylitol	10.917	1723.86	307	GL-sciences library
22	Xylonic acid	11.432	1794.68	292	GL-sciences library
23	Xylose	10.538	1673.36	103	GL-sciences library
24	Lysine	12.431	1940.59	174	GL-sciences library
25	Lyxose	10.592	1680.34	103	GL-sciences library
26	Malic acid	9.146	1498.50	147	GL-sciences library
27	Maltose	17.308	2819.77	361	GL-sciences library
28	Meso erythritol	9.364	1525.14	217	GL-sciences library
29	Methionine	9.407	1530.45	176	GL-sciences library

30	Methyl succinic acid	7.600	1325.82	131	GL-sciences library
31	Nicotinic acid	7.328	1296.96	180	GL-sciences library
32	Phenylalanine	10.307	1643.20	218	GL-sciences library
33	Phosphate	7.183	1282.50	299	GL-sciences library
34	Proline	7.414	1305.88	142	GL-sciences library
35	Propyleneglycol	4.177	1002.85	117	GL-sciences library
36	Pyroglutamic acid	9.436	1533.99	156	GL-sciences library
37	Quinic acid	12.109	1892.17	345	GL-sciences library
38	Ribose	10.757	1701.86	103	GL-sciences library
39	Serine	6.991	1263.44	132	GL-sciences library
40	Shikimic acid	11.628	1822.63	204	GL-sciences library
41	Sorbose	12.205	1906.41	217	GL-sciences library
42	Sorbitol	12.667	1976.42	319	GL-sciences library
43	Sucrose	16.776	2708.21	362	GL-sciences library
44	Threonic acid	9.798	1578.27	292	GL-sciences library
45	Threonine	7.375	1301.74	117	GL-sciences library
46	Tyrosine	12.552	1958.91	280	GL-sciences library
47	Valine	6.590	1223.68	144	GL-sciences library



スコアプロット



ローディングプロット

図 2-3-2 インドネシアマンゴー5 品種の GC-MS 分析で得られた成分プロファイルを供した主成分分析 (PCA)

スコアプロット中の数字は、各品種に付した番号(凡例参照)を示す。

- 及び ○ : 総合評価スコアの高い傾向にある品種群
- : 総合評価スコアの低い傾向にある品種群を示す。

ローディングプロット中の点の色は、

- : 総合評価スコアの高い傾向にある品種と相関の高い成分
- : 総合評価スコアの低い傾向にある品種と相関の高い成分
- : Podangと相関の高い成分
- : その他成分(Unknown含む)を示す。

各サンプルの分析試行回数はn=3。

2.3.3 インドネシアマンゴー5品種の OPLS-DA の結果

前の項において、教師なし分析である PCA により、インドネシアマンゴー5品種の官能特性における総合評価の高い傾向にある品種、低い傾向にある品種、それぞれと相関のある親水性低分子代謝物が明らかになった。本項では、品種における官能特性の違いをさらに確認するために、教師あり分析である OPLS-DA を実施した。

教師あり分析である OPLS-DA は、VIP スコアに基づくモデル構築の判別マーカーとして重要な要素を抽出するのに最適な手法である。さらに、OPLS-DA は、PCA によって示された分離を確認することができる (46,47)。インドネシアマンゴー5品種を総合評価の高い傾向のある品種を「1」、低い傾向にある品種を「2」と任意の数字により区分し、それぞれの区分に対する親水性代謝物への寄与度を確認した。

OPLS-DA では、 R^2 値(直線性)がモデルの適合性、 Q^2 値(堅牢性)がモデルの予測力を示し、両者ともに、1に近いほど、良好なモデルと判断される。また、VIP 値が 1 以上の成分が重要な成分とみなされる (46, 67)。

本研究においては、 $R^2 = 0.915$, $Q^2 = 0.831$ であり、PC1 で総合評価の高い傾向にある品種と低い傾向にある品種が分離された(図 2-3-3)。VIP 値が 1 以上の成分を表 2-3-4 に示す。表 2-3-4 の 19 成分のうち 15 成分がマンゴーの官能特性と相関のある重要な成分として、今回、初めて同定された。そのうちの上位 5 成分が、nicotinic acid, glutamic acid, aspartic acid, glycine, ribose であった。図 2-3-4 に、その 5 成分における品種別の GC-MS における相対強度比の傾向を示す。ビタミン B 類の Nicotinic acid と甘みに寄与する glycine と ribose が総合評価の高い傾向のある品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang) に多く蓄積されていた。総合評価の高い傾向にある品種 (Arumanis 143, Gedong, Podang) におけるこれらの傾向は、官能評価の CATA で甘味に特徴があるとされ、形質調査において TSS と TSS:TA 比が高い傾向にあった結果とも一致していた。一方、酸味に寄与する aspartic acid と glutamic acid は、総合評価の低い傾向にある品種 (Cengkir, Lalijiwo) に多い傾向にあった。この結果に関しても、総合評価の

低い傾向にある品種 (Cengkir, Lalijiwo) が CATA で酸味に特徴があることや形質調査において TA が高い傾向にあることと一致した。

酸味に寄与する glutamic acid と aspartic acid の含有量は, Lalijiwo に多いが, 形質調査における TA や CATA における酸味の特徴の評価は, Cengkir が高い傾向にあった。Aspartic acid は, 桃の評価において, 苦みに寄与する成分との報告がある (68)。そのため, Lalijiwo における aspartic acid が CATA における苦味の特徴に寄与したのかもしれない。

PC1 のローディング値(絶対値)が 0.1 以上の成分を表 2-3-5 に示す。PC1 のポジティブ側に, 総合評価の低い傾向にある品種が位置し, methionine, proline に加え, 酸味に寄与するとされる aspartic acid, glutamic acid, isocitric acid との相関がみられた。この成分の中で, aspartic acid と同様に酸味に特徴のある isocitric acid に関しては, PCA だけでは, 総合評価の低い傾向にある品種と相関のある上位 5 成分として抽出されなかった。

一方, PC1 のネガティブ側に位置する総合評価が高い傾向にある品種には, nicotinic acid, glycine, ribose, fucose, lyxose との相関がみられた。これら成分の中で, fucose は, 他の糖類と同様に甘味に寄与する成分 (53) であるが, PCA だけでは, 総合評価の高い傾向にある品種と相関のある上位 5 成分として抽出されなかった。

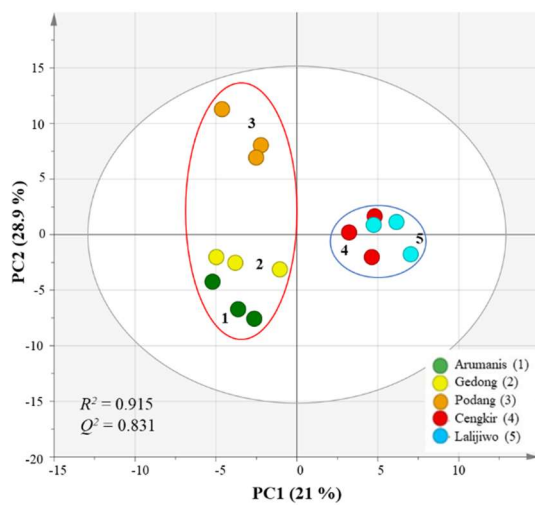
マンゴーの味覚に関する既報 (44) において, 総合評価の低い品種は, phenylalanine 以外のアミノ酸と相関が高い傾向にあったが, 本研究においては, phenylalanine と評価の低い傾向にある品種との相関, tyrosine, threonine, glycine などのいくつかのアミノ酸と総合評価の高い傾向にある品種との相関が確認された。

一般に, tyrosine と phenylalanine は, シキミ酸経路の揮発性香気成分の前駆体 (69) とされているが, 今回のインドネシアマンゴーの場合は, tyrosine のみが総合評価の高い傾向にある品種と相関があり, phenylalanine については, CATA において苦味が特徴的であった総合評価の低い傾向にある品種である Lalijiwo に関与している (56) 可

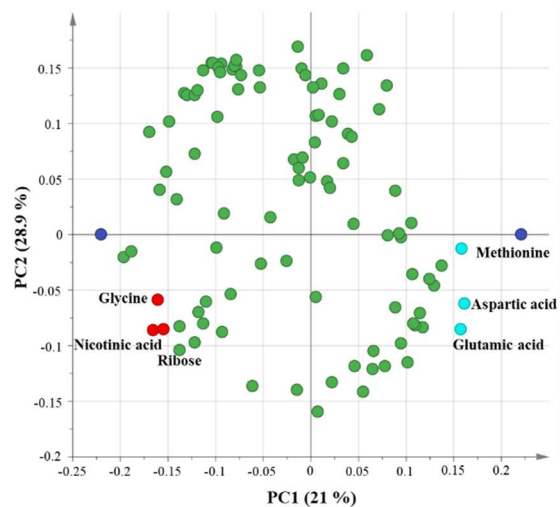
能性も考えられた。

全体的に、総合評価の高い傾向にある品種（Arumanis 143, Gedong, Podang）は、glycine, lyxose, ribose などの一部のアミノ酸、糖類との相関があり、評価の低い傾向にある品種（Cengkir, Lalijiwo）は、aspartic acid, glutamic acid, methionine, phenylalanine, isocitric acid などのアミノ酸、有機酸との相関が確認された。

総合評価の高い傾向にあった品種（Arumanis 143, Gedong, Podang）は、CATA において、甘味が特徴的であり、甘味を呈するとの報告のある glycine, lyxose, ribose などとの相関が確認されたことから、これらの成分が甘味に関与している可能性も示唆された。一方、評価の低い傾向にある品種（Cengkir, Lalijiwo）は、CATA において、酸味や苦味が特徴的であり、酸味や苦味を呈すると報告のある aspartic acid, glutamic acid, phenylalanine, isocitric acid などとの相関が確認されたことから、これらの成分が酸味や苦味に関与している可能性が示唆された。



スコアプロット



ローディングプロット

図 2-3-3 インドネシアマンゴー5 品種の GC-MS 分析で得られた成分プロファイルを供した判別分析 (OPLS-DA)

スコアプロット中の数字は、各品種に付した番号(凡例参照)を示す。

- : 総合評価スコアの高い傾向にある品種群,
- : 総合評価スコアの低い傾向にある品種群を示す。

ローディングプロット中の点の色は

- : 総合評価スコアの高い傾向にある品種と相関の高い成分
- : 総合評価スコアの低い傾向にある品種と相関の高い成分
- : その他成分(Unknown含む) を示す。

各サンプルの分析試行回数は n=3.

表 2-3-4 OPLS-DA における高い VIP 値(VIP > 1)の成分

Compounds	VIP score	Coefficient
Nicotinic acid	1.5159	-0.051
Glutamic acid	1.4485	0.032
Aspartic acid	1.4440	0.030
Glycine	1.4372	-0.046
Ribose	1.4232	-0.041
Methionine	1.3832	0.033
Fucose	1.3623	-0.031
Lyxose	1.3441	-0.022
Xylose	1.3177	-0.021
Isocitric acid+Citric acid	1.2051	0.030
Proline	1.1565	0.022
Propyleneglycol	1.1563	-0.014
Phenylalanine	1.1193	0.020
Valine	1.0742	0.012
2-Aminoethanol	1.0730	-0.023
Phosphate	1.0673	0.023
Galacturonic acid	1.0658	-0.008
Threonine	1.0535	-0.012
Sorbitol	1.0175	-0.032

表 2-3-5 OPLS-DA における PC1 に寄与するインドネシアマンゴー5 品種に特徴的な GC-MS を基盤とした親水性低分子代謝物

Compounds	<i>p (corr)</i> [PC1]	Compounds	<i>p (corr)</i> [PC1]
Aspartic acid	0.7641	Alanine	0.1045
Methionine	0.7508	Tyrosine	-0.2018
Glutamic acid	0.7478	2-Hydroxypyridine	-0.2503
Isocitric acid+Citric acid	0.6500	n-Butylamine	-0.2851
Proline	0.6144	β-Alanine	-0.2914
Phenylalanine	0.5588	Threonine	-0.3721
Phosphate	0.5435	Galacturonic acid	-0.3891
Valine	0.4800	Methyl succinic acid	-0.3995
Maltose	0.4500	Fumaric acid	-0.4437
Malic acid	0.4224	Propyleneglycol	-0.4466
Shikimic acid	0.4200	Sorbitol	-0.5247
Xylitol	0.3408	2-Aminoethanol	-0.5354
Leucine	0.3108	Xylose	-0.6173
Glutamine	0.3057	Lyxose	-0.6322
Quinic acid	0.2781	Fucose	-0.7220
Pyroglutamic acid	0.2593	Ribose	-0.7336
Fructose 6-phosphate	0.2172	Glycine	-0.7624
Sucrose	0.1610	Nicotinic acid	-0.7861
Meso erythritol	0.1591		

p (corr) [PC1]: PC1のポジティブ側(総合評価スコアが低い)とネガティブ側(総合評価スコアが高い)の各成分における負荷量を示す. 因子負荷量が±0.1を超える化合物を示した.

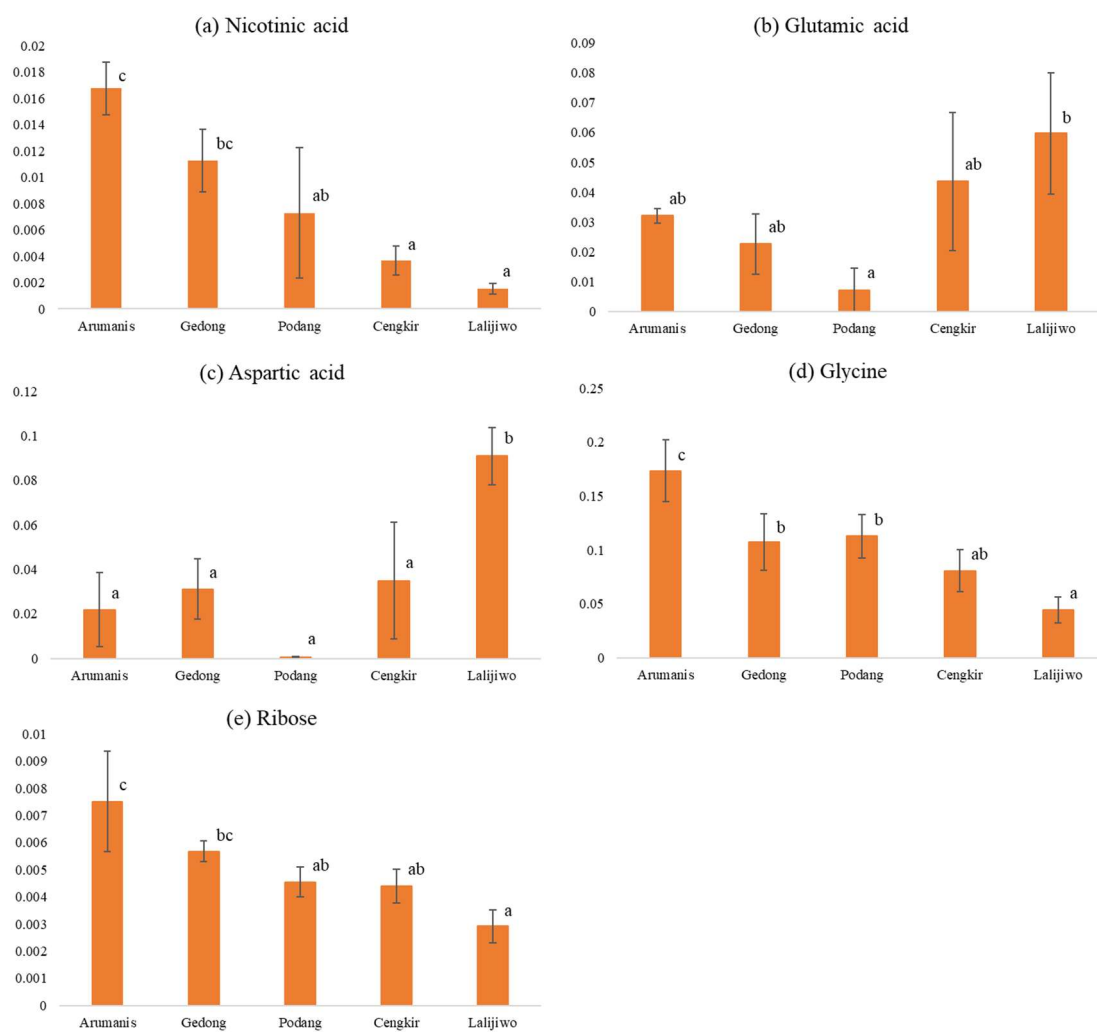


図 2-3-4 OPLS-DA により抽出された VIP 値上位 5 成分のインドネシアマンゴー 5 品種の品種別 GC-MS 分析による相対強度

縦軸: GC-MS 分析における相対強度 (Ribitol 補正) 横軸: 品種名

2.3.4 インドネシアマンゴーと海外マンゴーの比較

親水性低分子代謝物プロファイリングの官能特性評価における影響力を把握するために、官能特性の違いに加え、明らかに「品種」「産地」「栽培条件」の異なる海外産 3 品種 (Chok Anan (タイ), Tommy Atkins (ブラジル), Irwin (日本)) をバリデーションセットとして供試した (8,70)。

表 2-3-6, 表 2-3-7 と図 2-3-5 にインドネシアマンゴー 5 品種に海外産品種 3 品種を追加した形質調査, ヘドニックテスト, CATA の結果を示す。

Irwin (日本) は, ヘドニックテストにおいて, 総合評価スコアが高い傾向であった Arumanis 143, Gedong と有意な差はなかった。また, 形質調査, CATA においても Arumanis 143, Gedong と同様の傾向であった。

ChokAnan (タイ) は, ヘドニックテストにおいて, 総合評価スコアが高い傾向であった Gedong と総合評価スコアが低い傾向であった Lalijiwo との有意差はなく, 形質調査では, TSS:TA 比の値と総合評価スコアが高い傾向であった Arumanis 143 と Gedong と同等に高い傾向であった。また, CATA では, Arumanis 143 と Gedong と同様に F1 の左側に位置し, 甘味が特徴的であることがわかった。一方で, Tommy Atkins (ブラジル) は, ヘドニックテストで, 総合評価スコアの低い傾向にあった Cengkir と Lalijiwo と有意差がなかった。CATA においても, Tommy Atkins (ブラジル) は, 酸味が特徴的な Cengkir と Lalijiwo と同じ F1 軸のポジティブ側に位置した。

GC-MS 分析により得られた糖, 有機酸, アミノ酸を含む親水性低分子代謝物 95 種類 (Unknown を含む) (表 2-3-3) を教師なしの PCA に供した (図 2-3-6)。

PCA において, Chok Anan (タイ) と Irwin (日本) は, 総合評価スコアの高い傾向であったインドネシアマンゴー Arumanis 143 と Gedong と同じクラスターに位置した。一方, Tommy Atkins (ブラジル) は, 総合評価スコアの低い傾向であったインドネシアマンゴー Cengkir と Lalijiwo と同じクラスターに位置した。

また, PCA のスコアプロットで総合評価スコアの高い傾向の品種と同じクラスターとな

った Chok Anan (タイ)と Irwin (日本)のマンゴーが位置する PC2 のポジティブ側のローディングプロットには, 2-aminoethanol, glycine, ribose が位置した. この成分は, いずれもインドネシアマンゴーのみの PCA においても総合評価スコアの高い傾向の品種である Arumanis 143, Gedong においても特徴的な成分であった.

一方, Tommy Atkins (ブラジル)は, 第 3 象限に位置し, ローディングプロットでは, 酸味に寄与する成分である isocitric acid が位置した. 酸味は, インドネシアマンゴー5 品種のみの PCA においても, 総合評価スコアの低い傾向の品種である Cengkir, Lalijiwo に特徴的な官能特性であった.

Lyxose, xylose, propylene glycol は, Podang が位置する PC1 のポジティブ側に位置した. これらの成分は, インドネシアマンゴー 5 品種の中でも Podang に特徴的な成分であった. これらの結果から, 今回供試したサンプルであるインドネシアマンゴー5 品種は, 官能特性である総合評価スコアに相関のある GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物に基づいて分類できる可能性が示唆された.

表 2-3-6 インドネシアマンゴー5 品種と海外産 3 品種の形質調査結果

	Arumanis		Gedong		Podang		Cengkir		Lalijiwo		Thai		Brazil		Japan	
硬度 (N)	0.93	a	1.18	a	0.93	a	3.48	a	10.35	b	1.07	a	2.55	a	0.65	a
糖度(TSS) (%)	17.82	bc	18.32	c	15.36	abc	12.94	a	14.18	a	17.80	bc	14.58	ab	14.88	abc
酸度(TA) (%)	0.08	ab	0.06	a	0.08	ab	0.20	c	0.19	bc	0.04	a	0.26	c	0.03	a
TSS/TA	336.80	bcd	392.34	cd	205.60	abc	70.52	a	97.42	ab	423.73	cd	58.13	a	502.36	d

同行における異アルファベット間(a,b,c)で有意差あり(Tuckey の多重検定: $p < 0.05$) .

表 2-3-7 インドネシアマンゴー5 品種と海外産 3 品種のヘドニックテスト結果

	Arumanis		Gedong		Podang		Cengkir		Lalijiwo		Thai		Brazil		Japan	
香り	6.58	b	6.62	b	5.88	ab	5.42	a	5.34	a	5.72	ab	5.24	a	6.16	ab
味	7.30	d	6.72	cd	6.24	bc	4.64	a	5.34	ab	6.18	bc	4.86	a	6.74	cd
色	7.24	d	7.18	d	6.60	cd	5.58	b	4.16	a	5.92	bc	5.36	b	6.68	cd
食感	7.10	c	6.32	bc	6.00	ab	5.14	a	5.18	a	5.92	ab	5.36	ab	6.14	abc
後味	6.72	d	6.48	cd	5.82	bcd	4.42	a	4.90	ab	5.60	bc	4.94	ab	6.22	cd
総合評価	7.20	d	6.80	cd	6.28	cd	5.02	a	5.28	ab	6.00	bc	5.20	ab	6.60	cd

同行における異アルファベット間(a,b,c)で有意差あり(Tuckey の多重検定: $p < 0.05$)

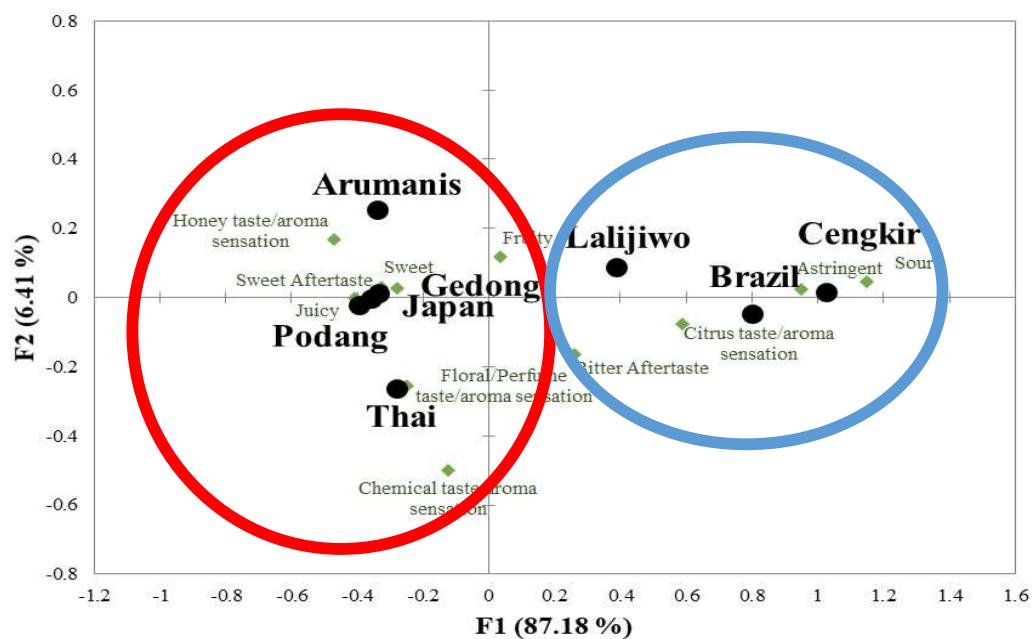
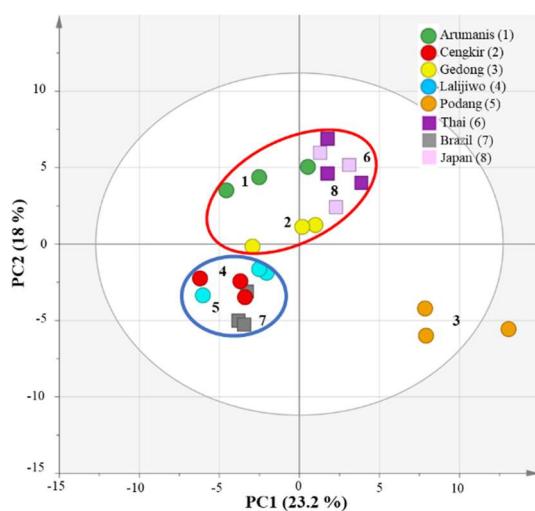


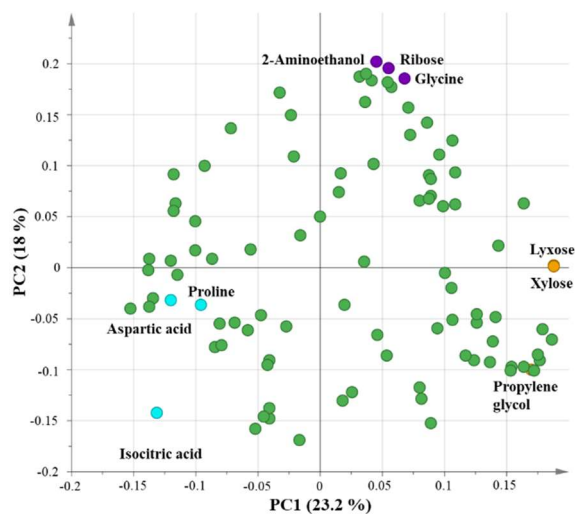
図 2-3-5 官能評価(CATA)とインドネシアマンゴー5 品種及び海外産 3 品種のcoresポンド分析によるパイプロット

●:品種名 ◆:CATA における官能評価用語

○:総合評価スコアの高い傾向にある品種群 ○:総合評価スコアの低い傾向にある品種群



スコアプロット



ローディングプロット

図 2-3-6 インドネシアマンゴー5 品種及び海外産 3 品種の GC-MS 分析で得られた親水性低分子代謝プロファイルを供した主成分分析 (PCA)

スコアプロット中の数字は、各品種に付した番号(凡例参照)を示す。

○ : 総合評価スコアの低い傾向にある品種群

○ : 総合評価スコアの低い傾向にある品種群を示す。

ローディングプロット中の点の色は、

● : 総合評価スコアの低い傾向にある品種と相関の高い成分

● : Podang品種と相関のある成分

● : 総合評価スコアの低い傾向にある品種と相関の高い成分

● : その他成分(Unknown含む)を示す。

各サンプルの分析試行回数はn=3。

2.4 小括

本章では、官能評価と GC-MS による親水性低分子代謝物を用いて、今回供試したサンプルであるインドネシアマンゴーの品種ごとの官能特性を評価、説明することが可能であることがわかった。総合評価が高い傾向にあった Arumanis143, Gedong, Podang は, sweet, floral, juicy, and honey taste/aroma sensation が特徴的な官能評価項目であり、成分としては、甘さに関する報告のある糖類 ribose とアミノ酸 glycine, ビタミン B₃ である nicotinic acid が多い傾向にあった。一方、総合評価の低い傾向にあった Cengkir, Lalijiwo は, astringent, sour, bitter aftertaste が特徴的な官能評価項目であり、成分としては、酸味に関する報告のあるアミノ酸 aspartic acid や glutamic acid や有機酸 malic acid や isocitric acid が多い傾向にあった。更に、インドネシアマンゴー 5 品種が親水性低分子代謝物により、「品種」「生産地」「栽培条件」の違いに関わらず、官能特性に基づいて評価、特徴づけられていることを確認するために、明らかに生産地の異なる品種や栽培環境の異なるマンゴー 3 品種 Chok Anan (タイ), Tommy atkins (ブラジル), Irwin (日本) を追加し、検証した。その結果、総合評価の高い傾向であった Chok Anan (タイ) 及び Irwin (日本) のマンゴーが、インドネシアマンゴーの総合評価の高い傾向にあった Arumanis143, Gedong と同じクラスターに分類された。反対に、総合評価の低い傾向にあった Tommy atkins (ブラジル) は、インドネシアマンゴーの総合評価の低い傾向にあった Cengkir, Lalijiwo と同じクラスターに分類された。以上のことから、今回用いたサンプルであるインドネシアマンゴー 5 品種の官能特性が、親水性低分子代謝物により分離、特徴づけられることが示唆された。また、「品種」「産地」「栽培条件」の違いに関わらず、親水性低分子代謝物プロファイルにより、官能特性を評価できることもわかった。更に、GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイルは、マンゴーの品種ごとの官能特性との相関を解析し、代謝成分に基づき客観的に評価・理解するために、有用であることが示唆された。

第3章 複数年度にわたる同一温室・同一品種のマンゴーの官能特性と親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析

3.1 緒言

第2章では、インドネシアマンゴー5品種と海外品種3品種を供試し、GC-MS基盤の親水性低分子代謝物プロファイルが、品種ごとの官能特性の客観的な評価・理解において有用であることが示唆された。

マンゴーは、熱帯・亜熱帯地域が主要な産地であり、露地栽培が主流となっているが、日本のような温帯地域の栽培においては、開花期の低温を回避するために、温室の利用が必須となっている(13,14)。一般的に、温室栽培は、環境要因の制御がしやすく、害虫などの影響を受けにくいと、安定した品質と収穫量が期待できる(15)。そのため、温室の活用は、マンゴーの高品質化に対する消費者ニーズの高まりに対応する上でも、魅力的である。しかしながら、温室の全域が完全に均一の環境とは言えないため、同一温室内で栽培された果実においても品質のばらつきが生じる。そのため、官能特性に着目した品質に関しても、同様の傾向があると考えられるが、そのような報告例は、これまでになかった。

そこで、本章では、温室栽培を活用した品質向上や栽培改善につながる科学的な知見を得るために、同一温室内における同一品種のサンプルを供試し、3年間にわたり、第2章で有用性を確認したGC-MS基盤の親水性低分子代謝物プロファイリングにより、官能特性に着目した品質について評価した。また、ヒトによる官能評価を目的変数、親水性低分子代謝物プロファイルを説明変数とする官能評価予測モデルを構築し、予測モデルの精度を R^2 (直線性)、 Q^2 (堅牢性)、RMSEE(予測残差)によって評価するとともに、3年間の再現性についても確認した。その際、構築した予測モデルが、年次を越えて適用可能であるかについても、3年分のデータにより、モデルの説明変数である親水性低分子代謝物を用いて客観的に評価した。

更に、本章で供試した同一の温室で栽培された同一品種のサンプルは、第2章の

異なる品種のサンプルに比べ、僅差の品質を評価する必要があることから、より高い検出力が求められる。そのため、マンゴーの官能特性評価における官能評価と親水性低分子代謝物プロファイルの検出力についても、3 年間にわたる再現性及び官能評価予測モデルの精度により評価した。

3.2 実験材料と実験方法

3.2.1 マンゴーサンプル

マンゴーサンプルは、宮崎県内(日本)の同一ハウス内で 6 月(2021 年, 2022 年, 2023 年の 3 年間)に自然落下で収穫されたマンゴー品種(Irwin:樹齢 17 年生(2021 年時))を使用した。本試験で使用したグリーンハウス内の環境制御は、温度のみである。それぞれの年ごとに、その年の対象圃場内の官能評価スコア範囲を網羅した 10 サンプルずつを供試した。官能評価及び形質調査、主成分分析については、それぞれの年の 10 サンプル全て(10 サンプル×3 年=計 30 サンプル)を評価した。OPLS 分析については、Trial 1 と 2 を実施し、表 3-2-1 における Trial 番号ごとのデータセット欄に「Training」と記載されたサンプルは、予測モデルの構築、「Test」と記載されたサンプルは、外部評価用サンプルとしてそれぞれ使用した。なお、Trial 2 の 2022 年サンプルは、説明変数の成分選択のみに活用したことから、Data set 欄には、補足的使用を意味する「Suppl.」と標記している。

表 3-2-1 年ごとのサンプル情報 (2021-2023)

2021					2022					2023				
Sample	Sensory score		Data set		Sample	Sensory score		Data set		Sample	Sensory score		Data set	
No.	RS*	SS*	Trial 1	Trial 2	No.	RS*	SS*	Trial 1	Trial 2	No.	RS*	SS*	Trial 1	Trial 2
1	48.8	59.8	Training	Training	1	51.4	62.2	Test	Suppl.	1	45.2	59.9	Test	Test
2	42.4	58.7	Training	Training	2	44.2	59.6	Test	Suppl.	2	47.0	57.8	Test	Test
3	41.4	56.9	Training	Training	3	41.4	57.4	Test	Suppl.	3	39.6	57.1	Test	Test
4	36.2	55.2	Training	Training	4	36.6	55.4	Test	Suppl.	4	42.2	55.6	Test	Test
5	27.2	49.9	Training	Training	5	34.2	52.4	Test	Suppl.	5	30.4	49.7	Test	Test
6	28.3	48.0	Training	Training	6	33.8	51.8	Test	Suppl.	6	22.4	46.6	Test	Test
7	24.2	47.8	Training	Training	7	27.0	48.5	Test	Suppl.	7	15.3	42.8	Test	Test
8	15.4	41.9	Training	Training	8	18.2	44.8	Test	Suppl.	8	13.8	41.6	Test	Test
9	11.8	40.8	Training	Training	9	12.6	41.6	Test	Suppl.	9	6.2	37.6	Test	Test
10	9.4	38.9	Training	Training	10	10.8	40.4	Test	Suppl.	10	4.0	36.4	Test	Test
Average	28.5	49.8	-	-	Average	31.0	51.4	-	-	Average	26.6	48.5	-	-
SD	13.6	7.7	-	-	SD	13.6	7.5	-	-	SD	16.4	8.8	-	-
RSD (%)	47.7	15.4	-	-	RSD (%)	44.0	14.6	-	-	RSD (%)	61.7	18.1	-	-

SD = 標準偏差. RSD = 相対標準偏差* RS=生スコア SS=偏差値スコア

3.2.2 サンプル前処理

マンゴーは、皮をむいて、種を取り除いた後、 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ 角にカットした。カットした生のキューブに即座に食品用ドライアイスを加えて、GM200mill により粉碎した。それらのサンプルを約 5 g ずつプラスチックカップにつぎ分け、官能評価を実施した。官能評価に供試したサンプルの残りを1晩凍結乾燥し、GC-MS 分析用とした。カット後の種周りの果実を搾汁し、糖度・酸度測定用とした。

3.2.3 形質調査

TSS (%)は、デジタル屈折糖度計 (PR-101α (Brix 0–45%), Atago, 東京, 日本), TA (%)は、Metrohm 702 automatic titrator (Metrohm, Switzerland)を使用し、 0.1 mol L^{-1} の水酸化ナトリウムの滴定により測定した。

3.2.4 GC-MS 分析(親水性低分子ノンターゲット解析)

サンプル前処理に使用する試薬は以下を用いた。

メタノール、クロロホルム、超純水、脱水ピリジンは富士フィルム和光純薬株式会社から購入した。メトキシアミン塩酸塩と *n*-アルカン(C_8 – C_{40})はシグマアルドリッチ(ウィスコンシン, アメリカ)から購入した。*N*-メチル-*N*-トリメチル-トリフルオロアセタミド (MSTFA)は、ジーエルサイエンス株式会社(東京, 日本)から購入した。

分析装置は以下を用いた。

GC 7890A に 5975 C Inert XL mass selective detector (MSD)と Agilent triple-axis detector を搭載した装置(アジレントテクノロジー株式会社)と、InertCap5 MS/NP ($0.25 \text{ mm i.d.} \times 30 \text{ m}$, $\text{df} = 0.25 \text{ }\mu\text{m}$, ジーエルサイエンス)を用いて実施した。データ取得は MSD ケミステーション(アジレントテクノロジー株式会社)を用いた。

サンプル前処理方法は以下を用いた.

前処理は, 2 日間の工程で実施し, 1 日目の工程は, マンゴーフリーズドライサンプル (10 mg) に, メタノール, クロロホルム, 超純粋 (5:2:2=v/v/v) 1,000 μ L と内部標準として, 60 μ L のリビトール (0.2 mg/100 mL) の溶媒を加え, ThermoMixer C (エッペンドルフ株式会社, ハンブルク, ドイツ) を用いて, 1,200 rpm, 37°C で 30 分間振盪した. インキュベーション後, 15,000 rpm, 4°C で 3 分間, 遠心分離 (クボタ, 東京, 日本) し, その上澄み 600 μ L と 300 μ L の超純水を新しいチューブに入れ, 再び, 15,000 rpm, 4°C で 3 分間, 遠心分離した. 遠心分離後, サンプル用と Quality control (QC) サンプル用として新しく準備したチューブに 200 μ L ずつ分注した. QC サンプルは, この研究に供試したすべてのサンプルの上澄みを 200 μ L ずつ 1 つのチューブに集め, 更に, それから, 新しいチューブに 200 μ L ずつ分注したものである.

また, ブランクは, マンゴーフリーズドライサンプル (10 mg) を含まない, メタノール, クロロホルム, 超純水 (5:2:2=v/v/v) からの工程をサンプル同様に実施したものである.

それぞれのチューブの溶媒を遠心濃縮 (タイテック株式会社, 埼玉, 日本) したのち, 1 晩凍結乾燥 (東京理化器械株式会社, 東京, 日本) した.

2 日目の工程は, 凍結乾燥されたサンプルと QC 及びブランクに 100 μ L のメキシアミンを加え, 1,200 rpm, 30°C で 90 分間振盪し, その後, 更に, シリル化反応のため, MSTFA を 100 μ L 加え, 1,200 rpm, 37°C で 30 分間振盪した.

その後, 15,000 rpm, 25°C, 3 分間, 遠心分離したのち, 上澄み 100 μ L を GC-MS 用とし, GC-MS システムに 1 μ L 注入した.

分析条件は以下を用いた.

GC 条件は以下の通りであった. スプリット比は, 10:1, インジェクション温度は, 230°C, キャリアガスは, 1.12 mL/分でヘリウムを流した. カラム温度は, 80°C を 2 分間

維持し、その後 15°C/分で 330°Cまで上昇し、さらに 6 分間維持した。MS 条件は以下の通りだった。トランスファーラインとイオン源の温度はそれぞれ 250°Cと 200°Cだった。イオン化は電子イオン化法 (EI 法) によって電圧 70 eV で行った。質量範囲は m/z 85–500 でスキャンスピードは 3.46 スキャン/秒だった。

3.2.5 官能評価

ドライアイスで粉砕したマンゴーを官能評価用サンプルとして供試した。

官能評価は、少なくとも 2 年以上トレーニングした 5 人の Well-trained パネリストにより実施された。

1 回約 90 分のトレーニングを全 7 回実施し、パネル全員が全てのトレーニングに参加することに加え、ドライアイスで粉砕した同一個体のマンゴーサンプルをパネル全員が同様に評価できるようになるまで、トレーニングを繰り返した。

評価サンプルの提供方法については、ドライアイスで粉砕したマンゴーサンプルを約 5 g ずつ 3 桁のランダムな数字を付したプラスチックカップ (71) に分けて提供した (提供時温度: 5-10°C)。また、パネリストに対しては、それぞれのサンプルを評価する前に、ミネラルウォーターで口をすすいでもらい (72)、サンプル間の影響がないように配慮した。

官能評価の評価項目については、本研究のパネリストが抽出した評価項目である全ての項目 (甘味, 酸味, 芳醇さ, ココナッツ感) と総合評価が高い相関を示す (付録 6) ことが、予め確認されていたので、総合評価項目のみについて、複数年度にわたって官能評価を実施した。

パネリストは、総合評価についてのみ、赤い眼鏡を装着し、ラインスケールにより弱い (0), 強い (100) を指標として評価した。加えて、総合評価の官能評価スコアについては、ラインスケールにおけるパネル間の振れ幅を平準化するため、Inui らの方法 (73,74) を参考に、パネリストごとに、3 年間における全試料 (各年 10 サンプルの 3 年分

の 30 サンプル)に対する実スコアの平均を 50, 標準偏差が 10 になるように偏差値化したのち, パネリスト全員の偏差値化スコアを平均したものをスコア値 (SS : standalization score)として用いた (73,74). なお, 実スコア値は, 偏差値化する前のそれぞれのパネリストにおける官能評価スコアであり, 表 3-2-1 の実スコア (RS: Raw score)は, 全パネリストの実スコア値を単純に平均した値である.

3.2.6 データ処理

データ処理方法として, 既報を一部修正したものを用いた (24,30).

GCMS クロマトグラフデータは, MSD Chemistation analysis software により, netCDF 形式に変換した. netCDF 形式に変換したファイルをフリーソフトである MS-DIAL ver.4.00 を使用してピーク検出, デコンボリューション, 同定・アライメントした. ピーク検出のパラメーターについては, ピーク高を 1000 以上とし, スムージング方法は, liner weight moving average とした. スムージング値を 3 スキャンとし, ピーク幅の平均は, 10 スキャンとした. デコンボリューションについては, sigma window value が 0.2, EI spectra cut off を 10 amplitudes に設定し, 実施した. ピーク同定については, アルカン mix (C₈-C₄₀)をリテンションインデックス, Osaka University/GL-Science DB Library (Inert Cap 5MS-NP, Kovats RI, 530 records)をライブラリーとして用いた. ピーク同定及びアライメントのパラメーターに関しては, 以下のとおり

Retention index (RI) tolerance: 10

Retention time (RT) tolerance: 0.5 min

EI similarity cut off: 70%

Identification score cut off: 70%

成分同定は, 質量スペクトルと RI を Osaka University/GL-Science DB Library (Inert Cap 5MS-NP, Kovats RI, 530 records))と比較して実施した.

ピーク検出と同定ののち, 検出したピーク高を内部標準により平準化した. データマト

リックスとして、生及び平準化されたピーク高で構成された。平準化したデータマトリックスを使用して、blank のデータを参考に、生物学的由来のピークではないものを除いた。メタボロミクス MS の生データは、データセット識別子 MPST000003 で MB-POST レポジトリに保存されている。

3.2.7 多変量解析

二元配置分散分析及び Tukey の多重比較検定は、Excel Statistics version 6.05a (Esumi Company, 東京, 日本)を用いて行い、95%信頼水準で有意差を判定した。

主成分分析(PCA)及び Orthogonal projection to latent structures(OPLS)回帰分析は、SIMCA P+version 14 または 17(Umetrix, ウーメオー, スウェーデン)を用いた。データの変換は行わず、スケーリングはオートスケーリングを用いた。

3.3 結果と考察

3.3.1 官能評価及び形質調査結果

総合評価にのみ着目して、2021 年、2022 年、2023 年の官能評価を実施した。官能評価結果及び形質調査結果を表 3-3-1 に示す。

ラインスケールにおけるパネル間の振れ幅を平準化するために、パネルごとに全試料(年 10 サンプルずつの計 30 サンプル)に対する実スコア値の平均を 50、標準偏差が 10 になるように偏差値化したのち、パネリスト全員の偏差値スコアを平均したものをスコア (SS)として用いた。その結果、2021 年は、スコア範囲が 38.9-59.8 で平均 49.8、標準偏差 (SD)7.7%、相対標準偏差 (RSD)15.4%、2022 年は、スコア範囲が 40.4-62.2 で平均値 51.4、SD7.5%、RSD14.6%、2023 年は、スコア範囲が 36.4-59.9 で平均値 48.5、SD8.8%、RSD18.1%であり、年ごとの傾向がわずかに異なるが、統計的な有意差はないため、標準化した偏差値で議論することとした(表 3-3-1)。

また、現在、マンゴーの客観的指標として汎用されている糖度については、2021 年、2022 年、2023 年の 3 年ともに RSD5%前後、酸度及び糖酸比については、2021 年、2022 年、2023 年の RSD がそれぞれ 22, 42, 52%と 26, 45, 55%であり、年によって変動に差がみられた(表 3-3-1)。

更に、糖度、酸度、糖酸比について、官能評価スコアとの相関を確認した(表 3-3-1)。その結果、糖度については、2021 年は、 $R^2 = 0.55$ 、2022 年は、 $R^2 = 0.000003$ 、2023 年は、 $R^2 = 0.23$ であり、一定の傾向がないことがわかった。酸度と糖酸比については、2021 年がともに、 $R^2 = 0.9$ 以上、2022 年は $R^2 = 0.81, 0.75$ 、2023 年は $R^2 = 0.76, 0.69$ であり、低スコア側で、酸度が高く、糖酸比が低いという傾向の把握は可能であるが、年ごとに相関に変動がみられ、糖度と酸度だけでは、十分に官能評価情報を説明することができないという既報と同様の結果が得られた(44,45)。

なお、今後の議論に関しては、SS スコアが 55 点以上を高スコア、45-54 点を中スコア、44 点以下を低スコアとして定義する。

表 3-3-1 年ごとの官能評価の総合評価スコア値(生スコア及び偏差値化スコア)及び形質調査結果(2021-2023)

2021								2022								2023							
Sample	Sensory score		TSS	TA	TSS/TA	Data set		Sample	Sensory score		TSS	TA	TSS/TA	Data set		Sample	Sensory score		TSS	TA	TSS/TA	Data set	
No.	RS*	SS*	(%)	(%)		Trial 1	Trial 2	No.	RS*	SS*	(%)	(%)		Trial 1	Trial 2	No.	RS*	SS*	(%)	(%)		Trial 1	Trial 2
1	48.8	59.8	17.3	0.15	115.3	Training	Training	1	51.4	62.2	16.2	0.07	231.4	Test	Suppl.	1	45.2	59.9	17.1	0.09	190.0	Test	Test
2	42.4	58.7	16.0	0.17	94.1	Training	Training	2	44.2	59.6	15.6	0.11	141.8	Test	Suppl.	2	47.0	57.8	16.1	0.06	268.3	Test	Test
3	41.4	56.9	15.9	0.18	88.3	Training	Training	3	41.4	57.4	14.9	0.08	186.3	Test	Suppl.	3	39.6	57.1	16.3	0.11	148.2	Test	Test
4	36.2	55.2	16.8	0.18	93.3	Training	Training	4	36.6	55.4	16.0	0.15	106.7	Test	Suppl.	4	42.2	55.6	16.3	0.06	271.7	Test	Test
5	27.2	49.9	16.0	0.20	80.0	Training	Training	5	34.2	52.4	16.0	0.16	100.0	Test	Suppl.	5	30.4	49.7	15.7	0.13	120.8	Test	Test
6	28.3	48.0	14.6	0.20	73.0	Training	Training	6	33.8	51.8	16.0	0.14	114.3	Test	Suppl.	6	22.4	46.6	15.1	0.14	107.9	Test	Test
7	24.2	47.8	15.4	0.22	70.0	Training	Training	7	27.0	48.5	17.0	0.17	100.0	Test	Suppl.	7	15.3	42.8	16.6	0.14	118.6	Test	Test
8	15.4	41.9	16.1	0.28	57.5	Training	Training	8	18.2	44.8	15.2	0.22	69.1	Test	Suppl.	8	13.8	41.6	15.6	0.23	67.8	Test	Test
9	11.8	40.8	14.5	0.25	58.0	Training	Training	9	12.6	41.6	15.0	0.18	83.3	Test	Suppl.	9	6.2	37.6	16.4	0.29	56.6	Test	Test
10	9.4	38.9	14.5	0.29	50.0	Training	Training	10	10.8	40.4	16.4	0.29	56.6	Test	Suppl.	10	4.0	36.4	15.2	0.20	76.0	Test	Test
Average	28.5	49.8	15.7	0.21	78.0	-	-	Average	31.0	51.4	15.8	0.16	118.9	-	-	Average	26.6	48.5	16.0	0.15	142.6	-	-
SD	13.6	7.7	0.96	0.047	20.3	-	-	SD	13.6	7.5	0.66	0.065	54.0	-	-	SD	16.4	8.8	0.63	0.075	77.8	-	-
RSD (%)	47.7	15.4	6	22	26	-	-	RSD (%)	44.0	14.6	4	42	45	-	-	RSD (%)	61.7	18.1	4	52	55	-	-
R ²	-	-	0.55	0.91	0.93	-	-	R ²	-	-	0.000003	0.81	0.75	-	-	R ²	-	-	0.23	0.76	0.69	-	-

TSS:糖度, TA:酸度, SD:標準偏差, RSD:相対標準偏差, R²:偏差値化スコアとの相関

*RS:生スコア, SS:偏差値化スコア

3.3.2 官能評価サンプルの成分プロファイルによる主成分分析 (PCA)

官能評価したサンプルについて、親水性代謝物を GC-MS 分析により調査した。

その結果、GC-MS 分析により、45 種類が検出された (表 3-3-2)。

同定された成分は、大きく、アミノ酸、有機酸、糖類で、成分の詳細は、表 3-3-2 に示す。2021 年、2022 年、2023 年のそれぞれの年ごとに各 10 サンプルについて、親水性代謝物プロファイルを説明変数として、PCA 分析した結果、2021 年、2022 年、2023 年いずれも、スコアプロットの PC1 に沿って、ネガティブ側からポジティブ側に向かって官能評価スコアが高くなる傾向が確認できた (図 3-3-1)。

ローディング情報については、xylose, lyxose, rhamnose, arabinose, malic acid, α -ketoglutaric acid が官能評価の高スコアのサンプルが位置する PC1 のポジティブ側に位置し、反対に、 β -alanine, alanine, proline, serine, glycine, citric acid, valine, γ -aminobutyric acid は、低スコアが位置する PC1 のネガティブ側に位置した。ローディングプロットにおいて、特に、ポジティブ側、ネガティブ側それぞれの両端にあたるローディング値の絶対値が大きい成分については、相関が高いとされている (75)。そのため、2021 年の PC1 の両端となるローディングプロットの因子負荷量が ± 0.1 以上 (ポジティブ側:14 成分、ネガティブ側:21 成分) の成分に着目した。その結果、それぞれの年における PC1 因子負荷量が絶対値 0.1 以上の成分のうち、PC1 のポジティブ側、ネガティブ側の成分の傾向が、2022 年が 100%, 100%, 2023 年が約 76%, 100%一致した。このことから、3 年間ともに、官能評価スコアが親水性代謝物プロファイルにより、同様の傾向で分類されることがわかった。

表 3-3-2 第 3 章同定成分一覽

No	Compounds	RT	RI	Quantitative <i>m/z</i>
1	1,6-Anhydroglucose	10.94	1717.5	204
2	2-Aminoethanol	7.19	1275.9	174
3	2-Hydroxypyridine	4.67	1039.8	152
4	γ -Aminobutyric acid	9.57	1541.1	174
5	α -ketoglutaric acid	9.92	1583.9	147
6	Alanine	5.43	1108.0	116
7	Arabinose	10.71	1685.6	103
8	Aspartic acid	9.49	1531.4	232
9	β -Alanine	8.68	1436.9	174
10	Citric acid	11.83	1840.7	273.1
11	Fructose-6-phosphate	15.04	2358.4	315
12	Fructose	12.28	1906.4	217.15
13	Fucose	11.22	1755.2	117
14	Fumaric acid	7.88	1348.6	245
15	Galactose+Glucose	12.60	1954.0	319
16	Galacturonic acid	12.79	1982.7	333
17	Glucose	12.47	1934.6	319
18	Glutamic acid	10.28	1630.0	246
19	Glutamine	11.44	1785.8	156
20	Glyceric acid	7.81	1340.6	147
21	Glycine	7.59	1316.7	174
22	Inositol	13.73	2132.2	217
23	Xylonic acid	11.42	1782.5	292
24	Xylose	10.61	1672.9	103
25	Lyxose	10.66	1679.8	103
26	Maleic acid	7.52	1309.2	147
27	Malic acid	9.21	1497.9	147
28	Maltose	17.39	2820.2	361
29	Meso erythritol	9.43	1524.3	217
30	Nicotinic acid	7.40	1297.1	180
31	Phenylalanine	10.37	1642.2	218
32	Phosphate	7.26	1282.7	299
33	Proline	7.49	1306.1	142
34	Putrecine	11.23	1757.0	174.1
35	Pyroglutamic acid	9.51	1534.0	156

36	Quinic acid	12.18	1891.9	345
37	Rhamnose	11.01	1726.2	204
38	Ribose	10.82	1701.0	103
39	Serine	7.06	1263.4	116
40	Shikimic acid	11.70	1822.0	204
41	Sorbitol	12.69	1968.6	319
42	Threitol	9.36	1515.9	147
43	Threonic acid	9.86	1577.5	147
44	Threonine	7.45	1301.5	117
45	Valine	6.67	1223.7	144

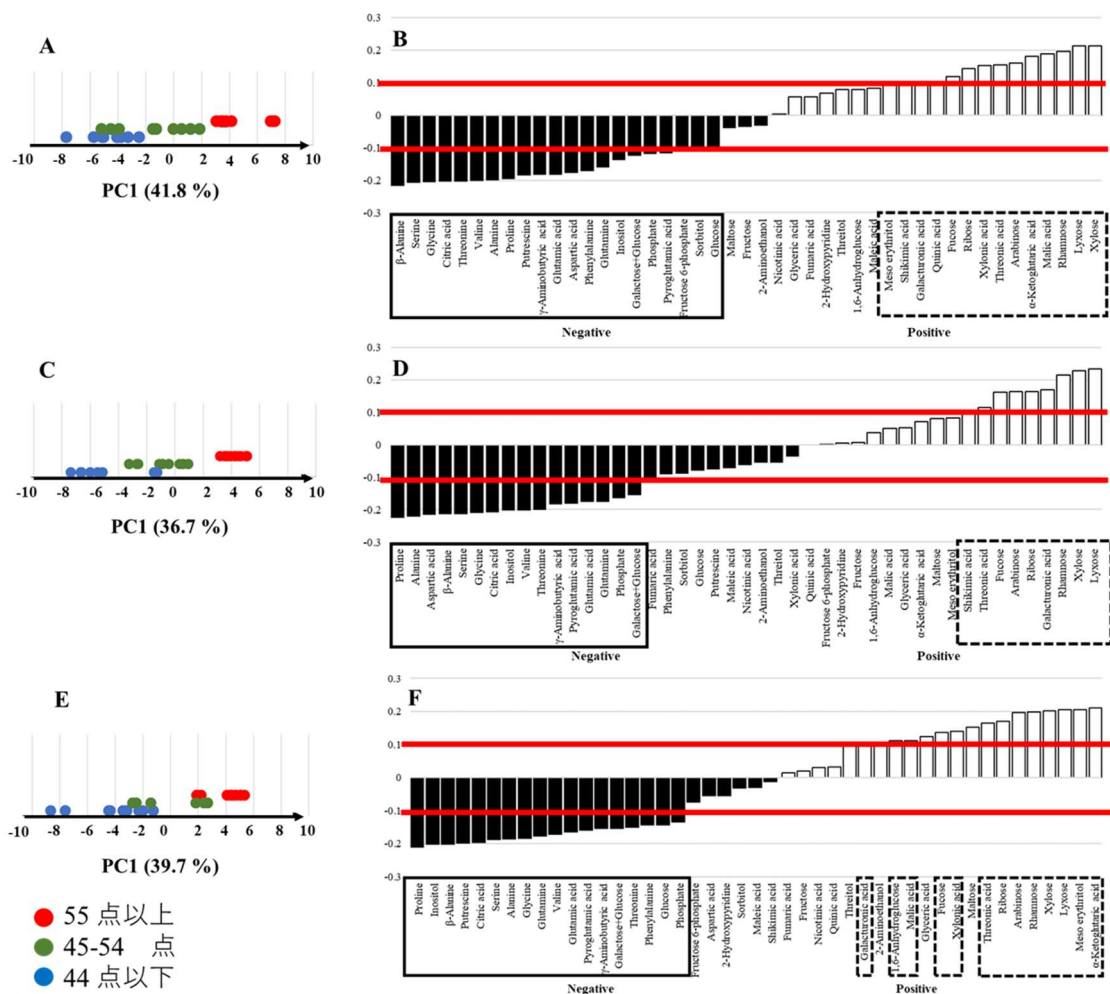


図 3-3-1 官能評価したマンゴーの GC-MS 分析で得られた成分プロファイルを供した主成分分析 (PCA)

(上段)2021 年 (中段)2022 年 (下段)2023 年
各サンプルの分析試行回数は n=3.

(A,C,E) スコアプロットの PC1 軸: 点の色は, スコア範囲 (凡例参照) の違いを示す.

(B,D,F) PC1 のローディングプロット*

*バークラフ (白): PC1 のポジティブ側に寄与する成分を示し, 点線は, そのうち 3 年ともに 0.1 以上の因子負荷量でポジティブ側に寄与する成分

バークラフ (黒): PC1 のネガティブ側に寄与する成分を示し, 実線は, そのうち 3 年ともに -0.1 以下の因子負荷量でネガティブ側に寄与する成分

赤線: 因子負荷量絶対値 0.1 ライン

3.3.3 OPLS によるヒトの官能評価予測モデルの構築

食品のメタボロミクスにおいて、回帰分析は、定量的予測のアプローチを提供する(73). 近年、多くの回帰分析手法が提唱される中、PLS は、オーバーフィッティングを効率的に抑制することができ、解釈がしやすいなどの理由から、メタボロミクス分野においても最も広く使用されている手法である(76,77). 一般的に、PLS を使った回帰分析は、X 変数 (説明変数) を使って、Y 変数 (応答変数) の値の予測のために使用されるが、応答変数に強く影響する代謝物を推定する場面においても使用されている(39,46). 更に、Y 変数と相関しない X 変数を除くため、PLS に比べ、より解釈が容易である OPLS 回帰分析がモデルの複雑化を軽減することが出来る手法として提案された(78). 加えて、OPLS は、日本酒や醤油、コーヒーの呈味と代謝物質の関連を説明するために活用されるなど、食品メタボロミクス研究に応用されている実績もある (23,28,30).

そこで、2021 年、2022 年、2023 年サンプルの官能評価スコアを応答変数、GC-MS で検出された親水性代謝成分 (45 成分) を説明変数として、それぞれの年ごとに OPLS 回帰分析を実施した.

その結果、2021 年は、 $R^2 = 0.97$, $Q^2 = 0.96$, 2022 年は、 $R^2 = 0.96$, $Q^2 = 0.94$, 2023 年は、 $R^2 = 0.94$, $Q^2 = 0.93$ であった. R^2 と Q^2 の値については、0.6 以上で良いモデルであるとされている (39,46,79) ため、いずれの年の予測モデルともに良い予測モデルであることがわかった (図 3-3-2).

また、Trial 1 として、2021 年のサンプルで構築した予測モデルの係数、定数項の値どちらも完全に同じ値である予測式を用い、2022 年と 2023 年のサンプルの官能評価値を予測した. その結果、2022 年は、 $R^2 = 0.87$, RMSEP = 4.32, 2023 年は、 $R^2 = 0.91$, RMSEP = 3.47 の精度で異なる年度のサンプルをそれぞれ予測可能であった (図 3-3-3).

更に、Trial 2 として、2021 年の官能評価スコア予測モデルを 3 パターンの説明変数 (同定した全成分 45 成分の場合 (表 3-3-2), 説明変数を 2021 年サンプルで構築した

予測モデルに影響が高い成分 (VIP 値 0.8 以上)(80,81)とした場合 (表 3-3-3), 2021 年サンプル及び 2022 年サンプルそれぞれで構築した予測モデルで影響が高く (VIP 値 0.8 以上)かつ 2021 年、2022 年の共通成分を用いた場合 (表 3-3-4))それぞれでモデルを構築し、バリデーションセットである 2023 年サンプルの官能評価スコアの予測精度について、 R^2 及び RMSEP を指標に、それぞれ比較した。

まず、2021 年の VIP 値 0.8 以上の成分を説明変数とする予測モデルの評価を行った。2021 年サンプルにより構築した官能評価予測モデルの VIP 値 0.8 以上の成分 (29 成分)を表 3-3-3 に示す。

説明変数を同定成分 45 成分から VIP 値 0.8 以上の 29 成分に絞り、2021 年におけるサンプルで構築された予測モデルの精度は、 $R^2 = 0.96$, $Q^2 = 0.95$, RMSEE=1.60 であり、2023 年のサンプルを $R^2=0.92$, RMSEP=3.25 の精度で予測可能であった (図 3-3-4 A,B)。

次に、2021 年及び 2022 年の VIP 値 0.8 以上の成分であり、かつ 2 年間共通する再現性の高い成分を表 3-3-4 に示す。

その結果、2021 年、2022 年の VIP 値 0.8 以上の成分かつ共通成分として、24 成分が選択された。更に、得られた 24 成分を説明変数とし、2021 年の官能評価スコア値を応答変数として構築したモデルの精度は、 $R^2 = 0.93$, $Q^2 = 0.90$, RMSEE = 2.07 であり、2023 年のサンプルを $R^2 = 0.91$, RMSEP = 2.88 の精度で予測可能であった (図 3-3-4 C,D)。

以上の結果から、2021 年の官能評価スコアを応答変数、同定した全 45 成分を説明変数とした予測モデルにより、2023 年の官能評価スコア値を $R^2 = 0.91$, RMSEP = 3.47 の精度で予測可能であった。更に、説明変数をモデルの構築に影響の高い成分である VIP 値 0.8 以上の成分に絞ることで、より高い予測精度を得ることができた。

このことは、VIP 値の高い成分のみを選択抽出することで、モデルの構築において優先順位の高い成分が説明変数となり、メタボロミクス研究で課題となる網羅的な成分

を対象とするために、説明変数同士が強く相関する多重共線性による予測精度への影響が低減されたのかもしれない(82,83).

更に、2021 年の予測モデル（説明変数が同定成分 45 成分）から抽出した VIP 値 0.8 以上の成分 29 成分（うち 24 成分は、2021 年、2022 年 2 年間共通）について、2021 年 サンプルの GC-MS 相対強度に基づいた官能評価スコア（3 区分(55 点以上, 45-54 点, 44 点以下)）ごとの傾向を示した（図 3-3-5）. その結果、官能評価スコアにポジティブに相関のある成分が官能評価スコアの高いサンプルに多く、反対に、官能評価スコアにネガティブに相関のある成分が官能評価スコアの低いサンプルに多い傾向にあり、OPLS による結果と一致した.

また、VIP 値の高い 29 成分において、Tucky の検定を使用した ANOVA 分析により、官能評価スコア（3 区分(55 点以上, 45-54 点, 44 点以下)）に基づいて有意に異なる ($p < 0.05$) 成分を抽出した.

その結果、29 成分すべてにおいて、官能評価スコアの高いサンプルと低いサンプル間で有意差を確認できた. そのうち、官能評価スコアとポジティブに相関のある成分 xylose, lyxose の 2 成分、ネガティブに相関のある成分 aspartic acid と citric acid の 2 成分の計 4 成分については、官能評価スコア（3 区分(55 点以上, 45-54 点, 44 点以下)）それぞれにおいて有意差が確認できた.

これら 4 成分のうち、官能評価スコアにポジティブに相関する成分である xylose, lyxose は甘い糖類として甘さに寄与するとの報告 (53,65)がある.

また、xylose については、細胞壁を構成するヘミセルロースの主要な成分であるキシロシルの単糖 (84-86) であり、成熟の過程で細胞壁の軟化に寄与する酵素がアップレギュレートすることに付随して増加するとの報告がある (85).

一方、ネガティブに相関する成分である aspartic acid は、酸味に寄与すると報告のあるアミノ酸 (56) であり、マンゴーの味の評価においても総合評価にネガティブに寄与する成分として報告 (44) がある. また、aspartic acid は、アラニン、アスパラギン酸、

グルタミン酸の代謝経路をはじめとする様々な非生物学ストレスで促進される経路に関連した成分としても報告 (85,87-89) がある。Citric acid は、マンゴーの主要な酸の一つで、一般的に酸味に寄与する有機酸 (90) である。また、マンゴーにおいて、酸味は、官能評価にネガティブに影響する傾向にあるという報告がある。

実際に、酸度（クエン酸換算）については、今回の形質調査の酸度結果においても、その傾向が確認されている。

クエン酸濃度は、温度ストレスや日射ストレスなどの非生物学的ストレスで増加し、果実の成熟とともに減少することが報告されている。また、非生物学的ストレスのうち、クエン酸レベルは、日射量が少ないと上昇することが報告されており、更に、日射量の減少が熟成の遅れに影響するという報告もある (91,92)。

以上の結果から、官能評価スコアにポジティブに相関のある成分である xylose や lyxose は、甘味に関連する成分として報告があることに加え、xylose については、熟度の進行により、増加している可能性も考えられた。そのため、この研究で供試したサンプルのうち、官能評価スコアの高い傾向のあるサンプルは、甘さに特徴があることに加え、熟度が進み、わずかに柔らかいのかかもしれない。

反対に、官能評価スコアにネガティブに相関のある成分として抽出されたアミノ酸や有機酸は、これまでのマンゴーに関する報告においても低い官能評価スコアに寄与する傾向で、酸味への影響や熟度、非生物学的ストレスについても報告がある。

これらのことから、官能評価スコアの高い傾向にあるサンプルは、熟度が進み、反対に、官能評価スコアの低いサンプルについては、熟成が遅れている可能性も考えられる。

また、官能評価の低いサンプルにおいては、非生物学的ストレスに関与している可能性も考えられた。

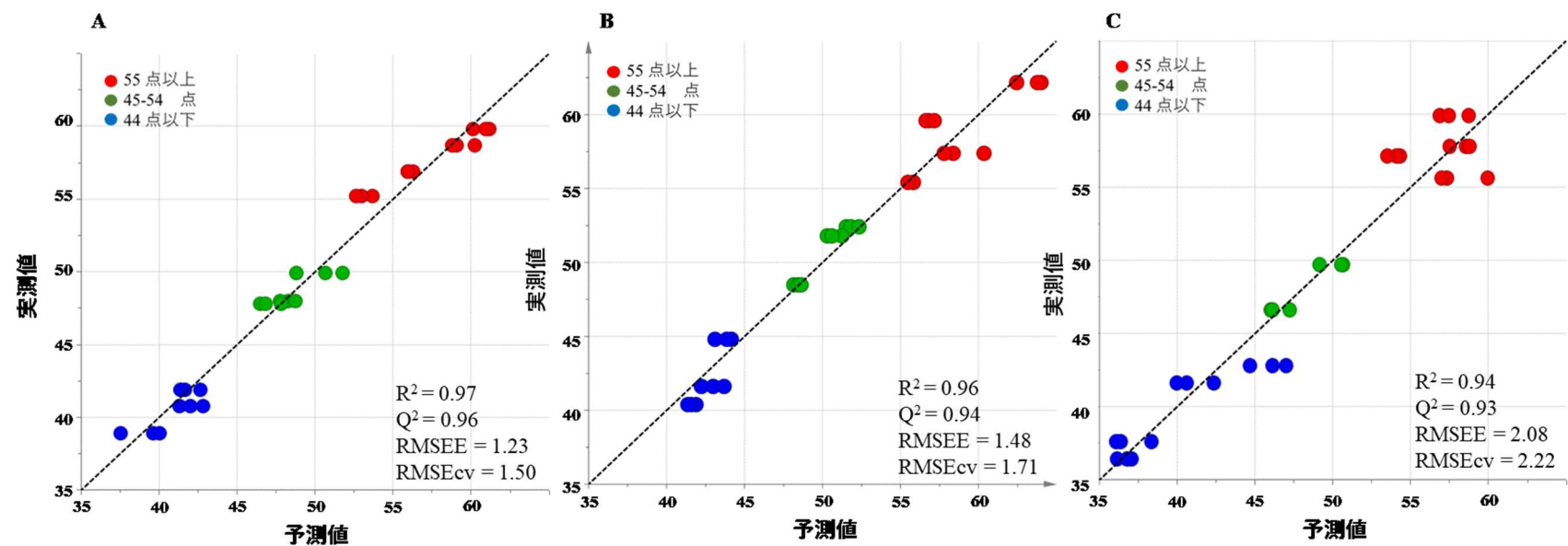


図 3-3-2 GC-MS 分析で得られた成分プロファイルを説明変数, 官能評価における総合評価スコアを応答変数とした OPLS 分析

A: 2021 年 B: 2022 年 C: 2023 年

各サンプルの分析試行回数 n=3.

表 3-3-3 GC-MS による親水性低分子代謝プロファイルを説明変数, 2021 年の官能評価スコアを応答変数とした OPLS 回帰分析において, 得られた高い VIP 値を示した成分 (VIP > 0.8)

Compounds	2021	
	VIP score	Coefficient
Lyxose	1.41	+
Xylose	1.41	+
α -Ketoglutaric acid	1.35	+
Malic acid	1.33	+
β -Alanine	1.32	–
Aspartic acid	1.31	–
Citric acid	1.31	–
Rhamnose	1.30	+
Serine	1.28	–
Ribose	1.24	+
Proline	1.23	–
Alanine	1.23	–
Xylonic acid	1.23	+
Putrescine	1.22	–
Valine	1.21	–
Threonine	1.20	–
Glycine	1.18	–
Phenylalanine	1.18	–
Galactose+Glucose	1.16	–
Glutamine	1.12	–
Glutamic acid	1.12	–
Arabinose	1.10	+
γ -Aminobutyric acid	1.06	–
Fucose	0.93	+
Threonic acid	0.88	+
Inositol	0.84	–
Phosphate	0.81	–
Meso erythritol	0.80	+
Glyceric acid	0.80	+

表 3-3-4 GC-MS による親水性低分子代謝プロファイルを説明変数, 2021 年および 2022 年の官能評価スコアを応答変数とした OPLS 回帰分析において, 得られた高い VIP 値を示した成分 (VIP > 0.8)

Compounds	2021		2022	
	VIP score	Coefficient	VIP score	Coefficient
Lyxose	1.41	+	1.66	+
Xylose	1.41	+	1.65	+
α -Ketoglutaric acid	1.35	+	0.82	+
Malic acid	1.33	+	0.39	+
β -Alanine	1.32	-	1.28	-
Aspartic acid	1.31	-	1.41	-
Citric acid	1.31	-	1.59	-
Rhamnose	1.30	+	1.63	+
Serine	1.28	-	1.24	-
Ribose	1.24	+	1.44	+
Proline	1.23	-	1.37	-
Alanine	1.23	-	1.22	-
Xylonic acid	1.23	+	0.12	+
Putrescine	1.22	-	0.59	-
Valine	1.21	-	1.11	-
Threonine	1.20	-	1.09	-
Glycine	1.18	-	1.22	-
Phenylalanine	1.18	-	0.50	-
Galactose and Glucose	1.16	-	1.35	-
Glutamine	1.12	-	1.07	-
Glutamic acid	1.12	-	1.08	-
Arabinose	1.10	+	1.40	+
γ -Aminobutyric acid	1.06	-	1.07	-
Fucose	0.93	+	1.42	+
Threonic acid	0.88	+	0.83	+
Inositol	0.84	-	1.35	-
Phosphate	0.81	-	0.93	-
Meso erythritol	0.80	+	1.01	+
Glyceric acid	0.80	+	0.49	+

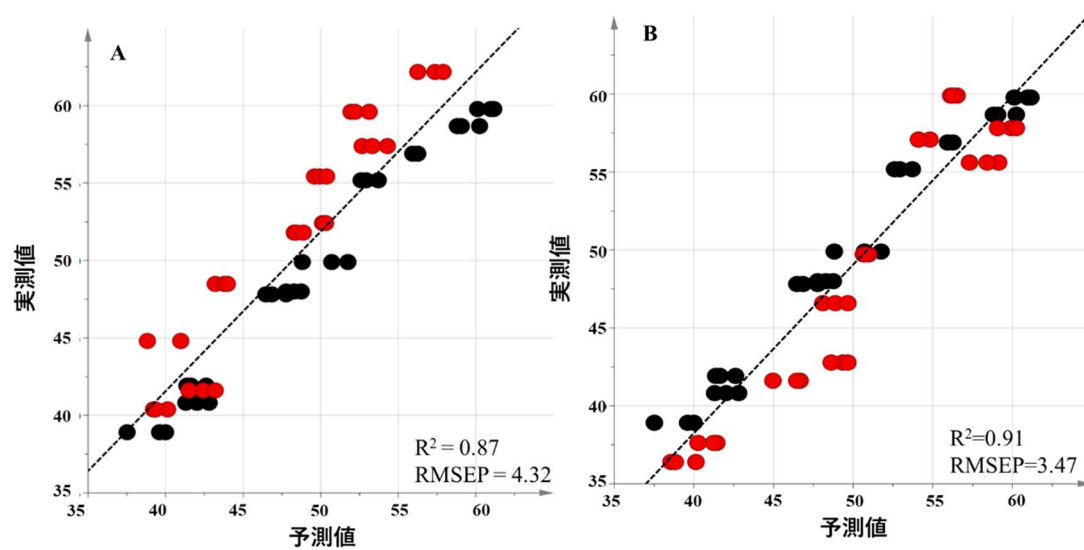


図 3-3-3 GC-MS 分析で得られた親水性低分子代謝プロファイル(検出した 45 成分すべて)を説明変数, 官能評価の総合評価スコアを応答変数とした予測モデル

トレーニングセット ● 2021 年サンプル

バリデーションセット ● A: 2022 年サンプル B: 2023 年サンプル

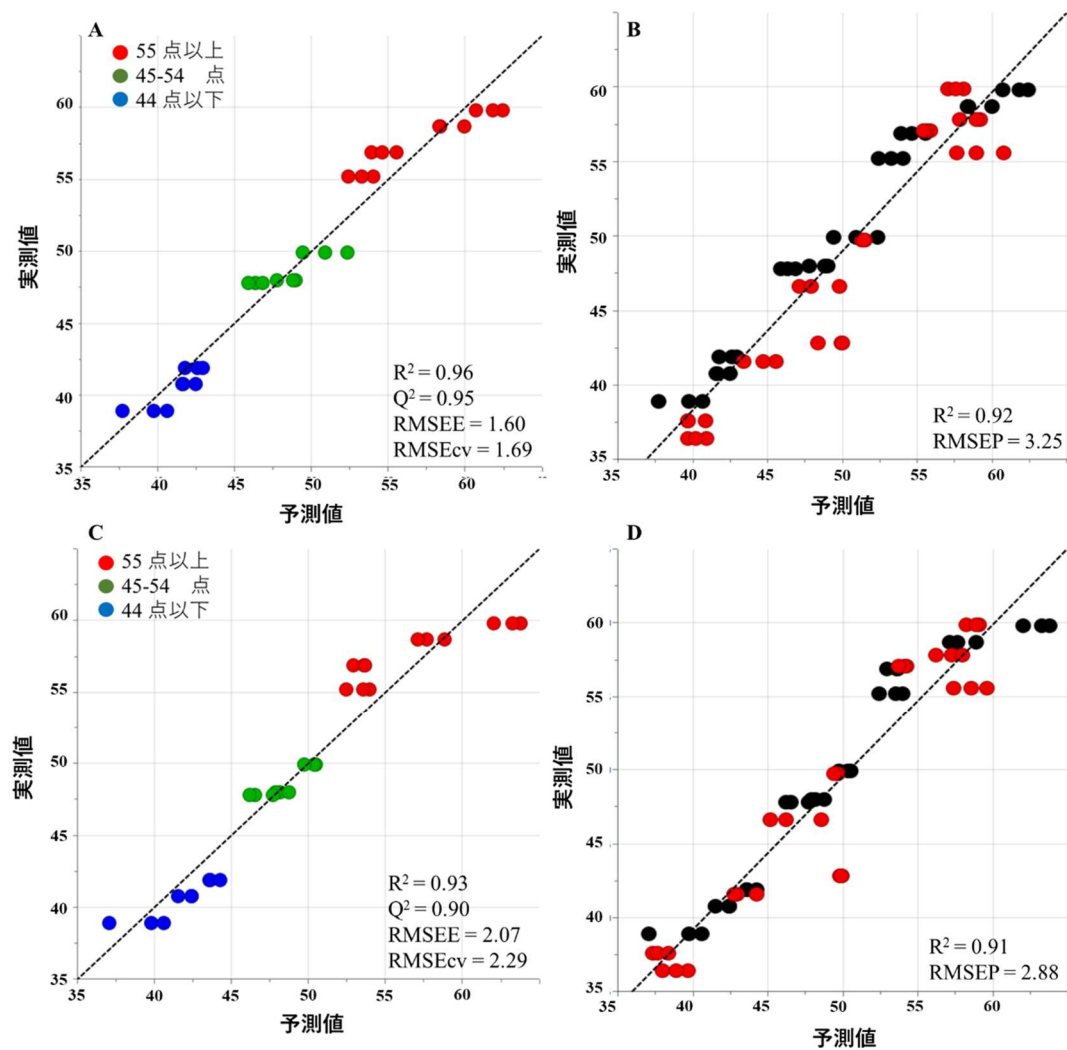


図 3-3-4 説明変数の違いによる予測モデルの精度比較

トレーニングセット●:2021 年サンプル テストセット●:2023 年サンプル

(A) (B) 説明変数 29 成分 (2021 年の VIP 値 > 0.8 の成分)

(C) (D) 説明変数 24 成分 (2021 年及び 2022 年ともに VIP 値 > 0.8 の共通成分)

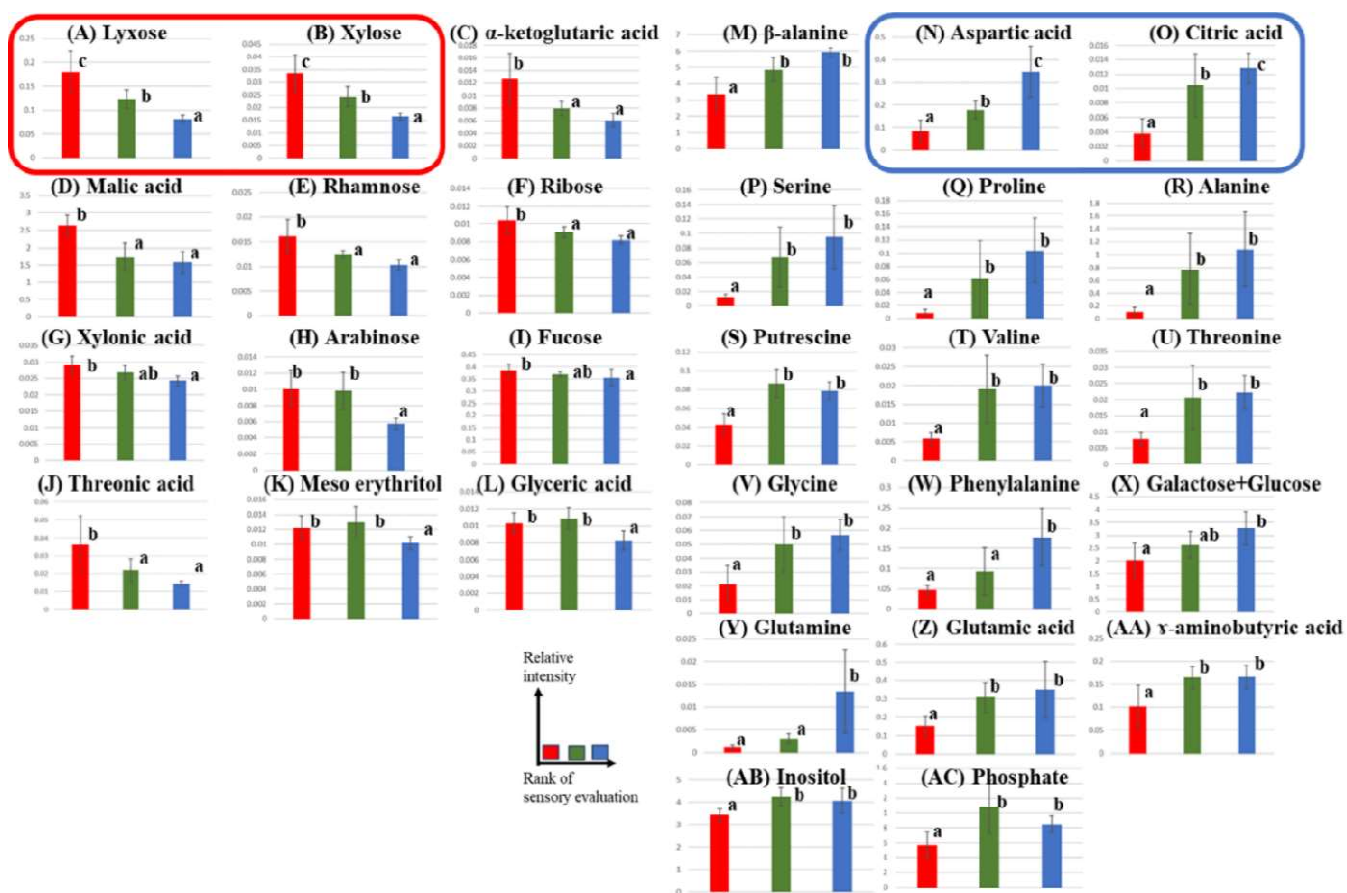


図 3-3-5 2021 年サンプルの予測モデルの $VIP > 0.8$ 成分 (29 成分) の官能評価スコア区分 (高スコア・中スコア・低スコア) の相対強度比較

棒グラフ (赤: 高スコア 55 点以上, 緑: 中スコア 45-54 点, 青: 低スコア 44 点以下)

異なるアルファベット間には有意差を示す (Tukey's HSD, $P < 0.05$). 赤線・青線で囲んでいる成分は, 3 区分全てで有意差のあったポジティブに寄与する成分とネガティブに寄与する成分である。

3.4 小括

本章では、同一温室内における同一品種のマンゴーを供試し、3年間にわたり GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイルにより、官能特性に着目した品質を評価した。その結果、3年間にわたり定量的に評価が可能であるとともに、各年ともに R^2 , Q^2 が 0.6 以上の精度の高い官能評価スコアの予測モデルを構築できた。また、構築した予測モデルの年を越えた活用について、2021 年のサンプルをトレーニングセット、2022 年、2023 年のサンプルをテストセットとして用い、検証した結果、一定の精度で官能評価スコアが予測可能であることがわかったことに加え、その再現性を確認した。

更に、構築したモデルにおける説明変数をモデルの構築に影響の大きい成分 (VIP 値の高い成分) に絞りこむことで、わずかに予測精度が向上することがわかった。

加えて、VIP 値に基づき、モデルの構築に重要な成分の中から、高スコア・中スコア・低スコア全ての区分において有意差のある成分も明らかとなった。

以上のことから、GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイルにより、同一温室内における同一品種のマンゴーの官能特性に着目した品質を評価可能であることがわかった。

併せて、本章において評価したサンプルは、一般的に得ることのできるサンプル範囲の中でも、品質の差が小さいサンプルを供試していることから、前章の品種間による評価に比べ、高い検出力が求められたが、今回、親水性低分子代謝物プロファイルによる官能特性を再現性よく、高い精度で評価が可能であった。このことから、マンゴーの官能特性の評価において、官能評価と親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析の拡張的な展開の可能性についても示唆された。

第4章 総括と今後の展望

4.1 本研究の総括

本研究では、マンゴーの官能特性と親水性低分子代謝プロファイルとの相関解析により、温室栽培マンゴーの官能特性に着目した品質を評価することを目的とした。

近年、マンゴーの「味」に対する消費者ニーズの高まりに加え、流通業者においては、消費者ニーズを満たす品質を有する果実の安定的な供給を求めているため、官能特性に着目した品質向上等が重要となっている。日本をはじめとする温帯地域のマンゴー栽培で導入されている温室栽培は、一般的に環境要因の制御がしやすく、害虫などの影響を受けにくいと、安定した品質・収量が得やすいとされている。そのため、マンゴーにおいても、前述の消費者ニーズに対応するために、温室栽培の活用が有効であると考えられる。一方で、温室の全域が完全に均一の環境とは言えず、官能特性を含む品質のばらつきが懸念されるが、それらを科学的に評価した具体的な研究事例がなかった。

そのため、親水性低分子代謝物プロファイルとヒトによる官能評価との相関を解析するメタボロミクス手法を導入し、マンゴーの官能特性に着目し、温室栽培における品質を科学的に評価・理解することを試みた。食品分野では、親水性低分子代謝物プロファイルと官能評価を関連づけて品質を評価した多くの報告がある。一方、マンゴーの官能特性の評価に関しては、親水性低分子代謝物プロファイルと官能特性との相関解析について、実用性を鑑み、評価した報告はなかった。

そこで、第2章では、GC-MS 基盤の親水性低分子代謝プロファイルによるインドネシアマンゴー5品種の品種ごとの官能特性評価を実施した。また、GC-MS 基盤の親水性低分子代謝プロファイルによるマンゴーの官能特性の評価における有用性について考察した。

形質調査、官能評価（ヘドニックテスト及び CATA）における品種ごとの特性と GC-MS 基盤の親水性低分子代謝プロファイルの相関について、信頼性向上のため PCA

と OPLS-DA を組み合わせて解析した結果、今回用いたサンプルのそれぞれの品種特性を親水性低分子代謝物プロファイルにより説明することが可能であった。また、親水性低分子代謝物プロファイルにより、「品種」「産地」「栽培条件」の違いに関わらず、官能特性を評価可能であるかについて、明らかに「品種」「産地」「栽培条件」の異なる海外産 3 品種をバリデーションセットとして用い、評価した。その結果、インドネシアマンゴー5 品種のみの結果と同様の成分で、官能特性に基づいた分離を確認することができた。以上のことから、GC-MS 基盤の親水性代謝物プロファイルは、マンゴーの官能特性を評価・説明するために有用であることが示唆された。

第 3 章では、同一温室栽培の同一品種のマンゴーを供試し、3 年間にわたり GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイルと官能評価スコアとの相関を解析した。

PCA においては、親水性低分子代謝物プロファイルにより官能評価スコアの高・中・低スコアの傾向が3 年間にわたり再現性高く分離・説明可能であった。また、官能評価スコアを応答変数、親水性低分子代謝物 45 成分を説明変数とした OPLS においては、3 年間いずれの年の R^2 , Q^2 がともに、0.8 以上で良いモデル（一般的に R^2 , Q^2 ともに 0.6 以上が良いモデル）であることがわかった。

また、2021 年のサンプルで構築した予測モデルにより、2022 年、2023 年の異なる年度の官能評価スコアが精度よく予測可能であった。更に、モデルの構築において、検出した 45 成分のうち、モデルの構築に重要な成分である VIP 値の高い成分かつ 2 年間における再現性の高い成分の 24 成分に絞ることで、予測精度が向上することがわかった。加えて、モデルの構築に重要な成分を抽出し、考察することが可能であった。

以上のことから、同一温室内における同一品種のマンゴーの官能特性に着目した品質が GC-MS 基盤の親水性低分子代謝物プロファイルにより、再現性よく、年次を越えて評価可能であることが示唆された。併せて、本章で供試したサンプルは、より高い検出力が求められる同一温室で栽培された同一品種のサンプルであり、その僅差の品質を親水性低分子代謝物プロファイルにより評価することが可能であったことから、マ

ンゴの官能特性の評価における親水性低分子代謝物プロファイリングの拡張的な活用可能性が示唆された。

本研究の成果は、同一温室内における同一品種のマンゴの官能特性に着目した品質を親水性低分子代謝物プロファイルとの相関解析により評価したことである。

4.2 今後の展望

本研究で得られた知見は、温室栽培におけるマンゴの官能特性に着目した品質の向上や安定的な栽培等の基礎的なデータとしての活用とともに、得られた成分情報を基に、官能特性に影響する要因の解明につながる可能性も考えられる。

また、ヒトの官能評価の代替として予測モデルが実用的に活用されることで、味に特化した品質について、多くのサンプルデータの取得や年を越えてデータが蓄積されることが期待される。更には、複数年度にわたる官能評価が可能となることによる官能特性に着目した品質の周年変動の把握等への活用も考えられる。

実際、本研究結果に基づき、同一温室栽培の官能特性に影響する成分が年次を越えて再現性高く得られたことから、その成分情報を基に、栽培条件の改善等への活用を検討している現状がある。

また、今回、親水性低分子代謝物プロファイルが、マンゴの官能特性に着目した品質を客観的に評価・説明するために有用であることが確認できたため、マンゴの官能特性に着目した研究の更なる加速化を期待する。将来的には、本研究が、マンゴだけでなく、広く農産物の栽培技術や品種選抜等に広く活用されることで、様々な品目における官能特性に着目した品質の改良等の一助となることが期待される。

引用文献

1. Yadav, D., & Singh, S. P., Mango: History origin and distribution. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6, 1257-1262 (2017).
2. Farina, V., Gentile, C., Sortino, G., Gianguzzi, G., Palazzolo, E., and Mazzaglia, A.: Tree-Ripe Mango Fruit: Physicochemical Characterization, Antioxidant Properties and Sensory Profile of Six Mediterranean-Grown Cultivars, *Agronomy*, 10, 884 (2020).
3. Singh, N. K., Mahato, A. K., Jayaswal, P. K., Singh, A., Singh, S., Singh, N., Rail, V., Mithara SV, A., Gaikwad, K., Sharma, N., and other 20 authors. : Origin, diversity and genome sequence of mango (*Mangifera indica* L.) (2016).
4. Munafo Jr, J. P., Didzbalis, J., Schnell, R. J., Schieberle, P., and Steinhaus, M.: Characterization of the major aroma-active compounds in mango (*Mangifera indica* L.) cultivars Haden, White Alfonso, Praya Sowoy, Royal Special, and Malindi by application of a comparative aroma extract dilution analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62, 4544-4551 (2014).
5. Pino, J. A., Mesa, J., Muñoz, Y., Martí, M. P., and Marbot, R.: Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2213–2223 (2005).
6. Clonan, M., McConchie, C., Hall, M., Hearnden, M., Olesen, T., and Sarkhosh, A. Effects of ambient temperatures on floral initiation in Australian mango (*Mangifera indica* L.) selections. *Scientia Horticulturae*, 276, 109767 (2021).
7. Colantonio, V., Ferrão, L. F. V., Tieman, D. M., Bliznyuk, N., Sims,

C., Klee, H. J., Munoz, P., and Resende Jr, M. F.: Metabolomic selection for enhanced fruit flavor, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119, e2115865119 (2022).

8. Nandi, C. S., Tudu, B., and Koley, C.: A machine vision technique for grading of harvested mangoes based on maturity and quality, *IEEE Sensors Journal*, 16, 6387–6396 (2016).

9. Gentile, C., Di Gregorio, E., Di Stefano, V., Mannino, G., Perrone, A., Avellone, G., Sortino, G., Inglese, P., and Farina, V.: Food quality and nutraceutical value of nine cultivars of mango (*Mangifera indica* L.) fruits grown in Mediterranean subtropical environment, *Food Chemistry*, 277, 471–479 (2019).

10. Fanyuk, M., Kumar Patel, M., Ovadia, R., Maurer, D., Feygenberg, O., Oren-Shamir, M., and Alkan, N.: Preharvest Application of Phenylalanine Induces Red Color in Mango and Apple Fruit's Skin, *Antioxidants*, 11, 491 (2022).

11. Rahayu, M., Hidayah, B. N., Mujiono, Sohail, B. T., Qureshi, S., and Baker, I.: Effects of pruning and fertilizing on production and quality of mango cultivar Gedong Gincu in West Nusa Tenggara province, Indonesia. In 3rd international conference on chemical, biological and environmental sciences, 8–9 (2013).

12. Yosini, D.: Consumer preferences on import and local fruit in Indonesia, *Lucrari stiintifice*, 54, 32–37 (2011).

13. 米本仁巳, 新特産シリーズ マンゴー 完熟果栽培の実際, 農文協 (2008).

14. Honsho, C., Inada, M., Yuji, K. I., Tojiki, M., Kurogi, S., Kanzaki, S.,

and Tetsumura, T.: Efficiency of hybrid formation by open-pollination of two cultivars in a closed plastic house and the effect of the male parent on fruit characteristics in mango, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 81, 27–34 (2012).

15. Giacomelli, G. A., & Roberts, W. J.: Greenhouse covering systems, *HortTechnology*, 3, 50–58 (1993).

16. Sánchez, M., Velásquez, Y., González, M., & Cuevas, J.: Hoverfly pollination enhances yield and fruit quality in mango under protected cultivation, *Scientia Horticulturae*, 304, 111320 (2022).

17. Ueda, M., Sasaki, K., Utsunomiya, N., Inaba, K., and Shimabayashi, Y.: Changes in physical and chemical properties during maturation of mango fruit (*Mangifera indica* L. ‘Irwin’) cultured in a plastic greenhouse, *Food Science and Technology Research*, 6, 299–305 (2000).

18. Kavitha, R., Nataraja, K. H., Nagesh Naik, K. V., Ramanagouda, S. H., & Naika, M. B.: A study on quality characters of different mango (*Mangifera indica* L.) varieties grown under high density planting. *International Journal of Chemical Studies*, 6, 2062–2064 (2018).

19. Fukusaki, E.: Application of metabolomics for high resolution phenotype analysis, *Mass Spectrometry*, 3, S0045 (2014).

20. Ochi, H., Naito, H., Iwatsuki, K., Bamba, T., and Fukusaki, E.: Metabolomics-based component profiling of hard and semi-hard natural cheeses with gas chromatography/time-of-flight-mass spectrometry, and its application to sensory predictive modeling, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 113, 751–758 (2012).

21. Yamamoto, S., Shiga, K., Kodama, Y., Imamura, M., Uchida, R.,

Obata, A., Bamba, T., and Fukusaki, E.: Analysis of the correlation between dipeptides and taste differences among soy sauces by using metabolomics-based component profiling, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118, 56–63 (2014).

22. Shiga, K., Yamamoto, S., Nakajima, A., Kodama, Y., Imamura, M., Sato, T., Uchida, R., Obata, A., Bamba, T., and Fukusaki, E.: Metabolic profiling approach to explore compounds related to the umami intensity of soy sauce, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 7317–7322 (2014).

23. Taniguchi, M., Shimotori, A., and Fukusaki, E.: Enantioselective amino acid profile improves metabolomics-based sensory prediction of Japanese sake, *Food Science and Technology Research*, 25, 775–784 (2019).

24. Putri, S. P., Irifune, T., Yusianto., and Fukusaki, E.: GC/MS based metabolite profiling of Indonesian specialty coffee from different species and geographical origin, *Metabolomics*, 15, 126 (2019).

25. Putri, S. P., Nakayama, Y., Matsuda, F., Uchikata, T., Kobayashi, S., Matsubara, A., and Fukusaki, E.: Current metabolomics: Practical applications, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115, 579–589 (2013).

26. Putri, S. P., Yamamoto, S., Tsugawa, H., and Fukusaki, E.: Current metabolomics: Technological advances, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116, 9–16 (2013).

27. Cevallos-Cevallos, J. M., Reyes-De-Corcuera, J. I., Etxeberria, E., Danyluk, M. D., and Rodrick, G. E.: Metabolomic analysis in food science: a review, *Trends in Food Science and Technology*, 20, 557–566 (2009).

28. Ogawa, T., Kusumoto, K., and Fukusaki, E.: Construction of a prediction model for taste of miso (Japanese fermented soybean paste) using

metabolic profiling and quantitative descriptive analyses, *Food Science and Technology Research*, 25, 871–877 (2019).

29. Pongsuwan, W., Fukusaki, E., Bamba, T., Yonetani, T., Yamahara, T., and Kobayashi, A.: Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 231–236 (2007).

30. Amalia, F., Irifune, T., Takegami, T., Yusianto, Sumirat, U., Putri, S. P., and Fukusaki, E.: Identification of potential quality markers in Indonesia's Arabica specialty coffee using GC/MS-based metabolomics approach, *Metabolomics*, 19, 90 (2023).

31. 行貞真緒, & 平井宗一., メタボロミクス解析の基礎から実践. 日大医学雑誌, 83(2), 71-76 (2024).

32. Schrimpe-Rutledge, A. C., Codreanu, S. G., Sherrod, S. D., & McLean, J. A.: Untargeted metabolomics strategies—challenges and emerging directions. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 27, 1897-1905 (2016).

33. Ward, J. L., Baker, J. M., and Beale, M. H.: Recent applications of NMR spectroscopy in plant metabolomics. *Febs J.*, 274, 1126-1131 (2007).

34. Fiehn, O., Kopka, J., Trethewey, R. N., Willmitzer, L., and Krotzky, A. J.: Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature biotechnology*, 18, 1157-1161. (2000).

35. Tolstikov, V. V., and Fiehn, O.: Analysis of highly polar compounds of plant origin: combination of hydrophilic interaction chromatography and electrospray ion trap mass spectrometry. *Anal. Biochem.*, 301, 298-307 (2002).

36. Soga, T., Ohashi, Y., Ueno, Y., Naraoka, H., Tomita, M., and

Nishioka, T.: Quantitative metabolome analysis using capillary electrophoresis mass spectrometry. *J. Proteome Res.*, 2, 488-494 (2003).

37. Putri, S. P., Ikram, M. M. M., Sato, A., Dahlan, H. A., Rahmawati, D., Ohto, Y., & Fukusaki, E. (2022). Application of gas chromatography-mass spectrometry-based metabolomics in food science and technology. *Journal of bioscience and bioengineering*, 133(5), 425-435.

38. 馬場健史, 平山明由, 松田史生, & 津川裕司. メタボロミクス実践ガイド: サンプル調製からデータ解析まで, あなたに合った実験デザインと達人テクニック. 羊土社. (2021).

39. Ikram, M. M. M., Ridwani, S., Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2020). GC-MS based metabolite profiling to monitor ripening-specific metabolites in pineapple (*Ananas comosus*). *Metabolites*, 10(4), 134..

40. Moing, A., Pétriacq, P., & Osorio, S., Special Issue on “fruit metabolism and metabolomics”. *Metabolites*, 10(6), 230 (2020).

41. Munafo Jr, J. P., Didzbalis, J., Schnell, R. J., & Steinhaus, M.: Insights into the key aroma compounds in mango (*Mangifera indica* L. ‘Haden’) fruits by stable isotope dilution quantitation and aroma simulation experiments. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64, 4312-4318 (2016).

42. Lehner, T. B., & Siegmund, B.: The impact of ventilation during postharvest ripening on the development of flavour compounds and sensory quality of mangoes (*Mangifera indica* L.) cv. Kent. *Food chemistry*, 320, 126608 (2020).

43. Ngamchuachit, P., Sivertsen, H. K., Mitcham, E. J., & Barrett, D. M.: Influence of cultivar and ripeness stage at the time of fresh-cut processing on instrumental and sensory qualities of fresh-cut mangos. *Postharvest Biology and*

Technology, 106, 11-20 (2015).

44. Sung, J., Suh, J. H., Chambers, A. H., Crane, J., and Wang, Y.
Relationship between sensory attributes and chemical composition of different mango cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67, 5177–5188 (2019).
45. Ikegaya, A., Toyozumi, T., Ohba, S., Nakajima, T., Kawata, T., Ito, S., & Arai, E.: Effects of distribution of sugars and organic acids on the taste of strawberries. *Food science & nutrition*, 7, 2419-2426 (2019).
46. Putri, S. P., & Fukusaki, E. (Eds.). : Mass spectrometry-based metabolomics: a practical guide. CRC Press (2014).
47. Worley, B., & Powers, R. : PCA as a practical indicator of OPLS-DA model reliability. *Current Metabolomics*, 4, 97-103 (2016)..
48. Wati, F., Hartana, A., & Purwoko, B. S.: Diversity of Indonesian mango (*Mangifera indica*) cultivars based on morphological and RAPD markers. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 42, 84-95 (2010).
49. 今村美穂 : 記述型の官能評価/製品開発における QDA 法の活用. *化学と生物*, 50(11), 818-824 (2012)..
50. 大越ひろ、神宮英夫 : 食の官能評価入門 (光生館、東京)、p68-79 (2009).
51. Sembiring, M. B., Rahmi, D., Maulina, M., Tari, V., Rahmayanti., & Suwardi, A. B.: Identifikasi Karakter Morfologi dan Sensoris Kultivar Mangga (*Mangifera Indica* L.) di Kecamatan Langsa Lama, Aceh, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 20, 179-184 (2020).
52. Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez, A., & Gámbaro, A. :
Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception.

Food quality and preference, 21, 417-426 (2010).

53. Birch, G. G., Lee, C. K., and Rolfe, E. J.: Organoleptic effect in sugar structures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21, 650-653 (1970).

54. Mahoney, D. E., Hiebert, J. B., Thimmesch, A., Pierce, J. T., Vacek, J. L., Clancy, R. L., Sauer A. J., & Pierce, J. D.: Understanding D-ribose and mitochondrial function. *Advances in bioscience and clinical medicine*, 6, 1-5 (2018).

55. Aprea, E., Charles, M., Endrizzi, I., Corollaro, M. L., Betta, E., Biasioli, F., & Gasperi, F. :Sweet taste in apple: the role of sorbitol, individual sugars, organic acids and volatile compounds. *Scientific reports*, 7, 44950 (2017).

56. Kato, H., Rhue, M. R., & Nishimura, T.: Role of free amino acids and peptides in food taste. In: Teranishi, R, Buttery, R.G., Shahidi, F. (eds) *Flavor chemistry trends and developments*. American Chemical Society, Washington, 158–174 (1989).

57. Roje, S.: Vitamin B biosynthesis in plants. *Phytochemistry*, 68, 1904-1921 (2007).

58. Lin, Y. C., Liu, Y. C., & Nakamura, Y.: The choline/ethanolamine kinase family in Arabidopsis: essential role of CEK4 in phospholipid biosynthesis and embryo development. *The Plant Cell*, 27, 1497-1511 (2015).

59. Parijadi, A. A., Ridwani, S., Dwivany, F. M., Putri, S. P., & Fukusaki, E. : A metabolomics-based approach for the evaluation of off-tree ripening conditions and different postharvest treatments in mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Metabolomics*, 15, 73 (2019).

60. Bouzayen, M., Latché, A., Nath, P., & Pech, J.:Mechanism of fruit ripening. In *Plant Developmental Biology-Biotechnological Perspectives*:

Volume 1 (pp. 319-339). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (2009).

61. Mascher, R., Fischer, S., Scheiding, W., Neagoe, A., & Bergmann, H. Exogenous 2-aminoethanol can diminish paraquat induced oxidative stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Growth Regulation*, 45, 103-112 (2005)..

62. Gonda, I., Lev, S., Bar, E., Sikron, N., Portnoy, V., Davidovich-Rikanati, R., Burger, J., Schaffer, A.A., Tadmor, Y., Giovannonni, J.J., & other 4 authors.: Catabolism of l-methionine in the formation of sulfur and other volatiles in melon (*Cucumis melo* L.) fruit. *The Plant Journal*, 74, 458-472 (2013).

63. Ur-Rahman, A., Chowdhury, F. R., & Alam, M. B.: Artificial ripening: what we are eating. *Journal of Medicine*, 9, 42-44 (2008).

64. Wu, B., Quilot, B., Kervella, J., Génard, M., & Li, S.: Analysis of genotypic variation of sugar and acid contents in peaches and nectarines through the principle component analysis. *Euphytica*, 132, 375-384 (2003).

65. Moskowitz, H. R.: The sweetness and pleasantness of sugars. *The American journal of psychology*, 84, 387-405 (1971)..

66. Brahem, M., Eder, S., Renard, C., Loonis, M., & Le Bourvellec, C.: Effect of maturity on the phenolic compositions of pear juice and cell wall effects on procyanidins transfer. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 380-384 (2017).

67. Triba, M. N., Le Moyec, L., Amathieu, R., Goossens, C., Bouchemal, N., Nahon, P., Rutledge, D. N., & Savarin, P.: PLS/OPLS models in metabolomics: Impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. *Molecular BioSystems*, 11, 13-19 (2015).

68. Jia, H., Okamoto, G., & Hirano, K.: Effect of amino acid composition

on the taste of 'Hakuho'peaches (*Prunus persica* Batsch) grown under different fertilizer levels. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 69, 135-140 (2000).

69. Tressl, R., Holzer, M., & Apetz, M.: Biogenesis of volatiles in fruit and vegetables. In Proceedings of the international symposium on aroma research. Pudoc: Wageningen, Netherlands, 41-62 (1975).

70. Kanzaki, S., Kamikawa, S., Ichihi, A., Tanaka, Y., Shimizu, K., Koeda, S., & Utsunomiya, N.: Isolation of UDP: flavonoid 3-*O*-glycosyltransferase (UFGT)-like genes and expression analysis of genes associated with anthocyanin accumulation in mango 'Irwin' skin. The Horticulture Journal, 88, 435-443 (2019).

71. Ikram, M. M. M., Mizuno, R., Putri, S. P., & Fukusaki, E.: Comparative metabolomics and sensory evaluation of pineapple (*Ananas comosus*) reveal the importance of ripening stage compared to cultivar, Journal of Bioscience and Bioengineering, 132, 592–598 (2021).

72. Li, X., Tsuta, M., Hayakawa, F., Nakano, Y., Kazami, Y., & Ikehata, A.: Estimating the sensory qualities of tomatoes using visible and near-infrared spectroscopy and interpretation based on gas chromatography–mass spectrometry metabolomics, Food Chemistry, 343, 128470 (2021).

73. Inui, T., Matsui, H., Hosoya, T., Kumazawa, S., Fukui, N., & Oka, K.: Effect of harvest time and pruning date on aroma characteristics of hop teas and related compounds of saaz hops, Journal of the American Society of Brewing Chemists, 74, 231–241 (2016).

74. Inui, T., Tsuchiya, F., Ishimaru, M., Oka, K., & Komura, H.: Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma

characteristics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 4758–4764 (2013).

75. Taylor, J., King, R., Iltmann, Altmann, T., & Fiehn, O.: Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning, *BIOINFORMATICS-OXFORD*, 18, S241–S248 (2002).

76. Qin, Z., Wang, J., Wang, D., Xiao, H., Lv, X., Chen, H., & Wei, F.: Analytical opportunities and challenges for data handling with chemometrics strategies from LC-MS based food metabolomics, *Trends in Food Science and Technology*, 104298 (2023).

77. Liebal, U. W., Phan, A. N., Sudhakar, M., Raman, K., & Blank, L. M.: Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. *Metabolites*, 10, 243(2020).

78. Trygg, J., & Wold, S.: Orthogonal projections to latent structures (O-PLS), *Journal of Chemometrics*, 16, 119–128 (2002).

79. Alexander, D. L. J., Tropsha, A., & Winkler, D. A.: Beware of R²: Simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of QSAR and QSPR models, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55, 1316–1322 (2015).

80. Verduzco-Aguirre, H. C., Babu, D., Mohile, S. G., Bautista, J., Xu, H., Culakova, E., Canin, B., Zhang, Y., Wells, M., Epstein, R. M., and other 8 authors.: Associations of uncertainty with psychological health and quality of life in older adults with advanced cancer, *Journal of Pain and Symptom Management*, 61, 369–376 (2021).

81. Sawatsky, M. L., Clyde, M., & Meek, F.: Partial least squares regression in the social sciences, *The Quantitative Methods for Psychology*, 11, 52–62 (2015).

82. Kyriazos, T., & Poga, M.: Dealing with multicollinearity in factor analysis: The problem, detections, and solutions, *Open Journal of Statistics*, 13, 404–424 (2023).
83. Takahashi, Y., Ueki, M., Yamada, M., Tamiya, G., Motoike, I. N., Saigusa, D., Sakurai, M., Nagami, F., Ogishima, S., Koshiba, S., & other 3 authors.: Improved metabolomic data-based prediction of depressive symptoms using nonlinear machine learning with feature selection, *Translational Psychiatry*, 10, 157 (2020).
84. Urbanowicz, B. R., Peña, M. J., Ratnaparkhe, S., Avci, U., Backe, J., Steet, H. F., Foston, M., Li, Hongjia., O’neill, M. A., Ragauskas A. J., and other 4 authors.: 4-*O*-methylation of glucuronic acid in *Arabidopsis* glucuronoxylan is catalyzed by a domain of unknown function family 579 protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 14253–14258 (2012).
85. Tang, H., Zhang, X., Gong, B., Yan, Y., & Shi, Q.: Proteomics and metabolomics analysis of tomato fruit at different maturity stages and under salt treatment, *Food Chemistry*, 311, 126009 (2020).
86. Fan, W., Ge, G., Liu, Y., Wang, W., Liu, L., & Jia, Y.: Proteomics integrated with metabolomics: analysis of the internal causes of nutrient changes in alfalfa at different growth stages, *BMC Plant Biology*, 18, 1–15 (2018).
87. Hildebrandt, T. M., Nesi, A. N., Araújo, W. L., & Braun, H. P.: Amino acid catabolism in plants, *Molecular Plant*, 8, 1563–1579 (2015).
88. Ge, G., Jiao, W., Cui, C., Liao, G., Sun, J., and Hou, R.: Thiamethoxam metabolism and metabolic effects in cell suspension culture of tea (*Camellia sinensis* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 7538–7546 (2019).

89. Neto, J. C. R., Vieira, L. R., de Aquino Ribeiro, J. A., de Sousa, C. A. F., Júnior, M. T. S., and Abdelnur, P. V.: Metabolic effect of drought stress on the leaves of young oil palm (*Elaeis guineensis*) plants using UHPLC–MS and multivariate analysis, *Scientific Reports*, 11, 18271 (2021).
90. Maldonado-Celis, M. E., Yahia, E. M., Bedoya, R., Landázuri, P., Loango, N., Aguillón, J., Restrepo, B., & Guerrero Ospina, J. C.: Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds, *Frontiers in Plant Science*, 10, 1073 (2019).
91. Vallarino, J. G., & Osorio, S.: Organic acids, pp. 207–224, in: Yahia, E.M. and Carrillo-López, A. (eds.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (2019).
92. Tahjib-Ul-Arif, M., Zahan, M. I., Karim, M. M., Imran, S., Hunter, C. T., Islam, M. S., Mia, M.A., Hannan, M.A., Rhaman, M.S., Hossain, M.A., & the other 3 authors.: Citric acid-mediated abiotic stress tolerance in plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 7235 (2021).

論文

本学位論文に關与する論文

- 1) **Sato, M.**, Ikram, M.M.M., Pranamuda, H., Agusta, W., Putri, S.P., & Fukusaki, E., Characterization of five Indonesian mangoes using gas chromatography-mass spectrometry-based metabolic profiling and sensory evaluation. *J. Biosci. Bioeng.* **127**, 520–527 (2021).

- 2) **Sato, M.**, & Fukusaki, E., GC-MS metabolic profiling and sensory evaluation of greenhouse mangoes (*Mangifera indica* L. ‘Irwin’) over multiple harvest seasons. *J. Biosci. Bioeng.* **139**, 280-287 (2025).

謝辞

本論文は、著者が大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻において行った研究成果をまとめたものです。

本研究を遂行するにあたり、コロナ禍など、様々な苦境があつたにも関わらず、昼夜休日問わず、時には厳しく、時には温かいご指導とご鞭撻を賜りました大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻 福崎英一郎 教授に謹んで感謝の意を表します。

本論文作成にあたり、貴重なお時間を頂戴し、丁寧にご指導、ご助言、ご高閲をいただきました大阪大学生物工学国際交流センター 本田 孝祐教授、大阪大学大学院工学研究科 青木 航教授に心から感謝を申し上げます。

また、ご指導ならびに日頃からの貴重なご助言を頂きました新聞秀一 准教授、Sastia Prama PUTRI 准教授、乾隆子 特任教授に心から感謝申し上げます。

著者に、研究の可能性、面白さを重視した教育スタイルにより、研究における課題解決の醍醐味や大阪大学大学院で学ぶきっかけをいただきました、宮崎県総合農業試験場 生産流通部 安藤 孝 元部長に感謝の意を表します。

本研究を行うに際し、多大なご協力とご支援を賜りました宮崎県総合農業試験場 松田場長、東前場長、甲斐元場長、崎村副場長、生産流通部 溝口 則和部長、八代 賢 前部長、酒井 美穂 前副部長、野上 麻美子主任、渡邊 典子会計年度任用職員、その他入学からこれまでの間に宮崎県総合農業試験場に所属された関係者の方々、手続き等ご尽力頂いた行政の方々に心から感謝申し上げます。

大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻(又は生物工学専攻)生物資源工学領域の諸先輩方、学生諸氏、研究員、事務補佐の方に心から感謝の意を表します。

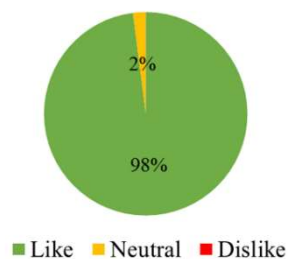
最後に、再び学ぶことを理解し、いつも温かく見守り、励ましてくれた夫と、いろいろと至らず我慢させてしまったことがあっても笑顔で応援してくれた息子と娘、著者の博後期課程の挑戦を応援し、著者に替わって家事や育児をひきうけてくれた父や母、様々なサポートをしてくれた友人に深く感謝の意を表して謝辞と致します。

付録

付録 1	第 1 章の官能評価パネル 50 名を対象としたマンゴーの嗜好性及び購買意欲調査	82
付録 2	ヘドニックテスト用紙.....	83
付録 3	CATA に用いた官能評価用語	84
付録 4	CATA 評価用紙	84
付録 5	第 2 章ヘドニックテストにおける評価項目間のピアソン相関	85
付録 6	第 3 章官能評価項目間のピアソン相関	85
付録 7	第 3 章説明変数の違いによる予測モデル(OPLS 回帰分析)の精度比較	86

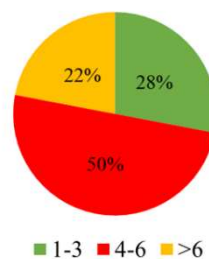
付録1 第1章の官能評価パネル50名を対象としたマンゴーの嗜好性及び購買意欲調査

How much do you like mango?



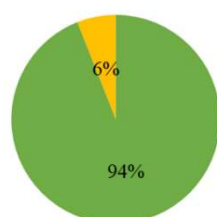
■ Like ■ Neutral ■ Dislike

How many types of mango have you eaten?



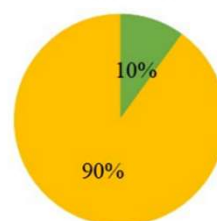
■ 1-3 ■ 4-6 ■ >6

Which one will you choose in the following conditions?



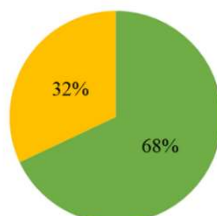
■ Normal price mango with good quality
■ Discounted price mango with bad quality

If there are premium mango with price over Rp 100,000/kg, will you buy it?



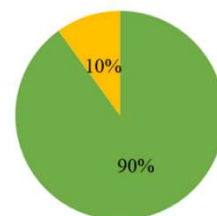
■ Yes ■ No

What is the price range of mangoes that you usually buy?



■ Rp 20,000-30,000 ■ Rp 30,000-50,000 ■ >Rp 50,000

Can you differentiate the taste characteristics of each mango?



■ Yes ■ No

付録2 ヘドニックテスト用紙

RANKING TEST AND PURCHASE INTENTION

Name :
 Age :
 Date :
 Sample : Mangoes
 Instruction : Please observe the aroma, taste, mouthfeel, aftertaste, general impression of each samples and give a score from 1-9 on the table based on the scale which best describe how much you like the sample. After that, please answer the question by marking YES/NO
 Scale :
 Like extremely : 9 Dislike slightly : 4
 Like very much : 8 Dislike moderately : 3
 Like Moderately : 7 Dislike very much : 2
 Like slightly : 6 Dislike extremely : 1
 Neither like nor dislike : 5

Sample code	Aroma	Taste	Colour	Mouthfeel	Aftertaste	General Impression	Do you like this mango?	Will you buy this mango?
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO
							YES / NO	YES / NO

付録3 CATA に用いた官能評価用語

No.	Attribute
1	Sweet Aftertaste
2	Sweet
3	Bitter Aftertaste
4	Citrus
5	Honey
6	Floral/Perfume
7	Chemical
8	Juicy
9	Sour
10	Fruity
11	Astringent

付録4 CATA 評価用紙

CATA SENSORY ATTRIBUTE

Name:
Age:
Date:

Check all the terms that you consider appropriate to describe your ideal mango

Sample code	Check all the terms that you consider appropriate to describe your ideal mango	Sample code	Check all the terms that you consider appropriate to describe your ideal mango
	Sweet Aftertaste		Sweet Aftertaste
	Sweet		Sweet
	Bitter Aftertaste		Bitter Aftertaste
	Citrus		Citrus
	Honey		Honey
	Floral/Perfume		Floral/Perfume
	Chemical		Chemical
	Juicy		Juicy
	Sour		Sour
	Fruity		Fruity
	Astringent		Astringent

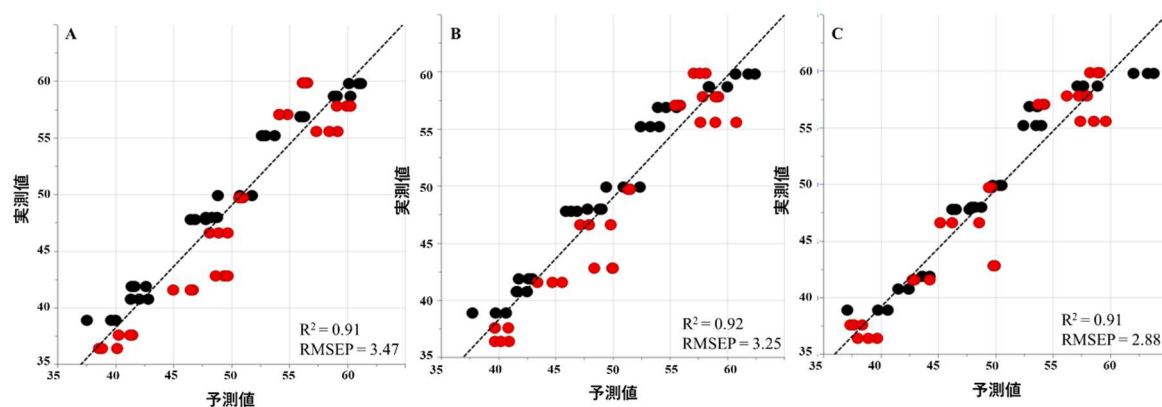
付録5 第2章ヘドニックテストにおける評価項目間のピアソン相関

	香り	味	色	食感	後味	総合評価
香り	1	0.472 [†]	0.399 [†]	0.504 [†]	0.514	0.538 [†]
味	0.472	1	0.636	0.728	0.636	0.801 [*]
色	0.399 [†]	0.636	1	0.582	0.499 [†]	0.712
食感	0.504	0.728	0.582	1	0.683	0.770
後味	0.514	0.636	0.499	0.683	1	0.723
総合評価	0.538 [*]	0.801 [*]	0.712 [*]	0.770 [*]	0.723 [*]	1

付録6 第3章官能評価項目間のピアソン相関

	総合評価	甘味	酸味	芳醇さ	ココナッツ感
総合評価	1	0.869	-0.478	0.694	0.836
甘味	0.869	1	-0.473	0.811	0.787
酸味	-0.478	-0.473	1	-0.535	-0.577
芳醇さ	0.694	0.811	-0.535	1	0.834
ココナッツ感	0.836	0.787	-0.577	0.834	1

付録7 第3章説明変数の違いによる予測モデル(OPLS 回帰分析)の精度比較



トレーニングセット ● :2021 年サンプル

テストセット ● :2023 年サンプル

【説明変数】

A:同定成分 45 成分全て **B:**2021 年の VIP 値 > 0.8 の成分

C:2021 年 2022 年ともに VIP 値 > 0.8 の共通成分