ニンジンの形態的特性と水分含量によるカロテン含量推定の試み

中川祥治 *

公益財団法人農業・環境・健康研究所 410-2311 静岡県伊豆の国市浮橋

New Equation to Estimate Carotene Content from Morphological and Moisture Properties of Carrot

Shoji Nakagawa*

Institute for Agriculture, Medicine and the Environment, Izunokuni, Shizuoka 410-2311

Abstract

The carotene content and its relationship with the characteristics of carrots was analyzed to identify an easier approach to assess the content without using general analytical methods. Carrots of the varieties ‘Hon-beni-kintoki’ (red color, true bred), ‘Koyo-2’ (orange color, F1), and ‘Shin-kuroda-gosun’ (orange color, true bred), cultivated in 1998/99 in Izunokuni City, Shizuoka Prefecture, Japan, were used in the study. Multiple regression analysis was performed using the carotene content as the dependent variable and root color (L^* , a^* and b^*), moisture content, shape, and vigor as independent variables. As a result, a highly accurate ($R^2=0.931$, $RPD=3.7$) formula for β -carotene content estimation was obtained when the root diameter, root moisture content, and leaf weight were set as independent variables. However, the accuracy for estimating the α -carotene content (except in ‘Hon-beni-kintoki’) was low ($R^2=0.692$, $RPD=2.1$), even when the formula was set as optimal, with the root diameter and root moisture content as independent variables. Of note, the result of covariance analysis showed that the equations for estimating the β -carotene content of ‘Koyo-2’ and ‘Shin-Kuroda-Gosun’ were slightly different. Moreover, since it was necessary to average the data of 15 carrots cultivated under the same conditions to achieve sufficient estimate accuracy, it may be difficult to predict the carotene content of a single carrot using the estimation formula. However, this proposed equation could be applied for comparisons between groups.

Key Words : carotenoid, estimate value, functional ingredient, internal quality, root vegetable

キーワード : カロテノイド, 機能性成分, 根菜, 内部品質, 推定値

緒 言

カロテンは生体内でビタミンAに転換されるプロビタミンAであり、さらに抗酸化作用 (Krinsky・Johnson, 2005; Yeum ら, 2009), 抗発がん作用 (Krinsky・Johnson, 2005; Rock, 2009) および免疫賦活作用 (Chew・Park, 2009) について検討されている。ニンジンにはカロテンを豊富に含む代表的な野菜であり (Britton・Khachik, 2009; Mangels ら, 1993), それゆえ、ニンジンの品質に関する調査および試験ではその含量の測定が望まれる。ニンジンカロテン含量の測定法としては、有機溶媒で抽出後、HPLC で分画して吸光度を測定することが一般的である (Barba ら, 2006; Khachik, 2009; 満田ら, 2002; Taungbodhitham ら, 1998)。また、HPLC を用いない簡易法としては、有機溶媒で抽出後、分光光度計で特定の単一波長 (Biswas ら, 2011) あるいは複数波長 (Nagata ら, 2008; 塚澤, 2002) の吸光度を測定

し、それらから算出することが提案されている。いずれにせよこれらの方法は、高価な分析機器や取り扱いに注意が必要な有機溶媒を使用することから、実施できる拠点は限定されてしまう。しかし、化学実験設備を持たない小規模な拠点でも、推定なら実施の可能性がある。ニンジンカロテン含量を推定する方法としては、まず根色を用いることが考えられる。磯野 (2011) は金時ニンジンの根色とカロテンと同じカロテノイド色素に属するリコペン含量との関係を示している。また、Takahata ら (1993) はカンショの根塊切断面色測定値から β -カロテン含量を推定している。これらのことは、ニンジンカロテン含量を、色彩色差計などで測定した根色から推定できる可能性を示唆している。一方、ニンジンカロテン含量は天候および窒素施肥などの栽培条件の影響を受けるが (Seljåsen ら, 2013), こういった栽培条件は、当然ながら作物の生育や水分含量に変化をもたらすことから、これらの特性値からニンジンカロテン含量の予測が可能ではないかと考えた。そこで本研究では、複数の栽培年次や品種のニンジン、根色や各部位の大きさといった形態的な特性と水分含量を独立変数とし、従属変数としたカロテン含量を推定するための重

2020年5月30日 受付. 2020年10月11日 受理.
本報告の一部は園芸学会令和2年度春季大会で発表した.
* Corresponding author. E-mail: showzy@izu.biz

回帰分析を試みた。その結果、ニンジン群落の平均的なβ-カロテン含量の推定式を得たので以下に報告する。

なお、本研究では、異なる肥料で栽培されたニンジンの品質を生育量差の影響を除いて比較するために実施した圃場試験（中川ら、2003）から得られたデータを活用している。本研究は、新たにカロテン含量の簡易推定の観点からこれらデータの解析を試みたものである。

材料および方法

1. 供試したニンジン

農業・環境・健康研究所附属試験農場（静岡県伊豆の国市）において、化学肥料および有機質肥料で1998年および1999年に栽培した複数品種のニンジンを用い、次項のとおり生育量、水分、根色、β-カロテン含量およびα-カロテン含量を測定した。

1998年は‘向陽二号’と‘本紅金時’、1999年は‘向陽二号’と‘新黒田五寸’を対象品種とし、いずれも種子はタキイ種苗(株)から購入した。なお、‘向陽二号’は交配種、‘新黒田五寸’は固定種で、ともに橙色系の西洋種である。‘本紅金時’は固定種でかつ色素としてβ-カロテンよりもリコペンを多く含む赤色系の東洋種である（渡辺ら、1988）。栽培は試験圃場（淡色黒ボク土）に第1表に示す施肥条件を設けて行った。すなわち、施肥を無施肥条件、リン加安および熔成リン肥が施用された条件、被覆リン加安および熔成リン肥が施用された条件、米糠と豆腐粕を原材料としたボカシが施用された条件、アルファルファ地上部、蒸製骨粉およびヤシ油粕灰が施用された条件とした。ただし、無施肥以外は窒素、リン、カリウムを標準量施用する場合とその半量を施用する場合に分けた。以上、9つの施肥条件区画を乱塊法により3反復で試験圃場に配置し、全部で27区画とした。1区画は2m×5mで、その長辺の方向へ2畝作成し、1畝に1品種を栽培した。すなわち、1区画に2品種同時に栽培した。条間は30cmおよび株間は10cmとした。

1998年の播種は7月29日、収穫は‘向陽二号’が11月20日、‘本紅金時’が12月1日に行った。1999年の播種は7月27日、収穫は‘向陽二号’が11月22日、‘新黒田五寸’が11月27日に行った。灌水は発芽および初期生育促進の目的で、本葉第2葉展開期まで行った。1998年および1999年のニンジン栽培期間中の気温、降水量および日射量を試験圃場付近で観測しており、後年が前年よりも降水量が生育中期で少なく、後期で多い傾向であった。また、ニンジンの収穫後は無施肥でライムギを栽培した。

2. 調査および分析

収穫日に各品種1畝2条のうち区画中央側の1条から、生育中庸で外観良好の5個体を採取し、根部を水で洗浄するとともにその先端の細根を取り除いた。次いで、1個体ずつ根長、葉数および最大葉長を測定した後、根部と葉部に切断してそれぞれの重量を測定した。根部は肩部、中間部および先端部に長さで3等分に切断し、さらにその中間部を縦方向へ半分に切断した。その後、中間部の切断面から根直径および芯部直径を測定するとともに、肉部のL*、a*およびb*値を色彩色差計（NR-3000、日本電色工業（株））によりC光源モードで測定した（第1図）。芯部は多くの個体で色が不均一であったため測定しなかった。その後、中間部は小切片に切断し、5個体の切片を等量ずつ混合して水分、β-およびα-カロテン含量の測定用試料と

第1図 各種測定および分析のためのニンジン根部の処理

第1表 供試ニンジンの栽培における施肥条件

番号	施用肥料および施用量 ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{year}^{-1}$) ^z	成分あたり施用量 ^y ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{year}^{-1}$)		
		N	P	K
1	無施肥	0.0	0.0	0.0
2	リン加安 53, 熔成リン肥 37	7.5	6.0	6.4
3	リン加安 107, 熔成リン肥 74	15.1	12.0	12.9
4	被覆リン加安 58, 熔成リン肥 36	7.5	6.0	7.0
5	被覆リン加安 116, 熔成リン肥 72	15.1	12.0	13.9
6	米糠+豆腐粕ボカシ 240	7.4	6.0	5.5
7	米糠+豆腐粕ボカシ 480	14.9	12.0	11.0
8	アルファルファ地上部 735/825 ^x , 蒸製骨粉 60, ヤシ油粕灰 10/8	7.5/ 7.6	6.1/ 6.2	5.4/ 5.4
9	アルファルファ地上部 1470/1650, 蒸製骨粉 120, ヤシ油粕灰 21/15	15.1/15.3	12.1/12.3	11.0/10.6

^z 2, 3, 6および7番は元肥と追肥の2回に分けて1/2量ずつ施用

^y 成分は酸化物ではなく単体で表示

^x 1998年/1999年

した. 水分は30 mL 容ビーカーに切片14 g 程度を入れ, 定温乾燥器 (NDO-450ND, 東京理化器械(株)) により105°C で24時間乾燥させて求めた. 乾燥前後の重量を測定した電子天秤は32 g までの最小表示が0.01 mg および180 g までの最小表示が0.1 mg のもの (ER-182A, (株) エー・アンド・デイ) を用いた. β -および α -カロテン含量は分析まで試料を密封して-85°C の冷凍庫で保存し, アセトン抽出とHPLC法を組み合わせる満田ら (2002) の方法を参考に測定した. すなわち, 凍結した切片をそのまま家庭用のブレンダーでシャーベット状に粗砕し, その5 g を50 mL 容の遠沈管に入れ, アセトン30 mL を加えた後, 外径20 mm のジェネレーターシャフトを装着した吸い込み式のホモジナイザー (Polytron PT10-35, KINEMATICA 社) で10秒間ホモジナイズした. 懸濁液は3000 rpm で10分間遠心分離し, 上澄みを100 mL 容褐色メスフラスコに入れた. 続いて遠沈管内の残渣にアセトン30 mL を加えて上記と同様の操作を2回繰り返す, 合わせた上澄みにアセトン約10 mL を加えて全部で100 mL 定容とした. なお, 上記で使用したアセトンには抗酸化剤としてピロガロールを1%添加した. 100 mL に定容したアセトン抽出液は一部を0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過し, ろ液の20 μ L をHPLC (LC-9A, (株) 島津製作所) に注入した. β -および α -カロテンの標準試薬はそれぞれ和光純薬工業(株)およびシグマアルドリッチ ジャパン(合)から購入した. HPLCの動作条件およびクロマトグラムを第2図に示す. 一方, 葉部は通風乾燥器 (WFO-1000SD, 東京理化器械(株)) を用いて80°C で48時間乾燥させ, 水分を測定した. 乾燥前後の重量を測定した電子天秤は600 g までの最小表示が0.01 g および3100 g までの最小表示が0.1 g のもの (FX-3200, (株) エー・アンド・デイ) を用いた.

3. 統計処理

根部の水分, β -および α -カロテン含量では1区画1品種当たり5個体の混合試料の測定値を, その他の測定項目では5個体の測定値の平均値を最小単位のデータとした. そして, 108組 (2年 $\times$ 2品種 $\times$ 9施肥条件 $\times$ 3区画) の一連の測定値群, 以下 $n=108$), もしくは α -カロテン含量が極少であった‘本紅金時’を除く $n=81$ のデータを用いて測定値の概要を分位系で算出した. 次いで, カロテン含量推定の可能性を探るため, 同じ $n=108$ (もしくは $n=81$) のデータを用い, カロテン含量を従属変数, カロテン含量以外の測定値にこれらの演算値を加えた20項目 (第3表参照) を独立変数として単回帰分析を行った. また, カロテン含量を従属変数とし, 前述の20項目から a^*/b^* や葉重/根重といった比の値を含む7項目を除いた13項目を独立変数とする重回帰分析を行った. 分析には前述の $n=108$ (もしくは $n=81$) のデータを用いる場合と, 各3区画の値を平均した $n=36$ (もしくは $n=27$) のデータを用いる場合の2通りとした. そして, 多重共線性の排除 ($VIF \leq 10$) を前提に, 変数増減法により最適な推定式を探索し

第2図 ニンジン抽出液のHPLCクロマトグラム

カラムはUnisil Q C18 (150 mm $\times$ 4 mm, 粒子径5 μ m) (ジーエルサイエンス(株)), 移動相はアセトニトリル70:エタノール30 (v:v), 流速は1.0 mL/分, カラム温度は室温, 吸光度測定波長は450 nm
‘新黒田五寸’は‘向陽二号’とはほぼ同じ

た. また, K-fold法 (内田, 2013) により, 選択した推定式の精度を検証した. すなわち, 対象全データを無作為に3グループに等分割し, そのうち任意の1グループを検量線評価群, 2グループを検量線作成群とした. 次いで, グループを順次交代させて, 全部で3回の検証を行い, 平均で評価した. 重回帰分析の従属変数であるカロテン含量推定値と実測値の関係が品種や栽培年で異なるか否かについては, 品種や栽培年を要因, 推定値を共変量, 実測値を従属変数とした共分散分析で検討した. 各種統計処理はStatView 5.0 (SAS Institute Japan(株)) およびR 3.3.4 (R Development Core Team, 2017) を用いて行った.

結 果

1. 測定値の概要

各測定値の概要を第2表に示す. ‘本紅金時’, ‘向陽二号’ (1998年), ‘新黒田五寸’ および ‘向陽二号’ (1999年) の β -カロテン含量 (各 $n=27$) の四分位範囲は, それぞれ7.3, 10.4, 10.1 および9.8 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ FWであった. 年度および品種を込みとした全体 ($n=108$) の四分位範囲は26.6 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ FWとなったが, これは前述の施肥条件に加えて, 各品種の中央値, 第1四分位および第3四分位からわかるように, 向陽二号>新黒田五寸>本紅金時という品種間の含量差が反映されたものであろう.

一方, α -カロテン含量の四分位範囲は ‘向陽二号’ (1998

第2表 供試ニンジンの測定値概要

		肉部根色 (C光源)			根重 (g)	根長 (cm)	根直径 (cm)	芯部直径 (cm)	根水分 (%)	葉重 (g)	葉数 (枚)	最大葉長 (cm)	葉水分 (%)	β-カロテン 含量 (mg・kg ⁻¹)	α-カロテン 含量 (mg・kg ⁻¹)
		L*	a*	b*											
1998 年	本紅金時 (n=27)	中央値	56.0	34.8	31.3	157	31.4	2.39	0.71	87.3	40.9	13.0	36.0	82.0	40.2
		第1四分位	55.2	33.0	30.4	145	31.1	2.32	0.66	87.0	35.7	12.0	34.0	81.1	37.1
		第3四分位	57.3	35.8	31.8	169	32.9	2.54	0.77	87.6	49.9	13.5	37.9	82.8	44.4
		四分位範囲	2.1	2.8	1.4	24	1.8	0.22	0.11	0.6	14.2	1.5	4.0	1.7	7.3
	向陽二号 (n=27)	中央値	62.3	26.2	41.2	211	18.3	3.91	1.63	89.2	32.9	8.8	36.1	84.3	71.5
		第1四分位	61.8	24.9	40.5	203	17.8	3.74	1.55	88.9	28.9	8.3	35.2	84.1	66.6
		第3四分位	63.1	27.0	42.5	239	18.7	4.08	1.69	89.5	36.3	9.2	37.5	84.7	76.9
		四分位範囲	1.3	2.0	2.1	36	0.9	0.34	0.14	0.5	7.4	0.9	2.3	0.6	10.4
1999 年	新黒田五寸 (n=27)	中央値	60.0	29.2	41.2	258	21.1	3.96	1.66	89.9	55.2	11.4	41.5	83.8	51.5
		第1四分位	59.7	28.4	40.1	238	20.7	3.76	1.55	89.8	48.6	10.9	39.2	83.1	45.3
		第3四分位	60.7	30.3	43.0	303	21.6	4.20	1.81	90.1	60.8	12.0	45.2	84.5	55.4
		四分位範囲	1.0	1.9	2.9	65	0.9	0.44	0.26	0.3	12.2	1.1	6.0	1.4	10.1
	向陽二号 (n=27)	中央値	60.3	27.4	41.4	287	20.3	4.10	1.75	89.9	31.3	8.4	35.8	84.3	71.9
		第1四分位	59.6	26.8	40.8	254	19.5	3.96	1.66	89.6	25.8	7.7	34.5	83.9	68.1
		第3四分位	60.9	28.0	42.6	321	20.9	4.33	1.90	90.2	38.0	9.4	38.3	84.8	77.9
		四分位範囲	1.3	1.2	1.7	67	1.5	0.37	0.25	0.6	12.3	1.7	3.8	0.9	9.8
	全体 (n=108)	中央値	60.2	28.1	40.8	233	20.7	3.90	1.59	89.5	37.3	10.0	36.6	84.0	60.1
		第1四分位	58.4	26.8	33.7	171	18.9	2.84	1.05	88.4	29.4	8.8	34.8	82.9	45.1
		第3四分位	61.6	31.3	42.1	278	25.3	4.10	1.72	89.9	49.1	12.0	40.2	84.5	71.6
		四分位範囲	3.2	4.6	8.5	107	6.4	1.27	0.67	1.5	19.7	3.3	5.4	1.6	26.6
	全体 (本紅金時除く) (n=81)	中央値	60.9	27.4	41.4	248	19.7	3.99	1.67	89.7	35.7	9.2	37.0	84.2	68.1
		第1四分位	59.8	26.2	40.6	209	18.4	3.82	1.55	89.3	29.0	8.4	35.2	83.7	54.2
		第3四分位	62.0	28.6	42.6	295	21.0	4.18	1.78	90.0	46.1	10.8	40.7	84.8	75.3
		四分位範囲	2.2	2.3	2.0	86	2.5	0.36	0.23	0.7	17.1	2.4	5.5	1.0	21.2

表中の数値は収穫した1区画内5個体ニンジンでの平均値を1データとして計算した結果を示す

年)、「新黒田五寸」および「向陽二号」(1999年)の順で9.7、7.8および5.6 mg・kg⁻¹ FWであった(「本紅金時」は含量が痕跡程度のため対象外)。以上の値はβ-カロテンの場合よりも小さいが、これはα-カロテン含量がβ-カロテンの半分～半分強であったことの反映といえる。両カロテンはともにカロテノイド合成経路でリコピンから生合成されるが(Cazzonelli・Pogson, 2010)、β-カロテンが検出されるニンジン品種群(白色系以外)では、α-カロテン含量はβ-カロテン含量に対し、総じて半分以下であったことが報告されている(Nicolleら, 2004)。本研究では、「本紅金時」を除く全体のβ-カロテン含量(n=81)の四分位範囲が21.2 mg・kg⁻¹ FWであったのに対しα-カロテンでは3分の1の7.0 mg・kg⁻¹ FWであった。このα-カロテンでの値の低さは、前述したα-カロテン含量の少なさに加えて、品種間のα-カロテン含量の差の小ささが要因であろう。

2. 単回帰分析によるカロテン含量の推定

カロテン含量を従属変数、各測定項目を独立変数とした単回帰分析の結果を第3表に示す。決定係数(R²値)が最も高かった独立変数とその値は、β-カロテン含量(n=108)が従属変数の場合でb*の0.572、「本紅金時」を除くβ-カロテン含量(n=81)が従属変数の場合で根長/根直径の0.391、α-カロテン含量(n=81)が従属変数の場合でb*の

0.304であった。これらR²値はいずれも統計的に有意(P<0.0001)であり、特にb*はカロテン含量と比較的強い関係があると思われたが、含量の推定に利用できるほどの水準ではなかった。

3. 重回帰分析によるカロテン含量の推定

まず、1区画5個体の平均値をデータ単位として、全データ(n=108)を用いたβ-カロテン含量の推定式は、

$$\begin{aligned} \beta\text{-カロテン含量推定値 (mg・kg}^{-1}\text{)} &= 825 + 28.7 \\ &\times \text{根直径 (cm)} - 9.49 \times \text{根水分 (\%)} - 0.57 \times \text{葉重 (g)} \end{aligned} \quad \text{第1式}$$

ここで、すべての係数のP値は0.0001未満、標準偏回帰係数は根直径が1.37、根水分が-0.67および葉重が-0.51、VIFは1.2～3.3であった。

「本紅金時」を除くデータ(n=81)を用いたα-カロテン含量の推定式は、

$$\begin{aligned} \alpha\text{-カロテン含量推定値 (mg・kg}^{-1}\text{)} &= 570 + 8.9 \\ &\times \text{根直径 (cm)} - 6.32 \times \text{根水分 (\%)} \end{aligned} \quad \text{第2式}$$

ここで、すべての係数のP値は0.0001未満、標準偏回帰係数は根直径が0.47および根水分が-0.47、VIFは1.0であった。第1式および第2式から算出されるカロテン含量

第3表 ニンジンの各特性によるカロテン含量推定の単回帰分析における回帰係数と決定係数

	回帰係数			R ²		
	β-カロテン含量		α-カロテン含量 (n=81) ^z	β-カロテン含量		α-カロテン含量 (n=81) ^z
	(n=108)	(n=81) ^z		(n=108)	(n=81) ^z	
L*	3.53	1.26	0.69	0.312 ****	0.021	0.026
a*	-2.14	0.03	1.00	0.260 ****	0.000	0.121 **
b*	2.45	3.15	1.70	0.572 ****	0.257 ****	0.304 ****
a*/b*	-54.73	-136.06	1.67	0.472 ****	0.177 ****	0.000
(a* ² +b* ²) ^{1/2}	2.85	1.52	1.18	0.282 ****	0.103 **	0.256 ****
L* × (b*/a*) ^y	0.58	0.63	0.03	0.487 ****	0.122 **	0.001
根重	0.12	0.05	0.03	0.293 ****	0.050 *	0.084 **
根長	-1.91	-1.51	0.27	0.444 ****	0.033	0.004
根重/根長	2.73	2.07	0.96	0.504 ****	0.144 ***	0.127 **
根直径	15.54	23.41	9.24	0.549 ****	0.213 ****	0.240 ****
根重/根直径	0.12	0.12	0.11	0.008	0.011	0.036
根長/根直径	-2.97	-17.77	-6.37	0.494 ****	0.391 ****	0.203 ****
芯部直径	24.27	23.41	12.00	0.507 ****	0.130 ***	0.138 ***
根直径/芯部直径	-18.27	-6.74	-2.12	0.387 ****	0.006	0.002
根水分	6.44	-12.98	-6.57	0.209 ****	0.225 ****	0.233 ****
葉重	-0.27	-0.28	0.15	0.058 *	0.095 **	0.108 **
葉数	-5.20	-4.27	0.75	0.436 ****	0.235 ****	0.030
最大葉長	0.31	-0.17	0.55	0.009	0.004	0.174 ****
葉水分	5.41	0.07	-2.28	0.198 ****	0.000	0.084 **
葉重/根重	-181.52	-178.19	25.54	0.555 ****	0.327 ****	0.027

各特性の測定単位は第2表に示した

1区画内5個体の平均値が1データ

β-カロテン含量では2品種×9施肥条件×3区画×2年でn=108

^z ‘本紅金時’を除外^y 川城 (2003) を参考にした

*, **, *** および **** はそれぞれ P<0.05, 0.01, 0.001 および 0.0001 を示す

第3図 ニンジンの形態的特性と水分含量から推定したカロテン含量の推定値と実測値の関係 (5個体平均をデータ単位とした場合)

β-カロテン含量推定値 (mg · kg⁻¹) = 825 + 28.7 × 根直径 (cm) - 9.49 × 根水分 (%) - 0.57 × 葉重 (g)α-カロテン含量推定値 (mg · kg⁻¹) = 570 + 8.9 × 根直径 (cm) - 6.32 × 根水分 (%)

β-カロテンでは n=108, また, ‘本紅金時’を除いた β-カロテンおよび α-カロテンでは n=81

^z 検量線標準誤差 (SEC) は $[\sum(X_i - Y_i)^2 / (n - p - 1)]^{1/2}$ で算出され, ここで X_i は個々の実測値, Y_i は個々の推定値, n は上述の値および p は推定のための重回帰式における独立変数の数を示す (夏賀ら, 1992)^y ‘本紅金時’を除いた場合

**** は P<0.0001 を示す

第4図 ニンジンの形態的特性と水分含量から推定したカロテン含量の推定値と実測値の関係 (15 個体平均をデータ単位とした場合)

β-カロテン含量推定値 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) = $966 + 31.2 \times \text{根直径 (cm)} - 11.2 \times \text{根水分 (\%)} - 0.62 \times \text{葉重 (g)}$

α-カロテン含量推定値 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) = $646 + 9.5 \times \text{根直径 (cm)} - 7.19 \times \text{根水分 (\%)}$

β-カロテンでは $n=36$, また, '本紅金時' を除いた β-カロテンおよび α-カロテンでは $n=27$

^z 検量線標準誤差 (SEC) は $[\sum(X_i - Y_i)^2 / (n - p - 1)]^{1/2}$ で算出され, ここで X_i は個々の実測値, Y_i は個々の推定値, n は上述の値および p は推定のための重回帰式における独立変数の数を示す (夏賀ら, 1992)

^y '本紅金時' を除いた場合

**** は $P < 0.0001$ を示す

の推定値と HPLC 実測値との関係は第3図のとおりで, R^2 値は β- および α-カロテンでそれぞれ 0.827 および 0.456 (P はともに < 0.0001) であった. β-カロテンについて, α-カロテンと条件を揃えるべく '本紅金時' を除いたデータ ($n=81$) を用いても, R^2 値は 0.742 ($P < 0.0001$) で (推定式省略), いずれにしても α-カロテンより β-カロテンの方が R^2 値は高かった.

次いで, 3 区画 15 個体分の平均値をデータ単位とした場合, 全データ ($n=36$) を用いた β-カロテン含量の推定式は,

β-カロテン含量推定値 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) = $966 + 31.2$

$\times \text{根直径 (cm)} - 11.2 \times \text{根水分 (g)} - 0.62 \times \text{葉重 (g)}$

第3式

ここで, すべての係数の P 値は 0.0001 未満, 標準偏回帰係数は根直径が 1.55, 根水分が -0.81 および葉重が -0.55 , VIF は 1.1 ~ 4.1 であった.

'本紅金時' を除くデータ ($n=27$) を用いた α-カロテン含量の推定式は,

α-カロテン含量推定値 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) = $646 + 9.5$

$\times \text{根直径 (cm)} - 7.19 \times \text{根水分 (\%)}$

第4式

ここで, すべての係数の P 値は 0.0001 未満, 標準偏回帰係数は根直径が 0.58 および根水分が -0.56 , VIF は 1.0 であった. 第3式および第4式から算出されるカロテン含量の推定値と実測値との関係は第4図に示すとおりで, R^2 値は β-カロテンおよび α-カロテンでそれぞれ 0.946 および 0.657 (P はともに < 0.0001) であった. β-カロテンについて, '本紅金時' を除いたデータ ($n=27$) を用いても, 0.927

($P < 0.0001$) となり (推定式省略), この場合も R^2 値は α-カロテンよりも β-カロテンの方が高かった.

以上の重回帰分析による両カロテン含量推定式の精度を K-fold 法により検証した結果を第4表に示す. 最終的な指標とした予測標準誤差対実測値標準偏差比 (RPD) から, 「精度が高く問題のない推定が可能」との判定 (Williams・Norris, 2001; 山下ら, 2018) が得られたのは3区画15個体の平均値をデータ単位とした場合の β-カロテン含量のみで, α-カロテン含量については「非常に精度が低く実用不可」の判定になった.

考 察

本研究から, ニンジンの β-カロテン含量については, 収穫個体の根直径, 根水分および葉重を用いた推定式により, 比較的高い精度で推定できる可能性が示された.

重回帰分析で得られた推定式の係数からは, 根直径が大きく, 根水分が少ないほど両カロテン含量が, また, 葉重が軽いほど β-カロテン含量が多くなると解釈できる. これらの傾向は, 個々の変数の単回帰分析での傾向 (第3表) とほぼ一致した. 唯一, β-カロテン含量 ($n=108$) における根水分だけは, 正負符号が異なった. しかし, この場合の R^2 は 0.209 と低く, '本紅金時' を除いた場合 ($n=81$) や, 品種ごとの β-カロテン含量と根水分の関係も負であった (データ略) ことを勘案すると, 根水分についても重回帰で示される傾向を優先して差し支えないと思われる. こういった傾向が生じるメカニズムについては, 不明確な点も多いが, 例えば, 植物体に水分ストレスが生じると, 糖含量の増加を経て β-カロテンの増加につながるという森 (1986) の説と整合性がある. また, 根直径については,

第4表 K-fold法データ分割によるカロテン含量推定精度の検証

		検量線作成群			検量線評価群			
		n	R ²	SEC ^z	n	R ²	SEP ^y	RPD ^x
1区画 (1反復) 5個体の平均値をデータ単位とした場合	β-カロテン	72	0.829	6.7	36	0.820	6.7	2.4
	β-カロテン ^w	54	0.744	7.0	27	0.735	7.0	2.0
	α-カロテン ^w	54	0.462	5.0	27	0.453	4.9	1.4
3区画 (3反復) 15個体の平均値をデータ単位とした場合	β-カロテン	24	0.950	3.6	12	0.931	4.2	3.7
	β-カロテン ^w	18	0.928	3.6	9	0.915	3.6	3.8
	α-カロテン ^w	18	0.664	3.3	9	0.692	2.9	2.1

データ全体を無作為に3等分割後、任意の1グループを検量線評価群、他の2グループを検量線作成群とし、グループを順次入れ替えて3回の検証を行い、平均値を算出した

^z 検量線標準誤差 (SEC) は $[\sum(X_i - Y_i)^2 / (n - p - 1)]^{1/2}$ で算出され、ここで X_i は個々の実測値、 Y_i は個々の推定値、 n はデータ数、 p は推定のための重回帰式における独立変数の数を示す (夏賀ら, 1992)

^y 予測標準誤差 (SEP) は $\{\sum[(X_i - Y_i) - (X_{av} - Y_{av})]^2 / (n - 1)\}^{1/2}$ で算出され、ここで X_{av} は実測値の平均値、 Y_{av} は推定値の平均値を示す (夏賀ら, 1992)

^x RPD は実測値標準偏差 / SEP で算出され、 ≤ 2.3 : 非常に精度が低く実用不可、 $2.4 \sim 3.0$: 精度が低いが大まかな推定可能、 $3.1 \sim 4.9$: 精度が高く問題のない推定が可能、 $5.0 \sim 6.4$: 非常に精度が高い、 $6.5 \sim 8.0$: 特に精度が高く品質管理分析に相当、 $8.1 \leq$: 極めて精度が高く化学分析と同等、という目安が設定されている (Williams・Norris, 2001; 山下ら, 2018)

^w ‘本紅金時’ を除外

根の肥大程度が大きいほど解糖系が促進され、相対的に多量のピルビン酸およびコエンザイム A が生産されることにより、その下流に位置するカロテノイド生合成経路 (五十嵐, 1997) も促進されたことが考えられる。ニンジン根の根の肥大程度とカロテン含量に関係する先行研究としては次のものがある。Kidmose ら (2004) はニンジン根を根直径および根重を基準として収穫時に4水準の大きさに分類し、β-およびα-カロテン含量を測定したところ、ニンジン根の大きさと両カロテン含量との関係は明確でなかったことを報告している。この結果は本研究とは異なるが、その原因として本研究では複数の独立変数から解析する重回帰分析を行っていることが考えられる。葉重については先行研究での知見がないため、現時点での考察は困難である。

前述した全式において、根色すなわち L^* 、 a^* 、 b^* およびそれらを組み合わせた独立変数を当てはめない方が従属変数をよく説明できたことは予想外であった。例えば‘本紅金時’を除いた3反復15個体の平均値を1データとしてβ-カロテン含量推定式を根色のみで求めると ($n=27$)、独立変数は a^* および b^* が選択されたが、 R^2 および検量線標準誤差 (SEC) はそれぞれ 0.773 および $6.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$ 程度であり、推定の精度は明らかに低かった。この原因としては芯部の測定ができなかったことが考えられる。芯部面積は根面積の約18%に相当したこと、この部分の適当な測定法が見出されれば、根色による推定の精度は向上するかもしれない。

さて、本研究では前述のように複数の品種および栽培年をまとめて1つの推定式で表しているが、品種および栽培年の異なるニンジンが厳密に1つの式に当てはまるかについて確認しておく必要がある。そこで、3反復15個体の平均値を1データとしたβ-カロテン含量の推定において

共分散分析を行った。その結果、1998年において品種を要因とすると差なし ($P=0.393$)、1999年において品種を要因とすると差あり ($P=0.025$)、‘向陽二号’において栽培年を要因とすると差なし ($P=0.115$) となった (すべて $n=9$ で交互作用なし)。つまり、1999年の‘向陽二号’と‘新黒田五寸’は2つの推定式に5%水準で分かれるということになる。本研究では汎用性のある簡易推定を目標としていることからこれらを1つの推定式に集約しようとしているが、推定式は品種によって異なる可能性もあり、共通式とすることの妥当性については実際に使用する個々の場面で求められる精度に応じて判断する必要がある。

また、その他の注意点として、十分な精度が得られたのは15個体の平均値を用いた場合に限られるということが挙げられる。このことは、従属変数と独立変数との関係に個体差があることを意味している。よって、推定式は個々のニンジン根のカロテン含量を高精度に予測することは難しい。しかし、圃場間や試験区間といった集団単位間の比較には適応できる可能性がある。

本研究の検討結果は、有機溶媒や分析機器を用いず、根直径、根水分および葉重を測定するのみでニンジン根のカロテン含量を推定する方法を確立するための参考となる。使用する機器は定温乾燥器と電子天秤のみであることから、推定法が確立できれば化学実験設備の整っていない調査拠点をはじめ学校での農と食に関する実習など広い範囲で活用できる可能性がある。しかし、本研究における供試品種は少なく、かつ1地域から得られた事例的な結果である。今後はこれらの点を考慮しながら本研究結果の適応範囲を確認するとともに、推定式を構成する変数が選ばれた生理的な根拠の究明が必要と思われる。

摘 要

ニンジンのカロテン含量を、一般の分析法によらず簡易に把握することを目的とし、収穫したニンジンの特性とカロテン含量の関係を分析した。供試ニンジンは静岡県伊豆の国市において1998および1999年に栽培した‘本紅金時’、‘向陽二号’、‘新黒田五寸’である。カロテン含量を従属変数、根色 (L^* , a^* , b^*)、水分、形状および生育量を独立変数として重回帰分析を行った。その結果、 α -カロテン含量（‘本紅金時’を除く）は独立変数を根直径および根水分とした最適式であっても精度は低かった ($R^2=0.692$, $RPD=2.1$) が、 β -カロテン含量は独立変数を根直径、根水分および葉重とした場合に高い精度 ($R^2=0.931$, $RPD=3.7$) の推定式が得られた。ただし、共分散分析の結果から‘向陽二号’と‘新黒田五寸’の β -カロテン含量推定式はわずかに異なることが示唆された。また、十分な精度の推定には、同じ条件で栽培されたニンジン15個体の平均値を用いる必要があったことから、この推定式は、個々のニンジンのカロテン含量の予測は難しいものの、群落単位間の比較には適応できる可能性があった。

謝 辞 (公財)農業・環境・健康研究所の田村夕利子氏および(一社)MOA自然農法文化事業団の山本秀治氏にはニンジンの栽培においてご協力いただいた。ここに感謝申し上げます。

引用文献

- Barba, A. I. O., M. C. Hurtado, M. C. S. Mata, V. F. Ruiz and M. L. S. Tejada. 2006. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chem.* 95: 328–336.
- Biswas, A. K., J. Sahoo and M. K. Chatli. 2011. A simple UV-Vis spectrophotometric method for determination of β -carotene content in raw carrot, sweet potato and supplemented chicken meat nuggets. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 1809–1813.
- Britton, G. and F. Khachik. 2009. Carotenoids in food. p. 45–66. In: G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (eds.). *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Cazzonelli, C. I. and B. J. Pogson. 2010. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci.* 15: 266–274.
- Chew, B. P. and J. S. Park. 2009. The immune system. p. 363–382. In: G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (eds.). *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- 五十嵐 脩. 1997. カロテノイドおよび脂溶性ビタミンの代謝. p. 232–241. 日本生化学会編. 細胞機能と代謝マップ I. 細胞の代謝・物質の動態. 東京化学同人. 東京.
- 磯野浩太. 2011. 金時ニンジンのリコペン含量の簡易分別定量法による測定値と色彩値 (L^* , a^* , b^*) との相関について. 京都農林水技セン農研報 (農). 34: 9–12.
- 川城英夫. 2003. 生理・生態を生かす栽培の基本. p. 基124の4–18. 農業技術大系野菜編. 第9巻. ダイコン・ニンジン・カブ・ゴボウ. 農文協. 東京.
- Khachik, F. 2009. Analysis of carotenoids in nutritional studies. p. 7–44. In: G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (eds.). *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health*. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Kidmose, U., S. L. Hansen, L. P. Christensen, M. Edelenbos, E. Larsen and R. Nørbæk. 2004. Effects of genotype, root size, storage, and processing on bioactive compounds in organically grown carrots (*Daucus carota* L.). *J. Food Sci.* 69(9): S388–S394.
- Krinsky, N. I. and E. J. Johnson. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol. Aspects Med.* 26: 459–516.
- Mangels, A. R., J. M. Holden, G. R. Beecher, M. R. Forman and E. Lanza. 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.* 93: 284–296.
- 満田幸恵・新本洋士・小堀真珠子・津志田藤二郎. 2002. 高速液体クロマトグラフィーによる野菜のカロテノイドおよびクロロフィルの同時分析. 日本食品科学工学会誌. 49: 500–506.
- 森 敏. 1986. 食品の質に及ぼす有機物施用の効果. p. 85–137. 日本土壌肥料学会編. 有機物研究の新しい展望. 博友社. 東京.
- Nagata, M., Y. Noguchi, S. Imanishi and K. Sugiyama. 2008. A simple method for the estimation of α - and β -carotene in carrots. *Acta Hort.* 768: 565–569.
- 中川祥治・田村夕利子・山本秀治・吉田企世子・善本知孝. 2003. 有機質肥料および化成肥料で栽培したニンジン (*Daucus carota* L.) における生育量差の影響を除去した品質比較. 土肥誌. 74: 45–53.
- 夏賀元康・川村周三・伊藤和彦. 1992. 近赤外分光法による穀物成分測定精度 (第1報) —北海道産小麦の水分, タンパク質, 灰分について—. 農機誌. 54(1): 89–96.
- Nicollé, C., G. Simon, E. Rock, P. Amouroux and C. Rémesy. 2004. Genetic variability influences carotenoid, vitamin, phenolic, and mineral content in white, yellow, purple, orange, and dark-orange carrot cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129: 523–529.
- R Development Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical

- Computing. Vienna, Austria. <<http://www.R-project.org>>.
- Rock, C. L. 2009. Carotenoids and cancer. p. 269–286. In: G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (eds.). Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Seljåsen, R., H. L. Kristensen, C. Lauridsen, G. S. Wyss, U. Kretzschmar, I. Birlouez-Aragone and J. Kahl. 2013. Quality of carrots as affected by pre-and postharvest factors and processing. *J. Sci. Food Agric.* 93: 2611–2626.
- Takahata, Y., T. Noda and T. Nagata. 1993. HPLC determination of β -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japan. J. Breed.* 43: 421–427.
- Taungbodhitham, A. K., G. P. Jones, M. L. Wahlqvist and D. R. Briggs. 1998. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables. *Food Chem.* 63: 577–584.
- 塚澤和憲. 2002. 野菜における還元型ビタミンC及び β -カロテン含有量の簡易分析法の検討. 埼玉農林総研セ研報. 2: 43–46.
- 内田 治. 2013. SPSS による回帰分析. p. 50–51. オーム社. 東京.
- 渡辺慶一・斎藤忠雄・広田才之・高橋文次郎. 1988. ニンジンのカロチノイド色素の系統間差異. 日本食品工業学会誌. 35: 315–320.
- Williams, P. C. and K. Norris. 2001. Near infrared technology in the agricultural and food industries, 2nd Edition. p. 145–169. American Association of Cereal Chemists, Minnesota.
- 山下有希・平岩 確・遠山孝通・森崎耕平・浅野智也・黒野綾子・伊藤 真・池田彰弘. 2018. 近赤外分光法による「きぬあかり」と「ゆめあかり」の原麦蛋白質含量の簡易測定. 愛知農総試研報. 50: 71–73.
- Yeum, K.-J., G. Aldini, R. M. Russell and N. I. Krinsky. 2009. Antioxidant/pro-oxidant actions of carotenoids. p. 235–268. In: G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (eds.). Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health. Birkhäuser Verlag, Basel.