

柿果実の成熟・脱渋に伴う糖・タンニン並びに 果肉細胞組織の変化

平井俊次・近藤民恵・木下 久*

The Changes of Sugars, Tannins and Sarcocarp Cellular
Structures with Maturation and Removal of
Astringency of the Persimmon Fruits

Shunji HIRAI, Tamie KONDO and Hisashi KINOSHITA*

Summary : This paper examined how the sarcocarp organization and sarcocarp components (sugars and tannins) changed with maturation and removal of astringency of the persimmon fruits, using analytical instruments such as scanning electron microscope, UV spectroscopy photometer and high performance liquid chromatograph. The results were as follows.

1. In astringent type persimmon (Ichida persimmon) and non-astringent type persimmon (Fuyu persimmon), there was a difference on the condition of persimmon sarcocarp under the scanning electron microscope in all maturation and removals of astringency process. The former was a condition of the sarcocarp which was smooth from the immature time, and the form (wall and membrane) of the cell collapsed in the overripeness, and the jelly condition was shown. In the meantime, the organization of the latter was comparatively hard, even if it comes to overripening condition, and there was no break in the external form of the cell. We guessed the difference between both these cellular structures influenced also the food feeling of sweet persimmon and astringent juice persimmon. 2. The black spots appeared in a part of sarcocarp cell on Fuyu persimmon, when the period of maturity approached. Then, in the cell around the spot, the black dents were formed in great numbers, and there were convergence and solidification of the cytological structure. Unlike the case of Fuyu persimmon, there was no generation of the black spot in the sarcocarp cell of Ichida persimmon. Instead, many small holes were produced in the gelatinated sarcocarp. 3. Sugar content of persimmon fruits in early July is 5.5% (Ichida persimmon), and 5.2% (Fuyu persimmon). Afterwards, it rapidly increased, and it reached 19.9% and 14.5% respectively at the period of maturity. In the immature time in early July, the sugar composition proportion of the sucrose of Fuyu persimmon and Ichida persimmon is low and 10% something. However, from early September to early October, it increased to about 60% at the composition ratio, and the sucrose became the subject of the sugar of the persimmon fruit. In the meantime, the fluctuation is big through the maturation process of the fruit for the ratio of the glucose/fructose. The glucose tended to be relatively more

abounding than fructose. 4. The measured value of sugar content of the persimmon fruits shows the values which considerably differ in sugar refractometer and high performance liquid chromatography. The difference between them was related to the degree of the astringent taste of the persimmon fruit, and the more immature and astringent the fruit was, the greater it grew. And, the absorbency at the wavelength around 306nm of water and methanol extraction liquid of the persimmon sarcocarp seemed to indicate the soluble tannin content. 5. There seems to be the relation between maturation, softening and change of cellular structure with removal of astringency of the persimmon fruit and composition change of sugar and tannin of the sarcocarp.

Key words : 柿果実 (persimmon fruits), タンニン (tannins), 果肉細胞組織 (sarcocarp cellular structures), 走査電子顕微鏡 (scanning electron microscope), 紫外分光光度計 (UV spectroscopy photometer)

柿は、栄養・機能性面から大変に優れた果実である。特に、食物繊維、ミネラル、タンニン(ポリフェノール)、ビタミンC、カロテンなどの機能性成分が豊富に含まれ、また、軟熟化した果実は喉越しもよく、高齢社会における人の健康の維持・増進・食生活改善などを図るための食材の一つとして期待される。一方、柿果は、酵素活性の強い果実であり、成熟・加工中に味覚、食感、呈味・栄養成分などの変化が起き易く、食品栄養的価値も影響を受ける。そこで、筆者らは、柿果の成熟・脱渋・加工などに伴う糖組成および β -D-フルクトフラノシダーゼ(EC3.2.1.26)活性の変化¹⁻⁴⁾、および細胞壁多糖類関連物質の動向など⁵⁾について食品栄養学的観点から研究を続けてきた。また、他の研究者の報告も多くある⁶⁻¹⁰⁾。本報では、これまでの研究に引き続き、柿の成熟・脱渋に伴う果肉の変化を、走査電子顕微鏡を用いて細胞組織のレベルで詳細に調べた。さらに、糖とタンニンなど成分の動向を新たな分析法を確立しながら検討を加えた。その結果、両者の関わりについて新たな知見が得られたので報告する。

実験材料および方法

1. 材料

長野県飯田市周辺で栽培されている渋柿

(市田柿)と甘柿(富有柿)を7月から11月に亘って収穫して実験材料とした。また、11月上旬に収穫した市田柿を天日乾燥により干し柿に加工し、実験に用いた。

2. 分析試料の調整

(1) HPLC用試料

①酵素の不活性化処理：各柿果をビーカーに入れてからラップフィルムと輪ゴムで覆った後、電子レンジを用いて約1～3分間加熱することにより果実中の酵素を失活させた。

②抽出操作：酵素を失活させた果肉を10g秤取り、10倍量の水を加えて磨砕した。その磨砕物をろ紙とディスポーザブルフィルターで直ちにろ過し、得られたろ過液をHPLCの糖分析の試料とした。

(2) 走査電子顕微鏡用試料

測定時にメスを用いて新鮮な生果肉から果肉切片を作成し、直ちに測定に用いた。

(3) 分光光度計用試料

果肉の10～20倍量の抽出溶媒(水またはメタノール)を加えて磨砕し、直ちにろ過した。このろ過液を測定試料とした。さらに、ろ過液10mlに0.5%塩化第二鉄メタノール溶液を1ml加えて青色に発色させた溶液ものも測定に用いた。

3. 分析機器の測定条件

(1) HPLC

検出器(RID-6A)、カラムオーブン(CTO-

6A), オートインジェクター (SIL-9A) およびクロマトパック (C-R5A) を装備した島津LC-6 A型の高速液体クロマトグラフを用いた。カラムは, Shim-pack SCR-101N ($\phi 7.9 \times 300$ mm)を用いた。また, カラム温度は45°Cで, 水を移動層 (流速0.8ml/min.) として測定した。

(2) 走査電子顕微鏡

反射電子検出器 (BSE2) を装備した日立S-3000Nを使用した。測定条件は, 加速電圧20 kV, ワークディスタンス15mm, 真空度70pAで行った。倍率は, 200~3,000倍で行った。

(3) 分光光度計

SHIMADZU UV-1200を用いて波長250-550nm領域を測定した。

4. 渋味の官能検査による判定法

柿の渋味度は, Speamanの順位相関検定法を用いて, 40名のパネラーで行った。官能検査の尺度は, 7, 8月の市田柿の渋味を+5, 完全に脱渋して渋味を感じないものを0として6段階の判定を行った。

5. 屈折計示度 (糖度計示度)

果肉を圧縮して得た果汁をさらし木綿でろ過し, 屈折計で測定した。

実験結果および考察

市田柿と富有柿の成熟および脱渋に伴う果肉の細胞組織と果肉成分 (糖・タンニン) の変化を検討した。その結果は, 次の通りであった。

1. 成熟・脱渋に伴う果肉組織の変化

Fig. 1は, 採取時期の異なる柿果肉の走査電子顕微鏡写真 (200倍) である。富有柿と市田柿は, 7月上旬の未熟 (果径 $\phi 2.5 \sim 3.5$ cm) な頃から11月上旬の過熟果 (熟柿) に至る全成熟過程を通じて果肉組織に, 次の①~④の特徴がみられた。①7月頃の果肉細胞は, 全体が柔らかな小さな細胞であるが, 8月ころから急に細胞が大きくなる。細胞壁もはっきりしてくるが, 細胞質は充実していない。この細胞内が多汁かつ充実するのは, 9月頃か

らである。この傾向は, 富有柿と市田柿に共通しており, 細胞の生長と細胞内が充実する時期には, 差があると思われる。この時間差は, 富有柿と市田柿では, 多少動向が異なる。②10月以降の適熟および過熟な市田柿では, 果肉がゼリー化し, 細胞の形 (壁・膜) が確認できないほどに組織が崩れる。一方, 富有柿は, 過熟な状態になっても細胞壁が硬く, 細胞の形が比較的しっかりして細胞の外形を留める。③富有柿の果肉は, 市田柿の多汁で滑らかな状態とは異なり, 粗雑でパサついた肉質である。また, 測定時の真空下で空洞状の組織が発生しやすい。④富有柿では, 脱渋に伴って細胞内に不溶性タンニン顆粒と思われるゴマ状の黒点を多数生ずる。さらに, 黒点周辺に黒色のくぼみが多く発生し, 細胞内容物が収斂凝固した状態になる。一方, 市田柿では, このゴマ状の黒点がほとんど確認できず, 多汁なゼリー状の細胞質の全面に, スポンジ状の多孔の生成が見られる。これらの電子顕微鏡写真に見られた細胞組織の違いは, 甘柿と渋柿の生果や加工品の食感にも影響しているものと推察される。また, 実験や加工時の切断, ろ過操作の難易にも関連があると思われる。このように富有柿と市田柿とでは, 成熟・脱渋に伴う果肉細胞の変化に違いが見られる。さらに, 脱渋の機構そのものが異なっている可能性を示唆している。次に細胞組織の変化に伴って糖やタンニン成分がどのような動向を示すか検討した。

2. 成熟・脱渋に伴う糖成分の変化

柿の成熟・脱渋に伴う糖含量と糖組成の変化をHPLCで分析した。その結果は, Fig. 2の通りである。7月上旬の柿果の全糖量は, 市田柿5.5%, 富有柿5.2%を示し, 品種による差が少ない。その後, 急激に糖が増加し, 適熟期には, 市田柿が約20%, 富有柿が14~15%に達した。適熟果では, 富有柿に比べて市田柿の方が糖量が高い傾向が見られる。また, 各糖の組成比は, 成熟・脱渋に伴い大き

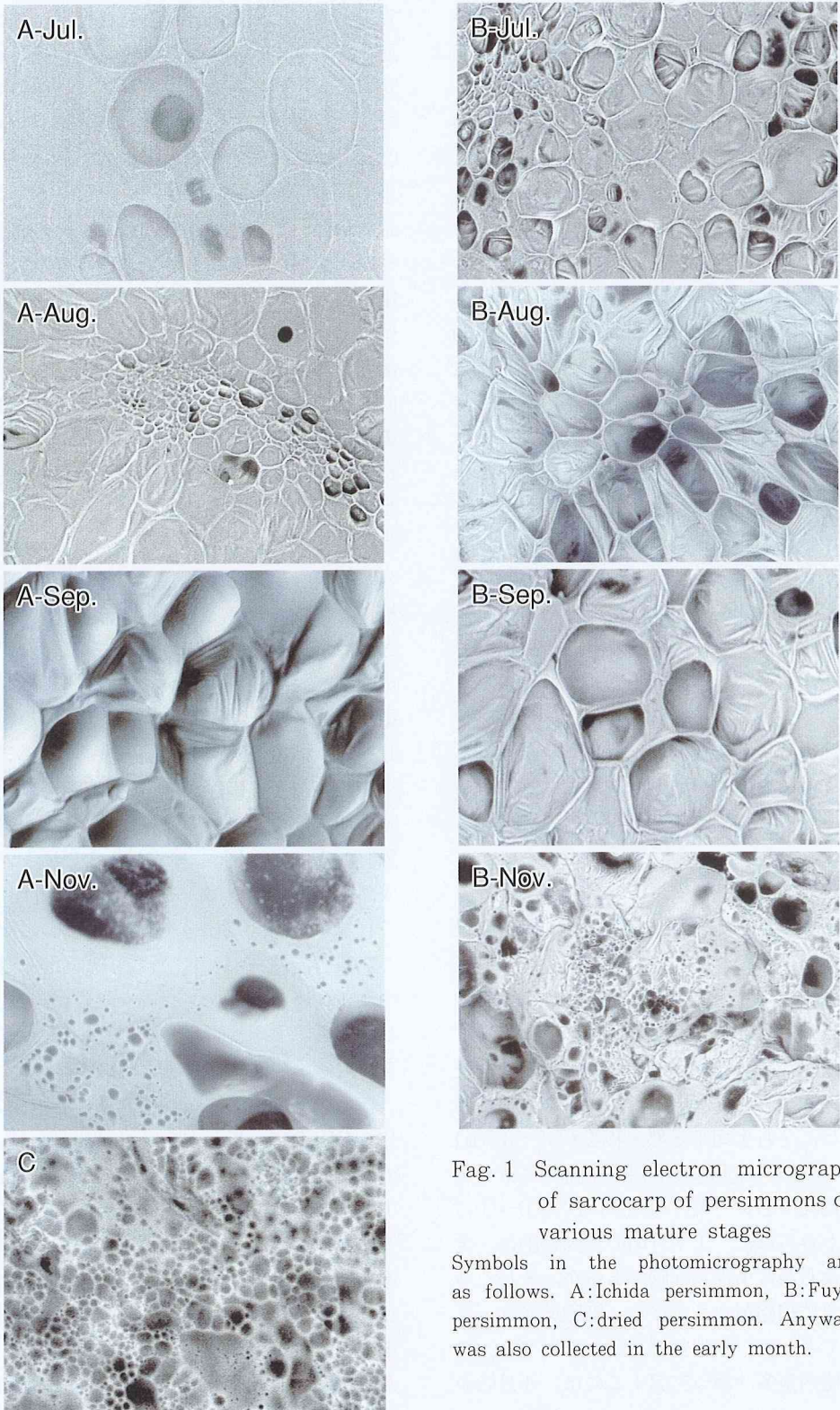


Fig. 1 Scanning electron micrograph of sarcocarp of persimmons of various mature stages

Symbols in the photomicrography are as follows. A: Ichida persimmon, B: Fuyu persimmon, C: dried persimmon. Anyway was also collected in the early month.

く変化した。7月上旬の未熟な頃は、富有柿、市田柿ともに糖組成比で、グルコースとフルクトースが各40%、スクロースが10%程度である。しかし8、9、10月と成熟が進むにつれて、グルコース、フルクトースの割合が減少し、スクロースの増加が見られた。10月上旬の適熟果では、スクロースが組成比で約60%位に達し、スクロースが糖分の主体を成した。この糖組成比率に占めるスクロースの増加は、前述の細胞組織の成長・充実との間に関連性が伺える。その後、過熟になるとスクロースの分解が急速に進み、スクロースの減少とグルコースとフルクトースの増加が見られた。熟柿では、グルコースとフルクトース

が主成分となった。このように柿果は、熟度により糖含量と共に、糖組成が大きく変動する特徴がある。特に、果実の成長期におけるスクロースの蓄積と過熟期のスクロースの分解とが顕著な現象である。この過熟期のスクロースの分解は、前項で述べた細胞壁の軟化・分解により細胞壁のインベルターゼ (β -D-フルクトフラノシダーゼEC3.2.1.26)の活性が強まるためと推察される。果実軟化や果肉細胞の崩壊は、インベルターゼの活性を誘導し、最終的に糖組成の変化や食味に大きな影響を与えていることが明らかとなった。なお、富有柿では、スクロース、グルコース、フルクトース以外の他の成分の割合が多く、市田

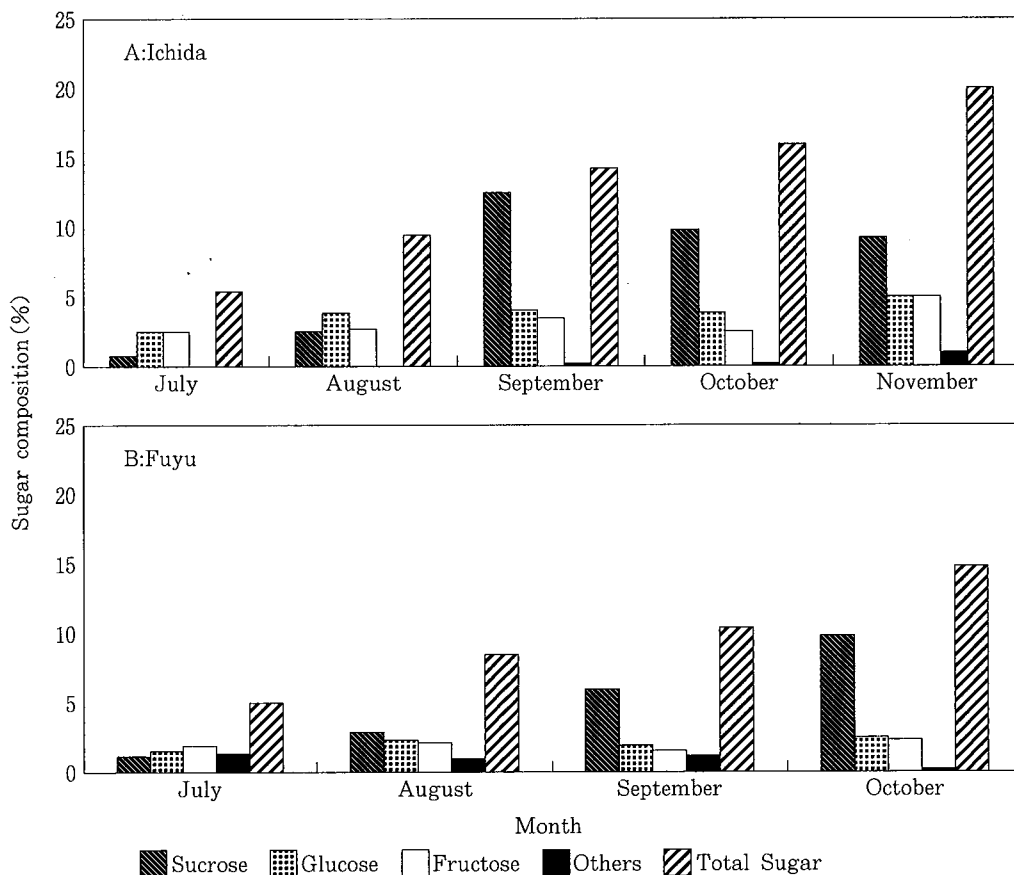


Fig. 2 Changes of sugar compositions with maturation of persimmon fruits
The each sugar quantity is g number per fruit of 100g. The picking of the persimmon fruits was carried out in the early month in each month.

柿とは異なる傾向も見られた。

3. 成熟・脱渋に伴うタンニン成分の変化

(1) タンニンの測定

① 糖度測定法の応用

柿果は、Table 1 に示したごとく糖用屈折計 (R) と前述の HPLC (H) 分析の糖量とでは、かなり異なった値を示した。この両者の差 (R-H) は、渋味の強い未熟果では大きく、適熟 (脱渋) 果では、小さくなる傾向が見られた。さらに、この (R-H) 値は、官能検査による渋味度の判定結果との間に相関が認められ (Speaman の順位相関検定：危険率 5% 以下)、柿果の渋味の強さに関連して

いると思われる。これらの点から (R-H) 値は、柿果の渋味の判定やタンニン量の推定などに十分活用可能と思われる。

② 吸光度測定

柿果の水およびメタノール抽出液の紫外線吸収スペクトルを Fig. 3 および Fig. 4 に示した。この吸収スペクトルは、市田柿ではシャープな強いピークを示すが、富有柿は幅広い丘陵形のピークである。このように富有柿と市田柿では、多少ピーク形状が異なるが、共通して 306nm 前後に最大吸収 (K 吸収帯) を有する。

この K 吸収帯の特性 (吸光度、ピークの形状など) の変化は、(R-H) 値と同様に、渋味の

Table 1 Relationship between sugar content and refractometer reading and astringent taste of persimmon fruits

Picking Time	Fuyu				Ichida			
	R	H	R-H	D.A.T	R	H	R-H	D.A.T
July	10.0±0.47	5.2±0.18	4.8±0.07	3	18.0±0.96	5.5±0.25	12.5±0.08	5
August	11.0±0.31	8.1±0.21	2.9±0.11	2	21.0±1.09	9.0±0.70	12.0±0.10	4
September	12.0±0.24	10.3±0.22	1.7±0.11	1	19.0±0.47	13.4±0.73	5.6±0.06	3
October	13.0±0.48	14.5±0.20	1.5±0.08	1	21.0±0.69	16.2±0.65	4.8±0.04	2
November	17.0±1.64	—	—	—	22.0±0.25	19.9±0.71	2.1±0.06	2

R : Refractometer reading. H : All sugar content by the HPLC determination.

D.A.T : The degree of the astringent taste. Each R and H are mean value of measured value in 5 samples (5 times). And, the estimate of 95% confidence interval of these mean values was shown within ±.

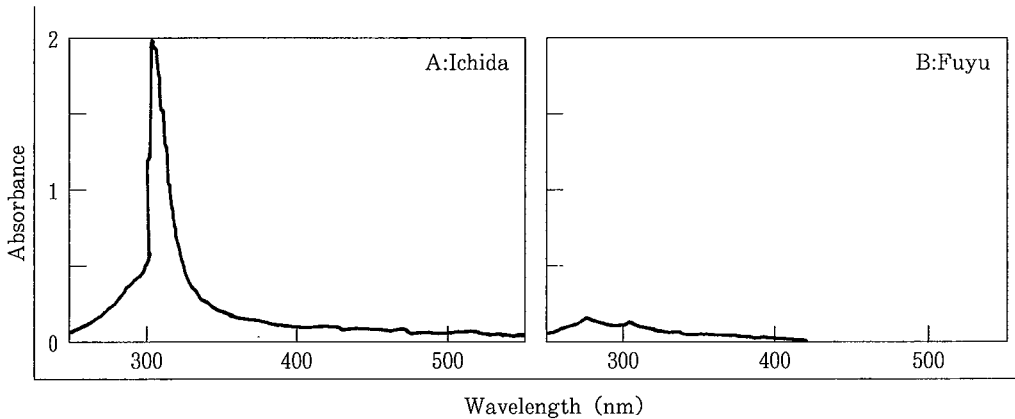


Fig. 3 Ultraviolet absorption spectra of the aqueous extracts of the persimmon fruits

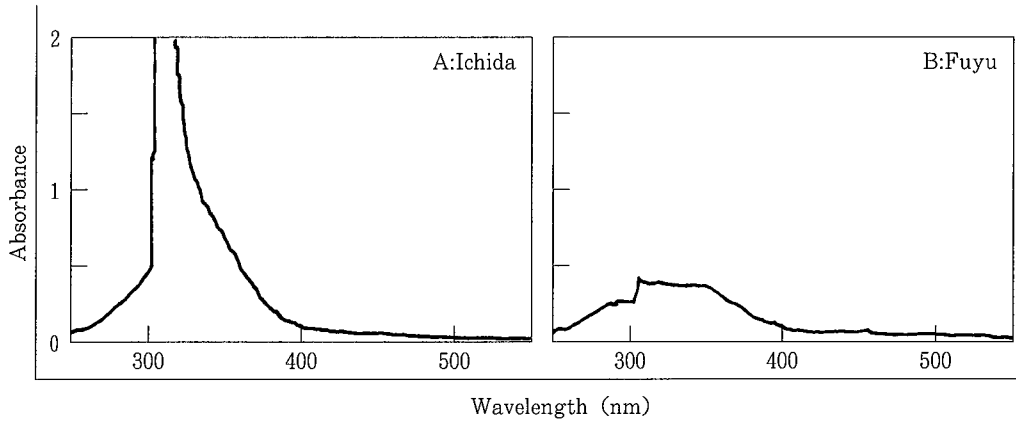


Fig. 4 Ultraviolet absorption spectra of methanol extraction liquids of the persimmon fruits

程度や可溶性のタンニン量との関連性が示唆される。この傾向は、メタノール抽出液より水抽出液の方がより強い関連性を示した。そこで、(R-H) 値と水抽出液のK吸収帯の特性（特に吸光度）とを合せて解析するとタンニン量を間接的に表すことができると推察し、次のタンニン成分の変化に関する検討に活用した。

(2) 成熟・脱渋に伴うタンニンの変化

柿果の成熟・脱渋に伴う可溶性タンニンの

変化は、Table 2 およびTable 3 に記した。

これらの結果から次の傾向が認められる。① 富有柿と市田柿とでは、8月の未熟な頃から可溶性タンニン量に大きな差が見られる。② 富有柿は未熟な頃から可溶性タンニンが著しく少ないが、適熟期に至っても可溶性タンニンが残り、渋味が完全に消失しない傾向がある。③ 8月の未熟な市田柿では、富有柿とは桁違いに可溶性タンニンが多く、強烈な渋味

Table 2 Ultraviolet absorption spectra of aqueous extracts of persimmon fruits

Picking time	Aug.		Oct.		Nov.
	Fuyu	Ichida	Fuyu	Ichida	Ichida
K (nm)	306	306.5	306	306	306
Absorbance	0.277	2.37	0.114	1.492	1.4

K : The largest absorption wave. The picking of the persimmon fruits was carried out in the early month in each month.

Table 3 Changes of ultraviolet absorption spectra with drying removal

Days of drying	Aqueous extracts		Methanol extraction liquids	
	K (nm)	Absorbance	K (nm)	Absorbance
0	306	0.583	306	1.492
7	306	0.115	307	1.421
14	306	0.081	306	1.904
21	306	0.089	306	0.658
28	306	0.081	306	0.168

K : The largest absorption wave.

を呈する。このタンニン量は、成熟するにつれて減少するが、10～11月に至って果実が柿色にいろづく状態（硬い果実）でも、かなりの可溶性タンニンが残存している。④干し柿に加工すると、乾燥2～3週間後にはほぼ脱渋していることが明らかになった。

これらの結果を総合的に考えると、柿果実の成長に伴う果肉組織の変化と果肉成分（糖およびタンニン）の変化とは、関連性が深いことが推察される。特に、果実の肥大・成長の過程と過熟・軟化の過程では、スクロースの合成と分解という全く逆の反応が起き、糖組成に大きな影響を与えていることが明らかとなった。また、このスクロースの分解には、細胞壁の軟化に伴う β -D-フルクトフラノシダーゼの活性化が影響しているものと考えられる。また、成熟・脱渋に伴う渋味の変化は、可溶性タンニン（特に水溶性タンニン）の影響が大きいと考えられた。このタンニンの種類と含量、脱渋の機構、さらには、タンニンが果肉に与える影響などは、品種や熟度により、かなり異なると推察される。この点については、今後の研究を待ちたい。今回得られた知見は、柿の加工・利用上で重要な内容と考える。

要 約

本論は、柿果の成熟および脱渋に伴ってその果肉組織と果肉成分（糖・タンニン）が、どのように変化するかを、走査電子顕微鏡、紫外分光光度計、高速液体クロマトグラフ（HPLC）などの分析機器を用いて検討した。その結果は、次の通りであった。

1. 走査電子顕微鏡下の柿果肉の状態は、市田柿と富有柿とでは、すべての成熟・脱渋過程において違いが認められた。前者は、未熟な頃から滑らかな果肉の状態で、過熟になると細胞の形（壁・膜）が崩れ、ゼリー状態を呈した。一方、後者は、過熟な状態に至っても、比較的組織が硬く、細胞の外形に崩れ

が見られなかった。これら両者の細胞組織の違いは、甘柿と渋柿の食感にも影響するものと推察された。

2. 富有柿は、適熟期が近づくと一部の果肉細胞中に黒色の斑点が現れた。そして、その斑点の周辺の細胞には、黒色のくぼみが多数生成し、細胞内容物の収斂・凝固が認められた。市田柿では、富有柿の場合とは異なり、果肉細胞中に黒色の斑点の生成が見られず、その代わりにゼリー化した果肉に沢山の小さな孔を生じた。

3. 7月上旬の柿果実の糖含量は、市田柿5.5%、富有柿5.2%である。その後、急激に増加して、適熟期には、それぞれ19.9%、14.5%に達した。富有柿、市田柿ともに7月上旬の未熟な頃は、スクロースが少なく、組成比で10%台である。しかし、9月～10月上旬には、組成比で約60%位まで増加し、スクロースが柿果実の糖の主体を成した。

一方、グルコース/フルクトースの比率は、果実の成熟過程を通じて変動が大きい。相対的には、グルコースの方がやや多い傾向が見られた。

4. 柿果実の糖含量の測定値は、糖用屈折計とHPLCではかなり異なった値を示す。この両者の差は、柿果実の渋味の度合いに関連しており、未熟な渋い果実ほど大きくなる傾向が見られた。また、柿果肉の水およびメタノール抽出液の306nm前後波長における吸光度は、可溶性タンニン（水溶性タンニン）量を示すものと推察された。

5. 柿果実の成熟、軟化および脱渋に伴う細胞組織の変化は、果肉の糖やタンニンの成分変化との間に関連性があると思われる。

文 献

- 1) 平井俊次，六波羅明香，清水純夫：柿果実の成熟、貯蔵および加工中のインペルターゼ活性の変化，日本食品工業学会誌，**33**，369-374，1986。

- 2) 平井俊次, 六波羅明香, 清水純夫: 柿果のアルコール抽出時におけるメチルおよびエチル- β -D-フルクトフラノシドの生成, 日本農芸化学会誌, **60**, 521-523, 1986.
- 3) 平井俊次, 佐々木和子: カキ果・カキペーストの冷凍貯蔵中における糖・有機酸およびインペルターゼ活性の変化, 飯田女子短大紀要, **9**, 39-52, 1988.
- 4) 平井俊次, 近藤民恵: 果実の糖分析における問題点とその対策, 飯田女子短大紀要, **19**, 59-68, 2002.
- 5) 平井俊次, 新海シズ, 近藤民恵: 脱渋処理によるカキ果実の糖成分と細胞壁多糖類の変化, 飯田女子短大紀要, **15**, 35-51, 1998.
- 6) 石丸恵, 茶珍和雄, 和田安規, 上田悦範: 脱渋方法の異なるカキ '平核無' 果実のペクチン質およびヘミセルロースの変化と軟化との関係, 日本食品保蔵科学会誌, **27**, 197-204, 2001.
- 7) 石丸恵, 茶珍和雄, 和田安規, 上田悦範: '平核無' と '富有' カキ果実のペクチン質およびヘミセルロースの変化と軟化との関係, 日本食品保蔵科学会誌, **28**, 119-125, 2002.
- 8) 石丸恵, 茶珍和雄, 上田悦範: 脱渋方法の異なるハウスカキ '刀根早生' 果実の β -D-galactosidase活性の変化と軟化の関係, 日本食品保蔵科学会誌, **29**, 89-93, 2003.
- 9) 板村裕之, 福嶋忠昭, 北村利夫: カキ '平核無' 果実の軟化と細胞壁多糖成分との関係, 日本食品工業学会誌, **36**, 647-650, 1989.
- 10) 吉岡博人: 果実・野菜組織の軟化とペクチン及びペクチン分解酵素, 日本食品工業学会誌, **39**, 733-737, 1992.