

## リンゴの受傷部における<sup>14</sup>C—リンゴ酸代謝

塚 本 正 秋\*

Masaaki TSUKAMOTO

Metabolism of <sup>14</sup>C-Malic Acid Injected into the Bruised Flesh of Apple Fruit.

### 緒 言

なまの果実が受傷した時に認められるCO<sub>2</sub>排出量の増加（いわゆる傷害呼吸）についてMARKSら(2)は、「リンゴ酸の脱炭酸に由来するものであろう」と推論した。また筆者も既報(1)において、「受傷部では有機酸の酸化分解とエタノール発酵が進み、CO<sub>2</sub>排出量の増大をもたらすと仮定すれば実測値と計算値は比較的よく一致する」ことを報告した。

今回の報告は、国光リンゴの受傷部に<sup>14</sup>C—リンゴ酸を注入してその代謝を調査したものである。

### 材料及び方法

#### ①注入した<sup>14</sup>C—リンゴ酸の果実内移動とCO<sub>2</sub>への分解

リンゴ酸0.05mol (6.7g/1) 溶液50mlを作成し、果汁とpHを一致させるためKOH溶液を加えpHを4.1にした。その液に50 $\mu$ Ciの<sup>14</sup>C—リンゴ酸（specific activity 1.85 M Bq/ $\mu$ mol）を溶解し実験に供試した。

国光リンゴ10個を50cmの高さから落下させることで受傷させ、1果につき上記の溶液0.1mlをディスポーザブル注射器で受傷部に注入した。注入後、逆流防止のため注射器の穴を粘着テープでふさいだ。CO<sub>2</sub>吸収剤（monoethanolamin : ethylcellosolve 3 : 1 溶液）を底に入れた2個のデシケータ内に処理果実を5個体づつ入れて密封し、一方は処理翌日に、他方は処理10日後に開封し、

- 1) 受傷果皮部
- 2) 受傷果肉部
- 3) 健全果肉部
- 4) 健全果皮部
- 5) 芯 部

に分け、80%エタノールで磨砕、吸引濾過した後、各部位およびCO<sub>2</sub>吸収剤中の放射能を液体シンチレーションカウンター（アロカLSC-602）で測定した。シンチレータにはDOTITE Scintisol 500を使用した。測定したcpmは測定効率によりdpmに換算した。なお、無傷の果実にも同様の処理をして比較すべきのだが、無傷のリンゴ果実には<sup>14</sup>C—リンゴ酸を注入できなかったため、やむをえず断念した。

#### ②受傷部における受傷直後の<sup>14</sup>C—リンゴ酸代謝

実験①により、処理翌日には注入した<sup>14</sup>Cの大半が受傷部に留まっていることが判明したので、受傷部だけについて<sup>14</sup>C—リンゴ酸の受傷直後の変化を調査した。

まず、国光リンゴ5個を50cmの高さから厚さ25mmの板の上に落下させ受傷させた。1果につき①で述べた<sup>14</sup>C—リンゴ酸溶液0.1mlをディスポーザブル注射器で受傷部に注入し、粘着テープで逆流を防止した。CO<sub>2</sub>吸収剤を底に入れたデシケータ内に密封し、処理翌日に開封して受傷果肉部を切り取り、80%エタノールで磨砕後10日間5℃下に放置して抽出した。抽出液を吸引濾過した後、汚液を陽イオン交換樹脂Amberlite IR-120 (pH2.0) カラムに通し、通過液（糖と有機酸の混液）をNH<sub>4</sub>OHでpH7.0まで持っていき、Amberlite IR-45 (pH7.0) 陰イオン交換樹脂に通した。IR-120に吸着されたアミノ酸は蒸留水50mlで洗った後5%NH<sub>4</sub>OH溶液300mlで溶出させた。また、遊離型にされた後IR-45に吸着された有機酸は、2molの炭酸アンモニウム液300mlで溶出させた。そしてアミノ酸分画、有機酸分画、糖分画それぞれのFractionに含まれる放射能量を測定した。測定方法は①と同じである。また①と同様CO<sub>2</sub>吸収剤中の放射能も測定した。なお、1)IR-120をpH2.0に、2)IR-45をpH7.0に調節する方法は次の方法によった。

\* 島根大学教育学部技術研究室

Table 1. Radioactivity of fractions isolated from "KOKKO" apple fruit following injection with <sup>14</sup>C-malic acid (657, 930dpm).

Days after injection	1		10		[B]/[A]
	dpm	% [A]	dpm	% [B]	
CO <sub>2</sub>	28,881	5.5	30,610	7.6	1.4
Undrused flesh	40,654	7.7	69,904	17.4	2.3
Unbruised peel	2,632	0.5	21,848	5.4	10.8
Core	16,487	3.1	65,772	16.3	5.3
Bruised flesh	385,903	72.8	88,344	22.0	0.3
Bruised peel	54,956	10.4	125,926	31.3	3.0
Total	529,513	100	402,404	100	—
Recovery (%)	80.5		61.2		

- 1) 5%のHCl200mlで洗いpHを十分下げた後0.01NHClを流してpHを徐々に上げていき2.0を終点とした。pHを2.0にするのは樹脂をH<sup>+</sup>で飲和させ、Na<sup>+</sup>型をH<sup>+</sup>型にするための処置である。
- 2) 7~10倍の2Nアンモニア水で洗い、続いて多量の脱イオン蒸留水を流してpHを7.0にする。

### 結果及び考察

第1表は、受傷部に注入された<sup>14</sup>C-リンゴ酸の果実内での移動情況とCO<sub>2</sub>への代謝を示したものである。処理翌日では全放射能量の約 $\frac{3}{4}$ が受傷果肉部で測定され、ほとんど転流されていないことがわかる。しかし10日後になると受傷果肉部に残存している<sup>14</sup>Cはわずか21.6%であり、その分他の部位で放射能の増加が見られた。増加率でみれば健全果皮部が最大であり、絶対量で見れば受傷果皮部が最大である。この理由としては注射針の穴を通して果皮部に移行したものが少なからずあったであろうこと、<sup>14</sup>C-リンゴ酸由来のCO<sub>2</sub>が果皮、特に受傷部の果皮を通して外部へ放出されている可能性、リンゴの場合はモモやカキと異なり果皮直下まで受傷してしまうことの影響などが考えられる。

受傷後10日間に排出された、<sup>14</sup>C-リンゴ酸由来のCO<sub>2</sub>量は処理翌日と比較して大差が認められない。傷害呼吸の特徴は、受傷後24時以内にCO<sub>2</sub>排出量が急上昇し、2日目以降は微増にとどまることであるが、この実験結果は、「チェリーにおける傷害呼吸はリンゴ酸の脱炭酸に由来するものである。」というMARKSらの説をリンゴにおいても適用させるものであろう。

Table 2. Radioactivity of fractions isolated from bruised flesh of "KOKKO" apple fruit 1 day after injection with <sup>14</sup>C-malic acid (657, 930 dpm).

	dpm	%
CO <sub>2</sub>	27,258	5.0
Cationic fraction	44,910	8.2
Neutral fraction	184,167	33.8
Anionic fraction	288,062	52.9
Total	544,397	100
Recovery (%)	83	

第2表は処理翌日の受傷果肉部における放射活性をアミノ酸分画、糖分分画、有機酸分画、CO<sub>2</sub>分画に分けて測定した結果である。受傷部では約 $\frac{1}{3}$ が糖などの中性分画に代謝されており、またわずかではあるがアミノ酸へも変化していることがわかる。半分以上は有機酸分画に残されているが、リンゴ酸のまま残存しているのかどうかは今回の実験だけでは不明である。

なお、本実験では<sup>14</sup>C-リンゴ酸のpHをリンゴ果汁のpHと一致させて注入したが、<sup>14</sup>C-リンゴ酸の代謝を論じる場合、MURATA(3)も述べているようにこのpHが適当であるのか、あるいは中性にすべきなのか実験技術の問題として残される。

### 摘 要

<sup>14</sup>C-リンゴ酸 (pH4.1) を国光リンゴの受傷部に注入し、その移動、代謝をトレーサー法で調べた。

1. 受傷部に注入された<sup>14</sup>C-リンゴ酸は、処理翌日では大半が受傷部に残存していたが、10日後になると約 $\frac{4}{5}$ が他の部位に転流していた。

2. <sup>14</sup>C-リンゴ酸を基質として代謝されたCO<sub>2</sub>の量は処理翌日と10日後とで大差が認められなかった。リンゴにおける傷害呼吸もリンゴ酸の脱炭酸に由来する可能性が大きいと推察される。

3. 処理翌日における受傷部での<sup>14</sup>C-リンゴ酸は、半分以上が有機酸分画に残っており、約 $\frac{1}{3}$ が中性分画に代謝されていた。また、わずかではあるがアミノ酸へも変化していた。

## 謝 辞

本実験を行なうにあたり、トレーサー法について御指導いただいた島根大学農学部落合英夫教授に深甚なる謝意を表します。

## 引用文献

1. 塚本正秋, (1989), リンゴ, ナシ, モモ果実のCO<sub>2</sub>排出量, 酸含量, エタノール含量に及ぼす傷の影響について, 島根大学教育学部紀要, 23(1): 69-79.
2. MARKS, J. D. and VARNER, J. E. (1957). The effect of bruising injury on the metabolism of fruit. *Plant physiology*. 32: suppl xiv.
3. MURATA, T. (1977). Studies on the postharvest physiology and storage of citrus fruit. VI. Acid metabolism in satsuma mandarin fruit during storage. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 46(2): 283-287
4. 八巻良和, (1989), カンキツ類果汁中の有機酸組成, 園学雑, 58(3): 587-594.