

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 37 NO. 2

会 長	松本 信二	副 会 長	上田 悦範	小宮山美弘	早坂 薫
編集委員長	上田 悦範				
編 集 委 員	石田 裕	稲熊 隆博	井上 茂孝	内野 昌孝	竹永 章生
	寺井 弘文	津久井亜紀夫	藤島 廣二	松田 茂樹	

<報 文>

- MA包装が青切りシークワシャー果実 (*Citrus depressa* Hayata) の鮮度保持, ポリメトキシフラボン類, シネフリン, アスコルビン酸, ラジカル消去能活性等に及ぼす影響…………… (51)
 /宮城一菜・古賀信幸・比嘉 敦・栗國佳史
 山本健太・和田浩二・太田英明
- 成熟遺伝子型の異なるトマト緑熟果実の果皮色変動予測モデル…………… (61)
 /中村宣貴・タンマウオン マナスイカン・金原淳司
 伊藤博孝・北川麻美子・稲熊隆博・伊藤康博
 北澤裕明・石川 豊・春見隆文・椎名武夫

<研究ノート>

- 大豆を圧搾搾油した残渣「大豆圧搾ミール」の性状と豆乳の調製…………… (69)
 /鬼島直子・遠藤修二郎・齋藤昌義
 今野 周・下山田真

<総 説>

- 青果物の貯蔵性に及ぼすエタノール蒸気処理の効果に関する生理・生化学的研究…………… (75)
 /鈴木康生

<講 座>

- 身近な野菜・果物～その起源から生産・消費まで (13) …………… (85)
 リンゴ (II) …………… /工藤亞義

<情 報>

- 食と農の資料館めぐり (3)
 東京農業大学「食と農」の博物館…………… (93)
 /小泉幸道

<文献抄録>…………… (97)

<会 告>…………… (98)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 37 NO. 2 (2011)

<Article> (Japanese)

- Effect of Modified Atmosphere Packaging on Freshness Retention,
Polymethoxylated Flavones, Synephrine, Ascorbic Acid, and the Radical
Scavenging Activity of Unripe Green Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit
MIYAGI Kazuna, KOGA Nobuyuki, HIGA Atsushi, AWAGUNI Yoshihumi,
YAMAMOTO Kenta, WADA Koji and OHTA Hideaki (51)
- Prediction of Pericarp Color Changes Based Upon Cumulative Ethylene
Production for Several Tomato Varieties with Different Ripening Inhibitor Genotypes
NAKAMURA Nobutaka, THAMMAWONG Manasikan, KINBARA Junji,
ITO Hirotaka, KITAGAWA Mamiko, INAKUMA Takahiro, ITO Yasuhiro,
KITAZAWA Hiroaki, ISHIKAWA Yutaka, KASUMI Takafumi and SHIINA Takeo (61)

<Research Note> (Japanese)

- Properties of Mechanically Defatted Soybean Flour and Preparation of Soymilk from the Flour
KIJIMA Naoko, ENDO Shujiro, SAITO Masayoshi,
KONNO Shu and SHIMOYAMADA Makoto (69)

<Review> (Japanese)

- Physiological and Biochemical Studies on Storage of Fruits and Vegetables
with Postharvest Ethanol Vapor Treatment
SUZUKI Yasuo (75)

<Serialization Lecture> (Japanese)

- Apple (Part II)
KUDOU Tuguyoshi (85)

<Information> (Japanese)

- Food and Agriculture Museum Tokyo University of Agriculture
KOIZUMI Yukimichi (93)

MA包装が青切りシークワシャー果実(*Citrus depressa* Hayata)の鮮度保持, ポリメトキシフラボン類, シネフリン, アスコルビン酸, ラジカル消去能活性等に及ぼす影響

宮城一葉^{*1}・古賀信幸^{*1}・比嘉 敦^{*2}・粟國佳史^{*2}
山本健太^{*1}・和田浩二^{*3}・太田英明^{*1§}

*1 中村学園大学栄養科学部栄養科学科

*2 沖縄県農業研究センター名護支所

*3 琉球大学農学部応用生物学科

Effect of Modified Atmosphere Packaging on Freshness Retention, Polymethoxylated Flavones, Synephrine, Ascorbic Acid, and the Radical Scavenging Activity of Unripe Green Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) Fruit

MIYAGI Kazuna^{1*}, KOGA Nobuyuki^{1*}, HIGA Atsushi^{2*}, AWAGUNI Yoshihumi^{2*},
YAMAMOTO Kenta^{1*}, WADA Koji^{3*} and OHTA Hideaki^{1§}

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

*2 *Okinawa Prefectural Agricultural Research Center, 4605-3, Nago, Nago-shi, Okinawa 905-0012*

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

We investigated the effect of modified atmosphere (MA) packaging on freshness retention; contents of polymethoxylated flavones (nobiletin, tangeretin, and sinensetin), synephrine, and ascorbic acid; and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity in unripe green Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) when it was stored at 5, 10 and 25°C, using sealed micro-perforated polypropylene (PP) film bags (film No.1: oxygen permeability, 160 ml · bag⁻¹ · day⁻¹ · atm⁻¹; film No.2: oxygen permeability, 420 ml · bag⁻¹ · day⁻¹ · atm⁻¹). The appearance (greenness) was used as an index of the freshness of fruit; the freshness of fruit stored for 4 months in film No.1 at 5°C, for 3 months in film No.1 at 10°C, and for 1 month in both films (No.1 and No.2) at 25°C was compared with that of fruit stored for 2 weeks in holed PP film bag. The chemical contents in the fruits investigated at the beginning of storage, were as follows: nobiletin, 419.4 mg/100 g freeze-dried peel; synephrine, 536.4 mg/100 g freeze-dried peel and 25.6 mg/100 ml juice; ascorbic acid, 34.4 mg/100 g fresh peel and 9.6 mg/100 ml juice. DPPH radical-scavenging activity was 99.4 μmol-Trolox equivalent/100 g fresh peel. In the fruits stored for 3 months in film No.1, the decrease rate of chemical content in the peel was 23% for nobiletin and 35% for synephrine. Ascorbic acid in the fresh fruits stored for 3 months at 5°C decreased by 67% for peel and 39% for juice, while DPPH activity of peel decreased by 20%. These data showed that MA packaging using film No.1 at 5°C was the most suitable condition for storing unripe green Shiikuwasha in terms of freshness retention; contents of polymethoxylated flavones, synephrine, and ascorbic acid; and radical-scavenging activity.

(Received Apr. 26, 2010; Accepted Jan. 19, 2011)

Key words: Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata), modified atmosphere packaging, polymethoxylated flavones, nobiletin, synephrine

シークワシャー, MA包装, ポリメトキシフラボン類, ノビレチン, シネフリン

*1 〒814-0198 福岡県福岡市城南区別府5-7-1

§ Corresponding author, E-mail: hohta@nakamura-u.ac.jp

*2 〒905-0012 沖縄県名護市字名護4605-3

*3 〒902-0213 沖縄県中頭郡西原町字千原1番地

シークワシャー (*Citrus depressa* Hayata) は、南西諸島から台湾の山地に分布するカンキツで、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。シークワシャーの一部は酸味料や生食用となるが、ほとんどは果汁飲料として加工されているのが現状である。

最近カンキツ類の中でも、シークワシャーの果実や葉は、機能性成分であるポリメトキシフラボン類 (PMF) のノビレチン、タンゲレチン、シネンセチン等を含み、特にノビレチンを多く有することが明らかにされている^{1),2)}。ノビレチンは、マトリックスメタロプロテアーゼやプロスタグランジンE₂の産生を抑制し、骨線の線維芽細胞の増殖を妨げることが報告されている³⁾。この作用は関節の軟骨保持に寄与し、リウマチ性関節炎や骨関節炎でのパンスス形成を減少することが期待されている。また、ノビレチンは、ホルボールエステルによって誘発された皮膚炎、酸化ストレス、腫瘍の増殖に抑制傾向を示し⁴⁾、赤血球の凝縮や沈降の減少作用があることも報告されている⁵⁾。さらに、PMFの1種であるタンゲレチンにもHL-90細胞中で効果的にアポトーシスを引き起こすことが報告されている⁶⁾。他方、アドレナリンと同様に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^{7),8)}は温州みかん等に存在することが報告されている⁹⁾。この生理作用を利用して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おり^{10),11)}、近年、シークワシャー中に存在することが示唆される¹²⁾。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。

シークワシャー中のPMF、シネフリン等の機能性成分含量は成熟果よりも未熟果に多く含まれるため^{12),13)}、青切り果実としての付加価値を高め、スタチ、カボスのように青切りでの香酸味カンキツとしての青果販売に期待が寄せられている。しかし、これまで青切りの青果としての販売実績は浅く、包装方法に関する技術的蓄積もない。本報では、青切りシークワシャーの流過程での品質保持を目的として、微細孔フィルムを用いるMA包装による鮮度保持効果を確認し、PMF、シネフリン等に及ぼす影響を調査した。

実験方法

1. 試料

2009年10月14日に沖縄県本島北部の名護市勝山地区より入手した青切りシークワシャー果実 (勝山クガニ、平均果重: 20.9±3.0g) を使用した。

2. 包装材料

フィルムは、住友バークライト製の微細孔ポリプロピレンフィルム (以下PP) 2種、有孔フィルム1種を用いて3つの試験区を設定した。3種類とも、サイズは120×150mm、厚さ0.03mmである。このとき密封区として

Film No.1 (酸素透過度: 160 ml·bag⁻¹·day⁻¹·atm⁻¹, 23°C) およびFilm No.2 (酸素透過度: 420 ml·bag⁻¹·day⁻¹·atm⁻¹, 23°C)、対照とした有孔区Film No.3 (径5.0mm, 穴4個) を設けた。

シークワシャーを包材の中に4個入れ、ヒートシールにて密封後、5, 10, 25°Cのインキュベーター (三洋電機MIR-153) で3か月保蔵した。なお、保蔵した果実は2週間ごとに開封し、化学成分の分析および官能評価を行った。果実試料は果皮と果肉に分離後、そのまま生の状態で使用する方法には生果皮として利用した。また、凍結乾燥果皮として用いる測定には、-30°Cで冷凍後、真空凍結乾燥機 (東西通商Freezvac-IS2M) にて乾燥し、0.05mmの篩にかけて試験に供した。果肉は手搾り後、果汁として分析を行うまで-30°Cにて冷凍保存した。

3. 測定項目

官能評価: 官能評価は総合的品質を5段階尺度法 (5: 収穫時の新鮮さ, 3: 商品性の限界, 1: 食用不能)¹⁴⁾で表し、官能評価経験のあるパネリスト6名 (22~26歳の女性) で評価し、結果を平均値で示した。

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

凍結乾燥果皮試料0.5gに70%エタノール10.0mlを添加し、3分間ホモジナイズした。超音波抽出 (10min) を行い、遠心分離 (5,000 rpm×5min) 後、その上清液をAdvantec製のシリンジフィルター (φ0.45 μm) で濾過し、HPLC分析に供した。また、果汁試料3.0mlにエタノール7.0mlを添加攪拌後、超音波抽出 (30min) を行った。上清液をフィルター (φ0.45 μm) で濾過後、HPLC分析に供した¹⁾。

HPLC条件は以下のとおりである。

カラム: Hypersil ODS (φ4.0×125mm, 5 μm)

移動相: 60%メタノール-10 mMリン酸

流速: 1.0 ml/min

カラム温度: 40°C

注入量: 10 μl

検出波長: 340 nm

シネフリン測定: シネフリン標準品 (シグマアルドリッチジャパン、東京) を移動相で溶解し、0.2 mg/mlの標準溶液とした。

凍結乾燥果皮試料0.2gに精製水10.0mlを加え、振盪抽出 (30min) を行い、遠心分離 (4,000 rpm×15min) 後、上清液をとり、同様の操作を2回繰り返し最終的に20.0mlに定容した。その抽出液をフィルター (φ0.45 μm) 濾過後、HPLC分析に供した。果汁試料は手搾り後、濾過 (φ0.45 μm) した溶液を試料溶液としてそのままHPLC分析に供した。

HPLC条件は以下のとおりである¹²⁾。

カラム: Develosil ODS-5 (φ4.6×250mm, 5 μm)

移動相：アセトニトリル-H₂O (2 : 98) - 10 mM
リン酸
流 速：0.8 ml/min
カラム温度：35℃
注入量：5 μ l
検出波長：223 nm

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去能測定：生果皮試料2.0 gを80%エタノールにて抽出し、25.0 mlに定容後¹⁵⁾、ろ過し (Advantec No.2, 直径55 mm)。山口ら¹⁶⁾の方法に従い、DPPH-HPLC法を用いて測定した。なお、結果はTrolox換算値として示した。

HPLC条件は以下のとおりである。

カラム：TSK-GEL OCTYL-80TS (ϕ 4.6 \times 150 mm, 5 μ m)
移動相：70%メタノール溶液
流 速：1.0 ml/min
カラム温度：40℃
検出波長：517 nm

色調測定：果実試料の色調の測定はその表面をハンター色差計 (日本電色工業 SZ-Σ90) により測定した。シークワシャー果実試料をそのまま測定に供し、果実の周囲を6か所測りその平均をとった。その反射によるL*, a*, b*値を $L \cdot b / |a|$ ¹⁴⁾ の式を用いて計算し、その値で黄色化の程度を表した。

雰囲気ガスの測定：袋内ヘッドスペース部に蓄積した二酸化炭素および酸素の測定にはガスクロマトグラフ (島津製作所 GC-8 A, TCD検出器) を用いた。袋の表面にゴムシール (東レエンジニアリング粘着ゴム板酸素計用) を貼り、その部分を通してHamilton製のガスタイトシリンジを用いてガスを一定量 (1.0 ml) 採取し、分析に供した¹⁴⁾。測定に用いた袋数は、各保蔵温度区の Film No.1, No.2で計6袋であった。

ガスクロマトグラフの分析条件は以下のとおりである。

カラム：Porapak Q (0.5 cm i.d. \times 200 cm) と Molecular Sieve13 (0.5 cm i.d. \times 200 cm) の並列カラム
カラム温度：80℃
注入口温度：100℃
検出器温度：80℃
キャリアガス：He (40 ml/min)

アスコルビン酸測定：アスコルビン酸はSAWAMURA¹⁷⁾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, 大阪) を2%メタリン酸液で溶解し、最終濃度0.1 mg/mlに調整した。

生果皮2.0 gを80%エタノールにて抽出した上清液を被験溶液とし、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 (4,000 rpm \times 15 min) 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 250 mm, 5 μ m)
移動相：0.2%メタリン酸液
流 速：0.76 ml/min
カラム温度：40℃
注入量：20 μ l
検出波長：243 nm

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

HPLC分析、一般分析および品質指標の値は、平均値 (n = 3) で示した。

実験結果

1. 外観の変化

保蔵中におけるシークワシャーの外観品質に関する総合評価の結果をFig. 1に示した。

供試した包材の特性により、保蔵中の品質に差異が認められた。すなわち、25℃の対照区であるFilm No.3では、3日目から萎びと果皮の黄色化が進み、9日目には商品性を失っていた。これに対して、Film No.2 (酸素透過度420 ml \cdot bag⁻¹ \cdot day⁻¹ \cdot atm⁻¹) では6日目までは商品性を保持していた。一方、今回の保蔵条件では、5℃区、Film No.1 (酸素透過度160 ml \cdot bag⁻¹ \cdot day⁻¹ \cdot atm⁻¹) の鮮度保持が優れており、12週目すなわち約3か月経過した後も果実試料は緑色の状態で鮮度が保持されていた。最終的に果実の緑色を保持した期間は、25℃区のFilm No.1, No.2で約1か月、10℃区のFilm No.1で約3か月、5℃区のFilm No.1で約4か月となった。

2. PMF量の変化

シークワシャー果皮の保蔵中におけるPMFのうち、その主要成分であるノビレチン量の5℃区と25℃区の変化をFig. 2に示した。

果皮中のPMF (タンゲレチン, シネンセチンの結果は未掲載) 量を分析した結果、各フィルムおよび各温度区で比較すると保蔵に伴い減少した。果皮の保蔵期間中の変化を示すと、5℃区で試験開始時の419.4 mg/100 gから3か月目ではFilm No.1は23.0%, Film No.2は27.9%, Film No.3は10.6%減少した。また、同じく25℃区では、Film No.1は23.0%, Film No.2は24.0%, Film No.3は20.7%低下した。

ノビレチンの保蔵期間中の変化は、すべての区とも3か月の保蔵において80%前後保持されることが判明した。さらに、最も鮮度保持が長期間であった5℃区のFilm No.1においては、ノビレチン量は3か月時で322.8 mg/100 g存在し、試験開始時に比較してその減少割合は23.0%程度であった。

3. シネフリン量の変化

保蔵中における果皮および果汁中のシネフリン量の5℃区と25℃区の変化をFig. 3に示した。

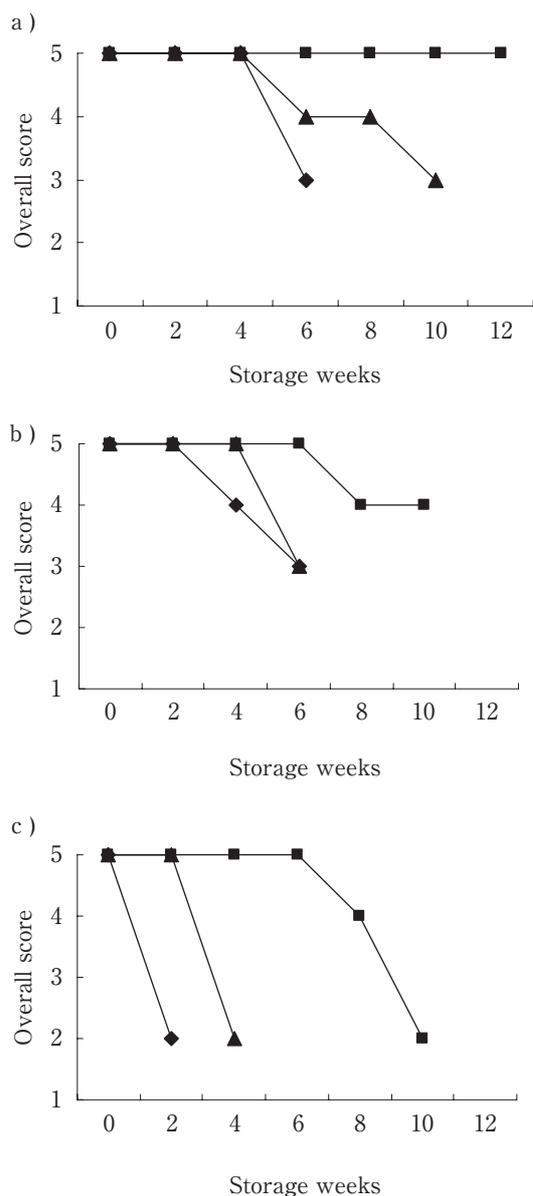


Fig. 1 Effects of plastic films on the overall score of Shikuwasha by sensory evaluation during storage at 5, 10, and 25°C

a) Film No. 1 : Oxygen permeability, $160 \text{ ml} \cdot \text{bag}^{-1} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$; b) Film No. 2 : Oxygen permeability, $420 \text{ ml} \cdot \text{bag}^{-1} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$; c) Film No. 3 (perforated film) : diameter of hole, 5 mm; number of holes, 4; Film size, $120 \times 150 \text{ mm}$; film thickness, 0.03mm

■ 5°C, ▲ 10°C, ◆ 25°C

Overall score, 5; freshness at harvest, 3; fair (salable), 1; inedible

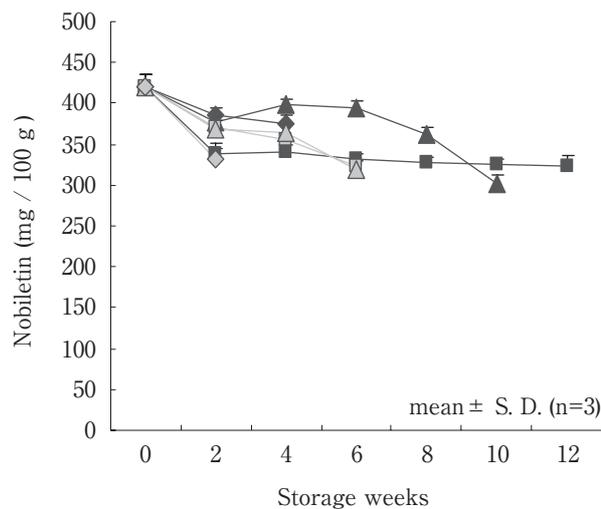


Fig. 2 Effects of plastic films on the nobiletin content in Shikuwasha (freeze-dried peel) during storage at 5°C and 25°C

■ 5°C, Film No. 1; ▲ 5°C, Film No. 2; ◆ 5°C, Film No. 3
 ■ 25°C, Film No. 1; ▲ 25°C, Film No. 2; ◆ 25°C, Film No. 3
 Shown in Fig. 1 for the legend of the film

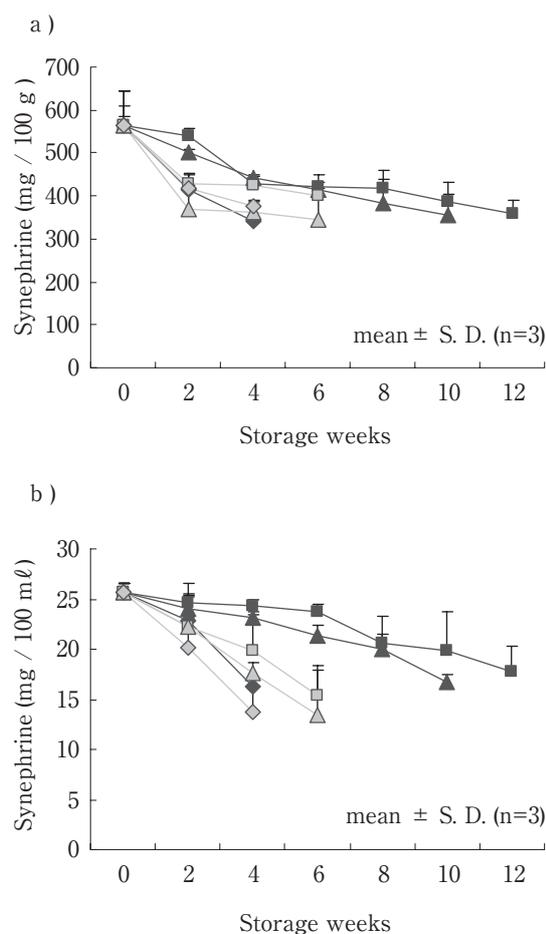


Fig. 3 Effects of plastic films on the synephrine content in Shikuwasha (freeze-dried peel and juice) during storage at 5°C and 25°C

a) Freeze-dried peel, b) Juice

Symbols are the same as Fig. 2

Shown in Fig. 1 for the legend of the film

果皮および果汁中のシネフリン量を分析した結果、各フィルム、各温度区で比較すると、長期間の保蔵においても鮮度保持効果がみられた先のノビレチンと同様に両者とも保蔵に伴い徐々に減少した。5℃区において、果皮で開始時の536.4 mg/100 gがFilm No.1は12週目で358.1 mg/100 g、Film No.2は10週目で354.8 mg/100 g、Film No.3は4週目で341.2 mg/100 gとなり、それぞれ36.4%、37.0%、36.4%減少した。また、果汁では保蔵開始時の25.6 mg/100 mlがFilm No.1は17.8 mg/100 ml、Film No.2は16.7 mg/100 ml、Film No.3は16.3 mg/100 mlと、それぞれ30.5%、34.8%、36.3%程度の低下となった。また、果皮と果汁中のシネフリン減少率を比較したところ、果皮は5℃区3か月のときFilm No.1 36.4%、Film No.2 37.0%、Film No.3 39.4%となり、25℃区ではFilm No.1 29.0%、Film No.2 38.9%、Film No.3 33.1%であった。他方、果汁では5℃区3か月のときFilm No.1 30.5%、Film No.2 34.8%、Film No.3 36.3%となり、25℃区ではFilm No.1 40.2%、Film No.2 47.7%、Film No.3 46.5%と果皮のほうが比較的高く保持されていた。

4. ラジカル消去能の変化

5℃区と25℃区におけるシークワシャー果皮中のラジカル消去能の変化をFig. 4に示した。

ラジカル消去能においても保蔵期間が長くなるのに伴い減少した。特にFilm No.3の25℃区の場合、その減少量は大きく、試験開始時のTrolox換算99.4 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ が、商品性を失った2週目には52.9 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ と50%程度減少していた。一方、5℃区保蔵におけるラジカル消去能は、減少は認められるものの、その低下速度は25℃区に比較すると緩慢であり、前述した外観の変化において、10週目の時点で評価値5であるFilm No.1では79.3 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ 、Film No.2では商品性の限界である評価値3を示したが、その値は79.9 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ であり、両者とも20%程度の減少に留まっていた。

5. 色調測定

10℃区と25℃区における外観の色調変化をFig. 5に示した。

5℃区の3種類のフィルム、10℃区および25℃区のFilm No.1では果実の際立った色調の変化はみられなかった。一方、10℃区のFilm No.2では試験開始時のL・b/|a|値39.8から、6週目では257.8とL・b/|a|値が増大し始め、8週目526.7、10週目936.3、12週目1611.8と試験開始時に比較して約40倍も増加し顕著な黄色化を示した。Film No.3もFilm No.2と同様に6週目からL・b/|a|値が増加し始め、10週目ではその値が1364.7となった。25℃区においては、L・b/|a|値に大きな変化はなく、果実の黄色化はみられなかったが、早い時期から果実が萎びていた。なお、10℃区Film No.1は8週目以降、10℃区Film No.3は10週目以降、25℃区は6週目以降から果実が腐敗したため測定不可と判断した。

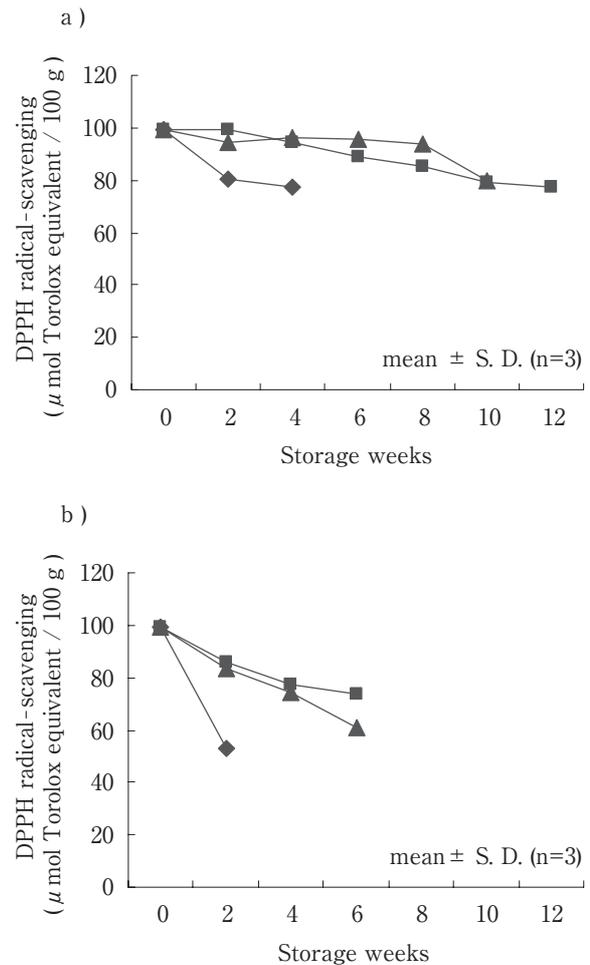


Fig. 4 Effects of plastic films on the DPPH radical-scavenging activity in Shiiquwasha (fresh peel) during storage at 5°C and 25°C

a) 5°C, b) 25°C

■Film No.1, ▲Film No.2, ◆Film No.3

Shown in Fig.1 for the legend of the film

最終的にシークワシャー果実が黄色化したのは、25℃区6個、10℃区51個、5℃区4個であった。

6. 袋内の雰囲気ガス濃度の変化

袋内の二酸化炭素および酸素の変化をTable 1に示した。

二酸化炭素濃度は保蔵開始から徐々に上昇し、試験期間の間に、Film No.1の5℃区では3.0%から11.4%に上昇した。また、10℃区では7.0%から17.0%へ、25℃区では2.1%から10.5%へと上昇した。Film No.2もFilm No.1と同じように上昇したが、5~7%の上昇に留まり、しかも、保蔵温度による顕著な差はみられなかった。一方、酸素濃度は二酸化炭素濃度とは逆の傾向を示し、大気と同じ20%前後から保蔵経過とともに徐々に減少した。Film No.1では5℃区の試験開始17.4%から12週目では8.4%、10℃区の試験開始12.3%から10週目では5.8%、25℃区の試験開始18.3%から6週目では6.2%と

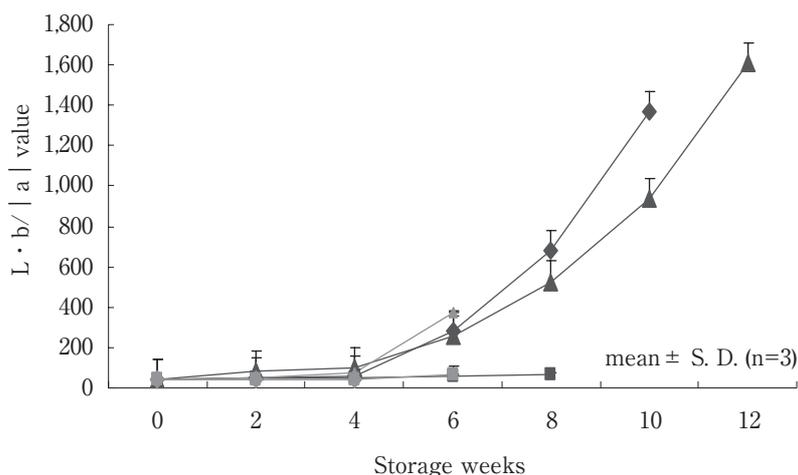


Fig. 5 Effects of plastic films on the $L \cdot b / |a|$ value of Shikwasha during storage at 10°C and 25°C

■10°C, Film No. 1 ; ▲10°C, Film No. 2 ; ◆10°C, Film No. 3
 ◼25°C, Film No. 1 ; ◄25°C, Film No. 2 ; ◈25°C, Film No. 3
 Shown in Fig.1 for the legend of the film

Table 1 Change in carbon dioxide and oxygen concentration (%) inside the Film No.1 and Film No.2 during storage at 5, 10 and 25°C

Film No. 1							
Storage weeks	5 °C		10°C		25°C		
	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	
0	3.0±0.15	17.4±0.02	7.0±0.19	12.3±0.16	2.1±0.14	18.3±0.22	
2	2.8±0.03	17.1±0.03	9.5±0.03	12.1±0.13	5.8±0.28	12.3±0.07	
4	3.1±0.02	17.0±0.02	10.7±0.09	10.6±0.16	7.0±0.12	7.8±0.14	
6	5.5±0.03	15.0±0.07	10.0±0.15	9.4±0.19	10.5±0.12	6.2±0.12	
8	7.0±0.07	12.2±0.08	15.4±0.86	9.7±0.76	-	-	
10	8.3±0.10	12.3±0.05	17.0±0.15	5.8±0.07	-	-	
12	11.4±0.05	8.4±0.07	-	-	-	-	
mean ± S.D. (n = 3)							
Film No. 2							
Storage weeks	5 °C		10°C		25°C		
	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	
0	2.8±0.01	17.7±0.08	4.3±0.17	16.3±0.17	1.8±0.25	18.6±0.33	
2	2.7±0.08	17.9±0.11	5.5±0.13	15.3±0.18	2.7±0.25	17.7±0.28	
4	2.9±0.02	17.7±0.02	5.9±0.12	15.1±0.15	5.8±0.33	13.7±0.28	
6	2.7±0.01	17.8±0.04	5.9±0.07	13.7±0.12	7.1±0.33	13.8±0.33	
8	5.0±0.09	15.1±0.09	-	-	-	-	
10	5.8±0.05	13.7±0.07	-	-	-	-	
12	-	-	-	-	-	-	
mean ± S.D. (n = 3)							

なった。一方、Film No.2では、試験期間中に14%程度までの減少に留まった。なお、Film No.3(5°C区、10°C区、25°C区)は、包材に有孔PPを使用したことから、結果は大気組成(二酸化炭素:0.04%、酸素:21%、窒素:78%)と大差がなかった。

7. アスコルビン酸量の変化

アスコルビン酸量の5°C区と25°C区の変化をFig.6に表した。

分析した各成分と同様に両温度区とも果皮、果汁中のアスコルビン酸量は保蔵経過に伴って低下した。3か月時点の5°C区保蔵のアスコルビン酸量をみると、果皮で

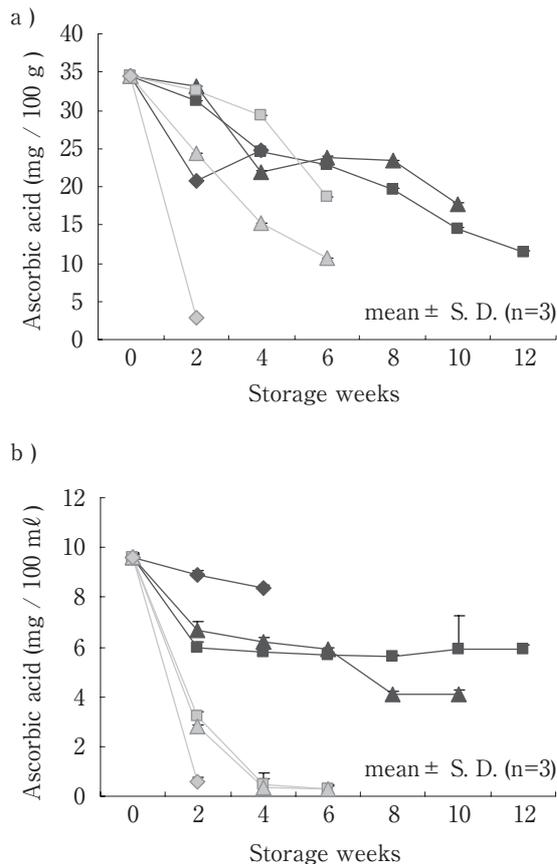


Fig. 6 Effects of plastic films on the ascorbic acid content in Shikuwasha (fresh peel and juice) during storage at 5°C and 25°C

a) Fresh peel, b) Juice

Symbols are the same as Fig. 2

Shown in Fig. 1 for the legend of the film

は67%程度、果汁では39%程度減少した。しかし、その低下速度はほかの成分の減少速度よりも大きく、特に25°C区では、大気と同じ組成をもつ対照のFilm No. 3で、果皮は保蔵開始時の34.4 mg/100 gから2週目には2.9 mg/100 g、果汁は保蔵開始時の9.6 mg/100 mlから2週目では0.6 mg/100 mlとなり、それぞれ91.6、93.9%と顕著な減少を示した。

考 察

青果物の鮮度保持では、雰囲気ガス濃度組成を低酸素・高二酸化炭素にすることにより、鮮度保持期間が延長されることが知られている¹⁸⁾。特に、プラスチックフィルムのガス透過度と青果物の呼吸作用によって、簡易に低酸素・高二酸化炭素状態が得られるModified Atmosphere (MA) 貯蔵は、その簡便さから多くの実用的研究がなされ、安価で手軽な鮮度保持方法として普及している¹⁹⁾。さらに、近年では、ピッチング（くぼみなどの症状）¹⁸⁾等の障害を防止する目的で、PPに微細な孔を開け、凹凸を施し、ガス透過度を改良したフィルムが開発され、これらフィルムを適用した応用研究も実

施されている²⁰⁾。

近年、PMFやシネフリン等の機能性成分が豊富に含まれるシークワシャー果実が注目される中、それらの成分が成熟果より青切りなどの未熟果に高濃度含有することも確認されている^{12),13)}。このことから、シークワシャー青切り果実に対する関心も高まってきている。

本研究では、青切りシークワシャー果実のMA包装による品質保持を調査するため、鮮度保持に対する効果とともに、PMF、シネフリン等各成分に及ぼす影響を調査した。

外観の変化で最終的に果実の緑色を保持した期間は、25°C区のFilm No. 1, No. 2で約1か月、10°C区のFilm No. 1で約3か月、5°C区のFilm No. 1で約4か月となった。また、鮮度保持期間をほかの青切りカンキツと比較するとスダチ²¹⁾、カボス²²⁾は10°C区保蔵で2か月程度、ユズ²³⁾は5°C区保蔵において脱緑が1か月で現れると報告されている。これらの報告から、今回検討したシークワシャーにおいては、スダチ、カボスと同程度の鮮度保持期間であることが確認された。

ノビレチンおよびシネフリンの変化は果皮、果汁ともに各フィルムおよび各温度区で保蔵経過に伴い低下傾向にあった。保蔵期間を通じた変化について、シネフリンにおいては果皮に比較して果汁での減少がやや大きく、一方、ノビレチンは温度間の目立った差はみられなかった。3か月保蔵における両成分の平均減少割合はノビレチン23.0%程度、シネフリン35.0%程度と比較的安定していた。

外観の色調測定で最もL・b/|a|値の大きな変化がみられた温度区は10°C区であり、その値が試験開始時から比較して約40倍も増加し、顕著な黄色化を示した果実試料もあった。ポリエチレン包装を用いたカボスの貯蔵試験²²⁾では、温度が低いほどL*, a*, b*値が低く、緑色保持効果があり、a*値よりもL*値、b*値のほうが数値に変化がみられた。さらに、北川ら²¹⁾は、スダチの貯蔵には温度が重要であるとしており、シークワシャーのL*, a*, b*値の変化はこれらの報告と同様であった。10°C区の黄色化がほかの温度区に比較して大きく進んでいることからシークワシャーにおいても保蔵温度の影響が大きいと推察された。

これまで適正なMA条件下のガス濃度として、5°C以下では、ユズ²³⁾は二酸化炭素4~5.5%、カボス²²⁾は二酸化炭素5%、酸素10%前後とされている。供試したシークワシャー5°C区の二酸化炭素濃度は最初の3.0%から徐々に増加し、11.4%まで上昇した。一方、酸素濃度は適正とされている10%前後と比べると、やや高い濃度であった。今回のフィルム包装では、香酸カンキツ類の最適な条件とはやや離れていたが、各種成分の十分な保持ができるものと思われた。

アスコルビン酸量の変化は両温度区とも果皮、果汁中の含量は保蔵経過に伴って低下した。この結果は、プロ

ッコリー^{24),25)}の貯蔵経過とともにアスコルビン酸量が低下するという結果と同様であった。10℃と20℃の2温度区で検討した中西ら²⁴⁾は、10℃区よりも20℃区でアスコルビン酸量の減少が速いことを示しており、シークワシャーにおいても保蔵温度が高い区のほうがアスコルビン酸量の減少が大きかった。また、アスコルビン酸量の変化は視覚的に観察した官能評価の結果と対応しており、シークワシャー果実の鮮度の化学的評価にアスコルビン酸量を測定することが好ましいと推測された。

以上の結果から、5℃区のFilm No.1で品質保持される結果となった。袋内のガス組成において、Film No.1とFilm No.2のガス組成に顕著な差がみられた。保蔵期間12週目で、Film No.1は各温度区ともFilm No.2に比べて低酸素・高二酸化炭素の状態にあり、Film No.1のほうがより適正ガス濃度に近い環境に保持できたと推測された。これはフィルムの酸素透過度に起因しており、Film No.1は酸素透過度がFilm No.2に比較して低いことから、フィルム内の酸素濃度は減少し、二酸化炭素濃度が上昇したからである。また、保蔵温度による影響も考えられ、低温により青果物の呼吸が抑えられたことも品質が保持された一つの要因として考えられた。

したがって、保蔵温度が低いほど各成分含量およびシークワシャー果実の生理機能性成分であるノビレチン等のPMF含量、ビタミンC含量の保持に加えて、果実果皮の緑色が保持されることが明らかとなった。本研究から、保蔵条件として保蔵温度は5℃区、包材は酸素透過度 $160 \text{ ml} \cdot \text{bag}^{-1} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ のFilm No.1が鮮度保持に適していた。

要 約

青切りシークワシャー果実の品質保持を目的に、鮮度保持に対する効果とともに、PMF、シネフリン等各成分に及ぼす影響を調査した。

試験期間を通して最も長く果実の緑色を保持したフィルムは、各温度区では25℃区Film No.1, No.2の約1か月、10℃区Film No.1の約3か月、5℃区Film No.1の約4か月となった。また、機能性成分および各化学成分においては、保蔵温度が高いほど減少傾向にあった。微細孔PP Film No.1（酸素透過度： $160 \text{ ml} \cdot \text{bag}^{-1} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ ）では、保蔵温度5℃区、保蔵期間3か月においてもノビレチン（減少率：23%程度）、シネフリン（減少率：35%程度）、アスコルビン酸（減少率：果皮67%程度、果汁39%程度）およびラジカル消去能（減少率：20%程度）は比較的安定していた。

謝 辞 本研究は、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」、シークワシャーの新需要拡大のためのグランドデザインの提案と新需要創造支援「新需要創造フロンティア育成事業」、

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。また、包材を快くご提供戴いた住友ベークライト株式会社基礎研究所の溝添孝陽氏、田中敦氏に深謝申し上げます。

文 献

- 1) KAWAIL, S., TOMONO, Y., KATASE, E., OGAWA, K. and YANO, M.: Quantitation of flavonoid constituents in Citrus fruit, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3565~3571 (1999)
- 2) KAWAIL, S., TOMONO, Y., KATASE, E., 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)
- 3) ISHIWA, J., SATO, T., MIMAKI, Y., SASHIDA, Y., YANO, M. and ITO, A.: A citrus flavonoid, nobiletin, suppress production and gene expression of matrix metalloproteinase 9/gelatinase B in rabbit synovial fibroblasts, *J. Rheumatol.*, **271**, 20~25 (2000)
- 4) MURAKAMI, A., NAKAMURA, Y., TORIKAI, K., KOSHIDA, T., KOSHIMIZU, K., KUWAHARA, S., TAKAHASHI, Y., OGAWA, K., YANO, M., TOKUDA, H., NISHIHIRO, H., MIMAKI, Y., SASHIDA, Y., KITANAKA, S. and OHIGASHI, H.: Inhibitory effect of citrus nobiletin on phorbol ester - induced skin inflammation, oxidative stress, and tumor promotion in mice, *Cancer Res.*, **60**, 5059~5066 (2000)
- 5) CHEN, J., MONTANARI, A. M. and WIDMER, W. W.: Two new polymethoxylated flavones, a class of compounds with potential anticancer activity, isolated from cold pressed Dancy Tangerine peel oil solids, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 364~368 (1997)
- 6) HIRANO, T., ABE, K., GOTOH, M. and OKA, K.: Citrus flavone tangeretin inhibits leukemic HL-90 cell growth partially through induction of apoptosis with less cytotoxicity on normal lymphocytes, *Br. J. Cancer*, **72**, 1380~1388 (1995)
- 7) 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)
- 8) 三川 潮: 陳皮の薬理・化学・生化学, *現代東洋医学*, **5**, 52~54 (1984)
- 9) 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. natsudaidai*, 生薬学, **39**, 52~62 (1985)
- 10) 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)
- 11) 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)
- 12) MIYAGI, K., FUJISE, T., KOGA, N., WADA, K., YANO, M. and OHTA, H.: Synephrine in Shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata): Change during fruit development, and its distribution in citrus varieties, *Food Sci. Technol. Res.*, **15**, 389~394 (2009)
- 13) 和田浩二・神里奈津子・高良健作・當銘由博・矢野昌充・石井利直・太田英明：無核シークワサーの果実特性とポリメトキシフラボノイド, 日食保蔵誌, **33**, 15~20 (2007)
- 14) 與座宏一・太田英明・野方洋一・石谷孝佑：常温貯蔵中におけるブロッコリーの品質に及ぼす包装資材の影響, 日食工誌, **39**, 800~805 (1992)
- 15) 須田郁夫：食品の機能性評価マニュアル集（農林水産省食品総合研究所編）, pp.16~18 (2000)
- 16) YAMAGUCHI, T., TAKAMURA, H., MATOBA, T. and TERAO, J.: HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-Picrylhydrazyl[†], *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 1201~1204 (1998)
- 17) SAWAMURA, M., OISHI, 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)
- 18) KADER, A. A.: Postharvest Physiology of Vegetables (WEICHMANN, J., ed.) (Marcel Dekker, Inc., New York), pp.25~43 (1987)
- 19) 西篠了康・垣内典夫・安井秀夫編：青果物流通入門（技報堂出版, 東京）, p.170 (1990)
- 20) 山下市二：野菜のMA包装における機能性フィルムの利用, 食科工, **45**, 711~718 (1998)
- 21) 北川博敏・川田和秀・樽谷隆之：スタチの貯蔵における温度, 包装, 予措の効果, 園学雑, **51**, 350~354 (1982)
- 22) 橋永文男・伊藤三郎・福留裕志・清田義成：カボスの貯蔵に関する研究, 鹿大農学術報告, **32**, 43~49 (1982)
- 23) 沢村正義・宮崎智子・余 小林：ユズ緑色果実のポリエチレンフィルム密封貯蔵における温水処理ならびに鮮度保持剤の効果, 園学雑, **59**, 877~883 (1991)
- 24) 中西英人・大竹良知・藤田 健：機能性フィルムによるブロッコリーの品質保持, 愛知農総試研報, **28**, 199~207 (1996)
- 25) 池田浩暢・石井利直・茨木俊行・太田英明：MAP条件が15℃貯蔵中のブロッコリー (*Brassica oleracea* var. *italica*)の品質に及ぼす影響, 日食保蔵誌, **30**, 137~140 (2004)
- (平成22年4月26日受付, 平成23年1月19日受理)

成熟遺伝子型の異なるトマト緑熟果実の果皮色変動予測モデル

中村 宣貴^{*1}・タンマウォン マナスイカン^{*1}・金原 淳司^{*2}
 伊藤 博孝^{*2}・北川麻美子^{*2}・稲熊 隆博^{*2}・伊藤 康博^{*1}
 北澤 裕明^{*1}・石川 豊^{*1}・春見 隆文^{*3}・椎名 武夫^{*1§}

* 1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

* 2 カゴメ株式会社総合研究所

* 3 日本大学生物資源科学部

Prediction of Pericarp Color Changes Based Upon Cumulative Ethylene Production for Several Tomato Varieties with Different Ripening Inhibitor Genotypes

NAKAMURA Nobutaka^{*1}, THAMMAWONG Manasikan^{*1}, KINBARA Junji^{*2}
 ITO Hirotaka^{*2}, KITAGAWA Mamiko^{*2}, INAKUMA Takahiro^{*2}, ITO Yasuhiro^{*1}
 KITAZAWA Hiroaki^{*1}, ISHIKAWA Yutaka^{*1}, KASUMI Takafumi^{*3} and SHIINA Takeo^{*1§}

* 1 National Food Research Institute, NARO, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

* 2 Kagome Co., Ltd., 17 Nishitomiya, Nasushiobara, Tochigi 329-2762

* 3 College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-0880

In order to develop a pericarp color prediction model applicable to different varieties of mature green tomatoes, the CO₂ output rate, C₂H₄ production rate, and pericarp color (a* value) of four tomato varieties (Momotaro, PK331, PK353 and KGM011) were investigated during the storage of tomato at 25° C. Momotaro and PK331 are normal lines, PK353 is a *rin* (ripening inhibitor) mutant line, and KGM 011 is an F1 hybrid line between PK331 and PK353. Time course analysis revealed the significant effect of the different varieties and individual tomato samples on the monitored parameters. However, changes in the pericarp color of the different varieties of tomato, except PK353, correlated well with the cumulative ethylene production. Consequently, a mathematical model for predicting the pericarp color of each individual sample on the basis of its cumulative ethylene production was developed as a sigmoid-type function. Calculation results obtained by using the model and by considering all the data of three varieties – all the varieties other than PK353 – showed a high correlation coefficient (R² = 0.97). Therefore, there appear to be a possibility of developing a method involving the use of the model with cumulative ethylene production as a variable for predicting changes in the pericarp color of tomato fruits of all varieties.

(Received Oct. 25, 2010 ; Accepted Jan. 17, 2011)

Key words : tomato, *rin* mutant gene, ethylene production, pericarp color, prediction model

トマト, *rin*変異遺伝子, エチレン生成量, 果皮色, 予測式

トマトは主要な青果物であるだけでなく、遺伝子解析における重要なモデル作物の一つである。国際協調研究体制のもとで国際ナス科ゲノムプロジェクト (SOL) が進み¹⁾、現時点で解読されたトマトの遺伝子の約8割がweb上で公開されている²⁾。また、品種開発も活発に

行われており、日本における2009年3月31日現在における登録品種数は、果菜類の中で、いちご、りんご、ももに次いで4番目に多い³⁾。また、変異体が多く知られており、成熟に関する変異体として、*rin* (ripening inhibitor), *nor* (nonripening), *Nr* (never ripe) などが

* 1 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

§ Corresponding author, E-mail: shiina@affrc.go.jp

* 2 〒329-2762 栃木県那須塩原市西富山17番地

* 3 〒252-0880 神奈川県藤沢市亀井野1866

研究対象として良く用いられる^{4),5)}。

カゴメ(株)総合研究所では、高日持ち性トマトの開発を目的として、*rin*変異系統を用いた交配により、複数の*RIN/rin*遺伝子型のF1系統を育成した⁹⁾。これらのトマトは正常に成熟し、かつ日持ち性が高いという特徴を有しており、その中で品質のよい系統が‘KGM011’として2005年に品種登録されている。‘KGM011’については、リコペン含量、PG活性、エチレン生成速度など、様々な成熟に関連する項目において、通常型と*rin*変異型の中間的な特徴を示すことが報告されている^{6),7)}。

農産物一般に関して、流通時の物理的損傷を低減し、高品質な状態で消費者に供給するためには、流通過程における外観、硬さなどの変動を予測し、利用時の品質が最高となるような条件の解明が重要である。従来、トマト果実は追熟開始時期がばらつくことから、緑熟(Mature Green, MG)果の追熟変動予測モデルの作成は困難であると報告されている⁸⁾。一方、トマト果実の果実硬度および果皮色に関する精度のよいモデルが作成されている^{9),10)}、その予測式のパラメータには生物学的な年齢(個々の果実において、一定の熟度に至るまでの時間)が導入されており、追熟開始時期の予測を回避している。また、式の性質上、個体差を表現することは不可能である。筆者らは、既報¹¹⁾において、トマト果実‘桃太郎’の追熟特性を詳細に検討し、積算エチレン生成量を用いることで、MG果の追熟中の果皮色、果実硬度の変化を予測できることを示した。トマト果実の追熟過程における品質変動を予測することができれば、流通耐性の高い品種の選抜や高品質トマトの流通技術の開発が期待できる。しかし、この手法が‘桃太郎’以外の品種に適用できるかどうかについては不明である。

そこで、本研究では、‘桃太郎’、‘KGM011’および‘KGM011’の親品種(母系:‘PK331’、父系:‘PK353’)を対象として、二酸化炭素排出速度、エチレン生成速度および果皮の a^* 値(赤さの指標)の変動について詳細な解析を行った。また、それぞれの品種において、積算エチレン生成量を用いた a^* 値変動予測式を作成・評価した。さらに、異なる成熟遺伝子をもつトマト品種にも適用可能な a^* 値変動予測式について検討した。

実験方法

1. 供試材料

(1) 品種 実験には、‘PK331’、‘PK353’、‘KGM011’および‘桃太郎’の4品種を用いた。

‘PK331’は、カゴメ(株)所有の育成系統に通常遺伝子型(*RIN/RIN*)のマスター2号を交配して得た通常遺伝子型の選抜系統である。

‘PK353’は、*rin*遺伝子をホモ(*rin/rin*)でもつカリフォルニア大学所有のLA3012に、カゴメ(株)所有の育成系統を交配して得た変異型(*rin/rin*)の育成品種である。LA3012と同様に*rin*変異遺伝子をホモでもつため、

着色、軟化が進行しないことが特徴である。

‘KGM011’は、‘PK331’を母系、‘PK353’を父系にもつ交雑品種であり、*rin*遺伝子をヘテロ(*RIN/rin*)でもつ。品種特性としては、正常に成熟し、かつ日持ちがよいことが報告されている^{5)~7)}。

(2) 供試材料 供試材料には、栃木県那須塩原市内のカゴメ(株)総合研究所で温室栽培されたMG果を用いた。実験前日に大きさ、形のそろったMG果を収穫し、茨城県つくば市の食品総合研究所まで乗用車で輸送後(輸送時間約3h)、設定温度25℃の恒温庫内で12~18時間保管し、品温調整を行った。庫内湿度はなりゆきであるが、保蔵中は段ボール箱にポリエチレンフィルムをかけ、水分の蒸散を極力抑える対策を行った。なお、MG果はMG1-MG4まで分類することが可能である¹²⁾。本実験の供試材料は既報¹¹⁾と同様に目視および質量による選別のみを行い、開花後日数などによる詳細な熟度調整は行わなかったが、本実験で入手したトマト果実の中からランダムに個体を選び、収穫直後にその内部を収穫直後に観察したところ、すべての果実がMG3(子室組織がゼリー状かつ緑色)に分類された。保蔵実験に用いた果実もMG3と同様な成熟程度であったと考えられる。また、品種特性を評価するため、桃熟果(Pink, P果)、完熟果(Red, R果)も同様に供した。実験に供した‘PK331’、‘PK353’、‘KGM011’および‘桃太郎’の平均質量は、それぞれ 134.2 ± 8.6 、 133.6 ± 11.2 、 122.4 ± 5.2 および 93.0 ± 8.6 gであった(±以下は標準偏差)。

2. 保蔵条件

トマト果実は、トマトの輸送に用いられるパルプモールドトレイを敷いた段ボール箱に果実を詰め、ポリエチレンフィルムを被せた状態で保蔵した。呼吸およびエチレン生成速度測定用の果実は、測定前のハンドリングによる物理的な刺激が測定結果に及ぼす影響¹³⁾を避けるため、後述の測定用チャンバ内に入れた状態で保蔵した。保蔵温度は設定温度25℃とし、予備実験により設定温度と庫内温度および12h静置後の果実品温との差が0.5℃以内であることを確認した。保蔵期間は、果実が完全に着色し、その後の a^* 値の変動が十分小さくなるまでの期間として、最大27日間とした。

3. 測定項目

各トマト品種の追熟特性を評価するため、MG果を用いて二酸化炭素排出速度、エチレン生成速度、果皮色について、経時変化を測定した。

4. 測定方法

(1) 二酸化炭素排出速度、エチレン生成速度 試料果実を、恒温庫内に設置したアクリル製のチャンバに密閉し、ガスタイトシリンジでチャンバ内ガスを1ml採取し、密閉直後、1h後および2h後のガス濃度を測定した。なお、品種の特性評価時には5個のサンプルを容積約3ℓのチャンバに、果実個々の追熟特性評価時には果実を容積約1ℓのチャンバに入れて、それぞれ測定し

た。また、チャンバの密閉性については、事前に漏れのチェックを行い、問題ないレベルであることを確認した。二酸化炭素の分析にはガスクロマトグラフ（島津製作所製，GC-6 A，カラムは島津製作所製，ZY-1）を用い，キャリアガスはヘリウム（流量60ml・min⁻¹），検出器はTCD，カラム温度およびINJ/DET温度はそれぞれ70，80℃とした。エチレンの分析にはガスクロマトグラフ（島津製作所製，GC-8 A，カラムは島津製作所製，Porapaq N）を用い，キャリアガスはヘリウム（流量40 ml・min⁻¹），燃焼ガスは水素，検出器はFID，カラム温度およびINJ/DET温度はそれぞれ140，160℃とした。測定は，密閉直後および2 h後に行い，測定終了後に果実個々の質量および体積（水置換法）を測定した。そして，既報¹¹⁾と同様に，容器内のガス濃度変化，空隙体積および質量から，（1）式を用いて呼吸速度，（2）式を用いてエチレン生成速度を，それぞれ算出した。

$$Q_C = \frac{\Delta C_C \times (V_0 - V) \times \rho_C \times T_0}{10^2 \times T \times M \times t} \dots\dots\dots (1)$$

$$Q_E = \frac{\Delta C_E \times (V_0 - V) \times \rho_E \times T_0}{10^2 \times T \times M \times t} \times 10^3 \dots\dots\dots (2)$$

ここで，Q_C：二酸化炭素排出速度（mg・kg⁻¹・h⁻¹），Q_E：エチレン生成速度（μg・kg⁻¹・h⁻¹），ΔC：ガス濃度差（%），V₀：チャンバ容積（ℓ），V：果実体積（ℓ），ρ：ガスの密度（g・ℓ⁻¹），T：測定温度(K)，T₀：273.15 (K)，M：サンプル質量（kg）である（添え字のCは二酸化炭素，Eはエチレンを表す）。

（2）果皮色 トマト果実の着色の指標として，L*a*b*表色系におけるa*値を用いた。果実赤道部の2か所について測定を行い，その平均値を果実の色の代表値とした。経時変化を測定するサンプルについては，測定箇所をマーキングし，常に同じ位置を測定した。測定には積分球式分光測色計（スガ試験機製，MSC-1 S-2 D）を用いた。

（3）追熟予測モデルの作成，評価 トマト果実の追熟にかかわる遺伝子発現の誘導，活性化においては，エチレンが重要な役割を果たす^{14),15)}。また，既報¹¹⁾において，呼吸速度，エチレン生成速度，保蔵日数と着色の関係について検討した結果，積算エチレン生成量が果皮色（a*値）と最も高い相関を示した。そこで，積算エチレン生成量を独立変数とし，下記のシグモイド型曲線で表されるトマト果実のa*値の予測式を作成した。

$$A = \frac{a}{1 + e^{(b \cdot x)}} + c \dots\dots\dots (3)$$

ここで，A：a*値（-），x：積算エチレン生成量（μg），a，b，c：最小二乗法により算出される定数である。積算エチレン生成量を変数とする（3）式を用いてa*値を予測し，実測値と予測値の決定係数および標準偏差を求めた。また，品種ごとの予測式を作成するとともに，PK 353を除く3品種の測定データを用いた統一的な予測式の作成を試みた。

結果および考察

1. トマト品種の熟度特性

異なる熟度（MG果，P果およびR果）で収穫した各トマト品種の二酸化炭素排出速度をFig.1に示す。‘PK 353’以外の3品種は，P果において呼吸速度が高い，いわゆるクライマクテリック型の呼吸特性を示した。一方，‘PK353’は，熟度の違いによる呼吸速度の差異は小さかった。

エチレン生成速度の測定結果をFig.2に示す。エチレン生成速度を品種間で比較すると，呼吸速度の結果と傾向は同様であったが，品種間および熟度による差がより顕著であった。すなわち，‘KGM011’のエチレン生成速度は‘PK331’および‘桃太郎’のその3分の1程度であり，‘PK353’では，いずれの熟度でもエチレン

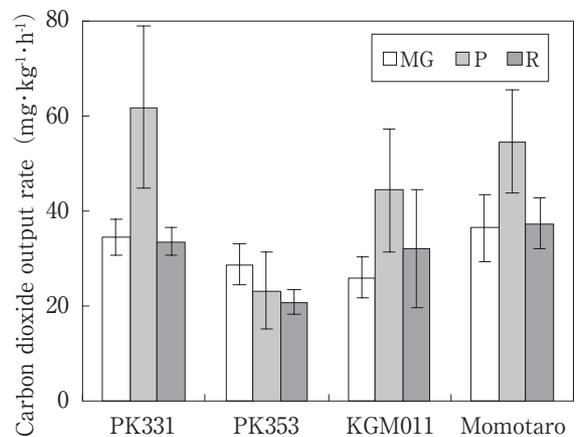


Fig.1 Comparison of the carbon dioxide output rate of tomatoes (cultivars PK 331, PK 353, KGM 011 and Momotaro) harvested at the mature green (MG), pink (P), and red (R) stages and stored at 25°C

Data are given in the form mean ± S.D. (n = 5)

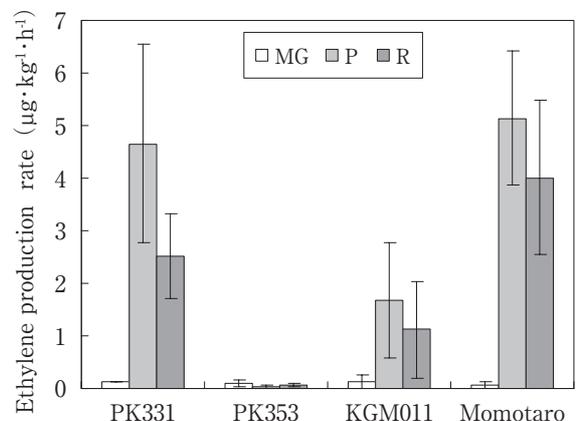


Fig.2 Comparison of the ethylene production rate of tomatoes (cultivars PK 331, PK 353, KGM 011 and Momotaro) harvested at the mature green (MG), pink (P), and red (R) stages and stored at 25°C

Data are given in the form mean ± S.D. (n = 5)

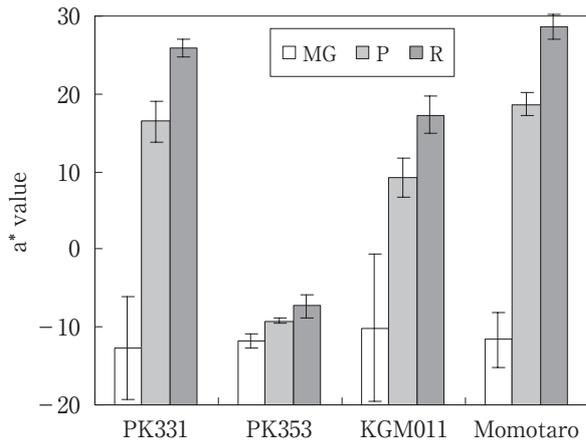


Fig. 3 Comparison of the a^* value among tomatoes (cultivars PK331, PK353, KGM011 and Momotaro) harvested at the mature green (MG), pink (P), and red (R) stages and stored at 25°C

Data are given in the form mean \pm S.D. (n = 5)

はほぼ検出限界以下の濃度であった。

a^* 値の測定結果をFig. 3に示す。 a^* 値は、成熟の進行に伴い増加した。目視による観察では、'KGM011'の果皮色は、'PK331'および'桃太郎'と比較して若干赤味が薄かったが、赤色の指標である a^* 値の傾向も同様であった。'PK353'については、成熟の進行により果皮色が黄化したが、 a^* 値の増加はほとんどみられなかった。東尾ら¹⁶⁾は、通常型のトマト5品種について、 a^* 値の変動に及ぼす品種の影響は小さいことを報告しているが、本研究で用いた遺伝子型の異なる品種に関しては、 a^* 値の変動パターンは品種ごとに大きく異なった。

以上の結果より、今回供試した4品種のトマト果実の追熟に伴う呼吸速度、エチレン生成速度、 a^* 値の変動特性は、遺伝子型により大きく異なることが明らかとなった。KITAGAWAら⁵⁾は、リコペン生合成に関連する酵素であるPSY、エチレン生成に関わる酵素であるACS2およびACO1の活性について検討し、'KGM011'では、'PK331'と比較してこれらの酵素活性が低下すること、そして'PK353'ではほとんど活性がないことを報告している。本研究において測定した呼吸速度、エチレン生成速度および a^* 値の熟度間の差は、いずれも'PK331' \equiv '桃太郎' > 'KGM011' > 'PK353'であった。すなわち、*rin*遺伝子をホモ (*rin/rin*) でもつ'PK353'では熟度が呼吸特性、 a^* 値に及ぼす影響は非常に小さく、*rin*遺伝子をヘテロ (*Rin/rin*) でもつ'KGM011'は、親品種の中間的な特性を示すことが確認された。

ところで、収穫直後のMG果、P果およびR果と、MG果の追熟によりP果およびR果となった果実との間で、二酸化炭素排出速度、エチレン生成速度および a^* 値には明確な差はみられなかった(データ省略)。すなわち、今回の測定に用いた果実においては、樹上における成熟と保蔵中における追熟との差は小さいと考えられた。

2. 積算エチレン生成量による a^* 値の予測

(1) 積算エチレン生成量と a^* 値との関係 個別のMG果のエチレン生成速度および a^* 値の変動の経時変化をFig. 4, Fig. 5に、積算エチレン生成量と a^* 値の関係をFig. 6に示す('桃太郎'のデータは、'PK331'と類似

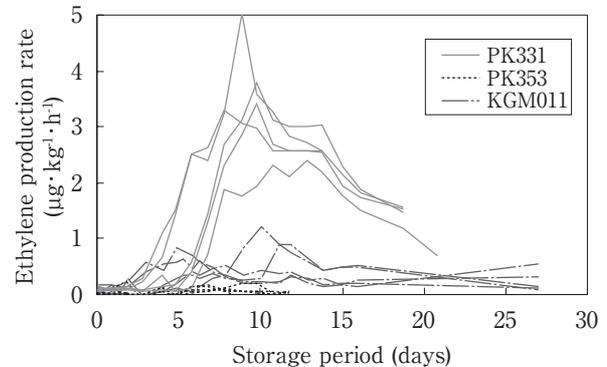


Fig. 4 Changes in the ethylene production rate of five individual tomatoes (cultivars PK331, PK353 and KGM011) harvested at the mature green stage and stored at 25°C

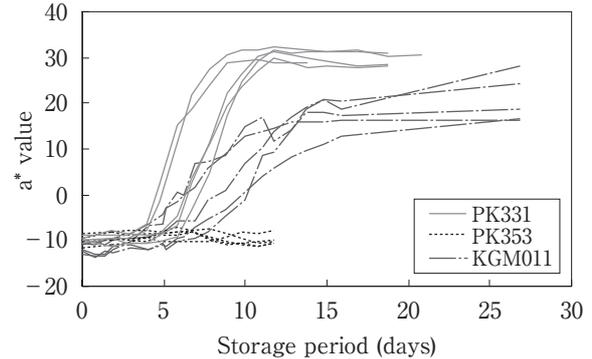


Fig. 5 Changes in the a^* value of five individual tomatoes (cultivars PK331, PK353 and KGM011) harvested at the mature green stage and stored at 25°C

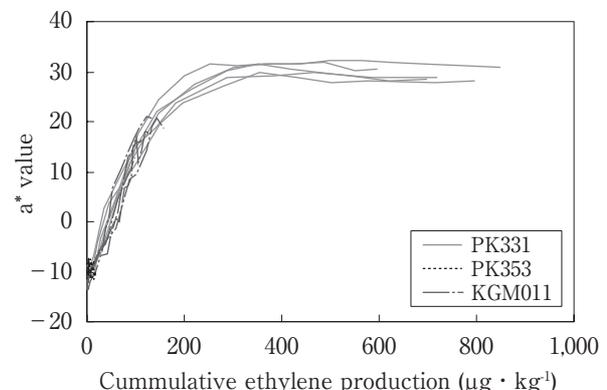


Fig. 6 Relationship between the a^* value and the cumulative ethylene production of individual tomatoes (cultivars PK331, PK353 and KGM011) harvested at the mature green stage and stored at 25°C (five fruits for each variety)

であるため省略)。なお、‘PK353’については、測定項目の経時変化がほとんど認められなかったため、14日間で測定を終了した。

‘PK331’は、‘KGM011’と比較して、エチレン生成速度が明らかに大きかった。また、a*値の増加が早く、最終的なa*値の値も大きかった。これらの結果は、Fig.2およびFig.3で示された各熟度におけるトマト品種特性の傾向と同様であり、追熟特性が品種により大きく異なることが確認された。一方、追熟特性が大きく異なるにもかかわらず、積算エチレン生成量とa*値との関係は、いずれのトマト品種においても同様であった。すなわち、既報¹⁾で報告した積算エチレン生成量を指標としたa*値の変動予測は、品種が異なっても適用できる可能性が示された。

(2) a*値の予測式の評価 Table 1に、品種ごとのデータもしくは‘PK353’を除く3品種全部のデータを用いて作成したa*値の予測式の定数(a, b, c)および計算値と実測値の決定係数、標準誤差を示す。‘PK

353’以外の3品種については、高い決定係数が得られた。‘PK353’については、相関は全くみられなかった。これは、‘PK353’では、エチレン生成量が検出限界以下で、しかもa*値がほぼ一定であったことに起因する。一方、‘PK353’を除く3品種のデータを用いて作成した予測式(統一予測式)は、品種ごとに作成した予測式と同様に、高い決定係数が得られた(決定係数:0.97)。これは、遺伝子型が異なるトマト品種にも適用可能な汎用追熟予測式が作成可能であることを強く示唆している。一方、それぞれの品種における測定値と統一予測式による予測値を比較すると(Fig.7)、『桃太郎』では実測値>予測値、『KGM011』では実測値<予測値となる傾向があった。積算エチレン生成量とa*値との関係には、若干の品種間差が存在する可能性がある。また、前述のとおり、『KGM011』におけるa*値の最終到達点は、『桃太郎』および‘PK331’より低かった。そのため、長期保蔵時には、保蔵後期において‘KGM011’のa*値の実測値と予測値にずれが生じることとなる。実用性を考えた

Table 1 Evaluation of the feasibility of prediction models for the pericarp color (a* value) for four varieties PK331, PK353, KGM011 and Momotaro denote the prediction models for the different varieties, and UM denotes a unified model. a, b, and c are constant parameters of the sigmoid-type function with cumulative ethylene production as a variable (n=5).

	a	b	c	Determination coefficient	Standard deviation
PK331	83.065	-0.014	-52.922	0.988	1.914
PK353	88.887	0.003	-53.249	0.061	1.490
KGM011	81.213	-0.015	-53.532	0.960	2.394
Momotaro	82.683	-0.020	-51.743	0.991	1.746
UM*	84.360	-0.014	-53.640	0.973	2.766

UM*: Unified model without PK353

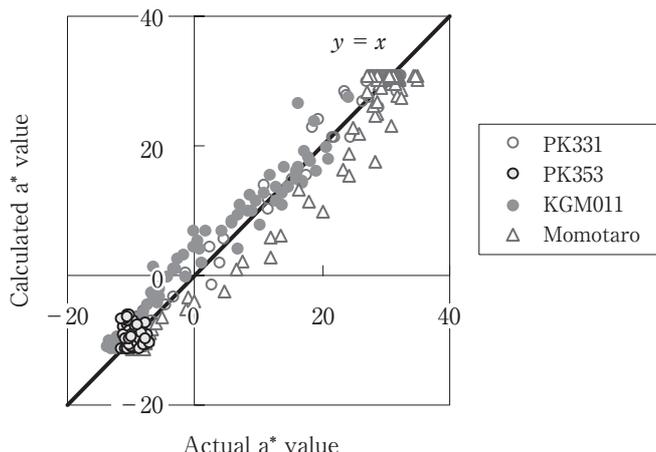


Fig. 7 Relationship between the actual a* value and the calculated a* value for four varieties of tomatoes (cultivars PK331, PK353, KGM011 and Momotaro) harvested at the mature green stage and stored at 25°C

The model used for predicting the pericarp color (a* value) was a sigmoid-type function based on the cumulative ethylene production (n=5)

場合、完熟以降の a^* 値の予測の必要性は低いと考えられる。一方、より高精度の予測を行うためには、品種ごとの a^* 値の最終到達点をパラメータとして内包する予測式の開発が必要と考えられる。

ところで、追熟によるエチレン生成および a^* 値の増加がみられない‘PK353’については、本研究で検討した予測式は適用できない。‘PK353’と同様な成熟特性を示す品種の追熟特性の予測式を作成するためには、エチレン生成量および a^* 値以外を指標としたモデルを検討する必要があるだろう。例えば、トマト果実の果皮色変化は、リコペン含量変化およびクロロフィル含量変化の二つの現象で表現できる¹⁰⁾。‘PK353’の成熟による黄化は、緑色素であるクロロフィルの無色成分への分解¹⁷⁾が一因と考えられる。すなわち、クロロフィル含量の予測手法を開発することで、‘PK353’のようにエチレン、リコペンともに生産しない品種の果皮色予測モデルを作成することができると思われる。

(3) 今後の検討 以上より、積算エチレン生成量を独立変数としたトマトMG果の a^* 値変動予測式は、正常に成熟する品種であれば、成熟遺伝子型が異なる品種についても適用できる可能性が示された。この手法を用いることで、様々なトマト品種について、消費時の果皮色を基準とする外観品質と流通期間を考慮した収穫時期決定が容易になると期待できる。

筆者らは、‘桃太郎’トマトのMG果について、積算エチレン生成量を用いて果実硬度を予測することが可能であることを報告している¹¹⁾。積算エチレン生成量による果実硬度予測が多くのトマト品種に適用可能であれば、積算エチレン生成量、果皮色、果実硬度に関するデータを取得することで、トマト新規品種の果実硬度予測モデルを作成することが可能となる。果実硬度予測値を輸送耐性の指標に用いることで、物理的損傷発生が少ない低コスト流通システムを簡便に設計することが可能になるだろう。今後は、様々なトマト品種について、着色、果実硬度変動などの成熟特性の予測手法に関する知見を蓄積していくことが期待される。これらの知見を利用することで、最適収穫時期の決定、緩衝包装設計を行うための具体的な手順について検討することが可能となる。さらに、この一連の手法を他の追熟性青果物へ適用することで、青果物の高品質、低コスト物流システムの構築が可能になると考えられる。

要 約

本研究では、正常に成熟する‘PK331’、正常に成熟しない rin 変異系統である‘PK353’、そのF1品種である‘KGM011’（いずれもカゴメ(株)所有の育成品種）および‘桃太郎’を対象として、呼吸速度、エチレン生成速度および a^* 値について詳細に解析した。また、トマト果実の最適流通システム構築のための基礎的知見を得ることを目的として、各トマト品種の緑熟果について、

積算エチレン生成量を用いた追熟予測式を作成・評価した。その結果、以下の知見を得た。

- ① ‘PK331’、‘桃太郎’の緑熟果は、追熟中に典型的なクライマクテリック型の呼吸速度、エチレン生成速度変動を示した。また、エチレン生成の上昇とともに急激に a^* 値が上昇した。
- ② ‘PK353’の緑熟果においては、保蔵中に呼吸速度、 a^* 値の変動はほとんどみられなかった。また、エチレン生成量は検出限界以下であった。
- ③ ‘KGM011’は、呼吸速度、エチレン生成速度、 a^* 値のいずれにおいても、親品種（‘PK331’、‘PK353’）の中間的な特性を示した。
- ④ 個別果実の積算エチレン生成量と a^* 値との関係から、品種ごとにシグモイド型の a^* 値の予測式を作成・評価した。その結果、‘PK331’、‘PK353’、‘KGM011’および‘桃太郎’における計算値と実測値との決定係数は、それぞれ0.99、0.06、0.96および0.99であった。
- ⑤ ④と同様な手法により‘PK353’を除く3品種すべてのデータを用いた a^* 値の予測式を作成した。その結果、計算値と実測値との決定係数は、0.97であった。

以上の結果より、トマト品種の追熟特性は、成熟にかかわる遺伝子型により大きく異なること、‘PK353’以外の正常に成熟する品種については、積算エチレン生成量を独立変数として、異なる成熟遺伝子型のトマト品種にも適用可能な a^* 値変動の予測式の作成が可能であることが示された。

謝 辞 本研究の一部は生研センターイノベーション創出事業の助成を受けたものである。

文 献

- 1) WATANABE, S., *et al.* : Ethylmethanesulfonate (EMS) mutagenesis of *Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom for large-scale mutant screens, *Plant Biotechnol.*, **24**, 33~38 (2007)
- 2) Tomato SBM & Marker Database (<http://www.kazusa.or.jp/tomato/> H22.9.28確認)
- 3) 農林水産省：品種登録ホームページ, (<http://www.hinsyu.maff.go.jp/kensaku/ranking.html>, H22.5.26確認)
- 4) DEAN, D., *et al.* : Polygalacturonase Gene Expression in Rutgers, *rin*, *nor*, and *Nr* Tomato Fruits, *Plant Physiol.*, **85**, 502~507 (1987)
- 5) 伊藤康博：トマトの成熟変異遺伝子の利用による日持ち性の改善と低アレルゲン化について, *食糧*, **45**, 91~106 (2007)
- 6) KITAGAWA, M., *et al.* : Characterization of tomato fruit ripening and analysis of gene expression in

- F1 hybrids of the ripening inhibitor (*rin*) mutant, *Physiol. Plant.*, **123**, 331~338 (2005)
- 7) KITAGAWA, M., *et al.* : Ethylene Biosynthesis Regulation in Tomato Fruit from the F1 Hybrid of the ripening inhibitor (*rin*) Mutant, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70** (7), 1769~1772 (2006)
- 8) TIJSEKENS, L.M.M. and EVELO, R.G. : Modelling colour of tomatoes during postharvest storage, *Postharvest Biol. Technol.*, **4**, 85~88 (1994)
- 9) HERTOEG, M. L. A. T. M., *et al.* : The impact of biological variation on postharvest behaviour of tomato fruit, *Postharvest Biol. Technol.*, **34**, 271~284 (2004)
- 10) SCHOUTEN, R. E., *et al.* : Modelling quality attributes of truss tomatoes: Linking colour and firmness maturity, *Postharvest Biol. Technol.*, **45**, 298~306 (2007)
- 11) 中村宣貴ら：トマト‘桃太郎’緑熟果実の追熟過程における果皮色および果実硬度変化の積算エチレン生成量による予測，日食保蔵誌，**36**(2)，67~74 (2010)
- 12) MITCHAM, J. ELIZABETH, K. C. and GROSS, T. J. Ng. : Tomato Fruit Cell Wall Synthesis during Development and Senescence, *Plant Physiol.* **89**, 477~481 (1989)
- 13) TATSUKI, M. and MORI, H. : Rapid and transient expression of 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase isogenes by touch and wound stimuli in tomato, *Plant Cell Physiol.*, **40**, 709~715 (1999)
- 14) ALEXANDER, L. and Grierson, D. : Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening, *J. Exp. Bot.*, **53**, 2039~2055 (2002)
- 15) 立木美保：エチレンによる果実の成熟・老化制御機構，果樹研報，**6**，11~22 (2007)
- 16) 東尾久雄・岡田邦彦・亀野 貞：トマト果実の熟度区分判定のための簡易測色法，四国農研報，**55**，1~9 (1992)
- 17) MATILE, P., HÖRTENSTEINER, S. and THOMAS, H. : Chlorophyll degradation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **50**, 67~95 (1999)
- (平成22年10月25日受付，平成23年1月17日受理)
-

大豆を圧搾油した残渣「大豆圧搾ミール」の 性状と豆乳の調製

鬼島直子^{*1§}・遠藤修二郎^{*2}・齋藤昌義^{*3}
今野 周^{*4}・下山田真^{*5}

* 1 山形県立農業大学校

* 2 三和油脂(株)

* 3 国際農林水産業研究センター

* 4 山形県村山総合支庁村山農業技術普及課

* 5 宮城大学食産業学部

Properties of Mechanically Defatted Soybean Flour and Preparation of Soymilk from the Flour

KIJIMA Naoko^{*1§}, ENDO Shujiro^{*2}, SAITO Masayoshi^{*3},
KONNO Shu^{*4} and SHIMOYAMADA Makoto^{*5}

* 1 *Yamagata Prefectural College of Agriculture, 1366, Tunozawa, Sinjyo-shi, Yamagata 996-0052*

* 2 *Sanwa Oil & Fat Co., Ltd, 4-1-2, Hitoichimati, Tendo-shi, Yamagata 994-0044*

* 3 *Japan International Research Center for Agricultural Sciences,
1-1, Ohwashi, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8686*

* 4 *Yamagata General Agricultural Research Center,
6060-27, Minorigaoka, Yamagata-shi, Yamagata 990-2372*

* 5 *School of Food, Agricultural and Environmental Sciences, Miyagi University,
2-2-1, Hatatate, Taihaku, Sendai-shi, Miyagi 982-0215*

Nutrient content and the degree of protein denaturation in mechanically defatted soybean meal, which was the residue from mechanical extraction of soybean oil were estimated, and soybean milk was made from the defatted flour. ①Mechanical defatting of the soybean meal, led to reduction in the quantity of the soybean meal by almost half and caused a marked decrease in its lipid content. Protein, carbohydrate, and mineral contents in the mechanically defatted soybean meal were higher by approximately 10~20% than the corresponding contents in a whole soybean meal. Energy value of the mechanically defatted soybean flour was 376 kcal/100 g, and this value was lower by 20% than that in the whole soybean meal (477 kcal/100 g). ②Solubility testing and differential scanning calorimetry (DSC) revealed that the proteins in the mechanically defatted soybean meal treated under non-heating condition had denatured to a lesser degree than those in the meal treated under heating condition and in a commercial defatted soybean meal. ③Compared to the soybean milk made from the whole soybean meal, the soybean milk made from the mechanically defatted soybean meal showed lesser brightness, slightly lower degree Brix, and higher viscosity. ④These results indicate that the mechanically defatted soybean meal prepared under non-heating condition is suitable for preparing food materials such as soybean beverages.

(Received Oct. 7, 2010 ; Accepted Feb. 23, 2011)

Key words : *soy bean, Mechanical defatting of the soybean meal, soybean milk, nutrient content,*
大豆, 大豆圧搾ミール, 豆乳, 栄養成分, たんぱく質の変性

* 1 〒996-0052 山形県新庄市大字角沢1366

§ Corresponding author, E-mail: kijiman@pref.yamagta.jp

* 2 〒994-0044 山形県天童市一日町4-1-2

* 3 〒305-8686 茨城県つくば市大わし1-1

* 4 〒990-2492 山形県山形市鉄砲町2-19-68

* 5 〒982-0215 宮城県仙台市太白区旗立2-2-1

大豆は約20%もの脂質を含むことから、主要生産国であるアメリカ、アルゼンチン、ブラジル、中国で生産される大豆の大部分は搾油に利用される。全世界で年間消費される大豆2億2,400万tトンのうち、約87%は搾油のために利用されている¹⁾。その結果として生じる脱脂大豆のほとんどは肥料や飼料となり、食用にはごく一部しか利用されていない。

一方、日本における大豆の需給は、72%が食用油の原料として使われている²⁾。その搾油工程において生じる脱脂大豆に関しては高度利用技術の開発が進み、濃縮タンパク、分離タンパクなどへと加工されたうえで、各種のタンパク食品素材として利用されている³⁾。

現在、大豆の工業的な搾油はヘキサンを用いた抽出法が広く用いられているが、過去には種子を物理的に圧搾することで油脂分を搾り取っていた。

私たちの研究グループのうち三和油脂株式会社は、これまでに物理的圧搾技術を見直し、米糠の搾油方法を開発するとともに、生じた残渣を食品素材として利用するための技術開発を行い、実用化に至っている⁴⁾。

筆者らは、この物理的圧搾による搾油を、水田転作の重要作物である大豆に適用し、大豆油の品質改善と、圧搾残渣を利用した食品素材の開発を目指して物理的圧搾法について検討を行っている。海外においても、大豆種子からの物理的圧搾による搾油が試みられている⁵⁾が、広く用いられるまでには至っていない。

その中で、大豆の物理的圧搾搾油で生じた脱脂残渣を「大豆圧搾ミール」とし、この大豆圧搾ミールの栄養成分、ミール中のタンパク質成分の変性度について分析し、ミールからの豆乳の調製を試みたので、報告する。

なお、リポキシゲナーゼによる豆臭の発生を抑制するために、近年利用が広がっているリポキシゲナーゼ欠失大豆⁶⁾を主に材料として検討を行った。

実験方法

1. 材 料

大豆は「タチユタカ」およびすべてのリポキシゲナーゼアイソザイムを欠失したりポキシゲナーゼ欠失系統「東北158号」を用いた。工業製法の脱脂大豆はアメリカ産大豆を原料とした。

2. 大豆圧搾ミールの製造

乾燥・選別調製した大豆を圧搾機（螺旋搾油機、四川青江機器株式会社、中国）に投入して、物理的搾油を行った。圧搾操作中は圧搾機のウォーム部分の回転速度を調節し、搾油時の大豆の温度が50℃以上に上昇しないようにコントロールした。このように低温での圧搾を行った残渣を「非加熱圧搾ミール」とした。

原料大豆を120℃、5分間、加熱用のケトルで加熱した後に圧搾搾油を行った残渣を「加熱圧搾ミール」とした。また、大豆をハンマーで圧扁し、ヘキサンで3回抽出したものを、「ヘキサン抽出ミール」とした。いずれ

も高速振動試料粉碎機（TI-100型株式会社シーエムティー科学）で1分間粉碎した試料粉末を測定に供した。

3. 大豆圧搾ミールの色調と栄養成分

大豆「東北158号」とその圧搾ミールを粉碎して微粉末とし、色調およびタンパク質、脂質、灰分、食物繊維含量を測定した。粉碎は株式会社オリジン・フジに委託して行った。

色調の測定には、「測色色差計」（日本電色工業株式会社製ZE-2000）を用いた。水分は常圧加熱乾燥法⁷⁾で、タンパク質はケルダール法⁸⁾により測定し、窒素-タンパク質換算係数を5.71として換算した。脂質はクロロホルム・メタノール混液抽出法で測定した。さらに、灰分は直接灰化法⁷⁾で、食物繊維は酵素-重量法⁷⁾で分析した。糖質は、栄養表示基準による計算式：当該食品の重量（100）-（水分+タンパク質+脂質+灰分+食物繊維）により計算して求めた。エネルギーは栄養表示基準による換算係数により計算して求めた⁸⁾。

4. 大豆圧搾ミールの水に対する溶解性と示差熱分析（DSC）による吸熱ピークの測定

（1）タンパク質の溶解性の検討 原料大豆として「タチユタカ」を用い、タンパク質含量、水溶性タンパク質量を測定し、タンパク質の溶解性を求めた。水溶性タンパク質含量は、試料粉末を100倍量の蒸留水に懸濁し5分毎に振とうしながら1時間室温に放置後、10,000×g、10分間遠心分離して得た上澄液の窒素含量を測定してタンパク質濃度に換算することで求めた。全タンパク質中に占める水溶性タンパク質の割合（%）を、タンパク質の溶解性とした。

（2）吸熱ピークの測定（示差走査熱量分析） 示差走査熱量測定計（SIIナノテクノロジー）を用いて、吸熱ピークの測定を行った。銀製の測定セルに60mgの試料を封入して、40℃から120℃まで1℃/分の速度で昇温させて、測定を行った。試料のタンパク質量当たりの吸熱量を変性度の指標とした。

5. 圧搾ミールと原料大豆による豆乳の試作と評価

大豆圧搾ミールと原料大豆を用いて、豆乳を試作し、品質評価および粒度分布の測定を行った。

「丸大豆豆乳」は原料大豆を16時間水に浸漬した後、乾大豆の7倍量の水から吸水した分の水を差し引いた水を加え、ラボラトリーブレンダー（LB10 ワーリング社）で2分間磨砕を行った。得られた呉をテフロン製の袋で絞り、オカラと豆乳に分離した。得られた豆乳は加熱して93℃以上で3分間保持した後、瓶詰めして85℃30分間の加熱殺菌を行った。

「大豆圧搾ミール豆乳」は大豆圧搾ミールに7倍量の水を加え、直ちに2分間磨砕を行い、その後は「丸大豆豆乳」と同様に処理を行った。

得られた豆乳についてそれぞれ、色調、大豆固形分、Brix、粒度分布の測定を行った。大豆固形分は、常圧加熱乾燥法にて豆乳中の乾物を測定して求めた。Brixはデ

デジタル糖度計 (IPR-201 (株)アタゴ) で測定した。粒度分布はレーザー回折散乱法 粒度分布測定装置 (LS 13320ベックマン・コールター(株)) を用いて測定した。

実験結果と考察

1. 大豆圧搾ミールの基礎栄養成分

100kgの大豆を物理的圧搾によって搾油することで75.9kgの大豆圧搾ミールが得られた。

丸大豆と大豆圧搾ミールを粉砕して得られた粉末は、いずれも100 μ m以下の微粉末であった。粉末の粒度分布を測定すると、粒度分布のピークは圧搾ミール粉末が15 μ m、丸大豆粉末が9 μ mとなり、圧搾ミール粉末は全脂粉末に比較して粉砕されにくいものと考えられた。

白色度について測色色差計を用いて調べた結果、圧搾ミール粉末は大豆粉末に比べて、黄色みは低く、白色度は高いことが示された (表1)。

圧搾ミール粉末と大豆粉末に含まれる栄養成分の分析結果を表2に示した。圧搾ミール粉末の脂質含量は、11.6g/100gとなり、圧搾時の重量変化を考慮すると全脂大豆粉末の約30%であった。一般的な脱脂大豆粉の脂質含量は約1.5%と報告されており⁹⁾、圧搾搾油においては、残渣により多くの脂質が残存していることが示された。

圧搾ミール粉末中のタンパク質含量および灰分含量はそれぞれ、40.0、6.2g/100gであり、大豆粉末に比較してともに10%程度増加しており、これは搾油操作によって脂質が除かれたことによって見かけ上増加したものと考えられた。食物繊維含量は圧搾ミール粉末において

20.8g/100gであり、圧搾ミール粉末で58%高くなった。これは、今回用いた大豆粉末を調製する際に大豆の種皮が一部取り除かれていることが影響したものと考えられた。

これらの結果から、圧搾ミール粉末のエネルギーを計算すると、100g当たり376kcalであった。すなわち、大豆圧搾ミールは大豆粉末に比較して脂質の約70%が抽出されており、エネルギーも20%程度低いことがわかった。

2. 大豆圧搾ミールの溶解性とタンパク質の変性度

圧搾時の温度は一般的には高いほうが油脂の回収率は高いものと考えられるが、タンパク質の加熱変性は進む傾向にある。そこで、圧搾時における加熱が圧搾ミール中のタンパク質に与える影響を明らかにするため、圧搾時の品温を50 $^{\circ}$ C以下に抑えて圧搾した「非加熱圧搾ミール」と圧搾前に120 $^{\circ}$ C 5分の加熱を行って圧搾した「加熱圧搾ミール」についてタンパク質の溶解性測定と示差熱分析を行った。対照として、大豆を圧扁してヘキササンで抽出した「ヘキササン抽出ミール」、工業製法の脱脂大豆についても併せて測定し比較した。

各試料中のタンパク質含量は、原料大豆で38.8%、非加熱物理的圧搾ミールで44.1%、加熱物理的圧搾ミールで43.7%、ヘキササン抽出残渣で46.0%であり、圧搾時に加熱してもタンパク質の含量はほとんど変化がなく、ヘキササン抽出よりもやや低い値となった。

試料中のタンパク質に占める可溶性タンパク質の割合を図1に示した。原料大豆の可溶性タンパク質の割合は62.6%、非加熱圧搾ミールでは72.5%、加熱圧搾ミールでは45.5%、ヘキササン抽出ミールでは35.5%、工業製法の脱脂大豆では17.5%となった。ほかの処理に比較して非加熱圧搾ミール中のタンパク質の溶解性の高いことが示された。非加熱圧搾ミール中のタンパク質の溶解性が原料大豆よりも高かった理由としては、物理的圧搾により大豆組織の破壊が進み、タンパク質が水に溶けやすい状態になっていた可能性があると考えられた。圧搾により試料は50 $^{\circ}$ C以下の範囲で温度上昇しており、この温度変化がタンパク質の溶解挙動に影響している可能性も推

表1 大豆圧搾ミールの色調

区名	色調			白色度
	L*	a*	b*	
大豆圧搾ミール粉末	88.4	4.2	9.6	84
大豆粉末	87.9	4.3	15.9	80

品種は「東北158号」

表2 大豆粉末および大豆圧搾ミール粉末の栄養成分

		圧搾ミール粉末	大豆粉末	圧搾ミール粉末の 大豆粉末対比 (乾物換算%)
水分	(g/100g)	3.9	2.7	
たんぱく質	(g/100g)	40.0	36.4	111
脂質	(g/100g)	11.6	27.5	43
灰分	(g/100g)	6.2	5.7	110
糖質	(g/100g)	17.5	14.4	123
食物繊維	(g/100g)	20.8	13.3	158
エネルギー*	(kcal/100g)	376	477	80

*栄養表示基準 (平成15年厚生労働省告示第176号) によるエネルギー換算係数: たんぱく質, 4 kcal; 脂質, 9 kcal; 糖質, 4 kcal; 食物繊維, 2 kcal

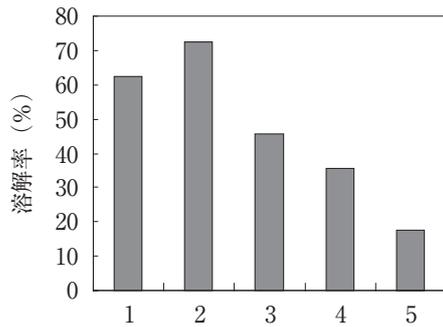


図1 大豆圧搾ミールのタンパク質の溶解性 (%)

1, 原料大豆; 2, 非加熱圧搾ミール; 3, 加熱圧搾ミール; 4, ヘキササン抽出ミール; 5, 脱脂大豆 (工業製法)

測された。また、タンパク質以外の成分も水に溶け出しやすくなりpHが変化したことによりタンパク質の溶解性が変化した可能性も考えられた。

各脱脂試料を示差走査熱量測定に供した結果を表3に示した。以前より示差走査熱分析における吸熱量の値はタンパク質の部分変性に従って減少することが報告されている¹⁰⁾。そこで、この値の減少量がタンパク質の変性度を示すものと考え、原料大豆の吸熱量を100としてそれぞれ相対的な吸熱量で表した (表3)。その結果、吸熱量は非加熱圧搾残渣、ヘキササン抽出残渣、加熱圧搾残渣、工業製法脱脂大豆、加熱圧搾残渣の順序で小さくなっており、この順序で変性度は高まっていくものと考えられた。以上のようにタンパク質の溶解性および熱分析の結果より、非加熱圧搾残渣中のタンパク質は、工業製法やヘキササン抽出法のタンパク質と比較して変性の程度が小さいものと推測された。

表3 大豆圧搾ミールのタンパク質の熱変性

	DSCによる 吸熱量 (mJ/mg)	原料大豆対比
1 原料大豆	0.154	100
2 非加熱圧搾ミール	0.169	109
3 加熱圧搾ミール	0.110	71
4 ヘキササン抽出ミール	0.141	92
5 脱脂大豆 (工業製法)	0.132	85

本研究において、入手可能な大豆品種の量が制限されていたため、同一品種ですべての測定を行うことができなかった。このため測定値については、さらに実験を進める必要があるもの大豆圧搾ミールの性状については十分に表現しているものと考えている。さらに、こうした搾油および圧搾ミール製造に適した品種等についての検討も今後進める必要があるものと考えられた。

3. 大豆圧搾ミールから調製した豆乳の品質

丸大豆と圧搾ミールを用いて豆乳を調製し、その品質について比較した結果を表4に示した。

圧搾ミール豆乳は、丸大豆豆乳に比べて、明度がやや低く、白色度も低くなった。また、大豆圧搾ミール豆乳の大豆固形分は19.2%と、豆乳の18.9%に対し、やや高い結果となった。圧搾ミール豆乳のBrix値は9.4と丸大豆豆乳の10.4よりもやや低かった。粘度は、圧搾ミール豆乳が9.2mPa・s、丸大豆豆乳が4.1mPa・sと圧搾ミール豆乳の粘度が高かった。

得られた豆乳の粒度分布を図2に示した。丸大豆豆乳は粒径のピークが0.4 μ mと2 μ m付近にあるのに対し、大豆圧搾ミール豆乳の粒径のピークは60 μ m付近であり、全く異なるパターンを示した。丸大豆豆乳は11S、7Sタンパク質を表面の一部に結合したオイルボディ由来の油滴 (オイルボディ様粒子) と粒子タンパク質および可溶性タンパク質を主な成分とする乳濁した分散液であるということが明らかになっている¹¹⁾。丸大豆豆乳の粒径0.4 μ mと2 μ m付近のピークは、このオイルボディ由来の油滴あるいはその会合体にタンパク質が相互作用したも

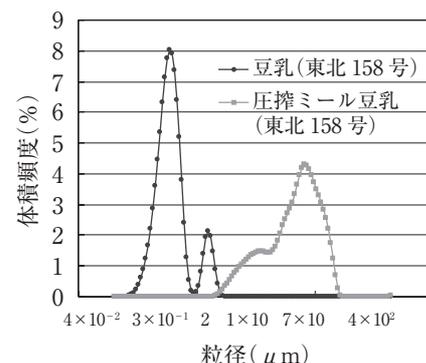


図2 豆乳と圧搾ミール豆乳の固形分の粒度分布

表4 大豆圧搾ミール豆乳と丸大豆豆乳の品質比較

	豆乳抽出率 (%)	色調			白色度	大豆固形分 (%)	Brix (%)	粘度* m・Pas
		L*	a*	b*				
圧搾ミール豆乳 ¹⁾	79.5	77.6	2.3	11.1	75	19.2	9.4	9.24
丸大豆豆乳 ²⁾	78.2	85.0	2.9	10.1	82	18.9	10.4	4.13

大豆は「東北158号」を用いた。

* 品温22℃

1) 大豆圧搾ミールに7倍の水を加えて直ちにミキサーで1分間粉碎し、豆乳しぼり袋でオカラを分離した。

2) 大豆を16時間浸漬した後、7倍量から吸水分を差し引いた水を加えてミキサーで1分間粉碎し、豆乳しぼり袋でオカラを分離した。

のと考えられた。大豆圧搾ミール豆乳の60 μ m付近にあるピークについては、残存する大豆脂質オイルボディ様粒子に粒子タンパク質が相互作用することで、巨大粒子の会合体が生成しているのではないかと推測された。また、一部繊維質の混入も考えられたが、詳細についてはさらに検討が必要である。

以上のように大豆圧搾ミールを豆乳に加工すると、丸大豆豆乳に比べ、大豆固形分が高い反面Brixが低く、粘度の高い豆乳になった。また豆乳と比較すると大粒子の比率が大きく分散性に関しては低いものと考えられたが、沈殿の形成などについてはさらに詳細は検討が必要と考えられた。

以上のことから、加熱せずに圧搾した大豆圧搾ミールは、通常大豆よりも低脂質・低カロリーであり、タンパク質の変性度も低く、飲料などの原料食品素材として適性があるものと考えられた。

要 約

大豆から物理的圧搾により搾油した残渣である大豆圧搾ミールについて、基礎栄養成分、タンパク質の変性度、豆乳に加工した場合の特徴について検討した。

- ① 大豆圧搾ミールと原料大豆を微粉末化して、乾物当たりの栄養成分を比較したところ、大豆圧搾ミールの脂質は原料大豆の約30%であり、タンパク質、脂質、灰分もそれぞれ10~20%増加していた。一方、食物繊維は約1.5倍に増加した。大豆圧搾ミールの当たりのエネルギーは376kcal/100gと大豆粉末に比べて約20%低かった。
- ② 非加熱条件下で処理した圧搾ミールは、水への溶解性や示差走査熱分析の結果から、加熱圧搾ミールや工業製法の脱脂大豆に比較して、タンパク質の変性度が低いものと考えられた。
- ③ 大豆圧搾ミールより調製した豆乳は、丸大豆から調製した豆乳に比べて白色度が低く、Brixがやや低

く、粘度は高くなった。

- ④ 非加熱大豆圧搾ミールは、通常大豆に比べ、低脂質・低カロリーであり、タンパク質の変性が少なく、大豆飲料などの原料食品素材としての適性があるものと考えられた。

文 献

- 1) 農林水産省：世界の穀物等の需給動向 (2007)
- 2) 農林水産省：大豆・油糧等需給見通し (2008)
- 3) 大久保一良：大豆の科学, (朝倉書店, 東京), pp.76~78 (1992)
- 4) 池森眞二：米糠の微粉化技術と新食材の開発, 食品と開発, **37**, 10~12 (2002)
- 5) CROWE, T.W., JOHNSON, L.A. and WANG, T.: Characterization of extruded - expelled soybean flours, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**, 775~779 (2001)
- 6) 須田郁夫：リポキシゲナーゼ完全欠失大豆の機能性と新規加工食品創出, 豆類時報, **14**, 32~38 (1999)
- 7) 安本教傳：五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル (建帛社, 東京), pp.9~12, 45~49, 54~55 (2006)
- 8) 厚生労働省：栄養表示基準 平成15年厚生労働省告示第176号
- 9) 東 和男：発酵と醸造I (光琳, 東京), p.177 (2005)
- 10) CHOI, S.-M. and MA, C.-Y.: Conformational study of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) by Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 8046~8053 (2005)
- 11) 小野伴忠：大豆から豆乳・豆腐が生成する機構とそれに影響を与える諸因子, 食科工, **55**, 39~48 (2008)
(平成21年10月7日受付, 平成22年2月23日受理)

青果物の貯蔵性に及ぼすエタノール蒸気処理の効果に関する生理・生化学的研究

鈴木康生*§

* 神戸大学大学院農学研究科

Physiological and Biochemical Studies on Storage of Fruits and Vegetables with Postharvest Ethanol Vapor Treatment

SUZUKI Yasuo*§

* Graduate School of Agricultural Science, Kobe University, Rokkodai-cho 1-1, Nada-ku, Kobe 657-8501

Key words : ethanol vapor treatment, fruits and vegetables, storage, ethylene, antioxidant capacity, chlorophyll degradation

エタノール蒸気処理, 青果物, 貯蔵, エチレン, 抗酸化能, クロロフィル分解

1. はじめに

青果物は収穫後傷みやすく、その品質は急速に低下する。そのため、青果物の品質を保持するうえで、流通・貯蔵には適切な処理やシステムが欠かせない。現在、一般には青果物を収穫後ただちに冷却した後、低温下で流通、貯蔵することが行われている。また、低温貯蔵と組み合わせて、貯蔵庫の環境ガス条件を高炭酸ガス、低酸素で維持するCA (controlled atmosphere) 貯蔵なども利用されている。しかし、これらの方法は、一貫したシステムや多大なエネルギーを必要とし、環境負荷が大きいことなど問題点も有している。そこで、省エネルギー・低コストな青果物の流通・貯蔵技術の開発を目的として、エタノール蒸気処理による青果物の鮮度保持とその生理生化学的機構に関する研究を行った。

2. エタノール蒸気発生剤による青果物へのエタノール処理

収穫後のエタノール処理は、トマト¹⁾、キウイフルーツ²⁾、ブロッコリー^{3),4)}、アボカド、ハネデューメロン、マスクメロン⁵⁾などの青果物の老化や成熟に影響を与えることが知られている。また、エタノール処理の効果は、対象となる青果物やその品種、熟度、エタノールの処理方法、濃度および時間など様々な要因に依存している⁵⁾。しかし、これらの報告の一方で、エタノール蒸気処理する際の濃度の調節が困難であったり、特殊な装置が必要なことなどエタノールの処理方法に、品質保持に向けた実用化に際しての問題があった。そこでエタノール蒸気

発生剤とブロッコリーとを有孔ポリエチレン袋に同封し常温下(20℃)で貯蔵することにより、収穫後のエタノール蒸気処理の青果物の品質保持効果を評価した。エタノール蒸気発生剤(アンチモールド・マイルド, フロイント産業(株))は、エタノールをシリカゲルに吸着させた粉末を小袋に充填したものである⁶⁾。これを用いることにより上記のように簡易にエタノール処理が可能となった。その結果、常温下で急速に品質劣化するブロッコリーは、エタノール蒸気処理によりその小花は緑色に保持され(図1)、老化に伴うクライマクテリック様の炭酸ガス生成の増加およびエチレンの生成が抑制された⁷⁾。このとき、有孔ポリエチレン袋内の雰囲気中のエ

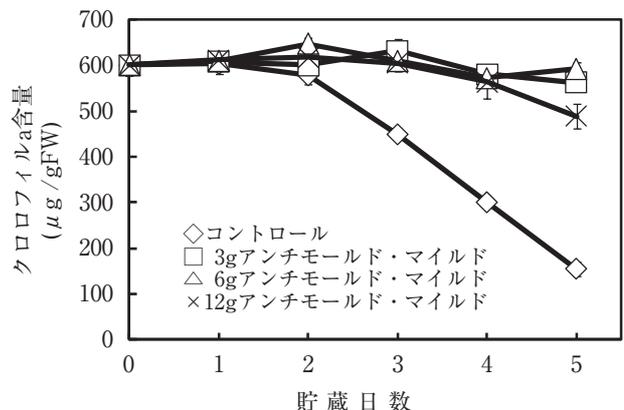


図1 20℃貯蔵したときのブロッコリーの小花のクロロフィルa含量の変化

ブロッコリーは有孔ポリエチレン袋にエタノール蒸散剤を同封することによりエタノール蒸気処理された。

* 〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1
§ E-mail: ysuzuki@kobe-u.ac.jp

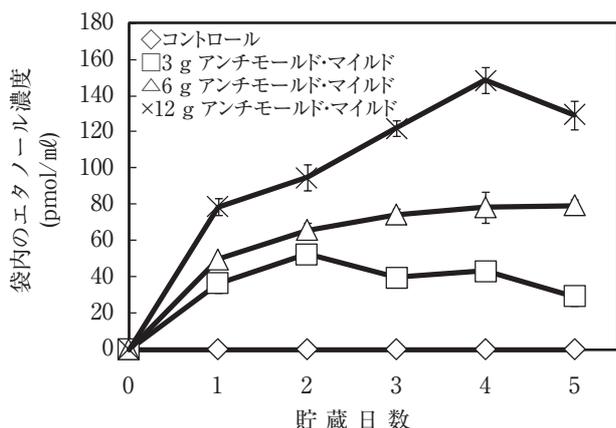


図2 20℃貯蔵したときの有孔ポリエチレン袋内の雰囲気中のエタノール濃度の変化

ブロッコリーは有孔ポリエチレン袋にエタノール蒸散剤を同封することによりエタノール蒸気処理された。

エタノール濃度は貯蔵期間中維持されていた⁷⁾ (図2)。このことはエタノール蒸気処理が一時的ではなく連続的に行われたことを意味する。これは、包剤によりエタノールの蒸散速度が制御される特性によるものと考えられた⁶⁾。また、袋内の雰囲気中のエタノール濃度は処理したエタノール量と相関があった。このことから、アンチモールド・マイルドのグレードや個数を変えることにより、処理するエタノール蒸気の濃度を容易に調節できることが示された。これまでエタノール蒸気処理はエタノールの蒸散を制御できず、処理を連続的に行うことは容易ではなく、特殊な装置を用いる場合等を除いては一時的にしか行えなかったが、本法により処理が簡易に連続的に行えるようになった。このことは、よりマイルドな条件でエタノール蒸気処理を行えることを意味する。一般に一時処理より連続処理のほうが有効であると考えられることから、青果物のエタノール蒸気処理の利用性の幅が広がったといえる。以上のように、エタノール蒸散剤によるエタノール蒸気処理は簡易な操作で連続処理および濃度調節が可能であることから、収穫後青果物の品質保持において実用的に有用な方法であることが示された。

3. エタノール蒸気処理による 青果物の老化抑制機構

エタノール処理は青果物の老化成熟に影響を及ぼすが、その作用メカニズムについての知見は少ない。エタノール処理によりトマトの追熟が遅延する際のエチレン生成の抑制がACCからエチレンへの変換の抑制によること⁸⁾や、緑熟トマトのディスクにエタノール、アセトアルデヒド、アルコール脱水素酵素の阻害剤等を外生処理することにより、アセトアルデヒドが追熟遅延の活性本体であること⁹⁾などが示唆されている。しかし、いずれもバイオアッセイによる試験に基づく推測にとどまっている。

そこで本実験系でエタノール蒸気処理が青果物の品質保持に効果が認められたことから、エチレンや抗酸化能などをはじめとした園芸作物の品質劣化に密接に関連する生理プロセスに着目し、その老化抑制機構について生理生化学的見地からの解明を試みた。

(1) エタノール蒸気処理がエチレンの生合成と反応に及ぼす影響

エチレンは常温ではガス状の植物ホルモンであり、青果物の鮮度保持や果実の成熟に密接な関係がある。収穫したブロッコリーにおいても、エチレンはその老化や品質劣化に深く関与する¹⁰⁾。また、ブロッコリーはエチレンに非常に感受性が高く、エチレンの暴露により著しく棚持ち期間が短くなる。そこで、エタノール蒸気処理がエチレンの生合成と反応に及ぼす影響について生理生化学的に調べた。

無処理のブロッコリーでは老化に伴うエチレンの発生に伴い、エチレン生合成のキー酵素である、ACC合成酵素とACC酸化酵素の酵素活性およびACC合成酵素をコードする遺伝子*BO-ACS1*およびACC酸化酵素をコードする遺伝子である*BO-ACO1*と*BO-ACO2*の発現レベルが上昇した (図3, 4, 5)。エタノール蒸気処理を行うと、エチレンの発生は抑制され、また両酵素の酵素活性および遺伝子発現レベルとも抑制された (図3, 4, 5)。このことから、エタノールはACC合成酵素とACC酸化酵素を転写レベルで抑制し、エチレンの発生を抑制していることが明らかとなった¹¹⁾ (図6)。外生エチレン処理を行うと、ブロッコリーの小花の黄化が促進されるとともに、自己触媒的にエチレンが生成され呼吸が促進される¹⁰⁾。このとき、ACC合成酵素とACC酸化酵素の酵素活性が上昇し、正のフィードバック制御により、*BO-ACS1*、*BO-ACO1*と*BO-ACO2*の発現が促進された (図3, 4, 5)。エタノール蒸気処理を行ったブロッコリーに外生エチレン処理を行うと、ブロッコリーは緑色を保ち、これらの遺伝子の発現も誘導されなかった¹¹⁾ (図3, 4, 5)。これらのことから、エタノール蒸気処理は、エチレン反応をも阻害していることが明らかとなった (図6)。

以上のように、エタノール処理による収穫後青果物のエチレンの生合成および反応の阻害の生理生化学的メカニズムが明らかとなった。エチレンは収穫後の青果物の老化を促進し、品質の劣化や棚もち期間の短縮などその商品性に多大な影響を与えうる。エタノール蒸気処理はエチレンの生合成のみならず反応を阻害することから、エタノール蒸気処理は青果物の老化の抑制に有効であり、その実用性の高さが示唆された。

(2) エタノール蒸気処理が抗酸化能に及ぼす影響

スーパーオキシドラジカルや過酸化水素のような活性酸素種の過剰な生成による酸化ストレスは、植物にとって有害であり老化と密接に関連している¹²⁾。したがって、活性酸素種を消去する抗酸化システムは、収穫後の園芸

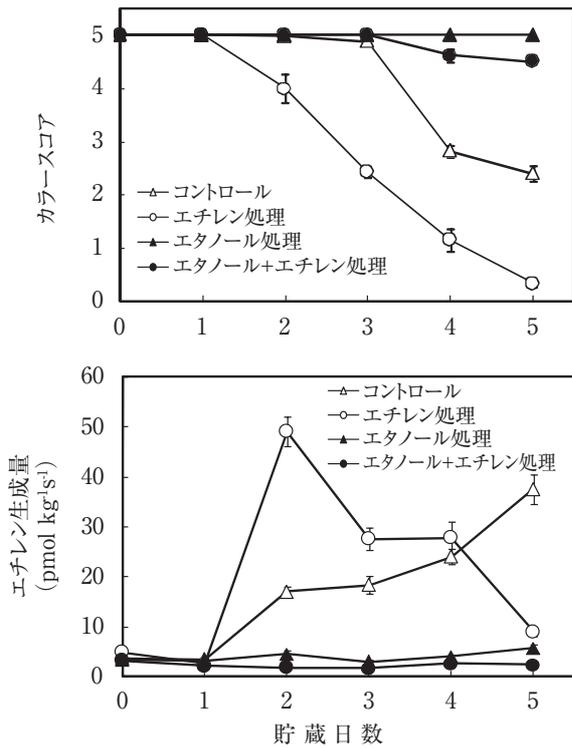


図3 エタノールおよびエチレン処理したブロッコリーの貯蔵中のカラースコアとエチレン生成量

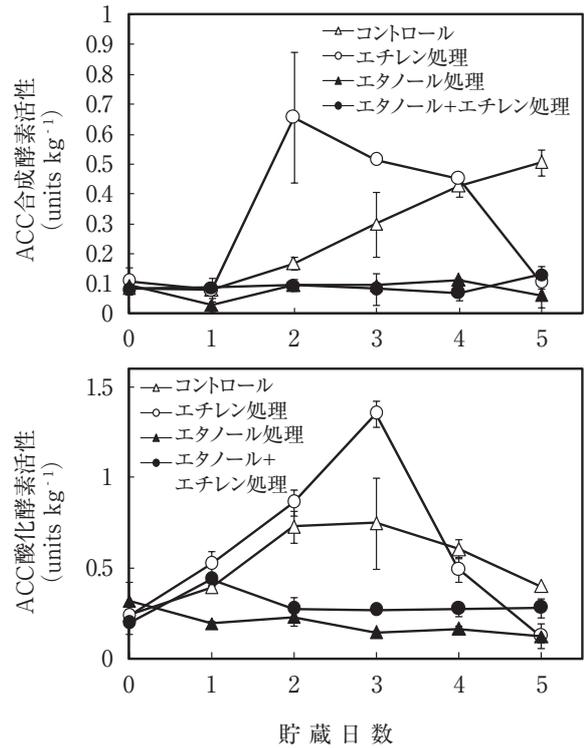


図4 エタノールおよびエチレン処理したブロッコリーの貯蔵中のACC合成酵素とACC酸化酵素の活性

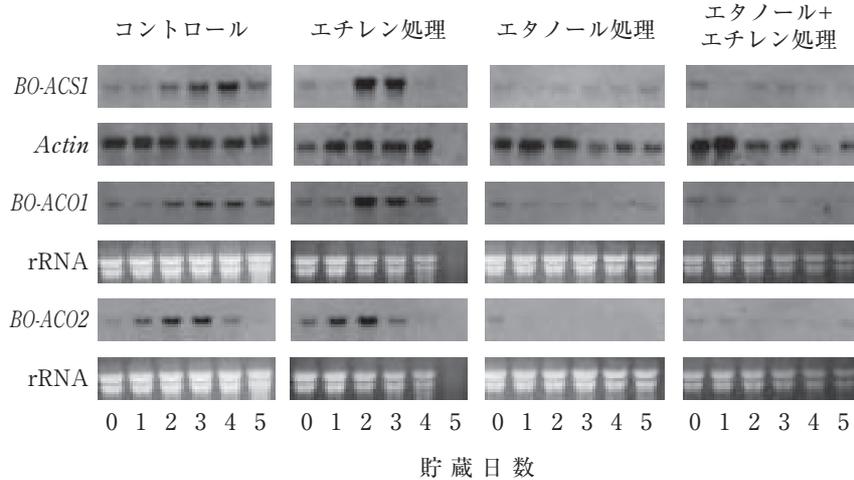


図5 エタノールおよびエチレン処理したブロッコリーの貯蔵中のBO-ACSI, BO-ACO1およびBO-ACO2の発現

作物の老化を抑制し、貯蔵中の商品性を保持するうえで重要である¹³⁾。植物は酵素的、非酵素的な抗酸化防御システムを備えており、これらの有害な物質に対処している。スーパーオキシドディスムターゼはスーパーオキシドラジカルを除去する。その際に生じた過酸化水素はカタラーゼ、ペルオキシダーゼ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼにより水に代謝される(図7)。アスコルビン酸グルタチオンサイクル(図7)は、細胞内の様々なオルガネラに存在し、サイクルを構成するアスコルビン酸ペルオキシダーゼの過酸化水素に対する親和性の高さから、細胞内の活性酸素種のレベルを調節するうえで重要な役割を果たしていると考えられている¹⁴⁾。

ブロッコリーにおいて、アスコルビン酸グルタチオンサイクルを構成する還元物質の含量の減少や酵素活性の低下による、サイクルの活性の低下が花らいの老化の一要因となっていることが示されている¹⁵⁾。そこで、エタノール蒸気処理がブロッコリーの小花の抗酸化システムに及ぼす影響について調べた。貯蔵期間中ブロッコリー内の過酸化水素含量は、エタノール蒸気処理により無処理に比べ低く保たれた。活性酸素種の消去において中心的な役割を果たしているアスコルビン酸グルタチオンサイクルを構成する還元物質である、アスコルビン酸と還元型グルタチオンの含量は貯蔵中老化に伴って急激に減少したが、エタノール蒸気処理はその減少を抑制した¹⁶⁾

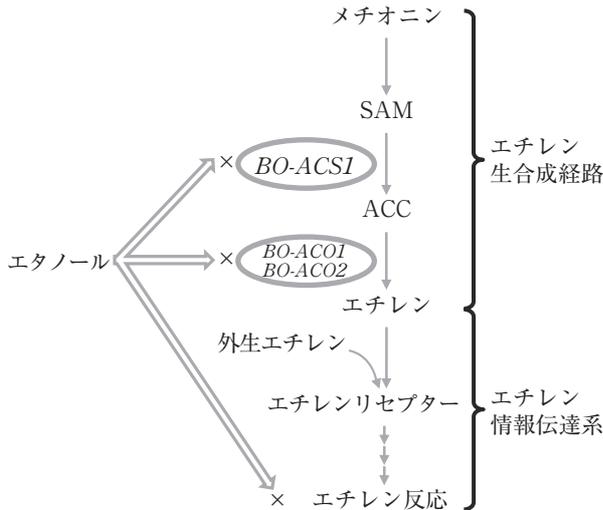


図6 エタノールがエチレンの生合成と反応に及ぼす影響

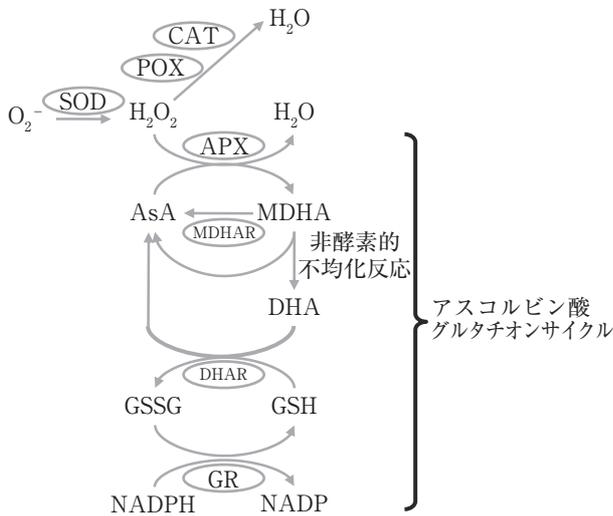


図7 抗酸化酵素による活性酸素種の代謝経路

O_2^- , スーパーオキシドラジカル; H_2O_2 , 過酸化水素; AsA, 還元型アスコルビン酸; MDHA, モノデヒドロアスコルビン酸; DHA, デヒドロアスコルビン酸; GSH, 還元型グルタチオン; GSSG, 酸化型グルタチオン; SOD, スーパーオキシドディスムターゼ; POX, ペルオキシダーゼ; CAT, カタラーゼ; APX, アスコルビン酸ペルオキシダーゼ; MDHAR, モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ; DHAR, デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ; GR, グルタチオンレダクターゼ。

(図8)。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ, グルタチオンレダクターゼ, デヒドロアスコルビン酸レダクターゼなどのサイクルを構成するうえで重要な酵素の活性は貯蔵中老化に伴って減少したが, エタノール蒸気処理はその減少を抑制した¹⁶⁾ (図9)。これらのことから, エタノール蒸気処理は, アスコルビン酸グルタチオンサイクルの活性を高く維持し, 酸化ストレスを軽減することが明らかとなった。このことが, エタノール蒸気処理によるブロッコリーの老化抑制の一因であると考えられた。

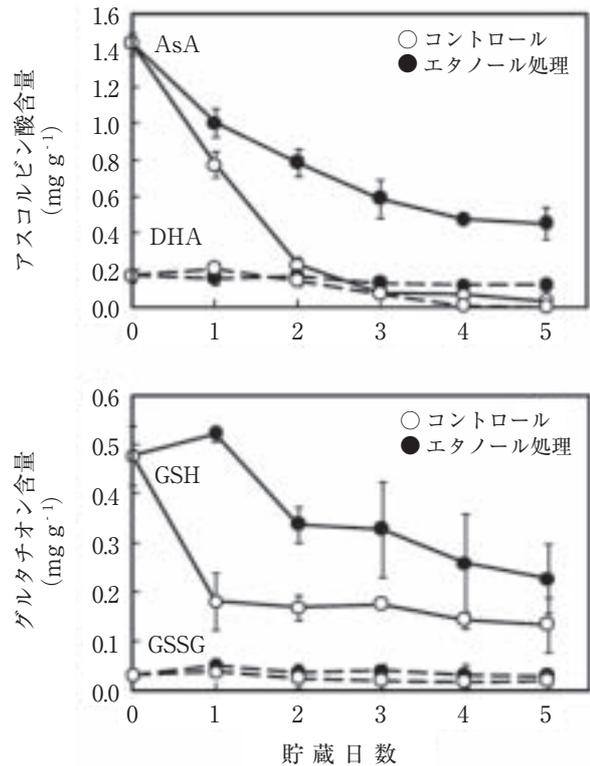


図8 エタノール処理したブロッコリーの貯蔵中のアスコルビン酸およびグルタチオン含量

AsA, 還元型アスコルビン酸; DHA, デヒドロアスコルビン酸; GSH, 還元型グルタチオン; GSSG, 酸化型グルタチオン。

(3) エタノール蒸気処理がクロロフィル分解に及ぼす影響

ブロッコリーは, 小花が暗緑色または明緑色でヘッドが硬くしまったものがよい品質とされている¹⁷⁾。収穫後ブロッコリーは常温では急速に老化し, 小花は2, 3日で黄化してしまう。収穫後のブロッコリーの黄化は商品価値を決定する重要な指標であり, それは小花のガクのクロロフィルの含量の減少によって起こる。このとき細胞レベルでは組織学的にはクロロプラストがクロモプラストへと変化するとともに, 生理生化学的にはクロロフィルの分解が起こっている。そこで, エタノール蒸気処理が, 緑色の実態であるクロロフィルの分解経路に及ぼす影響と, クロロフィルが局在するオルガネラであるクロモプラストの動態に及ぼす影響について調べた。

適切なエタノール蒸気処理を行い, 緑色が保持されたブロッコリーの小花のガクの細胞の微細構造を透過型電子顕微鏡で観察すると, 細胞の構造にエタノール蒸気処理による異常はみとめられず, クロモプラストからクロモプラストへの老化に伴う変化が遅延されていることが明らかとなった¹⁸⁾ (図10)。

クロロフィル (Chl) の分解は, クロロフィルaが, クロロフィラーゼ (Chlase) によりフィトールが除去されクロロフィリドa (Chlide a) が生成されるところから開始される^{19), 20)}。クロロフィリドaはMg-デキレターゼ

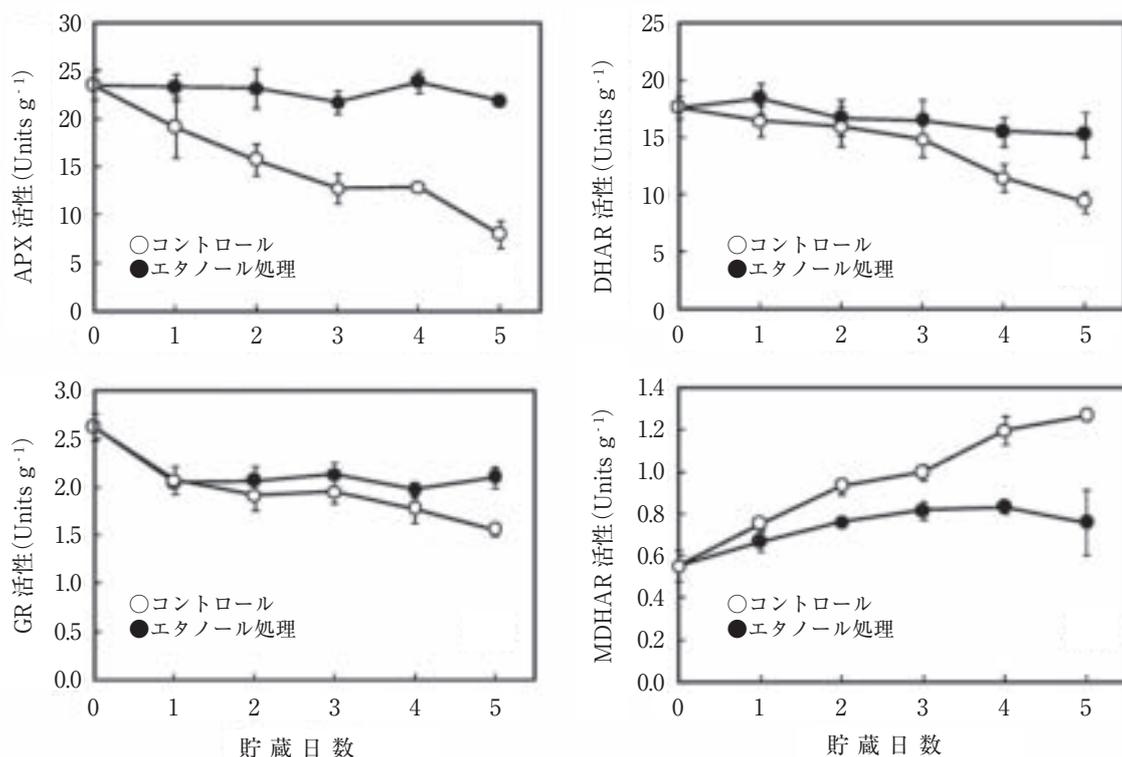


図9 エタノール処理したブロッコリーの貯蔵中のアスコルビン酸グルタチオンサイクルを構成する酵素の活性
 APX, アスコルビン酸ペルオキシダーゼ; GR, グルタチオンレダクターゼ;
 DHAR, デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ; MDHAR, モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ。

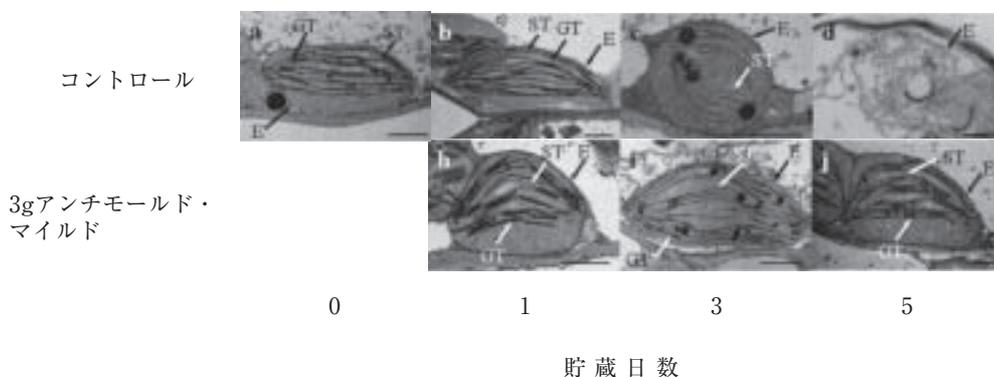


図10 エタノール蒸気処理したブロッコリーの小花のがくの柔細胞のプラスチドの微細構造の変化
 コントロールのブロッコリーでは、老化に伴うプラスチドのクロロプラストからクロモプラストへの典型的な変化がみとめられた。典型的なクロモプラストは貯蔵1日まで観察された。3gのアンチモールドマイルドで処理したブロッコリーでは、クロロプラストは貯蔵期間を通じて観察された。
 E, 包膜; GT, グラナチラコイド; ST, ストロマチラコイド。

(Mg-DCT)²¹⁾ またはMg-脱離物質²²⁾によってMgが除去され、フェオフォルビドa (Pheide a) が生成される。さらにフェオフォルビドaオキシゲナーゼ (PAO) とRCCレダクターゼ (RCCR) による2段階の反応により蛍光クロロフィル分解産物 (pFCC) へと変換される。この過程で緑色が消失する²³⁾。pFCCはさらに数ステップの反応の後、最終的に無色の無蛍光クロロフィル分解産物 (NCC) へと分解され、液胞に蓄積される²⁴⁾。これらの分解経路に加え、クロロフィルaにクロロフィル分解ペ

ルオキシダーゼ (Chl-POX)^{25), 26)} やクロロフィル酸化酵素 (Chl-OX)²⁷⁾ がはたらき、C13²⁻ヒドロキシクロロフィルa (Chl a-1) に分解される経路も提唱されている (図11)。

クロロフィル分解に関与する酵素である、クロロフィルラーゼ, Mg-デキレターゼ, クロロフィル分解ペルオキシダーゼの酵素活性は、コントロールにおいて老化に伴い増加したが、エタノール蒸気処理を行うと活性の上昇は抑制され、低いままであった²⁸⁾ (図12)。また、クロロ

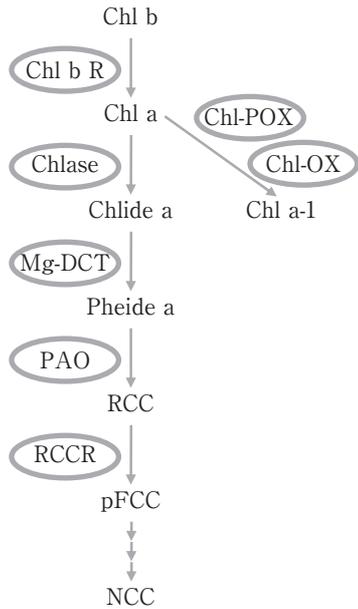


図11 高等植物におけるクロロフィルの分解経路

Chl, クロロフィル; Chlide, クロロフィリド; Pheide, フェオフォルビド; RCC, 赤色クロロフィル分解産物; pFCC, 蛍光クロロフィル分解産物; NCC, 無蛍光クロロフィル分解産物; Chl a-1, C13²-ヒドロキシクロロフィルa; Chl b R, クロロフィルbレダクターゼ; Chlase, クロロフィラーゼ; Mg-DCT, Mg-デキレクターゼ; PAO, フェオフォルビドaオキシゲナーゼ; RCCR, RCCレダクターゼ; Chl-POX, クロロフィル分解ペルオキシダーゼ; Chl-OX, クロロフィル酸化酵素。

フィラーゼ, フェオフォルビドaオキシゲナーゼ, RCCレダクターゼをそれぞれコードする遺伝子である*BoCLH1*, *BoPAO*, *BoRCCR*の発現は, コントロールにおいて老化に伴い増加したが, エタノール蒸気処理したブロッコリーでは発現は低く保たれた²⁸⁾(図13)。これらのことから, 収穫後のエタノール蒸気処理はクロロフィル分解経路の酵素の活性と遺伝子発現を抑制するため, クロロフィルの分解が抑制され, 小花の緑色が保持されることが示された。

クロロフィル分解経路に関しては, その後新たな経路が提唱され, それを担う新たなキー酵素としてフェオフィチナーゼが同定された²⁹⁾。また, 本酵素はブロッコリーの黄化においても重要な役割を果たしていることが示唆されていること³⁰⁾から, 今後, 本酵素についてエタノール蒸気処理の影響を検討する必要があると考えられる。

(4) エタノール蒸気処理が老化関連遺伝子の発現に及ぼす影響

収穫したブロッコリーが老化するときには, クロロフィル含量の減少³¹⁾, 脂肪酸の減少と過酸化生成物の増加^{32), 33)}, 糖およびタンパク質含量の減少³⁴⁾, アスコルビン酸含量の減少³⁵⁾, アンモニア含量の増加³⁴⁾等の様々な生理的な変化が起こる。老化は遺伝子発現を伴う能動的な生理的プロセスであり, 老化に関与する遺伝子群の発現の結果である。また, 近年ブロッコリーの老化に関与する遺伝子が同定されつつあり, ブロッコリーの老化について遺伝子レベルからの理解が試みられている^{36)~41)}。

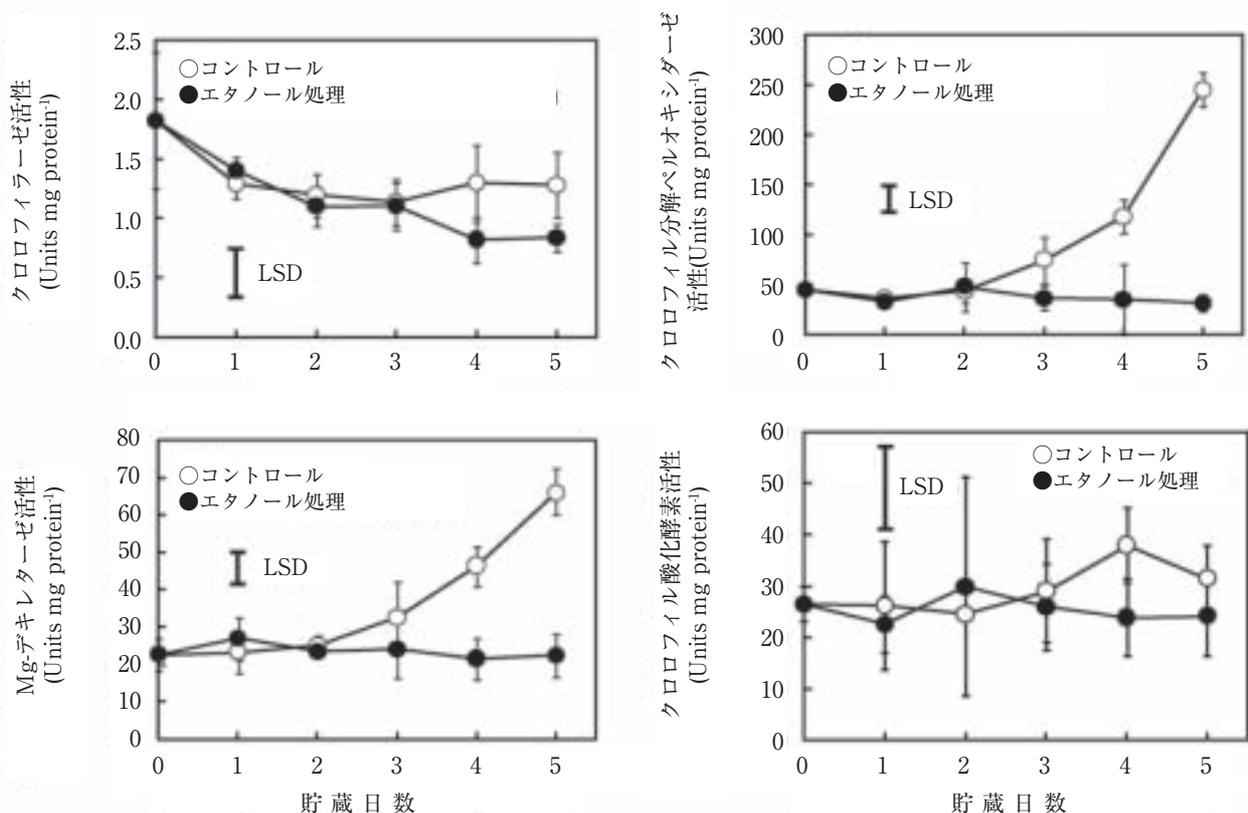


図12 エタノール処理したブロッコリーの貯蔵中のクロロフィル分解に関する酵素の活性の変動

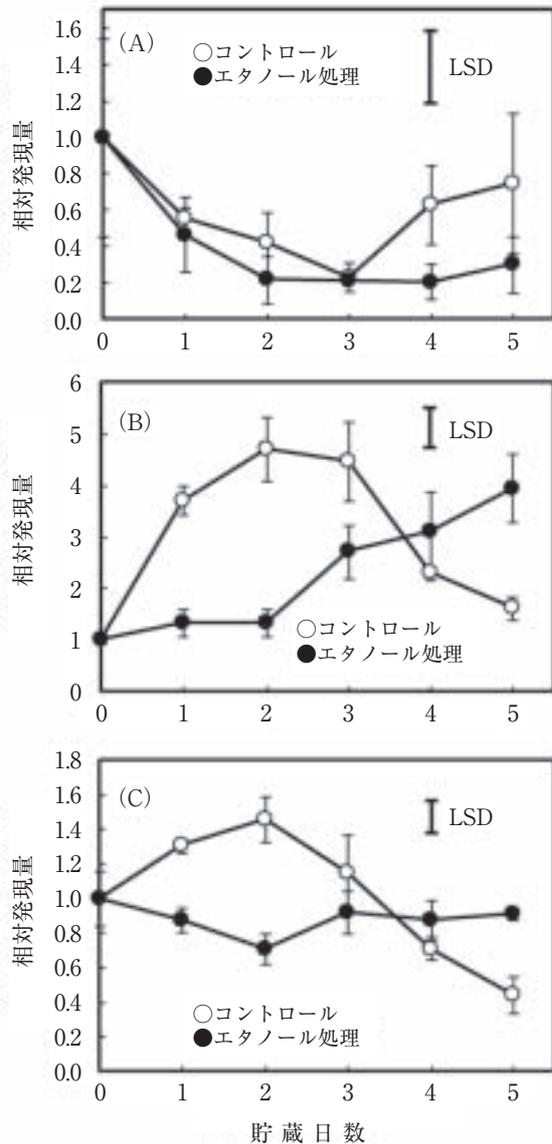


図13 エタノール処理したブロッコリーの貯蔵中のクロロフィル分解に関する酵素の遺伝子発現

(A), *BoCLH1* ; (B), *BoPAO* ; (C), *BoRCCR*

そこでエタノール蒸気処理による老化抑制における生理現象を幅広く把握するために、無処理、エチレン処理のみ、エタノール処理のみ、エチレンおよびエタノール処理の4つの処理区を設けブロッコリーの老化関連遺伝子群の発現をリアルタイムPCRにより解析した。無処理のブロッコリーにおいて、酸性インベルターゼをコードする*BoINV2*の発現量は増加し、エチレン処理により遺伝子発現は促進された。エタノール処理はエチレン処理の有無にかかわらず発現を抑制した。無処理およびエチレン処理を行ったブロッコリーにおいて、クエン酸合成酵素、メタルチオネイン、システインプロテアーゼ及びセリンパルミトイルトランスフェラーゼをそれぞれコードする遺伝子である*BoCAR1-5*、*BoMT1*、*BoCP5*および*BoSPT1*の発現量は増加したが、エチレンによる発現の促進はみとめられなかった。また、エタノール処理によ

りこれらの遺伝子の発現も抑制された⁴²⁾。以上の結果から、ブロッコリーの老化関連遺伝子にはエチレン依存のものと同非依存のものがあること、またエタノール処理はいずれの老化関連遺伝子の発現を抑制したことから、エタノール処理は様々な老化プロセスを抑制するとともにエチレンシグナルのさらに上流に作用して老化プロセスを抑制することが示唆された。

4. おわりに

青果物の鮮度保持を目的とした、エタノール蒸散剤を用いた青果物へのエタノール蒸気処理は、これまでのエタノールの処理法に比べ様々な利点がある。したがって、これまでエタノール処理の効果の有無について報告のあるものも含め、様々な青果物に対する効果を調べる必要がある。同時に、収穫後の鮮度保持技術として、実用化へ向けた流通レベルでの効果を検証していく必要がある。また、エタノールの青果物の成熟・老化阻害作用についてもさらなる研究の必要である。例えば、エタノールの青果物の成熟・老化に対する効果の作用物質について、エタノールそれ自体ではなく、アルコール脱水素酵素により変換されたアセトアルデヒドによると報告がある⁹⁾。一方、トマトの追熟の際のリコペン蓄積とクロロフィル分解に対して、エタノールとアセトアルデヒドのそれらに対する作用が異なること⁴³⁾や、エタノール誘導遺伝子が存在すること^{44), 45)}などからは、エタノールそれ自体が作用物質としてはたらいっていると考えられ、作用物質の同定には至っていない。また、エタノールの老化阻害効果についても、エチレンのさらに上流に作用して老化を阻害することが明らかとなったが、その作用機作はまったく不明である。これらの点について、今後は分子生物学的手法等を導入しエタノールによる青果物の成熟・老化抑制機構の全容の解明に向けて研究を進めていく必要がある。

謝 辞 本研究に対して平成22年度日本食品保蔵学会奨励賞が授与されたことに際しまして、筆者をエタノール蒸気処理による青果物の貯蔵に関する研究に導いてくださいました神戸大学大学院農学研究科教授の寺井弘文先生に感謝申し上げます。また研究を遂行するにあたりご協力いただきました山口大学農学部教授の山内直樹先生、静岡大学農学部准教授の加藤雅也先生、神戸大学大学院理学研究科教授の三村徹郎先生に感謝申し上げます。本研究に関するサンプルの提供にご協力くださいましたフロイント産業株式会社取締役の伏島柳二郎様、部長の門正明様ならびに関係各位にお礼申し上げます。本研究は神戸大学大学院農学研究科園芸保蔵利用学教育研究分野において行われたものであり、共同研究者である大学院生および学部学生に感謝申し上げます。

文 献

- 1) KELLY, M. O. and SALTVEIT, M. E.: Effect of endogenously synthesized and exogenously applied ethanol on tomato fruit ripening, *Plant Physiol.*, **88**, 143~147 (1988)
- 2) MENCARELLI, F., SAVARESE, P. and SALTVEIT, M. E.: Ripening of kiwifruit exposed to ethanol and acetaldehyde vapors, *HortScience*, **26**, 566~569 (1991)
- 3) CORCUFF, R., ARUL, J., HAMZA, F., CASTAIGNE, F. and MAKHLOUF, J.: Storage of broccoli florets in ethanol vapor enriched atmospheres, *Postharvest Biol. Technol.*, **7**, 219~229 (1996)
- 4) 阿部一博・龔一平・茶珍和雄: 分割されたブロッコリー花らの黄化に及ぼすO₂とCO₂濃度ならびにエチルアルコールおよびアセトアルデヒドの影響, *日食低温誌*, **21**, 205~210 (1995)
- 5) RITENOUR, M. A., MANGRICH, M. E., BEAULIEU, J. C., RAB, A. and SALTVEIT, M. E.: Ethanol effects on the ripening of climacteric fruit, *Postharvest Biol. Technol.*, **12**, 35~42 (1997)
- 6) 斎藤義人: 粉末アルコール保持剤の特性と利用の実際, *月刊フードケミカル*, **16**, 37~40 (2000)
- 7) SUZUKI, Y., UJI, T. and TERAI, H.: Inhibition of senescence in broccoli florets with ethanol vapor from alcohol powder, *Postharvest Biol. Technol.*, **31**, 177~182 (2004)
- 8) SALTVEIT, M. E. and MENCARELLI, F.: Inhibition of ethylene synthesis and action in ripening tomato fruit by ethanol vapors, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **113**, 572~576 (1988)
- 9) BEAULIEU, J. C., PEISER, G. and SALTVEIT, M. E.: Acetaldehyde is a causal agent responsible for ethanol-induced ripening inhibition in tomato fruit, *Plant Physiol.*, **113**, 431~439 (1997)
- 10) TIAN, M. S., DOWNS, C. G., LILL, R. E. and KING, G. A.: A role for ethylene in the yellowing of broccoli after harvest, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **119**, 276~281 (1994)
- 11) ASODA, T., TERAI, H., KATO, M. and SUZUKI, Y.: Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli, *Postharvest Biol. Technol.*, **52**, 216~220 (2009)
- 12) HODGES, D. M., LESTER, G. E., MUNRO, K. D. and TOIVONEN, P. M. A.: Oxidative stress: importance for postharvest quality, *HortScience*, **39**, 924~929 (2004)
- 13) LESTER, G. E.: Introduction to the workshop, *HortScience*, **39**, 923 (2004)
- 14) MITTLER, R.: Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Sci.*, **7**, 405~410 (2002)
- 15) YAMAUCHI, N. and KUSABE, A.: Involvement of ascorbate-glutathione cycle in senescence of stored broccoli (*Brassica oleracea* L.), *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **70**, 704~708 (2001)
- 16) MORI, T., TERAI, H., YAMAUCHI, N. and SUZUKI, Y.: Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ascorbate - glutathione cycle in broccoli florets, *Postharvest Biol. Technol.*, **52**, 134~136 (2009)
- 17) <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/broccoli.shtml>
- 18) SUZUKI, Y., KIMURA, T., TAKAHASHI, D. and TERAI, H.: Ultrastructural evidence for the inhibition of chloroplast-to-chromoplast conversion in broccoli floret sepals by ethanol vapor, *Postharvest Biol. Technol.*, **35**, 237~243 (2005)
- 19) SHIMOKAWA, K., SHIMADA, S. and YAEO, K.: Ethylene-enhanced chlorophyllase activity during degreening of *Citrus unshiu* Marc, *Sci. Hort.*, **8**, 129~135 (1978)
- 20) AMIR-SHAPIRA, D., GOLDSCHMIDT, E. E. and ALTMAN, A.: Chlorophyll catabolism in senescing plant tissues: in vivo breakdown intermediates suggest different degradative pathways for Citrus fruit and parsley leaves, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 1901~1905 (1987)
- 21) LANGMEIER, M., GINSBURG, S. and MATILE, P.: Chlorophyll breakdown in senescent leaves: demonstration of Mg-dechelataase activity, *Physiol. Plant.*, **89**, 347~353 (1993)
- 22) SHIOI, Y., TOMITA, N., TSUCHIYA, T. and TAKAMIYA, K.: Conversion of chlorophyllide to pheophorbide by Mg - dechelating substance in extracts of *Chenopodium album*, *Plant Cell Physiol.*, **34**, 41~47 (1996)
- 23) MATILE, P., HÖRTENSTEINER, S. and THOMAS, H.: Chlorophyll degradation, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **50**, 67~95 (1999)
- 24) HÖRTENSTEINER, S.: Chlorophyll degradation during senescence, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 55~77 (2006)
- 25) KATO, M. and SHIMIZU, S.: Chlorophyll metabolism in higher plants. IV. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation, *Plant Cell Physiol.*, **26**, 1291~1301 (1985)
- 26) YAMAUCHI, N., XIA, X. and HASHINAGA, F.: Involvement of flavonoid oxidation with chlorophyll degradation by peroxidase in wase

- satsuma mandarin fruits, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **66**, 263~288 (1997)
- 27) SCHOCH, W., LÜTHY, R. B. and MATILE, P.: 132-Hydroxychlorophyll a, the first product of the reaction of chlorophyll oxidase, *J. Plant Physiol.*, **115**, 85~89 (1984)
- 28) FUKASAWA, A., SUZUKI, Y., TERAI, H. and YAMAUCHI, N.: Effects of postharvest ethanol vapor treatment on activities and gene expression of chlorophyll catabolic enzymes in broccoli florets, *Postharvest Biol. Technol.*, **55**, 97~102 (2010)
- 29) SCHELBERT, S., AUBRY, S., BURLA, B., AGNE, B., KESSLER, F. and KRUPINSKA, K.: Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **21**, 767~785 (2009)
- 30) BÜCHERT, A. M., CIVELLO, P. M. and MARTÍNEZ, G. A.: Chlorophyllase versus pheophytinase as candidates for chlorophyll dephytilation during senescence of broccoli, *J. Plant Physiol.*, (In Press)
- 31) WANG, C. Y.: Effect of aminoethoxy analog of rhizobitoxine and sodium benzoate on senescence of broccoli, *HortScience.*, **12**, 54~56 (1977)
- 32) ZHUANG, H., HILDEBRAND, D. F. and BARTH, M. M.: Senescence in broccoli buds is related to changes in lipid peroxidation, *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2585~2591 (1995)
- 33) ZHUANG, H., HILDEBRAND, D. F. and BARTH, M. M.: Temperature influenced lipid peroxidation and deterioration in broccoli buds during postharvest storage, *Postharvest Biol. Technol.*, **10**, 49~58 (1997)
- 34) KING, G. A. and MORRIS, S. C.: Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **119**, 1000~1005 (1994)
- 35) NISHIKAWA, F., KATO, M., HYODO, H., IKOMA, Y., SUGIURA, M. and YANO, M.: Ascorbate metabolism in harvested broccoli, *J. Exp. Bot.*, **54**, 2439~2448 (2003)
- 36) PAGE, T., GRIFFITHS, G. and BUCHANAN-WOLLASTON, V.: Molecular and biochemical characterization of postharvest senescence in broccoli, *Plant Physiol.*, **125**, 718~727 (2001)
- 37) COUPE, S. A., SINCLAIR, B. K., GREER, L. A., GAPPER, N. E., WATSON, L. M. and HURST, P. L.: Analysis of acid invertase gene expression during senescence of broccoli florets, *Postharvest Biol. Technol.*, **28**, 27~37 (2003)
- 38) COUPE, S. A., SINCLAIR, B., WATSON, L., HEYES, J., and EASON, J.: Identification of dehydration-responsive cysteine protease during postharvest senescence of broccoli florets, *J. Exp. Bot.*, **54**, 145~156 (2003)
- 39) COUPE, S. A., WATSON, L. M., RYAN, D. J., PINKNEY, T. T. and EASON, J. R.: Molecular analysis of programmed cell death during senescence in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea*: cloning broccoli LSD 1, Bax inhibitor and serine palmitoyltransferase homologues, *J. Exp. Bot.*, **55**, 59~68 (2004)
- 40) EASON, J. R., RYAN, D. J., WATSON, L. M., HEDDERLEY, D., CHRISTEY, M. C., BRAUN, R. H. and COUPE, S. A.: Suppression of the cysteine protease, aleurain, delays floret and leaf senescence in *Brassica oleracea*, *Plant Mol. Biol.*, **57**, 645~657 (2005)
- 41) CHEN, Y. T., CHEN, L. F. O. and SHAW, J. F.: Senescence-associated genes in harvested broccoli florets, *Plant Sci.*, **175**, 137~144 (2008)
- 42) TANINO, A., SUZUKI, Y. and TERAI, H.: Effects of postharvest ethanol vapor treatment on the expression of senescence-associated genes in broccoli, *Food Preser. Sci.*, **35**, 249~256 (2009)
- 43) 永田雅靖・山下市二: トマト果実の成熟に対する各種アルコール類の影響, 日本食品科学工学会中部支部大会講演要旨集, 13 (1999)
- 44) VREUGDENHIL, D., CLAASSENS, M. M. J., VERHEES, J., VAN DER KROL, A. R. and VAN DER PLAS, L. H. W.: Ethanol-inducible gene expression: non-transformed plants also respond to ethanol, *Trends Plant Sci.*, **11**, 9~11 (2006)
- 45) CAMARGO, S. R., CANÇADO, G. M. A., ULIAN, E. C. and MENOSSI, M.: Identification of genes responsive to the application of ethanol on sugarcane leaves, *Plant Cell Rep.*, **26**, 2119~2128 (2007)