

日本食品保蔵科学会

創立40周年記念大会（第64回東京大会）プログラム

- 日 時：平成27年6月27日（土）～28日（日）
- 会 場：東京農業大学・世田谷キャンパス 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1
- 主 催：日本食品保蔵科学会
- 参 加 費：正 会 員：事前登録4,000円 当日受付5,000円
学 生 会 員：事前登録1,000円 当日受付2,000円
非会員一般：事前登録5,000円 当日受付6,000円
非会員学生：事前登録2,000円 当日受付3,000円
- 祝賀会会費：正 会 員：事前登録5,000円 当日受付6,000円
学 生 会 員：事前登録3,000円 当日受付4,000円
非会員一般：事前登録6,000円 当日受付7,000円
非会員学生：事前登録4,000円 当日受付5,000円
- 事 前 登 録：郵便振替00130-6-317484「日本食品保蔵科学会」
平成27年6月5日（金）までに手続きを済ませてください。
それ以降は当日料金を大会受付に収めてください。
振込用紙はお一人一枚個別にご使用下さい。
郵便振替の受領書をもって前納された大会参加費、懇親会費の領収書と致します。
ただし、手書きのものが必要な方は大会当日申し出て下さい。
前納された方は当日大会受付で受領書を提示し、参加証をお受け取り下さい。
- 大会事務局：大会実行委員長：鈴木敏郎（東京農業大学農学部）
副委員長：古庄 律（東京農業大学短期大学部栄養学科）

6月27日（土）

9：00～ 受付

9：30～10：30 評議員会（132教室）

10：30～11：30 総会、授賞式、HACCP管理者認定授与（横井講堂）

小原哲二郎記念功績賞 上田悦範（元大阪府立大学教授）

学会賞 包装資材の特性に基づいた青果物の輸送並びに貯蔵中の品質保持に関する研究

石川 豊氏（国）農研機構食品総合研究所

奨励賞 果実由来の機能性成分によるメタボリックシンドローム予防および改善に関する研究

岸田邦博氏 近畿大学生物理工学部

奨励賞 トマトおよびカキ果実の成熟と軟化に関する分子生物学的研究

中務 明氏 島根大学生物資源科学部

論文賞 オカラを原料とした麴を用いたシイラ魚醤油の製造

越智 洋氏^{*1,*2}・水谷政美氏^{*3}・山本英樹氏^{*3}・林 幸男氏^{*2,*1}

宮崎県衛生環境研究所衛生化学部^{*1}、宮崎大学大学院農学工学総合研究科^{*2}、

宮崎園食品開発センター応用微生物部^{*3}、宮崎大学工学部^{*4}

論文賞 Phenolic Extract from Japanese Apricot Fruit (*Prunus Mume* Sieb et Zucc.) Inhibits Disaccharidase

Activity in the Small Intestine and Suppresses the Postprandial Elevation of Glucose Levels in Rat

岸田邦博氏・鈴木雅也氏・部屋雄一氏・山崎祐大氏・堀西朝子氏・尾崎嘉彦氏

近畿大学生物理工学部

ふるさと産業貢献賞 福島県相馬市における東日本大震災からの真の農業復興への貢献

東京農業大学東日本支援プロジェクト

11:30~13:00 ポスター発表 (横井講堂前)

13:00~14:00 授賞者講演 (横井講堂)

学会賞 包装資材の特性に基づいた青果物の輸送並びに貯蔵中の品質保持に関する研究

石川 豊氏 (国) 農研機構食品総合研究所

奨励賞 果実由来の機能性成分によるメタボリックシンドローム予防および改善に関する研究

岸田邦博氏 近畿大学生物理工学部

奨励賞 トマトおよびカキ果実の成熟と軟化に関する分子生物学的研究

中務 明氏 鳥根大学生物資源科学部

14:30~15:15 創立40周年記念式典 (横井講堂)

15:30~16:30 特別講演 (基調講演)「食の将来への展望」(横井講堂)

元東京農業大学教授 三輪睿太郎氏

(農林水産省農林水産技術会議 会長)

16:30~17:45 パネルディスカッション「食の未来を見据えた食品保蔵科学の役割」(横井講堂)

司会進行 中村学園大学栄養科学部教授 太田英明

パネリスト 元東京農業大学教授 三輪睿太郎氏

(農林水産省農林水産技術会議 会長)

東京聖栄大学客員教授 藤島廣二氏

近畿大学生物理工学部教授 泉 秀実氏

(国) 農業・食料産業総合研究機構理事 長谷川美典氏

東京海洋大学先端科学技術研究センター教授 湯川剛一郎氏

18:00~19:30 創立40周年記念祝賀会 (1号館6階)

6月28日 (日)

9:30~12:00 一般講演

< A会場 > (1号館211教室:発表12分, 質疑応答3分)

A-1 9:30 ブレッドフルーツ (*Artocarpus altilis*) 果実の乾燥粉末化および加工食品への応用

○野口智弘^{*1}・田島 淳^{*2}・石田 裕^{*3}・豊原秀和^{*4}・岩本純明^{*1}・杉原たまえ^{*1} (東京農大応生・食加技セ^{*1}, 東京農大地環・工学^{*2}, 東京農大短大・栄養^{*3}, 東京農大国情・開発^{*4})

A-2 9:45 沖縄県産ゴーヤの品質・食味特性の評価

○茨木裕子^{*1}・山本久美^{*2}・矢羽田歩^{*1}・折田綾音^{*1}・船越淳子^{*2}・太田英明^{*1} (中村学園大^{*1}, 中村学園短大^{*2})

A-3 10:00 キムチの食品学的特性について

○松浦智美^{*1}・福田真衣^{*1}・関根康子^{*1}・清田マキ^{*2}・金井美恵子^{*1} (相模女子大短大・食物栄養^{*1}, 元相模女子大^{*2})

A-4 10:15 超高压処理を用いた低塩濃度ソーセージの性状について

○ODOAN TRAN VINH KHANH^{*1}・小泉亮輔^{*2}・多田耕太郎^{*2}・鈴木敏郎^{*1,*2} (東京農大院農・畜産^{*1}, 東京農大農・畜産^{*2})

A-5 10:30 超高压処理を用いたソーセージ様食品の開発について

○小泉亮輔・多田耕太郎・鈴木敏郎 (東京農大農・畜産)

A-6 10:45 アスコルビン酸によるアントシアニン退色促進に対するポリフェノールおよび還元剤の添加効果の検討

○江崎正信^{*1}・野口治子^{*2}・津久井亜紀夫^{*2}・高野克己^{*2} (東京農大院農・農化^{*1}, 東京農大応生・化学^{*2})

A-7 11:00 「露茜」を原料とする梅酒の色調改善に関する研究Ⅲ～酸化防止剤添加による色素安定性の向上について～

○小原三奈^{*1}・雪本 亮^{*2}・堀西朝子^{*2}・岸田邦博^{*2}・尾崎嘉彦^{*2}・庄司俊彦^{*1} (農研機構・果樹研^{*1}, 近畿大院・生物理工^{*2})

A-8 11:15 ウメ赤肉品種「露茜」のフェノール性化合物の組成と α -グルコシダーゼに対する阻害作用

○堀西朝子・藤岡優美・東出晃平・谷 佳樹・岸田邦博・尾崎嘉彦 (近畿大生物理工)

- A-9 11:30 クロロフィルの凝集状態と光に対する安定性に及ぼす界面活性剤の影響
○安田みどり^{*1}・田端正明^{*2} (西九州大・健栄^{*1}, 佐賀大・理工^{*2})
- A-10 11:45 ブドウ果汁中の酒石析出とその防止に関する実用的研究
○橋本卓也^{*1}・木村英生^{*1}・佐藤憲亮^{*1}・樋口かよ^{*1}・三森かおり^{*2} (山梨県工技セ^{*1}, (有)ぶどうばたけ^{*2})

<B会場> (1号館212教室:発表12分, 質疑応答3分)

- B-1 9:30 *Aspergillus oryzae*の高糖濃度および高アミノ酸濃度における挙動
○内野昌孝・高野克己 (東京農大応用・化学)
- B-2 9:45 *Aspergillus*属菌由来 α -グルコシダーゼにおける分子構造とエチル- α -グルコシド生産性の比較
○櫻井 楓^{*1}・兼重知尚^{*1}・戸倉慶大^{*1}・内野昌孝^{*2}・高野克己^{*2} (東京農大院農・農化^{*1}, 東京農大応生・化学^{*2})
- B-3 10:00 カキ果実における褐変と生体膜の劣化およびポリフェノールオキシダーゼの関係
○板村裕之^{*1}・川口 浩^{*1}・香西俊哉^{*1}・本多 学^{*1}・末廣優加^{*2}・渡部 忍^{*3}・中務 明^{*1}・江角智也^{*1}・山内直樹^{*1} (鳥根大生物資源^{*1}, 鳥取大院連農^{*2}, 鳥根県産技セ^{*3}, 山口大農^{*1})
- B-4 10:15 果実エステル香気の高多様性を担うアルデヒドデヒドロゲナーゼ
○上田悦範^{*1}・ウエンダコーンS.K.^{*2}・和田野晃^{*1}・今堀義洋^{*3}・於勢貴美子^{*4} (元大府大^{*1}, 龍谷大農・資源生物^{*2}, 大府大生命環境^{*3}, 大阪大谷大人間社会^{*4})
- B-5 10:30 ムキタケに含まれる酵素と食品への利用
○阿部 申・井上志穂・大津美晃 (日大生物資源・食品生命)
- B-6 10:45 各種デンプン粒の表層タンパク質 (SSP) が生デンプンの分解性に与える影響について
○塩野弘二^{*1}・辻井良政^{*2}・野口智弘^{*3}・高野克己^{*2} (東京農大院農・農化^{*1}, 東京農大応生・化学^{*2}, 東京農大応生・食加技セ^{*3})
- B-7 11:00 グリアジン添加の製パン性向上に対する ω -グリアジンの効果
○岡 大貴^{*1}・野口智弘^{*1}・高野克己^{*2} (東京農大応生・食加技セ^{*1}, 東京農大応生・化学^{*2})
- B-8 11:15 製パン性に対する小麦粉内在酵素の影響について
○樋口貴俊^{*1}・岡 大貴^{*2}・野口治子^{*3}・野口智弘^{*2}・高野克己^{*3} (東京農大院農・農化^{*1}, 東京農大応生・食加技セ^{*2}, 東京農大応生・化学^{*3})
- B-9 11:30 小麦の栽培条件の差異によるプロテインジスルフィドイソメラーゼ活性量の比較解析
○加藤 亮^{*1}・徳本 脩^{*1}・岡 大貴^{*2}・野口治子^{*3}・中澤洋三^{*4}・伊藤博武^{*5}・野口智弘^{*2}・高野克己^{*3} (東京農大院農・農化^{*1}, 東京農大応生・食加技セ^{*2}, 東京農大応生・化学^{*3}, 東京農大生産・食香^{*4}, 東京農大生産・生物^{*5})
- B-10 11:45 小麦タンパク質酸可溶性画分による冷凍生地製パン工程上の生地物性改善効果の測定
○新井千秋^{*1}・戸崎 (丹下) 幹子^{*1}・中村 哲^{*2}・山口 聡^{*2}・鈴木 実^{*2}・宮森清勝^{*3}・廣瀬理恵子^{*4}・野口智弘^{*4}・菊池修平^{*4}・高野克己^{*5} (アサマ化成(株)^{*1}, (株)オシキリ^{*2}, 東京都食技セ^{*3}, 東京農大応生・食加技セ^{*4}, 東京農大応生・化学^{*5})

<C会場> (1号館213教室:発表12分, 質疑応答3分)

- C-1 9:30 浸透圧脱水法による渋ガキ果実の脱水と脱渋ならびに加工品の品質に関する研究
○平 智・佐伯葉子・秋元彩夏・松本大生 (山形大農)
- C-2 9:45 帯電微粒子水処理されたプロッコリー花蕾の貯蔵中における品質制御機構
○野村昌弘^{*1}・榊田幸広^{*2}・須田 洋^{*2}・執行正義^{*1}・山内直樹^{*1} (山口大農^{*1}, パナソニック(株)アプライアンス社^{*2})
- C-3 10:00 帯電微粒子水処理によるイチゴ果実の品質保持
○榊田幸広^{*1}・板村好恵^{*2}・野村昌弘^{*2}・須田 洋^{*1}・執行正義^{*2}・山内直樹^{*2} (パナソニック(株)アプライアンス社^{*1}, 山口大農^{*2})
- C-4 10:15 光センシングによる梨蜜症の非破壊判定に関する基礎研究
○河野俊夫^{*1}・西本年伸^{*2}・小原敬弘^{*2}・疋田慶夫^{*3}・森松和也^{*3}・上向井美佐^{*1}・柏野由加里^{*1}・甲斐野乃花^{*1} (高知大農^{*1}, 高知県農技セ・果樹試^{*2}, 愛媛大農^{*3})
- C-5 10:30 X線CTによる米飯および加工品の評価法の検討
○前田雪恵^{*1}・辻井良政^{*2}・三木崇広^{*2}・高野克己^{*2} (アルファー食品(株)^{*1}, 東京農大応生・化学^{*2})

- C-6 10:45 ハンダマの機能性におよぼす電気処理の影響
○弘中和憲・國吉琴乃 (琉球大農)
- C-7 11:00 鮭を原料とした魚醤油熟成プロセスにおける各種成分並びにセンサー解析での味・香りパターンの変化について
○片貝洋輔^{*1}・中澤洋三^{*1}・遠田尚毅^{*2}・池濱清治^{*3}・吉田浩一^{*3}・山崎雅夫^{*1}・佐藤広顕^{*1}
(東京農大生産・食香^{*1}, コーケン香料^{(株)*2}, アルファ・モス・ジャパン^{(株)*3})
- C-8 11:15 各種ビール酵母を用いた発酵特性の比較解析①～各種成分並びにセンサーによる色調・香り・味の比較
○片貝洋輔^{*1}・中澤洋三^{*1}・遠田尚毅^{*2}・池濱清治^{*3}・吉田浩一^{*3}・山崎雅夫^{*1}・佐藤広顕^{*1}
(東京農大生産・食香^{*1}, コーケン香料^{(株)*2}, アルファ・モス・ジャパン^{(株)*3})
- C-9 11:30 近赤外法による水ナス果実の空洞果判別技術の開発
○橋田浩二^{*1,*2}・谷本秀夫^{*2}・執行正義^{*1,*3}・山内直樹^{*1,*3} (鳥取大院連合農^{*1}, 大阪府環農水研^{*2}, 山口大農^{*3})
- C-10 11:45 低温真空抽出技術により作製したハーブ抽出物の機能性評価
○山内良子^{*1}・實 明日花^{*1}・森方重貴^{*2}・小林弘司^{*1}・石川洋哉^{*1} (福岡女子大^{*1}, ^(株)KAORILネサンス^{*2})

<D会場> (1号館111教室：発表12分，質疑応答3分)

- D-1 9:30 日本酒および焼酎に含まれる香気成分の神経系受容体への効果
○山田康枝^{*1}・増田修一^{*1}・山本翔太^{*1}・伊豆英恵^{*2} (近畿大工^{*1}, 酒総研^{*2})
- D-2 9:45 骨代謝調節作用を有する在来農産物の探索
○吉原沙奈恵^{*1}・小田切香^{*1}・中川裕子^{*2}・千野正章^{*3}・仲尾玲子^{*1}・名取貴光^{*1} (山梨学院大・健栄^{*1}, 山梨学院短大・食栄^{*2}, 山梨県総研・農^{*3})
- D-3 10:00 在来農産物によるアミロイドβ凝集抑制および神経細胞保護効果について
○名取貴光^{*1}・吉原沙奈恵^{*1}・小田切香^{*1}・中川裕子^{*2}・千野正章^{*3}・仲尾玲子^{*1} (山梨学院大・健栄^{*1}, 山梨学院短大・食栄^{*2}, 山梨県総研・農^{*3})
- D-4 10:15 大阪シロナの品質および抗酸化活性に及ぼす季節変動の影響
○今堀義洋・藤波 望・遠藤春奈 (大阪府大院・生命環境)
- D-5 10:30 豆類の抗酸化活性の評価
○折田綾音^{*1}・船越淳子^{*2}・矢羽田歩^{*3}・山本久美^{*2}・茨木裕子^{*1}・太田英明^{*3} (中村学園大院^{*1}, 中村学園大短大^{*2}, 中村学園大^{*3})
- D-6 10:45 キャベツ収穫環境中の大腸菌群を対象とした薬剤損傷菌の生残性
○中田有社^{*1,*2}・岡本有加^{*1}・井上あやの^{*1}・泉 秀実^{*1} (近畿大生物理工^{*1}, 全農営農・技術セ^{*2})
- D-7 11:00 樹上におけるカキ果実の軟化とキシログルカン分解酵素遺伝子の発現
○中務 明・板村裕之 (島根大生物資源)
- D-8 11:15 小麦アレルギーを引き起すライ小麦の検出用プライマーの開発
○吉川知宏^{*1}・山岸 亨^{*2}・内野昌孝^{*3}・高野克己^{*3} (東京農大院・農化^{*1}, ^(株)ファスマック^{*2}, 東京農大応生・化学^{*3})
- D-9 11:30 プロテアーゼによるう蝕原性乳酸菌に及ぼす影響
○中島圭右・成澤直規・鳥居恭好・竹永章生 (日大院生物資源・食品生命)
- D-10 11:45 納豆によるう蝕誘発性バイオフィーム制御の可能性
○成澤直規・川崎幸正・鳥居恭好・竹永章生 (日大院生物資源・食品生命)

12:00~13:00 休憩

13:00~15:30 一般講演

<A会場> (1号館211教室：発表12分，質疑応答3分)

- A-1 13:00 レンズ豆を用いた餡の開発
○片山佳子・関根 柁 (東京聖栄大健康栄養)
- A-2 13:15 アカモク *Sargassum Horneri* の食品への利用
○谷口 (山田) 亜樹子^{*1}・佐藤祐子^{*2}・牧田知江子^{*3} (鎌倉女子大家政・管理栄養^{*1}, 東京医療保健大^{*2}, 井上蒲鉾店^{*3})

- A-3 13:30 乳酸菌を用いた鶏卵の発酵について
○伊藤圭亮*¹・小泉亮輔*²・入澤友啓*²・多田耕太郎*²・鈴木敏郎*² (東京農大院農・畜産*¹, 東京農大農・畜産*²)
- A-4 13:45 ジャガイモの加熱調理方法と食味評価—品種と貯蔵期間によるちがいを—
○岩田恵美子*¹・後藤昌弘*²・西中未央*³・森 元幸*³ (金沢学院短大*¹, 神戸女子大*², 農研機構・北海道農研セ*³)
- A-5 14:00 モモ果実の機能性評価と加工食品 (ギモーヴ) の開発
○小田切香*¹・吉原沙奈恵*¹・中川裕子*²・千野正章*³・名取貴光*¹・仲尾玲子*¹ (山梨学院大・健栄*¹, 山梨学院短大・食栄*², 山梨県総研・農業部門*³)
- A-6 14:15 クリ新品種 'ぼろたん' で製造した甘露煮の品質
○鶴永陽子・余村優希・仙田真夕・高橋哲也 (島根大教育)
- A-7 14:30 魚介類及び肉類の加熱収縮に対する大豆ホエーによる低減効果について
○金井大樹*¹・風見真千子*²・箕島良一*³・岡崎敏樹*³・野口治子*²・高野克己*² (東京農大院農・農化*¹, 東京農大応生・化学*², 日清オイリオ㈱*³)
- A-8 14:45 エミュー卵における構成タンパク質の解析と製菓特性について
○中村 優*¹・小泉亮輔*²・多田耕太郎*²・鈴木敏郎*² (関東学院大・栄養*¹, 東京農大農・畜産*²)
- A-9 15:00 久寿澱粉 (発酵処理小麦デンプン) のゲル特性に及ぼす発酵処理の影響
○丸山慶輔*¹・野口治子*²・内野昌孝*²・高野克己*² (東京農大院農・農化*¹, 東京農大応生・化学*²)

< B会場 > (1号館212教室: 発表12分, 質疑応答3分)

- B-1 13:00 コシヒカリの第三染色体短腕の良食味QTLが米飯物性に及ぼす影響について
○三木崇広*¹・辻井良政*²・飯島 健*³・堀清 純*³・高野克己*² (東京農大院農・農化*¹, 東京農大応生・化学*², 生物研*³)
- B-2 13:15 蒸煮中のヘミセルロースの変化がもたらすモチ米の蒸米物性について
○守屋実奈*¹・辻井良政*²・高野克己*² (東京農大院農・農化*¹, 東京農大応生・化学*²)
- B-3 13:30 長期貯蔵したセイヨウナシ 'シルバーベル' 果実の細胞壁成分に関する研究
○村山秀樹*¹・Imaduddin Yusuf Hanif*¹・板井章浩*²・及川 彰*¹ (山形大農*¹, 鳥取大農*²)
- B-4 13:45 沖縄伝統野菜 (島ヤサイ) 7品目の呼吸量と成分含有量
○広瀬直人*¹・前田剛希*¹・正田守幸*¹・新川実利*²・照喜名美佳*²・宮城一菜*² (沖縄県農研セ*¹, 琉球大教育*²)
- B-5 14:00 晩生マンゴー「夏小紅」の成熟中の呼吸量と理化学的性質変化
○前田剛希*¹・広瀬直人*¹・正田守幸*¹・安次富由乃*²・島尻庸平*²・松村まさと*²・玉城聡*² (沖縄県農研セ*¹, 沖縄県農研セ・名護*²)
- B-6 14:15 青果物の混載輸送を想定したエチレン分解処理とそれが青果物鮮度に与える影響
○小出章二*¹・菅 理哉*¹・西村絢希*²・折笠貴寛*¹・高橋克幸*³・塚崎守啓*⁴・高木浩一*²・内野敏剛*⁵ (岩手大農*¹, 岩手大工*², シシド静電気㈱*³, 福岡県農試*⁴, 九大農院*⁵)
- B-7 14:30 水蒸気高透過フィルムによるMA包装が温州ミカンの果実品質, 日持ち性に及ぼす影響
○井上久雄*¹・越智洋之*¹・菊地毅洋*¹・山田 毅*² (愛媛県農研果樹研セ・みかん研*¹, 住友ベークライト㈱*²)
- B-8 14:45 モミガラ培地を利用したきこの栽培法の開発
○江口文陽*¹・高島幸司*²・吉本博明*³・瀬山智子*¹・野口智弘*⁴・内野昌孝*⁵ (東農大地環・森林*¹, 富山県森林研*², 第一工大*³, 東京農大応生・食加技セ*⁴, 東京農大応生・化学*⁵)
- B-9 15:00 山梨県産ザクロ果実の成熟中における理化学成分の変化
○辻 政雄*¹・中川裕子*²・西田典永*³・長友暁史*³・吉野智恵*³・松浦洋一*³・小宮山美弘*⁴ (山梨学院大*¹, 山梨学院短大*², 森下仁丹㈱*³, テクノ・サイエンスローカル事務所*⁴)
- B-10 15:15 米飯の食味に関わる米胚乳内在酵素の活性量と登熟温度の関係性について
○辻井良政*¹・浅野目謙之*²・後藤 元*²・高野克己*¹ (東京農大応生・化学*¹, 山形県農総研セ*²)

<C会場> (1号館213教室：発表12分，質疑応答3分)

- C-1 13:00 子供の好きな野菜，嫌いな野菜
○稲熊隆博・染谷佳奈・竹田夏樹・丹羽 希 (帝塚山大現代生活)
- C-2 13:15 母子栄養の観点からみた島野菜の利用性：生理機能性成分に着目して
○宮城一葉*¹・照喜名美佳*¹・新川実利*¹・前田剛希*²・正田守幸*²・広瀬直人*² (琉球大教育*¹，沖縄県農研セ*²)
- C-3 13:30 高齢者給食サービスにおける食肉軟化剤使用条件の検討
○島田郁子・沼田 聡・田中 守・廣内智子・渡邊浩幸 (高知県立大・健康栄養)
- C-4 13:45 栄養士養成校における「食品衛生学実験」の衛生管理項目に対する学生の意識調査と教育効果第2報
○関戸元恵*¹・窪田ありさ*²・中川裕子*¹・仲尾玲子*² (山梨学院短大・食物栄養*¹，山梨学院大・健康栄養*²)
- C-5 14:00 生食用ブドウに対する若年層の食味嗜好とそれに関与する要因
○阿部一博*¹・阿知波信夫*² (帝塚山学院大*¹，ホシザキ電機(株)*²)
- C-6 14:15 タンパク質ゲル中の低温下再結晶挙動に初期氷結晶分布が及ぼす影響
○小林りか*¹・君塚道史*²・渡辺 学*¹・鈴木 徹*¹ (東京海洋大食品*¹，宮城大食産*²)
- C-7 14:30 凍結前鮮度の異なる凍結マアジ品質の官能評価
○小林友也・浅野美咲・渡辺 学・鈴木 徹 (東京海洋大食品)
- C-8 14:45 萎凋レタスの高温水による吸水，復元メカニズムの解明
○池田皓二・加藤由紘・加藤雅也・山脇和樹 (静岡大院農)
- C-9 15:00 即席麺の湯戻しほぐれ性の評価法の開発
○野口治子*¹・河田了輔*²・松澤伸明*²・辻井良政*¹・内野昌孝*¹・高野克己*¹ (東京農大応生・化学*¹，ヤマダイ(株)*²)

6月26日(金)17時~18時30分 HACCP教育コース(1号館113教室)

座長：近畿大学生物理工学部 泉 秀実

① 行政講演「新たな食品表示法と食品表示基準」

宮城大学名誉教授 池戸重信氏

② 技術講演「地域食材を生かした製品開発」

山梨学院大学教授 仲尾玲子氏

(更新が必要なHACCP管理者資格(平成22年度~27年度)の取得者および全学会会員対象)

日本食品保蔵科学会設立40周年記念シンポジウム

日 時：平成27年6月9日（火）13：00～17：00

会 場：東京ビッグサイトFOOMAJAPAN—2015国際食品工業展—

テーマ：「輸出を見据えた食品のシェルフライフと付加価値向上を加工・保存技術から支える」

1. 食のハラール性と、加工食品のハラール認証に関わる基礎知識

東京工業大学「ぐるなび」食の未来創製寄附講座特任講師 阿良田麻里子氏

2. HACCPシステムによる食品の安全性の確保と評価

大阪府立大学食品安全科学研究センター客員教授（元東京海洋大学大学院教授） 日佐和夫氏

3. 冷凍技術を駆使して、いつでも美味しいパンを創る

パン技術研究所教育部／研究調査部 伊賀大八氏

4. 生きの良い水産物を市場に提供するための冷凍技術

東京海洋大学食品生産科学部門教授 鈴木 徹氏

5. 安定した効果を発揮させるための機能性食品開発

東京農業大学地球環境科学部教授 江口文陽氏

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 41 NO. 3

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>

- ラット神経膠腫細胞に対する山菜抽出物のアポトーシス誘導効果…………… (91)
 /名取貴光・中川裕子・桜林ひかる・福井 智
 野田聖子・窪島愛華・戸澤一宏・仲尾玲子

<報 文> (英文)

- カンキツ果実における細胞間隙体積の推定モデル …………… (103)
 /ディルパン アンディ・疋田慶夫・千葉浩徳・小川幸春

<技術報告>

- 生姜汁を用いた牛乳ゲルの形成について …………… (111)
 /山田徳広・永島伸浩・志垣 瞳・稲熊隆博

<技術報告> (英文)

- 白色反射シートのカーテン処理によるワイン用ブドウ‘カベルネ・ソービニオン’の
 着色促進効果およびワイン品質 …………… (117)
 /松本敏一・石原 藍・安部紀夫
 桜井尚史・三島晶太・秋廣高志

<講 座>

- HACCP教育講座 (9) HACCP普及の取組みについて …………… (123)
 /梅田浩史

- <文献抄録> …………… (129)

- <会 告> …………… (130)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 41 NO. 3 (2015)

<Article> (Japanese)

Induction of Apoptosis by Extracts of Edible Wild Plants in C6 Glioma Cells

NATORI Takamitsu, NAKAGAWA Yuko, SAKURABAYASHI Hikaru, FUKUI Satoru,

NODA Seiko, KUBOJIMA Aika, TOZAWA Kazuhiro and NAKAO Reiko (91)

<Article> (English)

Mathematical Modeling of Intercellular Space Volume of Citrus Fruits

DIRPAN Andi, HIKIDA Yoshio, CHIBA Hironori and OGAWA Yukiharu (103)

<Technical Report> (Japanese)

Preparation of Milk Gels by Incubating a Mixture of Milk and Ginger Juice

YAMADA Norihiro, NAGASHIMA Nobuhiro, SHIGAKI Hitomi and INAKUMA Takahiro (111)

<Technical Report> (English)

Effects of Curtain Treatment with White Reflection Sheets

in Improving Berry Coloration and Wine Quality in 'Cabernet Sauvignon' Grapes

MATSUMOTO Toshikazu, ISHIHARA Ai, ABE Norio, SAKURAI Takafumi,

MISHIMA Shota and AKIHIRO Takashi (117)

<Serialization Lecture> (Japanese)

Approach to the Promotion of HACCP

UMEDA Hiroshi (123)

ラット神経膠腫細胞に対する 山菜抽出物のアポトーシス誘導効果

名取貴光*1§・中川裕子*2・桜林ひかる*1・福井 智*1
野田聖子*1・窪島愛華*1・戸澤一宏*3・仲尾玲子*1

* 1 山梨学院大学健康栄養学部管理栄養学科

* 2 山梨学院短期大学食物栄養科

* 3 山梨県森林総合研究所

Induction of Apoptosis by Extracts of Edible Wild Plants in C6 Glioma Cells

NATORI Takamitsu*1§, NAKAGAWA Yuko*2, SAKURABAYASHI Hikaru*1, FUKUI Satoru*1,
NODA Seiko*1, KUBOJIMA Aika*1, TOZAWA Kazuhiro*3 and NAKAO Reiko*1

* 1 *Department of health and nutrition, Yamanashi Gakuin University,
2-4-5 Sakaori Kofu, Yamanashi 400-8575*

* 2 *Department of food and nutrition, Yamanashi Gakuin junior college,
2-4-5 Sakaori Kofu, Yamanashi 400-8575*

* 3 *Yamanashi Forestry and Forest Products Research Institute,
Saisyoji Fujikawa-cho, Minamikoma-gun, Yamanashi 400-0502*

Many edible wild plants have been consumed as food. It has been reported that these plants have antioxidants, antitumor and antibacterial activities. First, we examined the DPPH radical scavenging activity and total polyphenol contents in 14 species of edible wild plants, which were collected from the Yamanashi prefecture. A significant correlation between antioxidant activity and polyphenol content was observed. Moreover, *Akebia quinata*, *Pteridium aquilinum*, *Adenophora triphylla*, *Cacalia delphiniifolia*, *Allium victorialis*, *Hosta sieboldiana*, *Vinca minor* and *Acer maximowiczianum* were found to have significant antitumor effects against C6 glioma cells. The decrease of cell viability raises two possibilities-induction of cell death or growth retardation. We then subjected the extracts to propidium iodide (PI) and calcein-AM staining to distinguish between dead and live cells, respectively. The extracts from *A. maximowiczianum* induced an increase in the number of PI-positive cells. Moreover, activation of caspase 3 and translocation of phosphatidylserine were observed in the extract-treated cells suggesting that apoptosis might be the reason for decreased cell viability. On the other hand, extracts of *A. victorialis*, *H. sieboldiana*, and *V. minor* induced abnormalities in the cell cycle in the G₂/M phase of cell cycle. Our data suggest that the antitumor effect of the edible wild plants might be through the induction of apoptosis and cell cycle abnormalities.

(Received Oct. 15, 2014 ; Accepted Feb. 12, 2015)

Key words : polyphenol, apoptosis, edible wild plant, antitumor effect, cell cycle abnormality
ポリフェノール, アポトーシス, 山菜, 抗腫瘍効果, 細胞周期異常

山菜とは、野山に自生する食用植物の総称である。日本のみならず、アジア、ヨーロッパ、北米・南米など、世界のいたるところに生育している。生育する環境も々で、山間部や平地を中心に、河川域や海岸などにも自生

している。各地域には、多種多様な山菜が存在し、古くより食用として好まれている¹⁾。

山菜は、毎年新しく芽が出て茎が伸長する多年草に分類される。食用に供される部分は、これらの若芽や茎先

* 1 〒400-8475 山梨県甲府市酒折2-4-5

§ Corresponding author. E-mail: t-natori@ygu.ac.jp

* 2 〒400-8575 山梨県甲府市酒折2-4-5

* 3 〒400-0502 山梨県南巨摩郡富士川町最勝寺2290-1

端部、若葉、根茎などが中心で、採取や収穫できる時期が限定される。一般に山菜は野菜類と同様に、タンパク質や脂質が少なく、食物繊維が多いのが特徴であるが、加えてミネラルやビタミンが多く独特の風味をもつ。また、アクの強いものが多く、生食では苦味や渋味、酸味、えぐ味を強く感じるため、食用の際は、茹でる、煮る、揚げるなどの処理を必要とする。これによりアクのもとになる成分はほとんどが分解あるいは除去されるため、加熱調理によって美味なものとして食することができる。また、各地域の農山村には伝統的に、お浸しや煮物、和え物など、多種多様な山菜料理が存在している^{29,30}。近年、山野に自生している山菜を人工的に畑で栽培する技術が確立され、店頭でも販売されるようになってきた。最近では、ワサビやミツバ、フキ、ウド、セリなどの品種に加え、タラノメやワラビ、ゼンマイ、ギョウジャニンニクなども栽培が可能となり、都会でも貴重な山菜を入手することができるようになってきている。また、山菜は食用としての利用に加え、薬用としても古くより用いられており、身近な民間療法の薬用食品として食されている^{29,31}。

また、消費者の健康志向が高まり、食品成分のもつ様々な機能性に対する関心が高まってきている。自身の健康や身体の機能に関係するため、大変興味も高く、食によって糖尿病や高血圧症などの生活習慣病を予防したいと願う人も多い。これら機能性成分の中で最も関心の集まっているものとして、ポリフェノール類が挙げられる⁴⁾。近年では、ブドウに多く含まれるポリフェノール類に脳神経機能の改善効果^{5),6)}や抗ガン作用⁷⁾、心疾患に対する予防効果⁸⁾も報告されている。また、大豆イソフラボンによる骨粗鬆症予防効果⁹⁾、緑茶カテキンによる心疾患予防効果および抗がん効果^{10),11)}など、食品由来成分の機能性について数多く報告がなされている。

山菜にもポリフェノールなど、身体の機能を調節しうる成分が豊富に含まれていることが知られている¹²⁾。このような背景から、山菜における薬効やその機能性にも注目が集まり、抗酸化活性や抗菌作用、抗腫瘍作用、抗変異原性作用、解毒作用、糖尿病予防効果など様々な研究が進められている^{13)~17)}。山菜のもつ効能・機能性成分としては、フラボノイド類、アントシアニン類、カロテノイド類、アルカロイド類、サポニン、有機酸、ミネラルなどが挙げられる。先に挙げた山菜特有のアクは、ポリフェノール類の一種であるホモゲンチジン酸や有機酸の一種であるシュウ酸に由来している¹⁸⁾。

これまでに、キク科に属するフキやフキノトウに抗酸化作用や抗アレルギー作用、神経保護効果^{19),20)}、アブラナ科に属するワサビに抗菌作用や解毒作用、抗腫瘍作用^{21)~23)}、ウコギ科に属するウドやタラノメに抗酸化作用や抗腫瘍作用、抗炎症作用、抗アレルギー効果^{24)~27)}、ユリ科のギョウジャニンニクに抗腫瘍作用や抗血栓作用、解毒作用^{28)~30)}、ゼンマイ科に属するゼンマイやオシダ科

に属するクサソテツに抗酸化作用や抗ウイルス作用のあることが報告されている^{31),32)}。この他にも、アルカロイド類やサポニンなども含め様々な作用が報告されており、山菜には多種多様な生理活性物質が含まれていることが推察される^{33),34)}。一方で、山菜各品種の生理作用についての検証はなされているものの、総合的に機能性を比較した研究は乏しく、その報告が期待される。

今回試料採取を行った山梨県は、豊かな自然と風土に囲まれ、特色ある農林産業が発展している。降水量が少なく日照時間が長いという特徴を生かし、甲府盆地から富士山、八ヶ岳山麓に至るまで、様々な野菜・果樹類が栽培されている。山間部では清流を利用してクレソンやタラノメなどが栽培されており、野山に自生する山菜やキノコ類は貴重な植物資源となっている。本研究では、山梨県内で採取しうる山菜を対象に、その生理機能について検討を行った。山梨県内で採取した14種類の山菜について検討を行ったところ、ポリフェノール含有量と抗酸化活性に高い相関がみとめられた。また、腫瘍細胞に対する増殖抑制効果の検討を行ったところ、多数の山菜に顕著な増殖抑制効果が確認された。特に、ワラビにおいては顕著なアポトーシスが誘導されていた。さらに、細胞周期に対する影響を検討したところいくつかの山菜において細胞周期の異常がみとめられ、腫瘍細胞の増殖が抑制されていることが明らかとなった。以上、今回得られた知見について報告する。

実験方法

1. 材料

山梨県総合農業技術センターおよび八ヶ岳薬用植物園で採取した山菜(14種類;アケビ、ミツバアケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、モミジガサ、セイヨウノコギリソウ、ワレモコウ、ヤブカンゾウ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウ、イカリソウ、メグスリノキ、センキュウ)を試料として用いた。なお、アケビ、ミツバアケビ、ワレモコウ、メグスリノキについては、葉のみを使用し、それ以外の山菜については葉および茎を使用した。

2. 試料の調製および抽出

試料を凍結乾燥した後、ミルサー(IWATANI IFM-720G-W)を用いて微粉碎した。試料1gを精秤後、80%メタノール40mlを加えてキュートミキサー(EYELA CM-1000 10分間)にかけ、遠心分離(4,000rpm, 10分間)して上清を回収した。残渣に再び80%メタノール40mlを加えて同様の抽出操作を繰り返し、ろ紙(KIRIYAMA40φm/m)にて吸引ろ過を行った。得られた上清を合わせて200mlに定容しポリフェノール分析試料とした。なお、生物学的な分析においては、ポリフェノール分析試料を濃縮・乾固させた後に、100mg/mlとなるようにジメチルスルホキシド(DMSO)に再溶解させ試料とした。

3. 総ポリフェノール含量の測定

ポリフェノール含量は、Folin-Denis法に準じ、タンニン酸の検量線から相当量として算出した。各分析試料0.4mlに、10%炭酸ナトリウム溶液0.4ml、フォーリン・チオカルト試薬0.2ml、蒸留水3mlを加え攪拌した。室温にて30分間静置した後、反応液を96wellプレートに移し、分光マイクロプレートリーダーを用いて750nmにおける吸光度を測定した。同様に、タンニン酸を標準物質として用いて検量線を作成し、得られた検量線から各分析試料中の総ポリフェノール量を算出した。

4. DPPHラジカル消去活性の測定

分析試料0.1mlと500 μ MのDPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) -エタノール溶液0.4mlを混合し、室温、暗所で30分間反応させた。反応液を96wellプレートに移し、各抽出液の代わりにエタノール用いたものを対照として、分光マイクロプレートリーダーを用いて517nmにおける吸光度を測定した。同様に、標準物質としてTroloxを用いて検量線を作成し、得られたTroloxの検量線から各分析試料のDPPHラジカル消去活性 (Trolox相当量) を算出した。なお、DPPH溶液は使用直前に調製したものをを用いた。

5. 腫瘍細胞に対する増殖抑制効果の評価 (MTTアッセイ法)

腫瘍細胞モデルとしてラット由来の神経膠腫細胞株 (C6 glioma) を用いた。細胞培養には、10%新生児牛血清 (GIBCO, USA) およびpenicillin G (50unit/ml), streptomycin (50 μ g/ml) を含むpH7.4に調整したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) (Sigma) を使用した。96wellプレートにC6 gliomaを播種し (1万cells/well), 一晚培養した。翌日、培養液100 μ lを各濃度に調製した試料入り無血清培地と入れ換えて培養した。24時間後、MTT法にて生細胞数を測定した (MTT法とは、ミトコンドリアの還元能を利用した方法でミトコンドリアの脱水素酵素が3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromideを還元することを利用している)。MTT溶液による反応を2時間行い、反応停止液を加え一晚反応させた。570nmにおける吸光度を測定し、試料無添加系をコントロール (100%) として細胞生存率を算出した。

6. 蛍光顕微鏡法による細胞死判定

24ウェルプレートにC6 gliomaを播種し (6万cells/well), 一晚培養した。翌日、培養液500 μ lを各濃度に調製した試料入り無血清培地と入れ換えて培養した。24時間後、培養液500 μ lを染色液 (染色液500 μ l/well (5mlの無血清培地にカルセインAM 4 μ l, Propidium iodide (PI) 6 μ l, Hoechst 33342 5 μ lを混合したもの) に入れ換え20分間CO₂インキュベーター内で反応させた。染色液を無血清培地に交換した後、蛍光顕微鏡観察を行い、写真を撮影した。解析は、撮影画像から細胞数を計測し、死細胞率を算出した (死細胞率=PI陽性細胞数/ (カルセインAM陽性細胞数+PI陽性細胞数) × 100)。

カルセインAMでは生細胞が緑、PIでは死細胞が赤色、Hoechst33342ではアポトーシス細胞が青白、細胞核が濃青色にそれぞれ観察される。

7. アポトーシス細胞の検出 (Annexin V- および Caspase-3の検出)

96ウェルプレートにC6 gliomaを播種し (1万cells/well), 一晚培養した。培養液100 μ lを各濃度に調製したサンプル添加培地に入れ換えて培養した。24時間培養した後、培養液を各種染色液 (Annexin V-EnzoGoldを無血清培地に100倍希釈で添加した溶液 (GFP-Certified™ Apoptosis/Necrosis Detection Kit) または、NucView™ 488 Caspase-3 substrateを無血清培地に100倍希釈で添加した溶液 (NucView™ 488 Caspase-3 Assay Kit) に入れ換え15分間CO₂インキュベーター内で培養した。染色液を無血清培地に交換した後、蛍光マイクロプレートリーダーにて蛍光強度を測定し (Ex/Em: 550/570nm またはEx/Em: 488/520nm), その蛍光強度よりアポトーシス細胞の割合およびCaspase-3 産生量を算出した。

8. 細胞周期の解析

6 cmシャーレにC6 gliomaを播種し (60万cells/dish), 一晚培養した。培養液1mlを各濃度に調製したサンプル添加無血清培地に入れ換えて24時間培養した。培養液を除去した後、0.25%トリプシン/EDTA溶液を添加して細胞をシャーレからはがし、ピペッティングを行い、2mlチューブに細胞懸濁液を回収した。1,500rpm, 3min遠心分離して上清を捨てた後、PBS溶液を加え再び細胞を懸濁させた。1,500rpm, 3min遠心分離して上清を捨てた後、70%エタノール溶液を加えてよく懸濁し細胞を30分間固定した。1,500rpm, 3min遠心分離して上清を捨てた後、PBS溶液を加え再び細胞を懸濁させた。同様の洗浄操作を2回繰り返した。1,500rpm, 3min遠心分離して上清を捨てた後に得られた細胞のペレットを100 μ lのPBS溶液に懸濁した後、RNaseを0.1mg/mlとなるように添加し、37℃で30分間反応させた。PI染色溶液を添加し、30分間、室温、暗所で反応させた後、Tali® Image-Based Cytometerを用いて細胞周期の解析を行った。

実験結果および考察

1. 総ポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

抗酸化活性を示す代表的な成分としてポリフェノール類が挙げられる。生体内ラジカルや活性酸素が病気発症の要因であることが解明されて以来、抗酸化作用は大変注目を浴びている^{35)~38)}。

そこで、山菜抽出物における総ポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の検討を行った。山菜抽出物の総ポリフェノール含量をTable 1に示した。アケビ、ミツバアケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、モミジガサ、セイヨウノコギリソウ、ワレモコウ、ヤブカンゾウ、ギ

Table 1 Polyphenol content and radical scavenging activity of extracts of edible wild plants

Samples		Total polyphenols (mg TA eq/100g-fresh weight)	Radical scavenging activity against DPPH (μ g Trolox eq/100g fresh-weight)
アケビ	<i>Akebia quinata</i>	1,113 \pm 34.8	0.31 \pm 0.12
ミツバアケビ	<i>Akebia trifoliata</i>	1,677 \pm 18.4	0.68 \pm 0.02
ワラビ	<i>Pteridium aquilinum</i>	600 \pm 7.9	0.33 \pm 0.08
ツリガネニンジン	<i>Adenophora triphylla</i>	684 \pm 2.9	0.23 \pm 0.01
モミジガサ	<i>Cacalia delphiniifolia</i>	345 \pm 17.2	0.13 \pm 0.00
セイヨウノコギリ	<i>Achillea millefolium</i>	1,073 \pm 7.3	0.42 \pm 0.04
ワレモコウ	<i>Sanguisorba officinalis</i>	2,007 \pm 20.7	0.66 \pm 0.07
ヤブカンゾウ	<i>Hemerocallis fulva</i>	208 \pm 3.6	0.10 \pm 0.01
ギョウジャニンニク	<i>Allium victorialis</i>	50 \pm 1.2	0.05 \pm 0.00
オオバギボウシ	<i>Hosta sieboldiana</i>	106 \pm 6.6	0.01 \pm 0.00
ヒメツルニチニチソウ	<i>Vinca minor</i>	810 \pm 7.6	0.28 \pm 0.00
イカリソウ	<i>Epimedium grandiflorum</i>	418 \pm 13.3	0.08 \pm 0.01
メグスリノキ	<i>Acer maximowiczianum</i>	1,845 \pm 7.7	1.99 \pm 0.32
センキュウ	<i>Cnidium officinale</i>	527 \pm 18.1	0.24 \pm 0.00

ョウジャニンニク, オオバギボウシ, ヒメツルニチニチソウ, イカリソウ, メグスリノキ, センキュウの抽出物に含まれるポリフェノール含量は, それぞれ, 1,113 \pm 34.8, 1,677 \pm 18.4, 600 \pm 7.9, 684 \pm 2.9, 345 \pm 17.2, 1,073 \pm 7.3, 2,007 \pm 20.7, 208 \pm 3.6, 50 \pm 1.2, 106 \pm 6.6, 810 \pm 7.6, 418 \pm 13.3, 1,845 \pm 7.7, 527 \pm 18.1mg (タンニン酸相当量)/100g (生鮮物)であった。今回供試した山菜の中ではミツバアケビ, ワレモコウ, メグスリノキにおけるポリフェノール含量が高いこと, 一方, ヤブカンゾウ, ギョウジャニンニク, オオバギボウシのポリフェノール含量が低いことが明らかとなった。一般に市販されている野菜に含まれるポリフェノール量は生鮮物100g当たり, 1~400mg (没食子酸相当量)であることが知られている。抽出方法や定量方法, 換算の方法にもよると思われるが, 今回の結果より山菜の一部にはポリフェノールが豊富に含まれているといえ

る。

また, 各山菜抽出物のDPPHラジカル消去活性について検討したところ, アケビ, ミツバアケビ, ワラビ, ツリガネニンジン, モミジガサ, セイヨウノコギリソウ, ワレモコウ, ヤブカンゾウ, ギョウジャニンニク, オオバギボウシ, ヒメツルニチニチソウ, イカリソウ, メグスリノキ, センキュウの抽出物のDPPHラジカル消去活性は, それぞれ, 0.31 \pm 0.12, 0.68 \pm 0.02, 0.33 \pm 0.08, 0.23 \pm 0.01, 0.13 \pm 0.00, 0.42 \pm 0.04, 0.66 \pm 0.07, 0.10 \pm 0.01, 0.05 \pm 0.00, 0.01 \pm 0.00, 0.28 \pm 0.00, 0.08 \pm 0.01, 1.99 \pm 0.32, 0.24 \pm 0.00 μ g (Trolox換算)/100g (生鮮物)であった。ミツバアケビ, ワレモコウ, メグスリノキの抗酸化活性が高いこと, 一方, ギョウジャニンニク, オオバギボウシ, イカリソウの抗酸化活性が低いことが確認された。

次に, 山菜抽出物の総ポリフェノール含量とDPPHラ

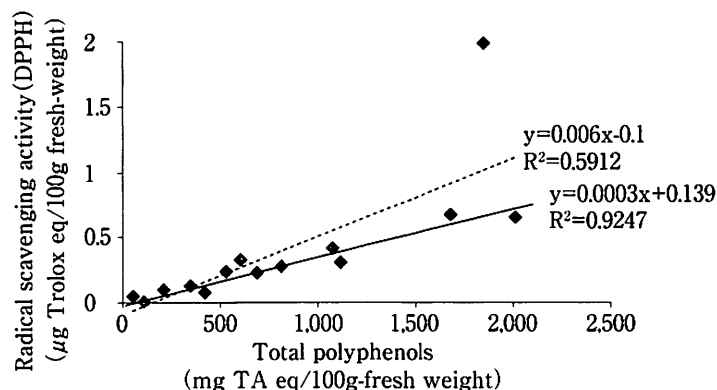


Fig. 1 Correlation between total polyphenols and radical scavenging activity of extracts of edible wild plants

The solid line indicates the approximate curve inclusive of all samples whereas the dotted line shows the approximate curve excluding *Acer maximowiczianum*.

ジカル消去活性の関係をFig. 1に示した。ミツバアケビ、ワレモコウなど、総ポリフェノール含量の高かった山菜抽出物ほどDPPHラジカル消去活性が高く、ポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の間に強い相関関係のあることが確認された(実線: $R^2=0.9247$)。しかし、メグスリノキを含めた場合には低い相関関係となることが明らかとなった(点線: $R^2=0.5912$)。一般に、ポリフェノール含量と抗酸化活性には高い相関のあることが知られている^{39),40)}。本検討においても、その傾向がみとめられたが、メグスリノキのみが際立って抗酸化活性が高い結果となった。一般にポリフェノール以外の抗酸化物質として、カロテノイド、ビタミンC、ビタミンE、アミノ酸の一部などが知られている。AKAZAWAらは、メグスリノキにカテキンとともに α -トコフェロールが含まれていること、また、AcerosideやAcerogeninというジアリルヘプタイドが含まれ、これらの物質が抗酸化性を示すことを報告している⁴¹⁾。メグスリノキが示した高い抗酸化活性はこれらの物質によるものと考えられる。

2. 腫瘍細胞の細胞生存率に対する影響

悪性腫瘍(ガン)は、日本人の3大死因の一つであり、脳卒中および心疾患とならび治療が期待される疾病の一つである。このガンの発症には活性酸素種が深くかかわっていることが知られている。生体内に活性酸素種が過剰に蓄積すると細胞内レドックスのバランスが変化し、細胞内脂質やタンパク質の構造変化と機能不全がおこる。また、これらの影響がDNAの損傷に及ぶと細胞のガン化がおこる。ポリフェノールは活性酸素種を除去する物

質の代表として知られ、抗ガン効果について広く研究されている。さらに、ポリフェノール類は生活習慣病の予防にも効果のあることが知られており、これらを豊富に含む食品の摂取による病気発症予防への期待は高い。

そこで本研究では、脳で発症するガン細胞の一種であるC6グリオーマ細胞を用いて山菜ポリフェノールの脳腫瘍に対する増殖抑制作用の検討を行った。本研究でモデル細胞としたC6グリオーマは脳腫瘍の一種で、主な治療方法は手術による摘出である。すべてのグリオーマを脳内から取り除くことは難しいこと、また、放射線治療に対して抵抗性をもつこと、特効薬(抗がん剤)がないことが問題となっており、その治療方法の開発が望まれている。

はじめに、C6 gliomaの細胞培養系に山菜抽出物を0.1, 0.2, 0.4mg/mlとなるように添加し24時間培養した際のコントロールに対する細胞生存率および50%細胞生存率濃度(CC₅₀; 50% cytotoxicity concentrations)をFig. 2に示した。各山菜抽出物を0.4mg/mlとなるように添加した際の細胞生存率は、コントロール、アケビ、ミツバアケビ、ワラビ、モミジガサ、セイヨウノコギリソウ、ワレモコウ、ヤブカンゾウ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウ、イカリソウ、メグスリノキ、センキュウ、それぞれ、100.0 ± 9.1, 12.5 ± 10.0, 80.6 ± 7.9, 58.7 ± 12.8, 68.4 ± 12.8, 61.1 ± 12.0, 107.9 ± 19.1, 76.0 ± 21.4, 92.3 ± 14.5, 42.6 ± 10.5, 4.9 ± 21.1, 24.1 ± 11.8, 77.6 ± 8.3, 55.2 ± 18.3, 85.1 ± 10.3%であった。また、各山

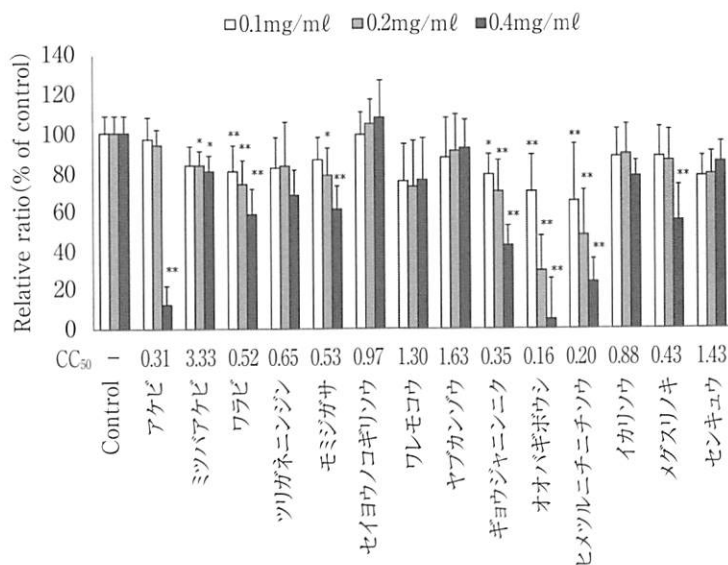


Fig.2 Effects of extract of edible wild plants on the viability of C6 glioma cells

The cells were treated with extracts from edible wild plants at the indicated concentrations for 24 h, and the cell viability was quantified with an MTT assay. The values are represented as mean ± SD in comparison to the untreated cells (control). CC₅₀ showed 50% cytotoxicity concentrations. (*p<0.05, **p<0.01, ANOVA).

葉抽出物添加時の CC_{50} は、それぞれ、0.31, 3.33, 0.52, 0.65, 0.53, 0.97, 1.30, 1.63, 0.35, 0.16, 0.20, 0.88, 0.43, 1.43であった。アケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、モミジガサ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウ、メグスリノキの山菜抽出物に顕著な細胞生存率の低下がみとめられた。オオバギボウシの CC_{50} が最も低く、0.16mg/ml、続いて、ヒメツルニチニチソウ、アケビ、ギョウジャニンニク、メグスリノキ、ワラビ、モミジガサの順であった。また、初代培養グリア細胞系（正常細胞）に山菜抽出物を添加して24時間後の細胞生存率を測定したところ顕著な低下は認められなかった。従って、正常細胞に対する毒性は低いと考えられる（データ記載なし）。

Table 1に示したように、アケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、ヒメツルニチニチソウ、メグスリノキは、ポリフェノール含量も高く、顕著な細胞生存率の低下がみとめられた。久保田らは、重量の約7割がエピカテキン、エピガロカテキンといったカテキン類で占められる緑茶熱水抽出物をヒト肝ガン細胞（HepG2）の培養系に添加（0.1mg/mlの濃度）すると細胞の生存率が顕著に低下することを報告している⁴²。本実験に供試した山菜抽出物は久保田らの用いた緑茶熱水抽出物ほど高ポリフェノール含有ではないものの顕著に細胞生存率を低下させていた（培養系における終濃度は0.1~0.4mg/ml）。したがって、アケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、ヒメツルニチニチソウ、メグスリノキは緑茶熱水抽出物のようにポリフェノール含有量が多く抗ガン作用が発揮されたと考えられる。

一方、モミジガサ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシは、ポリフェノール含量、抗酸化活性とも低い値であったものの、腫瘍細胞に対して強い生存率低下作用を示した。OKABEらは、メグスリノキの葉に含まれるgeraniinが内因性発癌プロモーターを阻害することで発ガン効果を発揮することを報告しており⁴³、オオバギボウシ、ギョウジャニンニク、モミジガサには、ポリフェノール類やその他の抗酸化性物質に類似しない阻害・影響因子、すなわちgeraniinのような物質が含まれており生存率低下が示された可能性が考えられる。

また、ポリフェノール含量および抗酸化活性の高かったミツバアケビ、ワレモコウにおいては細胞生存率の低下はみとめられるものの、 CC_{50} は他の山菜と比較して高い値となった。これまでにフキやタラノメに細胞保護効果のあることが報告されており^{17,19}、ミツバアケビやワレモコウには他の山菜とは異なり、細胞保護効果を発揮するポリフェノールまたはその他の物質が含まれているか、または抗ガン作用が発揮されないポリフェノールが含まれている可能性が考えられる。

さらに、ポリフェノール含量の高かったセイヨウノコギリソウは、細胞生存率の低下にほとんど効果を示さなかった。したがって、セイヨウノコギリソウには細胞保

護効果を発揮するポリフェノールまたはその他の物質が含まれているか、または抗ガン作用が発揮されないポリフェノールが含まれているのかもしれない。

本検討の結果から、山菜に含まれるポリフェノール類のすべてが抗腫瘍活性を示すわけではないことが推察される。ポリフェノールは、高分子として存在しているものも多く、また配糖体として存在するものも多い。そのため成分によって、細胞に取り込まれていない可能性も考えられる⁴⁴。細胞への影響については物質の存在形態を考慮しなければならないと考えられる。

3. 蛍光顕微鏡を用いた生死細胞判定

山菜抽出物を添加して培養した際の生細胞および死細胞を蛍光顕微鏡にて撮影し、得られた画像より死細胞の割合を算出した。結果をFig. 3に示した。なお、代表的な蛍光撮影画像としてコントロール、アケビ、ワラビ、オオバギボウシ、メグスリノキをあわせて示した。コントロール、アケビ、ミツバアケビ、ワラビ、モミジガサ、セイヨウノコギリソウ、ワレモコウ、ヤブカンゾウ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウ、イカリソウ、メグスリノキ、センキュウ、それぞれの死細胞の割合は、 0.52 ± 1.32 , 6.18 ± 4.35 , 0.96 ± 1.36 , 18.39 ± 4.45 , 2.62 ± 2.76 , 4.35 ± 4.29 , 3.84 ± 2.86 , 3.46 ± 3.34 , 0.22 ± 0.53 , 0.20 ± 0.32 , 3.61 ± 4.28 , 0.98 ± 1.52 , 0.13 ± 0.31 , 6.90 ± 3.61 , $3.34 \pm 3.74\%$ であった。各山菜抽出物のうち、細胞生存率の検討で顕著な低下のみられたアケビ、ワラビ、メグスリノキにおいて有意な死細胞割合の増加がみとめられた。しかし、細胞生存率の低下がみとめられたツリガネニンジン、モミジガサ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウでは有意な差はみとめられなかった。一般に、抗腫瘍効果は、細胞の増殖を抑える効果と細胞死を誘導する効果に大別される。本検討結果から、アケビ、ワラビ、メグスリノキには、死細胞を誘導する作用のあること、また、ツリガネニンジン、モミジガサ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウには細胞増殖を抑制する作用のあることが考えられる。これまでに、緑茶カテキンに細胞増殖を抑える効果や細胞死を誘導する効果が報告されているが^{45,46}、アケビのブタノール抽出画分やワラビの水溶性画分に細胞毒性およびアポトーシス誘導効果のあることが報告されている^{47,48}。今回、アケビやワラビにみとめられた死細胞の増加はポリフェノール類に限定されないものの、これら成分を含め細胞毒性またはアポトーシスを誘導する成分が含まれていることを示唆している。

4. アポトーシス誘導効果

次に、山菜抽出物による細胞死誘導がアポトーシスであるか否かを確認するため、Annexin-VおよびCaspase-3による検討を行った。結果をFig. 4に示した。コントロール、アケビ、ミツバアケビ、ワラビ、モミジガサ、セイヨウノコギリソウ、ワレモコウ、ヤブカンゾウ、ギ

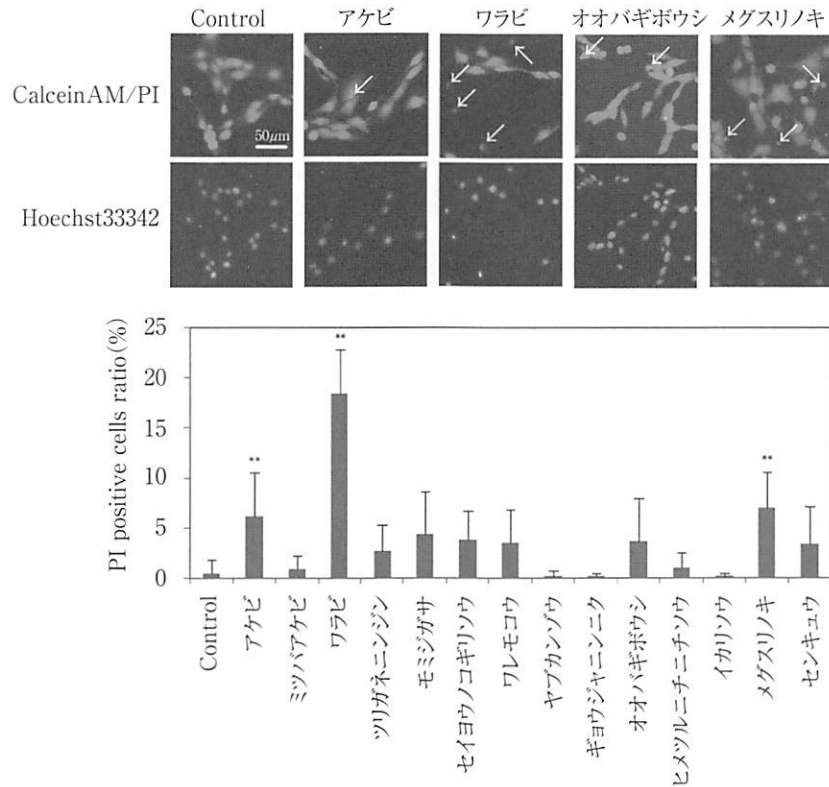


Fig.3 Induction of C6 glioma cell death by the extracts from edible wild plants

The cells were treated with extracts from edible wild plants for 24 h (final concentrations of each sample were 0.2 mg/ml). Photograph shows the typical live-dead staining pattern of extracts-treated C6 glioma cells. The cells were subjected to live/death cell staining with calcein-AM, PI and Hoechst 33342. The live cells were stained with calcein-AM and the dead cells were stained with PI (arrows) as seen as the upper panels. The lower panel represents Hoechst 33342 staining. The values were represented as the mean percentage of PI-positive cells ± SD. (*p<0.05, **p<0.01, ANOVA).

ヨウジャニンニク, オオバギボウシ, ヒメツルニチニチソウ, イカリソウ, メグスリノキ, センキュウのAnnexin-Vの蛍光強度は, それぞれ, 100.0±2.4, 98.3±11.4, 79.6±6.5, 169.6±9.4, 72.5±2.7, 59.9±6.0, 59.0±2.4, 102.2±5.7, 96.2±5.8, 64.1±6.5, 98.7±25.6, 97.3±10.4, 59.3±3.5, 125.3±3.3, 64.4±9.3%であり, Caspase-3活性は, それぞれ, 100.0±5.1, 156.3±13.2, 139.7±8.9, 228.9±21.2, 124.8±13.4, 68.9±9.3, 65.6±1.1, 155.5±8.6, 132.4±13.3, 77.0±4.3, 88.2±33.2, 162.2±9.4, 78.2±6.2, 138.8±5.0, 71.8±13.5あった。

Annexin-Vの検討では, ワラビ, メグスリノキにおいて有意な蛍光強度の増加がみとめられた。また, Caspase-3活性の検討では, アケビ, ミツバアケビ, ワラビ, ワレモコウ, ヒメツルニチニチソウ, メグスリノキにおいて, Caspase-3活性が有意に上昇していた。これまでに, 緑茶に含まれるカテキン類, ブドウに含まれるレスベラトロール, タマネギに含まれるケルセチンや柑橘類のナリンギンなどのフラボノイド類によるアポトーシス誘導

効果が報告されている^{45), 46), 49)~53)}。また, クロロゲン酸やカフェ酸などのポリフェノール類にもアポトーシス誘導効果のあることが報告されている^{54), 55)}。山菜にはフラボノイド類やアントシアニン類に加えて, これらクロロゲン酸やカフェ酸が含まれていることも知られており^{56), 57)}, ワラビおよびメグスリノキにおいてみとめられた死細胞割合の増加は, アポトーシス誘導によるものではないかと考えられる。また, それら以外の山菜抽出物においてもCaspase-3活性の上昇がみられたことから初期のアポトーシス誘導が引き起こされている可能性が考えられる。今回, ポリフェノール以外の成分について定量は行っていないものの, その他細胞死誘導に関与しうる物質の存在が示唆される^{47), 48)}。

一方, モミジガサ, セイヨウノコギリソウ, ギョウジャニンニク, イカリソウ, センキュウにおいてはコントロールに比較してアポトーシス誘導が抑えられている傾向がみとめられた (Fig.4)。これまでにポリフェノール類を中心として, 植物には酸化ストレスによる細胞死を抑制する効果を有する物質が含まれていることが数多く

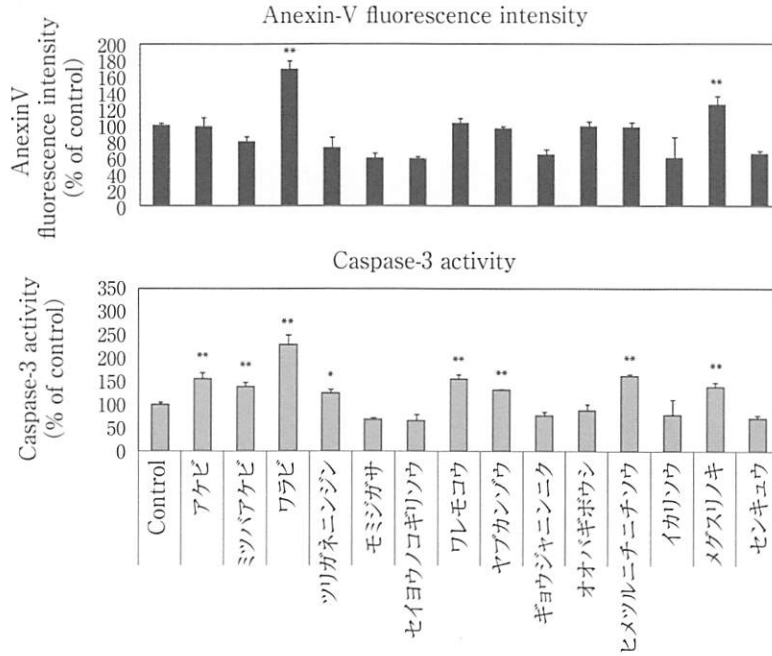


Fig.4 The apoptosis-inducing effect of extracts from edible wild plants on C6 glioma cells

The cells were treated with extracts from edible wild plants for 24 h (final concentrations of each samples were 0.2 mg/ml), and then treated with respective assay reagents. The values are represented as mean ± SD in comparison to control. (*p<0.05, **p<0.01, ANOVA)

報告されている^{58)~60)}。今回供試した山菜抽出物にも細胞死抑制効果を有する物質が含まれている可能性が考えられる。おそらく、抗酸化作用に起因する細胞死保護効果が発揮され、アポトーシスが一部抑制されるという複合的な結果が現れているのではないかと考えられる。

5. 細胞周期に対する影響

次に、山菜抽出物の細胞周期への影響について検討した結果をFig. 5に示した。ミツバアケビ、ワラビ、ワレ

モコウ、メグスリノキにおけるsubG₁期細胞割合が増加しており、これら山菜抽出物によってアポトーシスが誘導されていたことが示唆される。

また、ミツバアケビおよびセイヨウノコギリソウにおいては、S期細胞割合の減少とG₂/M期細胞割合の増加、アケビ、ヤブカンゾウ、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウ、メグスリノキ、センキュウにおいてはG₂/M期細胞割合の増加がそれぞれみと

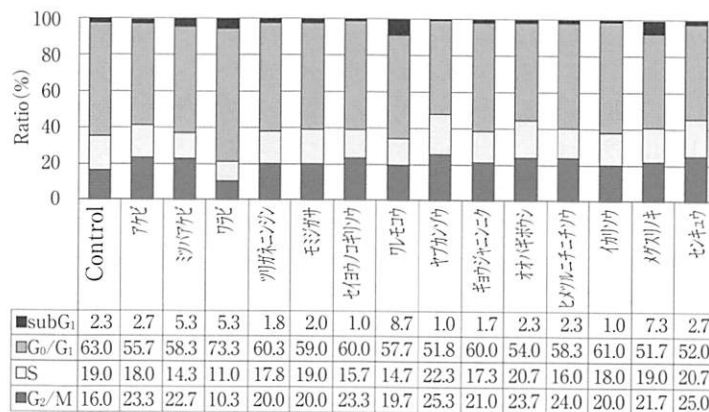


Fig.5 The effect of extracts from edible wild plants on the cell cycle of C6 glioma cells

The cell cycles were analyzed using image-based cytometry of the PI stained cells. The C6 glioma cells were treated with each extracts for 24 h, and then harvested, fixed, and stained with PI. The values were represented as the mean ratio of the number of cells in each phase to the total number of cells ± SD.

められており、これら山菜抽出物がG₂/M期における細胞周期阻害を引き起こしていると考えられる。さらに、ワラビにおいては、S期とG₂/M期細胞割合の減少による顕著なG₀/G₁期細胞割合の増加がみとめられており、G₀/G₁期における細胞周期阻害が引き起こされていると考えられる。

一方、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウにおいては、細胞生存率の低下がみとめられたもの (Fig. 2)、死細胞の割合増加 (Fig. 3) およびAnnexin-Vの蛍光強度の上昇 (Fig. 4) はみとめられなかったが、G₂/M期における細胞周期に異常がみとめられたことから、細部生存率の低下は細胞周期異常による増殖阻害と考えられる。また、ツリガネニンジンおよびモミジガサにおいてはいずれの影響もみとめられなかったため、ネクローシスによる細胞死である可能性が高いと考えられる。

これまでに、クロロゲン酸やクルクミン誘導体によるG₂/M期阻害やレスベラトロールやケルセチンによるG₁期阻害が報告されている^{50)~53), 56), 61)}。シソやホウレン草といった葉菜類と同様山菜類にはクロロゲン酸が豊富に含まれていることが知られている^{56), 57)}。また、山菜のイタドリ (タデ科の多年草) の根にはレスベラトロールが含まれているという報告がある⁶²⁾。今回供試した山菜のレスベラトロール定量は行っていないが、クロロゲン酸の定量を行ったところほとんどの山菜にクロロゲン酸が含まれていた (データ記載なし)。したがって、G₂/MおよびG₀/G₁期における細胞周期の異常にはクロロゲン酸が関与している可能性が考えられる。また、今後ケルセチンやレスベラトロールの定量を行い細胞周期異常への関与を確認するとともにその作用機序を明らかにする必要があると考えられる。

要 約

野山に自生する山菜の多くは古くより食用として好まれてきた。また、これら山菜は様々な効能をもつことから民間療法として薬用にも用いられている。山菜由来成分には、抗腫瘍効果や抗酸化作用、抗菌活性、抗肥満作用などが報告されており、多種多様な生理活性物質が含まれている。本研究では、山梨県内で採取される山菜の機能性成分と生理活性について検討を行った。試料は、山梨県総合農業技術センター、八ヶ岳薬用植物園で採取した山菜を使用した。

14種類の山菜の総ポリフェノール量およびDPPHラジカル消去活性を測定したところ、ミツバアケビ、ワレモコウ、メグスリノキにポリフェノールが多く含まれており、抗酸化活性が高いことが確認され、ポリフェノール含量と抗酸化活性に高い相関がみとめられた。次に、これらサンプルのC6 glioma株に対する抗腫瘍効果について検討を行ったところ、アケビ、ワラビ、ツリガネニンジン、モミジガサ、ギョウジャニンニク、オオバギボウ

シ、ヒメツルニチニチソウ、メグスリノキに濃度依存的な抗腫瘍効果が認められた。特に、オオバギボウシとヒメツルニチニチソウにおいては低濃度で顕著な抗腫瘍効果が確認された。また、カルセイン-AMおよびプロピディウムイオダイドを用いた生死細胞の判定を行ったところ、アケビおよびワラビ、メグスリノキにおいて顕著な細胞死が誘導されており、アポトーシスの指標であるCaspase-3の活性の上昇や細胞膜成分の転移が確認されたことから、これら山菜による抗腫瘍効果はアポトーシスであると考えられる。一方、ギョウジャニンニク、オオバギボウシ、ヒメツルニチニチソウにはG₂/M期における細胞周期に異常がみとめられた。今回供試した山菜による抗腫瘍効果はアポトーシスおよび細胞周期の異常であると考えられる。

謝 辞 本研究の成果は、山梨県総合農業技術センターおよび八ヶ岳薬用植物園、公益財団法人やまなし産業支援機構との共同研究の一部であり、山梨学院大学学術研究助成金を受け実施いたしました。本研究に対し多大なる支援を頂いたことに深く感謝いたします。

文 献

- 1) 高野昭人：おいしく食べる山菜・野草：採り方・食べ方・効能がわかる，世界文化社 (2006)
- 2) 今井國勝・今井万岐子：よくわかる山菜図鑑，永岡書店 (2013)
- 3) 橋本都三：食べられる野生植物大辞典，柏書房 (2003)
- 4) LIU, R.H.: Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action, *J. Nutr.*, **134**, 3479S~3485S (2004)
- 5) LI, F., GONG, Q., DONG, H. and SHI, J.: Resveratrol, a neuroprotective supplement for Alzheimer's disease, *Curr. Pharm. Des.*, **18**, 27~33 (2012)
- 6) CHANG, H.C., TAI, Y.T., CHERNG, Y.G., LIN, J.W., LIU, S.H., CHEN, T.L. and CHEN, R.M.: Resveratrol attenuates high-fat diet-induced disruption of the blood-brain barrier and protects brain neurons from apoptotic insults, *J. Agric. Food. Chem.*, **62**, 3466~3475 (2014)
- 7) FULDA, S.: Resveratrol and derivatives for the prevention and treatment of cancer, *Drug Discov. Today*, **15**, 757~765 (2010)
- 8) BERTELLI, A.A. and DAS, D.K.: Grapes, wines, resveratrol, and heart health., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **54**, 468~476 (2009)
- 9) ISHIMI, Y.: Prevention of osteoporosis by foods and dietary supplements. Soybean isoflavone and bone metabolism, *Clin. Calcium*, **16**, 1661~1667 (2006)

- 10) BHARDWAJ, P. and KHANNA, D. : Green tea catechins : defensive role in cardiovascular disorders, *Chin. J. Nat. Med.*, **11**, 345~353 (2013)
- 11) LECUMBERRI, E., DUPERTUIS, Y.M., MIRALBELL, R. and PICHARD, C. : Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) as adjuvant in cancer therapy, *Clin. Nutr.*, **32**, 894~903 (2013)
- 12) 木村俊之・山岸賢治・鈴木雅博・新本洋士 : 農産物のラジカル消去能の検索, 日本食品科学工学会誌, **49**, 257~266
- 13) 吉田 潤・伊藤芳明・木村賢一 : わさびとウド・セリ科野菜に含まれるGSK-3 β 阻害物質の2型糖尿病に関わる機能性, *NewFoodIndustry*, **54**, 9~18 (2012)
- 14) 新本洋士・木村俊之・鈴木雅博・山岸賢治 : 東北地域農産物のマウス白血病細胞増殖に対する作用, 日本食品科学工学会誌, **48**, 787~790 (2001)
- 15) 新本洋士・木村俊之・山岸賢治・鈴木雅博 : 東北地域で生産される野菜および山菜類の抗変異原性試験, 日本食品科学工学会誌, **49**, 736~739 (2002)
- 16) 畠 恵司・石川匡子・堀 一之 : 秋田県産食用山菜に含まれるヒト白血病細胞株 (HL60) に対する分化誘導活性, *生薬学雑誌*, **52**, 269~272 (1998)
- 17) 開元多恵・渋谷まゆみ・前田英雄 : タラの芽がラットの生体に及ぼす影響, *栄養学雑誌*, **68**, 309~314 (2010)
- 18) GOLUBKINA, N.A., MALANKINA, E.L., KOSHELEVA, O. V. and SOLOV'eva, A.I. : Content of biologically active substances--selenium, flavonoids, ascorbic acid and chlorophyllin of *Allium ursinum* L and *Allium victorialis* L, *Vopr. Pitan.*, **79**, 78~81 (2010)
- 19) SOK, D.E., OH, S.H., KIM, Y.B., KANG, H.G. and KIM, M.R. : Neuroprotection by extract of *Petasites japonicus* leaves, a traditional vegetable, against oxidative stress in brain of mice challenged with kainic acid, *Eur. J. Nutr.*, **45**, 61~69 (2006)
- 20) LEE, K.P., KANG, S., PARK, S.J., CHOI, Y.W., LEE, Y. G. and IM, D.S. : Anti-allergic and anti-inflammatory effects of bakkenolide B isolated from *Petasites japonicus* leaves, *J. Ethnopharmacol.*, **148**, 890~894 (2013)
- 21) SHIN, I.S., MASUDA, H. and NAOHIDE, K. : Bactericidal activity of wasabi (*Wasabia japonica*) against *Helicobacter pylori*, *Int. J. Food Microbiol.*, **94**, 255~261 (2004)
- 22) MORIMITSU, Y., NAKAGAWA, Y., HAYASHI, K., FUJII, H., KUMAGAI, T., NAKAMURA, Y., OSAWA, T., HORIO, F., ITOH, K., IIDA, K., YAMAMOTO, M. and UCHIDA, K. : A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway, *J. Biol. Chem.*, **277**, 3456~3463 (2002)
- 23) FUKE, Y., HAGA, Y., ONO, H., NOMURA, T. and RYOYAMA, K. : Anti-carcinogenic activity of 6-methylsulfinylhexyl isothiocyanate-, an active anti-proliferative principal of wasabi (*Eutrema wasabi* Maxim.), *Cytotechnology*, **25**, 197~203 (1997)
- 24) LIU, X.H., HOU, D.B., ZHAO, N. and WANG, B. : Extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Aralia cordata*, *Zhong. Yao. Cai.*, **33**, 1484~1487 (2010)
- 25) CHENG, W.L., LIN, T.Y., TSENG, Y.H., CHU, F.H., CHUEH, P.J., KUO, Y.H. and WANG, S.Y. : Inhibitory effect of human breast cancer cell proliferation via p21-mediated G1 cell cycle arrest by araliadiol isolated from *Aralia cordata* Thunb, *Planta. Med.*, **77**, 164~168 (2011)
- 26) KIM, T.D., LEE, J.Y., CHO, B.J., PARK, T.W. and KIM, C.J. : The analgesic and anti-inflammatory effects of 7-oxosandaracopimaric acid isolated from the roots of *Aralia cordata*, *Arch. Pharm. Res.*, **33**, 509~514 (2010)
- 27) TOMATSU, M., OHNISHI-KAMEYAMA, M. and SHIBAMOTO, N. : Aralin, a new cytotoxic protein from *Aralia elata*, inducing apoptosis in human cancer cells, *Cancer Lett.*, **199**, 19~25 (2003)
- 28) SHIRATAKI, Y., MOTOHASHI, N., TANI, S., SUNAGA, K., SAKAGAMI, H., SATOH, K., NAKASHIMA, H., KANAMOTO, T., WOLFARD, K. and MOLNAR, J. : Antioxidative activity of *Allium victorialis* L. extracts, *Anticancer Res.*, **21**, 3331~3339 (2001)
- 29) WOO, K.W., MOON, E., PARK, S.Y., KIM, S.Y. and LEE, K.R. : Flavonoid glycosides from the leaves of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* and their anti-neuroinflammatory effects, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**, 7465~7470 (2012)
- 30) NISHIMURA, H. : Chemistry of Plant Flavor Components and the Ultra-microanalysis, *J. Japan Oil Chem. Society*, **38**, 856~864 (1989)
- 31) SUZUKI, M., TAKENAKA, M., YAMAGISHI, K. and SHINMOTO, H. : L-O-Caffeoylhomoserine from *Matteuccia struthiopteris*, Kimura, T., *Phytochemistry*, **65**, 423~426 (2004)
- 32) WOO, E.R., KIM, H.J., KWAK, J.H., LIM, Y.K., PARK, S.K., KIM, H.S., LEE, C.K. and PARK, H. : Anti-herpetic activity of various medicinal plant extracts, *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 58~67 (1997)
- 33) OKABE, S., SUGANUMA, M., IMAYOSHI, Y., TANIGUCHI, S., YOSHIDA, T. and FUJIKI, H. : New TNF-alpha releasing inhibitors, geraniin and corilagin, in leaves of *Acer nikoense*, *Megusurino-ki*, *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 1145~1148 (2001).

- 34) FUJIKI, H., SUGANUMA, M., KURUSU, M., OKABE, S., IMA Yoshi, Y., TANIGUCHI, S. and YOSHIDA, T.: New TNF - alpha releasing inhibitors as cancer preventive agents from traditional herbal medicine and combination cancer prevention study with EGCG and sulindac or tamoxifen, *Mutat. Res.*, **523** ~524, 119~125 (2003)
- 35) CHU, Y.F., SUN, J., WU, X. and LIU, R.H.: Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6910 ~6916 (2002)
- 36) VINSON, J.A., SU, X., ZUBIK, L. and BOSE, P.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5315~5321 (2001)
- 37) 石見佳子: 植物ポリフェノールの機能性と安全性, 食品と開発, **35**, 5~7 (2000)
- 38) ROY, M.K., KOIDE, M., RAO, T.P., OKUBO, T., OGASAWARA, Y. and JUNEJA, L.R.: ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: relationship between total polyphenol and individual catechin content, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **61**, 109~124 (2010)
- 39) 津志田藤二郎・鈴木雅博・黒木 吉: 日本食品工業学会誌, **41**, 611~618 (1994)
- 40) 須田郁夫・沖 智之・西場洋一・増田真美・小林美緒・永井沙樹・比屋根理恵・宮重俊一: 沖縄県産果実類・野菜類のポリフェノール含量とラジカル消去活性, 日本食品科学工学会誌, **52**, 462~471 (2005)
- 41) AKAZAWA, H., AKIHISA, T., TAGUCHI, Y., BANNO, N., YONEIMA, R. and YASUKAWA, K.: Melanogenesis Inhibitory and Free Radical Scavenging Activities of Diarylheptanoids and Other Phenolic Compounds from the Bark of *Acer nikoense*, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 1970~1972 (2006)
- 42) 久保田芳美・湯浅 (小島) 明子・湯浅 勲: 緑茶抽出物におけるヒト肝ガン細胞の増殖抑制効果におよぼすROS産生の役割, 生活科学研究誌, **2**, 39~47, (2003)
- 43) OKABE, S., SUGANUMA, M., IMA Yoshi, Y., TANIGUCHI, S., YOSHIDA, T. and FUJIKI, H.: New TNF-alpha releasing inhibitors, geraniin and corilagin, in leaves of *Acer nikoense*, *Megusurino-ki*, *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 1145~1148 (2001)
- 44) 金沢和樹: 植物性食品の非栄養性機能成分ポリフェノール, オレオサイエンス, **7**, 317~325 (2007)
- 45) SHEN, X., ZHANG, Y., FENG, Y., ZHANG, L., Li, J., Xie, Y.A. and Luo, X.: Epigallocatechin-3-gallate inhibits cell growth, induces apoptosis and causes S phase arrest in hepatocellular carcinoma by suppressing the AKT pathway, *Int. J. Oncol.*, **44**, 791~796 (2014)
- 46) YOON, J.W., LEE, J.S., KIM, B.M., AHN, J. and YANG, K.M.: Catechin-7-O-xyloside induces apoptosis via endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction in human non-small cell lung carcinoma H1299 cells, *Oncol. Rep.*, **31**, 314~320 (2014)
- 47) PEREIRA, L.O., BICALHO, L.S., CAMPOS-DA-PAZ LOPES, M., DE SOUSA, T.M., BÃO, S.N., DE FÁTIMA MENEZES ALMEIDA SANTOS, M. and FONSECA, M.J.: DNA damage and apoptosis induced by *Pteridium aquilinum* aqueous extract in the oral cell lines HSG and OSCC-3, *J. Oral. Pathol. Med.*, **38**, 441~447 (2009)
- 48) JUNG, H.J., LEE, C.O., LEE, K.T., CHOI, J. and PARK, H.J.: Structure-activity relationship of oleanane disaccharides isolated from *Akebia quinata* versus cytotoxicity against cancer cells and NO inhibition, *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 744~747 (2004)
- 49) LI, J., WANG, S., YIN, J. and PAN, L.: Geraniin induces apoptotic cell death in human lung adenocarcinoma A549 cells in vitro and in vivo, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **91**, 1016~1024 (2013)
- 50) QUOC TRUNG, L., ESPINOZA, J.L., TAKAMI, A. and NAKAO, S.: Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition, *PLoS One.*, **8**, e55183 (2013)
- 51) KANG, N., WANG, M.M., WANG, Y.H., ZHANG, Z.N., CAO, H.R., LV, Y.H., YANG, Y., FAN, P.H., QIU, F. and GAO, X.M.: Tetrahydrocurcumin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis involving p38 MAPK activation in human breast cancer cells, *Food Chem. Toxicol.*, **67**, 193~200 (2014)
- 52) MERTENS-TALCOTT, S.U. and PERCIVAL, S.S.: Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells, *Cancer. Lett.*, **218**, 141~151 (2005)
- 53) NAOWARATWATTANA, W., DE-EKNAMKUL, W. and De MEJIA EG.: Phenolic-containing organic extracts of mulberry (*Morus alba* L.) leaves inhibit HepG2 hepatoma cells through G2/M phase arrest, induction of apoptosis, and inhibition of topoisomerase II α activity, *J. Med. Food.*, **13**, 1045~1056 (2010)
- 54) LIU, Y.J., ZHOU, C.Y., QIU, C.H., LU, X.M. and WANG, Y.T.: Chlorogenic acid induced apoptosis and inhibition of proliferation in human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells, *Mol. Med. Rep.*, **8**, 1106~1110 (2013)

- 55) TSENG, T.H., SHEN, C.H., HUANG, W.S., CHEN, C.N., LIANG, W.H., LIN, T.H. and KUO, H.C.: Activation of neutral-sphingomyelinase, MAPKs, and p75 NTR-mediated caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis in C6 glioma cells, *J. Biomed. Sci.*, **21**, 61 (2014)
- 56) 村山 徹・箭田浩士・宮沢佳恵: コシアブラ抗酸化成分の促成栽培条件による変動, *園芸学研究*, **6**, 241~245 (2007)
- 57) 徳田正樹・沖 智之・永井沙樹・須田郁夫: 大分県産山菜類の抗酸化活性とその関与成分, *九州農業研究*, **67**, 42 (2005)
- 58) ZHAO, J., FANG, S., YUAN, Y., GUO, Z., ZENG, J., GUO, Y., TANG, P. and MEI, X.: Green tea polyphenols protect spinal cord neurons against hydrogen peroxide-induced oxidative stress, *Neural Regen Res.*, **9**, 1379~1385 (2014)
- 59) PATIL, S.P., JAIN, P.D., SANCHETI, J.S., GHUMATKAR, P.J., TAMBE, R. and Sathaye, S.: Neuroprotective and neurotrophic effects of Apigenin and Luteolin in MPTP induced parkinsonism in mice, *Neuropharmacology*, **86**, 192~202 (2014)
- 60) VENUPRASAD, M.P., HEMANTH KUMAR, K. and KHANUM, F.: Neuroprotective effects of hydroalcoholic extract of *Ocimum sanctum* against H₂O₂ induced neuronal cell damage in SH-SY5Y cells via its antioxidative defence mechanism, *Neurochem. Res.*, **38**, 2190~200 (2013)
- 61) HSU, C.L., HUANG, S.L. and YEN, G.C.: Inhibitory effect of phenolic acids on the proliferation of 3T3-L1 preadipocytes in relation to their antioxidant activity, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 4191~4197 (2006)
- 62) CHEN, H., TUCK, T., Ji, X., ZHOU, X., KELLY, G., CUERRIER, A. and ZHANG, J.: Quality assessment of Japanese knotweed (*Fallopia japonica*) grown on Prince Edward Island as a source of resveratrol, *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 6383~6392 (2013)
- (平成26年10月15日受付, 平成27年2月12日受理)
-

Mathematical Modeling of Intercellular Space Volume of Citrus Fruits

DIRPAN Andi*^{1, *2}, HIKIDA Yoshio*^{1§},
CHIBA Hironori*¹ and OGAWA Yukiharu*³

* 1 Faculty of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566

* 2 Department of Food Science and Technology, Hasanuddin University, Makassar 90245, Indonesia

* 3 Graduate School of Horticulture, Chiba University, 648 Matsudo, Matsudo-shi, Chiba 271-8510

The aim of the present study is to determine the intercellular space volume (V_{in}) of citrus fruits and to develop a simple prediction method for V_{in} . In determining V_{in} , the mass (m), vertical and horizontal diameters (vd , hd), total volume (V_t), and real density (P_t) of eight species of citrus fruits of different sizes were measured. The results showed that each species had various V_{in} , which depended on fruit size; in other words, the larger the size of the fruit, the larger the V_{in} . However, the levels of porosity (\emptyset) in each species were not fully proportional to fruit size. The model used to develop the simple prediction method for V_{in} ($V_{in} = V_t - \frac{m}{1.0647}$, where V_{in} and V_t are in cubic centimeters and m is in grams), exhibited a high determination coefficient ($R^2 = 0.999$), modeling efficiency ($EF = 0.999$), index of agreement ($d = 0.999$), and paired t -test value (0.365). It was concluded that the model is suitable for predicting V_{in} of citrus fruits.

(Received Sep. 22, 2014 ; Accepted Feb. 12, 2015)

Key words : *intercellular space volume, citrus, mathematical modeling, modified atmosphere packaging, controlled atmosphere storage*

細胞間隙体積, カンキツ, 推定モデル, MA包装, CA貯蔵

Japan is a major citrus fruit-producing country¹⁾, and Ehime Prefecture is one of the main citrus fruit producing regions in Japan. As many as 20 major citrus varieties are cultivated in Ehime annually.

The quality of fresh produce is greatly affected by internal concentrations of CO_2 and O_2 ²⁾, which are influenced by intercellular space volume (V_{in}). V_{in} acts as a diffusion pathway through plant organs to supply adequate O_2 for respiration³⁾ and allows evolution of CO_2 . Moreover, the network of V_{in} has been described as a system for the gaseous transport of O_2 , CO_2 , C_2H_4 , and other physiologically important gases^{4), 5)}.

According to a number of gas exchange studies, V_{in} of fruit is an important factor^{2), 6)~9)}. Some studies have shown that gas exchange¹⁰⁾ and respiration¹¹⁾ in fruit are directly influenced by V_{in} , and fruit tissue with a small V_{in} results in low respiration¹¹⁾. Other studies focusing on V_{in} in apples and pears have shown that fruit with greater V_{in} or porosity, that is, the ratio of V_{in} and total volume of a fruit, had higher internal gas diffusion¹²⁾ and became softer¹³⁾

or more mealy¹¹⁾. Furthermore, a study on tolerance to controlled atmosphere (CA) conditions has suggested that this tolerance depends on V_{in} or porosity. For instance, although the apple cultivar Cox's Orange is characterized by low porosity and has a low tolerance to CA, fruit with high porosity tends to have a high tolerance to CA¹⁰⁾.

From the above studies, it can be concluded that V_{in} is an important factor in estimating sensitivity of fruit to low levels of O_2 , high levels of CO_2 , or both in the surrounding atmosphere and in determining appropriate concentrations for CA storage or modified atmosphere packaging (MAP). To further develop MAP or CA storage techniques focusing on citrus fruit, we are studying gas diffusion characteristics in plant organs¹⁵⁾ and respiration function in the intercellular space, and we plan to establish a prediction and control method of O_2 and CO_2 concentrations in the intercellular space. In this research, the V_{in} value of citrus fruit is required.

To the best of our knowledge, this is the first study to determine V_{in} of various citrus species.

The objective of this study is to determine V_{in} using the pycnometric method and to develop a simple prediction method for V_{in} . The pycnometric method is time consuming because ground samples are required. Accordingly, a prediction method can be simply applied to determine the V_{in} of citrus fruits.

Materials and methods

1. Materials

The experiment used eight species of freshly harvested citrus fruit at Ehime University farm: Iyokan (*Citrus iyo* hort. ex Tanaka), Navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck var. *brasiliensis* Tanaka), Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco), Siranui (*Citrus unshiu* Marcov x *Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco), Amanatsu (*Citrus natsudaidai* Hayata), 'Kiyomi' tangor (*Citrus unshiu* Marcov. forma *miyagawa-wase* x *C. sinensis* Osbeck), Lime (*Citrus aurantifolia*), and Unshu (*Citrus unshiu* Marc. cv. Kuno). Each species consisted of five sizes (S, M, L, 2L, and 3L), except Lime, for which only two sizes were used (small and large) because of the absence of size standards. The citrus fruits were measured just after harvest (Table 1).

2. Physical measurements

The mass, diameter, volume, and apparent density were measured for five whole fruits for each size: 25 fruits were measured for each species except Lime, for which 10 fruits were measured. For real density, citrus tissue was measured in five fruits each of the two middle sizes (L and 2L) per species, except for Lime with small and large sizes, giving a total of 10 fruits measured for each species.

The real density of peel and flesh and the apparent density of a segment of fruit were measured only for Unshu, which was considered to have a typical morphology of citrus, with five fruits each of the two middle sizes (L and 2L), giving a total of 10 fruits measured. The apparent density of a segment was measured in three segments for each fruit.

(1) **Mass and diameter** Fruit mass (m) was measured using an electric balance accurate to 0.1 g. Vertical dimension (vd), and horizontal dimension 1 (hd1) and 2 (hd2), which perpendicularly intersect, were measured using slide calipers accurate to 1 mm. Vertical dimension represents the measurement from one apex to the next. Horizontal dimension represents the measurement of the equatorial axis.

Table 1 Vertical dimension (vd) and horizontal dimension (hd) of eight citrus species

Harvest date	Species	Size	Diameters (cm)	
			vd	hd
22 January	Navel	S	6.1	6.6
		M	6.6	6.9
		L	7.6	7.7
		2 L	8.0	8.2
		3 L	8.4	8.9
23 January	Iyo	S	5.8	7.0
		M	6.7	7.9
		L	7.5	8.5
		2 L	7.8	9.2
		3 L	8.4	9.7
8 February	Ponkan	S	5.3	5.9
		M	5.9	6.3
		L	6.2	6.7
		2 L	6.5	7.5
		3 L	7.5	7.8
4 March	Siranui	S	6.2	6.4
		M	6.6	7.0
		L	7.2	7.7
		2 L	7.6	8.3
		3 L	8.4	8.9
13 April	Amanatsu	S	7.3	8.6
		M	7.4	9.2
		L	7.6	9.7
		2 L	8.1	10.2
		3 L	8.5	10.9
3 March	'Kiyomi' tangor	S	5.3	6.0
		M	5.8	6.7
		L	6.1	6.8
		2 L	6.7	7.8
		3 L	7.4	8.3
5 November	Lime	Small	5.0	4.8
		Large	6.2	5.6
4 December	Unshu	S	4.7	5.9
		M	4.9	6.5
		L	5.1	7.1
		2 L	5.4	7.7
		3 L	6.0	8.4

All measurements were performed in quintuplicate ($n = 5$) in 2013. hd was obtained from mean values of hd1 and hd2, which perpendicularly intersect.

(2) **Volume** A technique based on Archimedes' principle was used to determine the total volume (V_t) of fruit. Buoyancy was measured using an electric balance accurate to 0.1 g when a sample was submerged in water. Sphere equivalent volume (V_s) was also calculated by assuming that the fruit

is a sphere with a diameter the average of vd, hd1, and hd2.

(3) **Real density and apparent density** Real density (P_t) of citrus tissue was measured using the pycnometric technique¹⁶⁾. First, a 25 ml pycnometer filled with distilled water was weighed (W₁) using an electric balance accurate to 0.001 g. The density of distilled water was 0.9982 g/cm³ while the temperature of the distilled water was kept at 20 °C. Next, after the water in the pycnometer was removed, the pycnometer was weighed (W₂). Approximately 10 g of ground sample by mortar and pestle that is one-eighth of a whole sample (stem end, consisting of peel and flesh) was placed in the pycnometer and weighed (W₃). The sample weight in the pycnometer can be obtained by subtracting W₂ from W₃. Next, the sample in the pycnometer was submerged in water; subsequently, the pycnometer was placed in a vacuum (0.01 MPa) for up to 30 min to eliminate the air bubbles in the sample. Next, the pycnometer containing the sample was filled fully with distilled water and weighed (W₄). Finally, real density was calculated using the following equation.

$$P_t = 0.9982 \frac{W_3 - W_2}{W_1 + W_3 - W_2 - W_4} \dots\dots\dots(1)$$

P_t: Real density of citrus tissue (g/cm³)

The pycnometric technique was also applied to the peel and flesh of Unshu fruit to determine their real density.

The apparent density of whole fruit (P_a) was calculated as the ratio of fruit mass (m) to total volume (V_t).

The apparent density of a segment of Unshu fruit was also calculated as the ratio of the mass to the volume, which was measured using Archimedes' principle.

3. Determination of intercellular space volume and porosity

Intercellular space volume (V_{in}) was calculated after measuring mass, total volume, and real density. V_{in} is the difference between total volume and the volume of fruit tissue¹⁶⁾ (Equation (2)). Therefore, V_{in} was calculated using Equation (3).

$$V_{in} = V_t - V_{tissue} \dots\dots\dots(2)$$

$$V_{in} = V_t - \frac{m}{P_t} \dots\dots\dots(3)$$

V_{in} : Intercellular space volume (cm³)

V_t : Total volume of whole fruit (cm³)

V_{tissue} : Volume of fruit tissue (cm³)

m : Mass of fruit (g)

P_t : Real density of fruit tissue (g/cm³)

Porosity (ϕ) was determined using the following equation.

$$\phi = \frac{V_{in}}{V_t} 100 \dots\dots\dots(4)$$

ϕ: Porosity (%)

4. Measurement of moisture content

Moisture content was measured using the oven drying method (100 °C for 24 h). We measured samples of about one-eighth of a whole fruit. All samples were weighed using an electric balance accurate to 0.001 g. Wet basis moisture content was presented as a percentage.

5. Statistical analysis

For real density between two fruit sizes (L and 2L, small and large for Lime) in all species, the *t*-test (independent sample) with a level of significance of *P* < 0.05 was applied to assess the differences. We used Tukey's test with a level of significance of *P* < 0.05 to determine the significance of differences among means of species. To analyze the data, we used SPSS software for Windows version 16.0 (SPSS Inc., IL, USA) and Microsoft Excel 2010.

Results and Discussion

1. Real density and moisture content

Table 2 shows the size, real density, and moisture content of eight citrus species. Real density did not significantly differ between the two fruit sizes for all the species (*P* < 0.05). This result suggests that the mean value of the two fruit sizes for all species can be applied to the other sizes. Using Navel as an example, the mean value of 1.0676 for L and 2L can be applied to the other three sizes (S, M, 3L).

For real density among the species, Unshu and Lime were grouped together and the six remaining species were grouped together, with a significant difference between the two groups. To investigate the difference in real density among the species, the relationship between moisture content and real density was examined. As shown in Table 2, species with higher moisture content had lower real density, and vice versa. For instance, while the average of the means for moisture content and real density of Lime and Unshu were 86.29% and 1.0531 g/cm³, respectively, the corresponding average mean values for Navel, Iyokan, Ponkan, Siranui, Amanatsu, and 'Kiyomi' tangor were 82.96% and 1.0678 g/cm³, respectively. This result was consistent with a study by ABHAYAWICK *et al.*¹⁷⁾, in which the moisture content of three onion varieties was investigated ;

Table 2 Real density and moisture content of sizes L and 2 L for eight species of citrus fruits

Species	Size	Real Density* (g/cm ³)	Moisture content** (%)
Navel	L	1.0667	81.32
	2 L	1.0685	81.32
	Mean	1.0676 ^a	81.32
Iyo	L	1.0661	84.72
	2 L	1.0648	84.33
	Mean	1.0655 ^a	84.53
Ponkan	L	1.0697	83.81
	2 L	1.0704	82.62
	Mean	1.0700 ^a	83.22
Siranui	L	1.0710	81.61
	2 L	1.0666	80.43
	Mean	1.0688 ^a	81.02
Amanatsu	L	1.0675	83.35
	2 L	1.0627	83.12
	Mean	1.0651 ^a	83.24
'Kiyomi' Tangor	L	1.0736	84.45
	2 L	1.0659	84.37
	Mean	1.0697 ^a	84.41
Lime	Small	1.0577	86.91
	Large	1.0546	86.16
	Mean	1.0562 ^b	86.53
Unshu	L	1.0515	86.56
	2 L	1.0485	85.54
	Mean	1.0500 ^b	86.05

*All measurements were performed in quintuplicate (n = 5).

**All measurements were performed once (n = 1).

Means of real density followed by different letters are significantly different as determined by the Tukey test at $P < 0.05$.

Values of real density are not significantly different as determined by the *t*-test at $P < 0.05$ on the L and 2 L sizes for all species, including Lime with small and large sizes.

the onion varieties with higher moisture had lower real density.

Table 3 presents the real density and moisture content of the peel, flesh, and a mixture of peel and flesh for two sizes (L and 2 L) of Unshu. The real density of peel was higher than that of flesh and a mixture of peel and flesh at 1.0696 g/cm³, 1.0420 g/cm³, and 1.0500 g/cm³, respectively. Tukey's test revealed differences in the real density of peel compared with flesh and a mixture of peel and

Table 3 Real density and moisture content of peel, flesh, and mixture of peel and flesh for Unshu

Measurements	Real density* (g/cm ³)	Moisture content** (%)
Peel	1.0696 ^a	77.22
Flesh	1.0420 ^b	88.46
Mixture of peel and flesh	1.0500 ^b	86.05

*All measurements were performed ten times (n = 10): size L = 5 and 2L = 5.

**All measurements were performed twice (n = 2): size L = 1 and 2L = 1.

All data are expressed as the mean. Means of real density followed by different letters are significantly different, as determined by the Tukey test at $P < 0.05$.

Real density for the mixture of peel and flesh is taken from Table 2.

flesh. A distinct difference in moisture content suggested the difference in real density. This phenomenon was similar to the previous discussion, showing that the higher the moisture content, the lower the real density.

The real density of Lime and Unshu was less than that of the other six species; however, total real densities ranged from a minimum of 1.0409 g/cm³ to a maximum of 1.0838 g/cm³ with a very small standard deviation of 0.0077 g/cm³ and standard error of 0.00057 g/cm³, and the total mean was 1.0647 g/cm³. All the species were therefore considered to have generally the same value as the total mean. The real density range was similar to that found in a previous study of mandarin citrus with a range from 0.81 g/cm³ to 1.08 g/cm³¹⁸.

2. Intercellular space volume and porosity

Table 4 shows the physical properties of the eight citrus species. While the intercellular space volume (V_{in}) of the L and 2L sizes was calculated by measuring real density, V_{in} of the other three sizes (S, M, 3L) was calculated by applying the mean value of real density from the L and 2L sizes, except for Lime. V_{in} is a property of the cultivars that depends on the growing season^{19),20)}. From the results, we see that size, mass, and total volume were proportional to V_{in} for each species. For all species, V_{in} ranged from 4.2 cm³ to 142.2 cm³, in which 3 L Amanatsu was the highest.

The porosity of all species ranged from 6.7% to 29.4%. The results showed that while Amanatsu and Lime had a porosity proportional to their size, the remaining samples showed otherwise. For

Table 4 Physical properties of citrus fruits: mass (m), total volume determined using Archimedes' principle (V_t), apparent density (P_a), intercellular space volume (V_{in}), and porosity (ϕ)

Species	Size	m (g)	V_t (cm ³)	P_a (g/cm ³)	V_{in} (cm ³)	ϕ (%)
Navel	S	137.7	143.3	0.9608	14.3	10.0
	M	166.7	172.7	0.9653	16.5	9.5
	L	224.2	243.7	0.9199	33.6	13.7
	2L	272.4	297.7	0.9152	42.7	14.3
	3L	329.2	363.9	0.9407	55.5	15.3
Iyo	S	132.6	167.2	0.7927	42.8	25.7
	M	185.8	247.1	0.7522	72.6	29.3
	L	248.3	306.5	0.8102	73.5	23.9
	2L	290.3	377.8	0.7682	105.2	27.8
	3L	336.3	446.8	0.7528	131.1	29.4
Ponkan	S	90.4	107.1	0.8448	22.5	21.1
	M	113.4	131.6	0.8611	25.7	19.6
	L	125.6	155.4	0.8079	38.0	24.5
	2L	162.1	205.8	0.7876	54.3	26.4
	3L	192.2	253.2	0.7589	73.6	29.0
Siranui	S	123.5	133.0	0.9289	17.4	13.0
	M	155.5	172.5	0.9013	27.0	15.6
	L	199.1	226.7	0.8780	40.9	18.0
	2L	241.4	269.1	0.8972	42.8	15.9
	3L	290.5	331.8	0.8756	59.6	17.9
Amanatsu	S	263.0	305.3	0.8614	58.4	19.1
	M	303.4	353.5	0.8584	68.6	19.4
	L	342.5	404.7	0.8464	83.8	20.6
	2L	391.3	473.2	0.8269	104.9	22.2
	3L	465.2	579.0	0.8035	142.2	24.6
'Kiyomi' tangor	S	95.1	105.4	0.9029	16.4	15.6
	M	126.0	139.3	0.9048	21.5	15.4
	L	135.7	154.0	0.8815	27.6	17.8
	2L	192.3	216.5	0.8881	35.2	16.3
	3L	238.3	269.5	0.8845	46.7	17.3
Lime	Small	61.2	62.0	0.9868	4.2	6.7
	Large	101.6	104.0	0.9775	7.6	7.3
Unshu	S	88.7	96.7	0.9175	12.2	12.6
	M	111.6	120.1	0.9290	13.8	11.5
	L	137.4	152.6	0.9002	21.9	14.4
	2L	168.8	191.9	0.8800	30.8	15.9
	3L	209.2	249.9	0.8371	50.7	20.2

All measurements were performed in quintuplicate (n = 5). Data are expressed as the mean. We calculated the V_{in} of S, M, and 3L by applying the mean value of real density from L and 2L.

example, Iyo size L had only 23.9% porosity, while size M had 29.3% porosity. BAUMAN and HENZE¹⁰⁾, reported similar results for apples, investigating small and large varieties. Porosity is useful as an additional factor in estimating sensitivity to low

levels of O₂, high levels of CO₂, or both in the surrounding atmosphere and in determining tolerable concentrations for CA¹⁰⁾. For example, BAUMAN and HENZE¹⁰⁾ categorized the porosity of the apple cultivar Cox's Orange for three levels of tolerance to CA: low level (<14%), mid-level (14.1%~16%), and high level (>16%). The values for porosity in Table 4 can teach us more about the relationship between citrus porosity and its tolerance to CA.

The apparent density of a citrus segment was also measured in L and 2L Unshu. The mean apparent density of the citrus segments (1.0147 g/cm³) was greater than that of intact citrus (0.8901 g/cm³), indicating that the porosity of intact fruit is greater than that of a segment. The porosity of citrus segments was only 2.6%, while the porosity of whole fruit was 15.2%, suggesting that the majority of intercellular space is outside segments. Most V_{in} is in the central cavity and under the skin of the citrus.

3. Simple prediction method for intercellular space volume

The following two steps were applied to develop a simple prediction model for V_{in} using measurements of mass and volume. First, models were developed using Equation (3). Second, a validation test was performed by comparing the measured and predicted values of V_{in} for the eight species.

We can select the best model based on the higher values for the determination coefficient (R^2), modeling efficiency (EF), index of agreement (d), and paired *t*-test. R^2 provides a measure of how well the model replicates the measured values model. To obtain an acceptable goodness of fit, the values for R^2 must approach 1. EF and d are dimensionless statistics ranging from $-\infty$ to 1 and from 0 to 1, respectively, which suggests that the value should be equal to or greater than 0 for EF and 0.75 for d to evaluate a model precisely²¹⁾. We can determine both EF and d by using Equations (5) and (6)²¹⁾.

$$EF = 1 - \frac{\sum (y - x)^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \dots\dots\dots (5)$$

$$d = 1 - \frac{\sum (y - x)^2}{\sum (|y - \bar{x}| + |x - \bar{y}|)^2} \dots\dots\dots (6)$$

where x is the measured value, y is the predicted value, \bar{x} is the measured mean, and \bar{y} is the predicted mean. Finally, to test for a significant

difference between measured and predicted, the paired *t*-test can be used with a level of significance of $P < 0.05$.

In the first model, we used mass (*m*), total volume (V_t) determined using Archimedes' principle, and real density (P_r) to develop a simple prediction method for V_{in} . From Equation (3), Equation (7) was developed by assuming that the values for real density (P_r) are similar in all species based on our findings in this study (1.0647 g/cm³).

$$V_{in} = V_t - \frac{m}{1.0647} \dots \dots \dots (7)$$

where V_{in} and V_t are in cubic centimeters and *m* is in grams. To confirm the applicability of Equation (7), the predicted values for V_{in} from Equation (7) were compared with the measured values for V_{in} from Equation (3) using R^2 , EF, *d*, and the paired *t*-test. We used total measured and predicted values from 185 samples to validate the model. Fig. 1 shows the results of the comparison between measured and predicted values for all species. The measured and predicted V_{in} values were very close. In addition, the high values for R^2 (0.999), EF (0.999), and *d* (0.999) in Equation (7) indicate the low variability of V_{in} prediction. Then, the paired *t*-test (0.365) indicates that measured and predicted V_{in} were not significantly different. Therefore, we can conclude that Equation (7) provides precise predicted values of V_{in} for the citrus fruits which have real density of nearly 1.0647 g/cm³.

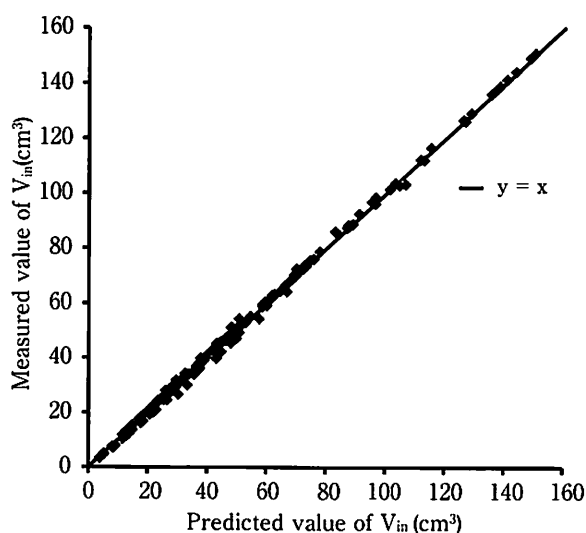


Fig.1 Comparison of predicted (Equation 7) and measured values (Equation 3) of V_{in} in all citrus species ($n = 185$)

Each data point represents individual fruits.

We also examined a second model in which total volume was replaced with sphere equivalent volume (V_s). From Equation (7), Equation (8) was developed by replacing V_t with V_s .

$$V_{in} = V_s - \frac{m}{1.0647} \dots \dots \dots (8)$$

where V_{in} and V_s are in cubic centimeters and *m* is in grams. To validate the model, the measured and predicted values for V_{in} were compared using R^2 , EF, *d*, and the paired *t*-test. Total measured and predicted values from 185 samples validated the model. The values for R^2 (0.860), EF (0.679), and *d* (0.904) could be generally acceptable. However, the paired *t*-test (0.000) shows that measured and predicted V_{in} were significantly different. The paired *t*-test values of each species were less than 0.05, except for Siranui (0.391), indicating that the model in Equation (8) is not suitable for precisely predicting V_{in} .

Conclusion

In this paper, we have presented the determination of intercellular space volume (V_{in}) in eight species of citrus fruits and the development of a simple prediction method for V_{in} . For all eight species, V_{in} ranged from 9.2 cm³ to 142.2 cm³. For each species, we can see that size, mass, and total volume were proportional to V_{in} . The porosity of the eight species ranged from 6.7% to 29.4%. The real density of the species was almost similar to the mean value, 1.0647 g/cm³. On the basis of the mean value, we developed two mathematical models to predict V_{in} .

On the basis of four statistical evaluation methods, where V_t is the total volume measured using Archimedes' principle and *m* is mass of a fruit, we evaluated model $V_{in} = V_t - \frac{m}{1.0647}$ and determined it to be acceptable for predicting V_{in} . However, the alternative model, $V_{in} = V_s - \frac{m}{1.0647}$, where V_s is the sphere equivalent volume calculated by average diameter, was not acceptable.

Acknowledgment This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 24380135.

References

- 1) FAO : Citrus fruit, Fresh and processed, Annual statistics 2012, (FAO, New York), p. 6 (2012)
- 2) HAGENMAIER, R.: Methods for measuring internal

- gases of citrus fruit and determining peel permeance, *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, **116**, 418~423 (2003)
- 3) KUROKI, S., OSHITA, S., SOTOME, I., KAWAGOE, Y. and SEO, Y. : Visualization of 3-D network of gas-filled intercellular spaces in cucumber fruit after harvest, *Postharvest Biol. Technol.*, **33**, 255~262 (2004)
- 4) CALBO, A. and NERY, A. : Methods for measurement of gas volume of fruits and vegetables, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **120**, 217~221 (1995)
- 5) CALBO, A. G. and NERY, A. A. : Methods to measure gaseous volume in plants, *R. Bras. Fisiol. Veg.*, **I**, 153~162 (1994)
- 6) CAMERON, A. C. and YANG, S. F. : A simple method for the determination of resistance to gas diffusion in plant organs., *Plant Physiol.*, **70**, 21~23 (1982)
- 7) KNEE, M. : Rapid measurement of diffusion of gas through the skin of apple fruits, *Hort Sci.*, **26**, 885~887 (1991)
- 8) DE Wild, H. P. and PEPPELENBOS, H. W. : Improving the measurement of gas exchange in closed systems, *Postharvest Biol. Technol.*, **22**, 111~119 (2001)
- 9) BANKS, N. H. : Estimating skin resistance to gas diffusion in apples and potatoes, *J. Exp. Bot.*, **36**, 1842~1850 (1985)
- 10) BAUMAN, H. and HENZE, J. : Intercellular space volume of fruit, *Acta Hortic.*, **138**, 107~111 (1983)
- 11) RAJAPAKSE, N. C., BANKS, N. H., HEWETT, E. W. and CLELAND, D. J. : Development of oxygen concentration gradients in flesh tissues of bulky plant organs, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **115**, 793~797 (1990)
- 12) HO, Q. T., VERLINDEN, B. E., VERBOVEN, P., VANDEWALLE, S. and NICOLAÏ, B. M. : A permeation-diffusion-reaction model of gas transport in cellular tissue of plant materials, *J. Exp. Bot.*, **57**, 4215~4224 (2006)
- 13) YEARSLEY, W. I., BANKS, N. H. and GANESH, S. : Temperature effects on the internal lower oxygen limits of apple fruit, *Postharvest Biol. Technol.*, **11**, 73~83 (1997)
- 14) TU, K., DE Baerdemaeker, J., DELTOUR, R. and DE BARSY, T. : Monitoring post-harvest quality of Granny Smith apple under simulated shelf-life conditions : destructive, non-destructive and analytical measurements, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **31**, 267~276 (1996)
- 15) DIRPAN, A. and HIKIDA, Y. : Effect of fruit sizes on resistance to gas diffusion of citrus, *Proc. The 5 th Int. conf. Bali. Sustainable future for human security.*, **5**, 77 (2014)
- 16) TARUTANI, T., NADA, T. and KITAGAWA, H. : On the porosity of fresh produce, *Supl. Hortic. Res.*, **S 48**, 406~407 (1973) (In Japanese)
- 17) ABHAYAWICK, L., LAGUERRE, J. ., TAUZIN, V. and DUQUENOY, A. : Physical properties of three onion varieties as affected by the moisture content, *J. Food Eng.*, **55**, 253~262 (2002)
- 18) YEHA, I., KABEEL, M. H. and GALEEL, M. M. A. : Physical and mechanical properties of ponkan mandarin applied to grading machine, *Misr J. Agric. Eng.*, **26**, 1036~1053 (2009)
- 19) SCHOTSMANS, W., VERLINDEN, B. E., LAMMERTYN, J., PEIRS, A., JANCZÓK, P. T., SCHEERLINCK, N. and NICOLAÏ, B. M. : Factors affecting skin resistance measurements in pipfruit, *Postharvest Biol. Technol.*, **25**, 169~179 (2002)
- 20) EBRAHIM REZAGAH, M., ISHIDA, S., TANAKA, F., UCHINO, T., HAMANAKA, D. and HIKIDA, Y. : Determination of gas diffusivity and skin resistance for three cultivars of Japanese Pear using their actual 3D geometry, *Environ. Control Biol.*, **51**, 193~200 (2013)
- 21) YANG, J. M., YANG, J. Y., LIU, S. and HOOGENBOOM, G. : An evaluation of the statistical methods for testing the performance of crop models with observed data, *Agric. Syst.*, **127**, 81~89 (2014)

カンキツ果実における細胞間隙体積の推定モデル

ディルパン アンディ*^{1, *2}・疋田慶夫*¹

千葉浩徳*¹・小川幸春*³

* 1 愛媛大学農学部

(〒790-8566 愛媛県松山市榊味3丁目5-7)

* 2 ハサヌディン大学食品科学工学科

(Makassar 90245, Indonesia)

* 3 千葉大学大学院園芸学研究科

(〒271-8510 千葉県松戸市松戸648)

カンキツ果実の細胞間隙体積 (V_{in}) を測定し、これを簡便に推定する方法を確立することを目的に、8品種のサイズの異なるカンキツを対象にした質量 (m)、縦および横径 (vd , hd)、体積 (V_t)、真密度 (P_t) の測定を行った。間隙体積は品種毎の値を示したが、一つの品種においては果実のサイズに依存した。すなわち、サイズが大きい果実ほど間隙体積は大きかった。しかしながら、間隙率 (ϕ) ではその傾向が顕著ではなかった。間隙体積を簡便に推定する方法として得られた $V_{in} = V_t - \frac{m}{1.0647}$ の推定モデルは、実測値との間にそれぞれ高い決定係数 (0.999)、EF値 (0.999)、IA値 (0.999)、t検定値 (0.365) を示した。これより、得られた推定モデルは、カンキツ果実の間隙体積を推定するために適用できるものと考えた。

(平成26年9月22日受付, 平成27年2月12日受理)

生姜汁を用いた牛乳ゲルの形成について

山田徳広^{*1§}・永島伸浩^{*2}・志垣 瞳^{*3}・稲熊隆博^{*3}

* 1 津市立三重短期大学生活科学科食物栄養学専攻

* 2 武蔵丘短期大学健康栄養専攻

* 3 帝塚山大学現代生活学部食物栄養学科

Preparation of Milk Gels by Incubating a Mixture of Milk and Ginger Juice

YAMADA Norihiro^{*1§}, NAGASHIMA Nobuhiro^{*2},
SHIGAKI Hitomi^{*3} and INAKUMA Takahiro^{*3}

* 1 *Food and Nutrition major, Department of Life Science, Tsu City College,
157 Ishinden-nakano, Tsu, Mie 514-0112*

* 2 *Department of Health and Nutrition, Musashigaoka Collage,
111-1 Minamiyoshimi, Yoshimi, Hiki-gun, Saitama 355-0154*

* 3 *Department of Food and Nutrition, Faculty of Contemporary Human Life Science, Tezukayama University,
3-1-3 Gakuenminami, Nara-shi, Nara 631-8585*

Milk gels were prepared by incubating a mixture of milk and ginger juice at different temperatures and incubation times. This was done to determine the effects of variation in temperature and incubation time on the hardness, adhesiveness, and cohesiveness of milk gels. Our results demonstrated that it was favorable to incubate the mixture for 30 minutes at 60–70°C, after mixing the milk and ginger juice by stirring. The hardness increased with additional heating to 80°C after gel formation using ginger protease. Our findings suggest that it is possible to adjust the hardness of the gels by combining the enzyme reaction with heating. The hardness of the gel could be adjusted by addition of 1.5–2.0w/w% gelatin, therefore, gels prepared by a mixing milk and ginger juice have promising applications as food sources for elderly people or as foods for swallowing training.

(Received Nov. 4, 2014; Accepted Mar. 19, 2015)

Key words : milk, ginger, protease, gelation, swallowing training

牛乳, 生姜, プロテアーゼ, ゲル化, 嚥下訓練食

高齢社会を迎えた日本では、高齢者の生活習慣病¹⁾、低栄養²⁾、摂食機能の低下³⁾などが問題となっている。特に低栄養では、良質なたんぱく質とカルシウムの補給が課題である²⁾。牛乳はたんぱく質含量が高く、アミノ酸スコア100の完全たんぱく質食として評価されている⁴⁾。また、カルシウム含量が90~140mg/100mlと高く⁵⁾、希釈性に優れ、食感をなめらかにする、色合いをよくする、生臭さを脱臭する、硬さを調節するなど料理に対する応用性も広いことから⁶⁾、高齢者に向けた食品であると考えられている⁴⁾。一方、高齢者は嚥下機能が低下している場合がみられることから、ゼリーなどの適度な粘弾性をもった食品が好ましいといわれている⁶⁾。嚥下訓練食

として1.0~2.0w/w%ゼラチンゲルが向いている⁷⁾ことから、同様の粘弾性をもった牛乳ゲル化食品を調製することは高齢者の栄養補給の面から重要である。

中国には加温した牛乳または水牛乳に生姜の絞り汁を加えてゲル化した薑汁撞奶(キョンジャッゾンナーイ)、薑撞牛奶(キョンゾンアウナーイ)または薑埋奶(キョンマーイナーイ)と呼ばれる食品がある^{8)~10)}。生姜はその特有の風味と芳香性から広く薬味や香辛料として利用されている¹⁰⁾だけではなく、血中コレステロール低下作用、解熱作用、鎮痛作用、および抗酸化作用など、健康に寄与する食材としても注目を集めている¹²⁾。高齢者用食品を評価するために、硬さ、凝集性および附着性を把

* 1 〒514-0112 三重県津市一身田中野157

§ Corresponding author, E-mail: nyamada@tsu-cc.ac.jp

* 2 〒355-0154 埼玉県比企郡吉見町南吉見111-1

* 3 〒631-8585 奈良県奈良市学園南3-1-3

握ることが重要であると指摘されている¹³⁾が、生姜汁によって形成される牛乳ゲルをこれらの指標で調整した研究は行われていない。

本研究は、栄養価が高く高齢者が摂取しやすい牛乳ゲル化食品を調製するために生姜汁を用いて牛乳ゲルを形成する場合の生姜プロテアーゼの反応条件と加熱が硬さ、凝集性および付着性に及ぼす影響を調べ、牛乳ゲルの形成状態を調整することを検討した。また、嚥下訓練食として1.0~2.0w/w%ゼラチンゲルが向いている⁷⁾ことから、牛乳ゲルと1.0~3.0w/w%ゼラチンゲルとの比較を行った。

実験方法

1. 試料と試薬

生姜は予備実験においてプロテアーゼの活性が最も高かった清水物産株式会社より購入した中国産のひね生姜を使用した。牛乳は予備実験においてゲルの形成状態が最もよかった蒜山ジャーキー牛乳プレミアム5.0 (蒜山酪農農業協同組合 (以下牛乳とする)) を使用した。トリプシンは生化学用Trypsin. Cryst (4830USP trypsin units/mg (14490BAEE units/mg)) (和光純薬工業(株) (大阪)), オイルレッドO染色液は (武藤化学(株) (東京)) を使用した。ゼラチンと寒天は関東化学(株) (東京) の一級試薬を、その他の試薬は関東化学(株) (東京) の特級試薬を使用した。

2. 生姜汁の調製

皮を剥かない状態の生姜を約2cm角に切り、低速圧縮ジューサー (ヘルシオジュースプレッソ, SHARP (株) (大阪)) を用いて搾汁した。得られた生姜汁を3,000 r.p.m.で10分間遠心分離した後、上清をろ紙No.2でろ過し、-80℃で保存したものを試料生姜汁として用いた。

3. 生姜プロテアーゼ活性の測定

生姜プロテアーゼの活性は大山らの方法¹⁷⁾を改変して測定した。1%カゼイン溶液 (pH7.0) 500 μ l に生姜汁10 μ l を添加して生姜プロテアーゼの最適温度である60℃¹³⁾において30分間反応させ、4.0Mのトリクロロ酢酸 (TCA) 500 μ l を添加して酵素反応を停止させた。室温で30分以上放置した後、20,000 \times gで15分間遠心分離した上清の280nmにおける吸光度を測定し、吸光度の上昇度である ΔA_{280} によってプロテアーゼ活性を評価した。生化学用Trypsin. Cryst (4830USP trypsin units/mg (14490BAEE units/mg)) を用いて10 μ g/mlのトリプシン溶液を作成し、トリプシンの最適反応条件である37℃, pH7.6において1%カゼイン溶液を30分間分解させた場合のプロテアーゼ活性と比較した。

4. 生姜プロテアーゼによる牛乳ゲルの形成

ゲルは直径48mmの円形容器に形成した。最終検体量50ml, 反応温度60℃, 反応時間60分の条件において予備実験を実施した結果、生姜汁濃度を3%より上昇させてもゲルの硬さは変化しないことを認めた。以上のことから、

牛乳50mlに対して1.5mlの生姜汁を添加することによってゲルを形成することとした (最終生姜汁濃度2.9%)。反応時間は生姜汁を添加した後、検体を各反応温度の恒温水槽に入れた時点から計測した。反応終了後、直ちに氷冷水中に入れて反応を停止させた。ゲルの硬さ、凝集性および付着性は、4℃で保存したゲルを25℃の条件下で測定した。

反応温度の影響は反応時間を60分として40~90℃の間を10℃きざみで測定した。反応時間の影響は生姜プロテアーゼの最適温度であると報告されている60℃¹³⁾において、15, 30, 45, 60および90分の反応時間で測定した。追加加熱の影響は、40, 50, 60および70℃において60分間反応させて形成したゲルをさらに80℃で30分間追加加熱したものと、追加加熱しないものとを比較した。今回調製した各種牛乳ゲルの水分含有量はすべて85%であり、牛乳ゲル間に有意な差は認められなかった。

5. ゼラチンゲルの形成

牛乳ゲルと同じ直径48mmの円形容器に形成した。ゼラチン粉末を蒸留水で30分間膨潤した後に50℃の湯せんで溶解し、1.0, 1.5, 2.0または3.0w/w%としたものを用いて4℃でゲル化させた。ゲルの硬さ、付着性および凝集性は25℃の条件下で測定した。

6. ゲルの硬さ、付着性および凝集性の測定

クリープメーターRE-3305 ((株)山電, 東京) を用いてゲルの硬さ、凝集性および付着性を測定した。測定条件はロードセル20N, プランジャー径16mmの円形, 圧縮速度1mm/sec, 測定歪率 (クリアランス) 50%, 試料高25.26mm, 試料径48mmの円柱形とした。ゲルを2回圧縮し、応力-移動歪率 (%) 曲線を描き、テクスチャー解析Windows (TAS-3305 (W)) ((株)山電, 東京) を用いて解析した。なお、測定値は10回の平均とした。応力-移動歪率 (%) 曲線 (Texture profile curve) をFig.1に示した。硬さ [$\times 10^3$ N/m²] は最大応力 [N]/(プランジャーの面積 [mm²] $\times 10^6$) から求めた。付着性 [J/m²] はFig.1のBの面積より求めた。凝集性 [単位なし] はFig.1のA₁の面積に対するA₂の面積の比 (A₂/

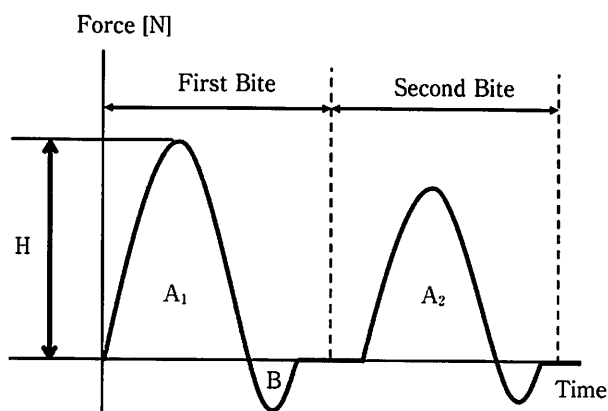


Fig.1 Texture profile curve

A₁) として求めた。

7. 統計処理

測定結果は平均値±標準誤差で表した。統計処理は分散の正規性を検定し、正規性が認められない群との比較はMann-Whitney-U-test, 正規性が認められたが、母分散が等しいと認められなかった2群間の比較はWelche's t-test, 正規性が認められ、かつ母分散が等しいと認められた2群間の比較はStudent's t-testを用いて検定した。有意水準は1% ($p < 0.01$) とした。

8. 共焦点顕微鏡による観察

共焦点顕微鏡は、OPTELCIS H1200 (WIDE) ((株)レーザーテック, 横浜) を用いた。スライドガラスに10mm×10mm四方で1mm程度の厚さの試料を乗せ、切片を10%アクロレイン (0.1Mリン酸緩衝液, pH7.4) に60分間浸漬後、チオニン・シッフ試薬 (煮沸後冷却した0.2%チオニン水溶液100mlに2-メチル-2-プロパノール100mlと1N塩酸30mlおよび二亜硫酸ナトリウム2gを添加) に30分間反応させた。水洗後、60%の2-プロパノール水溶液に1分間浸漬させ、その後オイルレッドO染色液で15分間浸漬した。再度60%の2-プロパノール水溶液で2分間浸漬し、水洗した後に室温で減圧乾燥させたものを観察した¹⁰⁾。

結果および考察

1. 生姜汁のプロテアーゼ活性

1%カゼイン溶液を30分間分解させたときのプロテアーゼ活性は、生姜汁が $\Delta 0.467 \pm 0.004$ ($n = 5$), トリプシン溶液が $\Delta 0.353 \pm 0.010$ ($n = 5$) であった。このことから、今回用いた生姜汁のプロテアーゼ活性は、トリプシン (4830 USP trypsin units/mg (14490 BAEE units/mg)) 10 μ g/ml溶液と比較して約30%高いものであった。

1. 生姜汁による牛乳ゲルの硬さ, 付着性および凝集性への影響

(1) 反応温度の影響 反応温度の影響の結果をTable 1に示した。硬さと付着性は80℃で最高値となった。凝集性は40℃に比べて50~80℃で低い値となった。

Table 1 Effects of reaction temperatures on hardness, adhesiveness and cohesiveness of milk gels

Reaction temperatures (°C)	Hardness [$\times 10^3$ N/m ²]	Adhesiveness [J/cm ²]	Cohesiveness
40	1.36 \pm 0.04 ^a	57 \pm 2 ^a	0.549 \pm 0.014 ^a
50	1.82 \pm 0.02 ^b	64 \pm 4 ^a	0.503 \pm 0.005 ^b
60	1.82 \pm 0.02 ^b	82 \pm 2 ^b	0.505 \pm 0.007 ^b
70	2.04 \pm 0.02 ^c	95 \pm 6 ^c	0.514 \pm 0.009 ^{ab}
80	2.19 \pm 0.03 ^d	112 \pm 4 ^d	0.513 \pm 0.006 ^b
90	0.49 \pm 0.06 ^e	13 \pm 4 ^e	0.724 \pm 0.036 ^c

Means \pm SE of 10 experiments.

Means in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different ($p < 0.01$).

60, 70℃で硬いゲルを形成したことは、生姜プロテアーゼの最適温度が60℃であること¹⁵⁾と一致した。

(2) 反応時間の影響 反応時間の影響の結果をTable 2に示した。60℃における反応時間の影響を検討したところ、ゲルの硬さと付着性は30分までは値が高く、30分以降降値が安定した。

ゲルの硬さは30分までは上昇し続け、それ以上反応時間を長くしても値は上昇しなかったことから、反応時間は30分程度で十分であると考えた。

(3) 追加加熱の影響 ゲルの硬さに及ぼす追加加熱の影響をFig. 2に示した。40℃で60分間ゲル形成を行った後に80℃で追加加熱したものが 2.80 ± 0.09 [$\times 10^3$ N/m²]と、今回の実験において最も硬いゲルとなった。この場合、40℃でゲル形成を行ったものに比べて硬さは107%上昇した。40℃または60℃でゲル形成を行ったものと、40℃でゲル形成した後に80℃で追加加熱したものの共焦点顕微鏡画像をFig. 3に示した。40℃でゲルを形成したa, 60℃でゲル形成したb, 40℃でゲルを形成した後に80℃で追加加熱したcの順番でゲルの構造が細くなり、密度が増していることが観察された。

生姜汁を加えて70℃未満でゲルを形成した後に80℃で追加加熱することによってゲルの硬さが増大したが、こ

Table 2 Effects of reaction times on hardness, adhesiveness and cohesiveness of milk gels

Reaction times (min)	Hardness [$\times 10^3$ N/m ²]	Adhesiveness [J/m ²]	Cohesiveness
15	1.46 \pm 0.04 ^a	62 \pm 3 ^a	0.537 \pm 0.013 ^a
30	1.71 \pm 0.03 ^b	81 \pm 4 ^b	0.506 \pm 0.013 ^{ab}
45	1.72 \pm 0.05 ^b	87 \pm 4 ^b	0.546 \pm 0.016 ^a
60	1.82 \pm 0.02 ^c	82 \pm 2 ^b	0.505 \pm 0.007 ^b
90	1.75 \pm 0.02 ^{bc}	92 \pm 5 ^b	0.493 \pm 0.006 ^{bc}

Means \pm SE of 10 experiments.

Means in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different ($p < 0.01$).

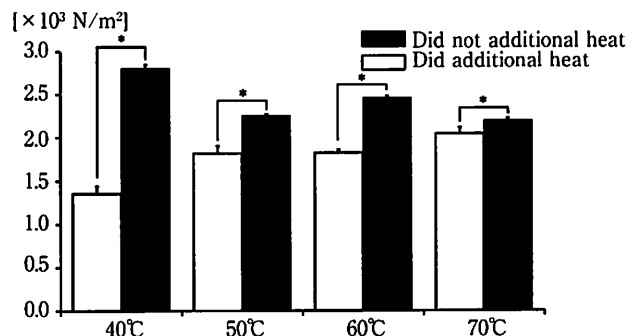


Fig. 2 Effects of additional heating of 80 °C for 30 minutes on hardness of milk gels

Mean \pm SE of 10 experiments.

Asterisk indicate significantly different ($p < 0.01$).

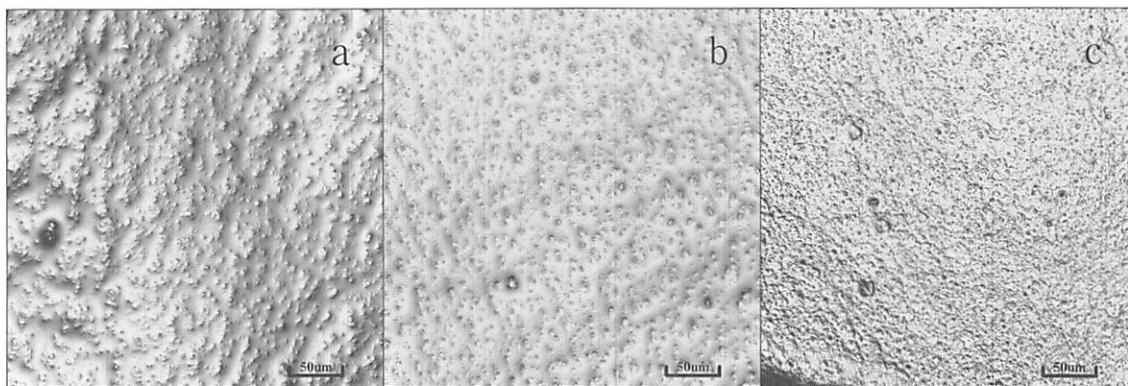


Fig. 3 Confocal micrographs of ginger milk gels

- a : Gel formed at 40°C for 30 minutes.
 b : Gel formed at 60°C for 30 minutes.
 c : Gel formed at 40°C for 30 minutes and additional heated at 80°C for 30 minutes.

の現象はゲルの密度が増加するために起こるものであり、共焦点顕微鏡画像の結果から立証された。この現象は、40°Cから60、70°Cの間は生姜プロテアーゼによって牛乳中のカゼインミセルの表面にあるκ-カゼインが分解され、それに伴ってカゼインミセルのゼータ電位が減少することによってカゼインミセルの凝集が起こって密度が低いゲルが形成され¹⁷⁾、80°Cで追加加熱するとカゼインと熱変性した乳清たんぱく質との結合が起こる¹⁸⁾ことによってより密な構造のゲルが形成されたことによるものと考えた。

40°Cで形成したゲルは60または70°Cで形成したゲルよりも柔らかいゲルとなったが、80°Cによる追加加熱によって最も硬いゲルとなった。この現象は、キモシンはα-カゼインのみに特異的に作用する¹⁹⁾のに対し、生姜プロテアーゼはα-カゼイン、β-カゼイン、κ-カゼインと幅広く作用する¹⁰⁾ことから、生姜プロテアーゼによる牛乳たんぱく質の分解が進み過ぎると追加加熱によるカゼインと熱変性した乳清たんぱく質との結合が強くなり起こらなくなるためであると考えた。

(4) ゼラチンゲルとの比較 ゼラチンゲルの硬さ、付着性および凝集性をTable 3に示した。今回調製した各種牛乳ゲルは、硬さと付着性は概ね1.5~2.0w/w%ゼラチンゲルの間の値となった。凝集性は、一番値の低い2.0w/w%ゼラチンゲルと比較して65~80%の値とな

Table 3 Hardness, adhesiveness and cohesiveness of 1.0,1.5,2.0 and 3.0 w/w% gelatin gels

Gelatin concentrations (w/w%)	Hardness [$\times 10^4$ N/m ²]	Adhesiveness [J/m ²]	Cohesiveness
1.0	0.32 ± 0.00	0 ± 0	0.884 ± 0.005
1.5	1.19 ± 0.05	58 ± 3	0.774 ± 0.018
2.0	2.45 ± 0.15	105 ± 5	0.693 ± 0.054
3.0	6.32 ± 0.58	125 ± 10	0.873 ± 0.099

Means ± SE of 10 experiments.

った。

以上、生姜プロテアーゼによる凝乳作用と、追加加熱によるカゼインと熱変性した乳清たんぱく質との結合を組み合わせることによって様々な硬さの牛乳ゲルを調製することができることがわかった。このゲルの硬さは、概ね1.5~2.0w/w%ゼラチンゲルの間の値となった。嚥下訓練食として1.0~2.0w/w%ゼラチンゲルが向いている⁷⁾ことから、生姜汁によって作成した牛乳ゲルは、高齢者用食品や嚥下訓練食として利用できるものと考えられた。

要 約

生姜汁による牛乳ゲルの形成について検討した。牛乳に対して約3%の生姜汁を添加して酵素反応と加熱を組み合わせることによってゲルの硬さを調整することが可能であることがわかった。また、生成した牛乳ゲルは概ね1.5~2.0w/w%ゼラチンゲルの間の硬さとなり、高齢者用食品や嚥下訓練食としての可能性があるものと考えられた。

文 献

- 1) 島本和明：高齢者における生活習慣病，日本老年医学会誌，44，551~555（2007）
- 2) 大塚 礼：高齢期における生活習慣病の予防(1)食生活・食習慣，Advances in Aging and Health Research 2012 高齢期における生活習慣病，長寿科学振興財団，pp.151~157（2013）
- 3) 大越ひろ：嚥下障害者のための食事—高齢者を対象とした食事の安全性とテクスチャーの面から—，日本食生活学会誌，17，288~296（2007）
- 4) 上野川修一編：ミルクの事典（朝倉書店，東京），pp.38，pp.198~236（2009）
- 5) 野口洋介：牛乳と調理，調理科学，10，53~61（1977）

- 6) 熊谷 仁・熊谷日登美：レオロジーと食品工学—嚥下障害者用介護食の物性を中心として，日本食品科学工学会誌，**10**，137～148 (2009)
- 7) 渡瀬峰雄：高齢者社会における段階的な摂食・嚥下訓練食の開発，*J. Appl. Glycosi.*，**49**，319～325 (2002)
- 8) 山本誠子・奥村麻里・大場智美：良質の乳カード形成にむけての生姜搾汁の牛乳凝固性についての研究，日本調理科学会誌，**42**，309～314 (2009)
- 9) ZHANG, J., WANG, J., WAN, G. and CHU, Q.: Study on the Influence Factors of Milk Coagulation (in Chinese), *Food Ferment. Industries.*, **31**, 57～59 (2005)
- 10) NISHIMURA, K. and GOTO, M.: Identification of the Protease Involved in and the Effects of Vitamin C on Gel Formation in Ginger Milk Pudding (Jiang Zhi Zhuang Nai), *J. Home Econ. Jpn.*, **61**, 463～471 (2010)
- 11) 吉田真美・後藤 潔・田名部尚子：料理書にみる中国，朝鮮，日本料理中のショウガ利用比較，日本調理科学会誌，**36**，255～265 (2003)
- 12) 岩井和夫・中谷延二編：香辛料成分の食品機能（光生館，東京），pp.12～13，p.80 (1989)
- 13) 高橋智子：高齢者の摂食機能に応じた食事のテクスチャー面から見た特徴，日本食生活学会誌，**20**，87～92 (2009)
- 14) 大山秀夫・榎本俊樹・光永伸一郎：キウイ果実プロテアーゼの多様性とコラーゲン分解活性，日本栄養・食糧学会誌，**50**，57～62 (1997)
- 15) HUANG, X.W., CHEN, L.J., LUO, Y.B., GUO, H.Y. and REN, F.Z.: Purification, characterization, and milk coagulating properties of ginger proteases, *J. Dairy Sci.*, **94**, 2259～2269 (2011)
- 16) 長縄貴直・渡邊康一・神崎文次・太田智章・虻川久美子・細野明義・山口高弘：組織化学的手法によるチーズならびにバターのタンパク質と脂肪の存在様式とその分布に関する研究，*ミルクサイエンス*，**51**，33～37 (2002)
- 17) 二木良哉・有馬俊六郎：牛乳カゼイン—その構造的特徴を中心として，*化学と生物*，**22**，219～227 (1984)
- 18) ANEMA, S.G. and LI, Y.: Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 1640～1646 (2003)
- 19) CARLES, C. and RIBADEAU, D.B.: Kinetics of the action of chymosin (rennin) on a peptide bond of bovine alpha s1-casein. Comparison of the behaviour of this substrate with that of beta-and kappa o-caseins, *FEBS Lett.*, **185**, 282～826 (1985)
(平成26年11月4日受付，平成27年3月19日受理)

Effects of Curtain Treatment with White Reflection Sheets in Improving Berry Coloration and Wine Quality in 'Cabernet Sauvignon' Grapes

MATSUMOTO Toshikazu*^{1§}, ISHIHARA Ai*¹, ABE Norio*², SAKURAI Takafumi*³, MISHIMA Shota*¹ and AKIHIRO Takashi*¹

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

* 2 OKU-IZUMO VINEYARD, Jiryō 2273-1, Kisuki-cho, Unnan-shi, Shimane 699-1322

* 3 MARUWA Biochemical Co.,Ltd., Hirano-machi 3-6-1, Chuo-ku, Osaka 541-0046

Curtain treatment with white reflection sheets at the veraison stage was applied to the wine grape 'Cabernet Sauvignon'. Compared with mulch treatment and the control, hanging sheets on both sides of the main stem of the grape tree significantly increased the coloration of the berries and wine and the anthocyanin content in the grape skins. Yeast-assimilable amino acid in the juice in curtain-treated grapes was significantly decreased compared with that in the control. Curtain treatment with white reflection sheets improved the color of red wine grapes.

(Received Jul. 31, 2014 ; Accepted Feb. 26, 2015)

Key words : curtain treatment, white reflection sheet, coloration, grape, wine
カーテン処理, 白色反射シート, 着色, ブドウ, ワイン

High night temperatures related to global warming cause serious problems such as low sugar content and lightened skin color in grapes. Several methods to overcome these problems have been tested, including girdling, abscisic acid fertilizer, and reflective mulch treatment. Mulch treatment with reflective sheets improves the light environment around grape trees and is effective in deepening the coloring of grape berry skin^{1),2)}. Recently, curtain treatment with white reflection sheets was developed to improve the coloration of the table grape cultivar 'Izunishiki'³⁾. The berry skin coloration in the treated grapes was significantly increased compared with that in the mulch treatment and control groups. In the present study, curtain treatment was applied to the wine grape cultivar 'Cabernet Sauvignon', and the resulting wine quality was also investigated.

Materials and Methods

1. Plant material and treatments (white reflective sheet curtains and mulch)

The experiments were conducted on 12- and 13-year-old wine grapes (*Vitis vinifera* L. 'Cabernet Sauvignon') in 2011 and 2012, respectively, at the

Oku-Izumo Vineyard (Unnan, Shimane, Japan). The trees were using a single-wire trellis training system. Two treatments and a control were used to assess the anthocyanin concentration in the grape juice: ① the curtain treatment as shown in Fig. 1, in which 150-cm-wide white polyethylene reflection sheets (700AG; DuPont™ Tyvek®, E.I. Du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE, USA) were hung 200 cm from both sides of the main stems; ② a mulch treatment in which the ground

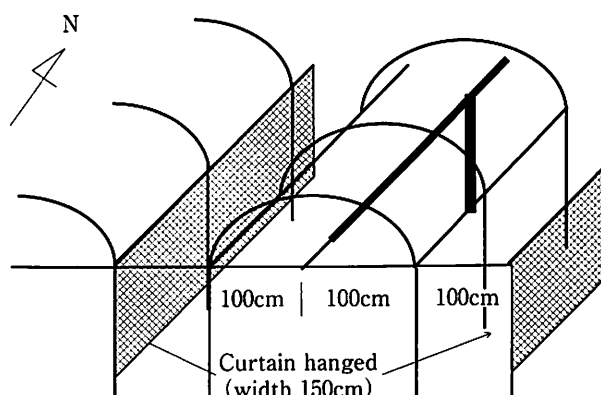


Fig. 1 Curtain treatment with white reflective sheets in tunnel mesh cultivation of 'Cabernet Sauvignon' grapes

under the main stems were covered with mulch at the veraison stage (the developmental stage at which berry ripening began on 7 September 2011 and 31 August 2012); and ③ a control treatment in which no reflection sheets or mulch were used. Ten trees were used for each treatment.

2. Fruit analysis

Ten grape clusters were randomly collected from the ten trees in each group on 12 October 2011 and 31 September 2012 and assessed for berry weight and soluble solids concentration (Brix; ASONE MASTER-A1T, Osaka, Japan). The color chart value (Japan Fruit Growers Cooperative Association) of the grape skin was determined in the grapes collected in 2011. The tartaric acid concentration and organic acid composition of the grape juice were determined with a titratable acidity test and high-performance liquid chromatography, respectively, in 2011. Determinations of the anthocyanin concentration of the berry skin and free amino acid analysis of the juice were performed determined according to methods described in our previous report³⁾.

3. Wine production and analysis

Approximately 4 kg grape grains were squeezed, providing approximately 3ℓ juice. The juice and pulp were placed in a 5-ℓ bottle to which potassium metabisulfite was added in appropriate amounts before and after fermentation to prevent oxidation and sterilization and to stop the fermentation, respectively. Glucose and tartaric acid were added to become 22% and 0.7% in the juice, respectively, and the mixture was fermented for approximately 2 weeks at 20~25°C. The composition of the wine produced from the grapes in the treatment groups

and control in 2011 were analyzed according to the method of Japan's National Tax Agency.

Results

The effects of curtain treatment with white reflection sheets on the wine grape 'Cabernet Sauvignon' are shown in Table 1. No significant difference in berry weight was found among the curtain treatment, mulch treatment, and control groups; however, the soluble solid concentration (Brix) of the juice and color chart values of the grape skins in the curtain and mulch treatment groups were greater than those in the controls in 2011 and 2012. The titratable acidity (tartaric acid) in the control was lower than that in the curtain and mulch treatment groups in 2011. Compared with that in the control, the anthocyanin concentration in the skin of curtain- and mulch-treated grapes was also significantly increased in 2011 and 2012 (Fig. 2). As shown in Fig. 3, no significant differences in amino acid content were found among the experimental groups. However, yeast-assimilable amino acid (all amino acids except proline) content in curtain-treated grapes was lower than that in control grapes.

The composition of wine produced from grapes in the treatment and control groups is shown in Table 2. The specific gravity, concentration of alcohol, wine extract, tartaric acid content, and pH of the wines were not significantly different among the treatment groups. However, compared with that in the control group, the wine color value based on absorbances at 420 and 530 nm was greater for the curtain treatment group in both years (see Table 2). The coloration of wine produced from curtain-

Table 1 Improvements to 'Cabernet Sauvignon' wine grapes by curtain treatment with white reflection sheets

Treatments	10 grain weight (g)	Brix (%)	CC value*	Tartaric acid (%)
2011				
Control	13.3 a	16.9 b	4.1 b	0.52
Mulch	11.7 a	18.3 ab	6.2 a	0.31
Curtain	14.5 a	19.3 a	6.4 a	
2012				
Control	16.2 a	16.2 a		
Mulch	15.8 a	17.0 a		
Curtain	16.4 a	17.0 a		

*Color Chart for black grape; Different letters indicate significant differences (P < 0.05) according to Tukey's multiple range test.

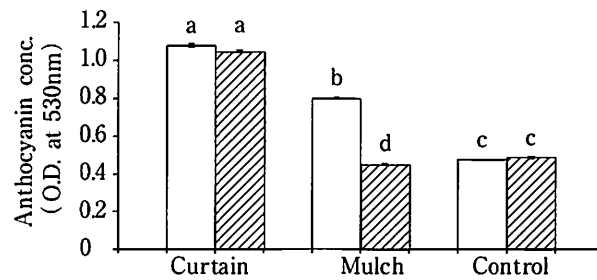


Fig. 2 Anthocyanin concentration in grape juice from curtain- and mulch-treated grapes (left: 2011; right: 2012)

Bar = standard error. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$) according to Tukey's multiple range test ($n = 20$).

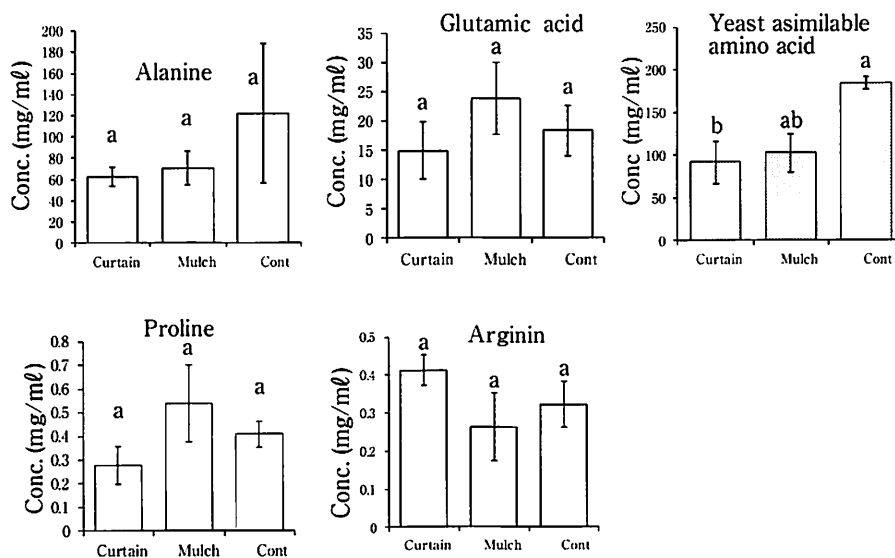


Fig. 3 Amino acid concentration in grape juice from curtain- and mulch-treated grapes (2011)

Vertical bars represent standard error. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$) according to Tukey's multiple range test ($n = 5$).

Table 2 Composition of wine from curtain- and mulch-treated 'Cabernet Sauvignon' grapes

Treatment	Specific gravity	Alcohol (%)	Wine extract (%)	pH	Total acid (%)	Absorbance	
						at 420 nm	at 530 nm
2011							
Control	0.996	11.8	3.17	3.54	0.65	0.52	0.63
Mulch	0.996	12.5	3.36	3.55	0.65	0.67	0.94
Curtain	0.996	11.9	3.20	3.55	0.67	0.82	1.26
2012							
Control	0.999	11.7	3.93	3.54	0.72	0.52	0.49
Mulch	1.000	11.8	4.21	3.40	0.83	0.55	0.52
Curtain	1.000	12.3	4.34	3.56	0.78	0.92	1.13



Fig. 4 The appearance of wines among three treatments

treated grapes was darker than that of wine from mulch-treated and control grapes (Fig. 4).

Discussion

Some of the most serious challenges in grape cultivation are low sugar content and reduced skin coloring of fruit caused by high night temperatures. Poor coloring in berry skin reduces the economic value of grapes for both the table and processing. MORI *et al.*⁴⁾ and KOSHITA *et al.*⁵⁾ have reported that high night temperatures related to global warming reduce anthocyanin accumulation in berry skins, causing poor coloration in red and black grapes and posing a persistent problem for viticulture. Mulch treatments with reflective sheets^{6)~8)} have been applied to overcome these problems.

PIRIE and MULLINS⁹⁾ have suggested that anthocyanin concentration in grape skin is increased by the accumulation of sugar in the berry. It is well known that sugar is synthesized by photosynthesis, and light conditions around grape trees affect photosynthesis. Anthocyanin in grape berries accumulates when sucrose concentration increases¹⁰⁾. We previously reported³⁾ that the skin color of the table grape 'Izunishiki' (*Vitis labruscana* Bailey) was significantly increased by curtain treatment with white reflection sheets. In the present study, the anthocyanin concentration in the skin of 'Cabernet Sauvignon' wine grapes was significantly improved by curtain treatment (see Fig. 2), which also improved wine color (see Table 2, Fig. 4).

We have also reported that the photon flux densities on the upper/west sides of trees treated with curtains (white reflection sheets hanging 90

cm from the sides of the main stem), mulch, and neither curtains nor mulch (control) were 185.5/353.4, 413.6/273.1, and 97.5/273.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively³⁾, and the light environment around table grape 'Izunishiki' trees in the curtain treatment group was 1.3~1.7 times that of the control, which resulted in significant improvement in grape skin coloration. High acidity in the juice of control grapes may be promoted by the maturation of grapes with curtain and mulch treatments. The increased sugar content caused by increases in photosynthesis seemed to be used for anthocyanin synthesis.

In both our previous study³⁾ and the present study, we demonstrated that the coloration of dark grape skin is significantly improved by curtain treatment. The sugar concentration of white grapes may also be increased by curtain treatment before veraison. Furthermore, lower concentrations of yeast-assimilable amino acids, which are used for yeast fermentation in grape juice, have been measured in curtain-treated grapes. Lower levels of yeast-assimilable amino acids in grape juice from curtain-treated grapes may affect the taste and flavor of wine.

The light reflection efficiency of the white sheets used in this study is reportedly higher than that of aluminum vapor deposition sheets commonly used in mulch treatment. The sheets also improved plant growth and reduced the deleterious effects of insects and pests^{1),2)}. Compared with other mulch sheets used in orchards, white reflective sheets as on-ground mulch are disadvantageous because they are expensive and easily become dirty during cultivation. Because the sheets do not contact the ground during curtain treatment, they are not easily soiled. The durability of these sheets during curtain treatment is more than twice that in mulch treatment³⁾. This curtain treatment method is effective for both table and wine grape cultivation. Moreover, the color of wine produced from curtain-treated grapes was darker than that from mulch-treated and control grapes (see Table 2, Fig. 4). The results of this study suggest that curtain treatment with white reflection sheets improves the fruit color of red wine grapes.

References

- 1) IMON, K., MATSUMOTO, H., MIYATA, N. and YANO, T. : Effects of improved light conditions on

- coloration of 'Aki-Queen' grape berries, *Bull. Fruit Tree Res. Center, Ehime Res. Inst. Agr.*, 1, 43~51 (2009) (In Japanese with English summary)
- 2) NISHIKAWA, Y., TOMIMORI, S., WADA, K. and KONDO, H.: Effect of cultivation practices on resveratrol content in grape berry skins, *Hort. Res. (Japan)*, 10, 249~253 (2011) (In Japanese with English summary)
- 3) MATSUMOTO, T., SAKURAI, N., FURUTA, K., INOUE, M., KADOWAKI, M., MATSUMOTO, S. and AKIHIRO, T.: Effects of curtain treatment of white reflection sheet on improving the coloration of grape berries, *J. ASEV Japan*, 24, 134~140 (2012) (In Japanese with English summary)
- 4) MORI, K., SUGAYA, S. and GENMA, H.: Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition, *Scientia Horticulturae*, 105, 319~330 (2005)
- 5) KOSHITA, Y., ASAKURA, T., FUKUDA, H. and TSUCHIDA, Y.: Nighttime temperature treatment of fruit clusters of 'Aki Queen' grapes during maturation and its effect on the skin color and abscisic acid content, *Vitis*, 46, 208~209 (2006)
- 6) COVENTRY, J.M., FISHER, K.H., STROMMER, J.N. and REYNOLDS, A.G.: Reflective mulch to enhance berry quality in Ontario wine grapes, *ISHS Acta. Horticulturae.*, 689, 95~102 (2005)
- 7) LAYNE, D.R., JIANG, Z. and RUSHING, J.W.: Tree fruit reflective film improves red skin coloration and advances maturity in peach, *HortTechnology*, 11, 234~242 (2001)
- 8) TODIC, S., BESLIC, Z., VAJIC, A. and TESIC, D.: The effect of reflective plastic foils on berry quality of Cabernet Sauvignon, *Bulletin de l'OIV*, 81, 165~170 (2008)
- 9) PIRIE, A. and MULLINS, M.G.: Interrelationships of sugars, anthocyanins, total phenols and dry weight in the skin of grape berries during ripening, *Amer. J. Enol. Vitic.*, 28, 204~209 (1977)
- 10) DO, C.B. and CORMIER, F.: Effects of low nitrate and high sugar concentrations on anthocyanin content and composition of grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension, *Plant Cell Reports*, 9, 500~504 (1991)

白色反射シートのカーテン処理による ワイン用ブドウ 'カベルネ・ソービニオン' の 着色促進効果およびワイン品質

松本敏一^{*1*}・石原 藍^{*1}・安部紀夫^{*2}
桜井尚史^{*3}・三島晶太^{*1}・秋廣高志^{*1}

* 1 鳥根大学生物資源科学部

(〒690-8504 鳥根県松江市西川津町1060)

* 2 (有)奥出雲葡萄園

(〒699-1322 鳥根県雲南市木次町寺領2273-1)

* 3 丸和バイオケミカル(株)大阪営業所

(〒541-0046 大阪府大阪市中央区平野町3-6-1)

白色反射シートのカーテン方式でのワイン用ブドウ 'カベルネ・ソービニオン' の着色促進効果を検討した。ベレーゾン期に白色反射シートカーテンを一文字整枝の両側にカーテン状に設置したところ、果皮の着色とアントシアニン含量がマルチ区および無処理区より優れたが、果汁中の資化性アミノ酸含量は有意に低くなった。

以上のことから、反射シートの両側カーテン処理は、赤ワイン原料用ブドウとして有用な濃い色調が得られる傾向が認められた。

(平成26年7月31日受付, 平成27年2月26日受理)

HACCP教育講座 (9)

講 座

HACCP普及の取組みについて

梅田浩史*[§]

* 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課

Approach to the Promotion of HACCP

UMEDA Hiroshi*[§]

* Department of Food Safety, Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Kasumigaseki 2-2-1, Chiroda-ku, Tokyo 100-8919

はじめに

食品流通の広域化、食品の安全に対する消費者の関心の高まりなどに伴い、食品製造等における衛生管理の確実な実施が求められている。厚生労働省では衛生管理のさらなる向上を目指してHACCPの普及を推進するため、食品衛生法に基づく管理運営基準に関する指針（ガイドライン）にHACCPによる衛生管理の基準を設けるとともに、食品事業者がHACCPに取り組みやすくするためのさまざまな支援策を進めている。本稿では、こうしたHACCPの普及に向けた取組みについて紹介する。

いまやHACCPは国際標準

HACCPは、1993年にF AO/WHO合同食品規格委員会（コーデックス）の「HACCP適用のガイドライン」（Guidelines for the Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System, CAC/GL 18-1993）が採択され、世界各国で導入が進められた。欧米では、水産食品や食肉から順次義務化が進められ、EUでは2006年から一次生産を除くすべての食品産業にHACCPの概念を取り入れた衛生管理が義務づけられ（EC規則852/2004）、米国でもすべての食品施設に対してHACCPの概念を取り入れた食品安全計画の策定・実行を義務づける「食品安全近代化法」が2011年に成立している。また、こうした義務化を進めるうえで、中小企業等へのHACCPの適用が課題とされ、柔軟性をもったHACCPの適用が重要であると認識されるようになってきている。こうしたHACCP導入の動きは先進国だけでなく開発途上国においても進みつつあり、いまやHACCPは国際標準となっている。

日本のHACCP導入率は低いまま

一方、日本では1995年の食品衛生法の改正により、HACCPの考え方を取り入れた総合衛生管理製造過程の承認制度（以下「マル総」という）が任意の制度として導入された。しかし、その後、2000年にマル総の承認施設で大規模な食中毒事件が発生したことを受け、3年ごとの更新制が導入されるなど制度運用が厳格化されたこともあり、承認施設数は減少傾向にある。マル総以外にも自治体や民間認証機関による認証制度等、HACCPに関する取組みも行われているが、農林水産省の調査によると、日本の中小規模の食品事業者におけるHACCP導入率は30%に満たないと報告されている。

このように、海外では柔軟な適用方法を取り入れたHACCPの義務化が広がっている一方、日本では厳格な運用に基づく任意の制度のままという、世界的な潮流に乗り遅れている状況にあるといえる。

食を取り巻く環境の変化と
高まるHACCPニーズ

近年、食生活の多様化や食品流通のグローバル化に伴い、食品製造の多様化・高度化、フードチェーンの拡大・複雑化等が進み、食品の安全確保にHACCPによる工程管理の重要性が増してきている。最終製品の抜取検査で安全性を確認する従来の衛生管理の考え方では、サンプリングや検査による不確実性が避けられない。これに対し、HACCPは潜在的な危害要因をあらかじめ特定し、それを管理する方法を決めて実行することで食品の安全性をより確実なものとする（図1）。HACCPを導入しなくても、これまで一度も食中毒を起こしたことはないというだけでは、今後も食中毒を発生させない保証にはならない。今後も安心して食品を製造し続けようと

* 〒100-8919 東京都千代田区霞が関2-2-1

§ E-mail: umeda-hiroshi@mhlw.go.jp

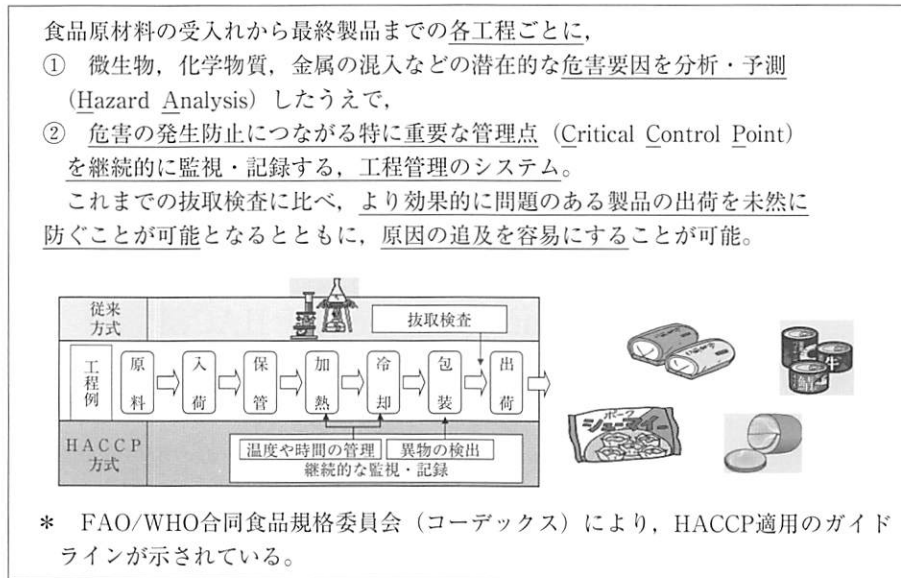


図1 HACCP (ハサップ) とは

考えるなら、HACCPは欠かせなくなってきた。最近では取引先からHACCPによる衛生管理を求められるケースも多くなってきており、自分達が行っている衛生管理について自信をもって説明できるようにしておくことが必要となるが、HACCPはそれを可能にしてくれる。

また、TPPやFTA等国際間の経済連携が進み、今後食品貿易のより一層の進展が見込まれるなか、輸入食品の安全対策としてもHACCPのニーズが高まっている。カロリーベースで60%以上の食品を海外に依存する日本にとって輸入食品対策は極めて重要であり、輸出国に対してHACCPを求めることは有効な手段となるが、そのためにも国内にHACCPの普及を促進する必要がある。

さらに、政府が推進する「日本再興戦略」では、日本の農林水産物・食品の輸出額を2013年当時の約4,500億円から2020年までに1兆円、2030年には5兆円規模に拡大させる目標が設定されている。欧米をはじめ、自国に食品を輸出する相手国に対し、HACCPを輸出要件として義務づける動きが加速化しており、貿易上もHACCPは必須となりつつある。いまはHACCPを導入せずに輸出できていても、今後も輸出が続けられる保証はないのである。

加えて、輸出を考えていない事業者にとっても、食品流通のグローバル化によって国内市場で輸入品との競合が迫られることになり、HACCPを味方につけてそれに備えておく必要があろう。

管理運営基準に関するガイドライン等の改正

以上の状況を踏まえ、厚生労働省ではHACCPの普及を推進するため、2013年9月から有識者や食品事業者、消費者、自治体関係者をメンバーとした検討会において議論を重ねてきた。昨年12月、今後の施策の方向性についての中間とりまとめを行った(図2, 3)。検討会で

は、これまでの施策の問題点として、マル総の承認を得ることが目的化して承認後のHACCP運用が必ずしも適切に行われていなかったのではないかと、マル総によってHACCPが『高度で難しいもの』、『施設設備に多大な資金が必要』といった誤解を招いているのではないかなどの指摘がなされた。これを踏まえ、HACCP普及の方法として、食品衛生法第50条第2項に基づき、都道府県等が条例で管理運営基準を規定する場合の技術的助言として国から示している「食品等事業者が実施すべき管理運営基準に関する指針(ガイドライン)」を昨年5月に改正し、従来の基準に加え、HACCPの基準を新たに規定し、食品等事業者が従来の基準といずれかにより衛生管理を行える仕組みとした(図4)。これは、コーデックスガイドラインにおいてHACCPが一般衛生管理ガイドラインの付属書に位置付けられていることに倣ったものである。また、食肉処理、食鳥肉処理に関しても関係の施行規則を昨年4月に改正し、同様に従来の基準に加えてHACCPの基準を新たに設け、本年4月から施行されている。

このように、今回の基準は、あくまでコーデックスが示すHACCPの原則に則したものとし、いわゆるハードの基準を含むものとはせず、また、承認制度という形も取っていない。検討会では、HACCPを義務化しないことで果たして普及が進むのかといった懸念の声も上がったが、現在のHACCP普及状況を踏まえれば、将来、義務化することを見据えつつも、まずは段階的なアプローチとしてHACCPの普及に努め、義務化を含めた議論ができるような環境を醸成することとしたのである。

HACCP導入のための支援

食品事業者がHACCPによる衛生管理に取り組みやすくするための支援として、HACCP導入のためのわかり

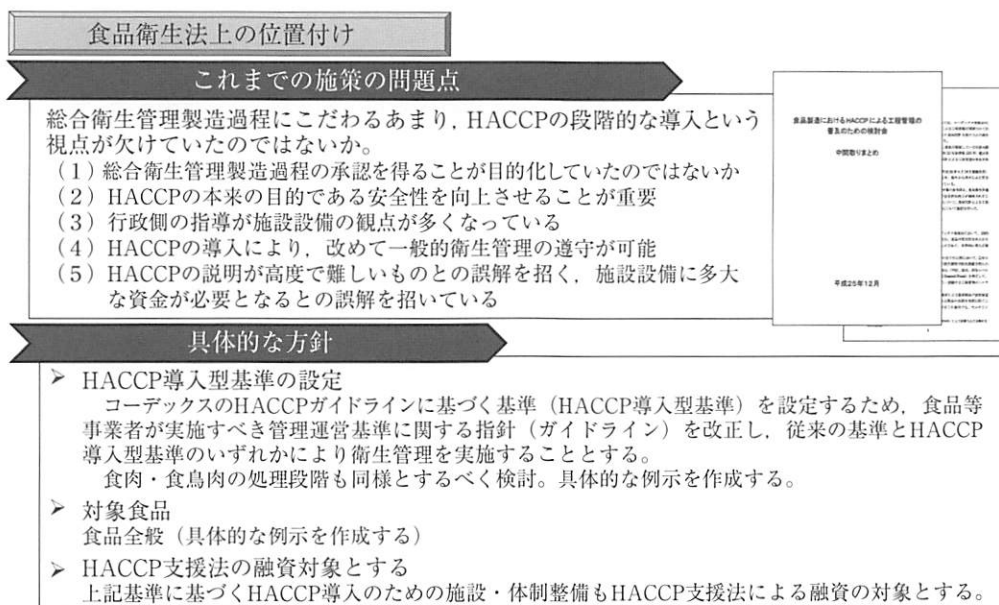


図2 検討会 中間とりまとめ 概要①

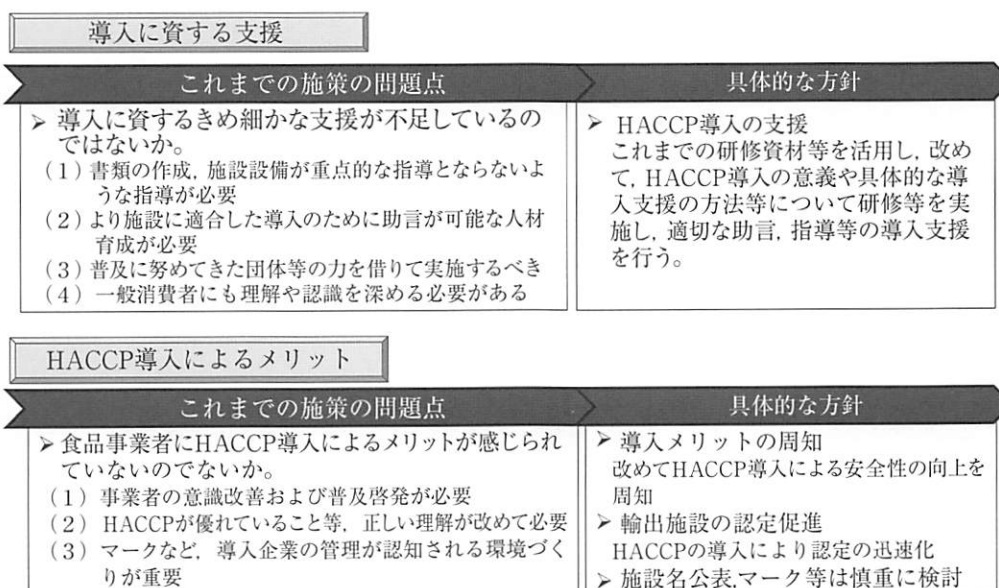


図3 検討会 中間とりまとめ 概要②

やすい手引書や動画を作成し、厚生労働省のホームページに掲載したほか、これらを活用して食品事業者や指導助言する自治体の食品衛生監視員を対象とした説明会や研修等を行ってきた。また、実際にHACCPを導入した食品事業者からHACCP導入の経験談として、衛生レベルの向上、生産効率のアップ、トラブル発生時の改善措置等のHACCP導入効果を紹介してもらうなど、検討会において指摘されたHACCP導入のメリットの周知にも努めている。今後もこうした経験談や導入効果に関してできる限り定量的なデータを集め、HACCP導入のメリットをわかりやすく示していく必要があると考えている。さらに、「食品の製造過程の管理の高度化に関する臨時措置法（HACCP支援法）」（平成10年法律第59号）については、管理運営基準に関するガイドラインに基づく

HACCPの導入を目指して、その基盤となる施設設備の整備を行おうとする事業者が長期低利の融資を利用することが可能となるようにした。

さらなる普及方策

その後、検討会では、将来的なHACCPによる衛生管理の義務化を見据え、中小事業者においても着実にHACCP導入が進むよう、日本においてHACCPの普及をさらに進めるための方策について検討を行い、本年3月に提言としてとりまとめた（図5）。

本提言では、HACCPが事業者による自主的な衛生管理の手法であることに鑑み、事業者自らによる主体的なHACCPへの取組みを推進することを基本方針として、それを支える支援策を以下の5つの観点から示している。

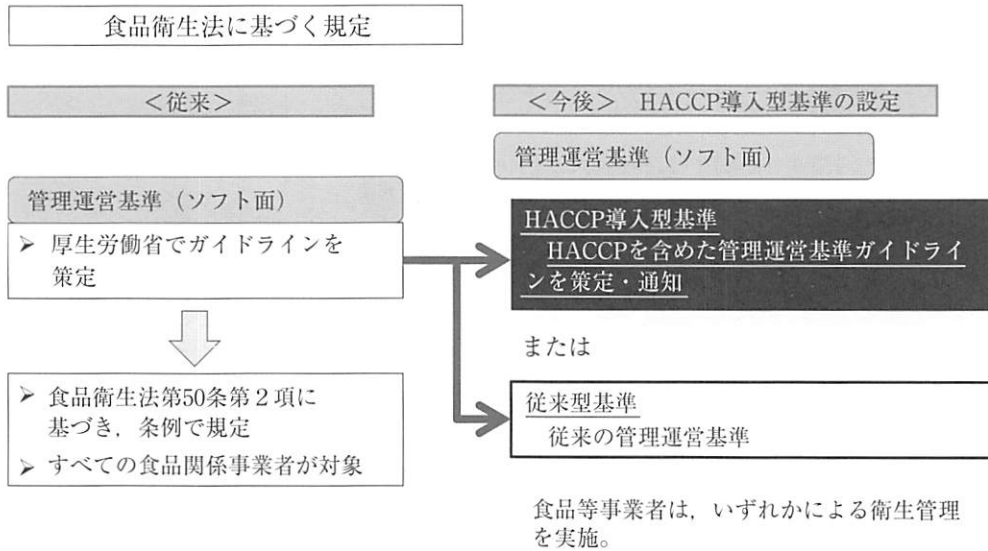


図4 HACCPによる衛生管理の基準の設定 (食品一般)

○我が国における食品等事業者の確実かつ効率的な衛生管理等を可能にするためには、HACCPによる衛生管理の普及が必須となっている。食品等事業者の大宗は中小事業者であり、中小事業者における取組の促進が重要な課題となっている。

○平成25年12月の「中間取りまとめ」を踏まえ、国では関係省令を改正しHACCPに基づく衛生管理を規定するとともに、自治体においても同様の条例改正が進められている。これらの進捗も踏まえながら、さらなる普及方策を検討してきた。

○HACCPの本質は、事業者の自主的な衛生管理が継続的に実施されることである。コーデックス委員会(※)が推奨するHACCPの7原則12手順に従い、中小事業者も含め事業者が自ら衛生管理の取組状況を確認する「自主点検」を推進するための環境整備を進めるため、行政、食品等事業者、学識経験者、関係団体、消費者団体等が連携して、さらなる普及方策を推進していくべきである。

(※) 国際連合食糧農業機関 (FAO) 及び世界保健機関 (WHO) により設置された国際的な政府間組織

具体的な普及方策

(1) HACCP導入に前向きな事業者やニーズが高い業種に対する助言等の支援

- 「HACCP自主点検票」の作成と活用促進
- 事業者の現場で活用可能な様式や手引き等のさらなる充実
- HACCPの指導者育成、事業者への派遣・導入支援を行う「人材バンク事業」(仮称)の実施
- HACCP導入状況の継続的な把握

(2) 消費者や流通・販売業界も含め、HACCPに対する本質的な理解・関心の醸成

- HACCPの7原則12手順に関するリーフレットや動画等を作成し、関係団体等と連携して、積極的な周知を実施
- 事業者向け講習会や、HACCPに関する統一的な指導・助言が行われるよう自治体の食品衛生監視員等への講習会を実施
- 「HACCP自主点検票」を使用したHACCPの取組についてアピールできるロゴマークの作成・活用を慎重に検討

(3) コーデックスの柔軟性の考え方も踏まえた、事業者の導入負担の軽減

- HACCP導入の心理的ハードル解消のため、具体的な導入事例の動画等について、引き続き積極的に周知
- 中小事業者等のHACCP導入の成功事例を全国的に普及するため、「地域連携HACCP導入実証事業」(モデル事業)を実施

(4) HACCP導入の取組に関する認知度向上のための支援

- HACCPの導入効果、実証事業による導入事例等について、一元的に情報を入手することができるWebサイトを構築
- HACCPの「自主点検」を行った事業者名や取組方針等を公表、アピールを後押しする「HACCPチャレンジ事業」(仮称)を実施
- 「HACCP自主点検票」を使用したHACCPの取組についてアピールできるロゴマークの作成・活用を慎重に検討(再掲)

(5) 食品産業全体での推進の必要性

- 国(厚生労働省、地方厚生局等)、自治体、食品関係団体、事業者団体、消費者団体等が情報交換、意見交換等を行う場として「HACCP普及推進連絡協議会」(仮称)を、国・地方ブロックごとに設置(HACCPに関する認識の共通化等を推進するとともに、普及施策に関する現場ニーズの把握、地域における普及状況のフォローアップ、実証事業等で蓄積される導入事例の共有等を行う)

将来的なHACCPによる衛生管理の義務化を見据え、我が国において中小事業者も含めHACCPが当たり前を実施されるものになることを目指して、関係者における取組みが推進されることを期待する。

図5 我が国におけるHACCPの更なる普及方策について (提言)
～中小事業者も含めHACCP「自主点検」を推進するための環境整備～

1. 食品等事業者に対する助言等の支援

これまで作成してきた、事業者が活用できる手引書や各種様式等を引き続き業種毎に作成していくのに加え、事業者が段階的にHACCP導入に取り組むためのツールとして、「HACCP自主点検票」を作成した。また、食品関係団体を中心となって国や自治体と連携しながら、事業者がHACCP導入に際して活用できる専門家を育成する。

2. HACCPに対する本質的な理解・関心の醸成のための支援

コーデックスが示すHACCPの7原則12手順について正しい理解が促進されるよう引き続き周知に努めるほか、食品等事業者や食品衛生監視員等に対して、手引書等を活用した講習会を実施する。

3. HACCP適用の柔軟性も踏まえた事業者の導入負担軽減のための支援

HACCPは「難しい」、「導入コストが高い」といったHACCP導入の心理的ハードルを乗り越え、中小事業者等においても実施可能なものとしてのイメージをもってもらえるよう、HACCP導入のための動画等について引き続き周知する。また、コーデックスの柔軟性の考え方(外部専門家の活用、類似製品をグループ化した製品説明書等の作成、既存の文書を活用した記録等)も踏まえたHACCP導入事例を積み重ね、それを全国に普及するため、自治体が食品関係団体等と連携して、事業者が主体的にHACCPを導入する過程を実証する事業(モデル事業)を実施する。なお、柔軟性とはあくまでもHACCPの適用の方法に関してであって、HACCPの基準、すなわち7原則を曲げるものではない。また、食品等事業者がHACCPに取り組みやすいよう、今回のガイドライン等の改正の運用上の留意事項として、同一施設で複数の製造ラインを有する場合等で一斉に導入が困難な場合には、ライン毎に段階的にHACCP導入を進めていくことが望ましいことなど、柔軟な運用について通知している。

4. HACCPの取組みに関する認知度向上のための支援

食品事業者が取引先から衛生管理の実施状況について説明を求められる場合があること、また、HACCPの手順に沿って段階毎に何をすべきかをわかりやすく示して欲しいといった声もあることを踏まえ、事業者によるHACCPの自主点検を推進するため、自主点検票を活用

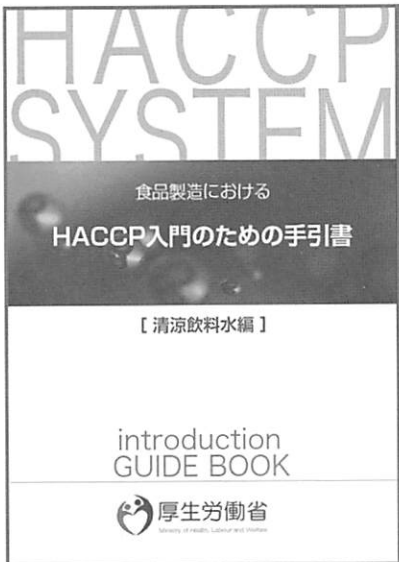
してHACCPの自主点検を実施した事業者の名称や取組状況等についてウェブサイト上で公表する事業(HACCPチャレンジ事業(仮称))を実施する。

5. 食品産業全体での推進のための支援

食品産業全体でのHACCPの普及推進のため、行政(国、自治体)、事業者(食品関係団体、事業者団体)、消費者団体等が情報交換、意見交換を行う場(HACCP普及推進連絡協議会(仮称))を国、地方ブロックごとに設ける。こうした場を活用してHACCPの適切な運用確保や各種支援ツールの内容の整合性確保を図るとともに、関係者が連携してHACCP普及の推進に努める。

今後の取組み

今後、提言されたHACCP普及のための各施策を実行に移していくこととなる。こうした取組みを通じてHACCPは決して難しいものではなく、身近な存在として感じてもらうことこそがHACCP普及のポイントであると考えている。そのためには、食品製造事業者だけでなく、流通や販売事業者、消費者等、社会全体でHACCPに対する理解が深まり、HACCPの取組みが正しく理解、評価されるよう普及啓発にも取り組んでいく必要がある。また、農畜水産物の生産段階等、フードチェーンの上流や流通・販売の下流にもHACCPによる衛生管理の環を広げることも重要であり、食品産業全体でHACCPに取り組むことが重要である。



- ▼乳・乳製品編
- ▼と畜・食肉処理編
- ▼容器包装詰加圧加熱殺菌食品
- ▼清涼飲料水編
- ▼大量調理施設編
- ▼食鳥処理・食鳥肉処理編
- ▼食肉製品編
- ▼水産加工食品編



HACCP導入を検討している事業者向けにHACCPの概要と導入手順について事例を交えながら紹介。YouTubeで無料配信。

図6 HACCP入門のための手引書・動画

おわりに

平成25年末に「和食」がユネスコの無形文化遺産に登録され、2020年には東京オリンピックの開催を控え、今後ますます日本の食品や食材に注目が集まることが期待される。日本の食品が世界中で信頼を獲得し続けるためにも、近い将来、国際標準であるHACCPによる衛生管理が日本の食品製造等の現場で当たり前となることを目指してHACCPの普及に取り組んでいきたい。関係者のご理解とご支援を引き続きお願いする次第である。

なお、手引書や動画（図6）、その他の参考資料等、HACCPに関する情報については、厚生労働省のホームページ

(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/haccp/index.html) をご参照いただきたい。

文 献

- 1) Codex : Guidelines for the Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System, CAC/GL 18-1993
- 2) 農水省：平成25年度食品製造業におけるHACCP手法の導入状況実態調査 (http://www.maff.go.jp/j/shokusan/sanki/haccp/pdf/25_haccp_kouhyou.pdf)
- 3) 日本再興戦略 (2013年, 2014年改訂) (http://www.kantei.go.jp/jp/singi/keizaisaisei/pdf/saikou_jpn.pdf)

リンゴ果実の微生物的腐敗防止のための
ニンニク抽出物とクローブ精油処理効果

DANIEL, C.K., et al.: *Postharvest Biol. Technol.*, **99**, 88~92 (2015)

3品種のリンゴ果実の微生物腐敗 (*in vivo*接種) に対するニンニク抽出物 (50か40%) とクローブ精油 (1%) あるいは両者の併用の処理効果を調べた。治癒効果を調べるためには殺菌した果実の表皮に人為的にポトリティスやペニシリウム等を摂取後に抽出物等の処理を行い、20℃で7日間の保存後に制菌効果を調べ、防御効果を調べるために処理後に菌を接種して同期間の保存後の制菌効果を調べた。3品種共にポトリティスとペニシリウムに対する治癒効果が顕著であり、単独あるいは併用でも治癒効果の差異は少なかった。3品種共に併用による防御効果はポトリティスでのみみられたが、微生物の成育に対する防御効果は小さかった。治癒効果がみられたことは、抽出物と精油には殺菌作用があることを明らかにした。

(阿部一博)

カットしたアーティチョークの褐変防止：
大豆タンパク質由来被膜処理とMA包装の効果

GHIDELLI, C., et al.: *Postharvest Biol. Technol.*, **99**, 105~113 (2015)

カットしたアーティチョーク (可食部のみを5mmの厚さでスライス) の褐変防止効果を、大豆タンパク質由来の可食性被膜剤あるいはそれにシステインを添加した被膜剤処理 (被膜剤の水溶液に浸漬処理) ならびにMA包装 (O₂5 kPa+CO₂15kPaあるいはO₂80 kPa) の併用で調べた (5℃貯蔵中)。可食性被膜剤のみでは褐変抑制効果は少なかったが、可食性被膜剤に0.3g/100mlのシステインを添加することで、処理後の貯蔵中の切片の酵素的褐変 (L*値の減少とa*値の上昇抑制) を顕著に抑制したので、異臭を発生することなく、商品性保持期間を4日間延長できた。MA包装との併用は抗酸化物の維持には効果がみられたが、切片の褐変防止には明らかな効果は示さなかった。

(阿部一博)

ジアシルグリセロールと
トリアシルグリセロールの酸化安定性比較

JIN, F., et al.: *Journal of Food Science*, **80** (3), C510~C514 (2015)

ジアシルグリセロール (DAG) とトリアシルグリセロール (TAG) の酸化安定性を比較するため、大豆油 (SSBO) とジアシルグリセロール除去した大豆油 (SOD) を暗所で60℃、144時間保管した。保管中アルデヒドを含む過酸化物価 (POVs), 不飽和脂肪酸を測定した。結果C18:2, C18:3および不飽和脂肪酸はSSBOよりもDAGがより速く減少した。C18:1の減少率は差がなかった。POVと総アルデヒドから速度定数が算出され、DAGはSSBOより速く酸化され、アシルグリセロール構成の異なる油でC18:3が多く含まれることが主な原因であった。結論として、DAGがより容易に暗所で60℃、144時間においてSSBOよりも酸化された。

(塩野弘二)

サルビア・オフィシナリスの
高濃度ロスマリン酸抽出の抗酸化活性と官能評価

BAKOTA, E.L., et al.: *Journal of Food Science*, **80** (4), C711~C717 (2015)

サルビアオフィシナリスの抽出物を熱水抽出し、超臨界二酸化炭素 (SC-CO₂) 抽出を使用して調製した。結果、抽出物は、哺乳類で健康効果が期待されているロスマリン酸 (RA) を含むポリフェノールを豊富に含んでいた。抽出物のRAは、28.4mg/gであった。この抽出物は、脂質抗酸化剤の供給源として水中油型エマルジョン中に組み込まれ、純粋ロスマリン酸を含有するエマルジョンと比較した。茶抽出物は製剤中に訓練を受けた官能パネルにより評価した。両方の治療は脂質酸化を抑制するのに有効であった。この抽出物は茶の配合において訓練を受けた官能パネルリストにより評価した。抽出物処理および対照試料を識別した場合、パネルリストはお茶でこの抽出物の高い受容性を示した。

(塩野弘二)

高圧処理による筋原線維タンパク質の
構造特徴におけるキサンタンガムの影響

VILLAMONTE, G., et al.: *Journal of Food Science*, **80** (3), C522~C531 (2015)

高圧 (200~600MPa, 6分) 処理でキサンタンガムが筋原線維タンパク質の構造修飾に与える影響を解析した。二次構造および三次構造の変化は、円偏光二色性によって分析した。タンパク質の変性はDSCにより評価し、タンパク質の表面疎水性および筋原線維タンパク質の溶解度を測定した。600MPaの圧力処理により、タンパク質の二次構造の α ヘリックスの減少および β シートの増加がみられた。しかし、キサンタンガム存在下ではその変化が少なかった。結果として、キサンタンガム存在下で高圧処理した筋原線維タンパク質は、キサンタンガムなし高圧処理 (600 MPa) とは対照的に400 MPaから溶解度が増加した。さらに、高圧処理した筋原線維タンパク質の表面疎水性は、キサンタンガムの存在下で増強された。これらの効果は高圧レベルで、筋原線維タンパク質のアンフォールディングが要因であるだろう。

(塩野弘二)

純粋な柿渋の物理学的特徴：栄養品質および官能

GONZALEZ, E., et al.: *Journal of Food Science*, **80**(3), C532~C539 (2015)

脱渋柿果汁の製造過程を示した。柿の熟成度合いはカラーインデックスで評価し、12.37から16.33の間で変動した。柿果汁は、総可溶性固形物、pH、滴定酸度、有機酸および糖のような物理化学的パラメータとした。10秒間90℃の熱処理が可溶性茶色素 (BPs) および5-ヒドロキシメチルフルフラール (5-HMF)、総フェノール化合物の産生に影響を与えることなく、少なくとも貯蔵105日間、天然に存在する微生物を制御するのに有効だった。保存期間中に、BPs、TPCおよび抗酸化能は減少したが、5-HMFは増加した。パネルリストによる官能試験でも受け入れられ、冷蔵保存にも対応した。

(塩野弘二)

第5回(平成28年度)三島海雲学術賞推薦募集【自然科学部門】

公益財団法人三島海雲記念財団より、本学会に対し、下記候補者の推薦依頼がありました。本件への応募を希望する会員の方は、下記の要領に従い手続きをして下さい。

(公財)三島海雲記念財団では、自然科学および人文科学の学術研究領域において、とりわけ、創造性に富み優れた研究能力を有する若手研究者を顕彰し、その研究の発展を支援していくことを目的とした表彰事業を行っており、下記のとおり第5回三島海雲学術賞の募集を行います。

1. 対象分野

自然科学部門 食の科学に関する研究

2. 顕 彰

- 1) 賞状ならびに副賞(200万円/1件あたり)
- 2) 件数: 2件以内 選考の結果、該当者なしの場合もあり

3. 候補者の資格

国内外の学術誌等に公表された論文、著者、その他研究業績により独創的で発展性のある顕著な業績を挙げている者のうち、下記の条件を満たす若手研究者。

- 1) 45歳未満の者(平成28年4月1日現在)
- 2) 日本在住の研究者(国籍は問いません)
海外在住の日本人研究者(日本国籍を有するもの)

4. 推薦方法

三島海雲財団のホームページより推薦書(word形式)をダウンロードし、必要事項を記入の上、学会事務局までメールにてお送りください。

授賞選考委員会で選考致します。

5. 提出期限

平成27年7月31日(金)

なお、学会から推薦された場合、三島海雲記念財団より候補者宛に「候補者申請書」提出の直接依頼がありません。

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（役員を選出） 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（役員の仕事） 本学会の役員の仕事は次の通りとする。
- (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（役員任期） 役員任期は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、A4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A4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1 UPAC（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 outerpericarp, *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 投稿は本学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、本学会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学会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3号 平成27年5月29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)

原 稿 送 状

発送年月日 年 月 日	原稿種別： 報 文 研究ノート 技術報告 資 料 情 報 総 説							
表 題 ランニングタイトル (15字以内)								
著 者 氏 名 所 属 機 関 所 在 地 〒								
表 題 (英文)								
著 者 氏 名 (英文) 所 属 機 関 (英文) 所 在 地 (英文)								
連 絡 先	所在地 〒 所 属 氏 名 E-mail				TEL. FAX.	原 稿 枚 数	本 文 英 文 要 旨 同 和 訳 原 図 ・ 写 真 図 説 明 原 稿 表	枚 枚 枚 枚 枚
別 刷	部	受付番号	受付年月日	年 月 日 ()				
備 考								

・太線内は全て御記入下さい。 ・英文はワープロソフトを使用し御記入下さい。
 ・コピーしてお使い下さい。