

トマト果実の追熟温度が、呼吸および有機酸 の変化におよぼす影響について*

小倉長雄・金子隆市郎・阿部雄幸
中川弘毅・竹花秀太郎
(農産製造研究室)

Effect of temperature on the respiratory rate and changes of organic acid contents of tomato fruits during the storage

Nagao OGURA, Ryuichiro KANEKO, Yūkō ABE,
Hiroaki NAKAGAWA and Hidetaro TAKEHANA
Laboratory of Food Science and Technology

Abstract

Effect of temperature on the respiratory rate and changes of organic acid contents of tomato fruits during the storage. N. OGURA, R. KANEKO, Y. ABE, H. NAKAGAWA, and H. TAKEHANA. Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Japan. *Tech. Bull. Fac. Hort. Chiba Univ.*, No. 23 : 17—22, 1975.

Fruits were harvested at mature green stage, and changes of respiratory rate and component of organic acids were determined during storage at 4°, 33°C and room temperature.

Fruits stored at room temperature showed the usual pattern of climacteric respiration during ripening process. However at 33°C, respiratory rate of fruits declined progressively and climacteric peak was not observed. At 4°C, respiratory rate was repressed to low level during storage.

Organic acids of fruit were composed of 10-11 kinds of acids and contents of these acid were changed during storage at various conditions. Compared with normal ripening fruits at room temperature, accumulation of succinic and oxalacetic acids were observed in fruits stored at 4°C, and slight increase of total acidity and citric acid were found and lactic acid was detected in fruits stored at 33°C during storage. Fruits previously stored at 33°C for 20 days and after 200 days stored at room temperature showed a decrease in citric acid and an increase in malic and oxalacetic acids and constituents of acid was remarkably different.

From the relationship between the respiration and changes of components of organic acid during storage, it is considered that the respiration of fruits may be adjustable to the changes of temperature conditions.

緒 言

トマト果実の追熟に温度が大きな影響をもち、緑白熟期の果実を 33°C に貯蔵すると、追熟が抑えられ、生理障害を生ずることもなく長期の貯蔵が可能であることを認めた。特に 33°C に 10~20 日貯蔵後に室内に戻して貯蔵

した果実は、4~7 ヶ月の貯蔵が可能であることを著者らは見出し、貯蔵にともなう成分変化などと共に報告した(小倉ら, 1975-a)。

この興味ある生理現象を解明する目的で、果実の追熟にともなう酵素活性変化を測定した結果、果実の軟化に働くと考えられ、追熟時に活性の急激な増加がみられた、ポリガラクトクロナーゼ、ペクチンエステラーゼ

* トマト果実の貯蔵温度に関する研究(第3報)。報文の一部は昭和50年4月、日本食品工業学会第22回大会で発表した。

(小倉ら, 1975-b) およびインベルターゼ (小倉ら, 1973) の活性は, 33°C 貯蔵の果実中では活性増大が抑えられていた. また酸性フォスターゼ (小倉ら, 1972) とパーオキシダーゼ (小倉ら, 1971) は, 追熟にともない活性の減少がみられた酵素であるが, 33°C の果実では活性減少が, より速やかであることを認めている.

また追熟ホルモンと云われているエチレンの発生も, 33°C 中では抑制されており (小倉ら, 1975-c), これらの現象が, 33°C で果実の追熟が進まずに長期間貯蔵が出来た原因の1つとして考えた.

この現象を呼吸の面よりみると, 貯蔵温度により, 呼吸量に差がみられ, 33°C 貯蔵の果実は, 呼吸量の低下がみられたことなどより, 呼吸の質的な変化があると考え, 呼吸基質である有機酸の変化を, ガスクロマトグラフィを用いて分離定量した結果について報告する.

実験材料および方法

1. 実験材料および貯蔵方法

トマト果実 (*Lycopersicon esculentum*, C. V. Hikari) “ひかり” は本学部の農場で栽培されたものを使用した. 緑白熟期に収穫した果実 (6月) を, 直ちに 4° , 33°C の恒温器および室内に貯蔵した. 33°C に貯蔵した果実の半数を 20 日後に室内に取り出し貯蔵した. 各温度貯蔵区より平均的なものを取出し, -20°C に凍結貯蔵後に試料とした.

2. 呼吸量の測定法

緑白熟期に収穫した果実を, デシケーターに 3~4 個入れ, 発生する CO_2 を 2N-KOH に吸収させ, 約 24 時間毎に蓋をあけ KOH を 1N-HCl で滴定し, KOH の消費量より, 排出された CO_2 量を計算し, 果実 1 kg が 1 時間に排出した CO_2 の mg 量で呼吸量を表わした.

3. 有機酸の分離定量法

a) 試料の調製法

果実を果肉部とゼリー部に分け, それぞれ 50 g を 50 ml の蒸留水とホムジナイズした後, $10,000\times\text{g}$, 20 分の遠心にかけ, 上澄液を 100 ml に定量した後, 滴定酸度, pH を測定した. この液の一定量を取り, アンバーライト CG-120 のカラム, 次にアンバーライト CG-4B に流してよく洗滌した後, CG-4B に吸着された総酸を 2N-アンモニア水で遊離させ, 更にアンモニウム塩を除くため, CG-120 のカラムに通して, 有機酸を単離した. この液を一定量に真空濃縮して, 滴定により総酸量を求めた. この中より一定量を取り凍結乾燥し, 試料とした.

b) 有機酸のブチル化の方法

有機酸はブチル化後にガスクロマトグラフィにかけた. ブチル化法は山下らの方法 (1972) により, 先づ標準の有機酸を用いて行ない, 試料もこれと同様に行なった.

試薬 (特級) の有機酸 2~100 mg を試験管にとり, *n*-ブタノール 2 ml, 硫酸 0.2 ml, 無水硫酸ソーダ 0.5 g を加え, 冷却管とソーダライムを詰めた管を接続させ, マントルヒーターでゆるやかに 30 分加熱する. 冷却後純水と *n*-ヘキサンを加え有機酸のブチルエステルをヘキサン層に移し, 定容後に無水炭酸ソーダを加えた後にガスクロマトグラフィに注入する試料とした.

c) ガスクロマトグラフィの条件

日本電子の JGC-20K を用いた. カラムは, ステンレス製の $3\times 1000\text{ mm}$ のものを用い, 充填剤は 5% レオプレックス 400・クロモゾルプ WAW 80~100 メッシュを用いた. カラム温度は $50^{\circ}\sim 190^{\circ}\text{C}$ とし昇温は毎分 10°C とした. 導入部温度, 280°C , 検出器温度 280°C とし, 検出器は FID, キャリヤーガスは窒素で流速は 20 ml/min, 水素 20 ml/min, 空気 2 kg/cm² で測定した.

実験結果

1. 各温度に貯蔵中の果実の呼吸量の変化

緑白熟期の果実を 4° , 33°C , 室温中に貯蔵した時の呼吸量の変化を Fig. 1 に示す. 室温区の果実はクライマクテリックピークを持った呼吸が見られた. 4°C の果実は呼吸量が低く抑えられて, ほぼ一定を保った. 果実の追熟は全く進まなかった. 33°C の果実は 1 日目に高い呼吸量が見られたが, その後急激な低下が見られ, ク

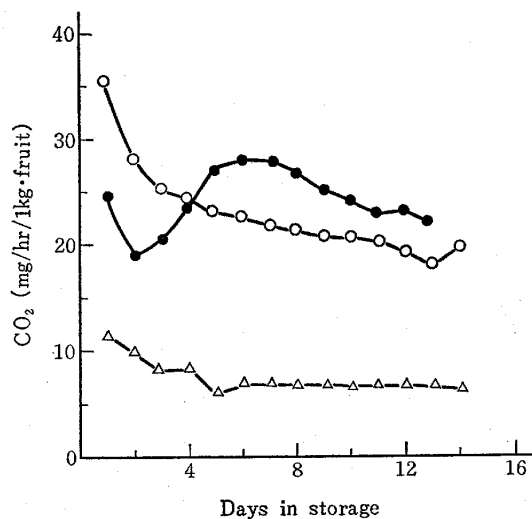


Fig. 1. Respiratory drifts of tomato fruits under various conditions.

○—○ 33°C : ●—● room temp :
△—△ 4°C :

ライマクテリックピークも見られないまま、室温区の果実よりも低い呼吸量になり、その後ほぼ一定を保った。呼吸のクライマテリックが果実の追熟に必要な現象であると考えれば、33°C では追熟が呼吸の面よりも、抑制されていることになり興味ある現象である。

2. 各有機酸の同定と定量法

前記ガスクロの条件で標準有機酸の保持時間を求め、リンゴ酸の保持時間に対する各有機酸の保持時間の比である相対保持時間より有機酸を同定した。相対保持時間を Table 1 に示す。

Table 1. Relative retention time and relative sensitivity of standard organic acid butyl esters

Organic acid butyl esters	R.R.T.*	R.S.**
Lactic acid	0.38	—
Glycolic acid	0.47	0.21
Oxalic acid	0.62	0.62
Oxalacetic acid	0.71	0.16
Glyoxylic acid	0.76	1.75
Maleic acid	0.82	0.78
Succinic acid	0.79	1.22
Malic acid	1.00***	0.78
α -Ketoglutaric acid	1.04	0.51
Tartaric acid	1.36	0.14
cis-Aconitic acid	1.55	1.52
Citric acid	2.05	1.00
Isocitric acid	2.28	—

* R.R.T.; relative retention time

** R.S.; relative sensitivity

*** Relative retention time 1.00 represent 15 min of retention time at described condition.

定量は各々一定量の有機酸が描く、チャート上の面積（ピークの高さ×半値幅）を求め、クエン酸の面積（1 mg, 感度 1×10^{-9} , で測定の時 13 mm²）に対する。各有機酸の面積比を求めて、相対感度として、Table 1 に示す。試料中の各有機酸含量は次式によって求めた。

$$\frac{\text{ピーク面積}}{13} \times \frac{1}{\text{注入した試料} \mu\text{l}} \times \frac{1}{\text{相対感度}} \\ = \text{有機酸の mg 数 (ブチル化した時点の有機酸量)}$$

3. 有機酸の変化におよぼす貯蔵温度の影響

a) 総酸度の変化

トマト果実の果肉部とゼリー部の全酸を、クエン酸として表した変化を Table 2 に示す。緑白熟期の果実では、酸はゼリー部に多く、果肉部の約 2 倍の含量を示した。追熟につれて酸度の減少が見られたが、ゼリー部での減少が激しかった。4°C 貯蔵の果実では減少は少なく、33°C 貯蔵の果実の果肉部では、酸度が増加する傾

Table 2. Changes of total acidity in tomato fruits during storage at various temperatures

Days after harvest	Amount of acid as citric acid (%)					
	Jelly			Pericarp		
	4°C	Room temp.	33°C	4°C	Room temp.	33°C
0	1.09			0.59		
4	—	0.77	—	—	0.44	—
10	1.11	0.74	1.02	0.51	0.52	0.68
20	0.74	0.63	0.96	0.42	0.47	0.68
36	1.14	—	—	0.52	—	—
55	—	—	1.04	—	—	0.78
150	—	0.50*	—	—	0.43*	—
200	—	—	—	—	0.48*	—

* Fruits previously stored at 33°C for 20 days.

向が見られた。33°C 貯蔵後に室温で貯蔵した後 150, 200 日を経た果実では、ゼリー部が消耗してほとんどなくなるが、果肉部での酸度の減少は比較的少ない。

b) pH の変化

pH もゼリー部がわずかに低い値を示し、追熟につれゼリー部は pH が高くなるが、果肉部ではほとんど変化は見られない。4°C の果実では両部とも変化は見られず 33°C では貯蔵 20 日頃までは低くなり、その後高くなる傾向を示した。33°C 処理後 200 日のものは pH 4.95 と大分に高い値を示した。以上の結果を Table 3 に示す。

c) 果実中の有機酸の組成と貯蔵中の含量変化におよぼす温度の影響

各温度貯蔵区の果実の果肉部とゼリー部の酸を単離しブチル化後ガスクロマトグラフィで分離定量した値を、

Table 3. Changes of pH in tomato fruits during storage at various temperatures.

Days after harvest	pH					
	Jelly			Pericarp		
	4°C	Room temp.	33°C	4°C	Room temp.	33°C
0	4.10			4.36		
4	—	4.12	—	—	4.37	—
10	4.11	4.16	3.98	4.37	4.20	4.20
20	4.10	4.38	4.01	4.37	4.32	4.18
36	4.05	—	—	4.55	—	—
55	—	—	4.37	—	—	4.62
150	—	4.62*	—	—	4.67*	—
200	—	—	—	—	4.95*	—

* Fruits previously stored at 33°C for 20 days.

Table 4. Quantitative determination of organic acids in tomato fruit (pericarp) during storage at various temperatures by gas-chromatography

Condition Day	Room temp.				4°C			33°C			33° → Room temp.	
Acid	0	4	10	20	10	20	36	10	20	55	150	200
Lactic	—	—	—	±	—	+	±	+	++	+++	—	±
Oxalic	15.6	17.3	20.4	13.1	18.8	16.2	22.1	12.8	24.4	13.2	9.5	17.6
Oxalacetic	121.6	73.8	85.9	76.0	88.2	96.0	189.6	83.2	80.8	132.5	164.7	112.0
Glyoxylic	3.6	1.7	0.6	1.4	0.4	1.0	+	0.4	0.5	1.6	1.6	0.6
Succinic	13.4	1.4	0.5	0.5	2.7	15.4	46.7	0.3	13.4	8.0	0.1	26.2
Maleic	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Malic	56.2	45.8	27.2	46.0	127.4	31.6	27.6	55.0	14.3	65.9	61.2	153.8
α-Ketoglutaric	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—
Tartaric	9.2	12.7	18.7	19.5	3.2	3.0	9.7	12.6	0.9	2.3	29.1	25.5
cis-Aconitic	0.7	0.9	0.1	0.4	0.5	0.4	1.6	0.6	—	0.7	0.4	1.2
Citric	361.6	284.6	367.0	312.7	257.8	268.8	255.6	511.3	536.2	513.7	165.1	115.9

mg/100 g pericarp

Table 5. Quantitative determination of organic acids in tomato fruit (jelly) during storage at various temperatures by gas-chromatography

Condition Day	Room temp.				4°C			33°C			33° → Room temp.	
Acid	0	4	10	20	10	20	36	10	20	55	150	
Lactic	—	—	—	±	±	—	±	—	+	+++	±	
Oxalic	2.1	5.7	6.2	7.3	10.0	9.1	8.5	3.6	7.1	6.8	9.2	
Oxalacetic	38.2	88.1	37.4	95.7	71.4	43.0	30.8	45.5	51.7	139.8	97.1	
Glyoxylic	1.3	0.6	0.2	0.1	0.3	0.7	0.1	0.1	0.2	0.8	1.7	
Succinic	3.2	1.4	0.7	0.7	3.2	2.2	8.0	3.5	1.9	6.9	0.3	
Maleic	4.4	—	0.3	—	—	—	+	0.7	—	0.5	—	
Malic	171.5	76.9	31.5	43.6	280.0	94.4	76.1	53.0	40.3	43.1	80.3	
α-Ketoglutaric	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Tartaric	9.7	10.2	4.0	—	1.0	4.9	7.9	8.9	—	4.1	10.8	
cis-Aconitic	4.2	1.0	0.3	0.4	0.7	0.6	3.8	2.5	0.6	1.7	0.4	
Citric	853.6	584.2	618.1	463.0	776.4	556.9	963.1	891.7	875.6	771.0	307.9	

* mg/100 g jelly

100 g 中に含まれる mg 数で表わした結果を Table 4 および 5 に示す。

これらの結果より、トマト果実中の酸はクエン酸が一番多いこと、果肉部とゼリー部では酸の含量組成が異なることが見出された。

緑白熟期の果実のゼリー部は、クエン酸が 78%、リンゴ酸 15%、オキザロ酢酸 3.5% であるが、果肉部ではオキザロ酢酸含量が高く 20.8% を占めていた。

室温で貯蔵した果実は追熟につれて、TCA サイクル上のクエン酸、リンゴ酸、コハク酸、シスアコニット酸は減少したが、蔞酸、酒石酸は増加した。オキザロ酢酸はゼリー部では増加し、果肉部では減少した。グリオキシル酸は減少した。

4°C 区の果実は、酸度の減少は少ないが、果肉部でコハク酸含量が増加した点とオキザロ酢酸が 36 日目で増加していた点が見られた。ゼリー部でもコハク酸の増加が見られ、10 日目でオキザロ酢酸が増加していた。クエン酸、リンゴ酸含量には、凸凹が目立った。

33°C 区の果実は、両部ともクエン酸の増加が見られ特に果肉部に於て著しい点と、両部に蔞酸が認められたことが特徴であった。ゼリー部では、オキザロ酢酸、蔞酸の増加とリンゴ酸の低下が見られ、果肉部でもオキザロ酢酸の増加が見られたが、リンゴ酸は大きな変化は認められなかった。グリオキシル酸は増加する傾向を認めた。

33°C に 20 貯蔵後に室温で 150 日貯蔵した果実では、

酸度がゼリー部では 1/2 に減少したが果肉部の減少は 1/4 にとどまった。両部とも、クエン酸の減少が目立ったのに対し、オキザロ酢酸は増加し、リンゴ酸の減少は少なく、果肉部では、クエン酸 38%, オキザロ酢酸 38%, リンゴ酸 14%, ゼリー部ではクエン酸 60%, オキザロ酢酸 19%, リンゴ酸 16 の組成に変化した。更に 200 日の果肉部では、クエン酸 27%, リンゴ酸 36%, オキザロ酢酸 26%, コハク酸 6% の酸組成をもつものに变化した。

以上の如く各温度で貯蔵された果実の間に、また貯蔵期間にともなう熟度の中で、有機酸のプールの割合が異なっており、有機酸を呼吸の基質と考えれば、それぞれの環境に応じた呼吸をしており、正常な呼吸とは異った呼吸をしているとも考えられた。

考 察

緑白熟期の果実は室温では、呼吸のクライマクテリックピークをもち追熟が正常に進んだが、4°C では呼吸量は少なく、追熟は進まず低温による障害が見られるようになった。33°C 区の果実は、クライマフテリックを生ずることもなく呼吸量の低下が見られ、室温区より低い呼吸を保った。

バナナ、オレンジ、イチヂクなどは、30~32°C で最も高い呼吸量を示し (BIALE, 1960)、トマトも 33°C で呼吸は上昇すると思われたが実験結果は呼吸量は低下した。アボカドは 30°C 以上の温度で呼吸量が低下し高温による障害が生ずることが報告され (BIALE, 1960)、最近 MAXIE ら (1974) も洋梨も 30°C 以上の温度では、呼吸の低下が見られ追熟がすすまず、障害の生ずることを報告している。トマト果実も、40°C では障害の生ずることを著者は認めておるが、33°C では障害は認められない。しかし果実内に乳酸が生じたり、有機酸の含量割合に差が生じたことは、呼吸の低下、クライマクテリック現象のないことと共には呼吸に質的転換が生じたものと考えられる。

有機酸の分離定量法には、塩の溶解度を利用する方法 (坂口ら, 1932)、珪藻土やシリカゲルを用いる法 (BULLEN ら, 1952)、イオン交換クロマトグラフィ (BUSCH ら, 1952)、ガスクロマトグラフィによる方法などがあるが実験はガスクロマトグラフィを用いた。不揮発性の有機酸はガスクロにかけ前の処理が必要であり、シアゾメタンを用いてメチルエステル化する方法が行なわれてきた (LUKE ら, 1963) がエステルの高揮発性、脱水の困難さのために、定量的なエステル化が阻害されることにより、今回は操作の簡単な点と、エステルの安定性などより注目されてきたブチル化する方法を試みた。こ

こで問題になる点は、酸のブチル化率と、ブチル化の際に分解物と思われる物質が合成されて、一部有機酸のピークと重なる点である。標準有機酸の同量をブチル化して、ガスクロに注入しても、ピーク面積が同じにならないことにより、今回はクエン酸のピーク面積を規準とした相対感度を求めて定量した。またガスクロによる分離定量は、ガスクロの条件、すなわち充填剤、温度条件、キャリアーガスの流量などが大切であるが、今回は種々検討した結果実験方法に述べた条件が最もよかったのでこれを用いた。しかしこの条件でも、コハク酸とフマル酸の分離が困難であり、フマル酸はコハク酸として定量した。

トマト果実の貯蔵中の生理を有機酸の変化の面より調べた結果は、果実の果肉部とゼリー部では、有機酸含量や組成比に差があり、貯蔵中の変化も異なることにより独立的に働いているように思われる。

リンゴが低温障害をうけると、ピルビン酸、オキザロ酢酸、 α -ケトグルタル酸の異常な増加がみられ、 α -ケト酸の代謝異常によるものと考えられ (HULME ら, 1964)、ガス障害をうけた洋梨などは、コハク酸の蓄積が認められ (WILLIAMS, 1964)、原因はミトコンドリアの呼吸系酵素特にコハク酸脱水素酵素が阻害されることによると推察された、果実の生理障害と呼吸作用を結びつけ、この呼吸作用を有機酸の代謝の面で説明している。

トマト果実も 4°C に貯蔵すると呼吸量が低く生理障害を生ずるが、ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸の増加は見られないが、オキザロ酢酸、コハク酸の蓄積が見られるようになり、TCA サイクルがよく回らなくなった為と思われる。

33°C 貯蔵の果実では、室温での呼吸より低くなることが認められ、クエン酸の増加や乳酸が認められたり、正常な追熟をした果実では見られない現象が見られた。

33°C 処理後 150 日、200 日を室温で貯蔵した果実では、クエン酸の減少とオキザロ酢酸の増加およびリンゴ酸の蓄積が見られ、200 日の果実の果肉部では、リンゴ酸含量が 36% で一番多い酸になっていた。オキザロ酢酸はコハク酸脱水素酵素を阻害することは知られておりこの蓄積は生理障害を生ずる前段階とも考えられる。

以上貯蔵温度を変えて貯蔵した果実は、貯蔵期間の日数により可成りの有機酸組成の変化が認められ、この面より呼吸の質的な転換があり、いろいろの呼吸様式をとっていることが考えられる。DOYLE ら (1960) はトマト果実において、ラベルされたグリオキシル酸が、リンゴ酸や炭水化物にも取込まれたことにより、マレイトシンターゼの存在をあきらかにし、グリオキシル酸回路の

存在を報告している。今回の実験でも、室温区ではグリオキシル酸が減少していることや 33°C 区の果実のゼリー部では、グリオキシル酸が増加してきたことを認めており、33°C では蔞酸、リンゴ酸の増加とも考え合わせると、グリオキシル酸回路による代謝の関与が多くなったことが考えられる。この点については、酵素活性の面やアイソトープを用いた実験より、呼吸の質的転換や経路について明らかにしてゆきたい。

摘 要

緑白熟期のトマト果実を 4°, 33°C および室温に貯蔵し、呼吸量、酸度およびガスクロを用いて有機酸の変化を測定した結果

1) 室温ではクライマクテリックピークをもつ呼吸と追熟がみられたが、4°, 33°C ではクライマクテリックがみられず追熟は進まず、呼吸量は低く抑えられた。

2) 果実のゼリー部と果肉部では、ゼリー部の酸度が高く、追熟にともなう酸度の減少が大きい。

3) 正常に追熟した果実に比し、4°C 貯蔵の果実ではコハク酸、オキザロ酢酸の増加が見られ、33°C の果実では、クエン酸の増加と乳酸が見られた。また 33°C 処理後、150, 200 日を室温で貯蔵した果実では、クエン酸の減少とリンゴ酸、オキザロ酢酸の蓄積が大きくなりリンゴ酸含量が最も多くなった。

終りに本研究に協力を頂いた、本研究室所属であった

清水満二君およびトマト果実を提供して下さった、農場桑原技官に感謝の意を表します。

文 献

- 1) BIALE, J. B. (1960) : Advance Food Res. **10** : 354.
- 2) BULEN, W. A., J. E. VARNER and R. C. BURRILL (1952) : Anal. Chem., **24** : 187.
- 3) BUSCH, H., R. B. HURLBERT and V. R. POTTER (1952) : J. Biol. Chem., **196** : 717.
- 4) DOYLE, W. P. and R. HU (1966) : Plant Physiol., **35** : 745.
- 5) 小倉長雄, 川久保歌子, 飯島 正, 中川弘毅, 竹花秀太郎 (1971) : 千大園報, **19** : 55.
- 6) ———, 陳朔可, 岩下隆弥, ———, ——— (1972) : ———, **20** : 67.
- 7) ———, 伊藤友子, ———, ——— (1973) : 農化大会講演要旨 : 173.
- 8) ———, ———, ——— (1975-a) : 農化, **49** : 189.
- 9) ———, ———, ——— (1975-b) : ———, **49** : 271.
- 10) ———, 林 龍二, 阿部雄幸, ———, ——— (1975-c) : 食品工業学会発表.
- 11) HULME, A. C., W. H. SMITH and L. S. WOOLTON (1964) : J. Sci. Food Agric., **15** : 303.
- 12) LUKE, H. H., T. E. FREEMAN and L. B. KIEE (1963) : Anal. Chem., **35** : 1916.
- 13) 坂口謹一郎 (1932) : 農化, **8** : 751.
- 14) WILLIAMS, M. W. (1964) : J. Agr. Food Chem., **12** : 80.
- 15) 山田市二, 田村太郎 (1972) : 食品工誌, **19** : 62.