

キンカンとポンカン果実の成熟及び貯蔵中の 遊離アミノ酸含量とエセホン処理の影響

橋永文男・伊藤三郎

(青果保蔵学研究室)

平成元年8月10日 受理

Free Amino Acid Content in Kumquat and Ponkan Fruits during Maturation and Storage with and without Ethephon Treatments

Fumio HASHINAGA and Saburo ITOO

(Laboratory of Postharvest Physiology and
Preservation of Fruits and Vegetables)

緒 言

キンカンとポンカンは鹿児島県が主要な産地であり、これらは果肉の熟度に比べて着色が遅く、そのため年内収穫をめざして、エセホン処理^{8,9)}やハウス栽培が試みられている。エセホン処理ではクロロフィルの分解による着色促進⁹⁾のみならず、カロチノイドの合成や肥大促進とともに、果実重の増加や果皮率の増加等がみられる^{5,6)}。また品質に関する研究として時期別の成分変化も研究されている^{4,7)}。

一方、果実の呈味成分の一つとして、糖や酸のほかにアミノ酸があり、生理学的にも重要な役割を果している。そこで成熟段階別に採取した果実を果皮と果肉に分けて遊離アミノ酸含量を分析した。またポンカンについては貯蔵後の果実についても測定した。さらにエセホン処理した果実のアミノ酸も同時に測定して比較することにより、エセホン散布の影響の有無を検討した。

材料と方法

キンカン：前報⁵⁾と同じ処理を行った果実を使用した。すなわち加世田市のニンボウキンカン (*Fortunella crassifolia* Swingle) の10樹 (6年生) から2週間おきに10個ずつ採取し、そのうちからM級果実だけ30個を選別して測定した。同時に400 ppmのエセホン (2-chloroethylphosphonic acid) を10月30日に散布した果樹から採取した果実も同様にして測定した。

ポンカン：使用した果実は前報⁶⁾と同じであり、鹿児島県吹上町のポンカン (*Citrus reticulata* Blanco) (25年生, 10樹) を選定し、2週間おきに20個ずつ採取した。同時に200 ppmのエセホンを11月1日に散布した区についても同様にして測定した。さらにポリエチレン (0.02mm) に20個ずつ果実を入れて (4月7日分析果は収穫後4%の予措を行った果実である)、10℃と常温で貯蔵したものについても分析した。

アミノ酸の抽出：キンカンを15個、ポンカンを10個用い、果皮と果肉に分けたのち、それぞれ10gずつとり、40mlのエタノールを加えてホモジナイズし、アミノ酸を抽出した。さらに80%エタノールで2回抽出したのち、濃縮乾固し、それを0.25Nクエン酸リチウム又はクエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.2) に溶解してアミノ酸分析用試料とした。

アミノ酸の測定：アミノ酸の分析には全自動アミノ酸分析計 (日本電子, JLC-6AH) を用いた。溶離剤としてはクエン酸ナトリウム緩衝液 (3種) だけを用いて迅速に分析したものと、中酸性アミノ酸分析用にクエン酸リチウム緩衝液 (3種) とクエン酸ナトリウム緩衝液 (2種) を用いた場合とで実験した。

結 果

キンカン果実の遊離アミノ酸：Table 1 のように果皮の遊離アミノ酸は成熟期間中 (10月~12月) は121~155mg/100gであり、果肉の147~159mg/100

Table 1. Free amino acids in kumquat fruits during maturation (mg/100 g)

Amino acids	Flesh						Peel					
	Oct. 18	Oct. 30	Nov. 15	Nov. 29	Dec. 10	Dec. 17	Oct. 18	Oct. 30	Nov. 15	Nov. 29	Dec. 10	Dec. 17
Asp	26.1	25.2	20.4	17.4	15.8	15.6	4.1	6.2	5.9	6.2	5.2	4.3
Thr	3.1	2.4	2.2	1.7	1.6	1.5	2.6	3.2	3.2	2.8	2.2	1.8
Ser	15.9	14.3	12.7	14.0	11.1	9.0	16.6	12.5	9.1	9.9	9.6	8.0
Asn	28.9	23.5	21.1	16.8	13.0	12.0	26.6	19.1	17.8	13.2	11.9	8.0
Glu	12.4	10.3	8.7	6.9	5.7	5.6	1.6	2.9	4.5	3.5	4.4	3.9
Gln	0.7	0.8	0.7	0.9	1.1	1.2	1.5	1.4	1.3	1.4	2.5	2.0
Pro	19.9	32.8	50.3	64.2	72.2	74.8	28.2	49.1	65.0	79.7	83.4	85.1
Gly	0.9	0.8	0.7	0.6	0.6	0.5	0.8	0.6	0.4	0.4	0.4	0.2
Ala	10.0	8.4	6.0	5.5	4.4	3.9	11.2	7.8	4.9	4.8	4.9	4.1
α -Abu* ¹	t* ³	t	t	t	t	t	0.1	0.1	t	t	—	—
Var	1.1	0.8	0.7	0.4	0.4	0.2	1.0	0.7	0.5	0.3	0.4	0.3
Met	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Ile	0.9	0.7	0.5	0.4	0.3	0.2	0.7	0.7	0.5	0.4	0.4	0.2
Leu	0.5	0.5	0.3	0.2	0.2	0.1	1.0	0.6	0.4	0.3	0.4	0.2
Tyr	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.9	0.5	0.5	0.4	0.5	0.3
Phe	1.5	1.3	0.6	0.6	0.6	0.2	1.0	0.7	0.6	0.5	0.6	0.5
γ -Abu* ²	22.9	19.0	17.2	17.7	16.5	12.4	20.8	19.1	18.0	16.7	20.4	18.8
Orn	0.4	0.5	0.4	0.6	0.8	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3
His	t	t	t	0.1	0.2	0.1	t	t	0.1	0.1	0.2	0.1
Lys	0.4	0.3	0.3	0.4	0.5	1.0	0.4	0.3	0.3	0.4	0.5	0.6
Try	0.3	0.4	—	—	—	t	t	t	—	—	—	—
Arg	2.9	4.4	5.2	11.1	12.8	15.9	1.5	1.0	2.5	3.6	6.9	8.8
Total amino acids	149.1	146.6	148.2	158.7	158.0	155.2	120.9	126.8	137.0	144.9	155.2	147.6

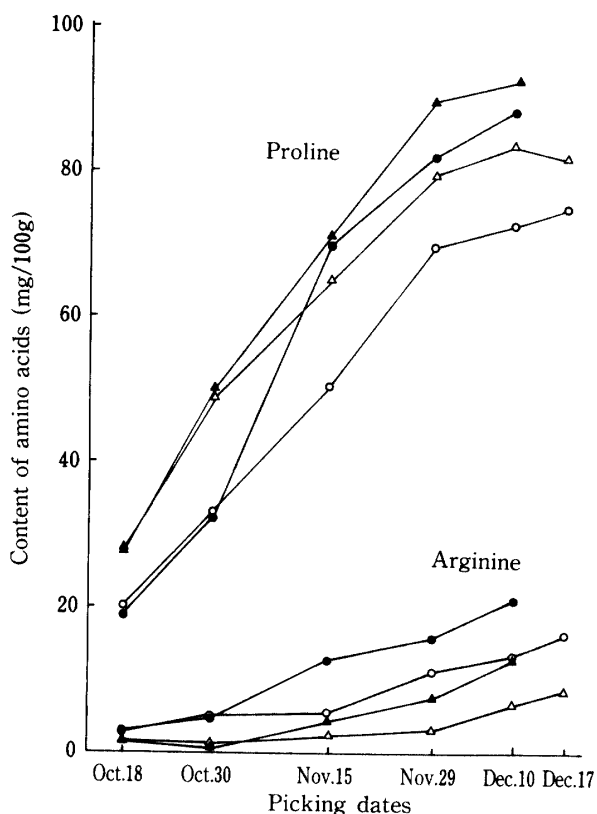
*¹: α -Aminobutyric acid Monoethanolamine: 0.5~2.5mg/100 g*²: γ -Aminobutyric acid Ammonia: 0.5~1.5mg/100 g*³: Trace (≤ 0.1 mg/100 g)

g に比べて少なかった。そのうちプロリンは果皮、果肉とも成熟につれて著しく増加し、適熟期（12月17日）には果肉のプロリンは全遊離アミノ酸の48%を占め、一方、果皮では58%に達した。次に多いアミノ酸はアルギニンであり、以下アスパラギン酸、 γ -アミノ酪酸、アスパラギン、セリン、グルタミン酸、アラニン、スレオニン、グルタミンの順であった（1.2mg/100 g 以上）。果皮ではアスパラギン酸が γ -アミノ酪酸、アスパラギン、セリン、アルギニンより少なかった。

果肉の中性アミノ酸の多くは成熟に伴って減少する傾向があり、反対に塩基性アミノ酸ではほとんどすべて増加した。その他ニンヒドリン陽性物質としてモノエタノールアミン（0.5~2.5mg/100 g）、アンモニア（1.5~0.5mg/100 g）が検出され、さらに100 g 当たり数mg程度の2個のニンヒドリン陽性物質がすべての部位に存在していたが、主要な既知アミノ酸とは保持時間が一致しなかった。

キンカン果実に対するエセホン処理：対照区との差が最も大きかったアミノ酸はプロリンであって処理区の方が多く、つづいてアルギニンであった（Fig. 1）。果皮と果肉において大部分のアミノ酸がエセホン処理によって増加した。処理後1か月（11月29日）では全遊離アミノ酸が対照区と比べて果肉で100 g 当たり40mg、果皮で30mg増加していることが認められた。そのほかセリン、グルタミン、アラニン、バリンの濃度が高くなる傾向があった。

ポンカン果皮の遊離アミノ酸とエセホン処理：成熟中の果皮の遊離アミノ酸含量とエセホン処理したものを Table 2 に示した。ポンカンでもプロリンが最も多く（49~110mg/100 g）、全遊離アミノ酸の53%（12月10日）を占めた。次にアスパラギン、 γ -アミノ酪酸、さらにセリン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニールアラニン、グルタミン、スレオニン、チロシンであった。全遊離アミノ酸はキンカンと大差なく、157~131mg/100 g で



あった。

成熟中のポンカン果皮ではエセホン処理区の方がアミノ酸含量が46~48mg/100g多かったが、貯蔵した果実では両者の差が少なくなった。しかし全遊離アミノ酸濃度が常温貯蔵区で顕著に増加していた。特にプロリンの増加が著しく、そのほかアスパラギン、アスパラギン酸、スレオニン、セリン、グルタミン酸、グルタミン、フェニールアラニン、 γ -アミノ酪酸、アルギニン等がエセホン処理で増加した。

ポンカン果肉の遊離アミノ酸とエセホン処理：成熟中のポンカン果肉の遊離アミノ酸はキンカン果肉のものより多く、156~188mg/100gであった (Table 3)。11月初めに最も多かったセリン画分 (全遊離アミノ酸の45%) はセリンのほかにアスパラギンとグルタミンを多く含むが、これらはエセホ

Fig. 1 Changes in proline and arginine contents of kumquat fruits after ethephon treatment.
Flesh: Control (○), Ethephon treatment (●)
Peel: Control (△), Ethephon treatment (▲)

Table 2. Changes in free amino acids of ponkan peel after ethephon treatment (mg/100 g)

Amino acids	Picking dates								35 days storage			
	Nov. 1		Nov. 15		Nov. 29		Dec. 10		10°C		RT	
	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
Asp	3.6	4.7	5.2	5.8	7.6	5.5	8.8	7.8	10.7	16.0	24.6	
Thr	2.1	1.5	1.7	1.9	2.6	2.0	2.3	1.4	1.9	3.0	3.0	
Ser	19.1	12.8	19.3	8.8	13.9	9.4	12.9	7.9	8.5	12.0	19.3	
Asn	34.5	18.0	41.4	17.3	36.6	18.6	30.6	39.4	63.8	55.3	101.1	
Glu	2.2	2.5	2.9	3.8	6.2	3.5	5.1	6.1	5.9	7.7	10.2	
Gln	2.4	1.9	3.8	2.3	3.4	2.3	4.4	3.9	4.4	7.2	13.7	
Pro	48.9	52.3	62.8	66.0	80.6	89.7	109.6	82.2	80.4	85.7	106.2	
Gly	1.3	0.9	1.1	0.6	0.8	0.6	0.8	0.5	0.5	1.2	1.9	
Ala	8.7	6.9	6.8	7.0	5.5	6.3	5.3	5.3	5.8	7.7	10.6	
α -Abu*1	t*3	—	—	—	t	—	—	t	t	0.2	0.2	
Val	0.9	0.6	0.5	0.5	0.6	0.4	0.6	0.5	0.4	1.1	1.1	
Met	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	
Ile	0.7	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.5	0.4	0.8	0.7	
Leu	0.8	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	
Tyr	1.4	1.3	1.3	1.1	1.2	1.0	1.1	1.2	1.2	2.5	2.3	
Phe	1.6	1.9	2.1	2.5	2.9	2.5	2.6	3.2	4.8	12.3	11.0	
γ -Abu*2	24.2	20.6	22.0	17.9	19.5	18.9	20.2	14.4	15.1	11.5	16.2	
Orn	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1	0.1	
His	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.9	1.1	1.7	1.9	
Lys	0.4	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.4	0.7	0.7	0.7	0.7	
Try	3.0	2.8	3.6	2.8	3.0	3.0	2.8	5.0	5.1	5.1	5.0	
Arg	0.7	0.8	0.7	1.0	3.1	2.8	5.2	8.8	11.5	8.6	10.7	
Total amino acids	157.2	131.2	176.7	140.7	189.1	167.8	214.0	190.4	223.0	241.2	341.3	

*1: α -Aminobutyric acid

*2: γ -Aminobutyric acid

*3: Trace (≤ 0.1 mg/100 g)

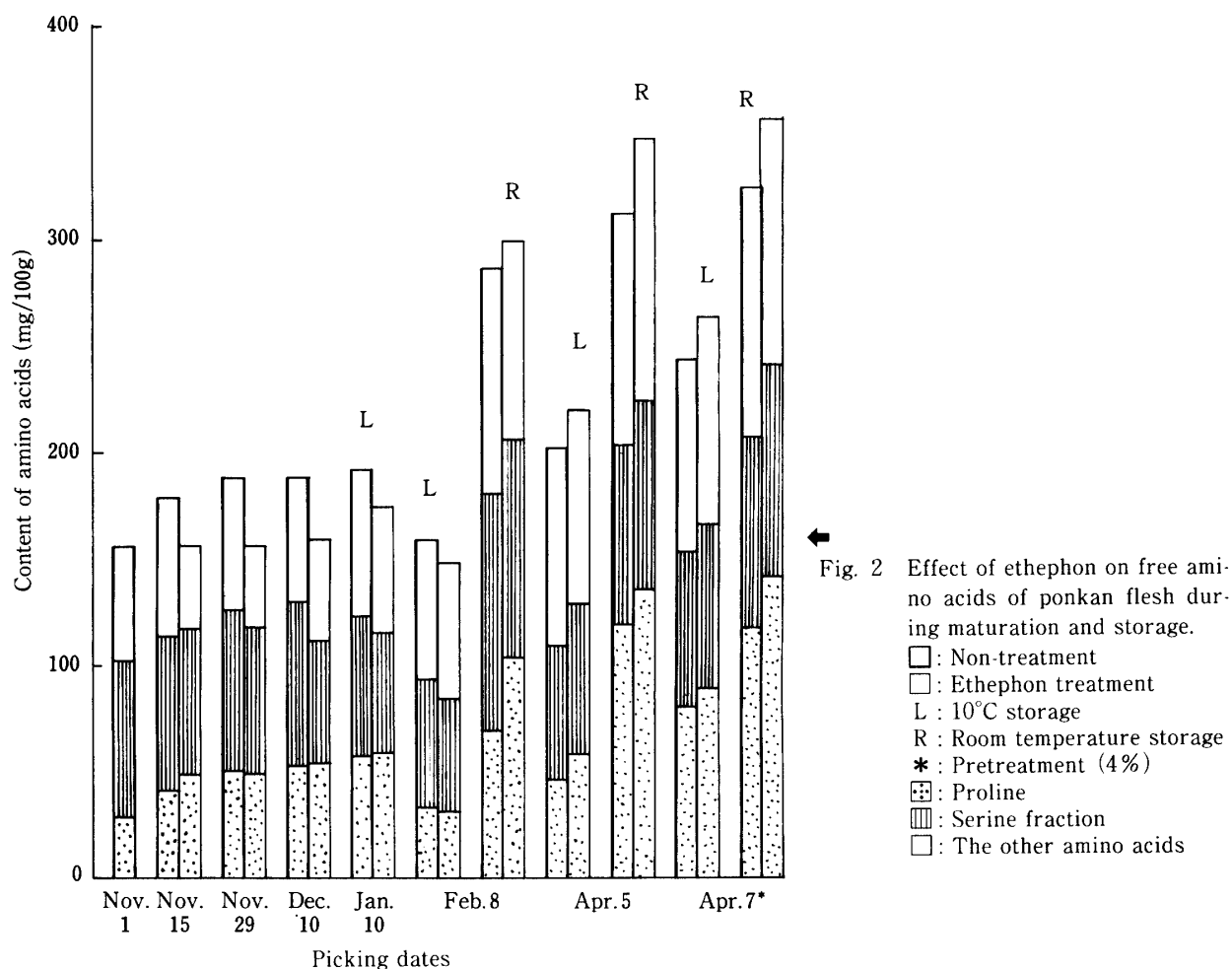
RT: Room temperature

C: Control fruits

T: Ethephon treated fruits

Table 3. Changes in amino acids of ponkan flesh during maturation and storage (mg/100 g)

Amino acids	Picking dates				Sampling dates of storage fruits							
	Nov. 1	Nov. 15	Nov. 29	Dec. 10	Jan. 10	Feb. 8		Apr. 5		Apr.* ¹ 7		
					10°C	10°C	RT* ²	10°C	RT	10°C	RT	
Asp	18.5	16.7	14.6	8.8	10.4	11.6	23.0	18.5	23.1	18.0	22.9	
Thr	1.1	2.7	6.1	10.6	5.8	4.1	4.7	10.7	8.1	5.7	7.8	
Ser fr.* ³	72.2	73.1	75.0	77.3	64.9	60.6	112.0	63.2	85.1	72.7	88.8	
Glu	10.6	9.8	9.8	3.3	7.0	6.5	8.7	14.9	12.8	14.2	8.3	
Pro	29.2	40.6	50.4	52.9	56.7	33.0	68.7	45.4	118.4	80.0	118.0	
Gly	0.8	1.0	0.4	0.7	0.6	0.9	1.7	1.2	1.6	1.4	2.3	
Ala	10.7	9.0	7.8	4.7	6.5	8.2	17.5	16.7	20.6	17.3	20.6	
Val	0.4	0.3	0.6	t	0.4	0.9	1.4	1.9	2.2	2.0	2.9	
Met	t	0.1	t	t	t	t	0.6	0.4	0.5	0.3	0.4	
Ile	0.2	t	t	t	0.2	0.5	0.8	1.0	1.0	0.8	1.4	
Leu	0.2	0.2	0.2	t	0.1	0.5	0.4	1.2	0.7	0.9	1.4	
Tyr	0.5	0.6	0.4	0.4	0.9	1.8	2.1	1.5	2.9	2.9	3.7	
Phe	2.5	2.5	2.3	2.2	2.4	3.4	4.9	4.0	6.3	4.5	7.7	
Lys	0.3	0.6	1.2	1.4	1.4	1.5	3.4	1.5	3.0	1.4	2.7	
His	t	t	0.2	0.1	0.5	0.7	1.8	1.2	1.5	1.3	2.4	
Arg	8.9	22.1	18.8	25.4	24.2	24.5	34.4	18.8	23.0	20.0	33.0	
Total amino acids	156.1	179.3	187.8	187.8	182.0	158.7	286.1	202.1	310.8	243.4	324.3	

*¹ : Pretreatment (4%)*² : Room temperature*³ : Serine, glutamine and asparagine

ン処理で顕著に減少した (Fig. 2). したがって全遊離アミノ酸としては処理区の方が約20~30mg/100g少なくなった. 適熟果 (12月10日) で多いのはプロリン (28%) で、つづいてアルギニン、スレオニン、アスパラギン酸、アラニン、グルタミン酸、フェニールアラニンであった. しかし貯蔵することによってエセホン処理区のアミノ酸が対照区に比べて著しく増加し、対照区より20~30 mg/100g多くなった.

考 察

キンカンとポンカンには22種の遊離アミノ酸が検出されたが、そのほかに100g当たり数mgを示す大きい2個のピークがあった. しかし、いずれも既知アミノ酸とは一致しなかったため、全遊離アミノ酸には加えなかった. またカンキツ中の遊離アミノ酸として報告¹⁾されている β -アラニン、シスチン、シトルリン等はこれらのカンキツ中には検出されなかった. さらにトリプトファン²⁾の存在を報告している例も少ないが³⁾、HPLCによるアミノ酸の分析の報告²⁾ではオレンジ果汁中に数mg/100g程度検出されている. 遊離アミノ酸測定法の詳細については未発表であるが、本法のように塩基性アミノ酸の分析条件を改良することによってカンキツ中のトリプトファンを測定でき、またポンカン果肉の遊離アミノ酸も果皮と同様に22種以上のアミノ酸が検出されるものと考えられる.

エセホン処理の濃度によって糖がわずかに増減する傾向を示すという報告^{3,6)}のように、遊離アミノ酸もエセホン散布濃度の違いによってこれらの影響に差が出てくるかもしれない. 一方、成熟中の果実のアミノ酸はプロリンとアルギニンが増加し、果肉ではアスパラギン酸が減少すること、また貯蔵中に遊離アミノ酸の合計が増加することは他の報告と同じであり^{4,10,11)}、このような変化はカンキツ果実で成熟及び貯蔵中に一般的に認められる影響かもしれない. この傾向は全窒素の測定結果^{5,6)}からも裏付けられる.

さらに貯蔵中の果実の減量は最初の10日間貯蔵で、常温では3~4%、10℃では1.2%、50日間貯蔵ではそれぞれ9~10%と3.7%であり、4%予措区はこの時点で対照区と3%の差があった. このように両者の貯蔵環境条件が、特に湿度の点で異なっていた. そのため上述の結果は呼吸代謝のほかに果実からの水分蒸散による濃縮効果も一因として考えられ

る.

要 約

成熟中及び貯蔵中のキンカンとポンカン果実の遊離アミノ酸含量の測定を行い、併せてエセホン処理によるこれらアミノ酸の変化の有無を検討した.

1. キンカン果実の遊離アミノ酸は22種検出され、果肉の全遊離アミノ酸含量は果皮のものより多かった. 成熟果の主要なアミノ酸はプロリンであり、果肉ではつづいてアルギニン、アスパラギン酸、 γ -アミノ酪酸、アスパラギン、セリンであった. 果皮のプロリンの割合は果肉より高く、全遊離アミノ酸の58%を占め、次に γ -アミノ酪酸、アルギニン、アスパラギン、セリンであった.

2. エセホン処理により、キンカン果実のプロリンとアルギニンの含量が対照区に比べて顕著に増加した. そのほかセリン、グルタミン、アラニン、バリンが増加の傾向を示した.

3. ポンカン果皮のアミノ酸として22種が検出された. 成熟果の主要なアミノ酸は53%がプロリンで、次に γ -アミノ酪酸、アスパラギンが多く、さらにセリン、アラニン、アスパラギン酸であった. 果肉ではセリン画分 (セリン+アスパラギン+グルタミン) が多く、次にプロリン、アルギニン、スレオニン、アスパラギン酸であった. 貯蔵により全遊離アミノ酸含量が高くなったが、10℃貯蔵では一旦減少したあと増加した. 常温貯蔵の方が10℃貯蔵より増加の割合が顕著であった.

4. ポンカン果肉の成熟中の全遊離アミノ酸はエセホン処理区ではセリン画分の減少のため、20~30mg/100g少なかったが、貯蔵するとエセホン処理区の方が高くなった. この傾向は常温貯蔵の方がいっそう顕著であった.

文 献

- 1) Burroughs, L. F. : Amino acids. In Hulme, A. C. (ed.), The biochemistry of fruits and their products. p.119-146. Academic Press Inc., New York (1970)
- 2) Chaytor, J. P. : The analysis of amino acids in fruit juices by high-performance liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.*, **37**, 1019-1026 (1986)
- 3) Daito, H. and Hirose, K. : Studies on maturity of citrus fruit I Changes in the amino acid content of 'Satsuma' mandarin juice during maturation. *Bull. Hort. Res. Sta., Japan, Ser. B, No. 11*, 19-32 (1971)
- 4) 大東 宏・富永茂人：瀬戸内地域における中晩生カンキツ果実の品質に関する研究 第4報 果汁中アミノ酸組成と含

- 量の時期別変化. 四国農試報, **No. 37**, 75-85 (1981)
- 5) 橋永文男・伊藤三郎: キンカン果実の成熟に対するエセホン処理の影響. 鹿大農学術報告, **No. 35**, 43-47 (1985)
- 6) 橋永文男・西保則・大和文明・伊藤三郎: ポンカン果実の成熟に対するエスレル (2-Chloroethylphosphonic acid) 処理の影響. 鹿大農学術報告, **No. 30**, 55-61 (1980)
- 7) 伊藤三郎・橋永文男・沢大作: 亜熱帯性果実の果汁品質に関する研究. I. ポンカン, タンカンの有機酸, 糖分および香気成分等の時期別変化. 鹿大農学術報告, **No. 25**, 73-83 (1975)
- 8) 岩堀修一・富永茂人・大畑徳輔: エスレルによるポンカン果実の着色促進. 鹿大農学術報告, **No. 27**, 7-13 (1977)
- 9) 岩堀修一・米山三夫・大畑徳輔: エスレルによるキンカン果実の着色促進. 鹿大農学術報告, **No. 29**, 43-48 (1979)
- 10) 鈴木忠直・久保直哉・萩沼之孝・田村真八郎: 温州ミカンの CA 貯蔵中における遊離アミノ酸含量の変化. 食総研報, **No. 37**, 90-97 (1980)
- 11) 富永茂人・大東宏: 中晩生カンキツの貯蔵温度とポリエチレンフィルム包装が果実の品質に及ぼす影響. 四国農試報, **No. 40**, 92-127 (1982)

Summary

Free amino acid contents in kumquat (*Fortunella crassifolia* Swingle) and ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) fruits during maturation and storage were determined and then were compared with those of the ethephon (2-chloroethylphosphonic acid) treated fruits. The results obtained are as in the following:

1. Twenty-two amino acids were identified in kumquat fruits, whose total amount was more numerous in the flesh than that in the peel. At their ripening stage the major amino acids in the kumquat fruits were proline (58% of the total amino acids), followed by arginine, aspartic acid, γ -aminobutyric acid, asparagine and serine.
2. Proline and asparagine in kumquat fruits treated with ethephon increased rapidly during maturation, and serine, glutamine, alanine and valine showed a tendency for increasing, too.
3. In the peel of ponkan twenty-two free amino acids were detected. The most predominant free amino acid was proline (53%), the second being γ -aminobutyric acid, followed by asparagine, serine, alanine and aspartic acid. In ponkan flesh, serine fraction (serine, asparagine and glutamine) was most predominant, followed by proline, arginine, threonine and asparagine. During storage the contents of total free amino acids increased. During storage the total amino acids of the flesh and peel of the fruits decreased in a first month, and then increased gradually, whose rate was higher at a room temperature than in the storage at 10°C.
4. During maturation, due to the decreasing of serine fraction, the total amino acids of ponkan fruits treated with ethephon decreased by 20~30mg/100g, showing less figures than those of the control fruits. After storage, however, the total amino acids in the fruits treated with ethephon increased more than those of the control fruits, especially during the storage at a room temperature.