

野菜の高品質を目指した光を併用する冷蔵法（光冷蔵）

上 田 悦 範 ・ Merry Evelyn M. Abit - Toledo

（大阪府立大学農学生命科学研究科）

はじめに

葉菜類は他の青果物に比べ、流通・貯蔵中にあって水分の損失に伴う萎れや緑色の退色など、品質の低下が顕著である。青果物については、近年では収穫から流通・消費にいたるまで低温流通や適当な包装が行われ、温度湿度の管理に注意が払われている。これに対して、収穫後の光の条件についてはあまり考慮されていない。たとえばスーパーマーケットにおいてショーケース中で常に光に照射されたり、店頭で明るいところに置いている場合は葉菜類の品質にどのように影響するのかという実験例は少ない。植物生理の基礎的な研究では強光では植物の葉の緑色が活性酸素発生の関係で退色し、また暗黒化においても緑色退色が起こることが知られている。この分野の嚆矢として、貯蔵中のコマツナへの光照射は緑色やアスコルビン酸の保持に良いという細田らの報告がある^{1)~4)}。また最近富士原ら⁵⁾のハーブの低温保蔵に光照射が試みられている。従って種々の葉菜類で貯蔵中の光照射のデータを蓄積する必要があると考え、無機養分とビタミンの給源として需要の高いハウレンソウを試したところ今まで以下に示す観察結果を得た。

- (1) ハウレンソウ貯蔵中に光照射（20～40 μ モル/ $\text{m}^2 \cdot \text{秒}$ ）すると、アスコルビン酸の保持が良かった。
- (2) 糖含量の保持も見られ、貯蔵中にも光合成が行われていることを示唆された。

- (3) ビタミンCの直前の前駆物質である L-galactono-1,4-lactone を葉の切片に添加したところ、光照射の方がよくアスコルビン酸に取り込まれた。

以上の結果は下記の雑誌に発表した。

L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. (2003)

Toledo Merry Evelyn A., Yoshinori Ueda, Yoshihiro Imahori, Mitsuko Ayaki

Postharvest Biology and Technology 28 : 47-57

また貯蔵中の光照射によるハウレンソウの品質保持が、貯蔵中の光合成の結果であるとの示唆を得たので、収穫後のハウレンソウが光合成能力を有しているのかを測定した。

- (1) 二酸化炭素同化、酸素排出から見た光合成能力は貯蔵ハウレンソウに存在していた。ショーケース程度の光源でも光合成が行われることを見出した。
- (2) 上記の測定は気孔の開閉に左右されて実際の光合成能力を示さなかった。
- (3) 光照射による葉の蛍光発色が光合成能力をよく反映していた。

以上の結果を下記の雑誌に発表した。貯蔵中の葉菜の光合成を計測したのは世界で始めてである。

Photosynthetic abilities of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves during postharvest storage under light and dark conditions. (2003)

Toledo M.E.A., Y. Ueda, M. Ayaki, N. Yamauchi and K. Abe

J. Horticultural Science & Biotechnology 78: 375-380.

今回、奨励金をいただきて青果物の貯蔵に光照射を応用するためのデータを集めた。

実験1 光質により貯蔵性が変わるかどうかを調べるために、白色蛍光灯と赤色発光ダイオードについて調べた。

実験2 ホウレンソウの市販されている形態(根付き、根無し、成熟葉のトリミング等)により、光照射の効果が違うかどうか。

実験3 冷蔵貯蔵(2℃, 10日間)し、その後の陳列(10℃, 4日間)した場合光照射の効果がどのようになるかについて調べた。

実験4 光照射によるアスコルビン酸保持が緑葉野菜のみに有効かどうか。

1. 実験1 照射光質による貯蔵ホウレンソウの品質への影響

実際に貯蔵庫中で光照射する場合、光源として蛍光灯と赤色発光ダイオードが考えられる。両光源とも消費電力が少なく、特に赤色ダイオードは他の発色ダイオードに比べて安価である。

1.1 実験材料および貯蔵条件

実験に供したホウレンソウは近隣の農家より直接購入したもので、直ちに貯蔵実験に用いた。根はよく洗いプラスチック製のトレーに重ならないように横向きに並べた。蒸散をできるだけ避けるためポリプロピレンフィルムで上面を覆い、下面はアルミホイルを敷き、影の部分もある程度反射光が当たるようにした。対照区として暗所区を設けた。貯蔵温度は20℃とした。

白色光(三波長型蛍光灯 FL-15EX-N-N),

および赤色光(赤色ダイオード KENWOOD PA 70-1A を平板上に300個並べたものを2機)で5~7 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{秒}$ の明るさの位置にホウレンソウを置いた。予備実験で、上記の光量より強いとアスコルビン酸の保持には良いが、萎れが激しくなることからこの光量で行うこととした。

1.2 実験方法

2日おきにホウレンソウの外観評価(萎れ程度、色調変化)を行うとともに若葉(完全には展開していない葉)、成熟葉(最外葉を除く成熟葉)をサンプリングし、アスコルビン酸含量を測定した。

アスコルビン酸の分析には2,4-dinitrophenyl hydrazine 法⁶⁾を用いた。3株を用い3回分析を行い、平均値を出すとともに、誤差線に標準誤差を用いた。総アスコルビン酸と酸化型アスコルビン酸(DHA)がこの方法により測定される。一般にアスコルビン酸と称されているものは還元型アスコルビン酸(AsA)で総アスコルビン酸から酸化型アスコルビン酸を引き算して計算される。この章では総アスコルビン酸と酸化型アスコルビン酸で示した。

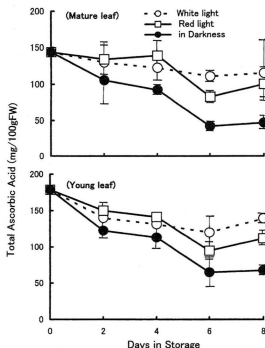


図1 ホウレンソウの若葉、成熟葉における、照射光質の違いが総アスコルビン酸含量に与える影響(20℃貯蔵)

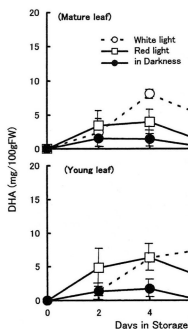


図2 ホウレンソウの若葉、成熟葉における、照射光質の違いが酸化型アスコルビン酸（DHA）含量に与える影響（20℃貯蔵）

1.3 実験結果および考察

図1に見られるように総アスコルビン酸含量は若葉が多く、成熟葉ではやや少なかった。暗所保存のものは総アスコルビン酸の減少が大きかったが、白色光、赤色光照射区とも減少が抑えられていた。効果は白色光が赤色光よりやや優れていた。

図2は酸化型アスコルビン酸（DHA）の含量を示しているが、総アスコルビン酸含量に比べて少ないことが示された。光照射すると酸化型アス

コルビン酸が増加する傾向が見られ、特に白色光は赤色光より増加程度が大きかった。

一般に植物体内ではアスコルビン酸が酸化されると、生体内の図3のような還元を促進する酵素群が働いて還元型アスコルビン酸に戻ることが知られている。従って光照射下にあるホウレンソウは活発にアスコルビン酸を利用し、還元力が追いついていないと思われる。全体に総アスコルビン酸が多いのはその生合成も盛んであることによると考えられる。

貯蔵中の外観品質に対する光照射の影響では、白色光が萎れを起こさせる程度が大きかった。赤色光ではその程度が少なく、暗所保蔵が一番萎れの程度が小さかった。しかし、暗所では緑色が退色する程度が大きく特に今回のような20℃貯蔵では著しく退色した。白色光は赤外光のような熱線を含み、これが萎れを激しくさせたものと思われる。実用的には、萎れ防止に注意しつつ、赤色ダイオード光源が良いと考えられた。

2. 実験2 ホウレンソウの形態を変えて貯蔵した場合の光の影響

ホウレンソウが市販されている形態も様々であるので、形態が変わった場合でも光照射がアスコ

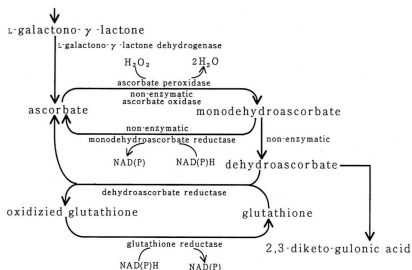


図3 アスコルビン酸の代謝図

ルビン酸保持に有効かどうかを調べた。

2.1 実験材料および貯蔵条件

ホウレンソウは冬季に最寄りのスーパーより購入したものをを用いた。一般に土耕のホウレンソウは根を付けたまま販売されており、水耕のものは根を切って販売されているので、根付き、根無しで光の影響が異なるのかを調べる必要がある。従って根付き、根無しの状態にして、トレーに横たえて貯蔵した。高湿度冷蔵庫を用い、8℃で貯蔵した。上面をポリプロピレンで覆い、下面はアルミホイルを敷いた。光照射のものは保水のため1日に1度霧吹きで葉面に水を散布した。また暗所保存の場合は2日に1度散布した。光照射条件は白色光で $20 \sim 25 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{秒}$ とした。また、出荷の際や陳列中にトリミングを受けていることが多いので葉をかなり除いたものをつくり光の影響を見た。すなわち成熟葉あるいは若葉をすべて取ってしまったもので光を当ててどのような状態かを調べた。さらに最近では葉のみをカットして包装、市販されているのを見かける（いわゆるカット野菜）が、そのような場合にも光の効果があるかどうかを調べた。

2.2 実験方法

アスコルビン酸は同じく 2,4-dinitrophenyl

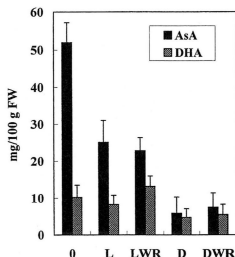


図4 ホウレンソウの根付き、根無し貯蔵(8℃, 4日間)における、光照射がアスコルビン酸(AsA)、酸化型アスコルビン酸(DHA)含量に及ぼす影響
図中の0は貯蔵当日を、Lは光照射下で根付きを、LWRは光照射下で根無しを、Dは暗所での根付きを、DWRは暗所で根無しを意味する。葉は成熟葉を使用した。

hydrazine法を使用した。還元型アスコルビン酸をアスコルビン酸(AsA)として示した。酸化型(DHA)も測定した。若葉、成熟葉に分けて分析した。3株を用い3回分析を行い、平均値を示すとともに、誤差線に標準誤差を用いた。

2.3 実験結果および考察

(1) 根の有無による光照射の影響

図4は根付き、根無しの条件でホウレンソウを8℃で4日間貯蔵したときの結果である。図に見

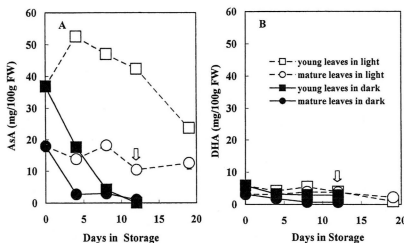


図5 ホウレンソウをトリミングして貯蔵(8℃)したときの、光照射がアスコルビン酸(A)、酸化型アスコルビン酸(B)含量に及ぼす影響
図中の成熟葉とは若葉をトリミングして成熟葉のみにして貯蔵したことを表す。若葉はその逆の意味を表す。図中の矢印は成熟葉で葉先から黄化が始まったことを示す。

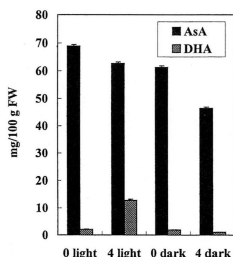


図6 カットしたホウレンソウ葉のみ貯蔵（8℃、4日間）したときの、光照射がアスコルビン酸（黒い棒グラフ）、酸化型アスコルビン酸（斜め線棒グラフ）含量に及ぼす影響半葉法を行った。成熟葉の片方を使用して貯蔵前（0, lightまたは0, dark）の測定をし、残りの半葉を用いてカット葉を作り、4日間光照射下または暗所（4, lightまたは4, dark）で保持した後アスコルビン酸の測定を行った。

られるように根付き根無しの区別なく、暗所貯蔵のものより光照射区がアスコルビン酸の含量を保持していることが見られた。

（2） トリミングを受けたホウレンソウの光照射の効果

強いトリミングを受けて貯蔵したホウレンソウでも光によるアスコルビン酸の保持効果は良く見られた（図5）。むしろその効果はホウレンソウ全体を貯蔵した場合より明らかに現れた。

（3） ホウレンソウのカット葉における光照射の効果

最近はカット野菜が外食産業用のみならず、家庭用として市販されることが多くなっている。カットした葉のみで光照射のアスコルビン酸保持効果が出るかどうかを調べた。この場合、葉によるアスコルビン酸含量のばらつきを避けるため、半葉法を用いた。すなわち葉の半分を直ちにサンプリングし、残り半分は適当にカットし蒸留水（chloramphenicolを入れて細菌の増殖を抑えている）に浮かべて8℃、4日おいたものである。結果は図6に示す。やはり暗所に置いたものはアスコルビン酸の減る程度が大きかった。

以上のように市販されるホウレンソウの形態がどのようであれ、弱光の照射はアスコルビン酸含量保持に効果があることが明らかになった。

3. 実験3 冷蔵貯蔵およびその後昇温陳列しときの光の影響

青果物は出荷調整などにより、10日程度の冷蔵貯蔵の後に小売店の店頭に置かれることがあるが、このような場合に光照射の影響はどうであるか調査した。

3.1 実験材料および貯蔵条件

冬季に小売店より新鮮なホウレンソウを入手し、水洗し、根は水を含んだ脱脂綿で覆った。他の貯蔵方法は実験1と同じである。光源も白色光を用い20～25 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{sec}$ の明るさの所にホウレンソウを横たえた。まず10日間の冷蔵貯蔵（2℃）を行い、次いで小売店に陳列されることを想定して10℃4日間保存した。実験区としては、冷蔵、陳列期間を通じて光照射下に置くものと、暗所に置くものを設け、さらに冷蔵期間は暗所貯蔵であるが陳列中は光照射下に置くものも設けた。

3.2 実験方法

分析は貯蔵開始前、および貯蔵中2回、陳列中2回行った。また、若葉、成熟葉に分けて分析した。3株を用い3回分析を行い、平均値を出すとともに、誤差線に標準誤差を用いた。

アスコルビン酸は前項と同じ2,4-dinitrophenylhydrazine法で行った。クロロフィル含量はN,N-dimethylformamideに葉切片を暗所で浸漬し、脱色するまで放置し、緑色になった溶媒を分光光度計で647と664 nmで測定した⁷⁾。脂質の分解程度を見るためにmalondialdehyde (MDA)含量を測定した。まず葉組織を5% TCAで抽出し⁸⁾、遠心分離後の上澄みのMDA含量をthiobarbituric acid reagentを反応させることで定量した⁹⁾。

3.3 実験結果および考察

クロロフィル含量は図7に示すように2℃貯蔵,

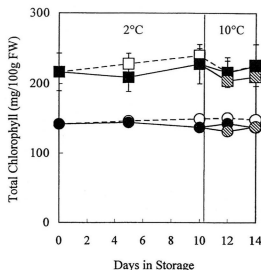


図7 ホウレンソウの冷蔵(2℃, 10日間)およびその後の店頭保持期間(10℃, 4日間)における, 照射がクロロフィル含量に及ぼす影響

正方形シンボルは若葉を, 円シンボルは成熟葉を示す。白抜きシンボルは照射区を, 黒塗りシンボルは暗所区を示す。斜線シンボルは冷蔵中暗所で冷蔵し, その後の保持期間を光照射下で保存したことを示す。

10℃陳列期間とも照射区, 暗所ともに変化はなく, 外観上も鮮度を保っていた。

総アスコルビン酸含量は2℃貯蔵中, 照射区で高含量に推移した(図8)。10℃に昇温後の陳列中ではアスコルビン酸はすべての実験区で減少

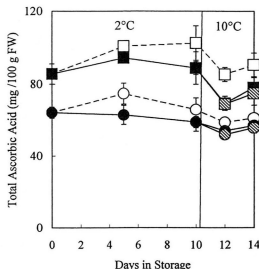


図8 ホウレンソウの冷蔵(2℃, 10日間)およびその後の店頭保持期間(10℃, 4日間)における, 照射が総アスコルビン酸含量に及ぼす影響
図の説明は図7に同じ

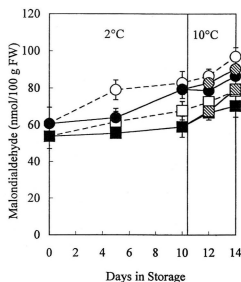


図9 ホウレンソウの冷蔵(2℃, 10日間)およびその後の店頭保持期間(10℃, 4日間)における, 照射がマロンジアルデヒド含量に及ぼす影響
図の説明は図7に同じ

する傾向にあった。暗所に貯蔵したものを光照射下に陳列してもアスコルビン酸は減少した。したがってアスコルビン酸を高含量で保つには貯蔵の早期に光照射を始める必要があると考えられた。

脂質の酸化程度を示すといわれる MDA の含量は光照射することにより, 貯蔵中, 陳列中ともに暗所より確実に増加した(図9)。従って光照射は活性酸素等の増加がありながら, それを上回るアスコルビン酸の合成により, アスコルビン酸の保持が行われていることが考察できた。

4. 実験4 葉緑体の有無が光照射によるアスコルビン酸保持に与える影響

今までの実験では緑葉野菜のホウレンソウを用いて実験してきたが, 葉緑体を持たない野菜ではどうかを調べた。実際に貯蔵して調べるのが本来であるが, 今回はアスコルビン酸の直前の前駆物質である L-galactono-1,4-lactone (L-GAL) を野菜の小組織(小花蕾, 葉切片, 果皮)に与えて光照射の有無により総アスコルビン酸の含量がどうなるかを調べた。以前の実験でホウレンソウ葉の切片に L-GAL を与えた場合, 照射区では暗所

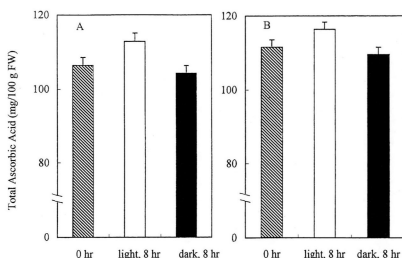


図10 ブロッコリ小花蕾 (A)、緑色ビーマンの組織切片 (B) に L-galactono-1,4-lactone を添加したとき、光照射が総アスコルビン酸含量に及ぼす影響
インキュベートは8℃、8時間

に比べて総アスコルビン酸含量が増加したのを観察している。

4.1 実験材料および方法

葉緑体を有する組織として新鮮な市販のブロッコリを用い、小花蕾を分離した。またピーマンの緑色組織を切片（2 cm × 2 cm）にしたものを用いた。葉緑体を有しない組織としてカリフラワーを用い、小花蕾を切り出した。また赤色ピーマンより切片を切り出した。

25mM の L-GAL を 25ml 入っているペトリ皿に脱脂綿を敷いたものを用意し、その上に上記の組織を良く湿るように並べた。光照射条件は 20 ~ 25 μ mol/m²・秒とし、8℃で8時間保存し、

総アスコルビン酸含量を測定した。3回分析を行い、平均値を出すとともに、誤差線に標準誤差を用いた。

4.2 実験結果および考察

図10に葉緑体を含むブロッコリおよび緑色ピーマンを、光照射または暗所下で8時間置いて測定した総アスコルビン酸含量を示す。いずれも光照射下で増加し、L-GALからのアスコルビン酸生成がうかがえた。

図11に葉緑体を含まないカリフラワーおよび赤色ピーマンの結果を示す。興味のあることに L-GAL を添加することによる総アスコルビン酸含量の増加は両組織で見られるが、光照射と暗所

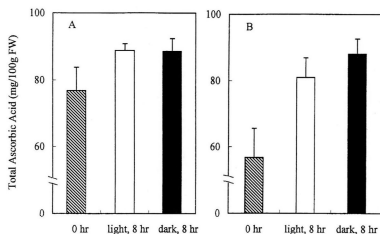


図11 カリフラワー小花蕾 (A)、赤色ピーマンの組織切片 (B) に L-galactono-1,4-lactone を添加したとき、光照射が総アスコルビン酸含量に及ぼす影響
インキュベートは8℃、8時間

の差はなかった。

以上の結果から、光照射でアスコルビン酸保持効果のあるものは緑葉野菜であると考えられた。

ま と め

この1年間、野菜の光冷蔵の可能性を考え、実地的なデータを得てきた。その結果、緑葉野菜における外観上の光照射効果は短期間の冷蔵、および陳列では見られなかったものの、人間にとって必要なアスコルビン酸の保持に役立つことがわかった。これは野菜を高品質で保持するのに、温度、湿度に続いて光条件も貯蔵条件として考慮に入れる価値があることを物語っている。

今後、光条件を加味した家庭用あるいは営業用冷蔵庫を開発する上で、さらに野菜、果物の種類を増やして観察することと、効果がアスコルビン酸保持だけでなく、他の要素にも効いているのかを調べる必要がある。消費者は必ず冷蔵庫で葉菜類を一時保存しているので、高品質に野菜を貯蔵できる光冷蔵が実用化できるならば、国民の栄養を底上げすることにもなると考えている。

本研究の遂行に当たり、浦上食品・食文化振興財団の研究助成金を賜り、大いに有効に使用させていただきましたことを感謝申し上げます。

文 献

1) 細田浩・名和義彦・黒木柁吉 (1981) 野菜の収穫後にお

ける品質に及ぼす光の影響 (第1報) コマツナ (detached leaf) の貯蔵中における成分変化, 食総研報 (Rept. Natl. Food Res. Inst.) 38:33-39

2) 細田浩・名和義彦・黒木柁吉 (1981) 野菜の収穫後における品質に及ぼす光の影響 (第2報) コマツナ (attached leaf) の貯蔵中における成分変化, 食総研報 (Rept. Natl. Food Res. Inst.) 38:40-45

3) 細田浩・名和義彦・黒木柁吉・高橋信典 (1983) 野菜の収穫後における品質に及ぼす光の影響 (第3報) コマツナの遊離糖およびデンプン含量に及ぼす貯蔵温度の影響, 食総研報 (Rept. Natl. Food Res. Inst.) 42:45-50

4) 細田浩・名和義彦・黒木柁吉 (2000) 収穫後のコマツナ葉の成分変化に及ぼす光質の影響, 日本食品保蔵学会誌 26: 81-84

5) 富士原和宏・高久晃一・飯本光雄 (1998) CA, 赤色発光ダイオード弱光照射および養液利用が低温貯蔵中のチャビルの外観品質に及ぼす影響。- 緑色植物体の弱光照射 CA 貯蔵法の提案 -, 生物環境調節 36: 201-208

6) Roe, J.H., M.B. Mills, M.J. Oesterling and C.M. Damron. (1948) The determination of diketo-*l*-gulonic acid, dehydro-*l*-ascorbic acid, and *l*-ascorbic acid in the same tissue extract by the 2,4-dinitrophenyl-hydrazine method. J. Biol. Chem. 174:201-208

7) Moran, R. (1982) Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with *N,N*-dimethylformamide. Plant Physiol. 69:1376-1381

8) Ranwala, A.P. and W.B. Miller. (2000) Preventive mechanism of gibberellin (4+7) and light on low-temperature induced leaf senescence in liliun cv Stargazer. Postharvest Biol. Technol. 19:85-92

9) Heath, R.L. and L. Packer. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125:189-198.

Innovative Refrigeration with light Irradiation on Keeping Quality of Green Vegetables

Yoshinori Ueda and Merry Evelyn M. Abit-Toledo

(Graduate School of Agricultural and Biological Science, Osaka Prefecture University)

Temperature and humidity conditions have been investigated many times for vegetable storage. However light exposure treatment to the postharvest vegetables did not pay attention so much compared with other two. There are, to date, a few works that demonstrated positive effect of light on the quality of leafy vegetables^{1 ~ 5)} and ornamentals⁶⁾ when the light is used at relatively low intensities during the postharvest period.

We observed delay of ascorbic acid dissipation when spinach was stored under weak white light, then found that one step of ascorbic acid biosynthesis, which is just before ascorbic acid formation, was accelerated by light exposure. Photosynthesis has been suggested as the major factor in the senescence-delaying effects of low intensity light during postharvest storage of green vegetables. However the capacity of photosynthesis in green vegetables stored in darkness or light has not been demonstrated. We presented the changes in photosynthetic activities of spinach leaves during storage in a light and darkness, by measuring oxygen release, carbon dioxide fixation and fluorescence emission.

In this work, we concentrated on collecting data that were applicable of light exposure on keeping quality of green vegetables during storage.

1) Effects of light source on keeping quality of spinach

Exposure (5 to 7 $\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) from white luminescent lamp (three peak waves type) and red light emitting diode (red LED, KENWOOD PA 70-1A), were compared on the quality of stored spinach at 20°C.

Both exposures kept more ascorbic acid content than dark condition. But wilting was observed severely under the white light and medially under red LED. So, red LED may be suitable light source for the storage with some moisture keeping treatment.

2) Changes of ascorbic acid contents in various market forms of spinach in light and dark conditions.

Leafy vegetables were selling many forms, such as with root or without root, trimming treatment, and cut leaves. Effect of light exposure (20 ~ 25 $\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$, 8°C) on ascorbic acid contents of these forms of spinach was investigated.

Whatever the forms, light was effective to maintain ascorbic acid content. It seems that light effect on maintenance of ascorbic acid have more distinctive on trimmed or cut spinach than on whole plants.

3) Effect of light on the quality of spinach during cold storage and at followed shelf life.

Cold storage of spinach at 2°C for 10 days and display at the shelf at 10°C for 4 days after the storage were conducted in the light ($20 \sim 25 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) or dark.

Color and appearance of spinach were maintained fresh during storage and display periods. Light exposure maintained ascorbic acid contents higher than dark. When spinach was stored in the dark and then exposed by the light at display time, the effect of light on maintenance of ascorbic acid was not clear. We need to treat vegetables by light at early period of storage time.

4) Effect of light exposure on chlorophyllous vegetables and non-chlorophyll ones on ascorbic acid contents.

In previous report, we presented that L-galactono-1,4-lactone changed more into ascorbic acid in the light than dark. The character may be important for ascorbic acid maintenance in light exposure. Green vegetables, broccoli and green peppers were observed such acceleration of the step by light. On the other hand, cauliflower and red peppers did not show the phenomena in the light.

These results indicate that it is worthful to consider light condition at refrigeration of green vegetables for maintain nutritional values.