収穫後における青果物のクロロフィル分解機構[†]

山内直樹*

Mechanism of Chlorophyll Degradation in
Harvested Fruits and Vegetables

YAMAUCHI Naoki*

**Faculty of Agriculture, Yamaguchi University
1677-1 Yashida, Yamaguchi 753-8515*

パセリー、ハウレンソウなどの葉菜類およびブロッコリー花蕾は収穫後の品質低下が顕著にみられ、その主要な要因は、黄化するうちクロロフィルの分解である^{1)~3)}。また、香酸柑橘であるスダチ、カボスなども緑色果が利用されており、収穫後に生じるクロロフィル分解は品質低下の大きな要因となっている^{4), 5)}。一方、西南暖地で栽培されている早生温州ミカンでは、果肉が成熟しているにもかかわらず、果皮が緑色を示す果肉先熟現象が生じ、果皮の脱緑促進のために、エチレン処理が行われている⁶⁾。このように、クロロフィルは青果物の品質に深くかかわっており、分解機構の解明は青果物の品質制御上からも重要な課題である。

植物におけるクロロフィルの初期分解として、クロロフィルaがクロロフィラーゼの作用による加水分解によりフィトールが遊離し、クロロフィリッドaになる分解^{7), 8)}と、クロロフィルaがクロロフィル分解ペルオキシダーゼ、クロロフィルオキシダーゼ、リポキシゲナーゼおよび非酵素的酸化により酸化型クロロフィルである13²-ヒドロキシクロロフィルa (クロロフィルa-1) を生成する分解とが考えられる^{9)~11)}。クロロフィリッドaはMg-デキレターゼ¹²⁾もしくは非酵素的作用¹³⁾によりMg²⁺が遊離し、フェオホルバイドaに変化する。このとき緑色が失われ退色が生じる。フェオホルバイドaはオキシゲナーゼにより¹⁴⁾、またはデカルボメトキシ

ラーゼによりピロフェオホルバイドaを形成した後¹⁵⁾、オキシゲナーゼによりポルフィリンが開環し無色化する¹⁶⁾。一方、クロロフィルa-1は、さらに酸化分解されポルフィリン環が開環した後、ビリルビン様の黄色物質となり、最後に無色化する¹⁷⁾。このクロロフィルが無色化されるまでの分解系については、MATILEら¹⁸⁾、THOMAS¹⁹⁾および下川²⁰⁾の総説がある。

本研究は、収穫後青果物のクロロフィル分解過程のなかで、特にクロロフィリッドaおよびクロロフィルa-1生成を伴うクロロフィルの初期分解に注目し、クロロフィル分解物、クロロフィル分解酵素活性およびクロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィル分解機構について検討した。

1. 収穫後における青果物のクロロフィル分解物の变化

ハウレンソウ、パセリーおよびミツバを20~25℃で貯蔵すると、葉の黄化に伴い、クロロフィル含量の急減がみられた^{1), 2), 21)}。HPLC分析 (O. D. 435nmで検出) によりクロロフィル分解物について調べたところ、収穫当日ではクロロフィルa-1以外はほとんど検出されなかった。次に、これら葉菜類の黄化に伴うクロロフィル分解物の变化を調べたところ、ハウレンソウおよびパセリーではクロロフィリッドaの増加とクロロフィル

[†] 平成10年度日本食品保蔵科学会学会賞

*山口大学農学部 (〒753-8515 山口市吉田1677-1)

Fig. 1. Changes in chlorophyll contents of broccoli florets stored in air with or without 10 ppm ethylene or CA containing 10%CO₂, 1%O₂ at 15°C. The vertical bars represent the average values with SD (n=3).

Chl: chlorophyll

a-1の減少がみられ、一方、ミツバでは黄化に伴い両分解物とも検出されたが増大はみられなかった。

ブロッコリーも収穫後の老化に伴い、花蕾のクロロフィル分解が顕著に生じる^{22), 23)}。Fig. 1はブロッコリーの貯蔵に伴うクロロフィル含量の変化を示したものである。エチレン処理(10ppm)を行ったものではクロロフィルの分解が促進され、一方、CA処理(10%CO₂, 1%O₂)では分解制御がみられた。次に、HPLCにてクロロフィル分解物を検討した。Fig. 2は、収穫当日のブロッコリー花蕾におけるアセトン抽出物のHPLCクロマトグラムである³⁾。ブロッコリー花蕾では、O. D. 435nmのクロマトグラムをみるとクロロフィルa-1以外にクロロフィリッドaが検出され、さらにO. D. 410nmで調べたところ、少量のフェオホルバイドaとフェオフィチンaが検出された。このように、ブロッコリー花蕾では葉菜類とは異なり、貯蔵当日からクロロフィリッドaが検出された。15°C貯蔵に伴うクロロフィル分解物の変化を調べたところ (Fig. 3)、クロロフィルa-

Fig. 2. HPLC chromatogram of acetone extract from fresh broccoli florets. Pigments were measured at (A) 410nm for pheophorbide a and pheophytin a and at (B) 435nm for chlorophylls and carotenoids.

Chlide: chlorophyllide, Phb: pheophorbide, Chl: chlorophyll, Phy: pheophytin

Fig. 3. Changes in chlorophyll a-1 (A) and chlorophyllide a (B) of broccoli florets held in air with or without 10ppm ethylene or CA containing 10%CO₂, 1%O₂ at 15°C. The vertical bars represent the average values with SD (n=3).

Chl: chlorophyll, Chlide: chlorophyllide

1は対照区およびエチレン処理区のように黄化が顕著にみられた区では一時的に当日の値が保持された後急減し、黄化が抑制されたCA区では、クロロフィルa-1の減少も抑制された。一方、クロロフィリッドaはすべての区で減少がみられ、葉菜類のように黄化に伴う増加はみられなかった。また、エチレン処理により脱緑促進された早生温州ミカンでは、クロロフィルa-1 (Fig. 4) およびフェオホルバイドaの減少がみられたが、クロロフィリッドaの減少はみられず、当日の値を保持していた²⁴⁾ (Fig. 5)。

これらの結果から、貯蔵青果物のクロロフィル分解の初期過程において、クロロフィルaからクロロフィリッドaを経由する分解系とクロロフィルa-1を経由する分解系の存在が考えられ、個々の青果物により主要な分解系が異なっているものと推察された。

Fig. 4. Changes in chlorophyll a-1 of ethylene-treated wase satsuma mandarin fruit during storage at 20°C. The vertical bars represent the average values with SE (n=3). BD: beginning of degreening

Fig. 5. Changes in chlorophyllide a of ethylene-treated wase satsuma mandarin fruit during storage at 20°C. The vertical bars represent the average values with SE (n=3). BD: beginning of degreening

2. 収穫後における青果物のクロロフィル分解酵素活性の変化

クロロフィルの初期分解に関与する酵素として、クロロフィリッドaの生成に関与するクロロフィラーゼ^{7), 8)}, またクロロフィルa-1の生成に関与するクロロフィル分解ペルオキシダーゼ、クロロフィルオキシダーゼおよびリポキシゲナーゼが知られている^{9)~11)}。ホウレンソウのクロロフィラーゼ活性は、葉の黄化に伴い増大がみられ、その後減少した²⁾。また、ペルオキシダーゼ活性も黄化に伴い増大が認められた。しかしながら、ミツバでは葉の黄化に伴いクロロフィラーゼ活性は増大したもの、ペルオキシダーゼ活性は低下がみられた²¹⁾。エチレン処理された早生温州ミカンにおいて調べたところ、クロロフィラーゼ²⁵⁾およびクロロフィル分解ペルオキシ

Table 1 Chlorophyll degrading peroxidase activities in wase satsuma mandarin fruit treated or untreated with ethylene.

	Days in storage at 20°C			
	0	0.5	2	4
Ethylene	1.51 ± 0.26* ¹	2.11 ± 0.79	2.24 ± 0.31	2.29 ± 0.40
Control	1.51 ± 0.26	—	0.86 ± 0.09	—

The fruit was treated with 120 ppm ethylene or ambient air for 12 hrs in a desiccator at 20°C.

*1Units/mg protein, Mean ± SE (n=3)

Fig. 6. Chlorophyllase activities in stored broccoli florets. The vertical bars represent the average values with SE (n=3).
Unit= μg chlorophyll a degradation/min.

Fig. 7. Chlorophyll degrading peroxidase activities in stored broccoli florets. The vertical bars represent the average values with SE (n=3).
Unit= μg chlorophyll a degradation/min.

デーゼ⁹⁾ (Table 1) は、脱緑に伴い両酵素活性とも増大がみられた。ブロッコリー花蕾の貯蔵に伴う両酵素の変化についてみたところ (Fig. 6, Fig. 7), クロロフィラーゼ活性は黄化に伴いわずかに低下がみられ、一方、クロロフィル分解ペルオキシダーゼ活性は急増した。ま

Fig. 8. Chlorophyll and derivatives changes during degradation in a broccoli floret extract. The vertical bars represent the average values with SE (n=3).

Chl: chlorophyll, Chlide: chlorophyllide, Phy: pheophytin, Phb: pheophorbide, Pyro-Phb: pyropheophorbide

た、クロロフィルオキシダーゼについて調べたところ、黄化に伴いわずかに活性が低下することがわかった²⁶⁾。

ブロッコリーを使用し、界面活性剤を含む緩衝液により花蕾抽出物を調製し、クロロフィル分解活性の変化について検討した²⁷⁾。Fig. 8 は、ブロッコリー花蕾抽出物によるクロロフィル分解過程を示している。この結果からクロロフィルaの分解に伴いクロロフィリッドaならびにフェオホルバイドaを経由してピロフェオホルバイ

Fig. 9. Changes in composition of chlorophyll and derivatives in the reaction mixture containing an extract from senescing broccoli florets. The extract was obtained from broccoli florets stored at 15°C. Data show the composition of chlorophyll and derivatives after 4 hrs of the reaction. Individual values are calculated as a percentage of total peak area of chlorophyll a and derivatives. The vertical bars represent the average values with SE (n=3).

Chl: chlorophyll, Chlide: chlorophyllide, Phy: pheophytin, Phb: pheophorbide, Pyro-Phb: pyropheophorbide

Table 2 Chlorophyll degrading enzyme activities in chloroplasts of fresh mitsuba leaves.

Enzymes	Activities
Chlorophyllase	14.4* ¹
Chlorophyll oxidase	1.0* ¹
Lipoxygenase	4.7* ²
Peroxidase	24.8* ³

*¹Units/mg protein, Unit=ΔO. D. 663nm 0.01/hr

*²Units/mg protein, Unit=ΔO. D. 234nm 0.01/min

*³Units/mg protein, Unit=ΔO. D. 430nm 0.01/min

ドaに分解する系とクロロフィルa-1を経由する系が存在することが推察された。さらに花蕾の黄化に伴うクロロフィル分解活性の変化についてみたところ (Fig. 9), クロロフィリッドaからピロフェオホルバイドaへの分解系は黄化に伴い低下がみられたが、クロロフィルa-1経由の分解系は当日の活性が保持されていた。

さらに、ミツバを用いクロロフィル分解に関与する酵素のクロロプラスト中での存在を調べたところ (Table 2), クロロフィルの初期分解に関与する分解酵素, クロロフィラーゼ, クロロフィルオキシダーゼ, リポキシゲナーゼおよびペルオキシダーゼが含まれていることがわかった²¹⁾。

このように、青果物中にクロロフィルの初期分解に関与する酵素活性がみられること、また、それらの活性はクロロプラストにも存在し、クロロフィル分解に作用していることが示唆された。

3. クロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィル分解

クロロフィル分解酵素のなかで、特に酸化分解に関与し、老化に伴い活性の増大がみられるクロロフィル分解ペルオキシダーゼを取り上げ、クロロフィル分解反応について調べた。市販のペルオキシダーゼを使用し、基質としてp-クマール酸を用い、クロロフィル分解系について調べたところ (Fig. 10), 分解物としてクロロフィルa-1が検出されたが、その生成量はわずかであった²⁸⁾。また、ユズ果実フラベド抽出物を用いクロロフィル分解ペルオキシダーゼによる分解系を調べたところ、クロロフィルa-1の生成に続き、黄色物質が生成された後、無色化するものと考えられた²⁹⁾。このように、クロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィル分解は、クロロフィルオキシダーゼ¹⁰⁾およびリポキシゲナーゼ¹¹⁾とは異なり、中間体としてクロロフィルa-1を顕著に蓄積しないが、両酵素同様、クロロフィルa-1を生成し、その後無色化するものと推察した。また、前述したようにクロロフィル分解ペルオキシダーゼ活性の増大がみられたにもかかわらず、クロロフィルa-1の蓄積はみられなかった。これは、クロロフィル分解ペルオキシダーゼがa-1の分解にも関与しているためと思われる。

次に、クロロフィル分解ペルオキシダーゼの反応基質について調べたところ、パセリーではアピゲニン³⁰⁾、温州ミカンではヘスペリジン⁹⁾ならびにユズではヘスペリジン、ネオヘスペリジン²⁹⁾などフラボノイドのB環のパラ位がヒドロキシル基およびメトキシル基のものが反応

Fig. 10. HPLC chromatograms of chlorophyll a, a-1 and b after the reaction time of chlorophylls degraded in the peroxidase-hydrogen peroxide system.
Reaction mixture: chlorophylls + Triton X-100 + p-coumaric acid + hydrogen peroxide + peroxidase + phosphate buffer (pH 6.0)

Table 3 Chlorophyll degradation by using various phenolic compounds as substrate in the peroxidase-hydrogen peroxide system.

Phenolic compounds (20 μ M)	Chlorophyll a degradation (%)
Monophenols	
p-Coumaric acid	25
Tyrosine	0
o-Diphenols and their derivatives	
D-(+)-Catechin	0
Dihydroxyphenyl-L-alanine (Dopa)	0
Caffeic acid	0
Chlorogenic acid	0
Ferulic acid	2
m-Diphenol	
Resorcinol	24
Flavonoids	
Flavones	
Apigenin	29
Apigenin-7-glucoside	40
Chrysin	0
Flavonols	
Kaempferol	0
Quercetin	0
Myricetin	0
Flavanone	
Naringenin	72
Other	
Gallic acid	0

Reaction mixture: chlorophylls + Triton X-100 + phenolic compounds + hydrogen peroxide + peroxidase + phosphate buffer (pH 6.0)

Fig. 11. Acceleration of chlorophyll degradation by the addition of hydrogen peroxide of the flavedo in wase satsuma mandarin fruit.

Fig. 12. Degradation of flavonoids by the addition of hydrogen peroxide to the flavedo extract of wase mandarin fruit.

Fig. 13. Flavonoid oxidation by the addition of hydrogen peroxide to a reaction mixture including yuzu flavedo extract. The vertical bars represent the average values with SE (n=3).

に関与していることを認めた。その他のフェノール化合物についても検討したところ、Table 3 のように、*p*-クマール酸、アピゲニン、アピゲトリン（アピゲニン配糖体）およびナリンゲニンなどのパラ位にヒドロキシル基を持つフェノール化合物などが基質として作用していることが明らかとなった²⁸⁾。

早生温州ミカンおよびユズのフラベド抽出物を用い、クロロフィル分解ペルオキシダーゼによるフラボノイド酸化がどのようにクロロフィル分解に係わっているかについて検討した^{9), 29)}。早生温州ミカンのフラベド抽出物とクロロフィルの混合物に過酸化水素を添加すると、

クロロフィルの分解がみられたが、加熱処理により酵素失活したものでは分解は認められなかった (Fig. 11)。このクロロフィル分解反応に伴うフラボノイドの変化について調べたところ (Fig. 12)、主要フラボノイドであるヘスペリジンの酸化がみられたが、ナリルチンの分解はほとんどみられなかった。またユズのフラベド抽出物では主要なフラボノイドとしてヘスペリジン、ネオヘスペリジン、ナリンゲニンおよびナリルチンが検出され、クロロフィル分解に伴いナリギンの低下もみられるものの、主にヘスペリジンとネオヘスペリジンが減少した (Fig. 13)。得られた結果から、クロロフィル分解ペルオキシ

Table 4 Effects of various inhibitors on chlorophyll degradation by chlorophyll degrading peroxidase in yuzu flavedo extract.

Inhibitors	Concentration (mM)	Chl degradation*1 (%)
Control		18.8 (100)
Histidine	1.0	18.2 (97)
	5.0	12.7 (68)
2,2'-Bipyridyl	1.0	9.3** (49)
Ascorbate	1.0	13.6 (72)
	5.0	2.5** (13)
Tiron	1.0	0** (0)
Hydroquinone	1.0	19.1 (102)
Dimethylfulan	1.0	13.9* (74)
	5.0	12.5** (66)
NBT	1.0	0** (0)
MnCl ₂ *2	1.0	0.9** (5)

Chl: Chlorophyll, Tiron: 1,2-Dihydroxybenzene-3,5-disulphonic acid,

NBT: Nitroblue tetrazolium, Ascorbate: Sodium ascorbate

*1Chl degradation: Units/g flavedo (Unit= Δ O. D. 663nm 0.01/min)

*2MES buffer (pH6.0) was used in this reaction since the precipitate of MnCl₂ was formed in the phosphate buffer.

*p<0.05 versus Control, **p<0.01 versus Control

Fig. 15. Changes in flavonoid contents of wase satsuma mandarin fruits treated with or without ethylene during storage at 20°C.

*1The fruit were treated with or without 120 ppm ethylene for 12 hrs in a desiccator at 20°C.

ダーゼはヘスペリジンおよびネオヘスペリジンを酸化し、この反応に伴いクロロフィルが分解されるものと考えられた。

続いて、フラボノイド酸化がどのようにクロロフィル

分解に作用するかについて、数種阻害剤を用いて検討したところ (Table 4), 塩化マンガン、ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) ならびにティロン (Tiron) などのスーパーオキシドアニオン消去剤により効果的に阻害されることがわかった²⁹⁾。これらの結果は、クロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィル分解には、活性酸素であるスーパーオキシドアニオンの生成が関与することを示している。ただ、クロロフィル分解に直接作用するのはフラボノイドラジカルなのか、もしくはスーパーオキシドアニオンなのかは今後の検討課題である。また、アスコルビン酸もクロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィル分解を効果的に阻害し^{29), 31)}

(Table 4, Fig. 14), 青果物中のアスコルビン酸含量がクロロフィル保持に大きく関与しているものと示唆される。

さらに、早生温州ミカンを用い、貯蔵中の果皮の脱緑に伴いフラボノイド含量の変化が生じるかについて検討した⁹⁾。Fig. 15 に示したように、エチレン処理により脱緑促進したものではヘスペリジン含量の減少がみられたが、クロロフィル分解ペルオキシダーゼの基質とならないナリルチン含量はほとんど変化がみられなかった。このように *in vitro* での実験同様、貯蔵中の脱緑に伴いヘスペリジンが減少したことは、脱緑にクロロフィル分

Fig. 14. Degradation of chlorophyll in a peroxidase - hydrogen peroxide system with or without ascorbic acid (AsA).

*¹ Reaction mixture: chlorophylls + Triton X-100 + p-coumaric acid + ascorbate + hydrogen peroxide + peroxidase + phosphate buffer (pH 6.0)

*² Reaction mixture: p-coumaric acid + Triton X-100 + ascorbate + hydrogen peroxide + peroxidase + phosphate buffer (pH 6.0)

Fig. 16. Possible pathway of chlorophyll degradation in stored fruits and vegetables. Chl: chlorophyll, Chlide: chlorophyllide, Phb: pheophorbide, Pyrophb: pyropheophorbide

解ペルオキシダーゼが関与していることを示唆するものである。

以上の結果から、クロロフィル分解ペルオキシダーゼによるクロロフィルの分解はフラボノイドなどの酸化によるスーパーオキシドアニオン生成系が関与していること、さらに中間体として酸化型クロロフィルであるクロロフィル a-1 が生じた後、無色化されるものと推察した。

4. ま と め

Fig. 16 はこれまで得られた結果により、収穫後における青果物のクロロフィル分解系についてまとめたものである。青果物におけるクロロフィル分解の初期過程として、クロロフィラーゼが関与するクロロフィリッド a を経由する系と、クロロフィル分解ペルオキシダーゼおよびクロロフィルオキシダーゼなどによる酸化分解が関与するクロロフィル a-1 を経由する系とが存在していることが明らかとなった。この酸化分解にはスーパーオキシドアニオン生成系の関与が考えられることから、非酵素的な分解も生じている可能性がある。そして、貯蔵青果物においてクロロフィル分解が生じる場合、ミツバのように主としてクロロフィラーゼが関与する場合、また、ブロッコリーのように酸化分解が関与する場合など、両分解系の依存度が個々の青果物で異なっているものと推察した。今後青果物のクロロフィル分解制御を考える場合、まず分解系を明らかにし、その後より効果的な制御方法を確立する必要があるものと思われる。

本研究の一部は、アメリカ農務省ベルツヴィル農業研究センター元研究室長 Alley E. WATADA 博士および鹿児島大学農学部橋永文男教授との共同研究として実施し

たものであり、ここに深く謝意を表します。また、実験遂行にあたり、大阪府立大学農学部茶珍和雄名誉教授、同大学農学部上田悦範教授、京都府立大学人間環境学部南出隆久教授、お茶の水女子大学理学部清水碩名誉教授、宮崎大学農学部下川敬之教授および静岡大学理学部塩井祐三教授など、多くの方々のご助言を参考にさせて頂いたことに対し、心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) YAMAUCHI, N. and WATADA, A. E.: *J. Food Sci.*, **58**, 616 (1993)
- 2) YAMAUCHI, N. and WATADA, A. E.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **116**, 58 (1991)
- 3) YAMAUCHI, N. and WATADA, A. E.: *HortScience*, **33**, 114 (1998)
- 4) 北川博敏・川田和秀・樽谷隆之: 園学雑, **51**, 350 (1982)
- 5) 邨田卓夫: 園学雑., **50**, 516 (1982)
- 6) 下川敬之: カラーリング (新園芸学全編, 園芸学会編, 養賢堂, 東京), p.585 (1998)
- 7) AMIR-SHAPIRA, D., GOLDSCHMIDT, E. E. and ALTMAN, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 1901 (1987)
- 8) SHIMOKAWA, K., SHIMADA, S. and YAEIO, K.: *Sci. Hortic.*, **8**, 129 (1978)
- 9) YAMAUCHI, N., XIA, X. and HASHINAGA, F.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **66**, 439 (1997)
- 10) SCHOCH, S., RÜDIGER, W., LÜTHY, B. and MATILE, P.: *J. Plant Physiol.*, **115**, 85 (1984)
- 11) 山内直樹・Watada, A. E.: 園学雑, **58** (別1), 532 (1989)
- 12) LANGMEIER, M., GINSBURG, S. and MATILE, P.: *Physiol. Plant.*, **89**, 347 (1993)
- 13) SHIOI, Y., TOMITA, N., TSUCHIYA, T. and TAKAMIYA, K.: *Plant Physiol. Biochem.*, **34**, 41 (1996)
- 14) HÖRTENSTEINER, S., VICENTINI, F. and MATILE, P.: *New Phytol.*, **129**, 237 (1995)
- 15) SHIOI, Y., TATSUMI, Y. and SHIMOKAWA, K.: *Plant Cell Physiol.*, **32**, 87 (1991)
- 16) ENGEL, N., JENNY, T. A., MOOSER, V. and GOSSAUER, A.: *FEBS Lett.*, **293**, 131 (1991)
- 17) 馬 旭偉・下川敬之: 園学雑, **67**, 261 (1998)
- 18) MATILE, P., HÖRTENSTEINER, S., THOMAS, H. and KRÄUTLER, B.: *Plant Physiol.*, **112**, 1403 (1996)
- 19) THOMAS, H.: *New Phytol.*, **136**, 163 (1997)
- 20) 下川敬之: 植物細胞工学, **6**, 5 (1994)
- 21) YAMAUCHI, N., YOSHIMURA, M., SHONO, Y. and KOZUKUE, N.: *J. Japan. Soc. Food Sci. Technol.*, **42**, 709 (1995)
- 22) KING, G. A. and MORRIS, S. C.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **119**, 1000 (1994)
- 23) ZHUANG, H., HILDEBRAND, D. F. and BARTH, M. M.: *Postharvest Biol. Technol.*, **10**, 49 (1997)
- 24) YAMAUCHI, N., AKIYAMA, Y., KAKO, S. and HASHINAGA, F.: *Sci. Hortic.*, **71**, 35 (1997)
- 25) YAMAUCHI, N. and HASHINAGA, F.: *J. Japan. Soc. Cold Preserva. Food*, **18**, 167 (1992)
- 26) YAMAUCHI, N., FUNAMOTO, Y. and KANETSUNE, Y.: *Food Sci. Technol. Res.*, **5** (1999) (in press)
- 27) YAMAUCHI, N., HARADA, K. and WATADA, A. E.: *Postharvest Biol. Technol.*, **12**, 239 (1997)
- 28) YAMAUCHI, N. and WATADA, A. E.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **63**, 439 (1994)
- 29) 山内直樹・江口國安: 園学雑, **68** (別1), 344 (1999)
- 30) YAMAUCHI, N. and MINAMIDE, T.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **54**, 265 (1985)
- 31) YAMAUCHI, N. and WATADA, A. E.: *Food Preserva. Sci.*, **24**, 17 (1998)