

## リンゴ‘北斗’の有袋栽培が貯蔵中の陽向面果皮褐変障害の発生と揮発成分に及ぼす影響

野呂昭司<sup>1</sup>・花房正芳<sup>2</sup>・齋藤貞昭<sup>1</sup>・工藤亜義<sup>1</sup>

<sup>1</sup>青森県りんご試験場 036-0332 黒石市牡丹平

<sup>2</sup>長岡香料株式会社技術開発研究所 507-0005 大阪府茨木市五日市

Effect of Double Paper Bagging on Incidence of Stain and Volatiles on ‘Hokuto’ Apples during Cold Storage

Shoji Noro<sup>1</sup>, Masayoshi Hanafusa<sup>2</sup>, Sadaaki Saito<sup>1</sup> and Tsuguyoshi Kudo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aomori Apple Experiment Station, Kuroishi, Aomori 036-0332

<sup>2</sup>Nagaoka Perfumery Co. Ltd., Research & Development Center, Itsukaichi, Ibaraki, Osaka 507-0005

### Summary

The apple cv. Hokuto is very susceptible to a new skin-browning disorder called stain during storage. To study the cause of ‘Hokuto’ stain, young fruits were individually covered with commercial double paper bags from early June to late September. These shaded fruits were harvested in late October and stored at 0 °C for up to six months. Incidence of stain between bagged and unbagged (control) fruits during storage at 0 °C was recorded and volatiles in their skins were determined by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography.

There was less stain in bagged fruit than in unbagged ones. The same 50 volatiles were identified in the skin of bagged and unbagged fruits during storage. Differences in content of volatile compounds in the skin of bagged fruit were compared to those in unbagged fruit, noting the compositions whose contents were smaller in the skin of bagged fruit than those in unbagged ones. The difference in content of *trans*-2-hexenal was the greatest among the volatiles, followed by 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate and n-amyl acetate, in that order. No difference was found in (*E*, *E*)- $\alpha$ -farnesene whose oxidation products are believed to cause superficial scald.

Exposure of healthy ‘Hokuto’ apples to seven volatiles and farnesene (mixed isomers) at 20 °C for 20 hours showed that both *trans*-2-hexenal and n-hexanal induced stain-like injury at the lowest concentration, followed by n-amyl acetate, n-hexyl propionate and 2-methyl-butan-1-ol, in that order. No symptoms of stain appeared on fruits exposed to n-propanol, *trans*-3-hexenol and farnesene.

Comparison in stain-like injury between C<sub>6</sub>-aldehydes and its C<sub>6</sub>-alcohols i.e. *trans*-2-hexenal and *trans*-2-hexenol, n-hexanal and n-hexanol, revealed that the injury was greater in C<sub>6</sub>-aldehyde than in its respective C<sub>6</sub>-alcohol.

Application of linolenic and linoleic acids, respective precursors of *trans*-2-hexenal and n-hexanal, on ‘Hokuto’ apple skin at 0 °C for four days induced stain-like injury in both unsaturated acids. The injury was greater in linolenic acid than in linoleic acid. However, the degree of the injury decreased remarkably in nitrogen gas.

Results suggest that shading of the apples by double paper bags reduces concentration of *trans*-2-hexenal characteristically and that the shading is related to metabolism of linolenic acid to *trans*-2-hexenal, which were used in these experiments to induce stain-like injury to ‘Hokuto’ apples.

**Key Words:** Apples, Bagging, Stain, Volatiles, *trans*-2-Hexenal

### 緒 言

リンゴ‘北斗’（‘ふじ’×‘陸奥’）における低温貯蔵中の果皮障害は染み状の黒褐色を呈し、従来の貯蔵やけと異

なって貯蔵後数か月以内の早い時期に発生する。しかも果実の陽向面側に発生し易いことから青森県では俗に‘陽向面やけ’と呼ばれている（以下、この障害を陽向面やけと記載する）。この陽向面やけもまた従来の貯蔵やけと同様、遮光袋利用の有袋栽培により減少する（野呂, 1993）。しかし、その理由についてはほとんど研究されていない。

1997年8月1日 受付。1997年9月10日 受理。  
本報告の一部は園芸学会平成6年度東北支部大会で発表した。

そこで、筆者らは貯蔵中における有袋果と無袋果の陽向面やけ発生率を調査するとともに、既報（野呂ら、1996）に準じてこの障害の要因物質としてリンゴの揮発成分を想定し、貯蔵やけとの関連性が報告されている  $\alpha$ -farnesene (Du・Bramlage, 1993; Huelin・Coggiola, 1968, 1970 a, b; Lurie ら, 1991; Meigh, 1970; Meigh・Filmer, 1969) やその他の揮発成分の相違を比較した。さらに、その相違する成分およびその関連物質の陽向面やけに及ぼす影響を検討したので報告する。

## 材料および方法

### 1. 有袋果と無袋果における陽向面やけの差異

‘北斗’を供試し、既報（野呂ら、1996）と同様に1992年6月10日に有袋果と無袋果が結果枝上で互いに隣接するように市販の遮光用二重袋（16.2×19.3cm、外袋は外側が黄緑で内側が黒の紙、内袋は赤のパラフィン紙で構成される）を掛けた。果実を着色させるために二重袋の外袋を9月28日に除去し、日焼け防止の理由からその4日後に内袋を除去した。果実は10月28日に収穫し、直ちに0℃で貯蔵した。

陽向面やけの発生率の調査は、有袋果と無袋果の果実それぞれ100個を供試し、貯蔵2か月後（1992年12月）、4か月後（1993年2月）および6か月後（1993年4月）に行った。有袋果と無袋果における有意差の検定は時期別に $\chi^2$ 検定により行った。さらに、陽向面やけの程度の調査を第2図の脚注に示すように0から5までの範囲で評点し、有意差の検定は時期別にF検定により行った。

### 2. 有袋果と無袋果の貯蔵中における揮発成分の差異

陽向面やけの調査時期に合わせて上述の有袋果と無袋果の果皮の揮発成分を既報（野呂ら、1996）に準じて次のように分析した。すなわち、有袋果と無袋果の果実それぞれ10個ずつを供試し、陽向面やけが発生し易い果実の赤道部からこうあ部にかけての果皮をすべてナイフで剥き、ジュースで破碎した。果皮の採取に当たっては、いずれの貯蔵時期でも陽向面やけの有無にかかわらず同じ部分を採取した。また破碎の際、褐変を抑制するために少量の食塩を添加した。次に石川ら（1994）の方法に準じてこれに内部標準物質として n-butyl benzene を加え、窒素気流中で30 mmHgの減圧下、40℃の湯煎にて減圧水蒸気蒸留を行った。蒸留液のトラップは3か所設け、それぞれのトラップをメタノール・ドライアイスで冷却した。これらのトラップの蒸留液を合わせ、精製ジエチルエーテルを加えて揮発成分を抽出した。これに無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥し、ろ過後にロータリーエバポレータで濃縮してガスクロマトグラフ・質量分析計およびガスクロマトグラフにより分析した。

分析は1反復とした。分析条件は第1表の脚注に示した。

### 3. *trans*-2-hexenal, 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetate および farnesene の陽向面やけ様症状に及ぼす影響

*trans*-2-hexenal, 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetate および farnesene（異性体含有）の市販品を供試し、これら薬剤処理によって陽向面やけ様症状が発現するかどうかを検討した。すなわち、1993年10月28日収穫の‘北斗’の無袋果を0℃で貯蔵し、貯蔵2か月後（1993年12月）と貯蔵4か月後（1994年2月）に既報（野呂ら、1996）に準じて密栓標本びん中に果実を吊り下げ、0から2760  $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$  まで8段階の濃度の薬剤蒸気中に20℃で20時間保持し、障害の発生の有無を調査した。処理は1薬剤濃度当たり1反復とした。その評点方法は第2表の脚注に示したとおりである。

### 4. リンゴ果皮の陽向面やけ様症状に及ぼす $\text{C}_6$ -アルデヒドとその $\text{C}_6$ -アルコールの影響

前述の二つの  $\text{C}_6$ -アルデヒド、すなわち *trans*-2-hexenal と n-hexanal, さらにそのそれぞれのアルコール、すなわち *trans*-2-hexenol と n-hexanol の市販品を供試し、前述の揮発成分の場合と同様の処理方法で  $\text{C}_6$ -アルデヒドとそのアルコールの陽向面やけ様症状に及ぼす差異を比較した。供試果実の‘北斗’は1995年10月28日に収穫し、直ちに0℃に冷蔵した。調査は2か月後（1995年12月）と4か月後（1996年2月）に行った。

### 5. 陽向面やけ様症状に及ぼす linolenic acid と linoleic acid の影響

*trans*-2-hexenal と n-hexanal の植物体におけるそれぞれの前駆物質、すなわち linolenic acid と linoleic acid（畑中、1981）の市販品を用い、酸素の存在する空気中と酸素を遮断した窒素ガス中で次のような実験を行った。

1995年10月28日収穫の‘北斗’の無袋果を0℃に貯蔵した。調査は貯蔵2か月後（1995年12月）と4か月後（1996年2月）に果実10個ずつを供試し、同一果実の赤道部に直径約20mmの円形状に linolenic acid と linoleic acid の市販品の原液をそれぞれ筆で塗布した。その際、塗布後に両不飽和脂肪酸液が流れて混合しないように直径30mmのステッカーに予め直径約20mmの穴を開け、それを果皮に張った後に塗布した。処理果実は0℃で空気中に4日間保持した。同様にして両不飽和脂肪酸を処理した果実10個を内径28cmのデシケーターに入れ、予め0℃で冷却した窒素ガスで内部の空気を置換し、0℃で4日間保持した。

調査は第4表の脚注に示すように0から5の範囲で4日間毎日評点した。デシケーター内の調査はガラス越しに

同様に行った。有意性の検定は Duncan の多重検定により行った。

## 結 果

### 1. 有袋果と無袋果における陽向面やけの差異

無袋果における陽向面やけの発生は貯蔵2か月後以降の時期に見られ、貯蔵4か月後では80%を越えた。有袋果ではそれより遅い貯蔵4か月後以降に発生した。両者の発生率の比較ではいずれの調査時期でも有袋果が無袋果より少なかった(第1図)。また、発生程度を評点した結果の比較ではいずれの調査時期でも有袋果が無袋果より低かった(第2図)。

### 2. 有袋果と無袋果の貯蔵中における揮発成分の差異

収穫直後から貯蔵時期全体を通してみると、有袋果と無袋果の果皮から共通して50種類の揮発成分が同定され(第1表)、両者の間には成分的な相違はみられなかった。

次に、陽向面やけが無袋果より有袋果で少ないことから、いずれの時期でも有袋果において少ない揮発成分に着目し、両者における量的な成分の差異を比較したところ、最も差がみられた成分は *trans*-2-hexenal で、次いで 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetate の順に差がみられた。また、貯蔵やけの関連物質として知られている (*E, E*)- $\alpha$ -farnesene は有袋果と無袋果の間の差に一定の傾向は認められなかった。さらにその異性体の (*Z, Z*)- $\alpha$ -farnesene も検出されたが、有袋果と無袋果の間で差はみられなかった。

これらの揮発成分の貯蔵時期別差異をみると、無袋果における *trans*-2-hexenal, n-hexanal および *trans*-3-hexenol は収穫時から貯蔵2か月後にかけて減少したが、その後は増加した。これに対して、有袋果におけるこれらの成分は n-hexanal で同様の傾向を示したものの、全般に無袋果よりも貯蔵中の変化は少なかった。2-methyl-butan-1-ol と n-propanol は無袋果、有袋果とも収穫時から貯蔵2か月後にかけて減少し、貯蔵4か月後まではほぼ横這いの状態を示した。しかし、貯蔵6か月後ではそれらの成分は無袋果で増加したが、有袋果ではあまり増加しなかった。n-hexyl propionate と n-amyl acetate は上記の成分より含有量が少なく、時期別差異は明確でないものの、有袋果は無袋果より貯蔵中の変化が少ない傾向にあった。

調査時期全体を通してみると、含有量の最も多い揮発成分は ethanol で、次いで (*E, E*)- $\alpha$ -farnesene, n-butanol が順に多かった。これらの時期別差異をみると、ethanol と n-butanol は有袋果および無袋果とも収穫時から増加の傾向を示した。これに対して、(*E, E*)- $\alpha$ -farnesene は有袋果、無袋果とも収穫時から貯蔵2か月後にかけて急激に減少したが、その後はほぼ横這いの傾向を示した。

### 3. *trans*-2-hexenal, 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetate および farnesene の陽向面やけ様症状に及ぼす影響

貯蔵2か月後および4か月後の時期とも *trans*-2-hexenal と n-hexanal の両 C<sub>6</sub>-アルデヒド処理が最も低濃度で陽向面やけ様症状を発現し、次いで n-amyl acetate,

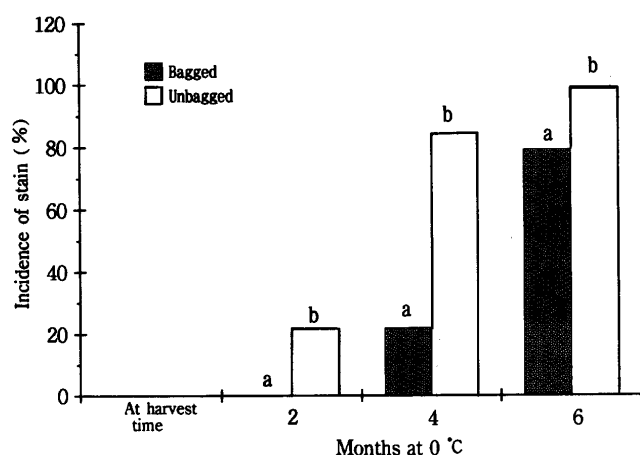


Fig. 1. Difference in incidence of stain between bagged<sup>2</sup> and unbagged 'Hokuto' apple fruits during cold storage.

<sup>2</sup> Young fruits were covered individually with double paper bags for shading on June 10, '92. The bags were left until late September. The outer bags were removed on Sept. 28 and the inner bags were removed on Oct. 2. The fruits were harvested on Oct. 28, and stored at 0 °C.

Different letters represent significantly different values (P=0.01) according to  $\chi^2$  test.

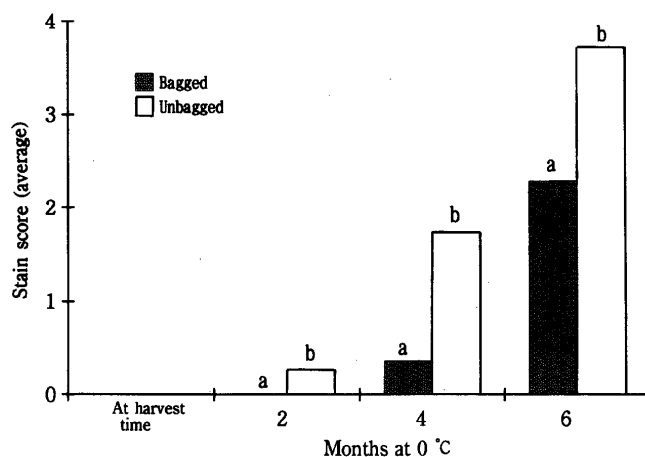


Fig. 2. Difference in the stain score<sup>2</sup> between bagged and unbagged 'Hokuto' apple fruits in Fig. 1.

<sup>2</sup> incidence score: not detected, 0; very light, 1; light, 2; medium, 3; severe, 4; very severe, 5. The score 5 represents the injury of 50% or more on the fruit surface area. Different letters represent significantly different values (P=0.01) according to F test.

**Table 1.** Differences in concentration of volatiles between bagged and unbagged 'Hokuto' apple fruit skins during cold storage.

Identified Volatiles <sup>z</sup>	Amounts of volatiles ( $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) <sup>y</sup>							
	At harvest time <sup>x</sup>		2 months at 0 °C		4 months at 0 °C		6 months at 0 °C	
	Bagged	Unbagged	Bagged	Unbagged	Bagged	Unbagged	Bagged	Unbagged
Ethanol	758.09	1359.32	3011.92	2818.80	4611.72	3245.50	3000.48	6696.96
n-Propanol	11.13	31.18	2.78	3.34	3.34	5.76	4.56	29.18
iso-Butanol	tr <sup>w</sup>	3.60	1.35	1.27	0.40	2.62	3.55	tr
2-Pentanol	tr	tr	2.67	1.57	5.40	5.49	7.87	19.63
n-Butanol	64.85	108.78	108.88	93.35	101.24	132.43	157.29	422.49
2-Methyl-butan-1-ol	31.79	60.79	7.43	9.20	6.32	14.72	18.76	81.37
n-Pentanol	0.88	1.74	0.69	0.53	0.45	0.58	3.24	9.74
n-Hexanol	19.58	34.39	34.02	21.78	36.23	62.94	92.58	224.08
trans-3-Hexenol	3.21	6.22	3.23	3.32	1.98	5.42	4.07	10.03
cis-Linalool oxide (furanoid)	0.25	1.29	0.46	0.61	1.10	1.07	2.30	7.35
trans-Linalool oxide (furanoid)	0.29	0.82	0.29	0.22	0.43	0.31	0.78	3.16
2-Methyl-3-hepten-1-ol	tr	tr	1.72	1.52	4.31	3.07	7.06	15.64
n-Octanol	0.71	0.78	1.72	0.29	2.34	1.73	3.10	4.58
n-Hexanal	6.68	12.61	3.10	3.35	8.77	21.92	18.23	57.37
trans-2-Hexenal	19.02	47.05	9.37	31.93	8.51	56.08	14.94	60.45
2-Methyl butyric acid	80.74	127.06	0.87	0.70	1.61	1.43	7.75	6.86
Ethyl formate	0.67	2.86	0.49	0.38	0.94	1.13	0.80	4.02
Ethyl acetate	3.05	3.51	4.32	3.18	6.47	5.14	4.36	10.42
iso-Butyl acetate	0.52	0.51	1.10	0.52	0.78	0.75	0.81	2.16
Ethyl n-butyrate	2.47	2.59	0.59	0.54	4.36	2.20	11.34	15.70
Ethyl 2-methyl butyrate	1.69	1.92	0.08	0.05	0.46	0.37	2.07	3.19
n-Butyl acetate	6.16	4.86	9.17	17.20	10.94	12.10	5.57	3.73
iso-Amyl acetate	6.28	9.54	3.26	9.27	2.17	5.38	2.53	tr
n-Amyl acetate	0.38	0.55	0.41	0.91	0.46	0.76	0.36	0.45
n-Butyl n-butyrate	1.59	2.47	4.25	4.18	2.95	4.74	1.98	1.50
Ethyl n-hexanoate	3.19	21.34	5.18	2.11	3.32	3.48	14.51	15.20
n-Hexyl acetate	6.04	8.11	17.93	26.50	18.49	30.44	17.69	13.82
iso-Amyl 2-methyl butyrate	0.27	0.81	tr	tr	0.12	0.26	0.09	0.24
n-Propyl hexanoate	1.97	3.59	0.65	0.38	0.58	0.52	0.87	1.62
n-Amyl 2-methyl butyrate	0.43	0.89	0.56	0.42	0.26	0.57	0.45	0.31
n-Hexyl propionate	0.71	1.88	0.65	0.94	0.53	1.81	0.47	0.85
n-Butyl hexanoate	26.28	32.41	21.56	9.71	17.75	13.97	17.33	11.20
n-Hexyl n-butyrate	1.48	1.43	9.07	5.76	12.47	14.94	12.26	10.18
n-Hexyl 2-methyl butyrate	18.94	27.51	5.31	3.17	5.80	9.72	6.90	10.73
Ethyl octanoate	0.82	1.16	0.25	0.08	0.55	0.30	2.50	5.06
iso-Amyl hexanoate	2.15	3.01	tr	tr	tr	tr	tr	tr
n-Amyl hexanoate	3.33	4.50	1.26	0.56	1.41	1.30	1.56	1.07
n-Propyl octanoate	1.39	3.16	0.11	0.09	0.14	0.15	0.19	tr
Ethyl-3-hydroxy butyrate	0.45	0.93	tr	0.19	tr	tr	1.75	20.35
n-Hexyl hexanoate	67.71	76.70	43.31	11.91	57.14	41.96	61.76	28.95
n-Butyl octanoate	16.14	20.97	10.76	4.09	1.66	0.95	tr	0.38
iso-Amyl octanoate	2.98	3.83	0.53	0.27	0.77	0.88	1.02	0.98
n-Hexyl heptanoate	0.94	2.20	0.49	0.38	0.80	1.06	1.00	2.48
n-Amyl octanoate	0.94	0.99	0.49	0.22	0.80	0.48	0.99	1.09
n-Hexyl octanoate	5.43	7.19	3.09	0.95	3.58	2.72	4.44	2.46
n-Butyl decanoate	0.25	1.39	0.31	0.25	0.16	0.25	0.07	tr
(Z, Z)- $\alpha$ -Farnesene	3.78	5.58	1.29	0.47	1.21	1.96	1.17	1.80
(E, E)- $\alpha$ -Farnesene	929.94	1020.04	307.45	86.57	340.58	257.17	217.82	103.56
Limonene	0.91	0.87	0.18	0.16	1.45	2.61	0.26	0.09
Estragole	0.34	1.20	0.74	0.53	0.92	0.74	1.01	3.08

<sup>z</sup> After being destilized, the volatiles were collected with methanol and dry ice traps, and extracted with diethyl ether. They were identified by gas chromatography-mass spectrometry.

The analytical conditions : column, TC-WAX 60 m  $\times$  0.25 mm ID; column temperature, 70  $\rightarrow$  210 °C (3 °C/min); injection temperature, 250 °C ; carrier gas, He 30 ml/min; ion source temperature, 180 °C; ionization voltage, 70 eV; analytical equipment, Hitachi GC-MS M-80 B.

<sup>y</sup> Analyzed by gas chromatography using internal standard, n-buthyl benzene.

The analytical conditions : column, TC-WAX 60 m  $\times$  0.25 mm ID; column temperature, 80  $\rightarrow$  240 °C (3 °C/min); injection temperature, 250 °C; carrier gas, He 30 ml/min; detector FID; analytical equipment, Hitachi 663-30.

<sup>x</sup> Harvest time, Oct. 28, '92.

<sup>w</sup> Trace ( $< 1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

n-hexyl propionate, 2-methyl-butan-1-ol の順に発現した (第2表)。これらのすべての障害は必ずしも '北斗' の陽向面のみに発生するとは限らなかった。n-propanol, trans-3-hexenol および farnesene 処理ではいずれの時期の高濃度処理においても陽向面やけ様症状は発生しなかった。

時期別比較では, trans-2-hexenal において貯蔵4か月後の方が貯蔵2か月後より幾分低濃度で障害が発現する傾向にあるものの, 各成分とも著しい差はみられなかった。

#### 4. C<sub>6</sub>-アルデヒドとそのC<sub>6</sub>-アルコールの陽向面やけ様症状に及ぼす影響

貯蔵2か月後および貯蔵4か月後のいずれの時期でも

trans-2-hexenal はtrans-2-hexenol より, またn-hexanal はn-hexanol より低濃度で陽向面やけ様症状が発現した (第3表)。

時期別比較では, いずれの揮発物質も貯蔵2か月後より貯蔵4か月後の方が幾分低濃度で障害が発現し易い傾向にあった。

#### 5. 陽向面やけ様症状に及ぼすlinolenic acidとlinoleic acidの影響

貯蔵2か月後および貯蔵4か月後とも空気の下ではlinolenic acidとlinoleic acidの両方で陽向面やけ様症状が発生した。両者の比較ではlinolenic acidがlinoleic acidより早く発現し, 褐変症状も前者がひどかった (第4表)。窒素ガスで置換し, 酸素が制限された

Table 2. Effects<sup>z</sup> of volatiles on incidence of stain-like injury in 'Hokuto' apple skins.

Volatiles	Storage time (Months)	Concentration ( $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ ) enclosed							
		0	43.1	86.2	172	345	690	1380	2760
trans-2-Hexenal	2	— <sup>y</sup>	—	—	±	3+	4+	5+	5+
	4	—	—	±	3+	4+	5+	5+	5+
2-Methyl-butan-1-ol	2	—	—	—	—	—	—	—	+
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
n-Hexanal	2	—	—	±	2+	3+	5+	5+	5+
	4	—	—	±	+	3+	5+	5+	5+
n-Propanol	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
trans-3-Hexenol	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
n-Hexyl propionate	2	—	—	—	—	—	—	—	+
	4	—	—	—	—	—	—	±	2+
n-Amyl acetate	2	—	—	—	—	2+	4+	5+	5+
	4	—	—	—	—	2+	4+	5+	5+
Farnesene <sup>x</sup>	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—

<sup>z</sup> After being harvested on Oct. 28, '93, 'Hokuto' apples were stored at 0 °C for 2 or 4 months and exposed to the volatiles for 20 hours at 20 °C.

<sup>y</sup> Incidence score : —, not detected; ±, trace; +, very light; 2+, light; 3+, medium; 4+, severe; 5+, very severe. The score 5+ represents the injury of 90% or more on the fruit surface area.

<sup>x</sup> Mixed isomers.

Table 3. Differences in stain-like injury score<sup>z</sup> between C<sub>6</sub>-aldehydes and its alcohols in 'Hokuto' apple skin.

Aldehyde or Alcohol	Storage time (Months)	Concentration ( $\mu\text{mol}\cdot\text{liter}^{-1}$ ) enclosed							
		0	43.1	86.2	172	345	690	1380	2760
trans-2-Hexenal	2	—	—	—	+	3+	5+	5+	5+
trans-2-Hexenol	2	—	—	—	—	—	—	2+	2+
trans-2-Hexenal	4	—	—	±	2+	4+	5+	5+	5+
trans-2-Hexenol	4	—	—	—	—	—	+	2+	3+
n-Hexanal	2	—	—	—	+	3+	5+	5+	5+
n-Hexanol	2	—	—	—	—	—	—	—	2+
n-Hexanal	4	—	—	±	2+	3+	5+	5+	5+
n-Hexanol	4	—	—	—	—	—	±	+	3+

<sup>z</sup> After being harvested on Oct. 28, '95, 'Hokuto' apples were stored at 0 °C for 2 or 4 months. Method is the same as table 2.

**Table 4.** Effects<sup>z</sup> of C<sub>18</sub> - unsaturated acids on incidence score<sup>y</sup> of stain-like injury in 'Hokuto' apple skin.

Storage <sup>x</sup> time	C <sub>18</sub> - unsaturated acids	Conditions after treatments	Days after treatments			
			1	2	3	4
2 months	Linolenic acid	Air	0.0 a	2.5 a	4.6 a	4.6 a
	Linoleic acid	Air	0.0 a	1.0 b	2.8 b	3.5 a
	Linolenic acid	Nitrogen <sup>w</sup>	0.0 a	0.0 c	0.0 c	1.0 b
	Linoleic acid	Nitrogen	0.0 a	0.0 c	0.0 c	0.0 b
4 months	Linolenic acid	Air	0.0 a	0.8 a	1.7 a	3.3 a
	Linoleic acid	Air	0.0 a	0.0 b	0.7 b	1.7 b
	Linolenic acid	Nitrogen	0.0 a	0.0 b	0.0 c	0.8 c
	Linoleic acid	Nitrogen	0.0 a	0.0 b	0.0 c	0.2 d

<sup>z</sup> Two unsaturated acids were individually painted within about 20 mm circles in diameter on stored 'Hokuto' apple skin and the apples were kept at 0 °C for 4 days.

<sup>y</sup> Incidence score : 0, not detected; 1, very light; 2, light; 3, medium; 4, severe; 5, very severe. Different letters represent significantly different values ( $P = 0.01$ ) according to Duncan's multiple range test.

<sup>x</sup> After being harvested on Oct. 28, '95, 'Hokuto' apples were stored at 0 °C for 2 or 4 months.

<sup>w</sup> Air was exchanged with nitrogen gas in desiccator.

状態ではいずれの処理でも陽向面やけ様症状は著しく減少した。

時期別比較では、空気の下では貯蔵2か月後より貯蔵4か月後の方がその症状は減少した。しかし、窒素ガスで置換した状態ではいずれの時期でも褐変症状が軽微で時期別差異が明確でなかった。

## 考 察

貯蔵中における陽向面やけは'ふじ'で早くから報告され(工藤, 1984)、従来の貯蔵やけと異なって貯蔵数か月以内の早い時期より発生する(野呂, 1993; Warner, 1994)。年によっては収穫時の樹上で散見される場合もある(青森りんご試, 1994; Mattheis, 1996)。この障害は従来の貯蔵やけと同様に果皮のみに現れ、果肉まで及ぶことはほとんどない。

'ふじ'と'陸奥'の交雑品種である'北斗'はこの障害の発生が著しく、本報告のように貯蔵4か月後で約80%以上の発生をみた。近年、'ゴールドデン・デリシャス'と'ふじ'の交雑品種である'アキタゴールド'においてもこの陽向面やけが報告されている(秋田果試, 1994)。このように、この陽向面やけは特定の品種で特異的に発生がみられる。

従来の貯蔵やけは主に果実のていあ部付近又は陰向面に発生し易い(野呂ら, 1996; Warner, 1994)のに対して陽向面やけは主に陽向面側又は陽向面と陰向面の境界付近に発生し易い(工藤, 1984; Warner, 1994)。しかも、陽向面やけは二重袋のような遮光袋利用によって減少すること(Mattheis, 1996, 1997; 野呂, 1993; Warner, 1994)、年によっては収穫時から既に散見されることから、果実の生育中における光の影響が考えられる。

その上、この障害は早期収穫よりもむしろ後期収穫で発生が多く(工藤, 1984; 青森りんご試, 1990)、しかも抗酸化剤により抑制され難い点(青森りんご試, 1993; Mattheis, 1996; Warner, 1994)は従来の貯蔵やけと明らかに異なる。しかし、前述のように二重袋を使用した有袋栽培で抑制されること、さらにCA貯蔵で減少すること(青森りんご試, 1994; Mattheis, 1996)から、従来の貯蔵やけと共通した点もまたみられる。

そこで、'北斗'における陽向面やけの原因物質として従来の貯蔵やけと同様に揮発成分を想定し、有袋果と無袋果における揮発成分の差異を比較検討した。

貯蔵中における果皮の主な揮発成分の同定を行ったところ、両者とも同じ50種類の成分が同定された。次に、無袋果よりも有袋果で少ない成分に着目し、両者における成分の量的差異を比較したところ、*trans*-2-hexenalの差が最も大きく、次いで2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetateの順に差がみられた。これらの成分のうち、*trans*-2-hexenalはグリーン臭を示す未熟成分として知られ、しかも貯蔵中における'陸奥'の有袋果と無袋果の揮発成分の比較では有袋果で最も少ない成分であることが既に報告されていることから(野呂ら, 1996)、このアルデヒドは遮光袋利用による有袋栽培で特異的に減少することが考えられる。貯蔵やけの関連物質と考えられている(*E, E*)- $\alpha$ -farneseneは'陸奥'の場合(野呂ら, 1996)と同様、本実験においても有袋果と無袋果の間の差に一定の傾向は認められなかった。

これらの結果を考慮して、貯蔵2か月後と4か月後に市販の*trans*-2-hexenal, 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, *trans*-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetateおよびfarnesene(異性体含有)の8成分について'北斗'の果皮に及ぼす影響を検討したところ、*trans*-2-hexenalとn-hexanalの両C<sub>6</sub>-アルデヒド処理が最も低濃度で陽向面やけ様症状が発現し、次いでn-amyl acetate, n-hexyl propionate, 2-methyl-butan-1-olの順に発現した。しかし、n-propanol, *trans*-3-hexenolおよびfarneseneはいずれの時期の高濃度処理においても陽向面やけ様症状は発生しなかった。これらの結果はC<sub>6</sub>-アルデヒド類が低濃度で障害を発現し易いものに対してアルコール類はむしろ発生し難い傾向にあることを示唆している。

このことを確認するために、貯蔵2か月後および4か月後に今回検出された*trans*-2-hexenalとn-hexanalの両C<sub>6</sub>-アルデヒドとそれぞれのC<sub>6</sub>-アルコールである*trans*-2-hexanolとn-hexanolの陽向面やけ様障害に対する差異を比較したところ、いずれの時期でもC<sub>6</sub>-アルデヒドはそのC<sub>6</sub>-アルコールより低濃度で障害が発現することを確認した。この結果は、障害を発生し易い

C<sub>6</sub>-アルデヒドがその C<sub>6</sub>-アルコールに還元されると障害が軽減される可能性を示唆している。

一方, *trans*-2-hexenal および *n*-hexanal の前駆物質はそれぞれ *linolenic acid* と *linoleic acid* (畑中, 1981) で、これらの成分がリンゴ果皮に及ぼす影響を調べた結果、両不飽和脂肪酸とも陽向面やけ様症状を示した。両者の比較では *linolenic acid* が *linoleic acid* より早く発現し、しかもその陽向面やけ様症状もひどかった。また、同様の処理を窒素ガス中で行ったところ、いずれの不飽和脂肪酸でも空気中の場合より症状の発現が著しく抑制された。この結果から、これらの不飽和脂肪酸処理による果皮褐変障害は空気中の酸素を必要とする酸化現象であることが示唆される。一方、植物体における *lipoxygenase* は酸素を必要とし、果肉の白色細胞より緑色細胞で活性が強いこと、*linoleic acid* より *linolenic acid* に対して強く作用することが知られているが (畑中, 1981)、上記の結果はこのこととよく一致する。

また、陽向面やけは酸素の多い普通冷蔵よりも酸素の制限された CA 貯蔵で減少するが、これは CA 状態による酸素の制限と関連している可能性が考えられ、このことから陽向面やけは酸化現象の可能性が示唆される。

*trans*-2-hexenal の植物体における生成については畑中 (1976, 1977, 1981)、畑中ら (1983) および Sekiya ら (1982) は次のような詳細な報告をしている。第 3 図に示すように外的な刺激 (日射や温度等の気象、物理的傷害等) で葉緑体やラメラ膜を構成している脂質、すなわち *linolenic acid* や *linoleic acid* を含有している中性脂肪・燐脂質がこの膜からはずれ、これに *acylhydrolase* が作用して遊離不飽和脂肪酸が生成する。*linolenic acid* の場合では *lipoxygenase* の作用で空気中の酸素が付加され、過酸化化物 13-*L*-hydroperoxylinolenic acid が生成される。次にこの中間体が *hydroperoxide lyase* により開裂して *cis*-3-hexenal と 11-formyl-*cis*-9-undecenoic acid を生成し、この *cis*-3-hexenal から異性化を通して *trans*-2-hexenal が生成される。また、*linoleic acid* の場合では *lipoxygenase* と *hydroperoxide lyase* の触媒によって *n*-hexenal が生成される。

今回の分析の結果、'北斗' の無袋果では *trans*-2-hexenal, *n*-hexenal および *trans*-3-hexenal は収穫時から貯蔵中にかけてほぼ同様の消長を示したが、これは第 3 図に示される代謝と関連している可能性が考えられる。これらの成分の中で *trans*-2-hexenal と *n*-hexenal は本研究で着目した 8 成分のうち、最も低濃度で陽向面やけ様症状を発現しており、しかもそれぞれの還元生成物のアルコールはそのアルデヒドよりも障害が発生し難いことが示された。

一方、貯蔵後期に貯蔵やけが発生し易い '陸奥' では C<sub>6</sub>-アルデヒドのうち貯蔵初期で *trans*-2-hexenal のみが

測定され、貯蔵後期になって *trans*-2-hexenal と *n*-hexenal が測定されている (野呂ら, 1996) のに対し、貯蔵初期から陽向面やけが発生し易い '北斗' では収穫時より *trans*-2-hexenal と *n*-hexenal の二つの C<sub>6</sub>-アルデヒドが測定されている。また、これらの還元生成物のアルコールをみると、'陸奥' では貯蔵初期より *trans*-2-hexenal と *n*-hexanol の二つの C<sub>6</sub>-アルコールが存在する (野呂ら, 1996) のに対し、'北斗' では収穫時から貯蔵後期まで *n*-hexanol のみが存在しているにすぎない。これらの C<sub>6</sub>-アルデヒドと C<sub>6</sub>-アルコールの代謝が '北斗' の貯蔵初期からの陽向面やけ発生に関与している可能性が考えられる。しかし、このことについてはさらに詳細な検討が必要である。

Fonda ら (1997) は、'ふじ' に対する長波長紫外線の照射では果皮褐変障害が発生しないが短波長紫外線の照射では発生すること、さらに Mattheis (1997) は 254 nm の短波長紫外線では 'ふじ' における自然発生の陽向面やけと区別がつかないほどよく似た症状を発現することを報告した。

太陽光線における紫外線はその生物学的作用効果によって長波長域 (UVA, 400-320 nm)、中波長域 (UVB, 320-290 nm)、短波長域 (UVC, 290-190 nm) および真空紫外線 (vacuumUV, 190-100 nm) に分類される (佐藤, 1991)。地上に到達する太陽光線は酸素や特にオゾンによる紫外線の吸収のためにおよそ 300 nm より長波長の連続スペクトル光線からなる (佐藤, 1991)。この結果から、地上に到達しない人工的な UVC 照射による陽向面やけ様症状の発生は自然発生の障害と異なる可能性が考えられる。しかし、UVC の方が UVB より短時間で作用効果が現れる (佐藤, 1991) ことも知られており、紫外線の影響は否定できない。従って、紫外線と陽向面やけの発生については UVB やその強度、照射時間、さらに水蒸気等大気の状態の影響も併せて検討が必要と思われる。

以上のことを考慮して陽向面やけの発生を総合的にみると、一つの可能性として次のようなことが推察される。すなわち、この障害は特定の品種で光の影響を受けやすく、そのために主として陽向面側が特異的に傷害を受けて *linolenic acid* や *linoleic acid* が遊離され、第 3 図に示すような *lipoxygenase* による脂質過酸化反応が陽向面やけに関係していることが推察される。しかし、このことについては抗酸化剤の影響や品種特異性等、今後の詳細な検討が必要なのは言うまでもない。

従来の貯蔵やけの原因物質として、(*E*, *E*)- $\alpha$ -farnesene の自動酸化物が指摘され、Anet (1969) はその自動酸化物から生体外で共役トリエンを分離同定した。また Rowan ら (1995) はリンゴ果皮中からその共役トリエンを分離同定した。しかし、'陸奥' や '北斗' の有袋

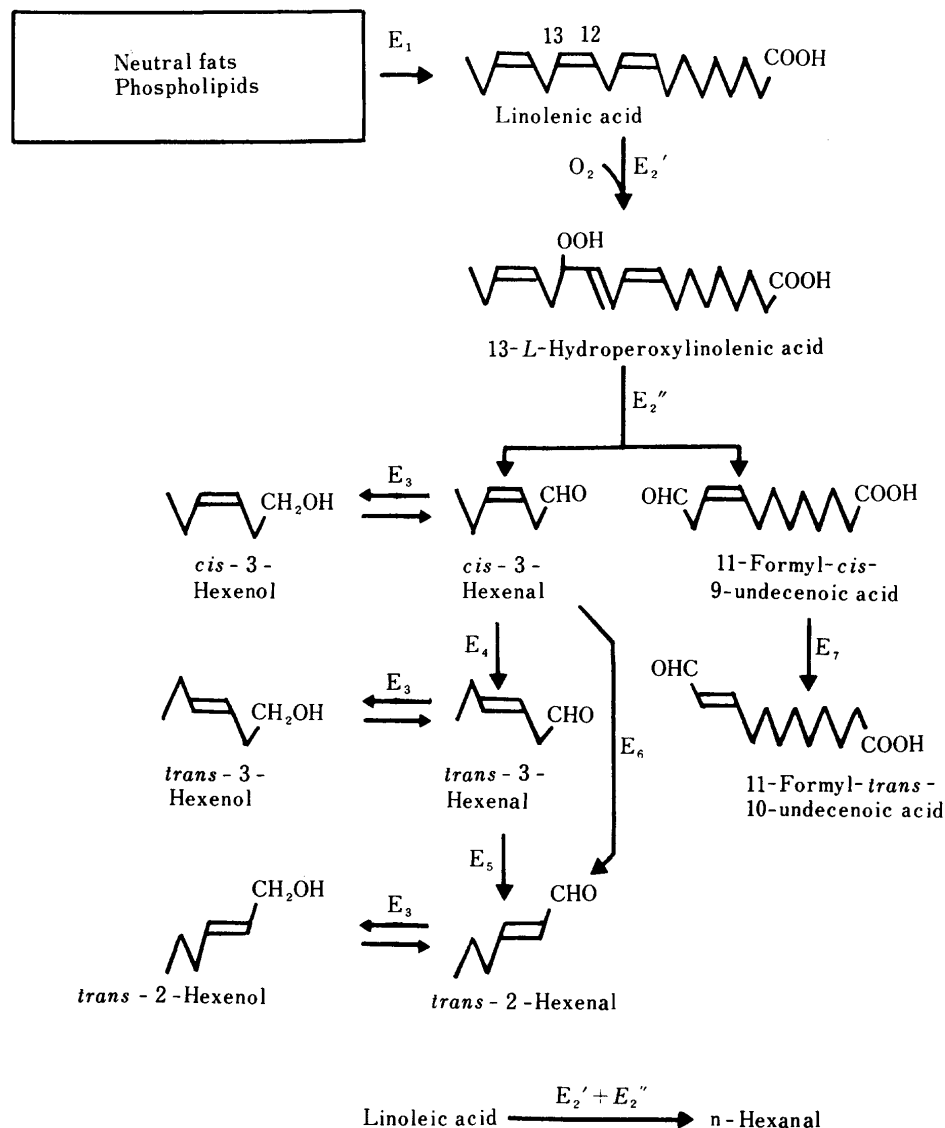


Fig. 3. C<sub>6</sub>-Aldehyde formation from C<sub>18</sub>-unsaturated fatty acids (Hatanaka, A. et al., 1983)

$E_1$ : Acylhydrolase  $E_2$ : Lipoxygenase  $E_2'$ : Hydroperoxide lyase

$E_3$ : Alcohol dehydrogenase  $E_4, E_5, E_6, E_7$ : Isomerase & Isomerizing factor

果と無袋果の揮発成分の比較で明かなように (E, E)- $\alpha$ -farnesene は両者の間で大きな差がみられないこと、本実験のように ethanol が多く成熟が進んだ状態 (野呂ら, 1972) で収穫された '北斗' では (E, E)- $\alpha$ -farnesene の存在量が非常に多いにもかかわらず、従来の貯蔵やけはほとんど発生しないことから (E, E)- $\alpha$ -farnesene と従来の貯蔵やけとの関係はさらに詳細な吟味が必要と思われる。ただ、'北斗' においては陽向面やけが特異的に多いことからこの障害に対して (E, E)- $\alpha$ -farnesene の酸化物が関与する可能性は否定できない。

いずれにしても、陽向面やけは従来の貯蔵やけと同様、酸化現象の可能性が示唆されるが、その代謝の機構の解明には (E, E)- $\alpha$ -farnesene 等の非酵素的酸化、さらには他の成分の関与の可能性も含めて今後さらに詳細な検討が必要である。

## 摘 要

貯蔵初期から '北斗' 果皮の陽向面側に生ずる黒褐色現象 (陽向面やけ) と表記) について有袋果と無袋果の比較を行った。また、収穫時と貯蔵中の両者の果皮における揮発成分の相違を検索するとともに、相違する成分およびその関連物質の果皮に及ぼす影響を検討した。

1. 有袋果は無袋果より陽向面やけが減少した。
2. 有袋果と無袋果の主要揮発成分の同定を行ったところ、両者に共通して 50 種類の成分が同定された。
3. 無袋果より有袋果で少ない成分に着目し、両者における含有量の差異を比較したところ、trans-2-hexenal の差が最も大きく、次いで 2-methyl-butan-1-ol, n-hexanal, n-propanol, trans-3-hexenol, n-hexyl propionate, n-amyl acetate の順に差がみられた。
4. 差がみられた成分の市販品を供試し、果皮に及ぼす影響を検討した結果、trans-2-hexenal と n-hexanal の両

C<sub>6</sub>-アルデヒド処理が最も低濃度で陽向面やけ様症状を発現し、次いで n-amyl acetate, n-hexyl propionate, 2-methyl-butan-1-ol の順に発現した。n-propanol, *trans*-3-hexenol および貯蔵やけの関連物質として知られている farnesene (異性体含有) 処理では陽向面やけ様症状は発生しなかった。

5. 検出された C<sub>6</sub>-アルデヒドとその C<sub>6</sub>-アルコールの果皮に及ぼす影響を検討したところ、*trans*-2-hexenal は *trans*-2-hexenol より、また n-hexanal は n-hexanol より低濃度で陽向面やけ様症状が発現した。

6. *trans*-2-hexenal と n-hexanal のそれぞれの前駆物質、linolenic acid と linoleic acid の果皮に及ぼす影響を調べた結果、両者とも陽向面やけ様症状を発現した。この障害は linoleic acid より linolenic acid で早く、しかもひどく現れた。また、窒素置換状態では両不飽和脂肪酸処理とも空気中より障害が著しく抑制された。

7. これらの結果から、'北斗' の有袋果における陽向面やけの減少に linolenic acid から *trans*-2-hexenal への代謝が主要な要因の一つとして関与している可能性が示唆された。

#### 引用文献

- 秋田果試編. 1994. 収穫時期別果実品質と貯蔵性. 秋田果試業務報告. p.99.
- Anet, E.F.L.J. 1969. Autoxidation of  $\alpha$ -farnesene. Aust. J. Chem. 22 : 2403-2410.
- 青森りんご試編. 1990. 北斗の有袋・無袋別及び収穫時期別陽向面やけの発生調査. 青森りんご試業務年報. p.106.
- 青森りんご試編. 1993. 北斗の貯蔵やけに対する薬剤の影響. 青森りんご試業務年報. p.41.
- 青森りんご試編. 1994. 収穫時期と貯蔵後の品質. 青森りんご試業務年報. p.65.
- Du, Z. and W.J. Bramlage. 1993. A modified hypothesis on the role of conjugated trienes in superficial scald development on stored apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 118 : 807-813.
- Fonda, H.N., J.K. Fellman, X. Fan and J.P. Mattheis. 1997. Reaction of apple skin following UV exposure. HortSci. 32(3) : 535-536.
- 畑中顯和. 1976. 青葉アルコールをめぐって (1). 化学と生物. 14 : 788-793.
- 畑中顯和. 1977. 青葉アルコールをめぐって (2). 化学と生物. 15 : 39-47.
- 畑中顯和. 1981. 植物起源の香気発現の機構. 有機合成化学. 39 : 142-153.
- 畑中顯和・梶原忠彦・関谷次郎. 1983. 青葉アルコールの生合成不飽和脂肪酸への O<sub>2</sub> 添加反応に於ける立体特異性の周辺. 香料・テルペン及び精油化学に関する討論会講演要旨集. p.23-25.
- Huelin, F.E. and I.M. Coggiola. 1968. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV Effect of variety, maturity, oiled wraps and diphenylamine on the concentration of  $\alpha$ -farnesene in the fruit. J. Sci. Food Agri. 19 : 297-301.
- Huelin, F.E. and I.M. Coggiola. 1970 a. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. V Oxidation of  $\alpha$ -farnesene and its inhibition by diphenylamine. J. Sci. Food Agri. 21 : 44-48.
- Huelin, F.E. and I.M. Coggiola. 1970 b. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VI Effect of applied  $\alpha$ -farnesene, temperature and diphenylamine on scald and the concentration and oxidation of  $\alpha$ -farnesene in the fruit. J. Sci. Food Agri. 21 : 584-589.
- 石川祐子・大宮あけみ・垣内典夫・樫村芳記・吉岡博人・金子勝芳. 1994. 1991年台風19号による落下リング果汁の香気成分特性. 日食工誌. 41 : 129-134.
- 工藤亜義. 1984. 収穫と貯蔵. p.201-239. 津川 力編著. りんご栽培技術. 養賢堂. 東京
- Lurie, S., J.D. Klein and R.B. Arie. 1991. Prestorage heat treatment delays development of superficial scald on 'Granny Smith' apples. HortSci. 26 : 166-167.
- Mattheis, J. 1996. Maturity and storage of Fuji in Washington State. Good Fruit Grower. 47(16) : 53-54.
- Mattheis, J. P. 1997. Identification of factors contributing to Fuji stain. Project No.5350-43000-002-07T. CRIS/USDA.
- Meigh, D.F. 1970. Apple Scald. p.555-569. In: A.C. Hulme (ed). The biochemistry of fruits and their products. Academic Press. London and New York.
- Meigh, D.F. and A.A.E. Filmer. 1969. Natural skin coating of the apple and its influence of scald in storage. III  $\alpha$ -Farnesene. J. Sci. Food Agri. 20 : 139-143.
- 野呂昭司. 1993. 果実の収穫後生理と品質. 2 リングの栽培管理と品質. 園芸学会秋季大会シンポジウム. p.196-212.
- 野呂昭司・新井俊行・工藤亜義. 1996. リング'陸奥'の有袋栽培が貯蔵中のやけ症状と揮発成分に及ぼす影響. 園学雑. 65 : 161-168.
- 野呂昭司・斉藤貞昭・三上敏弘. 1972. リング果実における内部かっ変の要因に関する研究 (第2報) 収穫期における蜜症状の分析とその成因について. 園学要旨. 昭47秋 : 374-375.
- Rowan, D.D., J.M. Allen, S. Fielder, J.A. Spicer and M. A. Brimble. 1995. Identification of conjugated triene oxidation products of  $\alpha$ -farnesene in apple skin. J. Agric. Food Chem. 43 : 2040-2045.
- 佐藤吉昭. 1991. 太陽光線と皮膚. p.3-16. 佐藤吉昭編著. 光線過敏症. 金原出版. 東京.
- Sekiya, J., H. Kamiuchi and A. Hatanaka. 1982. Lipoxigenase, hydroperoxide lyase and volatile C<sub>6</sub>-aldehyde formation from C<sub>18</sub>-fatty acid during development of *Phaseolus vulgaris* L. Plant & Cell Physiol. 23 : 631-638.
- Warner, G. 1994. Skin browning of Fuji confounds researchers. Good Fruit Grower. 45(5) : 25.