キウイフルーツ果汁のアクチニジン濃度 およびプロテアーゼ活性の品種間差

西山一朗[§], 大田忠親*

Varietal Difference in Actinidin Concentration and Protease Activity in the Kiwi fruit Juice

Ichiro Nishiyama[§] and Tadachika Oota*

Department of Food and Nutrition, Komazawa Women's Junior College,
Sakahama 238, Inagi-shi, Tokyo 206-8511

* Isotope Center, Faculty of Applied Bio-Science, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

Actinidin, a cysteine protease in kiwi fruit, is known to affect the taste, allergenic properties and characteristics for food processing of the kiwi fruit. In six *Actinidia deliciosa*, five *A. chinensis* and two *A. arguta* cultivars, the actinidin concentration and the protease activity in the fruit juice were determined by quantitative sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and spectrophotometric assay using *L*-pyroglutamyl-*L*-phenylalanyl-*L*-leucine *p*-nitroanilide as a substrate. In Abbott, Koryoku, Kuimi and Sinzan, both actinidin concentration and protease activity in the juice were significantly higher than those of Hayward, the most common cultivar of kiwi fruit. In contrast to these cultivars, protease activities in Rainbow red, Hort16A and Kosui fruit juice were less than 7% of that of Hayward. In these three cultivars, little or no proteolytic effect on milk or pork myofibrillar proteins was observed. These results indicate that there is a wide range of varietal difference in actinidin content in kiwi fruit.

(Received Feb. 12, 2002; Accepted Mar. 6, 2002)

キウイフルーツは、中国を原産地とするマタタビ科マタタビ属の植物である。現在日本国内で入手できるキウイフルーツの品種は十数品種にのぼるが、これらは中国から導入された *Actinidia chinensis*, ニュージーランドで品種改良された *A. deliciosa*, および、近縁のサルナシとキウイフルーツとの交配種である *A. arguta* に大別される¹⁾。このうち、今日経済栽培品種として流通している品種は、ほとんどがヘイワード種 (*A. deliciosa* cv. Hayward) であり、単にキウイフルーツといった場合には、この品種を示している²⁾。

キウイフルーツ果実の特徴としては、i) 独特の淡緑色～濃緑色を示す果肉色、ii) 極めて高いビタミンC含

量、iii) 果実表面に密生する茶褐色の毛茸、iv) タンパク質分解酵素であるアクチニジン (EC 3.4.22.14) を含むこと、などが挙げられる³⁾。特にアクチニジンに関しては、キウイフルーツの機能性や調理・加工特性に、大きな影響をもつことが知られている。たとえば、キウイフルーツの果汁^{4)~6)} や精製アクチニジン⁷⁾ は、食肉タンパク質を加水分解するため、食肉軟化剤として利用されていることが報告されている。また、タンパク質の消化促進効果も期待されている。一方アクチニジンによって生じる問題点としては、ゼラチンゼリー形成阻害⁸⁾ や、主要アレルゲンとして食物アレルギーを引き起こす可能性⁹⁾、生食時の口腔刺激性¹⁰⁾ などが報告されている。また、

駒沢女子短期大学食物栄養科 (〒206-8511 東京都稲城市坂浜 238)

* 東京農業大学応用生物科学部アイソトープセンター (〒156-8502 東京都世田谷区桜ヶ丘 1-1-1)

[§] 連絡先 (Corresponding author), nishi@komajo.ac.jp

Table 1 Varietal characteristics of kiwi fruit

Cultivar	Species	Fruit weight* (g)	Color of flesh	Density of hairs
Hayward	<i>A. deliciosa</i>	93.3±3.6	green	dense
Bruno	<i>A. deliciosa</i>	89.9±2.2	green	dense
Abbott	<i>A. deliciosa</i>	75.3±2.1	green	dense
Elmwood	<i>A. deliciosa</i>	117.1±4.5	green	dense
Koryoku	<i>A. deliciosa</i>	117.1±5.7	deep green	dense
Sanryoku	<i>A. deliciosa</i>	107.2±5.3	yellow green	sparse
Kuimi**	<i>A. chinensis</i>	113.5±3.9	yellow green	sparse or absent
Koshin	<i>A. chinensis</i>	102.0±2.5	yellow	sparse or absent
Golden king	<i>A. chinensis</i>	117.3±4.4	yellow	sparse or absent
Rainbow red	<i>A. chinensis</i>	76.0±0.9	yellow, partly red	absent
Hort16A***	<i>A. chinensis</i>	93.1±1.6	yellow	sparse or absent
Kosui	<i>A. arguta</i>	48.6±1.7	deep green	absent
Sinzan	<i>A. arguta</i>	18.2±0.5	green	absent

* Each value represents mean±SE of at least 16 specimens.

** Sometimes called "Apple kiwi" or "Kaimitsu."

*** Known commercially as "ZESPRI Gold" kiwi fruit.

ヨーグルトなどと混ぜ合わせるとき、乳タンパク質の加水分解に起因すると考えられる苦味が発生することも、経験的に知られている。

以上のようにキウイフルーツに含まれるアクチニジンの量や活性の相違は、食品学的に重要な要素であるにもかかわらず、ヘイワード種以外の品種におけるアクチニジン含量や活性についての報告は、極めて限られているのが現状である⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾。そこで本研究では、国内で入手可能な 13 品種のキウイフルーツについて、そのアクチニジン含量ならびにプロテアーゼ活性を測定し、比較することを試みた。

実験方法

1. キウイフルーツ果実

実験に用いたキウイフルーツの品種を Table 1 に示す。ヘイワードの一部とホート 16A は、ニュージーランド産のものを東京都内の青果店にて購入した。香緑、讃緑、香粹およびゴールデンキングの一部は香川県農業試験場より、またレインボーレッドは、静岡県柑橘試験場落葉果樹分場ならびに静岡県小林農園より供与されたものを用いた。ヘイワードの一部とブルーノ、アボット、エルムウッド、魁蜜 (Kuimi, 別名アップルキウイ)、紅心 (別名レッドプリンセス)、信山およびゴールデンキングの一部については、東京都、埼玉県ならびに静岡県下のキウイフルーツ農園にて購入した。キウイフルーツ果

実のアクチニジン活性は、追熟に伴い上昇することが報告されている⁽¹²⁾ ため、いずれも追熟後の適熟果実を実験に用いた。各品種とも、2000 年および 2001 年のそれぞれに 8 果以上 (合計 16 果以上) を入手し供試した。

2. キウイフルーツ果汁の調製

果実を剥皮した後、果肉をすりおろし、4 重のガーゼを用いて搾汁した。この搾汁を遠心分離 (12 000×g, 4℃, 10 分間) して、得られた上清を果汁とした。果汁の pH は 3.2~4.1 の範囲にあり、また強い緩衝作用を有するため、アクチニジン濃度および活性の測定に供試するときには、5M NaOH により pH 6.0 に調整した。このとき、NaOH の添加により果汁体積は 1~4% 増加したため、アクチニジン濃度や活性を表すときには、それぞれの体積増加分を補正して表示した。

3. アクチニジンの精製

アクチニジンの精製は、ヘイワード果肉を材料として、Brocklehurst *et al.*⁽¹³⁾ の方法に従って行った。すなわち、硫酸沈殿法により粗アクチニジン画分を得た後、Thiopropyl-Sepharose 6B (Amersham Biosciences) カラムを用いたコバレントクロマトグラフィーにより、さらに精製を行った。精製アクチニジン溶液のタンパク質濃度は、牛血清アルブミン (Sigma, Fraction V) を標準として、Lowry *et al.*⁽¹⁴⁾ の方法により定量した。

4. SDS-PAGE 法によるアクチニジン濃度の測定

キウイフルーツ果汁 0.5 ml に、2 倍濃度の電気泳動用

試料緩衝液 (0.1 M トリス-塩酸緩衝液, 4% ドデシル硫酸ナトリウム, 4% 2-メルカプトエタノール, 40% グリセロール, 0.002% ブロモフェノールブルー, pH 6.8) 0.5 ml を加え, 直ちに 100°C, 3 分間の湯煎を施した. この試料液に, 電気泳動用試料緩衝液に溶解した牛血清アルブミン (4 mg/ml, Sigma) 1.0 ml を内部標準タンパク質として添加し, 以下の SDS-PAGE 分析に供した. また, 標準アクチニンとしては, 上記の精製アクチニンを 1~6 mg/ml に希釈し, 上記と同様に前処理して SDS-PAGE 分析に供した.

タンパク質成分の SDS-PAGE 分析は, ミニスラブ電気泳動装置を用い, Laemmli¹⁵⁾ の方法に従って行った. 上記の方法により作製した電気泳動用試料 5 μ l について 12.5% ポリアクリルアミドゲルを用い, 定電流 (20 mA) 80 分間の泳動を行った. 泳動後のゲルは, 常法によりクマジーブリリアントブルー R-250 染色ならびに脱色を施した. 得られた電気泳動像を, イメージセーバー (アトー プリントグラフ AE-6910 型) で記録し, レーンアナライザー Ver. 2.0 (アトー) によりアクチニンの定量を行った.

各品種間の測定値の有意差検定は, F 検定により等分散と判定された場合には t 検定により, また不等分散と判定された場合には, Welch 検定により行った.

5. イムノブロット解析

上記の精製アクチニンを抗原としてウサギに免疫することにより, 抗アクチニン抗血清を作製した. 抗血清の作製は, 旭テクノグラスに委託した.

上記のとおり SDS-PAGE 法により分離したタンパク質を, セミドライブロッティング装置 (アトー) により PVDF (polyvinylidene difluoride) 膜 (Immobilon P, Wattman) に 2 mA/cm², 1 時間の条件で転写した. この PVDF 膜を 0.05% Tween20 を含むトリス緩衝塩溶液 (pH 7.5, TBS-T) で 2 回洗浄した後, 5% スキムミルク (Gibco) を含む TBS-T により, 2 時間のブロッキングを施した. 次に TBS-T で希釈したウサギ抗アクチニン抗血清 (1:4000) により 1 時間インキュベートした後, TBS-T により 4 回洗浄し, 非結合抗体を除去した. アクチニン免疫反応性の検出は, ペルオキシダーゼ標識ヒストファイン SAB-PO (R) キット (ニチレイ) を用い, またペルオキシダーゼ活性は, 0.02% 3,3'-ジアミノベンジジンと 0.005% H₂O₂ を用いて検出した.

6. プロテアーゼ活性の測定

果汁のプロテアーゼ活性は, Filippova *et al.*¹⁶⁾ の方法を改変して測定した. すなわち合成基質である L-

Pyroglutamyl-L-phenylalanyl-L-leucine *p*-nitroanilide (PFLNA, Sigma) を用い, ロイシン残基のカルボキシル側の加水分解による *p*-ニトロアニリンの遊離を, 波長 405 nm における吸光度として測定した. 試験管に 25 mM L-システインおよび 10 mM エチレンジアミン四酢酸を含むクエン酸-NaOH 緩衝液 (50 mM, pH 6.0) 0.8 ml とキウイフルーツ果汁 0.1 ml を取り, 25°C の恒温槽内に 5 分間保った. これに 0.1 ml の 5 mM PFLNA (ジメチルスルホキシド溶液) を加え混和し, 25°C に 5 分間保持した後, 50% トリクロル酢酸溶液を 0.1 ml 加え反応を停止した. 遠心分離 (10000×g, 1 分間) により除タンパクした後, 光学用マイクロセル (1 ml) 中にて 405 nm の吸光度を測定した. ブランクとしては, トリクロル酢酸溶液を加えた後に酵素基質を加え, 同様に吸光度測定を行った. プロテアーゼ活性は, *p*-ニトロアニリンのモル吸光係数を $\epsilon_{405} = 9920 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ として, 1 分間に遊離される *p*-ニトロアニリンの量によって表した. 有意差検定は, 上記と同様に行った.

7. 筋原線維タンパク質の調製

筋原線維の調製は, 市販の豚もも肉から Claeys *et al.*¹⁷⁾ の方法に従って行った. 得られた筋原線維画分は 10 mg/ml の濃度となるよう, 0.6 M の NaCl 水溶液に溶解し, 以下の実験に供した.

8. 乳タンパク質および筋原線維タンパク質に対するキウイフルーツ果汁の影響

カゼインや筋原線維タンパク質を基質としたとき, アクチニンの最適 pH は 4 前後であることが報告されている⁷⁾¹²⁾ ため, pH 4 の条件にて, 以下の実験を行った. クエン酸緩衝液 (0.2 M, pH 4.0) 25 μ l と 50 μ l のスキムミルク (15 mg/ml, 雪印乳業) あるいは筋原線維タンパク質 (10 mg/ml) とを混和し, 25°C の恒温槽内に 5 分間保った. この反応混液に, あらかじめ pH 4.0 に調整した各品種キウイフルーツ果汁 25 μ l を加え, さらに 25°C にて 10 分間 (スキムミルク) あるいは 30 分間 (筋原線維タンパク質) 保持した. 酵素反応を停止するために, 200 mM モノヨード酢酸を 1 μ l 加え, 1 分後に上記の 2 倍濃度電気泳動用試料緩衝液 100 μ l を加えた. 直ちに 100°C, 3 分間の湯煎を施し, 放冷した後その 5 μ l を 12.5% あるいは 7.5% のポリアクリルアミドゲルを用いた SDS-PAGE 分析に供した. 対照実験としては, 果汁に替えてクエン酸緩衝液 (50 mM, pH 4.0) を用い, 同様の操作を行った. α -および β -カゼイン標品 (Sigma) も試料緩衝液に溶解し, 同様に SDS-PAGE 分析に供した.

Fig. 1 SDS-PAGE analysis of kiwi fruit juice proteins of various cultivars

Crude kiwi fruit juice was analyzed on 12.5% polyacrylamide gel. Arrowhead indicates the actinidin band. M: molecular weight marker proteins, 1: Hayward, 2: Bruno, 3: Abbott, 4: Elmwood, 5: Koryoku, 6: Sanryoku, 7: Kuimi, 8: Koshin, 9: Golden king, 10: Rainbow red, 11: Hort16A, 12: Kosui, 13: Sinzan, A: purified actinidin

Fig. 2 Immunoblot analysis of actinidin in kiwi fruit juice preparations of various cultivar

Kiwi fruit juice proteins were electrophoretically separated on 12.5% polyacrylamide gel, and transferred to a PVDF membrane. Actinidin-immunoreactive proteins on the membrane (arrowhead) were detected with the anti-actinidin antiserum. Each lane number indicates the kiwi fruit cultivar as shown in Fig. 1. A: purified actinidin

実験結果と考察

1. 果汁の SDS-PAGE 分析とイムノブロット

キウイフルーツ果汁の電気泳動像を Fig. 1 に示す。アクチニジンのバンドは、分子量 25 000 付近に認められた (Fig. 1, レーン A) が、これに相当するバンドの濃さには、各品種間で大きな差異が認められた。ヘイワードと比較すると、アボット、香緑、魁蜜および信山では、アクチニジンに相当するバンドが顕著に濃く、一方レインボーレッド、ホート 16A および香粹では、このバンドがはっきりとは認められなかった (Fig. 1)。

この分子量 25 000 のバンドが、いずれの品種においてもアクチニジンであることを確認するために、次に抗アクチニジン抗血清を用いたイムノブロット分析を行った。その結果、分子量 25 000 に認められる明瞭なバンドは、すべてアクチニジン抗血清と反応したため、これらはアクチニジンのバンドであることが示された (Fig. 2)。一方レインボーレッド、ホート 16A および香粹では、アクチニジン免疫反応性を示すバンドが認められなかった。

2. アクチニジン濃度の測定法

上記アクチニジンのバンドを、電気泳動法により定量するため、精製アクチニジンを標準物質として、また牛血清アルブミンを内部標準として SDS-PAGE を行った (Fig. 3a)。デンストメトリーによる解析の結果、牛血清

アルブミンバンドの積算値に対するアクチニジンバンドの積算値の割合は、相関係数 $r=0.99$ でアクチニジン濃度に比例することが確認された (Fig. 3b)。この結果より、少なくとも 6 mg/ml までは、この方法によりアクチニジン濃度の測定が可能であることが示された。

3. 果汁のアクチニジン濃度およびプロテアーゼ活性

各品種キウイフルーツ果汁に含まれるアクチニジン濃度とプロテアーゼ活性を測定した結果を、Table 2 に示す。ヘイワードではアクチニジン濃度が 2.91 mg/ml であったが、この値と比較すると、アボット、香緑、魁蜜および信山では、有意に高値を示した (Table 2)。特に魁蜜では、アクチニジン濃度が最も高く、ヘイワードの約 2 倍にも及んだ。また、ブルーノ、エルムウッド、讃緑、紅心およびゴールデンキングの 5 品種においては、アクチニジン濃度にヘイワードとの有意差が認められなかった (Table 2)。レインボーレッド、ホート 16A および香粹では、Fig. 2 の結果よりアクチニジンのバンドが特定できなかったため、濃度測定は行わなかった。なお、キウイフルーツ果実に含まれるアクチニジンは、物理化学的性質や酵素学的性質の異なる 6 種類のアイソザイムから構成されることが報告されている¹⁸⁾ が、それぞれの品種における各アイソザイムの存在比については、今後

Fig. 3 Quantitative analysis of actinidin

(a) Quantitative SDS-PAGE analysis of actinidin (**) was performed using bovine serum albumin (*) as an internal standard. Purified actinidin solution (1-6 mg/ml) was pretreated and subjected to SDS-PAGE using 12.5% polyacrylamide gel as described in the text (lanes 1-6). H: Crude Hayward fruit juice

(b) Densitometric analysis indicated that the ratio of peak area of actinidin band against that of bovine serum albumin band linearly correlated with the concentration of standard actinidin ($r=0.99$).

の検討課題である。

果汁のプロテアーゼ活性についても、アクチニジン濃度とはほぼ同様の結果が得られた。すなわち、アボット、香緑、魁蜜および信山の4品種ではプロテアーゼ活性が有意に高く、一方アクチニジンのバンドが特定できなかったレインボーレッド、ホート16Aおよび香粹では、プロテアーゼ活性がヘイワードの7%以下と、有意に低値を示した。また、その他の5品種のプロテアーゼ活性は、ヘイワードと同程度であった (Table 2)。

この結果より、アボット、香緑、魁蜜および信山の4品種では、果肉や果汁がヘイワード以上の食肉軟化作用や消化促進効果を示すものと期待された。また、レインボーレッド、ホート16Aおよび香粹では、その果肉を食肉加工品やゼラチン、乳製品などと接触あるいは混合しても、タンパク質の加水分解による品質低下を来す危険性が小さいものと推測された。

プロテアーゼ活性が高い品種の中でも、信山果汁の活性は群を抜いており、ヘイワードの30倍以上にも及んだ。これに対し、信山果汁中のアクチニジン濃度は、ヘイワードの1.7倍程度にすぎないため、信山果汁の中に、アクチニジンとは異なる別種のプロテアーゼが共存している可能性が考えられた。あるいは信山果汁に含まれる、見かけの分子量25000のプロテアーゼ自体が、アクチニジンと高い相同性をもつ、より比活性の高い別種の

酵素である可能性も否定できない。これらの可能性につき検討するため、現在、信山果汁より分子量25000に相当するプロテアーゼの精製を試みている。

4. 乳タンパク質および筋原線維タンパク質に対する果汁の影響

ヨーグルトなどの乳製品とキウイフルーツとを混ぜ合わせたとき、しばしば苦味を発生することが経験的に知られているが、これはカゼインなどの乳タンパク質がアクチニジンによって加水分解され、苦味ペプチドを生じるためと考えられている。そこで、乳タンパク質を各品種のキウイフルーツ果汁で処理したときに、乳タンパク質がどの程度分解されるかについて調査を行った。

乳タンパク質に対する各種果汁の影響をSDS-PAGE法により調べた結果をFig. 4に示す。乳タンパク質中の主要なバンドとしては、 α -および β -カゼインが認められた (Fig. 4, レーンN)。この乳タンパク質をキウイフルーツ果汁で処理したところ、レインボーレッド、ホート16Aおよび香粹では、乳タンパク質にはほとんど変化が認められなかったのに対し、それ以外のすべての品種では、 α -および β -カゼインをはじめとする乳タンパク質のバンドが、ほぼ完全に消失した (Fig. 4)。この結果より、レインボーレッド、ホート16Aあるいは香粹を用いることにより、非加熱の果肉と乳タンパク質とを混合するような調理・加工を行ったときの、苦味の発生が

Table 2 Actinidin concentration and protease activity in kiwi fruit juice from various cultivars

Cultivar	Actinidin concentration (mg/ml)	Protease activity (nmol pNA released/min)
Hayward	2.91±0.18	6.34±0.78
Bruno	3.13±0.12	5.59±0.23
Abbott	3.89±0.14**	10.2 ±1.0 *
Elmwood	3.05±0.14	5.75±0.18
Koryoku	4.35±0.11**	11.9 ±0.53**
Sanryoku	3.16±0.24	7.66±0.29
Kuimi	5.74±0.28**	13.3 ±1.6 *
Koshin	2.80±0.13	5.47±0.17
Golden king	2.55±0.06	5.92±0.21
Rainbow red	N.D.	0.44±0.02**
Hort16A	N.D.	0.42±0.02**
Kosui	N.D.	0.38±0.04**
Sinzan	4.95±0.18**	208 ±4 **

Each value represents mean±SE of at least 16 experiments.

*: $p < 0.01$, **: $p < 0.001$ vs. the corresponding value of Hayward.

N.D.: not determined

Fig. 4 Proteolytic effects of kiwi fruit juice on milk proteins

Skim milk proteins were treated with kiwi fruit juice of various cultivars at 25°C for 10 min in a citrate buffer (pH 4.0). Specimens were analyzed on 12.5% polyacrylamide gel. Each lane number indicates the kiwi fruit cultivar as shown in Fig. 1. M: molecular weight marker proteins, N: no enzyme control, α : α -casein, β : β -casein

低減される可能性が示された。

筋原線維タンパク質に対する各果汁の影響についても、乳タンパク質と同様の結果が得られた。すなわち、

Fig. 5 Proteolytic effects of kiwi fruit juice on myofibrillar proteins

Pork myofibrillar proteins were treated with kiwi fruit juice of various cultivars at 25°C for 30 min in a citrate buffer (pH 4.0). Specimens were analyzed on 7.5% polyacrylamide gel. Each lane number indicates the kiwi fruit cultivar as shown in Fig. 1. M: molecular weight marker proteins, N: no enzyme control, *: myosin heavy chain, Arrow head: actin

プロテアーゼ活性の低い3品種では、タンパク質の分解はほとんど認められず、その他の品種では、ミオシン重鎖やアクチンに代表される筋原線維タンパク質の顕著な

加水分解が観察された (Fig. 5).

また、各果汁のゼラチンに対する影響を調査したところ、レインボーレッド、ホート 16A および香粹では、ゼラチンの加水分解作用が軽微であり、その果肉やピューレーを加えたゼラチンゼリーがゲル化することを確認した (西山, 発表準備中). これらがゼラチンゼリーの物性に与える影響について、現在詳細に検討を行っている.

本研究により明らかになった、品種によるアクチニジン濃度やプロテアーゼ活性の差異に加え、果肉の色調や毛茸の有無などの特徴 (Table 1) も、果実加工品の商品価値や加工の難易に大きな影響を及ぼし得る. ヘイワードに代表される *deliciosa* 種キウイフルーツの緑色果肉は、成熟果においてもクロロフィルを豊富に含む¹⁹⁾ため、果実としては稀な色調を食品に付与する. また、ピューレーや果汁への加工利用にあたっては、毛茸の混入防止に配慮を要する²⁰⁾が、この点においては、香粹やレインボーレッドのように、無毛の果皮を有する品種の利用が有利であると考えられる. これらの特性以外にも、貯蔵性・輸送性を考慮した上で、それぞれの品種特性を生かした果実の利用法を検討すべきであろう.

要 約

キウイフルーツの品種による有効な利用法を検討するため、果汁に含まれるアクチニジン濃度およびプロテアーゼ活性の品種間差に関する調査を行った. 用いた 13 品種のうち、アボット、香緑、魁蜜および信山では、主要な経済栽培品種であるヘイワードと比較して、アクチニジン濃度やプロテアーゼ活性が有意に高値を示した. そのためこれらの品種では、食肉軟化剤や酵素の供給源としての利用法が有効だと考えられた. 一方、レインボーレッド、ホート 16A、香粹の 3 品種の果汁では、プロテアーゼ活性がヘイワードの 7% 以下と、有意に低値を示し、また乳タンパク質や筋原線維タンパク質の加水分解作用も軽微であった. この結果より、プロテアーゼ活性の低いこれら 3 品種では、ヨーグルトなどの乳製品と混合したときに生じる苦味の発生が著しく低減されるものと期待された.

本実験を行うにあたり、キウイフルーツ果実の御供与や有益な御助言をいただきました香川県農業試験場府中分場の福田哲生氏、香川県高松地域農業改良普及センターの末澤克彦氏、香川県農林生産部農業生産流通課の皆様、静岡県柑橘試験場落葉果樹分場の久田秀彦氏、日本キウイフルーツ協会前理事長の故澤登晴雄先生ならび

に澤登キウイ園の皆様、静岡県小林農園の皆様に深く感謝いたします. また、種々の情報をご提供いただきました福島県吉澤キウイ園、埼玉県城北ファームならびに静岡県伊沢園の皆様に謝意を表します. 駒沢女子短期大学の高橋淑子先生には、技術的な御支援をいただきましたことに感謝いたします.

文 献

- 1) 香川県, 「平成 6 年度種苗特性分類調査報告書, キウイフルーツ さるなし・またたび」, 審査基準作成委員会.
- 2) 末澤克彦, 品種, 「果樹園芸大百科 12 キウイフルーツ」, 初版, 農文協編, (農山漁村文化協会, 東京), pp. 23-26 (2000).
- 3) 垣内典夫, キウイフルーツ, 「シリーズ食品の科学 果実の科学」, 初版, 伊藤三郎編, (朝倉書店, 東京), pp. 122-123 (1991).
- 4) 鮫島邦彦, 崔 一信, 石下真人, 早川忠昭, アクチニジン (キウイフルーツタンパク質分解酵素) による筋肉構成タンパク質の分解, 日食工誌, **38**, 817-821 (1991).
- 5) 堤ちはる, 三好恵子, 谷 武子, 仙北谷至乃, 殿塚婦美子, 永弘悦子, 河野聡子, 吉中哲子, キウイフルーツの豚肉軟化効果について, 家政誌, **45**, 603-607 (1994).
- 6) 西山一郎, キウイフルーツ果汁のタンパク質分解作用—Hayward 種と Hort16A 種の比較—, 家政誌, **51**, 621-626 (2000).
- 7) 西山一郎, 精製アクチニジンによる筋原線維タンパク質分解作用の pH 依存性, 家政誌, **52**, 1083-1089 (2001).
- 8) Arcus, A.C., Proteolytic enzyme of *Actinidia chinensis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **33**, 242-244 (1959).
- 9) Pastorello, E.A., Conti, A., Pravettoni, V., Farioli, L., Rivolta, F., Ansaloni, R., Spano, M., Incorvaia, C., Giuffrida, M.G. and Ortolani, C., Identification of actinidin as the major allergen of kiwi fruit. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **101**, 531-537 (1998).
- 10) Boyes, S., Strbi, P and Marsh, H., Actinidin levels in fruit of *Actinidia* species and some *Actinidia arguta* rootstock-scion combinations. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **30**, 379-389 (1997).
- 11) 和辻敏子, 茶珍和雄, 宮崎正則, キウイフルーツ可溶性タンパク質の電気泳動パターン及びプロテアーゼ活性, 日食工誌, **39**, 966-971 (1992).
- 12) 曾田 功, 金子美穂, 佐藤隆英, 中川弘毅, 小倉長雄, キウイフルーツプロテアーゼの利用につい

- て, 日食工誌, **34**, 36-41 (1987).
- 13) Brocklehurst, K., Baines, B. and Malthouse, P. G., Differences in the interactions of the catalytic groups of the active centres of actinidin and papain. *Biochem. J.*, **197**, 739-746 (1981).
- 14) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 15) Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685 (1970).
- 16) Filippova, I.Y., Lysogorskaya, E.N., Oksennoit, E.S., Rudenskaya, G.N. and Stepanov, V.M., L-Pyroglutamyl-L-phenylalanyl-L-leucine-p-nitroanilide — A chromogenic substrate for thiol proteinase assay. *Anal. Biochem.*, **143**, 293-297 (1984).
- 17) Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B. and Demeyer, D., Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Sci.*, **39**, 177-193 (1995).
- 18) Sugiyama, S., Ohtsuki, K., Sato, K. and Kawabata, M., Purification and characterization of six kiwifruit proteases isolated with two ion-exchange resins, Toyopearl-SuperQ and Bakerbond WP-PEI. *Biosci., Biotech., Biochem.*, **60**, 1994-2000 (1996).
- 19) McGhie, T.K. and Ainge, G.D., Color of fruit of the genus *Actinidia*: Carotenoid and chlorophyll compositions. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 117-121 (2002).
- 20) 小川浩史, キウイフルーツ, 「最新果汁・果実飲料事典」, 初版 (朝倉書店, 東京), pp. 210-213 (1997).
- (平成 14 年 2 月 12 日受付, 平成 14 年 3 月 6 日受理)
-