ウメ果実の収穫熟度による低温障害感受性の差異と リン脂質成分及び膜透過性との関連について¹

後藤昌弘²・南出隆久³・岩田 隆

大阪府立大学農学部 591 堺市百舌鳥梅町

Change in Chilling Sensitivity in Mume (Japanese Apricot, *Prunus mume* Sieb. et Zucc.) Fruits Depending on Harvest Maturity
and its Relationship to Phospholipid Composition
and Membrane Permeability

Masahiro GOTO, Takahisa MINAMIDE and Takashi IWATA

College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591

Summary

In our previous paper, it was reported that mume fruits became chilling-insensitive when they were harvested at a late period, and that the surface color of the stone may be a useful criterion of harvest time.

This paper deals with the changes in stone color, K⁺ leakage rate, and phospholipid composition with reference to fruit maturity and chilling sensitivity.

1. 'Ohshuku' mume fruits were harvested at weekly intervals from May 16 to June 13 and investigated for the relation between surface color of the stone and fruit maturity. The stone was white in fruits harvested before May 30, and the embryos were not yet matured. Stone color changed to light brown in fruits harvested on June 6 and the embryos were mature.

2. HCl-soluble pectin content decreased rapidly after June 6 and water-soluble pectin content increased concomitantly. Citric acid content increased and malic acid content decreased during maturation; especially, a marked decrease of malic acid content was found after June 6.

3. The number of days from harvest to the beginning of rapid increase of CO₂ and C₂H₄ production, and peel yellowing, decreased during maturation. A marked decrease was found between May 23 and June 6.

4. As an index of membrane permeability, the rate of K⁺ leakage was measured at 3, 6, 8°C on the harvest day, and its relation to chilling sensitivity was investigated. The rate of K⁺ leakage was low in fruits harvested from May 23 to June 6; these fruits showed high chilling sensitivity.

5. As an index of membrane flexibility, the phosphatidylcholine (PC)/phosphatidylethanolamine (PE) ratio was investigated in relation to harvest maturity. The ratio was very low in fruits harvested from May 23 to June 6, which showed high chilling sensitivity. Fruits harvested on June 13 showed a high ratio and low chilling sensitivity.

From these results it was concluded that the time of stone-color change from white to light brown or brown coincides with a physiological turning point of fruits, and that mume fruits acquire chilling resistance after that.

緒 言

ウメ果実は、果実本来の完熟期よりかなり未熟な段階で利用されるため、果実の成熟や収穫熟度に関する研究は、非常に少ない(7, 16)。また、収穫熟度の判定には

¹ 1986年10月3日受理

² 現在 辻学園栄養専門学校

³ 現在 京都府立大学生生活科学部

明確な指標はなく、暦日と果実の大きさによるのが一般的であるが、小川ら(16)は、核表面の着色する時期がほぼ収穫適期と一致すると報告している。前報(5)では、核表面の色をもとに、収穫期を早期、標準期、後期に分けて、収穫熟度による低温障害発生率の差異を調べ、後期収穫果では障害が極めて少ないことを明らかにしたが、核表面色の変化と果実の成熟との関係、並びに熟度により低温障害感受性が異なる理由については十分な検討を行っていなかった。そこで、本研究ではウメ果実の収穫熟度の指標として核表面色の変化を用いることの意義を、果実内容成分、呼吸及び C_2H_4 生成のパターン、胚の充実度などから調査すると共に、収穫熟度による低温障害感受性の違いを、生体膜の透過性及び構成リン脂質成分の相違より考察した。

材料及び方法

材 料: ウメ果実は、大阪府立大学農場産‘花香美’を1984年5月7日から6月27日まで1週間ごとに8回、大阪府農林技術センター産‘鶯宿’を同年5月16日から6月13日まで同様に5回収穫して用いた。

貯 蔵 方 法: 果実は、前報(5)に準じ、厚さ $30\mu m$ の低密度ポリエチレン袋に入れ、 $1, 3, 6, 8^\circ C$ に保持した。なお、袋は密封せずに端を折り重ねるだけとした。

低温障害発生率の調査: 低温障害は、pitting(及び二次的褐変)あるいは果皮の褐変として現れたが、いずれかの症状が明らかなものを合計して全果実数に対する割合を算出し、低温障害発生率とした。

K^+ 漏出速度の測定: 果皮を含む果肉組織切片($3 \times 3 \times 3 mm$)を調製し、 $1, 3, 6, 8, 10, 20^\circ C$ の水中に静置し、2時間内に漏出した K^+ 量の全 K^+ 量に対する百分率を求め、 K^+ 漏出速度とした。なお、 K^+ 量の測定にはフリュームフォトメーターを用いた。

ペクチン物質含量の測定: 常法(18)により、果皮を含む果肉組織切片 $10 g$ からアルコール不溶性物質(AIS)を抽出した。次に、この AIS $100 mg$ から三浦らの方法(12)に準じてペクチン物質の抽出を行い、各画分中に含まれるウロン酸含量をカルパゾール法(18)によって測定し、ペクチン物質含量とした。

糖含量の測定: ソモギ・ネルソン法(18)によって行った。

有機酸含量の測定: 稲葉らの方法(6)を一部変更で以下の操作で行った。まず、アルコール抽出液 $1 ml$ を減圧乾固し、一夜デシケーター中で乾燥させた後、N,O-Bis-(Trimethylsilyl)-Trifluoroacetamide $0.1 ml$ を加え、 $50^\circ C$ 温湯中で 20 分間振とうした。次に、この反応で得られた有機酸 TMS 誘導体をガスクロマトグラ

フィー (GC) によって分析した。GC は、FID 検出器を用い、 5% OV-17 (AW) カラムで $100 \sim 250^\circ C$ ($6^\circ C/min$) の昇温クロマトグラフィーを行った。なお、定量は、内部標準として試料中に加えたマロン酸のピーク及びあらかじめ作成した標準物質での検量線をもとに行なった。

呼吸量及びエチレン生成量: ヘッドスペース法により、GC で測定した。

総脂質の抽出: Folch らの方法(3)によって行った。

リン脂質の分画及び含量の測定: リン脂質 phosphatidylcholine (PC) 及び phosphatidyl ethanolamine (PE) の分画は、Silicagel G プレート ($20 \times 20 cm$, $0.25 mm$ 厚, ANALTECH 製)を用い、薄層クロマトグラフィーで行った。展開溶媒は、クロロホルム:メタノール:酢酸:水 ($75:25:5:2$, V/V) を用いた。展開後、ヨウ素蒸気でスポットを確認し、注意深く削り取り、クロロホルム:メタノール ($1:1$, V/V) で溶出した。溶出溶媒を飛散させた後、Bartlett の方法(1)でリンを比色定量し、PC, PE に換算した。

結果及び考察

‘花香美’及び‘鶯宿’ともほぼ同様の結果が得られたので、以下では‘鶯宿’を中心にして述べる。

1. ウメ果実の成熟に伴う核表面色の変化と果実内容成分の変化との関係

核表面色が褐変すると低温障害感受性が低下することは前に報告した(5)。しかし、核表面が褐変する前の白色の期間は長く、この間においてもかなり生理的熟度が異なるのではないかと考えられた。そこで、今回は、‘鶯宿’果実を5月16日より6月13日まで1週間ごとに5回

Fig. 1. Growth curve of ‘Ohshuku’ mume fruit and changes of stone color and maturation of embryo.

収穫し、核表面色の変化と果実の内容成分及び生理機能との関係を調査し、核の色による収穫熟度判定の意義を確かめようとした。

(1) 果実の生長 果実の生長は第1図のようであり、5月12日から30日までは、果径、果重ともすみやかに増加し、その後6月6日までは増加が停止、以後再び増加を始め、核果類としては一般的な2重S字生長曲線を示した。この生長が停止する時期は硬核期に相当する(14)。核表面色の変化をみると5月30日までは白色、6月6日では淡褐色、6月13日では褐色となっており、核表面が着色した時期は、硬核期の終了期とほぼ一致していた。また、核を切断してその内部の充実度を調べたが、核が白色の時期においては、透明感のある胚乳部分が多くみられ、胚は生育途中であることを示していた。核が淡褐色となった6月6日収穫果では胚乳部分がなくなり、全てが胚となっていた。したがって、核が淡褐色となるのは、硬核期の終了期であり、この頃に胚がほぼ充実するものと思われた。

このような傾向は、‘花香美’果実においてもみられ、核表面の色は5月28日までは白色、6月4日では淡褐色となり、6月4日収穫果では、胚乳部分がなくなり、胚となっていた。なお、6月25日収穫果の核表面は濃褐色で、胚は乾いた感じに変化しており、さらに成熟の進んだ感じであった。

(2) ペクチン物質の変化 ペクチン物質は、細胞壁を構成する重要な成分で、果実の成熟、軟化に伴いプロトペクチンが可溶性のペクチンに変化する(14, 15)。本研究のウメ果実は未熟な緑熟果について調査したものであるが、その内でも熟度の進展に伴い水溶性ペクチン含量が増加し、塩酸可溶性ペクチン含量(プロトペクチンと考えられる)が減少する傾向を示した(第2図)。特に6月6日から6月13日にかけてその変化が大きく、核が着色するこの時期は熟度が急速に進む転期と考えられた。なお、ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン含量の変化はほとんどなかった。

(3) 糖含量の変化 糖含量の変化をみると、全糖は熟度進展に伴い漸増したが、6月6日以後の増加はごくわずかであった(第3図)。また、還元糖含量の変化はほとんどなかった。

小川ら(16)は、‘南高’及び‘古城’を用いて成熟に伴う全糖含量の変化を報告している。その結果、両品種とも5月下旬までの増加はなく、‘古城’では6月に入ると完熟期まで急増するが、‘南高’では6月中旬以後に急増し、それまでの変化はないとしている。しかし、本調査では、このような急増はみられなかった。これは、品種

Fig. 2. Changes in pectic substance content of 'Ohshuku' mume fruits during maturation. WSP: Water-soluble pectin, PSP: Hexametaphosphate-soluble pectin, HSP: Hydrochloric acid-soluble pectin.

Fig. 3. Changes in sugar content of 'Ohthuku' mume fruits during maturation.

による差異あるいは調査期間のちがいによるものと思われる。

また、核果類は、成熟につれて非還元糖が増加することが知られており、稲葉・中村(7)も樹上成熟中のウメ果実の糖組成を調べ、ショ糖含量が硬核期から完熟期まで増加し続けると報告している。本調査においても、全糖含量の増加に対して、還元糖の変化はほとんどなかったことから、この増加は非還元糖によるものと考えられた。

(4) 有機酸の変化 主要な有機酸はリンゴ酸とクエン酸であり、その含量の変化を調べると成熟に伴いクエン酸が増加し、リンゴ酸が減少した(第4図)。と

Fig. 4. Changes in organic acid content of 'Ohshuku' mume fruits during maturation.

くに、リンゴ酸は6月6日以後急減した。稲葉・中村(7)や垣内ら(9)もウメ果実の樹上成熟に伴う有機酸含量の変化を調べ、本調査とほぼ同様の結果を得ており、ウメ果実のこの有機酸含量の変化は一般的なものと思われた。

(5) 呼吸量とエチレン生成量の変化 次に5月16日から6月13日にわたる5回の収穫果を20℃に貯蔵し、呼吸量及びエチレン生成量の急増開始時期、及び果皮の黄化までの所要日数を調べた(第1表)。その結果、いずれも収穫日が遅くなるほど所要日数が短くなる傾向がみられ、とくに、5月23日と5月30日の間の変化が大きく核の着色が始まる頃に大きな生理的变化が生ずると思われた。なお、5月16日収穫果の黄化は不十分なもので、貯蔵20日でも他の収穫日の果実のような完全な黄化

Table 1. Changes in number of days from harvest to beginning of rapid increase of CO_2 and C_2H_4 production and yellowing of peel of 'Ohshuku' mume fruits.

Harvest date	Rapid increase of		Beginning of yellowing (days)
	CO_2 (days)	C_2H_4 (days)	
16, May	15	15	14*
23, May	10	10	14
30, May	5	6	9
6, June	3	5	7
13, June	2	4	7

* poor yellowing

はみられず、追熟機能が十分に備わっていなかったと思われる。

以上の結果を総合して考えると、外観は未熟な状態であっても、核表面が淡褐色に変化する時期は、果実の生理的転換期の一つと考えられた。稲葉・中村(7)は、種々の段階で収穫した果実のその後の成熟を樹上での成熟と比較した結果から、ウメ果実の成熟に関する内的条件は、核の硬化完了時にすでに完成されていると述べている。本調査において、核の着色期は硬核期の終りとほぼ一致していたことから、核が淡褐色となる時期は、硬核期の終了期、あるいは成熟に関する内的条件の形成時期と密接な関連があるものと思われた。したがって、核表面色の変化を熟度の指標の一つとして利用することが可能であると考えられた。

2. ウメ果実の核表面色の変化と低温障害感受性の関係

1において核表面色の変化を熟度の指標として使うことがわかった。また、前報(5)において、収穫時期がおそくなると、緑熟果実であっても低温障害感受性が低下

Fig. 5. Relationship between the development of chilling injury* and the K^+ ion leakage rate measured at harvest day in 'Ohshuku' mume fruits. * Incidence in 20 days storage.

することを明らかにしたが、なぜこのような現象がみられるかについては調査していなかった。そこで、ここでは核表面色を熟度の指標として、低温障害感受性の熟度による差異を、障害発生機構の一つである“膜変性説”(11, 13)と関連させて種々の調査を実施した。

(1) **K⁺ 漏出速度の相違** まず、5回の収穫果について、膜透過性の指標となる(19, 20) K⁺ 漏出速度の相違、並びに低温障害発生率の差異をそれぞれ 3, 6, 8℃で調べた。なお、K⁺ 漏出速度は収穫当日の果実、障害発生率は各温度で20日貯蔵後の果実についての調査である。その結果、3温度区とも低温障害発生率の高い果実は、収穫当日の K⁺ 漏出速度が低い傾向がみられた(第5図)。この K⁺ 漏出速度は、3, 6, 8℃の低温障害の発生しやすい温度で測定したため、測定時の低温により膜が変性した可能性も一応考えられたが、膜に影響しない温度と思われる20℃水中で調べた K⁺ 漏出速度も同様のパターンを示していた(第6図)。したがって低温障

害発生の大きかった5月23日から6月6日の収穫果では、やはり樹上で膜透過性が低下していたものと思われる。

辰巳ら(19)や山脇ら(20)のウリ類についての報告では、果実を貯蔵した場合、低温障害の発生に伴って K⁺ 漏出速度が増大することを述べている。また、筆者ら(4)も先にウメ果実を 6℃に貯蔵した場合、貯蔵に伴って K⁺ 漏出速度が増大することを報告した。これらは、本調査でみられた障害発生率の高い果実は収穫時に K⁺ 漏出速度が低いことと矛盾しているようにも思われる。上述の辰巳らやその他の調査は、一定収穫日の果実の貯蔵に伴う変化であり、本研究のものは収穫日による変化であるから、直接比較して論ずることはできず、ただ、障害発生率が高くなる時期に膜の機能が変化するものと解すべきかもしれないが、なお疑問が残る。今後、熟度

Fig. 6. Changes in the K⁺ ion leakage rate in 'Ohshuku' mume fruits measured at 20°C on harvest day.

Fig. 8. Changes in PC/PE, PC/total-phospholipid and PE/total-phospholipid ratios of 'Ohshuku' mume fruits during maturation. PC: phosphatidylcholine, PE: phosphatidylethanolamine.

Fig. 7. Changes in total-lipid content (a) and phospholipid content (b) of 'Ohshuku' mume fruits during maturation.

と膜透過性の関係についてさらに検討する必要があると思われる。

(2) 脂質成分の変化 次に、果実の脂質成分について調べたところ、果実 100 g あたりの総脂質含量及びリン脂質含量は成熟に伴い減少し、それらの変化は 5 月 30 日以後顕著であった(第 7 図)。一方、果実 1 個あたりの総脂質含量は、成熟に伴って増加したが、5 月 30 日以後の変化はほとんどなかった(第 7 図-a)。また、生体膜の主要構成成分と考えられるリン脂質含量についても同様の傾向であった(第 7 図-b)。

しかし、リン脂質のうち、膜の柔軟性の指標となる phosphatidylcholine と phosphatidylethanolamine の含量比(PC/PE 比)についてみると、低温障害発生の多い 5 月 23 日から 6 月 6 日収穫果ではその比が小さく、障害発生の低下した 6 月 13 日収穫果では大きくなっていった(第 8 図)。

Chapman(2)、香川(8)、大西(17)は、水相系で極性基の大きい PC は、極性基の小さい PE に比較し、相転移温度(T_0)が約 20°C 低いことを述べている。したがって、PC/PE 比が大きいと低温下でも膜の柔軟性が保持できて、低温障害も起り難いと考えられる。木村ら(10)も、リンゴ果実を用いて、‘国光’は、‘スターキングデリシャス’より PC/PE 比が大きく、そのため低温障害を受け難いのではないかとしている。ウメ果実においても、収穫がおそくなると低温耐性が高まるのは、この PC/PE 比の増大によるものと考えられた。

摘 要

本研究では、‘鶯宿’の緑色果実を 1984 年 5 月 16 日より 6 月 13 日まで 1 週間ごとに 5 回収穫し、核の色で熟度判定ができるかどうかを確かめた。また、収穫熟度による低温障害感受性の違いを、生体膜の透過性及び構成リン脂質成分の相違より考察した。

1. 果実の生長は核果類としては一般的な 2 重 S 字曲線を示した。5 月 30 日収穫果では核表面が淡褐色に変化し、胚の充実がみられた。また、この頃が硬核期の終了期であった。6 月 13 日収穫果では核表面が褐色となった。

2. ペクチン物質の変化をみると、6 月 6 日以後塩酸可溶性ペクチン含量が急減し、水溶性ペクチン含量が急増した。有機酸含量は、成熟に伴いクエン酸が増加し、リンゴ酸が減少した。とくにリンゴ酸の急減は 6 月 6 日以後顕著であった。

3. 5 回の収穫果を 20°C に貯蔵し、CO₂ 及びエチレン生成量の急増開始時期及び果皮の黄化までの所要日数を調べたところ、いずれも収穫日が遅いほど日数が少なく

なる傾向がみられ、とくに 5 月 30 日から 6 月 6 日にかけて大きな変化が認められた。

4. 膜透過性の指標となる K⁺ 漏出速度の変化(収穫当日)、並びに低温障害発生率の差異(貯蔵 20 日)を 3, 6, 8°C で調べたところ、3 温度区とも低温障害発生率の高い収穫日の果実において、K⁺ 漏出速度の低い傾向がみられた。

5. 生体膜の主要構成成分であるリン脂質のうち、膜の柔軟性の指標となる PC/PE 比についてみると、低温障害発生の高い 5 月 23 日から 6 月 6 日収穫果では小さく、障害発生率の低下した 6 月 13 日収穫果ではその比が大きくなった。

謝 辞 本研究の材料を賜った大阪府農林技術センターの各位ならびに実験の協力を得た花岡栄司君に厚く感謝の意を表する。

引用文献

1. BARTLETT, G. R. 1959. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234: 466—468.
2. CHAPMAN, D. 1975. Phase transitions and fluidity characteristics of lipid and cell membranes. *Quart. Rev. of Biophysics* 8: 185—235.
3. FOLCH, J., M. LEES and G. H. SLOANE STANLEY. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497—509.
4. 後藤昌弘・南出隆久・藤井雅弘・岩田 隆. 1984. 低温ショックによるウメ果実の低温障害抑制効果と膜透過性及び膜脂質構成脂肪酸の変化との関係. *園学雑.* 53: 210—218.
5. 後藤昌弘・南出隆久・岩田 隆. 1986. ウメ果実の収穫熟度及び品種による低温障害感受性並びに低温ショック効果の差異. *食品と低温.* 12: 17—24.
6. 稲葉昭次・伊東卓爾・中村怜之輔. 1977. イチゴの作型と果実中の糖および有機酸組成. *岡山大学農学報.* 50: 37—42.
7. 稲葉昭次・中村怜之輔. 1981. ウメ果実の樹上及び収穫後の成熟. *園学雑.* 49: 601—607.
8. 香川靖雄. 1979. 生体膜と生体エネルギー (第 2 版). p. 19—21. 東京大学出版会. 東京.
9. 垣内典夫・石川和子・森口早苗・京谷英寿・吉田雅夫. 1985. ウメ果実の有機酸と遊離アミノ酸の熟度及び品種別変化. *日食工誌.* 32: 669—676.
10. 木村繁昭・敦賀順一・比内秀己・千葉順一・岡本辰夫. 1981. スターキングデリシャスおよび国光リンゴの収穫直後ならびに保蔵後の複合脂質含量の比較と低温耐性. *日食工誌.* 28: 235—240.
11. LYONS, J. M. 1973. Chilling injury in plant. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 445—

- 466.
12. 三浦 洋・萩沼元孝・水田 昂. 1963. ナシペクチンの性状に関する研究——主として洋ナシパートレットの生育ならびに追熟中におけるペクチンの性状について. 園学雑. 32: 27—36.
13. 邨田卓夫. 1980. 青果物の低温流通と低温障害. コールドチェーン研究 6: 42—50.
14. 中川昌一. 1978. 果樹園芸原論. 養賢堂. 東京.
15. 緒方邦安編. 1977. 青果保蔵汎論. 建帛社. 東京.
16. 小川正毅・山内 勸・角田秀孝・小松英雄・石崎政彦. 北野欣信. 1979. 青ウメ果実の熟度指標確立試験. 和歌山県果試研究成績 (昭和 53 年度). p. 75—86.
17. 大西俊一. 1980. 生体膜の動的構造. p. 56—61. 東京大学出版会. 東京.
18. 大阪府立大学農学部園芸学教室編. 1981. 園芸学実験・実習. 養賢堂. 東京.
19. 辰巳保夫・邨田卓夫. 1978. 青果物の低温障害に関する研究 (第 1 報). キュウリ果実の低温障害と生体膜の変性について. 園学雑. 47: 105—110.
20. 山脇和樹・富山光子・茶珍和雄・岩田 隆. 1983. キュウリ果実の低温障害とミトコンドリアの機能変化との関係. 園学雑. 52: 332—338.