

果実の収穫後生理と冷温高湿貯蔵

田中 敬一*

Postharvest physiology of fruits and low temperature and high humidity storage

TANAKA Keiichi*

*National Institute of Fruit Tree Science
2-1 Fujimoto, Tsukuba, 305-8605

鮮度がよくて、美味しい果物を消費者に届けるにはどうしたらよいか。その一つの方向として、果実の老化遺伝子の発現を抑制する組換え体植物を利用した果実の鮮度保持技術の開発が進められている。しかし、研究が進展するにつれて果実の老化現象はDNAレベルでは説明できない複雑で高度な現象であることが明らかとなってきた。

一方、高次生体機能をもつ果実は、外的環境を素早く感知し、それらに反応して成熟・老化を調節する高度な能力を備えていると考えられている。すなわち、果実をとりまく環境因子の変化はシグナルとして受容体に受容され、細胞内のシグナル伝達物質に変換され、さまざまな生理反応を誘起する。このシグナルの受容から生理的応答反応に至る過程はシグナルトランスダクションと呼ばれており、遺伝子の発現を伴う経路と伴わない経路とが知られている。

カルシウムは、果実の老化を遅らせる効果のあることが知られているが、その作用機作については未解明な部分が多い。近年、カルシウムの研究はめざましく進展しており、細胞内の遊離のカルシウム ($\leq 10^{-7}M$) が、細胞外シグナルに対し二次情報伝達物質としてシグナルトランスダクションの過程で重要な働きをしていることが明らかとなってきた。

ここでは、ニホンナシ‘豊水’の過熟現象と考えられているみつ症発生や貯蔵性に及ぼすカルシウムの役割およびカルシウムが果実の老化情報の伝達に関与すること、

ならびに、果実の老化情報伝達に関与する水シグナルと冷温高湿貯蔵について概説する。

1. カルシウムとニホンナシ‘豊水’のみつ症

果樹試験場で育成されたニホンナシ‘豊水’のみつ症は最大の生理障害であり、市場の不評を買うこともあり、早急に的確な防止法の確立が望まれている。

果実における総カルシウム量の約90%は開花後、約6週間で蓄積され、成熟にともなってカルシウムが不足すると果実に生理障害が発生すると考えられている。乾燥した植物中にカルシウムは0.1~3.5%含まれていることが知られているが、そのほとんどは、細胞壁などに沈着しており移動性はないと考えられている。MARLOW¹⁾はリンゴとナシのみつ症について総説し、カルシウム溶液の樹体散布および果実への浸漬によってみつ症を低減できると報告した。しかしながら、SHEAR²⁾は、カルシウムは果実の表面からはあまり移動しないため、果実の生理障害防止にはカルシウムを果実に散布するよりも根からの吸収を通してカルシウムを果実に移行させる必要があるとしている。また、ニホンナシ樹に⁴⁵Caを根から吸収させたとき、果実果梗部に⁴⁵Caが大量に蓄積していることが明らかになっている(青葉ら、私信)。一般に、カルシウムの散布・浸漬が障害防止に効果を示さない理由の一つとしてカルシウムの移動性の困難さが上げられるが、カルシウムは果実の果梗部でとどまり、果実へ移行しない可能性が考えられた。

*農林水産省果樹試験場 (〒305-8605 つくば市藤本2-1)

カルシウムなどの無機イオンを効率的に植物に入れる試みは従来から行われてきたが、金属キレート化合物は植物への吸収効率が高いことに着目し、EDTAなどの有機化合物に包含したカルシウムを果実の果梗部に塗布することによりカルシウムが効率良く果実に移動するのではないかと考えた。そこで、ニホンナシのみつ症防止のために、抱水ラノリンにCa-EDTAを添加したペースト剤を、収穫前1カ月前後に果梗部に塗布した結果、みつ症の発生を約80%抑制できた³⁾。また、EDTAペーストだけでは抑制効果がほとんど認められないことから、カルシウムがみつ症を抑制したと考えた。この方法をみつ症多発園に適用した結果、健全果率は対照区と比較して4倍に増加し、重症果率は1/3に減じた。

一方、塗布時期も重要であることがわかった。カルシウムチャネル阻害剤である塩酸ベラパミルとCa-EDTAとを用いてみつ症の発生度合いを調べた。満開後100日目にCa-EDTA処理を行った区では重症果実の発生率は対照区と比較して35.3%に抑制された。一方、塩酸ベラパミル区では146.4%とみつ症の発生を助長した⁴⁾。しかしながら、満開後70日目処理(対照区と比較したCa-EDTA区のみつ症発生率68.9%、塩酸ベラパミル区93.4%)、130日目処理(Ca-EDTA区59.9%、塩酸ベラパミル区122.5%)では抑制および促進効果が薄れた。処理時期によりカルシウム剤の効果が異なることはみつ症の発生時期および発生機構を解明するうえで重要な糸口を与える。

エチレンは、ニホンナシのみつ症の発生を助長することが明らかとなっている。そこで、Ca-EDTA剤を果実果梗部に塗布し、その日のうちにエチレン発生剤であるエテホンに果実に散布したところ、エテホン散布区のみつ指数(みつの発生にしたがって0〔健全果〕から3〔重症果〕に分類)は2.73であったのに対しCa-EDTA剤を塗布後、エテホン散布した区では0.25と対照区の0.20とほぼ同程度まで、みつ症の発生を抑制した³⁾。Ca-EDTA剤はエチレンに起因するみつ症をも効果的に抑制した。また、青葉ら(私信)は、X線マイクロアナライザーを用いてニホンナシ果実中のカルシウムの分布を調べた結果、健全果では細胞周辺にカルシウムの蓄積が認められたが、異常果ではカルシウムが極めて低濃度にしか分布していないことを明かにしている。

2. 収穫後果実へのカルシウム添加効果

収穫後も果実は種々の生理作用を営み続けていることから、果実の生理的諸機能を把握し、それに応じた取扱をすることによって日持性が向上すると考えられる。そ

こで、みつ症発生防止に効果の認められたキレートカルシウム剤を、収穫後ただちにニホンナシの果梗部に塗布したところ‘新水’の果皮の黒変を防止し、‘長寿’の硬度の低下を抑制した⁵⁾。このことから、Ca-EDTA剤を果梗部に塗布することによってニホンナシの品質劣化を防止できることがわかった。しかし、収穫後、日において果梗部に塗布したところ日持性は対照と変わらないか、老化を促進した。

また、減圧下にカルシウムを吸収したリングでは日持性が向上し、エチレンの発生が抑制されることが知られていた⁶⁾。そこで、エチレン生成とカルシウムとの関係が生理的に重要であると考え、果実切片を用いてACC酸化酵素の活性発現について検討を行ったところ、低濃度のカルシウムは、エチレン生成を促進し、高濃度のカルシウムはエチレン生成を抑制することがわかった(図1)。

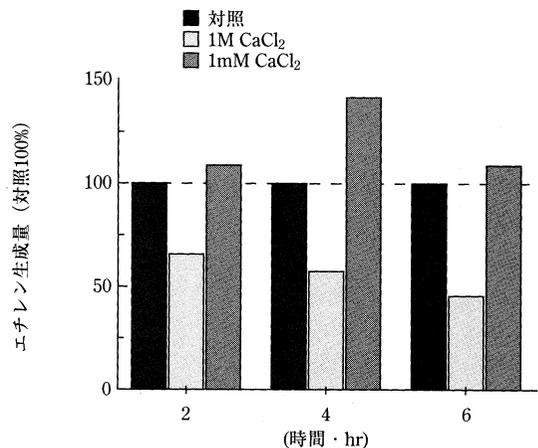


図1 カルシウム濃度の違いによるエチレン発生量の相違

果実内ではメチオニンから数ステップを経てエチレンが生成されが、生成の最終段階はACC酸化酵素によって触媒される。果実切片におけるカルシウムが関与するACC酸化酵素の至適pHはpH5.5~6.5であることから酸性側で働く酵素と考えられた。

カルシウムがACC酸化酵素に関与しているのではないかと示唆されたので、金属キレート剤であるEDTAおよびEGTAを添加したところ、エチレンの生成が抑制された。次に、カルシウム結合ペプチドであるカルモジュリンについて検討を行った。カルモジュリン阻害剤であるW-5とW-7を用いて、ACC酸化酵素活性を検討したところ、W-7では、エチレンの生成が抑制されたが、W-5ではエチレン生成は抑制されなかつ

た^{7),8)}。W-5, W-7はナフタレンスルホンアミド誘導体であるが、W-7はクロル基を有しているために、細胞膜を通過し、容易に細胞内に浸透することが出来る。このことから、ACC酸化酵素は細胞内でカルモジュリンとともに働いていると考えられた。

したがって、本酵素はカルシウム・カルモジュリン依存性ACC酸化酵素であり、酸性側で活性が高いことから、細胞内に存在しているのではないかと示唆された。そこで、リンゴ成熟果からプロトプラスト ($\phi \leq 250 \mu\text{m}$) を調整し、カルシウムキレート剤である Fura 2 (膜を通過できないキレート剤)、Fura 2 AM (膜を通過できるキレート剤) を用いた実験から、細胞内のカルシウムがACC酸化酵素の活性を制御していることがわかった。また、アロコロナミン酸から1-プテンが生成し、カルシウムによって生成が促進されるが、コロナミン酸からは生成されないこと、ならびに、プロトプラストを破壊すると活性が失われることから、カルシウムの関与するACC酸化酵素は膜結合型と考えられた。

一方、すでに鉄・アスコルビン酸依存性ACC酸化酵素が報告されているが、本実験で測定したACC酸化酵素は、それらと異なる酵素ではないかと考えられた。そこで、鉄・アスコルビン酸依存性ACC酸化酵素を抽出し、カルシウム・カルモジュリン依存性ACC酸化酵素との性質を比較したところ、前者の最適pHは中性側にあり、後者の最適pHは酸性側にあることが明らかとなった。これらのことから、果実には少なくとも性質の異なる2つのACC酸化酵素が存在していると考えられた。

以上の結果より、カルシウムは、膜結合型カルシウム・カルモジュリン依存性ACC酸化酵素の活性を制御していると考えられた。すなわち、カルシウムによる遺伝子を介さないエチレン生成制御による果実の成熟・老化過程の制御系が存在すると示唆された (図2)。

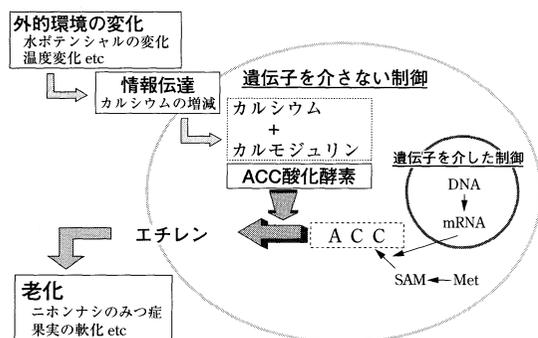


図2 カルシウム・カルモジュリンとACC酸化酵素との関係

3. 冷温高湿貯蔵のねらい*

カルシウムが細胞内で、エチレン生成を抑制することを見だし、カルシウムをセカンドメッセンジャーとする遺伝子を介さない果実の老化制御系の存在が明らかになったことから、外的環境を制御することによる遺伝子を介さない果実の老化抑制が出来るのではないかと考えた。

収穫した果実が、収穫前と大きく異なる点は、樹体から離れ、水分や養分の供給を絶たれることにある。この環境変化 (特に水損失) が果実の老化シグナルのスイッチを入れるのではないかとこの戦略を立て、果実の貯蔵環境における湿度の役割に着目し、高湿度条件が鮮度保持に有効ではないかと考えた。しかし、相対湿度を高くすると微生物の増殖に好条件となり腐敗が進行するなどの理由により、湿度と鮮度保持との関係についてはほとんど検討されてこなかった。

この戦略を確認するため、果実からの水損失の主因である蒸散量を、果皮抵抗、気温、相対湿度、風速などから予測するモデルを開発し、この蒸散量予測モデルを使い果実の鮮度保持日数について検討した結果、相対湿度が高まるにつれ、鮮度保持日数が増加することが認められた (図3)。特に相対湿度が90%を越えると鮮度保持日数の増加が著しいことが明らかとなった⁹⁾。蒸散量予測モデルによる結果から、低温で、湿度90%以上が鮮度保持に好適湿度条件であることが明らかとなった。

(* 低温高湿度条件で果実等を貯蔵する方法の略称を「冷温高湿貯蔵」とし、その施設等を「冷温高湿庫」とする。)

4. ウメの低温障害回避技術の開発

低温・恒温・高湿環境を維持できる冷温高湿庫 (冷熱輻射方式貯蔵庫「氷蔵庫」) を用いて果実の鮮度保持の研究を開始した。収穫後のウメ果実を5℃で貯蔵すると低温障害が発生することが報告されていた^{10),11)}。果樹試験場の圃場で収穫適期 (青ウメ) に採取したウメ「十郎」などを用いて鮮度保持効果について実験を行ったところ、約1カ月後、冷蔵庫 (5℃, RH 70~80%) で貯蔵した果実では重量が約25%減少したが、冷温高湿庫 (5℃, RH95%) で貯蔵した果実の重量は、ほとんど減少しなかった。また、冷蔵庫に貯蔵した果実は1カ月後、ほとんどすべての果皮にピittingが認められ、萎縮して商品性を失っていたが、冷温高湿庫では貯蔵前の状態を保っていた。このことから、冷蔵庫で貯蔵したウメ果実で低温障害が発生するのは、果実か

らの水損失が引き金となって起きる現象と考えられた。

一方、冷温高湿庫では、5℃でも0℃でも障害の発生が認められず、低温障害を回避できた¹²⁾。この結果から、ウメ果実の鮮度保持には、果実に含まれている水分の損失を防ぐことが重要であることがわかった。ウメ果実をフィルム包装すると低温障害が回避されるが、これは、果実から水損失を抑制したためと考えられた。以上の結果から、水が老化シグナルとして果実内で重要な働きをしていることが示唆されるとともに、低温障害の発生機構解明の端緒が得られた。

5. ヒノキチオール含有紙を用いたブドウの貯蔵

ブドウ‘巨峰’を5℃で冷蔵庫に貯蔵した場合では約1カ月後、房重量が約6%減少したが、冷温高湿庫(5℃, RH95%)での目減りはほとんどなく、品質も良好であった。ブドウの果梗の緑色の程度は商品性を左右する重要な要素であるが、冷蔵庫に保存したブドウの果梗は約1週間後には軸全体が褐変したが、冷温高湿庫では緑色に保たれていた。冷蔵庫で貯蔵したブドウの果梗は水の損失により褐変・老化し、クロロフィルが消失したと考えられた。しかし、果実の鮮度保持に対し、冷温高湿貯蔵の効果は認められるものの、冷蔵庫に比較してかびの発生が多く、問題となった。そこで、かび防止資材であるヒノキチオール含有紙で‘巨峰’果実を覆い約3カ月保存した結果、かびの発生もなく鮮度よく貯蔵することができた¹³⁾。ヒノキチオール含有紙を用いてブドウのかび発生を防止できたが、オウトウ、モモ等ではその効果が認められなかったので、より効果的な果実の防かび法の開発が必要となった。

6. 負イオンとオゾン混合ガスによるかびの防止

果実の鮮度に対し、冷温高湿貯蔵の効果は認められるものの、冷蔵庫に比較してかびの発生が多く、問題となった。ブドウではヒノキチオール含有紙を用いてかび発生を防止できたが、オウトウ、モモなどではその効果が認められなかったため、より効果的な果実の防かび法の開発が必要となった。そこで、三菱電機株式会社先端技術総合研究所と共同研究により、高湿度下に低濃度のオゾンと高濃度の負イオンを安定的に発生させる装置を開発し、冷温高湿庫内に設置した。

高湿度条件下でオゾンを利用する場合、高湿度雰囲気中で直接放電を行うと、空気中の水分の影響を受けてオゾンの発生効率が低下するため、通常外気をオゾン化して庫内に取り込む方法が採用されてきた。そのため、オゾンの発生量が外気湿度の影響を受けて安定せず、防菌効

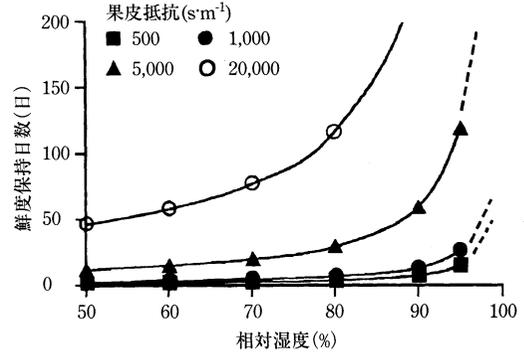


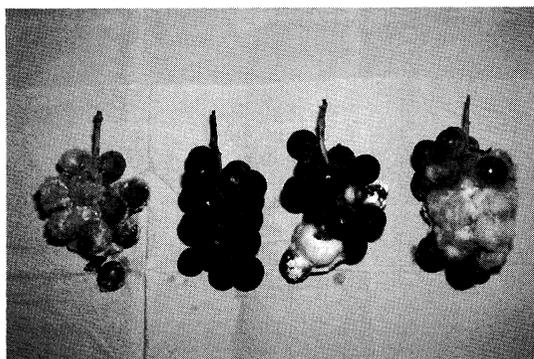
図3 貯蔵果実の鮮度保持日数に対する相対湿度、果皮抵抗の影響

果が明確に現れないことや、外気を導入することによって庫内の湿度環境が変わるといった問題があった。また、高濃度のオゾンは、殺菌効果は高いが食品自体も変質させることが指摘されていた。

そこで、負イオンに着目し、コロナ放電による負イオンとオゾンの発生特性を解析して電極構造、材料、電源仕様等を最適化した装置を開発した(図3)。その結果、限界湿度に近い高濃度の負イオンと低濃度のオゾンを1台の発生器で同時にかつ連続的に発生することが可能となった¹⁴⁾。高湿度下に低濃度のオゾン(50ppb:日本における作業環境基準は100ppb以下、環境基準は光化学オキシダントとして1時間値が60ppb以下と定められている)と負イオン(5×10⁴個/cm³:空気中のマイナスに帯電した原子、分子。自然界にも存在する)を安定的に発生させる装置を冷温高湿庫内に設置した。その結果、50ppbの低濃度のオゾンと5×10⁴個/cm³の高濃度の負イオンにより庫内空気中の全細菌数とかびなどの菌数を1/10に減じることができ、極めて高い殺菌効果が認められた。食品の殺菌に用いられてきたオゾン濃度(500ppb以上)と比較して、1/10以下の低濃度であるにもかかわらずかびの発生を防止できたのは、長期間連続的に発生させたオゾンと負イオンとの相乗効果によるためである。この技術は貯蔵環境からの危害を低減できることからHACCPにも応用できると考えられる。

7. 果実の冷温高湿貯蔵

負イオン+オゾン混合ガスと冷温高湿貯蔵(0℃, 95%)によりオウトウ‘佐藤錦’を1カ月、モモ‘あかつき’を1.5カ月、ブドウ‘巨峰’を4カ月(図4)、ニホンナシ‘幸水’を5カ月、と従来と比較しておおよそ5倍、長期に鮮度を保持することができた^{15),16)}。貯蔵



フィルム包装 負イオン+オゾン オゾン 対照

図4 負イオン+オゾン混合ガスと冷温高湿貯蔵(0℃, RH95%)におけるブドウ‘巨峰’

した果実品質は良好で腐敗果もなく、モモの硬度を除きほとんど変化はしていなかった。また、カンキツについて水シグナルの管理という視点から、予措を行わない果実を冷温高湿貯蔵した結果、ウンシュウミカン‘青島温州’を5カ月貯蔵でき、また、カボスの果皮の緑色を長期にわたって保持できた。カンキツ類では、果実を高湿度に貯蔵すると湿度障害が起きることが知られているが、冷温高湿貯蔵では、従来の慣行法である予措を行わないことで、この貯蔵障害を回避できると考えられた。さらに、カンキツの貯蔵には不適であると考えられていた低温での貯蔵が可能であったことから、カンキツの慣行貯蔵技術の見直しが示唆される。

8. 今後の冷温高湿研究の展開

以上の研究から、水シグナルは果実の老化の最初のスイッチではないかと考えられた。収穫した果実は、樹体からの水供給が絶たれ、水シグナルのスイッチが入り、細胞内のカルシウムが増減し、エチレン生合成が活発になり、老化や低温障害発生へと生体プログラムが進行すると考えられる(図5)。今までは、品質劣化の主要因として、エチレンシグナルに関心がもたれており、エチレン吸着剤の検討などがなされていた。しかし、水シグナルはエチレンシグナルに匹敵する効果をもつことから、水シグナルという視点に基づいた長期鮮度保持システム(冷温高湿チェーン)を今後、開発する必要がある。水損失に起因する果実の品質劣化機構の解明が進めば、水ストレスと老化、低温障害発生機構、果実の軟化機構の解明等に新しい展開が期待できる。また、果実を包装することにより貯蔵性が向上する主因はMA効果と考えられているが、湿度の効果を考慮に入れて再度検討し直

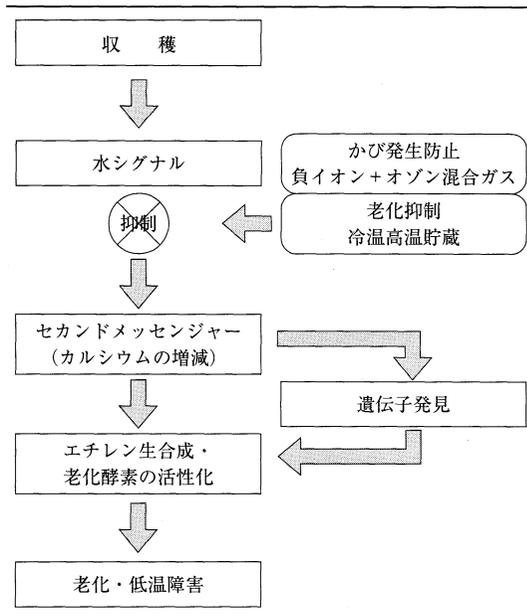


図5 果実・青果物の老化・低温障害発生機構

す必要があると考えられる。このように、冷温高湿貯蔵は、従来の貯蔵原理の考え方を変える可能性を秘めている。

9. 冷温高湿貯蔵の可能性

長期貯蔵が困難とされていたブドウ、モモ、オウトウなどの品目を高湿度条件下(90%以上)で保存すると、貯蔵性が飛躍的に向上することが見いだされた。また、高湿度下で懸念される微生物による腐敗発生については、負イオンとオゾン混合ガスにより防止する技術を開発した。今後、水損失による品質劣化の生理機構の解明に基づく合理的な鮮度を維持するための水管理プログラムの開発を行えば、長期高品質保持貯蔵法として、この技術は果実のみではなく広く青果物の貯蔵に適用できると考えられる。また、消費者への高品質果実の供給期間が長くなると同時に、輸入果実に対する競争力が強化されることが期待される。

本研究の目標は、これまでの温度(低温、氷温貯蔵)及び気相(CA, MA貯蔵)の管理に基づいて組み立てられていた貯蔵システム(コールドチェーンなど)に、水の管理という視点を加えて見直すことにより、果実の収穫から食卓までを考慮した新しい貯蔵・流通システム(冷温高湿チェーン)を開発することにある(図6)。収穫直後から、水管理の視点を導入(水の損失防ぎ)し、冷温高湿貯蔵車で輸送し、冷温高湿庫に貯蔵(短期・長

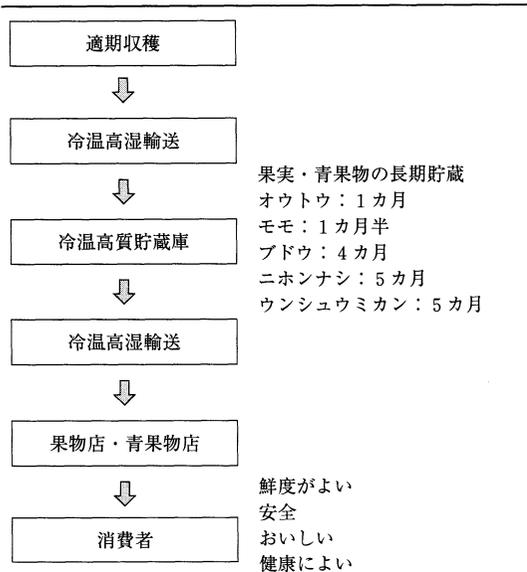


図6 冷温高湿チェーンの概念図

期)し、市場を見ながら出荷調整を行い、冷温高湿車で果物店や青果物店に輸送し、店頭でも水管理に基づいた販売を行い、家庭用冷温高湿冷蔵庫に貯蔵すれば、鮮度のよく美味しいかつ安全で健康によい果実を食べられる冷温高湿チェーンが完成する。

水分の多い青果物の貯蔵において負イオンとオゾン混

合ガスを併用した冷温高湿貯蔵法は、水損失を防ぐことができること、低温障害を抑制できること、かびの発生を抑制できることなどから、従来の貯蔵温湿度領域を変更する新しい貯蔵法である。

文 献

- 1) MARLOW, G. C. et al.: *Hort. Rev.*, **6**, 189 (1984)
- 2) SHEAR, C. B.: *Hort Science*, **10**, 361 (1975)
- 3) 田中敬一ら：園学雑, **61**, 183 (1992)
- 4) 川瀬信三ら：園学雑, **60**別1, 98 (1991)
- 5) 田中敬一ら：園学雑, **60**別1: 578 (1991)
- 6) POOVAIAH, B. W.: *Hort Science*, **23**, 267 (1988)
- 7) ISHIZUKA, S. et al.: *Tech. Gene Diag. Breed. Fruit Trees*, p138 (1993)
- 8) TANAKAら：Acta Hort., 464, 504 (1996)
- 9) 朝倉利員ら：園学雑, **66** (別1), 578 (1997)
- 10) 岩田 隆ら：園学雑, **47**, 97 (1978)
- 11) 岩田 隆ら：園学研集, **9**, 135 (1979)
- 12) 田中敬一ら：園学雑, **64** (別1), 584 (1995)
- 13) 田中敬一ら：冷凍, **73**, 58 (1998)
- 14) 谷村泰宏ら：三菱電機技報, **71**, 758 (1997)
- 15) 田中敬一：農物流技報, **210**, 13 (1997)
- 16) TANAKA, K. et al.: *Supple J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **67**(1), 330 (1998)