エチレン処理した‘土佐ブントン’果実の香気成分および 遊離アミノ酸の変化

西川 和孝・岡林 秀典*・沢村 正義**・後藤 昌弘***・前田 英雄

鳴門教育大学学校教育学部・*高知県農業技術センター・**高知大学農学部・***高知女子大学生活科学部

Volatile Constituents and Free Amino Acids in Ethylene-Treated *Citrus grandis* [L.] Osbeck Fruits

Kazutaka NISHIKAWA, Hidenori OKABAYASHI,* Masayoshi SAWAMURA,**
Masahiro GOTO*** and Hideo MAEDA

Faculty of Education, Naruto University of Education, Naruto 772-8502, Japan

**Kochi Prefectural Agriculture Research Center, Nankoku 783-0023, Japan*

***Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku 783-8502, Japan*

****Faculty of Human Life and Environmental Science, Kochi Women's University,
Kochi 783-8515, Japan*

(Received September 18, 2001)

‘Tosa-buntan’ (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) fruits were treated with 0, 20, and 40 ppm ethylene for 96 h in the dark in order to ripen the fruit and improve the color. As a result, the 20 and 40 ppm ethylene-treated fruits showed a decrease in their chromatic component (*L* value), and an increase in their *a* value and free amino acids (especially, asparagine and glutamic acid), compared with the untreated fruits. The effectiveness of ethylene treatments showed no difference between 20 and 40 ppm. Volatile constituents were analyzed by capillary GC and GC-MS, respectively. The amount of flavor compounds in the fruits showed no change regardless of the administration of the ethylene treatment or the storing period. The content of nootkatone, the characteristic flavor compound of pummelo, increased in all treatments. These results suggest that the ethylene treatment of ‘Tosa-buntan’ is a useful storing method for shipment to the market.

Keywords: *Citrus grandis*, ethylene, free amino acids, ‘Tosa-buntan,’ volatile constituents

2001年9月18日受付

緒 言

ブントンは、日本、中国、タイ等で栽培されている。特に‘土佐ブントン’は、高知県の特産果実で特有の芳香を有する品種であり、野囲いと呼ばれる屋外(露地)貯蔵方法(1~3カ月間)によって出荷されている。野囲いは、園地内に穴を掘りその中にビニルシートで包

む方法であり、労力を要しないが追熟に要する貯蔵期間が長い(Sawamura and Kuriyama, 1988)。一方、同じく高知県の特産果実である‘水晶ブントン’はエチレン処理によるカラーリングおよび追熟予措・貯蔵が行われている(Nishikawa et al., 2002)。そこで本研究では、収穫後の‘土佐ブントン’の品質(着色、追熟および食味等)向上を目的にエチレン処理法の可能性を検討した。‘土佐ブントン’は糖や酸の個体差が大きく、果

実の食味や品質に及ぼすエチレン処理効果を評価する上で、食味基準として供試材料の糖や酸の含量をそろえることが困難であることから、果皮の色調、香気成分および遊離アミノ酸の変動を指標とした。

材料および方法

1. 材 料

2000年12月20日に高知県土佐市戸波の果樹園より収穫したものの中から、着色初期の‘土佐ブント’ (平均果重 700 g 程度) 果実を用いた。

2. エチレン処理

3台のインキュベーター (サンヨー社製 MIR-252, 28°C) にそれぞれ収穫直後の供試果実 40 果を入れ、エチレン処理を施した。エチレン処理濃度は 0 (無処理区)、20 および 40 ppm とした。これらの濃度となるようにエチレンガス流出器 (岩谷産業社製) をインキュベーターに装着後、ガスを 96 時間通気した。通気した空気中のエチレン濃度に関しては、ガスクロマトグラフ (GC; 島津社製 GC-15A, 活性アルミナカラム: 60~80 mesh, 3 mm i.d.×2 m, 60°C, 検出器: FID) にて 8 時間毎に測定および調節した (Yoshimura et al., 1996; Ishimaru et al., 1999)。

3. 果実の果皮色測定

調査果実は各区からそれぞれ 15 果とし、色彩色差計 (ミノルタ社製 CR-300) を用いて果実の赤道部同一位置 (1 果につき 4 カ所均等位置) の L , a , b 値を測定し、測定後直ちに再び各インキュベーター内に貯蔵した。

4. 遊離アミノ酸分析

供試果実は 0, 30, 60, 90 日目に各処理区からそれぞれ 5 果を採取し、遊離アミノ酸および精油成分分析の測定に用いた。果皮を除いた果肉部をフードプロセッサーで細切りにし、冷却条件下 (5°C) にてホモジナイザーで 1 分間磨砕した。得られた果実ペースト 30 g にクエン酸リチウム緩衝液 30 ml を加え、40 分間攪拌した。その後、5 000 rpm, 20 分間遠心分離し、上澄みを 0.45 μ m のフィルターに通しアミノ酸分析の試料とした (Furudate and Meguro, 2001)。標準液として、和光純薬工業製のアミノ酸混合標準液 AN II および B 型にグルタミンおよびアスパラギンを加えたものを使用した。アミノ酸分析は日本電子製アミノ酸オートアナライザー JLC-300 型でアミノ酸生体分析カラム (JEOL, No. 844-350869) を用いて行った。

5. 精油成分分析

遊離アミノ酸分析で用いた各 5 果から, Sawamura and Kuriyama (1988) の方法により‘土佐ブント’の冷圧油 (cold-pressed oil: CPO) を調製し, GC (島津社製 GC-14A, FID) により定量分析を行った。GC の条件は以下のとおりとした。カラム: DB-WAX キャピラリーカラム (0.25 mm i.d.×60 m, 0.25 μ m film thickness), カラム温度: 70°C (2 min) $\rightarrow$ 2°C/min $\rightarrow$ 230°C (20 min), 試料気化室温度: 250°C, 検出器温度: 250°C, キャリヤーガス: 窒素, ガス流量: 1.0 ml/min。また, 上記の GC 条件で GC-MS (島津社製 GC-17A/QP-5000) による定性分析も行った (Mitiku et al., 2000)。

結果および考察

エチレン処理による‘土佐ブント’果皮色の経時的変化を Table 1 に示した。果皮色の明度を示す L 値は、無処理区では貯蔵期間中ほとんど変動しなかったが、エチレン処理区では減少傾向となった。緑色~赤色を示す a 値は全処理区において増加傾向であり、その値はエチレン処理区がわずかに高まった。一方、青色~黄色を示す b 値は貯蔵期間中すべての処理区において増加傾向であり、無処理区がわずかに高まった。 a 値および b 値とも 20 ppm および 40 ppm のエチレン濃度処理間では差がなかった。これまで‘水晶ブント’では、エチレン処理によって果皮色の L 値および a 値が高く、 b 値が微増することが知られているが (Nishikawa et al., 2002), 本実験の‘土佐ブント’では、エチレン処理によって果皮色にほとんど変動はなかった。この両品種の違いは‘土佐ブント’果皮色に関する代謝のエチレン感受性が鈍いことによると考えられるが、一方でエチレン処理時に果皮色の a 値および b 値がそれぞれ-6 および 59 前後と高く、すでに供試材料果皮の黄化が進んでいたことを示しており、このことが処理効果の十分に現れなかった要因とも推定される。

‘土佐ブント’果実は、マイルドな芳香を有することが特徴の一つである。そこで、エチレン処理濃度および貯蔵期間別における果実のフレーバー組成の経時の変化を調べた。果皮の CPO から、30 種類の香気成分を同定した (Table 2)。そのうち、テルペン系炭化水素類はリモネン、ミルセン、 α -ピネン等の 17 種類であった。他にはカンキツ類の特徴的なフレーバーを示すと考えられる含酸素化合物のアルデヒド類 (n -オクタ

Table 1 Changes of the color index as in *L*, *a* and *b* during storage of 0–90 d at 28°C.

Treatment	12/20 (0 d)			1/19 (30 d)			2/18 (60 d)			3/20 (90 d)		
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
0 ppm	74.90 ^z a ^y	−6.45 a	60.12 a	74.80 a	−2.59 a	61.05 a	74.59 a	−1.66 a	63.17 a	74.68 a	−0.52 a	65.11 a
20 ppm	75.96 a	−5.40 a	59.23 a	74.18 a	−1.60 b	58.15 b	73.21 a	−1.09 b	59.14 b	72.68 a	−0.14 b	60.83 b
40 ppm	75.99 a	−7.78 a	58.32 a	74.27 a	−1.75 b	57.34 b	73.67 a	−1.40 b	58.56 b	73.74 a	−0.35 b	60.68 b

^z Data are means (*n*=15).

^y Means within a column followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple-range test.

Table 2 Changes in yield and composition of cold-pressed oil from 'Tosa-buntan' fruits.

Compound	Rt (min)	12/20 (0 d)			1/19 (30 d)			2/18 (60 d)			3/20 (90 d)			
		[1.25] ^z	0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm
The terpene hydrocarbons														
<i>α</i> -Pinene	(9.28)	0.99 ^y	1.28	1.02	1.07	1.08	0.94	1.10	1.02	0.99	1.04	0.99	1.04	[0.91]
Camphene	(10.51)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
<i>β</i> -Pinene	(11.84)	0.45	0.38	0.60	0.78	0.81	0.49	0.87	0.76	0.67	0.58	0.67	0.58	0.58
Sabinene	(12.18)	0.15	0.12	0.18	0.21	0.21	0.15	0.23	0.20	0.19	0.17	0.20	0.19	0.17
Myrcene	(13.55)	1.76	1.73	1.75	1.76	1.76	1.58	1.77	1.75	1.74	1.77	1.75	1.74	1.77
<i>α</i> -Phellandrene	(13.89)	0.03	0.05	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
<i>α</i> -Terpinene	(14.51)	0.09	0.10	0.09	0.10	0.10	0.08	0.10	0.10	0.10	0.09	0.10	0.10	0.09
Limonene	(15.82)	88.71	88.05	88.28	87.76	87.93	87.37	87.82	87.80	88.43	88.35	88.43	88.35	88.35
<i>β</i> -Phellandrene	(16.02)	0.22	0.20	0.22	0.23	0.23	0.19	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
<i>γ</i> -Terpinene	(17.63)	4.44	5.32	4.75	5.07	5.14	4.41	4.98	5.03	4.87	4.66	4.87	4.66	4.66
<i>p</i> -Cymene	(18.80)	0.02	0.04	0.04	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05	0.03	0.04	0.05	0.03	0.04
Terpiolene	(19.68)	0.19	0.23	0.15	0.08	0.13	0.08	0.04	0.05	0.07	0.03	0.05	0.07	0.03
<i>δ</i> -Elemene	(30.30)	tr ^x	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
<i>β</i> -Cubebene	(34.59)	0.09	0.09	0.10	0.08	0.09	0.07	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09	0.08	0.09
<i>β</i> -Elemene	(37.71)	0.03	0.12	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
<i>β</i> -Caryophyllene	(38.37)	0.04	0.04	0.05	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
<i>δ</i> -Cadinene	(47.85)	0.11	0.05	0.12	0.10	0.11	0.09	0.11	0.11	0.10	0.11	0.11	0.10	0.11
The oxygenated components														
Aldehydes														
<i>n</i> -Octanal	(19.48)	0.19	0.23	0.20	0.21	0.21	0.17	0.21	0.21	0.21	0.22	0.21	0.21	0.22
Nonanal	(25.61)	0.03	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01
Citronellal	(31.82)	0.09	0.03	0.11	0.09	0.10	0.07	0.10	0.10	0.09	0.10	0.10	0.09	0.10

Table 2 (continued)

Compound	Rt (min)	1/19 (30 d)			2/18 (60 d)			3/20 (90 d)		
		0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm
Decanal	(32.01)	0.23	0.16	0.15	0.19	0.11	0.12	0.14	0.14	0.10
Neral	(43.38)	0.05	0.07	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02
Geranial	(45.12)	0.16	0.15	0.15	0.15	0.11	0.13	0.13	0.12	0.13
Alcohols										
Linalool	(34.92)	0.10	0.09	0.06	0.09	0.06	0.05	0.06	0.07	0.04
α -Terpineol	(44.41)	0.08	0.10	0.07	0.07	0.04	0.03	0.03	0.04	0.02
Elemol	(53.64)	0.04	0.02	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04
Esters										
Octyl acetate	(30.80)	0.08	0.04	0.09	0.11	0.08	0.09	0.10	0.09	0.09
Geranyl acetate	(46.36)	0.08	0.02	0.04	0.06	0.05	0.03	0.04	0.05	0.03
Others										
<i>trans</i> -Limonene oxide	(30.28)	0.07	0.01	0.06	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Nootkatone	(87.51)	0.12	0.20	0.35	0.51	0.44	0.60	0.74	0.69	0.66

^z The yield (%) of CPO to the flavedo.
^y The constituents of the CPO are shown in w/w%. Data are means ($n=5$).
^x Trace (peak area less than 0.005%).

Table 3 Changes of free amino acid contents of 'Tosa-buntan' fruits.

Amino acid (mg/100 g)	12/20 (0 d)	1/19 (30 d)			2/18 (60 d)			3/20 (90 d)		
		0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm	0 ppm	20 ppm	40 ppm
Aspartic acid	51.6 ^z	61.2	67.8	63.1	66.1	60.5	57.9	61.3	62.2	63.1
Threonine	3.5	2.4	3.8	3.2	2.4	2.3	1.9	2.5	3.3	3.0
Serine	11.8	11.4	16.4	15.9	14.0	14.1	10.0	13.3	14.2	13.2
Asparagine	15.0	17.0	41.9	48.6	25.6	46.5	35.8	27.1	47.0	44.3
Glutamic acid	4.5	19.5	36.6	35.8	20.1	34.0	30.4	23.3	35.8	32.9
Glutamine	9.0	4.8	8.4	5.6	3.7	6.6	9.5	4.3	7.2	7.5
Glycine	0.8	0.9	1.9	1.7	1.1	1.2	1.1	1.0	1.6	1.5
Alanine	10.3	14.1	15.3	12.7	9.0	9.1	6.6	12.0	11.2	10.3
Valine	1.3	2.1	2.1	1.8	1.2	—	0.8	1.2	1.0	0.9
Phenylalanine	2.0	2.0	1.8	1.5	1.9	1.6	1.1	2.0	1.9	1.7
γ -Aminobutyric acid	36.9	31.9	41.8	30.5	23.6	36.5	28.8	30.3	34.2	30.9

^z Data are means ($n=5$).

ナール、デカナール等の6種類)、アルコール類(リナロール、 α -テルピネオール、エレモールの3種類)およびエステル類(オクチルアセテート、ゲラニルアセテートの2種類)等が検出された。フレーバーの主成分はカンキツ類に共通に含有されるリモネンであり、エチレン処理濃度に関係なく貯蔵期間を通して87.37~88.71%の高含量であった。また、ブンタン類果実の特徴的な成分である*n*-オクタナール(0.17~0.23%)、デカナール(0.10~0.23%)、リナロール(0.04~0.12%)およびシトロネロール(0.03~0.11%)もまたエチレン処理濃度に関係なく、貯蔵期間中大きな変動はみられなかった。一方、同じくブンタン類の特徴的成分であるヌートカトンはいずれの処理区において貯蔵90日後では、5~6倍程度増加した(Table 2)。上述したことは、Sawamura et al. (1989)の生産現場での貯蔵(野囲い)における調査結果と一致していた。‘土佐ブンタン’果実のその他の成分、すなわち香氣成分組成およびCPO(%)もエチレン処理の有無および貯蔵期間の長短によってほとんど変化がなかった(Table 2)。以上の結果、油胞中の揮発性成分の代謝はエチレン処理に影響されないのではないかと推定される。

つぎに、エチレン処理濃度および貯蔵期間別における果実汁中の遊離アミノ酸含量についてTable 3に示した。果実汁中に11種類の遊離アミノ酸が検出された。収穫時の主なアミノ酸は、アスパラギン酸(51.6 mg/100 g)、 γ -アミノ酪酸(36.9 mg/100 g)およびアスパラギン(15.0 mg/100 g)であった。貯蔵30日目では、エチレン無処理区のアスパラギンおよびグルタミン酸含量がそれぞれ17.0 mg/100 g、19.5 mg/100 gであるのに対し、エチレン処理区の前者が41.9~48.6 mg/100 g、後者が35.8~36.6 mg/100 gとそれぞれ高含量を示

した。また、貯蔵60日目以降も同様の傾向がみられた。旨味に関するアミノ酸には、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸等があり、特にグルタミン酸は微量でも核酸系の旨味成分との相乗効果が知られている(Furudate and Meguro, 2001)。このように、‘土佐ブンタン’果実へのエチレン処理によって旨味に関するアミノ酸が増加したことから、商品価値が上がるため‘水晶ブンタン’と同様に‘土佐ブンタン’へのエチレン処理の有効性を見いだすことができた。

文 献

- Furudate, A., Meguro, T. 2001. Free amino acids in potato tubers and their extraction by boiling water. J. Home Econ. Jpn. **52**: 71-74.
- Ishimaru, M., Yamamoto, T., Morioka, Y., Ueda, Y., Chachin, K. 1999. Effects of continuous exposure to 100% CO₂ and its gradual reduction to 0% on ethylene production in Japanese persimmon ‘Tonewase’ fruit. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. **68**: 890-896.
- Mitiku, S. B., Sawamura, M., Itoh, T., Ukeda, H. 2000. Volatile components of peel cold-pressed oils of two cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) from Ethiopia. Flavour Fragr. J. **15**: 240-244.
- Nishikawa, K., Okabayashi, H., Mitiku, S. B., Sawamura, M. 2002. Bitter and volatile compounds in ethylene-treated *Citrus grandis* [L.] Osbeck fruits. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. **71**: 292-296.
- Sawamura, M., Kuriyama, T. 1988. Quantitative determination of volatile constituents in the pummelo (*Citrus grandis* Osbeck forma Tosa-buntan). J. Agric. Food Chem. **36**: 567-569.
- Sawamura, M., Tsuji, T., Kuwahara, S. 1989. Changes in the volatile constituents of pummelo (*Citrus grandis* Osbeck forma Tosa-buntan) during storage. Agric. Biol. Chem. **53**: 243-246.
- Yoshimura, K., Abe, K., Chachin, K. 1996. Effect of ethylene treatment on the occurrence of bitterness in different parts of partially processed carrot. J. Jpn. Soc. Cold Preserva. Food **22**: 205-209.