

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 41 NO. 2

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>

ラット肝臓脂質代謝関連遺伝子発現に与えるカンキツリモノイドの影響…………… (51)
 /岸田邦博・鈴木雅也・井原勇人・尾崎嘉彦

低温貯蔵がカボチャ果実の品質に及ぼす影響…………… (59)
 /鮫島陽人・満留克俊・徳永太藏・桑鶴紀充

<研究ノート>

長野県オリジナルリンゴ品種（‘シナノスイート’, ‘秋映’
 及び ‘シナノゴールド’) の果汁への加工特性 …………… (65)
 /竹内正彦・白澤隆史・滝沢 潤・後藤哲久

<研究ノート> (英文)

Rhodomyrtone, カムカム果皮に含まれる抗菌活性のあるAcylphloroglucinol …………… (71)
 /金嶋 泰・妙田貴生・中田真悠子
 藤森 嶺・戸枝一喜・西澤 信

<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 (II)…………… (77)
 /村山秀樹

<文献抄録>…………… (83)

<会 告>…………… (84)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 41 NO. 2 (2015)

<Article> (Japanese)

Effect of Citrus Limonoids on Hepatic Gene Expression Involved in Lipid Metabolism in Rats
KISHIDA Kunihiro, SUZUKI Masaya, IHARA Hayato and OZAKI Yoshihiko..... (51)

Effect of Storage at Chilling Temperatures on the Quality
of Squash Fruit (*Cucurbita maxima* Duch.)
SAMESHIMA Yoto, MITSUDOME Katsuyoshi, TOKUNAGA Taizou and KUWAZURU Norimitsu
..... (59)

<Research Note> (Japanese)

Process Suitability of the Apple Cultivers, Sinano Sweet, Akibae and Shinano Gold
KTAKEUCHI Masahiko, SHIRASAWA Takashi, TAKIZAWA Jun and GOTO Tetsuhisa ... (65)

<Research Note> (English)

Rhodomyrtonone, an Antimicrobial Acylphloroglucinol, in the Peel of *Myrciaria dubia* (Camu-camu)
KANESHIMA Tai, MYODA Takao, NAKATA Mayuko,
FUJIMORI Takane, TOEDA Kazuki and NISHIZAWA Makoto (71)

<Serialization Lecture> (Japanese)

Pear (Part II)
MURAYAMA Hideki..... (77)

ラット肝臓脂質代謝関連遺伝子発現に与える カンキツリモノイドの影響

岸田 邦博^{*1§}・鈴木 雅也^{*1}・井原 勇人^{*2}・尾崎 嘉彦^{*1}

*1 近畿大学生物理工学部食品安全工学科

*2 和歌山県立医科大学医学部RI実験施設

Effect of Citrus Limonoids on Hepatic Gene Expression Involved in Lipid Metabolism in Rats

KISHIDA Kunihiro^{*1§}, SUZUKI Masaya^{*1}, IHARA Hayato^{*2} and OZAKI Yoshihiko^{*1}

*1 Department of Science and Technology on Food Safety, Kinki University,
930 Nishimitani, Kinokawa, Wakayama 649-6493

*2 RI Center, Wakayama Medical University School of Medicine, 811-1 Kimidera, Wakayama 641-8509

This study investigated the effect of limonin and nomilin, citrus limonoids, on lipid metabolism in rats. Male Sprague-Dawley rats fed a high-fat high-cholesterol diet were orally given 50 mg/kg BW/day limonin or nomilin for 5 weeks. No significant changes in body, liver, and visceral fat weight, plasma and liver lipid profile were observed except LDL-Chol increase in nomilin group. Nomilin reduced hepatic mRNA expression of *Chrebp*, *Ppara*, *Fxr*, *Lxra* significantly and *Srebf1c*, *Abca1* marginally significantly. The gene expression related to lipogenesis (*Acaca*, *Fasn*, *Scd1*, *Me1*), β -oxidation (*Cpt1a*), cholesterol metabolism (*Hmgcr*, *Ldlr*, *Srebf2*, *Acat2*), bile acid metabolism (*Shp*, *Lrh-1*, *Hnf4a*, *Cyp7a1*, *Cyp27a1*), triglyceride synthesis (*Dgat1*, *Dgat2*), lipoprotein assembly (*Mtp*) lipid transport (*Abcg5*, *Abcg8*, *Abcb11*, *Cd36*) were not altered significantly. Limonin did not induce significant changes in hepatic gene expression analyzed in this study.

(Received Aug. 21, 2014 ; Accepted Jan. 7, 2015)

Key words : citrus limonoids, lipid metabolism, gene expression, rats, high-fat high-cholesterol diet
カンキツリモノイド, 脂質代謝, 遺伝子発現, ラット, 高脂肪・高コレステロール食

リモノイドは、ミカン科およびセンダン科の植物に含まれるトリテルペン誘導体の一群である。これまでに300種類を超えるリモノイドが報告されており、およそ3分の1はセンダン科植物であるニームとセンダンから単離されている¹⁾。カンキツ類を中心とするミカン科の植物からは、36種類のアグリコンと17種類の配糖体が見い出されており²⁾、これらをセンダン科由来のものと区別してカンキツリモノイドと呼んでいる。センダン科の植物は、食品として利用されているものはほとんどなく、一般に機能性食品成分として重要視されるのはカンキツリモノイドである。カンキツリモノイドの生理機能については、抗菌、抗ウイルス、発ガン予防作用に加え、脂質代謝改善作用が報告されている³⁾。

KUROWSKAらはカンキツ果汁がウサギの血清コレステ

ロール (Chol) の低下作用をもつことを見出し^{4),5)}、その後、オレンジジュースを用いたヒト介入試験においてもHDL-Cholの上昇ならびにトリグリセリド (TG) の低下作用が認められたことから⁶⁾、関与成分の検討が進められ、リモノイドが関与成分のひとつであることが示唆されている。HepG2細胞を用いた培養細胞系では、リモノイドのアグリコンがApoB生成を抑制することで、LDL合成を低下させることが報告されている⁷⁾。

最近、Onoらは、カンキツリモノイドのひとつであるノミリンが胆汁酸受容体であるThe G Protein-Coupled Bile Acid Receptor (TGR5) に対する高いリガンド活性を有し、インクレチン分泌促進やエネルギー消費増大により抗糖尿病、抗肥満作用が期待できることを報告している⁸⁾。本研究は、カンキツリモノイドの脂質代謝改

*1 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷930

§ Corresponding author, E-mail: kishida@waka.kindai.ac.jp

*2 〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺811-1

善作用に着目し、主要なカンキツリモノイドであるリモニンおよびノミリンを用いて、ラット肝臓での脂質代謝関連遺伝子の発現におよぼす影響を中心に検討した。

実験方法

1. 被検物質

リモニンおよびノミリン（純度約90% グレープフルーツ種子由来）は米国農務省農業研究機構果実・野菜化学研究所の長谷川信博士より供与いただいたものを用いた。

2. 実験動物および飼育条件

6週齢のSprague-Dawley (SD) 系の雄性ラットを紀和実験動物研究所(株)より購入し実験に供した。標準固形飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業(株)) で1週間予備飼育した後、1群4匹としてリモニン (HF+L) 群, ノミリン (HF+N) 群, コントロール (HF) 群, 標準食コントロール (NC) 群の4群に分けた。実験飼料として高脂肪・高コレステロール食 (CRF-1飼料にラード15%, コレステロール1%, コール酸ナトリウム0.25%を含むよう調製した固形飼料, オリエンタル酵母工業(株)) を用い, HF+L群, HF+N群, HF群に給餌した。NC群には, CRF-1を給餌した。HF+L群およびHF+N群には, リモニンまたはノミリンを50mg/kgBWとなるようイントラリボス (大塚製薬工場(株)) に懸濁させたものを胃ゾンデにより毎日一定時刻 (午前10~11時) に強制経口投与した。HF群にはイントラリボスのみを投与した。室温20±1℃, 午前8時から午後8時点灯の明暗サイクルの環境下で5週間飼育した。飼料および水は自由摂取とし, 飼育期間中は体重および摂餌量の測定を毎日行った。投与試験開始日, 2週後, 4週後に17時間絶食後, 尾静脈より採血し, 血糖値, 血漿中のTG, 総Chol (T-Chol), HDL-Chol, リン脂質 (PL), 遊離脂肪酸 (FFA) の測定を行った。投与試験最終日には, 絶食させずに麻酔下で腹部大動脈から全採血して屠殺し, 血液は血漿中TGおよびT-Cholの測定に用いた。肝臓は重量測定後, 一部を採取しRNAlater (ライフテクノロジーズ(株)) に浸漬後, 分析まで-80℃で保存し, 残りはTG, T-Chol, PLの測定に用いるため-30℃で保存した。内臓脂肪として, 副腎丸周囲脂肪, 腎周囲脂肪, 腸間膜脂肪を摘出し重量を測定した。本研究は, 近畿大学動物実験委員会の承認を得て (承認番号KABT-24-002), 「近畿大学動物実験規程」に則り実施した。

3. 生化学的パラメーター測定

血糖値は, 血糖測定器グルテストNeoスーパー (三和化学研究所(株)) を用いて測定した。投与試験開始日, 2週後, 4週後の血漿中TG, T-Chol, HDL-Chol, PL, FFAはそれぞれトリグリセライドE-テストワコー, 総コレステロールE-テストワコー, HDL-コレステロールE-テストワコー, リン脂質C-テストワコー, NEFA C-テストワコー (いずれも和光純薬(株)) を用いて測定し

た。投与試験終了時の血漿リポタンパク質 (カイロミクロン, VLDL, LDL, HDL) 中TGおよびCholならびに肝臓中TG, T-Chol, PL測定は, スカイライトバイオテック(株)に分析を委託した。

4. 脂質代謝関連遺伝子発現の測定

肝臓からのRNA抽出はRNeasy Lipid Tissue Mini Kit (キアゲン(株)) を用いて実施し, 得られた総RNAからiScript RT Supermix for RT-qPCR (バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)) を用いてcDNA合成を行った。mRNA発現量の解析は, SsoFast EvaGreen Supermix (バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)) を用い, 分析装置はMiniOpticonリアルタイムPCRシステム (バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)) を使用した。PCR反応は, 各サンプルduplicateで実施し, Ct値 (Threshold Cycle) の差が1%以下のものを採用した。解析した遺伝子およびプライマーの配列をTable 1に示す。脂質代謝との関連は以下のとおりである。

脂肪酸生合成: *Acaca, Fasn, Scd1, Mel, Srebflc, Chrebp, Lxra*

コレステロール生合成・取込み: *Hmgcr, Ldlr, Srebflc*

脂肪酸酸化: *Ppara, Cpt1a*

胆汁酸生合成: *Fxr, Lxra, Shp, Lrh-1, Hnf4a, Cyp7a1, Cyp27a1*

コレステロール輸送: *Abca1, Abcg5, Abcg8*

胆汁酸輸送: *Abcb11*

リポタンパク質合成: *Mttp*

中性脂肪合成: *Dgat1, Dgat2*

コレステロールエステル合成: *Acat2*

脂肪酸輸送: *Cd36*

プライマーはタカラバイオ(株)または北海道システム・サイエンス(株)より購入した。mRNAの発現量は *Ribosomal protein S18 (Rps18)* に対する相対発現量として算出した。

5. 統計処理

得られたデータは平均値±標準誤差で表し, 一元配置分散分析による検定後, Tukey法による多重比較を行った。危険率5%未満を有意とした。

実験結果

1. 摂餌量, 体重, 臓器重量, 血漿および肝臓中脂質

投与試験期間中 (0, 2, 4週時) の血糖値, 血漿中脂質の推移をFig 1に示す。血糖値, TG, T-Chol, FFAはいずれの採血時にも群間で差は認められなかった。PLは, 0週時にHF+N群がNC群に対して高く, 2週時にはHF群がほかの3群に対して高い値を示したが, 4週時には群間に差は認められなかった。HDL-Cholは, 2週時にNC群がほかの3群に対して高い値を示したが, 4週時には群間に差は認められなかった。投与試験終了時における各種パラメーターをTable 2に示す。総摂餌量, 体重, 副腎丸周囲脂肪, 腎周囲脂肪, 腸間膜脂肪

Table 1 Primer sequences used for real-time PCR

Gene name	Symbol	Accession no.	Direction	Primer sequence (5'→3')	Fragment size (bp)
<i>Acetyl-CoA carboxylase alpha</i>	<i>Acaca</i>	NM_022193	Forward	CACATCGGTCCTGTGTCAGTTTC	124
			Reverse	CTGGACAATGCTCTGGGTGTTTC	
<i>Fatty acid synthase</i>	<i>Fasn</i>	NM_017332	Forward	GCTGCTACAAACAGGACCATCAC	109
			Reverse	TCTTGCTGGCCTCCACTGAC	
<i>Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1</i>	<i>Scd1</i>	NM_139192	Forward	AAACACCCGGCTGTCAAAGA	179
			Reverse	ACGAACAGGCTGTGCAGGA	
<i>Malic enzyme 1, NADP(+) -dependent, cytosolic</i>	<i>Me1</i>	NM_012600	Forward	GTGTTTGCCCATGAACATGAAGA	142
			Reverse	GCTCGTTGAAGGCAGCCATA	
<i>Sterol regulatory element binding transcription factor 1 transcript variant 2</i>	<i>Srebf1c</i>	NM_001276708	Forward	GCCACAAATGCCATTGAGA	40
			Reverse	CAGGTCCTTGAGCTCCACAATC	
<i>MLX interacting protein-like (Mlxip1) Also known as Chrebp</i>	<i>Chrebp</i>	NM_133552	Forward	TCCAGGTGTTCCACTCATCATCTC	86
			Reverse	ACCAGGGATCACACCATTAGCA	
<i>3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase</i>	<i>Hmgcr</i>	NM_013134	Forward	TGGCAGGACGCAACCTCTAC	150
			Reverse	AATAGTTACCACTGACCGCCAGAA	
<i>Low density lipoprotein receptor</i>	<i>Ldlr</i>	NM_175762	Forward	TGGTGACCGAGGACATCCAG	86
			Reverse	GTGGAGTTTGAATCAACCCAATAG	
<i>Sterol regulatory element binding transcription factor 2</i>	<i>Srebf2</i>	NM_001033694	Forward	TTCAGCACCGCTCCACAGA	145
			Reverse	GCACCTGCTGCTGGATGGTA	
<i>Peroxisome proliferator activated receptor alpha</i>	<i>Ppara</i>	NM_013196	Forward	GGTGCATTTGGGCGTAACTC	148
			Reverse	TGATGACAACGCTCTGTGTCCTG	
<i>Carnitine palmitoyltransferase 1a, liver nuclear gene encoding mitochondrial protein</i>	<i>Cpt1a</i>	NM_031559	Forward	AGGTCGGAAGCCCATGTTGTA	138
			Reverse	GCTGTCATGCGCTGGAAGTC	
<i>Nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4 (Nr1h4), Also known as Fxr</i>	<i>Fxr</i>	NM_021745	Forward	GGTGTTCGAAATGAATCTGATTGG	183
			Reverse	GAGATCTGTGGCTGAACTTGAGGA	
<i>Nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3 (Nr1h3), Also known as Lxra</i>	<i>Lxra</i>	NM_031627	Forward	AGAGATGTCTTGTGGCTGGAG	92
			Reverse	CTCCTGCATCTTGAGGTTCTGTC	
<i>Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2 (Nr0b2), Also known as Shp</i>	<i>Shp</i>	NM_057133	Forward	GCAGCACTGCCTGGAGTCTT	134
			Reverse	CCTGTTGCAGGTGTGCAATGT	
<i>Nuclear receptor subfamily 5, group A, member 2 (Nr5a2), Also known as Lrh-1</i>	<i>Lrh-1</i>	NM_021742	Forward	CATTGTTGAGTGGGCCAGGA	127
			Reverse	ATGTGCTACTTGCCGTAATGTG	
<i>Hepatocyte nuclear factor 4, alpha</i>	<i>Hnf4a</i>	NM_022180	Forward	GGTCGAATGGCCAAGTACATC	142
			Reverse	TAGGAGCAGCACATCCTTGAACAC	
<i>Cytochrome P450, family 7, subfamily a, polypeptide 1</i>	<i>Cyp7a1</i>	NM_012942	Forward	CAAGTCAAGTGTCCTCTAGA	73
			Reverse	ACTCAATATCATGTAGTGGTGCCAAA	
<i>Cytochrome P450, family 27, subfamily a, polypeptide 1</i>	<i>Cyp27a1</i>	NM_178847	Forward	GTGTCGGAGATCCCAGTGT	66
			Reverse	CTTCTCAGCCATCGGTGA	
<i>ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 1</i>	<i>Abca1</i>	NM_178095	Forward	CCAGGAGCGTGTGAGCAAAG	120
			Reverse	ACCAGTGTAGCAGGGACCACATAA	
<i>ATP-binding cassette, subfamily G (WHITE), member 5</i>	<i>Abcg5</i>	NM_053754	Forward	CGTACACCGGCATGTCAAC	85
			Reverse	TGGTACAGGCCATCTGACTCTC	
<i>ATP-binding cassette, subfamily G (WHITE), member 8</i>	<i>Abcg8</i>	NM_130414	Forward	TACTACGGCCACGCAGACAAG	117
			Reverse	CGAGTGACATTTGGAGACGACA	
<i>ATP-binding cassette, subfamily B (MDR/TAP), member 11</i>	<i>Abcb11</i>	NM_031760	Forward	CGGCATGACCGTACTTATCCTTG	143
			Reverse	CCACAGAAGTGCAGTCCAACC	
<i>Microsomal triglyceride transfer protein</i>	<i>Mtp</i>	NM_001107727	Forward	AAAGCCGAGGCTCCACTCA	112
			Reverse	GGAGTTCACATCCGGGCACTA	
<i>Diacylglycerol O-acyltransferase 1</i>	<i>Dgat1</i>	NM_053437	Forward	CTCAGACAGCGGTTTCAGCAATTA	125
			Reverse	GGATGGGATCCACCAGGATG	
<i>Diacylglycerol O-acyltransferase 2</i>	<i>Dgat2</i>	NM_001012345	Forward	ACTTCACCTGGCTGGCATTTG	140
			Reverse	GGTCAGCAGGTTGTGTGCTTCA	
<i>Acetyl-CoA acetyltransferase 2</i>	<i>Acat2</i>	NM_001006995	Forward	CCGATTCAGCCATAAAGCAA	97
			Reverse	CAGACACTGCTGCAAAGGCTTC	
<i>CD36 molecule (thrombospondin receptor)</i>	<i>Cd36</i>	NM_031561	Forward	AACCAATGGAGCCATCTTTGA	131
			Reverse	GTTGAGCACACCTTGAACAAATGAG	
<i>Ribosomal protein S18</i>	<i>Rps18</i>	NM_213557	Forward	AAGTTTCAGCACATCCTGCGAGTA	140
			Reverse	TGGTGAGGTCAATGTCTGCTTTC	

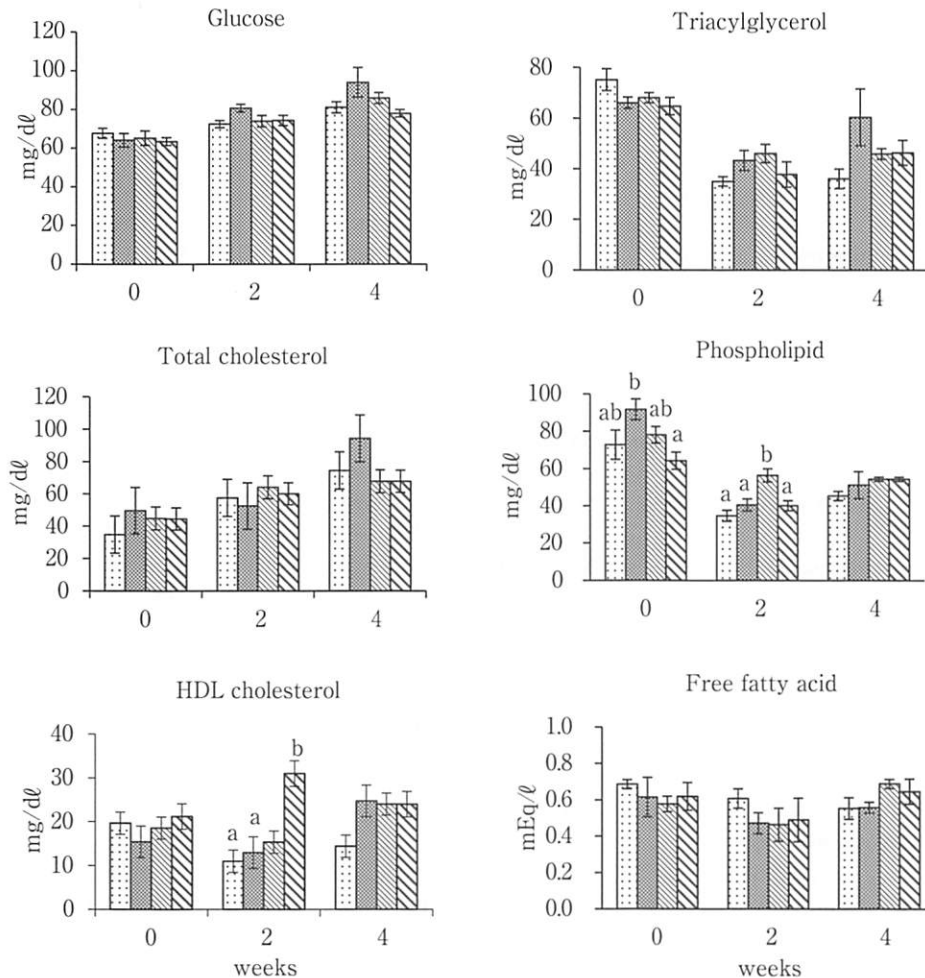


Fig.1 Plasma glucose and lipid concentrations of rats fed experimental diets at 0, 2, 4 weeks

Data are given as mean \pm SEM (n = 4). Mean values with different letters were significantly different (p < 0.05).

□, high-fat diet + limonin; ■, high-fat diet + nomilin; ▨, high-fat diet control; ▩, normal diet control

肪, 総内臓脂肪量はいずれも群間に差は認められなかった。肝臓重量は, NC群に対してHF+N群, HF群が有意に高く, HF+L群は高い傾向を示した。血漿中TGは, Total, VLDL, LDL画分においてNC群がほかの3群に対して有意に高い値を示した。Cholは逆に, Total, VLDL画分においてNC群がほかの3群に対して有意に低く, LDL画分についても同様の傾向が認められた。LDL-Cholは, HF+N群がHF群に対して有意に高い値を示した。肝臓中TGおよびT-Cholは, NC群がほかの3群に対して有意に低く, PLはNC群がほかの3群に対して有意に高い値を示した。以上の結果より, 高脂肪・高コレステロール食給餌下で体重, 臓器重量, 生化学的パラメーターに与えるカンキツリモノイド摂取の影響は認められなかった。

2. 脂質代謝関連遺伝子の発現

解析した27遺伝子の相対発現量をTable 3に示す。HF群とNC群を比較すると*Me1*, *Chrebp*, *Hmgcr*, *Ldlr*, *Acat* 2の発現量は, HF群が有意に低く, *Srebf1c*, *Ppara*, *Abca1*, *Abcg5*の発現量はHF群が高かった。これは高脂肪・

高コレステロール食摂取により脂肪酸およびコレステロール合成の低下, コレステロールの肝臓への取込み低下および排出の亢進を示唆するものである。しかし, リポジェニック酵素の転写因子である*SREBF1c*のmRNA発現には相反する変動を認めた。胆汁酸合成および輸送, リポタンパク質合成, 中性脂肪合成, 脂肪酸輸送に関連する遺伝子の変動は認められなかった。

カンキツリモノイド摂取の影響として, HF+N群がHF群と比較して*Chrebp*, *Ppara*, *Fxr*, *Lxra*の発現量が有意に低く, *Srebf1c*, *Abca1*の発現量も低い傾向が示された(それぞれp=0.064, p=0.058)。HF+L群はHF群との差は認められなかった。

考 察

リモニンおよびノミリンは, Hep G2細胞においてApoBの生成抑制を介して, LDL合成を低下させることが報告されている⁷⁾。また, ノミリンは, TGR5のリガンド活性を有し, C57BL/6Jマウスを用いた高脂肪食投与試験で耐糖能改善や抗肥満効果が報告されている⁸⁾。

Table 2 Effect of limonin or nomilin on food intake, body and organ weights, lipid profile in plasma and liver

	HF + limonin	HF + nomilin	HF	NC
Total food intake (g)	858 ± 32	860 ± 61	906 ± 5.7	806 ± 15
Body weight				
Initial (g)	213 ± 5.5	215 ± 6.1	209 ± 2.9	202 ± 1.4
Final (g)	501 ± 14	495 ± 44	505 ± 19	430 ± 14
Liver weight (g)	26.2 ± 1.4 ^{ab}	29.9 ± 4.5 ^a	29.3 ± 2.1 ^a	15.3 ± 1.0 ^b
Visceral fat weight (g)				
Epididymal	8.18 ± 0.67	8.36 ± 1.4	8.61 ± 0.47	9.12 ± 0.75
Perinephric	14.1 ± 1.4	15.5 ± 2.7	14.1 ± 1.6	12.6 ± 0.74
Mesenteric	7.24 ± 0.84	8.37 ± 1.16	7.51 ± 0.55	7.55 ± 0.11
Total	29.5 ± 2.7	32.2 ± 5.1	30.2 ± 1.6	29.3 ± 1.4
Plasma lipid concentrations				
Triacylglycerol (mg/dl)				
CM	5.78 ± 1.4 ^{ab}	3.04 ± 0.43 ^a	6.67 ± 2.6 ^{ab}	13.0 ± 2.2 ^b
VLDL	34.6 ± 8.4 ^a	24.1 ± 4.8 ^a	41.3 ± 13 ^a	102.7 ± 19 ^b
LDL	3.51 ± 0.25 ^a	2.98 ± 0.51 ^a	3.12 ± 0.60 ^a	7.02 ± 0.98 ^b
HDL	1.98 ± 0.60	1.81 ± 0.15	2.08 ± 0.44	2.68 ± 0.40
Total	45.8 ± 9.3 ^a	32.0 ± 5.7 ^a	53.2 ± 16 ^a	125 ± 22 ^b
Cholesterol (mg/dl)				
CM	4.45 ± 1.3	3.18 ± 1.3	5.89 ± 1.9	0.64 ± 0.089
VLDL	75.2 ± 20 ^a	58.9 ± 7.5 ^a	64.6 ± 6.6 ^a	7.03 ± 1.4 ^b
LDL	19.7 ± 1.5 ^{ab}	22.8 ± 3.2 ^a	13.4 ± 1.6 ^{bc}	8.10 ± 0.69 ^c
HDL	21.9 ± 0.67 ^a	25.8 ± 3.6 ^{ab}	26.5 ± 2.3 ^{ab}	35.9 ± 3.0 ^b
Total	121 ± 24 ^a	111 ± 8.8 ^a	110 ± 6.1 ^a	51.7 ± 2.7 ^b
Liver lipid concentrations (mg/g)				
Triacylglycerol	77.1 ± 4.6 ^a	93.5 ± 4.5 ^a	101 ± 10 ^a	12.6 ± 2.7 ^b
Cholesterol	96.8 ± 9.4 ^a	110 ± 3.2 ^a	109 ± 3.0 ^a	1.78 ± 0.048 ^b
Phospholipid	15.9 ± 0.95 ^a	17.1 ± 0.49 ^a	16.7 ± 0.47 ^a	21.7 ± 0.19 ^b

The data are given as mean ± SEM (n = 4). HF, high-fat diet; NC, normal diet control

CM, chylomicron; VLDL, very low density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein

Mean values with different letters were significantly different (p < 0.05).

しかし、これらカンキツリモノイドの生理作用について、糖質・脂質代謝の主要臓器である肝臓での遺伝子発現に与える影響を解析した研究は見当たらない。

本研究では、カンキツリモノイドの効果を検討するため、実験食としてラード15%、コレステロール1%、コール酸ナトリウム0.25%を含むHF食を使用した。HF食により肝臓の脂質含量は著しく上昇し、脂肪肝を発症させたことが確認された。試験終了時の血漿中脂質については、VLDLおよびLDL画分中TG濃度はNC食と比較して低く、Chol濃度は反対にVLDLおよびLDL画分で高かったことから、Cholに富むVLDLが分泌されていたことが示唆された。高脂肪食給餌にもかかわらず血漿中TGの低下が認められた理由としては、肝臓への大量のCholの流入に伴い、Cholを脂肪酸エステルとして貯蔵するため、多量の脂肪酸が肝臓で使用され、その結果として血漿中TGの減少を認めたものと考えられる。HAらは、ラードおよびコレステロールを負荷した飼料で、本研究と同様にSD系ラットの血漿中TGの低下、Cholの上昇を報告している⁹⁾。投与試験期間中(2週, 4週)の血漿中

脂質については、2週時に一部差が認められたものもあったが、4週時にはいずれの群間にも差が認められず試験終了時の脂質プロファイルと一致しなかった。この点については、4週時から5週時にかけて脂質プロファイルに急激な変化が生じたことは考えにくい。絶食の有無による影響が考えられるが詳細は不明である。肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現については、HF食により*Mel*, *Chrebp*, *Hmgcr*, *Ldlr*, *Acat2*の低下、*Srebf1c*, *Ppara*, *Abcal*, *Abcg5*の上昇が認められた。これらは、HF食による脂質プールの増大に伴う生体恒常性維持のための代償反応であると推察されるが、高脂肪食あるいは高脂肪・高コレステロール食により脂肪酸生合成の亢進を認めた報告もあり、肝臓での脂質代謝関連遺伝子の変動について一定した見解は得られていない^{10)~15)}。動物種や系統、飼料組成(脂質の種類, 比率, Cholおよび胆汁酸添加の有無), 投与期間等の違い等が影響しているものと考えられる。

本研究では、体重、臓器重量、生化学的パラメーターに関して、カンキツリモノイド摂取による脂質代謝改善

Table 3 Effect of citrus limonoid on hepatic gene expression involved in lipid metabolism

Gene Symbol	HF+ limonin	HF + nomilin	HF	NC
<i>Acaca</i>	63.8 ± 5.6 ^a	68.2 ± 2.0 ^a	100 ± 24 ^{ab}	169 ± 32 ^b
<i>Fasn</i>	56.1 ± 20 ^{ab}	36.5 ± 4.6 ^a	100 ± 45 ^{ab}	284 ± 92 ^b
<i>Scd1</i>	92.3 ± 12	68.3 ± 8.0	100 ± 8.9	68.1 ± 20
<i>Me1</i>	80.4 ± 10 ^a	92.4 ± 6.3 ^a	100 ± 10 ^a	316 ± 42 ^b
<i>Srebf1c</i>	95.8 ± 17 ^a	55.2 ± 8.0 ^{ab}	100 ± 15 ^a	33 ± 2.0 ^b
<i>Chrebp</i>	85.7 ± 2.0 ^{ab}	69.9 ± 4.1 ^a	100 ± 2.6 ^b	132 ± 10 ^c
<i>Hmgcr</i>	98.4 ± 5.5 ^a	90.7 ± 4.4 ^a	100 ± 11 ^a	453 ± 20 ^b
<i>Ldlr</i>	103 ± 5.0 ^a	59.1 ± 7.7 ^a	100 ± 20 ^a	184 ± 15 ^b
<i>Srebf2</i>	86.2 ± 5.7 ^a	80.6 ± 3.2 ^a	100 ± 8.7 ^{ab}	130 ± 16 ^b
<i>Ppara</i>	78.5 ± 7.4 ^{ab}	61.8 ± 9.5 ^a	100 ± 9.4 ^b	60.4 ± 8.0 ^a
<i>Cpt1a</i>	82.7 ± 15	75.2 ± 5.0	100 ± 12	107 ± 15
<i>Fxr</i>	85.9 ± 7.6 ^{ab}	70.1 ± 7.4 ^a	100 ± 3.4 ^b	96.2 ± 8.8 ^{ab}
<i>Lxra</i>	83.1 ± 3.1 ^{ab}	65.8 ± 3.4 ^a	100 ± 2.8 ^b	82.4 ± 10 ^{ab}
<i>Shp</i>	65.3 ± 7.8	66.8 ± 32	100 ± 18	30.4 ± 9.0
<i>Lrh-1</i>	105 ± 6.2	107 ± 11	100 ± 7.6	133 ± 18
<i>Hnf4a</i>	117 ± 6.1	80.1 ± 12	100 ± 10	87.3 ± 7.0
<i>Cyp7a1</i>	97.7 ± 18	72.0 ± 20	100 ± 32	86.9 ± 37
<i>Cyp27a1</i>	87.0 ± 4.6	92.8 ± 14	100 ± 7.0	124 ± 13
<i>Abca1</i>	96.5 ± 4.7 ^{ab}	76.9 ± 6.4 ^{ab}	100 ± 4.6 ^a	75.8 ± 6.4 ^b
<i>Abcg5</i>	128 ± 35 ^a	57.2 ± 2.7 ^{ab}	100 ± 21 ^a	19.1 ± 6.2 ^b
<i>Abcg8</i>	146 ± 43	64.7 ± 12	100 ± 30	94.8 ± 36
<i>Abcb11</i>	115 ± 10	89.3 ± 1.4	100 ± 7.3	116 ± 15
<i>Mttp</i>	98.7 ± 8.4 ^{ab}	87.7 ± 4.4 ^a	100 ± 2.4 ^{ab}	131 ± 12 ^b
<i>Dgat1</i>	113 ± 8.9	98.2 ± 4.2	100 ± 3.6	94.6 ± 12
<i>Dgat2</i>	95.3 ± 16 ^{ab}	72.2 ± 4.8 ^a	100 ± 5.1 ^{ab}	115 ± 9.9 ^b
<i>Acat2</i>	117 ± 8.6 ^a	102 ± 10 ^a	100 ± 4.6 ^a	560 ± 100 ^b
<i>Cd36</i>	90.9 ± 30	121 ± 25	100 ± 7.5	58.2 ± 4.8

The data are given as mean ± SEM (n = 4). HF, high-fat diet; NC, normal diet control mRNA levels were normalized to *Rps18*.

Mean values with different letters were significantly different (p < 0.05).

作用を示唆するものは認められなかった。むしろ、LDL-Cholについては、HF+N群がHF群に対して有意に高い値であった。この理由は明らかではなく、LDL-Cholの上昇についてさらなる検証が必要である。

ノミリンは、TGR5に対して内因性のリガンドであるケノデオキシコール酸と同程度のリガンド活性を有し、小腸L細胞からのインクレチン分泌上昇さらには褐色脂肪組織での脂肪酸β酸化および熱産生を亢進させることが示されており、マウスを用いた試験で、経口ブドウ糖負荷試験での耐糖能改善効果や高脂肪食誘導性肥満に対する体重増加抑制効果が報告されている¹⁸⁾。本研究では、このような効果は認められなかった。この理由として、動物種が異なることに加え、上記の報告では、ノミリンを0.2%混餌した飼料を給餌しており、投与量が本研究の2倍強である110~130mg/kgBWとなることや、Pair-feeding、屠殺前の絶食による影響などが考えられる。最近、池田はPair-feedingは実験群と対照群での摂食パターンの差異を生じさせ、脂質代謝に影響を及ぼすことを指摘し、さらに絶食は、肝臓重量および肝臓中性脂肪

量の減少、脂肪酸合成系酵素のmRNA発現量の著しい減少を引き起こすことを報告している¹⁶⁾。これらの理由から、本研究では、リモノイドの苦味による摂餌量への影響を回避するため強制経口投与法を適用し、自由摂食とした。また、投与試験期間中(2週および4週)は絶食下で採血して糖代謝・脂質代謝異常をモニターし、試験終了時の血漿・肝臓脂質および遺伝子発現解析には非絶食下でのサンプリングを適用した。

本研究では、ノミリン摂取により*Chrebp*、*Ppara*、*Fxr*、*Lxra*の発現量が有意に低下し、*Srebf1c*、*Abca1*の発現量も低下傾向が示された。したがってノミリンは以下の作用を有する可能性がある。

- ① 脂肪酸合成の抑制 (*Srebf1c*、*Chrebp*、*Lxra*の発現低下または低下傾向より)
 - ② 脂肪酸酸化の抑制 (*Ppara*の発現低下より)
 - ③ 胆汁酸合成の亢進および抑制(それぞれ*Fxr*、*Lxra*の発現低下より)
 - ④ HDL産生の抑制 (*Abca1*の発現低下より)
- SREBF1c, ChREBP, LXRαは、いずれもリポジェニッ

ク酵素の転写因子であることから、これらのmRNA発現低下により脂肪酸合成の抑制が推測されるが、本研究では、血中脂質や肝臓中脂質に有意な変動は認められなかった。これは、リポジェニック酵素であるACACA, FASN, SCD1, ME1のmRNA発現量に差が認められなかったことから、転写因子の発現低下による影響は小さく、代謝を変動させるに及ばなかったものと考えられる。ChREBPおよびSREBF1cは、糖質過剰摂取によりそれぞれグルコース代謝産物およびインスリンにより活性化され、インスリン抵抗性を示すマウスの肝臓では、SREBF1c発現が恒常的に充進していることが示されている¹⁷⁾。今回の投与試験では、投与試験開始4週後の空腹時血糖値は正常であり、糖代謝異常を認めるに至らなかったことから、糖尿病モデル動物等を用いた糖代謝異常下では、ノミリンの影響が脂質プロファイルの改善としてより顕著に観察できる可能性がある。PPAR α のmRNA発現低下についても、制御下にある脂肪酸 β 酸化の律速酵素であるCPT 1 AのmRNA発現に有意な低下が認められなかったことから、実際の代謝への影響が認められなかったと思われる。胆汁酸の生合成については、正の調節因子であるLXR α 、負の調節因子であるFXRのいずれもmRNA発現は低下していた。LXR α は、酸化コレステロールをリガンドとして活性化される核内受容体であり、コレステロールから胆汁酸への代謝経路の律速酵素CYP7A1の発現を正に制御する¹⁸⁾。一方、FXRは胆汁酸をリガンドとしてSHP, LRH-1を介してCYP7A1の発現を負に制御する。Lxra, Fxrの発現はいずれも低下していたが、Cyp7a1の発現に有意な変動は認められず、胆汁酸生合成(コレステロール異化)への影響が認められなかったものと考えられる。ABCA1は、肝臓からのHDL新生を担うトランスポーターであり、LXR α により正の調節を受ける。Lxraの発現低下によりAbca1の発現低下が引き起こされたものと考えられるが、血漿中HDL-Cholに差は認められなかった。この理由は明らかではないが、ABCA1タンパクの発現量解析など、さらなる検討が必要である。

以上の結果より、ノミリン摂取により肝臓での脂質代謝に関連する複数の遺伝子発現が変動することが明らかになった。しかし、これらの変動が生体に与える影響は明確でなく、体重、臓器重量、生化学パラメーター等の表現型について差は認められなかった。今後、カンキツリモノイドの投与量および期間の検討、さらには給餌飼料を高糖質食、コレステロール無添加食、胆汁酸無添加食等に置きかえて、カンキツリモノイド摂取の影響をより詳細に検討する必要がある。

要 約

カンキツリモノイドであるリモニン、ノミリンの脂質代謝に与える影響を検討した。Sprague-Dawley系雄性ラットに高脂肪・高コレステロール食を給餌し、リモニ

ンまたはノミリンを50mg/kgBW/day経口投与し、5週間飼育した。摂餌量、体重、肝臓および内臓脂肪重量、血糖値、血中脂質、肝臓中脂質について、ノミリン群でのLDL-Chol上昇を除いて、有意な差は認められなかった。ノミリン投与によりChrebp, Ppara, Fxr, Lxraの発現量は有意に低下し、Srebf1c, Abca1の発現量も低下傾向が示された。脂肪酸生合成(Acaca, Fasn, Scd1, Me1), β 酸化(Cpt1a), コレステロール代謝(Hmgcr, Ldlr, Srebf2, Acat2), 胆汁酸代謝(Shp, Lrh-1, Hnf4a, Cyp7a1, Cyp27a1), トリグリセリド合成(Dgat1, Dgat2), リポタンパク会合(Mtp), 脂質輸送(Abcg5, Abcg8, Abcb11, Cd36)に関連する有意な差は認められなかった。リモニン投与では、いずれの遺伝子発現にも差は認められなかった。

文 献

- 1) ROY, A. and SARAF, S.: Limonoids: Overview of Significant Bioactive Triterpenes Distributed in Plants Kingdom, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 191~201 (2006)
- 2) HASEGAWA, S.: Citrus Limonoids (American Chemical Society), pp.9~30 (2000)
- 3) MANNERS, G. D.: Citrus Limonoids: Analysis, Bioactivity, and Biomedical Prospects, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8285~8294 (2007)
- 4) KUROWSKA, E. M., VANDENBERG, T., MANTHEY, J. A., HASEGAWA, S. and MANNERS, G. D.: Regulation of cholesterol metabolism by citrus juices, flavonoids, and limonoids, 9th Congress of the International Society of Citriculture (International Society of Citriculture, Orlando, FL), pp.1192~1194 (2000)
- 5) KUROWSKA, E. M., BORRADAILE, N. M., SPENCE, J. D. and CARROLL, K. K.: Hypocholesterolemic effects of dietary citrus juices in rabbits, *Nutr. Res.*, **20**, 121~129 (2000)
- 6) KUROWSKA, E. M., SPENCE, J. D., JORDAN, J., WETMORE, S., FREEMAN, D. J., PICHÉ, L. A. and SERRATORE, P.: HDL cholesterol raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia, *Am. J. Clin. Nutr.*, **72**, 1095~1100 (2000)
- 7) KUROWSKA, E. M., BANH, C., HASEGAWA, S. and MANNERS, G. D.: Regulation of apo B production by HepG 2 cells by citrus limonoids, *Citrus Limonoids*, **758**, 175~184 (2000)
- 8) ONO, E., INOUE, J., HASHIDUME, T., SHIMIZU, M. and SATO, R.: Anti-obesity and anti-hyperglycemic effects of the dietary citrus limonoid nomilin in mice fed a high-fat diet, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **410**, 677~681 (2011)

- 9) HA, A. W. and KIM, W. K.: The effect of fucoxanthin rich powder on the lipid metabolism in rats with a high fat diet, *Nutr Res Pract.*, **7**, 287~293 (2013)
- 10) FURUYASHIKI, T., OGAWA, R., NAKAYAMA, Y., HONDA, K., KAMISOYAMA, H., TAKATA, H., YASUDA, M., KURIKI, T. and ASHIDA, H.: Enzymatically synthesized glycogen reduces lipid accumulation in diet-induced obese rats, *Nutr. Res.*, **33**, 743~752 (2013)
- 11) BANSODE, R. R., RANDOLPH, P., HURLEY, S. and AHMEDNA, M.: Evaluation of hypolipidemic effects of peanut skin-derived polyphenols in rats on Western-diet, *Food Chem.*, **135**, 1659~1666 (2012)
- 12) GUO, F., HUANG, C., LIAO, X., WANG, Y., HE, Y., FENG, R., LI, Y. and SUN, C.: Beneficial effects of mangiferin on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters, *Mol. Nutr. Food Res.*, **55**, 1809~1818 (2011)
- 13) YANG, D. J., CHANG, Y. Y., HSU, C. L., LIU, C. W., LIN, Y. L., LIN, Y. H., LIU, K. C. and CHEN, Y. C.: Antiobesity and hypolipidemic effects of polyphenol-rich longan (*Dimocarpus longans* Lour.) flower water extract in hypercaloric-dietary rats, *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 2020~2027 (2010)
- 14) FERRAMOSCA, A., CONTE, A., DAMIANO, F., SICULELLA, L. and ZARA, V.: Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diets on hepatic lipogenesis in rats, *Eur. J. Nutr.*, **53**, 1103~1104 (2014)
- 15) KIM, S., SOHN, I., AHN, J. I., LEE, K. H., LEE, Y. S. and LEE, Y. S.: Hepatic gene expression profiles in a long-term high-fat diet-induced obesity mouse model, *Gene.*, **340**, 99~109 (2004)
- 16) 池田郁男: 動物試験における遺伝子解析や酵素活性測定で脂質代謝制御は明らかにできるのか?—絶食やPair-feedingに伴うさらなる混乱—, *化学と生物*, **50**, 710~716 (2012)
- 17) SHIMOMURA, I., MATSUDA, M., HAMMER, R. E., BASHMAKOV, Y., BROWN, M. S. and GOLDSTEIN, J. L.: Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice, *Mol. Cell.*, **6**, 77~86 (2000)
- 18) JOSEPH, S. B., LAFFITTE, B. A., PATEL, P. H., WATSON, M. A., MATSUKUMA, K. E., WALCZAK, R., COLLINS, J. L., OSBORNE, T. F. and TONTONoz, P.: Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors, *J. Biol. Chem.*, **277**, 11019~11025 (2002)
(平成26年8月21日受付, 平成27年1月7日受理)

低温貯蔵がカボチャ果実の品質に及ぼす影響

鮫島陽人^{*1§}・満留克俊^{*2}・徳永太藏^{*3}・桑鶴紀充^{*4}

* 1 鹿児島県農産物加工研究指導センター

* 2 鹿児島県農業開発総合センター

* 3 鹿児島県曾於畑地かんがい農業推進センター

* 4 鹿児島県農業開発総合センター徳之島支場

Effect of Storage at Chilling Temperatures on the Quality of Squash Fruit (*Cucurbita maxima* Duch.)

SAMESHIMA Yoto^{*1§}, MITSUDOME Katsuyoshi^{*2},
TOKUNAGA Taizou^{*3} and KUWAZURU Norimitsu^{*4}

* 1 *Kagoshima Prefectural Institute of Food Processing and Utilization, 2200, Oono, Kinpou-cho, Minamisatsuma-shi, Kagoshima 899-3401*

* 2 *Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development, 2200, Oono, Kinpou-cho, Minamisatsuma-shi, Kagoshima 899-3401*

* 3 *Kagoshima Prefectural Soo Promotional Center of Field Irrigation Agriculture, 5677, Iwagawa, Oosumi-cho, Soo-shi, Kagoshima 899-8102*

* 4 *Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development Tokunoshima Branch, 2092, Omonawa, Isen-cho, Oshima-gun, Kagoshima 891-8114*

We studied the effects of chilling temperatures on the occurrence of injury and content composition of squash fruit to determine the optimum storage temperature and shelf life. Pitting of the squash fruit was confirmed to be a chilling injury. Pitting was not observed when stored at 10°C for 91 days. Starch content and firmness of the squash fruit decreased as a result of an increase in storage temperature. Total sugar content increased during storage. In particular, when stored at 5°C, the total sugar content of squash fruit was higher than that at 10°C and 15°C. It has been suggested that the sweetness can be possibly increased within a short period (while avoiding chilling injury) by storage at 5°C for 30 days. Considering the chilling injury and variation in content composition during long-term storage, it has been proposed that the optimum storage temperature of squash fruit is 10°C for 64 days.

(Received Aug. 21, 2014 ; Accepted Jan. 26, 2015)

Key words : storage at chilling temperatures, chilling injury, starch content, sugar content, firmness

低温貯蔵, 低温障害, でん粉含量, 糖含量, 硬さ

セイヨウカボチャは主に露地で栽培されるため、収穫期が早春から晩秋と限られており、冬期は国内産の端境期となる。冬期に出荷するためには、秋期に収穫した果実を1か月以上貯蔵する長期貯蔵技術の確立が必要である。

カボチャは貯蔵温度10~13°C, 貯蔵湿度RH70~75%に保つと、4~6か月の長期貯蔵が可能とされている¹⁾

が、これは主に腐敗抑制の面からの考察であると考えられる。一方、長期に貯蔵すると、呼吸による内容成分の消耗から、食味が低下する懸念がある。内容成分の低下を防ぐには、できるだけ低温で貯蔵し、呼吸代謝を抑制して、成分の消耗を少なくする必要がある²⁾が、カボチャを7~10°Cで貯蔵すると内部褐変や腐敗などの低温障害が発生することが知られている²⁾。

* 1 〒899-3401 鹿児島県南さつま市金峰町大野2200

§ E-mail : sameshima-yoto@pref.kagoshima.lg.jp

* 2 〒899-3401 鹿児島県南さつま市金峰町大野2200

* 3 〒899-8102 鹿児島県曾於市大隅町岩川5677

* 4 〒891-8114 鹿児島県大島郡伊仙町面縄2092

これまでに、ウリ科作物について低温障害の発生状況を調査した報告³⁾やカボチャのキュアリング温度の違いが内容成分に及ぼす変化を調査した報告⁴⁾はみられるが、カボチャの最適貯蔵温度や貯蔵可能期間を、低温障害の発生と内容成分の変化から総合的に考察した報告はない。

そこで、本研究ではカボチャの最適貯蔵温度と貯蔵期間を明らかにするために、カボチャの低温貯蔵(10℃以下)が障害の発生や内容成分の保持に及ぼす影響を調査した。

実験方法

1. 低温障害の発生とイオン漏出量との相関

(1) 材料 供試品種として、鹿児島県農業開発総合センター園芸作物部野菜研究室圃場にて栽培されたセイヨウカボチャ (*Cucurbita maxima* Duch.) ‘えびす’を用いた。

2010(平成22)年12月1日に開花から55日前後経過した果実を選択して収穫した。収穫直後の果実は果梗部からの汁液の溢泌が盛んであり、そのまま貯蔵すると果梗部からの腐敗が発生しやすくなる。その対策として、収穫直後に果梗部を短く切断した後、常温で1日間果梗部を風乾して、切断面が十分に乾燥したことを確認後に供試した。

果実30果について、5果ずつをプラスチック製メッシュコンテナ(幅520mm×奥行365mm×高さ305mm)に果梗部を上にして入れ、2、5、10℃に設定した貯蔵庫内でそれぞれ2コンテナ(延べ10果)ずつ貯蔵した。貯蔵中の湿度については、湿度調節機能が付属されていた10℃貯蔵庫について、RH70%以下になるよう設定した。その他の温度区については、貯蔵中の果実の底部と上部に吸湿用の新聞紙を敷き詰めた。10日おきに貯蔵果実の低温障害の発生状況を確認した後、各貯蔵区から1果を取り出し、電解質漏出率の測定に供試した。

(2) 方法 低温障害の指標は、ピッチング(果皮の陥没)が全くみられない状態を0、外果皮表面を触診して初めてわずかな陥没が確認できる状態を1、外見でも陥没が確認できる状態を2、陥没部位の外果皮が一部裂開し中果皮がみえる状態や腐敗が発生している状態を3とした。また、ピッチング発生部位について、外果皮から中果皮にかけて縦断し、断面を実体顕微鏡(SZX12, オリンパス(株)製)で撮影した。

電解質漏出率測定用試料は、果実の中果皮部を直径6mmのコルクボーラーで円柱状にくり貫き、5mmずつに切断して、直径6mm、厚さ5mmの円板状試料とした。試料6個(1g弱)をピーカーに入れ、80mlの超純水を加えて軽く攪拌し、20℃付近の常温で4時間放置した後漏出した電解質を電気伝導率計(CM-25R型, 東亜ディーケーケー(株)製)で測定し、電気伝導率を求めた。その後、ホモジナイザーで試料を磨砕して(15,000rpm, 3分)、総電気伝導率を求め、百分率で電解質漏出率を算

出した。

2. 低温貯蔵における内容成分の変化

(1) 材料 試験1で使用した‘えびす’を用いた。

果実の赤道部直径5cm部について、近赤外分光装置(フルーツセレクターK-BA500, (株)クボタ製)を用いて乾物率の推定値を求めた。測定した部位についてマーキングを行い、成分分析用試料の採取部位とした。乾物率推定値として最も分布が多かった20%以上25%未満の果実を選別し、供試した。

果実45果について、5果ずつプラスチック製メッシュコンテナ(幅520mm×奥行365mm×高さ305mm)に果梗部を上にして入れ、5、10、15℃に設定した貯蔵庫内で3コンテナ(延べ15果)ずつ貯蔵した。貯蔵中の湿度条件については、実験1と同じである。貯蔵約30日ごとに各貯蔵温度区から1コンテナ(5果)ずつ取り出し、成分分析に供試した。

(2) 方法 果実を果梗部から十字型に4分割し、果梗部側と花痕部側の両端を5cm程度切除し、さらに種子および胎座を除去して、幅約10cm、長さ約5cmの4分の1カット片を得た。このうち、近赤外分光分析装置で測定した部位を含むカット片については、測定部位を含む5cm×5cm角を分取し、外果皮を除去後さらにフードプロセッサーで細断混合して、成分分析用試料とした。残りのカット片のうち、傷や変形の無いものについて硬さの測定用に用いた。分析値については1試験区につき5果ずつ測定し、平均値で示した。

乾物含量は、試料10gを105℃2時間30分乾燥し、重量減少率を求めて水分含量を算出した。100から水分含量を引いて、乾物含量とした。

可溶性全糖含量は、試料5gをホモジナイズし、80%エタノールで抽出した試料液を濃縮乾固後、高純水に溶解してメンブランフィルターでろ過し、液体クロマトグラフ(日本分光, LC-2000Plus series)で測定した。カラムはAsahipak NH2P-50(4.6mmID×250mm)、移動相はアセトニトリル:水=75:25(v/v)、流速は1.0ml/min、検出器は示差屈折計(日本分光, RI-2031Plus)とした。

でん粉含量は、常法⁵⁾を一部改変して行った。すなわち、可溶性全糖含量の抽出残渣を水酸化ナトリウムで加水分解し、さらにグルコアミラーゼで酵素分解して、3,5-ジニトロサリチル酸(DNS法)⁶⁾を用いて還元糖を定量した。定量値に0.9を乗じてでん粉含量を求めた。

硬さはテクスチャーアナライザー(TA.XT Plus, Stable Micro Systems社製)を用いて測定した。カット片を30分間蒸煮し、十分に冷却した後、1cm厚にスライスして切片を調製し、断面の中果皮部について、直径5mm円柱状のプランジャーを用いて移動速度5mm/secで圧縮試験を行った。測定時の歪率は80%とした。圧縮時に描かれる波形の第1ピークの高さ(抗力)を硬さとした。1つのカット片につき3個の切片を調製し、切片の

中果皮中央部を1回ずつ圧縮して硬さを求めた。3個の切片の平均値を算出して1果実の硬さとした。

食味の評価には、硬さを測定したカット片の一部を用いた。カット片を1cm厚にスライスして、試料とした。主に咀嚼時の食感(粉質、粘質)と甘さについて評価した。

実験結果および考察

1. 低温貯蔵時における障害の発生と細胞膜の変化との関連性

カボチャの低温障害の症状として、ピットイング(果皮の陥没)が確認された。ピットイング部位を観察すると、外果皮の一部が直径0.5~1cmの円形に陥没していた。障害が進むと、陥没した外皮の一部が裂開し、内部の組織液が溢泌するようになり、当該部位からの腐敗(主にかびに由来するもの)が急速に進行した。

10℃貯蔵ではピットイングが90日以上にわたりみられなかった(Fig.1)。5℃以下では、貯蔵中にピットイングが発生し、それに要する日数は貯蔵温度が低くなるほど短くなり、2℃で貯蔵後40日、5℃で60日であった。セイヨウカボチャの低温障害は、0℃貯蔵で3~4週間、5℃貯蔵で5~6週間で発生することが知られている⁷⁾。既報⁷⁾に比べて、今回の試験では5℃におけるピットイングの発生までの期間が長くなった。既報では、低温感受性は熟度によっても大きく左右され、完熟果を収穫するカボチャなどでは耐性が強いことを指摘している。既報のカボチャの熟度は不明であるが、供試したカボチャは開花から55日前後経過した完熟果であったため、低温障害の発生時期が遅くなったと考察した。

ピットイング部位の断面をみると(Fig.2)、外果皮直下深さ5mmの中果皮組織において、組織の弾力性が失われて、スポンジ状になっていた。

ナス果実のピットイングの顕微鏡観察により、ピットイングの発生は表皮より数層内部の細胞に発生することが報告されている⁸⁾。また、キュウリ果実において、低温による表皮の陥没は内部柔組織の崩壊によるとされている⁹⁾。今回の観察により、カボチャ果実のピットイングにおいても、外果皮(表皮)そのものは形状を保っていたが、外果皮直下の中果皮の組織構造が変化していた。

また、障害が発生していない部位の中果皮においても、わずかに組織の軟化がみられており、果実全体の中果皮において低温障害が生じていると推察された。そこで、中果皮の障害程度について、イオン漏出率で評価を試みた結果、低温障害が発生しなかった10℃貯蔵では、90日以上にわたり漏出率の上昇がみられなかった(Fig.3)。それに対して、低温障害が発生した5℃以下の貯蔵では、一定期間経過後に漏出率の上昇がみられており、その時期は2℃では貯蔵10日、5℃では60日からであった。既報^{3),10)}でも、ウリ科果実において、低温障害の発生に伴い組織からのイオンの漏出が急増することが報告されて

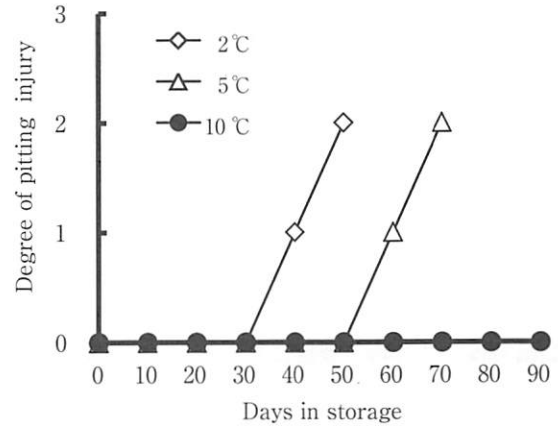


Fig.1 The occurrence of pitting injury of squash fruit during storage at 2, 5 or 10℃

0 : No pitting 1 : Slight pitting
2 : Moderate pitting 3 : Severe pitting

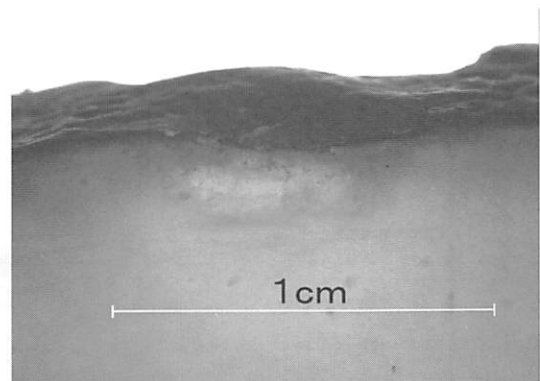


Fig.2 The sectional view of pitting of squash fruit stored at 2℃

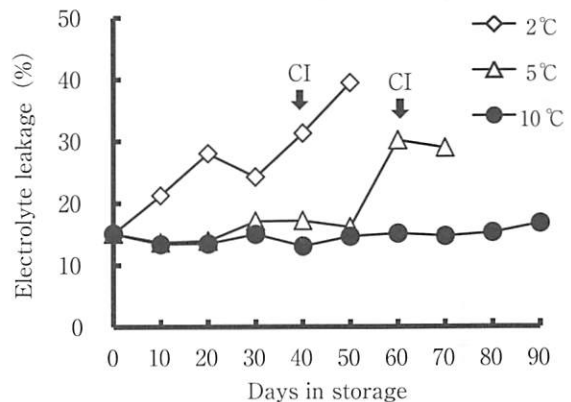


Fig.3 Changes in electrolyte leakage of the fruit mesocarp during storage at 2, 5 or 10℃ in squash

CI: chilling injury.

いる。今回の試験では、イオン漏出率30%を境にして低温障害の発生がみられており、イオン漏出率の急上昇が低温障害発生の兆候であると推察された。

2. 低温貯蔵における内容成分の変化

実験1において、外果皮に低温障害が発生した果実では、中果皮にイオン漏出率の上昇が確認され、果実全体

に変質がみられた。そのため、中果皮を構成する主要成分についても大きな変化が生じていると考え、成分分析を行った。

乾物含量は、いずれの温度でも貯蔵に伴い緩やかに減少する傾向がみられ、15℃91日区は他の温度より乾物含量が低かった (Fig.4)。

でん粉含量は、いずれの温度でも貯蔵に伴い急激に減少する傾向がみられ、15℃91日区は他の温度よりでん粉含量が低かった (Fig.5)。

高橋らは、蒸し物、煮物にしたときに、水分含量が多く、でん粉含量が少ない果実はほくほくさに欠けることを明らかにしている¹¹⁾。10℃以下の低温貯蔵により、水分の増加とでん粉の減少を抑制し、ほくほく感の減少を防げる可能性が示された。

蒸煮後の中果皮の硬さは、でん粉含量と同じく、いずれの温度でも貯蔵に伴い急激に減少した (Fig.6) 5℃64日区と91日区において、他の温度よりも硬さが保たれていた。

筆者らは、カボチャ果実の加工適性について調査した結果、カボチャペーストとしては蒸煮後の中果皮の粘りが強い果実が適することを明らかにした。また、蒸煮後の硬さが1Nを下回るような柔らかい果実では、ペースト加工した場合に流れるように変形するため、ペースト用として不適であることを報告した¹²⁾。

今回の試験では、貯蔵30日まではいずれの温度でも硬さ1Nを上回ったが、貯蔵64日になると、10℃区と15℃区において1Nを下回り、しっとりとした粘質の食感となった。貯蔵91日になると、10℃区と15℃区いずれも硬さが0.5N付近になり、どろどろとした食感になって、商品性がないと判断した。

糖含量は、いずれの温度でも貯蔵に伴い増加した (Fig.7)。特に5℃区において、その増加量が顕著であり、貯蔵30日より10℃区、15℃区に比べて全糖含量が増加した。

カボチャはサツマイモなどと同じく、収穫直後は甘みが少なく、貯蔵に伴い甘みが増加する作物である。今回

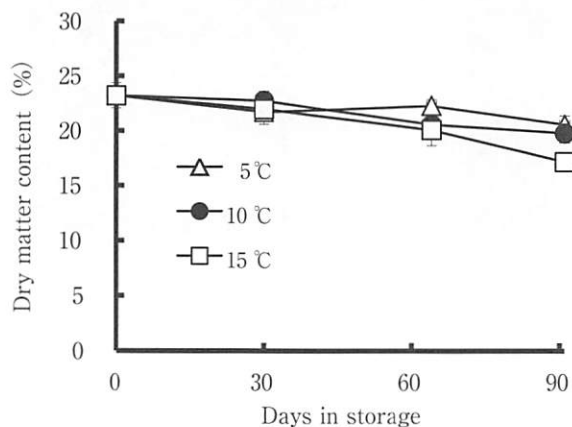


Fig.4 Changes in dry matter content of the fruit mesocarp during storage at 5,10 or 15°C in squash

Vertical bars indicate standard error (n=5).

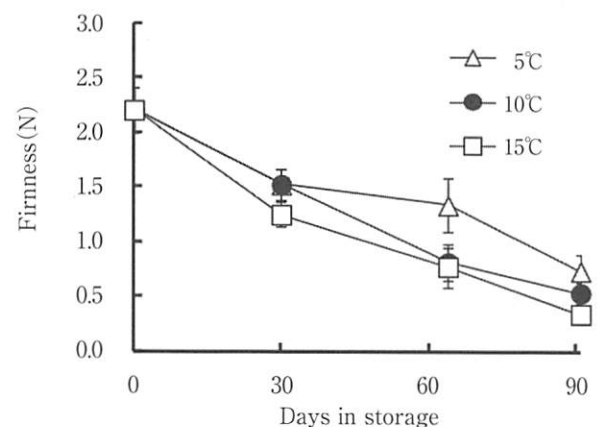


Fig.6 Changes in the firmness of the steamed fruit mesocarp during storage at 5,10 or 15°C in squash

Vertical bars indicate standard error (n=5).

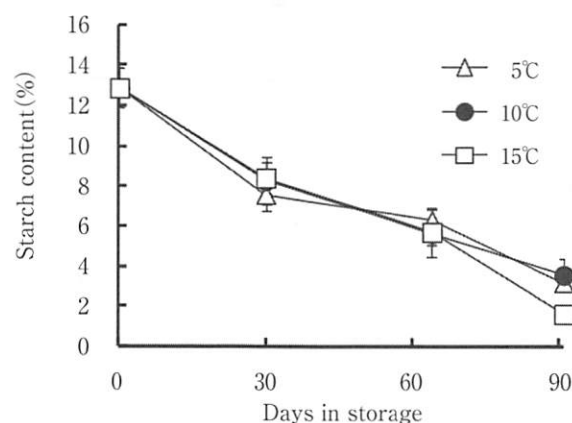


Fig.5 Changes in starch content of the fruit mesocarp during storage at 5,10 or 15°C in squash

Vertical bars indicate standard error (n=5).

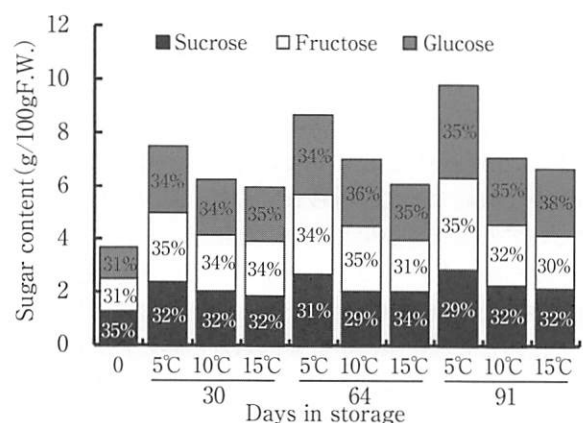


Fig.7 Changes in sugar composition of the fruit mesocarp during storage at 5, 10 or 15°C in squash

の試験により、5℃区は他区に比べて甘いと感じられ、その傾向は貯蔵初期である30日より認められた。5℃で30日間の貯蔵は低温障害の発生がみられず、短期間で甘みを向上させるのに有効であると考えられた。

サツマイモでは、収穫後の貯蔵温度を低く保つと、短期間でスクロース含量が増加することが明らかになっている^{13),14)}。この現象はクリ¹⁵⁾やパレイシヨ¹⁶⁾でも確認されており、でん粉質を多く含む作物において共通の代謝であると推察される。カボチャにおいても、長尾ら⁴⁾は貯蔵温度(7.5, 10.0, 12.5, 15.0℃)が低いほど還元糖と全糖含量の増加が顕著になり、また、7.5, 10.0℃区的全糖含量は貯蔵55日より減少に転じることを明らかにしている。これに対し、今回の試験では、いずれの貯蔵温度でも91日間にわたり、全糖含量が増加し続けた。この違いとして、長尾らは貯蔵前に25℃, RH70%で12日間のキュアリングを行っており、その間に糖含量の増加がかなり進行しているのに対し、筆者らは20℃付近の常温で1日間の風乾しか行っておらず、貯蔵前の糖含量の増加が進んでいなかったためと考察された。

糖の組成をみると、スクロース、フルクトース、グルコースの3成分について、いずれの温度でもそれぞれ増加していた。組成比については、いずれの貯蔵温度、貯蔵日数でも、各成分概ね30%程度で推移していた。しかし、5℃区では全糖含量に占めるスクロース(二糖類)の割合が貯蔵前は35%であったのに対し、貯蔵30日では32%、貯蔵64日では31%、貯蔵91日では29%と、わずかに低下する傾向がみられた。山根¹⁷⁾は、植物では低温のストレスによって、自ら浸透圧を高める作用が働き、自己の氷結点を降下させるために、糖類の低分子化が行われると述べている。カボチャの5℃貯蔵における二糖類から単糖類への割合の上昇は、自己の耐凍性を高めるために、前述の糖類の低分子化が行われたものと考えられる。

カボチャの貯蔵期間を決める要因として、主に腐敗、果皮の退色、果肉の軟化などがあると考えられる。腐敗は貯蔵91日間観察されなかった(データ略)。果皮の退色は低温ほど抑制されたが、低温障害の発生が認められなかった10℃区については91日後も良好であった(データ略)。果肉の軟化は低温ほど抑制できたが、低温障害が発生した5℃区を除き、果肉の軟化は進行が速く、10℃64日区が貯蔵限界であると判断した。このことから、貯蔵の可能期間は果肉の軟化が律速になっていると考察された。

今回、カボチャの低温貯蔵が障害の発生や内容成分の保持に及ぼす影響を調査した。障害については、2℃と5℃貯蔵では果皮の陥没(ピットティング)が確認されたが、10℃貯蔵では91日間にわたりみられなかった。内容成分については、5~15℃貯蔵において、貯蔵温度が低いほどでん粉含量と硬さが保持され、さらに糖含量の増加が促進される傾向がみられた。これらの結果を総合し

て考察すると、カボチャの最適貯蔵温度は10℃であり、貯蔵可能期間は64日間であると判断した。

要 約

カボチャの最適貯蔵温度や貯蔵期間について、低温障害の発生と内容成分の変化から考察した。

- ① カボチャの低温障害として、果皮の陥没(ピットティング)が確認された。低温障害は、10℃貯蔵では91日間みられなかった。5℃貯蔵で60日後、2℃貯蔵で40日後にピットティングが発生した。
- ② カボチャのでん粉含量は、5~15℃では貯蔵温度が高いほど減少し、それに伴い硬さも低下した。
- ③ 全糖含量は貯蔵に伴い増加した。特に5℃貯蔵では、10, 15℃に比べて全糖含量が多くなった。5℃で30日間の貯蔵は、低温障害の発生を回避して短期間で甘みを増加させるのに有効であった。
- ④ カボチャの最適貯蔵温度は、低温障害の発生と内容成分の変化から考察すると10℃であり、64日間にわたり貯蔵できると推察された。

謝 辞 本研究は、農林水産省委託プロジェクト研究「低コストで質の良い加工・業務用農産物の安定供給技術の開発」で実施した。

本研究をとりまとめるにあたり、終始ご指導を賜りました鹿児島大学農学部生物環境学科・河野澄夫教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 樽谷隆之・北川博敏：園芸食品の流通・貯蔵・加工(養賢堂、東京)、pp.130~133 (1995)
- 2) 邨田卓夫：青果物の低温流通と低温障害、コールドチェーン研究、6(2)、42~51 (1980)
- 3) 辰巳保夫・岩本光弘・邨田卓夫：ウリ科果実の低温障害と果実組織切片からのイオン漏出について、園学雑、50(1)、114~119 (1981)
- 4) 長尾明宣・印東照彦・土肥 紘：カボチャの収穫後の品質に及ぼすキュアリング条件と貯蔵温度の影響、園学雑、60(1)、175~181 (1991)
- 5) 作物分析法委員会編：栽培植物分析測定法(養賢堂、東京)、p.299 (1983)
- 6) HOSTETTLER, F., BOREL, E. and DENEL, H.: Über die Reduktion der 3,5-Dinitrosalicylsäure durch Zucker, *Helv. Chim. Acta.*, 34, 2132~2139 (1951)
- 7) 辰巳保夫・邨田卓夫：ウリ科果実の低温耐性と組織の膜透過性との関係について、園学雑、50(1)、108~113 (1981)
- 8) 阿部一博・岩田 隆・緒方邦安：ナス果実の低温障害に関する研究(第1報)障害の一般的様相とピットティングの顕微鏡観察、園学雑、42(4)、402~407 (1974)

- 9) 辰巳保夫・前田恵子・邨田卓夫：キュウリ果実の低温障害に伴う表皮構造の変化，園学雑，56（2），187～192（1987）
- 10) 辰巳保夫・邨田卓夫：青果物の低温障害に関する研究（第1報）キュウリ果実の低温障害と生体膜の変性について，園学雑，47（1），105～110（1978）
- 11) 高橋敦子・伊藤喜誠・奥嶋佐知子・吉田企世子：カボチャの品種による果肉成分の違いが食味に及ぼす影響，日本調理科学会誌，30（3），232～238（1997）
- 12) 満留克俊・鮫島陽人・桑鶴紀充・徳永太蔵・久米隆志：加工・業務用カボチャの超省力栽培技術の確立と経営評価及び熟度判定と貯蔵による熟度制御技術の開発，農林水産技術会議研究成果，484，167～177（2013）
- 13) 宮崎丈史：サツマイモの成分変化に及ぼすキュアリング処理と貯蔵条件および加熱処理の影響，園学雑，59（3），649～656（1990）
- 14) 吉永 優・山川 理・中谷 誠：収穫後の低温処理による食用カンショの品質向上，九州農業研究，61，19
- 15) 河野澄夫・小野寺武夫・早川 昭・岩元睦夫・太田英明・菅原 渉：クリの予冷と低温貯蔵，園学雑，53（2），194～201（1984）
- 16) POLLOCK, J. C. and REES, T. A.: Activities of enzymes of sugar metabolism in coldstored tubers of *Solanum tuberosum.*, *Phytochem.*, 14, 613（1975）
- 17) 山根昭彦：低温保存技術—「氷温」技術の可能性について—，高分子，49（6），387（2000）
（平成26年8月21日受付，平成27年1月26日受理）
-

長野県オリジナルリンゴ品種（‘シナノスイート’，‘秋映’ 及び‘シナノゴールド’）の果汁への加工適性

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

* 2 国立大学法人信州大学農学部

Process Suitability of the Apple Cultivars, Sinano Sweet, Akibae and Shinano Gold

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*

To determine the process suitability of three newly introduced, tasty apple cultivars, ‘Shinano Sweet’, ‘Akibae’, and ‘Shinano Gold’, in Nagano Prefecture, Japan, cloud-type juices were obtained from these apple cultivars and two other major apple cultivars, ‘Fuji’ and ‘Tsugaru’ apples. With respect to color, ‘Shinano Sweet’ was low on the *a* (red) scale and high on the *b* (yellow) scale of the color meter, and it received a high score for its appearance. From the sweetness perspective, ‘Shinano Sweet’ received the second highest score, after ‘Fuji’ apple. ‘Akibae’ showed relatively high acidity compared to the two major cultivars and a better sugar/acid balance. ‘Akibae’ received a high score for flavor, acidity, and overall judgment on the basis of a sensory evaluation. ‘Shinano Gold’ showed slow brown discoloration and a good sugar/acid balance. The sensory evaluation results of ‘Shinano Gold’ and ‘Akibae’ were similar, and ‘Shinano Gold’ received a high score for flavor, acidity, and overall judgment. These results confirmed the high process suitability of the three new apple cultivars.

(Received Oct. 22, 2014 ; Accepted Dec. 22, 2014)

Key words : *apple cultivar, cloud type juice, process suitability, Nagano prefecture*

リンゴ品種, 混濁果汁, 加工適性, 長野県

リンゴの生産は、本州中部から北日本の気候が比較的冷涼な地域に多く、年間出荷量約66万tの大きな産業¹⁾である。その都道府県別の集荷量をみると、青森県が56%を占め、次いで長野県が20%となっている¹⁾。近年、長野県では、オリジナル品種で「りんご三兄弟」と称される‘シナノスイート’、‘秋映’及び‘シナノゴールド’が基幹品種に加わり、2011年には県内生産量の13%にまで増加している²⁾。生産されたリンゴの1～2割は加工用として利用され、そのうちの約9割が混濁果汁用として利用されている³⁾。このため混濁果汁の高品質化が加

工用原料としての利用拡大には不可欠である。リンゴの品種別特性、混濁果汁への加工適性やその高品質化に関する報告^{4)~6)}もあり、筆者らも品種により食味、風味(香気成分)、色調(褐変)に大きな品種間差異があることを明らかにしている^{7),8)}。一方、生産量が多く、加工用原料の中心ともなっている‘ふじ’及び‘つがる’は生食用としては優れているが、混濁果汁用原料としては酸味不足等の加工上の課題も抱えている⁷⁾。

本報では、‘シナノスイート’、‘秋映’及び‘シナノゴールド’から混濁果汁を調製し、既往の主要品種であ

* 1 〒382-0084 長野県須坂市大字須坂787-1

§ Corresponding author, E-mail: takeuchi@nokoken.or.jp

* 2 〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村8304

る‘ふじ’あるいは‘つがる’と比較してその果汁特性を明らかにしたので報告する。

実験方法

1. 供試リンゴ

試料は長野県内で栽培された各品種のリンゴをその生食用の適熟期に収穫したものをを用いた。使用した品種は、早生種（‘つがる’）、中生種（‘秋映’、‘シナノスイート’、‘シナノゴールド’）、晩生種（‘ふじ’）で、収穫場所は、‘つがる’、‘秋映’、‘シナノスイート’は信州大学農学部圃場（上伊那郡南箕輪村）、‘シナノゴールド’、‘ふじ’は須高農業協同組合管内（須坂市）である。試料は収穫後速やかに成分分析並びに混濁果汁の調製に使用した。

2. 褐変速度

リンゴ果汁の褐変速度は既報⁷⁾に準じて、全自動色差計カラーエースTC-8600A（東京電色(株)製、東京）を用いて測定し、色調の変化（ ΔE 値）の初期の変化量の傾き（ ΔE 値/min）を算出し、褐変速度とした。

3. 混濁果汁の調製方法

リンゴ30kgを流水中で手作業により水洗いし、包丁にて4分割後、ミクログレーダー-SF-NR-110（(株)精研舎、東京）にて破碎し、ケージプレス搾汁機MP-4（理研精機(株)、新潟）を用い、操作圧力200kg/cm²で搾汁した。褐変防止剤としてビタミンC量を原料重量に対し、60mg/100gとなるよう破碎時に添加した。不溶性固形分の調整は篩（メッシュNo.100, 0.149mm）を使用した。殺菌は管状（コイル）型熱交換機で95℃達温とし、瓶容器に熱間満注充填後、密封し、流水中で冷却して混濁果汁を得た。原料重量と得られた混濁果汁量より搾汁率を算出した。混濁果汁は5℃貯蔵し、その後の分析ならびに食味評価に使用した。

4. 果汁の糖度、酸度と色調の測定

糖度はデジタル屈折計RX-500 α （(株)アタゴ、東京）で測定した。酸度は0.1mol/l水酸化ナトリウム溶液により滴定する滴定酸度法⁹⁾により測定し、リンゴ酸換算で示した。糖度を酸度で割った値を糖酸比として示し、甘酸味のバランスの指標とした。色調は、全自動色差計カラーエースTC-8600A（東京電色(株)）を用いて、円柱型セルに果汁を満たし、反射式により測定した。

5. 味認識値測定

味認識装置TS-5000Z（(株)インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川）を用いて、既報^{10),11)}に準じて測定を行った。旨味、酸味、渋味及び苦味について評価を行った。味の数値化は、ウェーバーの法則¹⁰⁾に基づき、味覚物質の20%の濃度変化を1目盛りを設定した。

6. 混濁果汁の官能評価

混濁果汁の、外観（色調）、風味（香り）、甘味、酸味及び総合評価の5項目を11名の食品製造事業者で構成するパネラーによる、5段階の相対評価法で行い、得られ

た結果をt検定により判定した。

結果および考察

1. 品種別リンゴの褐変特性

既報¹²⁾で示したクロロゲン酸の測定結果と本実験で行った褐変速度との関係について検討した。また、AMITOら¹³⁾は、11種類のリンゴを供試して、クロロゲン酸量はポリフェノールオキシダーゼに依存し、褐変に大きく関与していることを明らかにしている。

品種別のリンゴの褐変速度は、‘シナノスイート’、‘ふじ’、‘秋映’、‘つがる’、‘シナノゴールド’の順にそれぞれ7, 3, 6.4, 5.5, 1.0, 0.9であり、クロロゲン酸量と褐変速度の相関係数は $r=0.744$ を示した（Fig.1）。‘シナノゴールド’はクロロゲン酸量が、‘ふじ’及び‘秋映’とほぼ同じ値であったが、褐変速度が他品種に比べ低いことから、加工用原料としての適性が高いことが示された。

2. 品種別混濁果汁の品質

搾汁率、糖度、酸度、糖酸比、pH及び色調の測定結果をTable 1にそれぞれ示した。搾汁率について、品種別に比較すると、‘シナノスイート’、‘秋映’及び‘シナノゴールド’は、‘つがる’や‘ふじ’より高い値を示し、良好であった。

糖度は、最も高い‘ふじ’に次ぐ、‘シナノスイート’が13.84であり、これは交配が[‘ふじ’×‘つがる’]¹⁴⁾であることに由来していると思われる。酸度は、‘シナノゴールド’と‘秋映’が0.4%を超えて他品種と比べて高かった。‘シナノスイート’は糖度と同様に‘ふじ’と‘つがる’の酸度が低い特徴が引き継がれたものと思われる。

リンゴ混濁果汁の食味に大きな影響を与える糖酸比は、リンゴの場合は25~35が最も好まれるとされている。

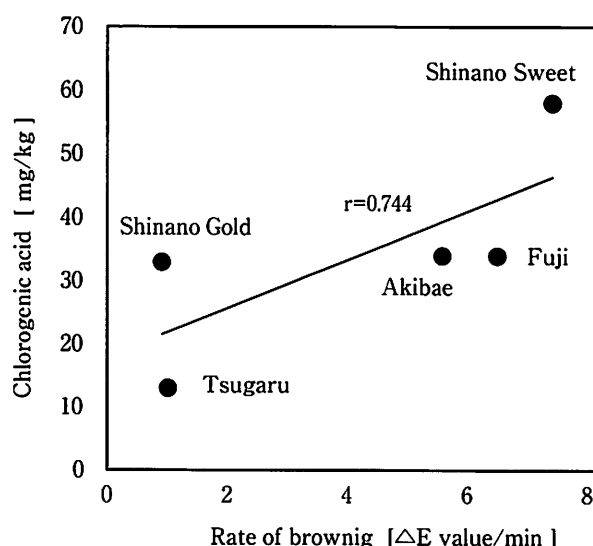


Fig.1 Relationship between rate of browning and chlorogenic acid in apple

Table 1 Juice characteristics of apple fruit

Cultivars	Juice recover (%)	Brix	Acidity* [%]	Sugar/Acid ratio**	pH	Color scale		
						L	a	b
Shinano Gold	78.4	13.18	0.41	32.15	3.61	20.95	-3.35	2.32
Shinano Sweet	78.1	13.84	0.3	46.13	3.81	29.13	-4.3	4.54
Akibae	78.3	12.2	0.4	30.5	3.3	26.15	-2.56	3.36
Fuji	75.6	14.47	0.31	46.68	3.75	27.18	-4.3	4.8
Tsugaru	77.3	12.01	0.25	48.04	3.82	22.86	-2.78	-0.79

*: Acidity is expressed as % malic acid equivalent ** : Brix/Acidity

‘シナノゴールド’ と ‘秋映’ の2品種の糖酸比は30台で、好まれるとされる範囲内であった (Fig.2) 。 ‘つがる’、 ‘ふじ’ 及び ‘シナノスイート’ の糖酸比は45を超えており酸味が低く、甘味を強く感じる傾向を示している。一方、伊崎は、 ‘つがる’ の果汁の品質について、果肉が白色で濁度が低く、酸味及び風味も弱く、単品としては混濁果汁には不向きであると評価している。

‘シナノスイート’ の糖酸比は、交配に供した両親に近かった。 ‘シナノゴールド’ 及び ‘秋映’ は糖酸比が30と糖と酸のバランスに優れていることが確認された。

pHは、 ‘シナノスイート’ は ‘つがる’ 及び ‘ふじ’ に近い値であり、 ‘シナノゴールド’ 及び ‘秋映’ は低い値を示した。

色調では、赤色を示すa値は、 ‘シナノスイート’ は ‘ふじ’ と同値の-4.30と低い値を示し、逆に ‘秋映’ は ‘つがる’ 同様に高い値を示した。 ‘秋映’ は果皮色が濃赤色で、搾汁中に果皮色素の溶出などの影響により、薄オレンジ系の果汁であった。 ‘シナノスイート’ は、 ‘ふじ’ と同様に、黄色を示すb値が高く、黄色の強い品種である特性が示された。

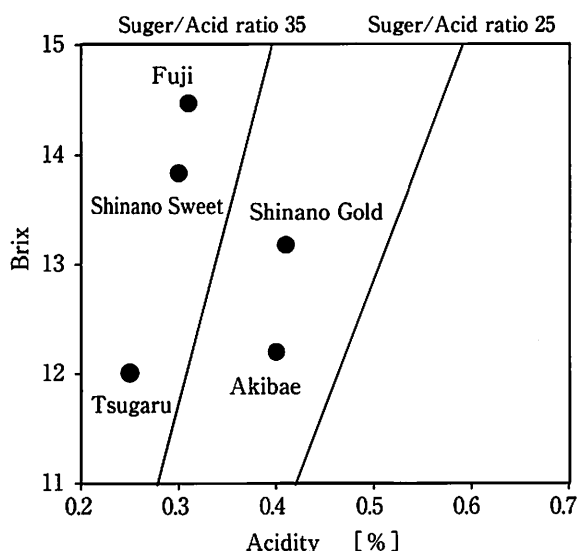


Fig. 2 Relationship between sugar content and acid in apple juice

3. 味認識値

味認識装置による測定の結果をFig.3に示した。測定に際しては、 ‘ふじ’ の各測定項目値を0として他品種との比較を行った。

品種別の差異が顕著であった項目は、酸味であり、 ‘シナノゴールド’ 及び ‘秋映’ は、 ‘ふじ’ と比べて高く、 ‘シナノスイート’ 及び ‘つがる’ は低かった。また旨味コクは、いずれの品種も ‘ふじ’ より高かった。苦み及び渋みでは、品種間で差異を認めなかった。

4. 混濁果汁の官能評価

官能評価の結果をTable 2に示した。外観は、 ‘シナノスイート’ と ‘ふじ’ が同じ評点であり、両品種は他の3品種と比べて有意に高かった。また、 ‘秋映’ は、 ‘シナノスイート’ と ‘ふじ’ と比べて有意に低かった。風味は、 ‘シナノゴールド’ と ‘秋映’ が同じ評点であり、両品種は ‘シナノスイート’ と ‘つがる’ に比べて有意に高かった。 ‘シナノスイート’ と ‘つがる’ は、それぞれ他の3品種と比べて、有意に低かった。酸味は、風味と傾向が類似していた。 ‘シナノゴールド’ と ‘秋映’ が同じ評点であり、他の3品種と比べて有意に高かった。

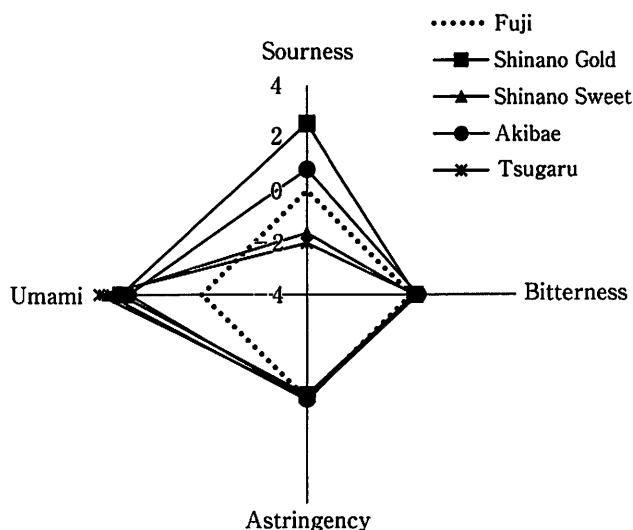


Fig. 3 Evaluation of apple juices by tests sensing system

Table 2 Results of sensory tests of apple juice

Cultivars	Appearance	Flavor	Sweetness
Sinano Gold	0.45 ± 0.52	0.73 ± 0.90	1.00 ± 0.89
Shinano Sweet	1.09 ± 0.70	0.18 ± 0.75	1.09 ± 1.04
Akibae	0.36 ± 1.36	0.73 ± 0.79	1.00 ± 0.63
Fuji	1.09 ± 0.70	0.55 ± 0.93	1.18 ± 0.75
Tsugaru	0.18 ± 0.75	0.00 ± 0.63	0.82 ± 0.87

Cultivars	Sourness	Overall evaluation
Sinano Gold	1.00 ± 0.77	0.91 ± 0.94
Shinano Sweet	-0.18 ± 0.75	0.45 ± 0.69
Akibae	1.00 ± 0.77	0.91 ± 1.04
Fuji	0.64 ± 1.21	1.00 ± 0.77
Tsugaru	-0.18 ± 0.65	0.09 ± 0.70

Average ± Standard Deviation, n=11, * : with significant difference ($p < 0.05$)

総合評価では、'ふじ'が最も高く、次いで'シナノゴールド'と'秋映'が同じ評点であった。その3品種とも、'シナノスイート'や'つがる'より有意に高かった。甘味については、'つがる'は'ふじ'と比べて、有意に低かった。

5. 相 関 関 係

加工適性にかかわる各種の測定、評価結果のうち、相関行列の無相関の検定で相関を認めたものをTable 3に示した。

糖度は、色調a値と負の相関、官能検査の外観及び甘味と正の相関をそれぞれ認めた。糖度の測定結果と官能

検査の甘味評価は一致した。

酸度は、糖酸比と負の相関、官能検査の風味及び酸味、味認識の酸味と正の相関をそれぞれ認めた。酸度が高くなると、糖酸比は低下した。また、酸度の測定結果が官能検査と味認識の酸味評価と一致した。酸味の高い品種のほうが、官能検査の風味評価が高かったのは、酸味の高い品種は香気特性に優れる傾向にあり¹⁵⁾、本実験で供試した'シナノゴールド'及び'秋映'もその傾向と合致した。

色調では、a値は、官能検査の外観と負の相関、を認めた。a値が高いことは赤色を呈すことを意味しており、

Table 3 Relationship among constituents, sensory assessment and evaluation of test

		Brix	Acidity	Color scale		Sensory assessment		
				a	b	Appearance	Flavor	Sourness
Color scale	Saccharic acid ratio	0.351	-0.958*					
	a	-0.960**	0.263					
Sensory assessment	Appearance	0.940*	-0.170	-0.956*	0.847			
	Flavor	0.143	0.924*	0.110	0.457	0.000		
	Sweetness	0.901*	0.211	-0.797	0.960**	0.898*	0.427	
	Sourness	0.048	0.907*	0.214	0.339	-0.116	0.990**	
	Overall evaluation	0.441	0.767	-0.191	0.674	0.307	0.940*	0.907*
Sensing test	Sourness	0.059	0.923*	0.167	0.217	-0.161	0.924*	0.932*

significant difference (* : $p < 0.05$), ** : $p < 0.01$)

a値が低いことは赤色の低い品種が好まれる傾向を示した。b値は、官能検査の甘味と正の相関を認めた。糖度の高かった‘シナノスイート’及び‘ふじ’は、b値が高く、黄色をより呈す果汁であることを意味した。

官能検査の外観は、官能検査の甘味と正の相関を認めた。官能検査の風味は、官能検査の酸味、総合評価及び味認識の酸味と正の相関をそれぞれ認めた。官能検査の酸味は、官能検査の総合評価及び味認識の酸味と正の相関をそれぞれ認めた。

官能検査の外観評価と色調のa値及びb値との相関関係より、a値が低くb値の高い品種が好まれることを示唆していた。このことは、黄色系の果汁が好まれることを示していた。

個々の品種の特性を観ると‘シナノスイート’は、色調のa値（赤色）が低く、b値（黄色）が高い特徴であり、官能検査の外観評価が高く、甘味指標では、‘シナノスイート’は‘ふじ’に次ぐ評価であった。‘秋映’は、酸度が高く、従来品種と比べて糖と酸のバランスを示す糖酸比が良好であり、官能検査では、風味、酸味及び総合評価が高かった。‘シナノゴールド’は、褐変速度が遅く、‘秋映’と同様に、糖酸比が良好で、官能検査では、‘秋映’と類似する傾向で、風味、酸味及び総合評価が高かった。以上のことから、長野県オリジナルの3品種は、生食用のみならず加工用の原料としても有望であることが示された。

要 約

長野県のオリジナル品種である‘シナノゴールド’、‘シナノスイート’及び‘秋映’と既往品種の‘つがる’及び‘ふじ’の混濁果汁を作製し、その品種特性を検討した。

‘シナノスイート’は、色調のa値（赤色）が低く、b値（黄色）が高い特徴が、官能検査の外観の良好な評価となった。甘味指標では、‘シナノスイート’は‘ふじ’に次ぐ評価であった。‘秋映’は、酸度が高く、従来品種と比べて糖と酸のバランスが良好であることが、糖酸比から明らかになった。また官能検査では、風味、酸味及び総合評価が高かった。‘シナノゴールド’は、褐変速度が遅く、‘秋映’と同様に、糖酸比が良好であった。また官能検査では、‘秋映’と近似する傾向であり、風味、酸味及び総合評価が高かった。

以上のことから、今後さらに生産量の増加が予想される‘シナノスイート’、‘秋映’及び‘シナノゴールド’は生食用のみならず加工用の原料としても有望であることが示唆された。

文 献

- 1) 平成25年度産果樹生産出荷統計：農林水産省（2013）
- 2) 長野県園芸特産：長野県農政部園芸特産課（2011）
- 3) 農林水産省大臣官房統計部農林水産統計：平成22年度りんご結果樹面積、収穫量及び出荷量（第2報）、（2011）
- 4) 伊崎幸徳：品種別リンゴの加工適性，果汁協会報，347，15～22（1986）
- 5) 山王丸靖子・片山 脩・樫村芳記・金丸勝芳：リンゴの褐変に及ぼすポリフェノールオキシダーゼ活性の影響，日本食品科学工学会誌，45，28～36（1998）
- 6) 宇野和明・宇野良子・前田 巖・加田静子：りんご果肉の酵素的褐変における速度論的研究，日本調理科学会誌，33，7～12（2000）
- 7) 竹内正彦・石澤広明・松澤恒友：りんご果汁の高品質化に関する研究，果汁協会報，418，13～21，（1992）
- 8) 竹内正彦・石澤広明・柳原政利：りんご果汁の高品質化に関する研究（第2報）原料の褐変特性について，果汁協会報，441，39～42（1994）
- 9) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，金原出版，p.278（1980）
- 10) KOBAYASHI, Y., HABARA, M., IKEZAKI, H., CHEN, R., NAITO, Y. and TOKO, K.: Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores, *SENSORS*, 10, 3411～3443（2010）
- 11) 池崎秀和・谷口 晃・都甲 潔：味センサを用いた緑茶の味の定量化，電学論E, 117, 465～470（1997）
- 12) TAKEUCHI, M., SHIRASAWA, T., TAKIZAWA, J. and GOTO, T.: Relationship between apple fruit constituents and patulin accumulation by inoculated *Penicillium expansum*, *Food Preservation Sci.* (in press)
- 13) AMIOT, M. J., TACCHINI, M., AUBERT, S. and NICOLAS, J.: Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity, *J. Food Sci.*, 57, 958～962（1992）
- 14) 長野県編集，長野県経済事業農業協同組合連合会：果樹指導指針，p.5（2001）
- 15) 松澤恒友・竹内正彦・小田切一広・幸野憲二：りんごの品種別香気成分の分析と調査について，果汁協会報，345，30～33（1986）

（平成26年10月22日受付，平成26年12月22日受理）

Rhodomyrtonone, an Antimicrobial Acylphloroglucinol, in the Peel of *Myrciaria dubia* (Camu-camu)

KANESHIMA Tai*, MYODA Takao*[§], NAKATA Mayuko*,
FUJIMORI Takane*, TOEDA Kazuki* and NISHIZAWA Makoto*

* Department of Food and Cosmetic Science, Faculty of Bio-industry, Tokyo University of Agriculture,
196 Yasaka, Abashiri 099-2493

Camu-camu (*Myrciaria dubia*) grows in the upstream Amazon, and has fruit with particularly high vitamin C content. Camu-camu fruit juice is used industrially in various processed foods; however, large amounts of residual peel and seed are discarded during juice production. We have been investigating functional constituents in the residual peel and seed as a potential resource of functional foods and food additives. We previously reported that the *n*-hexane extract of camu-camu peel has strong antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. Our further investigation resulted in the isolation of rhodomyrtonone, an acylphloroglucinol, and its structure was characterized by spectral data such as ¹H- and ¹³C-nuclear magnetic resonance (NMR). As reported previously, rhodomyrtonone showed strong antimicrobial activities, and its minimum inhibitory concentration (MIC) values against six Gram-positive bacteria (0.78-1.56 μg/ml for all bacteria) were lower than that of kanamycin (1.56-6.25 μg/ml) used as a positive standard. Rhodomyrtonone has attracted particular attention because it showed remarkable antimicrobial activities against methicillin-resistant *S. aureus*. The presence of rhodomyrtonone in camu-camu peel may be significant for the camu-camu fruit industry.

(Received Aug. 21, 2014 ; Accepted Jan. 26, 2015)

Key words : antimicrobial activity, rhodomyrtonone, acylphloroglucinol, *Myrciaria dubia*, peel
抗菌活性, rhodomyrtonone, acylphloroglucinol, *Myrciaria dubia*, 果皮

Camu-camu (*Myrciaria dubia*) grows in the rainforest of the upper Amazon in Peru and Brazil. Camu-camu has been attracting attention because its fruit contains an extraordinary content of vitamin C¹⁾, and many studies have reported on its carotenoids^{2),3)}, anthocyanins⁴⁾, and volatile compounds^{5),6)}. Recently, many processed foods using camu-camu juice such as processed juice and vinegar have become commercially available in advanced countries. Due to the increasing amounts of camu-camu juice production, the residual peel and seed, discarded as industrial waste, have also increased. Residual peel and seed are nearly 40% of the weight of fresh fruit, and utilization of these residues may facilitate the industry of camu-camu juice production.

We have already reported that strong antioxidant activities were detected in the polar portion of a 50% acetone extract of peel and seed of camu-camu. The activities were shown to be caused by high contents of polyphenols in the peel and seed⁷⁾, and

C-glycosidic ellagitannins such as castalagin and vescalagin were shown to be responsible for the antioxidant activities⁸⁾. Our previous investigation also demonstrated the antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* in the non-polar portion⁷⁾. The activity against *S. aureus* was almost the same as that of kanamycin. In this paper, we report the isolation and characterization of an antimicrobial constituent from the non-polar extract of camu-camu peel.

Materials and Methods

1. Materials and chemicals

Dried powder of peel obtained from camu-camu juice production was donated from Empresa Agroindustrial del Peru S. A. (Peru).

Kanamycin was purchased from Wako Pure Chemicals (Osaka, Japan), and aureobasidin from Takara Bio Inc. (Ohtsu, Japan). Other chemicals were purchased from Kanto Chemicals (Tokyo,

§ Corresponding author, E-mail: t1myouda@bioindustry.nodai.ac.jp

Japan). Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were measured with an Agilent MR-400 NMR spectrometer in CDCl_3 . Chemical shifts were determined by using tetramethylsilane (TMS) as the internal reference. Mass spectra were measured with an Agilent 6540 QTOF spectrometer in positive electrospray ionization (ESI) mode. Optical rotations were measured on a JASCO P-2100 polarimeter. Ultraviolet-visible (UV-VIS) spectra were measured with a Shimadzu UV-1700 spectrophotometer. Gradient high performance liquid chromatography (HPLC) was performed with a JASCO LC-2000 Plus HPLC system equipped with a MD-2010 Plus photodiode array detector and an Atlantis T3 column $3\ \mu\text{m}$, $4.6\ \text{mm i.d.} \times 150\ \text{mm}$, Waters, Milford, MA, USA), and the mobile phase for gradient elution was as follows: solvent A was 5% acetonitrile containing 0.2% formic acid, and B was 100% acetonitrile. The gradient condition was as follows: 0 min, 0% B; 5 min, 60% B; 15 min, 70% B; 25 min, 80% B; 35~40 min, 100% B; 41 min, 0% B. Preparative HPLC was performed with a Shimadzu LC-8 A pump, a Hitachi L-4200 detector with a prep cell (2 mm) and an Inertsil ODS-4 column ($20\ \text{mm i.d.} \times 250\ \text{mm}$, GL Sciences, Tokyo, Japan).

2. Extraction and isolation

Dried peel of camu-camu (431.4 g) was extracted with *n*-hexane (1,000 mL) three times at room temperature. The combined extract was concentrated under reduced pressure at 40°C to dryness to obtain *n*-hexane extract (31.4 g). The *n*-hexane extract (500 mg) was dissolved in *n*-hexane (10 mL) and was subjected to countercurrent partition with 90% acetonitrile (acetonitrile : water = 9 : 1 v/v, 10 mL) three times, and *n*-hexane layer (187.1 mg) and 90% acetonitrile layer (231.4 mg) were obtained. The 90% acetonitrile layer was dissolved in 75% acetonitrile, and the soluble portions were subjected to preparative HPLC (mobile phase: 75% acetonitrile containing 0.1% acetic acid), followed by preparative thin layer chromatography (TLC) (PLC silica gel 60 F₂₅₄, 2 mm, MERCK, developed with ethyl acetate : benzene : acetic acid = 1 : 9 : 0.1) afforded compound 1 (2.5 mg).

3. Antimicrobial activities

Micro-well dilution broth susceptibility assays were used to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs). The *n*-hexane extract, *n*-hexane layer, 90% acetonitrile layer, and compound

1 in dimethyl sulfoxide (DMSO, 1.0 mg/mL) were prepared as the test solutions, and aqueous solutions of kanamycin and aureobasidin (1.0 mg/mL) were prepared as positive controls.

Antimicrobial activities were tested against *Bacillus subtilis* JCM 1465, *Bacillus cereus* NBRC 3457, *Micrococcus luteus* NBRC 12708, *Staphylococcus aureus* NRIC 1135, *Staphylococcus epidermidis* NBRC 100911, *Streptococcus mutans* JCM 5175, *Escherichia coli* O157 JCM 18426, *Pseudomonas aeruginosa* JCM 5962, *Salmonella typhimurium* NBRC 12529, *Saccharomyces cerevisiae* NRIC 1410 and *Candida albicans* JCM 2085. Mueller-Hinton broth medium (MHB, 23.1 g/L, 90 μL) and the test solutions (10 μL) were added to the first well of a 96-well plate. Aliquots (50 μL) of the mixtures in the first column were transferred to the second column, and were diluted with 50 μL of MHB (21.0 g/L). The procedure was repeated to the eleventh column. Inoculum (5 μL) of each microorganism prepared having 0.132~0.257 OD at 600 nm was added, and incubated at 25, 30 or 37°C for 18 hr. The growths of the bacteria were megascopically determined, and MIC values were determined.

4. Compound 1 (rhodomlyrtone)

A light yellow amorphous powder. $\lambda_{\text{max}} = 297\ \text{nm}$, $[\alpha]_{\text{D}} = +10.3^\circ$ ($c = 0.35$, CHCl_3), high resolution mass spectrometry (HR-MS); $m/z = 443.2430$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{O}_6$, 443.2424). ^1H - and ^{13}C -NMR spectral data see Table 2.

Results and discussion

Extraction of the peel of camu-camu afforded the *n*-hexane extract in yields of 2.5%. The *n*-hexane extract exhibited strong antimicrobial activities against *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* and *S. mutans* (MIC = 6.25 – 25.00 $\mu\text{g/mL}$), but no activities (MIC > 100 $\mu\text{g/mL}$) were observed against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. cerevisiae* and *C. albicans*. (Table 1)

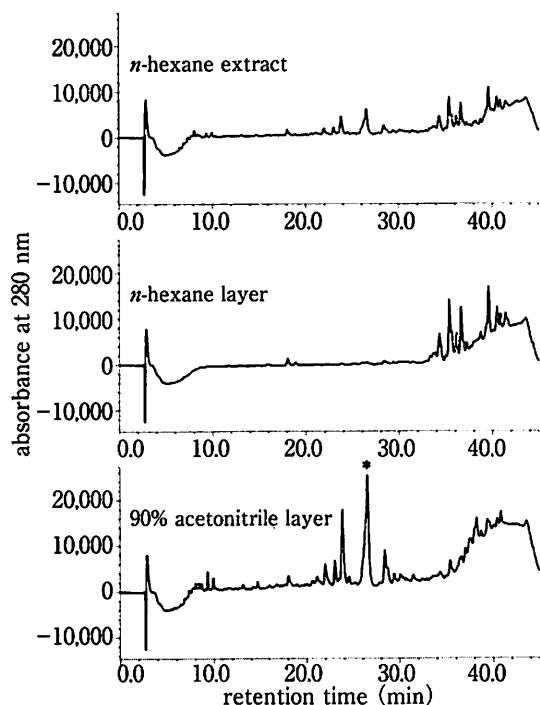
Isolation of active constituent (s) in *n*-hexane extract directly by preparative TLC or preparative HPLC was not successful owing to the presence of large amounts of neutral lipid. However, counter current partition between *n*-hexane and 90% acetonitrile resulted in the separation of the active fraction successfully. The chromatograms of *n*-hexane extract, *n*-hexane layer and 90% acetonitrile layer are shown in Fig. 1, and the chromatogram of 90% acetonitrile layer showed the peaks separated

Table 1 Antibacterial activities of *n*-hexane extract, *n*-hexane layer, 90% acetonitrile layer and compound 1 (rhodomyrtone) against 9 bacteria and 2 fungi (MIC : $\mu\text{g}/\text{mL}$)

	<i>n</i> -hexane extract	<i>n</i> -hexane layer	90% acetonitri l elayer	compound 1 (rhodomyrtone)	positive control
<i>Bacillus subtilis</i>	12.50	6.25	12.50	0.78	1.56 ¹
<i>Bacillus cereus</i>	6.25	6.25	6.25	0.78	6.25 ¹
<i>Micrococcus luteus</i>	6.25	6.25	12.50	0.78	6.25 ¹
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.50	6.25	12.50	0.78	1.56 ¹
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6.25	6.25	12.50	0.78	1.56 ¹
<i>Streptococcus mutans</i>	25.00	- *	-	1.56	1.56 ¹
<i>Escherichia coli</i> O157	>100	>100	>100	>100	1.56 ¹
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>100	>100	>100	>100	1.56 ¹
<i>Salmonella typhimurium</i>	>100	>100	>100	>100	6.25 ¹
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	>100	>100	>100	>100	3.13 ²
<i>Candida albicans</i>	>100	>100	>100	>100	1.56 ²

1 ; kanamycin, 2 ; aureobasidin

* ; Not tested

**Fig. 1** HPLC chromatograms of the *n*-hexane extract, *n*-hexane layer and 90% acetonitrile layer

Detection : PDA detector (280nm)

Gradient condition : see "materials and chemicals" section.

* ; this peak contains compound 1.

from those of the *n*-hexane layer. The antimicrobial activities of the *n*-hexane layer were shown to be stronger than those of the 90% acetonitrile layer, but isolation of active compound (s) from the *n*-hexane layer was not successful. Thus, we intended to isolate antimicrobial compound (s) from the 90% acetonitrile layer, and the purification using preparative HPLC and preparative TLC resulted in

the isolation of compound 1.

Compound 1 was obtained as a light yellow amorphous powder, and its HR-MS indicated a molecular formula of $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_6$. In the ^{13}C -NMR spectrum of compound 1, three carbonyl carbons, eight methyl carbons, two quaternary carbons and six olefinic or aromatic carbons were observed. The correlation spectroscopy (COSY) spectrum indicated the presence of two 2-methylpropyl groups, and the hetero-nuclear single quantum coherence (HSQC) and hetero-nuclear multiple-bond connectivity (HMBC) spectra indicated one 2-methylpropyl group was attached to a methine carbon and another to a carbonyl group. From these data, compound 1 was suggested to be rhodomyrtone, an acylphloroglucinol originally isolated from *Rhodomyrtus tomentosa*⁹. However, there was a report of a positional isomer of the 3-methyl-1-oxobutyl group of rhodomyrtone, rhodomyrtosone B, isolated from *Rhodomyrtus tomentosa*¹⁰. As the position of 3-methyl-1-oxobutyl group of rhodomyrtone was confirmed at C-7 by X-ray crystallography⁹, the position of the 3-methyl-1-oxobutyl group in rhodomyrtosone B was determined to be at the C-5 position. The comparison of ^1H - and ^{13}C -NMR data of compound 1 with those in the literature indicated that compound 1 was rhodomyrtone (Table 2). The chemical shifts of C-5 (δ 94.8) and C-7 (δ 107.5) of compound 1 were shown to be comparable to those of rhodomyrtone (δ 94.74, and δ 107.05), rather than rhodomyrtosone B (δ 105.9 and δ 100.3). The comparisons of ^1H -NMR data also supported the

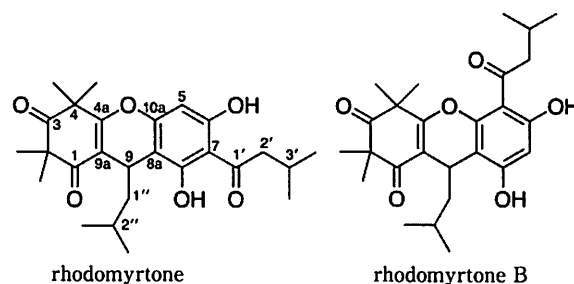
Table 2 The ¹H- and ¹³C-NMR spectral data for rhodomyrtonone, rhodomyrtonone B and compound 1 (in CDCl₃)

No.	rhodomyrtonone ⁹⁾		rhodomyrtonone B ¹⁰⁾		compound 1	
	δ _c	δ _H (mult., J _{HHz})	δ _c	δ _H (mult., J _{HHz})	δ _c	δ _H (mult., J _{HHz})
1	198.56		197.6		197.5	
2	56.05		56.1		56.1	
3	212.16		211.7		212.1	
4	47.23		47.2		47.1	
4a	167.65		166.9		166.8	
5	94.74	6.19 (s, 1H)	105.9		94.8	6.08 (1H, s)
6	158.70		159.0		158.3	
7	107.63		100.3	6.23 (s, 1H)	107.5	
8	162.84		159.0		162.5	
8a	106.30				106.7	
9	25.29	4.30 (t, 5.5, 1H)	25.1	4.25 (t, 6.0Hz, 1H)	25.1	4.25 (t, 5.5, 1H)
9a	114.26		114.5		114.2	
10a	155.63		153.3		155.6	
1'	206.75		204.0		206.3	
2'	53.18	2.97 (dd, 15.5, 6.8, 1H)	53.6	2.96 (dd, 17.0, 6.5, 1H)	53.2	2.95 (dd, 15.8, 6.6, 1H)
		3.03 (dd, 15.5, 6.8, 1H)		3.18 (dd, 17.0, 6.5, 1H)		3.01 (dd, 15.8, 6.6, 1H)
3'	25.15	2.28 (m, 1H)	24.5	2.37 (m, 6.5, 1H)	25.1	2.28 (m, 6.7, 1H)
1''	45.82	1.48 (m, 1H)	46.9	1.38 (obscure, 2H)	45.9	1.42–1.45 (obscure, 2H)
2''	25.10		24.9	1.38 (obscure, 1H)	25.1	1.42–1.46 (obscure, 1H)
2Me	24.21	1.39 (s, 3H)*	24.3	1.39 (s, 3H)	24.1	1.37 (s, 3H)
	24.58	1.42 (s, 3H)*	24.4	1.42 (s, 3H)	24.5	1.40 (s, 3H)
4Me	24.58	1.44 (s, 3H)*	24.8	1.63 (s, 3H)	24.6	1.43 (s, 3H)
	24.72	1.56 (s, 3H)*	25.4	1.47 (s, 3H)	24.7	1.55 (s, 3H)
3' Me	22.74	0.98 (d, 6.3, 6H)	22.6	1.01 (d, 6.5, 3H)	22.8	0.98 (d, 6.7, 6H)
	22.81		22.9	1.04 (d, 6.5, 3H)	22.8	
2'' Me	23.16	0.87 (d, 5.9, 3H)	23.1	0.87 (d, 6.5, 3H)	23.1	0.83 (d, 6.0, 3H)
	25.10	0.84 (d, 5.9, 3H)	23.4	0.89 (d, 6.5, 3H)	23.5	0.87 (d, 6.0, 3H)

* ; Interchangeable

characterization ; the chemical shift of methyl protons at C-4 (δ 1.55) of compound 1 was closer to that of rhodomyrtonone (δ 1.56) rather than that of rhodomyrtonone B (δ 1.63). MORKUNAS *et al.*¹²⁾ reported a large difference in the chemical shift of the methylene protons at C- 2' between rhodomyrtonone and rhodomyrtonone B, and our data (δ 2.95 and δ 3.01) also suggested that compound 1 was rhodomyrtonone. In addition to these data, the cross peaks were recognized between H-5 (δ 6.08) and C-6 (δ 158.3), and H-5 and C-10a (δ 155.6) in the HMBC spectrum. Moreover, in the NOESY spectrum of compound 1, a cross peak was observed between methyl protons at C-4 (δ 1.43) position and aromatic proton on C-5 position (δ 6.08). Therefore, compound 1 was identified as rhodomyrtonone (Fig. 2).

The antimicrobial activities of rhodomyrtonone against six Gram-positive bacteria, three Gram-negative bacteria and two fungi were tested, and

**Fig. 2** Structures of rhodomyrtonone (compound 1) and rhodomyrtonone B

the MIC values are shown in Table 1. As LIMUSUWAN *et al.*¹¹⁾ reported, compound 1 showed strong antimicrobial activities against Gram-positive bacteria, such as *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* and *Streptococcus*, whilst no activities were observed against Gram-negative bacteria and fungi. The MIC values against the Gram-positive bacteria tested in this report were similar or lower than those of kanamycin used as a positive control, and were

comparable to those of LIMSUWAN *et al.* The *n*-hexane layer exhibited stronger antimicrobial activity than the 90% acetonitrile layer as shown in Table 1, and the chromatograms of *n*-hexane and 90% acetonitrile layers suggested the presence of other antimicrobial constituents in the peel of camu-camu. Further investigations are needed to clarify the antimicrobial characteristics of the peel of camu-camu.

Rhodomyrtone is an acylphloroglucinol, isolated previously only from leaves *Rhodomyrtus tomentosa*⁹⁾, but this is the first time to show the presence of this compound in another source. Acylphloroglucinols are isolated mainly from plants of Hypericaceae and Myrtaceae plants, and show various biological activities including antimicrobial¹¹⁾, antiviral¹³⁾, anti-inflammatory¹⁴⁾ and cytotoxic activities¹⁵⁾. Among the many acylphloroglucinols reported, rhodomyrtone has attracted attention because of its antimicrobial activities against methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcal* strains^{16),17)}.

In conclusion, it is notable that rhodomyrtone is present in the peel of camu-camu (*Myrciaria dubia*) as a residual substance of camu-camu juice production. Use of the peel as a functional food resource or food additive may be beneficial for the camu-camu fruit industry.

References

- 1) BRADFIELD, R. B. and ROCA, A. : Camu-camu -- a fruit high in ascorbic acid, *J. Am. Diet. Assoc.*, **44**, 28~30 (1964)
- 2) AZEVEDO-MELEIRO, C. H. and RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. : Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS, *Food Comp. Anal.*, **17** 385~396 (2004)
- 3) ZANATTA, C. F. and MERCADANTE, A. Z. : Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*), *Food Chem.*, **101**, 1526~1532 (2007)
- 4) ZANATTA, C. F., CUEVAS, E., BOBBIO, F. O., WINTERHALTER, P. and MERCADANTE, A. Z. : Determination of Anthocyanines from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS and NMR, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 9531~9535 (2005)
- 5) FRANCO, M. R. B. and SHIBAMOTO, T. : Volatile Composition of Some Brazilian Fruits: Umbu-caja (*Spondiascitherea*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*), and Cupuaçu (*Theobromagrandiflorum*), *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1263~1265 (2000)
- 6) FRANCO, M. R. B. and JANZANTTI, N. S. : Aroma of minor tropical fruits, *Flav. Fragr. J.*, **20**, 358~371 (2005)
- 7) MYODA, T., FUJIMURA, S., PARK, B. -J., NAGASHIMA, T., NAKAGAWA, J. and NISHIZAWA, M. : Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production, *J. Food Agric. Environ.*, **8**, 304~307 (2010)
- 8) KANESHIMA, T., MYODA, T., TOEDA, K., FUJIMORI, T. and NISHIZAWA, M. : Antioxidative Constituents in Camu-camu Fruit Juice Residue, *Food Sci. Technol. Res.*, **19**, 233~228 (2013)
- 9) SALNI, D., SARGENT, M. V., SKELTON, B. W., SOEDIRO, I., SUTISNA, M., WHITE, A. H. and YULINAH, E. : Rhodomyrtone, an Antibiotic from *Rhodomyrtus tomentosa*, *AUST. J. Chem.*, **55**, 229~232 (2002)
- 10) HIRANRAT, A. and MAHABUSARAKAM, W. : New acylphloroglucinols from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*, *Tetrahedron*, **64**, 1193~1197 (2008)
- 11) LIMSUWAN, S., TRIP, E. N., KOUWEN, T. R. H. M., PIERSMA, S., HIRANRAT, A., MAHABUSARAKAM, W., VORAVUTHIKUNCHAI, S. P., DIJL, J. M. and KAYSER, O. : Rhodomyrtone : A new candidate as natural antibacterial drug from *Rhodomyrtus tomentosa*, *Phytomedicine*, **16**, 645~651 (2009)
- 12) MORKUNAS, M., DUBE, L., GÖTZ, F. and MAIER, M. E. : Synthesis of the acylphloroglucinols rhodomyrtone and rhodomyrtosone B, *Tetrahedron*, **69**, 8559~8563 (2013)
- 13) BLOOR, S. J. : Antiviral phloroglucinols from New Zealand *Kunzea* species, *J. Nat. Prod.*, **55**, 43~47 (1992)
- 14) FEISST, C., FRANKE, L., APPENDINO, G. and WERZ, O. : Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylatedacylphloroglucinols from *myrtus communis* and their implication as anti-inflammatory compounds, *J. Pharmacolo. Exp. Ther.*, **315**, 389~396 (2005)
- 15) TRETIAKOVA, I., BLAESIUS, D., MAXIA, L., WESSELBORG, S., SCHULZE-OSTHOFF, K., CINATL, J. Jr., MICHAELIS, M. and WERZ, O. : Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9, *Apoptosis*, **13**, 119~131 (2008)
- 16) SIANGLUM, W., SRIMANOTE, P., WONGLUMSOM, W., KITTINIYOM, K. and VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. : Proteome Analysis of Cellular Proteins in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Treated with Rhodomyrtone, a Novel Antibiotic Candidate,

Plos one, 6, e16628 (2011)

- 17) LEEJAE, S., TAYLOR, P. W. and VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. : Antibacterial mechanisms of rhodomyrton against important hospital-acquired antibiotic-resistant pathogenic bacteria, *J. Med. Microbiol.*, 62, 78~85 (2013)

Rhodomyrton, カムカム果皮に含まれる 抗菌活性のある Acylphloroglucinol

金嶋 泰*・妙田貴生*・中田真悠子*

藤森 嶺*・戸枝一喜*・西澤 信*

* 東京農業大学生物産学食品香粧学科
(〒093-2493 北海道網走市八坂196)

アマゾン川上流に分布するカムカム (*Myrciaria dubia*) は果汁にビタミンCを多量に含むことで知られている。このビタミンCを利用した食品や香粧品などの

製品が販売されている。しかし、現地で果汁を搾る際に、果実の約40%を占める果皮や種子が残渣として処理されている。

そこで私たちは、果皮や種子の機能性素材としての可能性を探索している。これまでに、果皮や種子の高極性画分が抗酸化活性を示し、抗酸化活性成分として2種の加水分解型タンニン(カスタラジン, ベスカラジン)を同定した。一方、脂溶性画分は黄色ブドウ球菌に対してカナマイシン以上の抗菌活性を示した。本報では、果皮の*n*-ヘキサン抽出物を分離精製することにより、活性成分としてアシルフロログルシノールであるロドミルトンを単離同定した。この成分の7種のグラム陽性菌に対する最小発育阻止濃度は0.78~1.56 µg/mlであり、カナマイシン(1.56-6.25 µg/ml)と同等かそれ以上の抗菌活性を確認した。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対しても抗菌活性を示すと報告されているロドミルトンが、カムカム果汁残渣から単離された事は残渣の利用に有益な情報となる。

(平成26年8月21日受付, 平成27年1月26日受理)

異なる温度で貯蔵したアキー果実 (果肉部) の生理活性と化学成分の変化

BENKEBLIA, N.: *Postharvest Biol. Technol.*, **97**, 36~43 (2014)

アキー果実 (英語名: ackee fruit, 学名: *Blighia sapida* Koenig, 西アフリカ原産のムクロジ科, 未熟果は有毒物質を含有。原著者のジャマイカでは非常に重要な料理の材料であるが, 日本では未利用の食資源なので紹介も兼ねて本論文を取り上げました) の果肉部 (仮種皮) を 5℃, 10℃, 20℃ で貯蔵 (8日間) して生理活性と品質変化を調べた。貯蔵温度が高い場合には, 外観や果肉の色の変化ならびに水分損失が顕著であり, 貯蔵に伴って呼吸量は減少し, エチレン生成量は増加した。数種類の糖 (ショ糖やグルコース等) とフェノール物質含量は, 温度が高い場合に顕著に減少したが, 低温での変化は少なかった。

(阿部一博)

収穫前後のジャスモン酸処理がラズベリーのフラボノイド含量や関連酵素に及ぼす影響

FLORES, G. and CASTILLO, M. L. R.: *Postharvest Biol. Technol.*, **97**, 77~82 (2014)

3品種のラズベリーの圃場において, 果実にジャスモン酸処理 (展着剤と併用, 緑熟果・着色果・完熟果実の3段階で各1回処理) を行うと収穫時のフラボノイド含量は顕著に増加し, 処理濃度 (0.01Mか0.1M) が高いほど増加量は多かった。収穫直後の完熟果に同濃度で処理を行い, 4℃で5日間保存してフラボノイド含量を測定したが, 3品種共に含量の増加は全くみられなかったものの外観の劣化抑制効果はみられた。収穫前にジャスモン酸処理を行った果実ではPAL活性に関与する桂皮酸含量が高かったことから, 処理は樹上における成熟過程においてフラボノイドの代謝を促進することで, 含量を高めることができたと推測している。

(阿部一博)

プラスチックフィルムを活用したMA貯蔵によるイチジクの品質保持

VILLALOBOS, M. V., et al.: *Postharvest Biol. Technol.*, **98**, 14~22 (2014)

流通適性が非常に低く品質保持が困難であるイチジク果実 (アントシアン含量が多い品種と少ない品種で, 官能検査による嗜好性が異なる) の品質保持効果を調べるために, 孔数が異なるプラスチックフィルムで包装して, 0℃で21日間貯蔵した。密封度が高いほど, O₂濃度が速く低下し (最終的に約2%), CO₂濃度が高くなり (最終的に15%), 水分損失も少なく, 微生物による腐敗も少なかった。可溶性固形物, 滴定酸含量, 果汁pH, 果肉硬度, に対するMA貯蔵の明確な効果はみられなかったが, 両品種共に密封度が高い場合には嫌気性の細菌は増加するが腐敗菌の生育は抑制されるので, 0℃で14~21日間の品質保持が可能であることを明らかにした。

(阿部一博)

熟によって誘発された異なる分子量の大豆可溶性タンパク質の表面特性

GUO, F., et al.: *Journal of Food Science*, **80**(2), C279~C287 (2015)

粒子径および表面特性の関係性を調査し, 異なる分子サイズの可溶性集合体を得るため大豆分離蛋白質 (SPI) 液を80, 90, 100℃で種々の時間加熱した。生成した可溶性集合体は, ゲル浸透クロマトグラフィーとSDS-PAGEにより解析した。SPI集合体は熱処理によって表面疎水性が増加した。温度にかかわらず5%SPIを加熱することで高サイズ集合体 (LA; >1,000kDa) の形成を促進した。一方2%SPIは温度依存的に上昇し, 80℃初期時の中間サイズ集合体 (MA; 670~1,000kDa) の減少と一致していた。LAが豊富 (>50%) であると加熱SPIは気泡安定性を促進させ, 厚いタンパク層に覆われた油滴形成の促進によって優れた乳化性と乳化安定性を示した。しかし, MAは起泡性を増強し, 乳化安定性は同様の影響を示したのにもかかわらず, LAほど乳化性が安定しなかった。

(塩野弘二)

酢酸またはアンモニアに分散させた小麦グルテンはグリアジン様の特性を示す

MURAKAMI, T., et al.: *Journal of Food Science*, **80**(2), C269~C278 (2015)

酢酸またはアンモニアに分散させたのち噴霧乾燥に代わり凍結乾燥し調製したグルテン粉末の粘弾特性を調査した。Mixographでは, コントロールと比較し, 酸およびアンモニア処理したグルテン粉末の生地安定性は減少した。両処理とも生地抵抗がピークに達した3分後生地安定性, 帯域幅が減少した。これはグリアジンがグルテン粉末に添加した際と同様であった。粘弾性の挙動は凍結乾燥直前における分散グルテン中のpHに依存した。SDS-PAGEでは, アンモニア処理したグルテン粉末を70%エタノールで抽出した際, 低分子サブユニットグルテニン (LMW-GS) を含むいくつかの重合グルテニンは増加した。対照的に, 酸処理したグルテン粉末では高分子量グルテニンサブユニットと/またはLMW-GSを含む重合グルテニンが著しく増加した。

(塩野弘二)

黒米ぬか中のフェノール酸化防止物の分離と同定

JUN, H., et al.: *Journal of Food Science*, **80**(2), C262~C268 (2015)

黒米ぬかはフェノール性的高酸化防止剤を含んでいる。黒米ぬかの40%アセトン抽出物を5つに分画した。5分画以外の, 酢酸エチル画分はセファデックスLH-20クロマトグラフィーを使って再分画した。フェノール化合物の抗酸化活性は, DPPH法, ABTS法および減少力にて評価した。再画分2が, 最も高い総フェノール量 (TPC) (816.0μg/mg) および最も低いEC50をもっていた (DPPH法47.8μg/ml, ABTS法112.8μg/mlおよび減少力49.2μg/ml)。これらの結果は, プチル化ヒドロキシトルエンのそれらよりそれぞれ3.1, 1.3および2.6倍低かった。100μg/mlのときに, それぞれの抽出物の抗酸化活性とTPCは, 0.86より高い相関係数によって関係づけられていた。再画分2の主要なフェノール酸は, HPLCとLC-ESI/MS/MS分析によってフェルラ酸と同定された。

(塩野弘二)

公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団 「第27回助成研究発表会」の開催について

公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団は平成26年度助成研究の成果発表会「第27回助成研究発表会」を平成27年7月22日（水）に都市センターホテル（東京都千代田区平河町）にて開催。

詳細については、財団のウェブサイトで確認してください。

公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団
(<http://www.saltscience.or.jp/>)

Fax：03-3497-5712

Tel：03-3497-5711

平成25・26年度役員

(五十音順)

会 長	高井陸雄 (東京海洋大名誉教授)		
副 会 長	太田英明 (中村学園大)	小宮山美弘 (テクノサイエンスローカル)	早坂 薫 (白松がモナカ本舗)
顧 問	片岡榮子 (東京農大名誉教授)	小嶋秩夫 (東京水大名誉教授)	高野光男 (大阪大名誉教授)
	露木英男 (日大名誉教授)	中村怜之輔 (岡山大学名誉教授)	藤木正一 (元味の素冷食)
	松本信二 (東京聖栄大)	三浦 洋 (実践女子大名誉教授)	
監 事	菊池修平 (東京農大)	中村賢一 (中村技術士事務所)	
事務局長	内野昌孝 (東京農大)		
理 事	青柳康夫 (女子栄養大)	秋永孝義 (琉球大名誉教授)	浅野高幸 (エバラ食品工業)
	浅野日謙之 (山形農総研セ)	阿部一博 (帝塚山学院大学)	飯野久和 (昭和女子大)
(会長・副	池戸重信 (宮城産技総セ)	泉 秀実 (近畿大)	板村裕之 (島根大)
会長を含	稲熊隆博 (帝塚山大)	内野昌孝 (東京農大)	椎名武夫 (千葉大)
め40名以	鈴木 徹 (東京海洋大)	鈴木敏郎 (東京農大)	鈴木 実 (オシキリ)
内)	平 智 (山形大)	高野克己 (東京農大)	竹中哲夫 (玉川大名誉教授)
	竹永章生 (日大)	田島 眞 (実践女子大)	丹野憲二 (日本食品分セ)
	辻 政雄 (山梨学院大)	寺井弘文 (神戸大名誉教授)	仲尾玲子 (山梨学院大)
	永島俊夫 (東京農大)	中西載慶 (東京農大名誉教授)	長谷川美典 (農研機構)
	東尾久雄 (茨城大)	日佐和夫 (日本トレーサビリティ協)	深井洋一 (長野農村工研)
	山内直樹 (山口大)	山田雄司 (山崎製パン中研)	横井俊宏 (味の素冷食)
	吉岡俊満 (雪印メグミルク)		
評 議 員	青柳吉紀 (興人ライフサイエンス)	赤浦和之 (島根県立大短大)	阿部 申 (日大)
	石川 豊 (食総研)	石田 裕 (東京農大短大)	石丸 恵 (近畿大)
(80名以内)	井上茂孝 (山崎製パン)	今堀義洋 (大阪府大院)	瓜生 登 (ニチレイフーズ)
	江口文陽 (東京農大)	太田 徹 (盛岡大)	大坪研一 (新潟大)
	荻原博和 (日大)	於勢貴美子 (大阪大谷大)	尾崎嘉彦 (近畿大)
	小柳津 周 (佐野短大)	恩田 匠 (山梨工技セ)	河野澄夫 (鹿児島大)
	橋田浩二 (大阪環農水総研)	小崎 浩 (帯広畜大)	後藤昌弘 (神戸女子大)
	貞包治夫 (尚綱大名誉教授)	佐藤広顕 (東京農大)	鮫島陽人 (鹿児島農試)
	塩見慎次郎 (くらしき作陽大)	スミトラウエンダコーン (東洋食工短大)	鈴木康生 (神戸大院)
	鈴木芳孝 (高知農技セ)	竹安宏匡 (香川短大)	多田耕太郎 (東京農大)
	田中芳一 (農研機構)	谷口亜樹子 (鎌倉女子大)	谷本守正 (山梨大)
	棚橋勝道 (棚橋食品)	玉川浩司 (はくばく)	津久井亜紀夫 (東京農大)
	辻井良政 (アルファー食品)	筒井知己 (東京聖栄大)	津布楽祥和 (カゴメ)
	鶴永陽子 (島根大)	徳江千代子 (東京農大)	富田信一 (玉川大)
	豊福 肇 (山口大)	鳥居恭好 (日大)	中野龍平 (岡山大)
	中村ゆり (農研機構)	西川正純 (宮城大)	野口智弘 (東京農大)
	橋口 亮 (長崎女子短大)	馬場 正 (東京農大)	濱渦康範 (信州大)
	浜野光年 (バイオリンクインタナショナル)	広瀬直人 (沖縄農研セ)	弘中和憲 (琉球大)
	藤島廣二 (東京農大)	藤田修二 (中村学園大短大)	古庄 律 (東京農大短大)
	古田道夫 (新潟県中央研)	穂坂 賢 (東京農大短大)	松田茂樹 (熊本みそ醤油工)
	三浦理代 (女子栄養大)	三森一司 (聖霊女子短大)	宮尾茂雄 (東京家政大)
	宮本敬久 (九州大院)	三輪章志 (石川農総研セ)	村 清司 (東京農大)
	村山秀樹 (山形大)	安田和男 (東京顕微鏡院)	八並一寿 (玉川大)
	矢口行雄 (東京農大)	矢野昌充 (果樹試験研推進協)	山崎雅夫 (東京農大)
	山脇和樹 (静岡大)	吉田 博 (関東学院大)	和田浩二 (琉球大)

