

博士論文

エディブルコーティングによる青果物の
品質保持効果とその作用機構に関する研究

2022年3月

平 夏樹

岡山大学大学院
環境生命科学研究科

目次

第1章	緒論	
	1-1. 研究の背景	1
	1-2. 本研究課題と目的	4
第2章	キトサン／アルギン酸から成る多層エディブルコーティングがニホンナシ‘幸水’果実の品質保持および果実の遺伝子発現に与える影響に関する研究	
	2-1. 緒言	5
	2-2. 材料および試験方法	5
	2-3. 結果	8
	2-4. 考察	20
	2-5. 摘要	23
第3章	キトサン／ペクチンから成る複合体エディブルコーティングがスダチ果実の品質保持および塗工回数を与える影響について	
	3-1. 緒言	24
	3-2. LBL, IC コーティング処理および 1-MCP 処理がスダチ果実の品質保持に及ぼす影響（実験 1）	
	3-2-1. 材料および試験方法	25
	3-2-2. 結果	26
	3-3. IC コーティング処理の積層数がスダチ果実の品質保持におよぼす影響（実験 2）	
	3-2-1. 材料および試験方法	33
	3-2-2. 結果	34
	3-4. 考察	34
	3-5. 摘要	36
第4章	シュガーエステルコーティングが青果物貯蔵の品質保持に与える影響に関する研究	
	4-1. 緒言	38
	4-2. SE コーティング処理がカキ‘平核無’果実の熟成に及ぼす影響と 1-MCP, プラスチック包装との比較（実験 1）	
	4-2-1. 緒言	40
	4-2-2. 材料および試験方法	41
	4-2-3. 結果	42
	4-2-4. 考察	46

4-3. SE コーティング液の濃度がカキ‘中谷早生’果実の熟成に及ぼす影響 (実験 2)	
4-3-1. 緒言	47
4-3-2. 材料および試験方法	47
4-3-3. 結果	48
4-3-4. 考察	50
4-4. SE コーティング処理を行ったバナナ果実の熟成に及ぼす影響と外生 プロピレン処理の受ける影響 (実験 3)	
4-4-1. 緒言	51
4-4-2. 材料および試験方法	51
4-4-3. 結果	52
4-4-4. 考察	56
4-5. SE コーティング液の濃度がスダチ果実の品質保持に及ぼす影響 (実 験 4)	
4-5-1. 緒言	57
4-5-2. 材料および試験方法	57
4-5-3. 結果	58
4-5-4. 考察	61
4-6. SE コーティング処理を行うタイミングがスダチ果実の品質に及ぼす 影響 (実験 5)	
4-6-1. 緒言	62
4-6-2. 材料および試験方法	62
4-6-3. 結果	63
4-6-4. 考察	66
4-7. SE コーティング層のガスバリア性評価 (実験 6)	
4-7-1. 緒言	67
4-7-2. 材料および試験方法	67
4-7-3. 結果および考察	68
4-8. 摘要	69
第5章 本研究で得られた成果および今後の展開と課題	70
引用文献	72
謝辞	80

第1章 緒論

1-1. 研究の背景

国連 WFP (World Food Programme) によると世界には全人口を賄うだけの十分な食料があるにもかかわらず、9人に1人は飢えに苦しんでいる。途上国においては生産の段階や収穫の後に廃棄される「ポストハーベスト・ロス」が問題になっており、これは農産物の保存や輸送時の取り扱いが十分ではないために生じている (WFP, 2022)。収穫後の農産物の品質を維持しロスを削減するポストハーベストテクノロジーにおいて重要な技術は農産物を取り巻く温度の制御とガス環境の制御である (Fonseca ら, 2002)。1927年に Kidd らは低酸素濃度・高二酸化炭素濃度のガス環境がリンゴの貯蔵期間延長に寄与することを示し (Kidd ら, 1927)、その2年後にイングランドで CA 貯蔵 (controlled atmosphere) としてリンゴの長期貯蔵に実用化された。制御されたガス環境は青果物の呼吸を抑制し、その結果、酸化反応の低減、クロロフィル分解の低減、エチレン生成の抑制とそれに伴う熟成挙動の抑制やエチレン応答性の生理活性の抑制といった青果物の品質低下に関わる過剰な熟成や老化現象の進行を防止し、長期貯蔵に寄与した (Beaudry, 1999)。プラスチックフィルムで青果物を包装した内部に CA 環境を作る MA 包装 (modified atmosphere) も青果物の貯蔵延長に実用化されている。MA 包装では青果物の呼吸による酸素消費と二酸化炭素排出、それとプラスチック包装材の持つ酸素、二酸化炭素のガス透過性のバランスにより包装内で青果物の周囲に CA 環境を作っている (Kader, 1997)。CA 貯蔵と MA 包装は技術的には同じ考えを基本にしており、低酸素、高二酸化炭素環境が青果物の貯蔵延長には重要な役割を果たしていることがわかる。しかしながら CA 貯蔵は従来の冷蔵保管設備に加えガス環境を制御する設備が必要となり、高額な初期投資が生産者の負担になる (Chope ら, 2007)。MA 包装は CA 貯蔵よりも安価に技術導入できる一方で、プラスチック包装材の廃棄問題を潜在的に抱えており、昨今の環境配慮への意識の高まりを考慮すると改善の余地が必要である (Raghav ら, 2016)。

近年、これに代わる技術として環境に配慮でき、かつ安全なエディブルコーティングが注目を集めている。エディブルコーティングとは、可食性の材料で青果物に直接コーティングを行うことにより、青果物表面に物理的な障壁を設ける技術である。コーティングに用いる材料は可食性材料で構成されるためそのまま食べることが可能であるため除去の必要がない。また青果物表面に設けられたコート層は数 μm 以下の薄層のため青果物本来の味や風味に影響を与えることもない。この物理的な障壁により酸素、二酸化炭素、水分の移動を制御することで青果物の呼吸量、蒸散量を制御し、鮮度低下に関わる農産物の生理活性を抑制することが技術的な狙いである。さらにエディブルコーティングには機械的、微生物的な損傷からの保護や外観の向上、芳香成分の損失の抑制といった CA 貯蔵や MA 包装では成しえなかった機能についても期待ができる (Baldwin, 2011)。

青果物が持つ本来の商業的価値を損なってはならないためエディブルコーティングには

無味無臭であること、無色透明であること、もちろん安全で可食性であることが求められる。この制約を受け、これまでにエディブルコーティング技術への適用材料としてタンパク質、脂質、多糖類などが検討されてきた (Raghav ら, 2016)。

タンパク質はアミノ酸を基本骨格とする直鎖状のポリマーであり、構成アミノ酸に由来して α ヘリックスや β シート構造を形成し諸物性に様々な影響を与えることから研究者の注目を集めている (Janjarasskul・Krochta, 2010)。牛乳由来のホエイタンパク質は最も身近にあふれている精製タンパク質の一つであり、産業的にはチーズ製造工程の廃材から取り出すことができる (Siso, 1996)。ホエイタンパク質は高い酸素バリア性と単独自立膜を形成できる特徴を有するため、酸素ガスバリア性が求められるマヨネーズの包装チューブや食品包装材料としてよく使われるエチレン-酢酸ビニル共重合体 (EVOH) の代替材料として検討されている。エディブルコーティングへの応用として、リンゴ果実の品質維持への効果について検討がなされている (Cisneros-Zevallos・Krochta, 2003) が、ホエイタンパク質は水と相性が良い化学構造を有するためコーティング層の防湿性が低く、青果物貯蔵の観点では課題となることが示唆されている (Mahmoud・Savello, 1992)。その点、トウモロコシ由来のゼインタンパク質は透明、無臭、無毒、生物分解可能なだけでなく、豊富な疎水性アミノ酸 (例えばプロリン、グルタミン、及びアスパラギン) を有するため優れた防水性を示し、ホエイタンパク質にあった防湿性の課題解決に期待が持たれている。実際、グアバ果実に適用し、外観の変化、軟化、重量減少の抑制に寄与することが示されている (Moradi ら, 2016)。しかしながらゼインタンパク質はそのアミノ酸構造由来の疎水性ゆえに水単独には溶解せず、コーティング液として用いるには高い濃度のエタノールの併用が必要となる。そのためコーティング工程には防爆設備などの耐アルコール対応が求められるため生産性に課題が残る (Santos ら, 2018)。ユニークな技術として蚕の繭から抽出したシルクたんぱく質のエディブルコーティングへの応用検討がある。Marelli (2016) らはシルクタンパク質の高次構造を制御し、果実へのコーティング前後でタンパク質の高次構造を変える操作に成功している。そのため水系のコーティング液を達成しつつ、コーティング後にタンパク質内の α ヘリックス構造が β シート構造に変化することで乾燥後のコーティング層でガスバリア性を高められている。実際にイチゴ果実、バナナ果実へ適用し、貯蔵品質維持に対し効果を示した (Marelli ら, 2016)。しかしながらタンパク質を用いたエディブルコーティングはその材料がアレルギーであることが少なくなく、エディブルコーティング技術が消費者の安全安心につながるには高いハードルがある (Grosso ら, 2020)。またゼラチンを用いたエディブルコーティングでイチゴ果実の品質維持を示した報告もあるが (Fakhouri ら, 2014)、ゼラチンは豚肉から抽出されるため一部の宗教信念の観点で消費者全員が隔てなく安全安心に利用できるものではない。

多糖類とはグルコースやマンノースなどの糖類が化学結合で繋がった高分子化合物であり、栄養成分表示の分類でいえば炭水化物にあたる。構成単位である単糖の構造だけでなく、それぞれの構成単糖の結合の向きや直鎖状、側鎖状および分岐状といった単糖の組み合わせ

せ方法でも示す性状は変わってくる。例えば直鎖状に繋がった単糖としてセルロースやペクチン、キトサン、アルギン酸があり、側鎖状にはグァーガム、分岐状にはアラビアガムなどが挙げられる。多糖類は単糖構造の特徴から非イオン性とイオン性の化合物に分類ができる。非イオン性の多糖類としてはプルランやメチルセルロースが挙げられ、イチゴ果実の糖度、硬度、果皮色の維持に寄与したことが報告されている (Eroglu, 2014; Nadim ら, 2014)。負の帯電を持つアニオン性の多糖類としてはアルギン酸、アラビアガム、キサンタンガム、ペクチンなどがある。アルギン酸は海藻類から抽出できる天然多糖類であり、構造中にカルボン酸を含むため負に帯電する。一般的にはカルボン酸のカウンターイオンとしてナトリウムイオンを含むアルギン酸ナトリウムとして使用され、優れた防湿性があるとされている (Robertson ら, 2005)。アラビアガムはアシアから抽出された水への溶解性が高い天然多糖類であり、乳化剤や安定剤として食品に広く用いられている。エディブルコーティングにアラビアガムを乳化剤として他の主剤と共に用いた事例もあるが (El-Anany ら, 2009), Ali ら (2010) はアラビアガムを主剤として用いてトマト果実の品質維持に効果があることを示した (Ali, 2010)。キトサンは一般的に天然物から入手できる唯一のカチオン性多糖類であり、抗菌性を示す特徴的な性質を持つことから他のエディブルコーティングで示されてきた呼吸、蒸散の抑制以外に微生物由来の劣化抑制に期待が持たれている (Shiekh, 2012)。

脂質を用いたエディブルコーティングとしてはカルナウバワックス、蜜蝋、パラフィンワックスが報告されている。脂質系のエディブルコーティングは疎水性のため優れた耐水性を示す一方で、消費者の安全、また青果物への影響を考慮すると有機溶媒の使用は避けたいため、エディブルコーティングに適用するには制限が大きかった (Xie, 2020)。また脂質系材料の多くは油状の触感や匂いなどを有するため、エディブルコーティングの基本的な趣旨である青果物が本来持つ味や風味、香りといった商品価値を損なわずに適用することが難しいとされている (Robertson ら, 2005)。

多くの研究報告でエディブルコーティングは収穫後青果物の品質維持に良い効果をもたらすことが示されているが、商業的実用性の観点においては単層コーティングでは密着性不足やコート層の不均一性、低い水蒸気透過抑制性能といった課題が指摘されている (Poverenov ら, 2014)。このような課題から多層でのコーティングの設計はエディブルコーティングがもたらす有用性をより向上することが期待されている (Falguera ら, 2011)。多層コーティング方法の一つに静電相互作用を利用した Layer-by-Layer (LBL) がある (Decher, 1997)。これは逆の電荷を有するカチオン性の高分子電解質とアニオン性の高分子電解質を対象物表面に交互に積層させるものであり、エディブルコーティングに応用した事例としてキトサン/ペクチン (Brasil ら, 2012; Medeiros ら, 2012)、キトサン/アルギン酸 (Poverenov ら, 2014; Souza ら, 2015; Nair ら, 2020) があり、収穫後青果物の品質維持向上に効果を見出している。LBL エディブルコーティングにおける各材料の働きや相乗効果はよく検討されており、例えば食感や内容成分といった青果物の品質特性への影響、酸

素ガスバリア性、水蒸気ガスバリア性による酸化や菌による品質劣化に対する抑制の効果、呼吸やエチレン生成が抑制されることによる熟成進行の遅延などが報告されている (Nair ら, 2020; Oms-Oliu ら, 2008; Yan ら, 2019). また, Kittur ら (2001) は多層ではなくキトサン, スターチ, セルロースを複合体化し, それをコーティング液として使用しマンゴー果実に適用した事例を報告している (Kittur, 2001).

また最近の検討ではエディブルコーティングにさらに機能を付与するため添加剤を併用した事例も報告されている. Noori ら (2018) はカゼインたんぱく質にショウガから抽出した精油を併用し抗菌性と抗酸化性を付与した (Noori, 2018). また Nawab ら (2017) はスターチに可塑剤としてグリセリンとソルビトールを用いトマト果実の品質保持への効果を検証している (Nawab ら, 2017).

これまでにエディブルコーティング技術として様々な材料, 層構成, また添加剤の適用が提案され, 多くの種類の青果物に対して軟化抑制や変色抑制といった品質維持効果が示されてきた. しかしながら, 呼吸やエチレンといった青果物の生理活性との関係を説明した報告はまだ少ない. さらに, 農学分野では遺伝子解析の学問が多く発展を示しているにも関わらず, エディブルコーティング処理をした青果物の遺伝子解析の観点からの生理活性変化の説明がなされた報告はまだない. 本研究ではエディブルコーティングの品質維持効果を確認するとともに, 呼吸量, エチレン生成量, 遺伝子解析の観点からエディブルコーティングが青果物の生理活性に与える影響, つまり品質維持の作用機構について研究を行った.

1-2. 本研究課題と目的

本研究では第2章で多糖類であるキトサンとアルギン酸から成る多層 LBL コーティングをニホンナシ‘幸水’果実に適用し, 熟成に関わる商業的品質低下に対する抑制効果に関して品質面と呼吸, エチレンの観点から単層コーティングと比較行うとともに, さらにエディブルコーティング処理した果実にどのような生理学的変化が生じているか遺伝子解析の観点からも検討を行った. 第3章では多糖類で構成した複合体のエディブルコーティングを用いて異なる温度で貯蔵したスダチ果実に対する品質維持効果を検証し, さらに多層 LBL コーティングとの効果の比較を行った. また複合体コーティングの積層数が品質に与える影響についても検討した. 第4章ではエディブルコーティングの材料として, 耐水性向上の観点から疎水性部位を含む脂肪族エステルのシュガーエステルを用いた研究を報告する. 対象青果物にカキ果実を用いた検討では, 既に品質維持効果が広く認められている 1-MCP, またプラスチック包装を用いた処理区と比較検討を行った. バナナ果実を用いた検討では外生エチレンによる熟成進行促進に対するエディブルコーティング処理の影響を調査した. さらにスダチ果実を用いて, 収穫からコーティング処理を行うまでの期間がその後の品質維持に及ぼす影響について検討を行った.

第 2 章 キトサン／アルギン酸から成る多層エディブルコーティングがニホンナシ‘幸水’果実の品質保持および果実の遺伝子発現に与える影響に関する研究

2-1. 緒言

ニホンナシ果実 (*Pyrus pyrifolia* Nakai) にはクライマクテリック、ノンクライマクテリックの両方の品種がある。‘幸水’果実はその食感、豊富な果汁、高い糖度といった非常に魅力的な特性を持つため、日本国内でのニホンナシ生産量のおよそ 40% を占める品種である (MAFF, 2015) 。‘幸水’果実はクライマクテリック型果実に分類され、収穫後にエチレンを生成するため収穫後速やかに軟化が進んでしまい棚持ち性は良くない (Itai ら, 1999) 。しかし収穫直後の‘幸水’果実はまだプレクライマクテリックステージにあるため、熟成に参与する内因性のエチレン生成を遅らせることができれば‘幸水’果実の棚持ち性を向上させることが期待できる。

本章ではカチオン性多糖類のキトサンとアニオン性多糖類のアルギン酸を用いて、交互に積層する LBL 多層コーティングを‘幸水’果実に適用し、品質維持効果を検討した。さらに遺伝子解析を用いて、コーティング処理した果実内で生じている生理学的変化について調査を行った。

2-2. 材料および試験方法

2-2-1. 供試材料と貯蔵条件

岡山県の市場よりプレクライマクテリックステージの‘幸水’果実を 2019 年 8 月 5 日に入手した。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し、大きさ、果皮色、形が均一な個体を選び試験に用いた。全ての果実はイオン交換水で洗浄し、処理方法の違い、サンプリング別に分類した。各処理区の果実は 20°C の環境下に静置し、貯蔵初日と各設定日 (4, 7, 11, 14, 18, 21 日) で外観、果肉硬度、重量減少率、呼吸量、エチレン生成量を測定した。

2-2-2. 処理区の設定

無処理果実 (コントロール)、単層コーティング果実 (キトサンおよびアルギン酸のコーティング)、多層コーティング果実 (LBL3 層コーティング (LBL3) : キトサン／アルギン酸／キトサン、および LBL5 層コーティング (LBL5) : キトサン／アルギン酸／キトサン／アルギン酸／キトサン) の 5 つの処理区を設けた。

2-2-3. エディブルコーティング処理

酢酸 (東京化成 (株)) 0.4% (w/v) 水溶液にキトサン (medium molecular weight, Sigma-Aldrich) を 0.5% (w/v) となるように加え、かくはんし溶解した後、 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ アンモニア水 (東京化成 (株)) を用いて pH6 に調整しキトサンコーティング液を得た。イオン交換水に 0.5% (w/v) となるようにアルギン酸 (東京化成 (株)) を加え、かくはんし溶解した後、酢酸とアンモニア水を用いて pH6 に調整しアルギン酸コーティング液を得た。単層のキトサン、アルギン酸コーティングは‘幸水’果実をキトサン、もしくはアルギン酸コーティ

ング液に30秒浸漬した後、室温にて1時間自然乾燥させコーティング層を形成した。LBL3, LBL5はキトサンコーティング液に30秒浸漬した後、室温にて1時間自然乾燥させ、その後アルギン酸コーティング液、キトサンコーティング液の順で同様に重層操作を行った。

2-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

果肉硬度

各処理区3個の果実を用いて6か所の果肉硬度を3mm径の円柱プランジャーを備えた果実硬度計を用いて測定した (Hiwasaら, 2003)。

重量減少率

各処理区5個の果実を用いて、各測定日における初日からの重量差分を初日重量で割り返し、平均値をパーセンテージで表記した。

エチレン生成量および呼吸量

‘幸水’果実を440mLのリブ付き密閉容器に20°Cで1時間静置した後、容器内のガスを1mL採取し、200°C設定の水素炎イオン化検出器、80°C設定の活性アルミナカラムを備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CPMF, (株) 島津製作所) を用いてエチレン生成量を測定した (Mitaloら, 2019)。また同様に、熱伝導検出器、Porapak Qカラム (Agilent) を備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CPMF, (株) 島津製作所) を用いて二酸化炭素排出量を測定した。測定には各処理区5個の果実を用いた。

コート層の物理特性評価

エディブルコーティング処理した青果物上のコーティング層の特性を直接測定することは困難であることから、測定用基材として50µm厚のポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム (ダイアミロン, 三菱ケミカル (株)) を用い、それに各種コーティング材を積層し各種測定を行った。コーティング液の濡れ性向上のためPETフィルムはコロナ処理 (30W min·m²) を行ってから使用した。キトサン、アルギン酸の単層コーティングはPETフィルムのコロナ処理した面をキトサン、アルギン酸のコーティング液に30秒間接触させた後、室温にて1時間自然乾燥させコーティング層を設けた。LBL3, LBL5の積層コーティングも青果物上へ処理した方法と同様にしてPETフィルム上にコーティング層を設けた。

水蒸気透過率 (WVTR: water vapor transmission rate) はデルタパーム (Technolox Ltd.) を用いてISO15106-5の規格に基づきコーティング層付PETフィルムの100cm²を30°C, 50%RHの条件下で測定した。酸素透過率 (OTR: Oxygen transmission rate) はOx-tran 2/21 (Mocon Ltd.) を用いてASTM D3985の規格に基づきコーティング層付PETフィルムの100cm²を25°C, 50%RHの条件下で測定した。

全光線透過率 (TT: Total transmittance) とヘイズ値は白色ダイオードを備えたヘイズメーターNDH-7000 (日本電色工業 (株)) を用いて測定した。式1のとおり全光線透過率 (TT) は平行線透過率と拡散透過率 (Td: Diffusion transmittance) を含む430-680nmの可視光領域

の全透過率を表し、ヘイズ値とは以下の関係で記される。

$$Haze = 100 \left(\frac{TT}{Td} \right) \quad (\text{式 1})$$

トランスクリプトーム解析 (ライブラリー作製, シーケンシング)

サンプリングは貯蔵 0 日の無処理, 貯蔵 7, 14 日の無処理と LBL5 コーティングの計 5 つとし, それぞれ 3 果実を使用した。全 RNA 抽出は果肉を用いてホットボレート法で実施した (Wan・Wilkins, 1994; Mitalo ら, 2019)。全 RNA からゲノム DNA を除去するため DNase I ((株) ニッポンジーン) による処理を行い, 続いて FavorPrep™ After Tri-Reagent RNA Clean-Up Kit (Favorgen Biotech CO., Ping-Tung, Taiwan) を用いてクリーンアップを行った。クリーンアップした RNA は KAPA RNA HyperPrep Kit for Illumina® 179 (KAPA Biosystems) を用いてイルミナのペアエンドライブラリーを構築し, Illumina HiSeq platform (Macrogen Co. Ltd., Japan) によるシーケンスを行った。参考文献に従い, シーケンスリードは phred スコア < 20 のヌクレオチドシーケンスを除外し, またアダプター配列を除去することで整えた (Mitalo ら, 2020)。

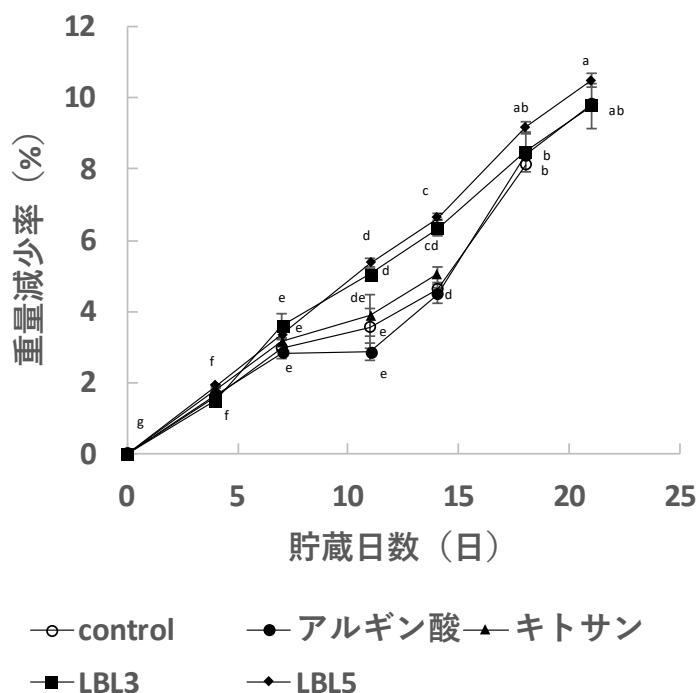
遺伝子発現解析

トリミング処理したイルミナリードはセイヨウナシのゲノムデータ (*Pyrus communis* Genome v1.0 Draft Assembly & Annotation (Chagné ら, 2014)) にマッピングし, CLC genomic workbench (Qiagen) の初期設定を用いてカウントを行った。遺伝子発現レベルは TPM (transcripts per kilobase million) で標準化した。発現変動遺伝子 (DEGs: differentially expressed genes) は edgeR パッケージを用いて処理前の貯蔵 0 日果実から得たサンプルとコートもしくは無処理果実から得たサンプルの比較を行い, 次の 3 つの基準に基づき選定した。(i) 3 個体のいずれかが $TPM \geq 1.0$, (ii) 3 倍の増加もしくは 3 倍減少, (iii) 偽発見率 (FDR: false discovery rate) ≤ 0.01 。発現変動遺伝子の階層クラスタリングとヒートマップは R 言語を用いて実施した。各クラスターの遺伝子は agriGO (Tian ら, 2017) を用いて GO 解析 (gene ontology) を行った。また, 各クラスターの遺伝子は KEGG Automatic Annotation Server (KAAS) (Moriya ら, 2007) を用いて KEGG 解析を行い, KEGG mapper によって可視化を行った (<https://www.genome.jp/kegg/mapper.html>)。

2-3. 結果

2-3-1. ニホンナシ‘幸水’の収穫後品質と生理学的特徴

‘幸水’果実のコントロールである無処理果実とコーティング果実はともに一定の重量減少を貯蔵期間全体にわたり示した（第1図）。本実験では無処理果実と各種コーティング果実（キトサン、アルギン酸、LBL3、LBL5）では重量減少に有意差は見られなかった。

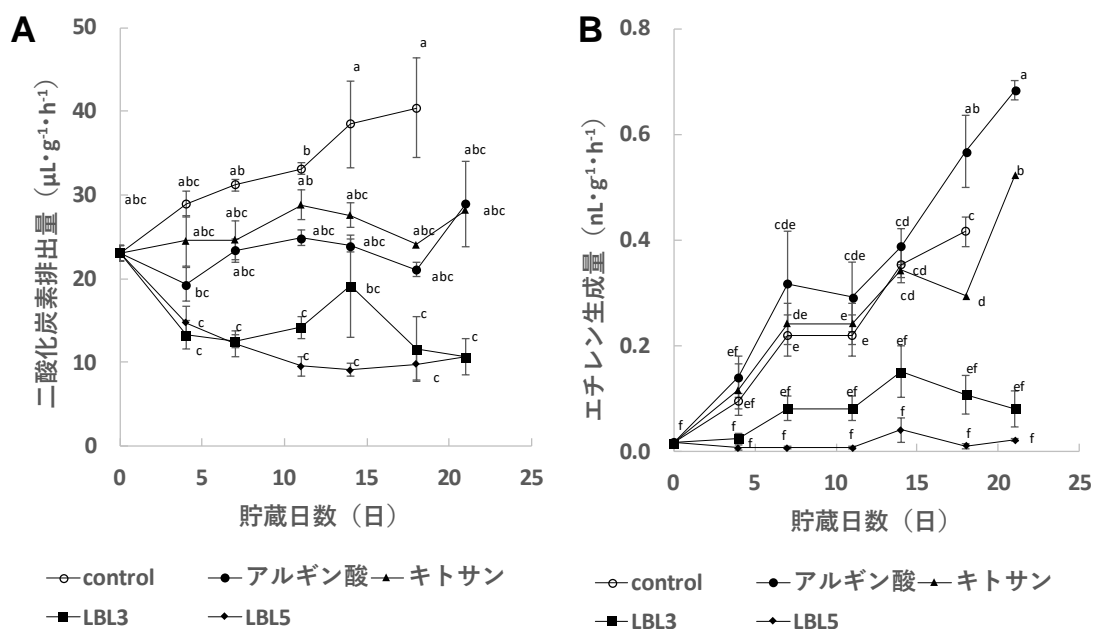


第1図 各コーティング処理が20°Cで貯蔵した‘幸水’果実の重量損失に及ぼす影響
LBL3：キトサンとアルギン酸による3層の多層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン）， LBL5：5層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン）
異なるアルファベット間にはTukey多重比較法により5%水準で有意差あり
誤差線は標準誤差（n=5）を示す

呼吸量（二酸化炭素排出量を呼吸量として推定）に関して，無処理果実は貯蔵期間中にクライマクテリック果実に見られる典型的な呼吸量の増加を示した（第2図A）。一方，キトサン，またアルギン酸の単層コーティング果実は貯蔵期間中で呼吸量の変化は見られず，二酸化炭素排出値は貯蔵初日からほぼ一定を示した（ $19-29 \mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ）。LBL3，LBL5コーティング果実においては呼吸量が減少する傾向を示し，単層コーティング果実と比較して二酸化炭素排出量はおよそ2分の1の，無処理果実と比較しておよそ4分の1の低い値となった。また呼吸量の減少はLBL3コーティング果実よりもLBL5コーティング果実の方が顕著であった。

エチレン生成量はキトサンとアルギン酸の単層コーティング果実と無処理果実で，貯蔵

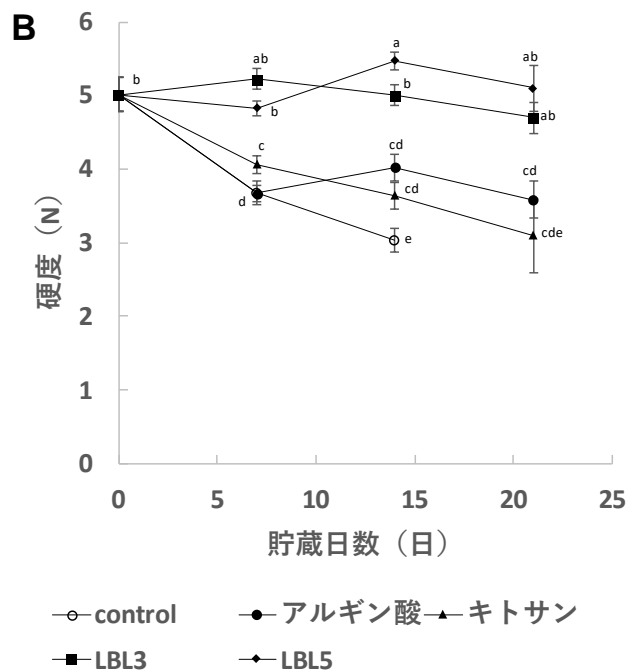
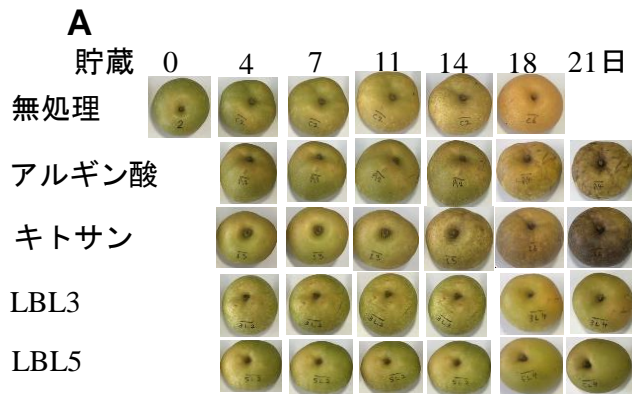
期間中に徐々に増加する類似の傾向を示した（第2図B）．一方 LBL3, LBL5 コーティング果実は貯蔵期間中で顕著に低い値を示し続けた．特に LBL5 コーティング果実でのエチレン生成量は貯蔵期間中を通してごく僅かであった．



第2図 各コーティング処理が20°Cで貯蔵した'幸水'果実のエチレン生成量 (A) , 二酸化炭素排出量 (B) に及ぼす影響
 LBL3 : キトサンとアルギン酸による3層の多層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン) , LBL5 : 5層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン)
 異なるアルファベット間には Tukey 多重比較法により 5% 水準で有意差あり
 誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

外観変化においては、無処理果実は 20°Cでの貯蔵 18 日目以降で果皮色に見られた緑色が失われ、徐々に黄褐色に変化した（第3図A）．キトサン、アルギン酸の単層コーティング果実は貯蔵 21 日目で黒斑が発生した．一方、LBL3, LBL5 コーティング果実の果皮は貯蔵 21 日目においても緑色を維持した．

果肉硬度の比較では、無処理果実は貯蔵 7 日目までに初期果肉硬度の 30%減少を示し、14 日目ではさらに低い硬度 (3 N) に至り過剰熟成の挙動を示した（第3図B）．キトサンとアルギン酸の単層コーティング果実も同様に硬度が低下する傾向を示したが、軟化過程はむりより果実より僅かに遅く、過剰熟成様の硬度に至ったのは貯蔵 21 日目であった．対照的に LBL3, LBL5 コーティング果実は実質的な果肉硬度の低下は貯蔵期間中で示さなかった．



第3図 各コーティング処理が20°Cで貯蔵した'幸水'果実の外観 (A), 果肉硬度 (B) に及ぼす影響

LBL3: キトサンとアルギン酸による3層の多層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン), LBL5: 5層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン)

異なるアルファベット間には Tukey 多重比較法により 5% 水準で有意差あり, 誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

2-3-2. エディブルコーティングの諸物性

第1表に示すように水蒸気透過率 WVTR は, 無処理品の PET フィルムとキトサン, アルギン酸の単層コーティング PET フィルム, また LBL3, LBL5 の多層コーティング PET フィルムとで有意な差はなかった. 一方, 酸素透過率 OTR は LBL3, LBL5 コーティングフィルムがそれぞれ 22.6, 21.3 $\text{cc}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$ を示し, 無処理品の PET フィルム, またキトサン,

アルギン酸の単層コーティング PET フィルム ($25-26 \text{ cc} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$) と比較してかなり低かった。全光線透過率 TT は全コート品で 90% 以上の高透明性を示し、無処理品の PET フィルムと有意差はなかった。ヘイズ値は LBL5 コート品のみが無処理品と比較して高かったが 2% 以下であり実質的に透明性に影響与えるものではなかった。

第1表 無処理のPETフィルムと各コーティング処理したPETフィルムのガス透過率と光学特性

LBL3：キトサンとアルギン酸による3層の多層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン）、LBL5：5層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン）

OTR：酸素透過率（Oxygen transmission rate）

WVTR：水蒸気透過率（Water vapor transmission rate）

TT：全光線透過率（Total Transmittance）

異なるアルファベット間には Tukey 多重比較法により 5% 水準で有意差あり、誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

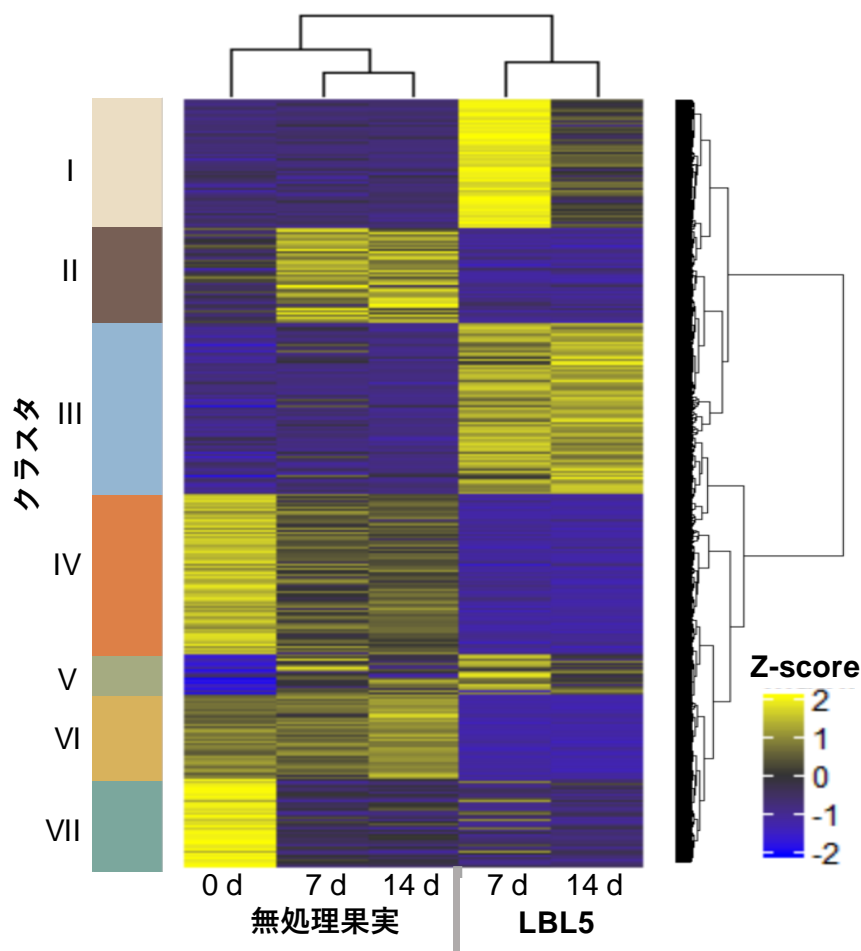
処理区	OTR	WVTR	TT	ヘイズ
	($\text{cc m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{atm}^{-1}$)	($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$)		
	25°C 50% RH	30 °C 50% RH		
Control	26.3 ^a ± 0.1	1.40 ^a ± 0.01	89.1 ^a ± 0.00	0.50 ^a ± 0.01
アルギン酸	25.5 ^a ± 0.1	1.43 ^a ± 0.02	91.2 ^a ± 0.05	0.72 ^a ± 0.03
キトサン	25.6 ^a ± 0.1	1.30 ^a ± 0.02	91.4 ^a ± 0.07	0.57 ^a ± 0.02
LBL3	22.6 ^b ± 0.4	1.29 ^a ± 0.02	90.5 ^a ± 0.05	0.61 ^a ± 0.00
LBL5	21.3 ^b ± 0.3	1.27 ^a ± 0.04	90.6 ^a ± 0.01	1.94 ^b ± 0.04

2-3-3. トランスクリプトーム解析

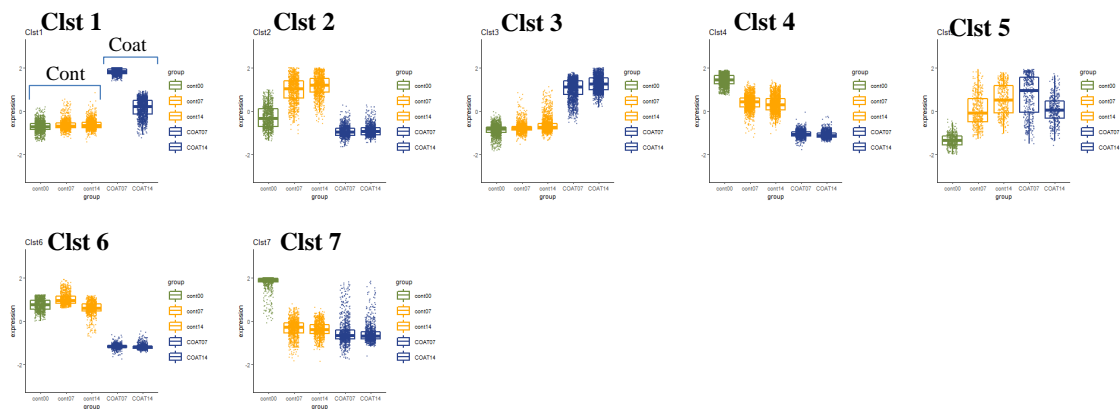
発現変動遺伝子と階層クラスタリング

貯蔵 0 日と貯蔵 7, 14 日の無処理果実、コーティング果実の 5 グループとの間で発現が顕著に増加、または減少した遺伝子を確認するため一対比較を行った。その結果、上述した基準を満たす発現変動遺伝子は 7880 であった。第 4 図に示すように階層クラスタリングを用いると発現変動遺伝子は 7 つのクラスタに分類された。第 5 図に階層クラスタリングで得られた各クラスタのボックスプロットを示した。貯蔵初日と比較し、クラスタ I と III の転写遺伝子は LBL5 コーティング果実サンプルにおいて発現増加にあるが無処理果実サンプル

ルにおいては貯蔵日数が変わっても発現に変化は見られなかった。逆にクラスタIIは無処理果実において貯蔵日数が進むと発現が増加したが、LBL5 コーティング果実では発現に変化は見られなかった。クラスタIV, VIは貯蔵初日と比較しLBL5 コーティング果実で発現低下したが無処理果実ではほとんど発現に変化はなかった。最後にクラスタVは貯蔵初日と比較し、コーティング果実、無処理果実ともに発現増加となったがクラスタVIIは発現低下となった。



第4図 無処理果実とLBL5コーティング果実における発現遺伝子の階層クラスタ分類とヒートマップ
 LBL5：5層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン）

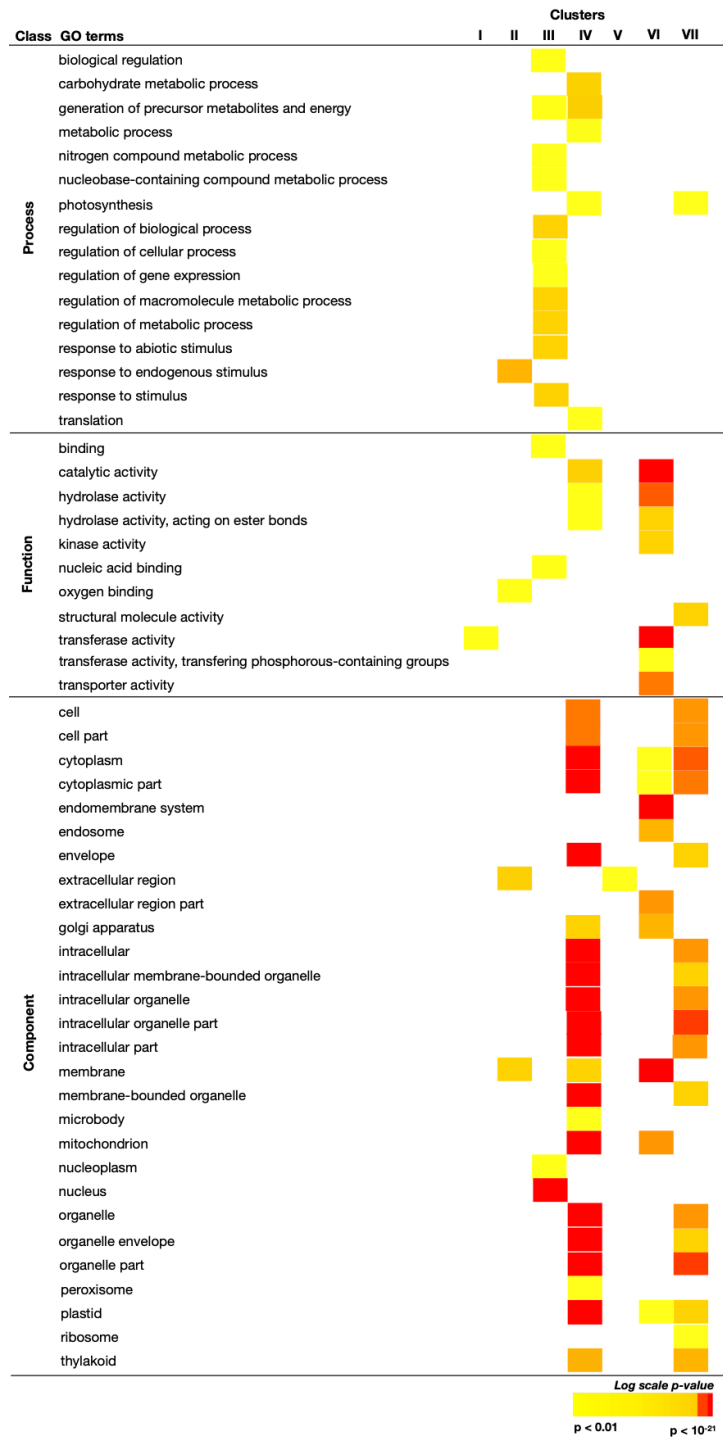


第5図 無処理果実とLBL5コーティング果実における発現遺伝子のボックスプロット解析
 LBL5：5層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン）

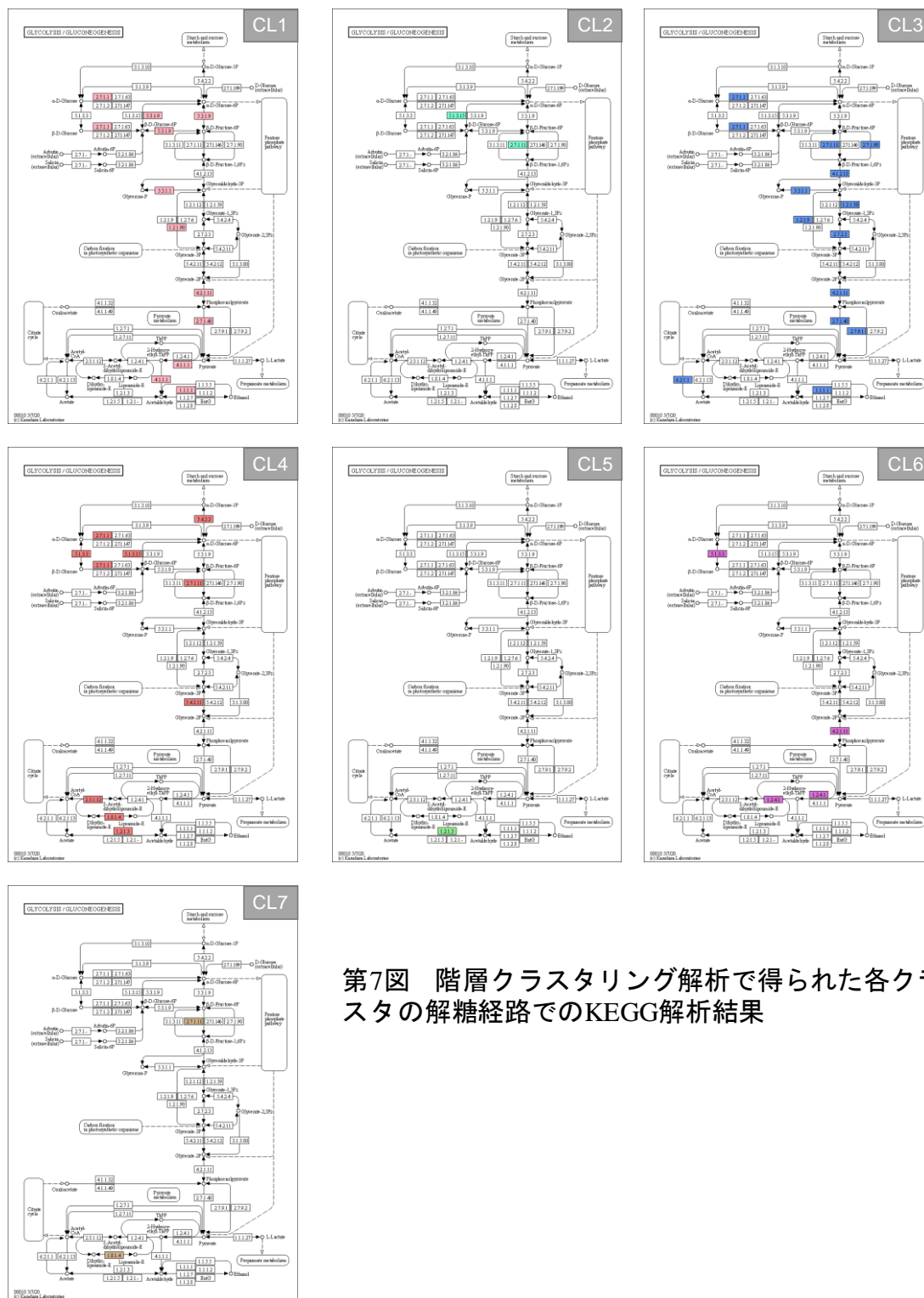
GO 解析, KEGG パスウェイ解析

LBL エディブルコーティングによってもたらされた遺伝子転写の変化に関するさらなる見解を得るため、RNA シーケンスによって得られた発現変動遺伝子クラスターの GO (gene ontology) 解析と KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) パスウェイ解析を実施した。GO 解析によるとクラスターIIの遺伝子群（無処理果実で発現増加，LBL コート果実で発現減少）はエチレン反応を示唆する“内因性刺激への応答：プロセス”が示された。クラスターI（コーティング果実で発現増加）とクラスターIV（コーティング果実で発現低下）では多く見られた機能面の一つに“転移酵素の動き”があり，これは呼吸との関連が示唆される。クラスターIII（LBL5 コーティング果実で発現増加）においては“非生物由来の刺激に対する応答”が主要なプロセスの一つとして挙がっており LBL5 コーティングの低い酸素透過性によってもたらされたストレスとの関連が示唆される。とりわけクラスターIV, VI（LBL5 コーティング果実で発現減少）では有酸素呼吸を示す“ミトコンドリア”が示され，また光呼吸に関与する“ペルオキシソーム”がクラスターIVで示された（第6図）。

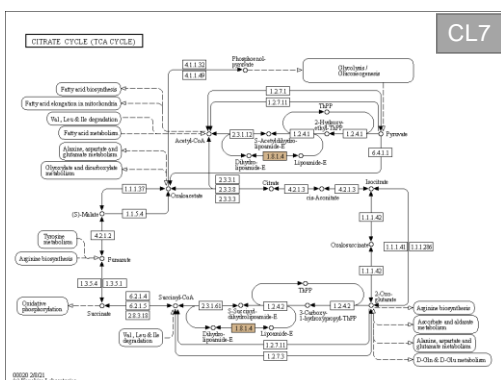
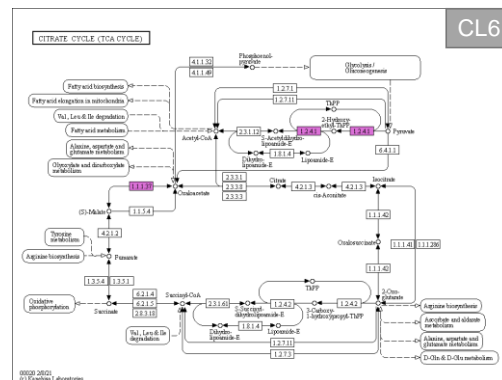
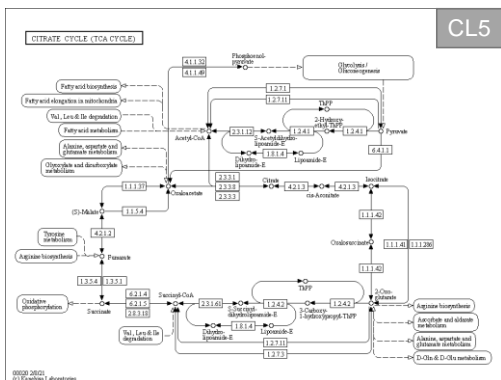
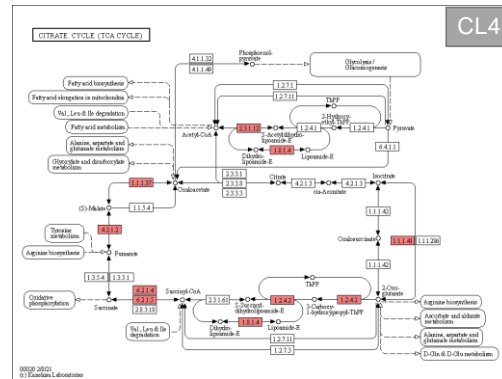
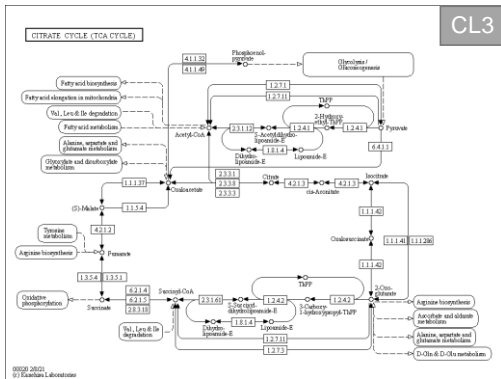
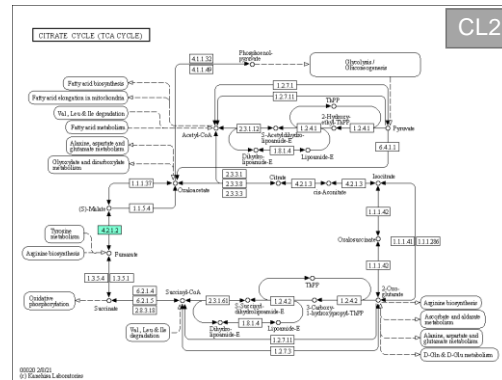
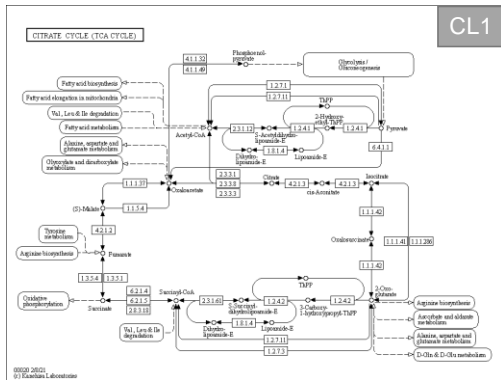
KEGG パスウェイ解析ではクラスターI, III, IVが解糖過程において多くの遺伝子発現が増加していることが示され（図7図）。一方でクラスターIV, VIにおいてはクエン酸回路中のほとんどの反応過程が増加していた（第8図）。



第6図 階層クラスタリング解析で得られた各クラスターのGO解析結果



第7図 階層クラスタリング解析で得られた各クラスターの解糖経路でのKEGG解析結果



第8図 階層クラスタリング解析で得られた各クラスターのクエン酸回路でのKEGG解析結果

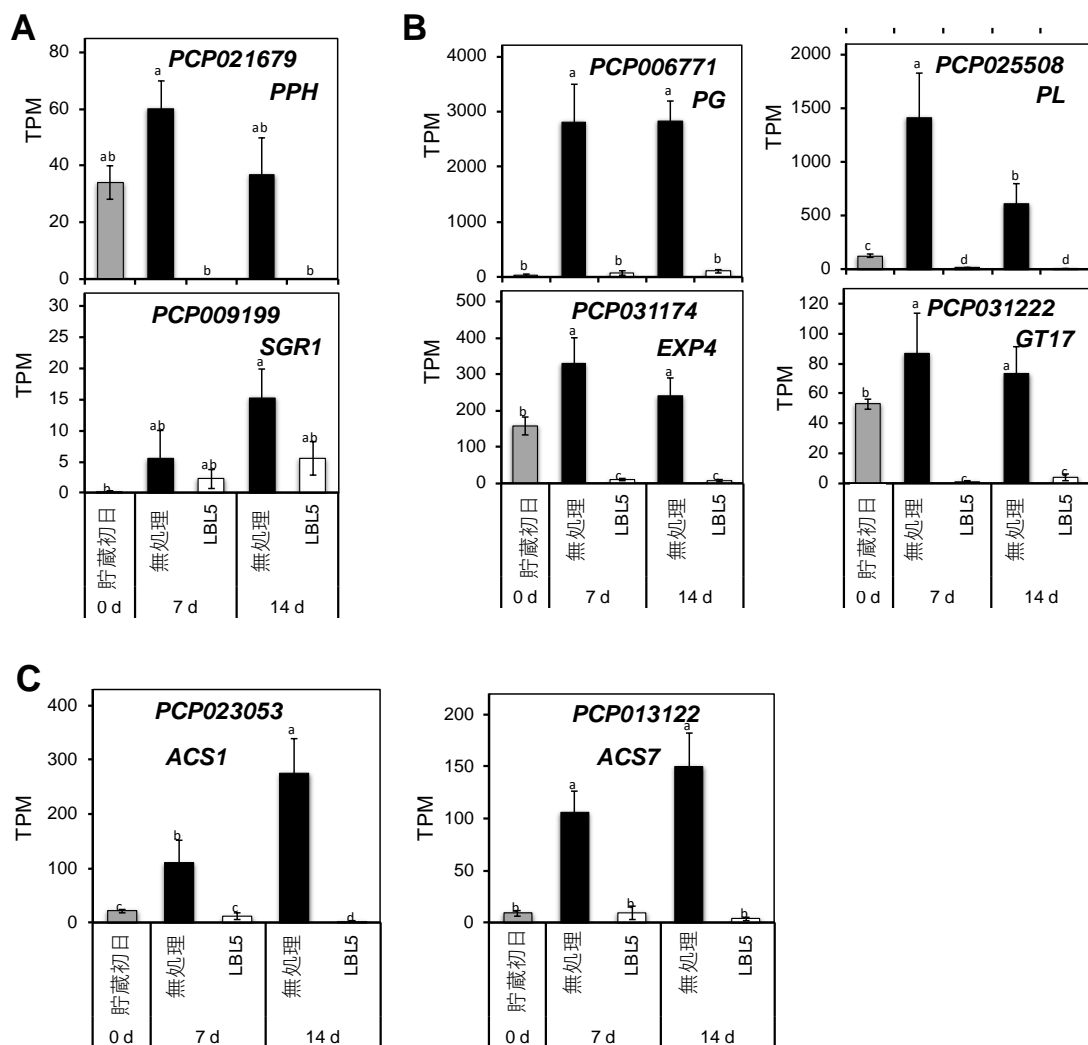
果実熟成とエチレン生成に関与する遺伝子発現

LBL エディブルコーティングを用いることで果実の熟成とエチレン生成を顕著に抑制する結果となったことから (第 2 図 B), RNA シーケンスデータから発現パターンについて詳細を調べた. クロロフィルの分解と果皮色の変化に関与する *Phephytinase* (*PPH*, *PCP021679*) (Schelbert ら, 2009) の遺伝子発現は貯蔵初日と比較し無処理果実の 20°Cでの 7 日貯蔵で実質的に増加していたが LBL5 コーティング果実は発現が低下していた (図 9 図 A). 果皮色の変化に関与する別の遺伝子である *stay-green 1* (*SGR1*, *PCP009199*) も貯蔵 14 日で無処理果実は増加を示したが LBL5 コーティング果実は遺伝子発現が大きく抑制されていた.

果肉軟化に繋がる細胞壁の分解に関与する酵素を翻訳する *polygalacturonase* (*PG*, *PCP006771*), *pectate lyase* (*PL*, *PCP025508*), *expansin 4* (*EXP4*, *PCP031174*), *xyloglucan galactosyltransferase GT17* (*GT17*, *PCP031222*) の 4 遺伝子はクラスタIIに分類されており, これらは貯蔵期間中に無処理果実において発現量が増加していたが, LBL5 コーティング果実では増加は見られなかった (第 9 図 B). エチレン生合成において律速工程を担う *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase 1* (*ACS1*, *PCP023053*) と *ACS7* (*PCP013122*) (Wang ら, 2002) もクラスタIIに分類され, 無処理果実において遺伝子発現量が増加, コーティング果実において抑制される結果であった (第 9 図 C).

果実の呼吸過程に関与する遺伝子発現

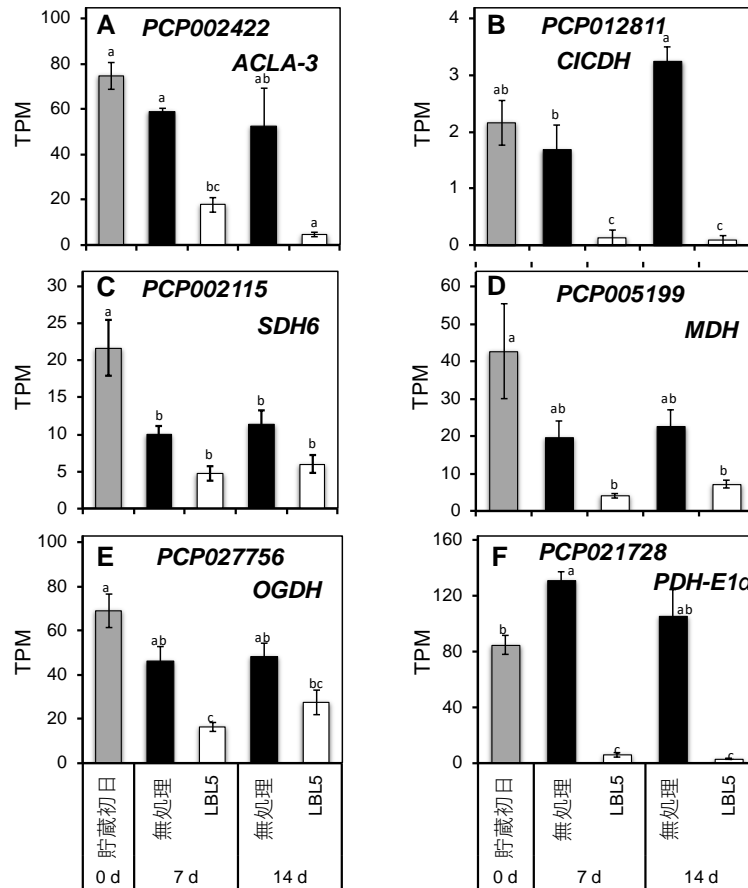
LBL5 エディブルコーティングにおける GO 解析の結果で示された“ミトコンドリア”と“ペルオキシソーム” (第 6 図) は呼吸に関与するキーワードである. さらに KEGG パスウェイ解析では解糖とクエン酸回路で逆の発現パターンが示されていた (第 7, 8 図). このことから呼吸に関連する項目として解糖とクエン酸回路の遺伝子発現に関して詳細を調べた. クエン酸回路に関与する *citrate synthase* (*ACLA-3*, *PCP002422*), *isocitrate dehydrogenase* (*CICDH*, *PCP012811*), *succinate dehydrogenase 6* (*SDH6,302* *PCP002115*), *malate dehydrogenase* (*MDH*, *PCP005199*), *2-oxoglutarate dehydrogenase* (*OGDH*, *PCP027756*), そして *pyruvate dehydrogenase E1* (*PDH-E1 α* , *PCP021728*) の 6 つの遺伝子は全て LBL5 コーティング果実において遺伝子発現量が低下していた. 一方で無処理果実はほとんど変化がなかった (第 10 図). これらの結果とは逆に, 解糖過程に関与する 10 の遺伝子のうち *hexokinase* (*HKL1*, *PCP025267*), *ATP-dependent 6-phosphofructokinase 7* (*PFK7,308* *PCP014314*), *fructose-bisphosphate aldolase 6* (*FBA6*, *PCP026040*), *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (*GAPC2*, *PCP008809*), *phosphoglycerate kinase* (*PGK3*, *PCP013941*), *alcohol dehydrogenase 1* (*ADH1*, *PCP030456*), *L-lactate dehydrogenase* (*LDH*, *PCP028551*), そして *pyruvate kinase* (*PK*, *PCP040499*) の 8 つの遺伝子は無処理果実に比べ LBL5 コーティング果実で顕著に高い遺伝子発現を示した (第 11 図). 残る 2 つの遺伝子のうち *phosphoglycerate mutase-like protein AT74* (*AT74*, *PCP041338*) は LBL コーティング果実で遺伝子発現が抑制され無処理果実では増加し, *enolase 1* (*ENO1*, *PCP001995*) では無処理果実にほとんど変化はなかったが LBL5 コート果実で発現が抑制された.



第9図 無処理果実とLBL5コーティング果実における果皮色変化 (A), 果肉軟化 (B), エチレン合成 (C) に関する遺伝子の発現レベル

TPM: transcripts per kilobase million, LBL5 : 5層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン)

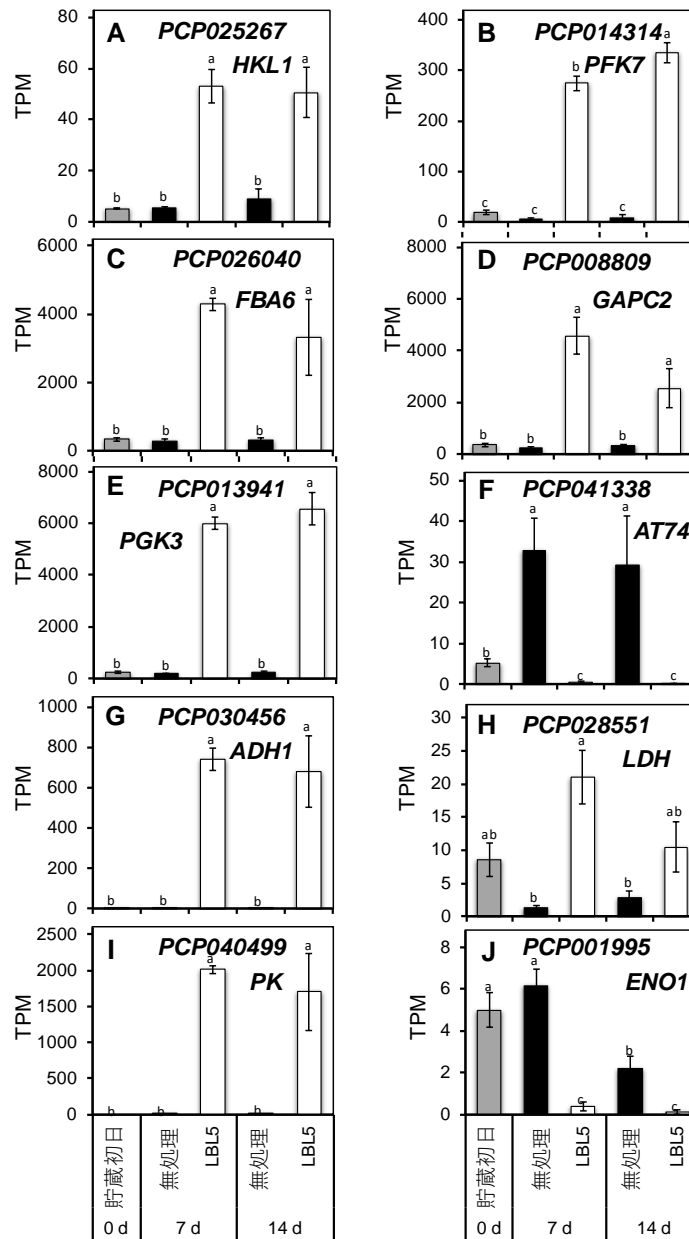
異なるアルファベット間にはTukey多重比較法により5%水準で有意差あり
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す



第10図 無処理果実とLBL5コーティング果実におけるクエン酸回路に関与する遺伝子の発現レベル

TPM: transcripts per kilobase million, LBL5 : 5層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン)

異なるアルファベット間にはTukey多重比較法により5%水準で有意差あり
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す



第11図 無処理果実とLBL5コーティング果実における解糖経路に関与する遺伝子の発現レベル

TPM: transcripts per kilobase million, LBL5 : 5層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン)

異なるアルファベット間にはTukey多重比較法により5%水準で有意差あり

誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

2-4. 考察

2-4-1. ニホンナシ‘幸水’果実の棚持ち延長へのキトサン/アルギン酸 LBL エディブルコーティングの実用性

エディブルコーティングは安全、環境配慮、収穫後青果物の品質維持に効果があることか

ら注目が上がっている技術である (Baldwin ら, 2011; Nair ら, 2020). これまでのところ, 様々なコーティング材料・構成が青果物の品質維持に効果を示した事例が, 様々な種類の青果物を対象に報告されている. コーティング材料としてキトサン (リンゴ果実へのコーティング), アルギン酸 (プラム果実へのコーティング) を用いた検討, またセイヨウナシ ‘Huangguan’ 果実に対する検討 (架橋スターチによるコーティング) も報告がある (Gardesh ら, 2016; Valero ら, 2013; Dai ら, 2020). 本検討においてはキトサンとアルギン酸の単層コーティングでニホンナシ ‘幸水’ 果実の軟化と果皮色変化を遅延させる結果を得たが十分な結果ではなかった (第 3 図 A). Poverenov (2014) が指摘したように単層コーティングでの適用は実用化には課題があり (Poverenov ら, 2014), その解決手段の一つとして多層コーティング手法である LBL (Layer-by-Layer) の利用には注目が集まっている (Brasil ら, 2012; Nair ら, 2020). 本検討においてもキトサンとアルギン酸を用いた LBL による 3 層のコーティング, また 5 層のコーティングはそれぞれの単層コーティングと比較しより効果的に ‘幸水’ 果実の果肉硬度を高く維持した (図 3 図 B). ‘幸水’ 果実の特徴的な食感は消費者に好まれることから重要な商業的価値であり, このことから本検討で得られた結果はキトサン / アルギン酸の LBL エディブルコーティングが ‘幸水’ 果実の棚持ち性向上に対し実用性があることを強く示唆している.

果実表面に形成したエディブルコーティング層の物理的な障壁によって果実からの蒸散を防ぐことは果実の重量損失抑制に繋がり, これはエディブルコーティングに期待される重要な効果の一つである (Valero ら, 2013; Dai ら, 2020). しかし, 先の報告とは異なり本検討においては単層コーティングだけでなく, 意外にも LBL 多層コーティングにおいても 20°C 貯蔵の ‘幸水’ 果実の重量損失を有効に防止することはできなかった (第 1 図). この結果はコーティング層付 PET フィルムの WVTR が無処理 PET フィルムと差がなかったこととも一致する (第 1 表). そのため, キトサン / アルギン酸 LBL エディブルコーティングには重量損失抑制効果が十分にはなく, 一方で ‘幸水’ 果実の品質維持には寄与したことから熟成進行抑制は重量損失とは関連性がないと考える.

本検討では果実の呼吸とエチレン生成抑制において LBL 多層エディブルコーティングは単層コーティングより効果的に働いた (第 2 図). この結果は酸素透過率 OTR と直接関係していると考えられ, LBL コーティングの酸素透過性は単層コーティングより実質的に低い性能を有していた (第 1 表). LBL コーティングにおいて酸素ガスバリア性が優れている理由はキトサンとアルギン酸のカチオン, アニオン官能基の間で働く静電相互作用によってもたらされたものである (Carneiro-da-Cunha ら, 2010; Poverenov ら, 2014). これより LBL コーティングによって ‘幸水’ 果実の棚持ち性が向上したのは果実内部で低酸素状態が維持され呼吸が抑制されたことが主な要因であると考えられる. またエチレンの生合成最終ステップにおいてもエチレン前駆体である ACC (1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸) の酸化工程が含まれるため, 低酸素状態は基質となる酸素が不足しエチレン生成を阻害したと考える.

2-4-2. LBL エディブルコーティングによる貯蔵延長に関与する遺伝子発現

ニホンナシ‘幸水’果実はクライマクテリック果実であり (Itai ら, 1999), 本検討においても 20°Cの貯蔵期間中に無処理果実は急激なエチレン上昇を示した (第2図B). キトサン, アルギン酸の単層コーティングはこのエチレン上昇を抑制できなかったが, LBL コーティング果実は極めて低いレベルのエチレン生成量を維持した. ‘幸水’果実も含まれるクライマクテリック果実では熟成過程にエチレンが強く作用力を持つため, LBL コーティング果実において果皮色の変化と果肉軟化が生じなかったのは, このエチレン生成抑制が大きく寄与したと考える. LBL コーティング果実におけるエチレン生成量の低レベル維持は ACC 酸化工程で基質となる酸素が不足しただけでなく, エチレン生合成過程で律速工程となる ACC 生合成で必要なる ACC 合成酵素を翻訳する *ACSI* と *ACS7* (Wang ら, 2002) の遺伝子発現を抑制したことも寄与していると考えられる (第9図C).

キトサン/アルギン酸の LBL コーティングによって‘幸水’果実の果肉軟化は強く抑制された (第3図B). 果肉軟化は基本的には細胞壁の段階的な変化の結果であり (Wang et al., 2018), *PG*, *PL*, *EXP*, *pectin methylesterase*, *β -galactosidase*, *α -L-arabinofuranosidase*, *endo-(1,4) β -D-glucanase*, *andxyloglucan endotransglycosylase (XET)* といった遺伝子から翻訳される様々な酵素が関与している (Tucker ら, 2017). 本検討においては細胞壁の変質に関与する *PG*, *PL*, *EXP*, *GT17* の4つの遺伝子が LBL コーティング果実で全て発現抑制されていた (第9図B). 細胞壁の変質を担う遺伝子発現によって生じる果肉軟化挙動の開始と進行にはエチレンが重要な役割を担っていることが別のクライマクテリック型のナシ果実で示されている (Hiwasa ら, 2003, 2004; Mwaniki ら, 2021). そのため, 本検討での細胞壁変質に関与する遺伝子発現が LBL コーティング果実で抑制されたのは, 先述したエチレン生成抑制が最も重要であったと考える.

果実熟成と連動する果皮色の変化にはクロロフィル分解の関与が原因の一つである (Charoenchongsuk ら, 2015). この分解工程中で重要なステップの一つに遺伝子 *SGR* によってエンコードされるマグネシウムデケラターゼが触媒する反応がある (Shimoda ら, 2016). さらにクロロフィルの分解には *PPH* と関連遺伝子による反応もある (Schelbert et al., 2009). 本検討で 20°C貯蔵の 21 日目まで緑色の果皮色を維持した LBL コーティング果実は (第3図A), 先の報告にあった関連する遺伝子 *PPH*, *SGR1* についても発現が抑制されていたことから挙動は一致した (第9図A). レモンにおいて *PPH* 発現はエチレンによって誘導されていることが示されていることから (Mitalo, 2020), 本検討では LBL コーティング果実のエチレン生成レベルが極めて低かったことも *PPH* 発現抑制に関係していると考えられる.

さらに重要な発見として, LBL コーティング果実は呼吸に重要な関わりを持つ解糖とクエン酸回路に関連する遺伝子発現に劇的な変化をもたらしていた. KEGG 解析の結果より LBL コーティングによって解糖での多くの遺伝子が発現増加する傾向にあり, 一方でクエン酸回路の遺伝子は発現減少していた (第7, 8図). この理由として LBL コーティングによって周囲の酸素濃度が低下したためだと考えられる (第1表). このことは, GO 解析にて LBL

コーティングで遺伝子発現が減少したクラスターIV, VIにミトコンドリアとペルオキシソームの関与が指摘されている点とも一致する(第6図)。ミトコンドリアとペルオキシソームはそれぞれ有酸素呼吸と光呼吸と関係し、両方とも高い酸素量が必要とする。久保(1993)は周囲の酸素濃度を下げることによって青果物の二酸化炭素排出量が下がることを示し、一方で酸素濃度が一定の値以下になると二酸化炭素排出量が逆に上昇し品質に悪影響を与えるほどの強い嫌気呼吸が誘導されることを示した。本検討においても嫌気呼吸が生じた疑いがあるが、LBLコーティング果実の二酸化炭素排出量は無処理果実と比較し貯蔵期間を通して極めて低い値を示しており(第2図A)、上述した二酸化炭素排出量の増加がみられないことから強い嫌気呼吸は生じていないと考える。しかしながら嫌気呼吸を示唆する結果はあることから、どの程度の嫌気呼吸が発生しているか、また品質低下が生じているかは別途検討が必要である。果実熟成に強く関与する呼吸とエチレン生成は主に周囲環境の酸素と二酸化炭素のバランスに依存するところが大きく、この考えを基にしているのがCA貯蔵やMA包装である。この点について、キトサン/アルギン酸LBLエディブルコーティングを用いた酸素/二酸化炭素濃度の最適化が‘幸水’果実の貯蔵期間延長に寄与できると考える。

2-5. 摘要

キトサン/アルギン酸LBLコーティングはニホンナシ‘幸水’果実のエチレン生成抑制、呼吸抑制、また熟成全般の進行抑制に対し単層コーティングよりも優れた性能を示した。これはLBLコーティングが優れた酸素ガスバリア性を有することが起点となっている。しかしながら水蒸気ガスバリア性に対しては有効な寄与を示さず、貯蔵期間中の重量減少抑制には効果がなかった。遺伝子解析の結果から、LBLコーティングによって棚持ち性が向上した‘幸水’果実は解糖経路の遺伝子発現が増加し、また同時にクエン酸回路の遺伝子発現が減少しており、有酸素呼吸と嫌気呼吸の間で一定のバランス状態にあることを意味している。これらが品質に与える影響についてはさらに検討が必要であり、また貯蔵条件最適化のためには貯蔵温度との関係についても検討が必要である。

‘幸水’果実の棚持ち性向上に効果を示したLBLコーティングではあるが、一方で重量損失抑制には寄与しなかった。青果物から水分が損失することは青果物の張りが減少し外観や食感といった商品価値の低下に繋がりがねないことから、キトサンとアルギン酸から成るLBLコーティングは青果物の貯蔵技術として十分とは言えない。また、実用性を考慮すると多層のコーティングプロセスが必須となることは生産性の観点から望ましくはなく貯蔵延長技術としてキトサンとアルギン酸のLBLコーティングはまだ改良の余地が残っていると言える。

第3章 キトサン／ペクチンから成る複合体エディブルコーティングがスダチ果実の品質保持および塗工回数が与える影響について

3-1. 緒言

スダチ果実 (*Citrus Sudachi Hort. ex Sirai*) はミカン属の香酸カンキツ類に属し、優れた酸味と香気を持つことから日本料理をはじめ様々な食品の風味付けに使用されている。同じ香酸カンキツに分類されるレモンやユズとは異なり、スダチ果実は成熟して着色するとみずみずしさが欠け、また独特の風味、酸味を失ってしまう (北川ら, 1982)。スダチは果実生理学的には未熟の状態出荷され、果皮の緑色保持が重要な商品価値の一つとなる。ただし、収穫後の未熟なスダチ果実は棚持ち期間が短く、常温では数日で果皮が黄色に変わってしまう課題がある。また、冷蔵庫に貯蔵し緑色を維持した上で端境期での出荷を行う場合があるが、低温環境下から離れると黄色化が進行してしまうため、更なる品質保持技術が求められている。(豊田, 2003)。

カンキツは収穫後の呼吸量とエチレン生成が比較的小さくノンクライマクテリック型果実に分類されるが (Kader, 1992)、外生エチレン処理により呼吸の上昇やクロロフィルの分解による果皮色の変化が促進されることが知られている (Goldschmidt ら, 1993)。これを利用して、果肉先熟型の早生温州ミカンでは、着色促進による商品価値向上のためエチレン処理を行う場合がある (北川ら, 1971)。ただし、スダチ果実の品質保持には緑色を維持することが重要であるため逆にエチレンの作用は極力回避する必要がある。

1-MCP (1-methylcyclopropene) は強力なエチレン作用阻害剤として受容体に結合し、エチレン信号をオフにすることで果実成熟や老化などの生理作用を抑制する (Sisler・Serek, 1997)。1-MCP は品質保持剤として青果物だけでなく花卉など幅広い農産物にも効果を示し (Blankenship・Dole, 2003)、日本国内でもリンゴ、ニホンナシ、カキの貯蔵・棚持ち期間向上に利用されている。

第2章ではキトサンとアルギン酸を用いた LBL (Layer-by-Layer) コーティングをニホンナシ‘幸水’に適用し、エチレン生成誘導と果肉軟化を遅延させることを示した (Hira ら, 2021)。しかし LBL コーティング技術は複数回の塗布と乾燥作業を繰り返す必要があり、実用上の生産性に課題がある。そこで本検討ではカチオン性材料とアニオン性材料を混合した複合体型の IC (ion complex) コーティング液を調製し、エディブルコーティングとしての適用を試みた。

本報告では未熟な状態で収穫した果皮色が緑色のスダチ果実に対してイオン性多糖類を用いた LBL の多層コーティングおよびイオンコンプレックスの複合体コーティング処理、また 1-MCP 処理を施し、10, 15, 20°C 下での貯蔵における品質保持効果を検討した。

3-2. LBL, IC コーティング処理および 1-MCP 処理がスダチ果実の品質保持に及ぼす影響 (実験 1)

3-2-1. 材料および試験方法

3-2-1-1. 供試材料と貯蔵条件

徳島県の農園で商業的収穫時期に収穫されたスダチ果実を 2020 年 9 月 2 日に入手した。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し、試験前にイオン交換水で洗浄した。各処理区のスダチ果実はそれぞれ 10, 15, 20°C の恒温室内で 19 日目まで静置し、一定間隔ごとに、重量減少率、エチレン生成量、呼吸活性およびカラーインデックスを測定した。各測定にはそれぞれ 5 個のスダチ果実を供試した。

3-2-1-2. 処理区の設定

無処理果実 (コントロール), LBL コート果実, IC コート果実, 1-MCP 処理果実の 4 つの処理区を設けた。

3-2-1-3. エディブルコーティング処理および 1-MCP 処理

LBL コーティング処理

酢酸 (東京化成 (株)) 0.4% (w/v) 水溶液にキトサン (medium molecular weight, Sigma-Aldrich) を 0.5% (w/v) となるように加え、かくはんし溶解した後、 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ アンモニア水 (東京化成 (株)) を用いて pH6 に調整しキトサンコーティング液を得た。イオン交換水に 0.5% (w/v) となるようにアルギン酸 (東京化成 (株)) を加え、かくはんし溶解した後、酢酸とアンモニア水を用いて pH6 に調整しアルギン酸コーティング液を得た。スダチ果実をキトサンコーティング液に 30 秒間浸漬した後、室温にて 1 時間自然乾燥させ、その後アルギン酸コーティング液、キトサンコーティング液の順で同様に重層操作を行った。

IC コーティング処理

イオン交換水 98.7 g にペクチン (東京化成 (株)) 0.1 g を加え、かくはんし溶解した後、アラビアガム (東京化成 (株)) 0.5 g を加え、かくはんし溶解した。そのペクチン水溶液にキトサン 0.4 g を加え、かくはんしながら酢酸 0.3 g を少量ずつ添加し、沈殿のない白濁の懸濁液を得た。これをイオンコンプレックスコーティング (IC) 液とした。この IC 液を用いてスダチ果実に対して同様の浸漬、乾燥の操作を 3 回繰り返し IC 処理区とした。

1-MCP 処理

スダチ果実を密閉できるプラスチック容器に入れ、2 ppm 1-MCP (アグロフレッシュジャパン社) を 25°C 下で一夜暴露処理した。

3-2-1-4. 果実品質および生理学的特性の測定

重量減少率

各測定日における初日からの重量差分を初日重量で割り返し、平均値をパーセンテージで表記した。

エチレン生成と呼吸活性

スダチ果実を 205 mL のリブ付き密閉容器に 20°C で 1 時間静置した後、容器内のガスを

1 mL 採取し、200°C設定の水素炎イオン化検出器、80°C設定の活性アルミナカラムを備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) を用いてエチレン生成量を測定した (Mitalo ら, 2019)。また同様に、熱伝導検出器、Porapak Q カラム (Agilent) を備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) 用いて二酸化炭素排出量を測定した。

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

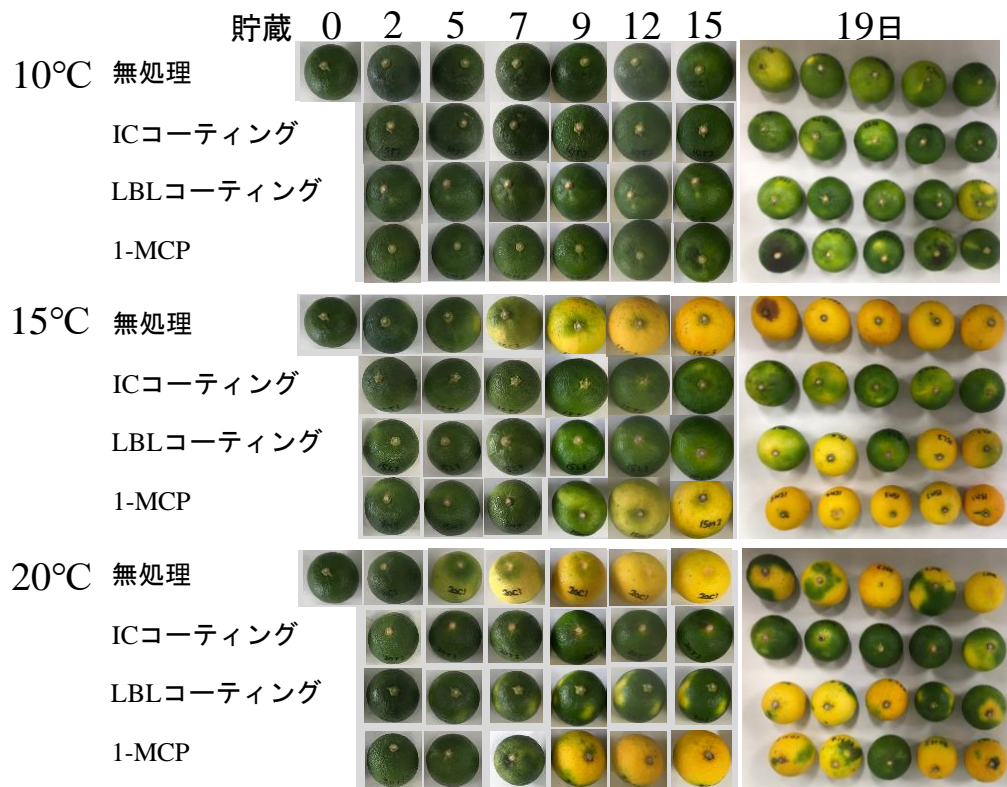
カラーインデックス

CR-200B (コニカミノルタ) を用いて果実赤道付近の L, a, b 値を測定した (Jiménez-Cuesta ら, 1981)。カラーインデックスは $1000a \cdot L^{-1} \cdot b^{-1}$ を用いて算出した (Ríos ら, 2010)。

3-2-2. 結果

外観, カラーインデックス

第 1 図に各温度下で貯蔵したスダチ果実の外観, 第 2 図にはカラーインデックスを示した。10°C下では、無処理区および LBL と IC の二つのコーティング処理区でも着色進行は緩慢で、貯蔵初日から 19 日目まで処理区間の差はほとんど見られなかった。一方で 1-MCP 処理区では 15 日目からヘタの周りが黒ずみとなる障害症状が発生し、一部には腐敗も見られた。カラーインデックス値はいずれの処理区でも徐々に上昇したが、処理区間ではほとんど差がなかった。15°C貯蔵では、無処理区で 7 日目から果皮が黄色に変化し始め 15 日目には全体が黄色となった。LBL コーティング処理区では 15 日目から徐々に黄色に変化し始め、IC コーティング処理区では 19 日目でわずかに黄色化が見られたが、無処理区と比較すると二つコーティング処理は果皮の黄化を抑制した。一方、1-MCP 処理区は 9 日目から黄色化が進行し 15 日目には完全に黄色になる果実が確認された。19 日目には無処理区と 1-MCP 処理区ではすべて果皮全体が黄色となっていた。LBL コーティング処理区では果実ごとにばらつきがあったが、19 日目でも IC 処理区では全体的に比較的緑色を保っていた。カラーインデックス値の測定でも同様な傾向が見られ、無処理区と 1-MCP 処理区では 7 日目からカラーインデックス値が上昇するのに対し、コーティング処理区では 7 日目以降のカラーインデックス値の上昇が抑制された。特に IC 処理区では他処理区よりも果皮の黄化が抑制されていた。20°C貯蔵でも 15°Cと類似の傾向が確認され、無処理区では 5 日目から、1-MCP 処理区では 7 日目から黄化し始め、両区では 9 日目にはほぼ全体が黄色となった。LBL 処理区で貯蔵初期からわずかに黄色化とカラーインデックス値の上昇が見られ、19 日目にはかなり着色が進行していた。IC コーティング処理区では、他の処理区と比べて果皮色とカラーインデックス値の変化の明確な抑制が見られた。

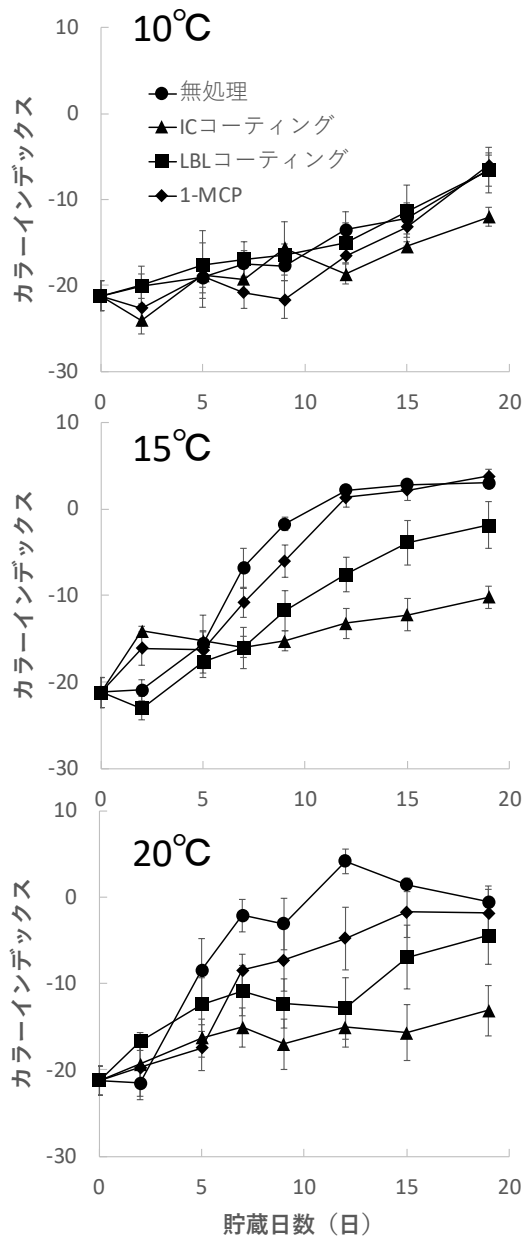


第1図 LBL, ICコーティング処理および1-MCP処理が異なる温度で貯蔵したスダチ果実の外観に及ぼす影響

IC：ペクチン，キトサン，アラビアガムから成る複合体の3層コーティング

LBL5：キトサン，アルギン酸の3層コーティング（キトサンーアルギン酸ーキトサン）

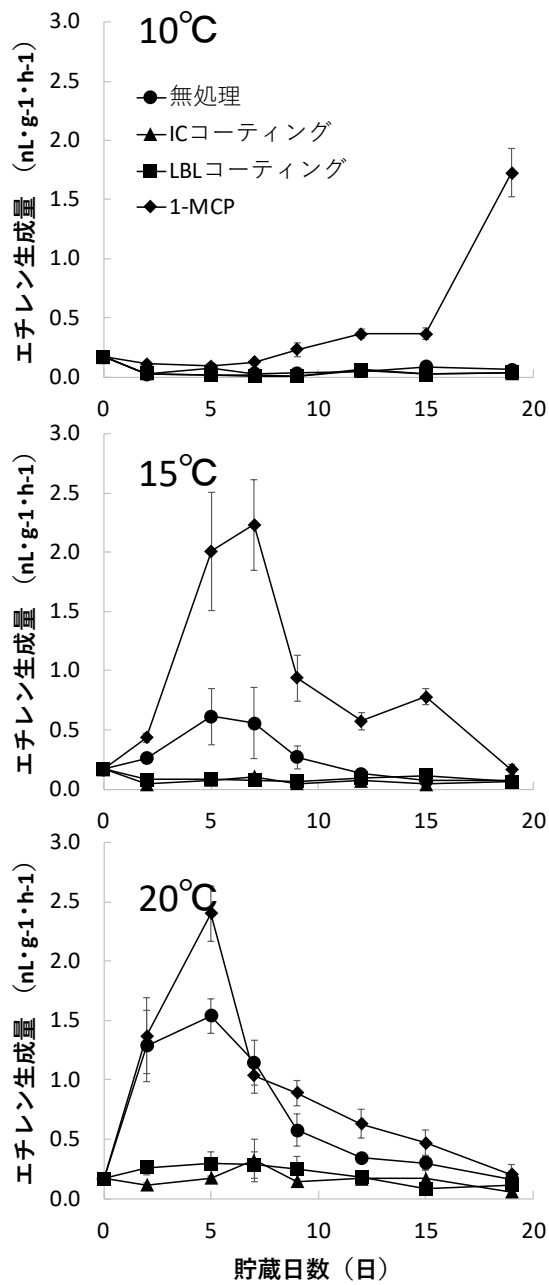
15日目までは各条件5反復のうち，代表1点を示した



第2図 LBL, ICコーティング処理および1-MCP処理が異なる温度で貯蔵したスタダチ果実の果皮色に及ぼす影響
 IC: ペクチン, キトサン, アラビアガムから成る複合体の3層コーティング
 LBL5: 3層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン)
 誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

エチレン生成量

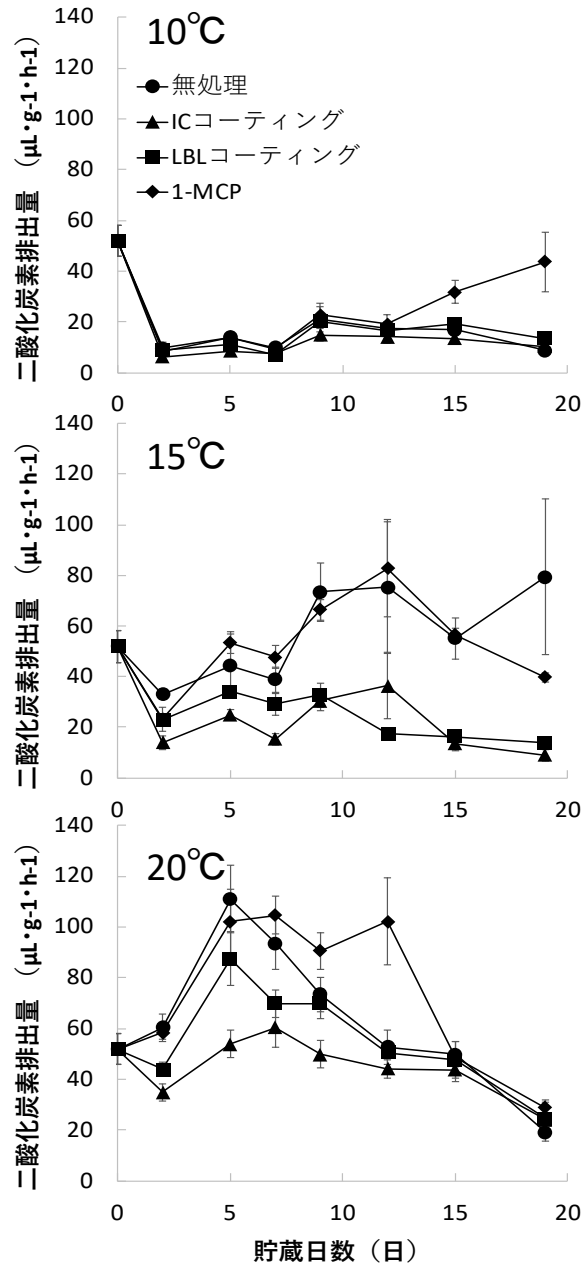
第3図にエチレン生成量の変化を示した。10°C下では、無処理区と二つのコーティング処理区のエチレン生成量のごく微量で推移したが、1-MCP処理区では7日目から徐々に増加し、15日目以降では急増した。15°Cにおいては、無処理区は2日目からエチレン生成量が増加し5日目に $0.61 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ をピークとするクライマクテリック様パターンを示した。二つのコーティング処理区では試験期間中を通じて痕跡レベルの低い値を示し続けた。一方、1-MCP処理区では2日目から増加し、7日目に $0.94 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の最大値を示し、無処理区よりも高い値であった。20°C下では、無処理区は2日目から増加し、15°Cより高い $1.54 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の最大値を示した。二つのコーティング処理区のエチレン生成量は $0.35 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以下の低いレベルで推移した。1-MCP処理区は2日目から増加し、5日目に無処理区よりも高い $2.40 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の最大値を示した。



第3図 LBL, ICコーティング処理および1-MCP処理が異なる温度で貯蔵したスターチ果実のエチレン生成量に及ぼす影響
 IC: ペクチン, キトサン, アラビアガムから成る複合体の3層コーティング
 LBL5: 3層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン)
 誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

二酸化炭素排出量

スダチ果実の二酸化炭素排出量の変化を第 4 図に示した。10°C下では無処理区と二つのコーティング処理区では期間を通じて低いレベルで推移し処理区間に差異は見られなかった。一方、1-MCP 処理区の二酸化炭素排出量は 12 日目以降から急増した。15°C貯蔵では、無処理区と 1-MCP 処理区の二酸化炭素排出量は 15 日目をピークとするクライマクテリック様パターンを示した。二つのコーティング処理区の二酸化炭素排出量は低いレベルで推移した。同様に 20°C下では、無処理区は 5 日目の $111 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークとするクライマクテリック様パターンを示した。LBL 処理区では 5 日目に増加を示したが無処理区より低い $88 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ であった。IC コーティング処理区の二酸化炭素排出量は他の処理区よりも低い値を保ち、初期値の $52 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ から大きな変化はなかった。一方、1-MCP 処理区では二酸化炭素排出量の増加が見られ、他処理区よりも長い期間高い値を示した。



第4図 LBL, ICコーティング処理および1-MCP処理が異なる温度で貯蔵したスターチ果実の二酸化炭素排出量に及ぼす影響

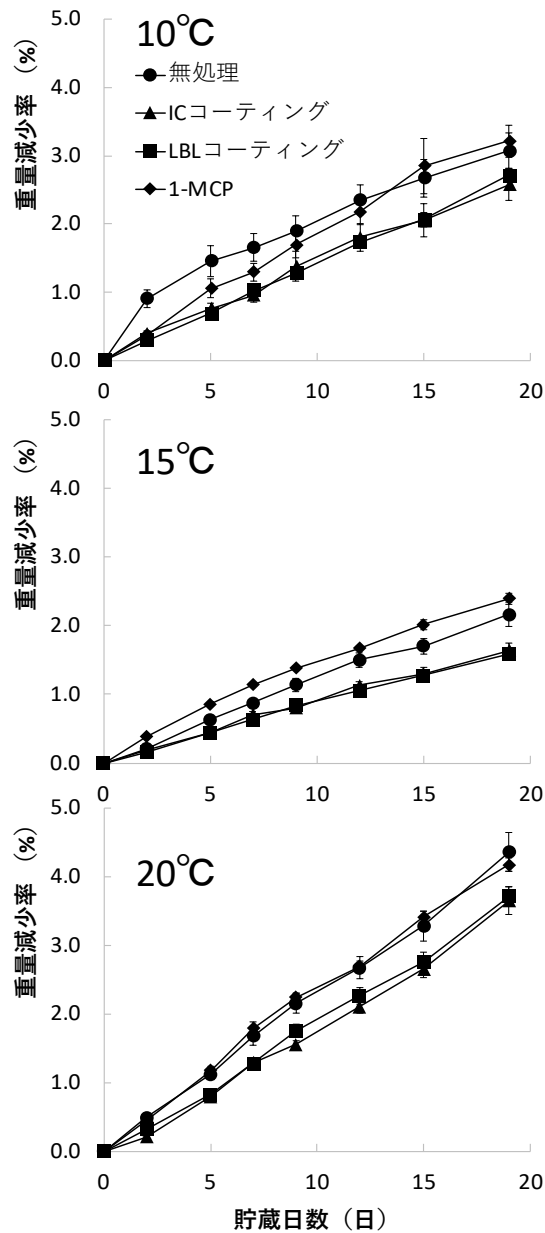
IC: ペクチン, キトサン, アラビアガムから成る複合体の3層コーティング

LBL5: 3層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン)

誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

重量減少率

貯蔵中の重量減少率の変化を第5図に示した。いずれの処理区においても実験期間中ほぼ直線的に増加した。二つのコーティング処理区では、いずれの貯蔵温度でも無処理区および1-MCP処理区よりもやや低い重量減少率を示した。



第5図 LBL, ICコーティング処理および1-MCP処理が異なる温度で貯蔵したスダチ果実の重量損失に及ぼす影響
 IC: ペクチン, キトサン, アラビアガムから成る複合体の3層コーティング
 LBL5: 3層コーティング (キトサン-アルギン酸-キトサン)
 誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

3-3. IC 処理の積層数がスダチ果実の品質保持におよぼす影響 (実験 2)

3-3-1. 材料および試験方法

3-3-1-1. 供試材料と貯蔵条件

実験 1 と同様に 2020 年 9 月 24 日に入手し, 前処理したスダチ果実を供試した. 各処理区のスダチ果実は 15°C の保冷庫に 28 日目まで静置し, 一定の日数ごとに観察を行った.

3-3-1-2. 処理区の設定

無処理果実（コントロール）、IC 一層コート果実、IC 二層コート果実、IC 三層コート果実の4つの処理区を設けた。

3-3-1-3. エディブルコーティング処理

実験1と同じIC液を用いてスダチ果実に対して同様の浸漬、乾燥を行いIC一層果実とした。同様の方法で重層化を行い、IC二層果実、IC三層果実とした。それぞれ20果実を用意した。

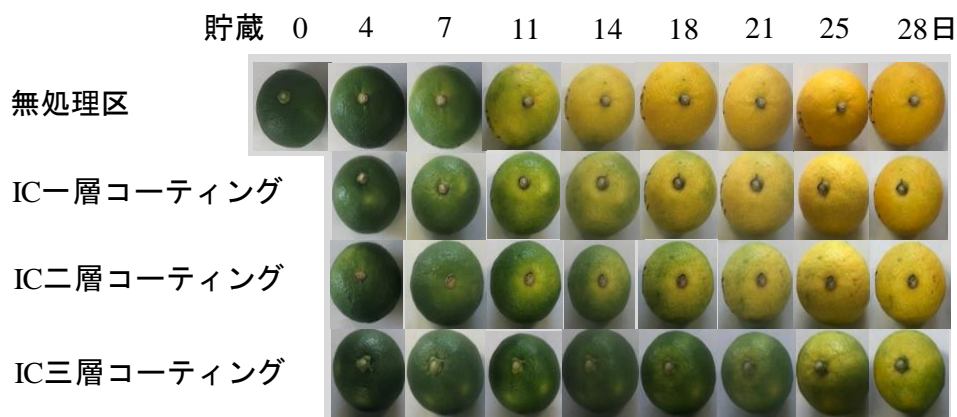
3-3-1-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

3-3-2. 結果

第6図に、ICコーティングの積層数が15°C貯蔵スダチ果実の外観に及ぼす影響を示した。無処理果実は貯蔵7日目以降に黄化の進行が見られたのに対し、IC処理はコーティング積層数が増えるに従い果皮変化を抑制した。三層処理区では21日目までは緑色を保持していた。



第6図 ICコーティングの積層数がスダチ果実の貯蔵中の外観に及ぼす影響(15°C)
IC：ペクチン，キトサン，アラビアガムから成る複合体のコーティング
各条件20反復のうち，代表1点を示した

3-4. 考察

スダチを含むカンキツ類はノンクライマクテリック型果実に分類され、成熟期のエチレン生成や呼吸活性のクライマクテリック上昇を示さないとされている。ただし、Aharoni (1968) はオレンジ果実を幼果、未熟果期に樹体から離すとエチレン生成とそれに伴う呼吸の増加が起きることを示している (Aharoni, 1968)。温州ミカンでも幼果、未熟果において

エチレン生成とそれに伴い呼吸量の増加, クロロフィルの分解, 果皮の黄色化が生じることが報告されている (兵藤・邨田, 1972). カンキツ類では外生エチレン処理により呼吸活性が増加することやクロロフィルの分解促進による果皮の黄化が進行することも知られている (Cohen, 1978; 高田, 1984). 従って, カンキツ果皮の緑色維持にはエチレン生成または作用の抑制が重要な項目となる.

スダチ果実を用いた今回の実験でも 15°Cと 20°C下での無処理区では Aharoni, 兵藤・邨田らの報告と同様にエチレン生成の誘導が貯蔵 2 日目で確認された. また, 無処理区の二酸化炭素排出量はクライマクテリック様パターンを示し, 果皮の黄化もそれぞれ 7 日目, 5 日目以降に確認された (第 1, 2, 3, 4 図).

1-MCP はエチレン作用の阻害剤として知られ, リンゴ, ナシ, カキなどの品質維持に広く使用されている (Watkins, 2006). ところが, 今回のスダチ果実の実験では 1-MCP 処理を行うと 15°Cと 20°Cでは黄色化の進行を抑制できなかつただけでなく一部では障害症状を引き起こし, また 1-MCP 処理区はエチレン生成量が無処理区よりも増加していた. カンキツ類のオレンジを用いた検討で, 1-MCP 処理することによりエチレン生成量や呼吸量が増加し寧ろ品質に悪影響を与える報告があり (Establés-Ortiz ら, 2016; Porat ら, 1999), 今回の実験結果はこれと一致し, スダチ果実の品質維持には 1-MCP は有効ではなかつた.

一方, 二つのコーティング処理区では, 15°Cと 20°C貯蔵では試験期間中, 一貫してエチレン生成量は低く推移し, 呼吸活性の上昇も見られず, 緑色の果色保持も良好であった. 今回の実験においてエディブルコーティングがスダチ果実の黄化を抑制したのはエチレン生成の抑制を介しているかと推察される.

エディブルコーティングは水分蒸散やガス透過を抑制し品質低下を防ぐ技術である (Mohamed ら, 2020). エチレン生成の要因の一つに水分蒸散によるストレス誘導がある (中野ら, 2001). 今回の実験において二つのコーティング処理区では無処理区よりもやや低い重量減少を示したがその差は小さかつた. 無処理区の 15, 20°C下で見られた貯蔵 5 日目のエチレン生成増加が水分蒸散によるものであれば, 二つのコーティング処理区でも同様の重量減少率に至る 15°C下の 9 日目, また 20°C貯蔵の 7 日目でエチレン生成量の増加が生じることが予想されたが, そのようなことはなかつた. 従って, スダチ果実では水分蒸散によるストレス誘導がエチレン生成の主要因になっているとは考えにくい. 筆者らは以前に, LBL コーティングが酸素透過性を抑制し, ニホンナシ‘幸水’のエチレン生成誘導と果肉軟化を遅延させることを示した (Hira ら, 2021). 今回用いたエディブルコーティングも, 酸素透過抑制効果を持っており, その寄与によりスダチ果実でのエチレン生成誘導を抑制し, 品質保持期間が延長したと考えられる. 高等植物でのエチレン生成の最終段階である ACO (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase) による ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) の酸化反応において, 外部環境の酸素濃度が下がれば基質の一つである酸素が低下しエチレン生成量が減少することがよく知られている (久保ら, 1996; Yang・Hoffman, 1984). 酸素透過抑制の源になるのはコート層中のイオン性多糖類による静電相互作用であり, LBL

により作製したコート層では静電相互作用は各層間で生じていると考えられる。一方、ICにより作製したコート層では静電相互作用は層間だけでなく、層内部でも生じていると考えられる。そのためICによるコート層はLBLによるそれよりも酸素透過抑制の起源となる静電相互作用の発生源は増えており、その結果より効果的にガス透過性を抑制していると推察できる。実際、15°Cと20°C下で19日目の段階でLBL処理区は黄色度がIC処理区よりも進行しており、LBLコーティングよりICコーティングの方がスダチ果実の品質維持と呼吸量の増加を抑制には有効であった。さらに実験2より、コート層の積層数は黄色化進行の抑制に影響を与えることが示された(第5図)。ガス透過を抑制する層が厚くなることで酸素供給量がさらに減少し、エチレンを伴う生理活性を低下したためと推察される。IC、またLBLを用いたエディブルコーティングによりスダチ果実の緑色果皮の変色を抑制する実用技術になり得ることが示唆された。ただし、今回の処理方法では十分な効果を得るためには三層以上の処理が必要である。エディブルコーティング技術の実用化には、より簡便な処理方法の確立が必要で、さらに検討する必要がある。

またここでは未掲載になるが研究室での別実験においてICコーティングはスダチ果実に対し重量減少を抑制しない結果を得ている(寒川卒業論文, 2021)。この結果は第2章に示したLBLコーティングをニホンナシに適用した検討と同様であり、本質的にはLBLコーティング、ICコーティングは重量減少の抑制効果はないと考えられ、この第3章実験1で得られた重量減少をわずかに抑制する結果に対しては再検証が必要と考える。

3-5. 摘要

スダチ果実の貯蔵・流通中の品質には緑色保持が重要な課題である。エディブルコーティングと1-MCPによる処理が10、15および20°C下でスダチ果実の品質保持にどのような影響を与えるのかを検討した。エディブルコーティングにはアニオン性材料とカチオン性材料を交互に積層したLBLコーティングとアニオン性材料とカチオン性材料を混合したイオンコンプレックス型(IC)コーティングを適用した。10°C貯蔵ではいずれの処理区でも15日目までは緑色がよく保持された。15°Cおよび20°Cでは、LBLコーティング、ICコーティング(三層)処理は対照区よりエチレン生成と呼吸活性を抑制し、果皮の黄色化が進行したのはそれぞれ15、19日目以降であった。15°Cでは、一層ICコーティングでは7日目、2層では11日目から黄化が進行したが、三層コーティングはより効果的であった。一方、1-MCP処理はスダチ果実の黄化抑制にはほとんど効果がなくエチレン生成と呼吸活性を促進し、むしろ害作用を示す場合もあった。以上から、エディブルコーティングはガス透過性の制限によるエチレン生成と呼吸活性の抑制を介してスダチ果実の品質低下の一つである果皮色の黄化を抑制し、実用技術化への可能性が示唆された。一方で、イオン性多糖類を交互に積層するLBLエディブルコーティングの多層プロセスの低生産性が実用化には課題になると考え、イオン性多糖類の複合体化したICエディブルコーティングの検討を行ったが、スダチ果実において実用的な品質保持性能を得るには三層のコーティングが必要であった。

このため、より現実的な実用性を考慮すると更なるコーティング材・構成の開発が求められる。

第 4 章 シュガーエステルコーティングが青果物貯蔵の品質保持に与える影響に関する研究

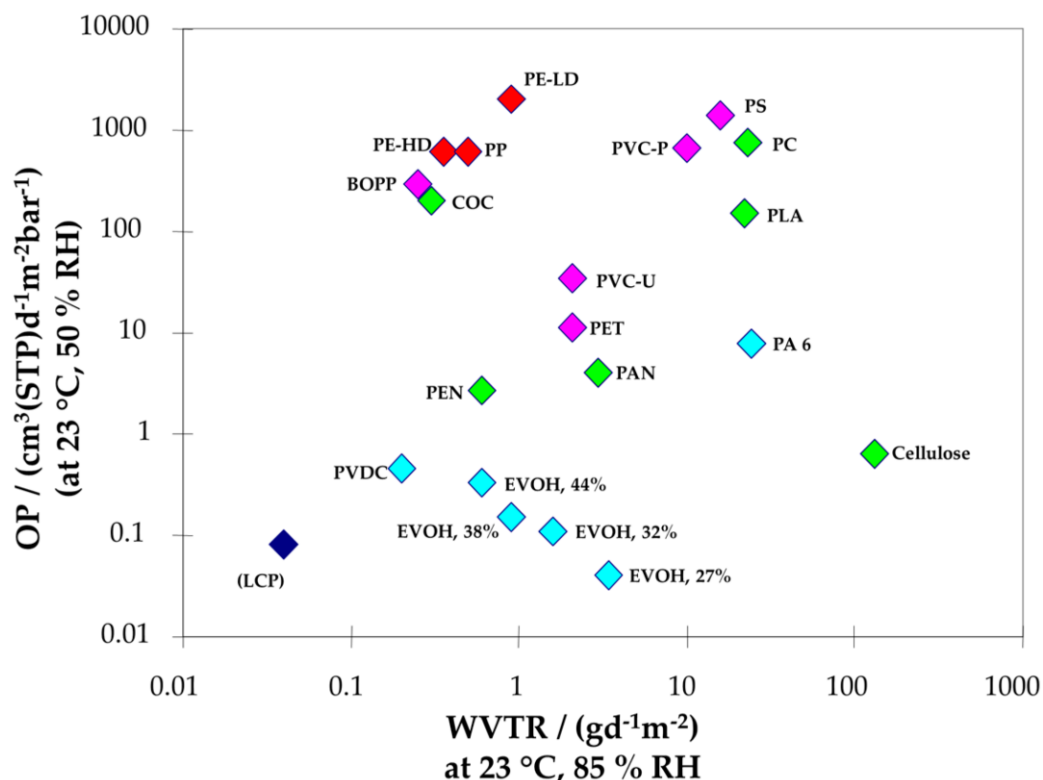
4-1. 緒言

青果物と周囲空間の間で生じる酸素と水蒸気のガス物質の移動という物理現象は青果物貯蔵における品質維持の考慮すべき重要な因子の一つである。酸素はもちろん呼吸に関連し熟成や老化の進行と、水蒸気は蒸散による重量損失、それに続く萎れや張りの減少などと深く関わっておりいずれも収穫後青果物の品質維持の観点では注意深くコントロールすべき因子である。ここで取り扱われる水蒸気と酸素は物理的性状でいえばいずれも気体状態ではあるが、化学的性質の観点では水蒸気と酸素ガスは異なる性質を持つ。水蒸気はもちろん親水性化合物であるが、酸素は対称性化学構造に由来する非極性化合物のため疎水性化合物として考えるべきである。そのため、空間を隔てた膜を透過する特性は物理的性状のみならず化学的性状にも影響を受けるため同一視して取り扱うことはできない (Marrink・Berendsen, 1996)。式 1 のとおり膜のガスの透過性 (P) はガスの拡散性 (D) と溶解性 (S) の積で表現される。

$$P = D \cdot S \text{ (式 1)}$$

同一温度におけるガスの拡散性 (D) は膜の密度とガスの分子サイズが関与し、溶解性 (S) は膜とガスの親和性が関与する。第 1 図に Schmid ら (2012) によって示された、一般的な食品包装材料の酸素ガス透過性 (OTR) と水蒸気透過性 (WVTR) の関係を示す (Schmid ら, 2012)。この図からわかるように材料によって酸素ガスと水蒸気はガスという一括りで透過性を取り扱うことはできず、それぞれ独立していることがわかる。青果物の包装でもよく使われるポリエチレン (PE: polyethylene) やポリプロピレン (PP: polypropylene) はこの材料グループの中では低い水蒸気透過性を持つ一方、高い酸素透過性を示している。これは PE と PP が疎水性の単位化合物から構成された高分子であることから親水性の水分子とは親和力が弱いため低い水蒸気透過性を示している。一方で疎水性の酸素分子とは疎水性の PE と PP は親和性が強いため酸素透過率が高くなっている。第 2, 3 章でエディブルコーティングに使用したキトサン、アルギン酸、ペクチン、アラビアガムは多糖類であり、この図では cellulose が最も類似した構造になる。ここからわかる通り、多糖類は低い酸素ガス透過性を持つ一方で水蒸気透過性は高くなっている。これは化学構造中に親水性を担う水酸基を多く持っており、化合物全体として性質は親水性を示しているためである。この多糖類をエディブルコーティングとして用いた際、青果物のエチレンや呼吸抑制を抑え、コーティング膜が低い OTR を示したことで、また青果物の重量損失抑制には寄与せず、コーティング膜が高い WVTR を示したこともこのグラフが示す関係と一致する。多糖類をフィルム化し食品包装への実用化を検討した報告においては、この水蒸気透過性が高い性質は食品保存の観点からは改善すべき課題であり、化学構造の一部に機能性官能基を修飾する、添加剤を用いるなどの改善検討が行われている (Zhnag ら, 2020)。青果物貯蔵へ応用するエディブルコ

ーティングでも同様であり、水分損失は青果物の鮮度を明らかに低下させ萎れや張りの減少など明らかに品質低下に繋がる。一般的に葉物野菜においては5%の重量損失が生じると商品価値が低下すると言われている (Kader, 1994; Mahajan ら, 2008)。水分蒸散を抑制し重量損失を防止する水蒸気ガスバリア性の付与は貯蔵する青果物の品質維持の観点からももちろんエディブルコーティングに求められる重要な性能であり、検討すべき項目の一つである。



第1図 食品包装に一般的に用いられる材料の酸素透過率と水蒸気透過率の関係：各データは100 μm厚に規格化 (Schmidら, 2012)
 OP：酸素透過率 (Oxygen permeability)
 WVTR：水蒸気透過率 (Water vapor transmission rate)

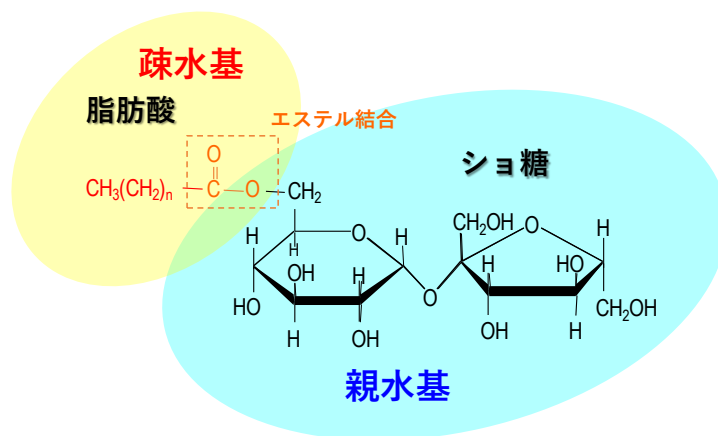
シュガーエステルはショ糖脂肪酸エステル、スクロースエステルとも呼称され、ショ糖の親水基に疎水性の脂肪酸をエステル結合させた非イオン性界面活性剤である (第2図)。いずれも天然由来の原料から構成されるため生体適合性があり安全安心に使用ができる材料である。ショ糖には合計8つの水酸基が備わるため、結合させる脂肪酸の数を変えることで親水/疎水性のバランスが調整できる。また脂肪酸の炭素鎖長さをえることでも親水/疎水性のバランスが調整できるため、シュガーエステルは親疎水バランスの調整幅が広く、食品、化粧品、医薬品など、利用される分野は多岐にわたっている (兼井ら, 1996)。

エディブルコーティング材料としての脂質は化学構造が主に疎水性のアルキル鎖から構成されるため水蒸気バリア性に対し効果が期待できるが、水との親和性の低さから有機溶

剤の使用が必要など生産性に制約があった。一方で界面活性剤であれば化学構造中に疎水性部位を含みつつ親水性部位も含むため水中においてもミセル構造を形成し分散が可能である。そのためシュガーエステルは化学構造中の疎水性部位による水蒸気バリア性が期待できつつ、かつ界面活性剤由来の水中での安定分散形態形成の性質から水性コーティング材としての応用も可能と考える。

実際にシュガーエステルを果実のエディブルコーティングとして適用事例はカンキツのカボス果実に対しコーティングすることで重量損失と果皮色の変化を抑制する報告がある(邨田, 1988; 邨田・山脇, 1993)。またエチレン処理を行ったバナナの熟成挙動抑制に対する効果も示されている(Momen, 1997)。しかし熟成抑制の効果を示している一方で呼吸やエチレンなどには言及がされておらず、作用メカニズムが不明瞭なままとなっている。

そこで本検討ではシュガーエステルをエディブルコーティングとして用い、第2, 3章で示したような青果物の貯蔵品質維持に対する寄与とそれに関わるエチレン生成, 呼吸に対する影響の調査, さらに重量減少に対して効果を示すかについて検討した。また本検討においてはエディブルコーティングとしてのシュガーエステルのポテンシャルを確認するため、コーティング回数の影響, 1-MCP との効果の比較, 外生エチレンの影響および収穫からコーティング処理までの日数の影響についても検討を行った。



第2図 シュガーエステルの代表的化学構造式

脂肪酸のアルキル鎖の長さを変えることで、またショ糖の水酸基への脂肪酸の導入数を変えることで親水性と疎水性のバランスが変化

4-2. シュガーエステルコーティング処理がカキ‘平核無’果実の熟成に及ぼす影響と 1-MCP, プラスチック包装との比較 (実験 1)

4-2-1. 緒言

エディブルコーティングとしてのシュガーエステルの適用性を確認するためカキ果実‘平核無’の幼果を用いて検討を行った。カキはクライマクテリック型果実であり収穫後にエチレン生成と呼吸の急激な上昇を伴う。さらに成熟で収穫するカキ果実に比較して幼果段

階で収穫するとエチレン生成量が強く顕著な老化現象を伴う（板村ら，1989）．エチレン受容体に作用する 1-MCP の利用は第 3 章で示したようにスダチ果実においては棚持ち性向上に有効ではなかったが，カキ果実においてはエチレンにより生じる種々の反応開始を防止する手段として効果は認められており実用化もされている．またカキ果実は蒸散による水分損失ストレスでもエチレン生成が誘導され老化が進行することが知られており，その対策としてポリエチレン包装に包むことで水分蒸散を抑制し，過熟進行を防ぐ方法が知られている（中野ら，2001）．

シュガーエステルエディブルコーティングが第 2 章で示したようにエチレン生成抑制による熟成進行の遅延効果を示すかどうか，さらに水分蒸散抑制効果の有無とその効果を評価するため既存の 1-MCP 技術，プラスチック包装との比較を行った．

4-2-2. 材料および試験方法

4-2-2-1. 供試材料と貯蔵条件

岡山大学の圃場で収穫されたカキ (*Diospyros kaki* Thunb.) ‘平核無’果実の幼果を 2021 年 7 月 30 日に入手した．目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し，試験前にイオン交換水で洗浄した．各処理区のカキ果実は 20°C の恒温室で 11 日目まで静置し，一定間隔ごとに，カラーインデックス，果肉硬度，重量減少率，エチレン生成量および呼吸活性を測定した．

4-2-2-2. 処理区の設定

無処理果実（コントロール），シュガーエステルコーティング果実，1-MCP 処理果実，プラスチック包装処理果実の 4 つの処理区を設けた．

4-2-2-3. エディブルコーティング処理，1-MCP 処理およびプラスチック包装処理

シュガーエステルコーティング処理

イオン交換水にシュガーエステル S-1170（三菱ケミカル（株））を 5%（w/v）水溶液になるよう投入し，かくはんしながら 70°C で加熱溶解後，冷却しシュガーエステルコーティング液を得た．カキ果実を室温のシュガーエステルコーティング液に 30 秒間浸漬した後，室温にて 1 時間自然乾燥させた．

1-MCP 処理

カキ果実を密閉できるプラスチック容器に入れ，2 ppm 1-MCP（アグロフレッシュジャパン社）を 25°C 下で一夜暴露処理した．

プラスチック包装処理

カキ果実を 40 μm 厚のポリエチレン袋にいれ，密閉にならないよう上部は封をせずに軽く折りたたむだけとした．

4-2-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した．

カラーインデックス

CR-200B (コニカミノルタ) を用いて果実赤道付近の L, a, b 値を測定した (Jiménez-Cuesta ら, 1981). カラーインデックスは $1000a \cdot L^{-1} \cdot b^{-1}$ を用いて算出した (Ríos ら, 2010). 測定にはそれぞれ 5 個のカキ果実を供試した.

果肉硬度

3 個の果実を用いて 3 か所の果肉硬度を 3 mm 径の円柱プランジャーを備えた果実硬度計を用いて測定した (Hiwasa ら, 2003).

重量減少率

各測定日における初日からの重量差分を初日重量で割り返し, 平均値をパーセンテージで表記した. 測定にはそれぞれ 5 個のカキ果実を供試した.

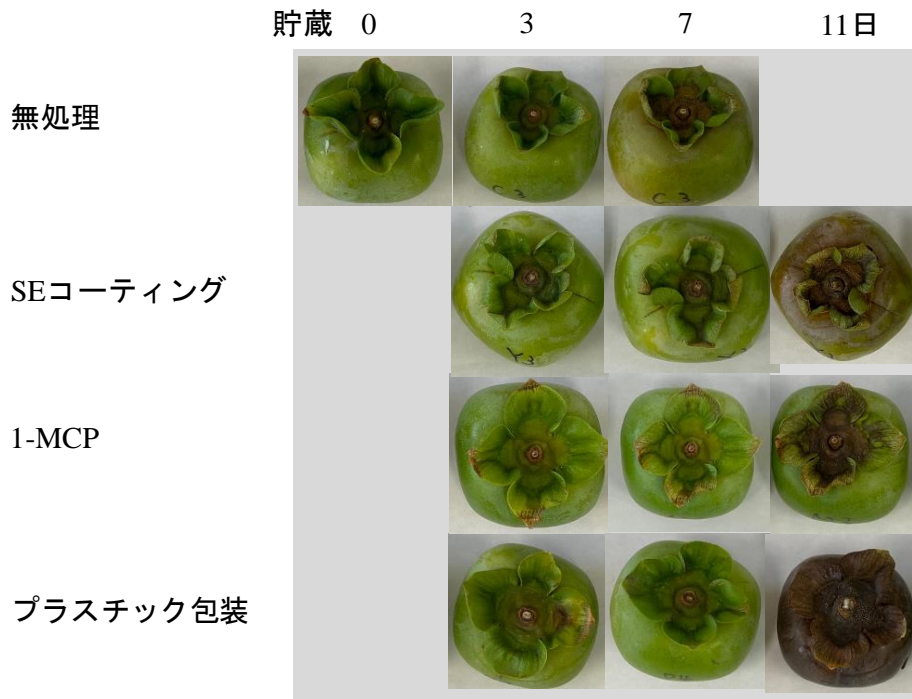
エチレン生成と呼吸活性

カキ果実を 440 mL のリブ付き密閉容器に 20°C で 1 時間静置した後, 容器内のガスを 1 mL 採取し, 200°C 設定の水素炎イオン化検出器, 80°C 設定の活性アルミナカラムを備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) を用いてエチレン生成量を測定した (Mitalo ら, 2019). また同様に, 熱伝導検出器, Porapak Q カラム (Agilent) を備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) を用いて二酸化炭素排出量を測定した. 測定にはそれぞれ 5 個のカキ果実を供試した.

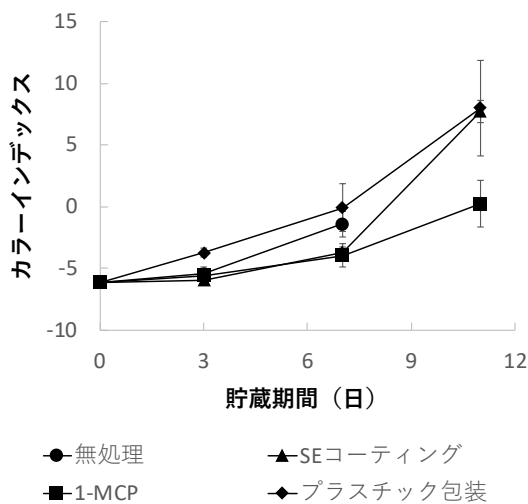
4-2-3. 結果

外観, カラーインデックス

第 3 図にカキ果実の外観, 第 4 図にはカラーインデックスを示した. コントロールの無処理果実は緑色を示した外観が僅かに黄色味を帯びていき, 貯蔵 14 日目で腐敗が生じた. カラーインデックスも貯蔵期間とともに上昇した. プラスチック包装処理区は貯蔵 14 日目で黒味を帯びた外観となり, カラーインデックスは他の処理区より上昇が大きかった. シュガーエステルコーティング果実と 1-MCP 処理果実は貯蔵 7 日目まではカラーインデックスの上昇が低かったが, シュガーエステル処理果実は 14 日目で褐色外観になりカラーインデックスも大きく上昇した. 1-MCP 処理果実は貯蔵 14 日目まで外観の変化は他処理区より小さかった.



第3図 シュガーエステル（SE）コーティング処理，1-MCP処理およびプラスチック包装処理が20°Cで貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果の外観に及ぼす影響
各条件5反復のうち，代表1点を示した

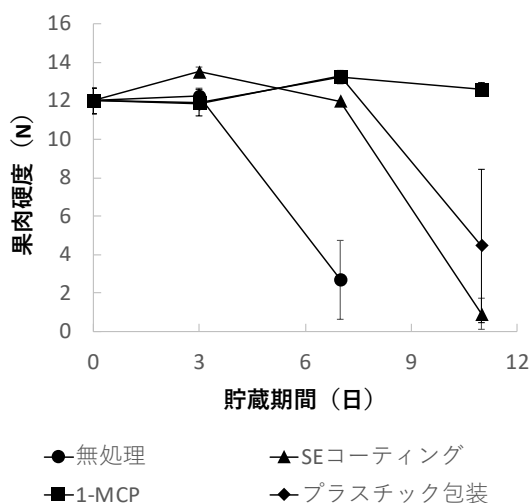


第4図 シュガーエステル（SE）コーティング処理，1-MCP処理およびプラスチック包装処理が20°Cで貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果の果皮色に及ぼす影響
誤差線は標準誤差（n=10）を示す

果肉硬度

第5図にカキ果実の果肉硬度を示した。コントロールの無処理果実は貯蔵3日目までは硬度を維持したが7日目で急激に低下した。プラスチック包装に入れた果実とシュガーエ

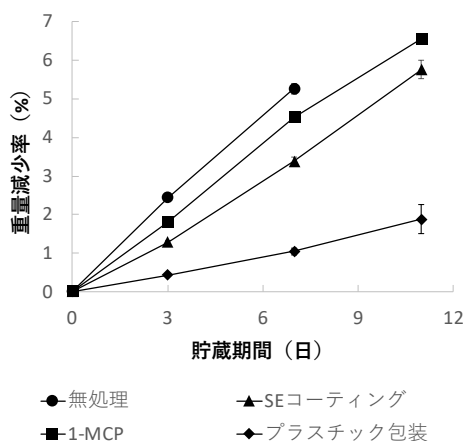
ステルコーティング果実は7日目までは硬度を維持し、その後貯蔵14日目で急激な低下を示した。一方、1-MCP処理した果実は貯蔵期間14日目まで硬度を維持した。



第5図 シュガーエステル (SE) コーティング処理, 1-MCP処理およびプラスチック包装処理が20°Cで貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果の果肉硬度に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

重量減少率

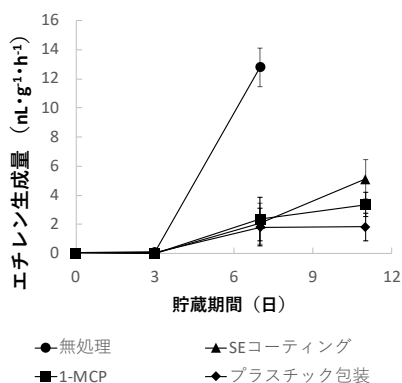
第6図にカキ果実の重量減少率を示した。各処理区とも貯蔵期間が進むにつれて重量減少率は直線的に上昇したがそれぞれの処理区でその傾きは異なった。コントロールの無処理果実が最も重量減少率が大きく、1-MCP処理果実はそれよりわずかに重量減少が低く約20%の減少抑制となった。一方、シュガーエステルコーティング果実はコントロールに対し約40%の重量減少抑制を示し、LBL, ICコーティングで実現できなかった重量減少抑制効果を示した。プラスチック包装に包んだカキ果実は最も重量減少が少なく約80%の重量減少抑制を示した。



第6図 シュガーエステル (SE) コーティング処理, 1-MCP処理およびプラスチック包装処理が20°Cで貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果の重量損失に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

エチレン生成量

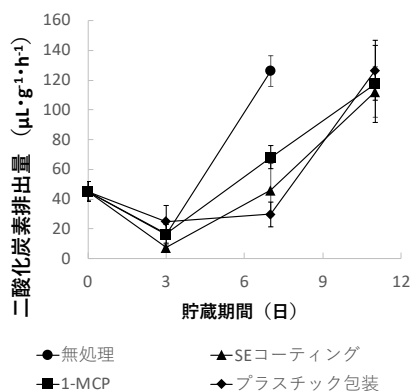
第7図にエチレン生成量の変化を示した。各処理区とも貯蔵3日目までは $0.1 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以下の極めて低いエチレン生成量を維持していたが、コントロールの無処理果実は7日目で $12.8 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ となる急激なエチレン生成量増加を示した。残りの3つの処理区は7日目で約 $2.0 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の緩やかな上昇を見せた。貯蔵14日目ではプラスチック包装に包んだ果実が最も低い $1.8 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を示し、続いて1-MCP処理果実が $3.4 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、シュガーエステルコーティングが $5.1 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を示し、3つの処理区はコントロールが貯蔵7日目で示した最も高い値より低い値で推移した。



第7図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理およびプラスチック包装処理が 20°C で貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果のエチレン生成量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

二酸化炭素排出量

カキ果実の二酸化炭素排出量の変化を第8図に示した。コントロール果実は貯蔵7日目で急上昇し $126 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の高い値を示した。貯蔵3日目でコントロール、1-MCP処理、プラスチック包装の果実は $15 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の値を示したがシュガーエステルコーティング果実は $7.4 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の他より低い値を示した。コントロール以外の3つの処理区は貯蔵7日目では約 $50 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の値、貯蔵14日目上昇し約 $120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の高い値を示した。



第8図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理およびプラスチック包装処理が 20°C で貯蔵したカキ‘平核無’果実の幼果の二酸化炭素排出量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

4-2-4. 考察

カキ果実はクライマクテリック型果実に分類され、平核無も同様であり、成熟期に急激なエチレン生成と呼吸上昇を示す。幼果は未熟な状態であるが、収穫すると顕著なエチレン生成が発生し急激に老化が進むことが知られている（板村ら，1989）。本実験においても収穫後の無処理カキ果実は徐々に果皮色に変化し、果肉硬度に関しては収穫後の 20°C 貯蔵において 7 日で急激な軟化，そして 14 日で腐敗が生じた。生理活性の観点では貯蔵 7 日目で典型的なクライマクテリック型果実の挙動である急激なエチレン生成量の上昇と呼吸量の増加生じた。エチレンは植物ホルモンとして知られ様々な生理活性開始，また進行のキー物質として働く。第 2 章で議論したように，エチレンによって果皮色の変化，果肉軟化が誘導されることから，本実験においてもエチレンの働きを抑制することが貯蔵品質の観点で重要なポイントになっていると考える。1-MCP 処理によってエチレン受容が阻害された果実は果皮色の変化と果肉軟化を強く抑制されており，エチレンの寄与を抑制することが貯蔵品質に対し有効であることが示されている。しかしエチレン生成量は完全には抑制されておらず，エチレン誘導以外の要因によるエチレン生成の存在が示唆される。中野らによると，カキは水分損失によりストレスを受けエチレン生成が生じることが示されている（中野ら，2001）。1-MCP 処理果実は重量損失の観点ではコントロール果実に対し 20% 抑制に留まっており，水分損失によるストレス由来のエチレン生成が生じていた可能性は十分にある。それに対しポリ袋に入れると水分損失を抑制し水分ストレス由来のエチレン生成が抑制できることが知られている。本検討においてもポリ袋による重量損失抑制効果は大きく，コントロール果実に対して 80% の重量損失抑制ができています。ポリ袋に入れたカキ果実のエチレン生成量が抑制できたのは，この水分損失抑制ためと考える。しかしながら CA 貯蔵や MA 包装のような呼吸を抑制する処理は行っていないことから，エチレン生成量が貯蔵 7 日目以降でわずかに上昇したと考える。シュガーエステルコーティング果実はコントロール果実と比較すると，1-MCP 処理やポリ袋処理と同様に果皮色変化，果肉軟化の抑制した。第 2 章の結果からエディブルコーティングには酸素ガスの透過を緩やかにし，その結果，エチレン生成の最終ステップでの酸化反応を抑制することでエチレン生成量を減らす効果があった。本実験においてもシュガーエステルコーティングはエチレン生成量が抑制されており同様の効果があったと考える。特に貯蔵 3 日目でシュガーエステルコーティング果実は他処理区よりも二酸化炭素排出量が低く果実内部の酸素濃度が下がっていたことが示唆される。また第 2 章のニホンナシ‘幸水’を用いた検討ではキトサン／アルギン酸 LBL エディブルコーティングは水蒸気ガスバリア性がなく，重量損失抑制に対して効果がなかった。しかしながら本実験においてシュガーエステルコーティング果実はコントロール果実より 40% の重量減少抑制を示しており，シュガーエステルで形成したコーティング層は水蒸気ガスバリア性を有していることが示唆される。この結果はカキ果実の水分ストレスによるエチレン生成誘導に対しても抑制効果をもたらすことが予想される。水分蒸散はエチレン生成誘導だけでなく萎れや果皮の張り減少といった商業的価値の低下に関わることから，

対策技術は重要になってくる。つまりシュガーエステルエディブルコーティングは 1-MCP では達成できない水分蒸散抑制，ポリ袋では対処できない呼吸抑制の両方を担える期待があることが示唆された。

4-3. シュガーエステルコーティング液の濃度がカキ‘中谷早生’果実の熟成に及ぼす影響 (実験 2)

4-3-1. 緒言

実験 1 でシュガーエステルをエディブルコーティングとして用いると呼吸抑制と水分蒸散抑制により果実の品質維持ができる可能性が示唆された。本検討ではコーティング液の濃度を調整することでコートの効果強度を変え，それが果実の熟成に与える影響について調査した。果実にはより実践的に成熟し脱渋処理を行ったカキ (*Diospyros kaki* Thunb.) ‘中谷早生’を用いて，品質維持効果を評価した。

4-3-2. 材料および試験方法

4-3-2-1. 供試材料と貯蔵条件

和歌山県内の農園で収穫され，脱渋処理を行ったカキ‘中谷早生’果実を 2021 年 9 月 10 日に入手した。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し，試験前にイオン交換水で洗浄した。各処理区のカキ果実は 20°C の恒温室で 14 日目まで静置し，一定間隔ごとに，軟化果実割合，カラーインデックス，果肉硬度および重量減少率を測定した。

4-3-2-2. 処理区の設定

無処理果実 (コントロール)，シュガーエステルコーティング (1%) 果実，シュガーエステルコーティング (3%) 果実，シュガーエステルコーティング (5%) 果実の 4 つの処理区を設けた。

4-3-2-3. エディブルコーティング処理

シュガーエステルコーティング処理

上述した同方法でそれぞれ 1, 3, 5% (w/v) になるようにシュガーエステルコーティング液を調製した。また上述同様に，カキ果実を室温のシュガーエステルコーティング液に 30 秒間浸漬した後，室温にて 1 時間自然乾燥させた。

4-3-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

軟化果実割合

軟化果実の判定は岩田ら (1969) の方法により指で押すと崩壊しそうになる，または果肉の一部が水浸状になっている段階に達した時点とし，20 個のカキ果実を用い軟化割合で表した (岩田ら，1969)。

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

カラーインデックス

上述した同方法で実施し，測定には10個のカキ果実を用いた．

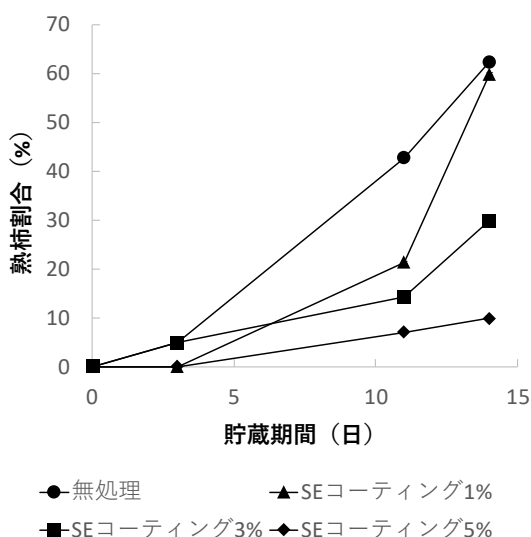
重量減少率

上述した同方法で実施し，測定には5個のカキ果実を用いた．

4-3-3. 結果

軟化果実割合

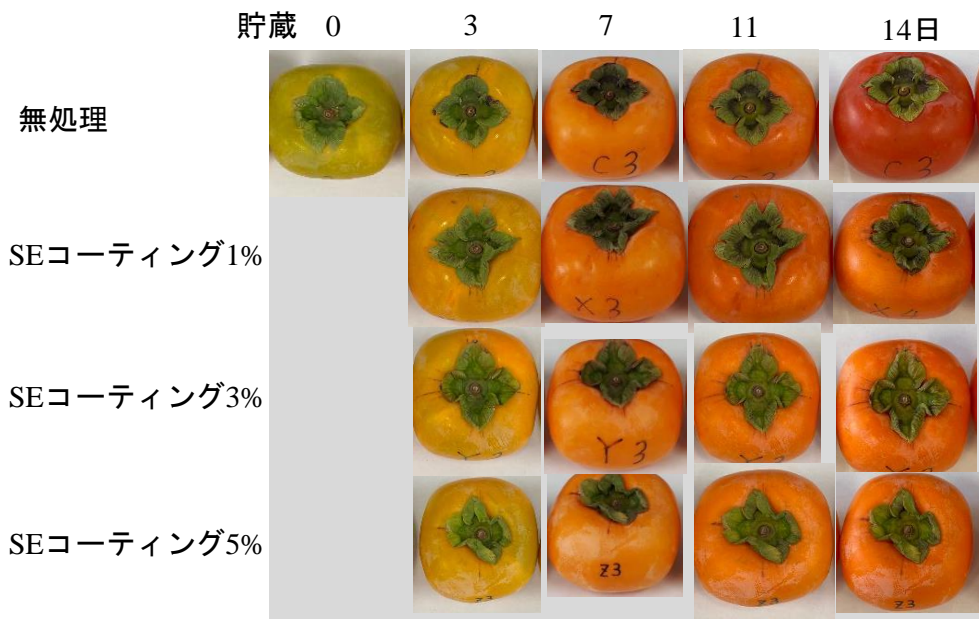
第9図に貯蔵期間での軟化果実割合の変化について示した．各処理区ともに20℃での貯蔵期間が延びるに従い軟化果実割合が増加した．そのうち，無処理のコントロール果実は最も軟化果実割合の増加が大きく11日目で43%，14日目で63%となった．一方，シュガーエステルで処理した果実はいずれのコーティング液濃度でも軟化果実割合の増加を抑制し，濃度1，3，5%の順にそれぞれ貯蔵11日目で21，14，7%，14日目で60，30，10%とコーティング液濃度が上がると軟化果実割合が減少した．また，濃度が5%より高くなると液粘度が急上昇しカキ果実にコーティングするのは困難であった．



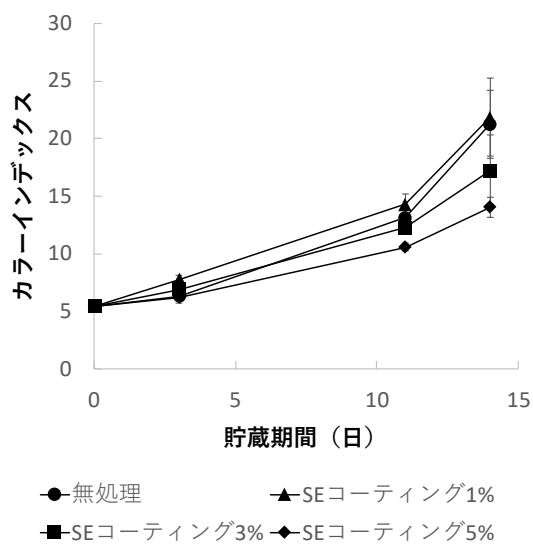
第9図 シュガーエステル (SE) コーティング処理に用いるコーティング液濃度が20℃で貯蔵したカキ‘中谷早生’果実の軟化に及ぼす影響
各条件20果実を用いた結果を示す

外観，カラーインデックス

第10，11図に貯蔵期間での外観と果皮色の変化について示した．各処理区ともに20℃での貯蔵期間が延びるに従いカラーインデックスが増加した．シュガーエステルで処理した果実は濃度が上がるとカラーインデックスの上昇が抑制された．濃度1%のシュガーエステル処理果実だけはコントロールの無処理果実とのカラーインデックスの推移に大きな差がなかった．



第10図 シュガーエステル（SE）コーティング処理に用いるコーティング液濃度が20℃で貯蔵したカキ‘中谷早生’果実の外観に及ぼす影響
各条件5反復のうち、代表1点を示した

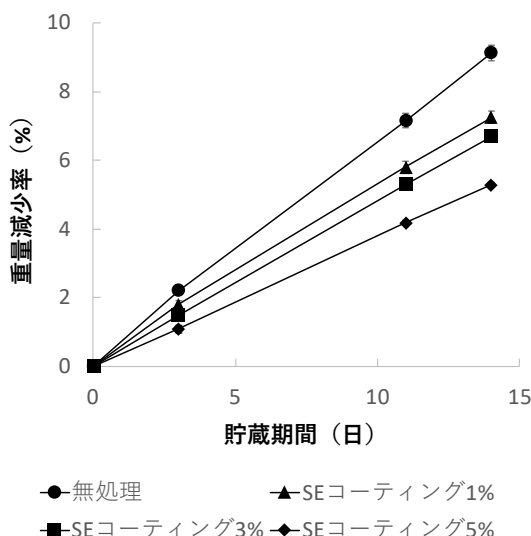


第11図 シュガーエステル（SE）コーティング処理に用いるコーティング液濃度が20℃で貯蔵したカキ‘中谷早生’果実の果皮色に及ぼす影響
誤差線は標準誤差（n=10）を示す

重量減少率

第12図にカキ果実の重量減少率を示した。各処理区とも貯蔵期間が進むにつれて重量減少率は直線的に上昇したがそれぞれの処理区でその傾きは異なった。コントロールの無処理果実が最も重量減少率が大きかった。シュガーエステルのコーティング果実では濃度が

上がるにつれて重量減少に対する抑制効果が強くなり、1, 3, 5%のコーティング果実でそれぞれ平均 81%, 72%, 55%の重量減少抑制率を示した。



第12図 シュガーエステル (SE) コーティング処理に用いるコーティング液濃度が20°Cで貯蔵したカキ‘中谷早生’果実の重量損失に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

4-3-4. 考察

カキ果実は収穫後に比較的短期間でエチレン生成による軟化が生じ熟柿となってしまうため、一般的には棚持ち期間が長くはなく‘中谷早生’のように早生品種であるとその傾向がさらに強い (Itai ら, 1999)。本検討においても貯蔵 11 日目で約半数のカキ果実で軟化が生じていた。一方で‘平核無’の幼果を用いた実験 1 の結果と同様に、成熟した‘中谷早生’を用いた検討でも軟化果実の発生と果皮色の変化を抑制できた。コーティング液のシュガーエステル濃度を上げると熟成進行はより抑制しており、乾燥後のコーティング層の厚みが上がったために寄与が強まったと考える。重量減少率の結果においても濃度が高い方がより重量減少を抑制しており、水分蒸散を抑制する物理的な障壁となるシュガーエステルのコーティング層の厚みが上がったためと推測する。以上の結果より、シュガーエステルを用いたエディブルコーティングは水分蒸散抑制とカキ果実の熟成抑制に有効に寄与することが示された。使用するコーティング液の濃度が低いと効果が弱まる一方で、第 2 章ではエディブルコーティングの酸素透過抑制性能による嫌気呼吸の懸念が示唆されたことから一概にコート液濃度が高い方がカキ果実の棚持ち貯蔵性が向上するとはいえない。実用化には適切なコート液濃度、また貯蔵温度を選定する必要がある。

4-4. シュガーエステルコーティング処理を行ったバナナ果実の熟成に及ぼす影響と外生プロピレン処理の受ける影響 (実験 3)

4-4-1. 緒言

クライマクテリック型果実の熟成挙動の開始と進行には植物ホルモンであるエチレンが重要な役割を担っている。エチレンが作用するとクロロフィル分解による果皮色の変化や細胞壁の分解による果肉の軟化など様々な生理現象が同時に働く。エチレン生成量増加もその一つであり、エチレンが作用することでエチレン生合成の律速反応に働く酵素 ACS をコードする遺伝子発現が増加するためエチレンが作用すると自己触媒的にエチレン生成量が増加する。エチレン生合成の最終工程には酸化反応があるため基質となる酸素の供給を抑制することでエチレン生成が抑制され、それはエディブルコーティングによって防止できることが示された（第2章）。一方、上述したようにエチレンには自己触媒作用があるため外部で発生したエチレンに接触することでも熟成挙動は開始する。

実験 1, 2 によりシュガーエステルをエディブルコーティングに用いることで熟成進行と重量減少の抑制ができることが示された。本検討においてはシュガーエステルのエディブルコーティングがカキ以外のクライマクテリック型果実にも寄与するかバナナ果実を用いて検証するとともに、コーティング処理した果実への外生エチレンの影響についても検証を行った。

4-4-2. 材料および試験方法

4-4-2-1. 供試材料と貯蔵条件

輸入業者から緑熟段階（ライトグリーン）のフィリピン産バナナ（*Musa* AAA group, cv. Grand Nain）‘グランドナイン’果実を 2021 年 11 月 16 日に入手した。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し、試験前にイオン交換水で洗浄した。各処理区のバナナ果実は 20°C の恒温室で 14 日目まで静置し、一定間隔ごとに、カラーインデックス、果肉硬度、重量減少率、エチレン生成量および呼吸活性を測定した。各測定には 3 果実を供試した。

4-4-2-2. 処理区の設定

無処理果実（コントロール）、シュガーエステルコーティング果実、無処理果実への 1-MCP 処理、無処理果実へのプロピレン処理、シュガーエステルコーティング果実へのプロピレン処理の 5 つの処理区を設けた。

4-4-2-3. エディブルコーティング処理、1-MCP 処理およびプロピレン処理

シュガーエステルコーティング処理

上述した同方法で 5% (w/v) のシュガーエステルコーティング液をバナナ果実にコーティング処理をした。

1-MCP 処理

無処理のバナナ果実とシュガーエステルコーティング処理を行ったバナナ果実をそれぞれ密閉できるプラスチック容器に入れ、2 ppm 1-MCP（アグロフレッシュジャパン社）を 25°C 下で一夜暴露処理した。

プロピレン処理

無処理のバナナ果実とシュガーエステルコーティング処理を行ったバナナ果実をそれぞれ密閉できるプラスチック容器に入れ、5000 ppm のプロピレンを 25°C 下で一夜暴露処理した。

4-4-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

カラーインデックス

上述した同方法で測定した。

果実硬度

3 個の果実を用いて 3 か所の果実硬度を 3 mm 径の円柱プランジャーを備えた果実硬度計を用いて測定した。

重量減少率

上述した同方法で測定した。

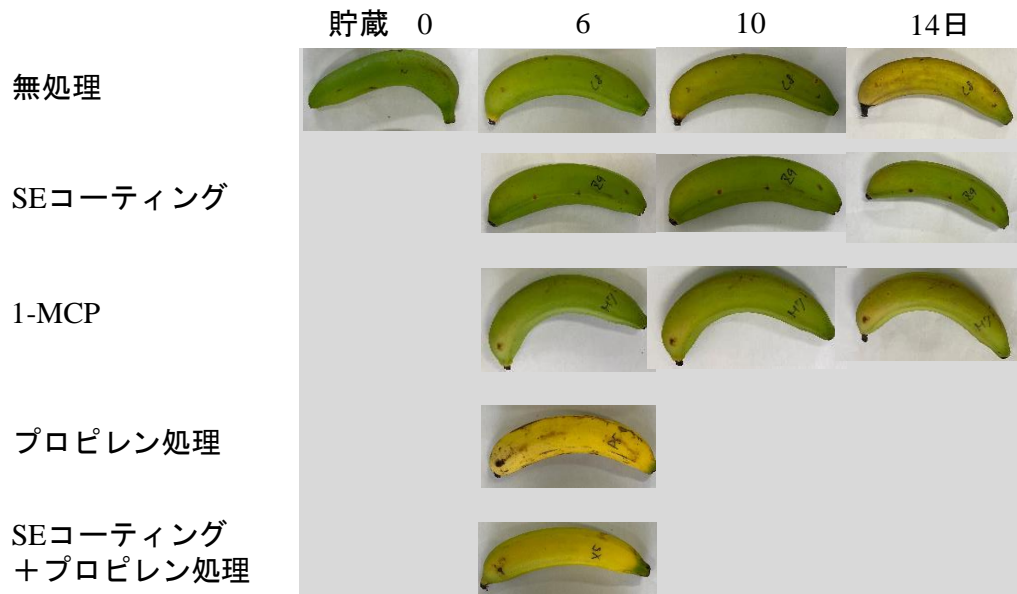
エチレン生成と呼吸活性

バナナ果実を 440 mL のリブ付き密閉容器に 20°C で 1 時間静置した後、上述した同方法で測定した。

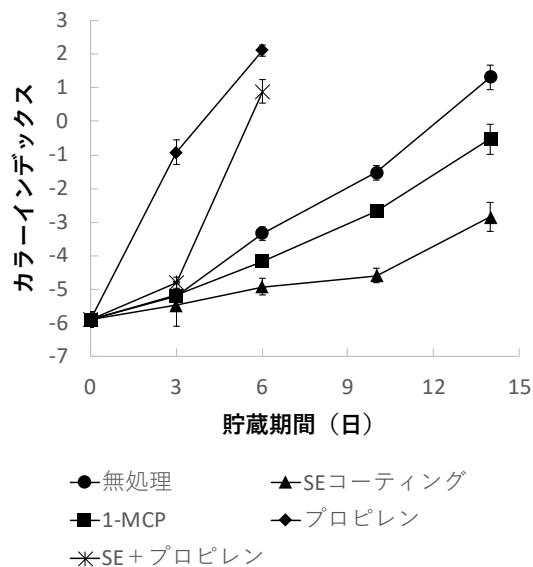
4-4-3. 結果

外観, カラーインデックス

第 13, 14 図に 20°C で貯蔵したバナナ果実の各処理区の外観とカラーインデックス推移を示す。コントロールの無処理果実は貯蔵日数に従い徐々にカラーインデックス値が増加し、緑色した果皮色が徐々に黄色に変化していき貯蔵 14 日目では全体の果皮色が黄色を示した。1-MCP 処理果実も徐々にカラーインデックス値が増加し、貯蔵 14 日目では全体に黄色を認識できるまでになったがコントロール果実と比較すると果皮色の変化は少なかった。シュガーエステルのコーティング果実はコントロール対してカラーインデックス値の上昇がかなり小さく、外観でも貯蔵 14 日目までほとんど緑色を維持した。一方でプロピレン処理を行った果実はカラーインデックス値が急上昇し外観も貯蔵 6 日目（貯蔵 3 日の外観データなし）果皮全体が完全に黄色に変化し、貯蔵 10 日目では腐敗が生じた。またシュガーエステルでコーティングした果実に対しプロピレン処理を行った処理区においても、貯蔵 3 日目まではカラーインデックス値は他処理区と有意差がなかったが貯蔵 6 日目ではカラーインデックス値の急上昇と果皮色の黄色化、さらに貯蔵 10 日目で腐敗が生じる結果となった。



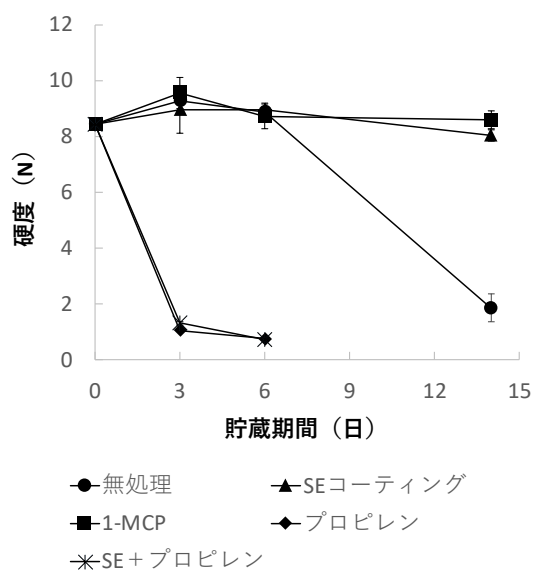
第13図 シュガーエステル（SE）コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実の外観に及ぼす影響
各条件5反復のうち、代表1点を示した



第14図 シュガーエステル（SE）コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実のカラーインデックスに及ぼす影響
誤差線は標準誤差（n=6）を示す

果実硬度

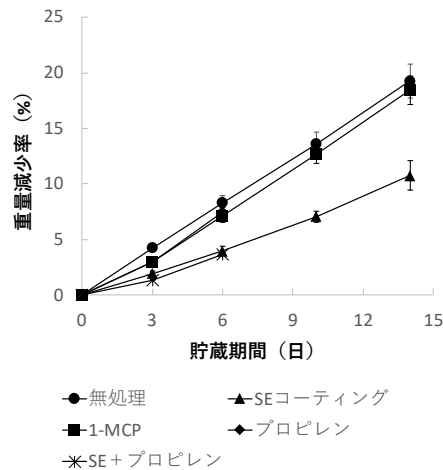
第 15 図に 20°C で貯蔵したバナナ果実の各処理区の果実硬度の変化推移を示す。コントロール果実は貯蔵 6 日目までは硬度を維持していたが貯蔵 14 日目で急激に低下が生じた（貯蔵 10 日の硬度データなし）。一方で 1-MCP 処理果実とシュガーエステルコーティング果実は貯蔵 14 日目まで貯蔵初日の硬度を維持し軟化が見られなかった。一方でプロピレン処理を行ったバナナ果実はコーティングの有無にかかわらず貯蔵 3 日目で既に急激な硬度低下を示した。



第15図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実の果肉硬度に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

重量減少率

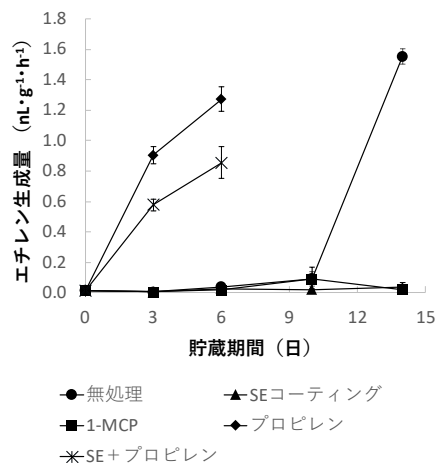
第 16 図に 20°C で貯蔵したバナナ果実の各処理区の重量減少率の推移を示す。各処理区とも貯蔵日数に従い直線的に重量減少率が増加したが処理内容で増加率に差があった。無処理のコントロール果実、1-MCP 処理果実およびコーティング処理を行わずにプロピレン処理を行った果実はほぼ同じ重量減少率の増加推移を示した。一方、シュガーエステルのコーティング果実とコーティング処理後にプロピレン処理を行った果実は同じ重量減少率の推移を示し（ただしプロピレン処理+コーティング処理果実は貯蔵 10 日目で腐敗のためデータは貯蔵 6 日目まで）、貯蔵 6 日目で比較すると SE コートを行った二つの処理区は他処理区に対し約半分の重量減少率であった。



第16図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実の重量損失に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

エチレン生成量

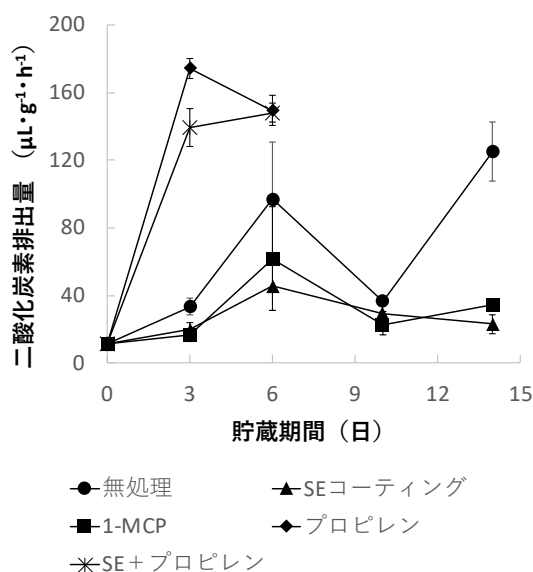
第17図に20°Cで貯蔵したバナナ果実の各処理区のエチレン生成量の推移を示す。コントロール果実は貯蔵6日目からわずかにエチレン生成量が増加し、貯蔵14日目で $1.6 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の急激な増加を示した。1-MCP処理果実は貯蔵10日目でわずかに増加し $0.09 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピーク値を示したが貯蔵期間でコントロール果実よりエチレン生成量は低かった。シュガーエステルのコーティング果実はさらに低いエチレン生成量を貯蔵期間通じて維持した。一方、プロピレン処理をした果実はコーティング処理の有無に関わらず貯蔵3日目で高いエチレン生成量を示し、貯蔵6日目ではさらに増加しコーティング処理無+プロピレン処理果実で $1.3 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、コート処理有+プロピレン処理果実で $0.9 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の高い値を示した。



第17図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実のエチレン生成量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

呼吸活性

第 18 図に 20°C に貯蔵したバナナ果実の貯蔵期間に対する二酸化炭素排出量の変化を示した。コントロール果実は呼吸量の増加傾向を示し、貯蔵 14 日目で貯蔵期間中最も高い 125 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を示した。1-MCP 処理果実とシュガーエステルのコーティング果実は僅かに上昇があったものの貯蔵期間を通して低い値を維持した。一方でプロピレン処理を行った果実はコーティング処理の有無に関わらず貯蔵 3 日目で急激な増加を示し、コーティング処理無+プロピレン処理果実で 175 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、コーティング処理有+プロピレン処理果実で 139 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を、貯蔵 6 日目でそれぞれ 150 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、148 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ を示した。



第18図 シュガーエステル (SE) コーティング処理、1-MCP処理および無処理果実またSEコーティング果実へのプロピレン処理が20°Cで貯蔵した未熟なバナナ果実の二酸化炭素排出量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

4-4-4. 考察

バナナ果実はカキ果実同様にクライマクテリック型果実であり、収穫後に急激なエチレン生成量の増加、呼吸量の増加を伴い果皮色の変化、果肉軟化といった熟成進行が生じる。シュガーエステルを用いたエディブルコーティング技術はカキ同様に熟成挙動の開始と進行を遅延することができた。その効果は 1-MCP 処理と同等レベルであった。さらに重量減少の観点では 1-MCP 処理には抑制効果がなく無処理のコントロール果実と同等レベルであった。1-MCP がエチレン受容体に作用しエチレンによる生理活性の開始と進行を防止することと蒸散による重量減少が別の現象であることから違和感のない結果である。一方、シュガーエステルのコーティング果実は熟成進行を抑制しているだけでなく重量減少も半分程度に抑制していたことから蒸散を防止し水分の保持にも寄与していることが示唆された。重量減少には寄与しない 1-MCP と比較するとシュガーエステルによるエディブルコーティ

ングは青果物の品質保持に対しより効果的な一面が確認できたと言える。外生エチレンの影響を確認するために構造が類似しているプロピレンを用いた検討では、プロピレン処理することで果皮色の変化、果肉の軟化、エチレン生成量および二酸化炭素排出量の増加生じ、典型的な熟成挙動が貯蔵3日目で生じた。一方で重量減少率には変化がなく、熟成進行と蒸散によると考えられる重量減少は独立していることが示唆された。しかしながら驚くべきことに、シュガーエステルコーティング果実は物理的な障壁を持っているにも関わらずプロピレン処理の影響はコーティング処理をしていない果実と同様に熟成挙動が強く進行していた。植物ホルモンであるエチレンは自己触媒作用を持つため少量のエチレンが作用するだけで連鎖的にエチレンが増幅し熟成挙動が進行する。第2章でエディブルコーティングが熟成の開始と進行を抑制したのは酸素透過の抑制が起因となっていることを示した。しかしPETフィルム基材を用いたエディブルコーティング層のガス透過性の調査結果からは、ガス透過率を下げるが完全に透過をゼロにするわけではなく、あくまで透過を抑制している状態であることが言える。つまり、プロピレンガスも完全には透過を防いではおらず抑制されたとはいえ一定量は内部に入っていることになる。少量でも果実内部に入れば連鎖的自己触媒作用によりエチレンは増加し熟成挙動の開始と進行に繋がったと考えられる。シュガーエステルを用いたエディブルコーティングは熟成挙動と重量減少を抑制できることから青果物の品質維持に有効に寄与できることが示されたが、一方で外生エチレンが発生した環境での貯蔵においてはシュガーエステルのエディブルコーティングでは熟成進行を抑制できず品質低下に繋がる恐れがある。例えば様々な青果物を混載するような外生エチレンの影響を受けるリスクがある環境においては庫内のエチレンを除去するような別の技術との併用など、別途検討が必要である。

4-5. シュガーエステルコーティング液の濃度がスダチ果実の品質保持に及ぼす影響（実験4）

4-5-1. 緒言

第3章において、スダチはノンクライマクテリック型果実であるが幼果で収穫するためエチレンが生成し緑色果皮色が黄化するが、エディブルコーティングはエチレン生成を抑え、緑色の果皮色維持に対して有効に寄与することを示した。本検討では第4章で検討してきたシュガーエステルを用いたエディブルコーティングが同様にスダチの品質維持に寄与するか検討するとともに、異なるシュガーエステル濃度のコーティング液が品質に影響について検討を行った。

4-5-2. 材料および試験方法

4-5-2-1. 供試材料と貯蔵条件

徳島県内の農園から商業的収穫時期に収穫した果実を用いた（7月20日入手）。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し、試験前にイオン交換水で洗浄した。各処理区の

スダチ果実は 15°Cの恒温室で 21 日目まで静置し、一定間隔ごとに、カラーインデックス、重量減少率、エチレン生成量および呼吸活性を測定した。各測定にはそれぞれ 5 個のスダチ果実を供試した。

4-5-2-2. 処理区の設定

無処理果実（コントロール）、シュガーエステルコーティング（1%）果実、シュガーエステルコーティング（3%）果実、シュガーエステルコーティング（5%）果実の 4 つの処理区を設けた。

4-5-2-3. エディブルコーティング処理

シュガーエステルコーティング処理

シュガーエステル S-1670（三菱ケミカル（株））を用いて上述した同方法でそれぞれ 1, 3, 5%（w/v）になるようにコーティング液を調製した。スダチ果実を室温のコーティング液に 30 秒間浸漬した後、室温にて 1 時間自然乾燥させた。

4-5-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

カラーインデックス

CR-200B（コニカミノルタ）を用いて果実赤道付近の L, a, b 値を測定した。カラーインデックスは $2000a \cdot L^{-1} \cdot (a^2+b^2)^{-0.5}$ を用いて算出した。

重量減少率

各測定日における初日からの重量差分を初日重量で割り返し、平均値をパーセンテージで表記した。

エチレン生成と呼吸活性

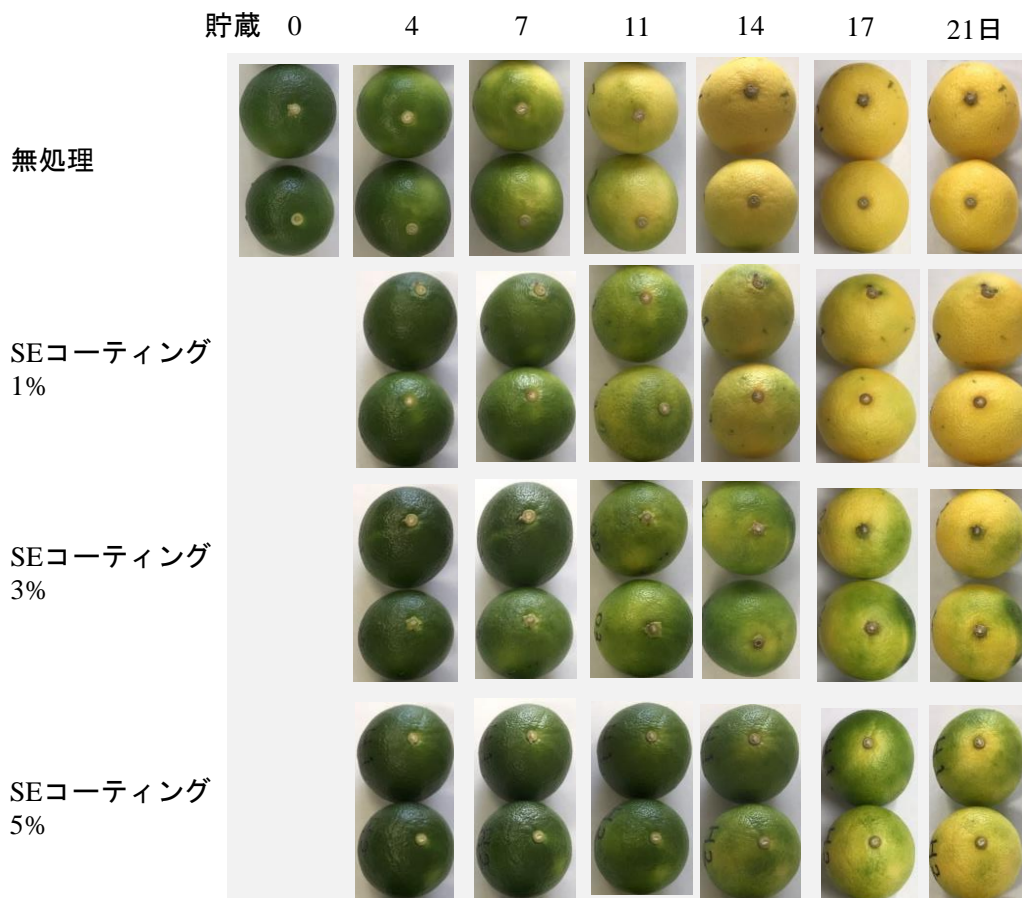
スダチ果実を 205 mL のリブ付き密閉容器に 20°C で 1 時間静置した後、容器内のガスを 1 mL 採取し、200°C 設定の水素炎イオン化検出器、80°C 設定の活性アルミナカラムを備えたガスクロマトグラフィー（Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所）を用いてエチレン生成量を測定した。また同様に、熱伝導検出器、Porapak Q カラム（Agilent）を備えたガスクロマトグラフィー（Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所）を用いて二酸化炭素排出量を測定した。

4-5-3. 結果

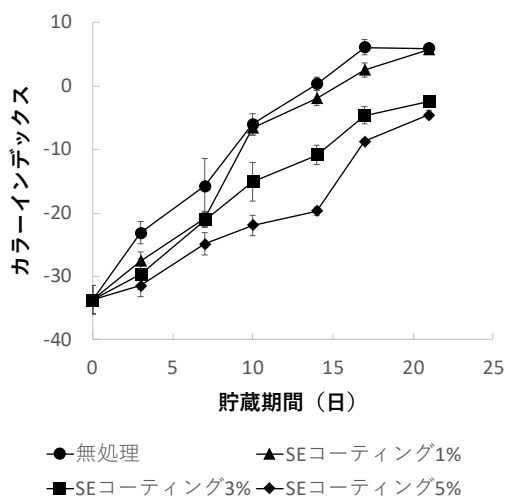
外観, カラーインデックス

第 19, 20 図に 15°C で貯蔵したスダチ果実の各処理区の外観とカラーインデックスの推移を示す。無処理果実は貯蔵 7 日目で黄色への変化が認められ、14 日目で果皮色が完全に黄色を示す外観となった。カラーインデックス値も貯蔵期間に応じて増加が認められた。それに対しシュガーエステルコーティング処理区は全体として無処理区よりも変色の進行が遅く、カラーインデックス値の上昇も低かった。その変化の速さはコーティング液濃度が高くなるにつれて遅くなり、最も変化が遅い 5% 溶液で処理した果実で黄色への変化開始が認め

られたのは貯蔵 17 日目であり，無処理果実と比較し 10 日遅かった．



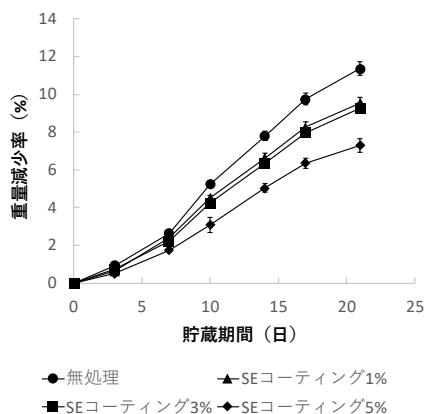
第19図 シュガーエステル（SE）コーティング液濃度が15°Cで貯蔵したスダチ果実の外観に及ぼす影響
各条件15反復のうち，代表2点を示した



第20図 シュガーエステル（SE）コーティング液濃度が15°Cで貯蔵したスダチ果実のカラールインデックスに及ぼす影響
誤差線は標準誤差（n=5）を示す

重量減少率

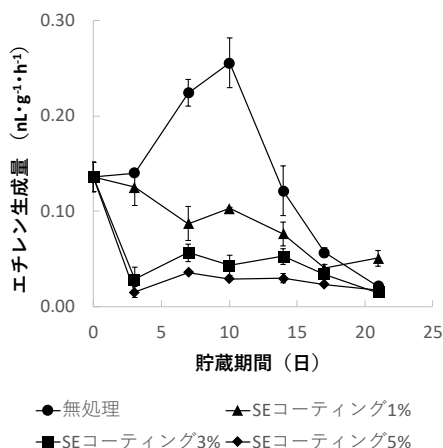
第21図に15°Cで貯蔵したスダチ果実の各処理区の重量減少率の推移を示す。各処理区とも貯蔵日数に従い重量減少率が増加したが処理内容で増加率に差があった。無処理のコントロール果実に対しシュガーエステルのコーティング処理果実は重量減少を抑制し、コーティング液濃度が高い方がその効果は強かった。しかしながら溶液濃度1%と3%では有意差は認められなかった。



第21図 シュガーエステル (SE) コーティング液濃度が15°Cで貯蔵したスダチ果実の重量損失に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

エチレン生成量

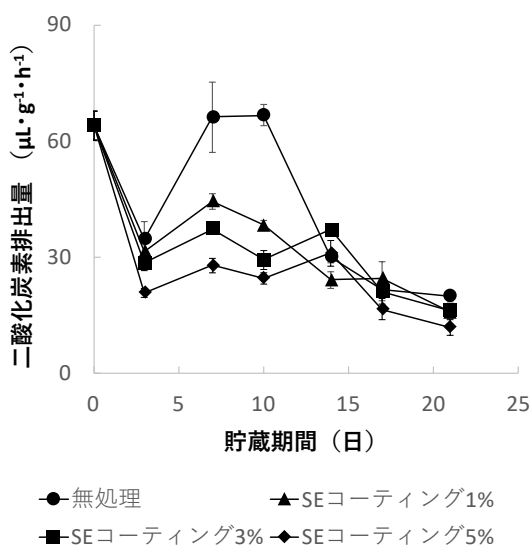
第22図に15°Cで貯蔵したスダチ果実の各処理区のエチレン生成量の推移を示す。コントロール果実は貯蔵7日目でエチレン生成量の上昇が確認され、貯蔵10日目で $0.26 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示しその後緩やかに減少した。コーティング液濃度1%で処理した果実はエチレン生成量の増加を示さず貯蔵初日からエチレン生成量が徐々に下がる結果であった。溶液3%と5%の処理果実は貯蔵3日目より低い値を維持し、特に5%処理果実では貯蔵期間中 $0.04 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以下を維持した。



第22図 シュガーエステル (SE) コーティング液濃度が15°Cで貯蔵したスダチ果実のエチレン生成量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

呼吸活性

第 23 図に 15°C に貯蔵したスダチ果実の各処理区における二酸化炭素排出量の貯蔵期間に対する変化を示した。コントロール果実は貯蔵 4 日目では低かった二酸化炭素排出量が貯蔵 7 日目で急上昇し貯蔵 10 日目で $67 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示しその後緩やかに減少した。コーティング処理した果実は貯蔵期間中でいずれも貯蔵初日より低い二酸化炭素排出量を示した。その中においてコーティング液濃度 1% で処理した果実は貯蔵 7 日目に $45 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の小さなピーク値を示し、3% と 5% 処理果実は貯蔵 14 日目にそれぞれ 37, $31 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の緩やかなピークを示したが、全体的には低い値を維持し続けた。



第23図 シュガーエステル (SE) コーティング液濃度が15°Cで貯蔵したスダチ果実の二酸化炭素排出量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

4-5-4. 考察

シュガーエステルをエディブルコーティングに用いた場合においてもスダチ果実の果皮色の変化を遅らせ、商業的品質の維持には寄与することが示された。生理学的にはエチレン生成と呼吸が抑制されており、第3章の検討結果と類似している。しかしながら重量減少率の観点ではコーティング液5%で処理した果実は貯蔵21日目においてコントロール果実よりも約40%の重量減少を抑制しており、第3章で示したLBL、ICエディブルコーティングよりも重量減少に寄与していることになる。この結果は第4章におけるカキ果実、バナナ果実における実験結果とも同様に、シュガーエステルのコーティングは多糖類を用いた場合に比べ重量減少抑制、つまり水分蒸散抑制に対して有効であることが示唆された。

コーティング液濃度の影響については第4章実験2のカキ‘中谷早生’果実の検討と同様に溶液濃度が高いと果皮色の変化と重量減少に対しより抑制効果が強まった。コーティング液濃度を上げることにより果皮表面に形成されるシュガーエステルから成るコーティング

層の厚みが上がり、その結果酸素や水蒸気の透過がより抑制されたためと考える。

4-6. シュガーエステルコーティング処理を行うタイミングがスダチ果実の品質保持に及ぼす影響（実験 5）

4-6-1. 緒言

第 4 章実験 4 において、シュガーエステルコーティングはスダチ果実の果皮色の変化を抑制し、第 3 章の検討と同様にエチレン生成量上昇の防止と呼吸量抑制が伴っていることを示した。スダチの果皮色変化を抑制するにはエチレン生成の抑制が重要であることは明らかである。スダチ果実は収穫後、一定期間経過後に自発的にエチレン生成が開始されるため、収穫からエディブルコーティング処理を行うまでの期間はコーティング効果に影響を与える可能性が高い。そこで本検討では第 4 章実験 4 と同じシュガーエステル 5%コーティング処理とスダチ果実の組み合わせを用いて、収穫後からコーティング処理するまでの期間がコーティングの鮮度保持効果に与える影響について検討を行った。

4-6-2. 材料および試験方法

4-6-2-1. 供試材料と貯蔵条件

徳島県の農園で 2021 年 8 月 31 日に収穫されたスダチ果実を 2021 年 9 月 1 日に入手し、貯蔵 0 日目とした。目視により損傷や腐敗が発生しているものは除去し、試験前にイオン交換水で洗浄した。各処理区のスダチ果実は 15°C の恒温室で 21 日目まで静置し、一定間隔ごとに、カラーインデックス、重量減少率、エチレン生成量および呼吸活性を測定した。各測定にはそれぞれ 5 個のスダチ果実を供試した。

4-6-2-2. 処理区の設定

無処理果実（コントロール）、収穫後 1 日目にシュガーエステルでコーティング処理した果実、収穫後 2 日目のシュガーエステルコーティング処理果実、収穫後 3 日目のシュガーエステルコーティング処理果実の 4 つの処理区を設けた。

4-6-2-3. エディブルコーティング処理

シュガーエステルコーティング処理

シュガーエステル S-1670（三菱ケミカル（株））を用いて、上記と同方法で調製したシュガーエステルコーティング液にスダチ果実を 30 秒間浸漬した後、室温にて 1 時間自然乾燥させ、これを収穫後 1 日のコーティング処理果実とした。続いて、無処理果実は 1 日 15°C で貯蔵した後、同様の操作を行い 1 日遅れの収穫後 2 日目のコーティング処理果実を得た。また 2 日間 15°C で貯蔵した果実に対し同様の操作を行い収穫後 3 日目のコーティング処理果実を得た。

4-6-2-4. 果実品質および生理学的特性の測定

外観

果実外観の変化を観察し写真で記録した。

カラーインデックス

CR-200B (コニカミノルタ) を用いて果実赤道付近の L, a, b 値を測定した。カラーインデックスは $2000a \cdot L^{-1} \cdot (a^2+b^2)^{-0.5}$ を用いて算出した。

重量減少率

各測定日における初日からの重量差分を初日重量で割り返し、平均値をパーセンテージで表記した。

エチレン生成と呼吸活性

スダチ果実を 205 mL のリブ付き密閉容器に 20°C で 1 時間静置した後、容器内のガスを 1 mL 採取し、200°C 設定の水素炎イオン化検出器、80°C 設定の活性アルミナカラムを備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) を用いてエチレン生成量を測定した。また同様に、熱伝導検出器、Porapak Q カラム (Agilent) を備えたガスクロマトグラフィー (Model GC4 CMPF, (株) 島津製作所) を用いて二酸化炭素排出量を測定した。

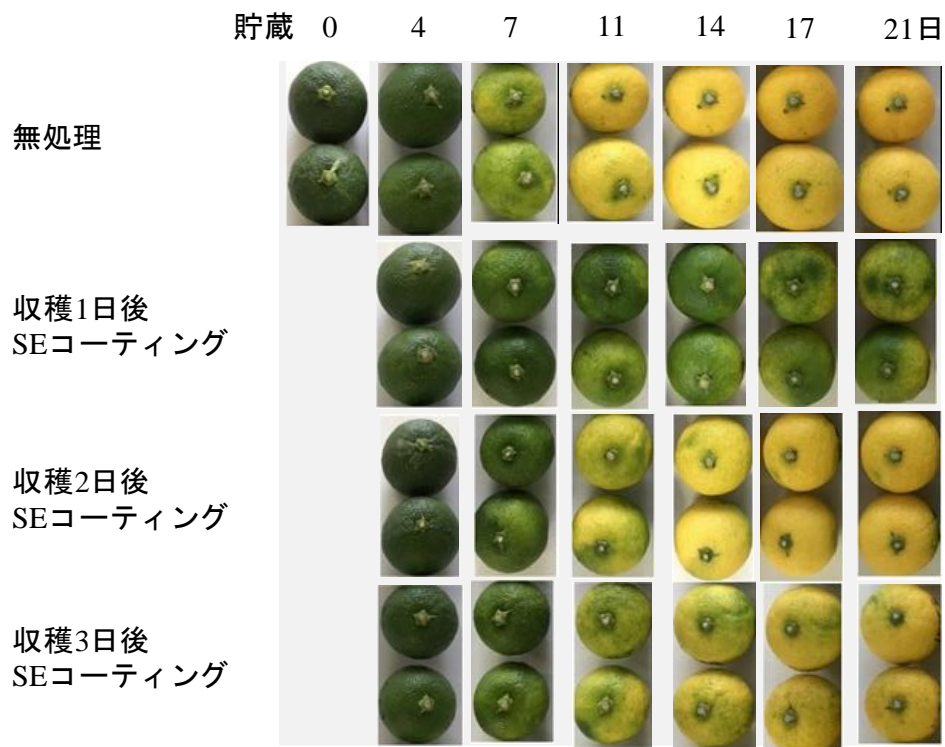
4-6-3. 結果

外観, カラーインデックス

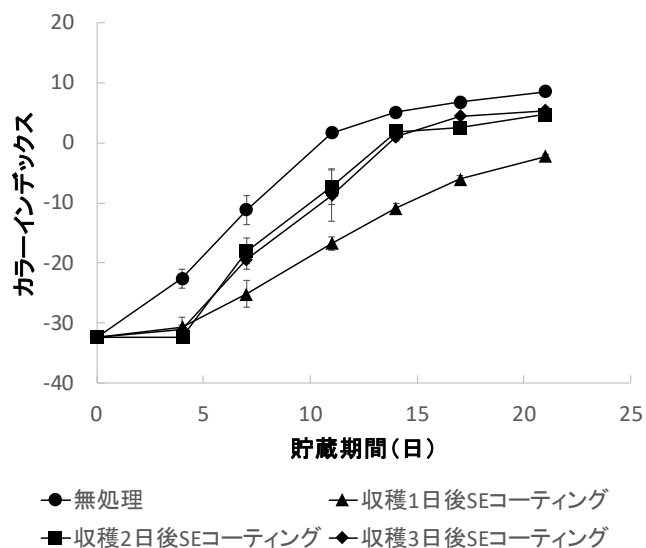
第 24, 25 図に 15°C で貯蔵したスダチ果実の各処理区の外観とカラーインデックスの推移を示す。無処理果実は貯蔵 7 日目で果皮色の黄色化進行が認められ、11 日目で果皮色が完全に黄色を示す外観となった。カラーインデックス値も増加し貯蔵 11 日目を境に上昇が緩やかになった。それに対しシュガーエステルコーティング処理区は全体として無処理区よりも変色の進行が遅く、カラーインデックス値の上昇も低かった。しかしながら収穫後 2 日目にコーティング処理を行った果実は 11 日目から果皮色が黄変し 14 日目で強い黄色味を示した。カラーインデックスでもその傾向が出ており、コントロール果実に対して三日遅れの変色挙動を示した。収穫後 3 日目のコーティング処理果実も外観に少し緑色が残ったものの収穫後 2 日目のコーティング処理果実と同様の傾向であった。一方で収穫後 1 日目にコーティング処理した果実は他処理区と比較し明らかに果皮色に緑色を維持する傾向が強かった。カラーインデックスでもコントロール果実と比較し明らかに上昇は遅かった。

重量減少率

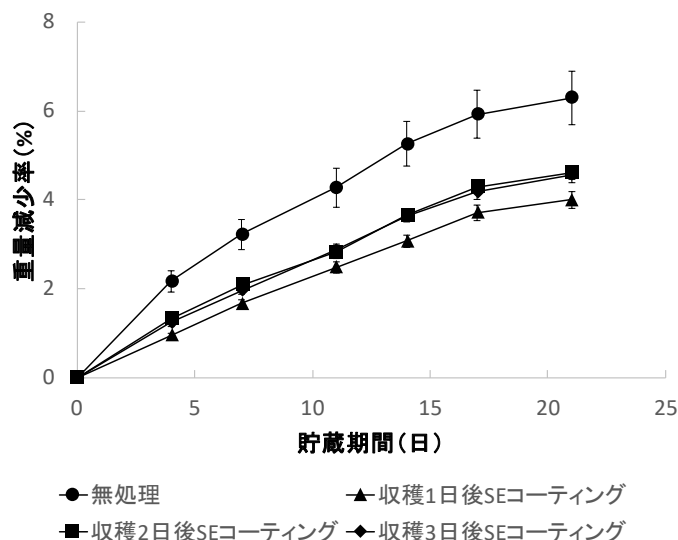
第 26 図に 15°C で貯蔵したスダチ果実の各処理区の重量減少率の推移を示す。各処理区とも貯蔵日数に従い重量減少率が増加したが処理内容で増加率に差があった。無処理のコントロール果実に対しシュガーエステルコーティング処理果実は重量減少を抑制した。その中でも収穫後 1 日目にコーティング処理した果実は最も抑制に対し効果があり、収穫後 2, 3 日目にコーティング処理した果実はほぼ同じ重量減少の推移を示した。



第24図 収穫後にシュガーエステル（SE）コーティング処理を行うまでに日数が15°Cで貯蔵したスダチ果実の外観に及ぼす影響
各条件10反復のうち、代表2点を示した



第25図 収穫後にシュガーエステル（SE）コーティング処理を行うまでに日数が15°Cで貯蔵したスダチ果実のカラールインデックスに及ぼす影響
誤差線は標準誤差（n=6）を示す



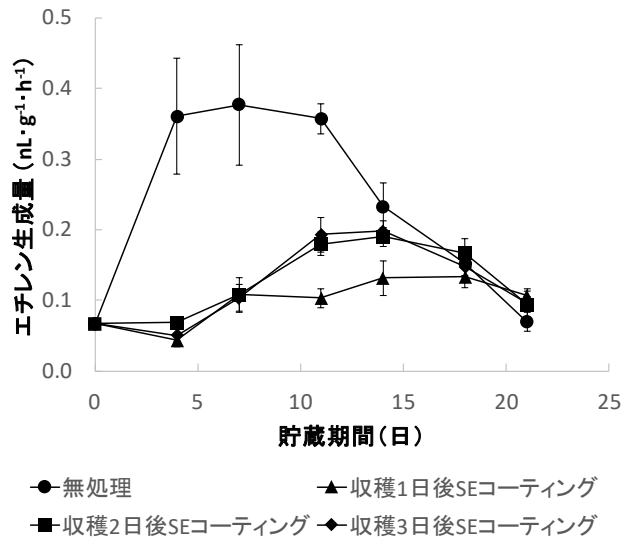
第26図 収穫後にシュガーエステル (SE) コーティング処理を行うまでに日数が15°Cで貯蔵したスダチ果実の重量損失に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す

エチレン生成量

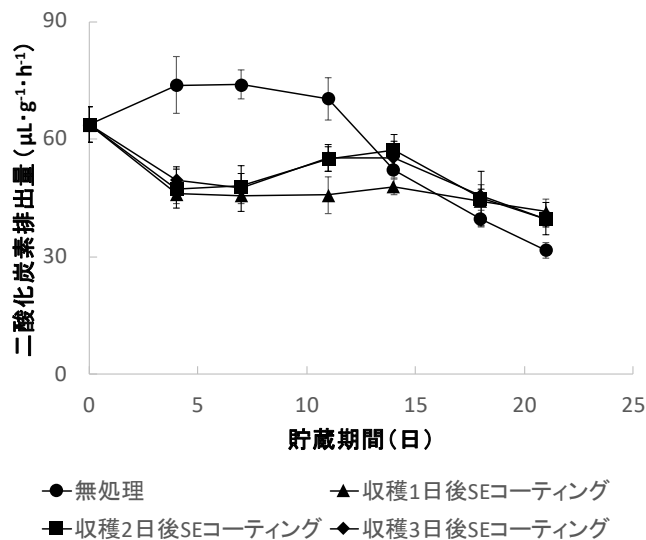
第27図に15°Cで貯蔵したスダチ果実の各処理区のエチレン生成量の推移を示す。コントロール果実は貯蔵4日目で既にエチレン生成量の上昇が確認され、4日目までにエチレン生成量の上昇が生じていた可能性が示唆される。エチレン生成量は貯蔵7日目で $0.38 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示しその後緩やかに減少した。収穫後1日目でシュガーエステルコーティング処理した果実は貯蔵期間中に僅かに緩やかな増加を示し貯蔵18日目で $0.13 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示したが全体的に低い値を維持した。収穫後2, 3日目にコーティング処理した果実はほぼ同じ推移を示し、貯蔵14日目に約 $0.19 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示しその後緩やかに減少した。全体のエチレン生成はコントロール果実より低い値を示したが、収穫後1日目にコーティング処理した果実よりかは高い値となった。

呼吸活性

第28図に15°Cに貯蔵したスダチ果実の各処理区における二酸化炭素排出量の貯蔵期間に対する変化を示した。二酸化炭素排出量の推移はエチレン生成量の推移と類似していた。コントロール果実は貯蔵4日目で既に二酸化炭素排出量の上昇が確認され、4日目までに二酸化炭素排出量の上昇が生じていた可能性が示唆される。二酸化炭素排出量は貯蔵7日目で $74 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ のピークを示しその後緩やかに減少した。収穫後1日目でコーティング処理した果実は貯蔵期間中約 $50 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 以下の低い値を維持した。収穫後2, 3日目にコーティング処理した果実はほぼ同じ推移を示し、貯蔵14日目に約 $55 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ の緩やかなピークを示しその後緩やかに減少した。シュガーエステルコーティング果実は全体の二酸化炭素排出量はコントロール果実より低い値を示した。



第27図 収穫後にシュガーエステル (SE) コーティング処理を行うまでに日数が15°Cで貯蔵したスタチ果実のエチレン生成量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=5) を示す



第28図 収穫後にシュガーエステル (SE) コーティング処理を行うまでに日数が15°Cで貯蔵したスタチ果実の二酸化炭素排出量に及ぼす影響
誤差線は標準誤差 (n=3) を示す

4-6-4. 考察

収穫後からエディブルコーティング処理するまでの期間の影響は明確に差が出ており、収穫から短い期間での処理がより有効に働くことがわかった。エチレン生成量の測定においては貯蔵4日目で無処理コントロール果実のエチレン生成量は急激な増加を示していたことからそれまでの期間でエチレン生成が開始されていた可能性が高く、収穫後2,3日目のコーティング処理した果実は既にエチレンの影響を受けている可能性がある。第2章

にて示したようにエディブルコーティングの寄与の重要な一つは酸素透過抑制によるエチレン生成抑制と呼吸抑制であり、既にエチレン生成が発生している青果物では ACS 酵素が作られ、自己触媒的エチレン生成の増殖が生じていることからエチレン連鎖生成を抑制することは難しい。一方で、エチレン生合成経路の最終工程にはエチレン前駆体 ACC の酸化反応があることから、エディブルコーティングによって基質となる酸素を減らすことでエチレン生成量を減少させることは可能と考える。本検討においても、エチレン生成後にコート処理したことが疑われる収穫後 2, 3 日目のコーティング処理果実はエチレン生成量の上昇が生じているがそのピークは無処理果実に比べ後ろに遅れており、またピーク値の高さも低くなっている。それに連動して二酸化炭素排出量のピークも後ろに遅れて最大値も無処理果実より低くなっている。一方でエチレン生成前にコート処理したことが予想される収穫後 1 日目のコーティング処理果実は急激なエチレン生成量の上昇は生じておらず、また二酸化炭素排出量も低い値を維持していた。このことから、コーティング処理の効果は果実から内生エチレンが生じる前後で大きく異なり、エチレン生成前であればエディブルコーティングはより有効にエチレンに誘導される生理活性の開始と進行を防ぐことができる。そのため実用的には収穫後すぐにコーティング処理を行うことが非常に重要となる。一方で、既エチレン生成が開始されていても、エディブルコーティングによってエチレン由来の生理活性の進行は遅延できることが示唆された。そのため収穫後すぐにエチレンが生成するような青果物、または収穫前の樹上で既にエチレンを生成するような比較的棚持ち性が低い青果物に対してもエディブルコーティングは品質維持に対し一定の効果が期待できると考える。

4-7. シュガーエステルコーティング層のガスバリア性評価 (実験 6)

4-7-1. 緒言

第 4 章の検討において、シュガーエステルコーティングは第 2, 3 章の検討同様に酸素透過抑制効果があることが示唆され、さらに多糖類コーティングでは得られなかった水蒸気透過抑制効果があることが示唆された。エディブルコーティング処理した青果物上のコーティング層の特性を直接測定することは困難であることから、第 2 章同様にプラスチックフィルムを基材に用いてシュガーエステルのコーティング層のガス透過性について評価を行った。

4-7-2. 材料および試験方法

4-7-2-1. コーティング層付プラスチックフィルムの調製

基材に 50 μm 厚のポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム (ダイアミロン, 三菱ケミカル (株)) を用い、それにコーティング材を積層し各種測定を行った。PET フィルムはコロナ処理 ($30\text{W min}\cdot\text{m}^{-2}$) を行い、濡れ性を向上させてから使用した。上述の方法で S-1170 (三菱ケミカル (株)) を濃度 5% になるように水溶液を調製し、PET フィルムのコロナ処

理した面をシュガーエステル溶液に 30 秒間接触させた後、室温にて 1 時間自然乾燥させコーティング層を設けた。

4-7-2-2. コーティング層付プラスチックフィルムのガス透過性測定

水蒸気透過率 (WVTR: water vapor transmission rate) はデルタパーム (Technolox Ltd.) を用いて ISO15106-5 の規格に基づきコーティング層付 PET フィルムの 100 cm² を 30°C, 50% RH の条件下で測定した。酸素透過率 (OTR: Oxygen transmission rate) は Ox-tran 2/21 (Mocon Ltd.) を用いて ASTM D3985 の規格に基づきコーティング層付 PET フィルムの 100 cm² を 25°C, 50%RH の条件下で測定した。

4-7-3. 結果および考察

第 1 表にシュガーエステルコーティングと第 2 章で得た多糖類コート of 酸素ガス透過性と水蒸気透過性の結果を示す。シュガーエステルコーティング層は酸素ガスバリア性を備えているだけでなく、水蒸気ガスバリア性も備えていることが示された。第 4 章で示したシュガーエステルコーティング処理果実の重量損失抑制効果はこの水蒸気ガスバリア性が起因となり蒸散を抑制した結果と考える。緒言でも記載したように、これはシュガーエステルの化学構造に疎水性の脂肪酸を含んでおり、化合物全体として一定の疎水性能を持つためと考える。疎水性化合物はそのままでは水に溶解することができず、コーティング液として適用するためには有機溶剤などの疎水性溶剤が必要となるが、シュガーエステルは親水基と疎水基の両方を化合物中に含む界面活性剤であり、水中では疎水部を内側に向けたミセルを形成し沈殿せずに分散形態で安定に存在するため水系コーティング液として適用が可能である。

第1表 無処理のPETフィルムと各コーティング処理したPETフィルムのガス透過率
LBL3：キトサンとアルギン酸による3層の多層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン）、LBL5：5層コーティング（キトサン-アルギン酸-キトサン-アルギン酸-キトサン）

OTR：酸素透過率（Oxygen transmission rate）

WVTR：水蒸気透過率（Water vapor transmission rate）

	OTR	WVTR
	(cc m ⁻² d ⁻¹ atm ⁻¹)	(g m ⁻² d ⁻¹)
	25°C 50%RH	30°C 50%RH
無処理	26.3	1.40
アルギン酸	25.5	1.43
キトサン	25.6	1.30
LBL3	22.6	1.29
LBL5	21.3	1.27
シュガーエステル	21.9	0.80

4-8. 摘要

カキ、バナナ、スダチ果実は収穫後の貯蔵期間中に急激なエチレン生成量上昇を示しそれに伴い果皮色の変化や果肉の軟化が生じる。シュガーエステルをエディブルコーティングとして用いた場合、エチレン生成量の上昇を抑制し、それに伴いエチレン誘導による果皮色の変化、軟化といった変化を抑制した。シュガーエステルコーティング層のガス透過性の結果からも、これは第 2, 3 章で示した結果と同様に酸素透過抑制による寄与と考えられる。それに加え、多糖類エディブルコーティングでは達成できなかった重量損失抑制に対しシュガーエステルは有効に寄与し、多糖類系エディブルコーティングより優れた面を備えていることを示した。この結果はコーティング層のガス透過性の結果とも一致し、シュガーエステルの水蒸気透過抑制性能が主な起因となっていると考える。コーティング液濃度を変えた検討において濃度が高い方がエチレン生成や蒸散をより抑制し、これは濃度を上げることにより物理的障壁となるコーティング膜厚が増加したためと考える。一方で、外生エチレンに対してはコーティング層は有効に寄与しなかった。これはコーティング層の性質がガス透過を抑制するが完全に密閉するものではないためにエチレンが幾分か果実内部に侵入したためと考える。少量のエチレン侵入でも自己触媒的にエチレン作用が増幅するため実質的に生理変化は進行する。青果物の混載など外生エチレンのリスクがあるシチュエーションでの実用化においては環境中のエチレン除去のような別技術との併用が求められることが示された。また収穫後にエチレン生成が開始する前でのコーティング処理であればエチレン由来の生理変化を有効に抑制できることを示した。しかし既にエチレンが生成開始していてもエチレン作用による生理変化は遅らせることも示唆されたことから、商業的収穫段階で既にエチレン生成が始まっているようなトマト果実やモモ果実に対しても品質変化を遅延させる可能性を示した。実用化のためには、このような果実に対してもシュガーエステルエディブルコーティングの適用性を検討していく必要がある。

第5章 本研究で得られた成果および今後の展開と課題

収穫後の青果物の品質を維持することは重要な社会課題の一つである食品ロスの解決に繋がり、歴史的には CA 貯蔵や MA 包装といった貯蔵技術の発展が人々の生活をより豊かにしてきた。しかし、さらに近年においては持続可能な社会システムの構築が強く求められるになり、プラスチック包装の廃棄問題の解決などより一層発展した技術の導入が必要となってきた。エディブルコーティングは可食性材料を直接青果物にコーティングする技術であり、包装廃棄物レスで青果物の貯蔵性を向上することができる期待が持たれている。

本研究ではエディブルコーティングが収穫後青果物の貯蔵性に与える影響とその作用メカニズムについて検討を行った。先行文献では様々なコーティング材料と青果物の組み合わせにて青果物貯蔵性の向上が報告されているがその作用は十分に説明がなされておらず、特にトランスクリプトーム解析を用いた分子生物学的観点からの報告はない。第1章では既報のエディブルコーティング技術と課題について述べ、第2章でまだ報告がないニホンナシ‘幸水’果実の棚持ち性についての検討とエディブルコーティングが貯蔵青果物に与える影響について RNA シーケンスを用いて検討した結果を説明した。エディブルコーティングは単体材料では十分な性能を達成できないことが先行文献にて示唆されていることからイオン性多糖類であるキトサンとアルギン酸を交互に積層した LBL (Layer by Layer) コーティングを用いた。品質面では LBL エディブルコーティングは貯蔵期間中のニホンナシ果実の果皮色変化と果肉軟化の熟成進行を抑制する結果を示し、生理学面では無処理果実で見られたエチレン生成と呼吸量の急激な上昇が発生しなかった。トランスクリプトーム解析の結果、コーティング処理した果実では果皮色変化や果肉軟化に関与する遺伝子、さらにエチレンの生合成で律速となる ACS の遺伝子発現が抑制されていた。またコーティング果実では呼吸系に関連してクエン酸回路の関連遺伝子が発現抑制されており、一方で解糖経路の関連遺伝子が発現上昇していることから、果実内部の酸素濃度が低下していることが示唆された。この結果はコーティング膜のガス透過性の物理データとも一致しエディブルコーティングの作用は本質的には MA 効果と類似していることが示唆された。しかしながらキトサンとアルギン酸から成る LBL エディブルコーティングは重量損失に対して寄与せず、この結果はコーティング膜の水蒸気透過性データとも一致した。

青果物の棚持ち性向上に対し LBL エディブルコーティングの有効性が示されたが、複数回のコーティングプロセスは生産性の観点から課題がある。そこで第3章ではキトサンとペクチンのイオン性多糖類を複合化した IC コーティング液 (ion complex) を用いてスタチ果実に対する鮮度保持効果の検証を行った。IC コーティング液においてもスタチ果実のエチレン生成を抑制し果皮色維持に寄与した。しかしながら、実用性に足る性能を得るには複数層のコーティング層が必要であり、また LBL コーティング同様に重量損失に対しても大きく寄与しなかったことから新たなコーティング材料が求められることが分かった。

シュガーエステルは親水性の糖と疎水性の脂肪酸がエステル部位により結合した化合物

であり食品や医薬用途など幅広い分野で用いられている界面活性剤である。重量損失の主な原因は青果物からの蒸散であり、第2, 3章で示した多糖類は化学構造に水酸基を多く含むため高い親水性を示し青果物表面に膜として存在しても水蒸気の物理的障壁になるには難がある。そこで第4章では化学構造中に疎水部を含むシュガーエステルを用いて青果物の熟成進行と重量損失による品質低下に対する寄与について検討を行った。カキ果実を用いた検討でシュガーエステルでもエチレン生成と呼吸量の急激な上昇を抑制し、それに伴う果皮色や軟化といった熟成挙動の進行を抑制した。さらに多糖類のエディブルコーティングでは示すことができなかった重量損失抑制に対してもシュガーエステルは有効に寄与することが示され、同様の結果はバナナ果実、スダチ果実でも得ることができた。シュガーエステルコーティングの実用性として外生エチレンの影響を調べるためプロピレンを用いた検討を実施し、シュガーエステルは外生プロピレン誘導の生理挙動の進行を抑制しないことが分かった。これはエディブルコーティングが完全なガス透過防止として働いていないために少量のプロピレンがコーティング膜を通し青果物内に侵入して自己触媒的作用により反応が進んだためと考える。外生エチレンの侵入防止のために完全なガスバリア膜を設計できたとすると青果物内が酸素不足の嫌気条件となるため現実的ではなく、対外生エチレンには別技術との併用が必要であることが示された。またスダチ果実を用い、収穫後からコーティング処理を行うまでの期間が与えるコーティング効果に与える影響についても検討した。エチレン生成が開始する前であればシュガーエステルコーティングは高い品質維持効果を示し、エチレン生成が開始してからではその効果は減少するがエチレンに伴う生理現象を遅延させることが示唆された。

本研究ではエディブルコーティングが酸素ガス透過の制限を起点とした MA 効果として寄与していることを、生理学的観点とトランスクリプトーム解析を用いた分子生物学的観点、またコーティング膜の物理データから説明した。多糖類コーティングは重量損失抑制への寄与が低い、シュガーエステルコーティングは熟成だけでなく重量損失抑制にも有効に働いた。本研究では予めエチレン生成が生じていない青果物に対してはエディブルコーティングが効果的に寄与することを示したが、より実用性ある技術にするためにはエチレン生成開始後の青果物やノンクライマクテリック型果実への適用検討が必要となる。

引用文献

第 1 章 緒論

- Ali, A., Maqbool, M., Ramachandran, S., Alderson, P.G., 2010. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, 58, 42-47.
- Baldwin, E.A., Hagenmaier, R., Bai, J., 2011. *Edible coatings and films to improve food quality*, second ed. CRC Press, Boca Raton.
- Beaudry, R.M., 1999. Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. *Postharvest Biol. Technol.*, 15, 293-303.
- Brasil, I.M., Gomes, C., Puerta-Gomez, A., Castell-Perez, M.E., Moreira, R.G., 2012. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT-Food Sci. Technol.* 47, 39-45.
- Chope, G.A., Terry, L.A., White, P.J., 2007. The effect of the transition between controlled atmosphere and regular atmosphere storage on bulbs of onion cultivars SS1, Carlos and Renate. *Postharvest Biol. Technol.*, 44, 228-239.
- Cisneros-Zevallos, L., and Krochta, J.M., 2003. Whey protein coatings for fresh fruits and relative humidity effects. *J. Food Sci.*, 68, 176-181.
- Decher, G., 1997. Fuzzy nanoassemblies toward layered polymeric multicomposites. *Science* 277, 1232-1237.
- El-Anany, A.M., Hassan, G.F.A., Rehab Ali, F.M., 2009. Effects of edible coatings on the shelf-life and quality of Anna apple (*Malus domestica* Borkh) during cold storage. *J. Food Technol.*, 7, pp. 5-11.
- Eroglu, E., Torun, M., Dincer, C., Topuz, A., 2014. Influence of pullulan-based edible coating on some quality properties of strawberry during cold storage. *Packag. Technol. Sci.*, 27, 831-838.
- Fakhouri, F., Casari, A., Mariano, M., Yamashita, F., Mei, L.I., Soldi, V., Martelli, S., 2014. Effect of a gelatin-based edible coating containing cellulose nanocrystals (CNC) on the quality and nutrient retention of fresh strawberries during storage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing, 012024.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jimenez, A., Munoz, J.A., Ibarz, A., 2011. Edible films and coatings structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Sci. Technol.* 22, 292-303.
- Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R., Jeffrey, K., Brecha, J.K., 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *J. Food Eng.*, 52, 99-119.
- Grosso, A.L., Asensio, C.M., Grosso, N.R., Nepote, V., 2019. Increase of walnuts' shelf life using a walnut flour protein-based edible coating. *LWT*, 108712.
- Janjarasskul, T., and Krochta, J.M., 2010. Edible packaging materials. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.*, 1, 415-448.

- Kader, A. A., 1997. Biological bases of O₂ and CO₂ effects on postharvest-life of horticultural perishables. In CA 97. Seventh International Controlled Atmosphere Research Conference, Davis, California, 4, 160-163.
- Kidd, F., West, C., Kidd, M.N., 1927. Gas storage of fruit. Spec. Rep., 30, Food Invest. Board, DSIR, London p. 87.
- Kittur, F.S., Kumar, K.R., Tharanathan, R.N., 1998. Functional packaging properties of chitosan films. *Zeitschrift Für Lebensmittel Untersuchung and Forschung, A*, 206, 44-47.
- Mahmoud, R., and Savello, P.A., 1992. Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films. *J. Dairy Sci.*, 75, 942-946.
- Marelli, B., Brenckle, M., Kaplan, D.L., Omenetto, F.G., 2016. Silk fibroin as edible coating for perishable food preservation. *Sci. Rep.*, 6, 25263.
- Medeiros, B.G., de Pinheiro, S. A.C., Carneiro-da-Cunha, M.G., Vicente, A.A., 2012. Development and characterization of a nanomultilayer coating of pectin and chitosan. Evaluation of its gas barrier properties and application on 'Tommy Atkins' mangoes. *J. Food Eng.* 110, 457-464.
- Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S.M.R., Mahmoudian, A., 2016. Antioxidant and antimicrobial effects of zein edible film impregnated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and monolaurin. *LWT Food Sci. Technol.*, 72, 37-43.
- Nadim, Z., Ahmadi, E., Sarikhani, H., Chayian, R.A., 2015. Effect of methylcellulose-based edible coating on strawberry fruit's maintenance during storage. *J. Food Processing and Preservation*, 39, 80-90.
- Nair, M.S., Tomar, M., Punia, S., Kukula-Koch, W., Kumar, M., 2020. Enhancing the functionality of chitosan-and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 164, 304-320.
- Nawab, A., Alam, F., Hasnain, A., 2017. Mango kernel starch as a novel edible coating for enhancing shelf- life of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit. *Int. J. Biol. Macromol.*, 103, 581-586.
- Noori, S., Zeynali, F., Almasi, H., 2018. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control*, 84, 312-320.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martin-Belloso, O., 2008. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.*, 50, 87-94.
- Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y., Rodov, V., 2014. Layer-by-layer electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon model: Anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. *Food Bioprocess Technol.* 7, 1424-1432.
- Raghav, P.K., Agarwal, N., Saini, M., 2016. Edible coating of fruits and vegetables: a review. *Int. J. Sci. Res. Modern Educ*, 1, 188-204.

- Robertson, G.L., 2006. Food Packaging: Principles and Practice. (second ed.) , CRC Press, Taylor & Francis Group, New York
- Santos, T.M., Souza Filho, M.S., Silva, E. O., Silveira, M.R.S.D., Miranda, M.R.A.D., Lopes, M.M.A., Azeredo, H.M.C., 2018. Enhancing storage stability of guava with tannic acid-crosslinked zein coatings. *Food Chem.*, 257, 252-258.
- Shiekh, R.A., Malik, M.A., Al-Thabaiti, S.A., Shiekh, M.A., 2013. Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. *Food Sci. Technol. Research*, 19, 139-155.
- Siso, M.I.G., 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology*, 57, 1-11.
- Souza, M.P., Vaz, A.F., Cerqueira, M.A., Texeira, J.A., Vicente, A.A., Carneiro-da-Cunha, M.G., 2015. Effect of an edible nanomultilayer coating by electrostatic self-assembly on the shelf life of fresh-cut mangoes. *Food Bioprocess Technol.* 8, 647–654.
- World food programme, 2022. <https://ja.wfp.org/> (accessed 11 August 2021) .
- Xie, B., Zhang, X., Luo, X., Wang, Y., Liu, S., 2020. Edible coating based on beeswax-in-water Pickering emulsion stabilized by cellulose nanofibrils and carboxymethyl chitosan. *Food Chem.*, 331, 127108.
- Yan, J., Luo, Z., Ban, Z., Lu, H., Li, D., Yang, D., Aghdam, M.S., Li, L., 2019. The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 147, 29–38.

第 2 章 キトサン／アルギン酸から成る多層エディブルコーティングがニホンナシ‘幸水’果実の品質維持および果実の遺伝子発現に与える影響に関する研究

- Chagné, D., Crowhurst, R.N., Pindo, M., Thrimawithana, A., Deng, C., Ireland, H., Fiers, M., Dzierzon, H., Cestaro, A., Fontana, P. et al., 2014. The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. ‘Bartlett’) . *PloS One* 9, e92644.
- Baldwin, E.A., Hagenmaier, R., Bai, J., 2011. Edible coatings and films to improve food quality, second ed. CRC Press, Boca Raton.
- Brasil, I.M., Gomes, C., Puerta-Gomez, A., Castell-Perez, M.E., Moreira, R.G., 2012. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT-Food Sci. Technol.* 47, 39–45.
- Carneiro-da-Cunha, M.G., Cerqueira, M.A., Souza, B.W., Carvalho, S., Quintas, M.A., Teixeira, J.A., Vicente, A.A., 2010. Physical and thermal properties of a chitosan/alginate nanolayered PET film. *Carbohydr. Poly.* 82, 153–159.
- Charoenchongsuk, N., Ikeda, K., Itai, A., Oikawa, A., Murayama, H., 2015. Comparison of the expression of chlorophyll-degradation-related genes during ripening between stay-green and yellow-pear cultivars. *Sci. Hortic.* 181, 89–94.

- Dai, L., Zhang, J., Cheng, F., 2020. Cross-linked starch-based edible coating reinforced by starch nanocrystals and its preservation effect on graded Huangguan pears. *Food Chem.* 311, 125891.
- Gardesh, A.S.K., Badii, F., Hashemi, M., Ardakani, A.Y., Maftoonazad, N., Gorji, A.M., 2016. Effect of nanochitosan based coating on climacteric behavior and postharvest shelf-life extension of apple cv. Golab Kohanz. *LWT* 70, 33–40.
- Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y., 2003. Ethylene is required for both the initiation and progress of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *J. Exp. Bot.* 54, 771–779.
- Hiwasa, K., Nakano, R., Hashimoto, A., Matsuzaki, M., Murayama, H., Inaba, A., Kubo, Y., 2004. European, Chinese and Japanese pear fruits exhibit differential softening characteristics during ripening. *J. Exp. Bot.* 55, 2281–2290.
- Itai, A., Kawata, T., Tanabe, K., Tamura, F., Uchiyama, M., Tomomitsu, M., Shiraiwa, N., 1999. Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes controlling the ethylene level of ripening fruit in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) . *Mol. Gen. Genet.* 261, 42–49.
- Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2015. Census of agriculture and forestry in Japan. <https://www.e-stat.go.jp/en/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500209&tstat=000001032920&cycle=0&tclass1=000001077437&tclass2=000001097415> (accessed 11 August 2021) .
- Mitalo, O.W., Tosa, Y., Tokiwa, S., Kondo, Y., Azimi, A., Hojo, Y., Matsuura, T., Mori, I.C., Nakano, R., Akagi, T. et al., 2019. ‘Passe Crassane’ pear fruit (*Pyrus communis* L.) ripening: Revisiting the role of low temperature via integrated physiological and transcriptome analysis. *Postharvest Biol. Technol.* 158, 110949.
- Mitalo, O.W., Otsuki, T., Okada, R., Obitsu, S., Masuda, K., Hojo, Y., Matsuura, T., Mori, I.C., Abe, T., Asiche W.O. et al., 2020. Low temperature modulates natural peel degreening in lemon fruit independently of endogenous ethylene. *J. Exp. Bot.* 71, 4778–4796.
- Moriya, Y., Itoh, M., Okuda, S., Yoshizawa, A.C., Kanehisa, M., 2007. KAAS: an automatic genome annotation and pathway reconstruction server. *Nucleic Acids Res.* 35 (Suppl. 2) , W182–W185.
- Mwaniki, M.W., Mitalo, O.W., Mworira, E.G., Owino, W.O., Hiwasa-Tanase, K., Rose, J.K.C., Aoki, K., Esumi, T., Kawai, T., Nakano, R., Ushijima, K., Kubo, Y., 2021. Combined signal sequence trap and microarray analysis identifies genes associated with differential fruit softening characteristics during ripening in European and Chinese pears. *Postharvest Biol. Technol.* 174, 111436.
- Nair, M.S., Tomar, M., Punia, S., Kukula-Koch, W., Kumar, M., 2020. Enhancing the functionality of chitosan-and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 164, 304–320.
- Poverenov, E., Danino, S., Horev, B., Granit, R., Vinokur, Y., Rodov, V., 2014. Layer-by-layer

- electrostatic deposition of edible coating on fresh cut melon model: Anticipated and unexpected effects of alginate-chitosan combination. *Food Bioprocess Technol.* 7, 1424–1432.
- Schelbert, S., Aubry, S., Burla, B., Agne, B., Kessler, F., Krupinska, K., Hörtensteiner, S., 2009. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21, 767–785.
- Shimoda, Y., Ito, H., Tanaka, A., 2016. *Arabidopsis* STAY-GREEN, Mendel's green cotyledon gene, encodes magnesium-dechelataase. *Plant Cell* 28, 2147–2160.
- Tian, T., Liu, Y., Yan, H., You, Q., Yi, X., Du, Z., Xu, W., Su, Z., 2017. agriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. *Nucleic Acids Res.* 45, W122–W129.
- Tucker, G., Yin, X., Zhang, A., Wang, M., Zhu, Q., Liu, X., Xie, X., Chen, K., Grierson, D., 2017. Ethylene and fruit softening. *Food Qual. Saf.* 1, 253–267.
- Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., 2013. Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 77, 1–6.
- Wan, C.Y., Wilkins, T.A., 1994. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high-quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Anal. Biochem.* 223, 7–12.
- Wang, K.L.C., Li, H., Ecker, J.R., 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell* 14 (Suppl. 1), 131–151.

第 3 章 キトサン／ペクチンから成る複合体エディブルコーティングがスダチ果実の品質維持および塗工回数が与える影響について

- Aharoni, Y., 1968. Respiration of oranges and grapefruit harvested at different stages of development. *Plant Physiol.* 43, 99-102.
- Blankenship, S. M. and Dole, J. M., 2003. 1-methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 1-25.
- Cohen, E., 1978. Ethylene concentration and duration of the degreening process in ‘Shamouti’ orange fruit. *J. Hort. Sci.* 53, 139-142.
- Establés-Ortiz, B., Romero, P., Ballester, A. R., González-Candelas, L., Lafuente, M. T., 2016. Inhibiting ethylene perception with 1-methylcyclopropene triggers molecular responses aimed to cope with cell toxicity and increased respiration in citrus fruits. *Plant Physiol. Biochem.* 103, 154-166.
- Goldschmidt, E. E., Huberman, M., Goren, R., 1993. Probing the role of endogenous ethylene in the degreening of citrus fruit with ethylene antagonists. *Plant Growth Regul.* 12, 325-329.
- Hira, N., Mitalo, O. W., Okada, R., Sangawa, M., Masuda, K., Fujita, N., Ushijima, K., Akagi, T., Kubo, Y., 2020. The effect of layer-by-layer edible coating on the shelf life and transcriptome of

- 'Kosui' Japanese pear fruit. *Postharvest Biol. Technol.* (In press)
- 兵藤 宏・邨田卓夫, 1972. いろいろな生育段階における温州ミカン果実のエチレン生成. *園学雑.* 41, 405-410.
- Jiménez-Cuesta, M, Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J. M., 1981. Determination of a color index for citrus fruit degreening. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 2, 750-753.
- Kader, A. A., 1992. Postharvest biology and technology: an overview. pp. 15-20. En: A. A. Kader, (ed.) . *Postharvest technology of horticultural crops.* Publication 3311. Univ. of California, Division of Agriculture and Natural Resources, California.
- 北川博敏・足立修三・樽谷隆之, 1971. 温州ミカンの着色促進に関する研究. *園学雑.* 40, 90-94.
- 北川博敏・川田和秀・樽谷隆之, 1982. スダチの貯蔵における温度, 包装, 予措の効果. *園学雑.* 51, 350-354.
- 久保康隆・平田 治・稲葉昭次・中村怜之輔, 1996. 低濃度酸素環境がモモとバナナ果実のエチレン生合成に及ぼす影響. *日本食品低温保蔵学会誌.* 22:, 79-83.
- Mitalo, O.W., Tosa, Y., Tokiwa, S., Kondo, Y., Azimi, A., Hojo, Y., Matsuura, T., Mori, I. C., Nakano, R., Akagi, T., Ushijima, K., Kubo, Y., 2019. 'Passe Crassane' pear fruit (*Pyrus communis* L.) ripening: Revisiting the role of low temperature via integrated physiological and transcriptome analysis. *Postharvest Biol. Technol.* 158, 110949.
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., El-Sakhawy, M. A. M., 2020. Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydr. Polym.* 238, 116178.
- 中野龍平・播磨真志・久保康隆・稲葉昭次, 2001. 有孔ポリエチレン包装によるカキ'刀根早生'ハウス促成栽培果実の軟化抑制. *園学雑.* 70, 385-392.
- Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goren, R., Droby, S., 1999. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti' oranges. *Postharvest Biol Technol.* 15, 155-163.
- Ríos, G, Naranjo, M. A., Rodrigo, M. J., Alós, E., Zacarías, L., Cercós, M., Talón, M., 2010. Identification of a GCC transcription factor responding to fruit colour change events in citrus through the transcriptomic analyses of two mutants. *BMC Plant Biol.* 10, 276.
- Sisler, E.C. and Serek, M., 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. *Physiol. Plant.* 100, 577-582.
- 高田峰雄, 1984. エチレン処理に対するカンキツ果実の呼吸量の変化. *園学雑.* 53, 314-319.
- 豊田哲也, 2003. 徳島県におけるすだち栽培と産地形成. *徳島大学総合科学部人間社会文化研究.* 10, 131-144.
- Watkins, C. B., 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnol. Adv.* 24, 389-409.
- Yang, S. F. and Hoffman, N. E., 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann.*

第4章 シュガーエステルコーティングが青果物貯蔵の品質維持に与える影響に関する研究

- Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y., 2003. Ethylene is required for both the initiation and progress of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *J. Exp. Bot.* 54, 771-779.
- Itai, A., Kawata, T., Tanabe, K., Tamura, F., Uchiyama, M., Tomomitsu, M., Shiraiwa, N., 1999. Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes controlling the ethylene level of ripening fruit in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Mol. Gen. Genet.* 261, 42-49.
- 板村裕之・今掘志朗・北村利夫・福嶋忠昭, 1989. 幼果期の摘葉処理がカキ果実のエチレン生成に及ぼす影響. 島根大農研報, 23, 11-15.
- 岩田隆・中川勝也・緒方邦安, 1969. 果実の収穫後における成熟現象と呼吸型との関係. 第1報. カキ果実における呼吸の climacteric の有無. 園学雑., 38, 194-201.
- Jiménez-Cuesta, M, Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J. M., 1981. Determination of a color index for citrus fruit degreening. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2, 750-753.
- Kader, A.A., 1994. Modified and controlled atmosphere storage of tropical fruits. *ACIAR*, 239-249.
- 兼井典子・今栄東洋子・鬼原薫・田川徹・國枝博信, 1996. ショ糖脂肪酸モノエステル-水系の相挙動. 日本油化学会誌, 45, 849-855.
- Mahajan, P. V., Oliveira, F. A. R., Macedo, I., 2008. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *J. Food Engineering*, 84, 281-288.
- Marrink, S.J., Berendsen, J.C., 1996. Permeation process of small molecules cross lipid membranes studies by molecular dynamics simulations. *J. Phys. Chem.*, 100, 16729-16738.
- Mitalo, O.W., Tosa, Y., Tokiwa, S., Kondo, Y., Azimi, A., Hojo, Y., Matsuura, T., Mori, I.C., Nakano, R., Akagi, T. et al., 2019. 'Passe Crassane' pear fruit (*Pyrus communis* L.) ripening: Revisiting the role of low temperature via integrated physiological and transcriptome analysis. *Postharvest Biol. Technol.* 158, 110949.
- Momen, M.N., Tatsumi, Y., Shimokawa, K., 1997. Effect of sucrose fatty acid ester coating on the ripening of ethylene-treated Cavendish bananas. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo* 3, 241-244.
- 中野龍平・播磨真志・久保康隆・稲葉昭次, 2001. 有孔ポリエチレン包装によるカキ刀根早生ハウス促成栽培果実の軟化抑制. 園学雑., 70, 385-392.
- 邨田卓夫, 1988. 糖エステル処理による緑熟カボスの貯蔵について. 日食工誌, 35, 188-190.
- 邨田卓夫・山脇和樹, 1993. ショ糖脂肪酸エステル処理によるポンカンの低温障害防除について. 日本食品低温保蔵学会誌, 19, 167-172.
- Ríos, G, Naranjo, M. A., Rodrigo, M. J., Alós, E., Zacarías, L., Cercós, M., Talón, M., 2010. Identification of a GCC transcription factor responding to fruit colour change events in citrus

- through the transcriptomic analyses of two mutants. *BMC Plant Biol*, 10, 276.
- Schmid, M., Dallmann, K., Bugnicourt, E., Cordoni, D., Wild, F., Lazzeri, A., Noller, K., 2012. Properties of whey-protein-coated films and laminates as novel recyclable food packaging materials with excellent barrier properties. *Int. J. Polym. Sci.*, 8, 1-7.
- Zhang, X., Luo, W., Xiao, N., Chen, M., and Liu, C., 2020. Construction of functional composite films originating from hemicellulose reinforced with poly (vinyl alcohol) and nano-ZnO, *Cellulose*, 27, 1341–55.

謝辞

本研究を遂行するにあたり、岡山大学大学院環境生命科学研究科 農産物生理学研究室 久保康隆教授には日頃より長い時間の議論，論文執筆など様々な面から懇切丁寧なご指導を賜りましたこと，心より敬意と感謝の意を表します。同研究室の牛島幸一郎准教授には遺伝子解析の点で多大なるご指導を賜りました。また農産物利用学研究室 赤木剛士研究教授には分子生物学全体の議論だけでなく公私ともに時間を割いていただいたことに深く御礼申し上げます。偶然にも再会できた深い縁には本当に驚くとともに，このように一緒に仕事のできた証として博士論文をまとめられたこと大変嬉しく思っております。そして，本研究の遂行には岡山大学 農産物生理学研究室ならびに農産物利用学研究室の諸氏および卒業生に多大なご協力，ご配慮を頂きました。記して深く感謝の意を表します。

この博士論文は社会人博士として三菱ケミカル株式会社の支援を受け完成することができました。研究部門の方々に深く御礼申し上げます。このような大変貴重な経験の機会を作ってくくださった赤池治博士，日頃業務の中でご支援を賜りました麻生宏実博士には大変感謝しております。また本研究に大きく関わっている本社の皆様の多大なるご支援のおかげで研究を続けることができました。深く御礼申し上げます。そして滋賀研究所 成形加工技術研究室 バリアコーティング G の皆様には日々の業務の中で本研究の議論の時間を割いていただきました。感謝申し上げます。

最後に，仕事と学業を両立する上で心身ともに支えてくださった友人，家族，特に平日は帰宅も遅く，出張で不在がちな私に代わって家族を守ってくれた妻に深く感謝したいと思います。ありがとうございました。