収穫後の青果物におけるプロビタミンAの生合成およびその制御

——トマト果実追熟中のカロチノイド生合成を中心として——

茶　珍　和　雄（大阪府立大学農学部教授）

1. 緒　言

トマト果実は成熟に伴い大量のカロチノイド色素を合成するが，着色期に夏季の高温にさらされると色素の合成が阻害され着色不良となる。このことは早取りした果実を追熟させる場合にも同様に問題とされ，広く熱帯・亜熱帯地域で流通販売されるトマト果実の着色においても問題となる。トマト果実の着色度合は主要色素であるリコピンの蓄積程度に深く関わり，トマト果実におけるリコピンの生成適温は20～24℃で，30℃以上では著しく阻害されることが古くから報告されている[1~4]。トマト果実にはリコピン以外に，プロビタミンAとしての栄養価をもつβ-カロチン，代謝系における初期の無色カロチノイドであるフィトエンやフィトフルエン，さらにフィトフルエンからβ-カロチンおよびリコピンまでの代謝経路上に位置する数種のカロチン類，また若干のキサントフィル類などが含まれる。収穫後のトマト果実におけるプロビタミンAの生合成に及ぼす貯蔵温度の影響について，前駆体となるカロチノイドの動向まで含めて調査した報告は少ない。

本研究では収穫後の青果物におけるプロビタミンAの生合成の調節機構を調べるために，トマトを用い，トマト果実において外観および栄養面ともに重要なカロチノイド色素の収穫後の生合成の調節における追熟温度の影響を，リコピン，β-カロチン（プロビタミンA）の前駆体とされるフィトエン，フィトフルエンなどの無色カロチン類の動向から調査した。また，トマト果実のカロチン類生合成系の温度に対する性質をさらに深く知るために，^{14}C-Mevalonic acid のカロチノイドへの取り込み実験ならびに変温処理の操作を加えてカロチン類の含量ならびに組成変化に及ぼす影響を調べた。

材料および方法

1. 実験材料と貯蔵方法

大阪府立大学農学部附属農場で栽培された‘雷光’トマトの緑熟果を開孔率0.1%の有孔ポリエチレン袋（300×255mm，直径5mmのパンチ穴を両面で10カ所開けたもの）で包装し，20，30および35℃の各温度で貯蔵し，適宜実験に供した。

2. 変温処理

20，30および35℃の各区の一部に次の変温処理区を設けた。

20→30℃区：20℃で15日貯蔵後30℃で10日貯蔵
20→35℃区：20℃で15日貯蔵後35℃で5日貯蔵
30→20℃区：30℃で8日貯蔵後20℃で17日貯蔵
35→20℃区：35℃で8日貯蔵後20℃で17日貯蔵

3. 表面色の測定

果実表面色は果実の赤道部について測色色差計（日本電色工業製，ND-1001 DP型）によりL，a，b値を測定した。

4. カロチノイドの分析

1) 抽出方法

カロチノイドの抽出は梅田ら[5]ならびに近ら[6]の方法に準じ，次のように行った。トマト果実5個体より組織を放射状に切り出し，胎座，種子，房室組織を除き，剃刀で表層部（外果皮および若干の果肉を含む）と果肉部に分けた。組織5 gに対しブチルヒドロキシトルエン(BHT) 0.1 g，炭酸マグネシウム0.2 g，40%メタノール5 mlの割合で混合，一定量の石英砂とともに乳鉢と乳棒を用いて磨砕し，セライト545を高さ約1 cmに敷いたグラスフィルター（11G-3）を通して吸引濾過しつつ40%メタノールで洗浄した。次いで残渣に着色がなくなるまでアセトンで抽出し，分液ロート内でジエチルエーテルに転溶した。エーテル溶液は飽和食塩水でエマルジョン化を防ぎつつ水で洗浄し，無水硫酸ナトリウムで1時間以上脱水した後，エーテルで一定容とした。

2）　総有色カロチノイドの定量

エーテルで一定容とした試料溶液を適当な濃度に希釈し，451nmでの吸光度を測定した。総有色カロチノイド含量の算出は梅田ら[5]に従い，エーテル内でのβ-カロチンの比吸光係数を2500とした場合の下記の式により，最終希釈エーテル溶液中の総有色カロチノイド含量をβ-カロチン換算で算出した。

$y = 0.4x$　　y：β-カロチン mg%

x：OD (451nm)

3）　HPLCによる分離

カロチノイドのエーテル溶液を濃縮後，アセトンに転溶し，孔径0.45 μmのメンブランフィルターで濾過した。この溶液の20～40 μlをHPLCで分離した。

HPLC条件は数種検討の結果，次の2つを実験に使用した。

（1）　分析条件1

分析用カラムは日立#3056（逆相）カラム（4×150mm）を使用し，溶離液として（A）アセトニトリル，（B）2-プロパノール，（C）メタノールの混合液を，混合比を段階的に変化させて使用した。流速は0.5ml/分，検出波長は451nm（有色カロチノイド），350nm（フィトフルエン），290nm（フィトエン），温度は21～23℃で実施した。

（2）　分析条件2

溶離液はA液（アセトニトリル：ジクロロメタン：メタノール＝65：25：10）とB液（90%アセトニトリル）を準備し，始めの2分間をA，Bの1：1混合とし，その後はA液100%で，流速0.7 ml/分とした。分析用カラムはInertsil ODS-2逆相カラム（4×250mm）にプレカラム（4×50 mm）を取り付けて使用した。検出波長は（1）の検出波長に加え，400nmでζ-カロチンを検出した。

4）　分離されたカロチノイドの同定および定量

HPLCで分離した各カロチノイドの同定は，カラムでの保持時間，フォトダイオードアレイ（島津製，SPD－M6A）による吸収スペクトルならびに特定の溶媒中での吸光特性などから行った。

各カロチノイドの定量は有色カロチノイドについては総有色カロチノイドの測定値にピーク面積の百分率を乗じて算出した。無色カロチノイドのフィトエン，フィトフルエンならびにわずかに色の認められるζ-カロチンについては，濃縮した試料溶液より該当するHPLC画分を取り出して一定量のヘキサンに転溶し，それぞれの比吸光係数より絶対量を求めてピーク面積との関係式を作り，含量を計算した。用いた比吸光係数は757（フィトエン，λ＝286），1577（フィトフルエン，λ＝347）および2555ζ-カロチン，λ＝400）である[7]。

5．　標識化合物の取り込み実験

20℃，30℃および35℃下で貯蔵した果実から果実切片（2×2 cm）を作成し，表層下部と柔組織との間を切り離し，その隙間に20 μl（4.44×10^5 dpm）の^{14}C-Mevalonic acid（^{14}C-MVA）溶

液を注入処理した。処理後は上記の方法でカロチノイドを抽出し，その抽出液の一部をフラクションコレクター付設の HPLC で分離し，各画分の放射活性はシンチレーションカウンターで測定した。

結　果

1．外観およびa値の変化に及ぼす高温の影響

緑熟トマトは20℃で貯蔵した場合8～12日にはほぼ完全に赤く着色したが，30℃では着色が不十分で，赤，黄，オレンジ色の不均一な着色となり，35℃では黄色となった。ハンターa値でみると，その値は20℃では貯蔵12日まで急増し，それ以降はほとんど増加しなかった。30℃ではa値の増加はかなり抑制され，35℃においては緑色の退色に伴う増加がみられた後は0より少し上回る値を示しほとんど増加しなかった（**Fig. 1**）。

2．トマト果実のカロチノイド色素の HPLC 分析

HPLC によるカロチノイドの分析における一連の実験データは(1)の分析条件によったが，この条件では溶離液の比率およびその変化パターンが一定でなく，分析中の溶離液組成の変化が複雑であった。そこで，これらの条件を簡略化するため，また，フォトダイオードアレイによる各カロチンの吸収スペクトルを比較する際に溶媒条件を一定とするため，Rouseff ら[8]の等濃度条件（アセトニトリル：ジクロロメタン：メタノール＝65：25：10）を参考にした。しかし，この条件のままではα-トコフェロール，クロロフィルおよび極性の高いカロチノイドグループの分離状態が良好でなかったため，これらの分離を図るために初めの2分間についてのみ90%アセトニトリルを等量混合して流した。また，カラムについてもより長いものをプレカラムとともに使用したことで分離状態が改善され，これらを条件(2)としたが，クロマトグラムのパターンは基本的には条件(1)と同じであった。

Fig. 1　Time course changes in Hunter a value of tomato fruit during storage at 20 (●), 30 (▲), and 35℃ (■).

緑熟段階のトマト果実を20℃で追熟し，赤く着色した果実からのカロチノイドを HPLC で分離した場合のクロマトグラムと，このとき含まれる主要カロチノイドのおよその含有率を **Fig. 2** に示した。カロチノイドの同定は，ピーク画分を分取して適当な溶媒に転溶し，吸収極大を文献値と比較して行った結果，ピーク1はルテイン，2はリコキサンチン，3はリコピン，4はζ-カロチン，5はβ-カロチン，6はフィトフルエン，7はフィトエンであった（**Table 1**）。また，波長290nm においてリコピンのピークの約1.4分後に存在した未同定ピークの吸収スペクトルをフォトダイオードアレイの解析システムにより調べるとフィトエンのスペクトルとほとんど一致し，カラム保持時間からフィトエンのエポキシドであると推察された（データ省略）。**Fig. 3** にフォトダイオードアレイによる，HPLC 条件下でのカロチノイドの吸収スペクトルを示した。これらのカロチン類の同定に不可欠である吸収極大および吸収スペクトルの比較にはフォトダイオードアレイの使用が迅速，かつ簡便であり，効果的であった。

3．果実表層部と果肉部におけるカロチノイドの消長に及ぼす高温の影響

Fig. 2 HPLC profile and relative distribution of carotenoids in tomato fruit harvested at mature green stage and ripend at 20℃.
Peaks ware detected at 451 nm (solid line), 350 nm (dotted line, 6) and 290 nm (dotted line, 7).

Table 1 Absorption maxima of main carotenoids in tomato fruit and HPLC peak identification.

Peak No.	Solvent*	Wavelength (nm) Experiment	Wavelength (nm) Literature**	Compounds
1	H	418 443 472	420 445 475	…… Lutein
2	P	442 468 499	443 469 500	…… Lycoxanthin
3	B	455 484 517	455 487 422	…… Lycopene
4	H	378 399 424	380 400 425	…… ζ-Carotene
5	H	(423) 448 475	(425) 450 477	…… β-Carotene
6	H	330 347 366	331 347 366	…… Phytofluene
7	P	(275) 285 (296)	(276) 286 (297)	…… Phytoene (15-cis)

* H : Hexane, P : Petroleum ether, B : Benzene
** Davies, 1976.

1) 総有色カロチノイド含量

トマト果実の果実表層部における総有色カロチノイドは，20℃では顕著に増加し貯蔵30日まで増加傾向であったのにたいして，30℃では貯蔵8日まで増加したがこの時点で含量は20℃貯蔵の半分程度であり，その後の変化も少なく，貯蔵末期における20℃と30℃のカロチノイド含量の違いはかなり大きくなった。35℃では貯蔵期間を通じて含量は少なく，変化もみられなかった。一方，果肉部においては20℃と30℃のカロチノイド含量の差が表層部に比べてそれほど顕著でなく，両温度区とも貯蔵期間を通じて増加する傾向を示したが，35℃では果肉部も表層部と同様に含量は少なく，その変化もほとんどみられなかった（**Fig. 4**）。

2) リコピンおよびフィトエン含量

トマト果実に含有されるカロチノイドの中で主要成分であるリコピンは20℃と30℃の有色カロチノイド中では大きな含有比率を占めていたが，35℃貯蔵では検出されなかった。また，カロチノイド類の代謝経路における最初の無色カロチノイドであるフィトエンもリコピンと同様に35℃では検出されなかった。20℃および30℃貯蔵のトマト果

Fig. 3 Photodiode array spectra of carotenoids in tomato fruit harvested at mature green stage and ripened at 30℃.
1, Lutein; 3, Lycopene; 5, β-Carotene; 6, Phytofluene; 7, Phytoene.

Fig. 4 Changes in total carotenoid content[z] in the epidermal (left) and fleshy (right) regions of tomato fruit during storage at 20 (●), and 35 (■).
[z] Excluding colorless carotenoids, phytoene and phytofluene.

Fig. 5 Changes in lycopene (solid symbol) and phytoene (open) contents in the epidermal (left) and fleshy (right) regions of tomato fruit during storage at 20 (●, ○) and 30℃ (▲, △).

実のリコピンとフィトエン含量の動向を **Fig. 5** に示した。リコピンの貯蔵中の含量変化は総有色カロチノイド含量の変化と同様の傾向で，表層部では20℃で顕著に増加し，30℃では貯蔵8日以降増加が抑制され低い含量のまま推移した。果肉部では20℃，30℃ともに増加傾向を示し，30℃の高温ストレスの影響は表層部ほど明確に現れなかった。フィトエン含量は表層部と果肉部においても20℃では増加傾向であったが30℃ではその蓄積が顕著に阻害され，ごく微量のまま推移した。

3) フィトフルエン含量

一般に考えられているカロチノイドの代謝経路において，フィトエンの次に位置する無色カロチノイドであるフィトフルエン含量は表層部，果肉部ともにフィトエンと同様の変化を示した。ただ，フィトエンが35℃で検出されなかったのに対し，フィトフルエンは35℃でも微量ながら存在が認められ，表層部で約0.03mg/100gf. w.，果肉部で約0.02mg /100gf. w. であった（データ省略）。

4) β-カロチン（プロビタミンA）含量

β-カロチン含量の変化は他のカロチン類と明確に異なっており，表層部，果肉部ともに30℃で最も含量が高くなり，20℃と35℃は大きな含量の変化がないまま推移した（**Fig. 6**）。また，30℃でのβ-カロチンの変化は表層部で大きく，貯蔵12日まで増加し，1.7mg/100gf. w. に達したがその後は減少傾向であった。

4. 果実表層部と果肉部におけるα-トコフェロールの消長に及ぼす高温の影響

α-トコフェロール含量は表層部，果肉部ともに30℃，35℃の高温区では20℃にくらべて高かった（**Fig. 7**）。表層部における貯蔵中の動向は，各温度区とも貯蔵12日まで増加傾向であり，その後，20℃では一定の傾向はみられなかったが30℃，35℃では減少傾向であった。果肉部においては貯蔵中の変化はあまり大きくなかったが30，35℃の高温区で若干増加傾向であった。

5. ^{14}C-MVA の取り込み実験

Table 2 は^{14}C-MVA のカロチノイド，その他エーテル可溶性成分への取り込み量の変化を示している。この実験はさらに繰り返し条件をかえて実験する必要があるが，高温下で^{14}C-MVA のリコピンへの取り込みは抑えられているが，β-カロチンへのそれは多くなることが示されている。ま

Fig. 6 Changes in β-carotene content in the epidermal (upper) and fleshy (lower) regions of tomato fruit during storage at 20 (●), 30 (▲), and 35℃ (■).

Fig. 7 Changes in α-tocopherol content in the epidermal (solid) and fleshy (open) regions of tomato fruit during storage at 20 (●, ○), 30 (▲, △), and 35℃ (■, □).

たフィトエンへの取り込みもかなり違いがみられた。

6. カロチン類の生合成に及ぼす高温ならびに変温処理の影響

カロチン類の生合成に及ぼす高温および変温の影響をカロチン類全体の動きの中でみると（**Fig. 8**），リコピン前駆体（フィトエン，フィトフルエンおよびζ-カロチン）の総量は20℃貯蔵で最も高くなり，貯蔵25日で2.8mg/100gf. w.（全体の約36%）となった。高温から20℃への変温処理区の前駆体総量は処理後に顕著に増大したが，貯蔵25日の含量は20℃貯蔵のそれには至らず，30→20℃区で1.3mg（全体の18.1%），35→20℃区で2.3mg（29.4%）であった。またこれらの処理区ではリコピンの蓄積量が前駆体の蓄積量をおおきく上回り，15～25日の10日間では30→20℃区のリコピンは3.0mg，前駆体は1.0mg蓄積し，35→20℃区ではそれぞれ3.1mgおよび1.7mg蓄積した。

30℃区ではリコピンとβ-カロチンがほぼ等量（貯蔵20日で共に0.6mg）蓄積したが，前駆体含量は貯蔵期間を通じて0.06～0.1mgであり，割合としては最も低かった（貯蔵20日で5.7%）。

プロビタミンAであるβ-カロチンは含量およびカロチン類中に占める割合とも30℃貯蔵においてのみ顕著に増大し，20→30℃変温によっても増加しなかった（**Fig. 8**および**Fig. 9**）。

また，30℃貯蔵においてはβ-カロチンのシス型異性体と考えられるピークが高い割合を示し，一時は約16%にまで達したが，20℃貯蔵および20→

Table 2 Effect of storage temperature on the incorporation of ^{14}C-MVA into carotenes and other soluble matter in pericarp section from tomato fruit stored at 20, 30 and 35℃ [z].

【Day 7 in storage】	20℃	30℃	35℃
40% MeOH Fraction	662300[y] (75.6[x])	507300 (57.9)	478200 (54.6)
Et_2O Fraction [w]	164300 (18.8[x])	269200 (30.7)	369200 (42.2)
Phytoene	1970	740	6770
Lycopene	3550	3350	920
β-Carotene	770	1670	5740
Unidentified 1[v]	225	930	680
Unidentified 2[u]	59400	115000	129000
【Day 14 in storage】	20℃	30℃	35℃
40% MeOH Fraction	648000 (74.0)	555000 (63.4)	561300 (64.1)
Et_2O Fraction [w]	168700 (19.3)	191300 (21.8)	224100 (25.6)
Phytoene	2880	789	5340
Lycopene	1960	3060	716
β-Carotene	779	2530	3330
Unidentified 1	405	1930	1820
Unidentified 2	37200	81100	57900

[z] Fruits were mature green stage at beginning of storage.
Pericarp section treated with ^{14}C-MVA was incubated for 12 hr at the same temperature of storage condition.
[y] cpm.
[x] Percentage for ^{14}C-MVA administered (875700 cpm).
[w] Ether soluble matter from acetone extract excluding 40% MeOH soluble matter.
[v] Peak was observed in HPLC chromatogram at 290 nm.
[u] Peak was not observed in HPLC chromatogram.

30, 20→35℃区ではこの異性体は痕跡程度であった。35℃貯蔵においては15日後に約4％含まれていた (**Table 3**)。

7. α-トコフェロール含量の変化に及ぼす高温ならびに変温処理の影響

Fig. 10 にα-トコフェロール含量の変化を示した。α-トコフェロールは当初約0.5mg/100gf. w. 含まれ，30℃，35℃の高温下で含量が増加し（1.6～2倍），20℃での増加は僅かであった。20℃から高温への変温処理では，20→30℃では増加傾向であり，20→35℃では変化傾向は明確でなかった。また，高温から20℃への変温では，30→20℃，35→20℃ともに貯蔵15日（変温後7日）に若干減少したが，貯蔵25日（変温後17日）には両区とも含量の増大がみられ，それぞれ1.5mg/100gf. w., 1.2mg/100gf. w. となった。

考　察

雷光トマトの緑熟果に対して35℃の高温ストレスは相当影響が強く，フィトエン，リコピンとも蓄積が完全に阻害され，表層部，果肉部の両部位において検出されなかった。しかし30℃では両分子種とも，20℃に比べれば含量が相当低いながらも存在が認められ，リコピン形成とフィトエン形成のバランスをみるうえでこの温度は有効であった。30℃でのフィトエンとリコピンの蓄積程度はかなり違っており，この温度ではフィトエンはほとんど蓄積しないがリコピンはある程度増加し，蓄積することが分かった。また，30℃の高温ストレスの影響が果肉部よりも表層部において顕著であること，即ちリコピンの蓄積程度が果実の色調に直接関わる表層部において高温の影響が著しい

Fig. 8 Various carotene contents in tomato fruit harvested at mature green stage and stored at 20～35℃.

Fig. 9 Change in β-carotene content of tomato fruit havested at mature green stage. Broken lines represent the transfer from intial storage temperature.
●20℃ ▲30℃ ■35℃ △20→30℃
□20→35℃ ◬30→20℃ ◨35→20℃

ということは注目される。

トマト果実において，リコピンの生成が高温による阻害を顕著に受けるにもかかわらずβ-カロチンの生成は高温の影響を受けないということが以前から報告されているが[2~4]，本研究においては30℃の高温はむしろβ-カロチンの蓄積を促進することが示された。これはプロビタミンAの摂取の観点からは有利である。

フィトエンおよびフィトフルエンはリコピンの前駆体であると同時にβ-カロチンの前駆体でもあるとされているが，温度条件に対する両者の動向はリコピンのそれに近く，β-カロチンの動きとは異なっていた。ただ35℃においてリコピンやフ

Table 3 Percentage of cis-isomer included in β- carotene in tomato fruit harvested at mature green stage.

Day in storage	20℃	20→30℃	20→35℃	30℃	30→20℃	35℃	35→20℃
0	tr [z]			tr		tr	
8				7.7	7.7	tr	tr
15	tr	tr	tr	16.3	0.9	4.4	1.6
20	tr	tr	tr	5.2			
25	tr	tr			2.1		1.8

[z] tr : trace

Fig. 10 Change in α-tocopherol content of tomato fruit harvested at mature green stage. Broken lines represent the transfer from initial storage temperature.
●20℃ ▲30℃ ■35℃ △20→30℃
□20→35℃ ◭30→20℃ ◨35→20℃

ィトエンが検出されなかったにもかかわらずフィトフルエンは微量に検出され，このフィトフルエンは明らかにβ-カロチンの前駆体として存在していると考えられる。

トマト果実の色素体内においてリコピンが合成される場とβ-カロチンが合成される場は別であるという見解が持たれている[2, 3, 8]。本実験においても，フィトエンおよびリコピンの動向とβ-カロチンのそれとは大きく異なり，独立した系の存在が示唆された。しかし，高温下においてフィトエンおよびリコピンが蓄積されず，β-カロチンが存在する理由が，単に代謝経路上の各分子種の量的バランスの変化である可能性もあり，この部分の解明にはさらに研究が必要である。

貯蔵中のカロチノイドの消長について，特に30℃の表層部においてリコピンの増加が抑制され，後期にはβ-カロチンの減少がみられたことが注目された。これらの変化は高温区の果実の表層部において，α-トコフェロールが減少し，またアスコルビン酸の濃度低下が20℃区以上に顕著となった貯蔵12日から25日にかけて起こることが示されている[9]。

細胞内でのα-トコフェロールの役割は一重項酸素の消去あるいは生体膜脂質を構成する不飽和脂肪酸の過酸化反応およびその拡大を防止することであるとされており，生体膜付近においてアスコルビン酸やグルタチオンなどと共役することにより，酸化されたα-トコフェロールが回復するといわれている[10, 11]。また，クロロプラストにおいてはβ-カロチンとともにクロロフィルを保護し，同時にβ-カロチンの酸化分解をも阻止する[12]と考えられている。筆者ら[9]は30℃，35℃の表層部で還元型アスコルビン酸が20℃貯蔵区以上の減少を示すことを認めており，さらに，ここで貯蔵12日以降はα-トコフェロールの減少もみられたことから，30，35℃の高温区では20℃区以上に果実細胞内の還元性が低下し，この状態が表層部において特に大きかったと考えられる。このような還元性の低下が30℃貯蔵の表層部においてリコピンの増加を阻害し，12日以降にβ-カロチンを減少させる要因を生じさせたのではないかと思われる。即ち，アスコルビン酸濃度の低下がα-トコフェロー

ルの回復率を低下させ，消去しきれなくなった膜脂質ペルオキシド等のラジカルがカロチン類を攻撃し，その酸化分解を引き起こした可能性が考えられる。

一方，20℃では12日以降の表層部アスコルビン酸含量は30，35℃に比べ，やや高く維持されることを認めているが，α-トコフェロール含量は30，35℃と同様に減少傾向を示し，20℃区においてもラジカルの形成が起こることが示唆された。そのため，20℃区においてもカロチノイドの酸化分解が起こっていると考えられるが，この温度ではリコピンの合成・蓄積が顕著であり，分解による減少が明確でなかったものと推察した。

このように，トマト果実のカロチノイド含量の変化に及ぼす高温の影響は，フィトエンやリコピンの生合成系に対する直接的な作用以外に，間接的な作用として酸化分解の促進があるものと推察された。

トマト果実において推察されるカロチン類の代謝経路ならびに一般に受け入れられているα-トコフェロールとカロチン類の経路上の関係を **Fig. 11** に示した。トマト果実のβ-カロチンは，20℃で顕著に蓄積されるリコピンが環化して合成されるのでなく，独立した経路が存在するということが以前から考えられている[3, 4, 8]。本実験ではこのことを再調査するため，緑熟果を20℃で15日貯蔵後，以前の実験でβ-カロチン生合成適温と思われた30℃へ移す変温処理を行った。この20→30℃区でははじめの20℃での貯蔵期間中にフィトエン，フィトフルエン，リコピン等が蓄積しており，仮にこれらのカロチン類がβ-カロチンの前駆体であるとすれば，30℃へ移すことによりβ-カロチンの合成系が活性化されると考えられる。しかし，β-カロチン量は30℃への変温後も20℃貯蔵と変わらない変化を示したので，20℃下で蓄積するフィトエンやリコピンはβ-カロチンの前駆体ではないと考えられた。従ってこの結果はフィトエンからリコピンへの生合成経路とフィトエンからβ-カロチンへの生合成経路は独立しているという考えを支持するものであった。このようなことは^{14}C-MVAのリコピンへの取り込みが高温下で抑えられるにもかかわらず，β-カロチンへの取り込みは多くなることからも推察される。

Fig. 11 Possible biosynthetic pathway of carotenes and α-tocopherol in tomato fruits.
Site A accumulates especially lycopene and phytoene (enclosure with solid line) at optimal temperature 20℃. Site B accumulates only β-carotene remarkably (enclosure with broken line), and optimal temperature for this pathway is probably 30℃.
Accumulation of α-tocopherol (double under line) occur at 30℃ and 35℃.

本実験において，20℃一定の貯蔵ではリコピンの蓄積量に対するフィトエンの蓄積量が大きかったこと，20℃から30℃への変温で一時的にカロチン類の増加がみられ，ζ-カロチンの形成が刺激されたこと，20℃から高温への変温でリコピン以上にフィトエンの減少割合が大きかったこと，さらに30℃一定ではフィトエンは蓄積しないがリコピンはある程度蓄積したことなどから考えると，フィトエン合成酵素系とフィトエン以降の流れを担う酵素群の活性のバランスは，20℃では両者とも強いが前者がより強いためにフィトエンが蓄積され，30℃ではともに弱いが後者が勝るためにフィトエンのほとんどがリコピンおよびその他のカ

ロチノイドへ転換されるものと推察される。

また30℃，35℃から20℃へ移した区においては両区とも最終的にリコピンの割合が高くなり，フィトエンからリコピンへの転換が盛んであったと考えられるが，おそらく高温下においてこれらの転換を担う酵素が多く合成されたためであろう。しかし，35℃においてリコピンの蓄積がみられないことがフィトエンの不在によるものであるかどうかは定かでない。数種の青果物のカロチノイドに関する研究から，高温がカロチノイドの生合成および代謝を刺激することが考えられる[13, 14, 15]。また，Guillot-Salomon ら[14]は，47℃の熱ストレスによりホウレンソウのカロチノイド含量は低下するが，β-カロチンやルテインなどの生合成自体は活発になることを示している。このことから高温はカロチノイドの生合成系を刺激する場合が多く，最終生産物への代謝を活発にするが，同時に分解・消耗が盛んに起こるものと考えられる。本実験において，20→30℃および20→35℃では最終的にフィトエン，リコピンとも減少したが，このことは高温によるフィトエン生合成の阻害に加え，フィトエンからリコピンへの代謝，さらに最終生産物であるリコピンの分解が起こった結果であると考えた。

トマト果実において示唆されるβ-カロチンの生合成経路についても，同様に高温によって刺激されるものと推察され，本実験においては雷光トマトにおけるβ-カロチンの生合成経路は30℃付近で刺激され，異性体の形成も多くなるようであった。しかし20℃で一定期間おかれた後は30℃に移しても含量の増加は認められなかった。この理由については今後追求せねばならない。

α-トコフェロールとフィトエンはゲラニルゲラニルピロリン酸（以下，GGPP）を前駆物質として共有する。α-トコフェロールは30℃，35℃の高温で増加したが，フィトエンからリコピンへの生合成経路上の分子種はこれらの温度で顕著に蓄積量が減少し，また，β-カロチンは30℃においてのみ明確な増加が認められた。これらのことから，共通の前駆物質である GGPP から，あるいはそれ以前の前駆物質からの各代謝経路への流れは貯蔵温度により変化することが推察される。

このようにトマト果実におけるプロビタミンAであるβ-カロチンの合成・蓄積は他のカロチノイドやα-トコフェロールの合成活性，あるいはα-トコフェロールの酸化抑制作用などによって影響されることから，30℃におけるこのような代謝活性や作用の強さのバランスのくずれによって，β-カロチンの増加現象が生じたものとも考えられる。

摘　要

収穫後の青果物におけるプロビタミンAの生合成とその制御の機構を調べる目的で，トマト果実を用い，カロチノイド色素含量の変化に及ぼす高温の影響を調べた。

1．緑熟トマトは20℃で赤色となったが，30℃では赤～黄に不均一に着色し，35℃では黄色となった。トマト緑熟果の貯蔵中に変温処理を行った場合，20→30℃および20→35℃区では着色が20℃一定のものに比較してやや劣り，30→20℃および35→20℃では変温後，着色が顕著に進行し，20℃一定のものと同じ色調となった。

2．果実表層部は果肉部よりも高温の影響を受け易く，表層部ではフィトエンやリコピンの蓄積が顕著に阻害され，その阻害の影響はリコピンよりもフィトエンの蓄積に対して大きかった。20℃から30，35℃への変温処理において，フィトエンやリコピンの含量は低下したが，20→30℃では一時的にζ-カロチンの増大がみられた。リコピンの前駆体であるフィトエン，フィトフルエン及びζ-カロチンの割合は20℃貯蔵で最も大きかった。30，35℃から20℃への変温区では，20℃一定条件に比

べてそれらの前駆体の割合は低く，リコピンの割合は高かった。

3．β-カロチン含量（プロビタミンA）は表層部，果肉部とも30℃で増加し，表層部では貯蔵後期に減少した。β-カロチンは30℃で含量およびその異性体含有率とも高くなったが，20→30℃に変温後の含量の増加は認められなかった。

4．α-トコフェロール含量は30，35℃の表層部において減少し，収穫後のトマト果実のカロチン類の消長に及ぼす高温の影響が果肉部より表層部において大きかったこととの関連が示唆された。α-トコフェロールは30および35℃で含量が高くなり，20℃ではほとんど増加しなかったが，変温処理区である30→20℃，35→20℃では含量の増大がみられた。

5．^{14}C-Mevalonic acid のカロチノイドへの取り込みは，高温下でリコピンで抑えられ，β-カロチンでは促進された。

6．以上よりβ-カロチン（プロビタミンA），リコピンおよびα-トコフェロールの合成経路はそれぞれ温度に対する反応が異なり，それらの経路に及ぼす高温ならびに変温処理の影響は，共通の前駆物質の各経路への流れを変化させるものであると推察された。

終わりに，本研究を実施するに当たり，多大なご援助を賜りました浦上食品・食文化振興財団ならびに関係各位に対して心から感謝の意を表します。なお，本研究は濱渦康範大学院生の協力によるものであります。

文　献

1) Vogel, A.C. 1937. Plant Physiol. 12 : 929-955.
2) Tomes, M.L. 1963. BOT. GAZ. 124 : 180-185.
3) Raymundo, L.C., A.E. Griffiths and K.L. Simpson. 1967. Phytochemistry. 6 : 1527-1532.
4) Laval-Martin, D., J. Quennemet and R. Monéger. 1975. Phytochemistry. 14 : 2357-2362.
5) 梅田圭司，川嶋浩二，1971，日食工誌，18 : 147-154.
6) 近　雅代，榛葉良之助，1988，日食工誌，35 : 423-429.
7) Davies, B.H. 1976. In: T.W. Goodwin (ed.). Chemistry and biochemistry of plant pigments. vol. 2. p. 38-165. Academic Press, London, New York and San Francisco.
8) Rouseff, R.L., G.D. Sadler, T.J. Putnam and J.E. Davis. 1992. J.Agric.Food Chem. 40 : 47-51.
9) 浜渦康範，宮本裕子，茶珍和雄，園学雑，投稿中.
10) Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1988. フリーラジカルと生体（松尾光芳，嵯峨井勝，吉川敏一訳），p. 151-221. 学会出版センター・東京.
11) 美濃　真，貴島静正，1989，日本ビタミン学会編，ビタミンハンドブック①，脂溶性ビタミン，p. 49-72，化学同人，京都.
12) Van Hasselt, P.R., L.J. De Kok and P.J.C. Kuiper. 1979. Physiol.Plant. 45 : 475-479.
13) Yokoyama, H., C.W. Coggins, Jr and G.L. Henning. 1971. Phytochemistry. 10 : 1831-1834.
14) Guillot-Salomon, T., J.Bahl, L.Ben-Rais, M.J. Alpha, C.Cantrel and J.Dubacq. 1991. Plant Physiol. Biochem. 29 : 667-679.
15) 浜渦康範，茶珍和雄，黒岡　浩，岩田　隆，1991．園学要旨．平3秋 : 592-593.

Biosynthesis and its regulation of provitamin A in fruits and vegetables after harvest
—Focused on the biosynthesis of carotenoids in tomatoes during the ripening—

Kazuo Chachin (College of Agriculture, University of Osaka Prefecture)

The present study was conducted to see the effects of temperatures for ripening on the content of carotenoids in tomatoes after harvest in reference to the investigation of the biosynthesis and its regulation of provitamin A in fruits and vegetables after harvest.

The color of mature green tomato fruit advanced with ripening, reaching red color at 20℃, was speckled color of red, orange and yellow at 30℃ and became yellow at 35℃. The accumulation of lycopene and phytoene was inhibited significantly in surface tissues (epidermis part) of tomatoes stored at higher temperatures, and high temperature prevented the accumulation of phytoene more than that of lycopene. The content of β-carotene (provitamin A) increased in the surface tissues and the flesh (outer parts of pericarp) of tomatoes during storage at 30℃. The content of α-tocopherol decreased especially in surface part during storage at 30℃ and 35℃, suggesting that the influence of high temperature on the change of carotene content in tomato fruit after harvest was larger in the surface tissues than in the flesh.

The red color of tomatoes transferred from 20℃ to 30℃ (20→30℃) or 20→35℃ was lighter than that stored at 20℃, while the coloring of 30→20℃ lot or 35→20℃ lot advanced remarkably, reaching to deeply red color during ripening at 20℃. Ratio of lycopene precursors, phytoene, phytofluene and ζ-carotene, to total carotenes was higher at 20℃. In the fruit of 30→20℃ lot or 35→20℃ lot, total carotene content became almost same as that of tomatoes stored constantly at 20℃, but ratio of the precursors to total carotenes was lower.

The incorporation of ^{14}C-mevalonic acid into β-carotene fraction from tomatoes stored at 30℃ tended to be raised with increasing of storage temperature but that into lycopene fraction decreased. Radioactivity of phytoene fraction was different depending on temperature.

It appears that the biosynthetic process or step of lycopene, β-carotene (provitamin A) or α-tocopherol in tomatoes has different response to higher temperature, indicating that tomatoes have different nutritional value depending on the temperatures held afer harvest.