

機関番号：24403
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008 ～ 2010
 課題番号：20580037
 研究課題名（和文） 短期間低酸素処理による青果物の品質保持効果とその機構解明に関する研究
 研究課題名（英文） Studies on keeping quality of fruits and vegetables and its mechanism in short-term low O₂ pretreatments
 研究代表者
 今堀 義洋（IMAHORI YOSHIHIRO）
 大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授
 研究者番号：40254437

研究成果の概要（和文）：短期間低酸素処理によりピーマン果実の呼吸活性が抑制されたのに対し、アルコール発酵代謝は活性化された。処理解除後もそれらの影響は維持され、ピーマン果実のアスコルビン酸代謝も活性化された。バナナ果実でも短期間低酸素処理で呼吸活性が抑制され、アルコール発酵代謝は活性化された。処理解除後は香气成分量やアルコールアシルトランスフェラーゼ活性の増加が抑制され、追熟の進展が遅延された。これらのことから、短期間低酸素処理が青果物の品質保持に効果があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Exposure of bell pepper fruits to low oxygen for several days followed by storage in air inhibited their respiration and induced their alcoholic fermentation and ascorbate metabolism. This procedure in banana fruits has also been shown to delay their ripening such as increases in respiratory activity and development of flavor and aroma. Results indicate that the short-time low O₂ pretreatments have been shown to be capable of maintaining quality and extending shelf life in fruits and vegetables.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：短期間低酸素処理、青果物、品質保持、呼吸活性、アルコール発酵代謝、アスコルビン酸代謝、香气生成

1. 研究開始当初の背景

(1) 低酸素条件で貯蔵した青果物を通常の大気条件に戻しても、低酸素による品質保持効果が維持され、品質を損ねることなく、貯蔵が可能であることが、バナナ果実(Low oxygen treatment for inhibition of decay and ripening in organic banana, Pesis, E., A. Copel, R. Ben-Arie, O. Feygenberg and Y.

Aharoni, Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 76, 648-652, 2001)などで報告されている。また、一時的な低酸素処理が低温障害などの生理障害の発生を軽減させる効果があることがアボカド果実(Prestorage low oxygen atmosphere treatment reduces chilling injury symptoms in 'Fuerte' avocado fruit, Pesis,

E., R. Marinansky, G. Zauberman and Y. Fuchs, HortScience, 29, 1042-1046, 1994) などで示されている。しかし、これら品質保持効果のメカニズムを詳しく調べられたものは少なく、まだ明確ではない。

(2) 低酸素濃度下で青果物のアルコール発酵が活性化することは従来から知られているが、植物分子生理学の研究で植物が低酸素などの環境ストレスを受けた場合、アルコール発酵とその生成物生成がシグナル伝達としての働きを示すことが報告されている (Strategies of gene action in *Arabidopsis* during hypoxia, Dolferus, R., M. Ellis, G. de Bruxelles, B. Trevasakis, F. Hoeren, E. S. Dennis and W. J. Peacock, Annals of Botany, 79, 21-31, 1997)。

(3) また、最近の研究では活性酸素種の一つである過酸化水素が植物の代謝におけるシグナル分子として注目されている。コムギやイネを用いた実験では低酸素環境ストレスを受けた場合に過酸化水素がシグナル分子として植物体に作用することも報告されている (Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cells, Blokhina, O. B., T. V. Chirkova and K. V. Fagerstedt, Journal of Experimental Botany, 52, 1179-1190, 2001)。

(4) さらに、高等植物を一時的に低酸素処理することで高等植物が嫌気環境に対して耐性を持つことが、トウモロコシ、コムギおよびイネで調べられており、これらの一連の研究報告は、本研究を進めていく上で参考となる。

(5) 低酸素環境が青果物に及ぼす影響については、アルコール発酵の様相と品質に関し、ピーマン果実 (Regulation of ethanolic fermentation in bell pepper fruit under low oxygen stress, Imahori, Y., M. Kota, Y. Ueda and K. Chachin, Postharvest Biology and Technology, 25, 159-167, 2002)、ナシ果実 (Physiological responses and quality attributes of Japanese pear 'Kosui' fruit kept in low oxygen atmospheres, Imahori, Y., I. Kishioka, K. Uemura, H. Yoshioka, Y. Ueda, M. Ishimaru and K. Chachin, Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 77, 677-682, 2002) およびニラ (Physiological and quality responses of Chinese chive leaves to low oxygen Atmosphere, Imahori, Y., Y. Suzuki, K. Uemura, I. Kishioka, H. Fujiwara, Y. Ueda and K. Chachin, Postharvest Biology and Technology, 31, 295-303, 2004) などで、

過酸化水素の生成と消去については、ピーマン果実 (Changes in hydrogen peroxide content and antioxidative enzymes activities during the maturation of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit, Imahori, Y., Y. Kanetsune, Y. Ueda and K. Chachin, Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 69, 690-695, 2000) でそれぞれ基礎的データを収集している。

2. 研究の目的

(1) 青果物の品質保持方法としてCA (MA) 貯蔵が現在確立しており、広く実用化されている。この方法は貯蔵環境ガス濃度を低酸素濃度と高二酸化炭素濃度に変えることで、品質を保持する。低酸素濃度下では呼吸代謝の抑制、追熟の抑制、エチレン生成の抑制、クロロフィルの分解抑制などにより品質が保持されることはよく知られている。また、最近では低酸素処理後も低酸素処理の品質保持効果が持続され、CA (MA) 貯蔵を継続して行わなくても、品質を損ねることなく、貯蔵することが可能であることがいくつかの青果物で調べられてきた。また、一時的な低酸素処理が低温障害などの生理障害の発生を軽減させる効果があることも示されてきた。このように、短期間低酸素処理が、青果物の品質保持に有効であることが明らかになってきている。しかし、これら品質保持効果のメカニズムについてはその効果が充分期待されるのにもかかわらず、調べられた青果物の種類や数も限られており、不明な点も多く、まだ明確となっていない。

(2) そこで、本研究ではその品質保持効果を活用した品質保持技術の確立を目指して検討する。まず、既に基礎的データを収集しているピーマン果実をモデルに調査する。具体的には、短期間低酸素処理の適切な処理酸素濃度と処理期間を外観、内容成分の品質評価から明らかにする。そして、短期間低酸素処理に伴うピーマン果実のアルコール発酵の活性化とその生成物の変化を、また、過酸化水素の変化とその生成および消去に関する機構の活性化を調べる。

(3) 加えて、アルコール発酵生成物がどのようにピーマン果実の品質保持に作用するかを明らかにするために、ピーマン果実にアルコール発酵生成物を外的に処理して、生理的影響を調査する。

(4) 最近の植物分子生理学で高等植物の環境ストレスとシグナル分子との関係が詳細に検討されており、本研究も短期間低酸素処理がアルコール発酵や過酸化水素生成およ

び消去機構へどのように作用するのか解析していく。得た結果から実用面も考慮して、品質評価の結果と総合的に考察し、短期間低酸素処理の品質保持効果のメカニズムを明らかにしていく。

(5) 次に、ピーマン果実で得られた結果を品質効果があったと報告されている青果物をはじめとして他の青果物に短期間低酸素処理を行い、品質保持効果について同様に検証する。

3. 研究の方法

(1) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアルコール発酵代謝に及ぼす影響

① ピーマン果実を0および1% O_2 と空気を加湿して、通気しながら20°C暗所下で10日間貯蔵した。さらに、0および1% O_2 貯蔵の一部は貯蔵3日に空気に変更して貯蔵した。それら貯蔵中の呼吸活性およびアルコール発酵代謝の変化を調査した。呼吸活性は二酸化炭素排出量をガスクロマトグラフで測定した。アルコール発酵代謝は先ずアセトアルデヒドおよびエタノールについては果実組織をアセトンで抽出し、ガスクロマトグラフで測定した。次いで、ピルビン酸脱炭酸酵素およびアルコール脱水素酵素については果実組織を緩衝液で抽出し、活性変化を紫外可視分光光度計で測定した。

② さらに、低酸素処理期間の影響がないかどうか調査するために、ピーマン果実を0および1% O_2 と空気(無処理)を加湿して、通気しながらピーマン果実を20°C暗所で14日間貯蔵した。低酸素処理区は貯蔵7日で処理を解除して、空気下でさらに無処理と同様に7日間貯蔵した。それら貯蔵中のアルコール発酵代謝の変化を調査した。アルコール発酵代謝は先ずアセトアルデヒドおよびエタノールについては果実組織をアセトンで抽出し、ガスクロマトグラフで測定した。次いで、ピルビン酸脱炭酸酵素およびアルコール脱水素酵素について果実組織を緩衝液で抽出し、活性変化を紫外可視分光光度計で測定した。

(2) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアルコール脱水素酵素のアイソザイムに及ぼす影響

ピーマン果実を0および1% O_2 と空気を加湿して、通気しながら20°C暗所下で10日間貯蔵した。さらに、0および1% O_2 貯蔵の一部は貯蔵3日に空気に変更して貯蔵した。貯蔵中のアルコール脱水素酵素については果実組織を緩衝液で抽出した後、部分精製した酵素液をポリアクリルアミド電気泳動によりアイソザイムの様相を調べた。

(3) ピーマン果実組織切片へのアセトアルデヒドおよびエタノール添加がアルコール代謝に及ぼす影響

ピーマン果実の果皮を含む果肉組織の円筒状切片をコルクボーラーで調製し、0~100mMアセトアルデヒドおよび0~100mMエタノールを含む50mMリン酸緩衝液(pH7.0)中で30°C下24時間インキュベートした。それらインキュベート中のアルコール発酵代謝の変化を調査した。添加処理による障害発生程度をテトラゾリウムによる組織の健全性で調べた。切片組織中のアセトアルデヒドおよびエタノールについては果実組織をアセトンで抽出し、ガスクロマトグラフで測定した。

(4) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアスコルビン酸代謝に及ぼす影響

0および1% O_2 と空気を加湿して、通気しながらピーマン果実を20°C暗所で10日間貯蔵した。そのうち、低酸素処理は貯蔵3日に処理を解除し、空気下で貯蔵した。それら貯蔵中のアスコルビン酸代謝の変化を調査した。アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、酸化型アスコルビン酸還元酵素、モノデヒドロアスコルビン酸還元酵素、グルタチオン還元酵素およびカタラーゼについては果実組織を緩衝液で抽出し、活性変化を紫外可視分光光度計で測定した。

(5) 短期間低酸素処理がバナナ果実のアルコール発酵代謝および香気生成代謝に及ぼす影響

ピーマン以外の青果物として、0.5および2% O_2 と空気を加湿して通気しながらバナナ緑熟果を20°C暗所で7日間貯蔵した。その後、短期間低酸素処理を解除し、100ppmエチレン処理を24時間行った後、空気下で20°C暗所にさらに6日間貯蔵した。それら貯蔵中の呼吸活性、アルコール発酵代謝および香気生成代謝の変化を調査した。呼吸活性は二酸化炭素排出量をガスクロマトグラフで測定した。アルコール発酵代謝はアルコール脱水素酵素については果実組織を緩衝液で抽出し、活性変化を紫外可視分光光度計で測定した。香気生成代謝は香気成分をガスクロマトグラフで測定した。アルコールアシルトランスフェラーゼ活性は果実組織を緩衝液で抽出し、活性変化を紫外可視分光光度計で測定した。

4. 研究成果

(1) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアルコール発酵代謝に及ぼす影響

ピーマン果実の呼吸活性は空気下では貯蔵中一定レベルで推移したが、0および1% O_2 では抑制された。しかし、0および1% O_2 から空気に変更すると呼吸活性は貯蔵4日

には急激に増加し、1%O₂では空気下と同一レベルまでに回復して、その後そのレベルを維持した。また、0%O₂では空気下に比べて2倍となり、その後はそのレベルを維持した。アセトアルデヒド含量は1%O₂および空気下で貯蔵当初のレベルを維持し、1%O₂から空気に変更しても変わらなかった。一方、0%O₂下では増加したが、0%O₂から空気に変更すると急激に減少し、貯蔵10日で空気と同一レベルになった。エタノール含量は1%O₂および空気下で貯蔵当初のレベルを維持し、1%O₂から空気に変更しても変わらなかった。一方、0%O₂下では増加したが、0%O₂から空気に変更すると急激に減少し、貯蔵10日で空気と同一レベルとなった。ピルビン酸脱炭酸酵素の活性は、0%O₂および空気下で貯蔵当初のレベルを維持し、0%O₂から空気に変更しても変わらなかった。一方、1%O₂下では増加し、1%O₂から空気に変更しても同一のレベルを維持した。アルコール脱水素酵素の活性は、0%O₂および空気下で貯蔵当初のレベルを維持し、0%O₂から空気に変更しても変わらなかった。一方、1%O₂下では増加し、1%O₂から空気に変更しても同一レベルを維持した。

さらに、低酸素処理期間を3日間から7日間に、処理解除後期間を4日間から7日間にそれぞれ変えて調査したが、同様の傾向が得られた。

(2) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアルコール脱水素酵素のアイソザイムに及ぼす影響

アルコール脱水素酵素タンパクについて電気泳動した結果、ピーマン果実のアルコール脱水素酵素の電気泳動パターンでは1%O₂で最もバンドの数が多く、0および1%O₂から空気に変更するとそのバンドの濃さは濃くなった。1%O₂処理ではバンドが濃く現れたのに対し、0%O₂処理は無処理と同じように1%O₂処理に比べて、バンドの濃さは薄かった。低酸素処理解除後は、0および1%O₂処理ともに低酸素処理中と同様の濃さを維持した。これらの傾向は低酸素処理と同様であり、低酸素の処理期間は影響しなかった。

(3) ピーマン果実組織切片へのアセトアルデヒドおよびエタノール添加がアルコール代謝に及ぼす影響

テトラゾリウムによる組織の健全性をみるとアセトアルデヒド処理では50mM以上で、エタノール処理は750mM以上で組織に障害が発生し、アセトアルデヒド処理がエタノール処理よりも低濃度で障害発生が起こった。アセトアルデヒド処理ではインキュベート中アセトアルデヒド含量は変化がなかったのに対し、エタノール含量が増加する傾向で

あり、エタノール処理ではエタノール含量が変化しなかったのに対して、アセトアルデヒド含量が増える傾向であった。いずれの処理も処理濃度が高いほどその傾向は大きかった。

(4) 短期間低酸素処理がピーマン果実のアスコルビン酸代謝に及ぼす影響

ピーマン果実のアスコルビン酸ペルオキシダーゼは貯蔵3日に0および1%O₂から空気へ変更することで活性が増加した。カタラーゼは0%O₂から空気に変更しても空気と同様に貯蔵中変化がなかったが、1%O₂から空気に変更した場合には増加が認められた。グルタチオン還元酵素は1%O₂から空気に変更しても空気と同様に貯蔵中変化がなかったのに対し、0%O₂から空気に変更した場合には増加傾向であった。一方、酸化型アスコルビン酸還元酵素とモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素は、低酸素処理中および低酸素処理解除も空気下と活性の変化に差は認められなかった。

(5) 短期間低酸素処理がバナナ果実のアルコール発酵代謝および香气生成代謝に及ぼす影響

ピーマン以外の青果物として、0.5および2%O₂と空気を加湿して通気しながらバナナ緑熟果を20℃暗所で7日間貯蔵した。その後、短期間低酸素処理を解除し、100ppmエチレン処理を24時間行った後、空気下で20℃暗所にさらに6日間貯蔵した。低酸素処理期間中では0.5%O₂処理ではアルコール発酵が発達したのに対し、2%O₂処理と空気はあまり変化がなかった。しかし、いずれの処理も果皮色は緑色が維持され、低酸素障害の発生もなかった。低酸素処理解除後の追熟中では呼吸の生成ピークが0.5および2%O₂処理では空気と比べて出現が遅くなったが、生成量には差がなかった。また、香气成分量やアルコールアシルトランスフェラーゼ活性は0.5および2%O₂処理では空気と比べて少なく、果皮色の黄化の進行も空気下に比べて遅延された。バナナ緑熟果への0.5および2%O₂の短期間低酸素処理はその後の追熟の進展を遅延することがわかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Inahori, Y., Kota, M., Tanaka, H., The changes of ethanolic fermentation in bell pepper fruit during induction and recovery from low oxygen condition, Acta Horticulturae, 査読有, in press

〔学会発表〕(計1件)

Imahori, Y., Kota, M., Tanaka, H., The changes of ethanolic fermentation in bell pepper fruit during induction and recovery from low oxygen condition, 28th International Horticultural Congress, 平成22年8月23日, Lisbon Congress Centre, Portugal

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今堀 義洋 (IMAHORI YOSHIHIRO)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号: 40254437

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: