

低, 常温下におけるカキ‘富有’果実の軟化と抗酸化レベルの変化

李 進才**・前澤重禮*

岐阜大学農学部 501-1193 岐阜市柳戸

Changes in Fruit Softening and Antioxidative Levels of Japanese Persimmon
‘Fuyu’ Stored at Different Temperatures

Jincai Li** and Shigenori Maezawa*

Faculty of Agriculture, Gifu University, Yanagido, Gifu 501-1193

Summary

The fruits of a Japanese persimmon ‘Fuyu’ were preserved at low (5°C) and normal temperature (20°C) for 30 days, and relations between change in fruit firmness and changes in respiration rate, ethylene production rate, weight reduction rate and antioxidative levels were investigated. During storage at normal temperature, with decreasing the fruit firmness, the activity of antioxidative enzymes, such as superoxide dismutase, catalase and peroxidase, respiration rate, ethylene production rate and weight reduction ratio increased, and the concentration of ascorbic acid decreased. At low-temperature storage, activities of catalase and peroxidase decreased until the 10th day and thereafter increased and that of ascorbate peroxidase gradually increased. The concentration of ascorbic acid did not decrease until the 15th day. These findings suggest that the antioxidative level of the Japanese persimmon ‘Fuyu’ fruits is closely related with softening and that the relationship of active oxygen to the process of softening under low and normal temperature might be different.

キーワード: カキ, 果実軟化, 抗酸化レベル, 貯蔵温度

緒 言

収穫後のカキ‘富有’果実は貯蔵, 流通の経過において次第に軟化し, 商品価値が低下していく。カキ果実の軟化には, 呼吸速度, エチレン生成および水分損失などの生理変化が関与することが知られている(高田, 1983; 中野ら, 2001a; Tsuchidaら, 2003)。一方, 活性酸素を介する脂質の過酸化は膜分解の主な原因であり(Dhindsaら, 1981; Thompsonら, 1987), 膜機能の損失は植物組織の老化の特徴とされる(Paliyath・Droillard, 1992)。モモ(呉ら, 2001), リンゴ(De Pooter・Schamp, 1989)およびトマト(Todd・Paliyath, 1990)などでは, 脂質の過酸化を触媒するLipoxygenase活性の上昇はエチレン生成, 果実の成熟・軟化に関与することが報告されている。これらのことから, カキ果実の軟化においても活性酸素の関与が考えられる。活性酸素は常に植物細胞内で存在しているが, 低温度ストレスや老化などにより, そのレ

ベルが変化し, それを消去する抗酸化酵素活性および抗酸化物質含量も変化する(Dhindsaら, 1981; Imahoriら, 2000, 李・松井, 2001; 李ら, 2003; 李ら, 2004)。

本研究は, カキ‘富有’果実の軟化メカニズムに関する知見を得る目的で, 低温および常温下に果実を貯蔵し, 軟化に伴う呼吸速度, エチレン生成および減量率の変化とともに, 抗酸化酵素のスーパーオキシドジスムターゼ(SOD), カタラーゼ(CAT), アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)とペルオキシダーゼ(POX)活性, 抗酸化物質の還元型アスコルビン酸(AsA)含量の変化を調べた。

材料および方法

11月13日に収穫したカキ‘富有’果実を, 5°C(低温区)および20°C(常温区)に設定したインキュベータに静置した。インキュベータ内の湿度は制御せず, 両温度区ともに相対湿度99%であった。貯蔵開始から5日ごとに果肉硬度を測定した。硬度の測定は, 果実赤道部において果皮から5mm下部の果肉組織を7mm切りだし, 果実硬度計を用い, 直径5mmの円筒状プランジャーが貫通するときの応力を測った。硬度測定と同時に呼吸速度, エチレン生成および減量率を測定した。硬度測定用の果肉を抗酸化酵素活性とAsA含量の分析用試料として2gずつサンプリングし, 液体窒素で凍結後-30°Cに保存した。呼吸

2003年10月24日 受付, 2004年3月25日 受理。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金(特別研究員奨励費)(No. 01316)の助成によって行われた。

本報告の一部は園芸学会平成15年度春季大会で発表した。

* Corresponding author. E-mail: maezawa@cc.gifu-u.ac.jp

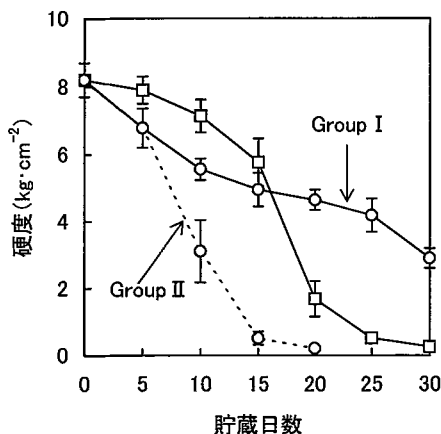
** 日本学術振興会外国人特別研究員

反応に伴う二酸化炭素の排出速度(呼吸速度)とエチレン生成の測定は中野ら(2001b, 2002)の方法に従い, 低, 常温区についてそれぞれ5果実を1.7 literの密封容器に入れ, 20分間おきに容器内の気体をガスクロマトグラフィーで分析し, 実験期間中, 同じ果実個体について測定した。その後, 各果実の重さを測定し, 収穫時および測定時の果実重から減量率を算出した。抗酸化酵素活性はサンプリングした果肉の凍結試料について, 4℃の低温条件下において50 mMリン酸緩衝液(pH 7.0, 3 mM EDTAと0.5% (W/V)ポリビニルポリピロリドン含有)で調製後, 直ちに測定した。SOD, CATおよびAPXは李・松井(2001)の方法に, POXは趙ら(2003)の方法に従った。AsA含量はヒドラジン比色法(Roeら, 1948)により定量した。

結 果

1. 硬度

低, 常温貯蔵中の果実硬度の変化を第1図に示した。両温度区ともに貯蔵日数の経過に伴い低下した。常温区においては貯蔵10日目以降, 硬度の低下速度の違いにより



第1図 低温(5℃: □)および常温(20℃: ○)貯蔵中におけるカキ‘富有’果実の果肉硬度の変化。図中の縦棒は標準誤差を示す(n=5)

二つのグループに分類された。Group I (全体の約80%)は貯蔵10日目から25日目までの硬度低下は緩やかであったが, Group II (全体の約20%)は貯蔵5日目から15日目にかけて急速に低下した。低温区では貯蔵10日目までは常温区より高い値で推移し, 貯蔵15日目から20日目にかけて急速に低下した。

2. 呼吸速度, エチレン生成および減量率

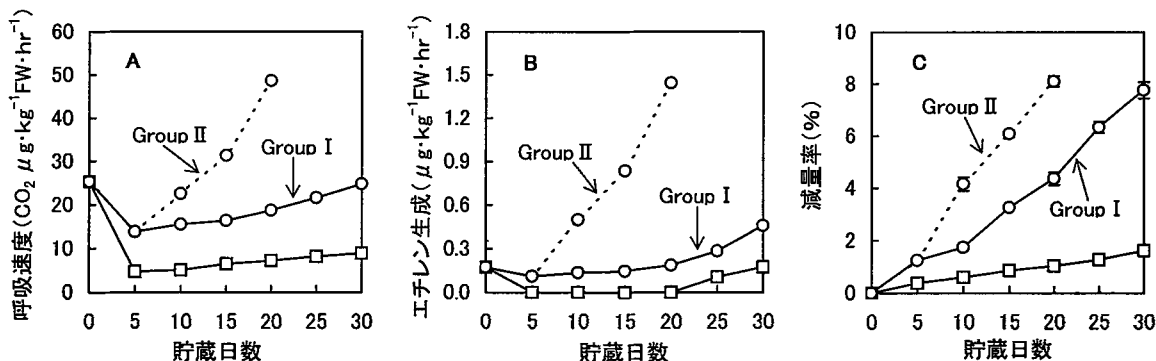
貯蔵中における果実の呼吸速度, エチレン生成および減量率の変化を第2図に示した。呼吸速度は軟化が急速に進行した常温区のGroup IIで著しく上昇したが, 軟化が緩やかなGroup Iでは漸次上昇する傾向がみられた。低温区の呼吸速度は常温区より低く推移した。エチレン生成は, 常温区では両グループともに呼吸速度と同様の变化を示し, 低温区では貯蔵20日目までは検出されず, その後増加した。減量率は, 常温区でGroup IIがGroup Iに比べより大きく増大し, 低温区の増大は少なかった。

3. SOD, CAT, APXとPOX活性

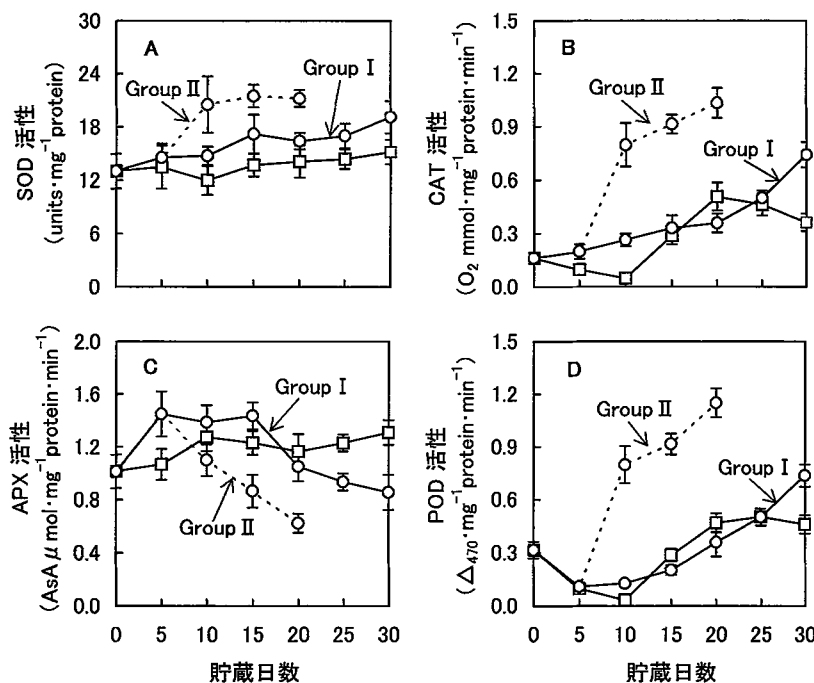
4種の抗酸化酵素活性の変化を第3図に示した。SOD活性は, 常温区においてGroup Iが貯蔵開始から30日まで漸次上昇したのに対し, Group IIは5日目以降に大きく上昇した。一方, 低温区では微増した。CAT活性は常温区でSODとほぼ同様の变化を示し, 低温区では10日目までは減少し, その後20日目にかけて上昇した。APX活性は常温区で5日目までは上昇したが, その後, Group IIで大きく低下し, Group Iでは15日目以降に低下した。一方, 低温区では貯蔵終了まで緩やかな上昇傾向を示した。POX活性は両温度区ともCAT活性と同様の变化を示した。

4. AsA含量

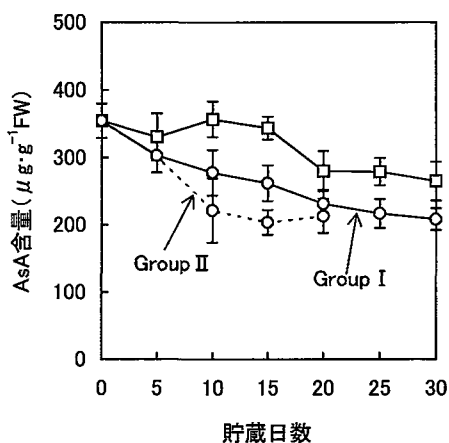
AsA含量の変化を第4図に示した。両温度区とも貯蔵開始から減少し, 常温区のGroup IIの低下はGroup Iより大きかった。一方, 低温区では15日目以降に減少する傾向を示したが, 常温区より高い値を示した。



第2図 低温(5℃: □)および常温(20℃: ○)貯蔵中におけるカキ‘富有’果実の呼吸速度(A), エチレン生成(B)および減量率(C)の変化。図C中の縦棒は標準誤差を示す(n=5)



第3図 低温(5°C:□)および常温(20°C:○)貯蔵中におけるカキ‘富有’果実のスーパーオキシドジスムターゼ(SOD, A), カタラーゼ(CAT, B), アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX, C)とペルオキシダーゼ(POX, D)活性の変化. 図中の縦棒は標準誤差を示す(n=4)



第4図 低温(5°C:□)および常温(20°C:○)貯蔵中におけるカキ‘富有’果実の還元型アスコルビン酸(AsA)含量の変化. 図中の縦棒は標準誤差を示す(n=4)

考 察

本研究の常温区では、軟化が緩やかな果実(Group I, 約80%)と急速な果実(Group II, 約20%)が観察された. 石丸ら(2002)もカキ‘富有’果実を20°Cで30日間貯蔵すると、一部(約20%)の果実において軟化がより速く進行することを報告している. さらに、渋ガキにおいても軟化進行の個体差が報告されており、水分ストレスの関与が示唆されている(播磨ら, 2001; 中野ら, 2001a).

カキ果実の軟化に関与する要因として、これまでに呼吸速度、エチレン生成および減量率の上昇が挙げられている(高田, 1983; 中野ら, 2001a; Tsuchidaら, 2003).

本研究においても第1図および第2図において常温区のGroup IとGroup IIの比較、そして常温区Group IIと低温区の比較から、果肉硬度の経時的低下には、呼吸速度、エチレン生成および減量率の上昇が深く関与していることが示された. しかし、貯蔵15日目以降において、常温区Group Iの果肉硬度は低温区よりも高い値を維持したにも関わらず(第1図)、Group Iの呼吸速度、エチレン生成および減量率は、低温区よりも明らかに高い値で推移した(第2図). これらの結果は、カキ‘富有’果実の軟化と呼吸速度、エチレン生成および減量率との関連性は常温区Group Iと低温区とは異なることを示唆している.

植物細胞内では、活性酸素のスーパーオキシド(O_2^-)や過酸化水素(H_2O_2)は常に生成しており、SODは O_2^- の消去に、CATは H_2O_2 の消去に働き、APXはAsAを、POXはフェノール類などの化合物を利用して H_2O_2 を消去する. O_2^- と H_2O_2 はHaber-Weiss反応やFenton反応によって脂質などとの反応性が高いヒドロキシルラジカル($\cdot\text{OH}$)や1重項酸素($^1\text{O}_2$)を生成し、膜脂質の過酸化などをもたらす. 本研究において、貯蔵開始から軟化し始めた常温区では、SOD, CATおよびPOX活性とも果実硬度の低下につれて上昇し、軟化の速いGroup IIの方が活性の上昇は急激であった. そして、常温区のAPX活性は貯蔵開始5日目までは上昇したが、Group Iで貯蔵5日目から、Group IIでは15日目以降に低下した. 一方、低温区においては軟化が急激に進行し始める貯蔵10日目までは、CATおよびPOX活性は低下し、その後は上昇したが、APX活性は貯蔵開始から上昇傾向を示した. 以

上の結果から、カキ‘富有’果実の抗酸化酵素は生成した活性酸素を消去するために活性を積極的に上昇させると推測される。しかし、軟化進行中に抗酸化酵素活性が上昇しても大量に生成した活性酸素の一部は消去されずに膜脂質などに損害を及ぼし、果実軟化を促進させると推測される。このようなことは、ピーマン果実 (Imahoriら, 2000) やブロッコリー花らい (李ら, 2004) の老化過程でも観察されている。

AsA は細胞内で活性酸素を捕捉して脂質の過酸化を抑制すると共に、特異的電子供与体として APX 活性の維持に関与している (二木, 1988; 重岡, 1999)。本研究において AsA 含量が貯蔵温度の影響を大きく受け、常温区では果実硬度の低下とともに減少し、Group I および II の APX 活性は、AsA 含量が約 $230 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ 以下になった時点から低下に転じた。これらの結果から、カキ‘富有’果実では AsA 含量が低下して APX 活性を維持することができなくなり、消去されなかった活性酸素が膜構造を破壊して軟化を誘起していると推測される。

摘 要

カキ‘富有’の果実を低温 5°C 、常温 20°C に 30 日間貯蔵し、果肉硬度の変化と呼吸速度、エチレン生成、減量率および抗酸化レベルの変化の関連性を調べた。常温貯蔵中、果実の軟化に伴い、抗酸化酵素のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、カタラーゼ (CAT)、ペルオキシダーゼ (POX) の活性と呼吸速度、エチレン生成および減量率が上昇し、抗酸化物質の還元型アスコルビン酸 (AsA) 含量は減少した。一方、低温貯蔵中においては、CAT および POX 活性は 10 日目までは減少したが、その後増加し、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) 活性は徐々に増加した。また AsA は貯蔵 15 日目までは大きく減少することはなかった。これらの結果から、カキ‘富有’果実の軟化に抗酸化機能が関与していると考えられるが、活性酸素の軟化過程への関与は常温と低温において異なることが示唆された。

引用文献

- De Pooter, H. L., N. M. Schamp. 1989. Involvement of lipoxygenase-mediated lipid catabolism in the start of the autocatalytic ethylene production by apples (cv. Golden Delicious): A ripening hypothesis. *Acta Horticulture* 258: 47-53.
- Dhindsa, R. S., P. Plumb-Dhindsa and T. A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 93-101.
- 播磨真志・中野龍平・山本貴司・小松英雄・藤本欣司・北野欣信・久保康隆・稲葉昭次・富田栄一. 2001. カキ‘刀根早生’促成栽培果実の収穫後の軟化発生. *園学雑*. 70: 251-257.
- Imahori, Y., Y. Kanetsune, Y. Ueda and K. Chachin. 2000. Changes in hydrogen peroxide content and antioxidative enzyme activities during the maturation of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 69: 690-695.
- 石丸 恵・茶珍和雄・和田安規・上田悦範. 2002. ‘平核無’と‘富有’カキ果実のペクチン質およびヘミセルロースの変化と軟化との関係. *日食保蔵誌*. 28: 119-125.
- 李 進才・松井 鑄一郎. 2001. 低温処理が *Cattleya* と *Cymbidium* 葉の抗酸化酵素活性に及ぼす影響. *園学雑*. 70: 360-365.
- 李 進才・趙 習コウ・松井 鑄一郎・前澤重禮. 2003. 低温順化した *Cattleya* と *Cymbidium* 葉の過酸化水素含量および抗酸化酵素活性の低温処理による変動. *園学研*. 2: 205-208.
- 李 進才・前澤重禮・中野浩平. 2004. 異なる貯蔵温度下におけるブロッコリー花らいの抗酸化酵素活性および抗酸化物質含量と老化との相関性. *園学雑*. 73: 399-403.
- 中野龍平・播磨真志・久保康隆・稲葉昭次. 2001a. 有孔ポリエチレン包装によるカキ‘刀根早生’ハウス促成栽培果実の軟化抑制. *園学雑*. 70: 385-392.
- 中野浩平・中村宣貴・椎名武夫・前澤重禮. 2001b. 修正ガス環境下におけるエダマメの呼吸速度予測モデル. *農機誌*. 63(6): 73-78.
- 中野浩平・中村宣貴・椎名武夫・前澤重禮. 2002. 酸素濃度の急減に伴うエダマメおよびミニトマトの呼吸活性とエチレン生成の応答. *園学雑*. 71: 710-715.
- 二木 鋭雄. 1988. 活性酸素の消去・低分子化合物・アスコルビン酸・グルタチオン. p. 321-326. 中野 稔・浅田浩二・大柳善彦編. 活性酸素—生物での生成・消去・作用の分子機構. 共立出版社. 東京.
- Paliyath, G. and M. J. Droillard. 1992. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence. *Plant Physiol.* 30: 789-812.
- Roe, J. H., B. M. Mary, M. J. Oesterling and M. D. Charlottle. 1948. The determination of diketo-L-gulonic acid, dehydro-L-ascorbic acid, and L-ascorbic acid in the same tissues by 2,4-dinitrophenyl hydrazine method. *J. Biol. Chem.* 174: 201-208.
- 重岡 成. 1999. 植物のビタミン C の機能—アスコルビン酸ペルオキシダーゼの抗酸化機構—. *ビタミン* 73: 109-114.
- 高田峰雄. 1983. 種々の発育段階で採取したカキ果実の呼吸, エチレン生成及び成熟. *園学雑*. 52: 78-84.
- Thompson, J. E., R. L. Ledge and R. F. Barber. 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol.* 105: 317-344.

- Todd, J. F., G. Paliyath. 1990. Characteristics of a membrane-associated lipoxigenase in tomato fruit. *Plant Physiol.* 94: 1225–1232.
- Tsuchida, Y., N. Sakurai, K. Morinaga, Y. Koshita and T. Asakura. 2003. Effects of water loss of ‘Fuyu’ persimmon fruit on mesocarp cell wall composition and fruit softening. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72: 517–524.
- 吳 敏・陳 昆松・張 上隆・吳 平. 2001. 桃果実采後脂合活性和膜脂肪酸組分的變化. *園芸学報(中国)*. 28: 218–222.
- 趙 習コウ・李 進才・松井鑄一郎・前澤重禮. 2003. キュウリにおける節位の異なる葉の抗酸化レベル. *園学雑*. 72: 324–328.