

報 文

## 過冷却保存がカット西洋ナシの品質保持にもたらす効果

大須賀 玲, 小出章二\*, 安倍侑野, 折笠貴寛, 上村松生

岩手大学農学部

Effect of Supercooled Storage on Maintaining the Quality of Fresh-cut Pear

Rei Osuga, Shoji Koide\*, Yukino Abe, Takahiro Orikasa and Matsuo Uemura

Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-8-18 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550

In this study, film packaged fresh-cut pear samples were supercooled at  $-5^{\circ}\text{C}$  for 3 days and then tissue characteristics and physicochemical properties were compared with samples stored at  $1^{\circ}\text{C}$  (control). The tissue characteristics of the samples were then evaluated by electrical impedance, microscopic observation, and a triphenyl tetrazolium chloride (TTC) assay. The results showed that the supercooled samples had Cole-Cole plots with well-defined circular arcs, intact cell structure, and cell viabilities that were comparable to those of fresh samples, indicating that supercooled samples were not adversely affected by freezing. Physicochemical evaluations of supercooled samples showed that changes in mass, coloration, and softness were all less apparent than they were in the control samples. Additionally, the ethylene concentration in the supercooled sample packages was significantly lower than that of the control samples, indicating that supercooling reduced ethylene production from fresh-cut pears. The results showed that supercooling could potentially extend the shelf life of fresh-cut pear.

(Received Apr. 12, 2021 ; Accepted Aug. 16, 2021)

**Keywords** : supercooling, fresh-cut pear, tissue characteristics, ethylene, quality

**キーワード** : 過冷却, カット西洋ナシ, 組織の特性, エチレン, 品質

カットフルーツは、果物を小さく切るなど生食用としてそのまま食べられるように加工し包装された製品である。近年消費者は、手ごろな価格・日持ちが良い・食べやすい果実の提供を特に求めており、カットフルーツの需要が拡大している<sup>1)</sup>。しかしカット果実は、加工時の切断ストレスの影響から生理・化学的变化や微生物増殖が促進され、消費期限が短く腐りやすい。よってカット果実の流通拡大および高品質化に向けて、品質保持技術の開発が望まれている。

低温貯蔵は、微生物の生育や酸化などの化学反応を遅らせることが出来るため、基本的な品質保持技術として利用されている。しかし青果物は凍結すると著しい物性変化を引き起こすため、氷点下温度帯を利用する凍結保存は適さない。そのため現在では青果物の流通・貯蔵において、冷蔵保存 ( $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ ) や氷温保存 ( $-2\sim 2^{\circ}\text{C}$ ) が利用されている<sup>2)</sup>。しかし実際には氷温保存より低温側で保存できれば、すなわち過冷却状態での保存 (以後、過冷却保存) が実現すれば、更なる品質保持および日持ち向上が期待できる。過冷却保存は食品を氷点下でも凍らせずに貯蔵できる技術であり、これまでの青果物の過冷却保存に関する研究では、

野菜類 (ニンニク, ニンジン, レタス) やカット野菜 (キャベツ, ホウレンソウ, タマネギ) において過冷却状態を数時間~数日間安定化させた事例が報告されている<sup>3)~8)</sup>。また近年、著者らはカットリンゴを氷結点以下となる  $-5^{\circ}\text{C}$  で 10 日間過冷却保存したところ、冷蔵保存 ( $5^{\circ}\text{C}$ ) した試料と比較して目減りや色彩変化が抑制されたとともに、一般生菌数が減少したことを示した<sup>9)</sup>。これによりカット果実を過冷却保存することで日持ち向上の可能性が示されたが、さらにその有効性を調べるには、氷温保存 ( $-2\sim 2^{\circ}\text{C}$ ) との比較が必要となる。しかしながら、過冷却保存したカット果実の品質特性について、氷温保存したカット果実と比較し考察した報告例は見当たらない。

そこで本研究では、岩手県の「地域特産果樹」である西洋ナシ 'ラ・フランス' をカットフルーツのモデル材料として用いて  $-5^{\circ}\text{C}$  で 3 日間過冷却保存を行い、これを  $1^{\circ}\text{C}$  で 3 日間氷温保存した試料と比較した。ここでは、 $-5^{\circ}\text{C}$  の過冷却保存がカット西洋ナシの試料組織の特性に与える影響に関して、電気インピーダンス測定により得られる Cole-Cole プロット, 光学顕微鏡観察による細胞構造, TTC 還元法により得られる細胞活性の観点から考察する

とともに、理化学的特性（目減り、色彩変化、硬度、糖度およびL-アスコルビン酸含有量、フィルム内のエチレン濃度）を評価したので報告する。

## 実験方法

### 1. 供試材料

盛岡市内の量販店にて2020年に購入した西洋ナシ（岩手県紫波町産ラ・フランス, *Pyrus communis* var. *sativa*)を実験室に直ちに搬入し、庫内温度を1℃に設定したインキュベータ内に暗黒下で保存した。購入日から2週間以内に腐敗や外傷のない果実（質量213.8±14.3g、赤道部果皮色 $L^*$ 51.1±2.8,  $a^*$ 1.2±1.8,  $b^*$ 34.8±4.1）を選定し、更に供試果実の追熟度合いを揃えるため<sup>10)11)</sup>、果実硬度計（KM-1, 藤原製作所）を用いて、選定した果実の中から赤道部の果肉硬度が0.8~1.5kgの範囲内にある果実を実験に用いた<sup>12)</sup>。果実を8等分の櫛型切りにして果皮と芯を取り除いた後、それぞれの質量が15.0±1.0gとなるよう形成し、試料を作製した。試料表面の水分を軽く拭き取り、OPPフィルム（P5562, 東洋紡株式会社）で小分けに包装し、ヒートシールし密閉した。なお予備測定にて、ガスクロマトグラフィーを用いて3日保存後の試料の包装フィルム内の酸素および二酸化炭素濃度を測定したところ、-5℃条件下では19.3%以上および1.2%以下、1℃条件下では19.0%以上および1.3%以下であったことから、保存後もフィルム内は好气的条件が保たれていたと考えられる。

### 2. 過冷却保存試験

Fig. 1に本研究の実験系の概要を示す。試料が包装された袋をポリプロピレン製容器（Neo keeper, 岩崎工業株式会社：25×20×10cm）に並べて蓋をし、庫内温度を-5℃に設定したインキュベータ（LHU-113, エスペック株式会社）（実測値：-5.25±0.10℃）内に静置して3日間冷却・保存した（以下、SC）。この際、保存中の過冷却解消を防ぐため、ポリプロピレン製容器の底にクッション材を置き、外部からの振動・衝撃を緩和させた。また、西洋ナシ‘ラ・

フランス’を含む西洋ナシ品種は0~1℃の氷温保存が品質保持に有効であると報告されていることから<sup>11)13)</sup>、コントロール区としてSCと同一果実から形成した試料を1℃のインキュベータ（LU-114, エスペック株式会社）（実測値：0.93±0.05℃）内で3日間保存した（以下、C）。保存開始から3日経過後、試料が入ったポリプロピレン製容器に振動・衝撃を与えないよう、各インキュベータから静かに取り出し30分間室温（約20℃）に置いて試料温度を揃えた後、各測定に供試した。

なお今回、過冷却保存温度の決定に際し、小出ら<sup>7)</sup>の方法に準じて試料の凍結点をオズモメータにより、過冷却点をT型熱電対により測定した。その結果、カット西洋ナシ試料の凍結点および過冷却点の平均値は-1.67±0.01℃（ $n=5$ ）、および-5.87±0.42℃（ $n=14$ ）であり、-5℃で過冷却状態を維持できる可能性が示された。よって本研究では、過冷却保存温度として-5℃を適用した。

### 3. 試料組織の特性

過冷却保存が試料組織の特性に与える影響について調べるため、電気インピーダンス計測法<sup>14)~17)</sup>による試料の細胞膜閉鎖性、光学顕微鏡観察による細胞構造、およびTTC還元法<sup>18)~20)</sup>による細胞活性を評価した。ここでは過冷却保存後の試料（SC）を保存前試料（以下、F）、1℃保存試料（C）、および凍結後解凍した試料（以下、DS）と比較した。DSは庫内温度-80℃のディープフリーザー（マイバイオVT-78, 日本フリーザー株式会社）で3日間凍結した後解凍して常温（約20℃）に戻し、細胞が致命的に損傷した試料のコントロールとして用いた。なお本研究において、過冷却保存後の各試料を目視により観察したところ、過冷却解消に伴う氷結晶の形成が確認された試料は39サンプル中1サンプルのみであった。よって、-5℃において過冷却が解消された試料（以下、SC-N）を以下の要領で人工的に作成し、その試料組織の特性を他試料と比較した。具体的には、8等分の櫛型（15.0±1.0g）に形成した試料を過冷却状態で24時間保存した後、インキュベータ内（-5

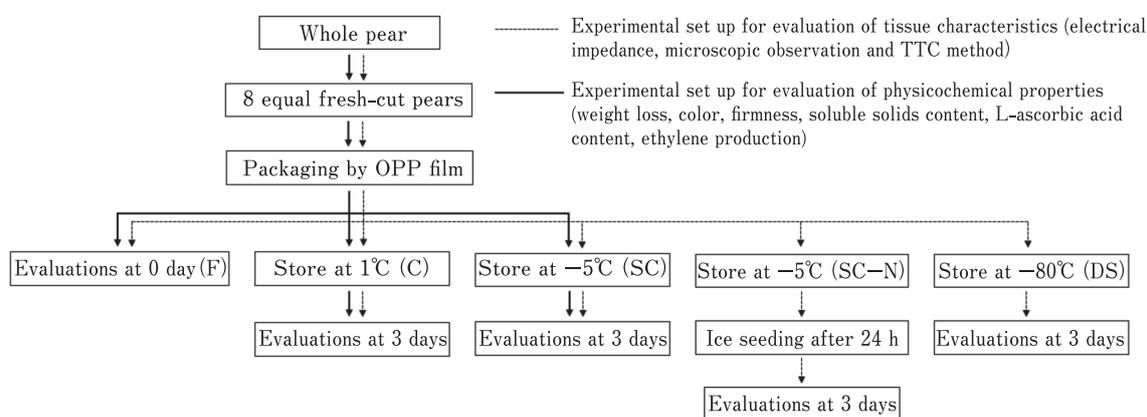


Fig. 1 Experimental set up

℃)にて植氷を行った。植氷は Nagao ら<sup>21)</sup>の方法に基づき、事前に包装フィルムの一部に施した穴を通して氷片を試料の表面に接触させる方法とした。植氷してから60分経過後、目視により試料表面に氷結晶が形成され凍結が起きたことを確認して氷片を回収し、過冷却解消試料とした。その後同インキュベータ内で保存し、保存日数が3日となった時点で試料を取り出し、これをSC-Nとした。

#### (1) 電気インピーダンス

試料の電気インピーダンスを小出ら<sup>7)</sup>の方法に準じて測定した。すなわち、LCRメータ(3532-50,日置電気株式会社)に接続したステンレス製のφ0.5mm針状電極を試料の断面に10.0mmの間隔で挿入して周波数42Hz~5MHzを掃引し、試料のインピーダンス $|Z|$ と位相角 $\theta$ を測定した。試料への針状電極の侵入深さは6mmとした。得られたインピーダンス値の実数部 $R$ と虚数部 $-X$ を複素数平面上にプロットすることで、試料のCole-Coleプロット<sup>15)</sup>を作成した。測定は3反復行った。

#### (2) 細胞構造

試料の細胞構造を光学顕微鏡(BX41N-33,オリンパス株式会社)により観察した。観察部位は、試料の赤道部の断面とした(Fig.2)。前処理は以下のとおりに行った。試料から約5mm四方の果肉片を切り取り2.5%グルタルアルデヒド固定液に一晩浸漬させて前固定を行い、リン酸バッファで洗浄後、1%オスミウム酸固定液で1時間処理し、後固定を行った。その後アルコール脱水し、アララダイト樹脂で包埋した後、ウルトラミクロトームで厚さ約1 $\mu$ mの薄膜切片を作成した。切片をプレートに乗せ、デジタルカメラ(DP21,オリンパス株式会社)を備えた光学顕微鏡により観察を行った。

#### (3) 細胞活性

植物組織の凍結による生存率を定量するための植物生理学的な評価法の一つであるTTC還元法<sup>18)~20)</sup>を用いて試料の細胞活性度を求めた。試料の中央部から $1.0\pm 0.1$ gの果肉を切り出してガラス試験管(16.5 $\times$ 105mm)に入れ、0.05Mリン酸緩衝液(pH7.4)を溶媒とした0.2%TTC溶液を4mL加え、アルミ箔で蓋をした。それらをデシケータに入れ、真空ポンプで30分間脱気した後、25℃の暗黒下で15時間反応させた。デシケータから試験管を取り出し、果肉片を純水で3回洗浄した後、95%エタノールを6mL加えて80℃の温浴中で30分間加熱し、TTC(triphenyl tetrazolium chloride)が還元して得られるTPF(triphenyl formazan)を抽出した。加熱後、抽出液を室温まで冷却して95%エタノールで10mLにメスアップし、530nmにおける吸光度を分光光度計(V-630,日本分光株式会社)により定量した。得られた値をNCの吸光度の平均値で引き、これをFreshの吸光度の平均値で除した値を細胞活性比とした。測定は3反復行った。

### 4. 理化学的特性の測定

#### (1) 目減り

試料の保存前後に表面の水分を拭き取り、質量を電子天秤(HR-60,株式会社エー・アンド・デイ)で計測した。保存前の質量から保存後の質量を引き、それを保存前質量で除して%で示した値を目減りとした。測定は8反復行った。

#### (2) 色彩色度

色彩色差計(CR-20,コニカミノルタ株式会社)を用いて保存前後の試料表面の色彩を $L^*a^*b^*$ 表色系により測定した(Fig.2)。得られた値から色差を以下の式より求めた。

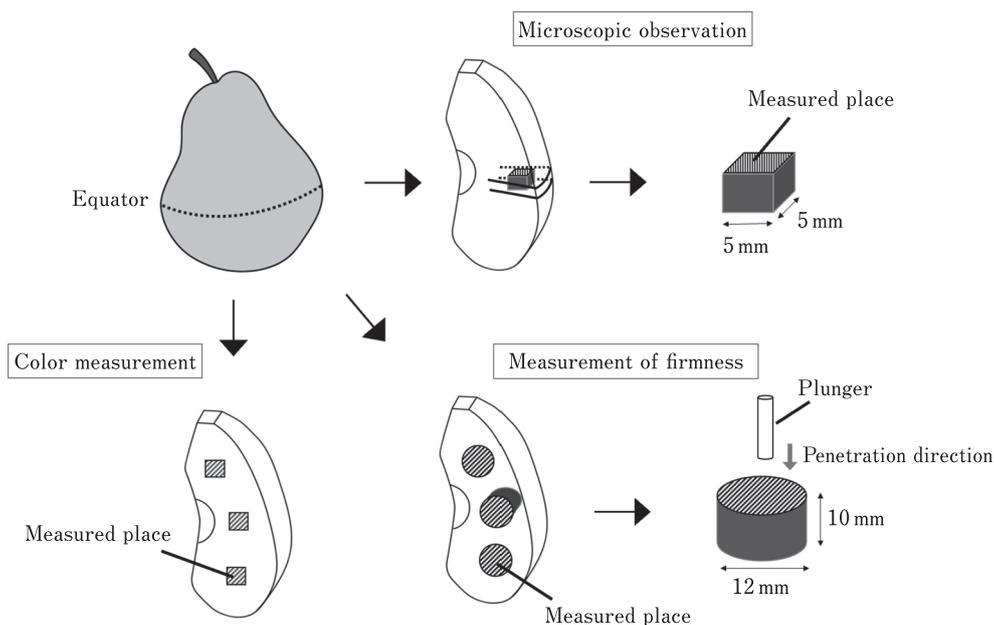


Fig. 2 Method design

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

ここで、 $\Delta E$  は色差、 $\Delta L^*$ 、 $\Delta a^*$ 、 $\Delta b^*$  は保存前後の  $L^*$  値、 $a^*$  値、 $b^*$  値の差を示す。測定は5反復行った。

### (3) 硬度

試料表面を  $\phi 12\text{mm}$  のコルクボーラで抜き打ち、表面が床と水平になるよう形成し厚さ  $10\text{mm}$  のサンプルを作製した (Fig. 2)。サンプルをクリープメータ (TPU-20, 株式会社山電) の試料台に置き、 $\phi 3\text{mm}$  の円柱状プランジャ (ポリアセタール樹脂製) を速度  $1\text{mm/s}$  で貫通させた際の最大荷重 (N) を測定した。試料表面の任意の3点の最大荷重の平均値を、試料の硬度とした。測定は5反復行った。

### (4) 糖度

試料に蒸留水を等量加えホモジナイズし遠心分離 ( $10000\text{rpm}$ ,  $4^\circ\text{C}$ , 10分間) した後、抽出液を濾紙 (1004-150, 株式会社ワットマン) で濾過した。濾液の糖度をポケット糖度計 (PAL-J, アタゴ株式会社) により測定し、希釈倍率から試料の糖度 (Brix) を算出した。測定は3反復行った。

### (5) L-アスコルビン酸含有量

試料に5% メタリン酸溶液を加えて1.5倍に希釈し、ホモジナイズし遠心分離 ( $10000\text{rpm}$ ,  $4^\circ\text{C}$ , 10分間) した後、抽出液を濾紙 (1004-150, 株式会社ワットマン) で濾過した。測定には反射式光度計 (RQ フレックスプラス 10, メルク株式会社) を用い、得られた値および希釈倍率から L-アスコルビン酸含有量 ( $\text{mg}/100\text{gFW}$ ) を求めた。測定は3反復行った。

### (6) エチレン濃度

保存後の試料の包装フィルム内のガスをガスタイトシリ

ンジにより  $1.0\text{mL}$  採取し、ガスクロマトグラフ (CG-8A, 島津製作所) に注入した。キャリアガスは窒素、燃焼ガスは水素と空気とし、検出器は FID、カラムは (Porapaq Q, 島津製作所) を用い、カラム温度は  $70^\circ\text{C}$ 、試料気化室および検出器の温度は  $90^\circ\text{C}$  とした。なお、各試料の包装フィルム内体積をエチレン濃度測定後に直ちにシリンジで抜き取り測定したところ、空気体積は  $210 \pm 10\text{ml}$  の範囲内であった。測定は5反復行った。

## 5. 統計処理

本実験で得られたデータは平均値  $\pm$  標準誤差として示した。統計処理は、統計ソフト (エクセル統計 ver 2.13, 社会情報サービス株式会社) を用いて行った。2群間の比較は t 検定により、3群以上の比較は Tukey-Kramer 法を用いた多重比較試験により群間の有意差を検討した。有意差の判定は有意水準 5% で行った。

## 実験結果および考察

### 1. カット西洋ナシの試料組織の特性

#### (1) 電気インピーダンス

青果物は、凍結によって細胞の状態、特に細胞膜の状態が大きく変化することが知られている<sup>2)</sup>。電気インピーダンスは、青果物の細胞膜状態を推定することが出来る指標の一つであり<sup>14)15)</sup>、そのベクトル軌跡である Cole-Cole プロットで描かれる円弧は、生体組織の細胞膜の閉鎖性を示す<sup>15)~17)</sup>。

Fig. 3 に各試料の Cole-Cole プロットを示す。F、C および SC は明確な Cole-Cole プロットの円弧を描いたのに対し、DS は円弧の消失が確認された。これは、凍結・融解に

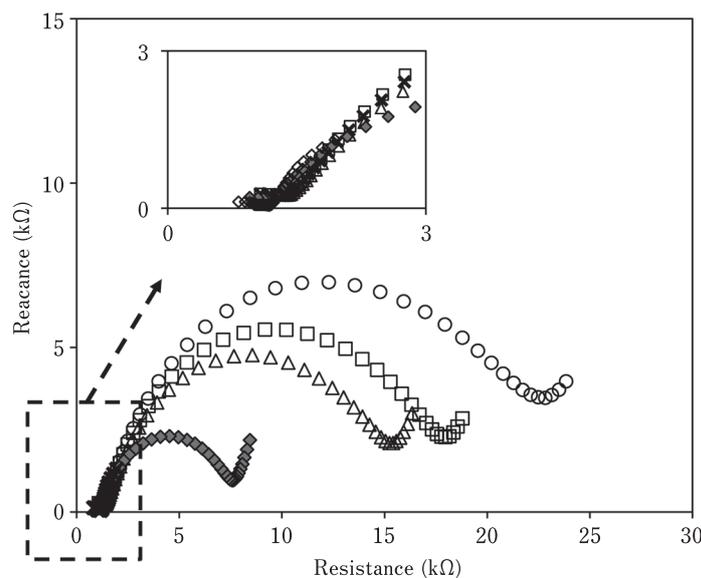


Fig. 3 Cole-Cole plots of the fresh-cut pear samples

○, F (fresh sample); ×, DS (dead sample); □, SC (supercooled sample); △, C (sample stored at  $1^\circ\text{C}$ ); ◆, SC-N (supercooled sample which was ice-seeded at 24h of storage). The inset represents the enlarged view of the part surrounded by dot. Each value represents the mean. Measurements were performed in triplicate.

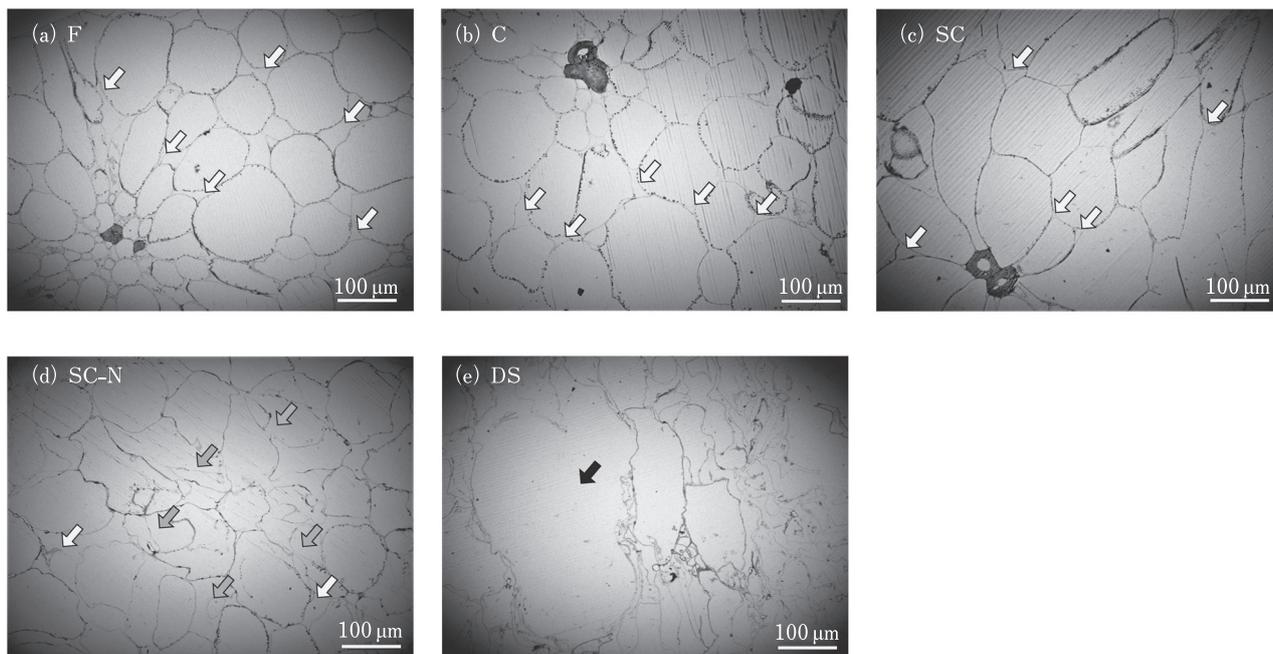


Fig. 4 Microscopic images of fresh-cut pear samples

(a) F (fresh sample), (b) C (sample stored at 1 °C), (c) SC (supercooled sample), (d) SC-N (supercooled sample which was ice-seeded at 24 h of storage), (e) DS (dead sample).

White arrows show the intercellular space, gray arrows show the broken cell wall, and black arrow shows the void space.

より試料の細胞膜が破壊され、その閉鎖性が維持されていないことを示している<sup>15)~17)</sup>。一方、各試料の Cole-Cole プロットの円弧の大きさを比べると F が最大であり、その後 SC、C の順に縮小していく傾向となった。Cole-Cole プロットの円弧は細胞膜閉鎖性の低下に伴い縮小・消失することが知られている<sup>16)</sup>。本研究において、SC は C よりも大きな円弧を示したことから、 $-5^{\circ}\text{C}$  で 3 日間過冷却状態を保ち、細胞膜の閉鎖性を維持したものと考えられる。

つぎに SC-N の Cole-Cole プロットをみる。Fig. 3 より SC-N には円弧が存在するものの F、C、SC と比較して明らかに小さい結果を示した。この結果は、過冷却解消したカット果実では初めての報告である。実際に SC-N を観察すると、試料が部分的に凍結したものの完全な凍結状態とはならなかった。このことは西洋ナシ試料の凍結点 ( $-1.67 \pm 0.01^{\circ}\text{C}$ ) をもとに Heiss の近似式<sup>22)</sup> により算出される凍結率が  $-5^{\circ}\text{C}$  では 67% となること、今回の試料の過冷却解消が自発的なものではなく試料表面への植水に由来すること、また過冷却解消後の経過時間が 48 時間と短かったことに起因すると考える。今回 SC-N については Cole-Cole プロットにみられる円弧の存在から、試料全体の細胞膜閉鎖性に関する議論はできないが、試料 F、C、SC と比較して組織に何らかの損傷が生じた可能性は大いに考えられる。今後はカット果実の凍結傷害が電気インピーダンスに与える影響について、種々の温度・時間・試料サイズのもとで測定し、その関連性について検討したい。

## (2) 細胞構造

光学顕微鏡を用いて細胞構造の観察を試みた結果を Fig. 4 に示す。これを見ると、F、C および SC では、直径約  $100 \sim 200 \mu\text{m}$  の円形または楕円形の細胞が密集して並び、また細胞間隙は微小であることが確認された (Fig. 4a, b, c)。一方 DS では、直径約  $300 \sim 500 \mu\text{m}$  の大きな空隙が形成されるとともに、細胞構造全体の崩壊が確認された (Fig. 4e)。この傾向は、凍結・融解後のリング組織を光学顕微鏡により観察した Ando ら<sup>14)</sup> の報告と同様である。

青果物中の水分が凍結すると、氷結晶が成長して組織の細胞壁や細胞内膜系を破壊し、細胞構造が崩壊する<sup>23)</sup>。その結果、青果物のテクスチャー劣化やドリップ、色彩変化などの物理的・化学的変化が引き起こされる<sup>23)24)</sup>。本研究において、SC では細胞構造の崩壊が見られず、F と同様の緻密な細胞構造が確認された。したがって、カット西洋ナシを  $-5^{\circ}\text{C}$  で 3 日間保存しても組織中に氷結晶が形成されることなく、生鮮試料と同様の細胞構造が維持されたと考えられる。

一方、SC-N では細胞が潰れた形状となるとともに、細胞壁の破壊や細胞間隙の拡大が確認された (Fig. 4d)。このことは前述したように SC-N が部分的に凍結したことに起因するが、細胞構造全体の崩壊までは確認できなかった。

## (3) 細胞活性

TTC 還元法で測定した各試料の細胞活性比を Fig. 5 に示す。F の細胞活性を 1、DS の細胞活性を 0 としたとき、

C, SCの細胞活性比はそれぞれ $1.12 \pm 0.20$ ,  $1.04 \pm 0.05$ となり, F, C, SC間に有意な差は見られなかった。

TTC還元法では, TTCが細胞内ミトコンドリアの呼吸により生じた電子によって還元される過程で生成されるフォルマザン(赤色色素)を測定している。もし, 凍結傷害により細胞内膜系が損なわれると, ミトコンドリアへの基質供給の低下が起こり, その結果, TTC還元量の低下がもたらされると考えられている<sup>18)~20)</sup>。本研究において, SCはFと同様の高い細胞活性を示したことから,  $-5^{\circ}\text{C}$ で3日間保存した後も細胞内膜系の機能低下を引き起こすことなく, ミトコンドリアの呼吸活性が生鮮試料と同等のレベルで維持されたと考えられる。

つぎにSC-Nの細胞活性比をみると, Fと比較して僅かに低下したが有意な差は見られなかった。このことはSC-Nが過冷却解消後も部分的な凍結状態でありFig. 4dに示すように構造の破壊の程度がDSと比較して小さかったこと, すなわち凍結の影響が細胞内膜系やミトコンドリアまで及ばなかった可能性が推察される。よって今回のTTC

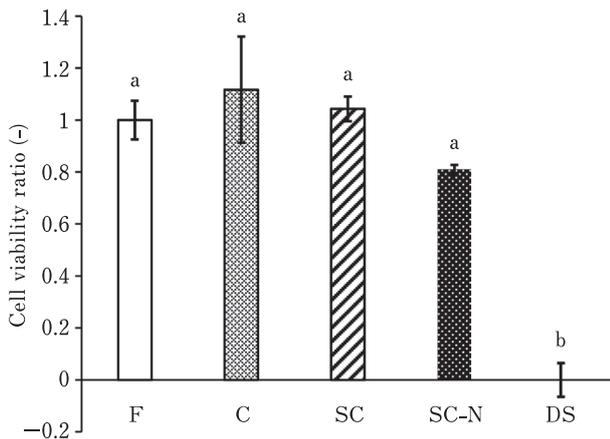


Fig. 5 Cell viability ratio of the fresh-cut pear samples

F (fresh sample), DS (dead sample), SC (supercooled sample), C (sample stored at  $1^{\circ}\text{C}$ ), SC-N (supercooled sample which was ice-seeded at 24 h of storage).

Each value represents the mean  $\pm$  SE. Different letters show significant difference ( $p < 0.05$ ). Measurements were performed in triplicate.

還元法の方法では,  $-5^{\circ}\text{C}$ におけるカット西洋ナシの過冷却解消の有無を判断する指標にはならず, 今後の検討課題である。

以上, 本研究では過冷却保存したカット西洋ナシの試料組織の特性について電気インピーダンス, 光学顕微鏡観察, TTC還元法の観点から検討した結果, SCは過冷却保存後もFと同様の細胞膜閉鎖性, 細胞構造および細胞活性が維持されたことが明らかとなった。

## 2. カット西洋ナシの理化学的特性

### (1) 目減り

過冷却保存および氷温保存後のカット西洋ナシの理化学的特性の変化をTable 1に示す。青果物において, 目減りが全水分の5%を越えると外観的な劣化が現れ, 商品価値を失う<sup>25)</sup>。Table 1より, 目減り(%)はSC, Cともに低い値を維持し, 特にSCではCに比べて有意に目減りが抑制された。一般的に, 貯蔵中のカット青果物の質量損失の主要因は蒸散作用によるものとされており, 収穫後青果物の水分蒸散は貯蔵温度が低いほど抑制されることが知られている<sup>25)</sup>。本研究の結果から,  $-5^{\circ}\text{C}$ における過冷却保存では氷温保存( $1^{\circ}\text{C}$ )と比べてより効果的に水分蒸散が抑制されたと考えられる。

### (2) 色彩変化

Table 1より, 保存後の色彩色差( $\Delta E$ )はSCがCと比較して有意に低い値を示した。また,  $L^*$ 値,  $a^*$ 値および $b^*$ 値の各値を見ると, 明度を示す $L^*$ 値はCでは有意に減少したが, SCでは減少が抑制された。赤みの度合いを示す $a^*$ 値は, C, SCともに増加傾向となったが, SCにおいて有意差はないものの増加が抑制された。黄みの度合いを示す $b^*$ 値はSCにおいてCよりも有意に低い値が示された。

一般的に, カット西洋ナシ果実の酵素的褐変では,  $L^*$ 値の減少,  $a^*$ 値および $b^*$ 値の増加が色彩変化の傾向として現れる<sup>26)27)</sup>。酵素的褐変とは, 青果物中のポリフェノール類が酸素の存在下でポリフェノールオキシダーゼ(PPO)により酸化することで起きる褐変現象であり, 西洋ナシ果実にはクロロゲン酸やエピカテキンを主としたポリフェノール類が豊富に含まれていること, またPPOが十分に存在

Table 1 Changes in weight loss, color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $\Delta E$ ), firmness, soluble solids content (SSC), and L-ascorbic acid (AsA) of fresh-cut pears under different storage temperature at  $-5^{\circ}\text{C}$  and  $1^{\circ}\text{C}$  for 3 days

	Weight loss [%]	$L^*$ [-]	$a^*$ [-]	$b^*$ [-]	$\Delta E$ [-]	Firmness [N]	SSC [Brix]	AsA [mg/100gFW]
F	—	$76.16 \pm 0.25^a$	$0.22 \pm 0.08^a$	$18.40 \pm 0.24^{ab}$	—	$3.96 \pm 0.22^a$	$13.03 \pm 0.24^a$	$45.83 \pm 1.26^a$
C	$0.33 \pm 0.03$	$74.00 \pm 0.38^b$	$0.87 \pm 0.11^a$	$18.78 \pm 0.34^a$	$2.75 \pm 0.24$	$3.25 \pm 0.26^a$	$12.98 \pm 0.17^a$	$49.17 \pm 1.11^a$
SC	$0.24 \pm 0.02^*$	$76.00 \pm 0.38^a$	$0.67 \pm 0.11^a$	$17.39 \pm 0.34^b$	$1.68 \pm 0.20^{**}$	$3.47 \pm 0.27^a$	$12.96 \pm 0.12^a$	$48.00 \pm 0.68^a$

F (fresh sample), C (sample stored at  $1^{\circ}\text{C}$ ), SC (supercooled sample).

Each value represents the mean  $\pm$  SE. Different letters within a column show significant difference ( $p < 0.05$ ) in the same measurement. Significant differences from the control \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

することから、カット処理により細胞が損傷すると酵素的褐変が促進される<sup>28)</sup>。一方、酵素反応は温度に依存し、特に7℃以下の低温貯蔵は酵素的褐変の抑制に効果的であるとされている<sup>29)</sup>。著者ら<sup>9)</sup>は、カットリングを-5℃で10日間過冷却保存を行った結果、5℃で冷蔵保存した試料よりも酵素的褐変が抑制されたことを報告した。これに加えて今回、カット西洋ナシを-5℃で過冷却保存することで1℃における氷温保存よりも酵素的褐変に伴う $a^*$ 値および $b^*$ 値の増加が有意または有意傾向で抑制されたことが示された。本結果から、過冷却保存では更なる低温によりカット果実における酵素的褐変を最小限に抑えることが出来る可能性が示された。

### (3) 硬度変化

F, C, SCの最大荷重はそれぞれ $3.96 \pm 0.22$  N,  $3.25 \pm 0.26$  N,  $3.47 \pm 0.27$  Nとなり、有意な差はみられないもののSCではCと比べて軟化が抑制された (Table 1)。貯蔵中のカット西洋ナシ果実における軟化は、多糖類の加水分解反応により組織の細胞構造が変化する追熟プロセスが主要因である<sup>30)31)</sup>。また西洋ナシの追熟は、貯蔵温度および貯蔵中のエチレン生成量が低いほど抑制されることが報告されている<sup>32)</sup>。今回、過冷却保存を行ったSCではより低温によりエチレン生成や種々の生化学反応速度が低下し追熟プロセスの進行が抑制されたことにより、Cと比較して軟化が抑制されたと推察されるが、過冷却温度帯における軟化抑制効果の詳細に関して更なる検討が必要であると考えられる。

### (4) 糖度およびL-アスコルビン酸含有量

糖度およびL-アスコルビン酸含有量 (AsA) について、F, C, SCの間に有意な差はみられなかった (Table 1)。Siddiqらは、カット西洋ナシを4℃で21日間保存しても、Brix糖度が0日目と比較して有意な変化を示さなかったことを報告している<sup>27)</sup>。一方、アスコルビン酸含有量に関して、Zhengらはカット西洋ナシを4℃で保存した結果、6日間で僅かに減少したことを示し、これはAsAの酸化が要因であると考察している<sup>33)</sup>。本研究は、保存温度が1℃および-5℃の低温であったこと、保存期間が3日間という短期間であったことから、過冷却保存がカット西洋ナシのアスコルビン酸含有量の変化に与える影響を評価するためには更に長期の保存試験が必要であると考えられる。

### (5) エチレン濃度

エチレンは、カット処理による切断擦傷ストレスや果実の成熟に伴い生成される植物ホルモンである。エチレンの生成は果実の成熟や劣化を促進することから、品質保持のためには果実のエチレン生成を抑制することが重要とされる。Fig. 6に過冷却保存後の包材内エチレン濃度を示す。CおよびSCの包装フィルム内のエチレン濃度は、それぞれ $155.37 \pm 20.43$   $\mu$ L/L および  $28.60 \pm 4.75$   $\mu$ L/L となりSCがCと比較して著しく低い値を示した。

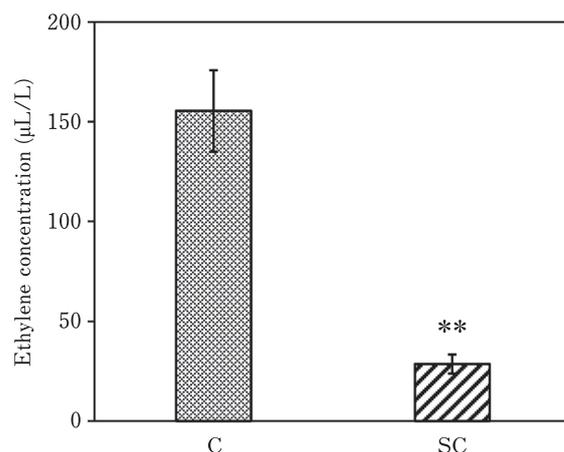


Fig. 6 Ethylene concentration in the sample packages stored at -5℃ and 1℃

Each value represents the mean  $\pm$  SE. Significant differences from the control \*\* $p < 0.01$ . Measurements were performed for five replicates.

エチレンは、L-メチオニン $\rightarrow$ S-アデノシルメチオニン (AdoMet) $\rightarrow$ 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) $\rightarrow$ エチレンの経路で生成される。特に、ACCの細胞内濃度がエチレン生成速度を規定するとされており、その触媒であるACC合成酵素の活性はエチレン生成における重要要素である<sup>34)</sup>。Agarらの報告によると、西洋ナシにおけるACC合成酵素の活性は温度に大きく依存し、低温ほど抑制される<sup>35)</sup>。また、王らは貯蔵中の果実のACC生成量について、-1℃で貯蔵した果実では7℃で貯蔵した試料に比べてACC生成量が著しく低くなったことを報告している<sup>36)</sup>。したがって本研究において、-5℃で過冷却保存を行ったカット西洋ナシ試料では、低温によりACC合成酵素活性が抑制されてACCの生成量が減少し、その結果、エチレン生成が抑制されたと思われる。西洋ナシの品質保持のための最適保存温度は0~1℃であるとされており<sup>11)13)</sup>、氷点下温度帯に言及した研究例はほとんど見当たらない。しかし本研究の結果から、カット西洋ナシに過冷却保存を適用することで、エチレン生成が著しく抑制できる可能性が示された。

以上、-5℃で3日間過冷却保存したカット西洋ナシの理化学的特性を1℃で氷温保存した試料と比較し評価した結果、過冷却保存を適用することでより低温によりカット西洋ナシの更なる品質保持および日持ち向上が期待できる可能性が示された。今後、過冷却保存を実現してカット果実の品質保持・日持ち向上に寄与するためには、過冷却状態の安定化に向けた技術の開発や更なる品質調査を行う必要があると考える。

## 要 約

本研究では、カット西洋ナシを供試材料として-5℃で

3日間の過冷却保存を適用し、保存後の試料組織の特性および理化学的特性について1℃で氷温保存した試料と比較した。はじめに試料組織の特性について、電気インピーダンス測定による細胞膜閉鎖性、光学顕微鏡観察による細胞構造、およびTTC還元法による細胞活性の観点から評価した。その結果、カット西洋ナシ試料は過冷却保存後も明確なCole-Coleプロットの円弧を描いたことから細胞膜閉鎖性が維持されたことが示された。また、生鮮試料と同等の細胞構造および細胞活性を有していたことが示された。理化学的特性について、過冷却保存した試料では目減り、色彩変化および軟化が氷温保存した試料よりも有意または有意傾向で抑制されたことが示された。さらに、エチレン生成が氷温保存した試料と比較して著しく抑制されたことが示された。以上の結果から、過冷却保存では氷温保存よりも更なる低温度帯の利用により、カット西洋ナシの品質保持および日持ち向上を期待できる可能性が示された。

本研究にご協力いただいた岩手大学技術部の佐々木邦明様ならびに小室岬様に謝意を表します。

## 文 献

- 1) Yousuf, B., Deshi, V., Ozturk, B., and Siddiqui, M.W. (2020). Fresh-cut fruits and vegetables: Quality issues and safety concerns. In "Fresh-Cut Fruits and Vegetables - Technologies and Mechanisms for Safety Control", ed. by M.W. Siddiqui, Academic Press, London, pp. 1-15.
- 2) 日本冷凍空調学会編 (2013). 冷凍空調便覧IV巻食品・生物編, 日本冷凍空調学会, pp. 13-43.
- 3) Stonehouse, G. G. and Evans, J. A. (2015). The use of supercooling for fresh foods: A review. *Journal of Food Engineering*, **148**, 74-79.
- 4) James, C., Seignemartin, V., and James, S.J. (2009). The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Refrigeration*, **32**, 253-260.
- 5) James, C., Hanser, P., and James, S.J. (2011). Super-cooling phenomena in fruits, vegetables and seafoods. *11th International Congress on Food Engineering, Athens, Greece*, 22-26 May 2011. Paper AFT658.
- 6) Koide, S., Kumada, R., Hayakawa, K., Kawakami, I., Orikasa, T., Katahira, M., and Uemura, M. (2019a). Survival of cut cabbage subjected to subzero temperatures. *Acta Horticulturae*, **1256**, 329-334.
- 7) Koide, S., Ohsuga, R., Orikasa, T., and Uemura, M. (2019b). Evaluation of electrical and physiological properties of supercooled fresh cut spinach. *Journal of the Japanese Society for Food Science Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **66** (9), 335-340 (小出章二, 大須賀玲, 折笠貴寛, 上村松生. 過冷却保存されたカットほうれんそうの電気的, 生理学的評価, 日本食品科学工学会誌).
- 8) Koide, S., Yoneyama, A., Orikasa, T., and Uemura, M. (2020). Assessing the supercooling of fresh-cut onions at -5℃ using electrical impedance analysis. *Food Quality and Safety*, **4** (2), 55-58.
- 9) Osuga, R., Koide, S., Sakurai, M., Orikasa, T., and Uemura, M. (2021). Quality and microbial evaluation of fresh-cut apples during 10 days of supercooled storage. *Food Control*, **126**, 108014.
- 10) Yi, S., Ragab, K., Delilah, W., Tara, H.M., and Zhongli, P. (2020). Pear peeling using infrared radiation heating technology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **65**, 102474.
- 11) Fujiwara, T., Inui, Y., Ikenaga, M., Komiyama, S., and Yanagihara, T. (2020). Suitability of 'Bartlett' Pear and 'Senryo' Chinese Pear for semi-dried fruit processing. *Journal of the Japanese Society for Food Science Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **67** (10), 384-392 (藤原孝之, 乾 良充, 池永充伸, 小宮山誠一, 柳原哲司. セイヨウナシ 'バートレット' およびチュウゴクナシ '千両' のセミドライフルーツ加工適正, 日本食品科学工学会誌).
- 12) Chino, S., Tokuda, M., Ohishi, T., Koshikizawa, K., Ohta, Y., Matsumoto, T., and Kojima, K. (2010). Effect of low-temperature periods on fruit characteristics of 'Le Lectier' Pears during ripening. *Horticultural Research (Japan)*, **9** (2), 235-241 (知野秀次, 徳田美佳子, 大石智美, 小式澤一博, 太田祐樹, 松本辰也, 児島清秀. 低温処理期間の違いが追熟中のセイヨウナシ 'ル・レクチュエ' の果実特性に及ぼす影響, 園芸学研究).
- 13) Furuta, M., Asano, S., and Imai, S. (1994). Packaging-storage of pears by using free carbon dioxide absorbents. *Journal of Packaging Science & Technology, Japan*, **3** (2), 102-111 (古田道夫, 浅野 聡, 今井誠一. 二酸化炭素吸収材利用による西洋ナシのフィルム包装貯蔵, 日本包装学会誌).
- 14) Ando, Y., Hagiwara, S., Nabetani, H., Sotome, I., Okunishi, T., Okadome, H., Orikasa, T., and Tagawa, A. (2019). Effects of prefreezing on the drying characteristics, structural formation and mechanical properties of microwave-vacuum dried apple. *Journal of Food Engineering*, **244**, 170-177.
- 15) Miyawaki, O. and Shimiya, Y. (2002). Impedance analysis for freezing injury of cells and food. *Cryobiology and Cryotechnology (Teion Seibustu Kogaku Kaishi)*, **48**, 125-127 (宮脇長人, 四宮陽子. 細胞および食品の凍結傷害に対するインピーダンス解析, 低温生物工学会誌).
- 16) Shizuka, J. and Tagawa, A. (2009). Evaluation by measurements of physical and electrical properties on fresh-cut vegetables stored for a long term using partial-freezing method. *Journal of the Japanese Society for Food Science Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **56**, 453-462 (志塚 淳, 田川彰男. Partial-freezingした長期貯蔵カット野菜の物理的, 電気的評価, 日本食品科学工学会誌).
- 17) Wu, L., Ogawa, Y., and Tagawa, A. (2008). Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing-thawing treatments on its impedance characteristics. *Journal of Food Engineering*, **87**, 274-280.
- 18) Zhu, X.B., Cox, R.M., and Arp, P.A. (2000). Effects of xylem cavitation and freezing injury on dieback of yellow birch (*Betula alleghaniensis*) in relation to a simulated winter thaw. *Tree Physiology*, **20**, 541-547.
- 19) Steponkus, P.L. and Lanphear, F.O. (1967). Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiology*, **42**, 1427-1426.
- 20) Saito, T. and Sugawara, Y. (1995). Some characteristics of freezing injury in wheat cells cultured on medium with abscisic acid. *J. Jpn. Soc. Cryobiology and Cryotechnology*, **41** (2), 133-138 (斎藤孝之, 菅原康剛. アブシジン酸培地で培養したコムギ培養細胞の凍結傷害の特徴, 低温生物工学会誌).

- 21) Nagao, M., Arakawa, K., Takezawa, D., and Fujikawa, S. (2008). Long- and short-term freezing induce different types of injury in *Arabidopsis thaliana* leaf cells. *Planta*, **227**, 477–489.
- 22) Heiss, R. and Schachinger. (1951). Fundamentals of Freeze-Concentration of Liquids. *Food Technology*, **5** (6), 211–218.
- 23) Chassagne-Berces, S., Poirier, C., Devaux, M.F., Fonseca, F., Lahaye, M., Pigorini, G., Girault, C., Marin, M., and Guillon, F. (2009). Changes in texture, cellular structure and cell wall composition in apple tissue as a result of freezing. *Food Research International*, **42**, 788–797.
- 24) Kobayashi, R. and Suzuki, T. (2019). Effect of supercooling accompanying the freezing process on ice crystals and the quality of frozen strawberry tissue. *International Journal of Refrigeration*, **99**, 94–100.
- 25) 太田英明, 椎名武夫, 佐々木敬卓 (2002). 「食品鮮度・食べ頃事典」, サイエンスフォーラム, 東京.
- 26) Gomes, M.H., Vieira, T., Fundo, J.F., and Almeida, D.P. F. (2014). Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biology and Technology*, **91**, 32–38.
- 27) Siddiq, R., Auras, R., Siddiq, M., Dolan, K.D., and Harte, B. (2020). Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and NatureSeal<sup>®</sup> treatment on the physico-chemical, microbiological, and sensory quality of fresh-cut d'Anjou pears. *Food Packaging and Shelf Life*, **23**, 110454.
- 28) Adams, A.B. (2010). Effect of enzymatic reactions on color of fruits and vegetables, In "Enzymes in Fruit and Vegetable Processing - Chemistry and Engineering Applications", ed. by Bayindirli, A., CRC press, Boca Raton, pp. 19–43.
- 29) García, E.M. and Ivars, J.B. (2012). Sizing, peeling, cutting, and sorting of fruits and vegetables, In "Operations in Food Refrigeration", ed. by Mascheroni, R.H., CRC press., Boca Raton, pp. 73–92.
- 30) Krasnova, I., Dukaška, L., Segliņa, D., Miðina, I., and Kārkliņa, D. (2013). Influence of anti-browning inhibitors and biodegradable packaging on the quality of fresh-cut pears. *Proceedings of The Latvian Academy of Sciences, Section B*, **67** (2), 167–173.
- 31) Ferreira, D., Lopes da Silva, J.A., Conceicao Santos, G.P., Delgadillo, I., and Coimbra, M.A. (2008). Effect of sun-drying on microstructure and texture of S. Bartolomeu pears (*Pyrus communis* L.). *European Food Research and Technology*, **226** (2), 1545–1552.
- 32) Rizzolo, A., Grassi, M., and Vanoli, M. (2015). Influence of storage (time, temperature, atmosphere) on ripening, ethylene production and texture of 1-MCP treated 'Abbé Fétel' pears. *Postharvest Biology and Technology*, **109**, 20–29.
- 33) Zheng, H., Liu, W., Liu, S., Liu, C., and Zheng, L. (2019). Effects of melatonin treatment on the enzymatic browning and nutritional quality of fresh-cut pear fruit. *Food Chemistry*, **299**, 125116.
- 34) Yang, S.F. and Hoffman, N.E. (1894). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, **35**, 155–189.
- 35) Agar, I. T., Biasi, W. V., and Mitcham, E. J. (2000). Temperature and exposure time during ethylene conditioning affect ripening of Bartlett Pears. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 165–170.
- 36) Wang, H.G., Gemma, H., and Oogaki, C. (1998). Studies on Keeping Qualities, Ethylene Formation and Chilling Injury of Plum Fruit during Chilled Storage. *Food Preservation Science*, **14** (3), 89–94 (王 洪剛, 弦間 洋, 大垣智昭. チルド貯蔵温度域におけるスモモ果実の品質保持, エチレン生成及び低温障害について, 日本食品保蔵学会誌).
- (令和3年4月12日受付, 令和3年8月16日受理)