

渋ガキ果実の脱渋にかかわる
新たな要因と脱渋特性
に関する研究

1 9 9 9

平 智

目 次

1. 緒 論	1
1. 1 カキの分類と脱渋現象	1
1. 2 渋ガキ果実の脱渋の研究史	3
1. 3 本研究の課題と構成	4
2. 各種脱渋過程におけるタンニンの消長とアセトアルデヒドの蓄積	6
2. 1 アルコール脱渋および樹上脱渋	6
2. 2 炭酸ガス脱渋および温湯脱渋	9
2. 3 はく皮乾燥脱渋および軟化にともなう脱渋	12
2. 4 凍結・解凍にともなう脱渋	14
2. 5 考 察	17
2. 6 摘 要	22
3. 脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因	23
3. 1 ペクチンとタンニンの複合体形成(1)-モデル実験-	23
3. 2 ペクチンとタンニンの複合体形成(2)-インタクトな果実の場合-	26
3. 3 細胞組織の断片へのタンニンの吸着(1)-モデル実験-	30
3. 4 細胞組織の断片へのタンニンの吸着(2)-果肉の凍結速度の影響-	34
3. 5 考 察	42
3. 6 摘 要	47
4. 果実の生理・生態的要因と脱渋特性	49
4. 1 果実の熟度と大きさ	49
4. 2 ヘタ片あるいはヘタの有無	57
4. 3 園地および産地の違い	59
4. 4 脱渋特性の品種間差異	66
4. 5 考 察	74
4. 6 摘 要	78

5. 総合考察	80
5. 1 渋ガキ果実の脱渋メカニズム	80
5. 2 脱渋の際に留意すべきこと	83
5. 3 脱渋研究の今後の課題	85
6. 総 摘 要	87
7. 謝 辞	89
8. 引用文献	90

1. 緒 論

1. 1 カキの分類と脱渋現象

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) は東アジア原産の果樹とされ、日本には奈良・平安時代以降に中国から直接、あるいは朝鮮半島経由で導入されたと考えられている。カキは、もともとはすべて渋ガキであり、日本に導入されてから甘ガキが誕生したと考えられる。以来、甘ガキ、渋ガキとも日本独自の品種が多数発達し、わが国の果樹の中でも最も品種分化の進んだ種類の1つになった（広島県果樹試験場，1979；傍島，1980；山田，1996）。

カキの分類は、古くは1914年にHumeが提唱した受粉の有無と果肉の色（褐斑の有無）による分類(Hume, 1914)にさかのぼることができるが、現在はその後に梶浦(1946)が提案した4つのグループに分ける分類法が一般的に採用されている。この分類法では甘ガキと渋ガキをそれぞれ、次のような2つずつのグループに分けて考える。

(1) 脱渋と種子形成とが関係ないもの

①完全甘ガキ(Pollination-constant nonastringent: PCNA): 種子の有無にかかわらず甘ガキとなる。果肉にきわめて微量ないしは少量の褐斑を生じる。

②完全渋ガキ(Pollination-constant astringent: PCA): 種子の有無にかかわらず渋ガキとなる。果肉にまったく褐斑を生じない。

(2) 脱渋と種子形成とに密接な関係があるもの（種子がない場合はまったく脱渋せず、種子の数が少ないときは部分的に脱渋しない部分を生じる）

③不完全甘ガキ(Pollination-variant nonastringent: PVNA): 脱渋度の高いもので果肉に褐斑が多い。

④不完全渋ガキ(Pollination-variant astringent: PVA): 脱渋度の低いもので種子のまわりの果肉にのみ褐斑を生じる。

このように、カキはその品種の発達とともに、脱渋特性の異なるものが分化してきたものと考えられる。なお、甘ガキは、成熟時にはまったく渋味を感じないが、PCNA、PVNAを問わず、果実が未熟なときは渋ガキと同様に渋い。したがって、脱渋の問題は上記の4グループに共通する問題といえる。しかしながら、従来からカキ果実の脱渋メカニズムの研究は、渋ガキの人工脱渋の機構解明に主力が注がれてきた。その結果、PCNA品種の自然脱渋のメカニズムはもとより、PVNA品種やPVA品種の種子がどのようなメカニズムで果肉に褐斑を生じさせ、その部分を脱渋するのかについて明らかにされたのはつい最近のことである。

次節で詳しく述べるように、渋ガキ果実の渋味の原因物質である可溶性タンニンは、アセトアルデヒドによって不溶化することが現在定説となっている（北川，1970a；松尾，1989）。杉浦ら（1979）は、4つのグループに属する品種について、それぞれの果実発育中の種子および果肉のアセトアルデヒド蓄積と自然脱渋の進行との関連を調査した。その結果、PVNA，PVA および PCAの3グループの品種では、種子の発生過程におけるアセトアルデヒド生成と脱渋との間に密接な関係があることを認めた。すなわち、PVNA品種では、発育中の種子から発生したアセトアルデヒドが果肉に蓄積することによって渋味の原因物質である可溶性タンニンが不溶化されることが明らかになった。また、自然状態でPVNA，PVA および PCAの3品種群に分かれるのは、種子のアセトアルデヒド生成能の差によるものと考えられた（Sugiura・Tomana，1983）。

一方、PCNA品種の多くは種子のアセトアルデヒド生成能が低く、脱渋はアセトアルデヒドとはまったく無関係におこっていることも明らかになった。このことは、PCNA品種はまったく別のメカニズムで脱渋することを示唆している。

この点についてはその後、米森らの一連の研究により、PCNAとそれ以外のグループの果実に含まれるタンニン物質に質的な違いがあり、PCNA品種の可溶性タンニンはアセトアルデヒドの作用では不溶化しにくいことが明らかにされた。さらに、PCNA品種の果実発育中の渋味の減少は、タンニン物質を蓄積するタンニン細胞がほかのグループのカキに比べてかなり早い時期に発育を停止することがおもな原因であることが突きとめられた（米森，1986；1989）。つまり、PCNA品種では、果実1個あたりの可溶性タンニン含量が早期に一定となるため、その後の果実の肥大にともなって渋味が希釈されて減少する。ただし、PCNA品種の可溶性タンニンの少なくとも一部は、果実が成熟するにつれてしだいに不溶化することが観察されており（平ら，1998）、その詳しいメカニズムはまだ明らかになっていない。

以上のことを総合して考えると、カキの分類方法としては、杉浦（1984）が果実の脱渋様式の違いに基づいて提案した次のような方法が、現在最も的を得た分類方法であると考えられる。

- (1) 揮発性物質（アセトアルデヒド）の生成蓄積とは無関係に脱渋する品種群
（Volatile-independent group）：PCNA
- (2) 揮発性物質（アセトアルデヒド）の生成蓄積によって脱渋する品種群
（Volatile-dependent group）：PCNA以外
 - ① 種子の脱渋作用が相対的に高い品種群：PVNA
 - ② 種子の脱渋作用が相対的に低い品種群：PVA
 - ③ 種子の脱渋作用がほとんどない品種群：PCA

1. 2 渋ガキ果実の脱渋の研究史

前節でも述べたように、発育中の渋ガキ果実の果肉のタンニン細胞には、渋味の原因物質である可溶性タンニンが蓄積するため、果実が成熟してもそのままでは渋くて食べることができない（北川，1970a； 傍島，1980； Taira, 1996）。

したがって、果実を収穫する前か、収穫した後に何らかの脱渋処理を行う必要がある。脱渋処理の方法としては、古くからアルコール（エタノール）脱渋，炭酸ガス（二酸化炭素）脱渋をはじめとして、温湯脱渋，はく皮乾燥脱渋などさまざまな方法が知られている（北川，1970a； 傍島，1980）。

渋ガキ果実の脱渋メカニズムに関する本格的な研究は、日本ではなくアメリカ合衆国で始められた。1911年にGoreが炭酸ガス脱渋の方法（Gore, 1911）についての、また Lloydが後に「コロイド説」と呼ばれる脱渋のメカニズムに関する論文（Lloyd, 1911）を発表している。その前後に、多数の研究者が脱渋のメカニズムに関するさまざまな学説を展開しているが、いずれも渋味の原因となってる可溶性タンニンの化学構造がよくわからない状況下での仮説であった（北川，1970a）。

その後、Komatsu ら（1924； 1925a； 1925b）によってカキのタンニンがシブオールと名づけられる縮合型タンニンの一種であることが報告されたのに続いて、掛下（1930）は、樹上で自然に脱渋した甘ガキや温湯脱渋した渋ガキ果実にアセトアルデヒドがかなり多量に含まれていることを発見した。Kakeshita（1930）はさらに、渋ガキの果汁にアセトアルデヒドを加えると凝固することを実験的に示し、カキが脱渋するのは果実内に生じたアセトアルデヒドによってタンニン物質が縮合して不溶化するためであるとする、いわゆる「縮合説」を発表した。以来、この「縮合説」が渋ガキ果実の人工脱渋のメカニズムとしてほぼ定説化することになる。

ただし、カキタンニンの詳しい化学構造はかなり長い間依然として不明のままであった。この問題の解明に関しては、伊藤らをはじめとする複数の研究者の努力を経て（北川，1970a），1978年にカキタンニンの構造がプロアントシアニジンポリマーであることが初めて明らかにされるに至った（Matsuo・Ito, 1978）。

その後、渋ガキの可溶性タンニンの不溶化，すなわち脱渋にアセトアルデヒドが密接にかかわっていることが、多くの研究者によって指摘されることになる（加藤，1984； 楠本・吉村，1976； 真部ら，1978； Matsuo・Ito, 1977； 1982； Matsuo ら，1991； Pesis・Ben-Arie, 1984）。なお、最近Tanakaら（1994）は、重水素でラベルしたエタノールを用いた実験により、アルコール脱渋によって不溶化したカキタンニン中にアセトアルデヒドの付加物が存在することを有機化学的手法によって明らかにした。これらの報告は、いずれもKakeshita（1930）の提

唱したアセトアルデヒドによるタンニンの「縮合説」を支持するものと考えられる。

以上に述べてきたように、現在一般的には、渋ガキ果実が種々の脱渋処理によって渋くなくなるのは、処理中に果実内に生成したアセトアルデヒドによって渋味の原因である可溶性タンニンが縮合して不溶化することによると考えられているとあってよい（松尾，1989；Taira, 1996）。しかしながら、収穫後の果実の自然追熟過程（いわゆる“熟柿”になる過程）、あるいは果実の凍結・解凍過程などの果肉の軟化をともなう過程においては、アセトアルデヒドの蓄積がほとんど認められないにもかかわらず、果肉の渋味が減少することが以前から観察されている（北川，1970a；中村，1961；平・渡部，1995）。これらの事実は、渋ガキ果実の脱渋にアセトアルデヒド以外の要因が関与していると考えざるを得ないケースがあることを示唆している。

カキタンニンの不溶化にかかわるアセトアルデヒド以外の要因についての報告は、今までのところ、北川（1970a）の考察や福嶋ら（1991）および Ittah（1993）の報告があるのみで、その詳細についてはまだほとんど明らかになっていない。

1. 3 本研究の課題と構成

本研究は、渋ガキ果実の脱渋にかかわる要因のうち、これまであまり明らかにされてこなかった点について生理学的ならびに園芸学的により明らかにするとともに、得られた成果に基づいて、渋ガキ果実の脱渋現象をより総合的に理解することを目的として行うものである。

前節までに述べてきたように、渋ガキ果実の人工脱渋のメカニズムは、収穫後の追熟にともなう脱渋や樹上での自然軟化にともなう脱渋などを含めて、必ずしもまだその全貌が明らかになっているとはいえない。したがって、渋ガキ果実の脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因を明らかにすることは、甘ガキをも含めたカキ果実の脱渋生理を総合的に解明していくうえできわめて重要な課題であると考えられる。

一方、渋ガキの良品質果実の安定生産をより実用的な視点から考えるとき、樹上における発育中の果実に対する適正管理はもちろんのことであるが、収穫後に施される脱渋処理の条件の適正化あるいは平準化も重要な課題である。この点に関して、従来から、生産地では長年の経験に基づいた技術的対応が取られているが、それらの慣習的技術を裏づける基礎的なデータは依然として不足している。今後、そのようなデータを蓄積していくために、まず脱渋にかかわる果実の生理・生態的要因を解明していく必要がある。

本研究では、その前半で、脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因を明らかにし、渋ガキ果実の脱渋メカニズムを、従来のアセトアルデヒドによるタンニンの「縮合説」とあわせてより総合的に理解することを試みる。そのために、まず2章で、渋ガキ果実の各種脱渋過程における果肉の可溶性タンニンの消長とアセトアルデヒドの蓄積との関係を再確認するとともに、処理によって不溶化したタンニンの性質について調査を行った。つぎに3章で、果実の渋味の減少に関与するアセトアルデヒド以外の要因に関して、モデル実験ならびにインタクトな果実を用いた実験を行い、2つの新しい要因を提案する。

さらに4章では、渋ガキ果実の実際の脱渋にかかわる生理・生態的要因として、果実の熟度と大きさ、ヘタの役割、生産地ならびに品種の違いを取り上げ、それぞれの要因が果実の脱渋特性におよぼす影響について検討を加える。

なお、本研究のうち、2章の不溶性タンニンに関するデータは平ら(1999)として、2.3節は平ら(1988a)、2.4節は平・渡部(1995)、3.1節および3.2節はTairaら(1997)、3.3節はTaira・Ono(1997)、3.4節はTairaら(1998)、4.1節は平ら(1988b)、平ら(1990a)および平ら(1990b)、4.3節は平ら(1990b)、4.4節はTairaら(1989)およびTairaら(1992)として、それぞれ各誌上で発表したものを再構成して取りまとめたものである。

2. 各種脱渋過程におけるタンニンの消長とアセトアルデヒドの蓄積

前章でも述べたように、渋ガキ果実の脱渋メカニズムについては古くから多く研究報告があるが、1930年に掛下によって提出された、果実内に生じるアセトアルデヒドによって渋味の原因物質である可溶性タンニンが縮合して不溶化とする「縮合説」(Kakeshita, 1930)が現在最も有力な学説として支持されている(松尾, 1989)。すなわち、可溶性タンニンの減少は、脱渋処理によって果肉中にアセトアルデヒドが生成・蓄積するのにもなっており、生成したアセトアルデヒドの一部によって可溶性タンニンが縮合して不溶化し、結果として渋味が消失するとする説である。

しかし、現在知られている脱渋過程のすべてにおいて、果肉の渋味の減少とアセトアルデヒドの蓄積との間に必ずしも密接な関係が見出されるわけではない。

そこで、本章ではまず、渋ガキ果実の各種脱渋過程における果肉の可溶性タンニンの消長とアセトアルデヒド、さらに関連物質としてエタノールの蓄積を調査するとともに、脱渋処理によって不溶化したタンニンの性質を比較することによって、アセトアルデヒドによるタンニンの不溶化現象について再確認を行う。

実験には山形大学農学部実験圃場(鶴岡市)のカキ(*Diospyros kaki* Thunb.) ‘平核無’成木の果実を供試した。

なお、本研究ではエタノールおよび二酸化炭素を脱渋剤にした脱渋処理は、これまでの慣習に従って、それぞれ“アルコール脱渋”および“炭酸ガス脱渋”と呼ぶことにする。

2. 1 アルコール脱渋および樹上脱渋

材料および方法

アルコール脱渋は、約1ℓ容のポリ容器(本体:ポリプロピレン, ふた:ポリエチレン)内に果実(全面着色果)を1個ずつ入れて密封する方法で行った。脱渋剤には30%または10%エタノール5mlを用いた(それぞれを“30%処理”および“10%処理”と呼ぶ)。果実の呼吸によって容器内に蓄積する二酸化炭素の影響を取り除くために、9Nの水酸化カリウム溶液30mlの入った三角フラスコを容器内に置いた。処理中、果実の呼吸によって放出される二酸化炭素が水酸化カリウムに吸収されることによって容器内が若干負圧になるため、1日1回ふたを瞬間的にゆるめて常圧に戻した。処理は20℃の恒温室内で行った。

樹上脱渋は、果実の着色開始期直前にあたる9月上旬の5日間、樹上の果実を

杉浦ら(1975; 1977)の方法にならって、30%あるいは15%エタノール5 mlの入ったポリエチレン袋(大きさ 130×250 mm, 厚さ0.03mm)でヘタを除いて1個ずつ被袋した。調査は処理開始後50日まで経時的に行った。

可溶性タンニンは、赤道部の果肉5 gをポリトロン(キネマティカ社製)を用いて80%メタノール中で磨砕抽出したのち、抽出液中の全ポリフェノール含量をFolin-Denis 法で測定した(Taira, 1996)。

果肉中のアセトアルデヒドとエタノール含量は、5 gの果肉細片を高純度の冷アセトン(高速液体クロマトグラフ用)10mlで抽出後、その上澄液をガスクロマトグラフで分析した(Sugiura・Tomana, 1983)。

可溶性タンニンの不溶化がどのような強度で起こっているかを比較するために、処理によって不溶化したタンニンの可溶化の難易度を別に脱渋した果実を用いて調査した。アルコール脱渋は、10ℓ容のデシケータに果実(全面着色果)を入れて20℃で通気処理を行った。このときのエタノールの処理濃度は平均で0.30%であった。調査は脱渋完了時(処理開始後5日)と脱渋後5日に行った。樹上脱渋は、着色の始まった9月下旬の果実を9日間、15%エタノール5 mlの入ったポリ袋で被袋した。調査は脱渋完了時(除袋直後)と脱渋後25日(全面着色時)に行った。

不溶性タンニンは、80%MeOHによって可溶性タンニンを抽出した後の果肉残さを、0.02%、0.1%ならびに1% HCl-MeOH(室温で即時抽出)、1% HCl-MeOH(40℃で30分)、同(60℃で30分)、さらに同(80℃で30分)と徐々に抽出条件を強めながら全部で6段階の抽出操作を行い、各抽出液中に含まれるタンニンをFolin-Denis 法で測定した(Taira・Ono, 1997; 平ら, 1998)。

結 果

アルコール脱渋は、30%処理では5日、10%処理では7日で脱渋が完了した。果肉のアセトアルデヒド蓄積量は、脱渋の完了が早かった30%処理で多かった。エタノールの蓄積も30%処理の方が10%処理より早く、蓄積量もかなり多かった(図2. 1)。

樹上脱渋においても、可溶性タンニンは30%処理の方が15%処理よりわずかではあるが早く減少した。両処理区とも処理開始後5日で脱渋が完了し、その後渋味が再現することはなかった。アセトアルデヒドの蓄積は30%処理でやや早く、量も多かった。エタノールの蓄積量は30%処理が15%処理の約2倍に達した。果肉に蓄積したアセトアルデヒドとエタノールは、除袋後しだいに減少したが、かなり長い期間にわたって果実内に残存し、果実が収穫時期(処理後約40日)を迎

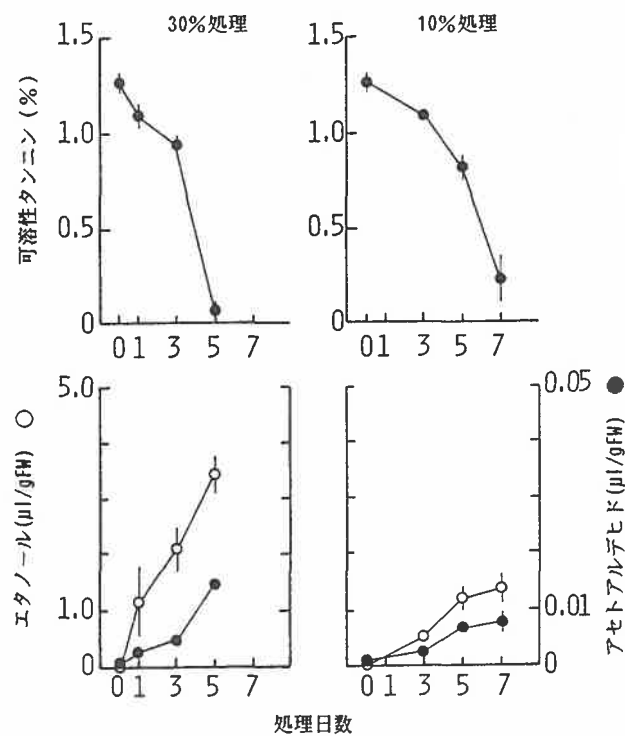


図2. 1 アルコール脱渋にともなう果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

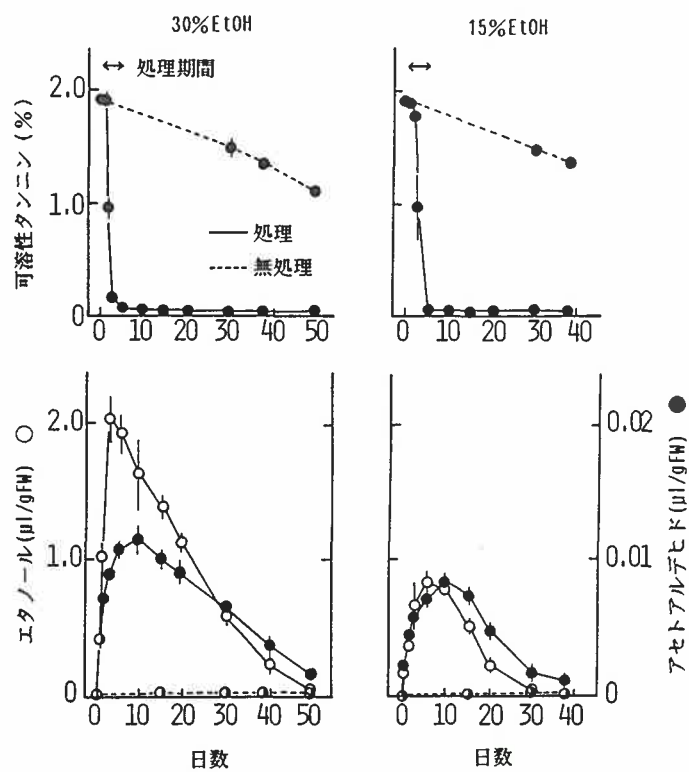


図2. 2 樹上脱渋にともなう果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

えてもまだ完全には消失せずに残っていた（図2. 2）。

収穫後のアルコール脱渋によって不溶化したタンニンは、脱渋完了時には0.02% HCl-MeOHで抽出される不溶性タンニンが最も多く、全タンニン量の約3分の2は加熱することなく抽出された。脱渋後5日を経過すると、不溶性タンニンの抽出は脱渋完了時に比べて困難になったが、それでも全量の半分以上が室温条件下で抽出可能であった（図2. 3）。

樹上脱渋果の不溶性タンニンは、脱渋完了時には0.1% HCl-MeOHで抽出される量が最も多かったが、脱渋後25日を過ぎると0.02%ならびに0.1% HCl-MeOH可溶のタンニンが減少して、1% HCl-MeOH（室温）で抽出されるタンニンが増加するとともに、全タンニンの約4割が加熱抽出を行っても可溶化できなくなった（図2. 4）。

2. 2 炭酸ガス脱渋および温湯脱渋

材料および方法

炭酸ガス脱渋は、20℃で約20ℓ容の大型デシケータに全面着色果15個を入れ、濃度が80%以上になるように二酸化炭素を封入する方法で行った。調査のために果実を取り出したときはそのつどガスを再封入した。

温湯脱渋は約42℃の湯に、ポリ袋に入れた果実を沈める方法で行った。約15時間後（水温約27℃）に果実を引き上げ、ポリ袋から取り出したあと20℃に保持した。

以上の処理を行った果実について、処理中ならびに処理後の果肉の可溶性タンニン含量とアセトアルデヒドおよびエタノールの蓄積量を2. 1節と同様の方法で調査した。

これとは別に、20℃で10ℓ容のデシケータに二酸化炭素ガス（濃度約80%）を封入して脱渋した全面着色果を用いて、2. 1節と同様にして不溶性タンニンの可溶化の様相を調査した。調査は脱渋完了時（処理開始後3日）および脱渋後5日に行った。

結 果

炭酸ガス脱渋ならびに温湯脱渋にともなう可溶性タンニンの消長とアセトアルデヒドおよびエタノールの蓄積の様相を、それぞれ図2. 5および図2. 6に示した。両処理とも処理開始直後から、エタノールの蓄積に先立って果肉にアセト

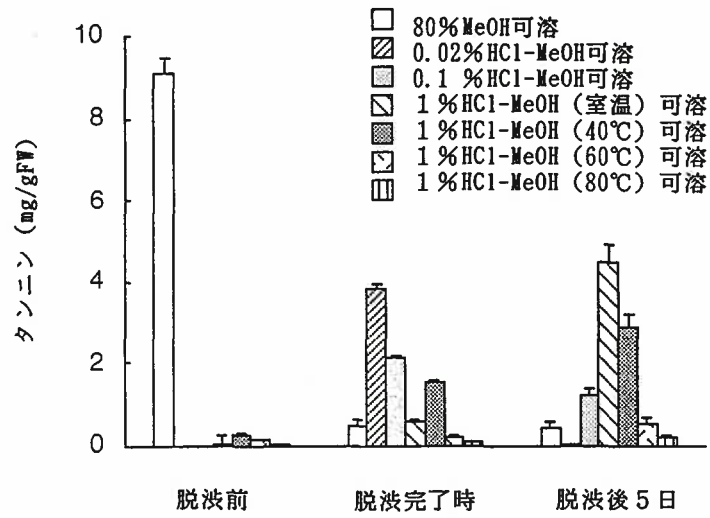


図 2. 3 アルコール脱液にともなう可溶性タンニンの不溶化の様相
(成熟果を使用：縦線はSE)

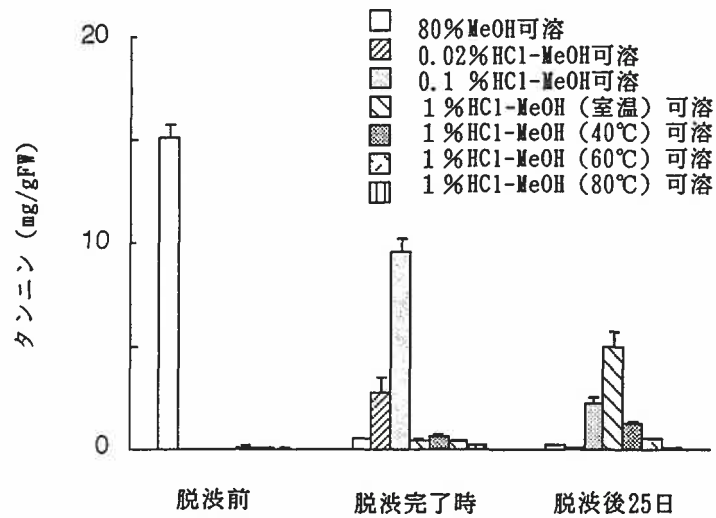


図 2. 4 樹上脱液にともなう可溶性タンニンの不溶化の様相
(9 月下旬脱液処理：縦線はSE)

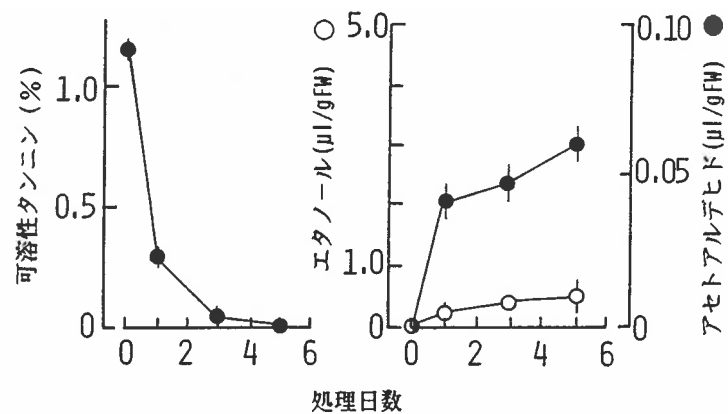


図2. 5 炭酸ガス脱渋にともなう果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

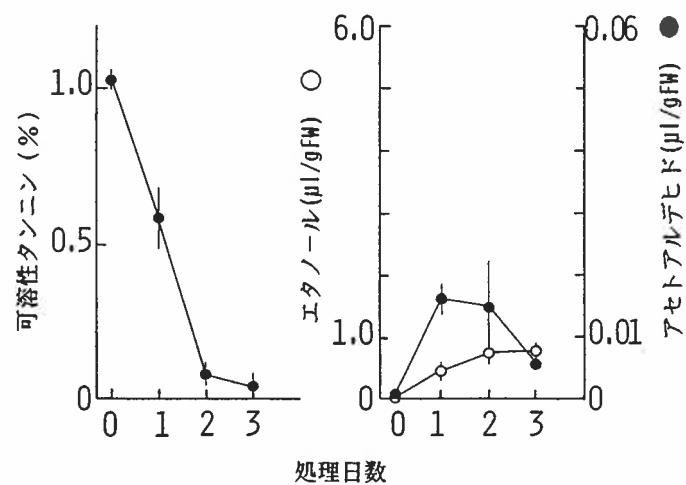


図2. 6 温湯脱渋にともなう果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

アルデヒドの蓄積が認められ、その蓄積量はアルコール脱渋や樹上脱渋に比べて多い傾向が認められた。また、アセトアルデヒドの増加にともなって可溶性タンニン含量が減少した。炭酸ガス脱渋は3日、温湯処理では2～3日で完全に脱渋した。

炭酸ガス処理によって不溶化したタンニンは、脱渋完了時には1% HCl-MeOH（室温）で可溶化するものの割合が高かった。脱渋後5日の果実では、1% HCl-MeOH（40℃）ならびに同（60℃）可溶のタンニンが増加したが、不溶性タンニンの一部はまだ1% HCl-MeOH（室温）で抽出可能であった（図2. 7）。

2. 3 はく皮乾燥脱渋および軟化にともなう脱渋

材料および方法

はく皮乾燥脱渋は、全面着色果を採取後直ちにナイフではく皮して行った。乾燥は、雨が直接あたらない風通しのよい屋外に果実をつりさげておく自然乾燥区（戸外区）と35℃に調節した通風乾燥器に果実を入れる人工乾燥区（35℃区）を設けた。はく皮後経時的に、果重、果肉の可溶性タンニン含量、エタノールおよびアセトアルデヒド含量を2. 1節と同様にして測定した。

軟化にともなう脱渋は、まだ着色が始まっていない未熟果と全面着色果を供試して行った。果実は採取後20℃の恒温室内に放置して軟化させた。軟化過程における可溶性タンニン、アセトアルデヒドおよびエタノール含量の消長を、軟化度Ⅰ：十分に硬い、軟化度Ⅱ：全体にかなり軟いがしっかりしている、軟化度Ⅲ：指で押すと崩壊しそうになり、果肉の一部が水浸状になっている、および軟化度Ⅳ：非常に軟弱、果皮の一部が破裂している果実を用いて（岩田，1969），2. 1節と同様の方法で調査した。

不溶性タンニンの測定は、はく皮後自然乾燥させた果実を用いて、はく皮後6日（脱渋完了時）およびはく皮後14日に行った。この場合のタンニン含量は果実あたりの含量で示した。軟化過程における不溶性タンニンの測定は、軟化度Ⅰ，軟化度Ⅲおよび軟化度Ⅳの果実について，2. 1節と同様の方法で測定した。

結 果

はく皮後の果重は、戸外区は約10日で半減し、30日以降ほぼ一定となったのに対して、35℃区では約3日で半減し、10日後にははく皮直後の約25%にまで減少した。戸外区の可溶性タンニン含量は、はく皮後5日まではほぼ一定であったが、

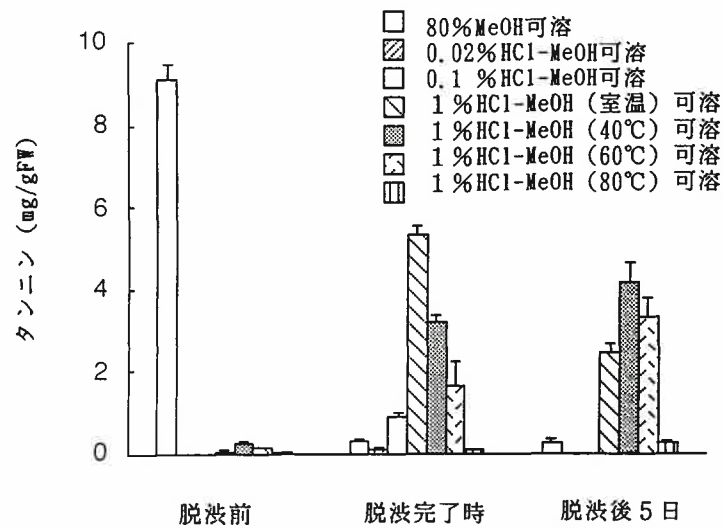


図2. 7 炭酸ガス脱渋にともなう可溶性タンニンの不溶化の様相
(縦線はSE)

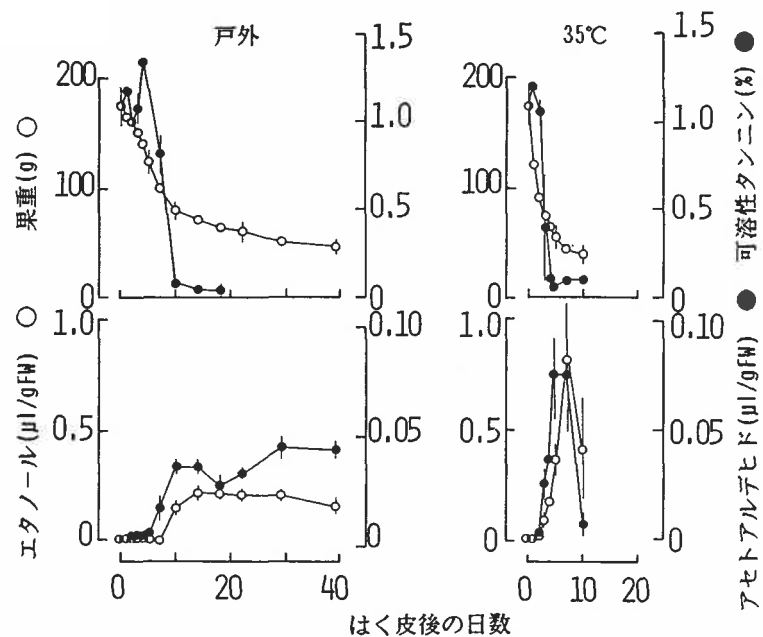


図2. 8 はく皮乾燥脱渋にともなう果重の変化と果肉の可溶性タンニン、
エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化 (縦線はSE)

その後速やかに減少し、10日でほぼ消失した。しかしながら、果肉を食べたときに官能的に感じられる渋味ははく皮後5日の時点で明らかに減少していた。果肉へのアセトアルデヒドの蓄積はエタノールの蓄積にやや先立っておこった。これは可溶性タンニン含量が減少し始める時期とほぼ一致していた。35℃区でははく皮後4日で可溶性タンニンがほぼ消失した。果肉の渋味ははく皮後2日の時点でほぼ感じられなくなっていた。アセトアルデヒドの蓄積・増加の時期と可溶性タンニン含量が減少し始める時期はほぼ一致していた（図2. 8）。

果実の軟化過程においても可溶性タンニン含量はしだいに減少し、いずれの熟度の果実でも軟化度Ⅳになるとほぼ完全に消失した。しかしながら、官能的に感じられる渋味は、軟化度Ⅱの果実でも相当弱っており、軟化度Ⅲになれば渋味はほとんど感じられなかった。アセトアルデヒドおよびエタノールの蓄積は、未熟果では軟化度Ⅲならびに軟化度Ⅳの果実で、成熟果では軟化度Ⅳになって顕著な増加が認められた（図2. 9）。

はく皮乾燥脱渋果の不溶性タンニンは、脱渋が完了したはく皮後6日の時点では1% HCl-MeOH（室温）可溶のタンニンが多かったが、はく皮後14日になると1% HCl-MeOHで加熱抽出しないと可溶化しないタンニンが大部分を占めるようになった。なお、はく皮後6日のタンニンの回収率は約70%であった（図2. 10）。軟化度Ⅲの果実には可溶性タンニンが少量認められたが、大部分は不溶化していた。不溶化したタンニンの大部分はHCl-MeOHで室温抽出された。これに対して、軟化度Ⅳの果実では加熱抽出しないと可溶化しないタンニンが増加していた。ただし、このときに測定されたタンニンの総量は脱渋前よりもかなり多かった（図2. 11）。

2. 4 凍結・解凍にともなう脱渋

材料および方法

全面着色果を採取後、直ちに-20℃のフリーザに入れて、約5か月間保持した。凍結状態にある果実を経時的に取り出し、すばやく流水で洗い、まだ解凍していないシャーベット状の果肉を用いて、可溶性タンニンとアセトアルデヒドおよびエタノール含量を2. 1節と同様に測定した。

また、約1か月間-20℃で凍結させた果実を室温条件下で自然解凍させたときの解凍過程における可溶性タンニンの消長とアセトアルデヒドおよびエタノール蓄積を調査した。

さらに、別に約1か月間-25℃で凍結させておいた全面着色果を用いて、解凍

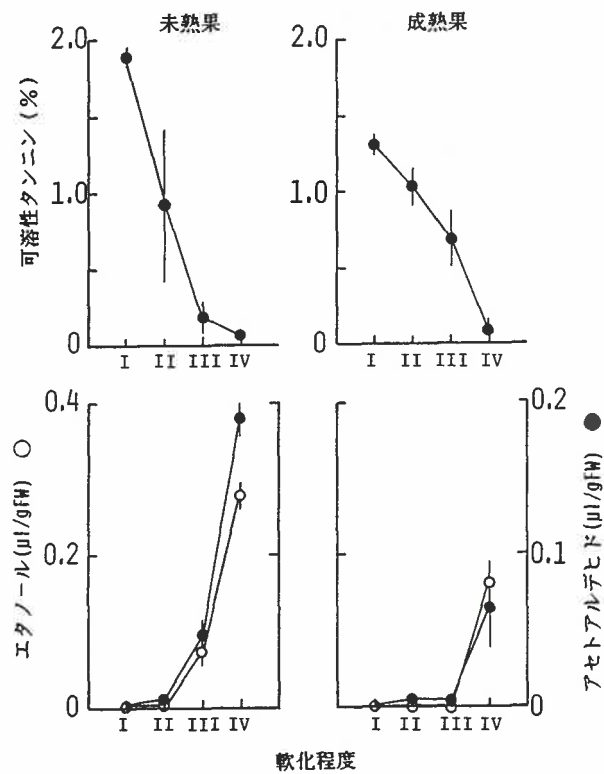


図2. 9 軟化にともなう果肉の可溶性タンニン、エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化 (縦線はSE)

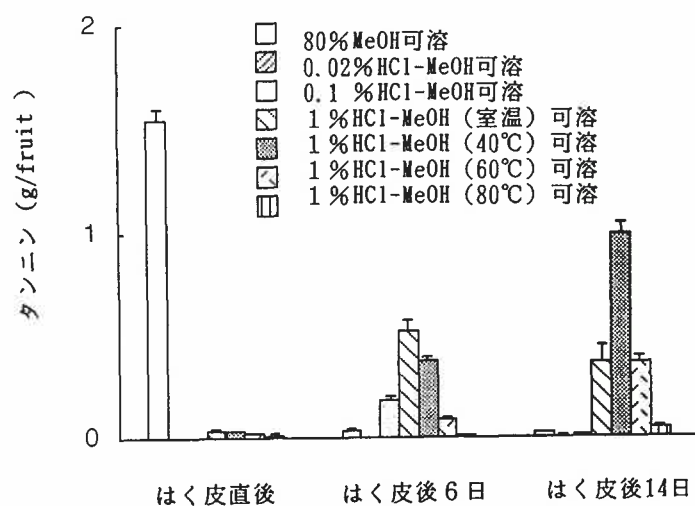


図2. 10 はく皮乾燥脱渋にともなう可溶性タンニンの不溶化の様相 (縦線はSE)

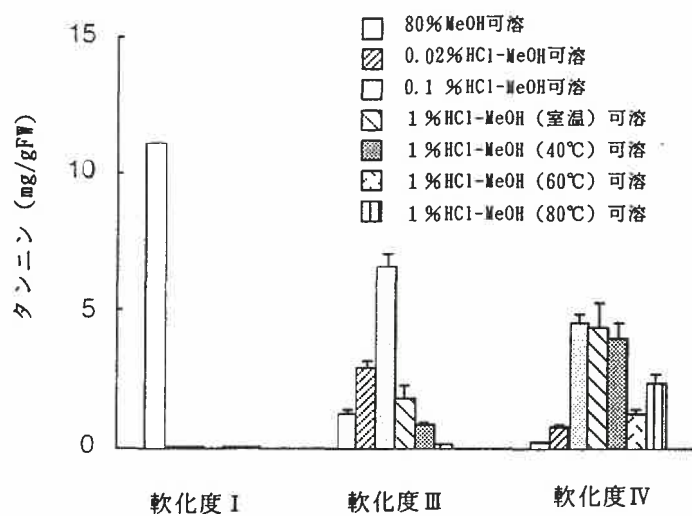


図2. 11 軟化にともなう可溶性タンニンの不溶化の様相 (縦線はSE)

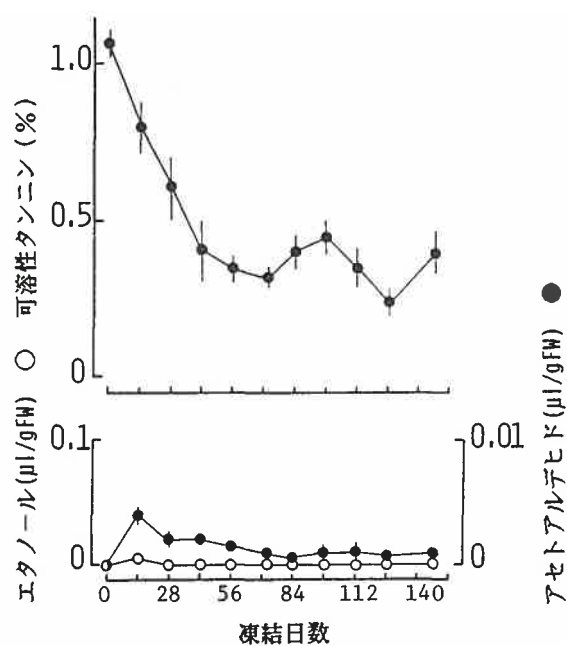


図2. 12 凍結にともなう果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化 (縦線はSE)

開始直後と解凍開始後24時間（脱渋完了時）の不溶性タンニンの測定を行った。測定の方法は2. 1節と同様である。

結 果

採取直後に約1%あった可溶性タンニンは、凍結開始後40日頃までしだいに減少し、0.4%前後になったが、その後はほぼ一定となり、凍結開始後約5か月を経てもそれ以上減少することはなかった。すなわち、渋ガキ果実は凍結中に果肉の可溶性タンニン含量が減少するが、たんに凍結するだけでは完全には脱渋しないことが明らかになった。その間、果肉には凍結期間の初期にアセトアルデヒドがごくわずかに検出される程度で、エタノールはほとんど検出されなかった（図2. 12）。

解凍開始直後に約0.5%あった可溶性タンニンは、解凍開始後6時間までに急減し、解凍開始後24時間でほぼ完全に消失し、渋味も感じられなくなった。この間エタノールの蓄積は認められず、アセトアルデヒドの蓄積もごくわずかであった（図2. 13）。

別に約1か月間凍結させた果実の解凍開始直後のタンニンはほとんどが可溶性であったが、解凍開始後24時間を経過すると大部分が不溶化していた。不溶化したタンニンのほとんどは、0.02% HCl-MeOHに可溶であったが、加熱抽出しないと可溶化しないものも含まれていた（図2. 14）。

2. 5 考 察

Kakeshita(1930)によって提出されたアセトアルデヒドによる可溶性タンニンの縮合・不溶化説は、発表されて以来今日まで最も有力な学説として支持されている。最近でも、Matsuoら(1991)が呼吸阻害剤を用いた脱渋のモデル実験を行い、果肉中にアセトアルデヒドが蓄積するのにもともなって可溶性タンニンが減少することを確認し、渋ガキ果実の人工脱渋におけるアセトアルデヒドの役割の重要性を再確認している。

本章の実験結果からも、軟化にともなう脱渋過程と凍結・解凍にともなう脱渋過程以外の脱渋過程ではいずれも、果肉の可溶性タンニンの減少はアセトアルデヒドの蓄積と密接に関連していることが確認された。ただし、果肉へのアセトアルデヒドやエタノールの蓄積レベルは脱渋処理の方法や条件によってかなり異なっており、完全脱渋に必要とされるアセトアルデヒドの最少蓄積量は必ずしも明らかではなかった。

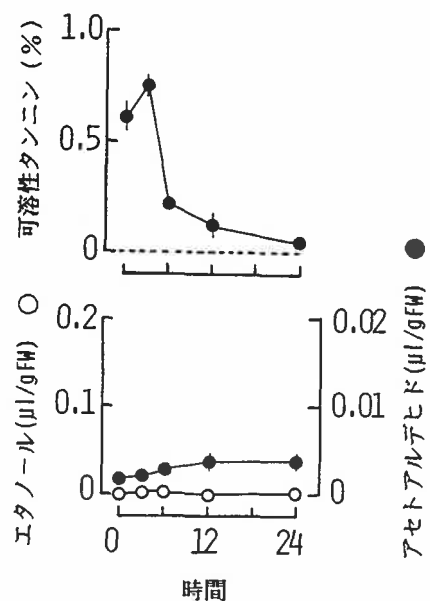


図2. 13 解凍過程における果肉の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

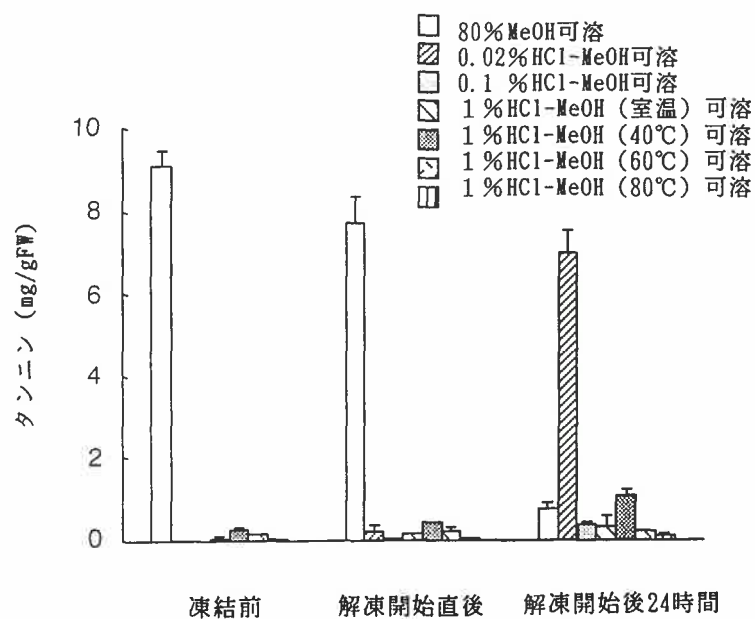


図2. 14 凍結・解凍にともなう可溶性タンニンの不可化の様相（縦線はSE）

また、荒木ら(1975)も指摘するように、アルコール脱渋では果肉にエタノールが多量に蓄積したが、アセトアルデヒドの蓄積量は少なかった。一方、炭酸ガス脱渋では、エタノールの蓄積量は比較的少なかったが、アセトアルデヒドが多く蓄積した。温湯脱渋のアセトアルデヒド蓄積量はこれらの中間的な値を示した。温湯処理は果実を嫌氣的条件下におくことになるから、窒素(ガス)処理に類似するものと考えられる。窒素処理に比べて二酸化炭素処理で果実のアセトアルデヒド生成が促進されることが報告されている(Eaks, 1967; Gazit・Adato, 1972; Pesis・Ben-Arie, 1984)。これは、二酸化炭素処理では果実内に取り込まれた二酸化炭素の一部が果肉細胞に暗固定され、アセトアルデヒド生成の基質として使われるためである(Pesis・Ben-Arie, 1986)。本章の実験においても、アセトアルデヒドの蓄積量は炭酸ガス脱渋が温湯脱渋より若干優っていた。また、軟化にともなう脱渋と凍結・解凍にともなう脱渋を除けば、果肉へのアセトアルデヒドの蓄積が速かで、かつ蓄積量が多い場合ほど脱渋がより速く進む傾向が認められた。

さらに、本章の実験結果から、温湯脱渋過程でも可溶性タンニンの減少はアセトアルデヒドの蓄積にともなっておくことが確認された。北川(1969; 1970b)も、温湯脱渋では渋味の消失と果肉へのアセトアルデヒド蓄積との間に密接な関係があることを指摘している。しかし、同氏はいったん脱渋した果実を煮沸すると渋味の一部が再現したことから、脱渋はたんにアセトアルデヒドによって可溶性タンニンが縮合して不溶化するのではなく、タンニン細胞の内容物全体がゲル化するためにおくと推察した。この考えは、ある意味では渋ガキの脱渋にアセトアルデヒド以外の要因がかかわっていることを示唆しているものといえる。

はく皮乾燥脱渋では、はく皮表面に二次的に形成された皮膜によって果肉細胞のガス交換が阻害され、嫌気呼吸が誘導されて果肉にアセトアルデヒドが蓄積し、それによって可溶性タンニンが不溶化すると考えられている(真部ら, 1978)。本実験の結果から、乾燥の初期における新鮮重あたりの可溶性タンニンはほぼ一定であったが、この期間は果重が比較的速やかに減少していることから、果肉の可溶性タンニンの一部は減少、すなわち不溶化しているものと考えられた。事実、果肉の軟化あるいはゼリー状化が急速に進むのにもなって、渋味は明らかに減少した。しかしながら、この期間の果肉にはまだアセトアルデヒドの蓄積がほとんど確認されなかった。

これらの事実は、はく皮乾燥脱渋の初期過程においても、軟化にともなう脱渋や凍結・解凍にともなう脱渋と同様に、果肉の渋味の減少(脱渋)がアセトアルデヒドの蓄積による可溶性タンニンの不溶化では説明できないことを示している。すなわち、アセトアルデヒド以外の要因が渋味の減少にかかわっていると考えら

れる。ただし、この時期以降に新鮮重あたりの可溶性タンニンが急速に減少するのは、真部ら(1978)が指摘するように、アセトアルデヒドの蓄積による可溶性タンニンの不溶化が脱渋おもな要因になっているものと考えられた。

中村(1961)は、数品種の渋ガキ果実を -25°C で凍結貯蔵すると、可溶性タンニン含量の減少が認められ、品種によって脱渋するまでに要する日数に差はあるが、最終的にはどの品種も完全に脱渋したと報告している。また、楠本・吉村(1976)は、凍結処理による脱渋過程では可溶性タンニン含量の減少とアセトアルデヒドなどの揮発性物質の蓄積との関連が考えにくいとしている。一方、Itou(1986)は、凍結脱渋では渋味の消失が品種によって必ずしも完全でないと述べている。このように凍結にともなう脱渋については、現在必ずしも一致した見解があるとはいえない。

本章の実験結果から、少なくとも‘平核無’に関する限りは、たんに凍結するだけでは完全に脱渋するには至らないことが明らかになった。完全に脱渋するためには解凍過程における可溶性タンニンの減少が不可欠であった。したがって、従来からいわれてきた“凍結脱渋”には、凍結過程における可溶性タンニンの減少に加えて、解凍過程における可溶性タンニンの減少も含まれていたと考えるのが妥当であると思われる。また、 -20°C のフリーザ内に保持した完全着色果(成熟果)では凍結期間中に可溶性タンニン含量が半減したが、アセトアルデヒド蓄積との関連は考えにくかった。また、別に -25°C のフリーザで凍結させた果実では約1か月の間に可溶性タンニンはほとんど減少しなかった。この差異にはおそらく、ショーケース型のフリーザ(-20°C)と薬品貯蔵用のフリーザ(-25°C)との冷凍能力の違いが関係しているものと推察される。すなわち、冷凍過程がより緩慢に進行した場合には、凍結導入過程においても可溶性タンニンの減少が生じやすいものと推測された。したがって、本実験で認められた凍結期間中の可溶性タンニンの減少はおそらく、後に3.4節のところで述べる果肉細胞組織の断片へのタンニンの吸着現象と関連があるものと思われる。

さらに、解凍過程における可溶性タンニンの減少とアセトアルデヒドの蓄積との関係も明らかではなく、凍結・解凍過程における脱渋にはアセトアルデヒド以外の要因が関与しているものと考えられた。なお、実験の途上で凍結・解凍過程にともなう脱渋には、果実熟度の影響が大きいことが明らかになったが、この点については後に4.1節のところで再度ふれることにしたい。

ところで、可溶性タンニンの抽出には、現在、80% MeOHを抽出溶媒とする方法が最もよく用いられている(Taira, 1996)。一方、不溶性タンニンの抽出法にはまだ検討すべき点があるが、現在比較的よく用いられているのは本実験でも用いた1% HCl-MeOHによる方法である(Ben-Arie・Sonego, 1993; Oshidaら, 1996;

Taira・Ono, 1997)。ただし、この方法では、脱渋後時間の経過とともに褐変した渋ガキ果実の不溶性タンニンや完全甘ガキの凝固したタンニン細胞中の不溶性タンニンを完全に抽出することはできない(Oshidaら, 1996; 平ら, 1998)。

不溶性タンニンの可溶化の難易度は、タンニンが高分子化する際の結合の強さを反映しているものと考えられる。つまり、可溶化が困難なほど、タンニン分子は縮合反応などによってより強固に結合して高分子化している部分が多く、逆に、可溶化が容易なほど、水素結合などの非共有結合によって比較的ゆるやかに結合して高分子化している部分が多いものと推察される。試みに、本章の実験で検討した6種類の脱渋処理を脱渋完了時の不溶性タンニンの結合の強さの順に並べると、はく皮乾燥脱渋、炭酸ガス脱渋、軟化にともなう脱渋、樹上脱渋、アルコール脱渋ならびに凍結・解凍脱渋の順になる。はく皮乾燥脱渋でタンニンが最も強固に不溶化するの、乾燥過程においてタンニン細胞中の可溶性タンニンが濃縮されることも関係しているものと推察される。

実験結果から、不溶性タンニンの可溶化の難易度は、脱渋方法が異なったり、脱渋後時間が経過するとかなり異なってくることがわかった。つまり、果肉にアセトアルデヒドが多く蓄積する脱渋処理ほど、また、脱渋完了後時間が経過するほど、不溶性タンニンの可溶化は困難になった。ただし、軟化にともなう脱渋過程で不溶化したタンニンは、アセトアルデヒドの蓄積がほとんど認められないにもかかわらず、比較的強固に不溶化していた。

なお、タンニンの回収率が100%を下回る場合と逆に上回る場合が認められた。100%を下回る場合は、不溶化したタンニンの一部が1% HCl-MeOHによる加熱抽出によっても可溶化しないものに変化したためと考えられる(平ら, 1998)。すなわち、樹上脱渋やはく皮乾燥脱渋では脱渋後時間が経過すると不溶化したタンニンの一部がさらに強固に高分子化する結果として、タンニンの回収率が低下したものと推察される。これには不溶化したタンニンの酸化や果肉中でのタンニンの濃縮などがかかわっている可能性が考えられるが詳細については明らかではない。一方、100%を上回る理由についてはよくわからないが、このようなケースでは果肉の軟化をとまなっていることが多いことから、軟化にともなう崩壊した果肉の細胞壁構成成分の一部が混入して測定されている可能性もあると思われる。

以上のことから、現在知られている渋ガキの脱渋過程の多くの場合において、果肉の渋味の減少は処理中に果肉に生じたアセトアルデヒドによって可溶性タンニンが不溶化することによっていることが再確認された。しかしながら、軟化にともなう脱渋や凍結・解凍にともなう脱渋、さらにはく皮乾燥脱渋過程の一部においては、アセトアルデヒド以外の要因が渋味の減少あるいは可溶性タンニンの不

溶化にかかわっていることが明らかであった。また、アセトアルデヒドによる可溶性タンニンの不溶化は、脱渋処理の種類や条件によってさまざまな強度でおこなっているものと考えられた。

2. 6 摘 要

脱渋処理にともなう渋ガキ果実の可溶性タンニンの減少と果肉へのアセトアルデヒドの蓄積との関係を再検討するために、各種脱渋過程における可溶性タンニンとアセトアルデヒドおよびエタノールの消長を調査した。さらに、それらの脱渋処理によって不溶化したタンニンの可溶化の難易度を比較した。

アルコール脱渋、樹上脱渋、炭酸ガス脱渋、温湯脱渋およびはく皮乾燥脱渋のいずれの脱渋過程でも、果肉の可溶性タンニンはアセトアルデヒドの蓄積にともなって減少した。ただし、アセトアルデヒドの蓄積レベルは脱渋方法によって異なっていた。果実の軟化にともなう脱渋と凍結・解凍にともなう脱渋においては、果肉の渋味の減少とアセトアルデヒドの蓄積時期がよく一致しないか、蓄積がほとんど認められなかった。また、軟化にともなう脱渋過程とはく皮乾燥脱渋の初期過程では、可溶性タンニン含量の低下と果肉の渋味の減少程度がよく一致しなかった。

以上のことから、果実の軟化にともなう脱渋と凍結・解凍にともなう脱渋、ならびにはく皮乾燥脱渋の初期過程を除く各種脱渋過程では、可溶性タンニンの不溶化は果肉に蓄積するアセトアルデヒドと密接にかかわっていると考えられたが、果肉の軟化をとともなう上記の脱渋過程では、おもにアセトアルデヒド以外の要因が果肉の渋味の減少、あるいは可溶性タンニンの不溶化に関与しているものと推察された。

3. 脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因

前章の実験結果から、渋ガキ果実の可溶性タンニンの不溶化あるいは渋味の減少には、アセトアルデヒド以外の要因がかかわっていると考えられる場合があることが明らかになった。また、このような場合には必ず果肉の軟化をともなっていることが特徴であった。

一般に、果実の成熟や追熟の過程では、ペクチンをはじめとする細胞壁構成多糖類の分解や果肉細胞の崩壊がおこることによって果肉がしだいに軟化するといわれている（伊庭ら，1985；緒方，1977；苦名，1977）。Cutillas-Iturraldeら（1993）は、渋ガキの果肉の細胞壁構成多糖類も果実の発育や成熟にともなってしだいに分解することを報告している。このようなことから考えると、果肉の軟化にともなって果実内に生じる何らかの変化がアセトアルデヒド以外の要因として渋味の減少に関与している可能性がある。

本章では、上記のような観点から、まず、果実が軟化するにつれて果肉に増加すると考えられる水溶性ペクチンが、カキタンニンの渋味にどのような影響をおよぼすかをモデル実験によって確かめた（3. 1 節）。さらに、軟化過程にあるインタクトな果実ではペクチンとタンニンがどのような相互作用を持っているのかについて検討を加えた（3. 2 節）。つぎに、果肉細胞の崩壊あるいは破壊によって生じる細胞組織の断片へのタンニンの吸着についてのモデル実験を行った（3. 3 節）。また、そのことを凍結速度を変えることで細胞組織の破壊の程度を変えた果肉スティックを用いて確かめた（3. 4 節）。

3. 1 ペクチンとタンニンの複合体形成(1) —モデル実験—

材料および方法

山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）のカキ‘平核無’成木から採取した全面着色果（成熟果）を供試した。果汁は採取後の果実から直ちに搾汁したものを用いた。精製カキタンニンは丸善製薬（株）（尾道市）より提供を受けたものを使用した。この精製カキタンニンは未熟な渋ガキ果実から抽出・精製されたもので、分子量1万以上の高分子タンニンを約90%，それより低分子のタンニンを約10%含んでいるものである。

まず、果汁あるいは精製カキタンニン水溶液の渋味が水溶性ペクチンの共存下で減少するかどうかを、両者を試験管内で混合することによって確かめた。すなわち、果汁または精製カキタンニンの水溶液5 mlに、0.1～2.0 %のペクチン

(和光純薬(株)製)水溶液5 mlを加えて、混合液中の可溶性タンニン含量をタンパク結合法(Hagerman・Butler, 1987)およびFolin-Denis法(Taira, 1996)の両方で測定した。混合液の渋味の強さは、3人のパネリストの官能テストによって評価した。評価方法は0～4のスコアとした。パネリストにはあらかじめ用意した精製カキタンニンの標準液を用いて渋味評価の訓練を行った。スコアは、0：渋くない、1：ほとんど渋くない、2：やや渋い、3：かなり渋い、4：きわめて渋いとしたが、必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5の評価も可能とした。

つぎに、ペクチン以外の多糖類や少糖類、二糖類が精製カキタンニン水溶液の渋味におよぼす影響を調査した。用いた糖類は、グルコマンナン、水溶性食物繊維(バレイショデンプン製)、ポリデキストロース、フラクトオリゴ糖、 β -シクロデキストリン、 α -シクロデキストリン、ラフィノース、ラクトースおよびショ糖で、いずれも和光純薬(株)製である。これらの水溶液と1.0%精製カキタンニン水溶液の等量混合液の可溶性タンニン含量をタンパク結合法で測定した。

また、果実を実際に食べるときのことを考えて、口の中にペクチンが豊富にあるときに渋ガキ果肉の渋味がどのように変化するかについて検討を加えた。すなわち、濃度の異なるペクチン水溶液であらかじめ口をすすいだ後に渋ガキの果肉切片を食べたとき、果肉切片(5 mm角, 約 0.13cm^3)の渋味の程度がどのように変化するかを調査した。渋味の程度は、果肉切片を口に含んだとき(咀嚼前)と咀嚼した後の2回に分けて評価した。

なお、データの統計的な解析はSAS(SAS Institute, 1988)によって行った。

結 果

ペクチンとタンニンの混合液の渋味の程度は、加えたペクチン水溶液の濃度が高いほど明らかに減少した(表3. 1)。果汁に2%ペクチン水溶液を加えると、混合液の渋味はほとんど感じられなくなった。このとき、タンパク結合法で測定した混合液の可溶性タンニン含量は、ペクチン水溶液の濃度が高くなるほど減少したが、Folin-Denis法で測定した含量にはほとんど変化がなかった。水溶性ペクチンによる混合液の渋味の減少効果は、精製カキタンニン溶液よりも果汁の方が大きく現れた。

このように、ペクチンによるタンニンの渋味の減少程度は、タンパク結合法で測定した可溶性タンニン含量と比較的よく一致していたが、これはペクチンがタンニンと複合体を形成しているためなのか、タンパク結合法で用いるアルブミンと複合体を形成しているためなのかがわからなかった。そこで、測定液中のアルブミンの量あるいは混合液中の精製カキタンニンの量を増加させることによって、

表3. 1 ペクチンとタンニンの混合液の可溶性タンニン含量と渋味

混合液	渋味(スコア) a	可溶性タンニン(mg/ml)	
		タンパク結合法	Folin-Denis 法
果汁			
+ 蒸留水	4.0	10.39±0.16 b	11.04±0.10
+ 0.1%ペクチン	3.7	7.32±0.14	11.06±0.09
+ 0.5%ペクチン	2.7	7.83±0.52	11.12±0.02
+ 1.0%ペクチン	1.5	2.07±0.45	11.50±0.01
+ 2.0%ペクチン	1.0	1.76±0.21	11.41±0.09
有意性 c	***	***	**
1.0 %精製カキタンニン			
+ 蒸留水	3.3	4.50±0.05	5.21±0.07
+ 0.1%ペクチン	3.2	3.99±0.16	5.22±0.05
+ 0.5%ペクチン	2.2	2.62±0.05	5.39±0.09
+ 1.0%ペクチン	1.8	2.20±0.12	5.30±0.04
+ 2.0%ペクチン	1.3	2.17±0.14	5.36±0.09
有意性	***	***	NS

a 0 : 渋くない, 1 : ほとんど渋くない, 2 : やや渋い, 3 : かなり渋い, 4 : きわめて渋い (必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5の評価も可)。3人のパネリストの平均値。

b 平均±SE (n = 3)。

c x をペクチンの濃度, y を渋味のスコアあるいは可溶性タンニン含量としたときの回帰式: $y = ax + b$ の有意性。***: 0.1%レベルで有意, **: 1%レベルで有意, NS: 有意差なし。

表3. 2 アルブミンおよびタンニンの量がタンパク結合法の測定値におよぼす影響

混合液	可溶性タンニン(mg/ml)	
	タンパク結合法	Folin-Denis 法
アルブミン a		
標準量	2.20±0.12 c	5.20±0.05
×1.5	2.22±0.09	5.30±0.04
×2.0	2.24±0.09	5.32±0.07
精製カキタンニン b		
1.0 %	2.20±0.12	5.20±0.05
1.5 %	4.36±0.16	7.55±0.05
2.0 %	7.62±0.05	10.91±0.09

a 1.0 %精製カキタンニン+1.0 %ペクチン混合液を使用。

b 1.0 %ペクチン+標準量アルブミンを使用。

c 平均±SE (n = 3)。

その点を確認しようとした。その結果、アルブミンを増やしても測定値にほとんど変化がなかったのに対して、タンニンの量を増加させると測定値が増加した（表3. 2）。このことから、混合液あるいは測定液中で、タンニンはアルブミンではなく、主としてペクチンと複合体を形成しているものと考えられた。

タンニンとペクチン以外の糖類との混合液の可溶性タンニン含量は表3. 3のとおりであった。実験に供試した糖類の中には水溶性ペクチンのように可溶性タンニン含量を減少させるものはなかった。グルコマンナンは混合液のタンニン含量をむしろ増加させた。タンニンとグルコマンナンとの混合液には沈殿が生じていたことから、これは、グルコマンナンの保水力によって精製タンニン溶液が逆に濃縮されたためと考えられた。

渋ガキの果肉切片を食べる前にペクチンの水溶液で口をすすぐと、切片を口に含んだ直後（咀嚼前）の渋味はまったく感じられなくなった（表3. 4）。また、果肉切片を咀嚼した後に感じる渋味もすすぎに使ったペクチン水溶液の濃度が高いほど減少した。

3. 2 ペクチンとタンニンの複合体形成(2) —インタクトな果実の場合—

本節では、前節で明らかになった水溶性ペクチンと可溶性タンニンの複合体形成による渋味の減少が、インタクトな果実でも実際におこっているのかどうかを確認するために以下の実験を行った。

材料および方法

まず、収穫後の果実の自然追熟過程における渋味の減少と果肉の水溶性ペクチンとの関連を調べるために、採取後20℃の恒温室に保持した全面着色果から、順次、2. 3節に示した岩田ら(1969)の規準に従って軟化度I～IVの果実を選び、それらの果実の果肉の渋味を評価するとともに細胞壁構成成分の分析を行った。

果肉のアルコール不溶性固形物（AIS）の調製は、板村ら(1989)の方法を一部改変して行った。まず、10gの果肉細片を90mlの80%熱エタノールで15分間抽出した後、ポリトロンで磨砕した。遠心分離した後、残さを80%エタノールで2回洗浄し、再度遠心分離した。得られた残さを90%エタノール、100%エタノール、さらに100%アセトンで順次洗浄してろ過し、通風乾燥機で乾燥させてAISを得た。

AISからのペクチンの抽出は、水溶性ペクチン(WSP: 20℃で約12時間蒸留水で抽出)、EDTA可溶性ペクチン(ESP: 0.05M EDTAで80℃で30分抽出)およびHCl可

表3. 3 精製カキタンニンと各種糖類の混合液の
タンニン含量

混合液 a	可溶性タンニン(mg/ml) b
蒸留水	4.45 c
グルコマンナン 0.5%	5.71
1.0%	6.69
水溶性食物繊維 1.0%	4.82
5.0%	4.60
ポリデキストロース 1.0%	4.43
5.0%	4.64
フラクトオリゴ糖 1.0%	4.69
5.0%	4.69
β -シクロデキストリン 1.0%	4.67
2.0%	4.67
α -シクロデキストリン 1.0%	4.58
5.0%	4.71
ラフィノース 1.0%	4.69
5.0%	4.53
ラクトース 1.0%	4.56
5.0%	4.38
ショ糖 1.0%	4.45
5.0%	4.32

a 1.0 %精製カキタンニンとの混合液.

b タンパク結合法による.

c 2回の実験の平均値.

表3. 4 蒸留水またはペクチン水溶液で口をすすいだ後の
果肉切片の渋味の変化

すすぎ	渋味 (スコア) a	
	咀嚼前	咀嚼後
蒸留水	2.0	4.0
0.1%ペクチン	0.0	2.7
0.5%ペクチン	0.0	2.2
1.0%ペクチン	0.0	1.3
2.0%ペクチン	0.0	1.0
有意性 b	—	***

a 0 : 渋くない, 1 : ほとんど渋くない, 2 : やや渋い,
3 : かなり渋い, 4 : きわめて渋い, (必要に応じて0.5,
1.5, 2.5, 3.5の評価も可). 3人のパネリストの平均値.

b xをペクチンの濃度, yを渋味のスコアとしたときの回帰
式: $y = ax + b$ の有意性. ***: 0.1%レベルで有意,
—: 分析せず.

溶性ペクチン(HSP: 0.05N HCl で 100℃で1時間抽出)の3分画抽出とした。ペクチンの抽出が終わった残さは、さらに5% NaOHで 100℃で1時間抽出してヘミセルロース画分を得た。ペクチンのウロン酸含量はBlumenkrantz・Asboe-Hansen (1973)の方法で、ヘミセルロース含量はDuboisら(1956)の方法で測定した。

果肉の渋味の評価の方法は前節と同様である。また、果肉のアセトアルデヒド含量の測定の方法は2.1節と同様である。

つぎに、可溶性タンニンをあらかじめ不溶化して、水溶性ペクチンと複合体を形成しないようにした果実の軟化過程における細胞壁構成成分の変化を調査するため、以下の実験を行った。すなわち、採取後軟化度がⅡに達した果実を90%アセトアルデヒドを2 ml入れたデシケータに入れて、20℃で2日間密封して脱渋した。対照区の果実はこの間無処理とした。アセトアルデヒドによって可溶性タンニンを不溶化した果実および無処理のまま追熟させた果実の、その後の軟化過程におけるペクチンとヘミセルロース含量ならびにアセトアルデヒド蓄積量を調査した。

結 果

収穫後、果実の軟化が進むにしたがって、果肉切片を口に含んだとき（咀嚼前）および咀嚼した後の渋味の程度はしだいに減少した（表3.5）。このとき、果肉から80% MeOHで抽出される可溶性タンニン含量は、果実の軟化度がⅣになってはじめて大きく減少した。つまり、軟化度がⅡおよびⅢの果実では、渋味の強弱と可溶性タンニン含量の多少とがよく一致しなかった。なお、それぞれの軟化度の果実の果汁の可溶性タンニン含量をタンパク結合法で測定しようと試みたが、軟化した果実から果汁をとることがきわめて困難であったために断念せざるを得なかった。

これらの果実を用いて細胞壁構成成分を測定したところ、全ペクチン含量が果実の軟化度によって大きく異なっていた（図3.1）。すなわち、全ペクチン含量は軟化の初期過程（軟化度Ⅱ）ではやや増加したが、その後軟化が進行するにつれて当初のレベルの約50%にまで減少した（軟化度Ⅳ）。一方、水溶性ペクチン(WSP)は、軟化度Ⅲの果実でいったん減少したが、その後再び増加した。EDTA可溶性ペクチン(ESP)はいったん増加した後（軟化度Ⅱ）、軟化の進行にともなって減少した（軟化度Ⅳ）。HCl可溶性ペクチン(HSP)は果実の軟化が進むにしたがって減少し続け、軟化度がⅣになるとほぼ消失した。ヘミセルロース含量は果実の軟化が進行してもほとんど変化しなかった。このような結果から、未脱渋果の軟化過程では、ペクチンの全量が回収できない場合があるものと考えられた。

表 3. 5 果実の収穫後の軟化にともなう可溶性タンニン含量と
渋味の変化

軟化度 a	渋味 (スコア) b		可溶性タンニン (mg/gFW)
	咀嚼前	咀嚼後	
I	3.5	4.0	15.15±0.04 c
II	1.0	3.5	16.61±1.25
III	0.0	2.5	12.23±1.52
IV	0.0	0.0	0.51±0.04
有意性 d	*	*	*

- a I : 十分に硬い, II : 全体にかなり軟いが, しっかりしている, III : 指で押すと崩壊するか果肉の一部が水浸状, IV : 非常に軟弱か果肉の一部が崩壊している.
- b 0 : 渋くない, 1 : ほとんど渋くない, 2 : やや渋い, 3 : かなり渋い, 4 : きわめて渋い (必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5の評価も可). 3人のパネリストの平均値.
- c 平均±SE (n=3).
- d NPAR1WAY (Kruskal-Wallis) テストによる有意性.
- *: 5%レベルで有意.

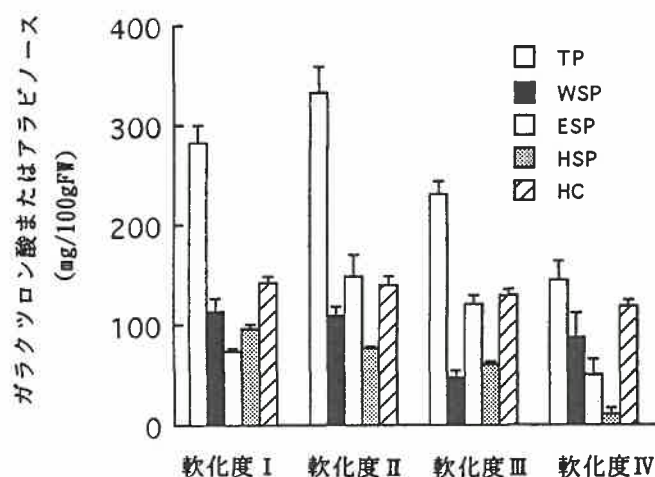


図 3. 1 果実の収穫後の軟化にともなうペクチンと
ヘミセルロース含量の変化 (縦線はSE)

ペクチンはガラクトuron酸, ヘミセルロース
はアラビノース換算.
TP : 全ペクチン, WSP : 水溶性ペクチン,
ESP : EDTA可溶性ペクチン,
HSP : 塩酸可溶性ペクチン,
HC : ヘミセルロース

これに対して、アセトアルデヒド処理を行ってあらかじめ可溶性タンニンを不溶化した果実の軟化過程では、全ペクチン含量にほとんど変化が認められなかった（図3. 2）。アセトアルデヒド処理が終了した直後の果実は軟化度がⅢに達していたが、このときの WSP含量は処理前の2倍以上に増加していた。その後、アセトアルデヒド処理果実は軟化が進んで軟化度がⅣに達しても、WSPのレベルは高いままであった。一方、アセトアルデヒド処理を行わないで軟化度がⅣに達した対照区の果実では、全ペクチン含量ならびに WSP含量が、処理前の果実（軟化度Ⅱ）に比べて約半分と少なかった。ちなみに、アセトアルデヒド処理の有無にかかわらず、軟化度がⅣに達した果実は渋味がまったく感じられなかった。

また、アセトアルデヒド処理直後の果実の果肉には、アセトアルデヒドが相当量蓄積していたが、軟化度がⅣになる頃にはかなり少なくなっていた。このときの蓄積のレベルは、アセトアルデヒド処理を行わなかった果実に最終的に蓄積したレベルとほぼ同程度であった（データ省略）。

3. 3 細胞組織の断片へのタンニンの吸着(1) —モデル実験—

材料および方法

前節と同様に、以下の実験には山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）のカキ‘平核無’成木から採取した果実を供試した。

最初に、果肉細胞をそのまま、あるいは蒸留水とともに磨砕して破壊した場合に、可溶性タンニンの減少がおこるかどうかを調べた。すなわち、全面着色した成熟果の果肉細片50 gを何も加えずにポリトロンで直接磨砕した場合、ならびに果肉5 gを25 mlの80% MeOH、または1倍量（×2抽出とする）～9倍量（×10抽出とする）の蒸留水とともに磨砕した場合に抽出される可溶性タンニン含量を、Folin-Denis 法(Taira, 1996)で測定した。さらに、これらの抽出後の果肉の残さに含まれる不溶性タンニンを測定した。不溶性タンニンは、可溶性タンニンの抽出残さを再度80% MeOHで抽出した後、1% HCl-MeOH（室温で即時抽出）、同（40℃で30分）および同（60℃で30分）で順次抽出し、それぞれの抽出液に含まれるタンニン含量を測定した。

つぎに、カキタンニンが渋ガキ以外の果実の果肉細胞組織の断片にも吸着されるかどうかを確かめるため、市販のリンゴ‘ふじ’、セイヨウナシ‘ラ・フランス’および甘ガキの‘富有’の果肉それぞれ5 gを1.0%の精製カキタンニン水溶液に入れてポリトロンで磨砕し、上澄みに含まれる可溶性タンニン含量を測定した。また、磨砕後の残さを80% MeOH、1% HCl-MeOH（室温で即時抽出）および

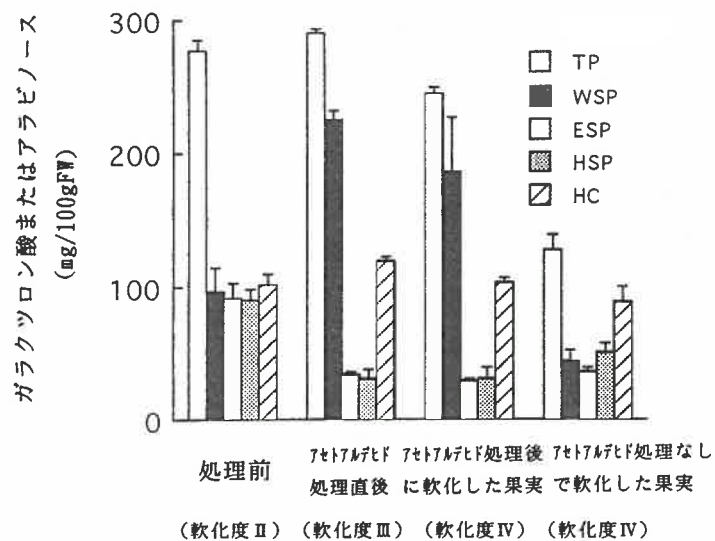


図 3. 2 アセトアルデヒド処理が果実の軟化過程におけるペクチンとヘミセルロース含量におよぼす影響 (縦線はSE)

ペクチンはガラクトuron酸, ヘミセルロースはアラビノース換算.

TP: 全ペクチン, WSP: 水溶性ペクチン,

ESP: EDTA可溶性ペクチン,

HSP: 塩酸可溶性ペクチン,

HC: ヘミセルロース

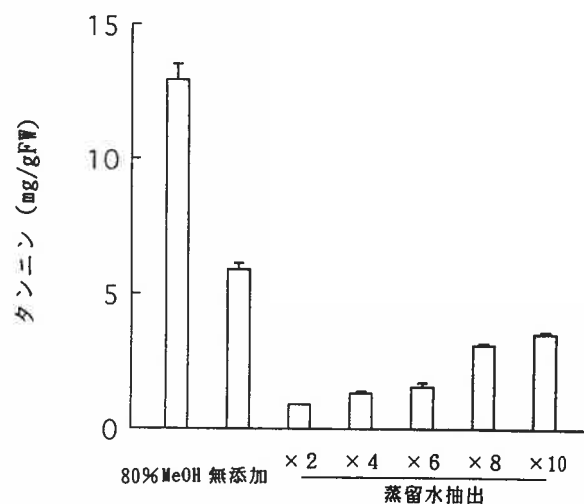


図 3. 3 抽出液の種類と量が可溶性タンニンの抽出量におよぼす影響 (縦線はSE)

同（60℃で30分）で順次抽出して各抽出液中のタンニン含量を調べた。なお、供試した果実の果肉にもともとポリフェノール物質が含まれていたもので、別に果肉のポリフェノール含量を測定し、その値を差し引いてタンニンの吸着量を求めた。

さらに、軟化しつつあるインタクトな果実を外側から手でもむことによって内部の果肉細胞を破壊すると、可溶性タンニンが果肉細胞組織の断片に吸着して減少するかどうかを調べるために、全面着色果を収穫後20℃に数日間置いて追熟させた。前節にも示したように、軟化度がⅡになった果実を選んで、果皮が破れないように手で数分間ていねいにもんだ。もんだ果実のいくつかはさらに20℃に24時間放置した。これらの果実の可溶性タンニンと不溶性タンニンを先と同様にして測定した。果肉の渋味の程度は3.1節と同様の方法で評価した。果肉のアセトアルデヒド含量も2.1節と同じ方法で測定した。

結 果

抽出の際に用いる蒸留水の量によって、未脱渋果の果肉から抽出される可溶性タンニンの量は大きく異なった（図3.3）。可溶性タンニンの抽出量は、供試した果肉（5g）に相当する体積の蒸留水（5ml）で抽出（×2抽出）したときに最も少なくなり、抽出に用いる蒸留水の量がそれより増えるにしたがってだいに増加した。結局のところ、蒸留水抽出では×10抽出のときに抽出量が最も多くなったが、それでも80%MeOH抽出の約30%の量であった。果肉のみを何も加えずに直接磨砕した場合、可溶性タンニンの抽出量は、80%MeOH抽出のときの約50%になった。このとき、磨砕した直後の果肉のホモジネートの渋味は、磨砕直前に比べて明らかに減少していた（データ省略）。

これらの実験結果は、蒸留水で抽出したり、果肉を直接磨砕すると、果肉に含まれていた可溶性タンニンのかなりの部分が吸着されて抽出されなくなることを示しているものと考えられた。また、このことは、蒸留水抽出後の残さから80%MeOHで抽出されるタンニンがほとんど認められなかったこと、さらに、蒸留水による抽出操作によって吸着されたと考えられるタンニンが、残さを1%HCl-MeOHで室温ならびに加熱抽出することによって可溶化されたことから明らかであった（図3.4）。

果肉細胞組織の断片へのタンニンの吸着は、渋ガキの果肉だけではなく、リンゴやセイヨウナシならびに甘ガキの果肉でも認められた。すなわち、これらの果実の果肉を精製カキタンニン溶液とともに磨砕すると、カキタンニンの半分以上が細胞の断片に吸着して減少した（図3.5）。吸着したタンニンは、渋ガキの場合と同様に、1%HCl-MeOHで加熱抽出を行わないとその全量を可溶化すること

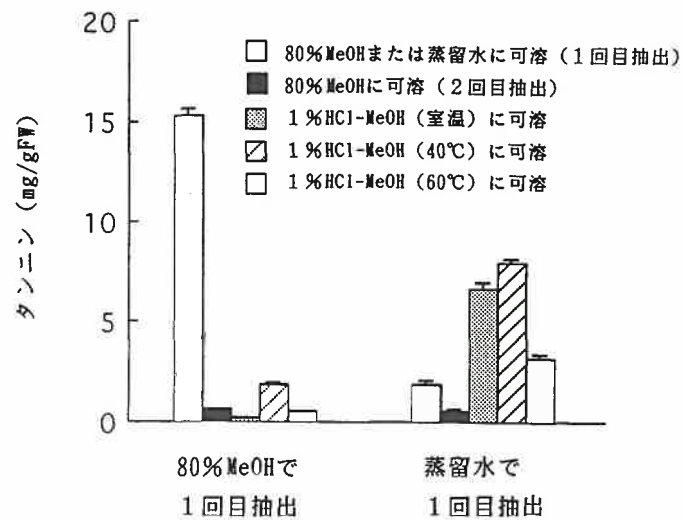


図3. 4 蒸留水による抽出がタンニンの不溶化におよぼす影響
(縦線はSE)

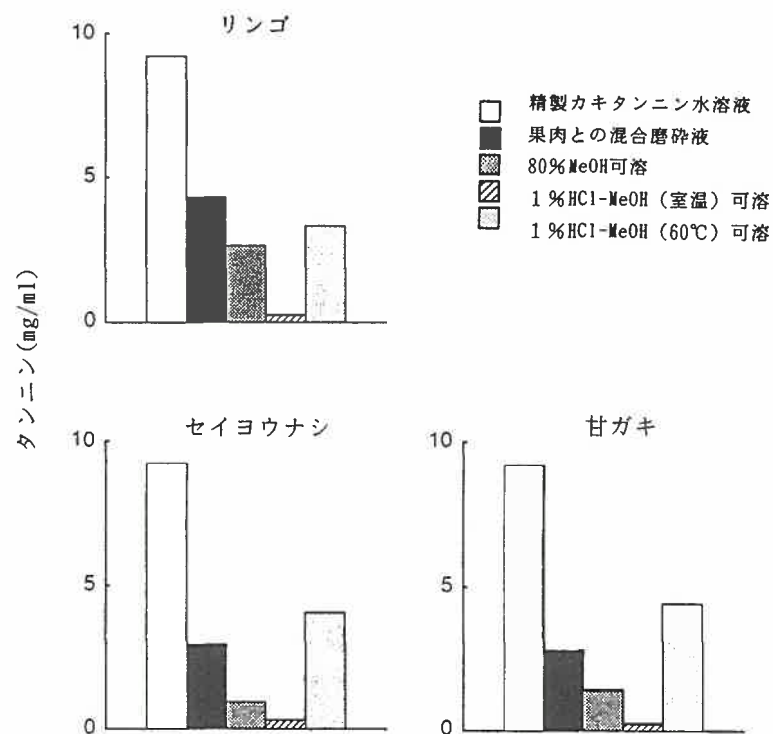


図3. 5 リンゴ, セイヨウナシおよび甘ガキ果肉の細胞組織の
断片へのタンニンの吸着
2回の実験の平均値.

ができなかった。なお、タンニンを吸着する程度は、果実の種類によって若干異なり、リンゴに比べるとセイヨウナシや甘ガキの果肉組織の断片の方がタンニンをよく吸着する傾向が認められた。

インタクトな果実の場合、軟化度がⅡになった果実のタンニンはその大部分が可溶性であったが、果実を手でもむと、その直後には可溶性タンニンの半分近くが不溶化した（図3. 6）。このとき、果肉にはアセトアルデヒドの蓄積がまったく認められなかった（データ省略）。不溶化したタンニンは1% HCl-MeOHによる室温ならびに加熱抽出で再び可溶化した。

手もみ処理を行った果実を24時間放置すると、果肉にごくわずかの量のアセトアルデヒドが蓄積するとともに（データ省略）、タンニンのほとんどすべてが不溶化した。ただし、測定された全タンニン量は、手もみ前の果実よりも手もみ後24時間経過した果実の方がかなり多くなった。

一方、果肉の渋味は手もみ処理直後にも明らかに減少していた。手もみ処理後24時間が経過すると、渋味はほとんど感じられなくなった（表3. 6）。

3. 4 細胞組織の断片へのタンニンの吸着(2) - 果肉の凍結速度の影響 -

前節のモデル実験の結果から、渋ガキの果肉細胞が磨砕などによって破壊されたり、果実の軟化にともなって崩壊すると、アセトアルデヒドとは無関係に、可溶性タンニンの一部が果肉細胞組織の断片に吸着して減少するものと考えられた。

可溶性タンニンはおそらく、破壊あるいは崩壊した細胞の細胞壁や原形質膜の断片に吸着しているものと推察されるが、3. 1節および3. 2節で検討したように、果肉細胞が破壊されることによって果肉に含まれる水溶性ペクチンと可溶性タンニンが出会い、複合体を形成している可能性も考えられる。

そこで、本節ではこの点をより明確にするために、果肉の凍結速度を変えることによって細胞組織の破壊の程度を変え、そのことが解凍過程における渋味の減少にどのような影響をおよぼすかを細胞壁構成成分の変化と合わせて調査した。

材料および方法

山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）のカキ‘平核無’成木から全面着色果を採取した後、20℃の恒温室に48時間保持した未脱渋果を供試した。また、タンニンを不溶化した（脱渋した）果実でも同様の調査を行うため、半数の果実は採取後直ちに20ℓ容のデシケータに入れ、二酸化炭素（濃度90%以上）を封入後、20℃で48時間処理して脱渋した。

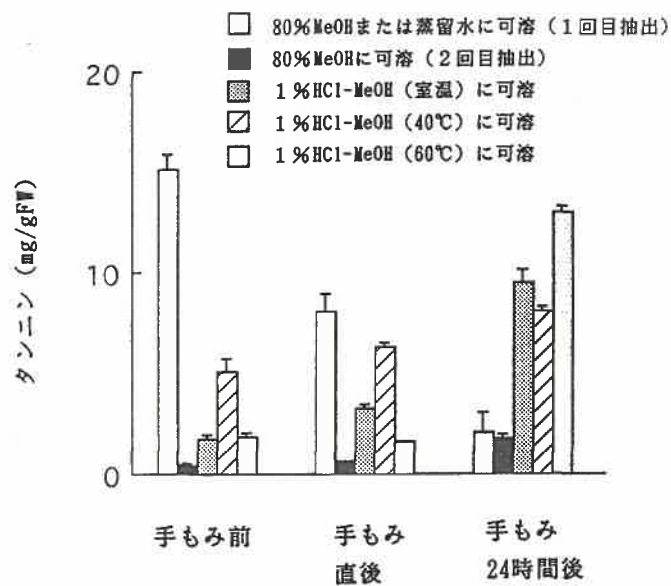


図 3. 6 手もみ処理がインタクトな果実のタンニンの不溶化におよぼす影響 (縦線はSE)

表 3. 6 手もみ処理がインタクトな果実の渋味におよぼす影響

	渋味 (スコア) a	
	咀嚼前	咀嚼後
手もみ前	2.5±0.3 b	3.5±0.3
手もみ直後	2.0±0.0	3.0±0.0
手もみ24時間後	0.0±0.0	1.0±0.0

a 0 : 渋くない, 1 : ほとんど渋くない, 2 : やや渋い, 3 : かなり渋い, 4 : きわめて渋い (必要に応じて0.5, 1.5, 2.5, 3.5 の評価も可). 3 人のパネリストによる評価.

b 平均±SE (n = 3).

未脱渋果ならびに脱渋果の赤道部より切り出した約5 g果肉スティック（1×1×4 cm）を個別にアルミホイルで包み、以下の二通りの方法で凍結させた。ひとつは薬品保管用の-25℃のフリーザ（メディカルフリーザ，サンヨー電機製）に入れて凍結させる緩慢凍結，もうひとつはアルミホイルごと液体窒素中に1分間浸漬する急速凍結である。液体窒素で凍結させた後は，緩慢凍結と同じフリーザの中に入れた。これらのスティックを約1か月間フリーザ内に置いた後，20℃で自然解凍させた。

解凍過程における渋味の変化は，果肉スティックから約5 mm角の果肉小片を切り出して，3. 1節と同様の方法で3人のパネリストによって評価した。評価の結果は，調査時点ごとにどちらの方法で凍結した果肉がより渋いかをペアテストによって解析した。可溶性タンニンは，果肉スティックの重さを計った後，80% MeOHで抽出して Folin-Denis法（Taira, 1996）で測定した。

つぎに，上記の実験で可溶性タンニンを測定した果肉の残さを用いて，凍結・解凍過程におけるタンニンの不溶化の様相を調査した。不溶性タンニンの分画・測定の方法は，2. 1節とまったく同様である。測定は凍結前，解凍開始直後，解凍開始後6時間ならびに解凍開始後24時間の果肉切片を用いて行った。

また，未脱渋果の果肉スティックと脱渋果の果肉スティックの両方を用いて，凍結・解凍過程におけるペクチンとヘミセルロース含量の変化をタンニン含量の測定と並行して調査した。AISの調製法および含量の測定方法は，3. 1節に示したとおりである。

さらに，凍結速度が果肉細胞の形態におよぼす影響を観察するために，凍結前および解凍後の未脱渋果実の果肉スティックから約5 mm角の切片を切り出し，常法によって FAA溶液で固定した後，エタノールのシリーズで脱水した。脱水した切片に金蒸着を行った後，走査型電子顕微鏡（SEM）（ABT-32，ABT 製）で切断面を観察した。また，可溶性タンニンが細胞断片のどこに吸着しているかを確かめる目的で，上とは別に，解凍中の果肉スティックからステンレス製のかみそり刃で薄く切断した切片を5% FeCl₃水溶液で染色した後，カバーガラスをかけ，軽く押しつぶして光学顕微鏡（LM）で観察した。

結 果

凍結前と解凍開始直後の果肉スティックの渋味の程度は，緩慢凍結したのもので急速凍結したものでもほとんど変化がなく，きわめて渋いままであった（表3. 7）。しかし，解凍開始後6時間経過すると，緩慢凍結した果肉スティックは咀嚼した後ほとんど渋味がなくなっていた。このとき，急速凍結した果肉ステ

表 3. 7 凍結速度が果肉の解凍過程における
渋味におよぼす影響

	渋味 (スコア) a	
	咀嚼前	咀嚼後
凍結前	4.0	4.0
解凍開始直後		
緩慢凍結	4.0	4.0
急速凍結	4.0	4.0
有意性 b	NS	NS
解凍開始後 6 時間		
緩慢凍結	0.0	1.0
急速凍結	3.0	4.0
有意性	*	*
解凍開始後 24 時間		
緩慢凍結	0.0	0.0
急速凍結	2.5	3.5
有意性	*	*

a 0 : 渋くない, 1 : ほとんど渋くない, 2 : やや渋い,
3 : かなり渋い, 4 : きわめて渋い, の 5 段階評価 (必要
に応じて 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 の評価も可)。

3 人のパネリストの平均値。

b ペアテストによる有意性。 * : 5 % レベルで有意。

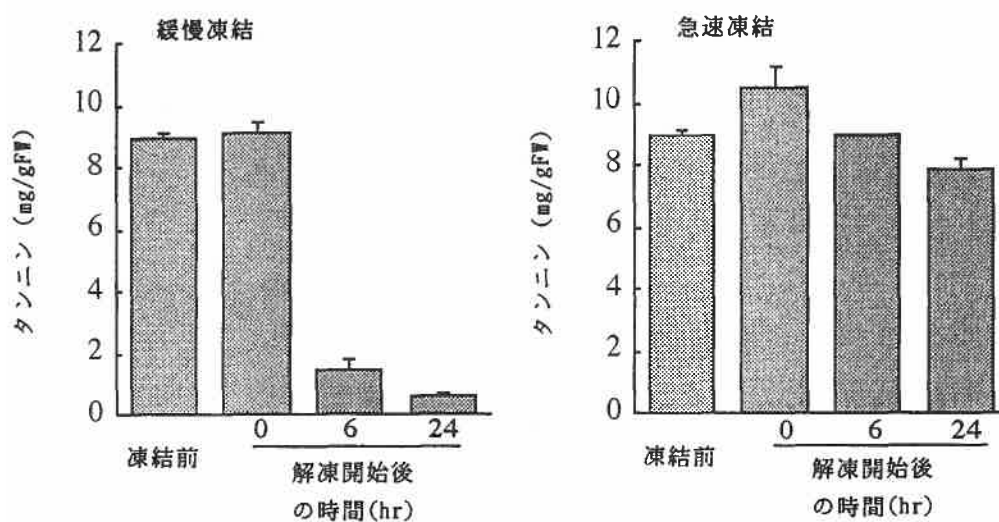


図 3. 7 凍結速度が果肉の解凍過程における可溶性タンニン含量
におよぼす影響 (縦線はSE)

ティックは依然としてきわめて渋かった。解凍開始後24時間が経つと、緩慢凍結した果肉の渋味はほぼ完全に消失したが、急速凍結した果肉スティックはまだ渋いままであった。

解凍過程における果肉スティックを80%MeOHで抽出して Folin-Denis法で可溶性タンニン含量を測定すると、その含量変化は渋味の程度の変化とよく一致していた。可溶性タンニン含量は、どちらの方法で凍結した果肉スティックにおいても凍結中にはまったく変化しなかったが、解凍過程では緩慢凍結した果肉スティックでのみ大きく減少した（図3. 7）。

なお、アセトアルデヒドは緩慢凍結した果肉スティックにも急速凍結した果肉スティックにも、凍結・解凍過程を通じてほとんど検出されなかった（データ省略）。また、凍結方法にかかわらず、解凍中の果肉スティックでは果汁が果肉組織から漏出する、いわゆるドリップが発生した。発生したドリップの量はいずれの方法で凍結したスティックでも大差なかったが、緩慢凍結した果肉スティックのドリップがほとんど渋くなかったのに対して、急速凍結した果肉スティックのドリップはきわめて渋かった（データ省略）。

図3. 8に示したように、緩慢凍結した果肉スティックでは解凍過程で可溶性タンニンの大部分が減少した。また、不溶性となったタンニンのほとんどが、0.02%あるいは0.1%という低濃度のHCl-MeOHで室温抽出することが可能であった。このことは、解凍過程で減少したタンニンはきわめて容易に再び可溶化することを意味している。

つぎに、未脱渋果から切り出した果肉スティックの凍結・解凍過程における全ペクチン、WSP、ESP、HSPならびにヘミセルロース含量の変化を調査したところ、各含量とも、いずれの凍結方法で凍結した果肉スティックでも凍結・解凍過程を通じてほとんど変化が認められなかった（図3. 9）。この傾向は、脱渋果から調製した果肉スティックにおいてもまったく同様であった（図3. 10）。ただし、未脱渋果に比べて脱渋果の果肉では、WSPとヘミセルロースのレベルが高い傾向が認められた。

いずれにしても、凍結・解凍過程におけるペクチン物質の変化には2種類の凍結方法の間にまったく差が認められなかった。このことから、緩慢凍結した果肉スティックの解凍過程における可溶性タンニンの減少はWSPとは無関係であると考えられた。つまり、凍結・解凍過程での渋味の減少の主因は、ペクチンとタンニンの複合体形成によるものではないと考えられた。

SEMによる果肉切断面の組織形態の観察から、緩慢凍結した果肉スティックの細胞組織は、急速凍結したものよりかなり大きなダメージを受けていることが明らかであった（図3. 11）。つまり、凍結前の果肉細胞組織の構造がほぼ正常で

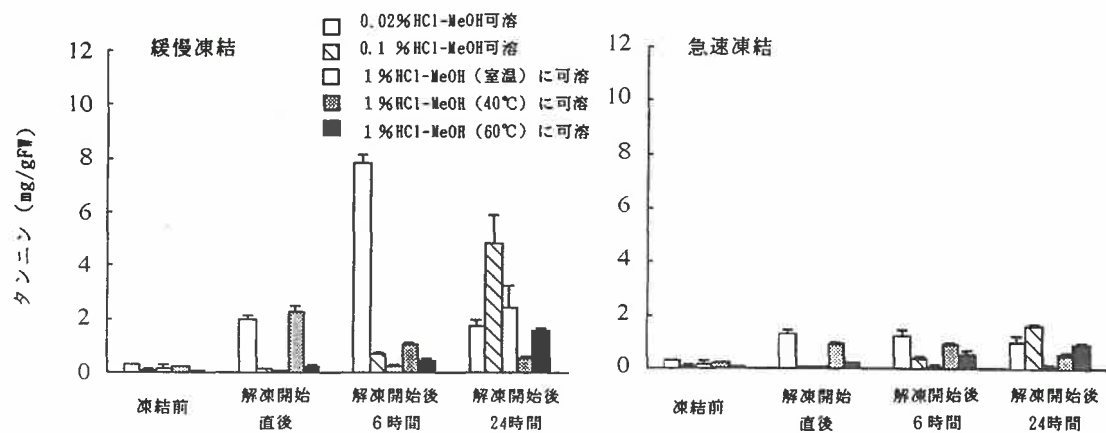


図3. 8 凍結速度が果肉の解凍過程における不溶性タンニン含量におよぼす影響（縦線はSE）

図3. 7に示した可溶性タンニンを除去した後の果肉残さ中の不溶性タンニンの消長を示す

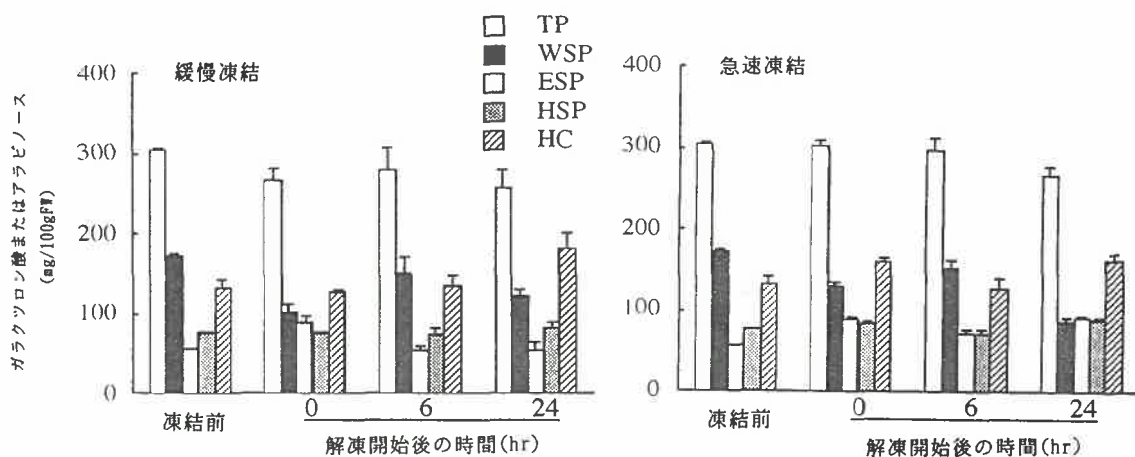


図3. 9 凍結速度が未脱渋果肉の解凍過程におけるペクチンとヘミセルロース含量におよぼす影響（縦線はSE）

ペクチンはガラクトツロン酸，ヘミセルロースはアラビノース換算。
 TP：全ペクチン，WSP：水溶性ペクチン，
 ESP：EDTA可溶性ペクチン，HSP：塩酸可溶性ペクチン，
 HC：ヘミセルロース

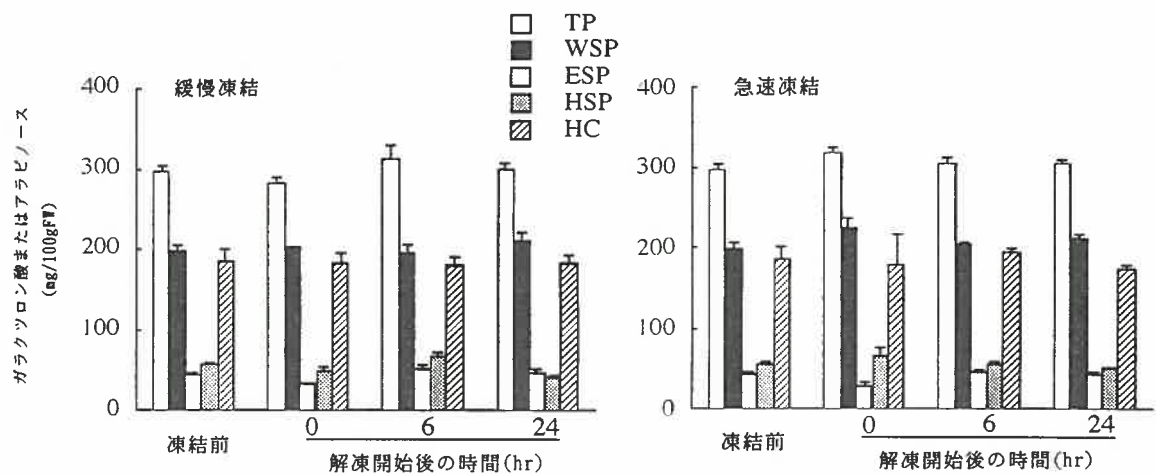


図3.10 凍結速度が脱渋した果肉の解凍過程におけるペクチンとヘミセルロース含量におよぼす影響 (縦線はSE)

ペクチンはガラクトツロン酸、ヘミセルロースはアラビノース換算。

TP: 全ペクチン, WSP: 水溶性ペクチン,

ESP: EDTA可溶性ペクチン, HSP: 塩酸可溶性ペクチン,

HC: ヘミセルロース

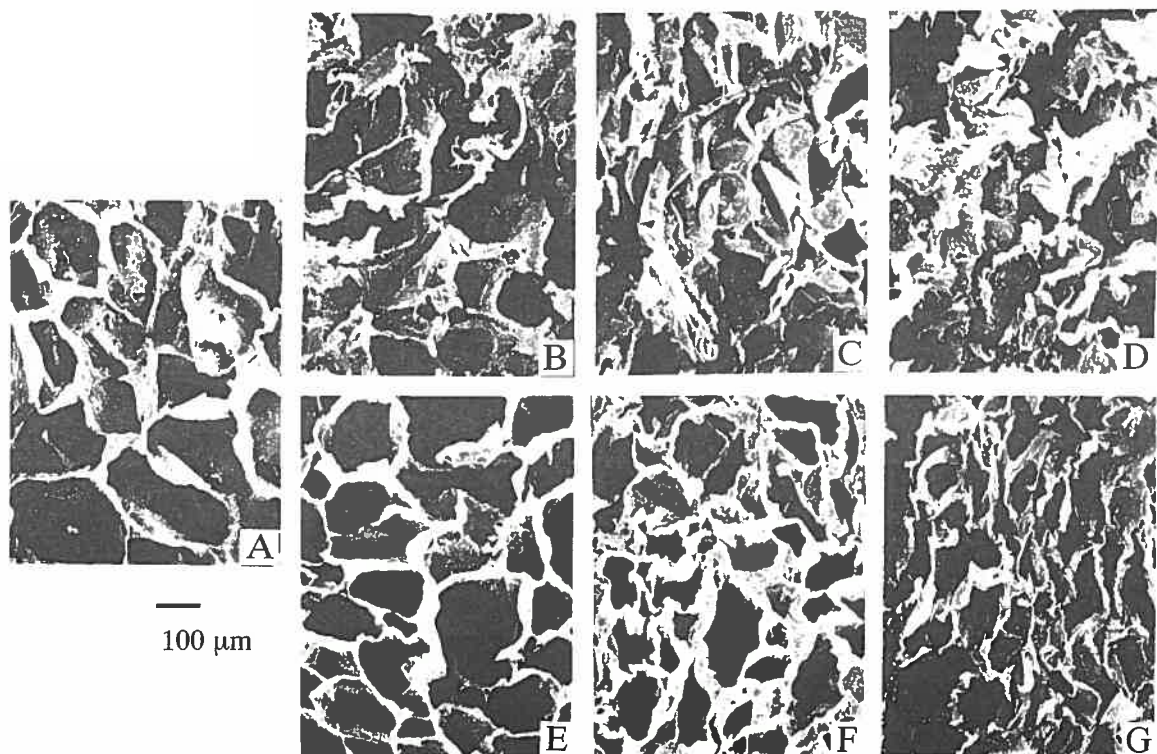


図3.11 緩慢凍結および急速凍結した果肉切片の解凍過程の走査型電子顕微鏡観察

(A) 凍結前, (B-D) 緩慢凍結, (E-G) 急速凍結,

(B) と (E) 解凍開始直後, (C) と (F) 解凍開始後

6 時間, (D) と (G) 解凍開始後24時間

あったのに対して（図3. 11-A），緩慢凍結した果肉の細胞では，凍結過程および解凍過程で受けるダメージが大きく，解凍開始後6時間あるいは24時間の時点では細胞壁や原形質膜が引き裂かれたり，崩れたりしている細胞が多数観察された（図3. 11-B～D）。一方，急速凍結した果肉スティックの細胞は，解凍後も組織構造が比較的よく維持されていた。解凍開始後24時間の時点でも個々の細胞はかなり収縮してはいるものの，緩慢凍結したものに比べるとずっとダメージが小さかった（図3. 11-E～G）。

LM観察の結果，緩慢凍結した果肉スティックの細胞では，維管束や細胞壁，ならびに原形質膜の断片が FeCl_3 で強く濃く染色された。これに対して，急速凍結の果肉スティックの細胞はほとんど染色されなかった。いずれの方法で凍結した果肉組織にも不溶化した（凝固した）タンニン細胞はわずかしこ認められなかった。これらのことから，緩慢凍結した果肉スティックでは，凍結していた可溶性タンニンが解凍過程で細胞組織の断片に吸着したものと考えられた。一方，急速凍結した果肉スティックでは，可溶性タンニンのほとんどは，おそらくタンニン細胞に含まれたまま凍結して，解凍後もタンニン細胞の液胞中に含まれていたものと考えられる。それが，観察の際に押しつぶされることによって，はじめて外部（ FeCl_3 溶液中）に流れ出したのであろう。

なお，凍結・解凍過程を経た果肉細胞は，観察の際にカバーガラスをかけて押しつぶすと容易に崩れて広がり， FeCl_3 で染色された部位を写真撮影することが困難であった。しかしながら，顕微鏡の微動装置を駆使して観察した結果，緩慢凍結した果肉スティックでは，凍結・解凍過程でタンニン細胞から流れ出した可溶性タンニンはおもに細胞壁や原形質膜の断片に吸着しているものと判断された。

3. 5 考 察

3. 1 節および 3. 2 節の実験結果から、水溶性ペクチン（以下、本節ではたんにペクチンと略すこともある）には可溶性タンニン（以下、本節ではたんにタンニンと略すこともある）の渋味を減少させる働きがあることが明らかになった。

ただし、可溶性タンニンの測定に用いたタンパク結合法と Folin-Denis 法の 2 種類の方法間でタンニン含量の測定値に差が認められた。すなわち、ペクチンはタンパク結合法の反応を妨害したが、Folin-Denis 法の反応は妨害しなかった。

タンパク結合法は、混合液中のタンニンとそれに加えたアルブミンの複合体を遠心分離によって分離した後、アルカリ溶液中に溶解させ、最終的にはタンニンを FeCl_3 と反応させて定量する方法である。したがって、ペクチンによるタンニン含量の減少が、ペクチンとタンニンとの複合体形成によるのか、ペクチンとアルブミンとの複合体形成によるのかがはっきりしなかった。そこで、その点を明らかにするために、測定に用いるタンパク標準液のアルブミン濃度を高くしたところ、測定されるタンニン含量にはほとんど変化がなかった。一方、アルブミン濃度を一定にしておいて混合液中のタンニン含量を増加させたところ、測定されるタンニン含量は増加した。これらの結果から、ペクチンは混合液中でアルブミンではなくタンニンと複合体を形成しているために、測定されるタンニン含量を減少させたものと判断された。つまり、ペクチンとタンニンの複合体は、Folin-Denis 法ではフリーのタンニンと同じようにフェノール試薬と反応するが、タンパク結合法ではアルブミンと結合することができないものと考えられた。

ペクチンとタンニンとの複合体形成は、ペクチン溶液と果汁の混合液中でもおこるものと考えられた。ペクチンによる渋味の減少効果は、精製タンニン溶液よりも果汁との混合液の方が大きく現れた。これには、果汁中に含まれる可溶性糖などの存在や本章の後半で検討した果肉組織の断片へのタンニンの吸着などが関与している可能性が考えられるが、理由は明らかではなかった。

ペクチン以外の多糖類や少糖類または二糖類がタンニンと複合体を形成するかどうかを確かめたが、供試した糖類の中にそのような作用を示すものは認められなかった。このことから、タンニンと複合体を形成するのはペクチンに特異な性質であると思われた。ただし、ショ糖を加えた場合には官能的に感じる渋味がかなり軽減された。

このようなペクチンとタンニンとの複合体形成は、ペクチン水溶液で口をすすいでから渋ガキの果肉切片を食べたときにもおこると考えられた。つまり、果肉切片から流れ出たタンニンは、まず舌の上でペクチンと複合体を形成することによって結果として渋味の程度が減少したものと考えられた。

カキタンニンのような高分子ポリフェノール物質は一般に、ほかの高分子物質とよく複合体を形成することが知られている (Haslam・Lilley, 1988; Spencer ら, 1988)。Ozawa ら(1987)は、ラズベリーおよびブラックベリー果実のタンニンに起因する渋味が成熟にともなってしだいに減少するのは、果肉中のタンニン含量が減少するためではなく、果肉中に増加したペクチンがタンニンと複合体を形成して、タンニンが口中のタンパクと結合しにくくなるためであると述べている。渋ガキ果実のタンニンの場合にも同じようなメカニズムで、ペクチンとタンニンが複合体を形成することによって渋味の減少がおこるものと推察される。

ところで、渋ガキ果実の脱渋メカニズムを考えると、このようなペクチンとタンニンの複合体形成による渋味の減少が、軟化したインタクトな果実を食べるときにも実際におこっているかどうかという点が重要な問題である。

本実験の結果、‘平核無’の未脱渋果で収穫後の軟化にともなって塩酸可溶性ペクチンが減少したことから、果実の軟化過程でペクチン物質の分解は確かに起こっているものと考えられた。しかしながら、一方で水溶性ペクチンが増加せず、全ペクチン含量も果実の軟化度によって大きく異なっていた。果実の軟化にともなって塩酸可溶性ペクチンが減少したにもかかわらず、水溶性ペクチンが増加しなかった理由は、おそらく AISの調製中にペクチンとタンニンの複合体形成がおこって、水溶性ペクチンの抽出が妨害されたためであると考えられる。このことは、アセトアルデヒド処理によってタンニンを短期間に不溶化した後の果実で、軟化にともなって水溶性ペクチンが大幅に増加したことからも支持される。アセトアルデヒド処理を行わない果実の軟化過程で、全ペクチン含量が少なく測定されたのは、おそらく水溶性ペクチンを全量抽出することができなかったからであると考えられる。

タンニンを不溶化した後の、つまり脱渋後の渋ガキ果実の軟化過程で、水（冷水）可溶性ペクチンが増加することは、板村(1985)によっても指摘されている。また、樽谷(1965)は甘ガキの‘富有’で、果実の成熟にともなって塩酸可溶性ペクチンが減少するとともに水溶性ペクチンが増加することを報告している。さらに、‘富有’果実の貯蔵中にペクチン物質の分解が進むこと(Woolfら, 1997)や、同品種の成熟果では未熟果に比べてペクチン物質の低分子化が進行していること(Redgewell, 1997)も報告されている。これらの報告からも、カキ果実の軟化過程においては果肉中でペクチン物質の分解が進行して、水溶性ペクチンが増加するものと考えられる。

本実験の結果、インタクトな果実では、軟化過程における渋味の程度の変化が Folin-Denis 法で測定したタンニン含量の多少とよく一致しなかった。果肉の渋味の変化はむしろ、水溶性ペクチンあるいは全ペクチン含量の増減と何らかの関

連を持っていることが推察された。このことも、軟化にともなって、実際には果実内で水溶性ペクチンが増加していることを推測させる。つまり、軟化した渋ガキ果実では、果肉中に増加した水溶性ペクチンが、果肉細胞が崩壊したり口の中でかみ砕かれるときに、タンニン細胞の液胞から流れ出たタンニンと複合体を形成することによって渋味が減少しているものと思われる。

カキ果実からのタンニンの抽出率は、抽出溶媒の種類によって異なることが知られている (Joslyn・Goldstein, 1964)。加藤(1984)は‘平核無’の未脱渋果からタンニンを抽出するとき、50%エタノールや蒸留水で抽出するより70%エタノールで抽出する方が抽出量が多くなることを報告している。この結果は、見方を変えれば、抽出方法によっては抽出の際にタンニンの一部が不溶化してしまう場合があることを示している。

3. 3節では、蒸留水を抽出溶媒にすると、80%MeOHに比べてタンニンの抽出量が少なくなること、さらに、果肉のみを直接磨砕したときにもタンニンの抽出率が低下することが明らかになった。このことは、果肉細胞が磨砕などによって破壊されると、タンニンの一部が何らかの原因で不溶化することを意味している。事実、磨砕後の果肉では渋味も明らかに減少した。さらに、果肉残さをHCl-MeOHで加熱抽出すると不溶化したタンニンが再び可溶化した。また、結果の項には示さなかったが、各抽出ステップにおける果肉の残さをFeCl₃で染色して顕微鏡下で観察したところ、最終ステップ(1%HCl-MeOHの60℃抽出)の残さを除いてすべて黒色に染色された。このことは、不溶化したタンニンが果肉の残さに吸着していることを示しているものと考えられる。

Ben-Arie・Sonego(1993)は、炭酸ガス脱渋した‘Triumph’果実の不溶性タンニンは1%HCl-MeOHの室温抽出でほぼその全量が可溶化できることを報告している。炭酸ガス脱渋の場合、おそらく、ほとんどすべてのタンニンがタンニン細胞の内部で不溶化していると考えられる。したがって、不溶性タンニンの可溶化もタンニン細胞単位でおこっているものと考えられる。一方、Oshidaら(1993)は、樹上脱渋した‘平核無’果実の不溶化したタンニンの約80%は、1%HCl-MeOHの室温抽出で可溶化するが、残りは抽出できないこと、さらに樹上で時間が経過して果肉に褐斑が生じるようになると、可溶化できるタンニンの割合がしだいに低下することを報告している。本実験の果肉残さ中の不溶性タンニンのうちのかなりの部分は、1%HCl-MeOHで加熱抽出を行わないと可溶化できなかった。先の報告の不溶性タンニンの抽出条件に比べて考えると、果肉の軟化にともなっておこる細胞組織の断片へのタンニンの吸着はかなり強いものであるといえよう。

インタクトな果実に対する手もみ処理は、果肉にアセトアルデヒドを蓄積させることなしに渋味を減少させた。この渋味の減少は、手もみ処理によって果肉細

胞が崩壊し、タンニン細胞から流れ出した可溶性タンニンの一部が細胞組織の断片に吸着したことによると考えられた。すなわち、手もみ処理の直後の果肉には、一部のタンニン細胞がまだ破壊されずに残っており、カバーガラスをかけて押しつぶすとタンニン細胞から流れ出したタンニンが細胞組織の断片に吸着することが FeCl_3 による染色の事実から明らかであった。

また、手もみ処理後時間が経つと、果肉には少量のアセトアルデヒドが蓄積するとともに、タンニンの不溶化がさらに進み、渋味もいっそう減少した。これは、時間の経過とともに、細胞組織の断片へのタンニンの吸着がよりいっそう進行するためなのか、あるいは蓄積しはじめたアセトアルデヒドによって、タンニンがさらに高分子化するためなのか、あるいはその両者がかかわっているのかよくわからなかった。しかし、手もみ処理実験の結果、少なくとも、アセトアルデヒドとはまったく無関係に、タンニンが果肉細胞組織の断片に吸着することによって減少する事実が明らかになった。収穫後の自然追熟過程においても、果実は最終的には手もみ処理を行った果実とほぼ同等の軟さになることから、一部のタンニン細胞は崩壊し、そこから可溶性タンニンが漏出して周囲のペクチンと複合体を形成するとともに、軟化にともなって崩壊した細胞組織の断片に吸着する場合もあるものと考えられる。したがって、上記のようなタンニンの細胞組織の断片への吸着による減少は、インタクトな果実の軟化過程においてもおこっているものと推察される。

渋ガキのタンニンが果肉細胞組織の断片に吸着することによって減少する事実は、3. 4節で行った実験によっていっそう明確になった。先に2. 4節でも述べたように、渋ガキの渋味は果肉を凍結後解凍すると減少する。ただし、本実験の結果から、この解凍過程における渋味の減少、つまりタンニンの不溶化は、果肉の凍結速度にほぼ完全に依存することが明らかになった。すなわち、通常のフリーザに入れることによって緩慢凍結した果肉は、解凍過程においてほぼ完全に脱渋したが、液体窒素で急速凍結した果肉ではタンニンの不溶化がまったく認められず、渋味も減少しなかった。

この違いは、凍結速度が凍結・解凍過程におけるペクチン物質の分解に影響を与え、その結果、ペクチンとタンニンの複合体形成の程度に差が生じることに起因している可能性も考えられた。そこで、凍結・解凍過程を通じてペクチン物質およびヘミセルロースの質的・量的変化に、緩慢凍結した果肉と急速凍結した果肉の間で差異が認められるのかどうかを確かめたが、両凍結方法の間でまったく差が認められなかった。このことは、少なくとも3. 1節および3. 2節で検討したペクチンとタンニンの複合体形成による渋味の減少が、凍結・解凍過程における渋味の減少の主要因にはなっていないことを示している。また、緩慢凍結し

た果肉の脱渋にかかわる要因は、凍結速度が果肉の組織形態に与える影響の違いに関連して生じているものと思われた。

このことは、SEM による果肉組織の観察によってある程度まで確かめられた。すなわち、緩慢凍結した果肉切片の細胞は、凍結にともなうダメージによって細胞壁が崩れたり、原形質膜が引きちぎられたりしていたのに対して、急速凍結した果肉組織は解凍後に収縮はしたものの、細胞組織の構造は凍結前の状態を比較的よく保っていた。また、LM観察の結果、緩慢凍結の果肉細胞の維管束や細胞壁、原形質膜の断片は FeCl_3 でよく染色されていた。これらのことから、凍結速度の遅速は果肉の組織構造に影響を与え、緩慢凍結によって果肉組織はより大きなダメージを受け、破壊された細胞組織の断片に解凍過程で可溶性タンニンが吸着することによって渋味が減少するものと考えられた。

Fuchigami ら(1994; 1995)は、凍結・解凍過程におけるニンジンのディスクのテクスチャーと組織形態におよぼす凍結速度の影響について詳細な研究を行っている。同氏らの報告によれば、凍結速度が遅いほど凍結過程で細胞が受けるダメージが大きい。これは一般に、ゆっくり凍結する間に細胞内にできる氷の結晶が大きく成長するためであると考えられている(Ashworth, 1992)。

カキ果肉の場合も同様の傾向が認められることが、本実験のSEM 観察によっても明らかであった。先にも述べたように、緩慢凍結の過程ではタンニン細胞を含む果肉細胞の多くが大きなダメージを受け、タンニンは解凍しさえすればきわめて容易に細胞外に流れ出すことができる状態で凍結していたものと考えられる。これらのタンニンは解凍過程で細胞外に流れ出し、凍結過程ですでに破壊されていた細胞壁や原形質膜の断片に吸着したものと推察できる。北川(1970a)も凍結貯蔵した渋ガキ果実では果肉細胞がかなり破壊されており、破裂型のタンニン細胞が多数認められたと述べている。

先に2. 4節で、 -20°C のショーケース型フリーザで凍結させた果実では凍結中に可溶性タンニンが半減したのに対して、 -25°C の薬品保管用のフリーザで凍結させた果実では約1か月の凍結期間中タンニンがほとんど減少しない事実も観察された。このことは、両方のフリーザの凍結導入能力に差異があり、果肉の凍結速度の差が凍結期間中のタンニンの減少程度に影響を与えたものと推察される。すなわち、果肉の凍結がきわめて緩やかに進行すると、凍結が完了する前に果肉組織の部分的な破壊と可溶性タンニンの漏出がおき、一部のタンニンが果肉組織の断片に吸着するため、凍結期間中にもタンニンの減少がおこったものと推測される。

一方、急速凍結した果肉のタンニン細胞は、ほぼ完全な形をとどめたまま凍結しているため、解凍してもタンニンの大部分はタンニン細胞の液胞内にとどまっ

ていたと考えられる。したがって、解凍しても果肉はきわめて渋いままである。この場合、果肉切片を FeCl_3 で染色しても、タンニンは FeCl_3 溶液中に直接流出するため、細胞そのものは染色されないものと考えられる。

果肉細胞が凍結過程で受けるダメージが、果実の種類によってどの程度異なるのかは明らかではないが、渋ガキ品種と甘ガキ品種の果肉の細胞壁の形態を比較すると、渋ガキ品種の方が甘ガキ品種に比べて薄い傾向があるという報告もある(Gottreich・Blumenfeld, 1991)。このようなことも緩慢凍結によって渋ガキ果実の果肉組織が大きなダメージを受けることに関連があるかもしれない。

なお、次の章でも述べるように、凍結・解凍にともなう脱渋のしやすさには果実の熟度の影響が大きく現れる。これには、果肉に含まれるタンニンの量そのものや細胞壁および原形質膜の性質、さらにはそのほかの細胞壁構成成分の質的・量的差異などが影響しているものと考えられるが、この点については今後検討を要する。

また、本章で今回新しく提案した渋ガキ果実の渋味の減少にかかわるアセトアルデヒド以外の要因、すなわち、ペクチンとタンニンの複合体形成と細胞組織の断片へのタンニンの吸着の2つの要因は、そのいずれもがアセトアルデヒドとは独立して、渋味の減少あるいはタンニンの不溶化に作用することが明らかであった。ただし、ここにはデータを示さなかったが、予備的に行った実験の結果から、これらの要因が働いているときにもアセトアルデヒドは作用し得るものと考えられた。すなわち、ペクチンとタンニンの複合体や細胞組織の断片に吸着したタンニンに対してアセトアルデヒドが作用すると、これらのタンニン複合体の高分子化がさらに進行するものと推察された。この点についても今後より詳細な検討が必要である。

3. 6 摘 要

渋ガキ果実の渋味の減少にかかわるアセトアルデヒド以外の要因について検討した結果、以下のようなことが明らかになった。

水溶性ペクチンはカキタンニンと共存した場合、複合体を形成することによってタンニンの渋味を減少させることが、果汁および精製カキタンニン溶液を用いたモデル実験で明らかになった。また、インタクトな果実においても、収穫後の果肉の軟化にともなってペクチン物質の分解がおこり、水溶性ペクチンが増加しているものと推察された。したがって、軟化した果実を食べると、果肉細胞が破壊され、タンニン細胞から流れ出した可溶性タンニンが軟化にともなって増加した水溶性ペクチンと複合体を形成する結果、果肉の渋味が減少するものと考えら

れた。なお、このような渋味の減少過程は、必ずしもアセトアルデヒドの蓄積をともなうものではなかった。

成熟果の果肉を直接、あるいは蒸留水とともに磨碎して可溶性タンニンの抽出量を比較したモデル実験、ならびに凍結速度の違いが解凍過程における果肉切片の脱渋におよぼす影響を検討した実験の結果から、渋ガキの可溶性タンニンは果肉の細胞壁や原形質膜の断片に吸着して減少する場合があることが明らかになった。この場合、いったん吸着したタンニンの一部は、1% HCl-MeOHで加熱抽出しないと可溶化しない場合が認められた。また、インタクトな果実でも可溶性タンニンは咀嚼される際に、軟化にともなって崩壊した果肉細胞組織の断片に吸着し、アセトアルデヒドの蓄積とは無関係に渋味が減少することがわかった。さらに、凍結・解凍過程における果肉の渋味の減少も、凍結過程で生じた細胞組織の断片に可溶性タンニンが吸着することによっていることが明らかになった。

4. 果実の生理・生態的要因と脱渋特性

渋ガキの生産地では、同一品種に対して同一条件で脱渋処理を施しても、果実の熟度や大きさ、あるいは年次によって、脱渋が不完全（いわゆる“渋残り”）になったり、脱渋果が極端に軟化するなどして商品価値を失うことがあり、問題になっている。また、これらの問題が脱渋方法や処理条件の平準化を困難にしている。このような事実から、同一品種であっても熟度や大きさなどの生理的要因が異なると果実の脱渋特性が異なると考えられる。さらに、気象条件や土壌条件をはじめとする果実の成育環境条件によっても脱渋特性は影響を受けるものと予想される。

また、カキはわが国でほかの果樹にはみられないほどの多様な品種分化をとげた果樹で（池上，1965；Ikegami，1967；北川，1970a；傍島，1980），北海道を除くほとんど全国各地に多数の在来品種の分布が認められる（広島県果樹試験場，1979）。渋ガキ果実の脱渋の難易度が品種によって相当異なることは、古くから経験的にもよく知られているところで、脱渋難易の品種間差異に関する調査報告もいくつか認められる。しかし、それらの研究結果は必ずしも一致を見ていない（北川，1970a）。また、そのような難易の差がどのようなメカニズムで生じるのかについても明らかになっていない。したがって、果実の脱渋特性の品種間差異について調査を行うことは、おのおのの品種に適合した脱渋方法を確立するための基礎資料を得るという意味で重要である。

本章ではまず、渋ガキの代表品種である‘平核無’を用いて、果実の生理・生態的要因が脱渋の難易度、脱渋処理中の果肉の軟化、さらに脱渋後の果実の日持ちにおよぼす影響を調査した。さらに、山形県庄内地方の在来品種‘伝九郎’をはじめとする数品種の果実を供試して、渋ガキ果実の脱渋特性の品種間差異を比較した。

4. 1 果実の熟度と大きさ

材料および方法

山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）のカキ‘平核無’成木から採取した果実を供試した。

まず、発育中に採取した熟度の異なる果実を用いて、アルコール脱渋、炭酸ガス脱渋、はく皮乾燥脱渋ならびに凍結・解凍にともなう脱渋におよぼす果実熟度の影響を調査した。脱渋処理の方法は基本的には2章と同じである。果実の採取

時期や処理方法の詳細については、結果のところそれぞれ個別に述べることにする。

つぎに、アルコール脱渋および炭酸ガス脱渋におよぼす果実の大きさの影響について検討した。実験には同一樹より採取した大きさの異なる完全着色果を供試した。供試果実の果重は、大果が 190.5 ± 9.1 g, 小果が 104.8 ± 5.5 g (いずれも平均 \pm SD, $n=30$) で, ‘平核無’の重量選別基準で, それぞれLと2Sの階級に相当する。エタノール処理は2.1節にならって, 果実ごと個別にポリ容器内で行った。大果には10%あるいは30%エタノール5 ml, 小果には5.5%あるいは16.5%エタノール5 mlを脱渋剤として用いた。これは, 果重あたりのエタノール量がそれぞれ, 2.6あるいは7.9 ml/kgになるように統一したためである。

脱渋処理中の可溶性タンニン, アセトアルデヒドおよびエタノール含量の測定方法は2.1節と同じである。果肉硬度は木屋製作所製の果実硬度計(5 kg用, 円錐プランジャ使用)を用いて, 果実赤道部の果皮を薄くはく皮した後に測定した。

結 果

9月14日(発育第2期)採取の未熟果(果頂部の色が農水省果樹試験場作成のカラーチャートカキ‘平核無’用で1.0~2.0)と11月4日(発育第3期の終り)採取の成熟果(果頂部の色は6.0)のアルコール脱渋中の可溶性タンニン, エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化をそれぞれ, 図4.1, 図4.2および図4.3に示した。

未熟果, 成熟果のいずれでも, 処理に使用した脱渋剤の濃度が高いほど早く脱渋した。10%および30%処理では, 未熟果の方が成熟果に比べて可溶性タンニンの減少速度が速かったが, 5%処理の脱渋所要日数には熟度による差が認められなかった。果肉へのエタノールの蓄積パターンは, 30%処理では熟度にかかわらずほぼ同様であった。10%処理では未熟果の方が, 5%処理では成熟果の方がやや蓄積しやすいようであったが, 最終的な蓄積量はほぼ同じであった。このように, エタノールの蓄積パターンは果実熟度の影響をほとんど受けなかった。

これに対して, アセトアルデヒドの蓄積パターンには果実熟度の影響がかなり明確に現れた。すなわち, 果肉のアセトアルデヒド含量は, いずれの熟度の果実でも脱渋剤の濃度が高いほど, つまり, エタノール蓄積量の多い処理ほど多く, また, 同濃度の処理では, 未熟果が成熟果に比べて蓄積量が多くなる傾向が認められた。この傾向は30%処理および10%処理で顕著であった。

果実の熟度は脱渋中の果肉硬度の低下にも大きな影響をおよぼした。4時期に

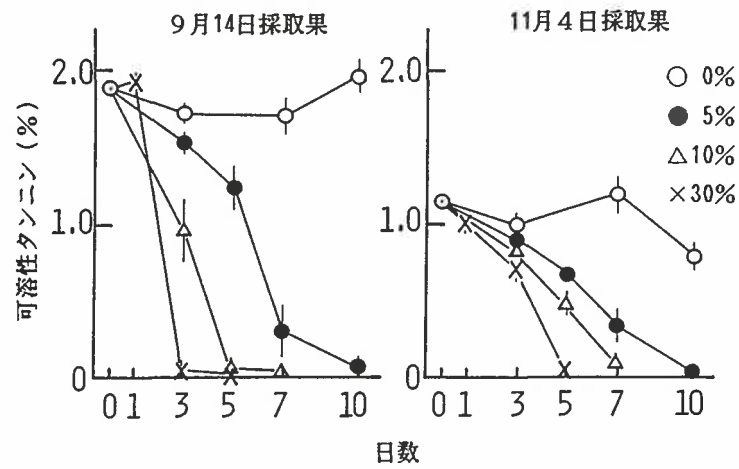


図4. 1 熟度の異なる果実のアルコール脱渋中の可溶性タンニン含量の変化 (縦線はSE)

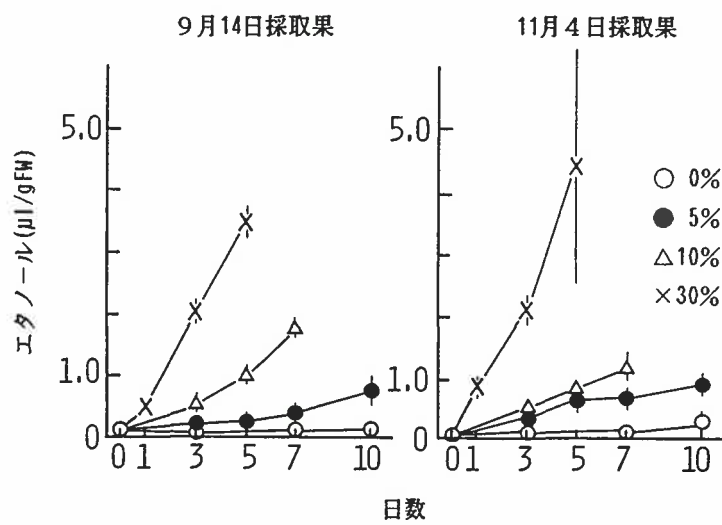


図4. 2 熟度の異なる果実のアルコール脱渋中のエタノール含量の変化 (縦線はSE)

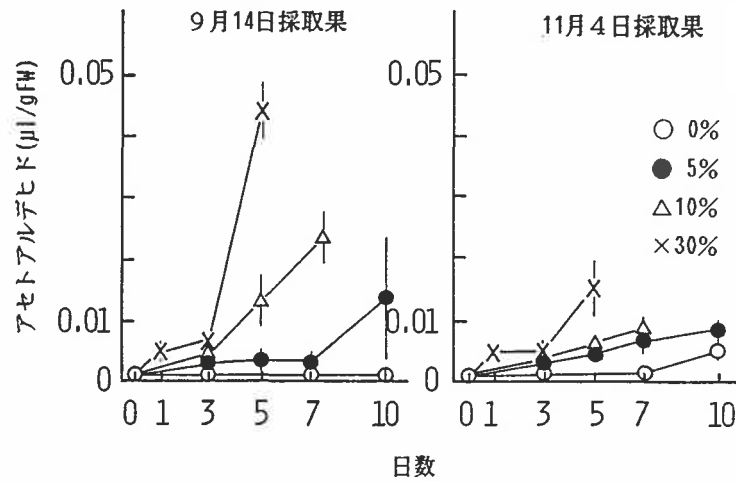


図4. 3 熟度の異なる果実のアルコール脱渋中のアセトアルデヒド含量の変化 (縦線はSE)

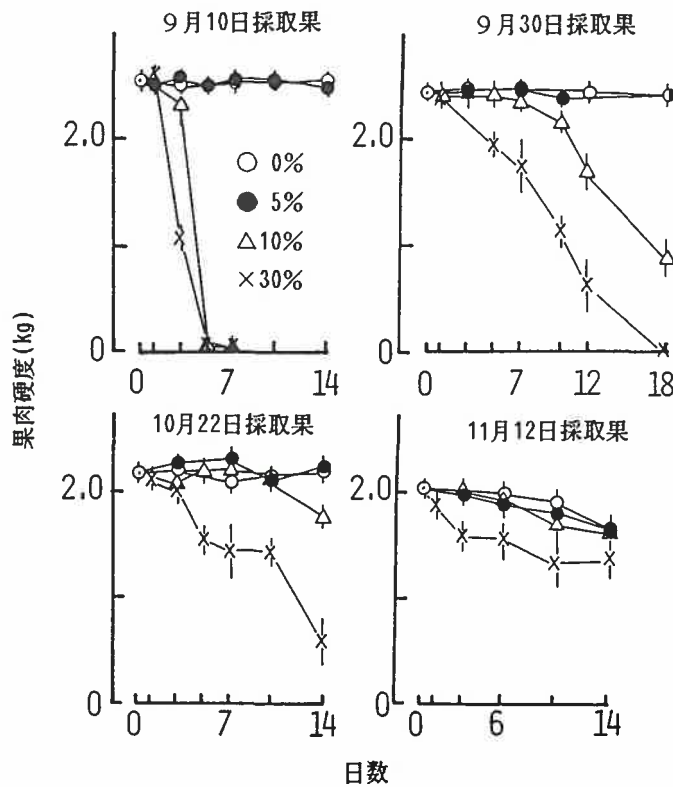


図4. 4 熟度の異なる果実のアルコール脱渋中の果肉硬度の変化 (縦線はSD)

採取した熟度の異なる果実を用いて調査したところ、脱渋中の果肉硬度の低下は脱渋剤の濃度が高いほど促進されたが、10%および30%処理では果実の熟度が進むほど緩慢になる傾向が認められた。5%処理ではいずれの熟度の果実でも処理中、果肉硬度はほとんど低下しなかった（図4.4）。

炭酸ガス脱渋におよぼす果実の熟度の影響は明確ではなかった。8月14日、9月20日および10月18日採取果とも、処理開始後30時間までにほぼ完全に脱渋した（図4.5）。このとき果肉に蓄積するエタノールは未熟果で、また、アセトアルデヒドは成熟果で多い傾向が認められた（データ省略）。

はく皮乾燥脱渋については、図4.6に示した4時期（Ⅰ：9月25日、Ⅱ：10月15日、Ⅲ：11月5日およびⅣ：11月26日）に採取した果実を採取後屋外で自然乾燥させたときの可溶性タンニン含量の変化を調査した。乾燥期間中の気温の変化幅は、Ⅰが5～25℃、Ⅱが4～22℃、Ⅲが2～16℃、Ⅳが1～15℃であった。相対湿度の変化幅はⅠ、Ⅱ、ⅢおよびⅣでそれぞれ、57～88、64～88、50～86および50～80%であった。脱渋が完了するまでに要した日数は、Ⅰが5日、Ⅱが15日、Ⅲが20日、Ⅳが30日で、乾燥期間中の気温は異なるものの、熟度が進むほど脱渋に日数を要した。果肉へのエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積量は、果実の熟度が進むにつれてしだいに減少した（データ省略）。

図4.7は熟度の異なる果実の凍結中の可溶性タンニン含量の変化を示したものである。凍結期間中、いずれの熟度の果実でも可溶性タンニン含量は減少する傾向を示したが、成熟果（完全着色果）でも凍結中に消失してしまうことはなかった。また、未熟果ほど減少しにくい傾向が認められた。

さらに、果実を一定期間-20℃で凍結保存した後、20℃で自然解凍させたときの解凍過程における可溶性タンニンとアセトアルデヒドおよびエタノール含量の変化を調査した。その結果、解凍中いずれの熟度の果実でも可溶性タンニン含量は減少する傾向が認められたが、解凍開始後48時間以内に渋味がまったく感じられなくなったのは11月2日採取の成熟果のみであった（図4.8）。また、凍結期間中、果肉に蓄積したアセトアルデヒドはごくわずかであった。なお、解凍過程では果実の熟度にかかわらず少量のアセトアルデヒドが蓄積した。エタノールの蓄積はほとんど認められなかった。

果実の大きさが異なっても、アルコール脱渋中の果肉硬度の低下パターンはほとんど同じで、30(16.5)%処理では5日で処理開始時の果肉硬度が半減したが、10(5.5)%処理ではほとんど低下しなかった（データ省略）。脱渋に要した日数は、大果の30%処理で3～5日、10%処理では5～7日、小果の16.5%処理では5日、5.5%処理では7日であり、小果の方がやや脱渋しにくい傾向が認められた（図4.9）。

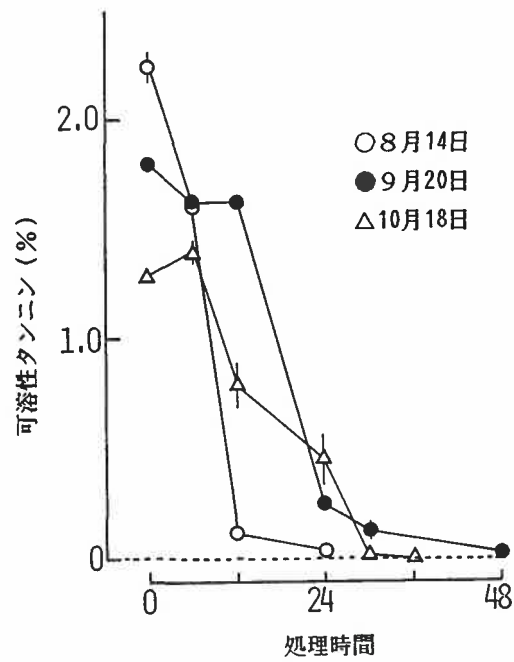


図4. 5 熟度の異なる果実の炭酸ガス脱渋中の可溶性タンニン含量の変化 (縦線はSE)

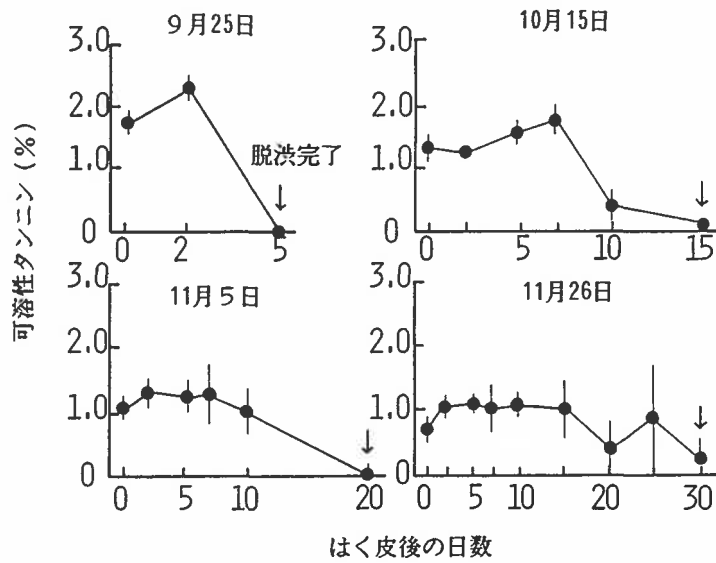


図4. 6 熟度の異なる果実のはく皮乾燥にともなう可溶性タンニン含量の変化 (縦線はSE)

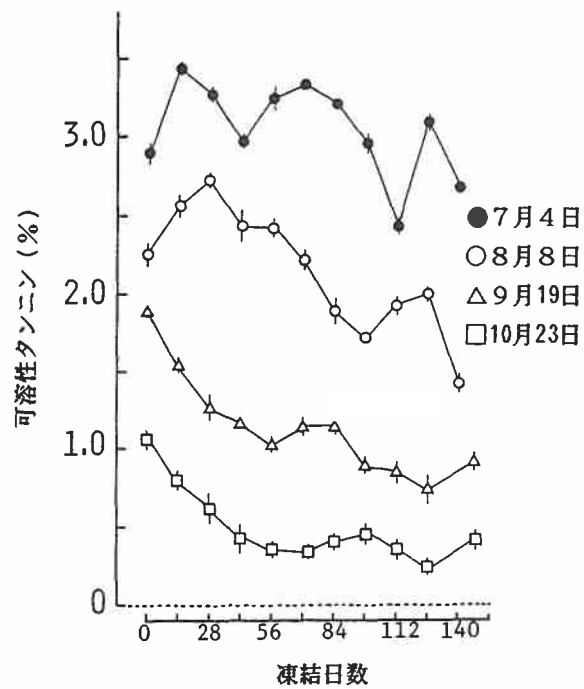


図4. 7 熟度の異なる果実の凍結にともなう可溶性タンニン含量の変化 (縦線はSE)

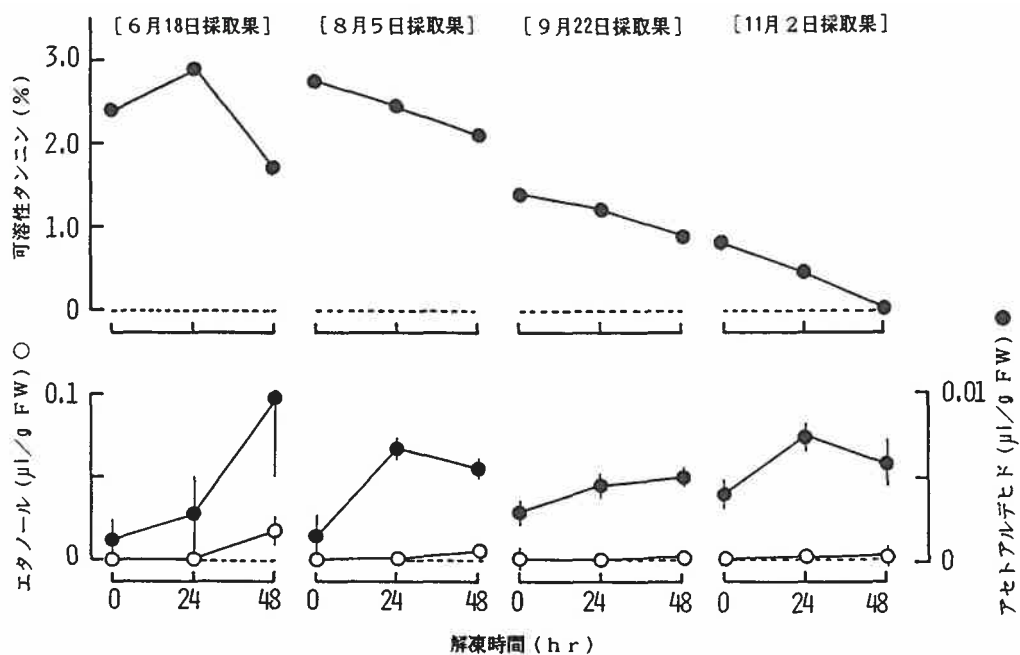


図4. 8 熟度の異なる果実の解凍過程における可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化 (縦線はSE)

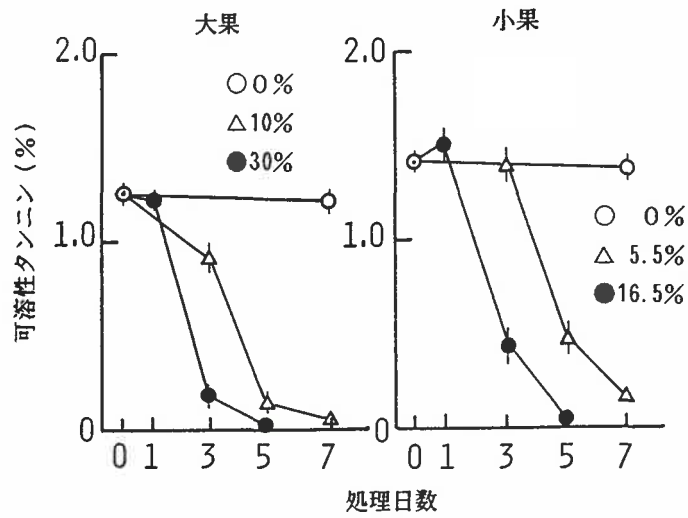


図4. 9 果実の大きさがアルコール脱渋中の可溶性タンニン含量の変化におよぼす影響 (縦線はSE)

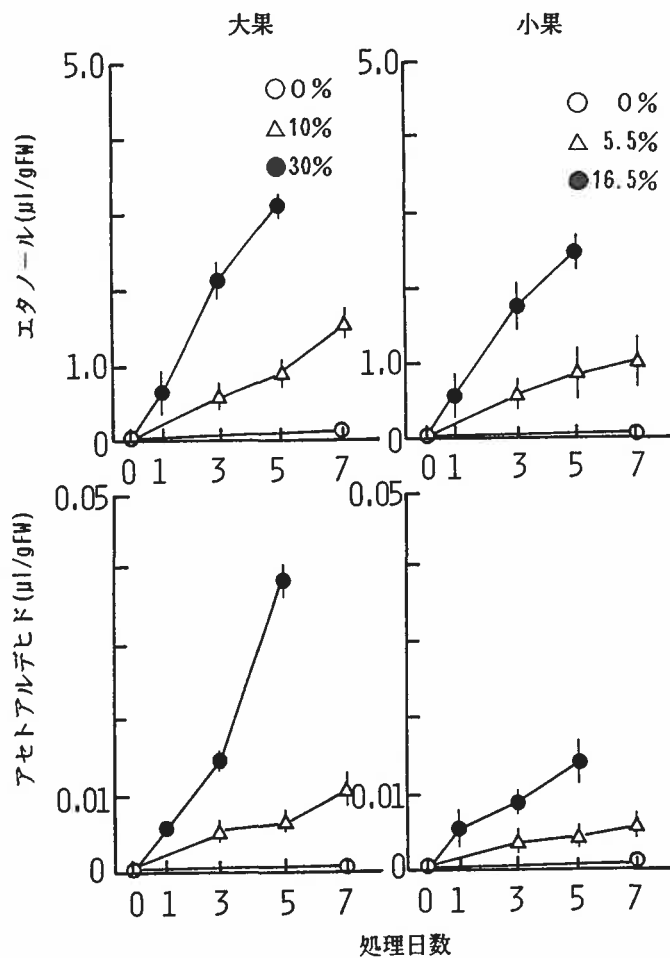


図4. 10 果実の大きさがアルコール脱渋中のエタノールおよびアセトアルデヒド含量におよぼす影響 (縦線はSE)

脱渋開始時の可溶性タンニン含量は、小果が大果に比べてわずかに高い程度であった。果肉のエタノール蓄積量は、両濃度処理区とも大果の方がわずかに多かった。アセトアルデヒド含量は高濃度処理区で小果より大果の方が明らかに多い傾向が認められた（図4. 10）。

これに対して、炭酸ガス脱渋では果実の大きさの影響がほとんど認められず、大果でも小果でも処理開始後2日で脱渋した。そのときに果肉に蓄積していたエタノールおよびアセトアルデヒドの量もほぼ同程度であった（図4. 11）。

4. 2 ヘタ片あるいはヘタの有無

材料および方法

ヘタ片やヘタの有無が果実の脱渋特性におよぼす影響について調べるために、7月24日（発育第1期）、9月4日（発育第2期）、さらに10月9日（発育第3期）の3時期に、樹上で、無作為に選んだ果実の4枚のヘタ片を除去した。

それらの果実を、無処理の果実が完全着色に達した時点でいっせいに採取し、2. 1節と同様の方法でアルコール脱渋処理を行った。このとき、ヘタ片除去区の果実は小さかったので、無処理区の脱渋剤の量を10%あるいは30%エタノール各5 mlとして、ほかの区は平均果重あたりの脱渋剤の量がこれと等しくなるようにエタノールの濃度を調整した。ただし、その場合にも結果の項には10%処理あるいは30%処理と表記した。

また、完全に着色した成熟果について、収穫後にヘタ片のみあるいはヘタ全体の除去を行った場合にどのような影響があるかについて検討した。このとき、ヘタ全体を除去した果実には、ヘタ座と子房の接合部分にワセリンを塗布した（図4. 12）。アルコール脱渋の方法は2. 1節と同じである。

これらの果実について、脱渋中の果肉硬度、可溶性タンニン含量、エタノールおよびアセトアルデヒド含量を調査した。

また、別にヘタ片のみあるいはヘタ全体を除去した果実に、35%エタノールを果実1 kgあたり約10 ml程度噴霧した後、厚さ0.03 mmのポリエチレン袋に密封して20℃で7日間保持して脱渋させた。脱渋果は開封後も20℃に保持し、2. 3節で用いた果実の軟化基準に従って、軟化度Ⅲ以上の果実が全体に占める割合を軟化率として（板村，1985），1区あたり25果を供試して果実の日持ちを調べた。

結 果

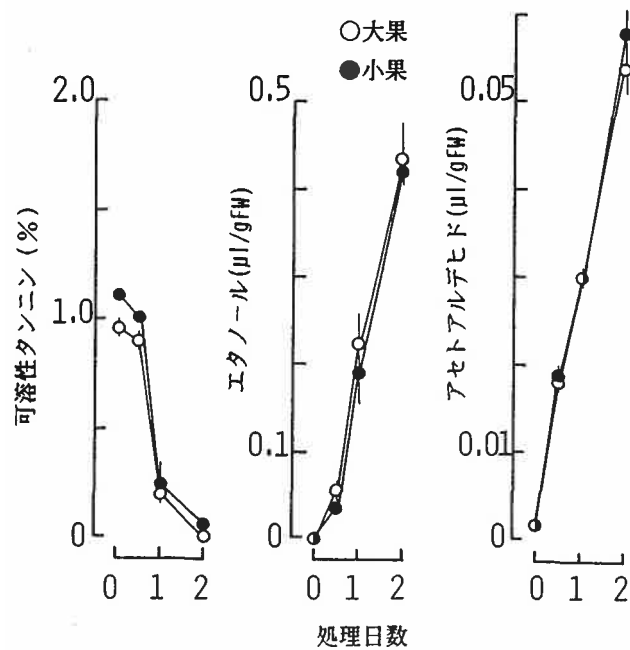


図4. 11 果実の大きさが炭酸ガス脱液中の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量におよぼす影響（縦線はSE）

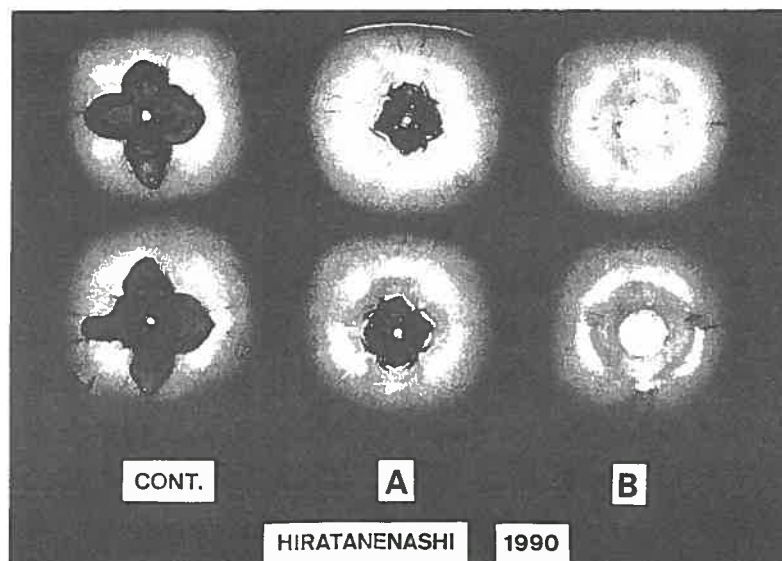


図4. 12 へたあるいはへた片除去の方法

CONT: 無処理, A: へた片除去, B: へた除去
(Bはへた座と子房の接合部分にワセリン塗布)

成育中の早い時期にヘタ片を除去した果実は、無処理果に比べて小果となり、着色の進行も抑制された。収穫時の無処理果の平均果重が 192 g であったのに対して、7月24日、9月4日および10月9日処理果は、それぞれ、88, 161 および 195 g であった。これらの果実の脱渋に要した日数は、4区の間で大きな差は認められなかったが、30%処理では7月24日および9月4日処理果がやや脱渋しにくかった。また、果肉に蓄積するエタノールおよびアセトアルデヒドの量もこれらの区では10月9日処理果および無処理果に比べて少なかった（図4. 13）。

収穫直後にヘタ片あるいはヘタ全体を除去しても、脱渋の難易度にはほとんど影響しなかった。脱渋処理中の果肉硬度の低下は、ヘタ除去果の30%処理でやや抑制された程度であった。果肉へのエタノールおよびアセトアルデヒド蓄積にも大差は認められなかった（図4. 14）。

一方、脱渋後の果実の軟化の進行には、ヘタ片あるいはヘタの有無の影響が明確に現れた。すなわち、成育中にヘタ片を除去した果実の軟化は、無処理の果実に比べて大きく抑制され、その傾向は9月4日処理果で最も顕著であった（図4. 15）。ただし、7月24日および9月4日処理果には、処理後正常に追熟せず、調査終了時においても軟化しない果実がかなりの数認められた。収穫後にヘタ片あるいはヘタの除去を行った場合にも、脱渋後の軟化の進行は抑えられた。この場合、軟化の遅延は、最終的にヘタ全体を除去した果実の方が優った（図4. 16）。ヘタ片あるいはヘタ除去果の軟化の進行は、無処理果に比べて果実間の個体差が大きかったが、成育中のヘタ片除去果のように正常に追熟しない果実は認められなかった。

4. 3 園地および産地の違い

材料および方法

成育中の環境条件の違いが渋ガキ果実の脱渋過程におよぼす影響を、異なる園地あるいは異なる産地産の‘平核無’果実を用いて調査した。

まず、同じ山形県庄内地方で環境条件の異なる3つの園地産の果実について調査した。園地Aは平地の水田転換畑、園地Bは山ろく傾斜地の果樹園、園地Cは海岸近くの砂地畑である。これらの園地の果実をいずれも完全着色に達した時期（果頂部のカラーチャート値 5.5～6.0）に収穫して実験に供試した。

産地の違いの影響については2年にわたって調査を行った。初年は、①熊本：熊本県立果樹試験場（熊本県益城郡）産、完全着色果で果頂部のカラーチャート値が 6.0前後、大きさはM級（164～196 g）の果実（以下の産地産の果実熟度と

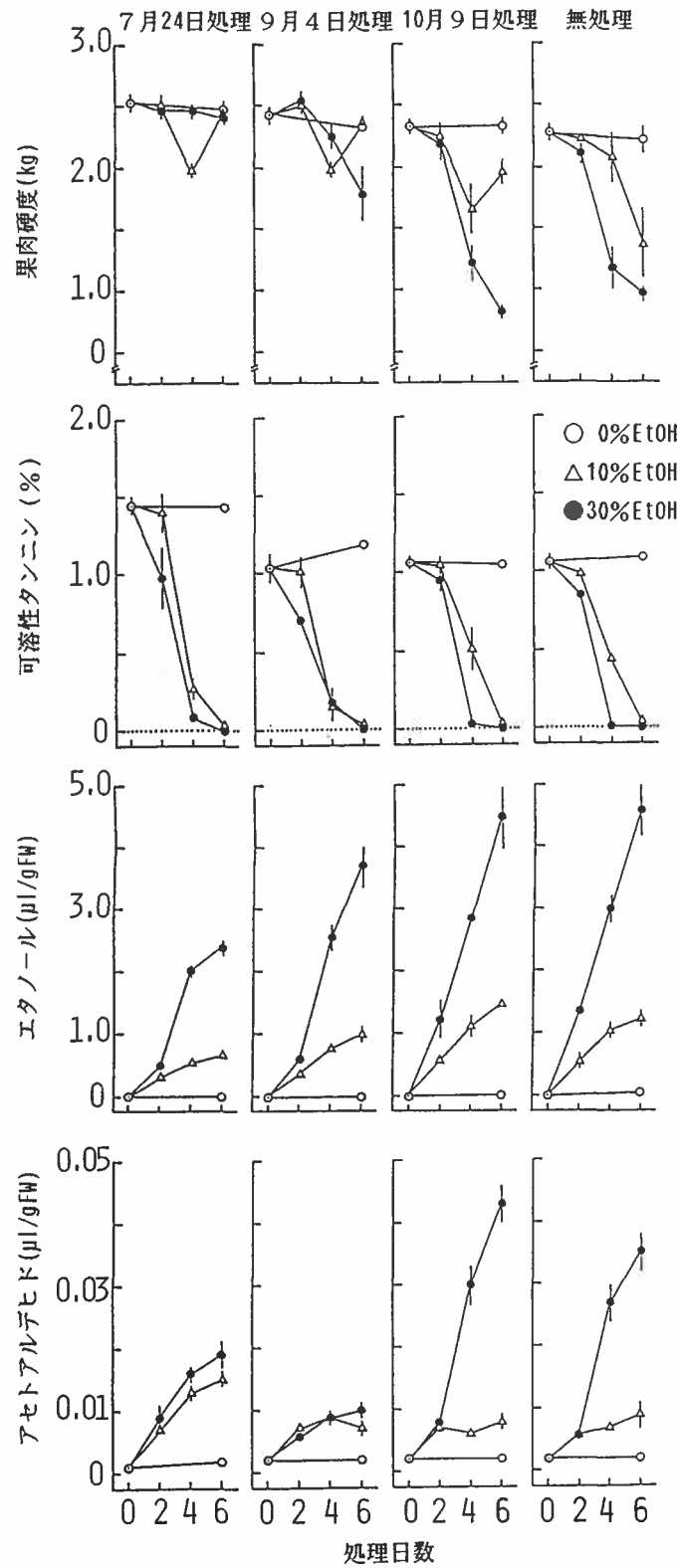


図4.13 生育中にヘタ片を除去した果実の脱渋中の果肉硬度，可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE，ただし，果肉硬度のみSD）

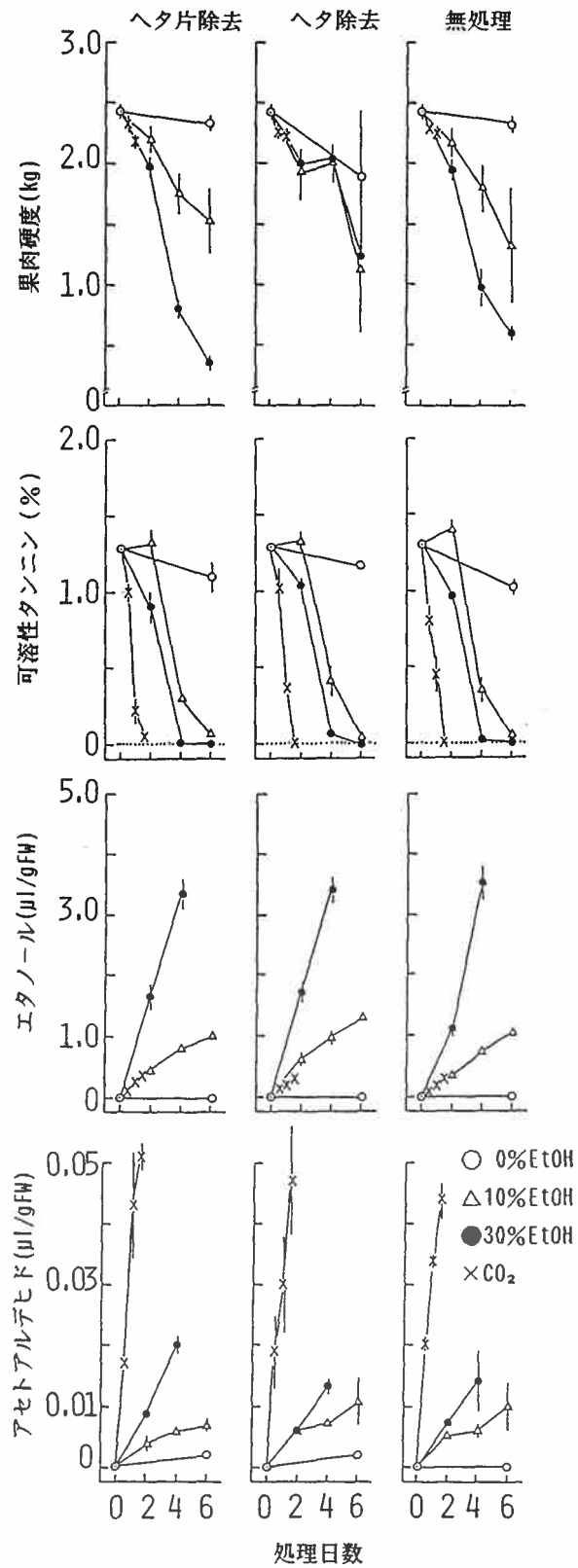


図4.14 収穫後にヘタ片あるいはヘタを除去した果実の果肉硬度、可溶性タンニン、エタノールおよびアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE、ただし、果肉硬度のみSD）

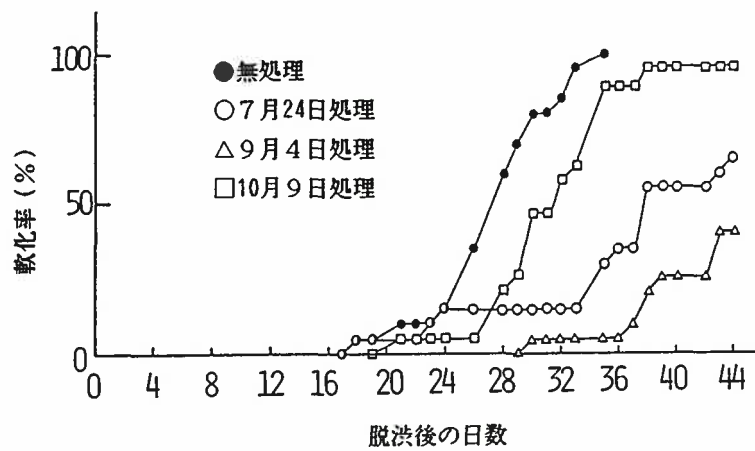


図4. 15 成育中のヘタ片除去が脱汚後の果実の軟化におよぼす影響

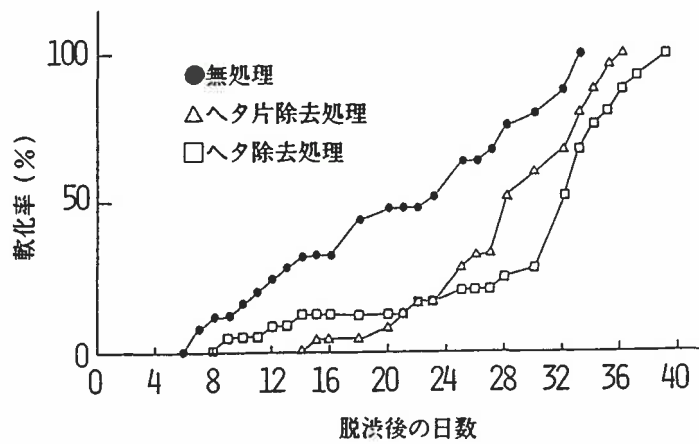


図4. 16 収穫後のヘタ片あるいはヘタ除去が脱汚後の果実の軟化におよぼす影響

大きさもこれと同様、翌年の調査についても同様である）、②奈良：奈良県立農業試験場（橿原市）産、③京都：京都大学農学部附属京都農場（京都市）産、④新潟：新潟県立園芸試験場（新潟県北蒲原郡）産、⑤山形：山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）産の果実を用いた。翌年は、①熊本：熊本果試産、②広島：農水省果樹試験場安芸津支場（現カキ・ブドウ支場、広島県豊田郡）産、③大阪：京都大学農学部附属高槻農場（高槻市）産、④奈良：奈良農試産、⑤新潟：新潟園試産、⑥山形：山形大学農学部産の果実を供試した。

それぞれの産地の果実は採取後直ちに山形大学農学部へ輸送して、2.1節と同じ方法でアルコール脱渋を行った。なお、産地によって輸送に要する日数が異なったため、脱渋処理はいずれの産地の果実についても採取後3日からスタートした。また、供試果実は処理開始まで少なくとも12時間は20℃に保持した。

脱渋処理中の果肉硬度、可溶性タンニン、アセトアルデヒドおよびエタノール含量を4.1節と同様にして測定した。

結 果

図4.17に3園地産の果実の脱渋処理中における可溶性タンニン含量の変化を示した。可溶性タンニンの減少は、園地Aの果実でわずかに遅かったが、脱渋所要日数は30%処理で5日、10%処理では約7日であり、園地間で大きな差はなかった。これに対して、脱渋中の果肉硬度の低下程度にはかなりの差が認められ、園地Aの果実は軟化しにくかったのに対して、園地Bの果実では処理中軟化が進みやすかった（図4.18）。

産地間差について検討した結果は、図4.19および図4.20に示したとおりである。初年の調査では、熊本および京都産の果実で脱渋中の硬度低下が著しかった。ただし、これはこの年の台風襲来などの影響で、両産地の樹体や果実の状態がほかの産地に比べてよくなかったためと推測された。脱渋中の可溶性タンニン含量の減少は、わずかではあるが、より温暖な地方産の果実ほど速い傾向が認められた。翌年の調査では、新潟および山形産の果実は、ほかの産地産の果実に比べて脱渋処理中軟化しにくい傾向が認められた。脱渋はいずれの産地の果実でも30%処理で約5日、10%処理では約7日で完了したが、可溶性タンニン含量の減少は新潟および山形産の果実でやや遅れる傾向が認められた。果肉に蓄積するエタノールおよびアセトアルデヒド量は、2年目の調査の新潟および山形産の果実で若干少ない程度で、ほかの産地間の果実にはほとんど差が認められなかった（データ省略）。

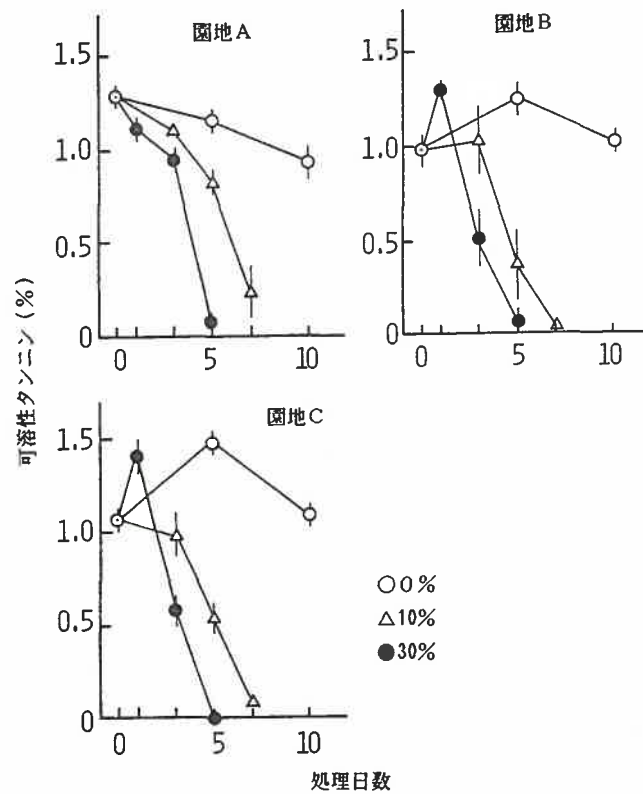


図4.17 異なる園地産の果実の脱渋中の可溶性タンニン含量の変化
(縦線はSE)

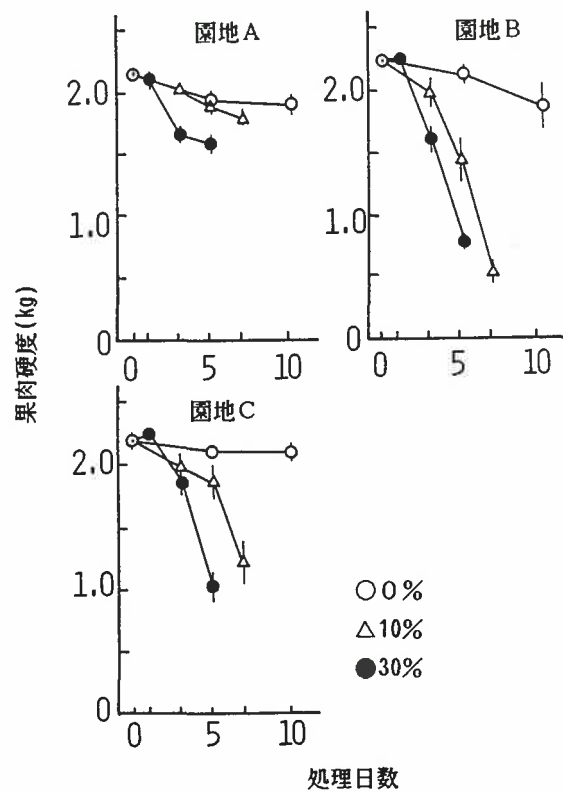


図4.18 異なる園地産の果実の脱渋中の果肉硬度の変化 (縦線はSD)

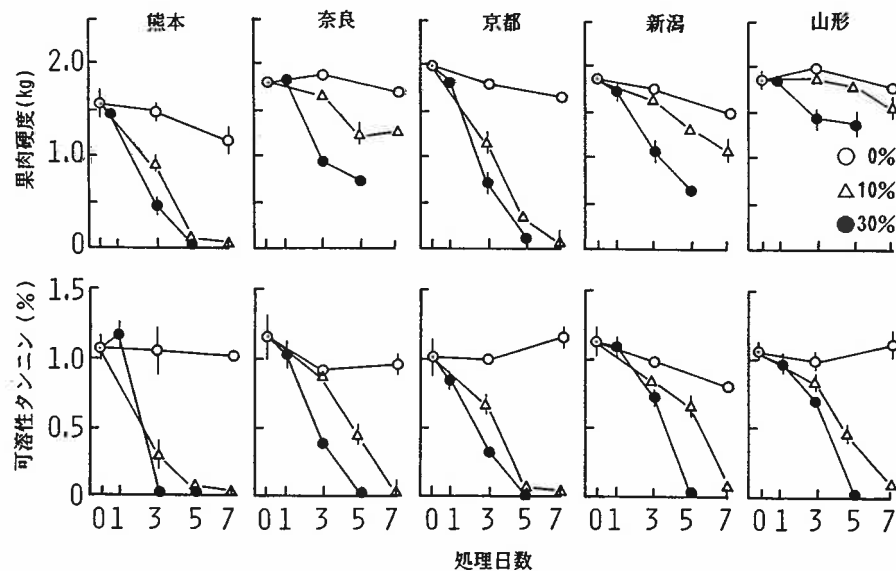


図4. 19 産地の異なる果実の脱渋中の果肉硬度および可溶性タンニン含量の変化（1987年）（縦線は果肉硬度はSD, 可溶性タンニンはSE）

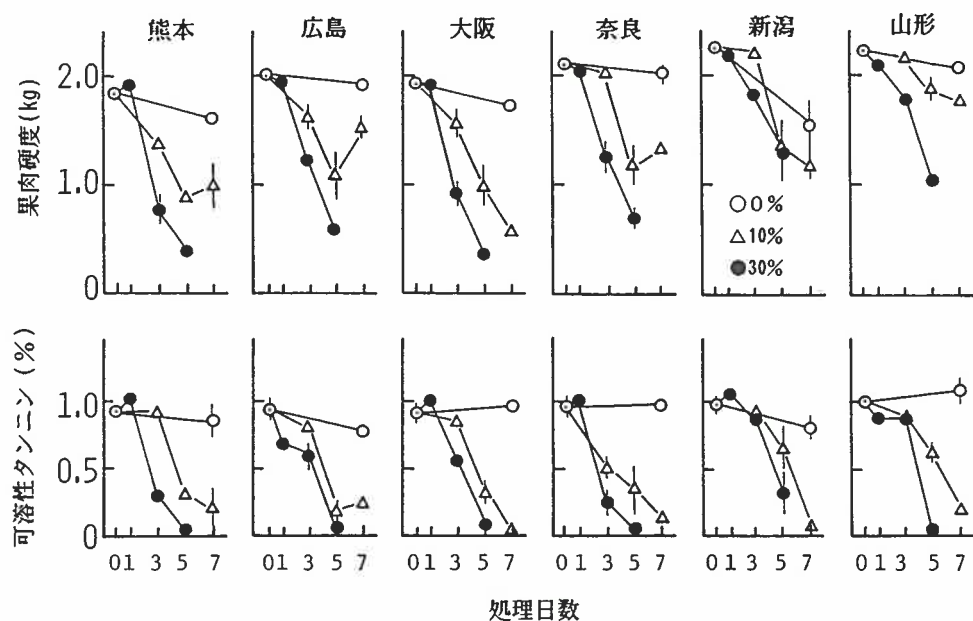


図4. 20 産地の異なる果実の脱渋中の果肉硬度および可溶性タンニン含量の変化（1988年）（縦線は果肉硬度はSD, 可溶性タンニンはSE）

4. 4 脱渋特性の品種間差異

材料および方法

まず最初に、山形県庄内地方の在来品種で、エタノールではきわめて脱渋しにくいことが知られている完全渋ガキの‘伝九郎’と、アルコール脱渋は比較的容易であると考えられている不完全渋ガキの‘平核無’果実の脱渋特性を比較した。

‘伝九郎’は山形県酒田市伊藤嘉信氏宅の成木の果実，‘平核無’は山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）の成木の完全着色果を供試した。脱渋方法は，アルコール脱渋，炭酸ガス脱渋および温湯脱渋の3種類とした。炭酸ガス脱渋と温湯脱渋の方法は2. 2節と同じである。アルコール脱渋は，35%エタノール 100mlを入れた約20ℓ容の大型デシケータに果実を密封する方法で行った。処理中の果実の可溶性タンニン含量，エタノールおよびアセトアルデヒド含量を前節と同様に調査した。

さらに，両品種の未脱渋の成熟果から1 cm角の果肉切片を切り出し，約 400ml容のガラス容器に9個の切片を異なる濃度のアセトアルデヒド1 mlとともに入れて20℃で4時間処理した。処理によって不溶化したタンニンを2. 1節と同様にHCl-MeOHで順次抽出し，Folin-Denis 法(Taira, 1996)で測定した。

つぎに，これまでの報告（飯森ら，1935；新津，1934；坂本，1941）から脱渋の難易度がかなり異なると考えられる5品種の果実についてそれらの脱渋特性を比較した。

完全渋ガキの‘横野’（山口県原産），‘葉隠’（福岡県原産），‘倉光’（石川県原産）および不完全渋ガキの‘紋平’（石川県原産）の成熟果は京都大学農学部附属京都農場の成木より採取し，‘平核無’は山形大学農学部実験圃場（鶴岡市）の成木から成熟果を採取して供試した。これらの果実に対して，同一条件のもとでアルコール脱渋および炭酸ガス脱渋した。処理の方法はそれぞれ，2. 1節および2. 2節と同じである。なお，供試果実の平均果重は品種間でかなり異なっていたので，果重1 kgあたりのエタノールの量が低濃度（10%）処理では 2.9ml，高濃度（30%）処理では 8.6mlになるように調整した。対照区（0%処理）には蒸留水を用いた。各処理区の果実の処理中の可溶性タンニン，エタノールおよびアセトアルデヒド含量ならびに果肉硬度を前節と同様の方法で測定した。

また，供試した品種の果肉に含まれる可溶性タンニンとアセトアルデヒドとの反応性を比較するために，米森（1986）の方法にならって，可溶性タンニンの濃度を10.0，12.5および15.0mg/mlに調整した果汁とpHを3.0，5.0および7.0に調

整した果汁を小型シャーレにとり、アセトアルデヒドを入れたデシケータ内に置いて、30℃下で果汁が凝固する（脱渋する）までの時間を調査した。

結 果

果実の脱渋の難易には‘伝九郎’，‘平核無’両品種間に大きな差異が認められた。すなわち，‘伝九郎’は‘平核無’に比べて温湯処理で脱渋しやすかったが，アルコール処理ではきわめて脱渋が困難で，処理後6日経っても可溶性タンニン含量はほとんど減少しなかった。炭酸ガス脱渋では両品種間にほとんど差が認められなかった（図4．21）。

このときの果肉のエタノールおよびアセトアルデヒド含量をそれぞれ，図4．22および図4．23に示した。温湯処理では，‘伝九郎’の方がエタノール，アセトアルデヒド蓄積とも速い傾向が認められた。アルコール脱渋では，‘伝九郎’は‘平核無’に比べてかなり多量のエタノールが果実内に蓄積したにもかかわらず，アセトアルデヒドの蓄積がほとんど認められなかった。これに対して，‘平核無’のアルコール処理では，量的には少なかったがアセトアルデヒドの蓄積が確かに認められた。炭酸ガス処理果のエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積パターンは両品種でよく類似していた。

さらに，アセトアルデヒド処理によって不溶化した両品種のタンニンの可溶化の様相を比較した（図4．24および図4．25）。両品種ともアセトアルデヒドの処理濃度が高いほど，不溶化したタンニンを可溶化するのにより強い抽出条件を必要とした。また，同じ濃度の処理では，‘平核無’より‘伝九郎’の方がつねに強い抽出条件を必要とした。このことは，‘伝九郎’のタンニンの方が‘平核無’のタンニンより不溶化の程度が強固で可溶化しにくいことを示している。

脱渋処理中の可溶性タンニンの減少パターンには供試した5品種間でかなり大きな差異が認められた（図4．26）。‘倉光’の30%処理および‘平核無’を除く4品種の10%処理では，6日を経過しても完全に脱渋しなかった。なかでも‘倉光’と‘横野’は脱渋が困難であった。炭酸ガス脱渋ではいずれの品種とも可溶性タンニンの減少が認められたが，3日間の処理では‘横野’と‘葉隠’は完全には脱渋しなかった。

果肉のエタノールとアセトアルデヒド含量の変化を，それぞれ図4．27および図4．28に示した。炭酸ガス脱渋の際のエタノールの蓄積は5品種ともほぼ同様であった。アルコール脱渋の際のエタノール蓄積は，‘倉光’がほかの4品種に比べてかなり少なかった。アセトアルデヒド含量は品種間ならびに処理間で差が大きかった。すなわち，炭酸ガス脱渋では，‘紋平’と‘平核無’がほかの3品

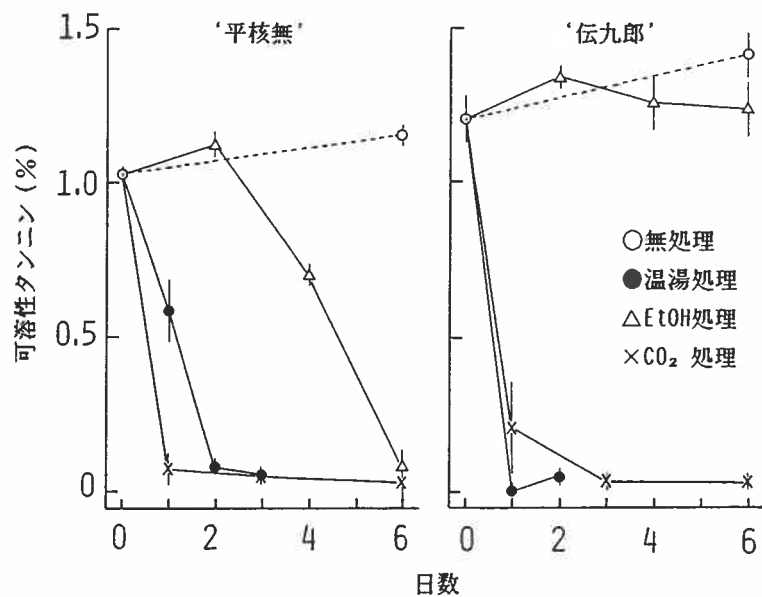


図4. 21 '平核無' および '伝九郎' における脱渋中の可溶性タンニン含量の変化 (縦線はSE)

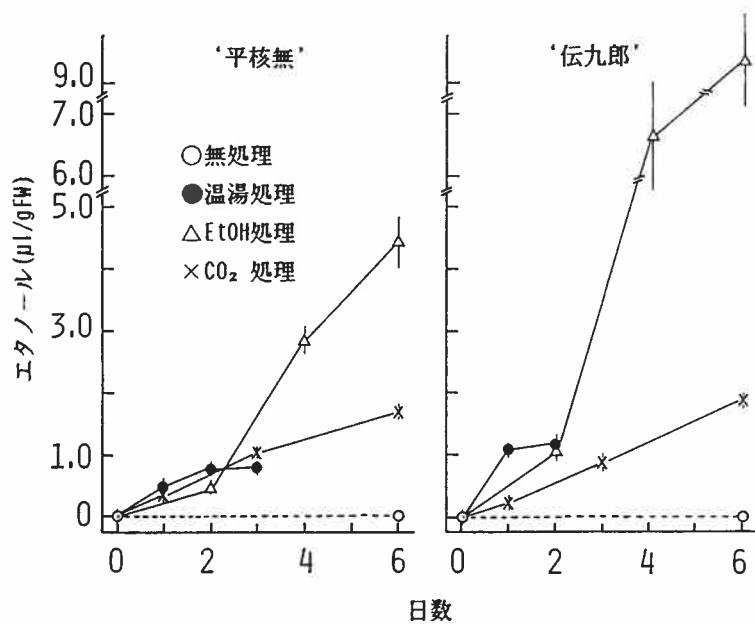


図4. 22 '平核無' および '伝九郎' における脱渋中のエタノール含量の変化 (縦線はSE)

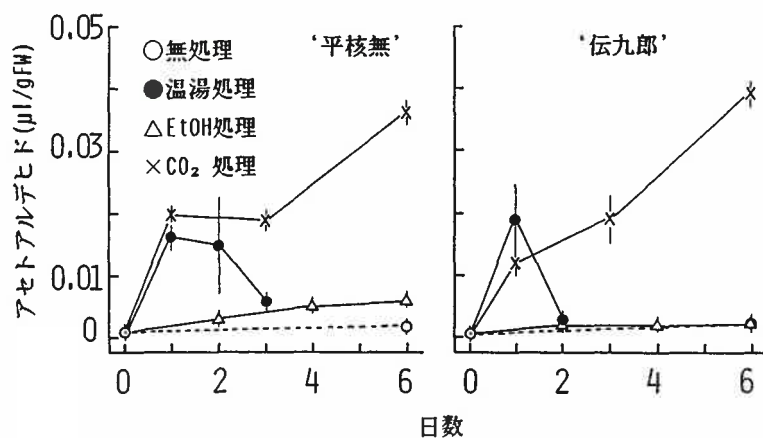


図 4. 23 ‘平核無’ および ‘伝九郎’ における脱渋中のアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

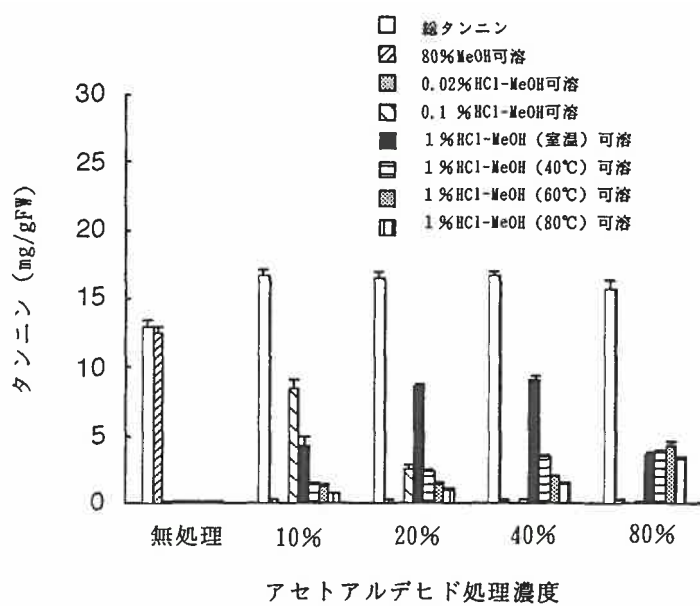


図 4. 24 ‘平核無’ 果肉切片への異なる濃度のアセトアルデヒド処理が可溶性タンニンの不溶化におよぼす影響（縦線はSE）

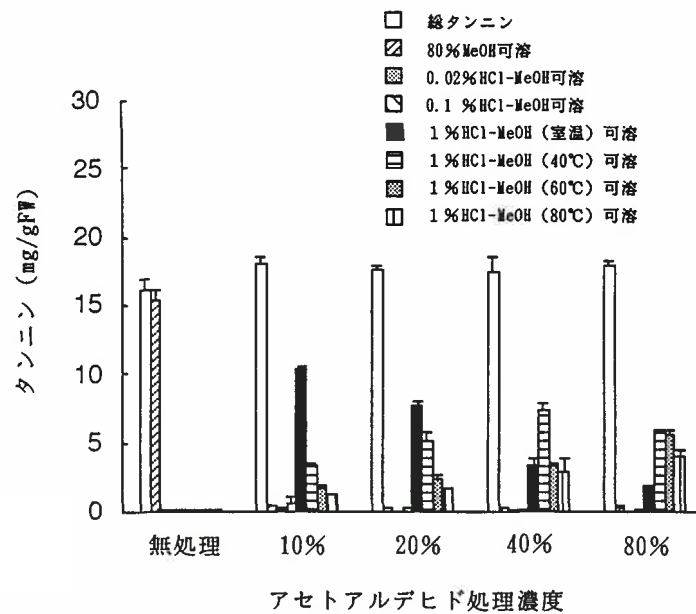


図4. 25 ‘伝九郎’果肉切片への異なる濃度のアセトアルデヒド処理が可溶性タンニンの不溶化におよぼす影響（縦線はSE）

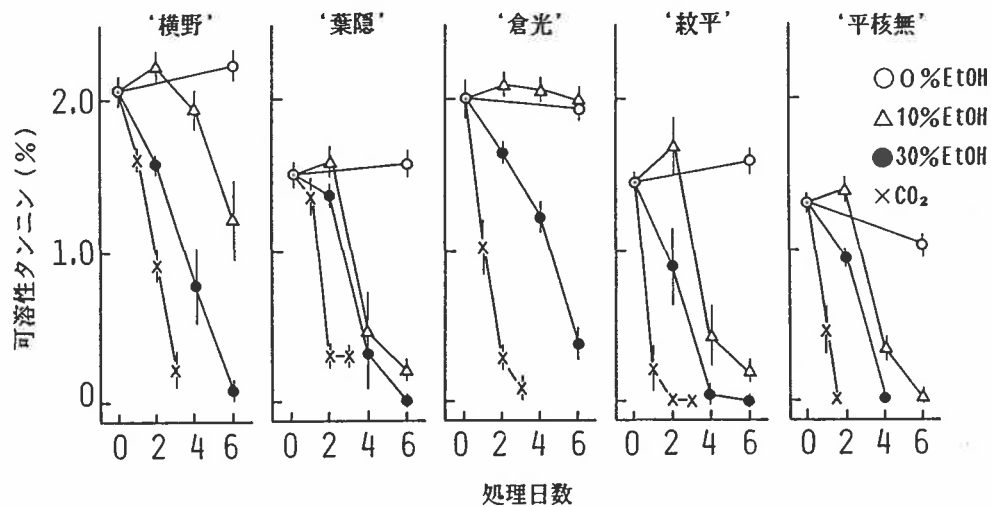


図4. 26 渋ガキ5品種の脱渋中の可溶性タンニン含量の変化（縦線はSE）

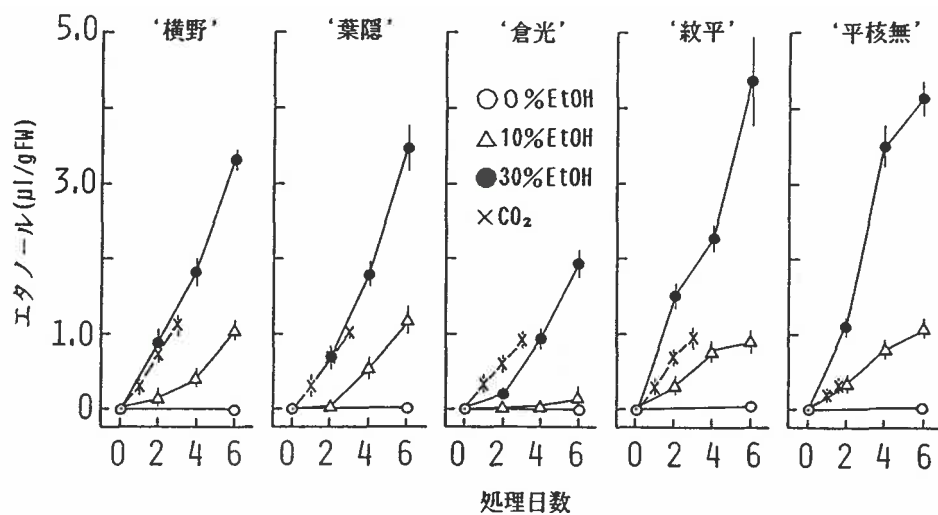


図4. 27 渋ガキ5品種の脱渋中のエタノール含量の変化（縦線はSE）

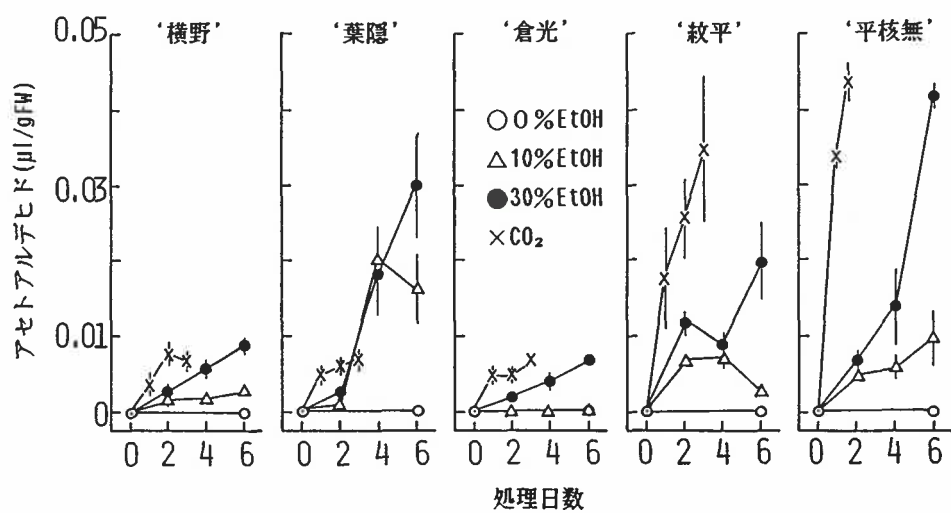


図4. 28 渋ガキ5品種の脱渋中のアセトアルデヒド含量の変化（縦線はSE）

種に比べて明らかに速く、かつ多量のアセトアルデヒドを蓄積していた。アルコール脱渋では、‘横野’と‘倉光’がいずれの濃度の処理でも蓄積量が少なかった。とくに、可溶性タンニン含量の減少がほとんど見られなかった‘倉光’の10%処理では、アセトアルデヒドの蓄積がほとんど認められなかった。いずれにしても、アセトアルデヒドの蓄積量の多少は可溶性タンニンの減少程度とよく一致していた。すなわち、アセトアルデヒドの蓄積しやすい品種あるいは処理ほど、可溶性タンニンの減少は速かであった。

アルコール脱渋処理中の果肉硬度の低下の程度にも品種間および処理間で差が認められた(図4. 29)。いずれの品種あるいは処理でも果実が軟熟してしまうことはなかったが、‘葉隠’と‘平核無’のアルコール脱渋ではかなりの速さで処理中果肉硬度が低下した。これに対して、‘横野’と‘倉光’の果肉硬度はいずれの処理においてもほとんど低下しなかった。なお、炭酸ガス脱渋区および対照区の果実はまったく軟化しなかった。

pHや可溶性タンニンの濃度が異なると、果汁が凝固する(脱渋する)までの時間はかなり異なった(図4. 30)。この場合、凝固するまでの時間が短いほど、可溶性タンニンのアセトアルデヒドに対する反応性が高いものと考えられる。pHでは7.0が、濃度は高い方がより速く凝固した。凝固までの時間は品種間で異なっていたが、アルコール脱渋および炭酸ガス脱渋が困難であった‘横野’や‘葉隠’のタンニンの方がほかの品種よりむしろ反応性が高い傾向が認められた。

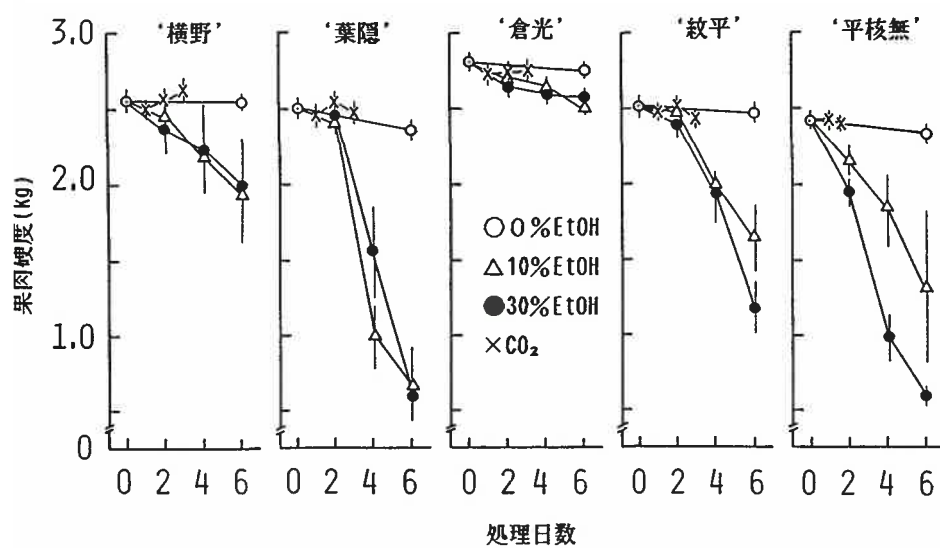


図 4. 29 渋ガキ 5 品種の脱渋中の果肉硬度の変化 (縦線はSD)

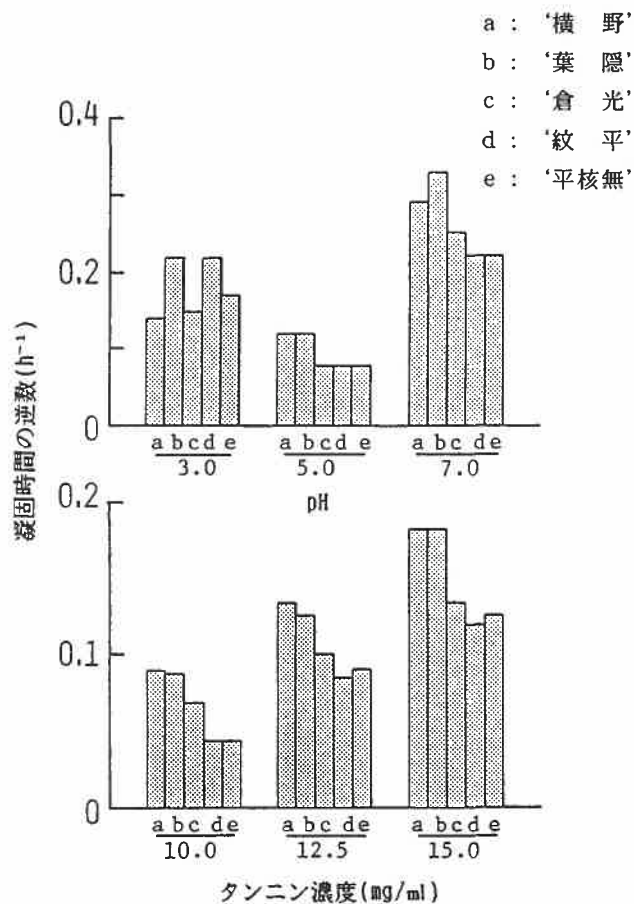


図 4. 30 渋ガキ 5 品種の果汁のアセトアルデヒド反応性
(2 回の反復実験の平均)

4. 5 考 察

生産地では経験的に、渋ガキは未熟なほど脱渋しやすく、果実の熟度が進むほど脱渋しにくくなるといわれている。しかし、それに関する調査報告は見当たらない。そこで、4. 1節ではまず、熟度が果実の脱渋難易におよぼす影響を検討した。その結果、アルコール脱渋では未熟果ほど脱渋しやすく、熟度が進むほど脱渋の進行が緩慢になることが明らかであった。

未熟果が脱渋しやすい原因として、熟度が異なれば脱渋処理の際に果実内に取り込まれるエタノールの量に差が生じるのではないかと考えられる。この点について、本実験の同一濃度のエタノール処理区で比較すると、果実へのエタノールの取り込み量は熟度が異なってもほとんど差がないといえる。それにもかかわらず、果肉に蓄積したアセトアルデヒドの量は未熟果ほど多い傾向が認められた。これらの事実は、果実が未熟なほど果実内に取り込まれたエタノールがアセトアルデヒドに代謝されやすいことを示唆している。また、このことが未熟果が脱渋しやすいおもな原因であると考えられた。

中村(1973a; 1973b)は、カキ果実に種々の量のエタノールを直接注入した場合に生成するアセトアルデヒドの量は、注入するエタノールが一定レベル以下ならば、基質となるエタノールの注入量に支配されると述べている。本実験においても果実の熟度が同じならば、高濃度の処理区ほど果実に取り込まれるエタノールの量、さらにエタノールから生成するアセトアルデヒドの量が多くなり、中村の報告と同様の傾向を示していた。しかし、果実の熟度が異なれば、果肉のエタノールからアセトアルデヒドへの代謝能力は異なるものと考えられた。

カキ果実の脱渋後の日持ちは未熟果ほど短く、軟化しやすいことが報告されている(板村, 1985)。本実験では、未熟な果実ほど脱渋処理中の果肉硬度の低下も激しいこと、また、同じ熟度の果実でも処理に用いるエタノールの濃度が高いほど脱渋中に軟化しやすいことが明らかになった。したがって、生産地において、何らかの理由でやや未熟な果実を収穫して脱渋する必要がある場合には、脱渋剤の濃度を低めに設定すれば処理中の果実の極端な軟化を回避できるものと考えられる。

未熟果ほど脱渋しやすい傾向は、はく皮乾燥脱渋においても認められた。脱渋に要する日数は未熟果ほど短く、かつ果肉のアセトアルデヒドおよびエタノールの蓄積量も多かった。これに対して、炭酸ガス脱渋には果実熟度の影響がほとんど認められなかった。一方、凍結・解凍過程における可溶性タンニン含量の減少程度は果実熟度によって大きく異なり、未熟な果実ほど凍結中あるいは解凍中のいずれでも可溶性タンニンが減少しにくい傾向が明らかであった。つまり、凍結

・解凍にともなう脱渋は、アルコール脱渋の場合とは異なり、果実が未熟な方が可溶性タンニンが減少しにくかった。

凍結期間中に可溶性タンニンが減少する理由については3. 5節で考察したが、その減少の程度は果実の熟度によって異なっていた。この原因として、熟度が進んだ果実ほど大果となって凍結に要する時間が長くなるため、凍結導入過程で可溶性タンニンの果肉組織の断片への吸着がおこりやすいことが考えられるが、詳細については明らかではなかった。また、いずれの熟度の果実でも解凍過程で可溶性タンニンの減少が認められたが、渋味が完全に消失したのは成熟果（全面着色果）のみであった。これは解凍過程で果肉組織の断片に吸着されるタンニンに量的な限界があることが主な理由であると推察される。さらには、果実の熟度によって果肉組織の断片がタンニンを吸着する程度に差がある可能性も考えられる。

果実の大きさはアルコール脱渋のしやすさに影響し、大果は小果に比べて脱渋しやすい傾向が認められた。これは、同一脱渋条件のもとでは大果には小果とほとんど同じ量のエタノールが取り込まれるが、アセトアルデヒドへの転換が大果の方がよく進むため、脱渋が速く進行するものと考えられた。北川(1968)は‘平核無’と‘愛宕’を用いて、果実の大小と脱渋難易との関係を検討した結果、小果は大果に比べて脱渋しにくいことを見出し、このような脱渋難易の差が炭酸ガス脱渋でより顕著であったと述べている。さらに、このような差が生じる原因として、小果の可溶性タンニン含量が大果より多いことをあげている。本実験では、脱渋難易の差は炭酸ガス脱渋よりもアルコール脱渋の方が顕著に認められた。また、難易差が生じる原因は、可溶性タンニン含量の多少ではなく、果肉のエタノールからアセトアルデヒドへの代謝能力の差異に関連しているものと推察された。

カキ果実の大型のヘタ（がく）は、果実の肥大や発育、ならびに貯蔵中の呼吸作用に重要な役割を果していることはよく知られている（池上, 1965; Ikegami, 1965; 前田, 1968; 中村, 1967; 樽谷, 1965; 渡部・星, 1981）。また、米森らの最近の研究によって、果実発育中のヘタ片の除去処理が処理後の果実肥大を抑制するのは、ヘタ片の有無が果実の糖代謝や内生ホルモンレベルに影響をおよぼすことと関連があることや、発育中の果実のガス交換の窓口としてのヘタ片の役割の重要性がより明確になってきている（Yonemoriら, 1995a; 1996）。しかし、ヘタが果実の脱渋過程や脱渋後の追熟過程においてどのような役割を果しているかについてはまだ明らかではない。

また、渋ガキを家庭などで脱渋するとき、果実の果頂部側ではなく、ヘタのある側をエタノールや焼酎に浸してから樽やポリ袋に密封するのが一般的である。これはエタノールなどの脱渋剤がおもにヘタから吸収されるためであるといわれ

ているが、それを実証するデータは見当たらない。また、生産地ではヘタが欠けていたり、枯れていたりする果実は渋が抜けにくいといわれることもあるが、そのことを裏づけるデータもない。

4. 2節では、このように発育中ならびに収穫後において、果実のガス交換の窓口として重要な役割を果たすヘタが、脱渋過程でどのような役割を果たしているのかを調べ、脱渋処理の際に果実のヘタに対してどのような配慮をすればよいのかを知ろうとした。実験の結果、ヘタ片あるいはヘタの有無は、果実の脱渋過程そのものにはほとんど影響しないことが明らかになった。さらに、ヘタやヘタ片はむしろない方が脱渋後の果実の日持ちがよくなる傾向が認められた。このことから、アルコール脱渋を行う際に慣習的に脱渋剤をヘタ側に処理してきたのは、脱渋剤の吸収促進や脱渋速度の促進にはつながらず、むしろ果面に脱渋剤が直接接触することによっておこる“焼け”や“汚れ”などの障害を回避するために行われてきた経験的な技術であると考えられた。

果実は成育期間を通じて、樹体内外のさまざまな要因の影響を受けながら発育する（小林，1985）。したがって、気象条件や土壌条件などが異なる園地あるいは産地で成育した果実は、脱渋にかかわる生理的特性が異なっている可能性が考えられる。同じような観点から、果実の発育や品質の産地間差について調査した報告はこれまでも認められるが（広保ら，1974；中條，1982；真子ら，1985；河崎，1986；苫名・山田，1988），渋ガキ果実の脱渋におよぼす園地あるいは産地の影響についてはまだ調査した例がない。4. 3節でこの点について調査した結果、果実の脱渋特性の園地間差や産地間差はさほど大きくはなかった。ただし、園地が異なると、とくに脱渋中の果肉の軟化程度が異なる場合があること、また、温暖な産地の果実ほどやや脱渋しやすく、かつ脱渋中果肉硬度が低下しやすい傾向が認められた。

真子ら（1985）は、キウイフルーツの貯蔵性が成育環境条件が異なるとかなり異なってくることを報告している。また、河崎（1986）はリンゴ‘ふじ’の果実品質について、温暖な産地の果実ほど貯蔵中の硬度低下が著しく、日持ちが劣ることを報告している。本実験の結果、渋ガキの場合でも脱渋処理中、温暖な産地産の果実ほど軟化しやすい傾向が認められた。

中條（1982）はカキで、広保ら（1974）はブドウとナシで、苫名・山田（1988）はリンゴで、それぞれ産地を異にする果実の品質を比較している。これらの報告によれば、果実の品質を左右する重要な要因の一つである糖含量に産地間で差が認められる場合が多いが、平均気温をはじめとする気象条件との関連はあまり明らかになっていない。本実験でも、2年間にわたって5～6産地の‘平核無’果実について調査したが、糖含量はいずれも12～13%で大差はなかった（データ省略）。

しかしながら、気象条件が異なれば、リンゴやカキ果実の成育期間にかなりの差が生じることも報告されている（Blanpiedら，1964；原田，1985）。また，同一地域でも年次が違えば，カキ果実の発育や着色の様相が異なってくることも観察されている（平・板村，1989）。これらのことから考えると，成育環境条件の違いは，カキ果実の脱渋特性や脱渋果の品質に何らかの影響を与える可能性は高いものと推察される。ただし，本実験の結果をより普遍的に理解するためには今後さらにデータを蓄積して行く必要がある。

渋ガキ果実の脱渋難易の品種間差異については，これまでも複数の報告が認められるが（飯森ら，1935；新津，1934；坂本，1941），実験の結果は必ずしも一致していない。たとえば，飯森らは‘平核無’を脱渋容易としているが，坂本は中位，新津はきわめて困難としている。このような結果のくい違いの一因は，おそらく研究者ごとに脱渋処理の条件が異なっていたためと考えられる。

4. 4節では，‘平核無’と‘伝九郎’をはじめ数品種の果実の脱渋特性の品種間差異について検討した。まず，‘伝九郎’は‘平核無’に比べてアルコール脱渋がきわめて困難であったが，これは果実内に入ったエタノールがアセトアルデヒドに代謝されにくいことがおもな原因であると考えられた。逆に，温湯脱渋では‘平核無’より脱渋が容易である傾向が認められた。これは，果実が嫌気的な条件下におかれると，嫌気呼吸が‘平核無’よりむしろ容易に誘導されて，アセトアルデヒドが生成しやすいためと推察された。

アセトアルデヒド生成のキーエンザイムのひとつであるアルコール脱水素酵素は，エタノールとアセトアルデヒドの間の代謝を可逆的につかさどる酵素であるとされる（Beevers，1961）。脱渋処理中のカキ果実のアセトアルデヒド含量と同酵素活性との関係，あるいはカキ種子のエタノール含量と同酵素活性との関係を調査した報告は，いずれも測定された酵素活性の高低とアセトアルデヒドあるいはエタノール含量の多少との間に直接的な関係が認められないと結論づけている（中村，1973a；1973b；下村ら，1988）。本実験では，酵素活性を測定していないが，もし測定されるアルコール脱水素酵素の活性にこれらの報告と同様の傾向があるとすれば，果肉組織内で何らかの抑制要因が働いて酵素の作用が抑えられている可能性も考えられる。これらの点については今後検討する必要がある。

検討を加えた品種のうち，アルコール脱渋が困難であった‘横野’も上記の‘伝九郎’タイプであると考えられたが，同じようにアルコール脱渋がきわめて困難であった‘倉光’はこれらの品種とは異なった特性を持つものと考えられた。つまり，‘倉光’がアルコールで脱渋しにくいのは，まず第一に脱渋剤であるアルコールが果実の中に入りにくいためであると考えられた。この点は‘平核無’よりむしろアルコールが取り込まれやすかった‘伝九郎’とは大きく異なってい

た。

アセトアルデヒドに対する可溶性タンニンの反応性の差も脱渋の難易に影響をおよぼすものと考えられる。この点について、4.4節で調査した範囲内では、‘伝九郎’や‘横野’などアルコール脱渋がより困難な品種のタンニンの方が、どちらかといえば脱渋の容易な‘平核無’のタンニンより、アセトアルデヒドに対する反応性が高い傾向が認められた。このことから、脱渋が困難な品種は、可溶性タンニンがアセトアルデヒドと反応しにくいために脱渋しにくいとは考えられない。いいかえれば、いかなる品種でも脱渋処理によって果肉にアセトアルデヒドが必要量以上生成しさえすれば、可溶性タンニンは不溶化し、脱渋は進行するものと考えられた。

4.6 摘 要

‘平核無’果実を用いて脱渋におよぼす果実の生理・生態的要因について検討した。果実の熟度と大きさの影響について調査した結果、アルコール脱渋では未熟果ほど脱渋しやすかったが、脱渋中に果実の軟化が進んだ。炭酸ガス脱渋には果実熟度の影響がほとんど認められなかった。はく皮乾燥脱渋でも未熟な果実ほど脱渋しやすい傾向が認められた。凍結・解凍過程における可溶性タンニンの減少程度は果実の熟度によって異なり、未熟果ほど減少しにくかった。また、アルコール脱渋では大果の方が小果より脱渋しやすかったが、炭酸ガス脱渋ではほとんど差がなかった。

成育中にヘタ片を除去した果実、ならびに収穫後にヘタ片あるいはヘタを除去した果実の脱渋のしやすさは、無処理の果実とほとんど同じであった。ただし、脱渋後の果実の軟化は、成育中ならびに収穫後の処理ともヘタ片あるいはヘタがない方がむしろ抑えられて、果実の日持ちがよくなった。

園地および産地の影響について調べたところ、同じ山形県庄内地方産の果実でも園地が異なれば、アルコール脱渋中の果肉硬度の低下の程度がかなり異なっていた。しかし、可溶性タンニンの減少パターンにはあまり差がなかった。全国5～6か所の産地産の果実に対して、同一条件下でアルコール脱渋処理を施し、脱渋特性を2年間にわたって比較した結果、寒冷な産地産の果実ほど処理中軟化しにくい、やや脱渋しにくい傾向がうかがわれた。この傾向は調査した2年間にほぼ共通していた。

‘伝九郎’や‘平核無’を含む数品種の果実を用いて、脱渋特性の品種間差異について調査した。その結果、アルコール脱渋の難易や脱渋中の果肉硬度の低下程度に品種間で大きな差異が認められた。ただし、いずれの品種でも果肉の可溶

性タンニン含量の低下とアセトアルデヒドの蓄積との間にはかなり密接な関係が認められた。一方、各品種の可溶性タンニンのアセトアルデヒドに対する反応性には大差がなく、脱渋が困難であった品種のタンニンの方が容易に脱渋した品種のタンニンよりむしろ不溶化しやすい傾向があった。これらのことから、アルコール処理で脱渋が困難となるのは、処理中に果実内に取り込まれたエタノールがアセトアルデヒドに転換しにくい場合と脱渋剤のエタノールが果実に取り込まれにくい場合とがあるものと推察された。

5. 総合考察

本研究の目的は、これまでアセトアルデヒドによる可溶性タンニンの不溶化のみを要因として説明されてきた感のある渋ガキ果実の脱渋のメカニズムを、アセトアルデヒド以外の要因も加味してより総合的な理解を試みることに、ならびに渋ガキの良品質果実の安定生産のために実際の脱渋処理に際して留意すべき点を、果実の生理・生態的要因との関連のもとに明らかにすることであった。

一連の研究の結果、前者の目的については、各種脱渋過程におけるアセトアルデヒドの役割を再確認する一方で、果実の軟化にともなって果肉中に増加した水溶性ペクチンと可溶性タンニンの複合体形成による渋味の減少、ならびに可溶性タンニンの果肉細胞組織の断片への吸着による減少という、脱渋（渋味の減少）にかかわるアセトアルデヒド以外の2つの新しい要因を見出すことができた。さらに、後者の目的については、果実の熟度や大きさの影響、ヘタの役割、果実が生産された園地や産地の違いの影響、ならびに脱渋特性の品種間差異についていくつかの新しい知見を得ることができた。

本研究で検討を加えた個々の事項については、それぞれの章で考察してきたので、本章ではまず、渋ガキ果実の脱渋メカニズムについて本研究の成果を踏まえた総合的な考察を試みることにする。ついで、実際に果実の脱渋処理を行う際に留意すべき事項として、本研究の結果明らかになった点についてまとめ、最後に、渋ガキ果実の脱渋研究の今後の課題についてふれることにしたい。

5. 1 渋ガキ果実の脱渋メカニズム

先にも述べてきたように、渋ガキ果実の脱渋は、これまで主として渋味の原因となる可溶性タンニンと果肉に生成・蓄積するアセトアルデヒドとの関連でとらえられてきた。すなわち、果肉に含まれるタンニン細胞の液胞中に存在する可溶性タンニンが、脱渋処理過程で果実内に生成したアセトアルデヒドの作用によって高分子化して不溶化し、不溶性タンニンとなるために渋味が感じられなくなるというメカニズムである（北川，1970a；松尾，1989；Matsuoら，1991；Pesis・Ben-Arie，1984；1986；Taira，1996）。

本研究で検討を加えた脱渋処理過程のうち、アルコール脱渋、樹上脱渋、炭酸ガス脱渋、温湯脱渋ならびにはく皮乾燥脱渋の後期過程では、いずれにおいても、可溶性タンニン含量は果肉にアセトアルデヒドが蓄積するのにともなって減少し、脱渋（渋味の減少）とアセトアルデヒドの蓄積は密接にかかわっているものと考えられた。したがって、これらの脱渋過程ではこれまでも指摘されているよう

に、アセトアルデヒドによる可溶性タンニンの不溶化が脱渋の主たる要因になっているものと考えられる。

これに対して、収穫後の軟化にともなう脱渋（いわゆる“熟柿”）、凍結・解凍にともなう脱渋、さらにはく皮乾燥脱渋の初期過程のように、果肉の軟化をとともなう脱渋過程では、渋味の減少の程度と果肉の可溶性タンニン含量の減少の程度とが一致しないか、あるいは可溶性タンニン含量の減少時期とアセトアルデヒドの蓄積パターンがよく一致しなかった。したがって、これらの脱渋過程では、アセトアルデヒド以外の要因、すなわち、本研究で新しく見出された2つの要因のうちのいずれか一方、あるいはその両方が果肉の渋味の減少に関与しているものと考えられた。

今までに発表された渋ガキの脱渋に関する多くの研究成果と本研究の結果を考え合わせると、渋ガキ果実の可溶性タンニンの不溶化現象は、アセトアルデヒドが作用する場合とアセトアルデヒド以外の要因が作用する場合を比較することによって、以下に示す2つのケースに分けて考えることができる。

1つは、脱渋、すなわち可溶性タンニンの不溶化が、タンニン細胞の中、つまり可溶性タンニンが存在するタンニン細胞の液胞の内部、あるいは液胞そのものでおこる場合である。果肉の軟化をとともなわない脱渋過程では、可溶性タンニンの不溶化は基本的にはタンニン細胞の内部でおこっていると考えられる。このとき、可溶性タンニンの不溶化のおもな要因は、松尾(1989)が述べているように、アセトアルデヒドによる可溶性タンニンの高分子化による不溶化であると考えられる。この場合、可溶性タンニンに実際に作用するアセトアルデヒドの量が一定量以下ならば多いほど、タンニンはより強固に不溶化するものと考えられる。このことは、本研究でもアセトアルデヒドの蓄積量が多いケースほど、不溶化したタンニンを再び可溶化するためにより強い抽出条件を必要としたこと、また、アセトアルデヒド処理の濃度が高いほど、処理によって不溶化したタンニンが可溶化しにくかったという事実によっても支持されるものと考えられる。

もう1つは、可溶性タンニンの不溶化が主としてタンニン細胞の外部でおこると思われる場合である。つまり、果実の軟化にともなって果肉の細胞壁構成多糖類の分解が進み、水溶性のペクチンが増加してくると、それにともなって細胞壁の強度が低下し、ついにその一部が崩壊するようになる。軟化が進行した果実では、果肉内でタンニン細胞が自然に崩壊したり、あるいはそのような果実を食べると口の中で容易に果肉細胞が破壊すると考えられる。そうすると、細胞外に流れ出した可溶性タンニンが、果肉の軟化にともなって増加したアポプラスト中の水溶性ペクチンと複合体を形成したり、細胞壁や原形質膜の断片などに吸着して渋味が減少するのである。この場合、アセトアルデヒドが存在しなくても渋味

が減少するが、アセトアルデヒドが共存すればタンニンのよりいっそうの高分子化が進み、渋味の減少も促進されるものと推測される。

以上のように、本研究では、渋ガキ果実の脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の新しい要因として、水溶性ペクチンとの複合体形成と果肉細胞組織の断片への吸着を提案したが、脱渋にアセトアルデヒド以外の要因がかかわっているという指摘は何人かの研究者によってすでになされている。

北川(1969; 1970a; 1970b)は、種々の方法で脱渋した渋ガキ果実のタンニン細胞の形態的特徴が同じでないことから、脱渋のメカニズムは脱渋の方法によって異なっているのではないかと考えた。同氏は一連の研究結果のもとに、脱渋果にみられるタンニン細胞を5種類に分類するとともに、脱渋方法によってこれらの種類のタンニン細胞の出現頻度が異なっていることを指摘した。また、温湯脱渋において、脱渋に直接関係しているのはアセトアルデヒドであるとしながらも、いったん不溶化したタンニンがHCl-MeOHによる抽出や超音波をあてることによって比較的容易に可溶化することから、タンニンの不溶化はアセトアルデヒドによる縮合というような強い化学反応であるとは考えにくいと述べている。さらに、可溶性タンニンは、タンニン細胞の中に含まれているタンパク質や糖、無機物質、水およびそのほかの物質とともにゲル化して、タンニン細胞全体が凝固するのであろうと推測している。

一方、福嶋ら(1991)は、渋ガキ果実の脱渋処理過程で果肉が軟化すると、細胞壁構成多糖類の分解にともなって果肉細胞の浸透圧が上昇することを見出した。このような浸透圧の上昇にともなって、タンニン細胞は脱水され、液胞内容物の濃縮が進む結果、可溶性タンニンが不溶化するのではないかと推察している。

また、Ittah(1993)は、渋ガキ果実の炭酸ガス脱渋過程で可溶性糖の存在と可溶性タンニンの減少との間に密接な関係があることを認め、可溶性糖が可溶性タンニンと結合することが脱渋にかかわっていると推察している。最近のYonemoriら(1995b)の研究によれば、タンニン細胞の液胞中にはカテキン換算で10~15%の可溶性タンニンと8~10%の可溶性糖が含まれているという。このことから考えれば、タンニン細胞の液胞の内部で可溶性糖と可溶性タンニンが結合する可能性も十分考えられるが、Ittahの考察は果肉のホモジネートを用いた分析結果に基づいていることから、実際の脱渋に際して、タンニン細胞の液胞の内部で上記のようなことがおこっているのかどうかは明らかではない。

渋ガキ果実の脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因についてのこれらの研究者の指摘は、いずれも、本質的にはタンニン細胞の内部でおこる脱渋現象について言及したものであると考えられる。したがって、可溶性タンニンがタンニン細胞の外部ではかの物質と複合体を形成したり、ほかの物質に吸着したりする

ことによって果肉の渋味が減少するケースがあることは、本研究の結果はじめて明らかになったといえる。

以上に述べてきたことから、渋ガキ果実の脱渋現象は、脱渋の過程で果肉の軟化がどの程度進んでいるかに関連して、可溶性タンニンの不溶化あるいは渋味の減少が、タンニン細胞の内部でのみおこっている場合と、タンニン細胞の外部でおこる場合とに分けて考える必要があるものと考えられた。本研究の結果新たに明らかになった要因を含めて、渋ガキ果実の脱渋にかかわる要因をまとめると図5. 1のようになる。

5. 2 脱渋の際に留意すべきこと

本研究の結果から、渋ガキ果実の実際の脱渋処理に際しては、以下のような点に留意することが望まれる。

まず、各年の収穫シーズンのはじめには、収穫労力の分散や脱渋施設の効率的な利用のために、やや未熟な果実を収穫して脱渋する場合がある。また、災害など何らかの理由で早期収穫を余儀なくされ、未成熟な果実に対して脱渋処理を施す必要がある場合も考えられる。このような場合には、脱渋剤の量を少なくするか、処理濃度を低く設定して、できるだけマイルドな条件で脱渋処理を行うべきである。そうすることによって、処理中の果実の極端な軟化は効果的に抑えられ、脱渋果の日持ちもある程度確保され则认为られる。

また、アルコール脱渋を行う場合は、大きさの極端に異なる果実を一度に処理することは避けるべきである。小果は大果より脱渋しにくいために、脱渋処理の期間を大果に合わせると、小果は脱渋が不完全になる可能性が高い。逆に、処理期間を小果に合わせると大果には過剰な処理となり、処理中に果肉の軟化が進む可能性が高くなる。

ヘタ片やヘタの有無は果実の脱渋のしやすさにはほとんど影響を与えなかったが、これはあくまで収穫直後の果実を用いた実験の結果である。板村(1985)によれば、収穫後日数が経過した果実に脱渋処理を施した場合、脱渋後の果肉の軟化が早く、日持ちが悪くなる。したがって、生産地でヘタが枯れかかっているような果実は、収穫してから時間が経過している可能性も高いので脱渋処理に際しては注意が必要であろう。

園地や産地が違うなど成育環境条件の異なる果実の脱渋特性の差は、おもに脱渋中の果肉硬度の低下の程度に現れる傾向があった。この点に関して、とくにアルコール脱渋では、それぞれの果実の特性に合わせた配慮が必要である。なお、本実験の結果からは寒冷な産地産の果実ほどやや脱渋しにくい傾向が認められた

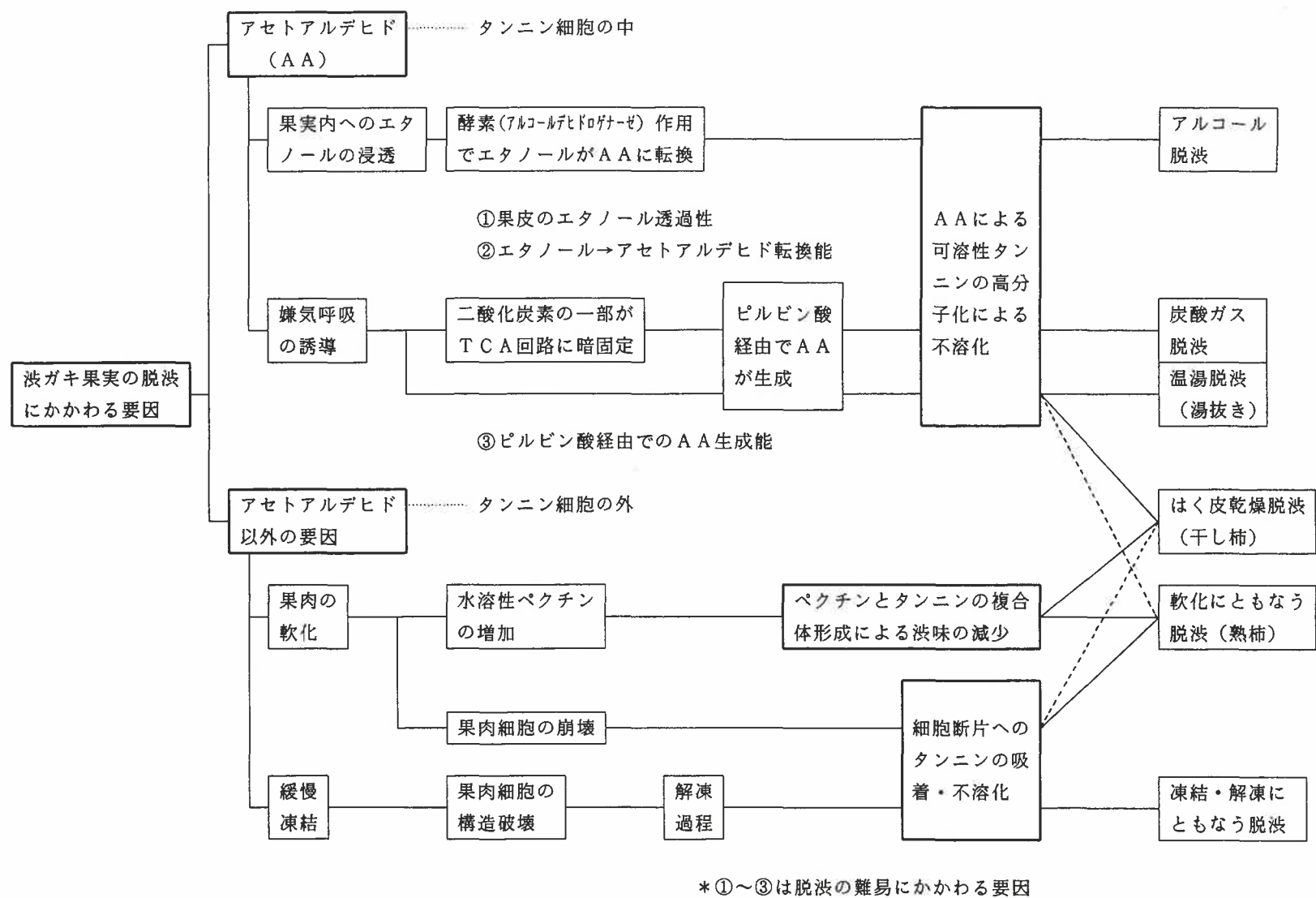


図5. 1 渋ガキ果実の脱渋にかかわるおもな要因(模式図)

が、この点をより明確にするには、今後も反復調査を行う必要があると思われる。

さらに、渋ガキ果実の脱渋の難易度にはかなり大きな品種間差異が認められた。品種間差異は、炭酸ガス脱渋よりアルコール脱渋において顕著で、同一の処理条件でも容易に脱渋する品種からほとんど脱渋しない品種まで認められた。したがって、脱渋処理の条件設定にあたっては、基本的には処理の対象となる品種ごとに、その脱渋特性を十分に把握したうえで、処理条件を設定することが望ましいといえる。

5. 3 脱渋研究の今後の課題

本研究の結果、多くの脱渋処理過程では、可溶性タンニンの不溶化にアセトアルデヒドが重要な役割を果たしていることが再確認された。さらに、処理によって不溶化したタンニンをHCl-MeOHをベースにした種々の抽出条件のもとで再び可溶化することによって、タンニンの不溶化の強さをある程度まで把握することができるものと考えられた。そのことから、可溶性タンニンの不溶化にアセトアルデヒド以外の要因が作用していないと考えられる場合には、果肉へのアルデヒド蓄積量が多いほど、タンニンはより強固に不溶化しているものと推察された。

しかし、この場合、可溶性タンニンの不溶化に実際に使われたアセトアルデヒドの量は不明である。従来から測定しているアセトアルデヒドの量は、調査の時点で果肉に蓄積していた量、いかえれば、タンニンの不溶化に使われたアセトアルデヒドの残存量であり、残存量が多ければタンニンの不溶化に実際に使用された量も多いだろうと推測しているのにすぎない。したがって、不溶化に実際に使われたアセトアルデヒドの量が正確に推定できれば、アセトアルデヒドによる可溶性タンニンの不溶化現象をよりの確に説明できるものと考えられる。

可溶性タンニンの不溶化に実際に使われたアセトアルデヒド量の推定は、これまでも、板村・福島(1989)や平・松本(1997)によって試みられているが、使用量を正確に推定できるといえる方法はまだ開発されていない。今後、アセトアルデヒドの使用量をより正確に推定できる方法の開発が望まれるとともに、タンニンの不溶化の強度についても、実際の使用量に基づいた考察が必要であると考えられる。

また、本研究で渋ガキ果実の脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の新しい要因として、果肉の細胞組織の断片へのタンニンの吸着現象が見出された。しかし、このような吸着現象がどのようなメカニズムで生じているのかについてはまだ明らかになっていない。この点についても今後、形態学的ならびに生化学的な視点からより詳しい説明が必要である。

さらに、脱渋の難易度の差をはじめとする果実の脱渋特性の品種間差異については、さらに多くの品種を対象とした調査が望まれる。そのためにはまず、アルコール脱渋や炭酸ガス脱渋など、実際によく用いられる脱渋方法について、標準となる処理条件を確立する必要がある。統一された処理条件のもとで得られた脱渋特性の品種間差異に関するデータは、生産地における脱渋条件の適正化や品種選抜のための重要な基礎資料となろう。

6. 総 摘 要

本研究は、渋ガキ果実の各種脱渋過程における渋味の減少にかかわる要因のうち、とくにアセトアルデヒド以外の新要因を明らかにするとともに、脱渋果の品質を考えるうえで重要であると考えられる果実の生理・生態的要因が脱渋特性におよぼす影響について調査することを目的として行ったものである。

最初に、渋ガキ果実の渋味の原因となる可溶性タンニンの不溶化におけるアセトアルデヒドの役割を確認した。各種脱渋過程における果肉の可溶性タンニン、アセトアルデヒドおよびエタノールの各含量と渋味の変化から、アルコール脱渋、樹上脱渋、炭酸ガス脱渋、湯温脱渋およびはく皮乾燥脱渋の後期過程では、可溶性タンニンの減少は果肉へのアセトアルデヒドの蓄積と密接にかかわっていることが再確認された。しかしながら、収穫後の果実の追熟にともなう脱渋やはく皮乾燥脱渋の初期過程のように果肉の軟化をともなう脱渋過程では、可溶性タンニン含量の減少に明らかに先だって果肉の渋味の減少が認められた。また、凍結・解凍にともなう脱渋過程では、アセトアルデヒドの蓄積がほとんど見られないのに可溶性タンニンの不溶化が進行した。これらの結果は、渋ガキ果実の脱渋（渋味の減少）にアセトアルデヒド以外の未知の要因がかかわっていることを示唆していた。

そこで、脱渋にかかわるアセトアルデヒド以外の要因について検討した。先の実験から、渋味の減少にアセトアルデヒド以外の要因が作用していると考えられる場合には、いずれも果肉の軟化が認められたことから、果実の軟化にともなって増加すると考えられる水溶性ペクチンと軟化にともなって生じる果肉細胞の崩壊に注目して、果汁や精製カキタンニン溶液を用いたモデル実験ならびにインタクトな果実を用いた実験を行った。その結果、水溶性ペクチンが可溶性タンニンと複合体を形成することによって、可溶性タンニン由来の渋味を減少させることが明らかとなった。さらに、可溶性タンニンは、軟化にともなって崩壊したり、凍結・解凍過程で破壊された果肉細胞の細胞壁や原形質膜の断片に吸着して減少することが明らかになった。収穫後の果実の追熟にともなう脱渋やはく皮脱渋の初期過程ではこれらの2つの要因が並行して、凍結・解凍にともなう脱渋過程ではおもに後者の要因が作用して果肉の渋味が減少するものと考えられた。

さらに、渋ガキ脱渋果の品質の向上あるいは安定化を目指す観点から、‘平核無’を供試して、脱渋におよぼす果実の生理・生態的要因の影響について検討した。その結果、未熟な果実ほど脱渋しにくく、かつ脱渋中軟化しやすかった。また、大果は小果より脱渋しやすかった。ヘタの有無は脱渋の難易には影響をおよぼさなかったが、脱渋後の果実の日持ちはヘタがない方がむしろ延長された。脱

脱渋難易の園地間差や産地間差はさほど大きくなかったが、寒冷な産地の果実ほど脱渋中に軟化しにくく、やや脱渋しにくい傾向が認められた。さらに、数品種を対象として脱渋難易の品種間差異を検討した。その結果、アルコール脱渋が困難になるのは、果実内に取り込まれたエタノールがアセトアルデヒドに転換されにくい場合と脱渋剤であるアルコールそのものが果実に取り込まれにくい場合とがあることが明らかになった。

以上の実験結果をもとにして、渋ガキ果実の脱渋のメカニズムについて総合的な考察を試みるとともに、実際の脱渋処理に際して留意すべき点についてまとめた。

7. 謝 辞

本論文を取りまとめるにあたって、ご校閲をいただきました京都大学大学院農学研究科 杉浦 明教授に謹んで感謝の意を表します。

また、京都大学名誉教授 苫名 孝博士ならびに大阪府立大学名誉教授 故 岩田 隆博士には研究途上絶えず暖かい励ましをいただきました。両先生に深く感謝します。

さらに、終始ご激励とご教示をいただきました山形大学名誉教授 渡部俊三博士ならびに山形大学農学部 山本隆儀教授，多大なご協力とご助言をいただきました岡山大学農学部 稲葉昭次教授，久保康隆助教授，島根大学生物資源科学部 板村裕之教授ならびに京都大学大学院農学研究科 米森敬三助教授に心から感謝の意を表します。

実験の遂行，データの解析に際しても多くの方々のご協力を得ました。絶えず暖かいご援助をいただいた山形大学農学部 五十嵐幸子技術専門職員。統計解析についてご教示とご援助をいただいた山形大学農学部 江頭宏昌助手。本研究の一部を卒業論文あるいは修士論文のテーマとして取り組んでくれた山形大学農学部果樹園芸学研究室の専攻学生・院生のみなさん。実験材料をご提供いただいた，熊本県立果樹試験場，農水省果樹試験場安芸津支場（現カキ・ブドウ支場），奈良県立農業試験場，京都大学農学部附属農場（現農学研究科附属農場），京都大学大学院農学研究科果樹園芸学研究室ならびに新潟県立園芸試験場の関係者各位と山形県酒田市の伊藤嘉信氏。さらに，精製カキタンニンを提供していただいた丸善製薬（株）の関係者各位。これらの方々にも心から感謝いたします。

なお，本研究の一部には文部省科学研究費補助金と園芸振興松島財団からの研究助成を得ました。ここに記して謝意を表します。

8. 引用文献

- 荒木忠治・古田道夫・金子勝芳・明田川太七郎. 1975. カキ果実の脱渋に関する研究. (第1報) 脱渋過程におけるアルコール脱水素酵素, パーオキシターゼ活性および果実成分の変化. 園学雑. 44:183-191.
- Ashworth, E. N. 1992. Formation and spread of ice in plant tissues. In: Janick, J. (ed.), Horticultural Reviews, vol. 13. Wiley, New York, pp. 215-255.
- Beevers, H. 1961. Respiratory metabolism in plants. Row, Peterson and Company, White Plains, New York.
- Ben-Arie, R. and L. Sonego. 1993. Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon. J. Food Sci. 58:1379-1400.
- Blanpied, G. D., L. L. Creasy, V. A. Blank and L. W. Lewis. 1964. The relationship between growing season temperatures, blooming dates and the length of the growing season of Red Delicious apples in north America. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 84:72-81.
- Blumenkranz, N. and G. Asboe-Hansen. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. Anal. Biochem. 54:484-489.
- 中條利明. 1982. 富有力カキ果実の発育ならびに品質に及ぼす温度条件に関する研究. 香川大学農学部紀要. 37:1-63.
- Cutillas-Iturralde, A., I. Zerra and E. P. Lorences. 1993. Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit: pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity. Physiol. Plant. 89:369-375.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350-356.

- Eaks, I. L. 1967. Ripening and astringency removal in persimmon fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 91:868-875.
- Fuchigami, M., N. Hyakumoto, K. Miyazaki, T. Nomura and J. Sasaki. 1994. Texture and histological structure of carrots frozen at a programmed rate and thawed in an electrostatic field. J. Food Sci. 59:1162-1167.
- Fuchigami, M., K. Miyazaki and N. Hyakumoto. 1995. Frozen carrot texture and pectic components as affected by low-temperature-blanching and quick freezing. J. Food Sci. 60:132-136.
- 福嶋忠昭・北村利夫・村山秀樹・吉田敏幸. 1991. カキ '平核無' のエタノール処理による脱渋機作. 園学雑. 60:685-694.
- Gazit, S. and I. Adato. 1972. Effect of carbon dioxide atmosphere on the course of astringency disappearance of persimmon (*Diospyros kaki* Linn.) fruits. J. Food Sci. 37:815-817.
- Gore, H. C. 1911. Experiments on the processing of persimmons to render them non-astringent. U. S. D. A. Bur. Chem. Bull. 155.
- Gottreich, M. and A. Blumenfeld. 1991. Light microscopic observation of tannin cell walls in persimmon fruit. J. Hortic. Sci. 30:73-76.
- Hagerman, A. E. and L. G. Butler. 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. J. Agric. Food Chem. 26: 809-812.
- 原田 久. 1985. カキの生育に関する生態学的研究. とくに花芽分化と休眠について. 静岡大学農学部園研報. 9: 1-66.
- Haslam, E. and T. H. Lilley. 1988. Natural astringency in food-stuffs: a molecular interpretation. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutri. 27: 1-40.

- 広島県果樹試験場. 1979. 昭和53年度種苗特性分類調査報告書(カキ). 広島県.
- 広保 正・石井 弘・ユン バ ニュツ. 1974. ブドウ・ナシの糖類および有機酸含量と産地. 千葉大園学報. 22:41-47.
- Hume, H. H. 1914. A Kaki classification. J. Hered. 5:400-406.
- 伊庭慶昭・福田博之・垣内典夫・荒木忠治編著. 1985. 果実の成熟と貯蔵. pp. 7-12. 養賢堂. 東京.
- 飯森三男・加幡胖次郎・牛島喜一. 1935. 炭酸瓦斯に依る柿の脱渋に就いて. 園学雑. 6:278-287.
- 池上隆雄. 1965. 栽培柿の起源に関する形態学的研究. 大阪学芸大学紀要. B-13: 151-202.
- Ikegami, T. 1967. Morphological studies on the origin of *Diospyros kaki* in Japan. Mem. Osaka Kyoiku Univ. 16(III-2):55-89.
- 板村裕之. 1985. カキ平核無果実における脱渋後の軟化に関する研究. 京都大学学位論文.
- 板村裕之・福嶋忠昭. 1989. 数種の処理がカキタンニンの挙動に及ぼす影響. 山形大学紀要(農学). 10:917-922.
- 板村裕之・福嶋忠昭・北村利夫. 1989. カキ‘平核無’果実の軟化と細胞壁多糖成分との関係. 日食工誌. 36:647-650.
- Ito, S. 1986. Persimmon. In: S.P. Monselise(ed.). CRC Handbook of Fruit Set and Development. pp.355-370. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Ittah, Y. 1993. Sugar content changes in persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO₂: a possible connection to deasyringency mechanisms. Food Chem. 48:24-29.

岩田 隆. 1969. 収獲果実の呼吸型についての園芸利用学的研究. 京都大学学位論文.

Joslyn, M. A. and J. L. Goldstein. 1964. Changes in phenolic content in persimmons during ripening and precessing. J. Agric. Food Chem. 12:511-520.

梶浦 実. 1946. 柿の品種とその品種改良. 育種と園芸. 1:86-89, 175-182.

掛下謹次郎. 1930. 二三果実の貯蔵及び成熟過程に於けるアセタルデハイド及びアルコール量の消長. 農業および園芸. 5:1151-1161.

Kakeshita, K. 1930. Preliminary report on the study of artificial removal of astringency in kaki. Proc. Japan Acad. 6:397-398.

加藤公道. 1984. カキ果実のアルコール脱渋時におけるタンニン・糖の抽出条件, タンニン含量と渋味及びアルコールの挙動. 園学雑. 53:127-134.

河崎 進. 1986. 気象条件とリンゴ果実の生育および成熟(7). 北陸(富山県)におけるリンゴの生育と気象. 農業および園芸. 61:39-42.

北川博敏. 1968. カキの脱渋および貯蔵に関する研究. (第4報) 果実の大小と脱渋の難易. 農業および園芸. 43:1595-1596.

北川博敏. 1969. カキの脱渋および貯蔵に関する研究. (第5報) 温湯脱渋中に生じるアセトアルデヒドと渋味消失との関係. 園学雑. 37:379-382.

北川博敏. 1970a. カキの栽培と利用. 養賢堂. 東京.

北川博敏. 1970b. カキの脱渋および貯蔵に関する研究. (第6報) 温湯脱渋果における渋味の再現について. 園学雑. 38:201-206.

小林 章. 1975. 果樹環境論. 養賢堂. 東京.

Komatsu, S. and N. Matsunami. 1924. On Kaki-shibu. I. Constitution of

Shibuol I. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imperial Univ. A 7:15-23.

Komatsu, S., N. Matsunami and M. Ishimasa. 1925a. On Kaki-shibu. II. Constitution of Shibuol II. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imperial Univ. A 8:43-49.

Komatsu, S., N. Matsunami and M. Ishimasa. 1925a. On Kaki-shibu. III. Constitution of Shibuol III. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imperial Univ. A 8:231-240.

楠本正次・吉村不二男. 1976. カキ果のタンニン. (第2報) 脱渋と揮発性物質. 園学雑. 45:76-80.

Lloyd, F. F. 1911. Carbon dioxide at high pressure and the artificial ripening of persimmons. Science N. Ser. 34. No. 887:924-928.

前田 知. 1968. 柿果における蒂の組織学的ならびに生理学的研究. 徳島果試特別報告. 2:1-51.

真部正敏・上川尚義・樽谷隆之. 1978. カキ果実の乾燥に関する研究. (第1報) 乾燥脱渋の機構に関する2, 3の考察. 園学雑. 46:556-560.

真子正史・二見重男・重田利夫. 1985. キウイフルーツの環境条件の違いと果実の貯蔵性. (第1報) 産地, チッソ施肥量の違い, および袋掛けの有無と果実の貯蔵性. 園学要旨. 昭60秋:442-443.

松尾友明. 1989. カキタンニンの化学特性と収穫後の脱渋機構. 園学シンポ要旨. 平成元秋:119-125.

Matsuo, T. and S. Ito. 1977. On mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide treatment I. Some properties of the two processes in the de-astringency. Plant Cell Physiol 18: 17-25.

Matsuo, T. and S. Ito. 1978. The chemical structure of kaki-tannin from

immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). Agric. Biol. Chem. 42:1637-1643.

Matsuo, T. and S. Ito. 1982. A model experiment for de-astringency of persimmon fruit with high carbon dioxide treatment: in vitro gelation of kaki-tannin by reacting with acetaldehyde. Agric. Biol. Chem. 46:683-689.

Matsuo, T., S. Ito and R. Ben-Arie. 1991. A model experiment for elucidating the mechanism of astringency removal in persimmon fruit using respiration inhibitors. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60: 437-442.

中村三夫. 1967. カキのヘタの生理生態学的研究. 岐阜大農研報. 23:1-62.

中村怜之輔. 1961. カキ果の凍結による脱渋現象について. 園学雑. 30:73-76.

中村怜之輔. 1973a. カキ果実の脱渋機構に関する一考察. I. カキ果実のアルコール脱水素酵素について. 日食工誌. 20:524-528.

中村怜之輔. 1973b. カキ果実の脱渋機構に関する一考察. II. カキ果実のアセトアルデヒド含量, エタノール含量およびアルコール脱水素酵素活性の品種間差異. 日食工誌. 20:529-536.

新津 宏. 1934. 柿果の炭酸ガス脱渋に関する二, 三の試験. 園学雑. 5:28-33.

緒方邦安編. 1977. 青果保蔵汎論. pp.79-89. 健帛社. 東京.

Oshida, M., K. Yonemori and A. Sugiura. 1996. On the nature of coagulated tannins in astringent-type persimmon fruit after an artificial treatment of astringency removal. Postharvest Biol. Technol. 8:317-327.

Ozawa, T., T. H Lilley and E. Haslam. 1987. Polyphenol interactions: astringency and the loss of astringency in ripening fruit.

- Phytochemistry 26:2937-2942.
- Pesis, E. and R. Ben-Arie. 1984. Involvement of acetaldehyde and ethanol accumulation during induced deastringency of persimmon fruits. J. Food Sci. 49:896-899.
- Pesis, E. and R. Ben-Arie. 1986. Carbon dioxide assimilation during postharvest removal of astringency from persimmon fruit. Physiol. Plant. 67:644-648.
- Redgwell, R. J., E. MacRae, I. Hallet, M. Fischer, J. Perry and R. Harker. 1997. In vivo and in vitro swelling of cell walls during fruit ripening. Planta 203:162-173.
- 坂本壽夫. 1941. 酒精による柿の脱渋法について. 農業および園芸. 16:707-712.
- SAS Institute, 1988. SAS/STAT user's guide, release 6.03 edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- 下村正彦・田尾龍太郎・杉浦 明. 1988. カキの脱渋性に関する研究. 種子のエタノール, アセトアルデヒド含量とアルコール脱水素酵素活性との関係について. 園学要旨. 昭63秋:170-171.
- 傍島善次. 1980. 柿と人生. 明玄書房. 東京.
- Spencer, C. M., Y. Cai, R. Martin, S. H. Gaffney, P. N. Goulding, D. Magnolato, T. H. Lilley and E. Haslam. 1988. Polyphenol complexation: some thoughts and observations. Phytochemistry. 27: 2379-2409.
- 杉浦 明. 1984. カキの起源と品種分化. 日本育種学会編. 育種学最近の進歩第25集 p.30-37. 養賢堂. 東京.
- 杉浦 明・原田 久・苫名 孝. 1975. カキ果実の脱渋性に関する研究. (第1報) エタノール処理による樹上脱渋(その1). 園学雑. 44:265-272.

- 杉浦 明・原田 久・苫名 孝. 1977. カキ果実の脱渋性に関する研究. (第2報) エタノール処理による樹上脱渋(その2). 園学雑. 46:303-309.
- 杉浦 明・米森敬三・原田 久・苫名 孝. 1979. カキ果実のエタノールおよびアセトアルデヒド含量の消長と自然脱渋との関係について. 園芸学研究集録. 9:41-47.
- Sugiura, A. and T. Tomana. 1983. Relationships of ethanol production by seeds of different types of Japanese persimmon and their tannin content. HortScience. 8:319-321.
- Taira, S. 1996. Astringency in persimmon. In: H. F. Linskens and J. F. Jackson (eds.). Modern methods of plant analysis. Vol. 18. Fruit analysis. Springer-Verlag, Berlin, pp.97-110.
- 平 智・阿部喜至夫・大井欣也・渡部俊三. 1990b. 果実の大きさ, 摘葉処理, ジベレリン散布及び産地の違いがカキ‘平核無’果実の脱渋性に及ぼす影響. 園学雑. 59:299-305.
- 平 智・石垣 仁・渡部俊三. 1988a. カキ‘平核無’果実におけるはく皮乾燥中の化学成分及び果肉組織の変化. 山形大学紀要(農学). 10:613-620.
- 平 智・板村裕之. 1989. 山形県庄内地方における最近5年間のカキ‘平核無’果実の発育及び成熟の様相について. 山形大学紀要(農学). 10:903-910.
- 平 智・板村裕之・阿部喜至夫・大井欣也・渡部俊三. 1990a. カキ‘平核無’果実の脱渋性に及ぼす熟度の影響. 園学雑. 58:813-818.
- Taira, S., H. Itamura, K. Abe and S. Watanabe. 1989. Comparison of the characteristics of removal of astringency in two Japanese persimmon cultivars, ‘Denkuro’ and ‘Hiratanenashi’. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 58:319-325.
- 平 智・木村由美・渡部俊三. 1988b. カキ‘平核無’果実のはく皮乾燥脱渋に及ぼす果実熟度の影響. 日食工誌. 35:528-533.

- 平 智・松本尚子. 1997. アセトアルデヒド処理の強さと不溶化した渋ガキタンニンの性質との関係. 園学雑. 66(別2):722-723.
- 平 智・松本尚子・小野未来. 1998. 甘ガキおよび渋ガキ果実の発育過程におけるタンニンの蓄積と不溶化. 園学雑. 67:572-576.
- 平 智・松本尚子・小野未来. 1999. 数種の脱渋処理によって不溶化した渋ガキタンニンの可溶化の難易. 園学雑. 68: 83-88 .
- Taira, S. and M. Ono. 1997. Reduction of astringency in persimmon caused by adhesion of tannins to cell wall fragments. Acta Hortic. 436: 235-241.
- Taira, S., M. Ono and M. Otsuki. 1998. Effects of freezing rate on astringency reduction in persimmon during and after thawing. Postharvest Biol. Technol. 14:317-324.
- Taira, S., M. Ono and N. Matsumoto. 1997. Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. Postharvest Biol. Technol. 12:265-271.
- Taira, S., I. Satoh and S. Watanabe. 1992. Relationship between differences in the ease of removal of astringency among fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) and their ability to accumulate ethanol and acetaldehyde. J. Japan. Hort. Sci. 60:1003-1009.
- 平 智・渡部俊三. 1995. カキ‘平核無’果実の凍結および解凍にともなう可溶性タンニンの変化. 山形大学紀要(農学). 12:119-123.
- Tanaka, T., R. Takahashi, I. Kouno and G. Nonaka. 1994. Chemical evidence for the de-astringency (insolubilization of tannins) of persimmon fruit. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1:3013-3022.
- 樽谷隆之. 1965. カキ果実の貯蔵に関する研究. 香川大学農学部紀要. 19:1-51 .

苫名 孝. 1977. 果実の生理－生産と利用の基礎－. pp.97-121. 養賢堂. 東京.

苫名 孝・山田 寿. 1988. 栽培地を異にしたリンゴ果実の品質と気温との関係. 園学雑. 56:391-397.

渡部俊三・星 光興. 1981. カキ‘平核無’の生育と結果に関する研究. (2) がくに関する組織学的観察. 山形大学紀要(農学). 8:665-681.

Woolf, A. B., E. A. MacRae, K. J. Spooner and J. Redgwell. 1997. Changes to physical properties of the cell wall and polyuronides in response to heat treatment of ‘Fuyu’ persimmon that alleviate chilling injury. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122:698-702.

山田昌彦. 1996. カキ. 日本人が作り出した動植物企画委員会編. 日本人が作り出した動植物－品種改良物語. p.227-233. 裳華房. 東京.

米森敬三. 1986. カキ果実の脱渋性に関する研究. とくに甘ガキの自然脱渋について. 三重大学農学報. 72:1-62.

米森敬三. 1989. 甘ガキの樹上での自然脱渋機構. 園学シンポ要旨. 平元秋:109-118.

Yonemori, K., K. Hirano and A. Sugiura. 1995a. Growth inhibition of persimmon fruit caused by calyx lobe removal and possible involvement of endogenous hormones. Sci. Hortic. 61:37-45.

Yonemori, K., A. Itai, R. Nakano and A. Sugiura. 1996. Role of calyx lobes in gas exchange and development of persimmon fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121:676-679.

Yonemori, K., M. Oshida, F. Fukuda and A. Sugiura. 1995b. Development of micropipette method for collecting vacuolar contents from intact tannin cells in persimmon (*Diospyros kaki*) fruit and preliminary analysis of its constituents. HortScience 30:886.