

信州大学審査学位論文

リンゴ品種別の加工適性および

マイコトキシン汚染リスクの

低減化に関する研究

2015年3月

竹内 正彦

目 次

第 1 章 緒 言	1
第 2 章 リンゴにおけるパツリン産生菌の加害の広がり とパツリン蓄積量の検討	
第 1 節 緒 言	4
第 2 節 試験方法	4
第 3 節 結果および考察	7
第 4 節 結 論	10
第 2 章の写真、図および表	12
第 3 章 品種別のリンゴのパツリン蓄積量と果実成分 および貯蔵期間の影響の検討	
第 1 節 緒 言	21
第 2 節 試験方法	22
第 3 節 結果および考察	27
第 4 節 結 論	31
第 3 章の図および表	32
第 4 章 加工処理によるパツリンの低減化 および品種別のリンゴの加工適性試験	
第 1 節 緒 言	41
第 2 節 試験方法	42
第 3 節 結果および考察	45
第 4 節 結 論	50
第 4 章の写真、図および表	51
第 5 章 結 論	63
引用文献	66
謝 辞	71

第 1 章 緒 言

リンゴはバラ科に属する高木性落葉果樹である（学名：*Malus pumila* Miller）。原生はヨーロッパ、アジア、北アメリカの三つの大陸に分布しており、現在、各国で栽培されている基本種は、ヨーロッパ東南部およびアジア西部に原生分布していた種と考えられている(1)。リンゴは世界各国で生産されており、2013年の生産量は約7000万トンであり、世界の主要果実生産量の中でバナナに次ぐ生産量である(2)。我が国におけるリンゴの生産は、中部から北日本の比較的冷涼な気候の地域に多く、2013年では結果樹面積は3万7200ha、収穫量74万1700トン（出荷量66万トン）と、世界14位の生産量があり、大きな産業となっている(2)。都道府県別の生産量をみると、青森県が全体の58%を占め、次いで長野県が18%と、この2県で生産量全体の7~8割程度を占めている(3)。長野県での品種構成を見てみると、‘ふじ’が57%と大半を占め、次いで‘つがる’の20%、そして新たに基幹品種に加わり「りんご三兄弟」と呼称される長野県オリジナル品種‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’の生産量は2011年に13%に達している。長野県オリジナル品種の生産量は確実に増加しており、2003年から2011年までの8年間に、‘秋映’は3.3倍、‘シナノスイート’は3.8倍、‘シナノゴールド’は4.5倍となっている(4)。

生産されたリンゴの多くは生食用として市場に流通するが、生食用以外に、生産量の1~2割が加工用に使われている。加工用の用途を見てみると、うち9割が混濁果汁用として使われている(3)。加工用原料は、生食用リンゴの生産量に影響されるため、現在は‘ふじ’、‘つがる’が中心となっている。しかし、‘ふじ’や‘つがる’は、生食用としては優れているが、混濁果汁用原料としては酸味不足等が指摘されている(5)。また、これらに限らず、リンゴの品種別特性、加工適性や混濁果汁の高品質化に関する報告もされ(5-7)、著者らも品種により食味、風味（香気成分）、色調（褐変）に大きな品種間差があることを明らかにしている(8-10)。さらに長野県では、多様化する消

費者ニーズに対応するため、新たな品種の開発に積極的に取り組んでいる。新たな品種の普及に伴い加工用原料としての使用量も増加してきているが、それら品種の加工適性等は詳細には解析されていないのが現状である。

加工用リンゴの多くは、生食用の格外品であるため、その品質についても問題となることがある。加工用リンゴは、形状や着色不良等の外観不良が多いが、なかには虫による吸汁痕、風雨等による傷、あるいは病害の発生したリンゴが混入することもある。そのようなリンゴが原料に混入すると、加工に用いるまでの貯蔵中に腐敗果が発生する場合もある。特にその中でも注意しなければならないのは、パツリン汚染である。

パツリン(4-hydroxy-4H-furo(3,2c)pyran,2(6H)-one)は、*Penicillium expansum*、*P. griseofulvum*、*Aspergillus clavatas*、*Byssochlamys nivea*などが産生するマイコトキシン的一种である(11,12)。このうち *P. expansum* はリンゴの腐敗菌の一つであり、リンゴ加工品でのパツリン汚染の主な原因菌となっている。パツリンはリンゴジュースのような酸性条件下では安定で、リンゴジュースの加工工程で用いられる殺菌温度(95℃達温)ではあまり分解しないため(13)、一旦、ジュース中に混入してしまうと除去することは困難である。その毒性としては、消化管の充血や出血(14)、変異原性(15)、DNA損傷(16)などが報告されている。パツリンの規制に関して、Codex委員会ではリンゴ加工製品においてパツリンの量が50 µg/kg以下となることを推奨しており(17)、日本ではリンゴジュースおよび原料用リンゴ果汁で50 ppbに規制されている(18)。このため、リンゴ加工の現場においては、腐敗果を監視し、その混入を防止する必要がある。

これらの課題を解決するため、本研究では、*P. expansum* の加害状況およびパツリン汚染(蓄積)をリンゴの品種別に調査し、さらに品種間差とともに、果実成分や物性の影響について検討を行った。また、新たに長野県におけるリンゴの基幹品種に加わり、今後生産量の更なる増加が予測される、‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノ

ゴールド’で、リンゴの加工製品の大半を占める混濁果汁への加工適性について検討した。

これらの研究を通じ、パツリン汚染のない安心、安全で高品質なリンゴ混濁果汁を提供することで、長野県の主力果樹であるリンゴの消費拡大、果樹産業の発展に資することができればと考えた。

第2章 リンゴにおけるパツリン産生菌の加害の広がりと パツリン蓄積量の検討

第1節 緒言

パツリン(4-hydroxy-4H-furo(3,2c)pyran,2(6H)-one)は、*P. expansum*、*P. griseofulvum*、*A. clavatas*、*B. nivea*などが産生するマイコトキシンの一種である(1,2)。このうち*P. expansum*はリンゴの腐敗菌の一つであるため、リンゴ加工品でのパツリン汚染の主な原因菌となっている。我が国のリンゴの生産は生食用の栽培が中心であるが、生産量の1~2割は、生食用の格外品として加工用に使用されている。一方、加工用に使用される原料リンゴは、生食用としては商品価値が低く、形状や着色不良の果実、未熟果、傷果が多く含まれている。また大規模搾汁工場では、一定量の原料が溜まるまで貯蔵されることや、あるいは加工期間が数ヶ月におよぶことより、貯蔵における微生物汚染の進行のリスクが高くなる。パツリン汚染リスクの低減化には、原料の品質、収穫、貯蔵、製造までの間の品質、貯蔵管理が重要である。しかしながら、原料の収穫後から加工までの間に、*P. expansum*がリンゴをどのように加害し、パツリンをどの程度産生するかはまだ不明な点が非常に多い。そこで、リンゴ加工製品におけるパツリン汚染の予防や低減化を目指し、パツリン産生菌をリンゴに接種し、加害の広がりやパツリン蓄積量および貯蔵条件別の影響について、リンゴの品種、熟度および貯蔵条件別に検討した。

第2節 試験方法

2.2.1 供試リンゴと試薬

供試したリンゴは、各品種の生食用としての適熟期に収穫した無傷のリンゴを用いた。用いた品種とその収穫年、収穫時期は、早生

種（‘祝’：2010年、8月上旬、‘つがる’：2010年9月上旬）、中生種（‘秋映’：2010年10月上旬、‘シナノゴールド’：2010年10月中旬）、晩生種（‘ふじ’：2010年10月上旬）で、各品種のリンゴは‘祝’が共和園芸農業協同組合管内（長野市）産、‘シナノゴールド’および‘秋映’は須高農業協同組合管内（須坂市）産、‘つがる’および‘ふじ’は信州大学農学部圃場（上伊那郡南箕輪村）産を用いた。未熟果は、各品種のリンゴの適熟期より10日程度前に収穫したものとした。

パツリン標品(100.8 µg/mL in acetonitrile)は、Biopure Chemicals社製（Tulln, Austria）を、その他の試薬は関東化学株式会社製（東京）を使用した。

2.2.2 *P. expansum* の植菌方法

リンゴへのパツリン産生菌の植菌は、坂東らの方法(3)により、*P. expansum* NRRL6069 を使用して行った。スラント培地に培養した *P. expansum* の表面から胞子を白金耳に付着させ、0.5% Tween 20 水溶液に懸濁し、 10^6 CFU (Colony Forming Unit) 程度の胞子懸濁液を調製した。リンゴは植菌前に消毒用アルコールを吹きかけ、リンゴ表面を殺菌した。胞子懸濁液に有柄針の先端を数 mm 浸したものを、果皮下約 2 mm まで刺し植菌した。アルミホイルでリンゴ全体を軽く包んだ後、インキュベーター内で 5 °C または 20 °C で培養した。培養終了後、リンゴの全重量、パツリン産生菌による加害径を測定した。

2.2.3 パツリンの分析

パツリンの分析は AOAC Official Method 995.10 (4) を一部改変した坂東らの方法(3)により行った。その概要は以下の通りである。試料 5 g を試験管に量りとり、10 mL の酢酸エチルを加え、1 分間

激しく振とうした。静置後、酢酸エチル層を別の試験管に移し、水層に 10 mL の酢酸エチルを加え、再度抽出した。得られた抽出液を合わせ、1.5 % 炭酸ナトリウム水溶液を 2 mL 加え、15 秒間激しく振とうした。静置後、下層（水層）を別の試験管に移し、5 mL の酢酸エチルを加え 5 秒間激しく振とうし、静置後、酢酸エチル層（上層）を取り、先に得られた酢酸エチル層と合わせた。そこへ無水硫酸ナトリウムを約 1 g 加えて脱水した。あらかじめ約 2 mL の 2 % 酢酸／酢酸エチル溶液を入れた 100 mL 容ナスフラスコに、脱水した酢酸エチル層を移し、ロータリーエバポレーターを用い 2 mL 程度まで濃縮した。得られた濃縮液を 8 mL 容バイアルに移し、窒素気流下、40 °C で乾固した。乾固物に 0.5 mL の pH 4.0 酢酸水を加え溶解し、溶液を 0.45 µm のシリンジフィルターに通し、HPLC 用試料とした。試料は HPLC による分析まで、-20°C で保存した。

HPLC 分析は、移動相流量：1.0 mL/min、移動相：水：アセトニトリル = 19:1(v/v)、カラム（Synergi 4µ Hydro-RP 80A、4.6 mm id × 250 mm、phenomenex（CA, USA））、ガードカラム（Security Guard Cartridges AQ C18、3.0 mm id × 4.0 mm、phenomenex）、カラムオープン温度：40 °C、紫外吸光検出器：276 nm、サンプル注入量：20 µL で行った。

2.2.4 産生菌による加害程度とパツリン蓄積量の検討

P. expansum によるリンゴの品種別および貯蔵温度別の加害の広がりについての試験は、リンゴに *P. expansum* を植菌後、5、20 °C で貯蔵し、経時的に加害部（円形）の直径を計測し、その広がり速度（mm/day）を算出した。

品種別および熟度別のリンゴのパツリンの蓄積量は、*P. expansum* 接種後、20 °C に設定したインキュベーター内で培養し、加害の広がり一定（加害径：直径 20 mm）になるまで培養した。培養後のリンゴをアップルカッターにて 6 分割し、加害部を含む分割部を搾汁

し、パツリン量を測定した。

2.2.5 菌接種後の貯蔵温度別の加害の広がりとおツリン蓄積

産生菌を接種した後の貯蔵温度および期間による、菌の加害及びパツリン蓄積量への影響について検討を行った。供試品種は生産量の最も多い‘ふじ’を使用した。試料に *P. expansum* を接種後、20 °C、5 °C、2.5 °C、1 °C、-0.5 °C、-1 °C、-2.5 °C、-5 °C に貯蔵し、経時的に加害径を測定した。パツリン蓄積量は、20 °C は 8 日目、5 °C と 2.5 °C は 60 日目、1 °C と -1 °C は 63 日目、-0.5 °C は 83 日目に、果実全体を搾汁し、果汁中のパツリン量を測定した。各測定にはリンゴを 4 個使用し、その平均値で示した。-2.5 °C と -5 °C 試験区では、貯蔵中に凍結したため、試験を中止した。

2.2.6 菌接種前のリンゴ貯蔵期間のパツリン蓄積に対する影響

リンゴを収穫後一定期間貯蔵し、貯蔵後に産生菌を接種し、貯蔵中の硬度や糖度の変化とそのパツリン蓄積量への影響を検討した。供試品種は‘ふじ’を使用し、収穫後 5 °C に貯蔵し、収穫直後、1、2、3、5 ヶ月間貯蔵後のそれぞれのリンゴにパツリン産生菌を接種し、10 °C で 12 日間培養後、本章 2.2 の方法でパツリン蓄積量を、硬度は硬度計（FB10K、IMADA、豊田）を用いて、糖度は糖度計（IPR-101α、AZONE、大阪）を用いて測定した。貯蔵期間ごとに 6 個を使用した。

第 3 節 結果および考察

2.3.1 *P. expansum* 接種による加害の広がり

リンゴに *P. expansum* を植菌し、その加害径の広がりを、‘ふじ’、

‘つがる’および‘シナノゴールド’で検討した結果を図 2-1 に示した。5 °C および 20 °C 貯蔵中の加害部の広がり速度 (mm/day) をみると、5 °C では ‘シナノゴールド’、‘つがる’、‘ふじ’ の順で 1.55、1.54、1.46 mm/day でほぼ同じ速度であったのに対し、20 °C 貯蔵では、‘ふじ’、‘つがる’、‘シナノゴールド’の順に 7.19、5.24、4.42 mm/day と汚染速度は速くなり、5 °C の 3~5 倍の速度で汚染が広がるとともに、品種間での差が大きくなることが確認された(表 2-1)。また 20 °C 貯蔵では、‘つがる’、‘シナノゴールド’では、植菌後、速やかに汚染が広がる傾向に有ったのに対し、‘ふじ’は 20 °C 貯蔵でも加害が一定期間抑制され、加害が開始されると、急速に汚染が広がることを確認された(写真 2-1)。また、5 °C では、‘つがる’が 5 日後(図 2-2B)、‘ふじ’(図 2-2A)、‘シナノゴールド’(図 2-2C)は 10 日過ぎてから汚染の広がりが見られた。このように、低温管理により、*P. expansum* の加害を一定期間抑制できることが示され、加工原料の貯蔵には低温管理が重要であることが明らかにされた。暖かい時期に原料を野積みした場合には、写真 2-2 のような腐敗果の発生がみられる。収穫時期が暖かい早生種の ‘つがる’では、特に原料の保管条件には注意が必要である。

2.3.2 加害程度とパツリン蓄積量

P. expansum 接種後 20 °C 貯蔵の品種、熟度別のパツリン蓄積量を表 2-2 に示した。加害の直径が 20 mm に達するのに、‘シナノゴールド’および‘ふじ’では 5 日間、‘秋映’(適熟)、『祝’(適熟)では 6 日間を要した。‘つがる’は未熟では 6 日かかったが、適熟では 5 日間と、熟度により加害の広がる速度に差が生じた。‘秋映’のパツリン蓄積量は、‘祝’(適熟)、『つがる’(未熟)と比較し、有意 ($p < 0.01$) に低い値であった。‘ふじ’(適熟)は ‘つがる’(適熟)に対しパツリン蓄積量は有意に少なかった。早生種、中生種および晩生種でパツリン蓄積量を比較すると、早生種に比べ

晩生種で少ない傾向を示した。‘ふじ’では、その熟度によつての有意な差はなかつた。

同じ培養期間、加害の大きさが同じでも、品種によりパツリン蓄積量が異なり、リンゴの品種により加害の進行やパツリンの蓄積量が異なることが明らかになつた。特に他の品種よりパツリン蓄積量が多かつた早生種の‘つがる’は、加工までの貯蔵期間、貯蔵条件には十分に注意する必要がある。

2.3.2 菌接種後の貯蔵温度と加害およびパツリン蓄積

P. expansum 接種後の温度条件別に貯蔵試験を実施し、貯蔵温度と加害、パツリン蓄積量の関係を検討した。その結果を写真 2-3 および表 2-3 に示した。リンゴでの加害およびパツリン産生を完全に制御するには 0 °C 以下の貯蔵条件が必要であることが確認された(表 2-3)。しかし、-2.5 °C 以下では凍結が見られ、解凍時の離水問題、褐変、食感のスポンジ化等の品質劣化により、商品価値は著しく低下することも確認された。これらの結果から貯蔵温度は -1 °C が最も好ましい温度帯であつた。また一旦、産生菌の繁殖が開始されると貯蔵温度が 1 °C でも加害は進行しパツリンは蓄積した。20 °C と 5 °C 貯蔵を比較すると、20 °C の加害速度は 5 °C の 3~5 倍と両者には大きな差が生じ、5 °C 以下の温度帯は、5、2.5、1 °C で、加害が開始するまでの期間に差があつたが、一旦加害が開始されてしまうと、3 温度区の間加害速度は同程度に推移し、加害が広がることが確認された(図 2-1)。5 °C 以下の低温管理は産生菌の加害防止には有効であるが、一度加害が発生すると 5 °C と同等で加害が進むため、貯蔵期間には十分な注意が必要である。

2.3.4 菌接種前貯蔵期間の加害およびパツリン蓄積量への影響

‘ふじ’を用い、冷蔵(5 °C)における貯蔵期間別の原料に産生

菌を接種した場合の硬度、糖度およびパツリン蓄積量を表 2-4 に示した。パツリン蓄積量は、貯蔵 2 ヶ月目のリンゴと 3 ヶ月目のリンゴの間には、5 %水準で有意な差が見られたが、貯蔵期間がそれ以上長くなっても大きな変化が見られなかった。硬度及び糖度は貯蔵期間が長くなると低くなる傾向が見られた。このことより原料の貯蔵後のパツリン蓄積は、収穫直後と同等であった。このことは加害前の原料の貯蔵期間は、その後のパツリン蓄積量には影響を与えないことが示唆された。

第 4 節 結論

低温（5 °C）貯蔵において、‘つがる’が 5 日後、‘ふじ’、‘シナノゴールド’は 10 日過ぎから産生菌による加害の広がりが見られたことより、低温管理は、*P. expansum* の加害を一定期間抑制できることが示され、品種により抑制期間に差があるが、低温貯蔵管理の重要性が示唆された。5 °C では加害速度は品種間の差は確認できなかったが、20 °C 貯蔵では 5 °C の 3~5 倍と速くなり、品種間差も確認され、生産量の最も多い‘ふじ’は加害速度が速いことを確認した。

培養期間、加害の大きさが同じでも、品種によりパツリン蓄積量が異なり、リンゴの品種により、加害の進行やパツリンの蓄積量は異なることが明らかになった。また通常の冷蔵管理（5 °C）では *P. expansum* の加害を完全に制御することは困難であった。

低温管理は非常に重要であるが、-2.5 °C 以下では凍結してしまい、解凍時の品質劣化より、実用的ではなかった。5 °C 以下では、加害開始までの期間が延びることを確認できたが、一度加害が発生すると 5 °C と同等の速度で加害は広がり、産生菌の加害の制御およびパツリン汚染の低減化には低温管理は非常に重要であるとともに、低温貯蔵の温度帯と貯蔵期間には十分な注意が必要であることが示された。

品種別に産生菌の加害およびパツリン蓄積量が異なったことより、これらの品種間差はリンゴ果実中の成分の差が影響していると考えられた。このことから次章では、リンゴ果実成分とパツリン蓄積量の関係について検討を行った。

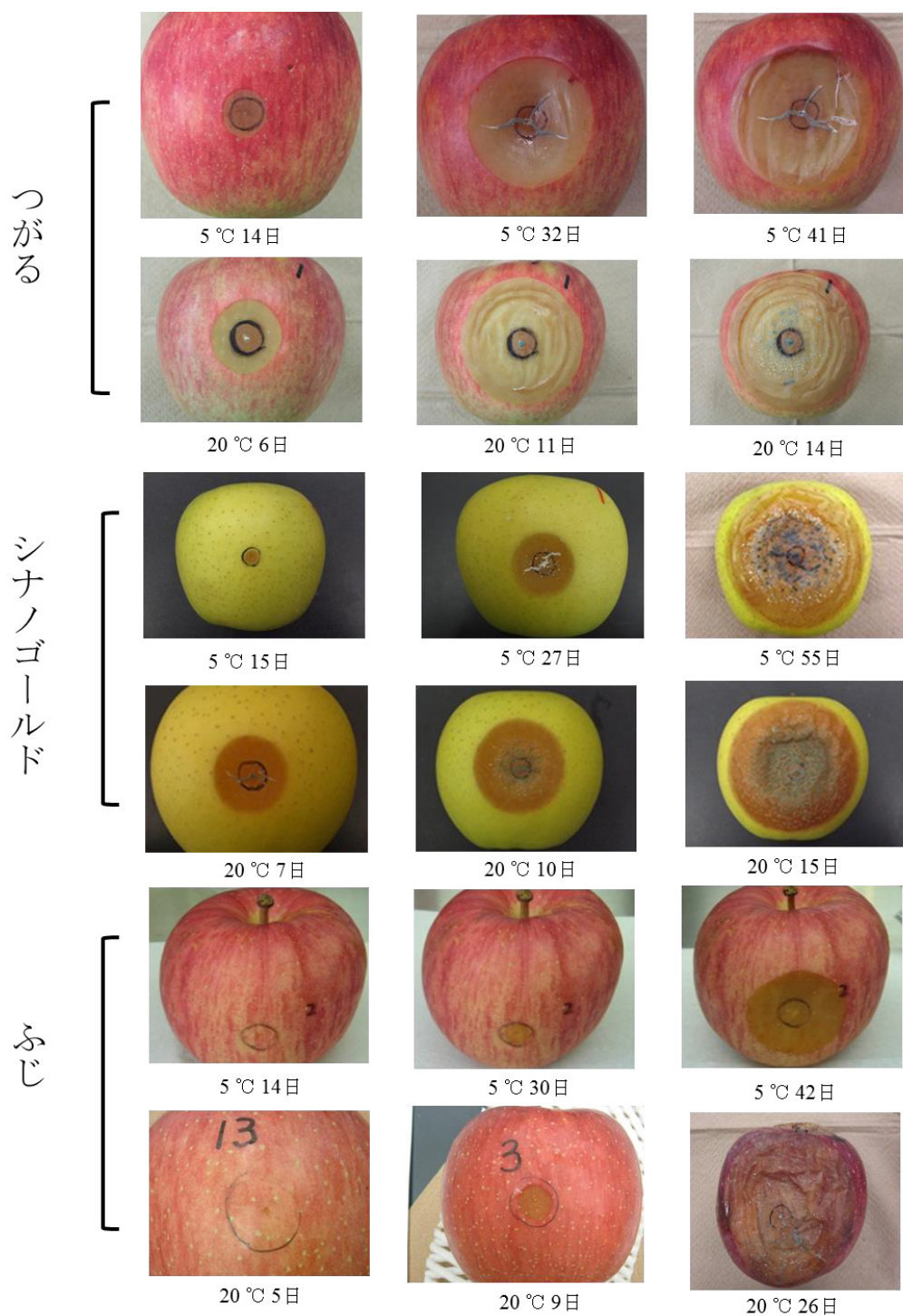


写真 2-1 品種、温度別の加害径の経時変化

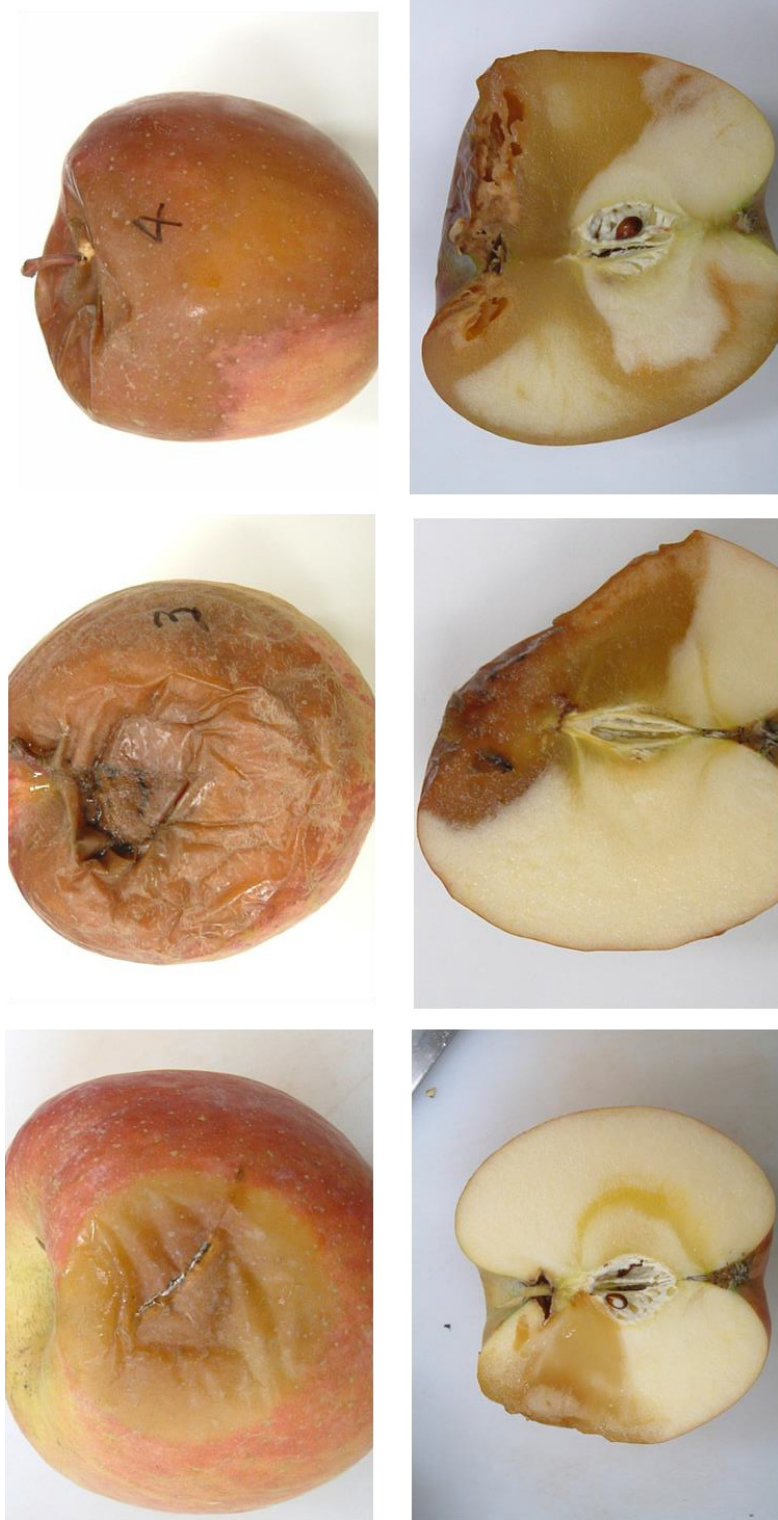


写真 2-2 果汁製造工場で原料の段階で除去された汚染果

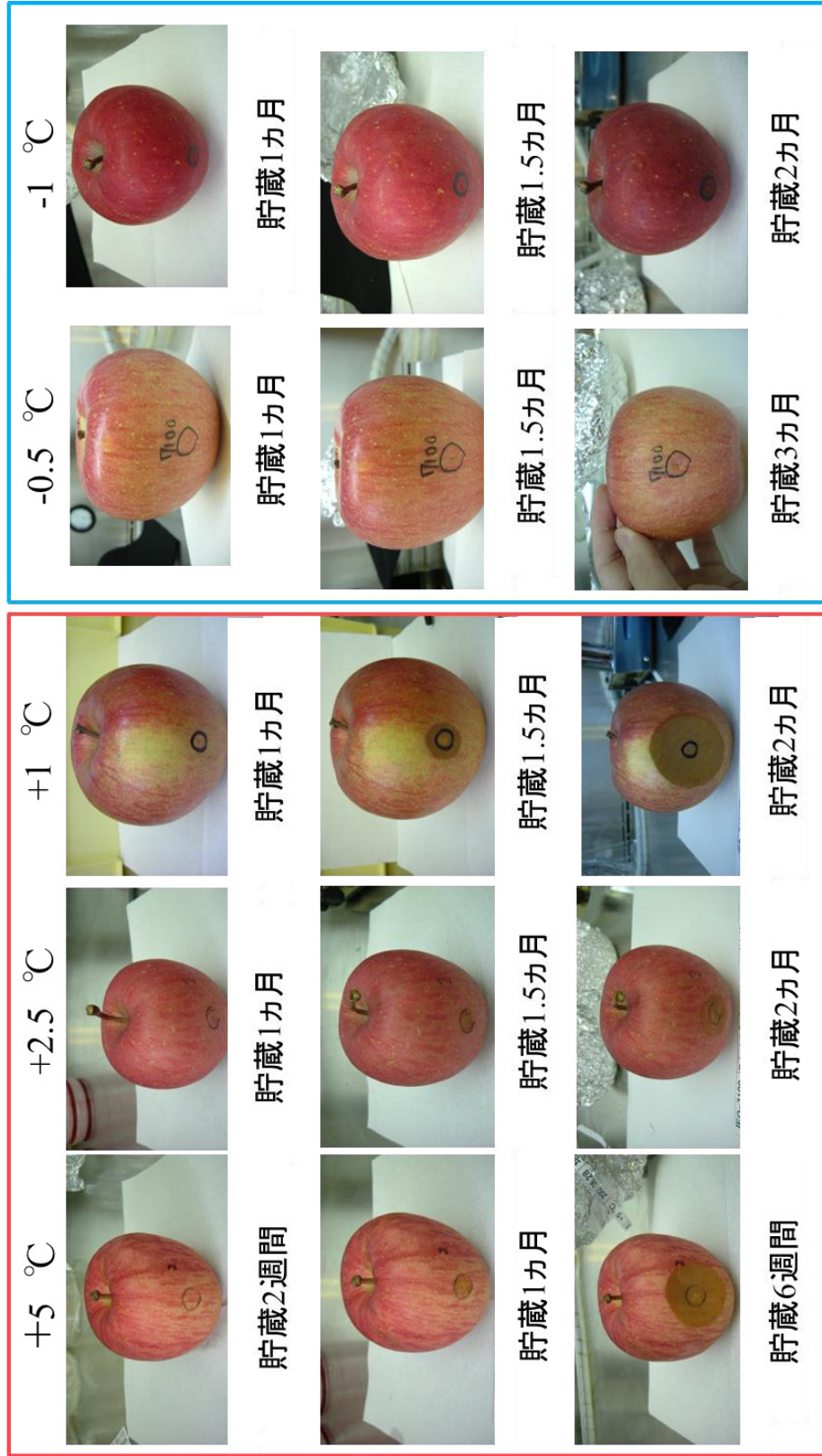


写真 2-3 温度別の加害の加害径の経時変化

品種：ふじ

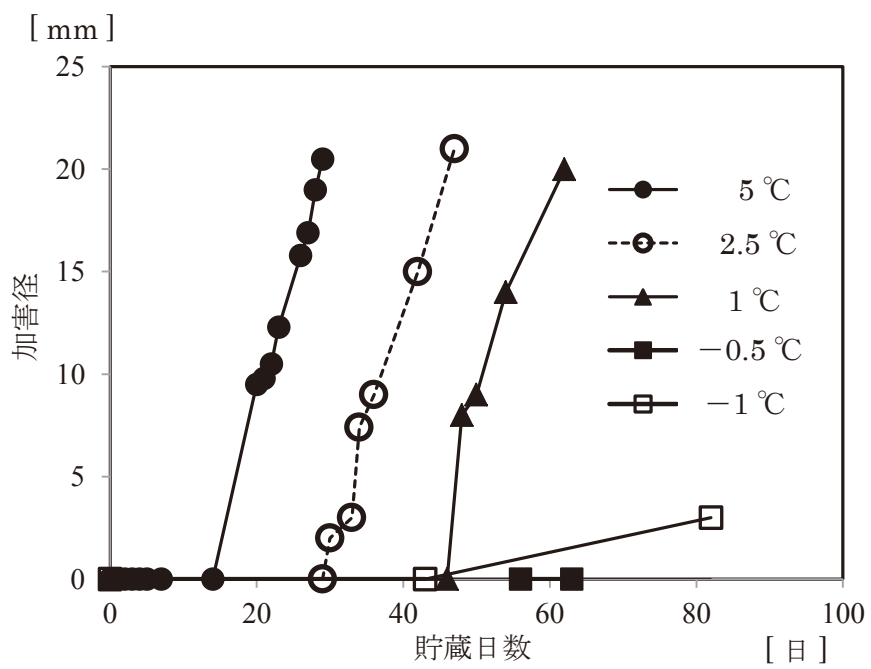


図 2-1 産生菌接種後の貯蔵温度別の加害径の経時変化

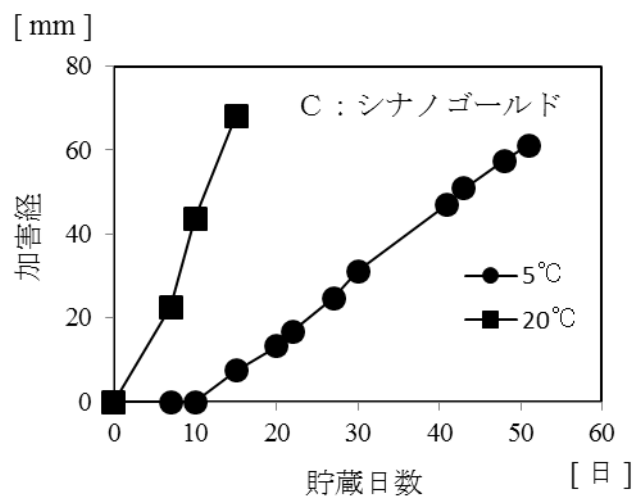
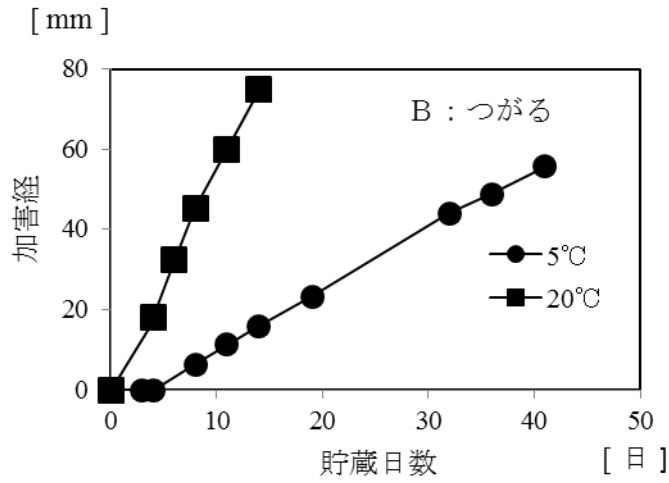
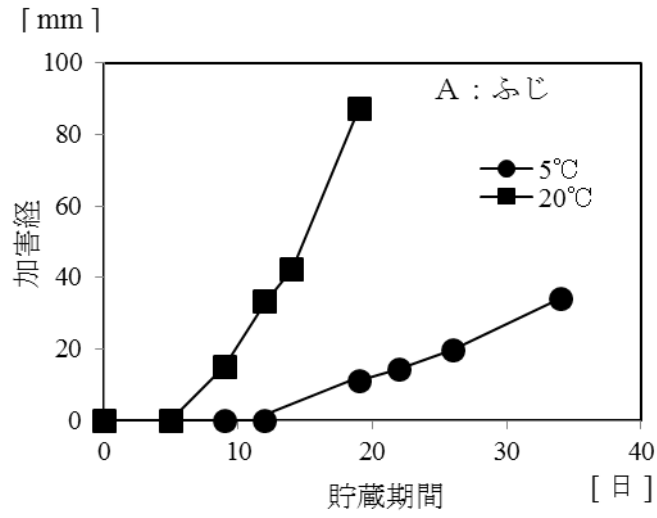


図 2-2 温度別の加害径の経時変化

表 2-1 品種別、貯蔵温度別の加害の広がり速度

品 種	5℃貯蔵区	20℃貯蔵区
つがる	1.54	5.24
シナノゴールド	1.55	4.42
ふじ	1.46	7.19

[mm/day]

表 2-2 品種、熟度別のリンゴのパツリン蓄

品種	熟度	培養日数* [日]	パツリン蓄積量 [μg/kg]	標準偏差 (μ/kg n=15)
祝	(適熟)	6	4700	5070
つがる	(未熟**)	6	7700	7117
つがる	(適熟)	5	2800	3339
秋映	(適熟)	6	330	824
シナノゴールド	(適熟)	5	760	490
ふじ	(未熟**)	5	850	1108
ふじ	(適熟)	5	530	522

*加害が20mmに達するまでの日数

**生食用適熟期の10日前に収穫したもの

表 2-3 産生菌接種後の貯蔵温度

貯蔵温度 [°C]	20	5	2.5	1	-0.5	-1	-2.5	-5
貯蔵期間 [日]	8	60	60	63	83	63	*b	*b
加害径 [mm]	61	70	55	23	4	2	凍結	凍結
パツリン蓄積量 [µg/kg]**a	900	1300	350	300	N.D.	N.D.	*c	*c

*a: 4個の平均値

*b: 凍結したため試験中止

*c: 凍結したため試験中止

N.D.: Not Detected (0.5µg/kg以下)

表 2-4 産生菌接種前の貯蔵期間とパツリン蓄積量、
硬度および糖度

貯蔵期間	平均値±標準偏差 (n=6)		
	パツリン蓄積量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	硬 度 (kg/cm^2)	糖 度
なし	86 ± 96	4.2 ± 0.22	16 ± 1.2
1ヵ月	83 ± 120	4.0 ± 0.38	15 ± 0.4
2ヵ月	180 ± 79	3.7 ± 0.62	15 ± 0.9
3ヵ月	70 ± 56	4.0 ± 0.31	16 ± 0.9
5ヵ月	100 ± 150	2.2 ± 0.75	15 ± 0.9

接種後、10℃で12日間培養し、パツリン蓄積量を測定した。

パツリン蓄積量：貯蔵2ヵ月目と3ヵ月目の間には、
5%水準で有意な差が確認された。

硬度：貯蔵5ヵ月目では、他試験区の硬度と比較し、
5%水準で有意に低かった。

糖度：貯蔵5ヵ月目では、スタート時の硬度と比較し、
5%水準で有意に低かった。

第3章 品種別のリンゴのパツリン蓄積量と果実成分および 貯蔵期間の影響の検討

第1節 緒言

これまでの検討でリンゴの品種により *P. expansum* の加害におけるパツリン蓄積量に違いが認められた。しかし、その要因については明らかになっていない。リンゴは品種によって、収穫時期だけでなく、味や成分の量、果肉の硬さなどが異なり、それがパツリン蓄積量の違いを生んでいる可能性がある。渡辺ら(1)は日本の主要なリンゴ5品種(‘つがる’、‘さんさ’、‘ジョナゴールド’、‘王林’および‘ふじ’)について、*P. expansum* のパツリン産生に及ぼす果実成分(総ポリフェノール量、糖、有機酸及び遊離アミノ酸)の影響を検討し、パツリン産生量と総ポリフェノール量とリンゴ酸では相関が認められ、全遊離アミノ酸量との間には負の相関が有ると報告している。熟度により果実成分も異なり、濱渦ら(2)は、‘つがる’と‘ふじ’でリンゴのポリフェノール中の主要成分であるクロロゲン酸量に差があることを報告している。‘つがる’は比較的パツリン蓄積量が多く、‘ふじ’は比較的少ないことから、クロロゲン酸とパツリン蓄積の関係も疑われる。さらに、リンゴの硬さや加工製品の物性に影響を及ぼしているペクチンについても、リンゴ果肉の物性に影響を与えている成分としてパツリン蓄積量との関係が疑われる。

一方、近年、消費者の食に対する志向の多様化により、長野県で生産されるリンゴの品種構成においても大きな変化が見られ、従来からの主要品種である‘ふじ’、‘つがる’に、長野県オリジナル品種(‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’)が加わっている。これら新たな品種はその生産量の増加とともに加工用原料としての使用量も増加している。

本研究では、パツリン蓄積量とリンゴ果実の各種成分・特性との関係をより幅広い品種について検討し、リンゴの果実成分とパツリン

蓄積量との関係を解析し、リンゴ加工製品へのパツリン汚染対策および今後の育種の方向性に有用となる情報を得ることを目的に検討を行った。

第 2 節 試験方法

3.2.1 供試リンゴ

供試リンゴは、各品種の生食用としての適熟期に収穫された無傷のリンゴを用いた。品種とその収穫年、時期は、早生種（‘祝’：2011、2012年8月上旬、‘つがる’：2010、2011、2012年9月上旬）、中生種（‘秋映’：2011、2012年10月上旬、‘千秋’：2011年10月上旬、‘紅玉’：2012年10月上旬、‘シナノスイート’：2010、2011年10月上旬、‘シナノゴールド’：2010、2011年10月中旬）、晩生種（‘王林’：2012年10月中旬、‘印度’：2011、2012年10月下旬、‘ふじ’：2010、2011、2012年10月下旬）で、各品種の収穫場所は‘祝’が共和国芸農業協同組合管内（長野市）、‘千秋’、‘紅玉’、‘シナノゴールド’（2011年）および‘ふじ’（2011年）は須高農業協同組合管内（須坂市）、‘つがる’、‘秋映’、‘シナノスイート’、‘シナノゴールド’（2010年）、‘王林’、‘ふじ’（2010、2012年）及び‘印度’は信州大学農学部圃場（上伊那郡南箕輪村）である。収穫後は速やかにパツリン産生菌の接菌とそれに続く各成分の分析を行った。

3.2.2 使用試薬

パツリン標品（100.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in acetonitrile）は、Biopure Chemicals社製（Tulln、Austria）を使用し、クロロゲン酸、D-ガラクトツロン酸一水和物は ACROS社製（Geel、Belgium）を、L-アスパラギン一水和物は、和光純薬工業株式会社製（大阪）を用いた。その他の試薬は、

関東化学株式会社製(前出)を用いた。

3.2.3 *P. expansum*の植菌方法

リンゴへのパツリン産生菌の植菌は、2.2.2に記載した板東等(3)の方法で行い、接種後、アルミホイルでリンゴ全体を軽く包み、インキュベーター内で20℃で6日間培養した。培養終了後、各成分等の分析に供した。本試験では、各年および品種のリンゴを6個ずつ使用した。

3.2.4 分析項目および分析方法

3.2.4.1 試料の調製

パツリン産生菌を接種後、培養したリンゴは図3-1に示すように4分割し、接種部位を含む部位(A)をパツリン分析に用いた。部位Bを総ポリフェノール量、クロロゲン酸およびアスパラギン、アスパラギン酸の分析に、部位Cをペクチン分析に、部位Dを硬度、糖度、pHの測定に用いた。1回の試験には特に記載しない限り6個のリンゴを使用した。

3.2.4.2 パツリンの分析

パツリンの測定には植菌部位を含む部位(A)(図3-1)を用いた。まず試料重量を測定し、‘祝’と‘印度’以外の品種のリンゴは搾汁器で搾汁し、それをパツリン抽出用試料液とした。‘祝’と‘印度’は、試料に等重量の純水を加え、ブレンダー(16 Speed Blender、Oster、FL、USA)を用いて破砕(14500 rpm、50秒)した。破砕物を遠沈管に移し、15660 ×g、30分間、遠心分離した後、上清を全量、200 mL容三角フラスコに移し、オートクレーブで滅菌しそれをパツリン抽出用試料液とした。調製した抽出用試料は使用時まで-20℃で保存した。搾汁液中のパツリン分析は、2.2.3に記載したAOAC

Official Method 995.10(4)を一部改変した坂東らの方法(3)により行った。

3.2.4.3 総ポリフェノールおよびクロロゲン酸

総ポリフェノールの分析はCostengらの方法(5)を参考に行った。試料はパツリン産生菌を接種後、培養したリンゴの図3-1に示すように4分割した部位(B)を用いた。リンゴ果肉約20gと5℃に冷却したエタノール50mLを容器に取り、L-アスコルビン酸を約0.2g加え、氷水で冷却しながら15000rpm、10分間ホモジナイズした。その後、吸引濾過し、75%エタノールで洗浄、濾過を繰り返した。得られた抽出液をロータリーエバポレーターを用いて濃縮し、25mLに定容して総ポリフェノール分析用試料とした。総ポリフェノールは酒石酸鉄発色法(6)により定量し、検量線は没食子酸エチルを用いて作成した。

クロロゲン酸の抽出および分析は濱渦らの方法(2)により行った。試料は総ポリフェノール分析用試料液から石油エーテルによる液液分配抽出により色素を除去し、酢酸エチルで液液分配抽出を行い、クロロゲン酸を抽出し、その後、HPLCにより定量を行った。

HPLC分析の条件は、移動相流量：1.0 mL/min、移動相A：水：リン酸=1000:1(v/v)、移動相B：メタノール、グラジエントは、B=2%(0-9.8 min)、B=25%(9.8-17.5 min、直線)、B=35%(17.5-24.5 min、直線)、B=55%(24.5-26.6 直線)、B=55%(26.6-28 min、直線)、B=2%(38 min Stop)、カラム：Develosil ODS-UG-5: 4.6 mm id ×150 mm(野村化学、瀬戸)、カートリッジガードカラム：Develosil ODS-UG-5、4.0 mm id ×10 mm(野村化学)、カラムオーブン温度：40℃、紫外線吸光検出器：280 nm、サンプル注入量：10 μLとした。

3.2.4.4 ペクチン

リンゴ果肉中のペクチンの分析は文献(7)の方法を一部改変して行った。試料はパツリン産生菌を植菌、培養したリンゴを4分割し

た部位 (C) (図 3-1)を用いた。方法の概要は、リンゴ果肉 20 g を包丁で細断し、300 mL の平底フラスコに入れ、75 mL のエタノールを加えた。混合物をマントルヒーター (EUR-3、大科電器株式会社、東京)を用いて 15 分間還流抽出し、室温まで冷却した。その後、ホモジナイザー (エクセルオートホモジナイザー、ED-001、株式会社日本精機製作所製、東京)を用いて破碎 (15000 rpm、5 分間)し、ブフナーロートで吸引濾過を行った。残渣を 70 %エタノール、80 %エタノール、90 %エタノールおよび 99 %エタノールで洗浄した後、減圧乾燥した。得られた乾燥物のうち 50 mg を 300 mL の平底フラスコに取り、水 50 mL を加え、マントルヒーターを用いて、15 分間還流し、室温まで冷却した後、吸引濾過を行った。濾紙上の残渣を水で繰り返し洗浄し、濾液を 100 mL に希釈したものを水溶性ペクチン分析用溶液とし、-20 °C で保存した。次に濾紙上の残渣をかき取り、平底フラスコに移し 0.05 mol/L 塩酸 80 mL を加え、1 時間還流した後、室温まで冷却した。液を 0.05 mol/L 塩酸溶液で 100 mL に定容し、さらに濾過した濾液を塩酸可溶性ペクチン分析用溶液とし、-20 °C で保存した。

ペクチンの定量はジメチルフェノール (キシレノール) 法(8)により行った。ブランクは発色試薬の代わりに酢酸 0.2 mL を用いた。検量線は D-ガラクトツロン酸一水和物を用いて作成した。

3.2.4.5 アスパラギン酸およびアスパラギンの分析

アスパラギン酸およびアスパラギンの抽出には、前川ら(9)のエタノールによる抽出法を一部改変して用いた。試料は4分割したリンゴの部位 (B) (図 3-1) の部分を用いた。

総ポリフェノール測定用にも用いたエタノール抽出液を 10 mL 取り、ロータリーエバポレーターでエタノールを除去し、全量を 25 mL 容全量フラスコに移し、リチウム緩衝液 (pH 2.2) でメスアップし、シリンジフィルター (0.45 μm) で濾過して、HPLC用試料とした。HPLCによるアミノ酸分析は後藤らの方法(10)により、OPAでアミノ

酸を誘導体化し、その蛍光を検出することで行った。分析条件は、移動相流量：1.0 mL/min、移動相A：5 mmol/Lクエン酸緩衝液（pH 6.0）：アセトニトリル= 19：1（v/v）、移動相B：5 mmol/Lクエン酸緩衝液（pH 6.0）：アセトニトリル= 3：7（v/v）、遊離アミノ酸のOPA誘導体化条件は、遊離アミノ酸抽出液30 µL、OPA試薬300 µL、メルカプト試薬300 µLとした。アミノ酸の分離と検出は、B=5%(0-5 min、直線)、B=12%(5-20 min、直線)、B=22%(20-25 min、直線)、B=95%(25-30 min)、B=95%(30-30.01 min)の条件で、カラム：Develosil ODS-HG-5（4.6 mm id × 150 mm、野村化学）、ガードカラム：Develosil ODS-HG-5（4.0 mm id × 10 mm、野村化学）、カラムオープン温度：40 °C、蛍光検出器：励起波長：340 nm、蛍光波長：450 nmサンプル注入量：10 µLで行った。

3.2.4.6 硬度、糖度、pH

試料はパツリン産生菌を植菌、培養したリンゴの図3-1に示した4分割の部位（D）を用いた。硬度は、リンゴの上下2箇所を、直径約2 cmの円形かつ平滑になるように果皮を除去し、硬度計（FB10K）のニードル（S-4、測定部先端A字）の先端が1 cm埋没するまで刺し、硬度を測定し、その2箇所の測定結果を平均したものを硬度とした。また、硬度の測定で余った部分を搾汁し、糖度計（IPR-101α）とpHメーター（HM-12P、東亜電波工業株式会社、東京）を用いて搾汁液の糖度とpHを測定した。

3.2.5 成分分析の妥当性確認

3.2.5.1 アスパラギン酸とアスパラギン

1個のリンゴをリンゴカッターで縦に6分割し、その各々の部位をホモジナイズして、アスパラギン酸とアスパラギンを測定した。次に1個のリンゴを丸ごとホモジナイズした試料から6試料を採取し、アスパラギン酸とアスパラギンの測定を行った。さらにリンゴを縦

に6分割し、各々をホモジナイズした後、それぞれから2点試料を採取し分析した。なお、試料部位2は操作ミスにより、データから除外した。

併行精度と部位間のばらつきの確認は以下に示す、IUPACの技能試験における試料の均一性判定に用いる判定式によって行った(11)。

$$S_{an}^2 = \Sigma(a-b)^2 / 10 \quad (\text{分析点数}) \quad \dots \text{式①}$$

$$\sigma_p = 0.02 \times (\text{各遊離アミノ酸量の総平均})^{0.8495} \quad \dots \text{式②}$$

$$S_{sam}^2 = (a+b \text{の分散} - S_{an}^2) / 2 \quad \dots \text{式③}$$

$$\sigma_{all}^2 = (0.3 \times \sigma_p)^2 \quad \dots \text{式④}$$

ここでは、 S_{an}^2 は併行分析における各アミノ酸量の分散、 σ_p は室内再現標準偏差の推定値、 S_{sam}^2 は部位間の各遊離アミノ酸量の分散、 σ_{all}^2 は許容可能な部位間の各遊離アミノ酸量の分散の上限を示す。

3.2.5.2 硬度、糖度、pH

リンゴ1個をリンゴカッターにより、6分割し、各部位について硬度、糖度およびpHを分析し、平均値および標準偏差により判断した。

第3節 結果および考察

3.3.1 成分分析法の妥当性確認

3.3.1.1 アスパラギン酸とアスパラギン

リンゴ1個を6分割した各部位のアスパラギン酸量の平均値、相対標準偏差はそれぞれ35 mg/kg、24%、アスパラギン量の平均値、相対標準偏差はそれぞれ5.7 mg/kg、49%となり、相対標準偏差が大きかった(表3-1)。次にリンゴ1個をホモジナイズしたものより6試料採取し分析した結果、その平均値、相対標準偏差はそれぞれ35 mg/kg、3.1%、2.0 mg/kg、4.6%となった(表3-2)。両者のアミノ酸とも相対標準偏差は小さかった。このことからアスパラギン酸およびアスパラギンの量は、リンゴの部位により差がある可能性がある

と判断した。

次に、リンゴを縦に 6 分割し、各々をホモジナイズ処理した後、それぞれを 2 分割し分析した。その結果を表 3-3 に示した。各部位の併行分析値を a、b と表すと、アスパラギン酸の各部位の併行分析値の差の合計である $\Sigma(a-b)^2$ は 3.9、総平均は 31 mg/kg、アスパラギンの各部位の併行分析値の差の合計である $\Sigma(a-b)^2$ は 2.4、総平均は 13 mg/kg となった。なお、試料 2 は実験手順で操作ミスがあったためデータから除外した。アスパラギン酸およびアスパラギンの部位別の分析値を均一性判別式(11)により判別した結果(表 3-4)、リンゴの部位間で差がないとは言えないと判断した。したがって、アスパラギン酸量とアスパラギン量ではリンゴの部位を用いて分析した結果が、必ずしもその個体を代表するものではないと判断したため、各品種における 6 個のリンゴのアスパラギン酸、アスパラギン量の平均値とパツリン蓄積量の平均値を比較し、相関性を検討することとした。

3.3.1.2 硬度、糖度、pH の分析

リンゴを 6 分割し、その各々の部位を用いて分析した結果、硬度の平均値、相対標準偏差はそれぞれ 3.6 kg/cm²、7.3 %、糖度の平均値、相対標準偏差はそれぞれ 17 %、2.7 %、pH の平均値、相対標準偏差はそれぞれ 4.0、3.1 %となった(表 3-5)。これらの相対標準偏差は小さく、リンゴの部位による、硬度、糖度、pH の差はないことを確認した。

3.3.2 リンゴ果実のパツリン蓄積量の品種間差

P. expansum を接種したリンゴの品種別のパツリン蓄積量を表 3-6 に示した。リンゴの品種間でパツリン蓄積量に差が見られ、‘祝’でのパツリン蓄積量は‘つがる’以外の品種と比較すると、いずれの品種に対しても有意 ($p < 0.05$) に多かった。‘つがる’のパツリン蓄積

量は、‘秋映’、‘シナノゴールド’、‘ふじ’、‘印度’といったパツリン蓄積量が比較的少ない品種と比較すると、有意($p < 0.05$)に多かった。一方、‘秋映’、‘シナノゴールド’、‘印度’でのパツリン蓄積量は、‘千秋’、‘紅玉’以外の品種と比較すると、いずれの品種に対しても有意($p < 0.05$)に少なかった。このことから早生種(‘祝’および‘つがる’)でパツリン蓄積量が多いことが確認された。

3.3.3 パツリン蓄積量とリンゴ果実成分の関係

3.3.3.1 総ポリフェノール量、クロロゲン酸との関係

リンゴの総ポリフェノール量およびクロロゲン酸量を表 3-6 に示した。パツリン蓄積量と総ポリフェノール量の間には相関係数 $r=0.52$ で有意($p < 0.01$)な正の相関関係が確認された(図 3-2)。品種間で見るとパツリン蓄積量の多かった‘祝’および‘つがる’の総ポリフェノール量は、他の品種と比較し有意($p < 0.01$)に多かった。一方、‘千秋’、‘印度’の総ポリフェノール量は、他の品種と比較して有意($p < 0.05$)に少なかった。

リンゴに多く含まれるポリフェノールであるクロロゲン酸とパツリン蓄積の関係は、総ポリフェノールと同様の傾向を示し、有意($p < 0.01$)な相関関係にあり、相関係数は $r=0.48$ であった(図 3-3)。新たな品種を加えた試験において、総ポリフェノールのパツリン蓄積量に対する影響は渡辺らの報告(1)と同様の結果が得られた。また、新たに総ポリフェノールのうちクロロゲン酸について検討したところ、クロロゲン酸とパツリン蓄積量には有意な相関が示された。これにより、クロロゲン酸が大きく関与している可能性が示された。

3.3.3.2 各ペクチンとの関係

リンゴの各ペクチン量の分析結果を表 3-6 に示した。ペクチンはリンゴの硬度に大きく影響を及ぼし、熟度が進むとペクチンの可溶化により硬度が低下することが報告されている(12)。今回の検討で

は、水溶性および塩酸可溶性ペクチンの総量とパツリン蓄積量の間には有意な関係は認められなかった。品種別では、‘印度’で水溶性ペクチンが他の品種と比較して有意($p < 0.01$)に多かった。

3.3.3.3 アスパラギン酸、アスパラギンとの関係

リンゴのアスパラギン酸およびアスパラギンの分析結果を表 3-5 に示した。パツリン蓄積量とアスパラギン酸量、アスパラギン量との間の相関係数はそれぞれ $r=0.43$ 、 $r=0.87$ であり、パツリン蓄積量とアスパラギン量の間には有意($p < 0.01$)に正の相関関係が認められた(図 3-4)。渡辺らの報告(1)では、パツリン蓄積量とアスパラギン酸量、アスパラギン量との間に負の相関関係があったとされているが、今回の結果では逆に正の相関関係を示した。これは、使用したリンゴの品種が異なるものがあった点と、アスパラギン量については、部位別における含有量に差が大きいこと、‘祝’のアスパラギンが極端に多かったことなどがその原因として挙げられる。

3.3.3.4 硬度、糖度、pH との関係

リンゴの硬度、糖度および pH を表 3-6 に示した。パツリン蓄積量と硬度の関係は図 3-5 に示した。パツリン蓄積量と硬度、糖度、pH の間の相関係数はそれぞれ $r=-0.38$ 、 -0.51 、 -0.15 であり、パツリン蓄積量と硬度、糖度の間には有意($p < 0.01$)な負の相関性が見られた。パツリン蓄積量が多い‘祝’、‘つがる’の硬度は、‘紅玉’、‘千秋’、‘シナノスイート’以外の他の品種と比較して、有意に低かった。一方、パツリン蓄積量が少ない‘秋映’、‘シナノゴールド’、‘印度’の硬度は、‘王林’、‘ふじ’以外の他の品種と比較し有意に高かった。このことは、リンゴの硬度が高い品種ほどパツリンを蓄積しにくいことを示している。このことから、硬度は簡易に測定できるため、パツリン蓄積の少ない品種の開発において、硬度は重要な指標となると考えられる。

第 4 節 結論

リンゴ果実成分とパツリン蓄積量の関係を明らかにするために、従来からの主要品種に、今後生産量の増加が予想される‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’などを加えた品種別のリンゴ（10品種）を供試して、*P. expansum*を接種し、パツリン蓄積量と果実の各種成分、硬度、pH、糖度および貯蔵期間の影響について解析を行った。その結果、早生種の‘祝’、‘つがる’でパツリン蓄積量が多いことを確認した。‘祝’は総ポリフェノール量およびアスパラギン量が他の品種と比較して有意に低い値を示した。リンゴの品種別のパツリン蓄積量と総ポリフェノールの間には有意($p<0.01$)な相関関係を示し、クロロゲン酸でも同様の結果が得られたことより、リンゴ中に多く含まれるポリフェノールのなかのクロロゲン酸が大きく関与していることが確認された。また糖度および硬度とパツリン蓄積量の間には有意な負の相関があった。単一品種の貯蔵中に硬度および糖度の低下が見られたが、パツリン蓄積量には一定の関係は確認できなかった。品種別の生食用の適熟期のリンゴのパツリン蓄積量は硬度および糖度と負の相関が確認されたことより、パツリンの蓄積量の簡易予測には硬度、糖度が有効である可能性が示された。

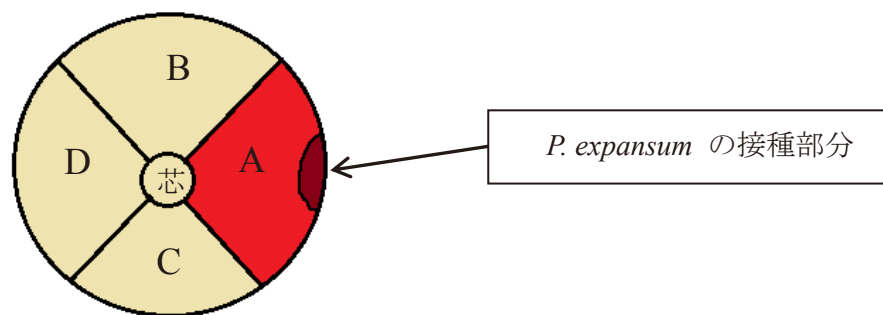


図 3-1 リンゴの分析試料調製方法（上から見た図）

- A : パツリン分析に用いた部位（りんごの接種部位）
- B : ポリフェノール、アスパラギン酸、アスパラギンの分析に用いた部位
- C : ペクチン分析に用いた部位
- D : 硬度、糖度、pH の測定に用いた部位

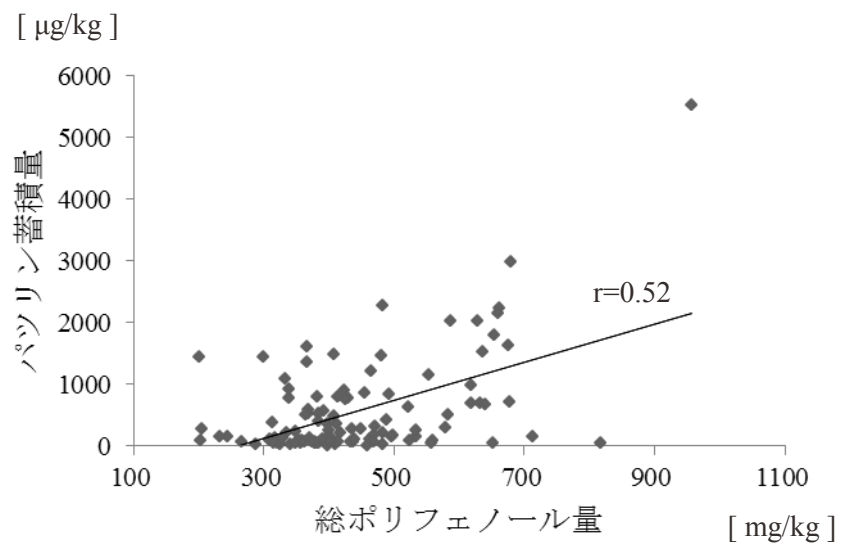


図 3-2 リンゴのパツリン蓄積量と総ポリフェノール量の関係

パツリン蓄積量と総ポリフェノール量の間には、1%水準で有意な相関関係が確認された。

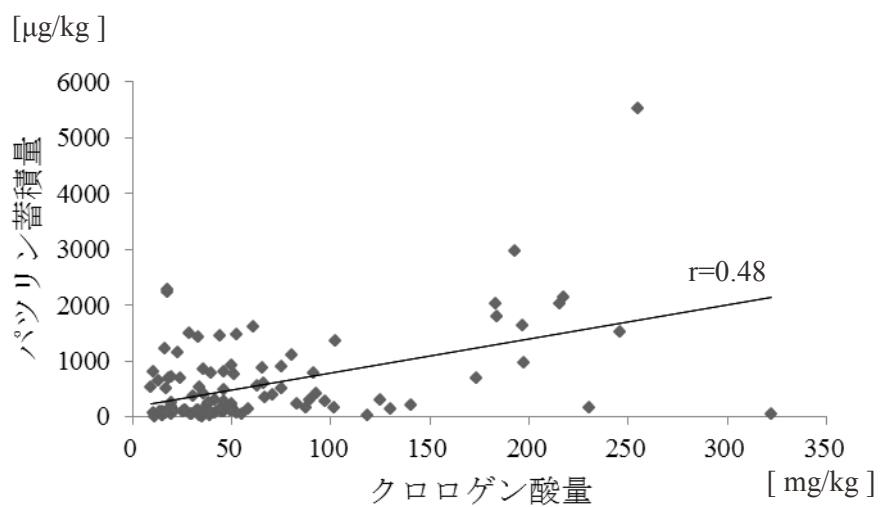


図 3-3 リンゴのパツリン蓄積量とクロロゲン酸量の関係

パツリン蓄積量とクロロゲン酸量の間には、1%水準で有意な相関関係が確認された。

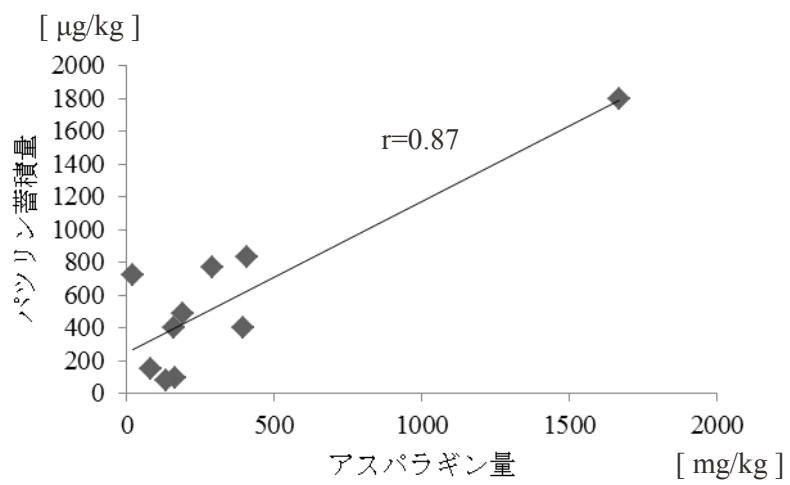


図 3-4 リンゴのパツリン蓄積量とアスパラギン量の関係

パツリン蓄積量とアスパラギン量の間には、1%水準で有意な相関関係が確認された。

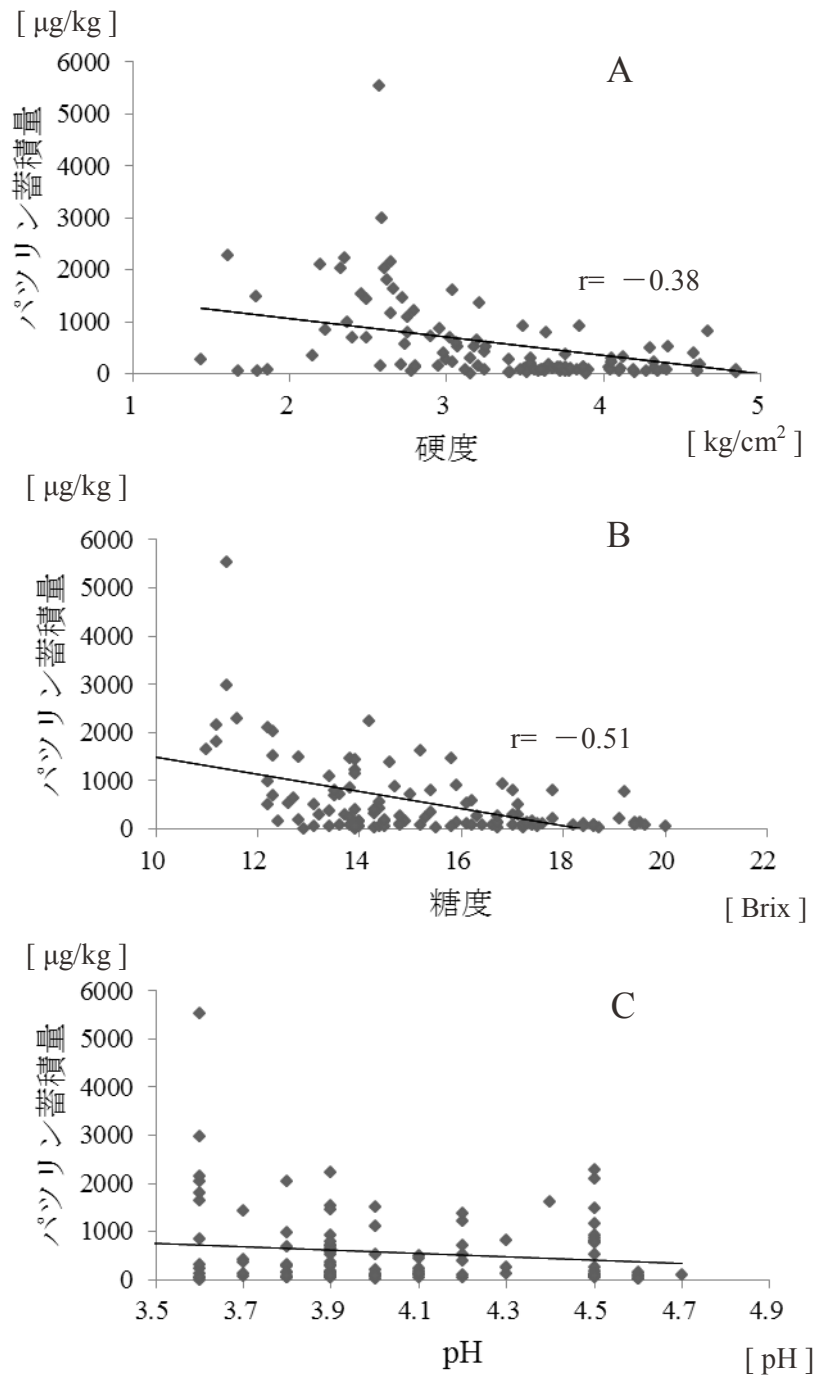


図 3-5 リンゴのパツリン蓄積量と硬度、糖度及び pH の関係
 A: 硬度 B: 糖度 C: pH

パツリン蓄積量と硬度、糖度の間には、1%水準で有意な相関関係が認められた。

表 3-1 アスパラギン酸、アスパラギンの分析法の妥当性確認

部位	アスパラギン酸分析値	アスパラギン分析値
	[mg/kg]	[mg/kg]
1	31	3.4
2	25	3.2
3	30	3.4
4	35	7.6
5	41	6.4
6	48	10
平均値	35	5.7
標準偏差	8.6	2.8
相対標準偏差 [%]	24	49

リンゴ 1 個を 6 分割し、各部位を分析

表 3-2 ホモジナイズしたリンゴ 6 試料のアスパラギン酸、アスパラギン量

試料	アスパラギン酸分析値	アスパラギン分析値
	[mg/kg]	[mg/kg]
1	35	2.2
2	34	2.0
3	34	2.0
4	34	2.0
5	37	2.2
6	33	2.0
平均値	35	2.0
標準偏差	1.1	0.094
相対標準偏差 [%]	3.1	4.6

リンゴ 1 個をホノジナイズし、6 試料採取し分析

表3-3 リンゴ部位別のアスパラギン酸、アスパラギン量

部位	アスパラギン酸 [mg/kg]		アスパラギン [mg/kg]	
	a	b	a	b
1	33	33	12	11
3	29	28	10	10
4	30	29	18	17
5	29	28	10	9.7
6	34	35	18	16

リンゴ1個を6分割し、各ホモジナイズした部位を2つに分け分析
 試料部位2 は操作ミスより、データから除外した。

表 3-4 部位別のアスパラギン酸及びアスパラギン量のばらつき

項 目	アスパラギン酸	アスパラギン
S_{an}^2	0.62	0.48
σ_p	2.9	1.4
S_{sam}^2	7.0	13
σ_{all}^2	0.77	0.18

表 3-5 部位別の硬度、糖度及び pH

部 位	硬度 [kg/cm ²]	糖度	pH
1	3.9	17	4.2
2	4.1	16	3.9
3	3.4	17	3.9
4	3.5	16	3.9
5	3.4	17	3.9
6	3.6	17	3.9
平均値	3.6	17	4.0
標準偏差	0.26	0.46	0.12
相対標準偏差 [%]	7.3	2.7	3.1

表 3-6 品種別のリンゴのパツリン蓄積量と各成分

品種	サンプル数	パツリン		総ポリフェノール	クロロゲン酸	水溶性 ペクチン	塩酸可溶 性ペクチン		総ペクチン*	アスコルギン酸	アスコルギン	硬度 [kg/cm ²]	糖度	pH
		蓄積量 [μg/kg]	総ポリフェノール [mg/kg]				ペクチン [mg/kg]	性ペクチン [mg/kg]						
祝	12	1800±1400	690±100	220±42	2200±3700	2100±640	4300±970	320±41	1700±540	2.6±0.13	12±1.0	3.7±0.12		
つがる	17	830±740	530±96	18±5.9	1200±370	1800±610	3000±690	54±32	410±330	2.7±0.80	13±0.85	4.2 ±0.28		
秋映	12	150±140	390±39	37±6.0	980±130	2000±240	3000±340	40±17	79±88	4.2±0.38	14±0.36	3.6±0.16		
千秋	6	400±530	240±41	49±6.0	1000±97	1900±210	2900±280	300±47	400±200	3.0±0.36	14±0.43	3.9±0.00		
紅玉	6	720±640	410± 64	42±14	1600±150	1700±130	3400±160	110±24	20±9.2	2.2±0.42	14±1.44	3.7±0.21		
シラスイト	12	490±460	420±49	70±18	1000±190	1400±400	2400±340	92±87	190±300	3.1±0.27	15±0.59	4.2±0.26		
シノゴート*	12	95±46	420±89	38±8.9	1000±180	1300±200	2400±300	89±20	160±100	3.9±0.34	17±1.2	4.0 ±0.10		
王林	6	770±400	420±37	44±7.3	2200±120	1800±220	4000±170	27±13	290±170	5.1±0.48	17±1.2	4.5±0.00		
ふじ	17	400±390	400±80	76±38	1300±160	1600±270	3000±340	260±110	160±240	3.8±0.55	17±2.0	4.0±0.19		
印度	12	78±33	330±55	17±3.1	3500±890	2100±390	5600±1200	82±39	130±87	3.6±0.18	18±1.4	4.6±0.07		

平均値 ± 標準偏差

* : 水溶性ペクチン + 塩酸可溶性ペクチン

第4章 加工処理によるパツリンの低減化および品種別の リンゴの加工適性試験

第1節 緒言

リンゴ加工品の大半を占めるリンゴ果汁は、混濁果汁と透明果汁に大別される。混濁果汁は、果実本来の特性を残す為に、不溶性固形分（パルプ質）をそのまま残し、パルプ分を浮遊させた状態の果汁であり、色調を重視するため褐変防止を図った搾りたてに近い品質の果汁である。一方、透明果汁は、製造工程中で酵素処理や濾過によりパルプ分を除去した果汁である。褐変防止は必要とせず、飴色状の透明な果汁であり、濃縮還元製品として市販されることも多い。国内でのリンゴ果汁の生産ではほとんどが前者の混濁果汁として製造されている。

その混濁果汁への品種の加工適性について我々は生産量の多い‘ふじ’および‘つがる’中心に以下の特徴を見出している(1-3)。
‘ふじ’は、甘味特性に優れているが、酸味が低く、糖酸比が高いことより、果汁用としては酸味不足が課題となっている。一方、‘つがる’については‘ふじ’と比べて糖度が低く、酸味も低いことから特徴に欠け、単品での利用が困難であるとされている(1)。また、混濁果汁の色調面で重要となる褐変因子を調べると、‘ふじ’は褐変速度が速く、酵素的褐変の基質となるクロロゲン酸量が多いのに対して、‘つがる’ではクロロゲン酸量が少なく褐変が遅いとされている(2)。混濁果汁では、‘ふじ’は赤色が少なく、黄色の濃い果汁であり、一方、‘つがる’は色が薄く、黄色の少ない果汁であり、その果汁は粘度が低く、パルプ分の沈澱しやすい性質で有ることが明らかにされている(1)。また、リンゴ果汁では、独特の風味が重要な特徴となるが、‘ふじ’は風味の優れた‘紅玉’を縮小したバランスで、‘つがる’はさらに香気成分特性が劣るとしている(3)。これらのことから、‘ふじ’および‘つがる’を原料にした混濁果汁の調製にあ

たっては、酸味特性の優れた品種との混合により、糖酸比を基本とした品質改善が重要であることが示されている(1)。

長野県のリンゴの基幹品種に加わり、生産量が増加しているオリジナル3品種(‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’)の品種特性、加工適性を把握することは、今後のリンゴ加工産業において重要なことである。またリンゴ加工製品ではパツリンの汚染が大きな問題となっており、パツリンはリンゴジュースのような酸性条件下では安定で、果汁の殺菌温度(95℃達温)ではあまり分解しないことや、アルカリやメタノールなどの極性溶媒中で不安定であると報告されている(4、5)。このことより、薬剤(アルカリ)処理やトリミング(除去)による果汁製造工場の現場における加害果の混入の防止、パツリンの汚染低減化も検討した。

第2節 試験方法

4.2.1 供試試料

供試したリンゴは長野県内で栽培された各品種のリンゴをその生食用の適熟期に収穫したものをを用いた。使用した品種は、早生種(‘つがる’9月上旬)、中生種(‘秋映’10月上旬、‘シナノスイート’10月上旬及び‘シナノゴールド’10月中旬)、晩生種(‘ふじ’10月下旬)で、収穫場所は、‘つがる’、‘秋映’、‘シナノスイート’は信州大学農学部圃場(上伊那郡南箕輪村)、‘シナノゴールド’、‘ふじ’は須高農業協同組合管内(須坂市)である。試料は収穫後速やかに各試験に使用した。

4.2.2 加工処理によるパツリンの低減化試験

4.2.2.1 *P. expansum* の植菌とパツリン分析

リンゴへのパツリン産生菌の植菌は、板東らの方法(6)により、

P. expansum NRRL6069 を使用して行った(2.2.2 参照)。パツリンの分析も 2.2.3 に記載した方法で行った。

4.2.2.2 トリミング処理による低減化

P. expansum を接種し、培養後のリンゴの加害部を、1:手作業により除去したもの、2:手作業により除去しさらに水道水で加害部周辺を洗浄したもの、3:包丁により加害周辺部を完全に除去したものの 3 区と、加害のない無処理のリンゴを用いたコントロール区との合計 4 区の、パツリン量を比較した。

4.2.2.3 剥皮処理による低減化

パツリンがアルカリ条件下で不安定であることを利用して、実際の加工現場で、もも、あんず等の核果類の剥皮に用いられている水酸化ナトリウム水溶液により剥皮処理を行った。処理条件は 15%水酸化ナトリウム溶液の沸騰液中に 2 分間浸漬し、直ちに流水中で洗浄した。機械剥皮は、手回し式の機械剥皮機を使用した。各処理物をさらしにより搾汁し、果汁および搾汁残渣について各パツリン量を測定した。

4.2.3 品種別のリンゴの加工適性試験

4.2.3.1 褐変速度

品種別にリンゴをすりおろし、そのすりおろし物の褐変速度は既報(2)に準じて、全自動色差計カラーエース TC-8600A (東京電色株式会社、東京)を用いて測定した。すりおろし物の色調の変化をハンター表色系により、経時的に測定し、色調の変化(ΔE 値)の初期の変化量の傾き(ΔE 値/min)を算出し、褐変速度とした。

4.2.3.2 混濁果汁の調製方法

リンゴ 30 kg を流水中で手作業により水洗いし、包丁にて 4 分割

後、ミクログレーダーSF-NR-110（株式会社精研舎、東京）を用いて破碎し、ケージプレス搾汁機MP-4（理研精機株式会社、新潟）を用い、操作圧力 200 kg/cm^2 で搾汁した。褐変防止剤としてL-アスコルビン酸を原料重量に対し 60 mg/100 g となるよう破碎時に添加した。不溶性固形分の調整は篩（メッシュ No.100、 0.149 mm ）を使用した。殺菌は管状（コイル）型熱交換機で $95\text{ }^\circ\text{C}$ 達温とし、瓶容器に熱間満注充填後、密封し、流水中で冷却して混濁果汁を得た。混濁果汁の調製の概略図を図4-1に示した。原料重量と得られた混濁果汁量より搾汁率を算出した。得られた混濁果汁は $5\text{ }^\circ\text{C}$ で貯蔵し、その後の分析並びに食味評価に使用した。

4.2.3.3 混濁果汁の糖度、酸度、色調の測定

糖度はデジタル屈折計RX-500 α で測定した。酸度は 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液により滴定する滴定酸度法(7)により測定し、リンゴ酸換算で示した。糖度を酸度で割った値を糖酸比として示し、甘酸味のバランスの指標とした。色調は全自動色差計カラーエースTC-8600A（東京電色株式会社、東京）を用いて、円柱型セルに混濁果汁を満たし、ハンター表色系により反射式で測定した。

4.2.3.4 味認識値測定

味認識装置TS-5000Z（株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー、神奈川）を用いて、既報(8、9)に準じて測定した。旨味、酸味、渋味および苦味の各食味に関する項目について評価を行った。味の数値化は、ウェーバーの法則(8)に基づき、味覚物質の20%の濃度変化を1目盛りに設定した。各品種区4回測定し解析を行った。

4.2.3.5 官能評価

品種別混濁果汁の、外観（色調）、風味（香り）、甘み、酸味および総合評価の5項目について、食品製造事業者で構成するパネラーによる評点法(10)（非常に悪い-2、悪い-1、普通0、良好1、非常に

良い 2) で行い、得られた結果を t 検定により判定した。

実施日時：2011 年 12 月 21 日 午後

パネラー：食品製造業従事者 11 名（女性 2 名、男性 9 名）

場所：長野県食品工業技術総合センター講堂

4.2.3.6 各分析、食味評価項目間の相関解析

加工適性に係わる成分分析および食味関係の分析項目についてそれぞれ関係が無相関検定により解析を行った。食味に影響を与えている成分、評価項目についての検討を行った。

第 3 節 結果および考察

4.3.1 加工処理によるパツリンの低減化

4.3.1.1 トリミング処理法別試験

各処理をした各試験区のリンゴを写真 4-1 に示した。産生菌による加害部は軟化し褐変しており、手作業でも容易に加害部を除去することは可能であった。無処理区と比較して、パツリン量が無処理区の 0.4 % にまで減少させることができた。手作業での除去後、加害周辺部を水洗、さらに包丁で加害部周辺を完全に除去することでパツリンが完全に除去されることが示された（表 4-1）。このことは実際の果汁工場の現場でも、洗浄後、搾汁前に原料のトリミング工程が有り、複数の熟練した専任作業員により、目視、手作業により、異物、傷果、微生物汚染果等の除去が行われており、このことがパツリン汚染の低減化による安全な製品製造において非常に重要であることが示された。

4.3.1.2 剥皮法のパツリン汚染低減化への影響

剥皮法別の処理後の搾汁液並びに搾汁残渣のパツリン量の測定結果を表 4-2 に示した。無処理区のパツリン量は、果汁に比べ残渣の

方が多い傾向を示した。手回し式剥皮機では軟化した加害部分も一部削り取られたが、無処理区と比較し、果汁、残渣とも同程度の 27～29 % の割合で残留していた。アルカリ（水酸化ナトリウム溶液）沸騰溶液中での剥皮は、軟化部がアルカリで溶解し、処理後の洗浄作業で完全に除去され、果汁および残渣とも完全に除去されていた。この原因としては、パツリンがアルカリ溶液には不安定であることと、アルカリ処理により、加害（軟化）部が溶けて、その後の洗浄により、除去されたためと考えられる。トリミング用器具を使用した手作業による加害周辺部の除去は、果汁および残渣ともに完全にパツリンは除去されていた。

アルカリ処理でパツリンは完全に除去されるが、アルカリ処理による風味、酸味の低下のリスクも有ることから、手作業によるトリミング作業は、安全性、品質の面でより確実な手法であり、搾汁前のトリミング作業がパツリン汚染の低減化には重要であることが明らかとなった。実際の果汁工場でのトリミング作業により、除去された汚染リンゴを写真 4-2 に示した。

また果汁工場の製造現場は原料の洗浄工程はバブリング洗浄、流水、シャワーおよびローラーブラシ洗浄と複数段からなっている（写真 4-3）。押し傷や腐敗部が果実全体に回っている原料については、この洗浄工程により物理的に汚染部分が除去される。このことは、汚染部の大きなリンゴでは、加害の軟化部が除去されることにより、汚染の低減化に繋がっている可能性も考えられた。

4.3.2 品種別のリンゴの加工適性試験

4.3.2.1 品種別のリンゴの褐変特性

品種別のリンゴ破砕物の色差の経時変化を調べた結果を図 4-2 に示した。この結果より褐変速度を算出したところ、20℃における褐変速度は、‘シナノスイート’、‘ふじ’、‘秋映’、‘つがる’、‘シナノゴールド’の順にそれぞれ 7.3、6.4、5.5、1.0、0.9 $\Delta E/\text{min}$ であっ

た。従来より、‘つがる’は褐変速度が遅いとされている(2)が、‘シナノゴールド’は‘つがる’と同程度の褐変速度であり、褐変速度の遅い品種であった。リンゴの褐変には酵素と基質および酸素が関与し、基質であるポリフェノールのなかでも、クロロゲン酸の関与が大きいとされている(11)。そこで2.3.3.2で示したクロロゲン酸の測定結果と本実験で行った褐変速度との関係について検討した結果を図4-3に示した。クロロゲン酸量と褐変速度は相関関係($r=0.744$)を示し、クロロゲン酸量の多い品種は褐変速度が速い傾向を示した。このことから‘シナノゴールド’は果汁および褐変問題が課題となるカットリンゴ等への加工適性に優れた品種であることが確認された。

4.3.2.2 混濁果汁の品種別の品質

搾汁率、糖度、酸度、糖酸比、pHおよび色調の測定結果を表4-3にそれぞれ示した。搾汁率について品種別に比較すると、‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’は、既往品種の‘つがる’や‘ふじ’より高い値を示し、良好であった。

糖度は、‘ふじ’に次いで、‘シナノスイート’が13.84と高く、これは交配が「‘ふじ’×‘つがる’」(12)であることに由来していると考えられた。

酸度は、‘シナノゴールド’と‘秋映’が0.4%を超えて他品種と比べて高かった。‘シナノスイート’は糖度と同様に‘ふじ’と‘つがる’の酸度が低い特徴が引き継がれたものと思われる。

リンゴ混濁果汁の食味に大きな影響を与える糖と酸のバランスの指標である糖酸比は、25~35が最も好まれるとされている(1)。「シナノゴールド」と‘秋映’の2品種の糖酸比は30台で、好まれるとされる範囲内であった(図4-4)。一方、‘つがる’、‘ふじ’および‘シナノスイート’の糖酸比は45を超えており酸味が低く、甘味を強く感じる傾向を示している。

pHは、‘シナノスイート’は‘つがる’や‘ふじ’に近い値であ

り、‘シナゴールド’と‘秋映’は低い値を示した。

色調では、赤色を示す a 値は、‘シナノスイート’と‘ふじ’が同値の -4.30 と低い値を示し、逆に‘秋映’は‘つがる’同様に高い値を示した。‘秋映’は果皮色が濃赤色で、搾汁中に果皮色素の溶出などの影響により、薄オレンジ系の果汁になったと考えられる。‘シナノスイート’は、‘ふじ’と同様に、黄色を示す b 値が高く、黄色の強い品種である特性が示された。

4.3.2.3 味認識値

味認識装置による食味に関する各項目の測定の結果を図 4-5 に示した。測定に際しては、‘ふじ’の各測定項目の値を基準として他品種との比較を行った。品種別の差異が顕著であった項目は、酸味であり、‘シナノゴールド’および‘秋映’は、‘ふじ’と比べて高く、‘シナノスイート’および‘つがる’は低かった。また旨味コクは、いずれの品種も‘ふじ’より高かった。苦みおよび渋みでは、品種間で差異を認めなかった。

4.3.2.4 官能評価

官能評価の結果を表 4-4 に示した。外観は、‘シナスweet’と‘ふじ’が同じ評点であり、両品種は他の 3 品種と比べて有意 ($p < 0.05$) に高かった。また、‘秋映’は、‘シナスweet’と‘ふじ’と比べて有意に低かった。このことは色差の値で、‘シナスweet’および‘ふじ’は a 値が低く、b 値が高かったことより褐変がなく、黄色みの強い混濁果汁が好まれる傾向にあることを示している。風味は、‘シナノゴールド’と‘秋映’が同じ評点であり、両品種は‘シナスweet’と‘つがる’に比べて有意に高く、‘シナスweet’と‘つがる’は、他の 3 品種と比べて、有意 ($p < 0.05$) に低かった。酸味は、風味と同じ傾向を示し、‘シナノゴールド’と‘秋映’が同じ評点であり、他の 3 品種と比べて有意 ($p < 0.05$) に高かった。総合評価では、‘ふじ’が最も高く、次いで‘シナノゴールド’と‘秋映’が

同じ評点であった。その3品種とも、‘シナノスイート’や‘つがる’より有意 ($p < 0.05$) に高かった。

4.3.2.5 相関関係

加工適性に関わる各種成分の分析、食味および官能検査評価結果について各項目間の無相関検定による解析を行い、高い相関関係を認めたものを表4-5に示した。糖度は、色調 a 値と負の相関 ($r = -0.960$)、官能検査の外観および甘味と正の相関をそれぞれ認めた。糖度の測定結果と官能検査の甘味評価は一致した。酸度は、糖酸比と負の相関 ($r = -0.958$) を示し、官能検査の風味および酸味、味認識の酸味と正の相関 ($r = 0.923$) をそれぞれ認めた。また、酸度の測定結果は官能検査と味認識の酸味評価と高い相関関係を示した。酸味の高い品種では、官能検査の風味評価が高かったのは、酸味の高い品種は香气特性に優れる傾向にあるとの報告(3)があり、本実験で供試した‘シナノゴールド’および‘秋映’もその傾向と合致した。

色調では、a 値は官能検査の外観と負の相関 ($r = -0.956$) を認めた。a 値が高いことは赤色を呈すことを意味しており、a 値と負の相関を示すことは赤色の低い品種が好まれる傾向を示した。b 値は官能検査の甘みと正の相関 ($r = 0.960$) を認めた。糖度の高かった‘シナノスイート’および‘ふじ’は、b 値が高く、黄色の強い果汁であることと一致した。

官能検査の外観は、官能検査の甘みと正の相関 ($r = 0.898$) を認めた。官能検査の風味は、官能検査の酸味、総合評価および味認識装置で測定した酸味と正の相関 ($r = 0.990$ 、 $r = 0.940$ 、 $r = 0.924$) をそれぞれ認めた。官能検査の酸味は、官能検査の総合評価および味認識の酸味と正の相関 ($r = 0.907$ 、 $r = 0.932$) をそれぞれ認めた。

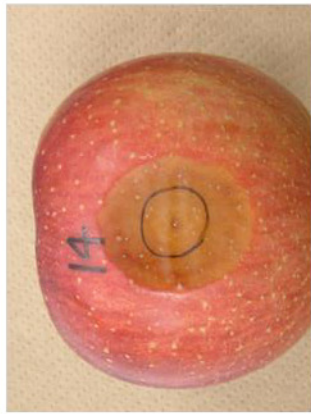
官能検査の外観評価と色調の a 値および b 値との相関関係 ($r = -0.956$ 、 $r = 0.847$) より、a 値が低く b 値の高い品種が好まれることを示唆していた。このことは、褐変がなく、黄色系の果汁が好まれることを示していた。

第 4 節 結論

パツリン汚染の低減化は、加害（軟化）部分を完全に除去することで、汚染防止が図られることが示された。アルカリ処理はパツリンの除去は可能であったが、作業の安全性や処理後の果実品質（風味および酸味の劣化）の課題が残された。トリミング作業による加害部の完全除去が有効であり、従来から果汁工場の製造現場で行われている搾汁前の原料のトリミング作業はパツリン汚染リスクを低減化するには非常に重要かつ有効な手段であることを裏付けた。

長野県のオリジナル品種である‘シナノゴールド’、‘シナノスイート’および‘秋映’、（通称：りんご三兄弟）と既存品種の‘つがる’および‘ふじ’の混濁果汁を作製し、その品種特性を検討した。‘シナノスイート’は、甘味特性に優れ、色調の a 値（赤色）が低く、b 値（黄色）が高い特徴より、官能検査結果から、外観の優れた品種であった。‘秋映’は酸度が高く、従来品種と比べて糖と酸のバランスが良好であることが糖酸比から明らかになった。また官能検査では、風味、酸味及び総合評価が高かった。‘シナノゴールド’は、褐変速度が遅く、‘秋映’と同様に、酸味特性に優れ、糖酸比が良好であった。官能検査では、風味、酸味および総合評価が高かった。

パツリンの低減化にはトリミング作業が非常に重要であることが示された。また「りんご三兄弟」は、加工用の原料としても有望であることが示唆された。



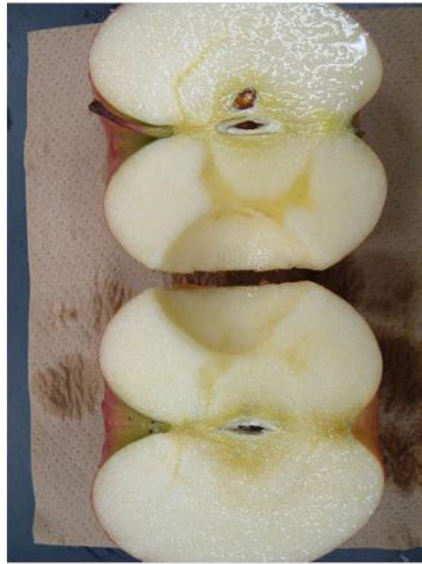
P. expansum による加害



A: 手作業による加害部の除去 (丸)



B: 手作業による加害部の除去 (半割)



C: 手作業による加害部の除去 + 水洗



D: 加害部の周辺を器具により除去

写真 4-1 加害部の各種トリミング



写真 4-2 果汁工場で除去されたリンゴの廃棄物



バブリング洗浄



流水洗浄



シャワー、ローラーブラシ洗浄

写真 4-3 果汁工場における洗浄工程

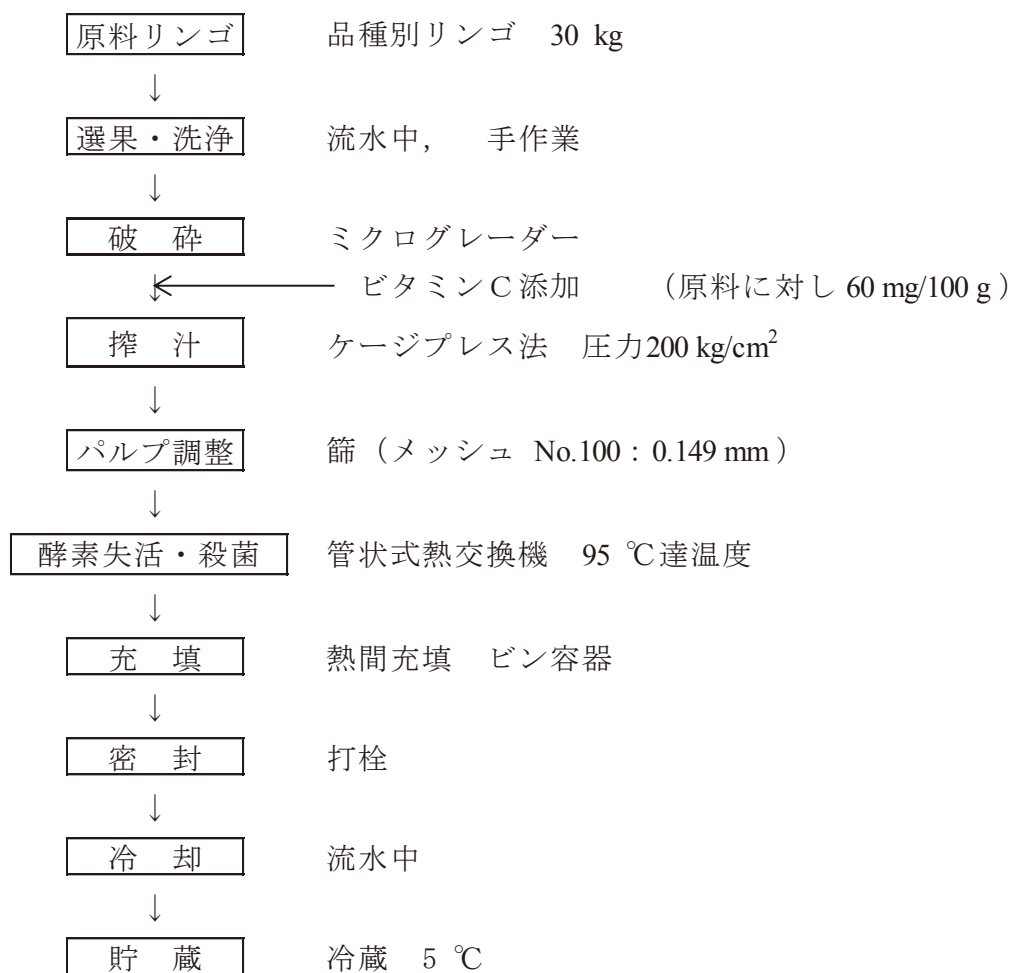


図4-1 リンゴの混濁果汁調製方法

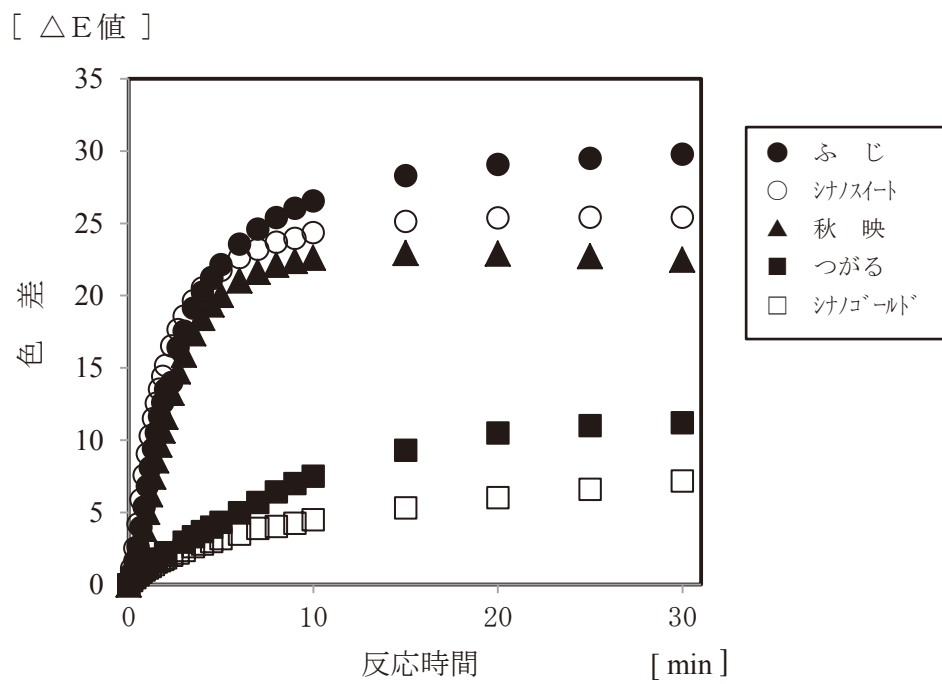


図 4-2 品種別のリンゴ破碎物の色差の経時変化

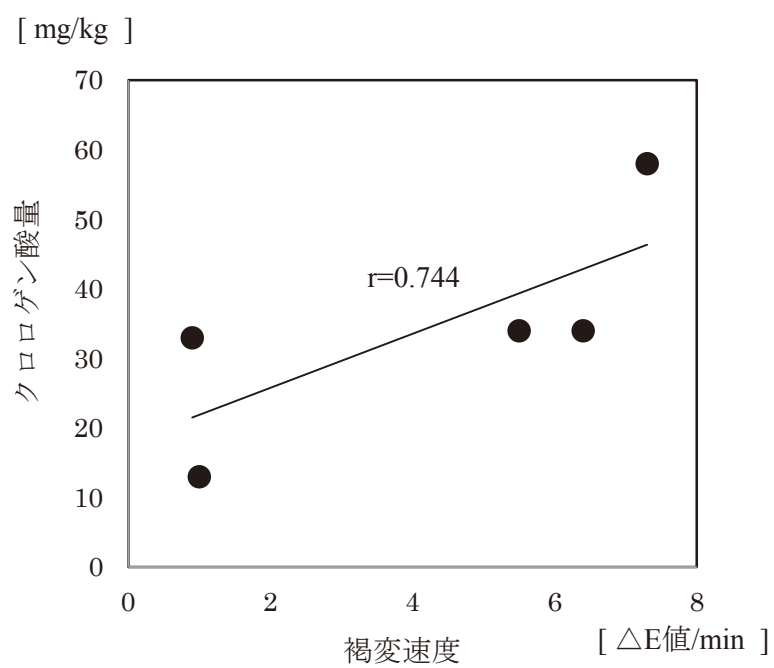


図 4-3 クロロゲン酸量と褐変速度の関係

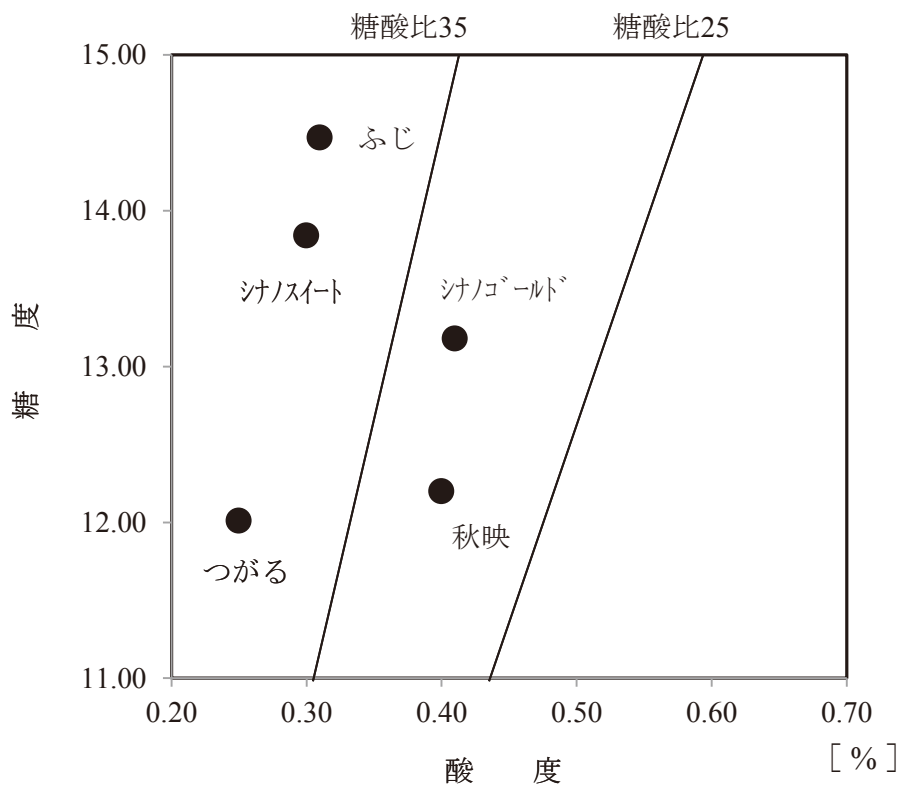


図 4-4 リンゴの混濁果汁の品種別の糖度と酸度の関係

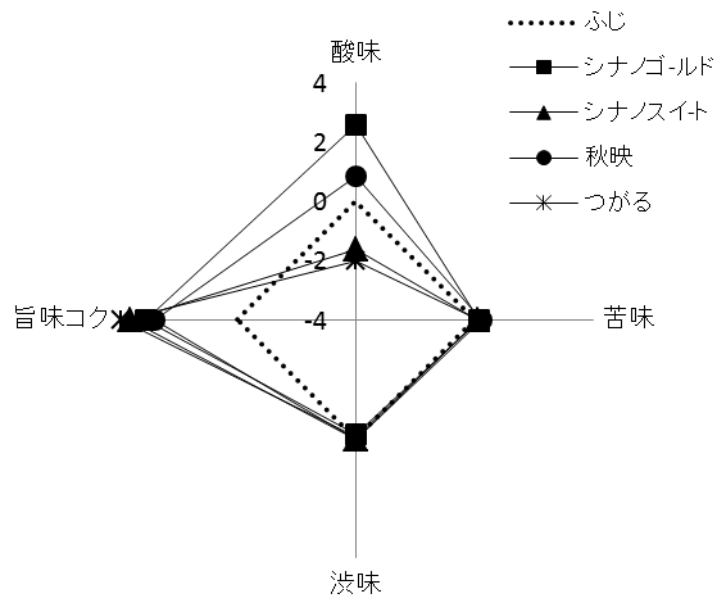


図 4-5 リンゴの品種別に製造した混濁果汁の味認識装置による食味評価

表 4-1 トリミング法別のパツリンの低減化

試験区	加害部	手作業除去	手作業除去後 水洗	包丁による 除去
($\mu\text{g}/\text{kg}$)	8000	30	Tr*	N.D.**

* Tr: 0.5 以上 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満, ** N.D.: 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満

表 4-2 剥皮法別のパツリンの低減化

試験区	パツリン蓄積量 [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	
	果汁	搾汁残渣
無処理 (対照)	110	170
機械剥皮 (手回し式)	30	50
アルカリ剥皮	N.D.*	N.D.*
トリミング	N.D.*	N.D.*

* N.D.: 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満

表 4-3 リンゴの混濁果汁の使用品種による成分

品 種	搾汁率 [%]	糖 度	酸 度* [%]	糖 酸 比	p H	色 調		
						L	a	b
シナゴールド	78.4	13.18	0.41	32.15	3.61	20.95	-3.35	2.32
シナスイート	78.1	13.84	0.30	46.13	3.81	29.13	-4.30	4.54
秋 映	78.3	12.20	0.40	30.50	3.30	26.15	-2.56	3.36
ふ じ	75.6	14.47	0.31	46.68	3.75	27.18	-4.30	4.80
つがる	77.3	12.01	0.25	48.04	3.82	22.86	-2.78	-0.79
平均値	77.5	13.14	0.33	40.70	3.66	25.25	-3.46	2.85
標準偏差	1.2	1.05	0.07	8.61	0.22	3.31	0.82	2.26

*酸度：リンゴ酸換算

表 4-4 リンゴの混濁果汁の品種の違いと官能評価

品種	外観	風味	甘み
シナゴールド	0.45±0.52	0.73±0.90	1.00±0.89
シナスライト	1.09±0.70	0.18±0.75	1.09±1.04
秋映	0.36±1.36	0.73±0.79	1.00±0.63
ふじ	1.09±0.70	0.55±0.93	1.18±0.75
つがる	0.18±0.75	0.00±0.63	0.82±0.87

品種	酸味	総合
シナゴールド	1.00±0.77	0.91±0.94
シナスライト	-0.18±0.75	0.45±0.69
秋映	1.00±0.77	0.91±1.04
ふじ	0.64±1.21	1.00±0.77
つがる	-0.18±0.65	0.09±0.70

平均値±標準偏差, n = 11, * : p < 0.05.

表 4-5 リンゴの混濁果汁の分析、官能検査および食味評価の各項目間の相関関係

	糖 度	酸 度	色 調		官能検査	
			a	b	外 観	風 味
糖酸比	0.351	-0.958 *				
色 調	a	-0.960 **	0.263			
官能検査	外 観	0.940 *	-0.170	-0.956 *	0.847	
	風 味	0.143	0.924 *	0.110	0.457	0.000
	甘 み	0.901 *	0.211	-0.797	0.960 **	0.898 *
	酸 味	0.048	0.907 *	0.214	0.339	-0.116
	総 合	0.441	0.767	-0.191	0.674	0.307
味認識	酸 味	0.059	0.923 *	0.167	0.217	-0.161
無相関の検定 * :5% **:1%						
					0.924 *	0.932 *

第5章 結 論

長野県のリンゴの生産量は青森に次ぐ全国2位の生産量を誇り、県の主要果樹と位置づけられている(1)。その生産量の1～2割は加工用であるが、リンゴの加工品では *P. expansum* の産生するカビ毒であるパツリンが問題となっている(2)。一方、長野県のリンゴの品種構成を見ると、基幹品種に新たに、‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’が加わり、今後生産の増加が予想される(3)。しかしながら、パツリン産生菌のリンゴへの加害並びにパツリン蓄積についての知見は少なく、また新品種の加工適性に関する研究もほとんど行われていない。そこでこれらリンゴ産業の抱える課題を解決するため本研究を行った。

パツリン産生菌による加害の発生は、貯蔵温度により大きく影響され、20℃貯蔵は、5℃貯蔵の3～5倍の速度で加害が広がった。一方、5℃から1℃までの低温の温度帯では、温度が低くなるほど、産生菌の加害は抑制されたが、その温度帯では、一旦加害が発生すると、低温による抑制はされずに、5℃と同等の速度で加害は広がった。-2.5℃以下では、リンゴが凍結し、解凍時の離水、褐変および風味の低下が発生したことから、本実験条件下では-1℃以上の貯蔵が適切であることが示された。このことから、リンゴの収穫後の加害を抑制する為には、5℃から-1℃までの低温管理が重要である。

品種別のパツリン蓄積量は、‘祝’、‘つがる’の早生種で多く、‘シナノゴールド’、‘印度’といった比較的収穫時期の遅い品種で少ない傾向を示した。このことは‘つがる’等の早生種では収穫時期の気温が高く、また加工までの間の貯蔵期間においても屋外貯蔵した場合は気温が高いため、パツリン汚染を防止するためには特に温度管理には注意が必要である。これらの品種間差の因子を明らかにする為には、パツリン蓄積量とリンゴ果実の各成分、物性との関係を検討した。総ポリフェノール量が多い品種で蓄積量は低く、ポリフェノールのうち、リンゴの褐変に大きく関与しているクロロゲン酸も

同様の傾向を示した。また硬度および糖度とは負の相関であることから、それらを測定することで、リンゴのパツリン蓄積が推測できる。このことはパツリン蓄積の実用的簡易予測の手法としての可能性が示され、新たな育種、選抜への有用な情報になると考えられる。

産生菌の加害およびパツリン汚染の低減化について、加工処理による方法を検討した。産生菌の加害は果肉を軟化させ、その部位は褐変を発生させながら広がっている。加害部を手作業で除去することにより、無処理と比べてパツリン蓄積量を 0.4 %にまで減少させることが出来た。手作業により加害部除去後、その周辺部を水洗、さらに加害周辺部を包丁で完全に除去することで、完全にパツリンが除去されることが示された。次に、薬剤および器具による剥皮方法について検討した。アルカリ処理では、剥皮が起こり、周辺部が溶解され、その後に水洗いをするすることでパツリンの除去が図られたが、風味、酸味の低下を招き、実用性は認められなかった。手回し式剥皮器による剥皮についても検討したが、無処理区と比べて、パツリンが約 30 %残存することから、有効な手段では無く、実用には適さないことが示された。これらの結果は、現在、多くの果汁工場において実施している、熟練した専任の作業員による、軟化や変色部のトリミング手作業が、パツリン汚染の低減化においても極めて有効であることを裏付けた。

長野県のオリジナル品種である‘シナノスイート’、‘秋映’および‘シナノゴールド’と既往品種の‘つがる’および‘ふじ’の混濁果汁を作製し、その品種特性を検討した。‘シナノスイート’は交配が「‘ふじ’×‘つがる’」より、‘ふじ’の特徴を継承した品種であり、甘味特性ならびに混濁果汁の色調面に優れ、官能検査の外観に優れていた。また‘シナノゴールド’は、酸味特性に優れ、糖酸比が良好であった。また、パツリン蓄積量が低く、褐変速度が遅いことも、加工現場において、原料として使用し易い適性を備えている品種であった。‘秋映’は、酸度が高く、糖と酸のバランスに優れ、官能検査から風味、酸味で高い評価が得られた。

本研究により、りんごの産生菌の加害状況を調査する中、パツリン汚染の低減化には低温管理が効果的であり、適切なトリミング作業により加害部を除去することが重要であることを明らかにした。また、新たな基幹3品種を用いて混濁果汁の適性を検討したところ、既往品種と比べて、パツリン蓄積性が低く、加工適性にも優れていることが示された。

これらの研究結果は、リンゴ産業における安全性および高品質果汁製造にとって有用かつ実用的な知見であると考えられる。

引用文献

第 1 章

1. 吉田義雄編著：りんご品種大観，長野県経済事農業協同組合連
合会，pp. 1-2 (1986)
2. 平成 25 年度産果樹出荷統計：農林水産省 (2013)
3. 果樹生産集荷統計：農林水産省 (2010)
4. 農林水産省生産局農産部園芸作物課：特産果樹生産動態等調査
結果 (平成 15 年度～平成 23 年度)
5. 伊崎幸徳：品種別リンゴの加工適性，果汁協会報，347,15-22
(1986)
6. 山王丸靖子，片山脩，檜村芳記，金丸勝芳：リンゴの褐変に及
ぼすポリフェノールオキシダーゼ活性の影響，日食科工誌，45，
28-36 (1998)
7. 宇野和明，宇野良子，前田巖，加田静子：リンゴ果肉の酵素的
褐変における速度論的研究，調理科学，33，7-12 (2000)
8. 竹内正彦，石澤広明，松澤恒友：りんご果汁の高品質化に関す
る研究，果汁協会報，418，13-21 (1992)
9. 竹内正彦，石澤広明，柳原政利：りんご果汁の高品質化に関す
る研究 (第 2 報) 原料の褐変特性について，果汁協会報，441，
39-42 (1994)
10. 松澤恒友，竹内正彦，小田切一広，幸野憲二：りんごの品種別
香气成分の分析と調査について，果汁協会報，345，30-33 (1986)
11. Flank, H.K.: Occurrence of patulin in fruit and vegetables, Ann.
Nutr. Alim., 31, 459-465 (1977)
12. Ciegeler, A. :Fungi that produce mycotoxins: conditions and
occurrence, Mycopathologia, 65, 5-11 (1978)
13. Collin, S., Bodart, E., Badot, C., Bouseta, A., Nizet, S.:

- Identification of the main degradation products of patulin generated through heat detoxification treatments, *J. Inst. Brew. Distil.*, 114, 167-171 (2008)
14. Speijers, G.J., Franken, M.A., VAN Leeuwen, F.X.: Subacute toxicity study of patulin in the rat: effects on the kidney and the gastro-intestinal tract. *Food Chem. Toxicol.*, 26, 23-30 (1988)
15. Schumacher, D.M., Metzler, M., Lehmann, L.: Mutagenicity of the mycotoxin patulin in cultured Chinese hamster V79 cells and its modulation by intracellular glutathione, *Arch. Toxicol.*, 79, 110-121 (2005)
16. Liu, B.H., Yu, F.Y., Wu, T.S., Li, S.Y., Su, M.C., Wang, M.C., Shih, S.M.: Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 191, 255-263 (2003)
17. Draft maximum level for patulin in apple juice and apple juice ingredients in other beverages, Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants (2002)
(ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCFAC/CCFAC34/fa02_19e.pdf)
【最終アクセス日：2014年5月9日】
18. 厚生労働省：乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について、パツリンについて (2003) 【最終アクセス日：2014年5月9日】

第2章

1. Frank, H.K.: Occurrence of patulin in fruit and vegetables, *Ann. Nutr. Alim.*, 31, 459-465 (1977)
2. Cirlgeler, A.: Fungi that produce mycotoxins: conditions and occurrence, *Mycopathologia*, 65, 5-11 (1978)

3. Bandoh, S., Takeuchi, M., Ohsawa, K., Higashihara, K., Kawamoto, Y., Goto, T.: Patulin distribution in decayed apple and its reduction, Intern. Biodetero. Biodegrad., 63, 379-382 (2009)
4. AOAC International, 2005, AOAC Official Method 995.10, Patulin in apple juice. In: Horwitz, W. (ed.) Official Method of Analysis of AOAC International, 18 th ed., AOAC International, Gathersburg, MD, USA

第 3 章

1. 渡辺 満, 鮎瀬 淳: 日本の主要リンゴ品種における *Penicillium expansum* のマイコトキシン産生とパツリン産生に及ぼす果実成分の影響, 日食科工誌, 56, 215-222 (2009)
2. 濱渦 康範, 飯島 悦子: リンゴの果肉抽出物のポリフェノール組成と抗酸化活性, 日食科工誌, 46, 645-651 (1999)
3. Bandoh, S., Takeuchi, M., Ohsawa, K., Higashihara, K., Kawamoto, Y., Goto, T.: Patulin distribution in decayed apple and its reduction, Intern. Biodetero. Biodegrad., 63, 379-382 (2009)
4. AOAC International, 2005, AOAC Official Method 995.10, Patulin in apple juice. In: Horwitz, W. (ed.) Official Method of Analysis of AOAC International, 18 th ed., AOAC International, Gathersburg, MD, USA
5. Costeng, M.Y., Lee, C.Y.: Changes in apple polyphenoloxidase and Polyphenol concentrations in relation to degree of browning, J. Food Sci., 52, 985-989 (1987)
6. 岩浅 潔, 鳥井 秀一: 酒石酸鉄による茶タンニンの比色定量法, 茶研報, No.19, 104-108 (1962)
7. 日本食品科学工学会・新食品分析法編集委員会 編: 新・食品分析法, 光琳, ペクチン, pp.575-584 (1996)
8. Scott, R.W., Colorimetric determination of hexuronic acid in plant

- materials, Anal. Chem., 51, 936-941 (1979)
9. 前川昭男, 菅原龍幸 編: 新食品分析ハンドブック, 建帛社,
2.2.4.3 遊離アミノ酸定量のための試料溶液調製, pp. 41-42
(2000)
 10. 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博: 緑茶中の主要アミノ酸のOPA
によるプレカラム誘導体化高速液体クロマトグラフィーによる分
析, 茶研報, No. 77, 29-33 (1993)
 11. Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R.: The international
harmonized protocol for the proficiency testing of analytical
chemistry laboratories (IUPAC Technical Report), Pure Appl.
Chem., 78, 145-196 (2006)
 12. 伊藤三郎 編: 果実の機能と科学, 朝倉書店, 3.2.2 糖類,
pp.49-52 (2011)

第4章

1. 竹内正彦, 石澤広明, 松澤恒友: りんご果汁の高品質化に関する
研究, 果汁協会報, 418, 13-21 (1992)
2. 竹内正彦, 石澤広明, 柳原政利: りんご果汁の高品質化に関する
研究(第2報)原料の褐変特性について, 果汁協会報, 441, 39-42
(1994)
3. 松澤恒友, 竹内正彦, 小田切一広, 幸野憲二: りんごの品種別
香気成分の分析と調査について, 果汁協会報, 345, 30-33 (1986)
4. Collin, S., Bodart, E., Badot, C., Bouseta. A., Nizet, S.:
Identification of the main degradation products of patulin generated
through heat detoxication treatments, J. Inst. Brew. Distil., 114,
167-171(2008)
5. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003:
FAO FOOD AND NUTRITION PAPER, 81, 23(2004)
6. Bando, S., Takeuchi, M., Ohsawa, K., Higashihara, K., Kawamoto,

- Y., Goto, T.: Patulin distribution in decayed apple and its reduction, Intern. Biodetero. Biodegrad., 63, 379-382 (2009)
7. 日本薬学会編：衛生試験法・注解，金原出版株式会社，pp.278 (1980)
 8. Kobayashi, Y., Habara, M., Ikezaki, H., Chen, R., Naito, Y., and Toko, K.: Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores, SENSORS, 10, 3411-3443 (2010)
 9. 池崎秀和，谷口晃，都甲潔：味センサを用いた緑茶の味の定量化，電学論，117, 465-470(1997)
 10. 古川秀子著：おいしさを図る，株式会社幸書房，pp29-49 (1994)
 11. Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J.: Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. J. Food Sci., 57, 958-962 (1992)
 12. 長野県編集，長野県経済事業農業協同組合連合会.:果樹指導指針，pp.5 (2001)

第 5 章

1. 平成 25 年度産果樹生産出荷統計：農林水産省 (2013)
2. Wilson, D.M. and Nuovo, G.J.: Patulin production in apples decayed by *Penicillium expansum*, Applied Microbiology, 26(1), 124-125 (1973)
3. 長野県園芸特産：長野県農政部園芸特産課 (2011)

謝 辞

本論文研究遂行にあたり、御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました信州大学農学部応用生命科学科教授後藤哲久先生に深甚なる謝意を表します。また、御校閲の労ならびに御指導を賜りました信州大学農学部教授春日重光先生、同教授真壁秀文先生、同教授井上直人先生、東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科教授内野昌孝先生、多くの御助言と御援助をいただきました東京農業大学学長高野克己先生に深く感謝の意を表します。

さらに、本研究の遂行に際し絶大なるご理解とご支援を賜りました一般社団法人長野県農村工業研究所の大槻憲雄理事長はじめ歴代役職員の皆様ならび同研究所の西澤賢一常務理事をはじめ職員の皆様、長野興農株式会社、全国農業協同組合連合会長野県本部の関係者の皆様に心より感謝を申し上げます。

本研究の遂行にあたり、共に研究を行いご支援いただいた信州大学農学部応用生命科学科食品安全性評価研究室の卒業生はじめ関係者の皆様に深く感謝を申し上げます。

最後に、精神的支えてとして温かく見守ってくれた家族に厚く感謝します。

2015年3月

竹内正彦