

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 35 NO. 1

会 長	松本 信二	副 会 長	荒井 康雄	小宮山美弘	中村怜之輔
編集委員長	竹中 哲夫				
編 集 委 員	青柳 康夫	飯野 久和	泉 秀実	池戸 重信	稲熊 隆博
	上田 悦範	竹永 章生	谷口亜樹子	浜野 光年	

<報 文>

数種の搾汁方式と保蔵温度がシークワシャー果汁の品質安定性に及ぼす影響

ーポリメトキシフラボン類およびシネフリンの安定性ー…………… (3)

／宮城一菜・藤瀬朋子・古賀信幸
和田浩二・矢野昌充・太田英明

<報 文> (英文)

クマイザサ葉のフラボノイドとその抗酸化活性…………… (11)

／松田友彦・山崎雅夫・矢島 新
富塚 登・西澤 信

<技術報告>

有色馬鈴薯を用いた飲料の開発…………… (17)

／妙田貴生・永井 毅・塚本 篤
野田高弘・永島俊夫

<技術報告> (英文)

効果的な販売のための西条ガキ熟柿の包装と貯蔵…………… (23)

／赤浦和之・板村裕之

<総 説>

カキ果実の脱渋機序の解明ならびに長期貯蔵に関する研究…………… (29)

／平 智

<講 座>

身近な野菜・果物～その起源から生産・消費まで (7) スモモ (II) …………… (37)

／小宮山美弘・辻 政雄

<文献抄録>…………… (47)

<会 告>…………… (49)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 35 NO. 1 (2009)

<Article> (Japanese)

- Effect of Some Extracting Methods and Storage Temperature
on Quality Stability of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit Juice
during Storage: Stability of Polymethoxylated Flavones and Synephrine
MIYAGI Kazuna, FUJISE Tomoko, KOGA Nobuyuki,
WADA Koji, YANO Masamichi and OHTA Hideaki (3)

<Article> (English)

- Flavonoids in *Sasa senanensis* and Their Antioxidative Activities
MATSUTA Tomohiko, YAMAZAKI Masao, YAJIMA Arata,
TOMIDUKA Noboru and NISHIZAWA Makoto (11)

<Technical Report> (Japanese)

- Development of Softdrink Using Purple Potato ‘Shadow Queen’
MYODA Takao, NAGAI Takeshi, TSUKAMOTO Atsushi,
NODA Takahiro and NAGASHIMA Toshio (17)
- Packaging and Storage of Soft-ripened ‘Saijo’ Persimmons
(*Diospyros kaki* Thunb.) for Improving Sales
AKAURA Kazuyuki and ITAMURA Hiroyuki (23)

<Review> (Japanese)

- Studies on New Factors Related to Astringency Removal and
Long-Term Storability in Persimmon Fruit
TAIRA Satoshi (29)

<Serialization Lecture> (Japanese)

- Plum (Part II)
KOMIYAMA Yoshihiro and TSUJI Masao (37)

数種の搾汁方式と保蔵温度がシークワシャー果汁の 品質安定性に及ぼす影響 —ポリメトキシフラボン類およびシネフリンの安定性—

宮城 一 菜^{*1§}・藤瀬 朋子^{*1}・古賀 信幸^{*1}
和田 浩二^{*2}・矢野 昌充^{*3}・太田 英明^{*1}

* 1 中村学園大学大学院栄養科学研究科

* 2 琉球大学農学部応用生物学科

* 3 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター

Effect of Some Extracting Methods and Storage Temperature on Quality Stability of Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit Juice during Storage: Stability of Polymethoxylated Flavones and Synephrine

MIYAGI Kazuna^{*1§}, FUJISE Tomoko^{*1}, KOGA Nobuyuki^{*1},
WADA Koji^{*2}, YANO Masamichi^{*3} and OHTA Hideaki^{*1}

* 1 Department of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University, 5-7-1, Befu, Jyonan-ku, Fukuoka 814-0198

* 2 Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus, 1, Senbaru, Nishihara-cho, Okinawa 903-0213

* 3 National Agriculture and Food Research Organization Bio-oriented Technology Research Advancement Institution,
3-18-19, Minato-ku, Toranomon, Tokyo 105-0001

The stability of chemical components including polymethoxylated flavones (PMFs) such as nobiletin, tangeretin and sinensetin, and synephrine in shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) fruit juice was investigated for four months. The juice tested was prepared from whole fruits by using three types of extractor, namely, a belt-press extractor, a centrifugal extractor and a screw-press extractor, and then stored at temperatures of 5, 20 and 35°C. The juice yield obtained using the screw-press extractor was higher than those obtained using the other two extractors. Storage temperature had a significant effect on the stability of PMFs and synephrine during 4 month storage, compared with the effect of the extractors. The amounts of PMFs remaining in the fruit juice obtained using the extractors after storage for 4 months at 35°C, were as follows: 95.1~97.3% of nobiletin, 94.6~97.8% of tangeretin, and 70.2~96.2% of sinensetin. Little change in the amounts of PMFs was observed at 5 and 20°C. This means that nobiletin and tangeretin are stable. On the other hand, 73.9~87.4% of synephrine remained after 4 months storage at 35°C, while 41.5~46.7% of vitamin C remained. In sensory evaluation, a marked change in appearance (browning) was observed. From the overall palatability, shelf life of bottled juice prepared using the centrifugal extractor was estimated to be approximately 1 month at 35°C, 3 months at 20°C, or 4 months at 5°C.

(Received Jul. 24, 2008; Accepted Oct. 8, 2008)

Key words: Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata), belt-press extractor, centrifuge extractor, screw-press extractor, polymethoxylated flavones (nobiletin, tangeletin, sinensetin), synephrine, storage temperature

シークワシャー, ベルトプレス搾汁機, 遠心分離搾汁機, スクリュープレス搾汁機, ポリメトキシフラボン類 (ノビレチン, タンゲレチン, シネンセチン), シネフリン, 保蔵温度

* 1 〒814-0198 福岡県福岡市城南区別府 5-7-1

§ 連絡先 (Corresponding author) E-mail: s06d102@nakamura-u.ac.jp

* 2 〒902-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原 1 番地

* 3 〒105-0001 東京都港区虎ノ門 3-18-19

シークワシャー (*Citrus depressa* Hayata)¹⁾は、南西諸島や台湾に自生し、沖縄でも古くから知られているカンキツで、沖縄では長寿村として知られている大宜味村を中心に、名護市屋部、勝山、伊豆味などの本島北部で商業的に生産されているカンキツ類の一種である。

近年、消費者の健康志向の高まり、生活習慣病予防が国民的な課題となっている中、シークワシャーには、発ガン抑制作用^{2)~5)}やガン転移抑制作用⁶⁾などの高い機能性を示す成分として、ポリメトキシフラボン類(以下:PMF)の1つであるノビレチンが他のカンキツ類と比較して高濃度含有されていることが明らかにされており^{7),8)}、疾病予防・改善効果が期待されている。他方、交感神経作動作用をもち、脂肪組織の代謝を活性化するフェンチルアミン誘導体であるシネフリン^{9),10)}は温州みかんに存在することが報告されている¹¹⁾。本成分を高濃度含むダイダイ (*C. aurantium*) などからの抽出物は、痩身剤の活用も図られている^{12),13)}。近年、シークワシャー中に存在することが示唆される、これらPMFおよびシネフリンのような生理機能性成分が注目されるに至っている¹⁴⁾。

一方、温州みかんや夏みかんのような日本のカンキツ果汁工場でも多く用いられている搾汁機には、全果・果皮付きで搾汁するインライン搾汁機 (FMC社)、加温により果皮を軟化させ剥皮後裏ごしを行うチョッパーパルパー搾汁機がある^{15),16)}。しかしながら、シークワシャーは果実自体が小さいため、これらの搾汁機に適用させるには極めて困難である。

沖縄地域では、シークワシャー果汁の製造において、現在ベルトプレス搾汁機、遠心分離搾汁機、スクリープレス搾汁機が使われている。ベルトプレス搾汁機は、回転しているベルトで果実全体を搾ることによって抽出する機械である。遠心力を利用したタイプの搾汁機は、底部の中心に備え付けられた破碎カッターで果実を粗砕した後、搾汁用スクリーンにて遠心力で果実を搾汁する機械である¹⁶⁾。スクリープレス搾汁機は、回転しているスクリーで果実全体を粉碎し搾ることによって抽出

する機械である¹⁷⁾。

これまで、PMF (ノビレチン、タンゲレチン、シネンセチン) (Fig.1), シネフリン (Fig.1) などの生理機能性成分の安定性に関する知見の蓄積は遅々として進んでいない。

本研究では、上述の3種類の搾汁方式で製造したシークワシャー果汁中の機能性成分の安定性を明らかにするため、5℃、20℃、35℃の3温度区における品質特性を調査したので報告する。

実験方法

1. 実験材料

シークワシャー (クガニ科) の果実試料には、沖縄県の名護市勝山地区で2005年12月5日に収穫し、洗浄した果実を用いた (果実重量 31.0 ± 2.0 g)。

2. 実験方法

(1) 搾汁装置およびサンプリング 本実験に用いた搾汁機はベルトプレス搾汁機、遠心分離搾汁機、スクリープレス搾汁機であり、装置の概要と果汁サンプリング条件は次のとおりである。

ベルトプレス搾汁機¹⁸⁾: サンキューフード製B-45によって搾汁した。ベルト長は204cm, ベルト隙間6mmであり、シークワシャー (100kg) の果実全体を処理能力400 kg/hで搾汁した。

遠心分離搾汁機¹⁸⁾: コクサン製のH-122を用いた。機械サイズは470(W)×560(D)×835(H)mmである。シークワシャー果実 (100kg) すべてを、一度に50個ずつ (処理能力: 約1 kg/min) 遠心分離機 (1200×g, 3 min) にかけることによって搾汁した。

スクリープレス搾汁機¹⁸⁾: 信和エンジニアリング製のシングルスクリープレスSRE-230Lを使用した。L/D (スクリーの長さ/スクリーの直径) は6.3, 1.0~1.5 t/hの搾汁能力があり、300kgのシークワシャー果実を搾汁した。

各搾汁機の構造略図をFig.2に示した。

各果汁はステンレス製の篩JIS-Z8801 (355μm) で濾過した。濾過した果汁は沸騰湯 (95℃) 中に設置したステンレス製のチューブ (φ5mm×4.0m) を通して、流速250ml/minで加熱殺菌した。ガラス瓶 (250ml容) に熱間充填後、王冠で密栓した。充填した果汁は、上側を下にして10分間室温に置き、さらに20分間水冷した。

(2) 保蔵温度 3種類の搾汁機において搾汁した果汁は、SANYO製のインキュベーターMIR-153を用いて、5℃ (低温区)・20℃ (室温区)・35℃ (高温区) の3温度区で4か月保蔵した。それぞれの果汁は、1か月ごとに開封し官能検査および分析に供した。

(3) 測定項目

1) 一般成分分析

可溶性固形物: 20℃における屈折示度をMilton Roy製屈折計を用いて測定、Brixとして表示した。

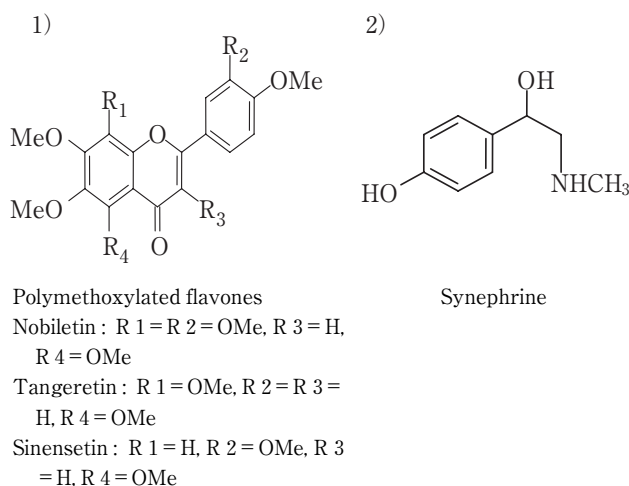
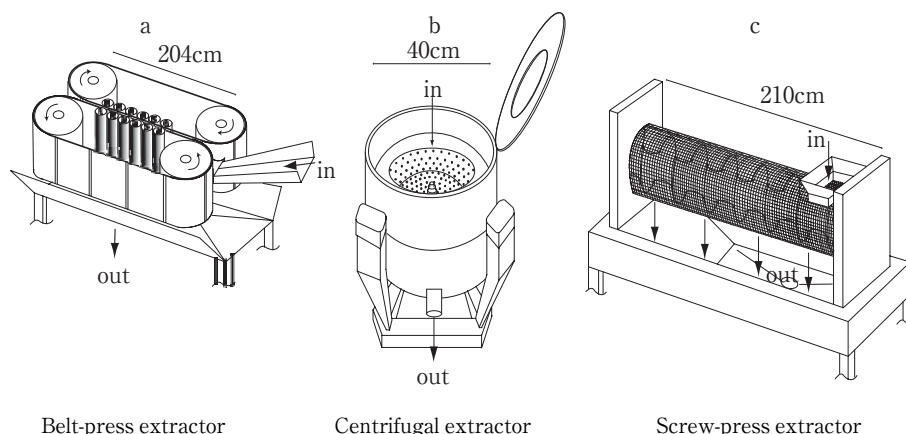


Fig. 1 Polymethoxylated flavones and Synephrine



Belt-press extractor

Centrifugal extractor

Screw-press extractor

Fig. 2 Schematic drawings of belt-press, centrifugal and screw-press extractors

滴定酸度：0.1N水酸化ナトリウムで中和するのに要したアルカリ量からクエン酸として換算表示した。

2) 品質指標分析

果汁の測色：ハンター式色差計は日本電色工業製SZ-S90を用いて、反射光にてL, a, b値を求めた。その反射によるL, a, b値を $L \cdot b / |a|^{19)}$ の式を用いて計算し、その値で褐色化の程度を表した。

アスコルビン酸分析：アスコルビン酸はSAWAMURA²⁰⁾らの方法に準じて測定した。標準溶液はアスコルビン酸の標準品(和光純薬工業社, 大阪)を2%メタリン酸液で溶解し、最終濃度0.1mg/mlを調整した。遠心分離後の試料上清液300 μ lにエタノール600 μ l, 8%メタリン酸液300 μ lを加え、攪拌混合後、遠心分離(4,000rpm \times 15 min)した。得られた上清液を被験溶液として使用した。総アスコルビン酸は、水酸化ナトリウムで還元型アスコルビン酸に還元してHPLCで分析する方法を用いた。

HPLC条件は以下のとおりである。

カラム：LiChrospher100:RP-18(ϕ 4.0 \times 250mm, 5 μ m)

移動相：0.2%メタリン酸液

流速：0.76ml/min

カラム温度：40℃

注入量：20 μ l

検出波長：243nm

PMF分析：標準品ノビレチン, タンゲレチン(和光純薬工業社, 大阪), シネンセチン(フナコシ社, 東京)の3種類をメタノール-DMSO(1:1)で溶解し, 0.5mg/mlの標準溶液とした。

果汁試料3mlにエタノール7mlを添加攪拌後, 超音波抽出(30min)を行った。上清液をAdvantec社製のシリジフィルター(ϕ 0.45 μ m)で濾過後, HPLC分析に供した⁷⁾。

HPLC条件は以下のとおりである。

カラム：Hypersil ODS(ϕ 4.0mm \times 125mm, 5 μ m)

移動相：60%メタノール-10mMリン酸

流速：1.0ml/min

カラム温度：40℃

注入量：10 μ l

検出波長：340nm

シネフリン分析：シネフリン標準品(シグマアルドリッチジャパン社, 東京)を移動相で溶解し, 0.2mg/mlの標準溶液とした。果汁試料をシリジフィルター(ϕ 0.45 μ m)に通したものをそのままHPLC分析に供した。

HPLC条件は以下のとおりである。

カラム：Develosil ODS-5(ϕ 4.6mm \times 250mm, 5 μ m)

移動相：アセトニトリル-H₂O(2:98)-10mMリン酸

流速：0.8ml/min

カラム温度：35℃

注入量：5 μ l

検出波長：223nm

なお, HPLC分析に使用した装置はすべて島津製のLC-10ADvpシリーズを用いた。

一般分析および品質指標, HPLC分析の値は, 平均値(n=3)で示した。

3) 官能評価：パネリストとして, 酸味の強いシークワシャー果汁についての官能評価経験の多い研究員13名の協力を得た。遠心分離搾汁機で果実を搾汁後, 3温度区で保蔵していた果汁試料を検査当日に室温に揃え, 評点法を用いる官能評価を実施した。外観, 風味, 酸味, 苦味, 総合評価の5項目について, 普通を0とした \pm 3点の7段階の嗜好尺度法²¹⁾で評価し, 得られた値は分散分析法で解析した。

実験結果および考察

1. 果汁の搾汁率

2005年12月5日に収穫された果実原料300kgを用い1晩常温にて静置後, 収穫の翌日にベルトプレス搾汁機, 遠心分離搾汁機およびスクリープレス搾汁機で搾汁した場合の果汁収率を調査した。

スクリープレス搾汁機での搾汁率が平均で65%と最も高く, 次に遠心分離搾汁機55%, ベルトプレス搾汁機42%と続いた。シークワシャーが果汁として加工される時期は, 果実果皮が黄化する11月中旬から, より熟度が

進む12月中旬である。ゆえに、上述の搾汁率は搾汁機の特性によるものと推定された。すなわち、スクリュースプレス搾汁機が他の2つの搾汁機に比較して搾汁率が高いのは、果実全体を押し潰して搾る力が強いためと考えられた。

2. 果汁の一般成分

各搾汁機の可溶性固形物は、ベルトプレス搾汁機 $10.8 \pm 0.10^\circ\text{Bx}$ 、遠心分離搾汁機 $10.9 \pm 0.01^\circ\text{Bx}$ 、スクリュースプレス搾汁機 $10.6 \pm 0.20^\circ\text{Bx}$ であった。また酸度は、それぞれ $3.5 \pm 0.04\%$ 、 $3.4 \pm 0.10\%$ 、 $2.8 \pm 0.04\%$ となり、3温度区で保蔵した果汁試料は、4か月に亘る保蔵においても、変化はみられず一定であった。

果汁の嗜好性の指標で最も多用される糖酸比は、一般に嗜好上好ましい糖酸比はバレンシアオレンジ果汁で13.5~14.5、グレープフルーツ果汁で10.0~11.0、温州みかん果汁で12.5以上とされている²²⁾。しかしながら、今回分析したシークワシャー果汁は最も糖度の高い12月収穫の果実果汁でも糖酸比が3.0前後と極めて低かった。この糖酸比はレモン、ライム果汁の糖酸比1.3、1.7²²⁾に近い値である。このことから、酸味が大変強いシークワシャー果汁の嗜好の品質改善が必要であると考えられた。

3. 果汁の特殊成分

(1) 色調の変化 ハンター色差計で測色した、色調の黄色化(褐変化)の程度を示す $L \cdot b / |a|$ 値¹⁹⁾の変化をFig. 3に示した。ここでは、 $L \cdot b / |a|$ 値が高くなるにつれて褐変化が進行していることを示す。

各搾汁機で搾汁した果汁は高温の35℃区に比べて5℃区と20℃区では、4か月の保蔵においても $L \cdot b / |a|$ 値が200~300前後と、大きな変化はみられず果汁の色(黄色)が安定していた。一方、35℃区では各搾汁機で搾汁した果汁とも1か月目から増加をみせ、4か月目ではベルトプレス搾汁機4128.5、遠心分離搾汁機3554.7、スクリュースプレス搾汁機6066.3となり、試験開始時に比

較して約20倍と顕著な褐色化を示していた。

(2) アスコルビン酸の変化 試験開始時から4か月保蔵後の、各搾汁機別のアスコルビン酸含量の残存率は、5℃区ではベルトプレス搾汁機63.6%、遠心分離搾汁機77.2%、スクリュースプレス搾汁機86.7%、20℃区ではベルトプレス搾汁機60.6%、遠心分離搾汁機75.2%、スクリュースプレス搾汁機66.7%であった。各温度区とも保蔵時間の経過に伴いアスコルビン酸含量の減少がみられた。特に、4か月保蔵後の35℃区の残存率が、それぞれ45.5%、41.5%、46.7%と低く、保蔵温度が高いほどアスコルビン酸の残存率も低下した。

また、搾汁機別で比較してみると、中でもスクリュースプレス搾汁機で搾汁した果汁のアスコルビン酸量は他の2つの搾汁機より高い値を示したが、残存率に大差はなかった。このことから、アスコルビン酸量の変化には保蔵温度の影響が大きいと考えられた²³⁾。

(3) ポリメトキシフラボン類の変化 今回は、最も変動の大きかった35℃区におけるPMF含量の残存率をFig. 4に示した。

搾汁機別でみると、スクリュースプレス搾汁機によって搾汁された果汁中のPMF含量が、ノビレチン42.8mg/100ml、タンゲレチン16.0mg/100ml、シネンセチン3.9mg/100mlとベルトプレス搾汁機(ノビレチン28.0mg/100ml、タンゲレチン14.0mg/100ml、シネンセチン2.5mg/100ml)、遠心分離搾汁機(ノビレチン14.0mg/100ml、タンゲレチン5.6mg/100ml、シネンセチン1.2mg/100ml)に比べて最も多かった。PMFの含有割合が高いことは、スクリュースプレス搾汁機が果皮とともに果実を押し潰す圧力が強いので、多くの果皮成分が果汁中に移行したことによると推察された²⁴⁾。

PMF含量の4か月保蔵後の残存率は、ノビレチンは、ベルトプレス搾汁機が5℃区92.9%、20℃区96.4%、35℃区95.1%、遠心分離搾汁機が5℃区95.5%、20℃区

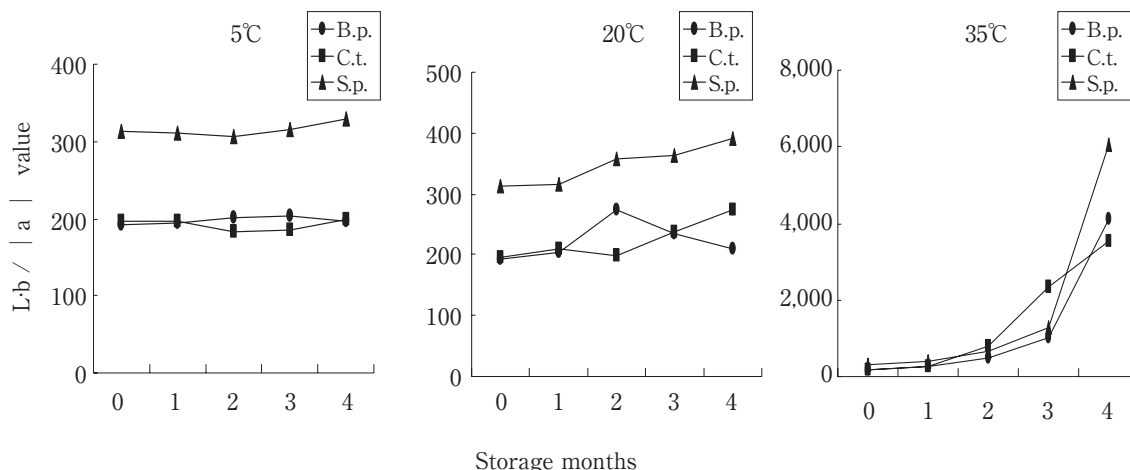


Fig. 3 Change in $L \cdot b / |a|$ value for juice prepared using three types of extractor during storage at 5°C, 20°C and 35°C

●B.p.: Belt-press extractor, ■C.t.: Centrifugal extractor, ▲S.p.: Screw-press extractor

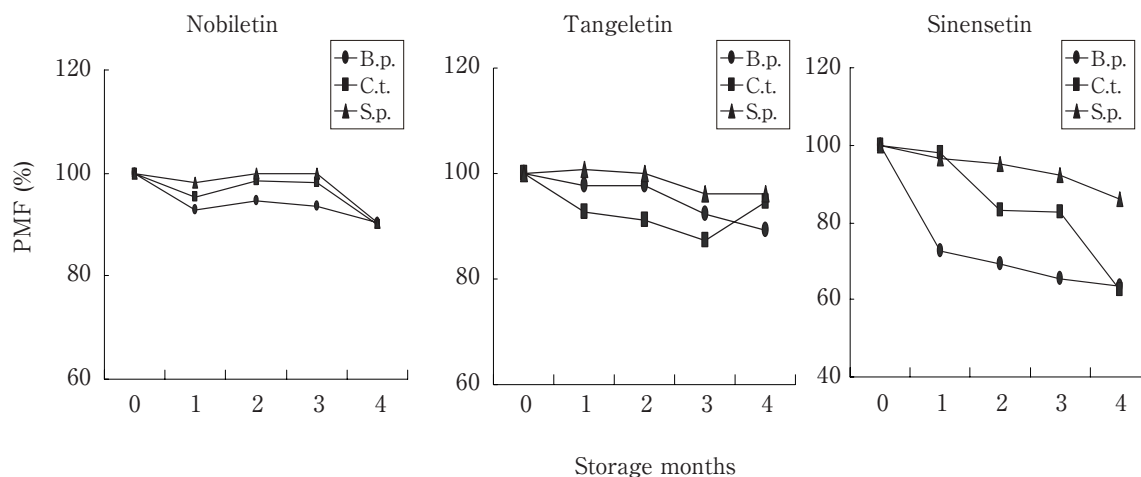


Fig. 4 Change in PMF content (nobiletin, tangeletin, sinensetin) in Shiikuwasha juice extracted by using three types of extractor during storage at 35°C

Symbols are the same as Fig. 3

95.3%, 35°C区95.4%, スクリュープレス搾汁機が5°C区97.1%, 20°C区96.2%, 35°C区97.3%に留まっており、その残存率は95%程度と高く保持されていた。タンゲレチンに関しても同様の傾向がみられ、各搾汁機ともノビレチンと同じ程度残存していた。また、シネンセチンの残存率はベルトプレス搾汁機が5°C区67.1%, 20°C区67.7%, 35°C区70.2%, 遠心分離搾汁機が5°C区78.8%, 20°C区81.4%, 35°C区82.8%, スクリュープレス搾汁機が5°C区97.5%, 20°C区92.4%, 35°C区96.2%と、スクリュープレス搾汁機を除いた2機は、前者の2つの成分に比べると残存率は低かった。さらに搾汁機別で比較すると、スクリュープレス搾汁機の果汁が最も高くPMFが保持されていた。以上のことから、PMFであるノビレチンおよびタンゲレチンは、5°C、20°C、35°Cの保蔵温度にかかわらず安定性が高いことが示唆された。

(4) シネフリンの変化 今回、本試験で温州みかんと同様に、シークワシャー果汁中にもシネフリンが存在することを確認した。果汁中の試験開始時のシネフリン含量は、ベルトプレス搾汁機8.6mg/100ml, 遠心分離搾汁機10.8mg/100ml, スクリュープレス搾汁機17.4mg/100mlであった。その果汁中のシネフリン含量の残存率をFig. 5に示した。

シネフリン含量は、PMFと同様にスクリュープレス搾汁機で果汁中の成分含量は最も高かった。残存率に関してもPMFと同様に保蔵温度にかかわらず、各搾汁機および温度区とも80%程度と比較的安定していた。品質劣化が進んでいると考えられる35°C区においてもその残存率は、ベルトプレス搾汁機83.7%, 遠心分離搾汁機73.9%, スクリュープレス搾汁機87.4%と80%程度は保持されていた。

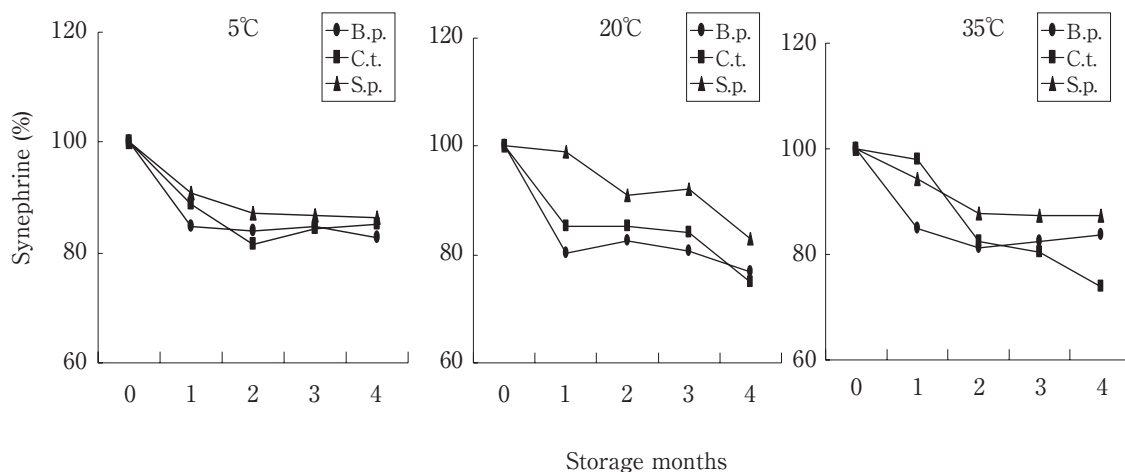


Fig. 5 Change in synephrine content in Shiikuwasha juice extracted by using three types of extractor during storage at 5°C, 20°C and 35°C

Symbols are the same as Fig. 3.

Table 1 Sensory evaluation of Shiikuwasha juice produced using centrifugal extractor

Evaluation criteria	Storage temp.		
	5 °C	20 °C	35 °C
Appearance	1.23 ^a	0.85 ^a	-2.46 ^b
Odor	0.69 ^a	0.31 ^a	-1.15 ^b
Sour taste	0.31 ^a	0.15 ^a	-0.69 ^b
Bitter taste	-0.31 ^a	-0.38 ^a	-1.31 ^b
Overall palatability	0.15 ^c	0.00 ^c	-0.46 ^d

a, b ($p < 0.01$), c, d ($p < 0.05$)

(5) 官能評価結果 試料には先の試験で搾汁後の評価において、総合評価値が最も高かった遠心分離搾汁機で搾汁した果汁を用いた²⁵⁾。果汁について、外観、風味、酸味、苦味、総合評価の5項目を調査し、Table 1に3か月間保蔵した各果汁試料の平均評価値と有意差の有無を示した。

果汁試料において、外観、風味、酸味、苦味の各項目では、5℃区と35℃区、および20℃区と35℃区の間には、危険率1%，また、総合評価も危険率5%で有意差が認められた。このことから、35℃区の果汁で品質劣化が進んでおり、さらに、保蔵温度が高くなるにつれて、評価値は低下した。

1か月ごとの官能評価を経時的に観察すると、最も大きな変化がみられた項目は外観であった。35℃区で保蔵した果汁試料の褐変が大きく進み、保蔵1か月目の官能評価から有意差が認められた。保蔵2か月目からの官能評価では、風味と総合評価において、有意差が観察された。3か月目の官能評価ではすべての項目で有意差が認められ、35℃区で評価値が最も低下した。

現在、果汁の賞味期間の判定は官能評価に基づいている。今回検査したシークワシャー果汁の総合評価値を一つの目安として賞味期間を見積もると、35℃区では1か月程度、20℃区では3か月程度、5℃区では4か月程度の賞味期間になると推定された。

以上から、3種類の搾汁機では、機能性成分含量の面において、スクリュースプレ搾汁機が、その果実を押し潰す力が大きいことから果汁中に移行する成分含量が最も多かった。

搾汁機別による成分の安定性を比較したところ、3種類の搾汁機間における際だった変化は認められなかった。また、調査した各種化学成分および品質指標からは、保蔵温度が高くなるにつれて品質劣化傾向が大きいため、低温で保蔵することが望ましい。

要 約

シークワシャー果汁の保蔵におけるPMF（ノビレチン、タンゲレチン、シネンセチン）、シネフリンなどの機能性成分の安定性を検討するために、シークワシャー

果汁中の一般成分および機能性成分の安定性を4か月に亘って調査した。果汁試料は、3種の搾汁方法で調整し、5℃区、20℃区、35℃区の3温度区で保管した。

- ① 可溶性固形物および酸を除く、PMFやシネフリンなどの調査した成分において、スクリュースプレ搾汁機の果汁で成分含量および搾汁率が最も多かった。
- ② 保蔵温度は、搾汁機の効果と比較して4か月保蔵中におけるPMFとシネフリンの安定性に顕著な影響を与えた。4か月保蔵後の各搾汁機で得られた果汁中の35℃区におけるPMFの残存率は、ノビレチン95.1～97.3%，タンゲレチン94.6～97.8%，シネンセチン70.2～96.2%であった。PMFの変化は5℃区と20℃区では、ほとんどみられず安定していた。また、シネフリンの残存率は4か月保蔵後の35℃区では73.9～87.4%であった。
- ③ 官能評価では、最も大きな変化がみられた項目は外観であった。総合評価から、遠心分離搾汁機によって搾汁された瓶詰め果汁の賞味期間は、35℃区で約1か月程度、20℃区で3か月程度、5℃区で4か月程度になると見積もられた。

謝 辞 本研究は、独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター「異分野融合研究支援事業」、農林水産省農林水産技術会議事務局「沖縄県北部地域における特産果実の機能性に着目した高付加価値化技術のための利用技術の開発」および中村学園大学栄養科学部プロジェクト研究「内臓脂肪蓄積を制御する食因子の動的解析」の研究助成によって実施した。

文 献

- 1) 国際柑橘学会日本支部編：カンキツ用語集（第2版）（国際柑橘学会日本支部），p.127（1999）
- 2) MURAKAMI, A. and OHGASHI, H.: Cancer-preventive anti-oxidants that attenuate free radical generation by inflammatory cells, *Biol. Chem.*, **387**, 387～392（2006）
- 3) WU, Y.-Q., ZHOU, C.-H., TAO, J. and LI, S.-N.: Antagonistic effects of nobletin, a polymethoxyflavonoid, on eosinophilic airway inflammation of asthmatic rats and relevant mechanisms, *Life Sci.*, **78**, 2689～2696（2006）
- 4) SUZUKI, R., KOHNO, H., MURAKAMI, A., KOSHIMIZU, K., OHGASHI, H., YANO, M., TOKUDA, H., NISHINO, H. and TANAKA, T.: Citrus nobletin inhibits azoxymethane-induced large bowel carcinogenesis in rats, *Biofactors*, **22**, 111～114（2004）
- 5) SATO, T., KOIKE, L., MIYATA, Y., HIRATA, M., MIMAKI, Y., SASHIDA, Y., YANO, M. and ITO, A.: Inhibition of activator protein-1 binding activity

- and phosphatidyl-inositol 3-kinase pathway by nobiletin, a polymethoxy flavonoid, results in augmentation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 production and suppression of production of matrix metalloproteinase-1 and 9 in human fibrosarcoma HT-1080 cells, *Cancer Res.*, **62**, 1025~1029 (2002)
- 6) KAWABATA, K., MURAKAMI, A. and OHGASHI, H.: Nobiletin, a Citrus flavonoid, down-regulates matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) expression in HT-29 human colorectal cancer cells, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 307~314 (2005)
- 7) KAWAIL, S., TOMONO, Y., KATASE, E., OGAWA, K. and YANO, M.: Quantification of flavonoid constituents in Citrus furit, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3565~3571 (1999)
- 8) KAWAIL, S., TOMONO, Y., OGAWA, K., YANO, M., KOIZUMI, M., ITO, C. and FURUKAWA, H.: Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 3865~3871 (2000)
- 9) 木下武司・鮫島美枝子・三川 潮: Citrus属基原生薬の交感神経作動性物質について, *生薬学*, **33**, 146~149 (1979)
- 10) 三川 潮: 陳皮の薬理・化学・生化学, *現代東洋医学*, **5**, 52~54 (1984)
- 11) NAMBA, T., ARAKI, I., MIKAGE, M. and HATTORI, M.: Fundamental studies on the evaluation of crude drugs. VIII. Monthly variations in anatomical characteristics and chemical components of the dried fruit peels of *Citrus unshiu*, *C. aurantium* and *C. natsudaikai*, *生薬学*, **39**, 52~62 (1985)
- 12) 辻田隆廣・高久武司: ラットを用いたカンキツ類の脂肪分解活性の検討, *食科工*, **55**, 102~108 (2008)
- 13) ADRIANE, F., B. and ADAM, M.: *Citrus aurantium*, an ingredient of dietary supplements marketed for weight loss: Current status of clinical and basic research, *Exp. Biol. Med. (May wood)*, **229**, 698~704 (2004)
- 14) 太田英明: 注目を集めるシークワシャーの機能性成分, *Techno Innovation*, **11**, 21~25 (2001)
- 15) 渡辺敦夫・飯野久栄・太田英明・大谷敏郎・木村 進: 温州ミカン用試作搾汁機の特性, *日食工誌*, **29**, 277~282 (1982)
- 16) 太田英明・殿原慶三・幸野憲二・伊福 靖: ユズ果汁の搾汁と品質特性に及ぼす搾汁機の影響, *日食工誌*, **30**, 629~635 (1983)
- 17) OHTA, H., TONOHARA, K., WATANABE, A., IINO, K. and KIMURA, S.: Flavor specificities of Satsuma mandarin juice extracted by a new-type twin screw press extraction system, *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1385~1386 (1982)
- 18) TAKENAKA, M., NANAYAMA, K., ISOBE, S., OZAKI, K., MIYAGI, K., SUMI, H., TOUME, Y., MORINE, S. and OHTA, H.: Effect of extraction method on yield and quality of *Citrus depressa* juice, *Food Sci. Technol. Res.*, **13**, 281~285 (2007)
- 19) 池田浩暢・石井利直・萩木俊行・太田英明: 段ボール容器の改良によるブロッコリー (*Brassica oleracea* var. *italica*) の鮮度保持, *日食保蔵誌*, **28**, 81~86 (2002)
- 20) SAWAMURA, M., OOISHI, S. and LI, Z.-F.: Reduction of dehydroascorbic acid by sodium hydrosulphide and liquid chromatographic determination of vitamin C in citrus juices, *J. Sci. Food Agric.*, **53**, 279~281 (1990)
- 21) 日本フードスペシャリスト協会編: 食品の官能評価・鑑別演習 (第2版) (建帛社), pp. 32~38 (2006)
- 22) (社)日本果汁協会編: 最新果汁・果実飲料事典 (朝倉書院), p. 273, 305 (1997)
- 23) 太田英明・前田万里・與座宏一・吉田企世子: 軟包装容器の酸素透過性および貯蔵温度が混濁リンゴ果汁のアスコルビン酸色調と官能評価に及ぼす影響, *日食保蔵誌*, **16**, 59~63 (1990)
- 24) NOGATA, Y., SAKAMOTO, K., SHIRATSUCHI, H., ISHII, T., YANO, M. and OHTA, H.: Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 178~192 (2006)
- 25) 宮城一葉・藤瀬朋子・古賀信幸・和田浩二・矢野昌充・竹中真紀子・五十部誠一郎・太田英明: 搾汁装置がシークワシャー果汁の嗜好的・官能的特性に及ぼす影響, *日食保蔵誌* 投稿準備
(平成20年7月24日受付, 平成20年10月8日受理)

Flavonoids in *Sasa senanensis* and Their Antioxidative Activities

MATSUTA Tomohiko^{*1}, YAMAZAKI Masao^{*1}, YAJIMA Arata^{*2},
TOMIDUKA Noboru^{*1} and NISHIZAWA Makoto^{*1§}

* 1 Department of Food Science and Technology, Faculty of Bio-industry, Tokyo University of Agriculture,
196, Yasaka, Abashiri-shi, Hokkaido 099-2493

* 2 Department of Fermentation Science, Faculty of Applied Bio-science, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

Studies of the antioxidative constituents in *Sasa senanensis* resulted in the isolation of three flavonoid glycosides from an ethyl acetate-soluble portion of a methanol extract. The structures were characterized to be 6-C- α -L-arabinoside (1), luteolin 6-C- β -D-glucoside (2) and luteolin 7-O- β -D-glucoside (3) from spectral data. The antioxidative activities of these compounds were tested by DPPH and superoxide radical scavenging activity assays, and luteolin 6-C- β -D-glucoside was shown to be the most highly potential antioxidant; the activities of all three compounds were higher than those of quercetin.

(Received Sep. 5, 2008 ; Accepted Nov. 17, 2008)

Key words : *Sasa senanensis*, luteolin 6-C- α -L-arabinoside, luteolin 6-C- β -D-glucoside, luteolin 7-O- β -D-glucoside, antioxidative activity

クマイザサ, luteolin 6-C- α -L-arabinoside ; luteolin 6-C- β -D-glucoside ; luteolin 7-O- β -D-glucoside, 抗酸化活性

Plants in the *Sasa* genus are distributed only in China, Korea and Japan, and eight species of this genus grow in Japanese forests¹⁾. In Hokkaido, the northern part of Japan, more than two thirds of its area is forest, and nearly 90% of the understory vegetation of the forest is covered by three plants in the *Sasa* genus. The most predominant species is *Sasa senanensis*, covering about 50% of the forest²⁾. The amount of fresh *S. senanensis* is estimated at 67 million tons. Fresh leaves of species of the *Sasa* genus have been used for food preservation, and dried leaves are used as herbal teas; however their utilization remains limited.

There have been systematic studies of the pharmacological effects of hot water extract of *S. albinomarnata* (*S. veitii*), and antiulcer, antiinflammatory, antiulcerogenic antitumor and other effects have been reported^{3)~6)}. Recently, the antioxidative activities of a mixture of arabinoxylane and lignines in *S. senanensis* have been investigated⁷⁾. Moreover, the relation between the components of *S. borealis* and their antioxidative activities was reported⁸⁾.

Antioxidative activities are related the prevention of many lifestyle-related diseases and aging.

However, no flavonoids in *S. senanensis* have been studied yet. Therefore, we studied flavonoids in *S. senanensis* leaves and their antioxidative activities to utilize this plant as a functional food and an antioxidative agent.

Materials and Methods

1. Materials and chemicals

Leaves of *S. senanensis* were collected in Abashiri, Hokkaido, Japan in 2004 and were cut into pieces less than $1 \times 1 \text{ cm}^2$. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was obtained from Tokyo Kasei (Tokyo). Diethylenetriamine penta-acetic acid (DTPA) and 5, 5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide (DMPO) were obtained from Labotec (Tokyo). Xanthine oxidase and xanthine were obtained from Sigma (Tokyo). Quercetin and other reagents were obtained from Kishida Chemical (Tokyo).

2. General procedure

Ultraviolet-visible (UV-VIS) spectra, optical rotation and melting points were measured using a Shimadzu UV-1700 spectrometer, a JASCO P-2200 polarimeter and a Yamato FP 62 melting point apparatus, respectively. Nuclear magnetic resonance

§ Corresponding author, E-mail : m1nishiz@bioindustry.nodai.ac.jp

(NMR) spectra were recorded using a JEOL α -500 spectrometer in DMSO- d_6 solution. Electron spin resonance (ESR) spectra were measured using a JEOL JES-FR 30 spectrometer. Mass spectra (MS) were measured using a PerSeptive Biosystems Mariner mass spectrometer. The high-performance liquid chromatography (HPLC) system used was composed of a Shimadzu LC-10 AD pump, a Shimadzu SPD-M 10 AVP photodiode array detector, and a column of TSK gel ODS-80 Ts (4.6mm i.d. \times 150 mm, TOSO). Preparative HPLC was performed on the same system, using a column of TSK gel ODS-80 T (21.5mm i.d. \times 300mm, TOSO).

3. Extraction and isolation

The leaves (200 g) were extracted with methanol (1 ℓ) for 1 day at room temperature, 3 times. Methanol was removed by evaporation in *vacuo* at 40°C to obtain methanol extract (14.44 g). The extract was suspended in water (400 mL) and partitioned with petroleum ether, diethyl ether, and ethyl acetate successively to obtain a petroleum ether-soluble portion (4.88 g), an ether-soluble portion (0.54 g), an EtOAc-soluble portion (0.36 g) and a H₂O-soluble portion (6.12 g). Chlorophylls in the methanol extract were completely removed from the aqueous layer using the petr. ether and diethyl ether partition.

The EtOAc-soluble portion (0.12 g/3mL MeOH) was applied to a Sephadex LH-20 column (2 i.d. \times 90cm), and the column was eluted with MeOH-H₂O (60 : 40). The eluate was collected every 8 mL and divided into eight fractions (Frs.1~8) according to the elution curve made by plotting their absorbance

at 350 nm. Frs. 6 and 7 were further purified by preparative HPLC using H₂O : acetonitrile : MeOH : formic acid = 70 : 20 : 10 : 2 as the eluate. The compound **2** (14.0mg) was obtained from Fr. 6, and the compounds **1** (5.8mg) and **3** (0.7mg) were obtained from Fr. 7. HPLC showed that the compound **4** (9.2mg) was the sole component of Fr. 8.

4. Luteolin 6-C- α -L-arabinoside (**1**)

Yellow amorphous powder, $[\alpha]_D^{25} + 66.0^\circ$ ($c = 0.11$, CH₃OH). mp $> 300^\circ$ (dec.). UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 348 (22,100), 270 (17,600) and 258 (17,400). ESI-TOF-MS m/z : 419 ($[M+H]^+$), HR-MS m/z : 419.1027 (Calcd. for C₂₀H₁₉O₁₀, 419.0978). ¹H- and ¹³C-NMRs : see Tables 1 and 2.

5. Luteolin 6-C- β -D-glucoside (**2**)

Yellow amorphous powder, $[\alpha]_D^{25} + 30.7^\circ$ ($c = 0.12$, CH₃OH). mp 232° (dec.). UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 348 (22,200), 270 (17,600) and 258 (17,400). ESI-TOF-MS m/z : 448 ($[M+H]^+$), HR-MS m/z : 449.1094 (Calcd. for C₂₁H₂₁O₁₁, 449.1084). ¹H- and ¹³C-NMRs : see Tables 1 and 2.

5. Luteolin 7-O- β -D-glucoside (**3**)

Yellow amorphous powder, $[\alpha]_D^{25} - 81.1^\circ$ ($c = 0.10$, CH₃OH). mp 261° (dec.). UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 346 (20,500) and 270 (18,400). ESI-TOF-MS m/z : 448 ($[M+H]^+$), 287 [$(\text{aglycon}+H)^+$], HR-MS m/z : 449.0976 (Calcd. for C₂₁H₂₁O₁₁, 449.1084). ¹H- and ¹³C-NMRs : see Tables 1 and 2.

6. Tricin (**4**)

Yellow amorphous powder, UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 349 (41,000) and 269 (27,200). ESI-TOF-MS m/z : 331 ($[M+H]^+$) : HR-MS m/z : 331.0837 (Calcd. for

Table 1 ¹H-NMR data

Position	1	2	3
3	6.62 (1 H, s)	6.61 (1 H, s)	6.72 (1 H, s)
6			6.43 (1 H, d, $J = 1.9$ Hz)
8	6.48 (1 H, s)	6.47 (1 H, s)	6.77 (1 H, d, $J = 1.9$ Hz)
2'	7.38 (1 H, br.d, $J = 1.8$ Hz)	7.38 (1 H, br.d, $J = 2.4$ Hz)	7.40 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz)
5'	6.89 (1 H, d, $J = 8.5$ Hz)	6.89 (1 H, d, $J = 9.2$ Hz)	6.89 (1 H, d, $J = 8.2$ Hz)
6'	7.40 (1 H, d, $J = 1.8$ Hz)	7.40 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz)	7.43 (1 H, dd, $J = 2.4, 8.2$ Hz)
1''	4.56 (1 H, d, $J = 9.2$ Hz)	4.62 (1 H, d, $J = 9.8$ Hz)	5.06 (1 H, d, $J = 7.3$ Hz)
2''	4.12 (1 H, t, $J = 9.2$ Hz)	4.01 (1 H, dd, $J = 8.5, 9.8$ Hz)	3.25 (1 H, t, $J = 8.7$ Hz)
3''	3.41 (1 H, dd, $J = 3.1, 9.2$ Hz)	3.23 (1 H, t, $J = 8.5$ Hz)	3.30 (1 H, t, $J = 8.7$ Hz)
4''	3.77 (1 H, m)	3.17 (1 H, t, $J = 8.5, 9.2$ Hz)	3.17 (1 H, t, $J = 8.7$ Hz)
5''	3.80 (1 H, dd, $J = 2.4, 11.6$ Hz)	3.18 (1 H, dd, $J = 4.9, 9.2$ Hz)	3.44 (1 H, br.dd, $J = 5.8, 8.7$ Hz)
	3.55 (1 H, d, $J = 11.6$ Hz)		
6''		3.68 (1 H, br.d, $J = 11.6$ Hz)	3.70 (1 H, d, $J = 9.8$ Hz)
		3.45 (1 H, dd, $J = 4.9, 11.6$ Hz)	3.48 (1 H, dd, $J = 5.8, 11.7$ Hz)

Measured in DMSO- d_6 at 60°C

Table 2 ^{13}C -NMR data

Position	1	2	3
2	163.7	163.5	164.5
3	102.7	102.7	103.1
4	181.6	181.6	181.8
5	159.7	160.4	161.1
6	108.8	108.6	99.5
7	162.8	162.9	162.9
8	93.7	93.4	94.7
9	156.1	156.0	156.9
10	103.3	103.3	105.3
1'	121.3	121.4	121.2
2'	113.2	113.2	113.5
3'	145.6	145.6	145.8
4'	149.5	149.5	150.1
5'	115.9	115.9	115.9
6'	118.7	118.7	119.1
1''	73.9	72.9	99.9
2''	68.5	70.4	73.1
3''	74.3	78.7	76.4
4''	68.7	70.3	69.5
5''	70.1	81.1	77.1
6''		61.3	60.6

Measured in $\text{DMSO-}d_6$ at 60°C

$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_7$, 331.0818). ^1H -NMR δ_{H} ($\text{DMSO-}d_6$): 3.87 (6 H, s, O-Me), 6.17 (1 H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.53 (1 H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.96 (1 H, s, H-3), 7.31 (2 H, s, H-2', H-6'), 13.00 (1 H, s, OH-5).

7. Measurement of DPPH radical scavenging activity

The test samples for measuring DPPH radical scavenging activity were prepared as follows: For each portion of MeOH extract, an amount equivalent to 50 mg dry leaf weight was dissolved

in 100 mL of MeOH. The fractions obtained by Sephadex LH-20 column chromatography were used in situ. For the isolated compounds and quercetin (positive standard), 5-100 μM solutions in MeOH were prepared, and IC_{50} was calculated. The sample (100 μL) was added to 100 μL of 0.5 mM DPPH in ethanol. After the mixture was left to stand for 45 sec at room temperature, its ESR spectrum was measured. Antioxidative activity was calculated by comparing the strength of the DPPH radical signal of the test sample with that of the control in percentage.

8. Measurement of superoxide radical scavenging activity

Superoxide activity was measured using a xanthine-xanthine oxidase system. The test sample was prepared by the same methods used in the DPPH radical scavenging activity measurement. To the test sample (50 μL), 50 μL of 5 mM hypoxanthine, 35 μL of DTPA and 15 μL of DMPO were added. Superoxide radicals were generated with the addition of 50 μL of xanthine oxidase (0.4 U/mL) to the mixture. The mixture was left to stand for 40 sec at room temperature and its ESR spectrum was measured. Antioxidative activity was calculated by comparing of the strength of the DMPO- O_2^- adduct superoxide radical signal of the test sample with that of the control in percentage.

9. Results and Discussion

The antioxidative activities of all the portions obtained from the MeOH extract of *S. senanensis* are shown in Table 3. Both of the DPPH and superoxide radical scavenging activities of the H_2O -

Table 3 Antioxidative activities of the portions and fractions obtained from the methanol extract of *S. senanensis*

Sample	DPPH radical scavenging activity (%)	Superoxide radical scavenging activity (%)
Petroleum ether	8.8 ± 1.4	— *
Diethyl ether	0.7 ± 2.1	1.6 ± 6.4
Water	67.3 ± 2.5	30.6 ± 3.0
Ethyl acetate	30.8 ± 1.4	31.3 ± 2.1
LH-20 Fr. 1	—	—
LH-20 Fr. 2	1.7 ± 0.2	—
LH-20 Fr. 3	60.1 ± 1.3	25.9 ± 0.7
LH-20 Fr. 4	4.5 ± 1.2	13.3 ± 2.3
LH-20 Fr. 5	52.0 ± 2.5	40.0 ± 3.0
LH-20 Fr. 6	73.7 ± 1.9	42.4 ± 1.1
LH-20 Fr. 7	79.7 ± 2.5	53.8 ± 1.1
LH-20 Fr. 8	—	—

The negative control of radical scavenging activity is 0 %.

Scavenging rate (%) represents the mean \pm standard error of three experiments.

* : no activity

and EtOAc-soluble portions were higher than those of the other portions. The DPPH radical scavenging activities of the H₂O- and EtOAc-soluble portions were 67.3% and 30.8%, and the superoxide radical scavenging activities of H₂O- and EtOAc-soluble portions were 30.6% and 31.3%, respectively. The strongest activity was found in the H₂O-soluble portion, but many compound flavonoids were detected in the HPLC of the EtOAc-soluble portion. Therefore, the components of the EtOAc-soluble portion were further investigated.

The antioxidative activities of the eight fractions obtained by Sephadex LH-20 column chromatography of the EtOAc-soluble portions are shown in Table 3. Both the DPPH and superoxide radical scavenging activities were found in Frs. 3, 5, 6 and 7. Among these fractions, Frs. 6 and 7 showed strong activities by both methods; thus, these fractions were further purified using preparative HPLC to obtain **2** from Fr. 6 and **1** and **3** from Fr. 7.

1 showed an absorption maximum at 348, 270 and 258 nm in the UV-VIS spectrum. In the ¹H-NMR spectrum, the signals of a 1, 3, 4-substituted benzene ring at δ 7.40 (dd, $J = 1.8, 8.5$ Hz), 7.38 (d, $J = 1.8$ Hz) and 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz) and two singlets at δ 6.62 and 6.48 were observed (Table 1). These results indicate that the aglycon of **1** is luteolin. The molecular formula of **1** determined from the HR-ESI-MS spectrum was C₂₀H₁₈O₁₉. Therefore, **1** was assumed to be a luteolin C-pentoside. This assumption was supported by the results that no fragment ion peak was observed in the ESI-MS spectrum, and that an anomeric proton was observed at δ 4.56. The COSY, HMQC and HMBC spectra confirmed the presence of luteolin as aglycon, and the attachment of a pentopyranoside to the C-6 position of luteolin. The coupling constants of sugar protons were determined to be $J_{1,2} = 9.4$ Hz, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, $J_{3,4} = 3.1$ Hz, $J_{4,5} = 2.4$ Hz and $J_{5,5'} = 11.6$ Hz. Among all the conformations and configurations of four possible pentopyranosides, L- α -arabinoside was shown to be the only explainable structure; this assumption was supported $[\alpha]_D (+66.6^\circ)$. Therefore, the structure of **1** was determined to be luteolin 6-C- α -L-arabinoside. The NMR data mentioned above were measured at 60°C, and the broadening of the signals was observed in the ¹H-NMR spectrum measured at 30°C, particularly that of the C₂-H of arabinose. These results indicate the presence of rotatory isomers around an anomeric

bond, and these phenomena are characteristic of C-glycosides⁹⁾.

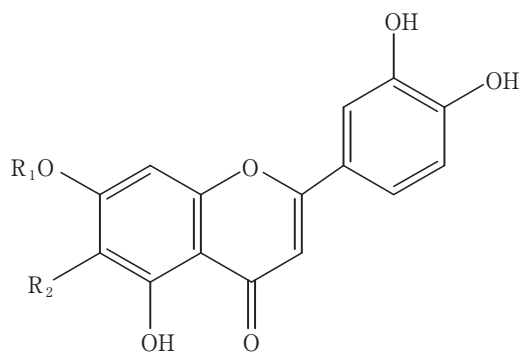
YOON *et al.*¹⁰⁾ isolated luteolin 6-C- α -L-arabinoside from the EtOAc-soluble portion of *S. borealis*. However, no clear evidence of 6-C- α -L-arabinoside was shown, and the ¹H- and ¹³C-NMR data were ambiguous. Physical constant and NMR data were determined in this study for the first time.

The UV-VIS spectrum and the aromatic proton region of the ¹H-NMR spectrum of **2** resembled those of **1** (Table 1). The molecular formula of **2** was determined to be C₂₁H₂₀O₁₁ from the HR-ESI-MS spectrum, and seven protons were observed in the sugar proton region of the ¹H-NMR spectrum, including the anomeric proton at δ 4.62 (d, $J = 9.7$ Hz). Therefore, **2** was assumed to be a luteolin C-hexopyranoside. The COSY, HMQC and HMBC spectra indicated that a hexose is attached to the C-6 of luteolin. The coupling constants of sugar protons implied the presence of β -D-glucose. The structure of **2** was characterized to be luteolin 6-C- β -D-glucoside by comparison of its spectral data with those in the literature¹¹⁾.

The UV-VIS spectrum of **3** also implied the presence of luteolin, but the ¹H-NMR spectrum showed three singlets in the aromatic proton region (Table 1). The molecular formula of **3** was determined to be C₂₁H₂₀O₁₂, and a fragment ion peak at m/z 287 was observed in the ESI-MS spectrum. The anomeric proton was observed at δ 5.06 (d, $J = 7.3$ Hz) along with six other sugar protons. Therefore, **3** was assumed to be a luteolin O-glycoside. The NMR spectra implied the presence of β -D-glucose, and **3** was characterized as luteolin 7-O- β -D-glucopyranoside comparing its spectral and physical data with those in the literature¹²⁾.

Along with the above-mentioned compound, tricin (**4**) was isolated from Fr. 8, and its structure was confirmed by comparing its spectral data with those in the literature^{13)~15)}.

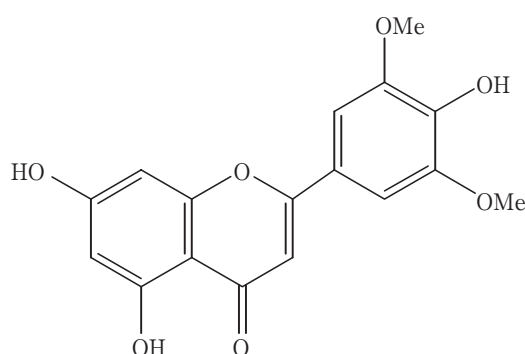
The DPPH and superoxide radical scavenging activities of four isolated compounds (**1-4**) and quercetin are shown in Table 4. The IC₅₀ of the DPPH radical scavenging activity of **2** (33.3 μ M) was lower, and those of **1** and **3** were higher than that of quercetin (38.5 μ M). The IC₅₀ of the superoxide radical scavenging activity of **2** (17.8 μ M) was also lower, and those of **1** and **3** were higher than that of quercetin (18.9 μ M). Tricin was reported to inhibit lipid oxidation¹⁶⁾, but it has no



1 : $R_1 = H$, $R_2 = \alpha$ -L-arabinose

2 : $R_1 = H$, $R_2 = \beta$ -D-glucose

3 : $R_1 = \beta$ -D-glucose, $R_2 = H$



4

Fig. 1 Structures of 1–4

Table 4 Antioxidant activities of compounds isolated from *S. senanensis*

Compound	DPPH radical scavenging activity [IC ₅₀ (μM)]	Superoxide radical scavenging activity [IC ₅₀ (μM)]
1	49.0 ± 3.9	23.3 ± 1.0
2	33.3 ± 0.9	17.8 ± 1.0
3	55.0 ± 2.4	38.0 ± 1.6
4	>1000	>200
Quercetin	38.5 ± 0.2	18.9 ± 0.8

IC₅₀ represents the mean ± standard error of three experiments.

DPPH nor superoxide radical scavenging activity.

RICE-EVANS *et al.*¹⁷⁾ and CAO *et al.*¹⁸⁾ studied the relation between the antioxidative activities and structure of flavonoids, and concluded that the hydroxyl groups in the C-3' and C-4' of the B ring are essential for the antioxidative activity of flavonoid, and that the double bond at C-2 and C-3 and the hydroxyl groups at C-3 and C-5 enhance the activity.

The aglycon of 1–3 is luteolin, and the hydroxyl group at C-3 is absent in comparison with quercetin. However, the DPPH and superoxide radical scavenging activities of 2 are significantly higher than those of quercetin. The position of the C-glycosidation of 2 is the same as that of 1, but the activities of 2 are significantly higher than those of 1, and the activities of 3, which is the O-glycoside of luteolin, are also lower than those of C-glycosides. These results imply that the antioxidative activities of flavonoid glycosides depend on the kind of sugar, and also on the difference between C- and O-glycosides.

Our studies of the antioxidative constituents of *S. senanensis* leaves revealed the presence of two luteolin C-glycosides and one luteolin O-glucoside. Among them, luteolin 6-C-β-D-glucoside (2) was shown to be a more potent antioxidant than quercetin.

The above-mentioned flavonoids are shown to be active constituents responsible for the antioxidative characteristics of *S. senanensis*. We consider our results to be fundamental data for the utilization of *S. senanensis* in the food industry.

References

- 1) HOTTA, M. : Useful plants of the world (Heibonsha, Tokyo), pp. 1276~1277 (1989)
- 2) ITO, K. : Vegetation of Hokkaido (Hokkaido University Press, Sapporo), pp. 264~266 (1987)
- 3) SHIBATA, M., YAMATAKE, Y., SAKAMOTO, M., KANAMORI, M., TAKAGI, K. and OKABE, S. : Pharmacological studies on bamboo grass (1) : Acute toxicities, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of water-soluble fraction (Folin) extracted from *Sasa albomarginata* MAKINO et SHIBATA, *Folia Pharmacol Japon*, **71**, 481~490 (1975)
- 4) SHIBATA, M., KUBO, K. and ONODA, M. : Pharmacological studies on bamboo grass (2) : Central depressant and antitoxic actions of water-soluble fraction (Folin) extracted from *Sasa albomarginata* MAKINO et SHIBATA, *Folia Pharmacol Japon*, **72**, 531~541 (1976)
- 5) SHIBATA, M., KUBO, K. and ONODA, M. : Pharmacological studies on bamboo grass. III. Effects on cardiovascular and isolated organs of water-soluble fraction extracted from *Sasa albomarginata* MAKINO et SHIBATA (Bambusaceae), *Yakugaku Zasshi*, **98**, 1436~1440 (1978)

- 6) SHIBATA, M., FUJII, M. and YAMAGUCHI, R.: Pharmacological studies on bamboo grass. IV. Toxicological and pharmacological effects of the extract (FIII) obtained from *Sasa albomarginata* MAKINO et SHIBATA, *Yakugaku Zasshi*, **99**, 663~668 (1979)
- 7) KUROKAWA, T., ITAGAKI, S., YAMAJI, T., NAKATA, C., NODA, T., HIRANO, T. and ISEKI, K.: Antioxidant activity of a novel extract from bamboo grass (AHSS) against ischemia-reperfusion injury in rat small intestine, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 2301~2303 (2006)
- 8) PARK, H-S., LIM, J. H., KIM, H. J., CHOI, H. J. and LEE, I-S.: Antioxidant flavone glycosides from the leaves of *Sasa borealis*, *Arch. Pharm. Res.*, **30**, 161~166 (2007)
- 9) ANDERSEN, & Oslash; . M. and Markham, K. R.: Flavonoids (Tallor & Francis, New York), pp. 857~915 (2006)
- 10) YOON, K. D., KIM, C. Y. and HUH, H.: The flavone glycosides of *Sasa borealis*, *Kor. J. Pharmacogn*, **31**, 224~227 (2000)
- 11) SUZANA, G. L. and MONACHE, F. D.: 2"-O-caffeoylorientin from *Vitex polygama*, *Phytochemistry*, **49**, 2167~2169 (1998)
- 12) LU, Y. and Foo, L. Y.: Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*, *Phytochemistry*, **55**, 263~267 (2000)
- 13) KWON, Y. S. and KIM, C. M.: Antioxidant constituents from the stem of *Sorghum bicolor*, *Arch. Pharm. Res.*, **26**, 535~539 (2003)
- 14) KONG, C., LIANG, W., XU, X., HU, F., WANG, P. and JIANG, Y.: Release and activity of allelochemicals from allelopathic rice seedlings, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2861~2865 (2004)
- 15) KUWABARA, H., MOURI, K., OTSUKA, H., KASAI, R. and YAMASAKI, K.: Tricin from a malagasy connaraceous plant with potent antihistaminic activity, *J. Nat. Prod.*, **66**, 273~1275 (2003)
- 16) WATANABE, M.: Antioxidative phenolic compounds from Japanese barnyard millet (*Echinochloautilis*) grauns, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4500~4505 (1999)
- 17) RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J. and PAGANGA, G.: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, **20**, 933~956 (1996)
- 18) CAO, G., SOFIC, E. and PRIOR, R. L.: Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships, *Free Radical Biology & Medicine*, **22**, 749~760 (1997)

クマイザサ葉のフラボノイドと その抗酸化活性

松田友彦^{*1}・山崎雅夫^{*1}・矢島 新^{*2}
富塚 登^{*1}・西澤 信^{*1}

* 1 東京農業大学生物産業学部食品科学科
(〒099-2493 北海道網走市八坂196)

* 2 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科
(〒156-8502 東京都世田谷区桜ヶ丘1-1-1)

クマイザサ葉の抗酸化成分を探索したところ、酢酸エチル可溶部から3種のフラボノイドを単離した。それらの構造はスペクトルデータからluteolin 6-C- α -L-arabinoside, luteolin 6-C- β -D-glucoside, luteolin 7-O- β -D-glucosideと決定した。これらのDPPHラジカル消去活性およびSOD様活性を測定した結果、luteolin 6-C- β -D-glucosideが最も強い活性を示し、その活性はquercetinより強かった。

(平成20年9月5日受付, 平成20年11月17日受理)

有色馬鈴薯を用いた飲料の開発

妙田 貴生^{*1§}・永井 毅^{*1}・塚本 篤^{*2}
野田 高弘^{*3}・永島 俊夫^{*1}

* 1 東京農業大学生物産業学部食品科学科

* 2 十勝ビール(株)

* 3 北海道農業研究センター芽室研究拠点

Development of Softdrink Using Purple Potato ‘Shadow Queen’

MYODA Takao^{*1§}, NAGAI Takeshi^{*1}, TSUKAMOTO Atsushi^{*2},
NODA Takahiro^{*3} and NAGASHIMA Toshio^{*1}

* 1 *Department of Food Science and Technology, Faculty of Bioindustry, Tokyo University of Agriculture,
196, Yasaka, Abashiri-shi, Hokkaido 099-2493*

* 2 *Tokachi Beer Inc., Obihiro, Hokkaido 080-0011*

* 3 *Memuro Upland Farming Research Station, National Agricultural Research Center for Hokkaido Region,
Shinsei, Memuro, Kasai-gun, Hokkaido 082-0081*

The development of a softdrink using a purple potato ‘Shadow Queen’ was investigated. Purple potato juice was efficiently obtained by 0.1% amylase and pectinase decomposition of a mixture of 1 volume of steamed potatoes with 4 volumes of water. The juice contained a large amount of reducing sugars and some oligosaccharides. Sugar and acid were added to the juice was performed to adjust taste, flavor, and color stability. As a result, a juice with a good taste and flavor was obtained when its composition was adjusted to Brix 8 and its sugar/acid ratio to 19. Moreover, the purple color of the juice was almost unchanged by heat treatment at 80°C for 30 min for sterilization. The present study revealed the feasibility of developing a novel softdrink made from purple potatoes.

(Received Jul. 23, 2008 ; Accepted Oct. 27, 2008)

Key words : Anthocyanin, Oligosaccharides, Purple potato ‘Shadow Queen’, Saccharification, Softdrink
アントシアニン, オリゴ糖, 有色馬鈴薯, 糖化, 飲料

近年馬鈴薯の育種により、塊茎の肉色が赤や紫色など色彩鮮やかな有色馬鈴薯が育成されている^{1),2)}。これらの色調はアントシアニン由来であることが明らかにされており、高い抗酸化活性や活性酸素消去能を示すとともに、ブルーベリーなどのアントシアニンにはみられない抗インフルエンザ活性などの機能性を有している^{3)~4)}。また、リン酸基を多数もつリン酸化デンプンを多量に含み⁵⁾、分解して生成されるリン酸化オリゴ糖にはミネラル吸収促進作用などの生体調節機能のあることが明らかにされている^{6),7)}。

近年の食品業界では、健康ブームの影響もあり、食物繊維やオリゴ糖あるいは天然色素などの機能性成分を配合した食品が多く販売されるようになった。なかでも、特定保健用飲料は場所や時間を問わずに摂取できること

から消費は高い傾向にある。したがって、有色馬鈴薯を用いて飲料を開発することができれば、付加価値の高い機能性食品として注目される。

筆者らは、これまでに同馬鈴薯を副原料とした発泡酒の醸造法を検討し、アントシアニン由来の紫色を付与した良好な製品の開発に成功した⁸⁾。本研究では、有色馬鈴薯に含まれるアントシアニンの色調や機能性を活かした新規飲料の開発を試みた。

実験方法

1. 試料

試料は、平成17年度および18年度に北海道農業研究センターで栽培された有色馬鈴薯で、塊茎が濃紫色の「シャドークイーン」を用いた。

* 1 〒099-2493 北海道網走市八坂196番地

§ 連絡先 (Corresponding author) E-mail : t1myouda@bioindustry.nodai.ac.jp

* 2 〒080-0011 北海道帯広市西1条南9丁目6番

* 3 〒082-0081 北海道河西郡芽室町新生

2. 有色馬鈴薯の酵素による糖化条件の検討

「シャドーQueen」をオートクレーブにて蒸煮（100℃, 35分間）し、剥皮して磨砕したものに4倍容の純水を加えた。これにビオザイムA〔天野エンザイム（株）製〕を0.01～0.3%, およびペクチナーゼG〔天野エンザイム（株）製〕を0.01～0.1%の条件で添加後、クエン酸を用いてpH 5.0に調整して55℃, 2時間反応させた。これを100℃, 10分間煮沸することにより反応を停止させ、ろ過したろ液を酵素分解液とした。全糖量はフェノール硫酸法⁹⁾, 還元糖量はSomogyi-Nelson法^{10), 11)}にて測定した。糖組成は、酵素分解液を遠心分離（12,000 rpm, 5分間）し、その上清を示差屈折計（Rise-61）を検出器としたHPLC（HITACHI製：L-2350型）にて測定した。カラムはInertsil NH₂（6.2mm×50.0mm）を用い、55%アセトニトリルを移動相として30℃で1.0ml/minの流速で定量した。標準物質として、グルコース、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオースおよびマルトペンタオースを用いた。

3. 糖酸比の検討

酵素分解液に糖（グラニュー糖）を加えてBrix 8あるいは10に調整後、糖酸比17, 19, 20および21となるように酸（クエン酸）を添加した。男女20人をパネラーとして、飲料の色調, 味, 香りおよび総合の4項目について5段階評点法で官能評価を行った。

4. 色調の測定

飲料の色調は、分光測色計〔CM-3500d, ミノルタ（株）〕で測定し、 L^* , a^* , b^* で表示した。1検体あたり3回測定し、平均値を測定値とした。

5. アントシアニン含量の測定

アントシアニン量はGiusti & Wrolstadらの方法¹²⁾に準じて測定した。

6. 加熱時間に対する飲料の色彩変化

最適条件下にて調製した飲料を、80あるいは100℃

（沸騰水浴中）で30分間加熱し、経時的に色調とアントシアニン含量を測定した。なお、色彩は $L^*a^*b^*$ で表した。

7. 成分分析

調製した飲料の成分は次の通り分析した。Brixは屈折糖度計を用いて測定した。酸度は0.1 N水酸化ナトリウムによる中和滴定を行い、クエン酸含量に換算して表した。全糖量はフェノール硫酸法⁹⁾, 還元糖量はSomogyi-Nelson法^{10), 11)}にて定量した。

実験結果および考察

1. 有色馬鈴薯の酵素による糖化条件の検討

原料馬鈴薯に4倍容の水を加え、ビオザイムAとペクチナーゼGを反応させて効率的な糖化条件を検討した。その結果、ビオザイムAの添加量が増加するに従い全糖量および還元糖量とも増加し、デンプンの分解が促進されることが示唆された（Table 1）。0.3%ビオザイムA-0.1%ペクチナーゼG処理した場合、全糖量は3.16mg/100ml, 還元糖量は1.42mg/100mlとなり、全糖量に占める還元糖量の割合は44.9%と最大になった。糖組成は、どの酵素分解液もグルコースおよびマルトースが8割以上を占めた。マルトトリオース, マルトテトラオースおよびマルトペンタオースなどのオリゴ糖は12～19%含まれていたが、酵素量の違いによる差は認められなかった。有色馬鈴薯を用いた飲料を製造する場合、なるべく少ない酵素により効率よく還元糖を生成させ、オリゴ糖を多く含むことが望ましい。したがって、同馬鈴薯の糖化には、ビオザイムAおよびペクチナーゼGを0.1%ずつ添加するのが適当と考えられた。なお、糖化液の搾汁率は74.5%であり、アントシアニンの抽出率は73.9%であった。これは、紫サツマイモを原料とした飲料の場合と同等あるいはそれ以上であった^{13), 14)}。

Table 1 Effects of enzymes on saccharification of starch in tubers of Shadow Queen

Enzymes (%)		Total sugar (mg/100ml)	Reducing sugar (mg/100ml)	Reducing sugar /Total sugar (%)	Sugar composition (%)				
Biozyme A	Pectinase G				Glucose	Maltose	Malto- triose	Malto- tetraose	Malto- pentaose
0.01	0.01	1.64	0.60	36.6	83.9	0.0	4.4	3.5	4.4
	0.05	2.21	0.69	31.2	83.1	0.0	3.5	3.0	5.8
	0.10	2.02	0.67	33.2	84.1	0.0	4.0	3.5	7.1
0.05	0.01	2.38	0.73	30.7	71.9	9.2	4.0	3.2	7.9
	0.05	2.78	0.83	29.9	74.1	9.2	3.2	2.8	6.3
	0.10	2.80	0.90	32.1	71.9	9.2	3.8	3.5	7.9
0.10	0.01	2.66	0.91	34.2	67.5	15.9	8.6	2.9	5.7
	0.05	2.60	0.96	36.9	70.5	10.9	7.7	5.1	6.4
	0.10	2.73	1.18	43.2	71.3	10.8	6.6	3.3	6.6
0.30	0.01	2.74	1.21	44.2	70.6	11.4	7.4	3.0	6.5
	0.05	3.08	1.31	42.5	68.3	15.8	10.2	5.9	0.0
	0.10	3.16	1.42	44.9	68.8	16.7	7.8	5.7	0.0

2. 糖酸比の決定

酵素分解液のBrixを8あるいは10とした後、糖酸比を17～21に調整して飲料の最適糖酸比を検討した。パネルによる官能評価の結果、各飲料間に統計的に有意な差はみられなかったものの、Brix 8では糖酸比19が、Brix 10では17において味、香り、色調とも優れていた (Fig.1)。一方、糖酸比が20および21では甘味が強かった。なお、官能的に高評価が得られた糖酸比17 (Brix 10) および19 (Brix 8) の飲料の色調をみると、どちらもアントシアニン由来の鮮やかな紫色を呈していた。特に糖酸比17の飲料において顕著であった (Table 2)。

以上より、Brixが8の場合は糖酸比19が、10の場合は糖酸比17にすることで、味や香り、色のバランスのとれた有色馬鈴薯飲料が調製可能であると示唆されたが、現代の健康志向を考慮すると、Brix 8、糖酸比19とすることがより望ましいと考えられた。

3. 飲料の色調に対する加熱処理時間の影響

一般に、飲料は加熱処理殺菌されるが、耐熱性の低い成分はこの工程中に分解することが予想される。特に、アントシアニン系色素の色調は熱により退色することが報告されている¹⁵⁾。そこで、飲料の色調に対する加熱処理時間の影響について検討した。80℃で加熱した場合をみると、時間の経過に伴って若干退色するものの、その変化は小さかった。100℃では処理時間の経過に伴い飲料の赤みが減少し、青みが増加した (Table 3)。一

Table 2 Effects of sugar/acid ratio on color tone of softdrinks made from Shadow Queen

Brix	Sugar/acid ratio	Color value		
		L^*	a^*	b^*
8	17	76.16	26.66	-5.97
	19	78.67	23.61	-5.35
10	17	71.74	36.04	-8.17
	19	73.90	34.98	-8.56

Table 3 Effects of heat treatment on color tone of softdrink made from Shadow Queen

Temperature (°C)	Time (min)	Color value		
		L^*	a^*	b^*
80	0	87.54	20.90	-5.70
	5	88.10	19.50	-5.03
	10	88.34	18.80	-4.56
	20	88.50	19.92	-4.21
	30	88.72	17.62	-3.89
100	0	87.54	20.90	-5.70
	5	88.40	18.18	-3.86
	10	88.21	15.48	-2.52
	20	90.21	15.56	-2.12
	30	91.12	13.36	-1.02

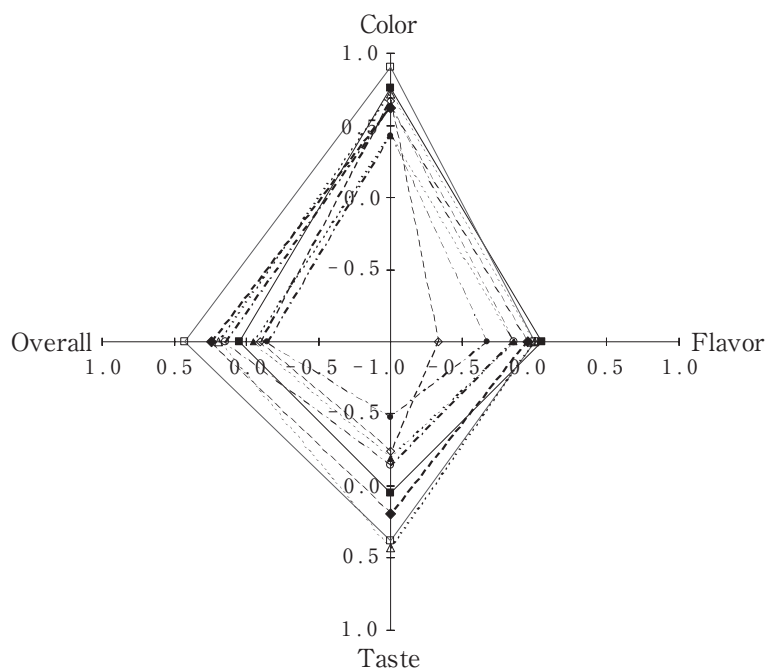


Fig. 1 Sensory evaluation of softdrinks made from Shadow Queen

(■) : Brix, 8 and sugar/acid ratio, 17 ; (●) : Brix, 8 and sugar/acid ratio, 19 ;
 (▲) : Brix, 8 and sugar/acid ratio, 20 ; (◆) : Brix, 8 and sugar/acid ratio, 21 ;
 (□) : Brix, 10 and sugar/acid ratio, 17 ; (◇) : Brix, 10 and sugar/acid ratio, 19 ;
 (△) : Brix, 10 and sugar/acid ratio, 20 ; (○) : Brix, 10 and sugar/acid ratio, 21.

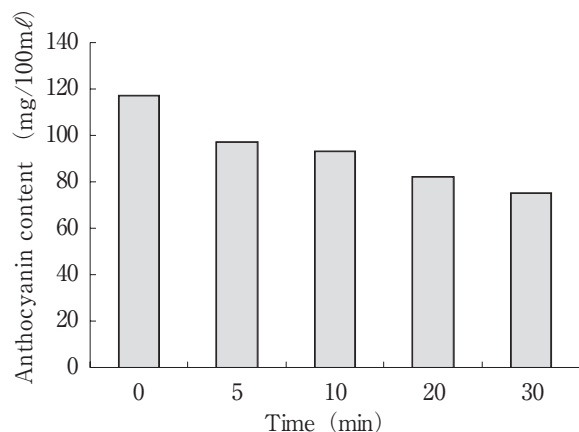


Fig. 2 Anthocyanin content of softdrink after heat treatment

方, 100℃加熱工程中のアントシアニン量は, 加熱開始5分後ではもとの量の約84%を, 20分経過後でも約70%保持していた (Fig. 2)。

食品衛生法における飲料の殺菌条件は, 「pH 4.0未満では65℃で10分間加熱する方法またはこれと同等以上の効力を有する方法」と定められている。有色馬鈴薯飲料を80℃で加熱処理した場合, ほとんど退色がみられなかったことから, 加熱殺菌工程における色調変化はきわめて少ないと考えられた。

4. 飲料の物理化学的特性

前項までの実験により最適と考えられた製造条件によって製品を調製した。すなわち, 0.1%のビオザイムAおよびペクチナーゼGによって糖化された有色馬鈴薯糖化液をBrix 8, 糖酸比19に調製して煮沸殺菌し, 冷却後その特性を検討した。その結果, アントシアニンは155.5mg/100ml含まれており, その色調は a^* が高く b^* が低いことから, 鮮やかな紫色を呈していた (Table 4)。糖酸比の調整にクエン酸を添加していることでpH 3.4となり, 市販されている清涼飲料水よりも低Brix, 低糖酸比により爽やかな口当たりとすっきりとした味わいの製品となった (Table 4)。

Table 4 Physicochemical properties of softdrink made from Shadow Queen

Property	
Brix	8.0
pH	3.4
Total sugar (%)	7.0
Reducing sugar (%)	0.5
Acidity (mℓ/100mℓ)*	0.42
Sugar/acid ratio	19.0
Anthocyanin (mg/100mℓ)	155.6
Color values L^*	68.4
a^*	42.4
b^*	-21.8

* Acidity as citric acid.

本研究では, 機能性を有する有色馬鈴薯をソフトドリンクに用いることで, 原料由来の天然色素を製品に付与することができた。さらに, 馬鈴薯の酵素分解液を添加することで, オリゴ糖も含有する飲料となった。近年, 機能性成分が配合された特定保健用飲料の消費が伸びているが, 本研究により開発された飲料は原料の有する健康機能性を活かした製品となることが示唆され, 有色馬鈴薯の普及にも大きく貢献できるものと期待している。

本研究は, 生物系特定産業技術研究支援センターの「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」による助成により行った。

要 約

有色馬鈴薯を原料とした飲料を開発した。原料馬鈴薯に対して4倍量の水を加え, ビオザイムAおよびペクチナーゼGを0.1%ずつ添加することで効率よくオリゴ糖を含有した糖化液を得ることができた。次に, 糖化液の呈味や色調改善のため, 糖と酸の添加割合を検討した。その結果, 製品の糖度を8, 糖酸比を19に調整することで, 味, 色調および風味の良い飲料となった。さらに, この飲料は80℃で30分間殺菌処理しても色調の変化は小さく, アントシアニン含量は155.5mg/100mℓであった。以上, 本研究の結果は, 有色馬鈴薯の特徴を活かした飲料開発の可能性を示唆した。

文 献

- 1) 石井現相・森 元幸・梅村芳樹・瀧川重信・田原哲士: 赤紫ジャガイモ塊茎のアントシアニンとその含量, 日食工誌, **43**, 887~895 (1996)
- 2) 増田真美・沖 智之・小林美緒・須田郁夫・中尾敬: 紫色・赤色のバレイショから得たアントシアニン含有濃縮物の抗酸化活性, 九農研, **65**, 53 (2003)
- 3) HAN, K. H., HASHIMOTO, N., SHIMADA, K., SEKIKAWA, M., NODA, T., YAMAUCHI, H., HASHIMOTO, M., CHIJI, H., TOPPING, D. L. and FUKUSHIMA, M.: Hepatoprotective effect of purple potato extract against D-galactosamine-induced liver injury in rats, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **70**, 1432~1437 (2006)
- 4) HAYASHI, K., MORI, M., KNOX, Y. M., SUZUTAN, T., OGASAWARA, M., YOSHIDA, I., HOSOKAWA, K., TSUKUI, A. and AZUMA M.: Anti Influenza virus activity of a red-fleshed potato anthocyanin, *Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 242~244 (2003)
- 5) NODA, T., TSUDA, S., MORI, M., TAKIGAWA, S., MATSUMURA-ENDO, C., KIM, S. J., HASHIMOTO, N. and YAMAUCHI, H.: Determination of the phosphorus content in potato starch using an energy-dispersive X-ray fluorescence method, *Food Chem.*, **95**, 632~637 (2006)
- 6) KAMASAKA, H., UCHIDA, M., KUSAKA, K., YOSHIOKA,

- K. and OKADA, S.: Inhibitory effect of phosphorylated oligosaccharides prepared from potato starch on the formation calcium phosphate, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1412~1416 (1995)
- 7) 内田三香子・釜坂 寛・松浦寿喜・岡田茂孝・市川 富夫: ラットのカルシウム吸収に及ぼすリン酸化オリゴ糖の影響, 応用糖質科学, **43**, 535~540 (1996)
- 8) 妙田貴生・塚本 篤・野田高弘・永井 毅・永島俊夫: 有色馬鈴薯を用いた発泡酒の醸造, 日食保蔵誌, **33**, 261~265 (2007)
- 9) DUBOIS, M., GILLES, K., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., and SMITH, F.: A colorimetric method for the determination of sugars, *Nature*, **168**, 167 (1951)
- 10) NELSON, N.: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose, *J. Biol. Chem.*, **153**, 375~380 (1944)
- 11) SOMGYI, M. M.: Notes on sugar determination, *J. Biol. Chem.*, **195**, 19~23 (1952)
- 12) GIUSTI, M. M. and WROLSTAD, R. E.: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. (Ed. R. E. Wrolstad,) John Wiley and sons, New York. F 1.2, pp.1~13 (2001)
- 13) 田丸保夫・馬場透・時村金愛: サツマイモを原料とした飲料の製造法, 鹿児島県農試験場報告, **26**, 21~27 (1998)
- 14) 小野真知子・小塚陽子・山川 理・吉永 優・熊崎稔子・酒井直子: 甘しょの調理開発に関する研究 (第4報) —カロテン, アントシアン, フラボン系統のジュース, ポタージュ, コロッケへの利用について—, 名古屋女子大紀要, **42**, 85~92 (1996)
- 15) TSUKUI, A., MURAKAMI, T., SHINA, R. and HAYASHI, K.: Effect of alcoholic fermentation on the stability of purple sweet potato anthocyanins. *Food Sci. Technol. Res.*, **8**, 4~7 (2002)
- (平成20年7月23日受付, 平成20年10月27日受理)
-

Packaging and Storage of Soft-ripened ‘Saijo’ Persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) for Improving Sales

AKAURA Kazuyuki^{*1§} and ITAMURA Hiroyuki^{*2}

* 1 Matsue College, University of Shimane, 7-24-2, Hamanogi, Matsue-shi, Shimane 690-0044

* 2 Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University,
1060, Nishikawatsu-cho, Matsue 690-8504

The effects of temperature and packaging on the storage life of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) were studied. After storage of several weeks at 0 °C, ‘Saijo’ persimmons were treated with ethylene to obtain soft-ripened persimmons. A new criterion was adopted to categorize the firmness of soft-ripened persimmons. The storage lives of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons were 2, 6 and more than 10 days at 20, 10 and 5 °C, respectively. Packaging in a perforated polyethylene film bag and vacuum packaging of individual persimmons extended the storage life up to 20 days at 5 °C. Vacuum packaging induced infiltration of liquid in the central vascular bundle of the fruit. The persimmons with liquid infiltration, however, did not have an off-flavor. The length of cold storage of harvested persimmons prior to ethylene treatment practically did not affect the storage life of soft-ripened persimmons. The combination of cold storage prior to ethylene treatment and packaging of soft-ripened persimmons enables uninterrupted supply of soft-ripened persimmons until the end of the year.

(Received Jul. 23, 2008 ; Accepted Dec. 8, 2008)

Key words : ethylene treatment, packaging, ‘Saijo’ persimmon, soft-ripened persimmon, storage
エチレン処理, 包装, カキ ‘西条’, 熟柿, 貯蔵

Soft-ripened ‘Saijo’ persimmons have very soft, juicy and jellylike flesh. The unique textural characteristics of the flesh of soft-ripened persimmons have drawn attention these days. Some restaurant owners have shown interest in soft-ripened persimmons and have started having the fruit shipped to their premises. AKAURA *et al.* established a procedure for obtaining many soft-ripened ‘Saijo’ persimmons by cold storage and ethylene treatment of the harvested fruit¹⁾.

Cold storage and packaging of fruit in a plastic film bag is effective for extending the storability of on-tree alcohol-treated ‘Hiratanenashi’ persimmons^{2), 3)}. ITAMURA *et al.* reported that the combination of packaging and cold storage of ‘Saijo’ persimmons treated with carbon dioxide maintained their firmness for 46 days⁴⁾. However, the storability of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons has not yet been determined.

In this study, we investigated the effect of temperature, packaging and cold storage length prior to ethylene treatment on the storability of soft

-ripened ‘Saijo’ persimmons. We proposed a procedure that enables long-term supply of soft-ripened persimmons, combining cold storage prior to ethylene treatment, individual packaging and cold storage of soft-ripened persimmons.

Materials and Methods

Experiment 1. Effect of temperature on storage life of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons

‘Saijo’ persimmons were harvested at commercial maturity late in October in Matsue, Japan. Eight persimmons were sealed in a 26 × 38 cm² polyethylene film bag of 0.08 mm thickness and stored for 4 weeks at 0 °C. Immediately after the end of the storage, a 300 mm long cut was made in each bags for ventilation. The bags containing the persimmons were left to stand at room temperature for 6 hours.

Twelve persimmons were treated with 100 ppm ethylene in a sealed plastic container (capacity : 9 L) for 48 hours at 20 °C. After the treatment, six persimmons were transferred to stainless containers

§ Corresponding author, E-mail : akaurak@swc.ac.jp

($265 \times 153 \times 84 \text{ mm}^3$) that had a polyethylene cover (390 cm^2 area) with a perforation of $\phi 5 \text{ mm}$. The containers were kept at 20°C for 4 days to soft-ripen the fruit. The six soft-ripened persimmons were stored at 20, 10 or 5°C in the stainless container that had a perforated polyethylene cover.

The firmness of soft-ripened persimmons was observed by the naked eye and categorized by the following criterion. The calyx and fruit tissues near the calyx were cut off. Then the fruit was cut in half longitudinally. An edge formed by meeting of the axial surface and the sagittal surface was closely examined. A persimmon with a sharp edge was categorized as suitably soft, while a persimmon with collapsed edge was categorized as over-soft. The firmness of eight randomly chosen persimmons was observed every two days.

Experiment 2. Effect of individual packaging on storage life of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons

‘Saijo’ persimmons were harvested at commercial maturity from late in October in Matsue, Japan and stored for 3 weeks at 0°C . The persimmons were treated with ethylene and soft-ripened as in Experiment 1.

Each soft-ripened persimmon was packaged in a $23 \times 11.9 \text{ cm}^2$ polyethylene film bag of 0.08 mm thickness that had two perforations of $\phi 5 \text{ mm}$. In each perforated polyethylene film bag, the persimmon was arranged so that either the calyx or fruit apex was close to the perforations. Six soft-ripened persimmons were put in a stainless container ($265 \times 153 \times 84 \text{ mm}^3$) that had a polyethylene cover with a perforation of $\phi 5 \text{ mm}$. The ratios of perforation area to total surface area for the polyethylene film bag and the covered container were 0.07 and 0.014%, respectively. The firmness of eight randomly chosen persimmons was examined every two days and categorized as described in Experiment 1.

Experiment 3. Effect of individual packaging in perforated bags and vacuum packaging on storage life of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons

‘Saijo’ persimmons were harvested at commercial maturity from late in October in Matsue, Japan and stored for 4 weeks at 0°C . The persimmons were treated with ethylene and soft-ripened as in Experiment 1.

Each soft-ripened persimmon was either packaged in a $23 \times 11.9 \text{ cm}^2$ polyethylene film bag of 0.08 mm thickness that had two perforations of $\phi 5 \text{ mm}$ or vacuum packaged in a $23 \times 11.9 \text{ cm}^2$ polyethylene film



Fig. 1 Persimmons are vacuum packaged (left), packaged in a polyethylene bag with the calyx near perforations (center) and in a polyethylene bag with the fruit apex near perforations (right)

Arrows indicate perforations.

bag of 0.08 mm thickness. In each perforated polyethylene film bag, the persimmon was arranged so that either the calyx or fruit apex was close to the perforations (Fig.1). The firmness of eight randomly chosen persimmons was examined every two days and categorized as described in Experiment 1. Also, the infiltration of liquid in central vascular bundle of fruit was observed.

Experiment 4. Effect of storage length prior to ethylene treatment on storage life of packaged soft-ripened ‘Saijo’ persimmons

‘Saijo’ persimmons were harvested at commercial maturity late in October in Matsue, Japan and stored for 2 or 4 weeks at 0°C as in Experiment 1. The persimmons were treated with ethylene and soft-ripened as in Experiment 1.

Each soft-ripened persimmon was packaged as in Experiment 2. The firmness of eight randomly chosen persimmons was examined every two days and categorized as in Experiment 1.

Results

Experiment 1

A persimmon with a collapsed edge is categorized as over-soft, and hence does not have marketing quality. In this study, the storage life of soft-ripened persimmons was defined as the maximum period for which a persimmon with a collapsed edge did not appear. The storage lives of soft-ripened persimmons were 2, 6 and more than 10 days at 20, 10 and 5°C , respectively (Fig.2). The use of a lower temperature extended the storage life of soft-ripened ‘Saijo’ persimmons.

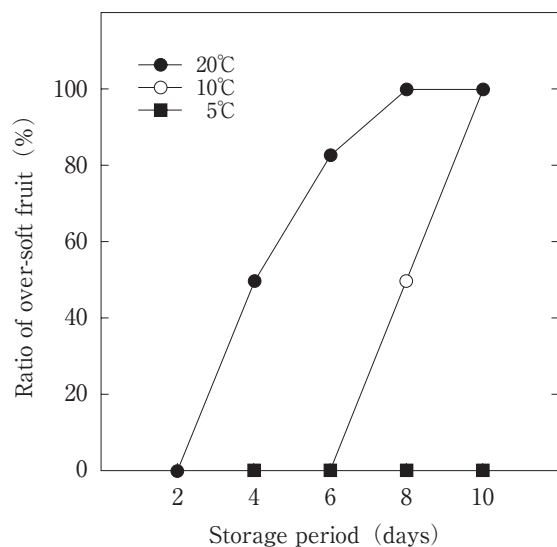


Fig. 2 Effect of temperature on storage life of soft-ripened 'Saijo' persimmons

Six soft-ripened persimmons were stored at 20, 10 or 5 °C in a stainless container that had a perforated polyethylene cover.

Experiment 2

The storage life of soft-ripened persimmons at 5 °C packaged in perforated polyethylene film bags in which the persimmon was arranged so that the fruit apex was close to the perforations was 20 days. The storage life of soft-ripened persimmons kept in perforated containers was 22 days (Table 1).

Experiment 3

The storage life of soft-ripened persimmons packaged in perforated polyethylene film bags in which the persimmon was arranged so that fruit apex was close to the perforations was 20 days at 5 °C. The storage life of soft-ripened persimmons packaged in perforated polyethylene film bags in which the persimmon was arranged so that the calyx of the fruit was close to the perforations and that of vacuum packaged persimmon were 22 days (Table 2).

Vacuum packaging induced infiltration of liquid in the central vascular bundle of fruit on the 20th day (Table 2). The persimmons with liquid infiltration, however, did not have an off-flavor.

Experiment 4

The storage lives at 5 °C of the soft-ripened persimmons made from persimmons stored at 0 °C for two weeks and four weeks prior to ethylene treatment were 24 and 22 days, respectively (Table 3).

Table 1 Effect of individual packaging on storage life of soft-ripened 'Saijo' persimmons

packaging	storage life (days) ^z
perforated bag ^y	20
unpacked ^x	22

Z : the storage life of a soft-ripened persimmon was defined as the maximum period for which a persimmon with a collapsed edge did not appear.

Y : a persimmon was packaged in a polyethylene film bag so that the fruit apex was close to the perforations.

X : six persimmons were put in a container that had a polyethylene cover with a perforation.

Table 2 Effect of packaging on storage life and liquid infiltration in central vascular bundle of soft-ripened 'Saijo' persimmons

packaging	storage life at 5 °C (days)	liquid infiltration (%) ^z
perforated bag 1 ^y	22	0
perforated bag 2 ^x	20	0
vacuum packaged	22	100 ^{**w}

Z : percentage of persimmons that had liquid infiltration in central vascular bundle. Persimmons were stored for 20 days at 5 °C.

Y : a persimmon was packaged in a polyethylene film bag so that the fruit apex was close to the perforations.

X : a persimmon was packaged in a polyethylene film bag so that the calyx was close to the perforations.

W : ** indicates that ratios are significantly different at the 1 % level by the Kruskal-Wallis test.

Table 3 Effect of storage length at 0 °C prior to ethylene treatment on storage life of soft-ripened 'Saijo' persimmons

length of storage at 0 °C	ratio of over-soft persimmons (%)	
	22 days ^z	24 days
2 weeks	0	0
4 weeks	0	50 ^{*x}

Z : a persimmon was packaged in a polyethylene film bag so that the fruit apex was close to the perforations and stored at 5 °C.

X : * indicates that ratios are significantly different at the 5 % level by Mann-Whitney's U test.

Discussion

Softening degrees are widely used criteria for categorizing the firmness of softening persimmons^{2)~4), 6)}. According to the criteria proposed by IWATA *et al.*⁶⁾, all soft-ripened persimmons in this study were categorized as degree four, that is, the soft-ripened persimmons were very soft and entirely translucent. Changes in

the firmness of the soft-ripened persimmons would not be detectable using the criteria. It was necessary to adopt a new criterion to categorize the firmness of soft-ripened persimmons. The new criterion was proposed in consideration of the practical aspect of preparation of soft-ripened persimmons in restaurants. We assume that the soft-ripened persimmons, whose calyx and tissues near the calyx were cut off, are to be cut in half longitudinally¹⁾. Cutting off the calyx and tissues near the calyx facilitates scooping of the soft flesh. The firmness of the fruit flesh near the calyx is a determining factor of the firmness of cut persimmons.

Soft-ripened persimmons stored in containers need repacking for shipping. Soft-ripened persimmons seem to soften during storage¹⁾. Handling of unpackaged soft-ripened persimmons for a longer term results in a greater risk of injury to the peel. In consideration of the risk during repacking of the soft-ripened persimmon, storage using individual packaging is better than storage in containers.

Soft-ripened persimmons rapidly lost their firmness at 20°C (Fig.2). A period of two days is considered too short for shipping and storage of the persimmons prior to consumption. The storage life of the fruit was 6 days at 10°C. The average monthly temperature in November in Matsue is about 10°C. It is often observed that naturally soft-ripened persimmons maintain adequate firmness in cool places. This observation coincides well with the result in Fig.2. Soft-ripened persimmons maintained their firmness for more than 10 days at 5°C. Ten days seems to be sufficient for shipping and storage of the persimmons prior to consumption.

The storage life of individually packaged soft-ripened persimmons at 5°C was 20 days. The storage life of the fruit stored in perforated containers was 22 days (Table 1). From the practical standpoint, the difference between these storage lives is unimportant. A storage life of 20 days at 5°C is satisfactorily long for shipping and storage of soft-ripened 'Saijo' persimmons prior to consumption.

When the long ovoid 'Saijo' persimmon was packaged in a perforated slender bag, the perforations were close to either the calyx or the apex of the fruit. The storage life of the soft-ripened persimmons packaged in the perforated polyethylene film bags in which each persimmon was arranged so that fruit apex was close to the perforations was 20 days at 5°C. The storage life

of the fruit packaged in the perforated polyethylene film bags in which each persimmon was arranged so that the calyx of the fruit was close to the perforations was 22 days (Table 2). A period of twenty days is considered to be sufficiently long for shipping and storage of soft-ripened 'Saijo' persimmons prior to consumption. The difference in the location of the perforations in the polyethylene film bags practically did not affect the storage life of the fruit. The storage life of the vacuum packaged persimmons was 22 days. Compared with the individual packaging in perforated bags, vacuum packaging practically did not affect the storage life of soft-ripened persimmons. The liquid infiltration seemed to be induced by the anaerobic condition in the vacuum packages.

The storage lives at 5°C of the soft-ripened persimmons made from persimmons stored at 0°C for two weeks and four weeks prior to ethylene treatment were 24 and 22 days, respectively (Table 3). Although the storage life was longer by two days for the soft-ripened persimmons made from persimmons stored at 0°C for two weeks than for the fruit stored for four weeks, the difference was practically unimportant. As repeatedly mentioned above, a storage life of more than 20 days at 5°C is considered to be satisfactorily long for shipping and storage of soft-ripened 'Saijo' persimmons prior to consumption.

The advantages of individual packaging of the soft-ripened persimmons in polyethylene film bags are that the film protects very soft persimmon peel from sustaining injuries during handling and the packaged persimmons in small bags are easy to handle. The individual packaging also prevents the soft-ripened persimmons from being crushed in a container during transportation. The packaged persimmons were packed in a container so that each persimmon stood on end with its calyx at the bottom (Fig.3). We found no crushing of transported soft-ripened persimmon packed in a container by the above method (data not shown). Individual packaging seemed to be effective for handling and transportation of soft-ripened 'Saijo' persimmons. Although the individual packaging is generally expensive, the higher price of the soft-ripened persimmons would compensate for the cost of the individual packaging, particularly in December when the soft-ripened 'Saijo' persimmons are not commonly supplied.



Fig. 3 Vacuum packaged persimmons are packed in a container made of Styrofoam

Each persimmon stands on end with its calyx at the bottom.

AKAURA reported that there was a positive correlation between storage length of 'Saijo' persimmons at 0 °C prior to ethylene treatment and fruit cracking ratio of soft ripening persimmons⁵⁾. The estimated fruit cracking ratios for persimmons stored at 0 °C for two, three and four weeks are 2.4%, 7.8% and 13.1%, respectively. The fruit cracking ratio less than 10% is considered to be acceptable, hence the longest storage period at 0 °C is three weeks.

'Saijo' persimmons completely soft-ripen in 6 days at 20°C¹⁾. At least seven days of storage at 0 °C prior to ethylene treatment are necessary for all treated persimmons to soft ripen concurrently. The harvest of 'Saijo' persimmon usually begins in mid October in Matsue. Therefore, the earliest shipping time for soft-ripened 'Saijo' persimmon is the end of October. The combination of storage for three weeks at 0 °C prior to ethylene treatment and storage of packaged soft-ripened persimmons for 20 days at 5 °C enables uninterrupted supply of

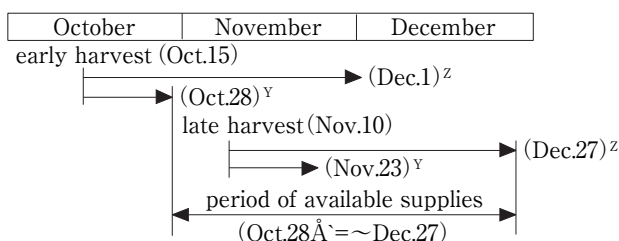


Fig. 4 Period of available supplies of soft-ripened 'Saijo' persimmons

Z : The latest shipping time is 47 days after harvest ; twenty-one days for storage at 0 °C, six days for soft ripening and twenty days for storage at 5 °C.

Y : The earliest shipping time is 13 days after harvest ; seven days for storage at 0 °C and six days for soft ripening.

soft-ripened persimmons until the end of the year (Fig.4).

References

- 1) AKAURA, K., SUN, N. and ITAMURA, H.: Effect of ethylene and fatty acid treatment on soft-ripening in Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Saijo' fruit, *Hort. Res.*, **7** (1), 111~114 (2008)
- 2) TAIRA, S. and ISOBE, S.: Effects of Methods for Removal of Astringency and Storage Temperatures on Storability in Hiratanenashi Persimmon Packed with Plastic Film, *Food Preser. Sci.*, **31**, 261~265 (2005)
- 3) TAIRA, S. and IMAI, E.: Long-term storability of on-tree alcohol-treated 'Hiratanenashi' persimmons packed in plastic film, *Food Preser. Sci.*, **33**, 255~259 (2007)
- 4) ITAMURA, H., YOKOI, M., YAMAMURA, H. and NAITO, R.: The study of Long-term Storage of Japanese Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Saijo' fruit, *J. Japan. Soc. for Cold Preservation of Food.*, **19**, 14~19 (1993)
- 5) AKAURA, K.: Fruit Cracking in 'Saijo' Japanese Persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) during Soft Ripening, *Food Preser. Sci.*, **34**, 191~195 (2008)
- 6) IWATA, T., NAKAGAWA, K. and OGATA, K.: Relationship between the ripening of harvested fruits and the respiratory pattern (I) On the class of respiratory pattern of Japanese persimmons (*Diospyros Kaki* LINN. f.), *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **38**, 194~201 (1969)

効果的な販売のための 西条ガキ熟柿の包装と貯蔵

赤浦和之^{*1}・板村裕之^{*2}

^{*} 1 島根県立大学短期大学部

(〒690-0044 島根県松江市浜乃木 7-24-2)

^{*} 2 島根大学生物資源科学部

(〒690-8504 島根県松江市西川津町1060)

カキ '西条' 熟柿の貯蔵性に及ぼす温度と包装の影響を調べた。収穫した '西条' 果実を 0 °C で数週間貯蔵した後、果実をエチレン処理し熟柿を得た。熟柿の硬度を判定するための新しい判断基準を用いた。すなわち、熟柿からヘタを含む果肉の一部を切除した後果実を縦に半分にカットしたとき、果実横断面と縦断面が形成する縁の崩壊がみられる果実を過軟化果とし、この過軟化果が出現しない最大の期間を熟柿の貯蔵可能期間とした。この基準により、熟柿の貯蔵可能期間は20、10および5 °C

では、それぞれ2, 6日および10日あまりと判断された。有孔ポリエチレン袋個包装およびポリエチレン袋真空個包装により、5℃における熟柿の貯蔵可能期間は20日にも達した。真空個包装では熟柿の中心維管束が水浸状態になったが、異臭は認められなかった。収穫果実のエチ

レン処理前の低温貯蔵期間の長さは、熟柿の貯蔵性には影響を与えなかった。エチレン処理前低温貯蔵と個包装した熟柿の低温貯蔵を組み合わせることにより、年末まで途切れることなく熟柿を供給することが可能になる。

(平成20年7月23日受付, 平成20年12月8日受理)

カキ果実の脱渋機序の解明ならびに長期貯蔵に関する研究

平成20年度日本食品保蔵科学会学会賞

平 智*§

* 山形大学農学部

Studies on New Factors Related to Astringency Removal and Long-Term Storability in Persimmon Fruit

TAIRA Satoshi*§

* Faculty of Agriculture, Yamagata University, 1-23, Wakaba-machi, Tsuruoka, Yamagata 997-8555

Key words : astringency, astringency removal, fruit quality, persimmon, storability

渋味, 脱渋, 果実品質, カキ, 貯蔵性

1. はじめに

渋ガキ果実の渋味が脱渋処理によって消失するのは, 渋味の原因物質である可溶性のカキタンニンが果実内に生じたアセトアルデヒドによって不溶化するためであることはよく知られているところである^{1)~6)}。つまり, 強烈な渋味を呈する高分子ポリフェノールである可溶性タンニンは, 各種脱渋処理によって果肉中に生成したアセトアルデヒドによって, あたかもフェノール樹脂が固まるように縮合して不溶化し, その結果渋味が感じられなくなるのである。

従来から, このアセトアルデヒドによる可溶性タンニンの縮合説は渋ガキ果実の脱渋メカニズムの定説とされてきた。しかし, 一方で脱渋へのアセトアルデヒドの関与が考えにくいケースやアセトアルデヒド以外の要因の存在も示唆されてきた^{1), 7)~10)}。

例えば, 渋ガキ果実を凍結した後に解凍すると渋味の明らかな減少が観察されるが, それらの過程では果肉にアセトアルデヒドの生成や蓄積がほとんど認められない^{7), 8)}。また, アルコール脱渋では処理によって果肉細胞の浸透圧が変化し, タンニン細胞が脱水されることで液胞中のタンニンが不溶化する可能性⁹⁾やタンニンが果肉細胞中の糖と結合することによって不溶化するのではないかとする仮説¹⁰⁾などが提出されている。

本稿ではまず, 渋ガキ果実の各種脱渋過程における渋味の減少にかかわるアセトアルデヒド以外の要因として, 筆者らが最近提案した2つの新しい要因について解説する。

つぎに, 渋ガキ脱渋果の加工利用を考える際の最も重

要な問題の一つである「渋もどり」現象(いったんは消失した渋味が加熱処理や酸の添加などによって再び出現すること)の評価法と渋もどりにくい果実を確保する方法について考察する。

さらに, プラスチックフィルムで包装した渋ガキ果実の長期貯蔵性に関する最近の研究結果を紹介することにした。

なお, カキ果実の脱渋とそのメカニズム全般に関する解説については筆者の別の総説^{5), 6)}を, また, カキ果実の収穫後の軟化ならびに貯蔵問題については既往の報告や総説^{1), 11)~13)}を合わせて参照していただきたい。

2. 渋ガキの脱渋にかかわる新しい要因

渋ガキ果実の収穫後の追熟に伴う脱渋(いわゆる熟柿)やはく皮乾燥脱渋(いわゆる干し柿)のように果肉の軟化を伴う脱渋過程では, 渋味の原因物質である果肉中の可溶性タンニン濃度の減少より明らかに先だって渋味の減少が観察される。

また, 渋ガキ果実の凍結および解凍に伴う脱渋過程では, 果肉へのアセトアルデヒドの蓄積がほとんど認められないにもかかわらず可溶性タンニンの不溶化が進行する。

これらの事実は, 渋ガキ果実の脱渋(渋味の減少)にアセトアルデヒド以外の要因が深くかかわっている場合があることを示唆している。

(1) ペクチンとタンニンの複合体形成

まず, 渋ガキ果実における果肉の軟化を伴う場合の渋味の減少に注目した。

カキ果実においてもほかの多くの果実と同様に, 果肉

* 〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町1-23

§ 連絡先 E-mail: staira@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp

が軟化するのに伴って細胞壁の構成成分であるペクチンなどの多糖類がしだいに水溶化することが知られている^{12)~14)}。

そこで、渋ガキ果実から得た果汁あるいは果実から精製されたタンニンの水溶液と市販のペクチンの水溶液をさまざまな濃度で混合して混合液の渋味の変化をみた。すると、水溶性ペクチンの存在は果汁および精製タンニンの渋味を効果的に減少させた。混合液の渋味の程度は、フォーリン・デニス法よりタンパク結合法によって測定したタンニン濃度とほぼよく一致していた(表1)¹⁵⁾。

インタクトな果実の収穫後の追熟過程でも、軟化の進行に伴ってペクチンの可溶化とともに渋味の減少が進むことが明らかであった(表2)¹⁵⁾。

本稿では紙幅の都合で詳しい説明を省略するが、一連のモデル実験とインタクトな果実を用いた実験結果¹⁵⁾から、渋ガキ果実の果肉の軟化を伴う脱渋過程においては、軟化に伴って可溶化したペクチン(水溶性ペクチン)が可溶性タンニンと複合体を形成(complex formation)することによって渋味が減少しているものと考えられた。

(2) 細胞組織断片へのタンニンの吸着

一般に、果実の軟化に伴って果肉細胞組織の崩壊が進行する。このような軟化に伴って生じた細胞組織の断片に可溶性タンニンが吸着することによって不溶化する可能性をモデル実験等によって確かめた。

まず、収穫後しばらく常温に保持して軟化しかかったインタクトな渋ガキ果実を果皮を破らないように手でやさしくマッサージした(もんだ)ところ、マッサージの

直後にもはや果肉の渋味は明らかに減少し、可溶性タンニンの一部が不溶化していた(図1)。このことは、マッサージによって果肉が崩壊して、果実中に生じた果肉細胞断片への可溶性タンニンの吸着が促進され不溶化が進んだものと考えられた。

なお、マッサージ後24時間が経過すると、果肉に少量のアセトアルデヒドが蓄積するとともにタンニンの不溶化がさらに進み、その結果渋味がほとんど感じられなくなった¹⁶⁾。

表2 果実の収穫後の軟化に伴う可溶性タンニン含量と渋味の変化

軟化度 ^a	渋味 (スコア) ^b		可溶性タンニン (mg/gFW)
	咀嚼く前	咀嚼く後	
I	3.5	4.0	15.15±0.04 ^c
II	1.0	3.5	16.61±1.25
III	0.0	2.5	12.23±1.52
IV	0.0	0.0	0.51±0.04
有意性 ^d	*	*	*

a I：十分に硬い，II：全体にかなり軟いがしっかりしている，III：指で押すと崩壊するか果肉の一部が水浸状，IV：非常に軟弱か果肉の一部が崩壊している。

b 0：渋くない，1：ほとんど渋くない，2：やや渋い，3：かなり渋い，4：きわめて渋い(必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5の評価も可)。3人のパネリストの平均値。

c 平均±SE (n=3)。

d NPAR1WAY (Kruskal-Wallis) テストによる有意性。

*：5%レベルで有意。

表1 ペクチンとタンニンの混合液の可溶性タンニン含量と渋味

混合液	渋味 (スコア) ^a	可溶性タンニン (mg/ml)	
		タンパク結合法	Folin-Denis法
果汁			
+ 蒸留水	4.0	10.39±0.16 ^b	11.04±0.10
+ 0.1%ペクチン	3.7	7.32±0.14	11.06±0.09
+ 0.5%ペクチン	2.7	7.83±0.52	11.12±0.02
+ 1.0%ペクチン	1.5	2.07±0.45	11.50±0.01
+ 2.0%ペクチン	1.0	1.76±0.21	11.41±0.09
有意性 ^c	***	***	**
1.0%精製カキタンニン			
+ 蒸留水	3.3	4.50±0.05	5.21±0.07
+ 0.1%ペクチン	3.2	3.99±0.16	5.22±0.05
+ 0.5%ペクチン	2.2	2.62±0.05	5.39±0.09
+ 1.0%ペクチン	1.8	2.20±0.12	5.30±0.04
+ 2.0%ペクチン	1.3	2.17±0.14	5.36±0.09
有意性	***	***	NS

a 0：渋くない，1：ほとんど渋くない，2：やや渋い，3：かなり渋い，4：きわめて渋い(必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5の評価も可)。3人のパネリストの平均値。

b 平均±SE (n=3)。

c xをペクチンの濃度，yを渋味のスコアあるいは可溶性タンニン含量としたときの回帰式： $y=ax+b$ の有意性。

***：0.1%レベルで有意，**=1%レベルで有意，NS：有意差なし。

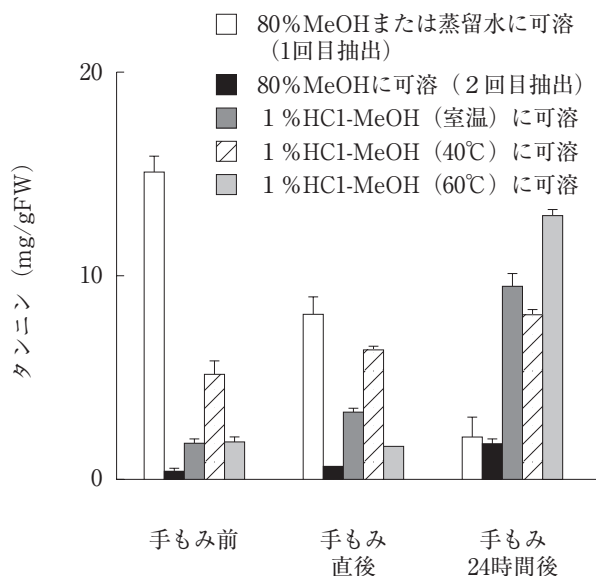


図1 手もみ処理がインタクトな果実のタンニンの不溶化に及ぼす影響 (縦線はSEでn = 3)

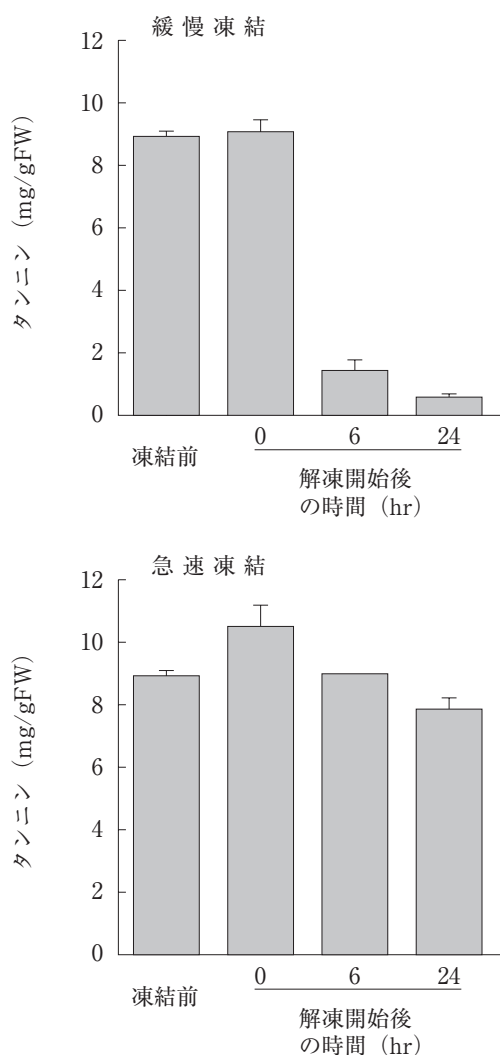


図2 凍結速度が果肉の解凍過程における可溶性タンニン含量に及ぼす影響 (縦線はSEでn = 3)

細胞組織の崩壊は、植物組織をゆっくりと凍結する過程でも認められることはよく知られている^{17), 18)}。

そこで、凍結速度を変えることによって渋ガキから調製した果肉スティックの細胞組織の破壊の程度に違いを生じさせ、その影響をみる実験を行った。

通常のフリーザーを用いて緩慢凍結させた果肉スティックと液体窒素中に直接投入することによって急速凍結させた果肉スティックの間には、解凍後の可溶性タンニンの不溶化の程度に大きな違いが認められた。

すなわち、緩慢凍結した果肉スティックでは可溶性タンニンの大幅な不溶化が認められ渋味を感じなくなったが、急速凍結した果肉スティックでは可溶性タンニンの不溶化はほとんど認められず渋いままであった (図2)。

これらの果肉組織を走査型電子顕微鏡によって観察したところ、緩慢凍結したものは細胞組織の破壊の程度が甚大であったのに対して、急速凍結したものは凍結前とほとんど変わらない状態であることがわかった¹⁹⁾。

以上のような実験の結果から、渋ガキ果実の脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因として、可溶性タンニンと水溶性ペクチンとの複合体形成ならびに細胞組織断片への可溶性タンニンの吸着という新しい2つの要因を提案した。ただし、実際の脱渋過程ではこれらの要因が相互に、あるいはこれらの要因とアセトアルデヒドが複合的に作用している場合もあるものと推察される。

3. 渋もどりからみた果実の加工適性

渋ガキ果実を脱渋後に加工利用する際、いわゆる「渋もどり」現象がしばしば問題になることがある。このことが渋ガキ果肉の加工利用を難しくしている主な原因の一つであるが、その詳細や解決策についてはこれまであまり明らかにされてこなかった。

そこで、今までに報告されている不溶性タンニンの可溶化に関する知見^{20), 21)}などを参考にして、いったん脱渋を完了させた果実の不溶性タンニンを一定条件のもとで順次抽出し、抽出画分ごとにその量を測定することによって渋もどりのしにくさを相対的に評価する方法を考案した²²⁾。

この方法を用いて、脱渋方法や貯蔵期間の違いが渋もどりのしにくさに及ぼす影響について検討を加えた。

(1) 脱渋方法と渋もどりのしにくさ

渋ガキ果実の脱渋方法にはアルコール脱渋や炭酸ガス(二酸化炭素)脱渋をはじめ、はく皮乾燥脱渋(干し柿)や追熟脱渋(熟柿)などさまざまな方法が知られている^{1), 5), 6)}。

そこで、数種類の異なる方法で脱渋した渋ガキ果実の渋もどりのしにくさを比較した結果、凍結・解凍処理した果実はアルコール脱渋や炭酸ガス脱渋した果実に比べて渋もどりしやすいことが明らかであった (図3)²²⁾。また、炭酸ガス脱渋した果実よりも干し柿やあんぽ柿(半乾燥の干し柿)にした果実の果肉の方が渋もどりし

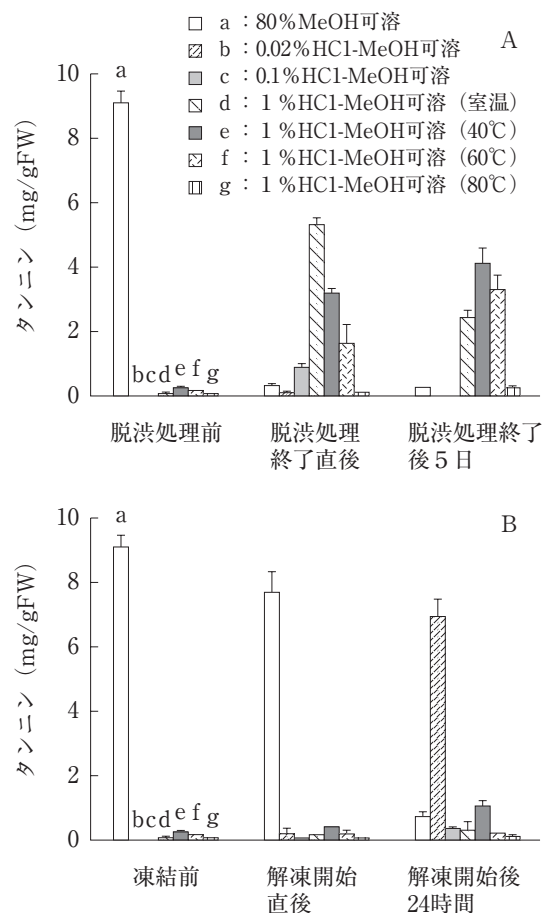


図3 二酸化炭素処理 (A) ならびに凍結・解凍処理 (B) がカキ‘平核無’果実の渋もどりに及ぼす影響

(縦線は SE で $n = 3$)

にくい傾向があることがわかった²³⁾。

以上のことから、渋ガキの果肉を加工利用する際には、現在最も一般的かつ工業的な脱渋方法である炭酸ガス処理で脱渋した果実よりも干し柿にした果肉を用いるほうが渋もどりの危険性が低いものと考えられた。

(2) 貯蔵期間が渋もどりに及ぼす影響

また、脱渋後の果実の貯蔵(冷蔵)期間の長短が渋もどりのしやすさに影響を及ぼすことが明らかになった。

この実験結果は、固形アルコールを入れた小型のポリ袋で樹上の果実を2~3日間被袋することによって脱渋した樹上脱渋果^{24)~26)}について検討した結果であるが、収穫後の冷蔵貯蔵期間が長くなるほど脱渋果の果肉は渋もどりにしにくくなる傾向が認められた。なお、この傾向は樹上脱渋の処理時期が遅い果実ほど明確に認められた(図4)²³⁾。

このことから、渋ガキ果実の果肉をいったん冷蔵貯蔵して加工利用する際には、貯蔵の期間や条件の違いも渋もどりのしやすさに影響を及ぼす可能性があるものと思われる。

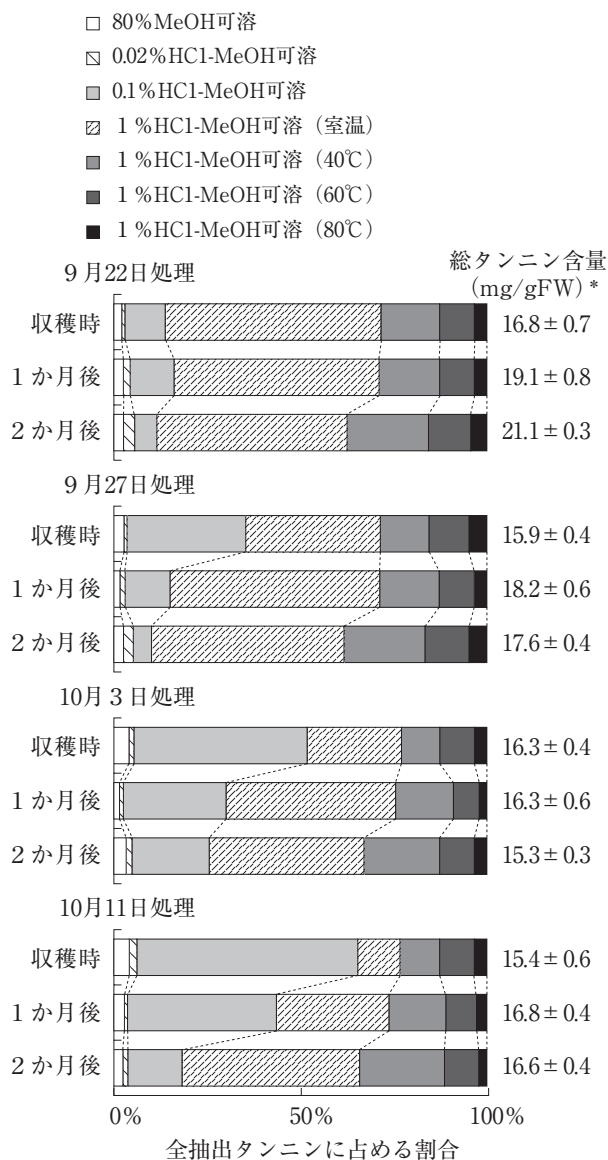


図4 樹上脱渋の処理時期ならびに冷蔵貯蔵に期間がカキ‘平核無’果実の渋もどりのしやすさに及ぼす影響

凡例はそれぞれの溶媒で抽出されたタンニンを示す。
総タンニン含量は平均 ± SE ($n = 6$)。

4. プラスチックフィルム包装した果実の長期貯蔵性

さて、甘ガキ果実の長期貯蔵にはプラスチックフィルムで包装した果実を冷蔵する方法が有効であることが知られている^{1), 11)}が、渋ガキ果実については文室らの報告^{27), 28)}のほかあまり詳しく検討されていない。

そこで、渋ガキ脱渋果の出荷期間の拡大を目的としたより有効な長期貯蔵法の開発を目指して、脱渋方法や果実の収穫熟度が長期貯蔵性に及ぼす影響について検討した。

(1) 脱渋方法と果実の長期貯蔵性

まず、渋ガキ果実の長期貯蔵に際しては、脱渋完了後に貯蔵するのがよいのか、脱渋しながら貯蔵する（果実を利用する時点までに脱渋を完了させる）のがよいのかについて検討した。

その結果、図5に示したとおり、収穫後に炭酸ガス処理（高濃度二酸化炭素短期間処理）によって脱渋を完了させた果実を直ちにエチレン吸収剤とともにプラスチックフィルムで個別包装して1℃で冷蔵する方法が最も優れていることがわかった²⁹⁾。

また、アルコール樹上脱渋果もプラスチックフィルムで個別包装して冷蔵貯蔵すると、炭酸ガス脱渋果には及ばないものの、1℃で約3か月間の長期貯蔵が可能であった（図6）³⁰⁾。なお、樹上脱渋果は貯蔵中の果肉高度の低下が炭酸ガス脱渋果よりむしろ緩やかで、年末年始

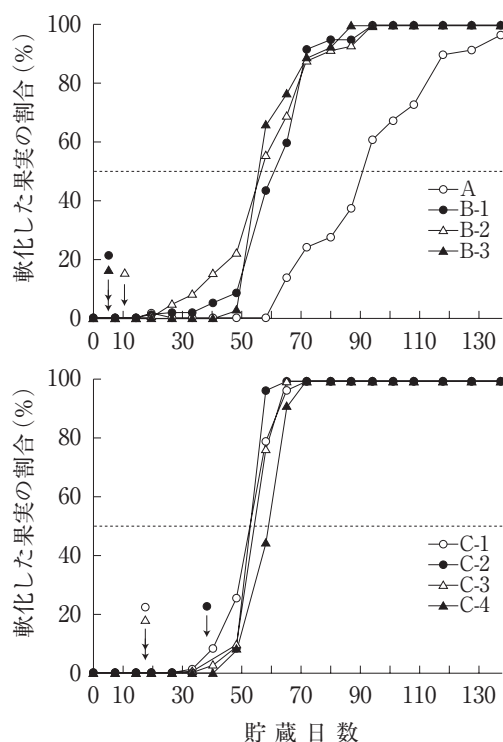


図5 脱渋方法ならびに貯蔵温度がプラスチックフィルム包装したカキ‘平核無’果実の軟化に及ぼす影響

A：CTSD（高濃度二酸化炭素短期間）処理後1℃貯蔵
 B-1：二酸化炭素封入後20℃に置いて脱渋完了後1℃貯蔵
 B-2：固形アルコール（シロカエタノール）を封入後20℃に置いて脱渋完了後1℃貯蔵
 B-3：二酸化炭素と固形アルコールの両方（B-1+B-2）で20℃に置いて脱渋後1℃貯蔵
 C-1：二酸化炭素封入後5℃貯蔵
 C-2：固形アルコール（B-2と同様）を封入後5℃貯蔵
 C-3：二酸化炭素と固形アルコールの両方（B-3と同様）を封入後5℃貯蔵
 C-4：包装するだけ（脱渋剤なし）で5℃貯蔵
 各区とも60果実のうちの軟化して果実の割合を示す。図中の矢印はそれぞれの処理区の脱渋が完了した日。ただし、C-4区は貯蔵期間中に脱渋が未完了。

の贈答用果実としての出荷も可能であると判断された（図7）³⁰⁾。

(2) 果実の熟度が貯蔵性に及ぼす影響

つぎに、アルコール樹上脱渋果を用いて果実の収穫熟度が長期貯蔵性に及ぼす影響について検討した。

その結果、果面全体に着色する時期よりも少し前に収

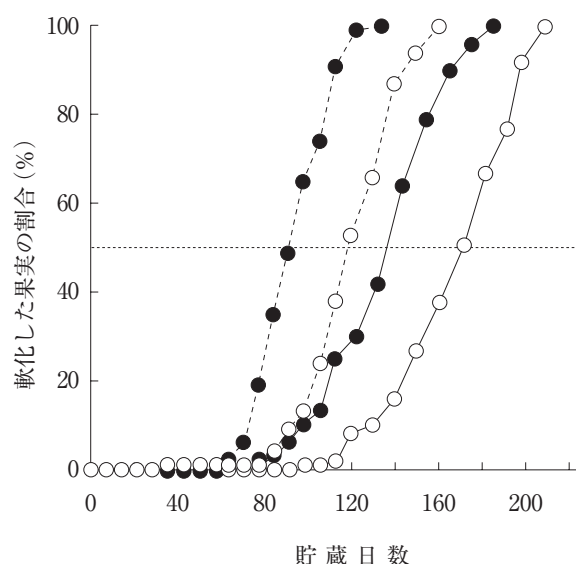


図6 樹上脱渋ならびに炭酸ガス脱渋したカキ‘平核無’果実の冷蔵貯蔵中における軟化した果実の割合の推移

—●— 樹上脱渋（1℃） —○— 炭酸ガス脱渋（1℃）
 ...●... 樹上脱渋（5℃） ...○... 炭酸ガス脱渋（5℃）
 果実はいずれもプラスチックフィルムで個装した。

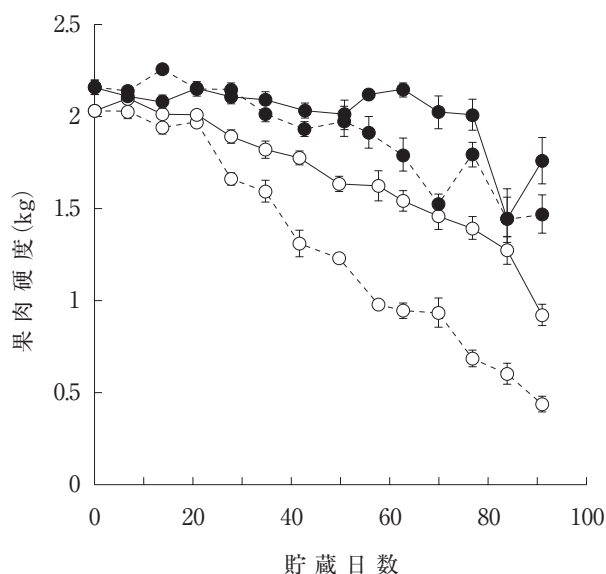


図7 樹上脱渋ならびに炭酸ガス脱渋したカキ‘平核無’果実の冷蔵中における果肉硬度の変化

—●— 樹上脱渋（1℃） —○— 炭酸ガス脱渋（1℃）
 ...●... 樹上脱渋（5℃） ...○... 炭酸ガス脱渋（5℃）
 果実はいずれもプラスチックフィルムで個装した。図中の縦線は標準誤差（n=5）。

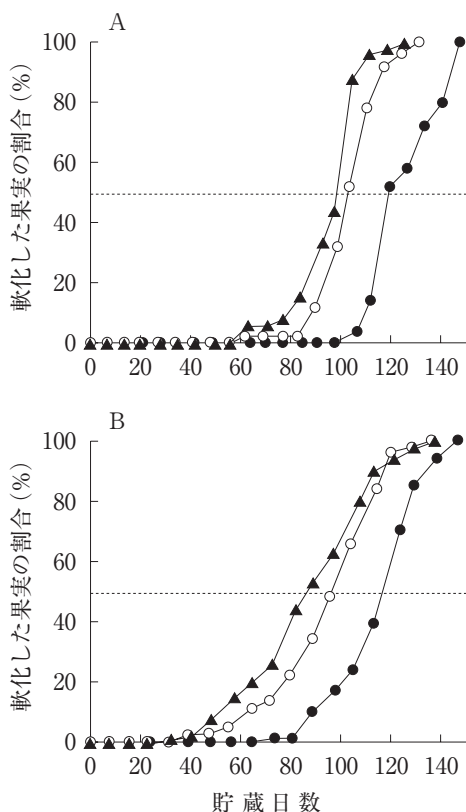


図8 収穫時期の違いがプラスチックフィルム包装したカキ‘平核無’樹上渋果の貯蔵中の軟化に及ぼす影響

A: 1℃貯蔵, B: 5℃貯蔵

●: 11月2日収穫, ○: 11月10日収穫, ▲: 11月16日収穫

穫した果実の方が全面着色果やそれより後に収穫した果実よりも高い貯蔵性を示した(図8)³¹⁾。

収穫後にアルコール脱渋した果実の貯蔵性は、未熟果や過熟果よりも全面着色果で最も優れていた¹²⁾ことから、渋ガキ果実を樹上で脱渋すると甘ガキ果実に似た貯蔵特性^{1), 11)}を示すようになることが示唆された。

5. おわりに

本稿では、まず渋ガキ果実の渋味の減少にかかわるアセトアルデヒド以外の新しい要因として筆者らが提案した、ペクチンとタンニンによる複合体形成と細胞組織断片へのタンニンの吸着という2つの要因について解説した。

しかし、これらの要因間の相互関係やこれらの要因とアセトアルデヒドとの相互作用についてはまだほとんど明らかになっていない。実際の渋ガキ果実の果肉細胞の中ではおそらく、これらの要因をはじめ、先に紹介したアセトアルデヒド以外の要因、さらにはまだ明らかされていない未知の要因などが複雑に影響し合っているものと推察される。渋ガキ果実の脱渋にかかわる諸要因間の相互作用については今後の検討課題である。

また、これまで渋ガキ果肉を加工利用する際に最も大きな障害となっていた「渋もどり」現象に関して得られ

た一定の知見についても紹介したが、これについては、さらに実用的なレベルの研究が必要であると考えられる。加工利用に際しての食品素材の加熱条件や酸などの添加物の種類や量などによっても、また加工に供するカキ果実の品種によっても結果が異なってくる可能性が高いと考えられるからである。今後はより実用的な条件のもとでデータを蓄積していく必要があろう。

果実の長期貯蔵に関しては、貯蔵にかかるコストの問題を考慮しながら、それぞれの目的に合わせた方法を採用する必要があるだろう。例えば、かなり長期間に及ぶ貯蔵をねらうときには、温湿度条件がより安定し、エネルギーコストも抑えられると考えられる雪室施設などの利用が有効であると思われる。

今後も一步一步、少しずつ、これらの検討課題に対して有益な知見が得られるような研究を進めることができればと念じている。

謝 辞 本研究に対して平成20年度日本食品保蔵科学会学会賞が授与されたことに際して、筆者をカキ果実の脱渋研究に導いてくださった大阪府立大学名誉教授の岩田隆先生(故人)ならびに京都大学名誉教授の苦名孝先生(故人)と杉浦明先生にまず感謝申し上げます。

一連の研究を進めるにあたっては、山形大学農学部果樹園芸学研究室の関係者各位ならびに専攻生のみなさんの惜しめない協力を得ることができました。

また、山形県立砂丘地農業試験場(現山形県庄内総合支庁産地研究室)、JA全農山形庄内本部(旧山形県庄内経済連)ならびに第一包装(株)の関係者各位にはさまざまな面でお世話になりました。心よりお礼申し上げます。

さらに、岡山大学名誉教授の中村怜之輔先生、島根大学生物資源科学部の板村裕之教授ならびに大阪府立大学農学部園芸利用学(青果品質保全学)研究室のスタッフの方々や諸先輩各位には数々の助言と絶え間ない激励をいただきました。ここに衷心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 北川博敏: カキの栽培と利用(養賢堂, 東京)(1970)
- 2) 松尾友明: カキタンニンの化学特性と収穫後の脱渋機構, 園学シンポ要旨, 平元秋, 119~125 (1989)
- 3) MATSUO, T., ITOO, S. and BEN-ARIE, R.: A model experiment for elucidating the mechanism of astringency removal in persimmon fruit using respiration inhibitors, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **60**, 437~442 (1991)
- 4) TAIRA, S.: Astringency in persimmon, LINSKINS, H. F. and JACKSON, J. F. (eds.), *Modern methods of plant analysis*, vol. 18, Fruit analysis, (Springer-Verlag, Berlin), pp. 97~110 (1996)
- 5) 平 智: カキの脱渋とそのメカニズム [1], 農業

- および園芸, **78**, 578~589 (2003)
- 6) 平 智: カキの脱渋とそのメカニズム [2], 農業および園芸, **78**, 676~682 (2003)
- 7) 中村怜之輔: カキ果の凍結による脱渋現象について, 園学雑, **30**, 73~76 (1961)
- 8) 平 智・渡部俊三: カキ‘平核無’果実の凍結および解凍にともなう可溶性タンニンの変化, 山形大学紀要(農学), **12**, 119~123 (1995)
- 9) 福嶋忠昭・北村利夫・村山秀樹・吉田敏幸: カキ‘平核無’のエタノール処理による脱渋機構, 園学雑, **60**, 685~694 (1991)
- 10) ITTAH, Y.: Sugar content changes in persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO₂: a possible connection to deastringency mechanisms, *Food Chem.*, **48**, 24~29 (1993)
- 11) 樽谷隆之: カキ果実の貯蔵に関する研究, 香川大学農学部紀要, **19**, 1~51 (1965)
- 12) 板村裕之: カキ果実の成熟および脱渋後の軟化に関する研究, 日食保蔵誌, **32**, 81~88 (2006)
- 13) 平 智: カキ果実の軟化と貯蔵, 農業および園芸, **81**, 802~810 (2006)
- 14) CUTILLAS-ITURRALDE, A., ZERRA, I. and LORENCE, E. P.: Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit: pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity, *Physiol. Plant.*, **89**, 369~375 (1993)
- 15) TAIRA, S., ONO, M. and MATSUMOTO, N.: Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins, *Postharvest Biol. Technol.*, **12**, 265~271 (1997)
- 16) TAIRA, S., and ONO, M.: Reduction of astringency in persimmon caused by adhesion of tannins to cell wall fragments, *Acta Hortic.*, **436**, 235~241 (1997)
- 17) ASHWORTH, E. N.: Formation and spread of ice in plant tissues, JANICK, J. (ed.), *Hortic. Rev.* (Wiley, New York), **13**, 215~255 (1992)
- 18) FUCHIGAMI, M., HYAKUMOTO, M., MIYAZAKI, K., NOMURA, T. and SASAKI, J.: Texture and histological structure of carrots frozen at a programmed rate and thawed in an electrostatic field, *J. Food Sci.*, **59**, 1162~1167 (1994)
- 19) TAIRA, S., ONO, M. and OTSUKI, M.: Effects of freezing rate on astringency reduction in persimmon during and after thawing, *Postharvest Biol. Technol.*, **14**, 317~324 (1998)
- 20) BEN-ARIE, R. and SONEGO, L.: Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon, *J. Food Sci.*, **58**, 1379~1400 (1993)
- 21) OSHIDA, M., YONEMORI, K. and SUGIURA, A.: On the nature of coagulated tannins in astringent-type persimmon fruit after an artificial treatment of astringency removal, *Postharvest Biol. Technol.*, **8**, 317~327 (1996)
- 22) 平 智・松本尚子・小野未来: 数種の脱渋処理によって不可溶化した渋ガキタンニンの可溶化の難易, 園学雑, **68**, 83~88 (1999)
- 23) 平 智・高林奈美: 樹上脱渋の処理時期と脱渋果の冷蔵期間がカキ‘平核無’果実の渋もどりに及ぼす影響, 食科工, **53**, 580~582 (2006)
- 24) 杉浦 明・原田 久・苔名 孝: カキ果実の脱渋性に関する研究(第1報) エタノールによる樹上脱渋(その1), 園学雑, **44**, 265~272 (1975)
- 25) 杉浦 明・原田 久・苔名 孝: カキ果実の脱渋性に関する研究(第2報) エタノールによる樹上脱渋(その2), 園学雑, **46**, 303~309 (1977)
- 26) 吉岡正明・関根幹弘・松波達也: カキ‘平核無’果実の樹上脱渋処理の省力化, 群馬園試研報, **4**, 21~28 (1999)
- 27) 文室政彦・蒲生英美: 短期脱渋, 個装および冷蔵技術を用いたカキ‘平核無’果実の長期貯蔵の実用化, 園学雑, **71**, 300~302 (2002)
- 28) 文室政彦: カキ‘平核無’果実の長期貯蔵技術, 園学雑, **69** (別1), 162 (2000)
- 29) 平 智・磯部志帆: 脱渋方法の違いと貯蔵温度がプラスチックフィルム包装したカキ‘平核無’果実の貯蔵性に及ぼす影響, 日食保蔵誌, **31**, 261~265 (2005)
- 30) 平 智・今井絵里子: プラスチックフィルム包装したカキ‘平核無’樹上脱渋果の長期貯蔵性について, 日食保蔵誌, **33**, 255~259 (2007)
- 31) TAIRA, S., IMAI, E. and GOHEI, M.: Effects of harvest date on long-term storability of on-tree alcohol-treated ‘Hiratanenshi’ persimmons packed in plastic film, *Food Preservation Sci.*, **34**, 139~143 (2008)