

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 41 NO. 1

会 長	高井 陸雄	副 会 長	太田 英明	小宮山美弘	早坂 薫
編集委員長	太田 英明				
編 集 委 員	石田 裕	稲熊 隆博	井上 茂孝	今堀 義洋	竹永 章生
	津久井亜紀夫	東尾 久雄	古庄 律	松田 茂樹	

<報 文> (英文)

ラッカセイ種皮から単離した異なる重合度のプロアントシアニジンによる抗酸化活性の比較…………… (3)
 /海老澤隆史・田村倫子・小澤恵実・村 清司

*Penicillium expansum*の接種によるパツリンの蓄積とりんご果実成分との関係…………… (9)
 /竹内正彦・白澤隆史・滝沢 潤・後藤哲久

<技術報告>

関東地方の伝統野菜「のらぼう菜」(*Brassica napus* L.)の品質について…………… (17)
 /柘植一希・樋口洋子・北條怜子・元木 悟

<総 説>

ジャガイモの品種および比重による加工特性の差異に関する酵素化学的研究…………… (25)
 /中村 優

<講 座>

身近な野菜・果物～その起源から生産・消費まで (29) セイヨウナシ (I)…………… (29)
 /村山秀樹

<情 報>

食と農の資料館めぐり (8) キッコーマン国際食文化研究センター…………… (35)
 /斉藤文秀

<文献抄録>…………… (39)

<本会記事>…………… (40)

<会 告>…………… (42)

Comparison of the Antioxidant Activities between the Proanthocyanidin of a Different Degree of Polymerization from Peanut Skin

EBISAWA Ryushi*¹, TAMURA Tomoko*^{2§},
OZAWA Megumi*³ and MURA Kiyoshi*²

* 1 Faculty of Health and Nutrition, Tokyo Seiei College, 1-4-6 Nishishinkoiwa, Katsushika-ku, Tokyo 124-8530

* 2 Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

* 3 *advantec.co.,ltd* 2-7-1 Nishisinjuku, Sinjuku-ku, Tokyo 163-0703

The antioxidant activities of the phenolic compounds found in peanut skin is well documented. The aim of the present study was to investigate the structure-activity relationship of these compounds, and more particularly, that of (+)-catechin (monomer), procyanidin A1 (dimer), and epicatechin-(4 β →6)-epicatechin-(2 β →O→7,4 β →8)-catechin (EEC, trimer). Their antioxidant properties were compared using four different assays, namely, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, oxygen radical absorbance capacity (ORAC), β -carotene bleaching, and lipid peroxidation in liver microsomal fractions and mitochondria. Our results showed that DPPH radical scavenging activity and ORAC value increased with the number of phenolic hydroxyl groups, in the order EEC > procyanidin A1 > (+)-catechin. On the other hand, using the β -carotene bleaching method, the bleaching activity was inhibited depending on the phenolic molecular weight, in the order (+)-catechin > procyanidin A1 > EEC. These results might be explained by differential affinity between polyphenols and substrates. In the lipid peroxidation test using rat liver mitochondria and microsomes, the antioxidant activity of both procyanidin A1 and EEC were greater than that of (+)-catechin.

(Received Sep. 1, 2014 ; Accepted Dec. 3, 2014)

Key words : antioxidant activities, proanthocyanidin, polymerization, peanut skin, ORAC value

抗酸化活性, プロアントシアニジン, 重合度, ピーナッツ種皮, ORAC法

The red skin of peanut (*Arachis hypogaea* L.) contains high levels of polyphenols. Recently, we reported the antiallergic, hypocholesterolemic, and hypoglycemic effects of peanut skin polyphenols^{1)~3)}. These biological effects were determined to be closely related to their stereochemistry. For example, procyanidin A1, a proanthocyanidin dimer were reported to elicit the inhibitory activity of β -hexosaminidase release, while (+)-catechin did not²⁾. In addition, epicatechin-(4 β →6)-epicatechin (2 β →O→7,4 β →8)-catechin (EEC), a proanthocyanidin trimer, exhibits a more potent cholesterol micelle-degrading activity compared to procyanidin A1, while (+)-catechin did not either³⁾.

Peanut skin polyphenols have also been documented for their antioxidative effect^{4),5)}. YU *et al.*⁵⁾ showed that after blanching, loasting, or direct peeling, peanut skin retained its free radical

scavenging activities, while the composition of procyanidin dimers, trimers and tetramers was different depending on the processing method. No significant difference was observed between the scavenging activities of dimer, trimer, and tetramer proanthocyanidins using the DPPH (1,1-diphenyl-1-2-picrylhydrazyl) radical⁶⁾ method, whereas other analytical methods, such as total antioxidant capacity, oxygen radical absorbance capacity (ORAC), and discoloration of β -carotene were not examined. The antioxidant activity between proanthocyanidin dimers was different. Epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-catechin from peanut skin had lower protective effect on lipid oxidation compared to epicatechin-(4 β →8)-epicatechin from cocoa⁷⁾. The antioxidant activities are closely related to the stereochemistry. Meanwhile, almost all studies on the antioxidant effects were conducted with

polyphenol-containing extracts. Currently, little information is available on the chemical structures and plural analysis of peanut skin polyphenol antioxidant activities.

In the present study, we investigated the *in vitro* antioxidant activities of proanthocyanidins extracted from peanut skin. The antioxidant activities of (+)-catechin (monomer), procyanidin A1 (dimer), and EEC (trimer) were measured by various assay methods such as DPPH radical scavenging assay, ORAC assay, β -carotene bleaching, and lipid peroxidation inhibition assay using liver microsomal fractions and mitochondria.

Materials and methods

1. Peanut skin polyphenols extraction

Peanut skin extract (PSE) was obtained from peanut skin as we previously reported³¹. In brief, peanut skins were boiled in water for 30 min, residue was separated from the supernatant and boiled again in water. This was repeated 5 times, and all supernatants were concentrated *in vacuo* to obtain PSE. Higher- and lower-molecular fractions were prepared by ultrafiltration (MWCO 10,000; Advantec, Tokyo). Procyanidin A1 and EEC were separated by chromatography on a TSK-gel Toyopearl HW-40 F column (26 × 800 mm) (Tosoh Bioscience, Tokyo), and YMC gel ODS-AQ 12S50 column (YMC, Kyoto), as described previously^{11,31}. Total contents of polyphenol were determined according to the method of SINGLETON and ROSSI³² with Folin-Ciocalteu's reagent.

2. DPPH radical scavenging activity assay

A 140 μ M solution of DPPH was prepared in ethanol and 200 μ l of the solution was added to 400 μ l of the PSE sample. A control reaction was prepared by adding 400 μ l of solvent instead of extract. The mixture was incubated at room temperature for 20 min, and then the absorbance was measured at 517 nm. The percentage inhibition was calculated as follows:

$$\% \text{ Scavenging} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100,$$

where, A_0 is the absorbance of the control reaction, A_s is the absorbance of the reacted extract. The results were expressed as the median effective dose, which was calculated from a calibration curve obtained with different concentrations of extract. Trolox, which is a strong DPPH radical scavenger, was also tested, and the median effective dose value was converted to trolox equivalent (TE).

3. ORAC assay

Solutions of Trolox, fluorescein and 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) were prepared in a phosphate buffer (75 mM, pH 7.0). Twenty microliters of sample or Trolox solution (6.25-50 μ M), and 200 μ l of 94.4 nM fluorescein were mixed and incubated at 37°C in a 96-well microplate. After 10 min, a volume of 75 μ l/well of 31.7 mM AAPH was added to the plate. The mixture was further incubated for 9 s before the initial fluorescence was measured. The fluorescence of the mixture was then recorded every 2 min for 70 min. A Trolox solution series (6.25, 12.5, 25 and 50 μ M) was used to draw a standard curve. The blank or background value was determined by using 20 μ l of phosphate buffer instead of extract. Fluorescence measurements were normalized to the blank. Using the normalized curves, the area under the fluorescence decay curve (AUC) was calculated as follows:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{t=70} f_i / f_0$$

where f_0 is the initial fluorescence reading at 0 min and f_i is the fluorescence reading at time i . The net AUC of a given sample was calculated as follows:

$$\text{net AUC} = \text{AUC}_{\text{antioxidant}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$$

The linear regression between net AUC and antioxidant concentration was determined and the ORAC value was calculated by dividing the slope of the Trolox curve obtained in the same assay. Final ORAC values were expressed as TE equivalent per gram and molar of polyphenol.

4. β -carotene-linoleic acid bleaching assay

A stock solution of β -carotene-linoleic acid was prepared as follows: 1mg of β -carotene, 100mg of linoleic acid, and 200mg of Tween 40 were each dissolved in 1ml of chloroform. Then 100 μ l of linoleic acid, 250 μ l of β -carotene, and 250 μ l of Tween 20 were mixed together, and the chloroform was evaporated under vacuum. A solution of 20 mM phosphate buffer (25ml) was then added to the residue. An aliquot of 8 μ l of extracted polyphenols was pipetted into a 96-well plate and 200 μ l of the previously described mixture was added. The plate was incubated for 50 min at 50°C together with a control well containing Trolox. The absorbance was then measured at 470 nm at 5 and 50 min. The antioxidant capacity was calculated as percentage inhibition of oxidation using the following equation:

Antioxidant activity (%)

$$= \left[\frac{(B_{50} - B_5) - (V_{50} - V_5)}{B_{50} - B_5} \right] \times 100,$$

where B_5 and B_{50} are the absorbance of wells without sample extract measured at the beginning of reaction (5min) and at 50 min, respectively, V_5 and V_{50} are the absorbance of the wells containing extract at the beginning (5 min) and at 50min after the reaction, respectively.

5. Preparation of rat liver mitochondria and microsomes

Male Wistar rats weighting 200 g were used in the experiment. The livers were removed immediately and the tissue was homogenized in 9 volumes of ice-cold 0.25 M sucrose–0.2 mM EDTA. The homogenate was centrifuged at $600 \times g$ for 10 min to remove liver debris and then centrifuged at $8,400 \times g$ for 10 min to sediment mitochondria. This pellet was washed with 0.25 M sucrose–0.2 mM EDTA. Liver microsomes were prepared from the supernatant when the solution containing mitochondria was obtained. The supernatant was ultracentrifuged at $105,000 \times g$ for 90 min and the supernatant removed. The concentration of mitochondria and microsome proteins was determined using the Quick Start Protein Assay (BioRad Laboratories, Tokyo).

6. Assay for thiobarbituric acid reactive products

Lipid peroxidation in mitochondria and microsome solutions was measured using thiobarbituric acid (TBA). Mitochondria (3 mg/ml mitochondrial protein) was added to $500 \mu\text{l}$ of reaction buffer, containing 20 mM potassium phosphate buffer (pH7.4), 125 μM FeSO_4 , 125 μM ascorbic acid, and $10 \mu\text{l}$ of peanut extract. The mixture was incubated at 37°C for 60 min. Then, $250 \mu\text{l}$ of 20% trichloroacetic acid and $250 \mu\text{l}$ of 1% TBA were added to the mixture, and kept in a boiling water bath for 15 min to obtain the characteristic red colors of TBA–MDA. After centrifugation, the color intensity was measured at 532 nm. To determine the blank value, a potassium phosphate buffer without FeSO_4 or ascorbic acid

was used. To determine the amount of TBA reactive products, MDA was calculated using a molar extinction of $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Similarly, microsomal lipid peroxidation was induced by Fe^{3+} –ADP/NADPH. The 1.5 mg/ml protein-containing microsome ($250 \mu\text{l}$) was mixed to $750 \mu\text{l}$ of a mixture consisting of 0.5 mM ADP–25 μM Tris-HCl buffer (pH 7.4), 25 μM EDTA–50 μM FeCl_3 , and 25 μl of peanut extract. The reaction was initiated by the addition of 0.5 mM NADPH and incubated at 37°C for 30 min. Subsequently, the samples were analyzed for TBA reactive products as described above.

7. Statistical analysis

Experimental results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) for three samples using Statistical Program for Social Sciences (SPSS, standard version). Repeated measures ANOVA was used to analyze the change of variables with group. Fisher's LSD test was used for group-to group comparison at ORAC assay. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results and discussion

1. Total polyphenol content and antioxidant activity of PSE and its fractions

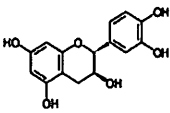
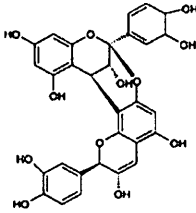
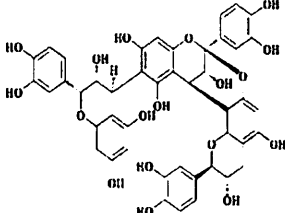
Peanut skin presented a total of 134.3 mg polyphenols, with 44.0 and 78.5 mg/g dry skin in its lower- and higher-molecular weight fractions, respectively. Thirty-three percent of the polyphenol content was contained in the lower-molecular fraction, with an overall recovery rate of 91%. The lower-molecular weight fraction showed higher DPPH radical scavenging activity and ORAC value compared to PSE or the high-molecular weight fraction (Table 1). Antioxidant activities determined by the β -carotene bleaching method were similar in all three fractions. We further isolated proanthocyanidins (Table 2) from the lower-molecular fraction^{1,3}, and determined their antioxidant activities.

Table 1 Polyphenol content and antioxidant activities of PSE using different assays

Fraction	Polyphenol (mg g dry skin)	DPPH radical scavenging activity (mmol of TE g polyphenol)	ORAC value (mmol of TE g polyphenol)	Antioxidant activity measured by β -carotene bleaching method (mmol of TE g polyphenol)
PSE	134.3 (100 %)	8.03	45.95 ± 1.00^a	6.45
M.W.>10,000	78.5 (58.45 %)	6.01	50.95 ± 3.39^a	6.26
M.W.<10,000	44.0 (32.76 %)	10.03	100.91 ± 5.65^b	7.99

Different letters indicate statistically significant differences at $p < 0.05$

Table 2 Structure and properties of polyphenols isolated from peanut skin

	(+)-Catechin	Procyanidin A1	EEC
Structure			
Molecular weight	290.27	576.51	864.78
Content(% of total polyphenol)	0.24	5.62	2.20

Procyanidin A1: epicatechin-(2 β →7,4 β →8)-catechin EEC: epicatechin-(4 β →6)-epicatechin(2 β →O→7,4 β →8)-catechin

2. DPPH radical scavenging activity and ORAC value

Using equal molarity of polyphenols, EEC exhibited the most potent DPPH radical scavenging activity, in the order EEC>procyanidin A1>(+) -catechin (Table 3). The activity normalized per unit weight, however, was the same in the three grades of purities. Interestingly, the antioxidant activity increased with the molecular weight. The catechol structure of polyphenols plays a critical role in their antioxidant activity⁹⁾. EEC has three catechol structures in a molecular, and procyanidin A1 and (+)-catechin has 2 and 1 structures. Number of the catechol hydroxyl groups of those polyphenols may result in altered DPPH radical scavenging activity. Moreover, DONG *et al.*¹⁰⁾ observed that the B-type procyanidin dimer presented a more potent DPPH radical clearing effect than the A-type dimers. This may be explained by the presence of phenolic OH group, which is very important in scavenging radical, and by the additional C2-O-C7 ether linkage present in the A-type procyanidin dimer decrease the DPPH radical clearing effect. DING *et al.*¹⁰⁾ suggested that lower DPPH clearing activity of A type procyanidin dimer than that of B-type may due to the additional C2-O-C7 ether linkage instead of a phenolic OH group as in B-type dimer. We suggested that DPPH radical scavenging activity

would be increased depending on the number of phenolic hydroxyl group, and the order of antioxidant potency would be EEC>PA1>(+) -catechin. The antioxidant activity of the three polyphenols by ORAC value were also shown in Table 3. TE antioxidant capacity were strong in ORAC assay compared to DPPH assay in any three polyphenols. The order of antioxidant activity was EEC>PA1>(+) -catechin in the ORAC value, and this order was same as the DPPH radical scavenging activity.

3. β -Carotene bleaching activity

In table 4 are shown the antioxidant activities of peanut skin polyphenols as measured by the β -carotene-linoleic acid system. (+)-Catechin showed higher antioxidant activity in equal weight polyphenols. The order of β -carotene bleaching activity was (+)-catechin>procyanidin A1>EEC, although no difference in antioxidant activity was determined among the three polyphenols, when the antioxidant activity was normalized per mole of polyphenol. It has previously been reported that epicatechin gallate and epigallocatechin gallate have stronger β -carotene bleaching activity than either epicatechin or epigallocatechin¹¹⁾. In addition, DONG *et al.*¹⁰⁾ also observed that the order of lipid peroxidation inhibition potency was A-type epicatechin gallate dimer > A-type epigallocatechin

Table 3 Antioxidant activities of polyphenols

Polyphenol	DPPH radical scavenging activity		ORAC value	
	mmol of TE / g polyphenol	mmol of TE / mmol polyphenol	mmol of TE / g polyphenol	mmol of TE / mmol polyphenol
(+)-Catechin	9.89	2.87	30.82 ± 1.44 ^a	8.95 ± 0.42 ^a
Procyanidin A1	10.54	6.08	120.59 ± 16.71 ^b	69.52 ± 9.64 ^b
EEC	13.32	11.59	147.60 ± 11.01 ^b	127.64 ± 9.52 ^c

Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$

Table 4 Inhibitory activity of polyphenols on lipid peroxidation

Polyphenol	mmol of TE / g polyphenol	mmol of TE / mmol polyphenol
(+)-Catechin	10.81	3.14
Procyanidin A1	6.45	3.77
EEC	4.41	3.81

gallate dimer > A-type epicatechin dimer > B-type epicatechin dimer. VERSTRAETEN *et. al*⁷ reported that the subunits of B-type dimers were stacked up, while the subunits of A-type dimers are linked by two covalent bonds. As such, the structural subunits in the A-type dimers are not capable of folding over themselves, making A-type dimers a more elongated structure than B-type dimers. This may in turn explain why A-type dimers may have a higher number of interaction sites with the lipid than the B-types. Further, VERSTRAETEN *et. al*⁷ described that dimers and trimers can interact with membrane phospholipids, presumably with their polar headgroup, and that procyanidins can provide protection against the attack of oxidants as a consequence of the interaction. Thus, we suggest that inhibition activity of lipid peroxidation may be interpreted as differences in affinity between polyphenols and respective substrates, and the affinity will be stronger if a degree of polymerization is more smaller.

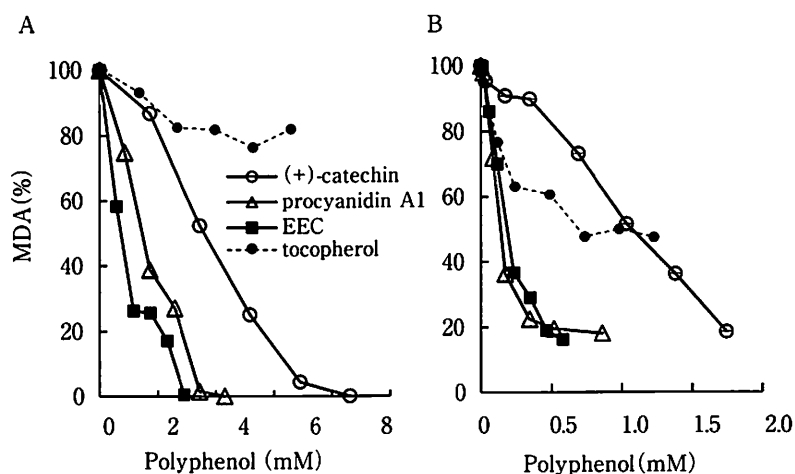
4. Lipid peroxidation test using rat liver homogenate

The antioxidant assay using rat liver was conducted to reflect *in vivo* circumstances. In a mitochondria preparation obtained from rat liver,

procyanidin A1 and EEC used at a concentration of 1.7 mM inhibited the production of MDA by 39 and 26%, respectively, whereas that of (+)-catechin was 87% (Fig. 1A). Procyanidin A1 and EEC inhibited nearly all of the MDA production, when the (+)-catechin inhibited only about 50% of the peroxidation. MDA production were strongly inhibited by polyphenols than tocopherol, which is commonly utilized as an antioxidant reagent in food products, in any concentration. In the liver microsomal fraction, the antioxidant activities of procyanidin A1 and EEC were stronger than that of (+)-catechin, whereas no difference was observed between procyanidin A1 and EEC (Fig. 1B). In the presence of procyanidin A1 and EEC at 0.5 mM, MDA productions were repressed down to 19.6 and 19.0%, respectively. In the presence of tocopherol, MDA products were only repressed to 63%. These results suggest that procyanidin A1 and EEC may possess unexpectedly high antioxidant properties *in vivo*.

Conclusions

We sought to examine the antioxidant activity of proanthocyanidin oligomers isolated from peanut skin. We suggest that the DPPH radical scavenging activities and ORAC values of polyphenols may be due to their hydrogen-donating ability. The β -carotene bleaching activity of (+)-catechin was higher than that of proanthocyanidin oligomer, and this may be explained by the presence of distinct interaction areas between polyphenol and substrate. Procyanidin A1 and EEC exhibited high inhibition

**Fig. 1** Effect of polyphenols on MDA levels in rat liver homogenate

Reaction mixtures containing mitochondria(A) and microsomes(B) were added to different concentrations of polyphenols and tocopherol.

effect on lipid peroxidation in liver homogenate. Such oligomers derived from peanut skin may therefore be high-antioxidant *in vivo*.

References

- 1) TOMOCHIKA, K., SHIMIZU-IBUKA, A., TAMURA, T., MURA, K., ABE, N., ONOSE, J. and ARAI, S.: Effects of peanut-skin procyanidin A 1 on degranulation of RBL-2H3 cells, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**, 1644~1648 (2011)
- 2) TAMURA, T., INOUE, N., SHIMIZU-IBUKA, A., TADAISHI, M., TAKITA, T., ARAI, S. and MURA, K.: Serum cholesterol reduction by feeding a high-cholesterol diet containing a lower-molecular-weight polyphenol fraction from peanut skin, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **76**, 834~837 (2012)
- 3) TAMURA, T., INOUE, N., OZAWA, M., SHIMIZU-IBUKA, A., ARAI, S., ABE, N., KOSHINO, H. and MURA, K.: Peanut-skin polyphenols, procyanidin A 1 and epicatechin- (4 β →6) -epicatechin- (2 β →O→7, 4 β →8) -catechin, exert cholesterol micelle-degrading activity *in vitro*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1306~1309 (2013)
- 4) HATHORN, C. S. and SANDERS, T. H.: Flavor and antioxidant capacity of peanut paste and peanut butter supplemented with peanut skins, *J. Food Sci.*, **77**, 407~411 (2012)
- 5) YU, J., AHMEDNA, M., GOKTEPE, I. and DAI, J.: Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing, *J. Food Comp. Anal.*, **19**, 364~371 (2006)
- 6) LOU, H., YUAN, H., MA, B., REN, D., JI, M. and OKA, S.: Polyphenols from peanut skins and their free radical-scavenging effects, *Phytochemistry*, **65**, 2391~2399 (2004)
- 7) VERSTRAETEN, S. V., HAMMERSTONE, J. F., KEEN, C. L., FRAGA, C. G. and OTEIZA, P. I.: Antioxidant and membrane effects of procyanidin dimers and trimers isolated from peanut and cocoa, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 5041~5048 (2005)
- 8) SINGLETON, V. L. and ROSSI, J. A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 144~158 (1965)
- 9) YANG, C. S., LAMBERT, J. D., and SANG S.: Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols, *Arch. Toxicol.*, **83**, 11~21 (2009)
- 10) XIAO-QIAN, D., BO, Z., YING, Z., ZHEN-ZHEN, G., JING, D. and CHUN-MEI, L.: Preparation of A-type

proanthocyanidin dimers from peanut skins and persimmon pulp and comparison of the antioxidant activity of A-type and B-type dimers, *Fitoterapia.*, **91**, 128~139 (2013)

- 11) KUMAZAWA, S., TANIGUCHI, M., SUZUKI, Y., SHIMURA, M., KWON, M-S. and NAKAYAMA, T.: Antioxidant activity of polyphenols in carob pods, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 373~377 (2002)

ラッカセイ種皮から単離した異なる重合度のプロアントシアニジンによる抗酸化活性の比較

海老澤隆史*1・田村倫子*2・小澤恵実*3・村 清司*2

*1 東京聖栄大学健康栄養学部

(〒124-8530 東京都葛飾区西新小岩1-4-6)

*2 東京農業大学応用生物科学部

(〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)

*3 アドバンテック(株)

(〒163-0703 東京都新宿区西新宿2-7-1)

ラッカセイ種皮は多くのポリフェノールを含む。これまで、食材が含有するポリフェノールの抗酸化活性に関する研究は多くなされているが、多様なポリフェノールが混在した状態で抗酸化活性を検討しているものが大半である。また、複数の方法で抗酸化活性を検討していない場合が多い。そこで私たちは、ラッカセイ種皮から単離・同定した単量体の(+)-カテキン、2量体のプロシアニジンA1、3量体のエピカテキン-(4 β →6)-エピカテキン-(2 β →O→7,4 β →8)-カテキン(EEC)を用いて、重合度の違いによるプロアントシアニジンの抗酸化活性の違いについて検討した。DPPHラジカル消去試験とORAC法で抗酸化活性を測定すると、抗酸化活性は1モル当たりのフェノール性水酸基の数に比例し、ECC>プロシアニジンA1>(+) -カテキンの順であった。しかしながら β -カロテン退色法での測定では、重合度が高いほど抗酸化活性は低減し、(+)-カテキン>プロシアニジンA1>EECの順であった。この結果から、プロアントシアニジンは重合度の上昇により基質との親和性が低下する可能性があることが考えられた。さらに、生体内での作用を検討するため、ラット肝臓ミトコンドリアおよびマイクロソームを用いて脂質過酸化抑制試験を行ったところ、プロシアニジンA1とEECは(+)-カテキンよりも強い抗酸化活性を示し、DPPHラジカル消去試験ならびにORAC法での測定結果と同様、単量体のカテキンより重合体のプロアントシアニジンのほうが強い抗酸化活性を示した。しかし二量体のプロシアニジンA1と三量体のEECの間では大きな差はみられなかった。

(平成26年9月1日受付, 平成26年12月3日受理)

Relationship between Apple Fruit Constituents and Patulin Accumulation by Inoculated *Penicillium expansum*

TAKEUCHI Masahiko*^{1§}, SHIRASAWA Takashi*²,
TAKIZAWA Jun*¹ and GOTO Tetsuhisa*²

* 1 Agricultural Technology Institute of Nagano Farmers' Federation, 787-1 Suzaka, Suzaka, Nagano 382-0084

* 2 Faculty of Agriculture, Shinshu University, 8304 Minamiminowa, Kamiina, Nagano 399-4598

Penicillium expansum, a plant pathogenic fungus that infects apples, is known to produce patulin and has been shown to be involved in patulin contamination in apples. In this study, we examined the relationship between various apple components and the amount of accumulated patulin in different apple cultivars in order to determine the factors that mitigate patulin contamination. Interestingly, there was a significant correlation between the amount of accumulated patulin and the total polyphenol, chlorogenic acid, and asparagine contents in apples. However, the levels of aspartic acid and asparagine differed substantially within various portions of the apples. Hardness and sugar content of apples were inversely correlated with the amount of accumulated patulin. Thus, taken together, our results suggested that patulin did not accumulate in apple varieties that were harder and sweeter.

(Received Oct. 16, 2014 ; Accepted Dec. 10, 2014)

Key words : apple cultivar, patulin, *Penicillium expansum*, constituents, hardness

リンゴの品種, パツリン, ペニシリウム・エクスパンズム, 成分, 硬さ

Patulin (4-hydroxy-4H-furo(3,2c)pyran, 2(6H)-one) is produced by a variety of fungi, including *Penicillium expansum*, *P. griseofulvum*, *Aspergillus clavatus*, and *Byssoschlamys nivea*^{1),2)}, and is stable under acidic conditions, like those found in apple juice. Moreover, patulin is only slightly degraded following exposure to pasteurization temperatures used in the processing of apple juice³⁾. Thus, once juice and other apple products are contaminated, it is difficult to remove patulin from these products. Because patulin causes hyperemia and bleeding in the gastrointestinal tract⁴⁾, mutagenicity⁵⁾, and DNA damage⁶⁾, the Codex Alimentarius Commission recommends a maximum residue level of 50 µg/kg for patulin in apple products⁷⁾. In Japan, patulin levels in apples and apple products must be less than 50 ppb⁸⁾.

Among the patulin-producing fungi described above, *P. expansum* also causes apples to rot. Therefore, it has been hypothesized that *P. expansum* contributes to the patulin contamination of apples and apple products. Additionally, previous studies have shown that patulin accumulation resulting from

P. expansum infection differs depending on the specific apple cultivar. However, while these studies have indeed shown that different apple cultivars exhibit different amounts of accumulated patulin, the cause of these differences has not yet been clarified. Furthermore, patulin accumulation differs depending on the harvest season, amount of constituents, and hardness of apples, which also vary among cultivars. For example, WATANABE and AYUGASE⁹⁾ found a positive correlation between patulin accumulation and total polyphenol and malic acid contents and a negative correlation between patulin accumulation and total amino acid content. Moreover, under-ripe fruit has been shown to contain higher polyphenol and patulin contents than ripe fruit¹⁰⁾, suggesting that there is a relationship between accumulated patulin and polyphenols. In addition, HAMAUZI *et al.*¹¹⁾ reported that the levels of chlorogenic acid, a polyphenol, differ between Tsugaru and Fuji apples and that Tsugaru apples accumulate relatively high amounts of patulin, while Fuji apples exhibit relatively low amounts. Furthermore, pectin, which affects the hardness and/or process suitability of

apples, may affect the physical properties of apple fruit and patulin accumulation. However, the accumulation of patulin in different apple cultivars has not been studied in detail.

In this study, we investigated the relationships between some apple constituents and patulin accumulation by *P. expansum* using major cultivars of apples and some relatively newly introduced cultivars of apples. The information from this study is expected to facilitate the prevention of patulin contamination in apple products and the future breeding of new apple cultivars with reduced levels of patulin contamination.

Materials and Methods

1. Samples and Chemicals

(1) **Apple cultivars** All apples were grown and harvested in Nagano prefecture, and their fruits were harvested at the most suitable time for their consumption as a fresh fruit. After harvest, fruits without physical and microbiological damage were selected for this study.

The apples used in this study were early-maturing cultivars (Iwai and Tsugaru), mid-maturing cultivars (Akibae, Senshu, Kogyoku, Shinano Sweet, and Shinano Gold), and late-maturing cultivars (Orin, Fuji, and Indo) (Table 1). Six fruits were used for each cultivar and each year, except for Tsugaru and Fuji in 2010.

(2) **Chemicals** The patulin standard (100.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in acetonitrile) was purchased from Biopure (Tulln, Austria). Chlorogenic acid and D-galacturonic acid

monohydrate were purchased from ACROS (Geel, Belgium). L-Asparagine monohydrate was purchased from Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Japan), and all other chemicals used were purchased from Kanto Kagaku (Tokyo, Japan).

(3) Inoculation of *P. expansum* to apples and partitioning of apples

Inoculation of *P. expansum* to apples was carried out following the method described by BANDO *et al.*¹²⁾ using *P. expansum* NRRL6069. In brief, spores of *P. expansum* were suspended in 0.1% Tween 20 solution at a concentration of approximately 10^6 CFU/mL and inoculated at 1 ~ 2 mm below the surface of the apple using a needle. Apples were individually wrapped with aluminum foil and cultured at 20°C in the dark for 6 days.

After incubation, apples were quartered vertically as shown in Fig. 1. Portion A, which included the fungus inoculation site, was used for patulin analysis. Portion B was used for polyphenol and amino acid analyses. Portion C was used for pectin analysis, and portion D was used for measurement of hardness, sweetness, and pH.

2. Analysis of patulin

The weight of the portion including the inoculated site on quartered apples was measured. Each apple sample, except for Iwai and Indo apples, was mashed with a juice press, and obtained juice samples were poured to 15-mL tubes and stored at -20°C until analysis. For Iwai and Indo apples, an equal volume of pure water was added, and apples were homogenized with a blender, followed by centrifugation at $15,660 \times g$ for 30 min. The supernatant was then transferred to a 15-mL tube and stored at -20°C until analysis.

For the extraction of patulin, we used the AOAC-OMA method 995.10¹³⁾, with minor modifications¹²⁾. In

Table 1 List of apple cultivars used in this study and their harvest seasons

Cultivar	Year	Harvest time*
Early maturing cultivar		
Iwai	2011, 20012	August
Tsugaru	2010, 2011, 2012	early September
Middle maturing cultivar		
Akibae	2011, 2012	early October
Senshu	2011	early October
Shinano-sweet	2010, 2011	early October
Kougyoku	2012	early October
Shinano-gold	2010, 2011	middle October
Ourin	2012	middle October
Late maturing cultivar		
Indo	2011, 2012	late October
Fuji	2010, 2011, 2012	late October

*Apples were harvested at their most suitable time for consumption as fresh fruit

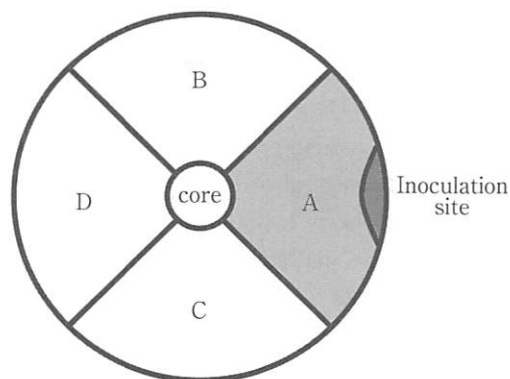


Fig. 1 Cutting portions of an apple viewed from top

brief, 5g of sample was measured in an 18 × 180mm glass test tube and extracted twice with 10 ml ethyl acetate. The ethyl acetate phases were combined and washed with 2 ml of 1.5% sodium carbonate solution. The aqueous layer was re-extracted with 5 ml of ethyl acetate, and the ethyl acetate phases were combined and dried with 1 g of anhydrous sodium sulfate. The ethyl acetate phase was transferred to a 100-ml recovery shaped glass flask, and approximately 2 ml of acetic acid-ethyl acetate (2:98 v/v) was added. The sample was then concentrated to approximately 2 ml using a rotary evaporator (RE111, Shibata, Tokyo, Japan) at 40°C. The ethyl acetate layer was transferred into an 8-ml glass amber vial and evaporated to dryness under a nitrogen stream at 40°C. Residues were dissolved with 0.5 ml acidic water and filtered through a 0.45- μ m syringe filter to prepare samples for HPLC analysis. Patulin was analyzed by LC-UV (Shimadzu LC-10 series, Shimadzu Co. Ltd, Kyoto Japan) as follows. Patulin was separated on an ODS column (Synergi Hydro-RP 80A, 4.6 mm i.d. × 250 mm) with a guard cartridge (Phenomenex, CA, USA). The mobile phase was a mixture of water and acetonitrile (95:5 v/v) and the flow rate was 1.0 ml/min. Patulin was detected by UV absorbance detection at 276 nm.

3. Analysis of total polyphenol content

Analysis of total polyphenols was based on the method of COSTENG *et al.*¹⁰. In brief, 20 g of apple (portion B, see Fig. 1), 50 ml of cold ethanol (5°C), and about 0.2 g of L-ascorbic acid were placed in a homogenizer (ED-001, Nihon Seiki, Tokyo, Japan) and homogenized for 10 min at 15,000 rpm. The mixture was filtered using a Buchner funnel, and the filtrate was used as the sample for analysis of total polyphenol content. Total polyphenols were quantified based on the color reaction to ferrous tartrate. A calibration curve was prepared using ethyl gallate as the standard¹⁵.

4. Analysis of chlorogenic acid

Analysis of chlorogenic acid was based on the method of HAMAUZU *et al.*¹⁶. In brief, the same sample prepared for analysis of total polyphenols was washed with petroleum ether to remove color pigments, and chlorogenic acid was then extracted by ethyl acetate and analyzed by HPLC. Chlorogenic acid in extract was separated on an ODS column (Develosil ODS-UG-5, 4.6 mm i.d. × 150 mm with a guard cartridge, 4.0 mm i.d. × 10 mm ;

Nomura Chemical Co. Ltd., Seto, Japan). For each analysis, 10 μ l of extract was injected, and the column and guard cartridge were kept at 40°C. Mobile phase A was water-phosphoric acid (1000:1, v/v), and mobile phase B was methanol. The flow rate of the mobile phase was 1.0 ml/min. A gradient elution was performed as follows: first, the ratio of mobile phases A and B was set at 98:2 for the first 9.8 min. The ratio of B was linearly increased to 25% until 17.5 min, 35% until 24.5 min, and then 55% until 26.6 min. The %B was held at 55% for 1.4 min, and the ratio of B was then returned to 2% over 0.01 min. UV detection was carried out at 280 nm.

5. Analysis of pectins

Pectin in apples was analyzed as previously described¹⁷, with minor modifications using portion C (Fig. 1). In brief, 20 g of sample was divided into small pieces and placed in a 300-ml flat-bottomed flask with 75 ml ethanol. Samples were refluxed on a mantle-type electric heater with a water-cooled condenser for 15 min. After cooling to room temperature, samples were then homogenized at 15,000 rpm for 5 min and then filtered using a Buchner funnel. The residues were washed sequentially with 70, 80, 90, and 99% ethanol and then dried under reduced pressure. Fifty milligrams of dried residue was placed in a 300-ml flat-bottomed flask with 50 ml water and then refluxed for 15 min. After cooling to room temperature, samples were filtered using a Buchner funnel. The residues were washed with water, and the filtrate was filled up to 100 ml. This filtrate was used for determination of water-soluble pectin. Residues on filter paper were transferred into a flat-bottomed flask. Then, 80 ml of 0.05 mol/l hydrochloric acid was added, and the mixture was refluxed for 1 h. After cooling to room temperature, the hydrochloric acid solution was used for determination of hydrochloric acid-soluble pectin.

Both water-soluble and hydrochloric acid-soluble pectins were measured by the dimethylphenol method¹⁸. For the blank sample, an acetic acid solution was used instead of coloring reagent. The calibration curve was drawn using D-galacturonic acid as a standard.

6. Analysis of asparagine and aspartic acid

Extraction of amino acids was carried out using ethanol, as reported by MAEKAWA *et al.*¹⁹ with some modifications. Ten milliliters of the ethanol extract

used for measurement of total polyphenols was placed in a 100-mℓ recovery shaped flask and condensed to approximately 2 mℓ with a rotary evaporator. The solution was transferred to a volumetric flask with a capacity of 25 mℓ and diluted with lithium buffer solution (pH 2.2). The resulting solution was filtered with a syringe filter (0.45 μm) to serve as the sample for HPLC analysis.

HPLC analysis of amino acids was performed following the method of GOTO *et al.*²⁰⁾ Amino acids were derivatized with *o*-phthalaldehyde (OPA). Derivatized amino acids were separated with an ODS column (Develosil ODS-UG-5, 4.6 mm i.d. × 150 mm with a guard cartridge, 4.0 mm i.d. × 10 mm, Nomura Chemical Co. Ltd.). The column and guard cartridge were kept at 40°C. Mobile phase A was 5 mM citrate buffer (pH 6.0) and acetonitrile (19 : 1 v/v), and mobile phase B was 5 mM citrate buffer (pH 6.0) and acetonitrile (3 : 7 v/v). The flow rate of the mobile phase was 1.0 mℓ/min. A gradient elution was performed. Fluorescence detection was carried out at an excitation wavelength of 340 nm and an emission wavelength of 450 nm.

7. Measurement of hardness, sugar content, and pH

For the measurement of hardness, approximately 2 cm of skin of fruit was removed from the upper and lower halves of portion D (Fig.1). The tip of a needle (S-4, A-shaped tip) of a hardness tester (FB10K, IMADA, Toyohashi, Japan) was pushed up to 1 cm into the surface, and hardness was measured. Measurements from the two locations were averaged, and the average value was used as the hardness. The sugar content of the juice was measured with a sugar meter (IPR-101α, Brix 0-45%, AS ONE, Osaka, Japan), and the pH was measured with a pH meter (HM-12P, Toa Denpa Kogyo, Tokyo, Japan).

8. Repeatability analysis

Repeatability analyses of some measurements were performed following the method described in the International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report)²¹⁾ using the following equations:

$$\text{Equation 1 : } S_{an}^2 (a-b)^2/10$$

$$\text{Equation 2 : } \sigma_p = 0.02 \times (\text{average content of each free amino acid})^{0.8495}$$

$$\text{Equation 3 : } S_{an}^2 = (a + b \text{ of Dispersion} - S_{an}^2)/2$$

$$\text{Equation 4 : } \sigma_{all}^2 = (0.3 \times \sigma_p)^2$$

where S_{an}^2 is the variance in amino acid content in replicate analyses, σ_p is the estimate of reproducibility standard deviation, S_{sam}^2 is the variance in the content of each amino acid in different portions, and σ_{all}^2 is the upper limit of the allowable variance in the content of each amino acid in different portions.

Results and Discussion

1. Verification of the validity of component analysis

(1) Analysis of aspartic acid and asparagine

Using an apple cutter, the fruit was vertically divided into six pieces. Each of six pieces was homogenized, and amino acids were analyzed for each piece. From this analysis, the mean content and relative standard deviation of aspartic acid were 35mg/kg and 24%, respectively. The mean content and relative standard deviation of asparagine were 5.7mg/kg and 49%, respectively.

Because of these large standard deviations, we next mashed a whole apple, took six samples from the mash, and analyzed the amino acid content. From this analysis, the means and relative standard deviations of aspartic acid and asparagine were 35mg/kg and 3.1% and 2.0mg/kg and 4.6%, respectively. These data suggested that aspartic acid and asparagine contents may differ depending on the portion of the apple analyzed.

To confirm the above results, apples were vertically cut into six pieces, each piece was then mashed, and two analytical samples from each mash were analyzed. Values at different locations according to replicate analyses were expressed as a and b, and the total differences in aspartic acid and asparagine contents at different locations according to replicate analyses, or $\Sigma (a-b)^2$, was calculated. As shown in Table 2, the total difference in aspartic acid content was 3.9, with an overall mean of 31mg/kg. That of asparagine content was 2.4, with an overall mean of 13mg/kg. Because there were some errors in the analysis of one of the six samples, data from this sample was excluded from statistical analysis.

The results of repeatability analyses, performed as described in the Materials and Methods, did not show homogeneity of aspartic acid and / or asparagine contents depending on the portion of fruit. Therefore, unlike the other constituents, averages of aspartic acid or asparagine content in

Table 2 Difference of amino acids content by portion

	$\Sigma(a-b)^2$	Overall mean [mg/kg]	San ² [mg/kg]	Rejection Limit Value	Ssam ²	σ_{all}^2	Rejection Limit Value
Aspartic acid	3.9	31.0	0.62	1.50	7.0	0.77	2.60
Asparagine	2.4	13.0	0.48	0.72	13.0	0.18	0.72

six (or five) fruit were used for the analysis of correlations with patulin accumulation.

(2) **Measurement of hardness, sugar content, and pH** In vertical sections of apples, the mean hardness was 3.6 kg/cm² (relative standard deviation, 7.3%). Additionally, the mean sugar content was 17% (relative standard deviation, 2.7%), and the mean pH was 4.0 (relative standard deviation, 3.1%). These relative standard deviations were sufficiently small, suggesting that there were no differences in these values according to different portions of the apple.

2. Patulin accumulation and apple cultivars

The amount of patulin accumulated in different apple varieties is shown in Table 3. The Iwai cultivar contained significantly higher amounts of patulin compared with all other cultivars ($p < 0.05$) except Tugaru, and the amount of patulin accumulated in Tugaru apples was significantly higher than that in Akibae, Shinano Gold, Fuji, and Indo apples ($p < 0.05$). In contrast, Akibae, Shinano Gold, and Indo apples had significantly lower patulin levels than all other cultivars ($p < 0.05$), with the exceptions of Senshu and Kogyoku apples.

3. Contents and correlations of various apple components with patulin accumulation

(1) Total polyphenols and chlorogenic acid

The amounts of total polyphenols and chlorogenic acid in different apple varieties are shown in Table 3. Iwai and Tugaru apples had significantly higher ($p < 0.01$) total polyphenol content than other cultivars. In contrast, Senshu and Indo apples had significantly lower ($p < 0.05$) total polyphenol content than other cultivars. The correlation between the amount of accumulated patulin in apples and its total polyphenol content had a coefficient of $r = 0.52$, indicating a significant correlation ($p < 0.01$; Fig. 2).

Chlorogenic acid, a major polyphenol found in apples, showed results similar to those of total polyphenols. Iwai apples had significantly higher ($p < 0.01$) chlorogenic acid content than other cultivars. Additionally, Shinano Sweet and Fuji apples had significantly greater ($p < 0.01$) chlorogenic acid content than all other cultivars, with the exception of Iwai apples. In contrast, Tugaru and Indo apples had significantly lower ($p < 0.01$) chlorogenic acid content than other cultivars. The correlation

Table 3 Constituents and patulin accumulation of apple cultivars

Cultivars	Number of samples	Patulin [μ g/kg]	Total polyphenols [mg/kg]	Chlorogenic Acid [mg/kg]	Water-soluble pectin [mg/kg]	Hydrochloric acid soluble pectin [mg/kg]	Total Pectin* [mg/kg]	Aspartic acid [mg/kg]	Asparagine [mg/kg]	Hardness [kg/cm ²]	Brix	pH
Iwai	12	1,800 ± 1,400	690 ± 100	220 ± 42	2,200 ± 3,700	2,100 ± 640	4,300 ± 970	320 ± 41	1,700 ± 540	2.6 ± 0.13	12 ± 1.0	3.7 ± 0.12
Tugaru	17	830 ± 740	530 ± 96	18 ± 5.9	1,200 ± 370	1,800 ± 610	3,000 ± 690	54 ± 32	410 ± 330	2.7 ± 0.80	13 ± 0.85	4.2 ± 0.28
Akibae	12	150 ± 140	390 ± 39	37 ± 6.0	980 ± 130	2,000 ± 240	3,000 ± 340	40 ± 17	79 ± 88	4.2 ± 0.38	14 ± 0.36	3.6 ± 0.16
Senshu	6	400 ± 530	240 ± 41	49 ± 6.0	1,000 ± 97	1,900 ± 210	2,900 ± 280	300 ± 47	400 ± 200	3.0 ± 0.36	14 ± 0.43	3.9 ± 0.00
Kogyoku	6	720 ± 640	410 ± 64	42 ± 14	1,600 ± 150	1,700 ± 130	3,400 ± 160	110 ± 24	20 ± 9.2	2.2 ± 0.42	14 ± 1.44	3.7 ± 0.21
Shinano-sweet	12	490 ± 460	420 ± 49	70 ± 18	1,000 ± 190	1,400 ± 400	2,400 ± 340	92 ± 87	190 ± 300	3.1 ± 0.27	15 ± 0.59	4.2 ± 0.26
Shinano-gold	12	95 ± 46	420 ± 89	38 ± 8.9	1,000 ± 180	1,300 ± 200	2,400 ± 300	89 ± 20	160 ± 100	3.9 ± 0.34	17 ± 1.2	4.0 ± 0.10
Ourin	6	770 ± 400	420 ± 37	44 ± 7.3	2,200 ± 120	1,800 ± 220	4,000 ± 170	27 ± 13	290 ± 170	5.1 ± 0.48	17 ± 1.2	4.5 ± 0.00
Fuji	17	400 ± 390	400 ± 80	76 ± 38	1,300 ± 160	1,600 ± 270	3,000 ± 340	260 ± 110	160 ± 240	3.8 ± 0.55	17 ± 2.0	4.0 ± 0.19
Indo	12	78 ± 33	330 ± 55	17 ± 3.1	3,500 ± 890	2,100 ± 390	5,600 ± 1,200	82 ± 39	130 ± 87	3.6 ± 0.18	18 ± 1.4	4.6 ± 0.07

Average ± Standard Deviation * : Water-soluble pectin + Hydrochloric acid soluble pectin

between the amount of accumulated patulin in apples and the total chlorogenic acid content had a coefficient of $r = 0.48$, indicating a significant correlation ($p < 0.01$; Fig. 3). These results, which suggested a negative correlation between polyphenols and/or chlorogenic acid contents and patulin accumulation, were consistent with those of previous studies^{9),10)}.

(2) **Pectins** Amounts of pectins in the different cultivars are shown in Table 3. Pectin contents are thought to affect the hardness of fruit, and overripe fruit have been shown to contain soluble pectin, correlating with decreased hardness²²⁾. However, no significant relationships between pectins, water soluble, hydrochloric acid soluble, and total pectin, content, and patulin accumulation were observed in this study. Among cultivars, Indo apples contained significantly higher amounts of pectin than the other cultivars studied ($p < 0.01$).

(3) **Aspartic acid and asparagine** Amounts of aspartic acid and asparagine in the different cultivars are shown in Table 3. Coefficients of correlation between amounts of patulin accumulated and aspartic acid and asparagine contents in apples

were $r = 0.43$ and $r = 0.87$, respectively, and positive correlations were observed (Fig. 4). In summary, Iwai, Senshu, and Fuji apples had significantly higher ($p < 0.01$) aspartic acid content than other cultivars, while Orin apples had significantly lower ($p < 0.05$) aspartic acid content than other cultivars, with the exception of Akibae apples. Iwai apples had significantly higher ($p < 0.01$) asparagine content than other cultivars, while Kogyoku apples had significantly lower ($p < 0.05$) asparagine content than other cultivars, with the exception of Shinano Sweet apples. However, because of difference in the contents of these amino acids in various portions of apples, it is very difficult to describe the relationship between patulin accumulation and contents of these two amino acids.

(4) **Hardness, sugar content, and pH** The hardness, sugar content, and pH of each cultivar are shown in Table 3. Coefficients of correlation between the amount of patulin accumulated and hardness, sugar content, and pH were $r = -0.38$, $r = -0.51$, and $r = -0.15$, respectively. A significant inverse correlation ($p < 0.01$) between the amount of accumulated patulin and hardness (Fig. 5) or sugar

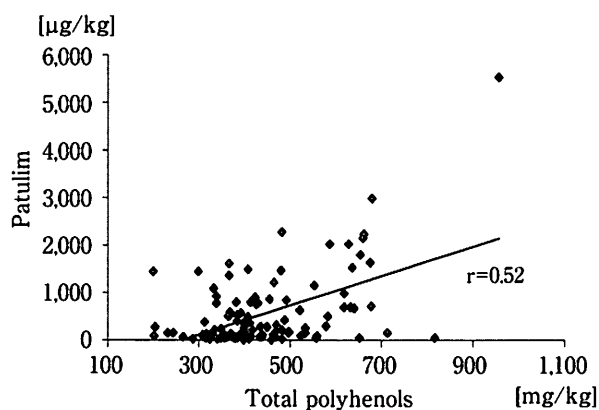


Fig. 2 Relationship between total polyphenol and patulin contents in apples

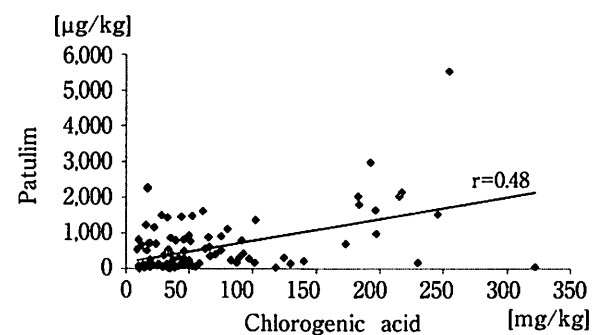


Fig. 3 Relationship between chlorogenic acid and patulin contents in apples

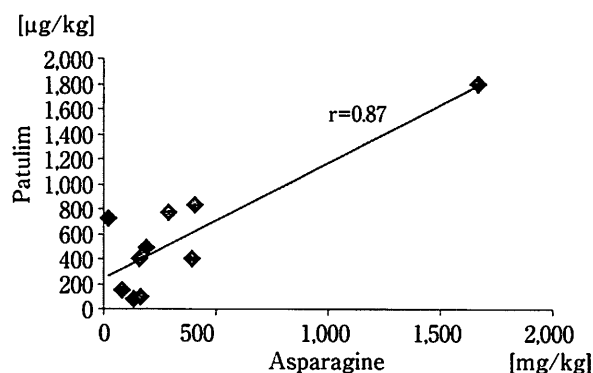


Fig. 4 Relationship between asparagine and patulin content in apples

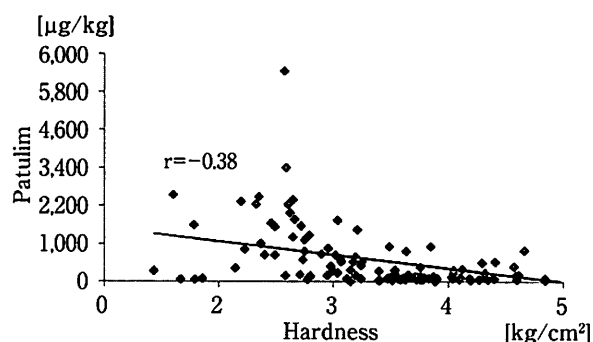


Fig. 5 Relationship between hardness and patulin contents in apples

content was noted. Among cultivars, Iwai, Tsugaru, and Kogyoku were significantly softer ($p < 0.01$) than other cultivars, with the exception of Senshu and Shinano Sweet cultivars. In contrast, Akibae, Shinano Gold, Orin, Fuji, and Indo apples were significantly harder ($p < 0.01$) than other cultivars.

Iwai and Tsugaru apples exhibited significantly lower sugar contents ($p < 0.01$) than other cultivars, while Akibae, Senshu, Kogyoku, and Shinano Sweet apples were sweeter than the two aforementioned cultivars, followed by Shinano Gold, Orin, Fuji, and Indo apples. Among early-maturing cultivars to late-maturing cultivars, cultivars with a late harvest season tended to be sweeter.

Iwai, Akibae, and Kogyoku apples had significantly lower ($p < 0.05$) pH than other cultivars. In contrast, Tsugaru, Shinano Sweet, Orin, and Indo apples had significantly higher ($p < 0.05$) pH than other cultivars.

Conclusion

In summary, in this study, we analyzed the patulin contents and characteristics of different apple varieties in order to assess the effects of patulin on apple qualities. We found that the early-maturing varieties Iwai and Tsugaru had the highest amounts of accumulated patulin. Iwai apples also had high total polyphenol and chlorogenic acid contents. Moreover, we found inverse relationships between the amount of accumulated patulin and sugar content and hardness. Therefore, because sugar content and hardness are easily measurable, these two parameters can be used as indices to select apple cultivars with less patulin contamination. Additionally, our current results also provide insights into the processing suitability of existing cultivars.

References

- 1) FLANK, H. K.: Occurrence of patulin in fruit and vegetables, *Ann. Nutr. Alim.*, **31**, 459~465 (1977)
- 2) CIEGELER, A.: Fungi that produce mycotoxins: conditions and occurrence, *Mycopathologia*, **65**, 5~11 (1978)
- 3) COLLIN, S., BODART, E., BADOT, C., BOUSETA, A. and NIZET, S.: Identification of the main degradation products of patulin generated through heat detoxication treatments, *J. Inst. Brew. Distil.*, **114**, 167~171 (2008)
- 4) SPEIJERS, G. J., FRANKEN, M. A. and VAN LEEUWEN, F. X.: Sub acute toxicity study of patulin in the rat: effects on the kidney and the gastro-intestinal tract, *Fd. Chem. Toxicol.*, **26**, 23~30 (1988)
- 5) SCHUMACHER, D. M., METZLER, M. and LEHMANN, L.: Mutagenicity of the mycotoxin patulin in cultured Chinese hamster V79 cells and its modulation by intracellular glutathione, *Arch. Toxicol.*, **79**, 110~121 (2005)
- 6) LIU, B. H., YU, F. Y., WU, T. S., LI, S. Y., SU, M. C., WANG, M. C. and SHIH, S. M.: Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **191**, 255~263 (2003)
- 7) Draft maximum level for patulin in apple juice and apple juice ingredients in other beverages, Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants (2002) (ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCFAC/CCFAC34/fa02_19e.pdf) [Last accessed: May 9, 2014]
- 8) Ministry of Health, Labor, and Welfare: Partial Amendment of Ministerial Ordinances on Milk and Dairy Products and Partial Revision of Specified Standards for Foods, Additives, etc., Patulin (2003) (<http://www.nihs.go.jp/dmb/paturin.html>) [Last accessed: May 9, 2014]
- 9) WATANABE, M. and AYUGASE, J.: Effects of mycotoxin and patulin production by *Penicillium expansum* on major apple cultivars in Japan, *J. Jpn. Soc. Food Sci. Tech.*, **56**, 215~222 (2009) (in Japanese)
- 10) HAMAIZU, Y., UEDA, Y. and BANNO, K.: Relationship between the antioxidant capacity and polyphenol components of Tsugaru apples, *J. Jpn Soc. Hort. Sci.*, **68**, 675~682 (1999) (in Japanese)
- 11) HAMAIZU, Y. and IJIMA, E.: Polyphenol composition and antioxidant activity of apple flesh extracts, *J. Jpn Soc. Food Sci. Tech.*, **46**, 645~651 (1999) (in Japanese)
- 12) BANDO, S., TAKEUCHI, M., OHSAWA, K., HOGASHIHARA, K., KAWAMOTO, Y. and GOTO, T.: Patuline distribution in decayed apple and its reduction, *Intern. Biodetero. Biodegrad.*, **63**, 379~382 (2009)
- 13) AOAC International, 2005, AOAC Official Method 995.10, Patulin in apple juice. In: HORWITZ, W. (ed.) Official Method of Analysis of AOAC International, 18 th ed., AOAC International,

Gathersburg, MD, USA

- 14) COSTENG, M. Y. and LEE, C. Y.: Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning, *J. Food Sci.*, **52**, 985~989 (1987)
- 15) IWASA, K. and TORII, H.: A colorimetric determination of tea tannin with ferrous tartrate, *Tea Res. J.*, **19**, 104~108 (1962) (in Japanese)
- 16) HAMAUZU, Y. and IJIMA, E.: Polyphenol composition and antioxidant activity of apple flesh extracts, *J. Jpn Soc. Food Sci. Tech.*, **46**, 645~651 (1999) (in Japanese)
- 17) The Japanese Society for Food Science and Technology „New Food Analysis Method Editorial Board., eds.: New Food Analysis Method, Kohrin, Pectin, pp.575~584 (1996) (in Japanese)
- 18) SCOTT, R. W.: Colorimetric determination of hexuronic acid in plant materials, *Anal. Chem.*, **51**, 936~941 (1979)
- 19) MAEKAWA, A., SUGAWA, T., eds.: Handbook of Food Analysis (New), Kenpakusha, 2.2.4.3.a. Preparation of sample solutions to quantify free amino acids, pp.41~42 (2000)
- 20) GOTO, T., HORIE, H. and MUKAI, T.: Analysis of major amino acids via high-performance liquid chromatography coupled with OPA pre-column derivatization, *Tea Res. J.*, **77**, 29~33 (1993) (in Japanese)
- 21) THOMPSON, M., ELLISON, S. L. R. and WOOD, R.: The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **78**, 145~196 (2006)
- 22) ITO, S. ed.: The Function and Science of Fruit,

Asakura Publishing, 3.2.5 Pectin, pp.55~57 (2011)
(in Japanese)

*Penicillium expansum*の接種による パツリンの蓄積とりんご果実成分との関係

竹内正彦*1・白澤隆史*2・滝沢 潤*1・後藤哲久*2

* 1 一般社団法人長野県農村工業研究所
(〒382-0084 長野県須坂市大字須坂787-1)

* 2 信州大学農学部
(〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村8304)

*Penicillium expansum*はりんごに感染する植物病原菌の一種で、パツリンを産生し、りんご加工製品のパツリン汚染の原因となっている。本研究ではりんごのパツリン汚染の低減化を目的に、長野県産の10種のりんごに *P. expansum*を接種し、品種別のりんごの果実成分とパツリン蓄積量との関係を解析した。

その結果、早生種の祝、つがるでパツリン蓄積量が高く、秋映、シナノゴールドおよび印度では低いことが認められた。りんご果実の成分とパツリン蓄積量との関係では、総ポリフェノール量、クロロゲン酸およびアスパラギンとの間には有意な相関が確認された。一方、硬度および糖度とパツリン蓄積量の間には逆に有意な負の相関が確認され、パツリンは硬度および糖度の高い品種で蓄積しにくいことが示唆された。

以上より、りんごへのパツリン蓄積量を予測するには、生食用の適熟期収穫したりんごの総ポリフェノール、クロロゲン酸、糖度および硬度を測定する事が有効であることが示唆された。これらは今後のパツリン汚染の少ない品種の開発、既存品種のパツリン汚染、加工適性を考えるうえで重要な知見である。

(平成26年10月16日受付, 平成26年12月10日受理)

関東地方の伝統野菜「のらぼう菜」 (*Brassica napus* L.) の品質について

柘植 一希*・樋口 洋子*・北條 怜子*・元木 悟*[§]

* 明治大学農学部農学科

Quality Assessment of “Norabouna” (*Brassica napus* L.) Grown in Different Months in Different Regions of Kanto

TSUGE Kazuki*, HIGUCHI Yoko*, HOJYO Reiko* and MOTOKI Satoru*[§]

* Faculty of Agriculture, Meiji University 1-1-1 Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa 214-8571

“Norabouna” is a leafy vegetable belonging to the Brassicaceae family and is a traditional cultivar in the western part of the Kanto region. However, the morphology of “Norabouna” in various local markets is not the same because local producers have their own seeds for production and they use different cultivation practices. Therefore, we evaluated the quality of “Norabouna” produced in different regions of Kanto by analyzing the morphology, composition, and toughness of flower stalks grown in different months (March, April, and May) by various producers. The analysis showed that the morphology of flower stalks differed according to the month of cultivation, thereby altering the condition of the packaged produce. This was one of the reasons for variation in the vegetable morphology between areas and producers, because they grew the plants in different months. In addition, the chemical composition and toughness of flower stalks varied between the growing months, areas of production, and the cultivation practice used by the producer. Moreover, compared with other leafy vegetables, “Norabouna” flower stalks had high ascorbic acid and sugar concentrations, giving them a pleasant taste. Therefore, “Norabouna” can potentially become a more widely produced leafy vegetable crop, but to achieve this, further studies are required to standardize the cultivation methods and stabilize the variations in the genetic stock.

(Received Jul. 9, 2014 ; Accepted Dec. 15, 2014)

Key words : Traditional cultivar, Analysis in different growing months, Morphology of flower stalk, Sugar concentration, Ascorbic acid, Nitric acid, Toughness of flower stalk
地域伝統野菜, 時期別分析, 花茎の形態, 糖度, アスコルビン酸, 硝酸, 花茎の硬さ

アブラナ科の植物はヨーロッパの地中海沿岸部を起源とし¹⁾, 葉菜類の野菜として数多くの品目が生産されている。狭義の意味で、アブラナ科アブラナ属の葉菜を「菜っ葉」と呼ぶが、奈良時代以前に中国から渡来した「菜っ葉」は食用だけでなく、油の搾取などの工芸作物として栽培されるなど、様々な用途に利用された²⁾。江戸時代に入ると、京都ではすでに「ミズナ」が名産品としてあげられ、明治時代には「ハクサイ」や「タアサイ」が中国から導入された²⁾。こうして日本全国に多種多様な「菜っ葉」が広がり、現在では「野沢菜」, 「大阪白菜」, 「広島菜」など、各地域における食文化の一つとして各地に「菜っ葉」が存在する²⁾。その中で、「のらぼう

菜」は、埼玉県比企郡から東京都あきる野市、神奈川県川崎市にかけての山間地帯を中心に栽培されている地域伝統野菜であり、抽苔した花茎を可食部とするタイプの「菜っ葉」である(図1)。近年になって、「のらぼう菜」はアブラナ科アブラナ属セイヨウアブラナ(*Brassica napus* L.)の一種であることが報告された³⁾。セイヨウアブラナに属する種は、北関東から東北部で「トウナ」(苔菜)として栽培されており、「カブレナ」や「シンミツナ」および「宮内ナ」が主な品種としてあげられる⁴⁾。また、「のらぼう菜」に関して、埼玉県比企郡では、栽培を奨励する古文書が見つかり⁵⁾、東京都あきる野市五日市地区の子安神社には、天明および天保の飢饉の際、

* 〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田1-1-1

§ Corresponding author, E-mail: motoki@meiji.ac.jp

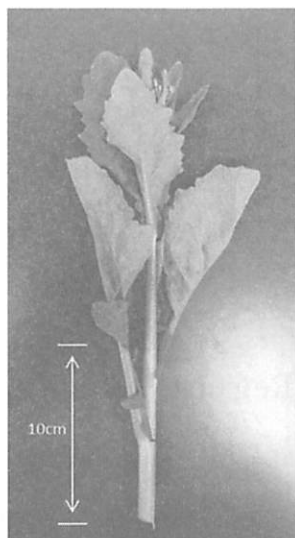


図1 「のらぼう菜」の花茎

救荒作物として人命を救ったことを伝える碑が存在する^{6),7)}など、多くの歴史的背景をもち、古くから関東地方で広く栽培されていたことが伺える。

「のらぼう菜」は、一般的なナバナのように花弁などの苦味やくせがなく、ほのかに甘味があることが特徴であり⁷⁾、食味が優れている。しかし、就農者の減少と高齢化に伴い、「のらぼう菜」を生産する農家も次第に減少した。そのため近年では、古くから「のらぼう菜」を栽培してきた生産者やJAなどの団体を中心に、「のらぼう菜」を特産野菜として推奨し、生産規模を拡大する取り組みがなされている。「のらぼう菜」の収穫は2月下旬から開始され、4月に最盛期を迎え、5月に終了する⁷⁾。埼玉県比企郡における「のらぼう菜」の生産量は年間に90t程度であり、現在も増加し続けている⁸⁾。しかし、「のらぼう菜」は未だ小規模生産のため、栽培地域の多くは自家採種により系統が維持されている。そのため、地域および生産者により、使用する品種・系統や栽培方法が異なることから、地域によっては販売物の形態や品質にばらつきがみられている。このうち、埼玉県比企郡では、JAおよび行政機関を中心に「比企のらぼう菜」の産地化が進められ、2009年には「JA埼玉中央のらぼう菜部会」が発足した。川越比企地域における出荷物の品質安定のため、優良系統の選抜・維持の重要性から、採種担当農家を選定するとともに、地域内の自家採種を禁止した。さらに、栽培技術の統一を図るため栽培暦を作成し、栽培技術指導を徹底している⁹⁾。また、神奈川県川崎市では、JAの直売所は市内1か所のみであり、直売所が位置する麻生区黒川（市街化調整区域および農業振興地域に指定）は、黒川地域で採種された系統が栽培され、JAや川崎市による栽培技術指導が行われている。そのため、埼玉県比企郡および神奈川県川崎市は、生産者間における品質はある程度揃っているものと考えられる。一方、「のらぼう菜」の発祥地の一つとさ

れる東京都あきる野市⁹⁾では、地域独自の品種・系統や栽培指導要領が存在するものの、自家採種を長年続けてきた生産者が多く、直売所も数か所あるため、出荷される品種・系統が揃っていない可能性がある。また、「のらぼう菜」は茎が硬くなり筋っぽくなることがあるため、食味が優れていても、食感の悪化から品質の低下へと影響し、出荷を停止するうえでの判断基準になると言われている。

そこで本研究では、「のらぼう菜」を特産野菜として扱う地域（埼玉県比企郡、東京都あきる野市および神奈川県川崎市）の直売所を中心に、出荷された「のらぼう菜」における販売物の形態、花茎の形態および成分分析を、出荷時期である3～5月において毎月調査することにより、「のらぼう菜」の販売物の形態や茎の硬さを含めた品質を時期別、地域別および生産者別に比較し、「のらぼう菜」の地域間差（均一性）を調べた。

実験方法

1. 試験材料

埼玉県比企郡、東京都あきる野市および神奈川県川崎市の各地域における直売所から、2014年3月（生産現場における「のらぼう菜」の一般的な収穫始期）、4月（最盛期）および5月（終期）の計3回、晴天日が数日続いた際に試験材料を購入（収集）した（図2）。そのうち、東京都あきる野市では、時期別の比較を行う際に、複数の生産者の出荷物を購入した。

各地域の直売所を巡回し、当日の早朝に収穫された出荷物を、生産者ごとに5～8袋分購入した。購入したものをクーラーボックス（保冷剤により10℃前後に保持）に入れて研究室に運搬し、冷蔵庫内（5℃）で貯蔵し、翌日の午前中に分析した。分析調査は各地域とも2014年3月9日、4月13日および5月2～6日の計3回行った。ただし、葉色の調査は4～5月に行った。

2. 形態の測定

花茎を購入した袋から取り出し、すべての個体の中から上下値の個体を同様な数だけ抜きとり、調査数を20個体に揃え、それらを調査対象とした。葉数は、花蕾部から数えた1節目より下の葉を葉数とした。茎径は切断面から数えた最初の節の部位を茎径とした。葉色（SPAD）は各花茎における最大葉を葉緑色素計SPAD-



図2 「のらぼう菜」の販売物（埼玉県比企郡）

502 (コニカミノルタ センシング社製) によって測定した。

3. 内容成分の測定

花茎を購入した袋から取り出し、すべての個体の中から上下値の個体を同様な数だけ抜きとり、調査数を10個体に揃え、それらを分析対象とした。糖度は、花茎において茎部の糖含量が高いことから¹⁰⁾、茎部から搾汁液を採取し、デジタル糖度計 (PR-201α, アタゴ社製) によって時期別に測定した。アスコルビン酸は山田らの方法¹¹⁾に従って、葉部および茎部に分けて分析をした。手順は、最初に葉および茎部の各部位から5gを測りとった後、10%に希釈したメタリン酸を25ml加え、ミキサー (BM-HS08型, 象印マホービン社製) にて40秒間破碎し、ろ過したものを検体とした。最後に、RQフレックス (メルク社製) を使用して、新鮮重100g当たりのアスコルビン酸含量 ($\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) を測定した。硝酸濃度 (NO_3^-) は、菊池らの方法¹²⁾に従って花茎全体を分析した。最初に花茎50gを測りとった後、350mlの蒸留水を加えて、ミキサーで1分間破碎し、ろ過したものを検体とした。最後に、RQフレックスを使用して、新鮮重100g当たりの硝酸濃度 ($\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) を測定した。

4. 破断応力の測定

花茎を購入した袋から取り出し、すべての個体の中から上下値の個体を同様な数だけ抜きとり、調査数を6個体に揃えて測定した。花茎の破断応力 (N) は元木ら¹³⁾の方法に従って、花蕾部から数えて1節目を0cmとし、2cmごとに基部 (切断面) まで測定した。カッターナイフ替刃 (小型刃, オルファ社製, 刃厚: 0.38mm, 刃

幅: 9mm) を使用し、切断時の最大応力として測定した。破断応力の測定には、小型卓上試験機 (EZ-SX型, 島津製作所社製) を用いた。プランジャーの送り速度は $40 \text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$ とした。

実験結果

1. 時期別の販売物の形態調査

出荷物における重量および販売価格の地域、生産者および時期別比較を表1に示した。販売物の形態において、1袋当たりの重さの範囲は264~449g程度であり、購入する時期、地域および生産者によって異なった。1袋当たりに含まれる花茎の本数は、5月に移行するに従って増加する傾向にあり、地域間差異が確認された。しかし、東京都あきる野市の直売所では、生産者No.9, 10のように、同じ時期においても、生産者によって本数が大きく異なった。販売価格は100~200円程度の範囲にあり、3月が高値で、4~5月に値段が下がる傾向にあった。

2. 時期別および地域別の花茎の形態の変化

花茎の形態における地域、生産者および時期別比較を表2に示した。花茎重は、いずれの地域も収穫時期が遅くなるに従って減少する傾向にあり、地域間差異が確認された。

花茎長は、神奈川県川崎市の3回の調査を通じて20cm以上であったが、埼玉県比企郡および東京都あきる野市の3月はいずれも15cm未満であり、花茎が短い傾向であった。4月以降の販売物について、ほとんどの生産者の花茎長は20cm以上であったが、東京都あきる野市の生産

表1 出荷物における重量および販売価格の地域、生産者および時期別比較

生産地	生産者No. ¹⁾	調査日	重さ/袋 (g)	花基本数/袋 (本)	値段/袋 (円)
埼玉県比企郡	1	3月9日	314 ± 10 ^b	5.0 ± 0.3 ^c	170
	2	4月13日	366 ± 2 ^a	21.4 ± 0.5 ^b	130
	3	5月2日	317 ± 2 ^b	54.2 ± 2.7 ^a	100
東京都あきる野市	5	3月9日	264 ± 5 ^d	10.0 ± 0.6 ^{de}	200
	6	3月9日	317 ± 3 ^{cd}	5.5 ± 0.3 ^e	200
	7	4月13日	343 ± 14 ^{bc}	13.4 ± 1.3 ^{cd}	120
	8	4月13日	414 ± 4 ^a	16.8 ± 1.1 ^c	120
	9	5月6日	330 ± 8 ^c	55.8 ± 3.0 ^a	130
	10	5月6日	399 ± 30 ^{ab}	28.2 ± 1.2 ^b	130
神奈川県川崎市	12	4月13日	449 ± 6	32.8 ± 0.4	130
	13	5月4日	398 ± 9 ^{***}	77.0 ± 2.5 ^{**}	140
分散分析 ²⁾ (地域間差異)		3月9日	NS	**	
		4月13日	**	**	
		5月2~6日	*	**	

¹⁾生産者No.4および11は、直売所出荷前の収穫物を生産者から直接いただいたため、データなし。

²⁾平均値 ± 標準誤差。(n = 5 ~ 8)

³⁾生産地ごとに統計処理を行った。Tukeyの多重検定により、異符号間に5%以下の水準で有意差あり。

⁴⁾Student's t-testにより1%水準で有意差あり (**).(n = 5)

⁵⁾時期別に統計処理を行った。一元配置分散分析により、1% (**) または5% (*) 水準で有意差あり、またはなし (NS)。

表2 花茎の形態における地域、生産者および時期別比較

生産地	生産者No.	調査日	花茎重 (g)	花茎長 (cm)	葉数 (枚)	花茎径 (mm)	葉色 (SPAD)
埼玉県比企郡	1	3月9日	57.0±1.4 ^a	12.2±0.3 ^b	5.9±0.2 ^a	12.8±0.3 ^a	-
	2	4月13日	17.0±0.4 ^b	26.1±0.5 ^a	3.9±0.1 ^b	8.2±0.1 ^b	49.8±1.7
	3	5月2日	6.7±0.3 ^c	25.7±0.2 ^a	2.1±0.1 ^c	5.4±0.1 ^c	46.2±1.2 ^{NS*}
東京都あきる野市	4	3月9日	46.1±4.2 ^b	10.1±0.3 ^{de}	6.3±0.4 ^a	12.6±0.4 ^b	-
	5	3月9日	27.4±1.3 ^c	8.7±0.3 ^e	4.8±0.1 ^b	11.0±0.3 ^c	-
	6	3月9日	57.4±3.9 ^a	12.0±0.6 ^{de}	5.5±0.1 ^b	17.5±0.6 ^a	-
	7	4月13日	21.8±1.1 ^{cd}	23.0±0.7 ^b	3.7±0.2 ^c	8.8±0.2 ^d	48.6±0.9 ^a
	8	4月13日	24.4±1.0 ^{cd}	26.0±0.9 ^a	5.3±0.2 ^b	8.1±0.2 ^d	45.8±1.4 ^a
	9	5月6日	6.5±0.4 ^e	22.8±0.2 ^b	3.4±0.2 ^c	5.5±0.1 ^e	48.4±0.9 ^a
	10	5月6日	14.7±0.7 ^d	17.4±0.4 ^c	4.0±0.1 ^c	5.7±0.1 ^e	44.5±1.2 ^a
神奈川県川崎市	11	3月9日	14.8±0.5 ^a	20.0±0.1 ^c	4.4±0.2 ^a	8.6±0.1 ^a	-
	12	4月13日	13.7±0.1 ^a	26.9±0.2 ^a	4.2±0.1 ^a	7.8±0.2 ^b	47.9±1.4
	13	5月4日	5.9±0.2 ^b	24.3±0.1 ^b	3.3±0.2 ^b	5.5±0.1 ^c	45.9±1.2 ^{NS}
分散分析 ^w (地域間差異)		3月9日	**	**	**	**	-
		4月13日	**	*	NS	*	NS
		5月2~6日	**	**	**	NS	NS

^a平均値±標準誤差。(n=10~20)

^b生産地ごとに統計処理を行った。Tukeyの多重検定により、異符号間に5%以下の水準で有意差あり。

^cStudent's t-testにより有意差なし(NS)。(n=10)

^w時期別に統計処理を行った。一元配置分散分析により、1%(**)または5%(*)水準で有意差あり、またはなし(NS)。

者No.10における5月の花茎は17.4cmであった。

花茎の葉数は、生産地ごとに比較すれば収穫時期が遅くなるに従って、減少する傾向にあった。

花茎径は、収穫時期が遅くなるに従って減少し、3~4月は地域間差異が確認された。特に、埼玉県比企郡および東京都あきる野市において、3月の花茎径は11mm以上であるのに対して、5月は5~6mm程度であり、半分程度に減少した。東京都あきる野市の3月調査(生産者No.4~6)では、生産者によって大きく異なり、No.6の生産者は17.5mmで、すべての生産者の中で最も太かった。

葉色(SPAD)は、収穫時期にかかわらず、いずれの地域においても差がみられなかった。

3. 花茎の成分分析

花茎における糖度、アスコルビン酸および硝酸濃度の地域別比較を表3に示した。糖度は、いずれの地域も、3月において9.0°以上であり、収穫時期が遅くなるに従って減少する傾向であり、3月および5月は地域間差異が確認された。

葉および茎のアスコルビン酸は、いずれの地域も、3月が最も低く、4~5月が高かった。特に、東京都あきる野市の生産者No.8の4月および生産者No.9の5月における葉中には200mg・100g⁻¹以上が含まれていた。また、アスコルビン酸は茎よりも葉に多く含まれる傾向であった(P<0.01)。

硝酸濃度は、ばらつきが大きく、特に東京都あきる野市の5月では、生産者No.9の26mg・100g⁻¹に対して、

生産者No.10では122mg・100g⁻¹と、生産者の間に大きな差が認められた。

4. 花茎の部位別における破断応力の測定

花茎の部位別における破断応力とその最大値および水分率の地域、生産者および時期別比較を表4に示した。部位別の破断応力では、全体的に基部に近づくほど硬くなる傾向であった。また、生産者ごとの花茎の部位別における破断応力の最小値と最大値の差が3月は1.7~3.9Nと大きかったが、4月は0.7~1.6N、5月は0.4~1.3Nと、差が小さくなった。

本試験では、部位別の測定により示された破断応力の最大値を、地域、生産者および時期別に、花茎の硬さを比較するうえでの破断応力とした。最大値は全体的に、収穫時期が遅くなるに従って減少する傾向にあり、3月および5月は地域間差異が確認された。特に、埼玉県比企郡および東京都あきる野市の3月においては、生産者No.5を除いて、最大値が6N前後の値を示し、4月との間には2~5N程度の差がみられた。

水分率は、87.7~90.5%の範囲であり、東京都あきる野市においては収穫時期による差が確認されたが、他の地域ではその差が確認されなかった。

考 察

販売物の形態は、地域、生産者および時期別によって違いがみられた。同時期に複数の生産者から購入をした東京都あきる野市において、生産者ごとに比較をしたところ、同じ値段の出荷物にもかかわらず、3月出荷の生

表3 花茎における糖度、アスコルビン酸および硝酸濃度の地域、生産者および時期別比較

生産地	生産者No.	調査日	糖度 ^z (°Brix)	アスコルビン酸 (mg・100g ⁻¹)		硝酸 (NO ³⁻) (mg・100g ⁻¹)
				葉	茎	
埼玉県比企郡	1	3月9日	9.7±0.0 ^{a*}	104±3b	66±2b	8±0c
	2	4月13日	7.1±0.1b	173±15a	99±5a	86±11a
	3	5月2日	5.7±0.1c	143±6a	100±1a	36±2b
東京都あきる野市	4	3月9日	9.1±0.1b	127±2bc	71±1c	36±1c
	5	3月9日	9.6±0.1a	122±2c	74±0c	72±2b
	6	3月9日	9.0±0.1a	130±1bc	64±1c	52±1bc
	7	4月13日	7.1±0.2d	156±9bc	103±13b	—
	8	4月13日	7.7±0.1c	209±2a	110±3ab	27±10c
	9	5月6日	5.8±0.1e	203±14a	120±5ab	26±4c
	10	5月6日	5.2±0.1f	199±8a	126±4a	122±6a
神奈川県川崎市	11	3月9日	9.2±0.2a	127±1b	96±1b	—
	12	4月13日	7.4±0.1b	162±4a	99±3b	34±3
	13	5月4日	7.1±0.2b	182±10a	131±2a	23±2 ^{**}
分散分析 ^v (地域間差異)		3月9日	*	**	**	**
		4月13日	NS	NS	NS	**
		5月2～6日	**	**	**	**

*基部を測定。

^v平均値±標準誤差。(n=5)

*生産地ごとに統計処理を行った。Tukeyの多重検定により、異符号間に5%以下の水準で有意差あり。

^wStudent's t-testにより5%水準で有意差あり(*)。^x時期別に統計処理を行った。一元配置分散分析により、1%(**)または5%(*)水準で有意差あり、またはなし(NS)。

表4 花茎の部位別における破断応力とその最大値および水分率の地域、生産者および時期別比較

生産地	生産者No.	調査日	花蕾部の1節目(0cm)から基部までの破断応力(N) ^z											水分率 ^x (%)
			0cm	2cm	4cm	6cm	8cm	10cm	12cm	14cm	16cm	18cm	最大値 ^y	
埼玉県比企郡	1	3月9日	2.5	3.5	4.5	5.7	5.8	5.9	—	—	—	—	5.9±0.4 ^{a*}	87.7a
	2	4月13日	1.6	1.6	1.8	1.8	2.1	2.1	2.4	2.4	2.5	2.3	2.5±0.2b	87.7a
	3	5月2日	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.8	0.8	0.9	0.9	1.1	1.1±0.1c	89.9a
東京都あきる野市	4	3月9日	1.9	2.9	4.0	5.2	5.8	—	—	—	—	—	5.8±0.7a	88.2b
	5	3月9日	1.5	2.2	3.5	3.2	—	—	—	—	—	—	3.8±0.2b	88.8b
	6	3月9日	2.6	3.5	5.1	6.0	5.8	—	—	—	—	—	6.0±0.3a	88.0b
	7	4月13日	1.4	1.6	1.9	2.0	2.5	2.2	2.3	2.6	2.8	—	2.8±0.2b	90.5a
	8	4月13日	1.6	1.6	2.0	2.1	2.4	2.5	3.0	3.2	3.2	—	3.2±0.4b	87.8b
	9	5月6日	0.9	1.1	1.0	1.3	1.4	1.5	1.7	1.7	1.9	—	1.9±0.2b	89.5a
	10	5月6日	0.7	1.1	1.3	1.6	1.7	1.9	1.9	—	—	—	1.9±0.1b	89.8a
神奈川県川崎市	11	3月11日	1.5	1.7	1.7	1.9	2.5	2.6	3.0	3.3	—	—	3.3±0.2a	89.6a
	12	4月13日	1.7	1.6	1.6	2.0	2.0	2.4	2.4	2.5	2.5	2.7	2.7±0.1ab	87.8a
	13	5月4日	0.9	1.1	1.1	1.2	1.2	1.3	1.4	1.6	2.0	2.2	2.2±0.4b	88.9a
分散分析 ^w (地域間差異)		3月9, 11日											**	NS
		4月13日											NS	NS
		5月2～6日											**	**

^z販売物の形態に合わせて基部(切断面)まで測定した。—は花茎が短く、測定できなかったことを示す。^y0～18cmにおける最大値。花蕾部から数えて1節目を0cmとした。(n=6)^x100-(乾物重/新鮮重×100)で算出。(n=3)^w平均値±標準誤差。

*生産地ごとに統計処理を行った。Tukeyの多重検定により、異符号間に5%以下の水準で有意差あり。

^x時期別に統計処理を行った。一元配置分散分析により、1%(**)水準で有意差あり、またはなし(NS)。

産者No.5, 6では53g(花基本数で4~5本)差, 4月の出荷の生産者No.7, 8では71g(花基本数で3~4本)差, 5月出荷の生産者No.9, 10では69g(花基本数で27.6本)差と大きな差があった。また, いずれの地域においても, 収穫時期が遅くなるに従って1袋当たりの花基本数が著しく増加した。これは, 花茎の重さが減少したことが要因であり, 花基本数と花茎重の間には負の相関関係($r = -0.772^{**}$)が認められた。埼玉県比企郡では, 3月の1袋当たりの花基本数が5.0本であり, 5月は54.2本と10倍以上に増加した。これに対し, 形態調査における花茎重は, 3月は57.0g, 5月は6.7gと著しく減少した。

花茎の形態調査において, 花茎重は全地域で, 収穫時期が遅くなるに従って減少したが, それに伴い花茎径も減少した。花茎重と花茎径の間には高い正の相関関係($r = 0.937^{**}$)が認められ, 太い花茎の生産が重量の高い花茎の生産につながる可能性が示唆された。

また, 葉数も収穫時期が遅くなるに従って減少した。遠観調査では, 他のアブラナ科野菜の事例¹⁾と同様, 「のらぼう菜」においても収穫時期が遅くなるに従って花茎が抽苔し, 節間の伸長が促進され, 葉が形成されなくなるため, 調製した際の花茎における葉数が減少したものと考えられる。そのため, 今後は葉数の減少を株の生育段階の指標としてとらえることができる可能性がある。

花茎長について, 埼玉県比企郡の生産者No.1(3月収穫)と東京都あきる野市の生産者No.4~6(3月収穫)および10(5月収穫)では, いずれも20cm以下であったが, その他の生産者では, 平均25cm前後で調製されていた。十分に伸長していない花茎の形態は, 葉柄が長く, 葉柄の長い葉が茎頂部を覆う状態であったが, 商品自体の大きさは十分に伸長した花茎と変わらなかった。また, 収穫時期が遅くなるに従って花茎長は長くなる傾向がみられたが, その中で東京都あきる野市の生産者No.10は, 5月の収穫にもかかわらず, 葉柄の長い葉が茎頂部を覆い, 花茎が十分に伸長していなかったため, 生育の遅れた状態(花茎長:17.4cm)であった。さらに, 生産者No.10の硝酸濃度は同時期かつ同地域で栽培されたものに比べて顕著に高かった。既報¹⁾でも品種や系統によって早晚性に差が認められていることから, 収穫終期の収穫物における花茎の形態と内容成分については, さらなる調査が必要である。

成分分析について, 糖度は, いずれの地域においても, 収穫時期が遅くなるに従って減少する傾向にあり, 3月は9.1~9.9°と高い数値を示した。春の時期のキャベツが6.7~7.1°程度¹⁵⁾, アスパラガスが7.5~9.5°程度¹⁶⁾という報告があることから, この時期の茎葉菜類としては, 高糖度の品目と考えられる。また, 糖度は収穫期間中に有意に減少したことから, 生育中の温度による花茎の伸長への影響が考えられる。浅尾ら¹⁷⁾は, 奈良県の地域伝統野菜で, アブラナ科に属するF₁品種の「大和マ

ナ」において, 12月および2月の収穫物が, 6月および8月の収穫物よりも糖含量が高く, 生育中の平均気温を10℃以下にすることが, 「大和マナ」の糖度を高めるのに効果的であったと報告している。いずれの地域においても, 収穫時期が遅くなるに従って糖度は減少したものの, 神奈川県川崎市では, 5月の減少が他の地域と比べて少なかったことから, 高糖度を維持できる可能性がある。そのため, 「のらぼう菜」を高糖度の茎葉菜類としてアピールするためには, 高糖度系統の選抜や, その栽培技術の確立が今後望まれる。一方, アスコルビン酸は, いずれの地域においても, 葉では, 3月が最も低く, 4月および5月に高くなる傾向を示した。特に, 東京都あきる野市の生産者No.8および9の葉中において, 200mg・100g⁻¹を超える値を示した。埼玉県農林総合研究所でも200mg・100g⁻¹以上の報告があり¹⁸⁾, 食品成分表¹⁹⁾では, 一般的な「洋種なばな」が130mg・100g⁻¹, 同じアブラナ科で, 比較的多くのアスコルビン酸を含む「ブロッコリー」が120mg・100g⁻¹と記載されていることから, 「のらぼう菜」はアスコルビン酸含量の多いアブラナ科野菜と考えられる。茎中のアスコルビン酸含量は, 葉中より低かったものの, 5月にはいずれの地域においても, 100mg・100g⁻¹を超えるなど, 収穫時期が遅くなるに従って高い値を示し, 葉中のアスコルビン酸の増加とともに, 茎中のアスコルビン酸も同様の増加傾向を示した($r = 0.859^{**}$)。特に4月および5月は, 花茎の抽苔により, 可食部のほとんどが茎部であることから, 茎中のアスコルビン酸の値は, 花茎全体のアスコルビン酸の値に近かったと考えられる。また, 収穫時期が遅くなるに従って茎中のアスコルビン酸が増加したことに関して, アスパラガス¹⁶⁾でも, 春どり収穫において, 収穫初期の4月下旬よりも, 収穫終期の6月中旬におけるアスコルビン酸含量が高く, 収穫時期が遅くなるに従ってアスコルビン酸が増加し, 本試験と同様の傾向を示した。硝酸濃度において, 既報¹⁾では, 8~18mg・100g⁻¹の範囲であったが, 本試験では, 8~122mg・100g⁻¹とばらつきが大きく, 時期別および生産者ごとに異なった。硝酸濃度の違いは, 品種・系統, もしくは施肥量や土壌などの栽培環境が影響するとされ¹⁹⁾, 既報¹⁾と本試験では分析試料の収集地が異なることから, 生産者ごとに差があったものと考えられる。

「のらぼう菜」のような茎を可食部とする品目では, 不可溶性繊維による筋っぽい食感は, その品質に直接影響する。若茎を可食部とするアスパラガスにおいても, 食感が品質や日持ち性を評価するうえでの重要な観点とされ, 不可溶性繊維による筋っぽさを十分に考慮する必要がある²⁰⁾。本試験では, 元木ら¹³⁾の方法に従って, 花茎を切断する際に花茎から得られる抵抗力(破断応力)を測定し, 硬さの評価をした。部位別の破断応力では, 全体的に花茎の頂部が小さく, 基部(切断面)に近づくほど破断応力が大きくなる傾向であった。部位別に測定

した値の最大値を破断応力として比較すると、いずれの地域においても3月の値が最も大きく、収穫時期が遅くなるに従って値が小さくなる傾向にあった。特に埼玉県比企郡では、3月の最大値が5.9Nであるのに対して、5月の最大値は1.1Nであり、5分の1程度まで下がった。花茎のいずれの部位も、収穫時期が遅くなるに従って同等か減少する傾向にあり、破断応力の小さい0 cmおよび2 cmの当たりでも同様の傾向であった。一方、水分率に差が確認されなかったことから、花茎中における繊維量の変化が花茎の硬さに影響していると考えられる。アスパラガスの若茎の硬さに関する研究では、基部に近いほど繊維量が多く、破断応力が高い傾向にあった^{13), 20)}。また、本試験において春の収穫始めの時期ほど破断応力が高く、過去の研究^{20), 21)}でも、春の収穫物では生育中の気温が低く、伸長量が小さくなり、硬化が進行しやすくなるため、夏の収穫物よりも繊維質で茎が硬くなると報告している。しかし、生産現場では、収穫時期が遅くなると、花茎から筋っぽさを感じるといわれており、「のらぼう菜」が5月以降も収穫できない理由の一つとされている。本試験では、茎を切断することにより茎の硬さを評価したが、繊維質の筋っぽさによる硬さの影響を測定できなかった可能性がある。花茎の茎径において、収穫時期が遅くなるに従って著しく減少したことから、茎が細くなったことにより、破断応力も減少したものと考えられ、茎径と破断応力には高い正の相関関係が認められた ($r=0.811^{**}$)。また、過去の研究^{20), 21)}によると、貯蔵方法にもよるが、収穫から日数が経過するに従って茎が硬くなるとされている。そのため、「のらぼう菜」の花茎の硬さに注目した品質評価を行うには、繊維量の測定を同時に行うことと、「のらぼう菜」の貯蔵試験を兼ねた硬さの評価をする必要がある。

最後に、「のらぼう菜」の花茎は、アスパラガス²²⁾のように、花茎ごとの重量に対する規格が存在しないことから、太めの花茎を生産するほど、販売物の重量が増加する。また、太めの花茎は袋詰めの際の本数が少なくてすむため、収穫調製が細めの収穫物に比べて容易に行える。さらに、今後のアンケート調査が必要であるが、太めの花茎における見た目の良さから、太めの花茎を生産することにより、「のらぼう菜」の普及と販売の促進につながる可能性もある。そのため、太めの花茎の生産技術の確立が「のらぼう菜」の普及に関する課題と考えられる。アスパラガスのように、花茎ごとに規格を設定するとともに、太めの花茎の生産技術の検討や「のらぼう菜」の品質や食味に関するアンケート調査も含め、今後の研究が必要である。

以上の結果、「のらぼう菜」の生産において、時期別による花茎の形態の変化が販売形態に大きく影響を及ぼし、地域や生産者ごとに出荷物の形態が異なり、ばらつきが大きいことが明らかになった。また、花茎の内容成分や茎の硬さを評価した品質も、時期別に異なることが

明らかになり、項目によっては地域や生産者ごとに異なることが確認された。「のらぼう菜」はほかの茎葉菜類に比べて糖度が高く、アスコルビン酸が多いという特徴があることから、生産拡大のためには、高品質多収系統の選抜とその栽培技術の確立が望まれる。

要 約

「のらぼう菜」は、関東地方西部における地域伝統野菜である。生産現場では、自家採種や生産者ごとの栽培方法が異なることによる販売物の品質のばらつきが問題とされている。本研究では「のらぼう菜」の販売物の形態や花茎の硬さを含めた品質を時期別および地域別に比較し、「のらぼう菜」の地域間差(均一性)を調べた。その結果、時期別による花茎の形態の変化が販売物の形態に大きく影響を及ぼし、地域や生産者ごとに出荷物の形態が異なり、ばらつきの大きいことが明らかになった。また、花茎の内容成分や茎の硬さを評価した品質においても、時期別に異なることが明らかになり、項目によっては地域や生産者ごとに異なることが確認された。「のらぼう菜」はほかの茎葉菜類に比べて糖度が高く、アスコルビン酸が多いという特徴があることから、生産拡大のためには、高品質多収系統の選抜とその栽培技術の確立が望まれる。

文 献

- 1) 山川邦夫：野菜の生態と作型，起源からみた生態特性と作型分化（農文協，東京），pp.43, 204, 217～218（2003）
- 2) 野呂孝史：そだててあそぼう [90] 菜っ葉の絵本（農文協，東京），pp.6～11（2010）
- 3) 北浦健生・河田隆弘・北 宜裕：のらぼう菜川崎在来系統は早生性を特徴とする洋種ナタネである，平成17年度関東東海北陸農業研究成果情報，pp.342～343（2006）
- 4) 青葉 高：ツケナ類＝植物としての特性，農業技術体系野菜編7 キャベツ・ハクサイ・ホウレンソウ・ツケナ類（農文協，東京），基pp.10～11（2001）
- 5) 東京都あきる野市ホームページ，郷土の古文書その17 關婆菜種御請証文 (<http://www.city.akiruno.tokyo.jp/cmsfiles/contents/0000001/1225/sono17.pdf>)
- 6) 山本美恵子：江戸東京野菜図鑑「のらぼう菜」，大竹道茂監修：江戸東京野菜 図鑑編（農文協，東京），pp.96～103（2009）
- 7) 椿真由己：栽培の基礎 ノラボウナ，農業技術体系野菜編11 特産野菜・地方品種（農文協，東京），p.480の4（2009）
- 8) 日本農業新聞2013年3月2日，経営特報A，16面（2013）
- 9) 小野敬弘：伝統野菜「比企のらぼう菜」の復活～地域を代表する特産化に向けて～，技術と普及，50

- (4), 31~36 (2013)
- 10) 池田順子：のらぼう菜の栄養・食味特性と加工利用，*農耕と園芸*, **65** (5), 56~59 (2010)
- 11) 山田 盾・鈴木克己・中川 泉：葉菜類に対する還元型ビタミンC簡易迅速測定法 (RQフレックスシステム) の適用性と測定例，平成6年度関東東海北陸農業研究成果情報，pp.95~96 (1994)
- 12) 菊地淑子：雨よけほうれんそう生体中硝酸含量の小型反射式光度計を用いた分析法，東北農業研究成果情報，**7**, 227~228 (2003)
- 13) 元木 悟・北澤裕明・酒井浩晃・松島憲一・濱渦康範：品種および収穫時期の違いが長期どり栽培されたアスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) の破断応力およびルチン含量ならびにそれらの収穫後変化に及ぼす影響，*日食保蔵誌*, **38** (5), 271~276 (2012)
- 14) 北浦健生・河田隆弘・北 宜裕：のらぼう菜の連続収穫体系の確立に向けた在来系統の評価，平成15年度神奈川農総研試験研究成績書 (野菜)，pp.35~36 (2004)
- 15) 永田雅靖：加工・業務用キャベツの収穫時期と貯蔵後の品質特性，*日食科工誌*, **59**, 40~44 (2012)
- 16) 元木 悟・北澤裕明・酒井浩晃・重盛 勲：アスパラガスのアスコルビン酸および可溶性固形物含量に及ぼす品種および収穫時期の影響，*園学研*, **10** (別1), 487 (2011)
- 17) 浅尾浩史・杵本哲史・西本登志：生育時期がF₁大和マナ品種の糖含量とアンジオテンシンI変換酵素 (ACE) 阻害活性に及ぼす影響，*奈良農総セ研報*, **44**, 7~12 (2013)
- 18) 香川芳子：五訂増補食品成分表 (女子栄養大学出版部，東京)，pp.72~73・80~81
- 19) 吉田企世子・森 敏・長谷川和久：野菜の成分とその変動，*土壤環境からのアプローチ* (学文社，東京)，pp.28~35 (2005)
- 20) ZURERA, Z., MUÑOZ, M. and MORENO, R.: Cytological and compositional evaluation of white asparagus spears as a function of variety, thickness, portion, and storage conditions, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, 335~340 (2000)
- 21) HERNER, R. C.: Factors affecting fiber content of asparagus, *Lakes Veg. Growers News*, **3**, 14~15 (1990)
- 22) 元木 悟：アスパラガスの作業便利帳 (農文協，東京)，p.152 (2003)
(平成26年7月9日受付，平成26年12月15日受理)
-

ジャガイモの品種および比重による 加工特性の差異に関する酵素化学的研究

平成26年度日本食品保蔵科学会奨励賞

中村 優*§

* 東京農業大学農学部

Enzymatic Study of Difference of Processing Property in Cultivar and Specific Gravities of Potato

NAKAMURA Yu*§

* Faculty of agriculture, Tokyo University of Agriculture, 1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0405

Key words : potato, PG, specific gravities, pectin
ジャガイモ, PG, 比重, ペクチン

ジャガイモ (*Solanum tuberosum* L.) は、生育期間が2～4か月と他の作物に比べ短く、その栽培面積はコムギ、トウモロコシ、イネに次ぐ世界4位となっている¹⁾。生食、デンプンおよび加工食品原料として幅広く利用されているが、水分が多く、穀類や豆類に比べ貯蔵性が劣り、また貯蔵中の萌芽により品質が低下する²⁾。このため、冷凍および乾燥マッシュポテトなどの加工食品原料の比率が増加しているが、その加工特性の詳細は明らかになっていない。ジャガイモは加熱処理による煮崩れの挙動から、粉質系と粘質系に大別され、各々の代表品種として男爵薯およびメイクインが知られている。また、これらの特性は、同一品種においても比重によって異なると言われている。煮崩れは、加熱処理によりジャガイモ組織が細胞単位で分離する現象であり、このように加熱処理によって細胞が分離する特性は、マッシュポテトの製造にかかわるジャガイモの加工利用上の大きな特徴である³⁾。しかし、品種や比重の違いによる細胞分離性の相異、すなわち粉質と粘質は経験的な区別であり、その性状の差異の要因について詳細は不明である。本研究では、ジャガイモの加工特性の詳細を明らかにするため、細胞分離性と品種および比重の関係を明らかにし、加熱処理によるジャガイモの細胞分離のメカニズムを解明することを目的とした。

1. 品種および比重と細胞分離性の 関係について

比重の異なる男爵薯 (比重: 1.090, 1.085および

1.070) を用いて、加熱処理後の細胞分離性および物性を調べた。その結果、ジャガイモ1g (乾物) あたりの分離細胞量は、比重1.070では73±10.0mg, 比重1.085では87±6.8mg, 比重1.090では100±6.7mgを示し、比重が高い試料ほど多い傾向を示した。生鮮および加熱処理後の硬さは、生鮮ジャガイモでは比重が高いものほどやや硬い傾向を示したが、加熱処理後では比重が高い試料のほうが低い試料に比べ軟化していた (表1)。さらに、粘質系のメイクインを加え比重の異なる多数の試料について、加熱処理後の硬さを測定したところ、男爵薯およびメイクイン共に比重が高いほど軟化し、煮崩れしやすく、これらの間には高い相関が認められた (図1)。以上のことから、ジャガイモは品種にかかわらず、比重によって加熱処理後の硬さおよび細胞分離性が異なり、比重が高いと粉質、比重が低いと粘質の性質を示すことが明らかになった。比重はジャガイモのデンプン蓄積量の指標であり、ジャガイモの加工特性と生育度合との関係が推察された。そこで、日本でジャガイモの主産地であ

表1 比重の異なるジャガイモの細胞分離性および硬さの相異
【試料】男爵薯

比 重	分離細胞重量 (mg/g 乾物重)	硬さ (N/m ²)	
		生鮮時	加熱後
1.090	100 ± 6.7	25.5	11.3
1.085	87 ± 6.8	23.6	14.3
1.070	73 ± 10.0	22.4	19.4

* 〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737

§ Corresponding author, E-mail: y4nakamu@nodai.ac.jp

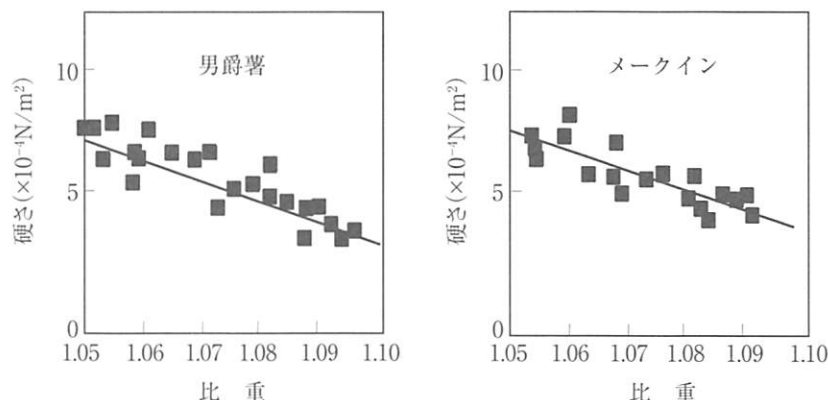


図1 比重の異なるジャガイモの加熱による物性の差異

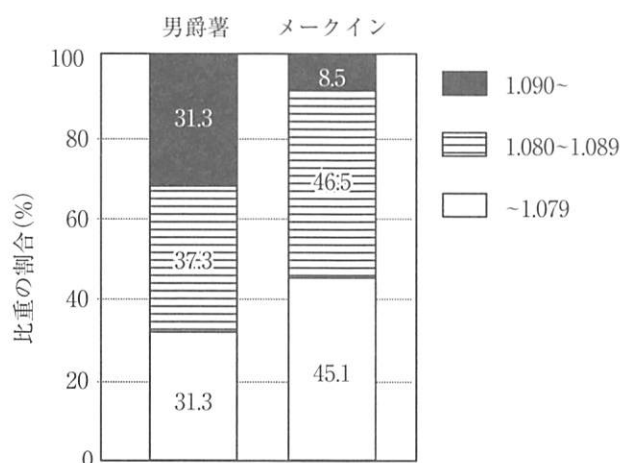


図2 北海道産ジャガイモの品種による比重分布の違い

る北海道にて、男爵薯およびメークインを同一栽培条件下にて栽培し、それぞれの比重分布を調べた。比重1.090以上の割合は男爵薯では31.3%、メークインでは8.3%であり、両品種では比重の分布が大きく異なっていた(図2)。この両品種の比重分布差の要因として、これらの熟性の違いが考えられた。男爵薯は早生種、メークインは中生種であるが、ジャガイモの栽培は品種にかかわらず、生産効率上、植付けおよび収穫はそれぞれ同時期に行われている。生育の遅い中生種や晩生種は、デンプンの蓄積が少ない段階で収穫されるために、比重の低い塊茎の割合が多い。このため細胞分離性が小さく、粘性を示すものと推察された。熟性と細胞分離性の関係を調べたところ、粉質性の男爵薯、キタアカリ、トヨシロは早生種、粘質性のメークイン、スノーデン、ニシユタカは晩生種および中生種であった⁴⁾。品種による粉質と粘質の区別は、熟性と生育の関係によって生ずることを明らかにした。

2. 細胞間結着物質・ペクチンの加熱処理における挙動と細胞分離性について

植物の細胞壁は、ヘミセルロース、セルロースおよびペクチンが複雑に絡み合った糖鎖マトリクス構造を形成

表2 加熱処理によるペクチン量の変化

比 重	【品種】男爵薯		
	総ペクチン量 (mg/100 g)		ペクチン減少率 (%)
	生鮮時	加熱後	
1.090	129	108	16.3
1.085	128	112	12.4
1.070	127	116	8.9

している。ペクチンは、ヘミセルロースおよびセルロースなどの細胞壁成分を抱合し、細胞間を結着する役割を担っていることから、細胞分離性への影響が考えられた⁵⁾。果実の軟化は、成熟過程中にペクチンが低分子化し、細胞間の結着力が低下することによって進行する⁶⁾。そこで、比重の異なるジャガイモを用いて加熱処理によるペクチン量の変化を比較したところ、比重の高いジャガイモほど細胞分離性は大きく、ペクチンの減少量が多かった(表2)。そこで、ジャガイモの加熱処理によるペクチンの挙動について検討するために、生鮮および加熱処理した試料(比重1.090および1.070)より調製したペクチンをゲル濾過クロマトグラフィーに供したところ、加熱処理によってペクチンの低分子化が確認され、比重が高いほど低分子化の傾向が大きかった(図3)。さらに、加熱処理によりペクチンの構成糖であるガラクトuron酸、ガラクトース、マンノースおよびキシロースの溶出量が著しく増加した。また、遊離ガラクトuron酸は生鮮時には検出されず、加熱処理によって検出されたことから、ジャガイモの加熱過程でペクチンが分解されることが示唆された(表3)。果実の軟化におけるペクチンの低分子化は、ペクチンエステラーゼ(PE, E.C.3.1.1.11)による脱エステル化とポリガラクトナーゼ(PG, E.C.3.2.1.15)による加水分解によって進行する⁷⁾。加熱処理により遊離ガラクトuron酸が著しく増加したことから、同処理中にPGの作用によるペクチンの低分子化が推察された。そこで、品種および比重(比重:1.090, 1.085および1.070)の異なる試料についてPG活性量を測定したところ、すべての品種にお

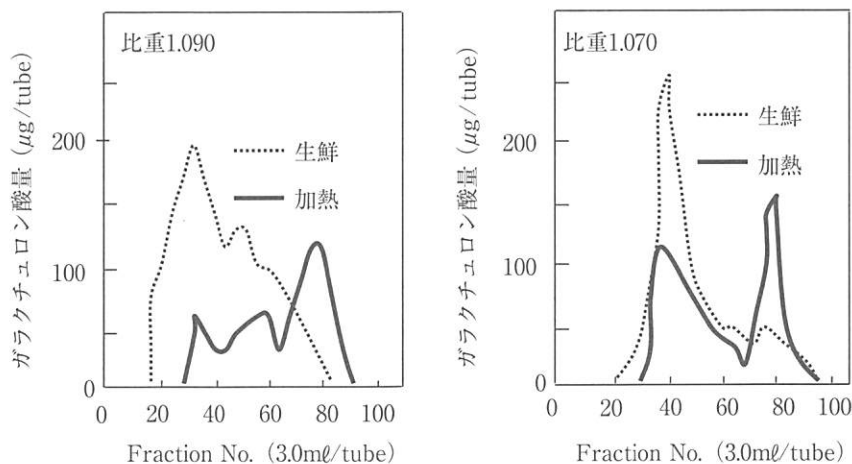


図3 加熱処理によるペクチンの分解

表3 加熱処理による溶出単糖量の変化

	生鮮時	加熱後
ガラクトン酸	N.D.	113
ガラクトース	75	130
マンノース	65	120
キシロース	80	200

(µmol/ジャガイモ100g)
N.D.=Not Detected

表4 品種および比重の相異とPG活性量との関係

比重	品種			
	男爵薯	キタアカリ	とうや	マークイン
1.090	0.16	0.15	0.14	0.13
1.085	0.12	0.10	0.10	0.10
1.070	0.09	0.07	0.06	0.05

(U/ジャガイモ100g)

いて、比重の大きな試料ほど高いPG活性量を示した(表4)。以上の結果から、ジャガイモの加熱処理過程中にペクチンはPGによって分解され、低分子化することが明らかになり、その分解挙動はPGの活性量によって大きく影響されることが考えられた。

3. ジャガイモPGの精製および性状と細胞分離性に対する作用

ジャガイモPGに関する報告はなく、その作用についても不明である。そこで、PGのペクチンに対する作用および細胞分離性への関与について検討するために、ジャガイモからのPGの精製を試みた。試料には男爵薯、トヨシロ、キタアカリおよびマークインを用い、調製したそれぞれの粗酵素をDEAE-Celluloseカラム、CM-TOYOPEARL650Mカラムおよびペクチン酸-DEAE-TOYOPEARLカラムにて精製した。本精製操作によって、各品種のPGはいずれも比活性が粗酵素に対して

表5 ジャガイモPGの精製表

精製段階	タンパク質量 (mg/100g)	PG活性量 (U/100g)	比活性 (U/mg)	精製度 (-倍)
粗酵素	1115.0	0.253	0.0002	1
精製酵素	0.04	0.016	0.400	2,000

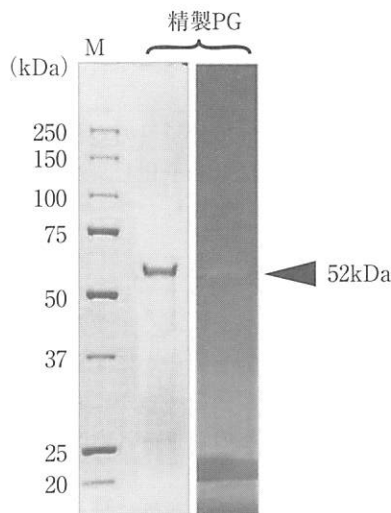


図4 精製PGのSDS-PAGE

2,000倍に上昇し、SDS-PAGEにて高度に精製されていることを確認した(表5, 図4)。各PGの性状は類似し、52kDa、最適pH5.5、最適温度50°C、SH阻害剤にて活性は阻害された。また、他起源PGと類似した性状を示した。精製PGのN末端アミノ酸配列についてDDBJのFASTAにて既知のタンパク質との相同性検索を行ったところ、テッポウユリ (*Lilium longiflorum*) 由来のPG (A.N. A 6 MGZ 1) と80%の相同性を示した(図5)。ジャガイモの加熱条件下でのペクチンに対するPGの作用を検討するために、0.25%ペクチン溶液に精製PGを比重1.090に相当する0.3U、比重1.070に相当する0.1Uを加え、ジャガイモの加熱処理時と同じ熱履歴にて作用させ、ゲル

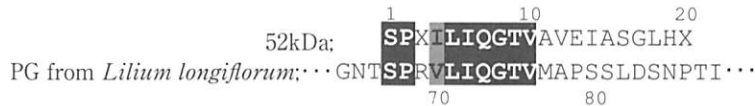


図5 ジャガイモPGのN末端アミノ酸配列の解析

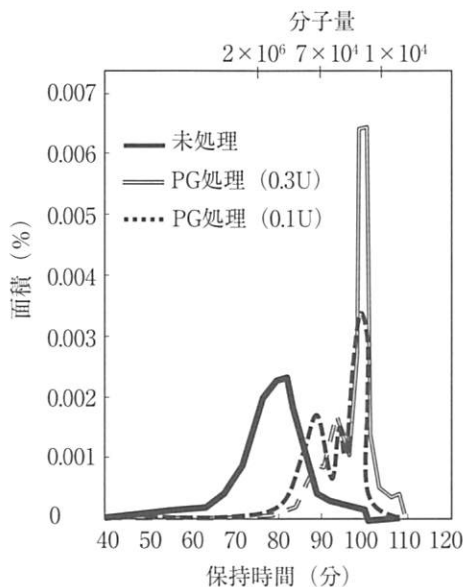


図6 ジャガイモの加熱処理条件下における精製ジャガイモPGのペクチンに対する作用性

濾過クロマトグラフィーで分子量の変化を比較した。PG処理によってペクチンは低分子化し、活性量が高いほどその変化は大きかった(図6)。

まとめ

米、小麦、トウモロコシに次ぐ主要な作物であるジャガイモの加工特性の詳細を明らかにするため、細胞分離性と品種および比重の関係を明らかにし、加熱処理によるジャガイモの細胞分離のメカニズムを解明することを試みた。

ジャガイモの比重と細胞分離性には相関があり、比重が高いと粉質、低いと粘質を示すことを確認した。品種による細胞分離の相異は、熟性に違いがあるにもかかわらず、収穫時期が同じであるために品種間の比重分布に差が生じたためであることを明らかにした。さらに、ジャガイモの細胞分離は、加熱処理過程において細胞間結着物質・ペクチンがPG的作用により分解され、細胞間の結着力が低下することで引き起こされる現象であることを明らかにした。

本研究はジャガイモPGを精製し、その性状ならびにジャガイモの細胞分離性への関与を明らかにした初めての成果であり、得られたこれらの知見から、栽培期間をコ

ントロールすることにより利用目的にあった加工特性を有するジャガイモの生産、加熱処理温度の調整によるPGの作用を活かした加工性の改善などの可能性が考えられた。今後はPG以外の酵素に着目し、加工過程に変化を及ぼす要因を解明するとともに、加工品の品質安定化を目指した酵素制御、品種交雑の際の食品加工特性マーカーの制作などを進めていきたいと考えている。

謝辞 この度の平成26年度日本食品保蔵科学会奨励賞の受賞に際して、ご高配を賜りました学会関係者の皆様に謹んでお礼申し上げます。本研究の遂行にあたり終始ご指導を賜りました東京農業大学応用生物科学部 生物応用化学科・高野克己教授、内野昌孝教授に厚く御礼と感謝を申し上げます。また、ジャガイモの栽培に御協力をいただきましたカルビーポテト株式会社の方々、これまでの研究にご協力いただきました東京農業大学 応用生物科学部 生物応用化学科 食料資源理化学研究室の卒業生に感謝を申し上げます。

文献

- 1) 山本紀夫：ジャガイモのきた道—文明・飢饉・戦争—，岩波書店(2008)
- 2) 佐藤正人：馬鈴薯の貯蔵と今後の課題〔2〕，食品工業，10，42～56(1981)
- 3) 佐藤広顕・山崎雅夫・高野克己：パレイショの加工特性と品種および比重との関係，日本食品保蔵科学会誌，31，155～160(2005)
- 4) 日本いも類研究会ホームページ (<http://www.jrt.gr.jp/>)
- 5) HEREDIA, A., JIME, N. A. and GUILLE, N. R.: Composition of plant cell walls, *Z. Lebensm-Unters-Forsch A.*, 200, 24～31(1995)
- 6) DUAN, X., CHENG, G., YANG, E., YI, C., RUENROENGLIN, N., JIANG, Y., CHENG, G., LU, W. and LUO, Y.: Modification of pectin polysaccharides during ripening of postharvest banana fruit, *Food Chem.*, 111, 144～149(2008)
- 7) 稲荷妙子・加藤宏治：ミニトマト果実の成熟におけるペクチンおよびペクチン加水分解酵素活性の変化，*New Food Industry*, 45, 17～24(2003)

ハウス栽培トマト果実の収穫前・後における ヘキサナール処理による品質向上

CHEEMA, A., et al.: *Postharvest Biol. Technol.*, **95**, 13~19 (2014)

果実の成熟や老化時の膜の変化に関与するフォスホリパーゼD活性を阻害するヘキサナールを水溶液あるいは化合物質としてトマトの収穫3~1週間前(毎週1~2回)と収穫後に処理して、収穫後の品質保持に対する影響を調べた。収穫前の散布処理(1mM水溶液)は、散布回数等の条件によっては、収穫時の果実の果皮色と果肉硬度を向上させ、アスコルビン酸含量と可溶性固形物含量を増加させた。収穫時の水溶液と化合物の浸漬処理(2mM)は、21日間の貯蔵中(12℃)の果皮の光沢保持、赤色の減退防止、果肉硬度の維持、アスコルビン酸含量減少防止等に効果があり、収穫前・後のヘキサナール処理がハウストマトの品質向上と品質保持に効果的であることを明らかにした。

(阿部一博)

バナナ果実の収穫後の追熟を遅延させる 1-MCP微細気泡を使った新規技術

PONGPRASERT, N. and SRILAONG, V.: *Postharvest Biol. Technol.*, **95**, 42~45 (2014)

本研究用に開発した機器を使って作成した1-MCPの微細気泡を含む水溶液(微細気泡によって乳濁状態、25~30℃)によるバナナ果実の追熟抑制効果を調べた。同じ濃度(500nLL⁻¹)の1-MCPの水溶液処理か燻蒸処理をハンド状態の緑色果実に施して、25℃で8日間貯蔵中の品質を評価した。両1-MCP処理は、無処理区よりもエチレン生成と呼吸量の増加を遅らせ、遅延効果は水溶液処理で明らかであった。また、両1-MCP処理は、クロロフィル含量の減少と黄化を遅らせ、果肉硬度の低下も抑制し、これらの抑制効果は燻蒸処理より水溶液処理で顕著であった。

(阿部一博)

ラズベリー2品種の香気成分に対する 低温貯蔵の影響

MORALES, M. L., et al.: *Postharvest Biol. Technol.*, **96**, 128~134 (2014)

ラズベリーは特有の香気を示し重要な品質要因である。香気成分はβロノンが主成分であり、その他に27種類の香気成分が検出され、供試2品種の香気品質を特徴づけている。2品種の果実を低密度ポリエチレン袋に詰めて、0.5℃で21日間の貯蔵を行い、香気成分の変化を調べた。品種Sは品種Mより香気成分含量が多かったが、貯蔵中の両品種は異なった香気成分含量変化を示し、品種Sは含量が減少し、品種Mは増加した。これらの変化は低温貯蔵中であっても香気品質低下につながるが、品種Sの香気成分の変化は、C₁₃-norisoprenoidの減少とテルペンの増加によるものであることを明らかにした。

(阿部一博)

メイラード反応中に加水分解された 鶏骨抽出物の香気化合物の変化について

SUN, H.M., et al.: *Journal of Food Science*, **79** (12), C 2415~C2426 (2014)

メイラード反応中に加水分解された鶏骨抽出物の揮発性、揮発性化合物を含む香気化合物についてHPLC, tasting sensory system, Electronic-Nose (E-nose)およびGC-MSによって評価した。その結果、鶏骨抽出物中の総遊離アミノ酸の72から74%が香気アミノ酸で占められていた。旨味はメイラード反応の初期段階で増加しその後減少するが、旨味の化合物濃度は一定のレベルで存在し続いていた。tasting sensory systemと苦味のアミノ酸の結果から、メイラード反応は十分に鶏骨抽出物の苦味を減少させることができた。E-nose試験の結果は、メイラード反応中に揮発性香気の大きな変化が起こった。計59の揮発性化合物が鶏骨抽出物において同定された。メイラード反応が、鶏骨抽出物での香気の増加にかかわっている。私たちの結果は、メイラード反応が鶏骨抽出物の香気化合物を変化させる効果的な方法として使用される可能性があることを示しており、結果的に、食肉産業の副産物として骨残渣から肉風香気増加剤製造のための方法を与えるものである。

(塩野弘二)

ナノプローブとしてLectin-CdTe Quantum Dotsを 使用することによる卵製品内シアル酸の 迅速定量的高感度で選択的な蛍光測定方法

WANG, Q., et al.: *Journal of Food Science*, **79** (12), C 2434~C2440

シアル酸(SA)はムチン、糖タンパク質や他の微生物ポリマーのオリゴ糖単位の構成糖として自然食品で幅広く発見されている。本研究の目的は、高感度なlectin-CdTe quantum dots (QDs) nanoprobeを用いて測定するための新規蛍光検出法を開発することである。水溶性高発光CdTe QDsは、SA検出プローブとしてニワトコ黒質樹皮レクチン(SNA)と結合した。SAとSNA-CdTe QDs間の特異的相互作用の結果、最終的にその結合は蛍光シグナルに変化を与えた。最適条件下では、蛍光強度は12から680ng/mlのSA濃度の増加とともに直線的に増加した。検出下限は0.67ng/mlであった。この迅速で選択的なSA検出は、合成試料と卵製品において97.92%から110.42%の回収率であり、このことから実用的であることを実証している。

(塩野弘二)

ミオシン重合度が関与するシログチから作られた 加熱ゲル製品のペプシン消化性

UEKI, N., et al.: *Journal of Food Science*, **79** (12), C 2427~C2433

シログチすり身を用いて、38℃で様々な時間で「座り」処理をすることでミオシン重鎖の重合化を誘導し、その後85℃で20分間加熱した加熱ゲルを作製した。ミオシン重鎖の重合度は、すり身に様々な濃度で添加される微生物トランスグルタミナーゼ(MTG)の存在下でも形成した。破断強度および破断歪率は、60分までの座り処理のミオシン重鎖における重合度の増加に応じて、著しく上昇した。MTGは15から30分の座り処理中にミオシン重合化を増強し、破断強度を上昇させた。これらのゲルの8M尿素への可溶性とペプシン消化性ならびにペプシン消化物のアンジオテンシン1変換酵素(ACE)阻害活性は、ミオシン重鎖の重合度の増加とともに減少した。これらの結果は、ミオシン重鎖重合度が加熱ゲルのレオロジー特性だけではなく、人の健康のための機能特性にも影響を与えることを示唆している。

(塩野弘二)

「外食産業と食品流通における食の安全性」に関する公開セミナーの開催報告

近年、外食産業や食品流通における食の安全性ならびに私たちの日常生活を脅かす災害が多く発生して食生活の維持・管理に関する問題が報道されており、消費者の関心は高まっている。

帝塚山学院大学の地域貢献の一環として、消費者に学術情報を提供するセミナーが実施されたので、日本食品保蔵科学会は開催を協賛した。

演 題：

「外食産業と食品流通における食の安全性と健康管理—災害時の食品流通をカバーするハードとソフト—

演 者：

吉田恭一郎（ホシザキ電機株式会社中央研究所）

開催日時：

平成26年11月27日（木曜日）

開催場所：

帝塚山学院大学泉ヶ丘キャンパス（大阪府堺市）

実行委員会：

委員長—阿部一博（大阪府立大学名誉教授・帝塚山学院大学教授）

委 員—入谷信子・福田ひとみ・勝川路子（帝塚山学院大学人間科学部）

開催機関：

主 催—「農と食の文化と科学」鼎談会

協 賛—日本食品保蔵科学会

食品流通と外食産業を中心として、農産・食品加工分野の食生活の維持・管理を確保する業務用冷凍冷蔵庫や電解水生成装置あるいは食器消毒保管庫等の衛生管理機器が、食の安全性にどのように役立っているかの事例紹介や災害時の食品流通経路や食の安全性の確保の手段に



写真1 講演状況



写真2 演者（吉田氏—左）と実行委員長（阿部—右）

関しての事例紹介等が行われた。

当日は、約90名の参加者があり、身近に関心が深い内容なので、熱心に聞き入っており、講演終了後は学生を中心として様々な面からの活発な質疑応答が行われた。

（文責：日本食品保蔵科学会広報委員会委員長 阿部一博）

平成26年度HACCP管理者認定者

平成26年度は、5名の学会正会員（山梨学院短期大学、東京農業大学短期大学部、（一社）長野県農村工業研究所、（株）黒潮町缶詰製作所）、並びに、258名の学会学生会員（宮城大学、東京聖栄大学、山梨学院大学、近畿大学、高知県立大学、梅花女子大学、香川大学、（独）水産大学校、東洋食品工業短期大学）が、HACCP管理者に認定されました。

以下の合計263名のHACCP管理者認定者の方々が、認定証を受領し、HACCP管理者原簿に登録されました。

正 会 員

竹内 正彦、滝沢 潤、谷岡 由梨、関戸 元恵、式地 美保

学生会員

青島 健太、安達 勇貴、小野 剛透、河野 美里、酒井 晴絵、坂根 大貴、佐内 未奈、庄田 美登里、武吉 遼子、鶴田 孝章、友野 泰裕、中谷 優美、中村 祐香、野呂 省語、平松 宗一郎、船藤 圭太、船元 太智、古谷 文菜、山根 拓也、渡邊 虎太郎、渡辺 将吾、西河 優希、中島 佑磨、前田 直輝、宮本 綾子、佐藤 崇弘、宮脇 愛、泉 嘉人、岩井 大樹、木戸 裕之、関 拓也、水田 早織、佐藤 宏俊、張 貴史、怒和 順平、池淵 恵里佳、吉田 一番、増田 健太、小野 裕美、木村 拓人、畑 沙由美、速水 穂乃香、新 菜奈美、富田 佳捺衣、植田 翔、櫻井 彰子、樋口 みのり、星野 佑門、大塚 ちさと、山崎 祐司、松山 佳織、野島 裕介、中蘭 沙也佳、北野 真悠、白井 理緒、巳波 知香、向井 麻衣、稲盛 香織、玉麻 竜乃介、則行 紫萌、船戸 千裕、状家 佳苗、坂東 暉子、亀谷 紗知、矢部 公美、泰松 光希、柴田 早絵、毛見 ほのか、西原 鴻貴、天神 美幸、大畑 圭右、笠野 菜美、鍛治 知幸、阪倉 慶子、伊倉 宏彰、吉田 雄治、前嶋 彩花、西村 享平、役田 寛治、川田 愛美、加藤 沢麻、石居 千歩、市 美乃理、伊藤 みずき、岩内 咲季、上田 佳奈、大谷 成美、大野 詩歩、岡田 美香、奥 詩央、角屋 晴香、川崎 紗和野、川崎 美郷、北野 史子、桐谷 麻希、小島 茜、児玉 真緒、育藤 梓、坂田 優紀、阪中 舞、十鳥 夏子、高尾 美穂、武田 万季、中

川 美乃里、中館 美帆、中村 貴美佳、中村 文佳、中村 真理子、西前 智菜、福井 未咲、堀口 真未、前田 玲奈、政岡 晴香、丸山 満香、水原 亜依子、美土路 聖子、村上 由佳、本村 真里那、藪 由佳、山中 菜紀、山本 美沙、渡辺 舞能、石川 士、大関 美咲、鍛崎 かれん、仁科 翔吾、今野 築、浅見 恭子、遠藤 千晶、大薨 久実、尾形 菜摘、片野 慶一、佐々木 直美、佐々木 遥香、佐藤 舞子、佐藤 優美子、猿舘 小夏、高橋 一貫、高橋 里奈、田守 結香子、水野 礼菜、三塚 ちあき、八木 沼彩香、嶋村 尚紀、渡邊 健、菅野 祐太、豊島 沙衣子、橋本 萌、渋谷 健太、徳差 美佳、渡邊 航平、萩田 美紅、佐藤 真美、早坂 夏実、川野 華澄、吉田 安友子、針生 萌絵、十文字 舞、松崎 裕美、大学 善郎、松浦 彩子、有我 裕貴、小野崎 絢、梅津 由美、地代所 佳那子、大塚 あゆみ、工藤 さくら、鈴木 勇太、瀬崎 志穂、千々岩 拓朗、鈴木 翔子、石井 成美、岸田 仁美、河野 圭治、松浪 考洋、中路 昌志、村上 結城、山田 耕資、岡野 友香、小池 恭子、池上 愛美、石原 百合子、市川 菜美、出月 万智、猪股 美帆、上田 麻実、遠藤 樹利、大久保 優花、大柴 美里、太田 久美子、小田切 香、加々美 恋、小林 明日香、五味 あんな、齋藤 杏奈、坂本 美恵子、笹本 菜摘、佐野 瑤日、島田 雅子、白井 えみ、鈴木 萌恵、高野 朋美、戸沢 風沙、内藤 静香、長友 優花、原 永莉子、樋口 結衣、廣瀬 翔子、本道 典子、宮野 友香里、村松 香侑、望月 葵、望月 ほのか、森本 菜月、八幡 雛子、吉原 沙奈恵、石橋 綾華、大森 ありさ、小林 耶慶、伊勢田 実幸、金藤 麻衣子、篠原 里菜、岡崎 小夏、鈴木 真弓、中谷 美咲、中西 志帆、鍋島 真依子、東田 里穂、藤本 正洋、森 玲奈、岡崎 有希、井原 未紗子、金谷 和香、川上 ひかり、柴岡 美裕、垂水 彩花、鳥田 すみれ、額賀 美友紀、石原 舞、一圓 紘嘉、大崎 滯、大住 明加、大西 春菜、小野 今日子、吉川 千晴、柴田 彩果、島本 亜弥、須藤 ひかり、高橋 拓也、比嘉 華花、藤原 礼子、枳田 葉奈、真鍋 知花、森長 千春、山田 侑菜、吉永 彩乃、芳之内 瞳、高畑 海斗（順不同）

平成27年度HACCP管理者認定審査・更新審査の申請

平成27年度春季は、以下の要領で、HACCP管理者認定審査申請、および、HACCP管理者更新審査申請を受けつけます。

詳細は、学会ホームページ (<http://nodaiweb.university.jp/jafps/>) 内「HACCP管理者認定審査について」をご覧ください。

なお、平成27年度のHACCP教育コースは、日本食品保蔵科学会創立40周年記念大会会場（東京農業大学）において、大会前日の6月26日（金）に、またHACCPワークショップは、東京会場、山梨会場および広島会場で、8月～9月に開催予定です。

●HACCP管理者認定審査申請

申請期間：平成27年3月15日（日）～4月10日（金）
（4月10日消印有効）

審査費用：正会員…8,000円，学生会員…4,000円

申請方法：申請用提出物すべてを、日本食品保蔵科学会
HACCP事務局に郵送

●HACCP管理者更新審査申請

申請期間：平成27年5月1日（金）～5月31日（日）
（5月31日消印有効）

審査費用：正会員…4,000円，学生会員…4,000円

申請方法：更新用提出物すべてを、日本食品保蔵科学会
HACCP事務局に郵送

●HACCP教育コースの開催予定（詳細は決定後に、学会ホームページに掲載します）

開催場所：東京農業大学（東京都世田谷区桜丘1-1-1）

開催日時：平成27年6月26日（金）午後5時

開催内容：①行政講演 ②技術講演

受講対象者：平成22年～27年にHACCP管理者資格を取得した学会員（特に平成23年11月に資格を取得した会員で、HACCP教育コースを1度も受講していない方は、平成27年10月に資格を更新するためには、本HACCP教育コースの受講が必要です）

受講費用：学会員は無料

申込方法：当日に会場受付

●HACCPワークショップの開催予定（詳細は決定後に、学会ホームページに掲載します）

開催場所：東京会場、山梨会場、広島会場

開催日時：平成27年8月～9月

募集人数：40名

申込期間：平成27年6月～7月

受講費用：社会人；20,000円，学生；10,000円

日本食品保蔵科学会会則

第1条（名称および本部） 本学会は、日本食品保蔵科学会と称する。本部は東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科食料資源理化学研究室内（東京都世田谷区桜丘1-1-1）に置き、必要な地域に支部を置くことができる。

第2条（目的） 本学会は、食品保蔵に関する基礎的研究並びに応用に関する研究を推進し、生産、貯蔵、加工、流通等の技術及びこれらに関する機器の改善を図り、もって食品流通の合理化と食の安心、安全並びに安定を期することを目的とする。

第3条（事業） 本学会は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) 会誌の発行
- (2) 研究発表会、講演会等の開催
- (3) 情報交換、研究調査、資料の収集と頒布
- (4) 研究業績及び本学会への功績に対する授賞
- (5) その他、本学会の目的達成に必要とする事業

第4条（会員） 会員は、食品保蔵科学に関する調査、情報の提供その他の便宜を受けることができる。

- (1) 名誉会員 本学会に特に功績のあった者、又は学識経験者であって、理事会の推薦に基づき評議員会に諮り、総会の承認を得た者。
- (2) 終身会員 多年にわたり本学会の発展に寄与した者であって、理事会の推薦に基づき、評議員会に諮り総会の承認を得た者。
- (3) 正会員 本学会の趣旨に賛同し、正会員会費を納めた個人。
- (4) 学生会員 大学院、大学及び短期大学又はこれに準ずる学校に在籍し、学生会員会費を納めた学生。
- (5) 団体会員 本学会の事業を賛助するため入会し、団体会費を納めた教育・研究機関、協会、企業等。
- (6) 維持会員 本学会の事業を賛助するため入会し、維持会費を納めた企業又は団体等。

第5章（役員） 本学会には次の役員を置く。

- (1) 会長 1名
- (2) 副会長 3名
- (3) 事務局長 1名
- (4) 常任理事 若干名
- (5) 理事 40名以内
- (6) 評議員 80名以内
- (7) 監事 2名

第6条（役員の選出） 本学会の役員は正会員より選出する。

2 役員選出のため役員選考委員会を置く。委員会の規程は別に定める。

3 会長は、理事が推薦した候補者の中から役員選考委員会にて次期会長候補者1名を選出し、総会の承認を得て決定する。

4 理事、評議員及び監事は役員選考委員会にて選出し、総会の承認を得る。ただし、評議員は理事を兼ねることはできない。

5 副会長は理事より選出し、総会の承認を得る。

6 事務局長は理事より選出し、会長がこれを委嘱する。

第7条（役員の職務） 本学会の役員の職務は次の通りとする。

- (1) 会長は本学会を代表して会務を統括し、理事会及び評議員会を召集する。
- (2) 副会長は会長を補佐し、会長に事故あるときはその職務を代行する。
- (3) 事務局長は会長を補佐し、学会運営に関する実務を統括する。
- (4) 理事は理事会を構成し、会長の付議する事項について審議する。
- (5) 評議員は評議員会を構成し、理事会の諮問に応ずる。
- (6) 監事は会計及び会務の状況を審査する。

第8条（役員の任期） 役員の任期は2カ年とする。ただし再任は妨げない。

第9条（顧問） 本学会には顧問を置くことができる。顧問は、理事会の議を経て会長がこれを委嘱し、本学会運営上の事項について会長の諮問に応ずる。

第10条（総会） 総会は定期総会及び臨時総会とし、会長がこれを主宰する。

2 定期総会は毎年1回開く。臨時総会は理事会が必要と認めた場合に開く。

3 総会の議決は出席者の過半数をもって決する。

4 総会は次の事項について審議又は議決する。

- (1) 会則の変更
- (2) 会費の決定又は変更
- (3) 事業計画・報告及び収支予算・決算
- (4) 事業計画及び収支予算の審議
- (5) その他理事会において必要と認めた事項

第11条（理事会） 理事会は定期理事会及び臨時理事会とし、会長が召集し、議長を務める。

2 定期理事会は毎年1回開く。

3 臨時理事会は会長が必要と認めたとき、又は理事の

3分の1以上の要求があったときに開く。

4 理事会は、理事の3分の2の出席により成立するものとし、過半数をもって決する。

5 監事は必要に応じて理事会に出席し、意見を述べることができる。

6 理事会は次の事項について審議又は決定する。

- (1) 総会に付議すべき事項及び総会の召集に関すること。
- (2) 総会の決議した事項の執行に関すること。
- (3) 会務を執行するための計画、組織及び管理運営に関すること。
- (4) 細則、諸規程の制定又は改廃に関すること。
- (5) その他理事会において必要と認めた事項。

第12条（運営役員会） 本学会の会務を執行するために運営役員会を置く。

2 運営役員会は、会長、副会長及び第14条に定める委員会の委員長にて構成する。必要に応じ会長が召集し第11条の6に定める事項を審議し、理事会の議を経てこれを執行する。

3 監事は必要に応じて運営役員会に出席し、意見を述べるができる。

第13条（評議員会） 評議員会は会長が召集し、会長が議長を務める。

2 理事及び監事は、評議員会に出席し意見を述べることができる。

3 評議員会は会務について会長の付議する事項を審議し、意見を述べるができる。

第14条（委員会） 本学会は事業の遂行のために必要とする委員会を置くことができる。委員会の規程は別に定める。

2 委員会は役員若干名によって構成し、委員は理事会の推薦により会長がこれを委嘱する。

第15条（会計） 本学会の経費は、会費その他の収入をもって当てる。

2 本学会の会計年度は、毎年4月1日に始まり3月31日に終る。

3 本学会の会費規定は別に定める。

第16条（本部事務局） 本学会の事務処理のため、本部事務局（以下事務局）を置く。

2 事務局長は事務局を統括する。

3 事務局に幹事若干名を置くことができる。

4 幹事は理事会の議を経て、会長がこれを委嘱する。

5 幹事は事務局長を補佐し、庶務、会計の実務を行う。

第17条（職員） 本学会には会長の委嘱により、事務員を置くことができる。

第18条（会則の変更） 本学会の会則は総会の議によって変更することができる。

付 則

1. 本会則は昭和49年7月6日から施行する。

2. 本会則は昭和56年5月26日に改正する。

3. 本会則は昭和61年2月22日に改正する。

4. 本会則は昭和62年2月21日に改正する。

5. 本会則は平成元年2月10日に改正する。

6. 本会則は平成2年5月26日に改正する。

7. 本会則は平成3年5月25日に改正する。

8. 本会則は平成5年6月5日に改正する。

9. 本会則は平成7年6月3日に改正する。

10. 本会則は平成8年5月25日に改正する。

11. 本会則は平成9年5月24日に改正する。

12. 本会則は平成13年6月15日に改正する。

13. 本会則は平成16年6月26日に改正する。

14. 本会則は平成19年6月23日に改正する。

15. 本会則は平成20年6月21日に改正する。

「日本食品保蔵科学会誌」 投稿論文記載要領

1. 投稿論文

- (1) 和文論文はワープロソフトを使用し、A 4 判白紙（縦長）に、12ポイント活字を用い25字×25行の横書きに記述し、上下左右3 cm以上の余白を設けて印刷する。
- (2) 英文論文はワープロソフトを用いA 4 版白紙の上下左右に2 cm以上の余白を取りダブルスペースとする。
- (3) 英文については関連分野の論文などを参考にし、さらに英文に堪能な人の意見を求めるなどして正確を期するとともに、特殊な専門用語や内容に関する表現は特に注意する。
- (4) 表紙
投稿論文には、表題、略表題、著者名、著者の所属・住所、メールアドレスなどを記述した表紙を添付する。

原稿添付用表紙記載例

和文表題：ゆばの褐変ならびにグルタチオンの抑制効果

英文表題：Browning of Yuba and Inhibitory effect of Glutathion

略表題：ゆばの褐変とGSHの抑制効果（和文で15字、英文で6語以内）

著者名：国正重乃^{*1}・柳沼 勲^{*1}・野口智弘^{*2}・高野克己^{*2}・内村信宏^{*3}・青柳吉紀^{*3}

脚注：* 1 (株)ミットヨフーズ (〒324-0608 栃木県那須郡馬頭町健武2375 E-mail _____@_____)

* 2 東京農業大学応用生物科学部 (〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1 E-mail _____@_____)

* 3 (株)興人発酵事業部 (〒103-0022 東京都日本橋室町4-1-21 E-mail _____@_____)

連絡者氏名：国正重乃

住所・所属：〒324-0608 栃木県那須郡馬頭町健武2375

(株)ミットヨフーズ
TEL 00-0000-0000
FAX 00-0000-0000

2. 本文の構成

- (1) 報文および技術報告
構成区分は原則として緒言（記述にあたっては「緒言」という見出し字句は用いない）、実験方法、実験結果、考察（「実験結果および考察」としてもよい）、

要約、文献とする。記述にあたっては、構成区分の見出し字句の前後は1行あけ、見出し字句は行中央に書く。

(2) 研究ノート

構成区分見出しを必要とせず、緒言（記述にあたっては「緒言」という見出し字句は用いない）、大見出し以下の区別で記述する。大見出しの見出し字句は原則として、直接必要な事項の字句を見出しとする。要約は大見出しにより、文献のみは構成区分見出しとする。

- (3) 報文、研究ノート、および技術報告には英文要旨（150~200語程度）ならびにその和訳をつける。英文要旨は1. (2)に従い題名について3行あけ著者名、所属および住所、次に3行あけて要旨本文を記述する。英文要旨は英文を直訳するのではなく、これを読めば本文の内容をおおよそ理解できるように、平易な英文で簡潔に書き改行は行わない。英文要旨の和訳は1. (1)に従い作成する。なお、英文論文の場合には、英文要旨・同和訳の他、和文要旨（600字程度、1. (1)に従い作成）を添付する。

(4) 英文要旨記載例

Relationship between Low-oxygen Induced Injury and Respiration in Several Fruits under Hypoxia
IMABORI Yoshihiro^{*1}, KOTA Mika^{*1}, UEDA Yoshinori^{*1}, YOSHIOKA Hiroto^{*2} and CHACHIN Kazuo^{*1}

* 1 College of Agriculture, Osaka Prefecture University, 1-1, Gakuen-cho, Sakai, Osaka 599-8531

* 2 National Institute of Fruit Tree Science, 2-1, Fuzimoto, Tukuba, Ibaraki 305-0852

The relationship between low-oxygen induced injury and respiration rate in four kinds of fruits under air, ……

3. 原稿の書き方

- (1) 文章はひらがな（平仮名）、常用漢字および現代版仮名づかいに準拠し、平易かつ簡潔な「である」調とする。英字は活字体ではっきりと書く。
- (2) 専門用語は原則として文部科学省学術用語審議会編「学術用語集」による。略語または記号を用いるときは、最初に用いる箇所ですら正式な名称を記し、かつこ内に略語や記号を示す。
- (3) 化学物質名は原則としてIUPAC（国際純正応用化学連合）命名法にしたがい和文論文は日本語で書く。

- (4) 数量の単位は原則としてメートル法に従い、数字はアラビア数字を用いる。
- (5) ゴシック (太文字) には~~~~~, イタリック (斜体) には_____, 人名などのスモールキャピタルには_____をその文字の下に記入する。
- (6) 図はA 4 版の白紙に、明瞭なコンピュータ出力とする。図の大きさは10cm×10cm程度が適当であり、最大でも用紙を横長にして使用する範囲にとどめる。
- (7) 図の表題および説明は、原図に記入する。原則としてこれらは英文とする。なお、表題および説明文は図の下に書く。
- (8) 写真はA 4 版用紙に張り付け、説明文は写真の下に書く。なお、写真は原則として白黒印刷とする。
- (9) 表はA 4 版の白紙を用い、原則として英文とする。やむを得ず大きい判の用紙を必要とするときは、B 4 を用い、折りたたんでA 4 版の大きさに整理する。表の題名は表の上部に、説明などの注記は下部に書く。
- (10) 文中の図および表の文字を記入する場合、図表が英文の場合にはFig. 1, Table 1 と書き、和文の場合には図 1, 表 1 と書く。また、だいたいの挿入位置を本文原稿用紙の右余白に指示する。
- (11) 文献は1), 2) で記載順に示し、最後に一括して番号順に列記する。文献の名称は略名が定められているものについてはその略名に従い、著者名、論文タイトル、誌名、巻、頁、年の順に記す。なお、本学会誌の略名は、(和名) 日食保蔵誌、(英名) Food Preser. Sci. とする。
- (12) 文献記載例
- 1) 国正重乃・柳沼 勲・野口智弘・高野克己・内村信宏・青柳吉紀: ゆばの褐変ならびにグルタチオンの抑制効果, 日食保蔵誌, 28, 331~336 (2002)
 - 2) IKOMA, Y., YANO, M., XU, Z. C. and OGAWA,

K.: Isolation of a cDNA encoding active protein for kiwifruit ACC Synthesis and expression in the outer pericarp, *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, 68, 286~288 (1999)

3) 茶珍和雄: 園芸学概論 (文永堂出版, 東京), p.241 (1992)

4) Kays, S. J. : Postharvest Physiology of Perishable Plant Products (An Avi Book, New York), p.354 (1991)

	正	副 1	副 2
英文要旨およびその和訳 (英文については和文要旨)	○	○	○
本文	○	○	○
表	○	○	○
原図 (説明文入り)	○		
原図のコピー		○	○
原写真 (説明文入り)	○		
原写真のコピー		○	○

(13) 提出する投稿論文の構成内容は、以下の通りである。

4. 原稿およびフロッピーディスク

原稿はワープロソフトを用いて作成し、掲載可になった後、そのフロッピーディスクを本会事務局に送付する。ただし、本文と表は別ファイルとし原則としてテキストファイルとする。ディスク上面にファイル名、OS名、ソフト名およびそのバージョン、使用機種名を記載する。

5. その他

刷り上がり1頁は、本文の場合、原稿 (25字×25行) 4枚、図表原稿の場合4枚に相当する。著者校正は一度だけ行う。英文要旨および英文で書かれた図表については、英文校閲を済ませているので、これに従う。

「日本食品保蔵科学会誌」投稿規定

第1条 本誌は本学会規約に基づき、総説、報文、研究ノート、技術報告、資料、情報、その他編集委員会が必要と認めたものを掲載する。

第2条 投稿は本学会員に限る。ただし共著者はこの限りではない。

第3条 投稿は本会編集委員会事務局宛とし、到着日をもって受付日とし、審査終了日をもって受理日とする。

第4条 論文は和文または英文とする。

第5条 総説は、原則として編集委員会より依頼する。報文、研究ノートおよび技術報告は原著とし、他誌に未発表のものに限る。研究ノートは報文にまとめ得ないが、公表することにより学会に寄与するものとする。技術報告は、報文にまとめ得ないが、有用なデータを含み、本学会関連分野の技術向上に寄与するものとする。資料は、調査、統計などをその内容とし、本会員の研究に役立つものとする。情報は、解説記事、国内外の食品産業の動向、国際会議報告、研究所の紹介記事など本会員に有用なものとする。

第6条 報文その他の掲載は、原則として受理順とするが、その採否および順序は編集委員会の判定による。

第7条 編集委員会は、投稿原稿の内容および字句について不適当と認めた場合は、著者に訂正または検討を求めることがある。

第8条 再提出を求められた原稿は、返送日から2カ月以内に編集委員会事務局へ返却する。2カ月以上経過した場合は、新規受付として取り扱う。

第9条 1) 報文、技術報告、資料および情報は刷り上

がり6頁以内、研究ノートは4頁以内(図、表を含む)とする。これを超えた場合は、1頁につき20,000円を徴収する。図はトレースする必要のない鮮明な原稿を添付する。トレースが必要な場合およびカラー写真を掲載するときなどは実費を徴収する。

2) 審査終了後、編集委員会において英文校閲を専門機関に依頼する。なお、費用については実費を徴収する。

第10条 原稿は「投稿論文記載要領」(毎年1号に記載)に従い作成し、原稿の他、鮮明なコピー2部を添付する。なお、原稿には和英両文の題目、著者名、所属などを記入した送状(学会誌に綴じ込みのもの)を添付する。

第11条 原稿はワープロソフトを用いて作成し、掲載可になった後、そのフロッピーディスクを事務局へ送付する。

第12条 初校の校正は、著者が行う。その際、投稿原稿は送付しない。

第13条 別刷りは実費を徴収する。

第14条 本誌に掲載された論文の著作権は、日本食品保蔵科学会に属する。

付記 原稿送付先は次の通りとする。

〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1

東京農業大学 生物応用化学科

食料資源理化学研究室内

「日本食品保蔵科学会」編集委員会 事務局

(平成22年5月22日一部改正)

平成22年10月1日改正施行

◆複写される方へ◆

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、(株)日本複権センターと包括複写許諾契約を締結されている企業の従業員以外は、図書館も著作権者から複写権等の行使の委託を受けている次の団体から許諾を受けて下さい。著作物の転載・翻訳のような複写以外の許諾は、直接本会へご連絡下さい。

〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル
学術著作権協会

TEL:03-3475-5618 FAX:03-3475-5619

E-mail: info@jaacc.jp

◆アメリカ合衆国における複写については次に連絡して下さい。

Copyright Clearance Center, Inc.

222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA

Phone: (978) 750-8400 FAX: (978) 750-4744

■別刷代金■

部数	和文	欧文
50部まで	15,000円	20,000円
100部まで	20,000円	30,000円
200部まで	30,000円	40,000円
400部まで	40,000円	40,000円

(注) 端数部の場合でも、上記金額となります。

■会費規定■

正会員会費	年額	6,000円
学生会員会費	年額	1,000円
団体会員会費	年額1口	20,000円
維持会員会費	年額1口	50,000円

日本食品保蔵科学会誌 第41巻第1号 平成27年1月30日印刷発行

編集発行者 日本食品保蔵科学会 東京農業大学 生物応用化学科 食料資源理化学研究室内
〒156-8502
東京都世田谷区桜丘 1-1-1 TEL (03) 3426-3979 FAX (03) 5477-2619
郵便振替口座 00120-9-115327
銀行口座 三井住友銀行経堂支店 普通5200100
発行取扱所 (株)建帛社 〒112-0011 東京都文京区千石 4-2-15

(亜細亜印刷)