

カキ果実の脱渋性に関する研究*

——とくに甘ガキの自然脱渋について——

米 森 敬 三

Studies of the Removal of Astringency in Japanese Persimmon Fruits

——Reference to Natural Disappearance of Astringency
in Nonstringent-Type Fruits.——

Keizo YONEMORI

目 次

緒 言	2
第1章 カキ果実の脱渋とエタノールおよび アセトアルデヒドとの関係について	3
第1節 果実中の可溶性タンニン、エタ ノールおよびアセトアルデヒドの 時期的変化	3
第1項 材料及び方法	3
第2項 実験結果	4
1. 果肉中の可溶性タンニンの変化	4
2. 果肉中のエタノールおよびアセト アルデヒドの変化	4
3. 種子中のエタノールおよびアセト アルデヒドの変化	6
第2節 エタノールおよびアセトアルデヒ ド処理による「富有」(PCNA) お よび「平核無」(PVA) 幼果の樹上 脱渋の比較	7
第1項 材料及び方法	7
第2項 実験結果	7
第3節 果実中のエタノールおよびアセト アルデヒドの蓄積に及ぼす種子の 影響	8
第1項 材料及び方法	9
第2項 実験結果	11
第4節 考 察	11
第5節 摘 要	12
第2章 カキ果実のタンニンの化学的差異	13
第1節 タンニン構成成分の質的差異	13
第1項 材料及び方法	13
第2項 実験結果	14

第2節 タンニン構成成分の時期的変化お よび品種間差異	14
第1項 材料及び方法	14
第2項 実験結果	16
1. 時期的変化	16
2. 品種間差異	16
第3節 タンニンの分子量分布の時期的変 化および品種間差異	17
第1項 材料及び方法	18
第2項 実験結果	18
1. 時期的変化	18
2. 品種間差異	21
第4節 超遠心法による「富有」(PCNA) および「平核無」(PVA) 幼果のタ ンニン成分の特性の比較	21
第1項 材料及び方法	21
第2項 実験結果	21
第5節 「富有」(PCNA) および「平核無」 (PVA) 幼果のタンニンとアセト アルデヒドとの反応性の比較	23
第1項 材料及び方法	23
第2項 実験結果	23
1. タンニン濃度との関係	23
2. pH との関係	24
第6節 考 察	24
第7節 摘 要	25
第3章 カキ果実のタンニン細胞の発生およ び発育過程と pollination constant の 甘ガキの自然脱渋との関連について	26
第1節 果実中でのタンニン細胞の発生過 程の比較	26
第1項 材料及び方法	26
第2項 実験結果	26
第2節 果実中でのタンニン細胞の発育過 程の比較	30

昭和 60 年 9 月 30 日 受理

* 本論文は京都大学に提出した学位論文である。

第1項 材料及び方法	30
第2項 実験結果	30
第3節 pollination constantの甘ガキの タンニン物質の不溶化の時期	35
第1項 材料及び方法	35
第2項 実験結果	36
第4節 考 察	38
第5節 摘 要	39
第4章 タンニン細胞の形態的特性について	40
第1節 タンニン細胞の液胞内容物の形態 と時期的変化	40
第1項 材料及び方法	40
第2項 実験結果	41
1. 液胞内容物の形態	41
2. 時期的変化	41
第2節 タンニン細胞の形態的特性	46
第1項 材料及び方法	46
第2項 実験結果	47
1. マセレーションした果肉のタンニ ン細胞の形態	47
2. 樹面包埋した果肉のタンニン細胞 の観察	49
第3節 タンニン細胞の形態変化に関する 要因	49
第1項 材料及び方法	50
第2項 実験結果	51
1. エタノール処理による果実の樹上 脱法	51
2. 樹上での果実の生育ステージ	51
第4節 考 察	51
第5節 摘 要	55
総合考察	55
総 摘 要	57
引用文献	58
Summary	61

緒 言

カキ果実の脱法に関しては現在までに数多くの研究が報告されている^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12}。しかしながら、これらの研究は渋ガキにおける人為的な処理による脱法現象を扱っているものが多く、甘ガキにおける樹上での自然脱法の研究は比較的少ない。渋ガキにおいて、その脱法機構を考える上で現在までのところ定説となっているのは、アセトアルデヒドによりタンニンの縮合・不溶化が起こるといういわゆる縮合説である。この考え方は、未脱法の渋ガキの果汁にアセトアルデヒドを加えることによってその果汁が凝固するという掛下の報告²⁰や、脱法処理中に渋ガキの果実内に多量のアセトアルデヒド

が生成蓄積されているという多数の報告^{21,24,31,37,43}などにより広く支持されている。

一方、カキ果実のタンニンの化学的な研究により、カキ果実のタンニンは縮合型タンニンに属する^{21,29}と考えられており、その基本構造はカテキンとガロカテキンを骨格としたプロアントシアニジンのポリマーである³⁴という最近の報告もある。このタイプのタンニンは、塩酸の存在下でホルムアルデヒドと反応して水に不溶な沈澱を形成することが知られている^{47,50,51}が、このことがまた渋ガキの脱法における縮合説の根拠となっている。

これに対して、甘ガキの樹上での自然脱法の機構については渋ガキの脱法処理により得られた知見からの類推が多い。現在のところ甘ガキの脱法も渋ガキの場合と同様、アセトアルデヒドによるタンニンの縮合・不溶化によっているとされ、甘ガキではこのアセトアルデヒドが果実の発育途上で自然に生成蓄積していくのであろうといわれている^{19,21,31,41}。このことは脱法の研究において、甘ガキであれ渋ガキであれタンニンそのものには差異がないと考えられている結果であると思われる。事実、カキ果実のタンニンの化学的な調査においてもその研究は渋ガキに限られており、甘ガキのタンニンについてはまったく調べられていない。

そこでここではまず、甘ガキ果実の脱法性を調査し、甘ガキの自然脱法とアセトアルデヒドとの関係が渋ガキの人為的な脱法において認められているような関係にあるかどうかということを考察した。そして次に、甘ガキと渋ガキとでタンニンそのものに質的な差異が存在していないかという点についても検討した。

さらに、カキ果実においてタンニンはタンニン細胞と呼ばれる異形細胞にのみ蓄積されていくわけであるが、このタンニン細胞の構造を調査した研究は古くHOWARD¹⁷および徳川と湯浅³³が報告して以来現在までのところ皆無である。また、脱法性との関連でタンニン細胞を研究した報告も数少なく、宮林が収獲果について品種間で調査したもの³⁵や脱法果での北川の報告⁴⁴が認められるのみである。そこでタンニン細胞の構造および発育過程を明確にするために、光学顕微鏡と電子顕微鏡によりタンニン細胞を観察し、その組織学的特性を調査した。そしてこのタンニン細胞の組織学的特性がカキ果実の脱法性とのように関連しているのかということを検討した。

なお、本研究を行うにあたり終始御指導をいただき、取りまとめにあたっては御校側の労を賜った京都大学教授若名孝博士ならびに絶えず御指導と御激励をいただいた京都大学助教授杉浦明博士に謹んで深謝の意を表する。また、直接御指導をいただき、取りまとめにあたり有益な御助言をいただいた三重大学教授松島二良博士に謝恩の意を表する。さらに、実験の方法、技術について御援助を賜った三重大学助教授久能均博士に感謝の意を表する。最後に、本実験を遂行するために御協力をいただいた三重大学農学部園芸研究室橘昌司助教授はじめ各位に昼御礼申し上げる。

第1章 カキ果実の脱渋とエタノールおよびアセトアルデヒドとの関係について²⁸⁾

これまでの渋ガキの人為的処理による脱渋の研究より、タンニンの不溶化にはエタノールやアセトアルデヒドなどの揮発性物質が密接な関係をもっているという考え方が定説となっている^{21,28,31,32,37)}。甘ガキの樹上での自然脱渋機構においてもこの考え方が現在まで受け入れられている^{18,21,31,33)}が、これは渋ガキについて得られた知見からの類推が多い。

またカキの品種は、その脱渋性により完全甘ガキ(PCNA: Pollination Constant Non-Astringent) および完全渋ガキ(PCA: Pollination Constant Astringent)、不完全甘ガキ(PVNA: Pollination Variant Non-Astringent) および不完全渋ガキ(PVA: Pollination Variant Astringent) の4つのタイプの品種群に分類されている^{1,30)}ように、同じ甘ガキでも種子が形成されないと樹上での脱渋がおこらないPVNAの品種群と種子の有無とは無関係に脱渋が進行するPCNAの品種群が存在している。しかしながら、甘ガキの脱渋を考える上でこれら2つの品種群は同じものとして論議されていることが多い。

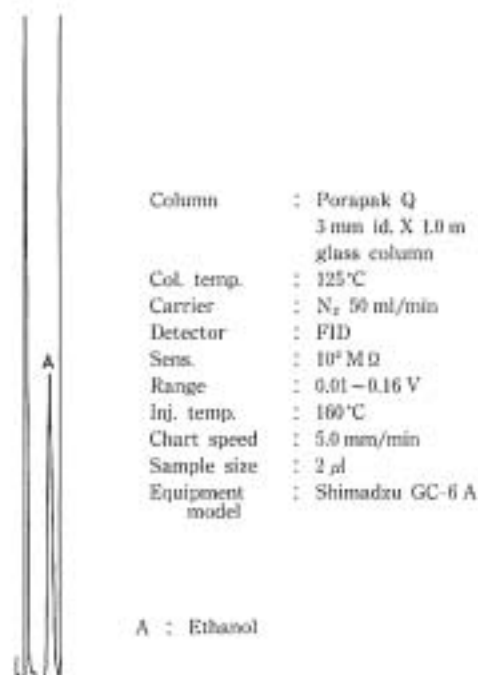
そこで本実験では、甘ガキの樹上での自然脱渋が従来からいわれているようにエタノールやアセトアルデヒドとの関係で進行しているかどうかを調査し、また同じ甘ガキでもPCNAのタイプの品種とPVNAのタイプの品種とでその脱渋性に差異がないのかを検討した。

第1節 果実中の可溶性タンニン、エタノールおよびアセトアルデヒドの時間的変化

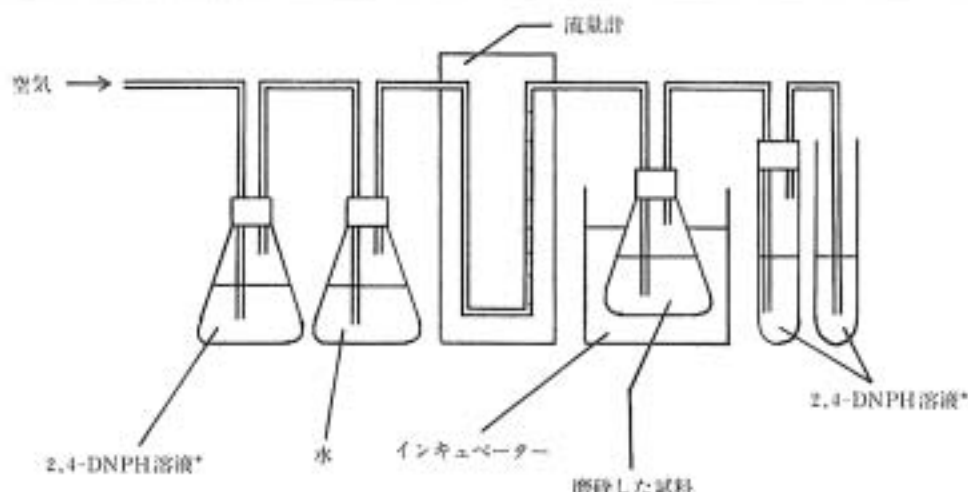
甘ガキ果実の樹上での自然脱渋過程が、従来からいわれているように果実内でのエタノールやアセトアルデヒドの蓄積との関連によって進行しているのかどうかを調べるために、果実中のこれら揮発性物質の含量を経時的に測定した。

第1項 材料及び方法

1975年に京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木の「富有」と「花御所」(PCNA)、「三國一」と「長建寺」(PVNA)、「平核無」(PVA)、「倉光」と「四谷西条」(PCA)の計7品種を供試し、これらの果実の果肉中の可溶性タンニン、エタノールおよびアセトアルデヒドの含量、また、種子中のエタノールおよびアセトアルデヒド含量を調査した。果肉については6月1日から9月24日まで、種子については果実より摘出できるようになった7月13日から9月24日までの間、時期を追って測定した。ただし、「四谷西条」の測定は7月13日より開始し、「倉光」の種子についての測定は材料の都合上行わなかった。なお、可溶性タンニンはLoewenthal法⁴⁹⁾で測定し、タンニン酸含量として算出した。エタノール含量



第1図 エタノールのガスクロマトグラム



第2図 アセトアルデヒドの捕集装置

*2,4-DNPH: 2,4-dinitrophenylhydrazine

は果肉および種子を氷冷しながら冷アセトンで磨砕し、 -20°C では24時間抽出し、その上澄み液を直接ガスクロマトグラフに注入して測定した(第1図)。また、アセトアルデヒドの測定のためには、果肉および種子を氷冷しながら蒸留水で磨砕し、第2図に示した装置を用い、2,4-dinitrophenylhydrazine の誘導体としてまずアセトアルデヒドを捕集した^{19,27)}。そしてこれを CH_2Cl_2

で溶解抽出し、 CH_2Cl_2 を蒸発乾固したのち内部標準としてアントラセンを含んだ CH_2Cl_2 に再び溶解し、その一定量をガスクロマトグラフに注入して定量した(第3図)。

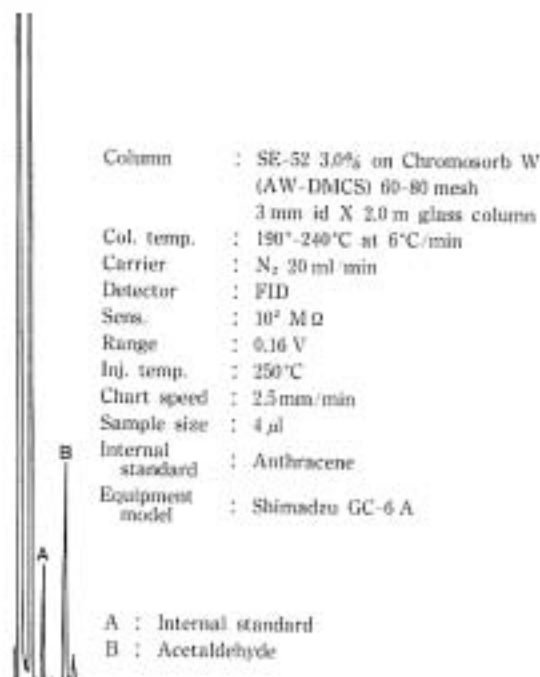
第2項 実験結果

1. 果肉中の可溶性タンニンの変化

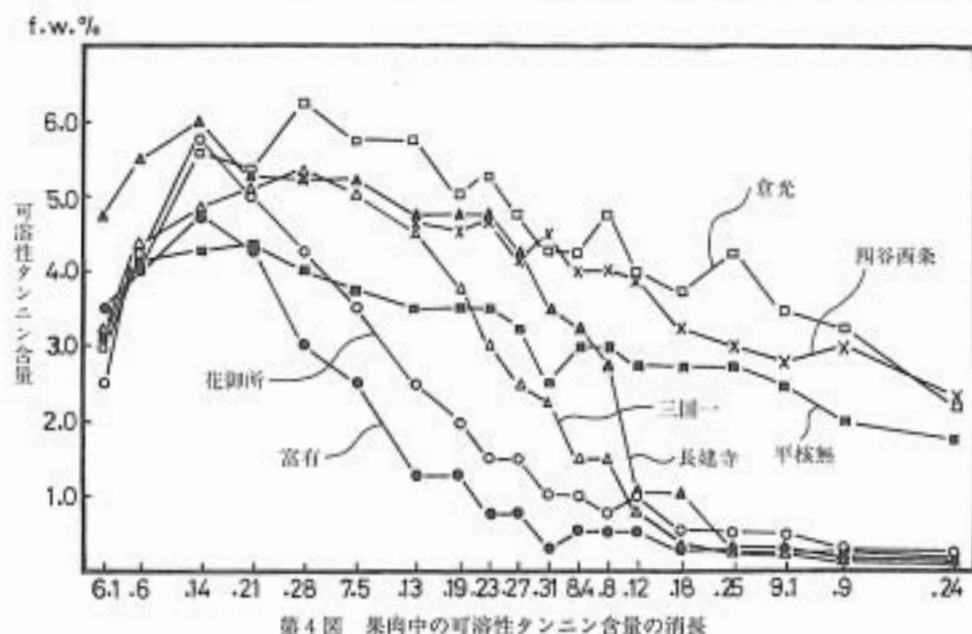
可溶性タンニンの変化は第4図のように、いずれの品種でも6月中旬ごろに最大の含量に達し以後減少したが、減少のしかたが3つのグループに分かれた。すなわち、第1のグループはPCNAの「富有」と「花御所」で6月中旬にピークに達するとただちに減少を始め、7月末頃までに大部分消失し、わずかに残ったものがその後徐々に消失していった。第2のグループはPVNAの「三國一」と「長建寺」で、7月中下旬よりきわめて急速で減少し、8月中下旬頃にはほとんど消失していた。第3のグループはPCA、PVAの渋ガキでいずれもピークに達した後徐々に減少していくが、9月24日に至っても当然のことながらかなり高い値を示していた。

2. 果肉中のエタノールおよびアセトアルデヒドの変化

果肉中のエタノールとアセトアルデヒド含量の変化をみると(第5図、第6図)、PCNAの「富有」と「花御所」では可溶性タンニンの大部分が消失する7月末まではエタノールもアセトアルデヒドもきわめて低い値で推移した。8月上旬になってようやく「富有」で両者の含量が増加しはじめたが、「花御所」では9月24日までにいずれもほとんど増加しなかった。つまり、PCNAの葉実の樹上

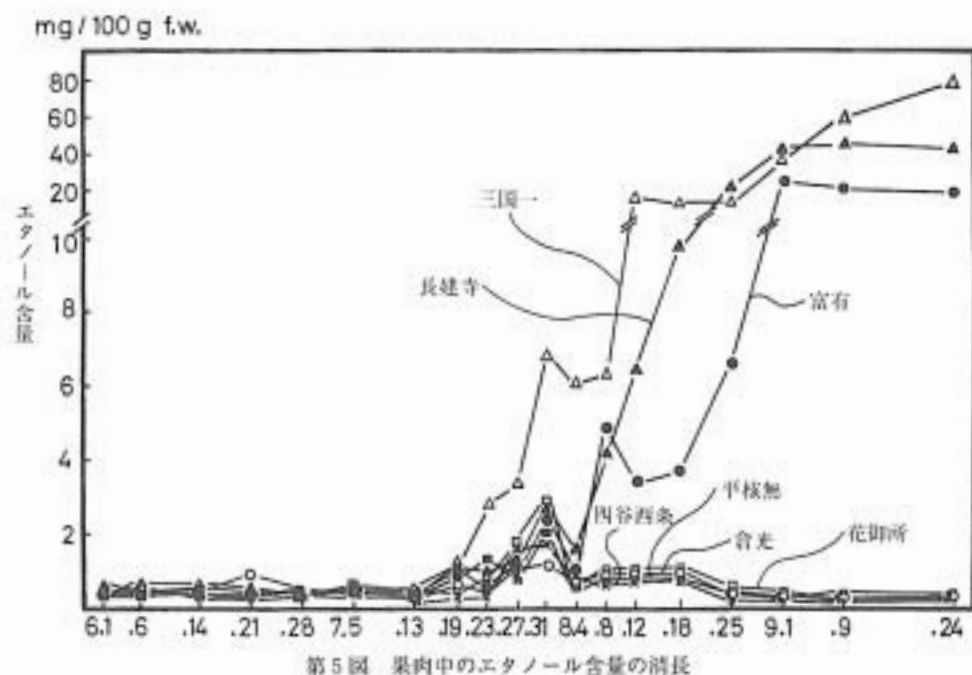


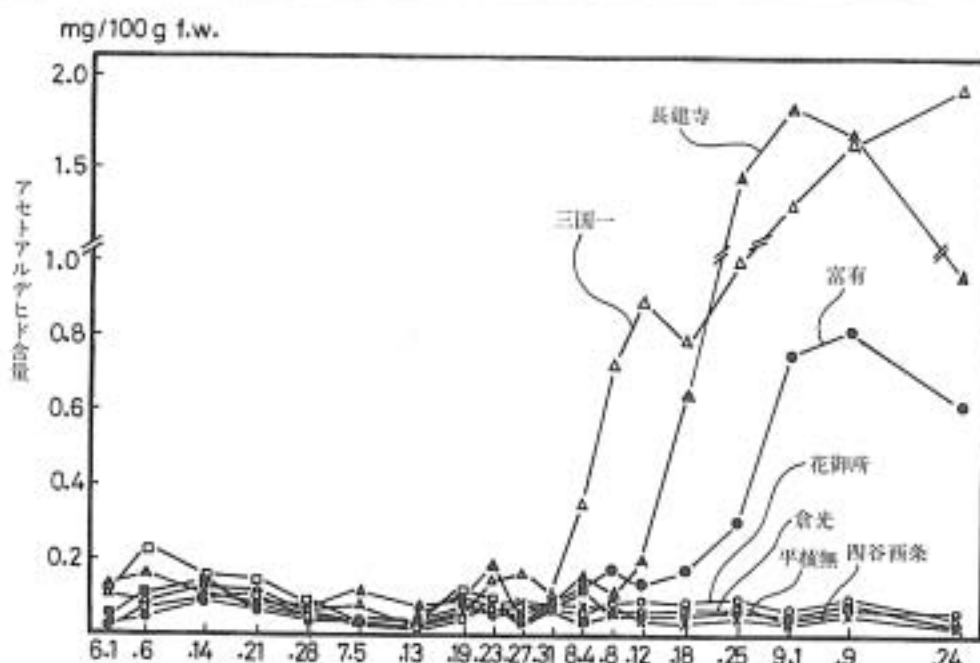
第3図 アセトアルデヒドのガスクロマトグラム



での自然脱渋と果肉中のエタノールおよびアセトアルデヒド含量との間には全く関係がみられなかった。これに対して、PVNAの‘三國一’と‘長建寺’では可溶性タンニンが急速に消失する時期にはば一致してエタノールとアセトアルデヒド含量に著しい増加がみられ、これらの

果実ではエタノールやアセトアルデヒドの生成蓄積が脱渋に直接的に関与していることが明らかとなった。なお、渋ガキの3品種については測定期間を通してエタノールもアセトアルデヒドも常に低い値のままであった。



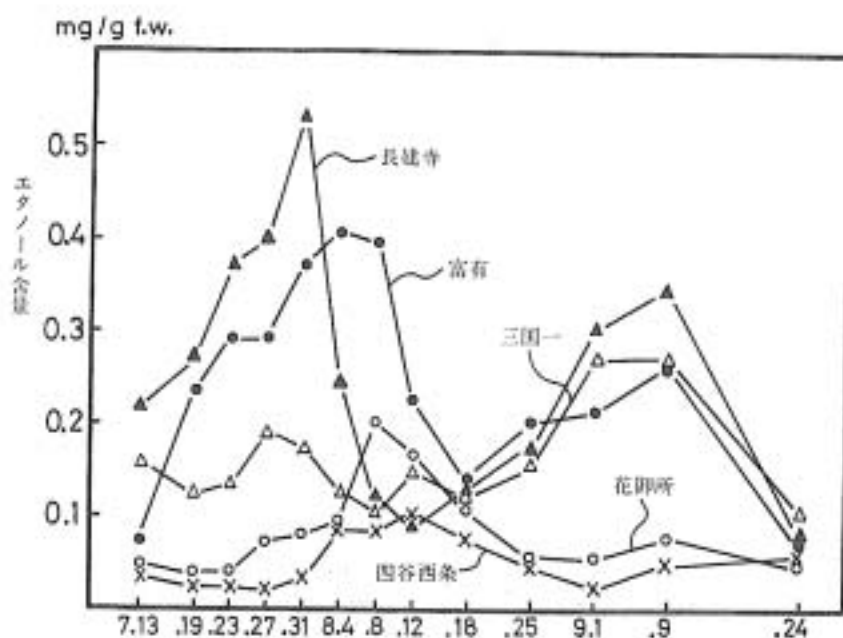


第6図 果肉中のアセトアルデヒド含量の消長

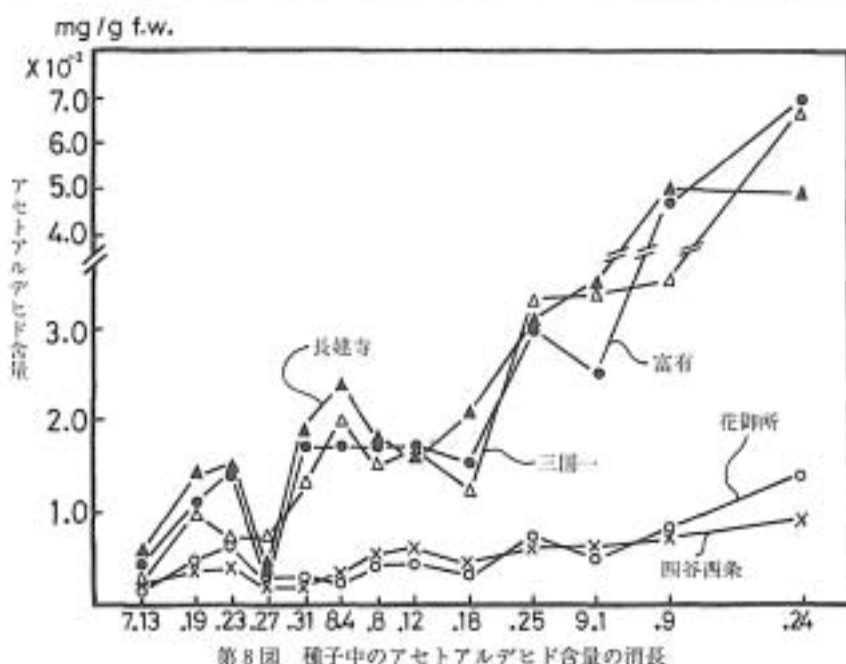
3. 種子中のエタノールおよびアセトアルデヒドの変化

‘平核無’と‘食光’を除く5品種の種子中のエタノールとアセトアルデヒド含量の消長を第7図および第8図に

示した。エタノールの消長についてみると、果肉中での含量が高かった‘富有’、‘三國一’、‘長建寺’の3品種では7月中下旬と9月上旬とに高いピークを示し、‘花御所’と‘四谷西条’では8月上旬にわずかなピークを一つ



第7図 種子中のエタノール含量の消長



示すだけであった。いっぽう、アセトアルデヒド含量は果肉での含量の高かった3品種でのみ測定期間を通して増加し続け、'花岡所'と'四谷西条'では低い値のままであった。これらの結果は果肉に蓄積するエタノールやアセトアルデヒドは種子に由来するものであることを強く示唆している。

第2節 エタノールおよびアセトアルデヒド処理による'富谷'(PCNA)および'平核無'(PVA)幼果の樹上脱渋の比較

前節において、PCNAの果実の樹上での自然脱渋は果肉中のエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積とは全く関係がないことが明らかとなった。そこで、PCNAの果実が効果期においてこれらの揮発性物質によってどのような脱渋性を示すのかという点を明確にする目的で本実験を行った。

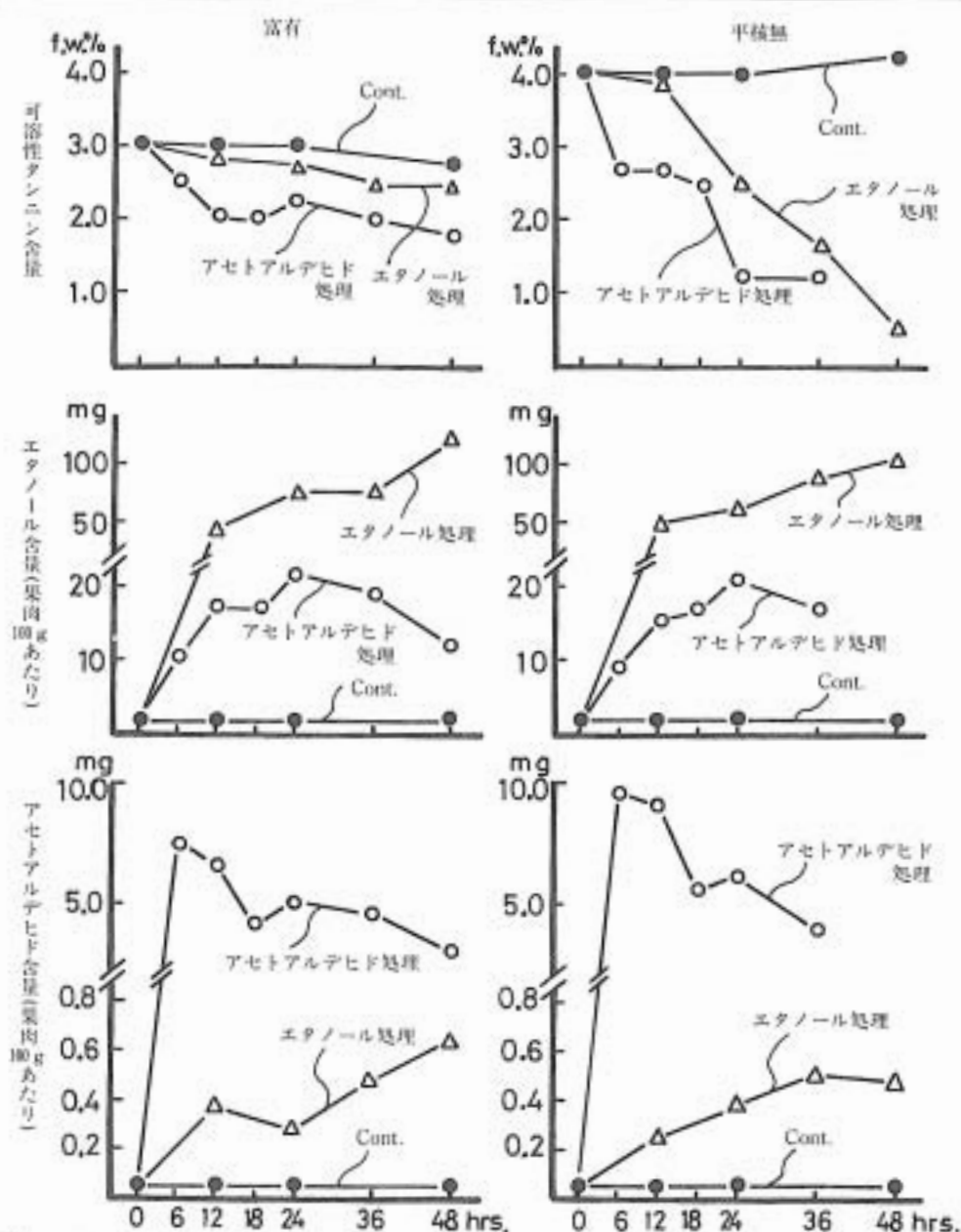
第1項 材料及び方法

'富谷'と'平核無'の成木(京都大学農学部附属農場植栽)を用い、幼果期(1976年7月1日)の両品種の果実にエタノールとアセトアルデヒドによって樹上で人工脱渋処理²⁰⁾を行い、その脱渋効果を調べた。すなわち、これらの蒸気が果実内部に浸透しやすいように処理直前に果頂部付近の果皮をカミソリで一部はく皮した後、5

%エタノールあるいは1%アセトアルデヒド水溶液を5mlずつ入れたポリエチレン袋で果実を被袋し、その後48時間における果肉中の可溶性タンニン、エタノール及びアセトアルデヒド含量を経時的に測定した。対照としては両品種とも果皮を一部はく皮しただけの果実を測定した。なお、これらの測定方法は前節と同様である。

第2項 実験結果

本実験の結果は第9図に示すように、エタノール処理によって果実に蓄積するエタノール量およびアセトアルデヒド処理によって蓄積するアセトアルデヒド量には両品種間であまり差異はみられなかった。さらに、エタノール処理によって生ずるアセトアルデヒド量にも、アセトアルデヒド処理によって生ずるエタノール量にも両品種間でほとんど差異はみられなかった。それにもかかわらず両品種間で可溶性タンニンの消滅に著しい差異がみられた。すなわち、エタノール処理では'平核無'果実は48時間後にはほぼ脱渋しているのに対して、'富谷'ではほとんど脱渋しなかった。いっぽう、アセトアルデヒド処理でも同様で、'平核無'では急速に脱渋が進行するのに対して'富谷'では若干脱渋する程度であった。ただ、アセトアルデヒド処理では薬害が激しく、'平核無'では48時間後には果実がすべて落果しており、'富谷'でもかなり著しい傷害がみられたので、アセトアル

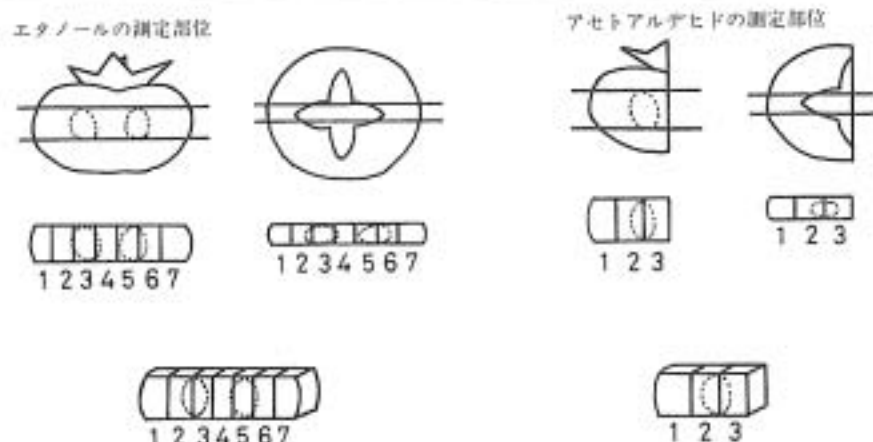


第9図 エタノールおよびアセトアルデヒド処理が「富有」および「平核無」果実の可溶性タンニン、エタノールおよびアセトアルデヒド含量に及ぼす影響

デヒド処理による可溶性タンニンの減少は傷害による影響とも考えられる。いずれにせよ、PCNAの「富有」ではエタノールやアセトアルデヒドが脱渋の原因をなす物質でないことは明らかである。

第3節 果実中のエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積に及ぼす種子の影響

第1節において果実中に蓄積するエタノールやアセトアルデヒドは種子に由来していることが示唆されたので、このことを明確にするために有種子の果実とジベレリン(GA₃)処理によって単為結果させた無種子の果実につ



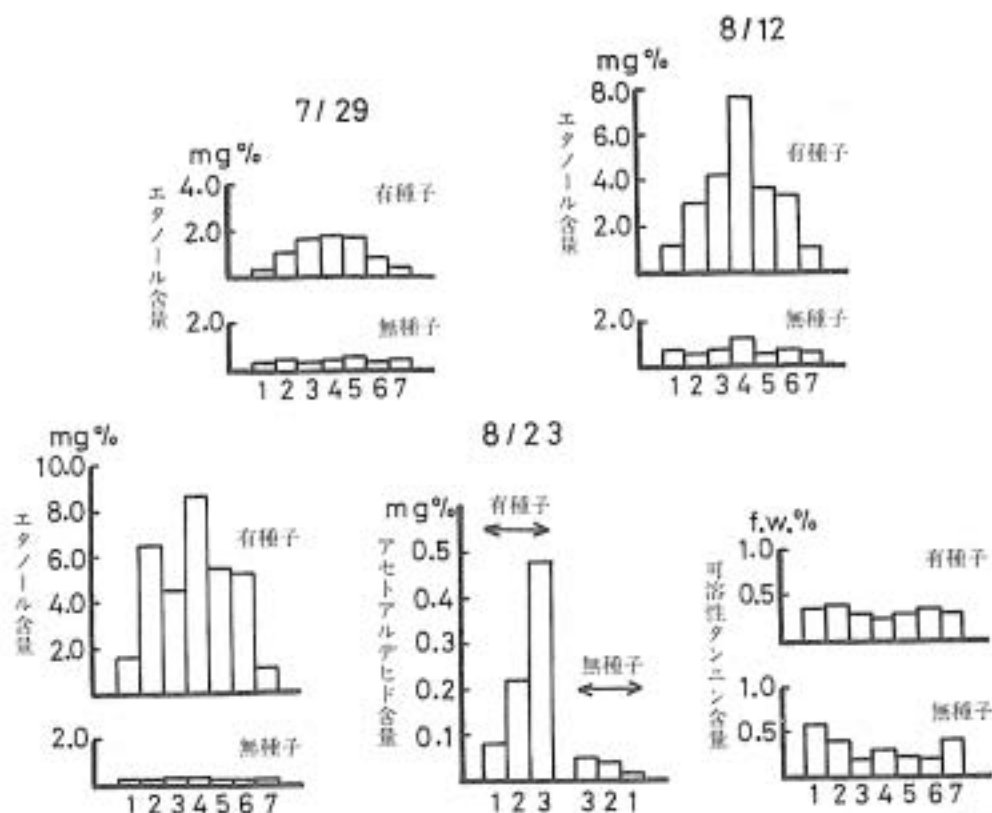
第10図 果肉中のエタノールおよびアセトアルデヒドの測定部位

いて果肉中のエタノールとアセトアルデヒド含量を測定し、これら揮発性物質の蓄積に及ぼす種子の影響を調査した。

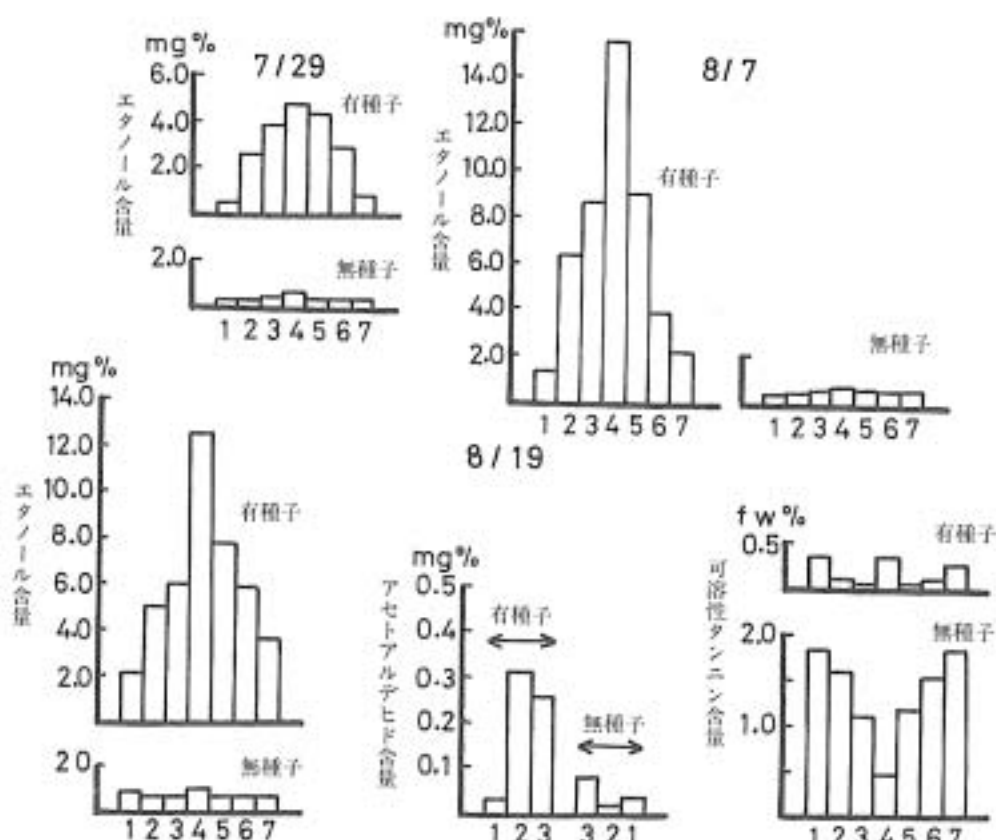
第1項 材料及び方法

京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木

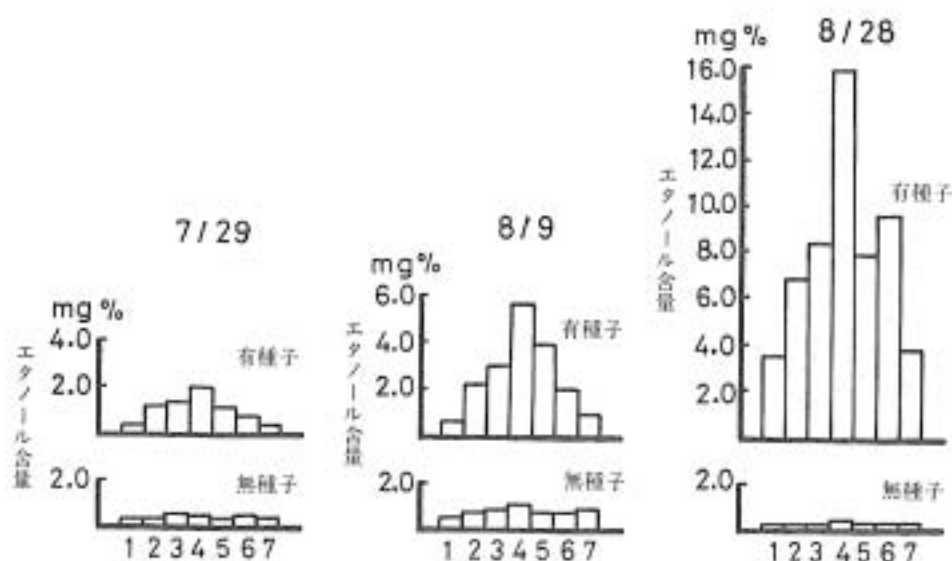
の‘富有’と‘花御所’(PCNA)‘甘百目’と‘大丹羽’(PVNA)‘倉光’(PCA)の5品種について、GA₃で単為結果させた無種子の果実と有種子の果実を1976年7月下旬より8月下旬までの間に2～3回採取し、第10図のように果肉を種子からの距離による部位別にわけ、それぞ



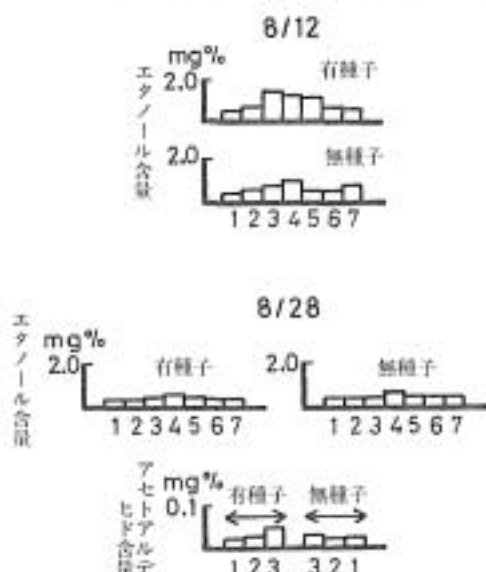
第11図 ‘富有’における有種子および無種子果実の部位ごとのエタノールおよびアセトアルデヒド含量



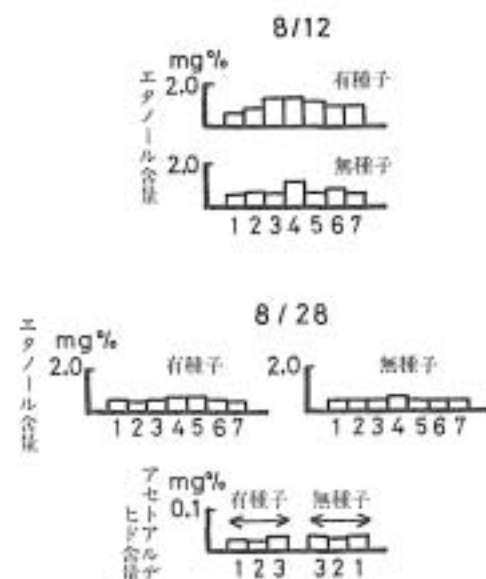
第12図 「甘百目」における有種子および無種子果実の部位ごとのエタノールおよびアセトアルデヒド含量



第13図 「大丹羽」における有種子および無種子果実の部位ごとのエタノール含量



第14図 '花御所' における有種子および無種子果実の部位ごとのエタノールおよびアセトアルデヒド含量



第15図 '倉光' における有種子および無種子果実の部位ごとのエタノールおよびアセトアルデヒド含量

れの部位のエタノールとアセトアルデヒド含量を測定した。ただし、アセトアルデヒド含量は各品種とも最後の採取時のみに測定し、'大丹羽' については分析していない。また、'富有' と '甘百目' については最後の採取時に各部位の可溶性タンニン含量も含めて測定した。エタノールとアセトアルデヒド含量及び可溶性タンニンの調

定は第1節と同様の方法による。なお、GA₃処理は5月22～27日（開花直前）、6月3～4日、6月23日、7月8日の4回 GA₃ 500 ppm 溶液 (Tween-20 0.05%) を果実に塗布することによって行った。

第2項 実験結果

それぞれの品種の有種子果実および無種子果実の果肉の各部位のエタノールとアセトアルデヒド含量は第11図から第15図に示した。これらの結果から明らかなように、'富有'、'甘百目'、'大丹羽' では測定したいずれの時期においても有種子の果実では果肉にエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積が認められ、種子の近くの部位でその含量が高かった。しかしながら、GA₃ で単為結果させたこれら3品種の無種子果実では果肉中どの部位にもエタノールおよびアセトアルデヒドをほとんど認めることができなかった。これらのことより、果実中に蓄積するエタノールやアセトアルデヒドは種子に由来していることが確実となった。また、'富有' において単為結果した無種子の果実にはどの部位にもエタノールおよびアセトアルデヒドの蓄積が認められないが、それにもかかわらず渋味はほとんど消失していた。このことは、前節までに認められた PCNA の品種の樹上での自然脱渋がエタノールやアセトアルデヒドと無関係に起こっているという事実をさらに明確にした。いっぽう、'花御所' と '倉光' では測定したいずれの時期にも、有種子果および無種子果とも果肉中のどの部位でもエタノールやアセトアルデヒドの蓄積がみられなかった。

第4節 考 察

掛下が渋ガキの温湯脱渋に際して多量のエタノールやアセトアルデヒドが生成すること²¹⁾ や、渋ガキ果汁にアセトアルデヒドを滴下すると可溶性タンニンが不溶化すること²⁰⁾ を認めて以来、脱渋現象はアセトアルデヒドによるタンニンの凝合であるという説がほぼ正しいと考えられてきた^{21,24,25,26)}。ただ北川²⁰⁾ はこの考え方に若干の疑問を投げかけているが、いずれにしてもこれらの揮発性物質が脱渋に大きく関係しているということは定説となっている。したがって、このような考え方から、甘ガキ果実が樹上で脱渋するのも果実の発育過程においてこれらの揮発性物質が自然に生成蓄積するためであろうと推察されてきた。事実、掛下²¹⁾ は樹上で自然脱渋した'榎丸'の果実中にエタノールとアセトアルデヒドが多量に蓄積していることを認めているし、伊藤²⁴⁾

は「富有」と「種寺丸」について、平田¹⁵⁾は「富有」について同様の結果を報告している。さらに最近では、中村⁶¹⁾が甘ガキ8品種の果実中のエタノールとアセトアルデヒド含量を測定し、それらの含量が高いことを再確認している。しかしながら、これらの報告に共通していることは甘ガキでもPCNAとPVNAとの違いを問題にしていないこと、いずれも自然脱渋がほとんどすんだのちの果実を分析していることである。本実験において、PVNAの品種では果肉に蓄積するエタノールやアセトアルデヒドが樹上での自然脱渋に密接に関係していることが認められたが、PCNAの品種ではこれらの揮発性物質とは全く無関係に自然脱渋が進行していることがわかった。すなわち、PCNAの「富有」や「花御所」では可溶性タンニンの大部分が消失する7月下旬までは少なくともエタノールやアセトアルデヒドは果肉にほとんど蓄積しておらず、「花御所」にいたっては測定期間の最後まで渋ガキと同様にきわめて低い値であった。ただ、「富有」において、8月上旬中になってこれらの急速な増加をみるものの、もはや脱渋とは関係のない蓄積であり、GA₃処理によって単果結果させた「富有」の無種子果実ではこの時期においてもこれら揮発性物質が全く蓄積せずに樹上での脱渋がおこっていた。

以上のように、甘ガキの樹上での自然脱渋の機構はエタノールやアセトアルデヒドが自然に果肉内に蓄積するために脱渋するpollination variantの甘ガキと、これらの蓄積とは全く無関係に脱渋するpollination constantの甘ガキの二通りにはっきり区別して考える必要がある。前者の脱渋機構は従来より渋ガキ(PCAもPVAも)についていわれているアセトアルデヒドによる縮合説で説明されるものの、後者についてはこの考え方では説明出来ない。逆にPCNAの「富有」の幼果では、樹上でエタノールやアセトアルデヒド処理をしてもほとんど脱渋が認められず、アセトアルデヒドによるタンニンの縮合がおこらなかった。これらのことはpollination constantの甘ガキの脱渋性に於ける特異性を明確に示しており、PCNAの果実についてはその脱渋機構を改めて検討する必要があると思われる。

次にエタノールとアセトアルデヒド含量の経時的变化の調査において、「三國一」、「長建寺」および「富有」の3品種で果肉中にこれら揮発性物質が著しく蓄積したが、これらは種子に由来するものであることが示された。従来、pollination variantの果実では種子形成が脱渋や樹

斑発生に密接に関与することがよく知られていた^{26,29)}が、種子がどのような作用によってそれらに影響するのかはほとんど調べられていない。本実験において、果肉中にエタノールやアセトアルデヒドが蓄積する品種では種子中のこれらの含量が高く、とくにアセトアルデヒド含量は経時的に著しく増加することが認められた。また、カキ5品種について有種子果とGA₃処理の無種子果で発育中期から後期の果肉中の部位別のエタノールとアセトアルデヒド含量を比較したところ、PVNAの「大丹羽」および「甘百目」とPCNAの「富有」ではそれらの含量は無種子果できわめて低く、有種子果では高い値を示しとくに種子の近くの部位でその傾向が顕著であった。いっぽう、「花御所」と「食光」では種子の有無にかかわらずいずれも低い含量であった。さらにSUGIURAとTOMANA⁷⁷⁾はカキ40品種の発育中の種子についてエタノールの含量を比較し、PVNAの品種の種子は他の品種に比べて概して多量のエタノールを生成していることを確認している。これらの結果からも、果肉中に蓄積するエタノールやアセトアルデヒドは種子で生じたものであろう。ただここで明らかのように、種子のエタノールやアセトアルデヒドの発生はカキの種類によって著しく異なっており、PCNAの品種を除けば、これらの発生のしやすさの違いが樹上での脱渋性の差異をもたらしていると思われる。

第5節 摘 要

樹上で進行する甘ガキの自然脱渋に、渋ガキの脱渋の原因物質であるとされているエタノールやアセトアルデヒドが果たして関与しているのかどうかを明らかにする目的で実験を行った。

1) pollination constantの甘ガキの「富有」と「花御所」では可溶性タンニンの大部分が消失する7月下旬までは果肉中のエタノールおよびアセトアルデヒド含量はきわめて低い値で推移し、脱渋との関係は全く認められなかった。さらに、「富有」の幼果についてエタノールとアセトアルデヒド処理によって樹上脱渋を試みたがほとんど脱渋効果が認められなかった。これらのことよりpollination constantの甘ガキの樹上での自然脱渋は従来からいわれている縮合説とは全く別の機構で進行していることが明らかとなった。

2) pollination variantの甘ガキの「三國一」と「長建寺」は7月中下旬より急速に可溶性タンニンが消失し、

この時期とはほぼ一致して果肉に多量のエタノールとアセトアルデヒドが蓄積した。つまり、これらの果実の脱渋には渋ガキの場合と同様にエタノールやアセトアルデヒドがきわめて密接に関係していることが確かめられた。いっぽう、'平核無'、'倉光' および '四谷西条' の渋ガキでは生育期間を通して果肉中にエタノールおよびアセトアルデヒド含量は低いままであった。

3) 果肉中にエタノールやアセトアルデヒドが多量に蓄積する品種では、種子からこれらの揮発性物質が発生し、それが果肉中に蓄積することが推察される。そして pollination constant の甘ガキを除けば、これらの発生のしやすさの違いによって果実の脱渋性の差異がもたらされていると思われる。

第2章 カキ果実のタンニンの化学的差異^{28,29)}

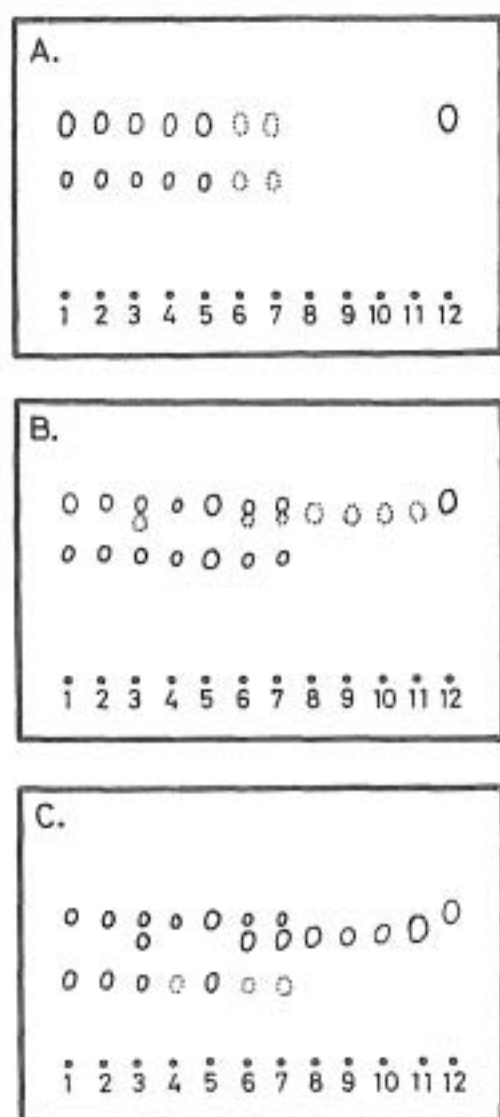
カキ果実のタンニンの化学的な研究は小松ら^{40,41,42,43,44,45)}によって最初に始められ、その後現在までにいくつかの報告がみられる^{21,22,23,27,54)}。しかしながら、これらの研究はいずれも渋ガキのタンニンをその調査の対象としており、甘ガキのタンニンについてはほとんど研究されていない。現在まで甘ガキと渋ガキのタンニンの化学的差異を研究している報告はわずかに中林²⁰⁾がそのタンニン構成成分の質的差異を認めているのみである。

いっぽう、前章において PCNA のカキ果実の脱渋性における特異性が明らかになり、PCNA のカキの観上での自然脱渋は従来からいわれているようなエタノールやアセトアルデヒドとの関係で進行しているのではなく、PVNA、PVA、PCA のカキの脱渋機構とは明らかに異なっていた。この事実は PCNA のカキ果実のタンニンが化学的に特異性のあることを推測させる。

そこで本実験ではカキの品種間におけるタンニンの質的な差異を調査し、PCNA の果実とその他の品種群の果実との間にタンニンの化学的な差異が存在するかどうかを検討した。そしてこれらの差異とその脱渋機構との関連性もあわせて考察した。

第1節 タンニンの構成成分の質的差異

カキ果実のタンニン物質に品種間で化学的差異が存在するかどうかを調べる目的で、まずタンニンの構成成分となる低分子フェノールの質的差異を TLC によって調査した。



第16図 甘ガキおよび渋ガキの酢エチ可溶性分画のフェノールの TLC

1. 富有 2. 次郎 3. 花御所 4. 製御所 5. 晩御所
6. 三國一 7. 長建寺 8. 平核無 9. 倉光 10. 四谷西条
11. 没食子酸 12. d-カテキン

展開液 クロロホルム：アセトン：酢酸
(40：60：1)

発色剤 A：ワニリン硫酸
B：diazotized sulfanilic acid
C：フェノール試薬

第1項 材料及び方法

1977年6月27日、京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木のうち、PCNA の '富有'、'次郎'、'花御所'

所、'花御所'、'晚御所'、PVNAの'三國一'、'長建寺'、PVAの'平核無'およびPCAの'倉光'、'四谷西条'の計10品種の果実を採取し、凍結乾燥した後粉砕した。この凍結乾燥粉末1gを80%メタノールで抽出し、濃縮して水相とした後、pH3.0に調整し酢酸エチルで抽出した。そしてこの抽出液を濃縮後シリカゲルプレート(Kieselgel 60F₂₅₄, Merk社)にスポットし、クロロホルム:アセトン:酢酸(40:60:1)で展開してフラバノール型のフェノールをワニリン硫酸⁽²⁾および diazotized sulfanilic acid⁽³⁾で、全フェノールをフェノール試薬⁽⁴⁾で検出した。

第2項 実験結果

供試した10品種の酢酸エチル可溶性分画のフェノールの薄層クロマトグラムは第16図に示した。これより明らかに、タンニン構成成分となるフェノールの組成に品種間で顕著な差異が認められた。すなわち、*pollination constant*の甘ガキではいずれの品種においてもカテキンと思われるスポットを含む2つの明瞭なフラバノール型のフェノールが検出できた。これにたいして、浪ガキである'平核無'、'倉光'および'四谷西条'ではフラバノール型のフェノールは全く認められず、'花御所'以外のPCNAの品種においては検出されない没食子酸と思われる大きなスポットだけが認められた。また、PVNAの'三國一'と'長建寺'においては没食子酸とおもわれるスポットとフラバノール型のフェノールのスポットの両方が検出できた。以上のことより、タンニン構成成分となる低分子のフェノールのうち、カテキンと没食子酸を指標として品種間のタンニンの質的差異の検討が可能であると思われる。

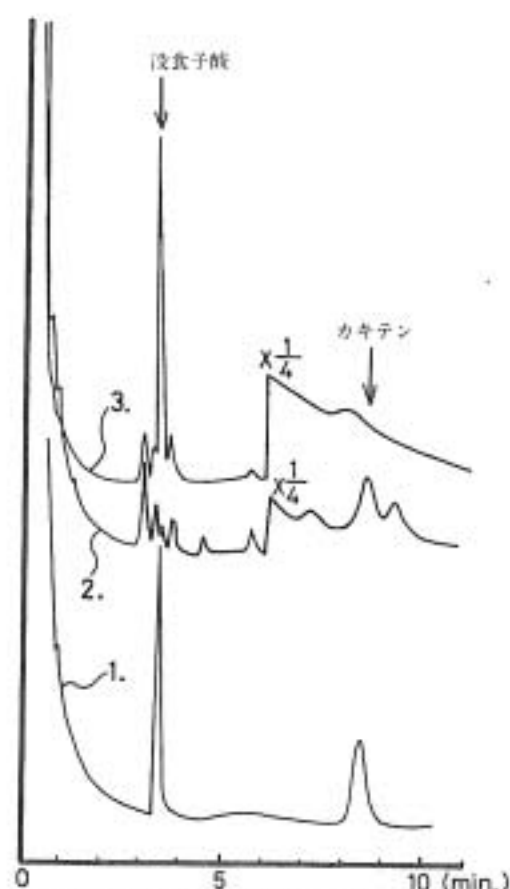
第2節 タンニン構成成分の時間的変化および品種間差異

前節においてタンニンの構成成分となる酢酸エチル可溶性分画のフェノール組成を調査した結果、カテキンと没食子酸に品種間で大きな差異が存在していることがわかった。そこで、これら2つのフェノールの含量を数品種について経時的に測定し、品種間におけるこれらの含量の消長の差異を調査した。また一時期において、この両者の含量の品種間差異もあわせて調査した。

第1項 材料及び方法

京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木のうち、PCNAの'富有'と'花御所'、PVNAの'長建寺'

と'三國一'、PVAの'平核無'およびPCAの'倉光'と'四谷西条'の計7品種の果実を1978年6月1日より10月5日までの間、1~3週間間隔で採取した。これらの果実は採取後凍結乾燥し、粉砕して粉末としてからタンニン含量とカテキンおよび没食子酸含量を測定した。タンニン含量は凍結乾燥粉末200mgを80%メタノールで抽出した後、フェノール試薬を用いてSwainとHillisの方法⁽⁵⁾で全フェノール量として測定し、カテキン当量として算出した。カテキンと没食子酸含量は試料500mgの80%メタノール抽出液を濃縮して水相とした後、



第17図 カテキンおよび没食子酸のガスクロマトグラム
カラム: 3mm id×1.0m ステンレスカラム (3.0% SE-30)
カラム温度: 160°C-260°Cまで昇温 (20°C/min)
検出器: FID

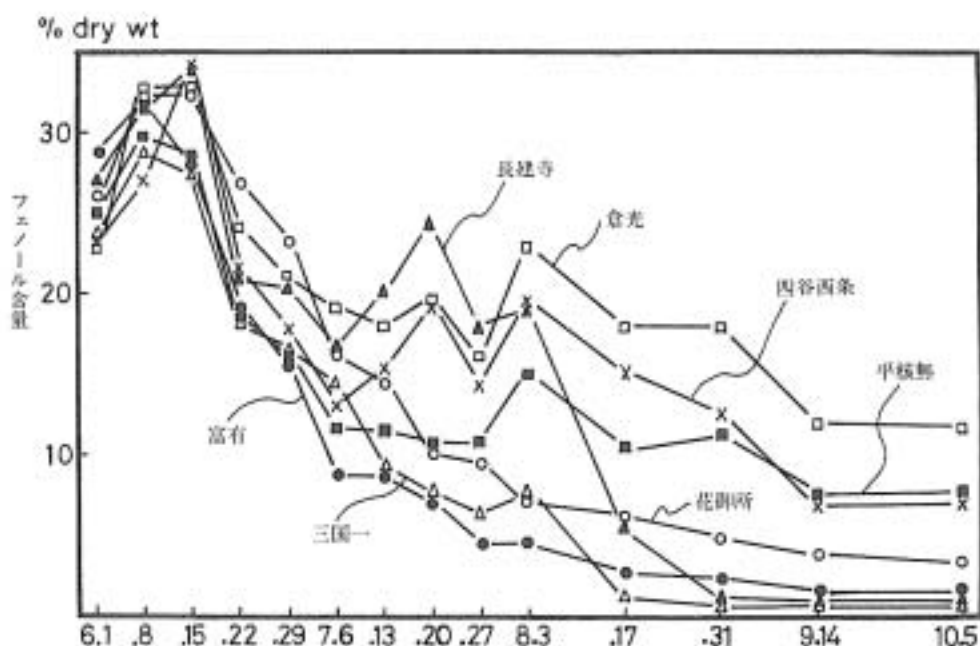
検出器および試料室温度: 280°C
キャリアー: N₂ (40 ml/min)

1. 標品 2. 富有 3. 平核無

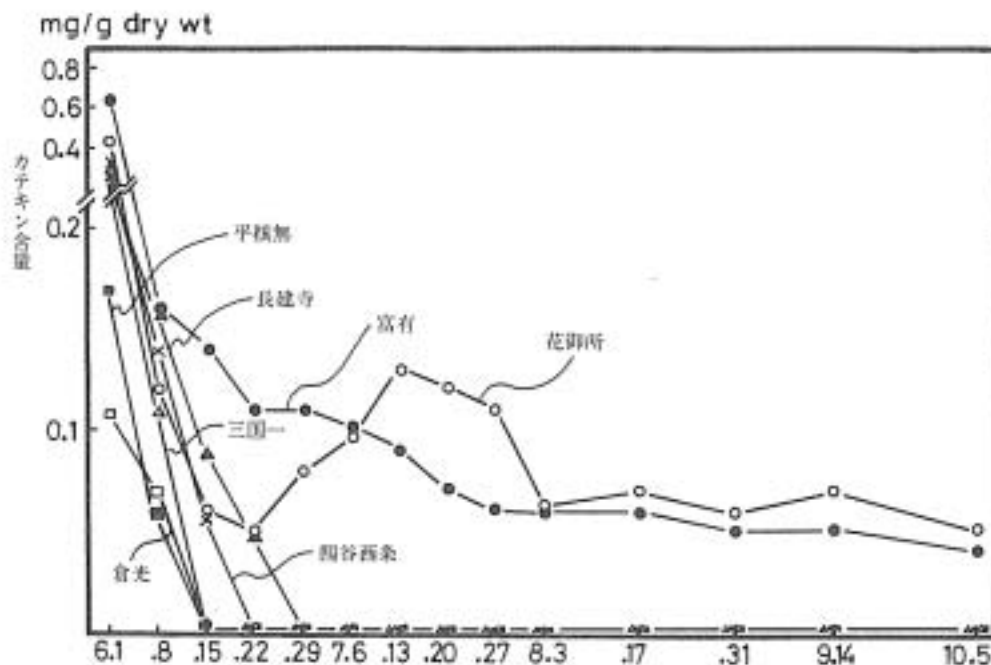
pH5.0 に調整し、酢酸エチルで抽出、蒸発乾固後 TMS 化してガスクロマトグラフにより測定した (第17図)。

また、1979年6月25日に京都大学農学部附属農場植栽のカキ成木のうち、PCNA の8品種、PVNA の7品種、

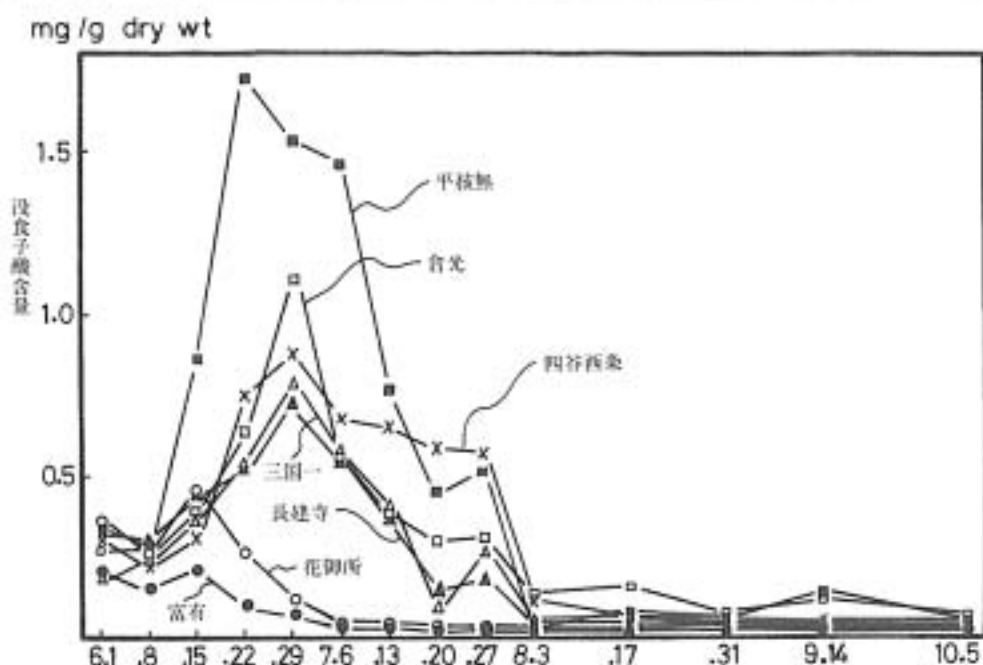
PVA の7品種、PCA の8品種の計30品種の果実を採取し、同様な測定をした。ただしこの場合、タンニン含量については果肉 5g を用い Loewenthal 法⁴⁰⁾で測定し、タンニン酸当量として算出した。またカテキンと没



第18図 果肉中のフェノール含量の消長



第19図 果肉中のカテキン含量の消長



第20回 果肉中の没食子酸含量の消長

食子酸の測定には果肉 5g を80%メタノールで抽出し、前記同様にガスクロマトグラフにより分析した。

第2項 実験結果

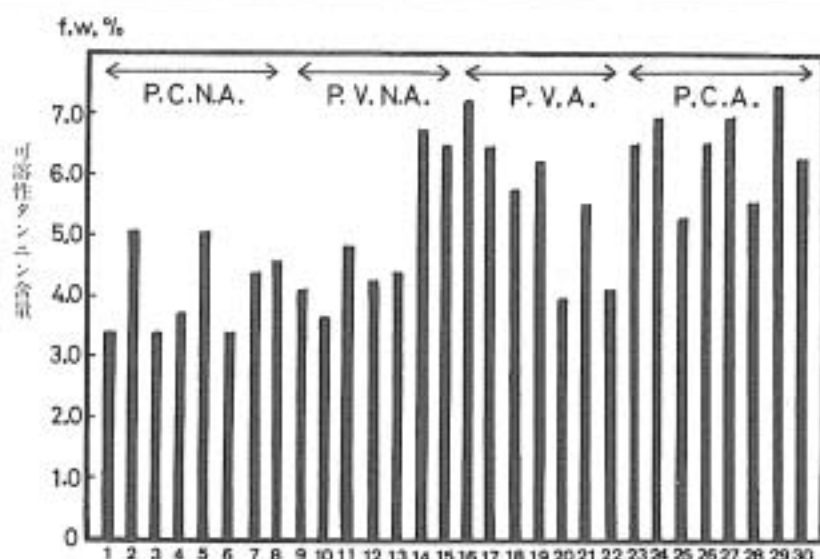
1. 時間的变化

果肉中のフェノール含量および酢酸エチル可溶性分画のカテキンと没食子酸含量の経時的变化はそれぞれ第18回、第19回、第20回のようにであった。まず果肉中のフェノール含量の変化についてみると、いずれの品種においても6月中旬に最大の含量となり、その後急速に減少したが、PCNAである「富有」と「花御所」ではより速やかに減少し、8月にはほとんどかなり低い値を示していた。一方、PVNAの「三国一」も7月下旬までは「富有」や「花御所」に近い減少カーブを示したが、8月上旬から中旬にかけての減少がより著しく、同じPVNAである「長建寺」と同様な傾向を示した。これに対してPVAやPCAの果実は6月下旬から7月初旬以後の減少はさきわめて緩やかになり、10月5日に至ってもかなり高い値を示した。次に第19回、第20回のカテキンと没食子酸含量の変化についてみると、明らかに2つのグループに分かれることが認められた。まずカテキン含量についてみると、6月始めにはすべての品種で高い値が認められ、その後の減少の様相が大きく2つに分かれ、6

月中下旬以後は全く認められなくなるPVNA、PVA、PCAのグループと、10月5日まで検出されるPCNAのグループに明瞭に区分できた。いっぽう、没食子酸含量についても6月中旬よりその含量が減少し、7月にはほとんど認められなくなるPCNAの「富有」と「花御所」のグループと、逆に6月中旬より含量が急増し、6月下旬にピークに達するPVNA、PVA、PCAのグループに分かれた。しかし、後者のグループもその後含量が減少し、8月になるときわめて低い値まで低下した。

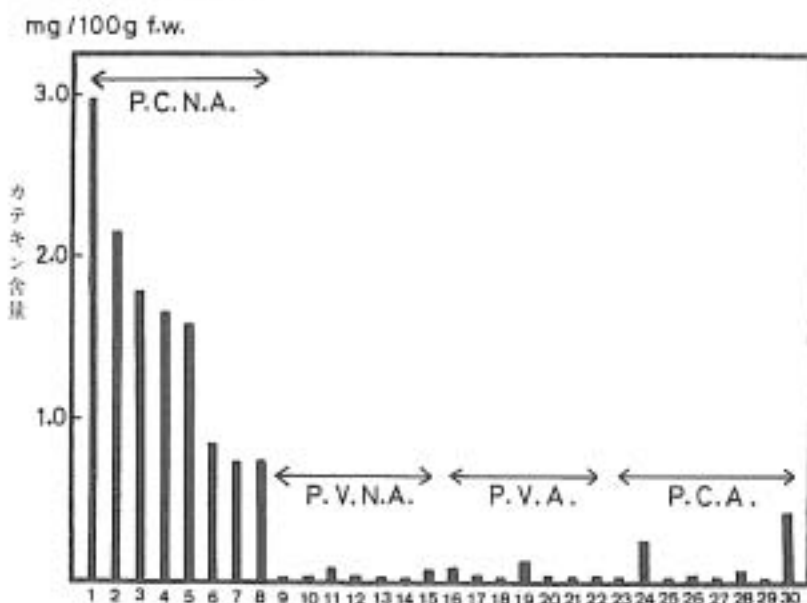
2. 品種間差異

6月25日に採取した30品種の果実について、可溶性タンニン、カテキン、没食子酸の含量を測定した結果が第21回、第22回、第23回である。可溶性タンニン含量には品種間差異は認められたものの、甘ガキと渋ガキの間に明らかな差は認められなかった。しかし、カテキンと没食子酸含量においては前述の7品種でみられた傾向がさらに明瞭に示された。すなわち、カテキン含量はPCNAに属する品種ですべてかなり高い値を示しているのに対して、その他のPVNA、PVA、PCAのほとんどの品種においてはごくわずしか検出することができなかった。これとは逆に、没食子酸含量はPCNAの品種では低い値を示し、他の3グループの品種では総体的



第21図 果肉中のタンニン含量の品種間差異

1. 晩御所 2. 花御所 3. 次郎 4. 富有 5. 天神御所 6. 裂御所 7. 駿河 8. 藤原御所 9. 三ヶ谷御所 10. 棒寺丸 11. 甘百目 12. 三国一 13. 長建寺 14. 甘四清 15. 油壺 16. 堂上峰屋 17. 紋平 18. 薔平 19. 甲州百目 20. 平核無 21. 衣紋 22. 会津身不知 23. 横野 24. 四谷西条 25. 倉光 26. 薬隠 27. 西条 28. 大磨替 29. 愛宕 30. 清白寺

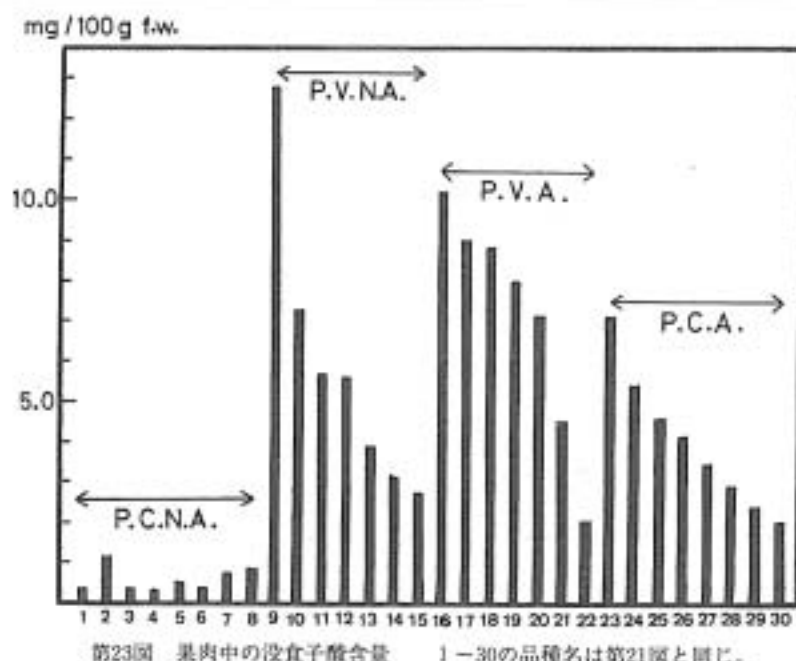


第22図 果肉中のカテキン含量の品種間差異 1-30の品種名は第21図と同じ。

にかなり高い値を示していた。これらの結果は PCNA のカキ果実のタンニンがその他の品種群の果実のそれとは質的に異なり、かなり特異性をもっている可能性を示唆している。

第3節 タンニンの分子量分布の時期的変化および品種間差異

前2節において、タンニンの構成成分となる低分子フェノールの組成が PCNA の品種と PVNA, PVA,



PCA の品種との間で大きく異なっていることが明らかとなった。一方、縮合型タンニンの場合、それを含んでいる植物の種類によって骨格となるポリフェノールの組み合わせが異なる⁸⁴⁾だけでなく、種によって^{25,85)}あるいは生育段階によって¹⁰⁾その重合度が変わり、タンニンの分子量分布に差が認められることが報告されている。そこで、本節ではカキ果実の生育段階に伴うタンニンの分子量分布の変化を経時的に測定し、また一時期においてこの品種間差異を調査し、PCNA のカキ果実のタンニンの特異性をより明確にしようとした。

第1項 材料及び方法

供試品種として三重大学農学部附属農場植栽の「富有」(PCNA)と「平核無」(PVA)の成木を用い、1980年5月13日より8月5日までの間、タンニンを分子量の大きさに別々に測定するため、分子ふるい効果によるカラムクロマトグラフィーの分離パターンの変化を調査した。

このためには果肉 2.5 g を 60% アセトンで抽出し、一定容 (5 ml) とした後、その一部を分析に供した。分子量の大きさによる分別にはカラムクロマトグラフィーの担体として CPG-10 の pore size 120 Å および 2000 Å (Electro-Nucleonic, inc) の 2 種類を用いた⁸⁶⁾。カラムは 1.0×100 cm のものを使用して、上記試料を一定量添加後、60% アセトンで溶出し 2 ml ずつの分画を得た。タ

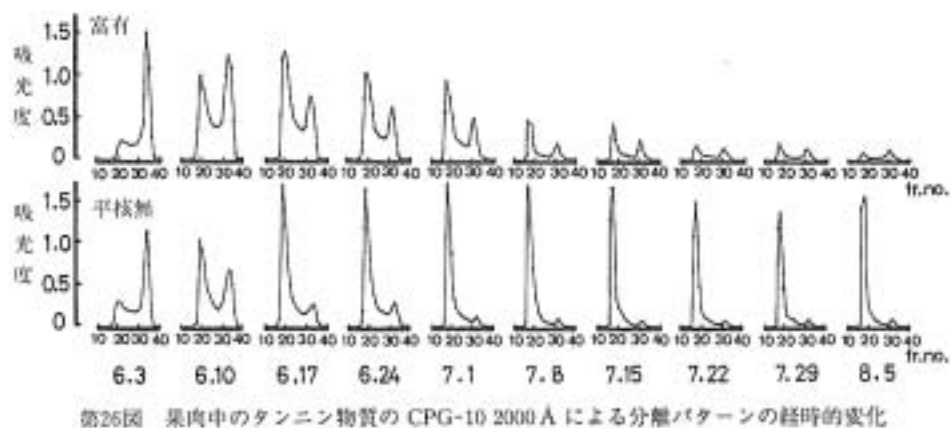
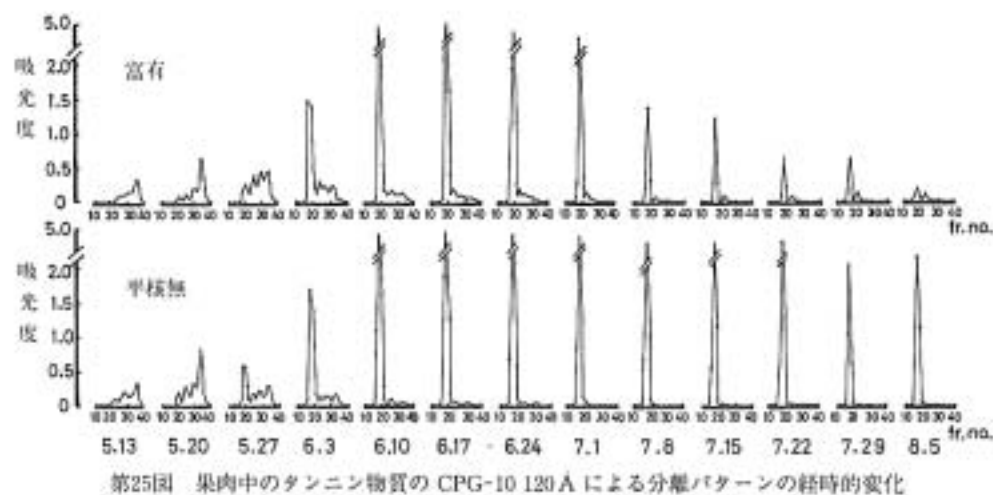
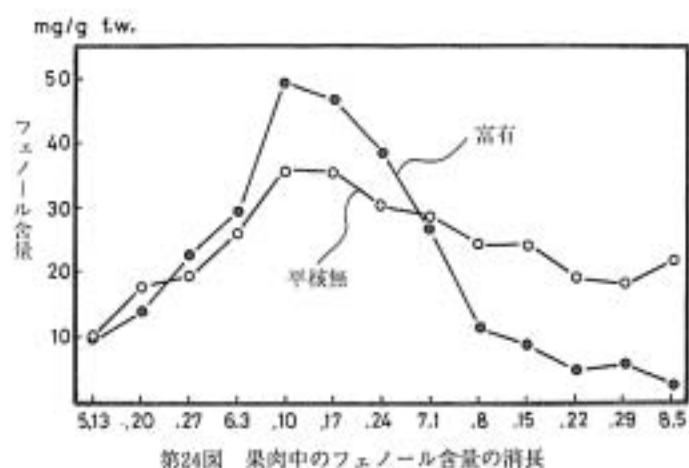
ンニン物質の検出は各分画中のフェノールをフェノール試薬で発色させ、その吸光度を測定して行った。なお、同時に果肉の 60% アセトン抽出液中の全フェノール含量も測定し⁷⁹⁾、カテキン当量として算出した。

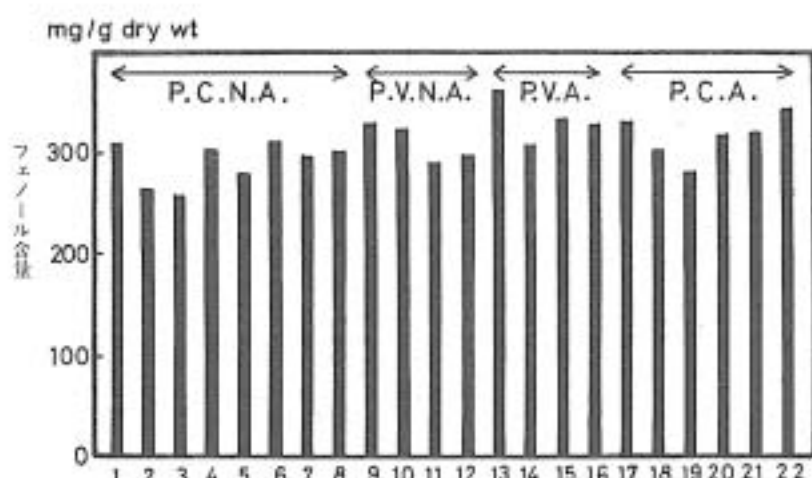
次に1981年6月20日、京都大学農学部附属農場のカキ成木園から、PCNA の 8 品種、PVNA の 4 品種、PVA の 4 品種、PCA の 6 品種の計 22 品種の果実を採取し凍結乾燥した後、同様な調査を行った。なおこの場合、供試試料は 250 mg で、カラムクロマトグラフィーの分離パターンは溶出した全フェノール量に対する各分画の占める割合を百分率として示した。

第2項 実験結果

1. 時期的変化

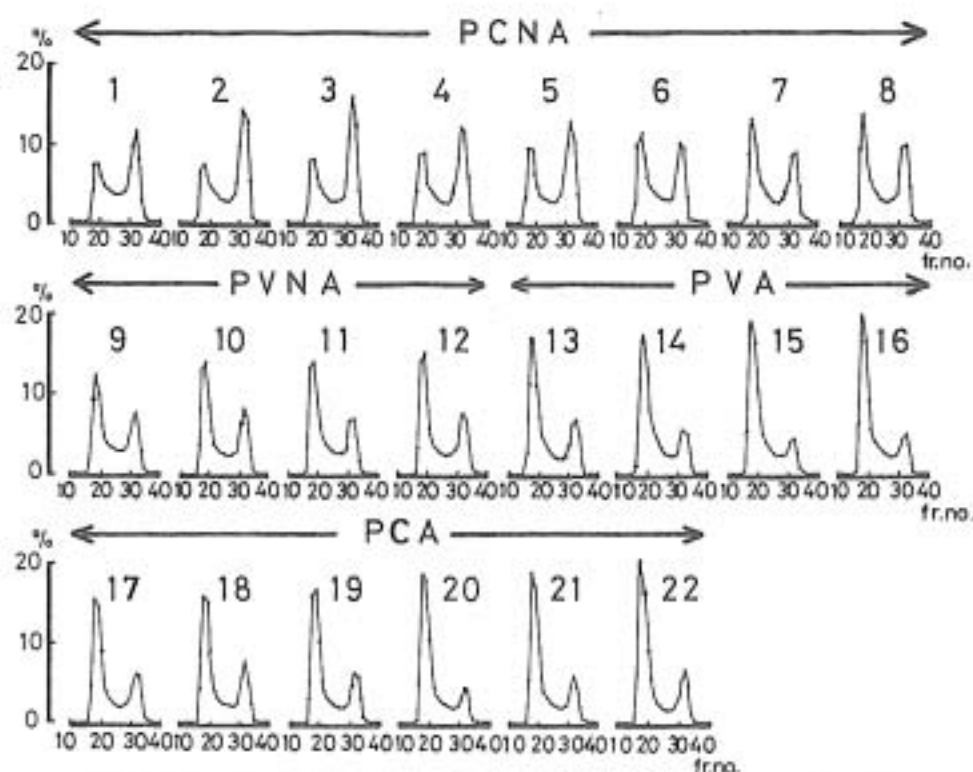
「富有」と「平核無」について経時的に調査した結果が第24図、第25図および第26図である。フェノール含量の変化(第24図)は、当然のことながら渋ガキである「平核無」が測定期間を通して高い含量であったが、7月1日までは「富有」も「平核無」とほぼ同じか適に高い値を示していた。次に分子ふるい効果によるタンニンの分離パターンについて、まず CPG-10 120 Å による低分子領域での分離の場合をみると(第25図)、「富有」も「平核無」も6月10日以降はタンニンはほとんど一つの成分として認められるだけで、両品種の間に大きな差はない





第27図 果肉中のフェノール含量の品種間差異

1.駿河 2.次郎 3.桃御所 4.花御所 5.裂御所 6.富有 7.天神御所 8.藤原御所 9.禪寺丸 10.長建寺 11.甘百日 12.三四一 13.会津身不知 14.紋平 15.平核無 16.衣紋 17.大磨盤 18.四谷西条 19.横野 20.倉光 21.愛宕 22.葉隠



第28図 CPG-10 2000 Å による果肉中のタンニン物質の分離パターンの品種間差異
1-22の品種名は第27図と同じ。

ようであった。ただ「富有」にはその主成分のあとにごくわずかに別の低分子成分が存在しており、「富有」のタンニン含量が減少していく過程においてもその成分は認められた。それに対して6月3日以前に分離パターンを比べてみると、この時期にはタンニン成分はかなり複雑に分離した。とくに5月27日のサンプルには両品種間に明らかな差異がみられ、「富有」においてはまだ低分子成分の割合が大きいものに対して、「平核無」ではすでに分子量の大きい成分が多く現れており、タンニン成分の重合の進行のはやいことが推察される。

他方、第26図のCPG-10 2000 Åにおけるタンニンの分離パターンは、両品種とも測定全期間でタンニンは2つの分画に分離されたが、「平核無」においては6月17日以後は最初に分離される高分子の成分が大部分を占め、あとに分離される低分子の成分はほとんど認められなくなった。すなわち、「平核無」では分子量の大きい成分がタンニン物質の主体をなしていることが示された。これに対して「富有」のタンニンは低分子成分から高分子成分への転換が遅れており、フェノール含量には「平核無」とほとんど差が認められない7月1日においてもなお低分子の成分がかなり多く、「平核無」とは対照的であった。そして「富有」が脱渋していく過程でもこの低分子成分は常にかんりの割合で存在していた。

2. 品種間差異

CPG-10 2000 Åによる分離がタンニン物質の質的な差をより明らかに示すと考えられたので、6月22日採取の22品種の果実についてこの方法によってタンニンの分離パターンを調べた。まず、果実中のフェノール含量は第27図のようであり、品種間で一定の傾向は認められなかった。しかしながら第28図のタンニンの分離パターンは、PCNAに属する品種とそれ以外のグループに属する品種の2つのグループに分類された。すなわち、いずれの品種もタンニンは2つの分画に分離されたが、PVNA、PVA、PCAの品種では最初に分離される高分子成分の方がかなり大きく現れたのに対して、PCNAの品種では8品種中5品種までは高分子成分が小さく、あとに分離される低分子成分が大きく現れた。PCNAの品種のうち、「富有」ではむしろ両成分が同じ割合であり、「天神御所」と「藤原御所」においては高分子成分が大きく現れ、PCNA以外の品種との差が小さいように思われたが、さきの結果(第26図)においてみられたようにPCNA以外の品種ではこの時期(6月20日)以後低

分子量のタンニン成分はほとんど認められなくなっていくと推測され、PCNAの品種の特異性はより明らかになると思われた。

第4節 超遠心法による「富有」(PCNA)および「平核無」(PVA) 幼果のタンニン成分の特性の比較

前節において、PCNAのカキとそれ以外のカキとではタンニンの分子量分布に差異があることが明らかとなった。そこで、分子ふるいクロマトグラフィーによって分離されるタンニン成分の特性を超遠心法によって調査し、その差異をより明確にするために本実験を行った。

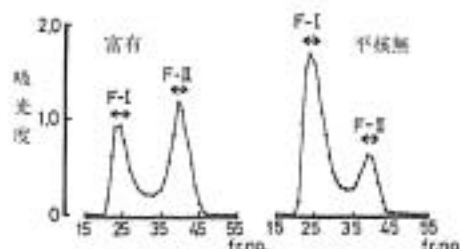
第1項 材料及び方法

三重大学農学部附属農場植栽のカキ成木の「富有」と「平核無」の果実を1982年7月1日に採取し、前節と同様にCPG-10 2000 Åを担体とした1.5×120 cmのカラムを用いてタンニン成分を分離した。そして、この各タンニン成分をN₂気流中で減圧濃縮し、それぞれの分画のタンニン含量がカテキン相当量としてほぼ1.0 mg/mlとなるように調整した。なお、カラムよりのタンニン物質の検出およびタンニン含量の測定は同様な方法によった。

次にこのようにして調整したタンニン分画を3日間40°Cに置き(インキュベーション)、インキュベーション前(0日目)とその後の1日目、3日目にそれぞれの分画液の一部をとり、直接超遠心分離を行いシュリーレン光学系を用いて沈降係数を測定し^{7,8)}、その特性および変化の様相を調査した。超遠心分離機はMSE社製centriscan 75を用い、10°C、50,000 rpmの条件下で超遠心分離を行い、シュリーレンパターンは5分間隔で測定した。

第2項 実験結果

まず、CPG-10 2000 Åによるカラムクロマトグラフィーでの「富有」および「平核無」のタンニンの分離パ



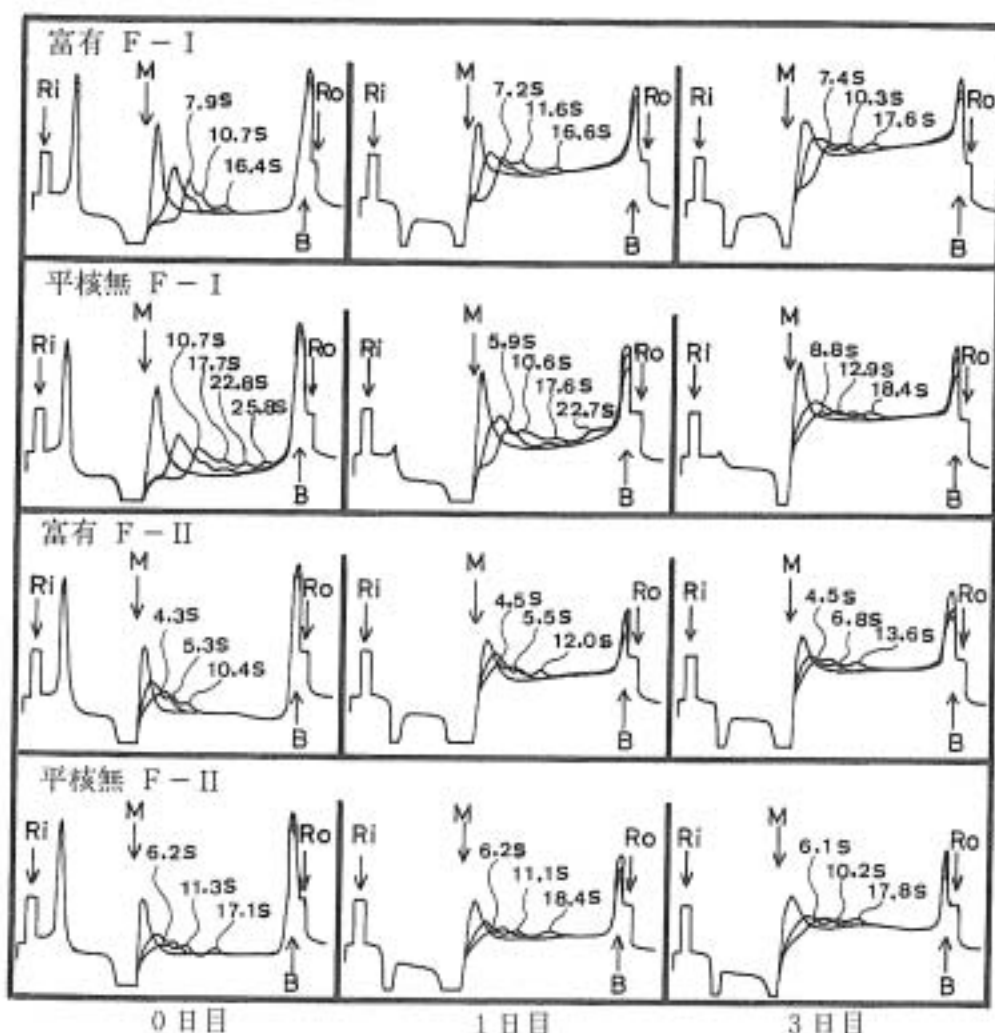
第28図 「富有」および「平核無」の果肉中のタンニン物質のCPG-10 2000 Åによる分離パターン

ターンをみると (第29図), 前節と同様に両品種とも2つのピークに分離され, それらの溶出位置は '富有', '平核無' と同じであった。そこで, これらを溶出順に

フラクション I (F-I) およびフラクション II (F-II) としてそれぞれの分画を集め, 一定量に濃縮した後 40°C に置いた。この分画中のタンニン含量は第1表のとおり

第1表 カラム分離後の各分画のフェノール含量のインキュベーション期間中の変化

インキュベーション 期間 (日)	富 有		平 核 無	
	F-I (mg/ml)	F-II (mg/ml)	F-I (mg/ml)	F-II (mg/ml)
0	0.903	0.942	1.014	0.863
1	0.880	0.927	1.057	0.866
3	0.872	0.927	1.033	0.863



第30図 カラム分離後の各分画のシュリーレン・パターンおよび沈降係数のインキュベーション期間中の変化
M: メニスカス B: セル底 Ri, Ro: 基準位置

で、この3日間のインキュベーションではいずれの分画もタンニン濃度はほぼ一定で変化は認められなかった。

さらに、この各分画について超遠心分離を行い、そのシュリーレン・パターンを調査し沈降係数を求めて第30図に示した。まず最初にインキュベーション前(0日目)の結果をみると、'富有'および'平核無'の両品種ともF-I, F-II分画は3成分ないし4成分からなっていることが認められた。また、両品種ともF-II分画の主たるタンニン成分の沈降係数はF-I分画のタンニン成分の沈降係数より小さく、F-II分画はF-I分画に比べて低分子領域のタンニン成分で構成されていることが確かめられた。これはカラムクロマトグラムでの結果を裏づけるものである。さらに品種間の差異をみると、F-I分画のタンニン成分の構成は'富有'に比べて'平核無'が複雑であり、また沈降係数もかなり大きかった。F-II分画についても、'平核無'の方が沈降係数の大きい成分で構成されていることが明らかとなった。

さらに、インキュベーション中の各分画のタンニン成分のシュリーレン・パターンの変化の様相をみると、F-I分画で両品種の間に大きな差異が認められた。'富有'ではこの分画のタンニン成分は沈降係数をみても明らかに、インキュベーション中でほとんど変化しなかった。これに対して、'平核無'ではインキュベーション前には認められなかった沈降係数の小さい成分(8S)が生じたり、逆にインキュベーション前には存在していた沈降係数の大きな成分(26S, 23S)がなくなったりしており、この分画を構成しているタンニン成分が非常に複雑な変化をしていることがうかがわれた。なお、F-II分画については'富有'および'平核無'ともインキュベーションまえに比べて大きな変化はなく、この分画は比較的安定な成分で構成されているようであった。ただし、両品種とも双方の分画において、インキュベーション中にシュリーレン・パターンのベースラインがあがってくるということが認められたが、これは各分画中にアントシアニンが生じてきたためであると思われる、このアントシアニンの生成はいずれの分画あるいはいずれの品種でも同様に見られた。

以上、本実験の結果は'富有'のタンニンは'平核無'に比べると化学的に安定度が高い可能性を示しており、その分子量分布が低分子領域にかたよっていることの原因もこのことが関係しているように思われる。

第5節 '富有'(PCNA)および'平核無'(PVA)幼果のタンニンとアセトアルデヒドとの反応性の比較

前節において、PCNAの'富有'果実のタンニンは渋ガキである'平核無'果実のそれよりも化学的に安定であることが示唆された。一方、掛下³⁰⁾は渋ガキ果汁にアセトアルデヒドを滴下するとタンニンがそれと反応して凝固することを認めている。そこで、この方法を用いてアセトアルデヒドとタンニンの反応性を調査し、PCNAのカキ果実のタンニンの化学性の差異を明確にしようとした。

第1項 材料及び方法

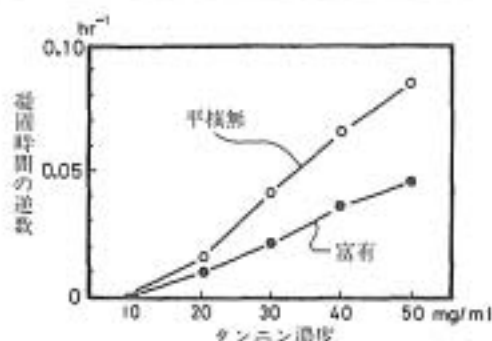
1982年7月1日、三重大学農学部附属農場植栽の'富有'(PCNA)および'平核無'(PVA)成木から果実を採取し、ジューサーによりその果汁を集めガーゼでろ過した後、一旦それを-20℃のフリーザー中で保存した。まず、果汁中のタンニン濃度のちがいとアセトアルデヒドとの反応性を調査する目的で、解凍後両品種の果汁中のタンニン濃度がそれぞれ10, 20, 30, 40, 50 mg/mlとなるように蒸留水で希釈した。このそれぞれ5 mlずつを小型シャーレにとり、0.15%のアセトアルデヒドを50 ml入れたデシケーター(口径20 cm)内において密閉し、30℃の温度下に置いて果汁が凝固するまでの時間を測定した。

次に、果汁のpHとアセトアルデヒドとの反応性を調べるために、両品種の果汁のタンニン濃度を50 mg/mlに調整した後、できる限り少量のHClとNaOHによりpHを調節して、pH 2.0から0.5間隔ごとにpH 7.0までの果汁を用意し、5 mlずつを小型シャーレにとり、先と同様な方法でアセトアルデヒド蒸気による果汁の凝固時間を測定した。なお、タンニン含量の測定はLoewenthal法⁴⁰⁾により行い、タンニン酸当量として算出した。

第2項 実験結果

1. タンニン濃度との関係

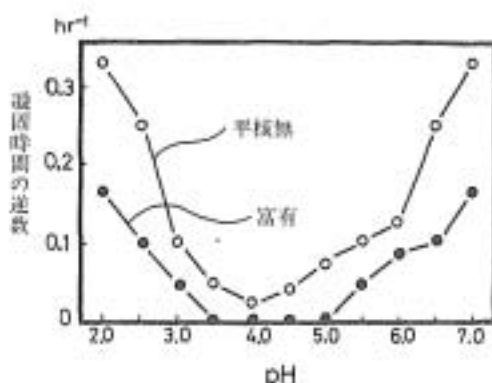
結果は第31図に示した。'富有'、'平核無'とも果汁中のタンニン含量が少なくなるほど凝固の速度は遅くなり、10 mg/mlのタンニン濃度では両品種とも測定期間中(100時間)に凝固しなかった。しかし、その他の濃度では'平核無'は'富有'に比べていずれも凝固がはやく、アセトアルデヒドとの反応性が大きかった。



第31図 果汁の凝固速度に及ぼすタンニン含量の影響

2. pH との関係

第32図に結果を示した。両品種とも pH 3.0 から pH 5.0 にかけて凝固速度は最少となり、とくに「富有」においては pH 3.5 から pH 5.0 の間では測定期間中 (45 時間) に凝固がおこらなかった。しかし、この場合も上述のように、いずれの pH においても「平核無」は「富有」よりはやく凝固がおこっており、アセトアルデヒドとの反応性が大きかった。



第32図 果汁の凝固速度に及ぼす pH の影響

第6節 考 察

一般に植物に存在しているタンニンといわれる物質は、その骨格に没食子酸をもち糖類と結合している加水分解型タンニンと、カテキン類を骨格としているプロアントシアニジンが重合をくり返して構成している縮合型タンニンとに大別される^{13,14,23,79)}。カキのタンニンはこのうちの縮合型タンニンに属すると考えられており^{21,20)}。その基本構造についての最近の報告もある²⁴⁾。しかしながら、カキのタンニンの品種間における化学的差異を研究した報告は少なく、わずかに中林³⁰⁾が甘ガキと渋ガ

キのタンニン構成成分の質的差異を認めているにすぎない。一方、前章において PCNA のカキ果実の脱渋機構はその他の PVNA, PVA, PCA のカキ果実の脱渋機構とは明らかに異なり、従来からいわれているエタノールやアセトアルデヒドとの関係で脱渋が進行していくのではないことが明らかとなった。このことはカキ果実のタンニンの品種間における質的差異を推測させる。そこで本章においてこの点を調査した。

まず、カキ果実のタンニンの構成成分になるとと思われる酢酸エチル可溶性分画に抽出される低分子フェノールの質的差異を TLC によって調査したところ、カテキンを含む2つのフラバノール型のフェノールのスポットと没食子酸のスポットとに明確な品種差異が認められた。そこでこのカテキンと没食子酸の含量の変化を GLC によって経時的に測定した結果、PCNA の果実と PVNA, PVA, PCA の果実との間では大きな違いがあり、カテキンは6月下旬以後は PCNA の果実にのみ認められたのに対して、没食子酸はその逆に PCNA 以外の果実で7月下旬ごろまで多量に存在していることが確かめられた。このことは PCNA のカキ果実のタンニンの化学的な特異性を示唆するものであると思われる。

さらに、分子ふるいクロマトグラフィーによるタンニンの分子量分布の調査においても、同様に PCNA の品種とそれ以外の品種との間に差異が確認され、PCNA のカキ果実のタンニンの特異性がより明確となった。すなわち、PCNA のカキ果実のタンニンは PVNA, PVA, PCA のカキ果実に比べて低分子領域のタンニン成分で構成されており、タンニン成分が果実中で重合されにくい状態になっているようであった。HASLAM^{11,12)}によれば、プロシアニジンの重合にはカテキンのフラバン環の4位の炭素にプロトンをもった "Carbocation intermediate" が重要な役割を果たしているとしているが、PCNA の果実内においてはこの "Carbocation intermediate" が形成されにくい可能性も考えられる。また、一般にプロアントシアニジンの重合度と渋味の関係が報告されている²⁸⁾が、渋ガキの渋味がより強く感じられるのも、そのタンニン物質の分子量が大きいことが一因であると思われる。なお、タンニンの分子ふるい効果による分離パターンを調べる上で、タンニン物質のカラムからの回収率が問題となったが、KING と PRUDEN²⁴⁾や PORTER と WILSON⁶⁰⁾のように水を含んだアセトンで溶出することによりほぼ100%近い回収率が得られた。

次に、このタンニンの質的差異によって生じると思われる化学的な性質の違いを超速心法およびアセトアルデヒドとの反応性により調査した。その結果、PCNA である「富有」のタンニンは渋ガキである「平核無」のタンニンと比べるとそれ自身が化学的に反応性の乏しい性質をもっていることが明らかになった。このことは甘ガキの脱渋を考える上で従来から広く受け入れられている甘ガキのタンニン物質は渋ガキのそれよりも化学的な反応性が強い成分からなり、組合して不溶化しやすい性質をもっている³⁰⁾という考え方とは全く逆の結果である。しかしながら、前章において「平核無」などの渋ガキは樹上でエタノールやアセトアルデヒドにより容易に脱渋できるが、pollination constant の甘ガキはこれらによって脱渋できないという事実が認められたが、PCNA のカキのタンニンが化学的に反応性が乏しい性質のものであると考えるとこの事実はうまく符合する。また、PCNA のタンニンが低分子領域のタンニン成分で占められていることも、タンニンの化学的な反応性の弱さに依存しているように思われる。

以上のように、前章においてその脱渋性の特異性が認められた PCNA の果実では、そのタンニン物質を構成する低分子フェノールの組成およびタンニン成分の分子量分布の双方に他の品種群との間に大きな差異が認められ、PCNA 果実のタンニンの化学的な特異性が明確となった。しかしながら、この特異性は自然脱渋機構を説明づけるものではなく、むしろタンニンの化学的な安定性を示唆していた。すなわち、樹上脱渋の処理などによって PCNA の果実を脱渋することができない理由を説明するものであった。この事実は PCNA 果実の自然脱渋の機構を考える上で非常に興味深いことである。PCNA のカキ果実の脱渋機構は従来からの考え方とは全く異なっており、タンニン自体の化学的な反応性の面からだけでは説明できないことが明らかになった。

第7節 摘 要

果実の脱渋性が特異的であった PCNA のカキについて、そのタンニンの化学的な性質においても特異性が存在しているかどうかを明らかにし、それが脱渋性の差異とどのように関係しているのかを調べる目的で実験を行った。

1) 果肉の酢酸エチル可溶性分画に認められるタンニンの構成成分となる主要な低分子フェノールはカテキン

と没食子酸であり、これらの含量には PCNA 群の果実と PVNA、PVA および PCA 群の果実との間で明確な差異が認められた。カテキンは6月下旬以後は PCNA の果実にのみ認められ、その他の品種群の果実には含まれなかった。これとは逆に、没食子酸は PCNA の果実では生育初期を除いてほとんど検出されなかったが、PCNA 以外の果実においては7月下旬まで多量に存在していた。

2) 果肉の含水アセトン抽出物中のタンニン物質の分子量分布を分子ふるいクロマトグラフィー（担体 CPG-10 120 Å および 2000 Å）で調査した。PCNA のカキ果実のタンニンは他の品種群のカキ果実のタンニンに比べると低分子領域のタンニン成分で主に構成されており、PCNA のカキ果実のタンニン物質の特異性が認められた。

3) 「富有」および「平核無」幼果のタンニン物質を分子ふるいクロマトグラフィーで分離した後、その各分画の特性を超速心法によって調査した。「富有」のタンニン成分はそれに対応する「平核無」のタンニン成分よりも沈降係数が小さく、低分子成分のタンニンで構成されていることが確かめられた。また、各タンニン分画を3日間 40°C でインキュベーションし、その期間中の構成成分の沈降係数を調べた結果、「平核無」においてはその変化が複雑でタンニン成分が反応性に富んでいたが、「富有」ではほとんど変化がなく、そのタンニン成分はむしろ化学的に安定度が高いことが示された。

4) 「富有」と「平核無」幼果の果汁中のタンニンとアセトアルデヒドとの反応性を種々のタンニン濃度および各種の pH の下で調査した結果、「富有」のタンニンはいずれの条件下においても「平核無」のタンニンよりアセトアルデヒドとの反応性が小さかった。

5) 以上のことより、PCNA 群のカキ果実のタンニンはその群以外のカキ果実のタンニンと比べて質的な差異が存在し、その化学的な性質においても特異性をもっていることが明らかとなった。しかしながら、この特異性によって PCNA 群果実の自然脱渋機構を説明することはできず、むしろ PCNA 群果実のタンニンの化学的な反応性の弱さを示すものであった。

第3章 カキ果実のタンニン細胞の発生および発育過程と pollination constant の甘ガキの自然脱渋との関連について³⁰⁾

前章までの結果より、PCNA のカキ果実の自然脱渋は従来からいわれていたようなエタノールやアセトアルデヒドとの関係で進行するのではなく、またそのタンニン物質が化学的に不安定なために自然に重合して不溶化がおこるのでもないことが明らかとなった。このことはPCNA のカキ果実の樹上での自然脱渋機構がタンニン物質の化学的な調査からだけでは解明できないということを示唆するものであると思われる。

一方、カキ果実においてタンニン物質は果肉中のタンニン細胞と呼ばれる異形細胞にのみ蓄積されていく。このカキ果実のタンニン細胞の発育過程を調査した研究は現在までのところほとんどなく、わずかに徳川と湯浅³¹⁾、並河³²⁾ および宮林³³⁾ の報告があるのみである。しかしながら、これもタンニン細胞の発育過程を詳しく調査しているわけではない。

そこで、PCNA のカキ果実の脱渋機構を組織学的な面より解明するために、本実験ではタンニン細胞の発生および発育過程を経時的に調査し、pollination constant の甘ガキの樹上での自然脱渋過程との関連を検討した。

第1節 果実中でのタンニン細胞の発生過程の比較

カキ果実のタンニン細胞は開花前の子房内にはすでに存在していることが知られているが、その発生の過程についてはほとんど調べられていない。そこで、子房内でのタンニン細胞の発生過程を調査し、この段階においてタンニン細胞の品種間での特性が認められるかどうかを検討した。

第1項 材料及び方法

京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木の「富有」と「花御所」(PCNA)、「長建寺」(PVNA)、「平核無」(PVA)、「倉光」(PCA)の5品種の花蕾を1983年4月23日より5月8日までの間、3日間隔で採取した。これらの花蕾を約2mmの厚さの切片にした後、すぐにグルタルアルデヒドとパラホルムアルデヒドによって固定し、瀬野尾ら^{71,72)}のように第33図に従ってアクリトロンE(三菱レーヨンK.K.)に包埋して2~4μmの薄切切片を作製した。このアクリトロンEはグリコール・メタクリレートと主成分とするプラスチック樹脂で、包埋に

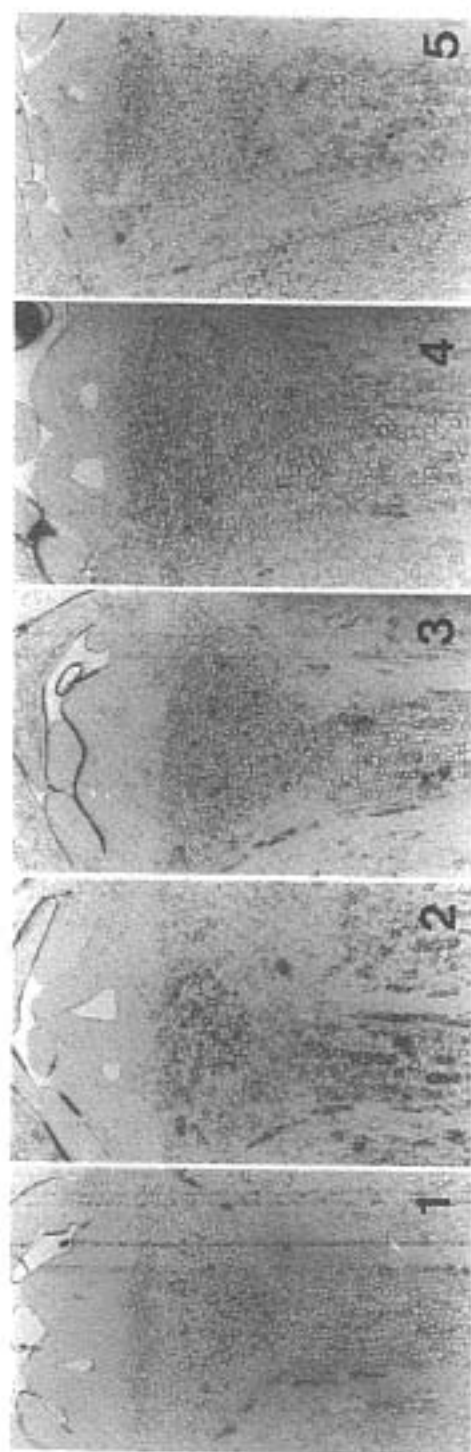


第33図 光顕用プラスチック樹脂 (Acrytron E) による試料包埋までの手順

はJB-4用の包埋キット(Dupont Instruments)を使用した。また、切片の作製は微動おくり装置をつけたミクロトーム(American Optical Co.)により幅8mmのガラスナイフで行い、FederとO'Brienの方法³⁴⁾に従って0.05%のトルイジンブルーで染色した。なお、供試品種の開花期は品種間で若干の差はあるものの5月15日~20日の間であった。

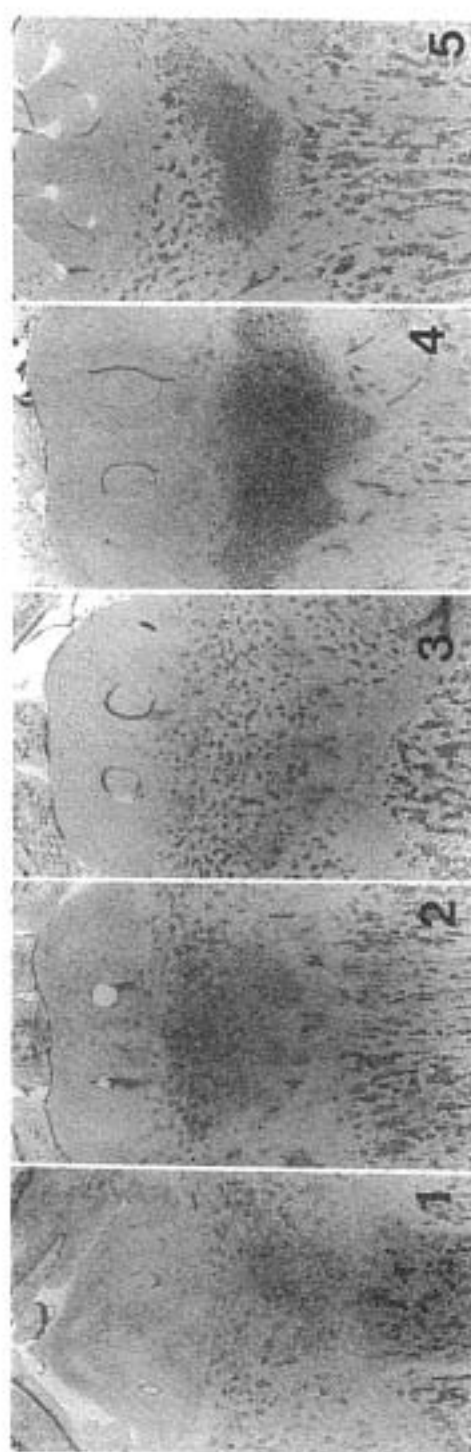
第2項 実験結果

切片の観察結果は第34図に示した。この結果をみると、4月26日まではいずれの品種においても子房内にタンニン細胞の発生は認められず、花梗部分にタンニン細胞が列状に存在しており、それが徐々に花床内におしあげられてきているようであった。そして4月29日になると、子房内の果心部付近にタンニン細胞の存在が認められるようになり、これ以後子房の発達に伴って急速にタンニン細胞の分布密度が大きくなって、いずれの品種においても5月8日には子房内のどの部分にも均一にタンニン細胞がかなりの密度で存在していた。この子房内でのタンニン細胞の発生過程は、維管束系の発達に従って、それらに平行して発生するように思われるが、規則的な傾向は認められず、また品種間の差異もなかった。さらに

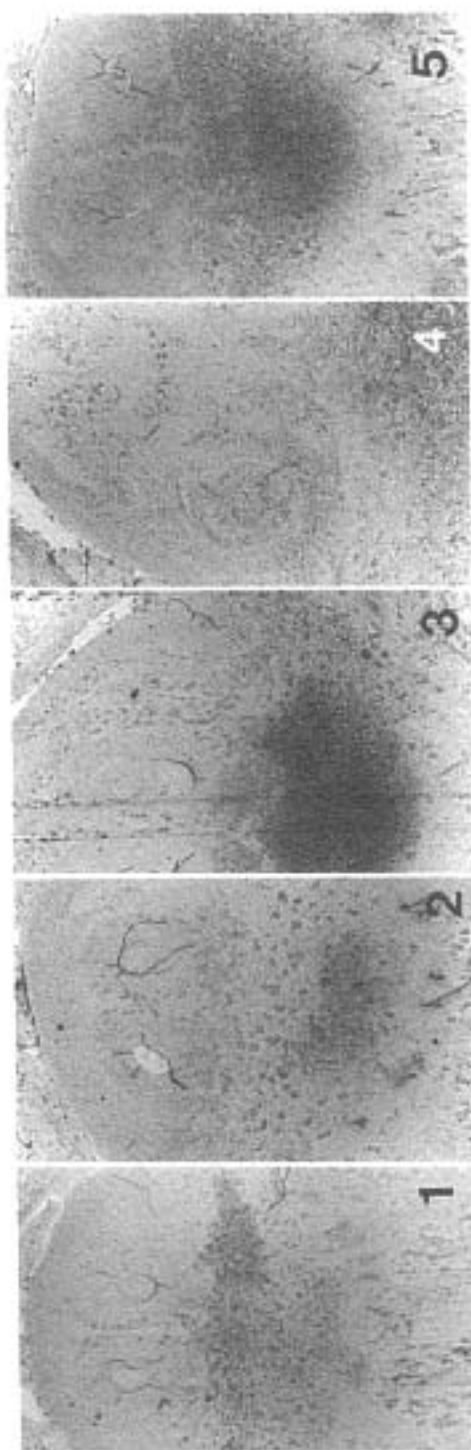


第34図-a 子房内でのタンニン細胞の発生様式 (4月23日の観察)

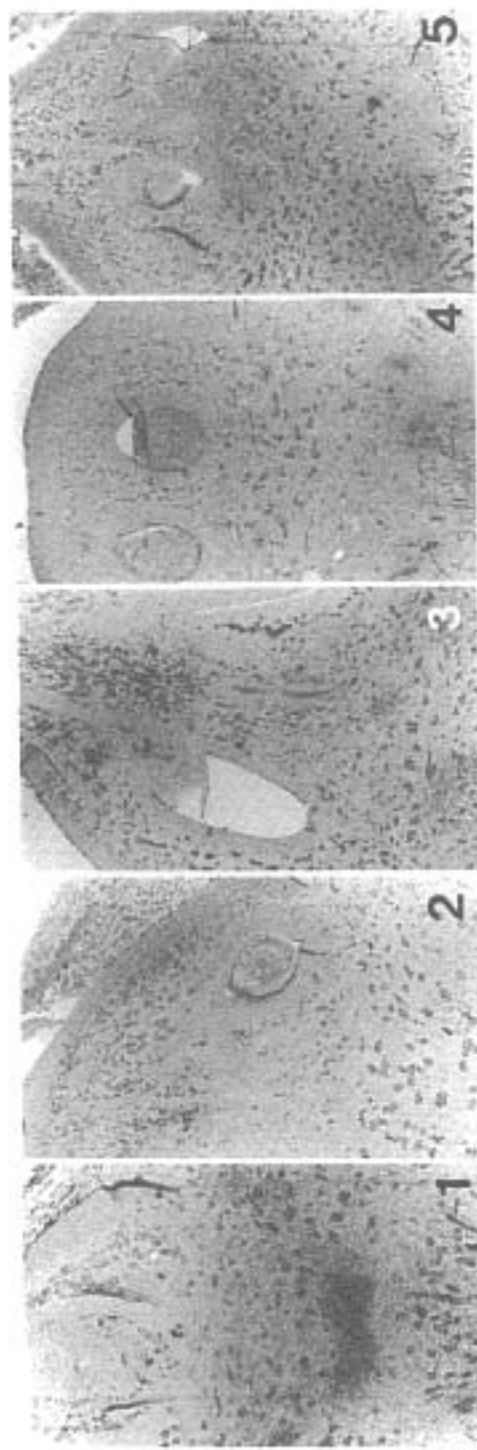
1. 高倍 2. 花牌所 3. 長葉寺 4. 平根無 5. 倉光



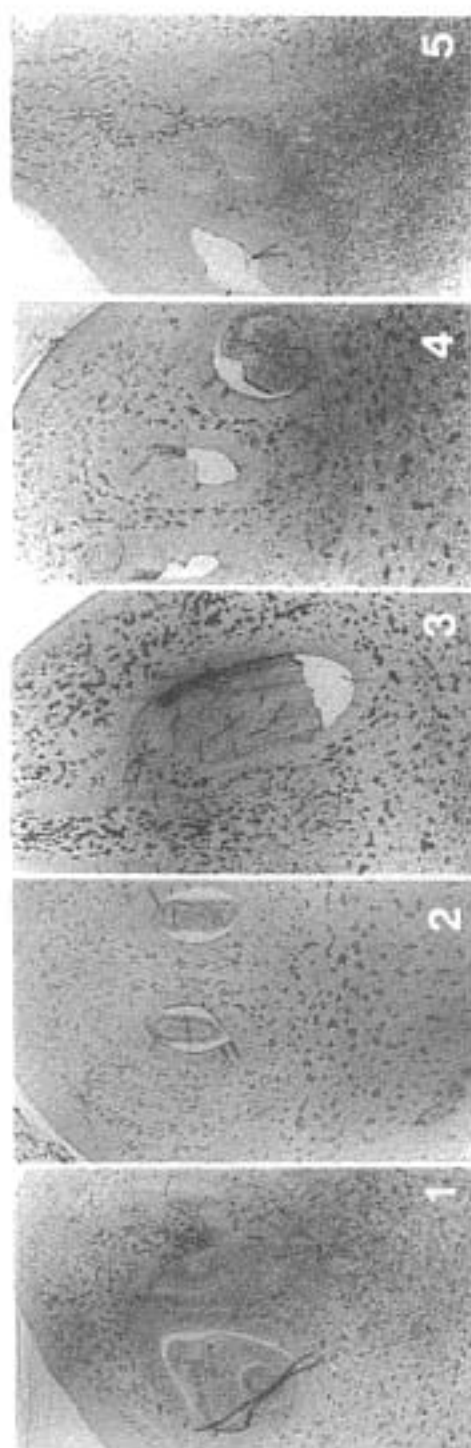
第34図-b 4月26日の観察



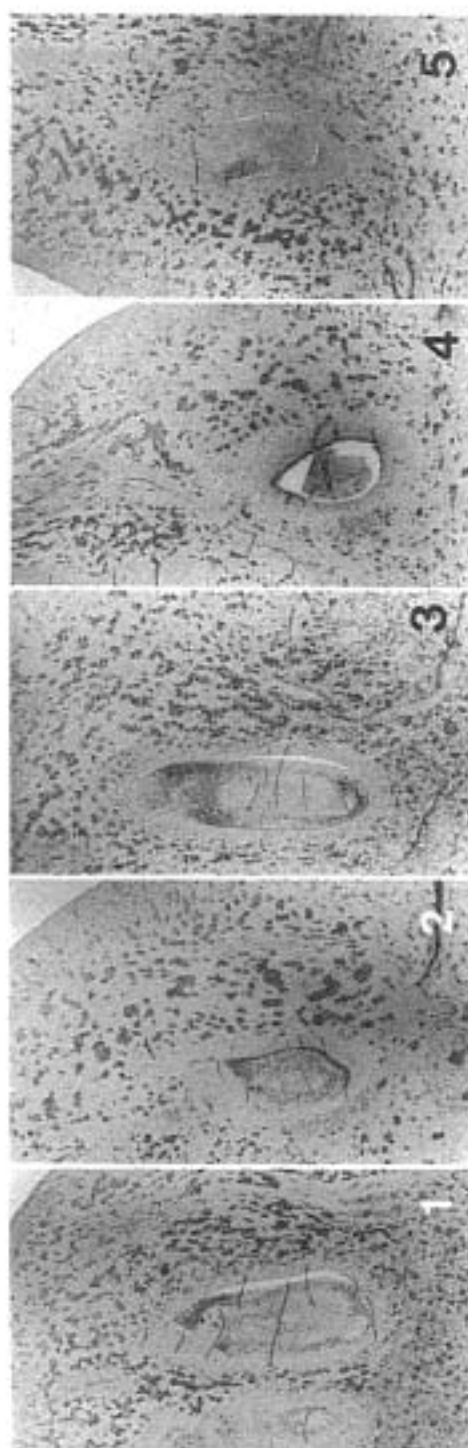
第34図-c 4月29日の観察



第34図-d 5月2日の観察



第34図-e 5月5日の観察



第34図-f 5月8日の観察

この観察から、タンニン細胞は子房内に個々に散在しているのではなく、タンニン細胞群としていくつかの集合体で発達していくように思われるが、これについても品種間で差異はなかった。

第2節 果実中でのタンニン細胞の発育過程の比較

前節でタンニン細胞の子房内における発生過程を調査したところ、品種間での差異は明らかではなかった。そこで、本実験では果実内でのタンニン細胞の発育過程を経時的に調査し、PCNAのカキ果実に他の品種群のカキ果実と比較して特異性がないかどうかを検討した。

第1項 材料及び方法

京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木のうち、PCNAの‘富有’と‘花御所’、PVNAの‘長建寺’、PVAの‘平核無’およびPCAの‘倉光’の計5品種より、



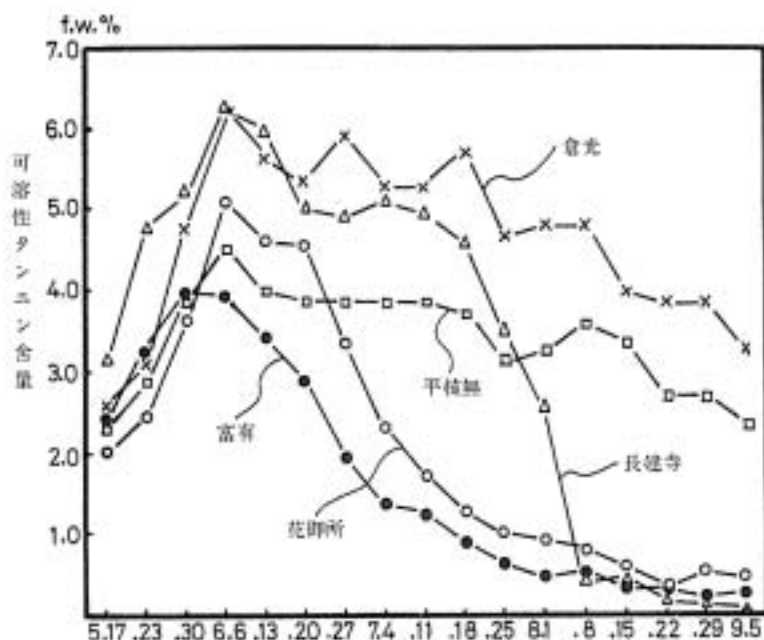
第35図 果肉中よりの試料採取部位

1983年5月17日より9月5日までの間、1週間毎に果実を採取し、第35図に示した部位の果肉を厚さ1~2mmの切片とした。この試料を第33図に従ってプラスチック樹脂であるアクリトロンEに包埋し、先と同様な方法で2~4μmの薄切切片を作製した。そしてこの切片の顕微鏡写真をとった後、この写真中の個々のタンニン細胞の面積と柔細胞の面積、およびタンニン細胞全体が占める面積を画像解析装置IBAS-1 (Carl Zeiss Co.)により測定した。また、この写真中のタンニン細胞の個数についても別にカウントした。さらに、これら5品種の可溶性タンニン含量の経時的变化もLoewenthal法⁴³⁾により同時に測定した。

第2項 実験結果

まず、可溶性タンニン含量の消長についてみると(第36図)、先の調査と同様にその減少のしかたが大きく3つのグループにわかれた。すなわち、6月中旬よりその含量が徐々に減少し8月上旬ごろまでに渋味の大部分が消失するPCNAの‘富有’と‘花御所’、7月下旬~8月上旬にその含量が激減するPVNAの‘長建寺’、9月上旬までかなり高い含量を示す洪ガキの‘平核無’と‘倉光’の3つのグループであった。

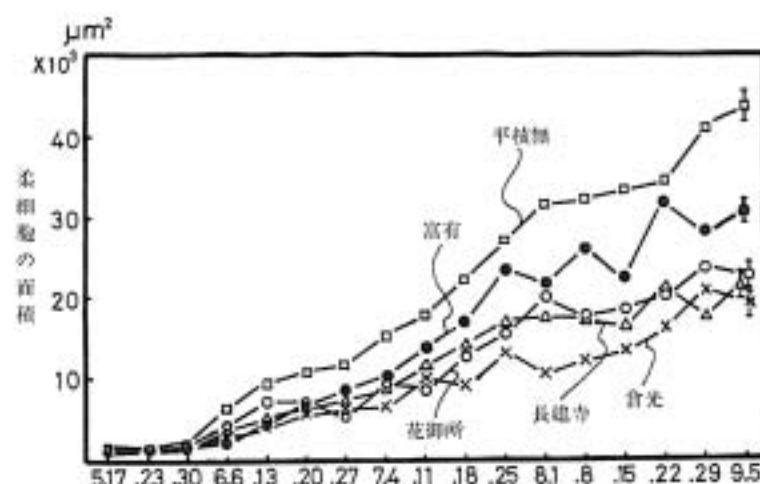
次に、これと対応してその果肉中の個々の柔細胞の面積とタンニン細胞の面積を測定した結果が第37図と第38



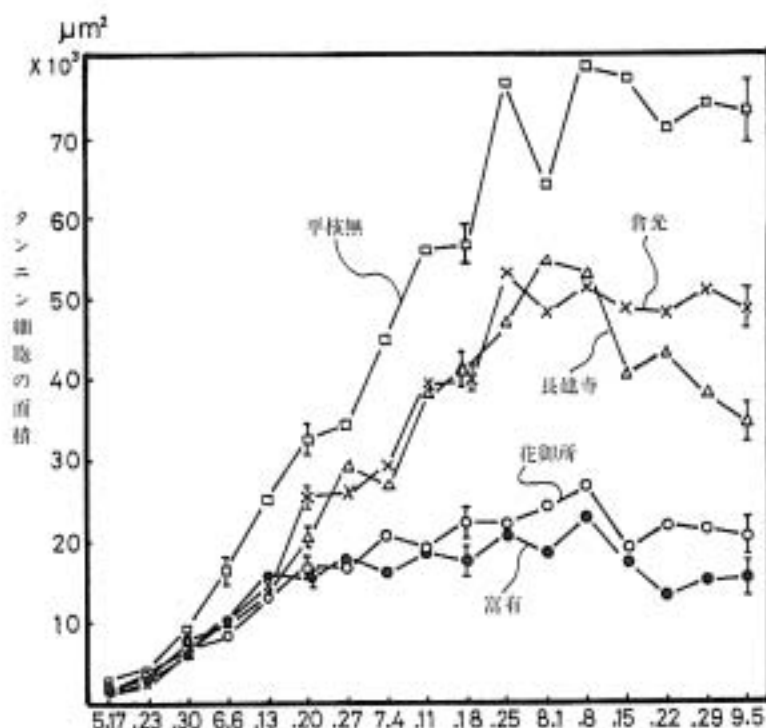
第36図 果肉中の可溶性タンニン含量の消長

図。果肉の切片 1mm^2 あたりに占めるタンニン細胞の個数および面積を測定した結果が第39図、第40図である。これらの結果をみると、果肉の柔細胞の大きさは品種間での差異は存在するものの、いずれの品種においても果実の発育に従って増加し脱渋性との関連は認められなかった(第37図)。しかしながら、タンニン細胞の発育

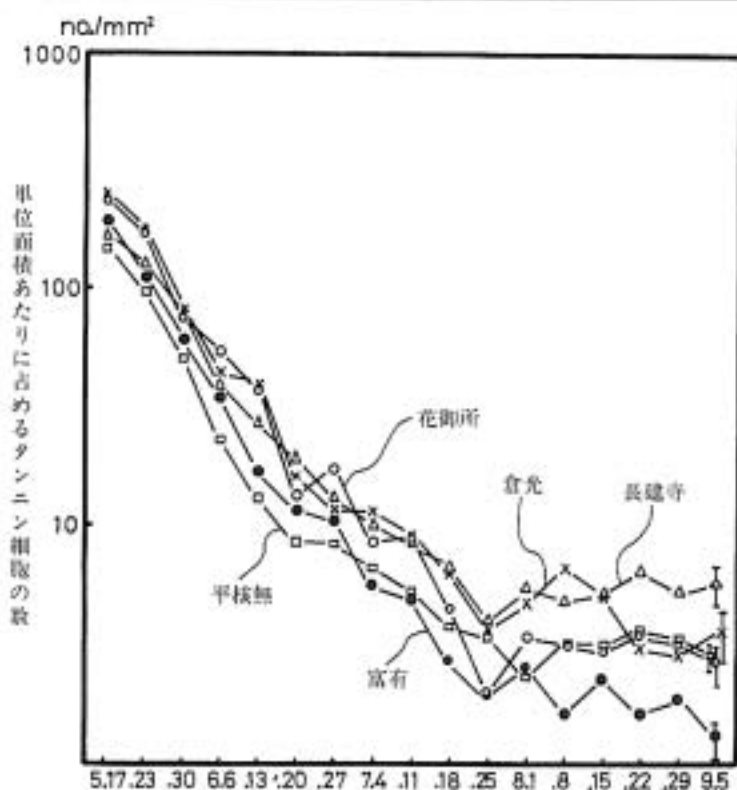
(第38図)はPCNAの‘富有’と‘花御所’に顕著な差異が認められた。すなわち、他の3品種が7月下旬までその大きさを急激に増大させているのに対して、この2品種は6月下旬ごろよりほとんどその大きさの増加が認められなくなり、‘富有’においては7月上旬にすでにその発育が停止していた。なお、‘長建寺’において8月中旬



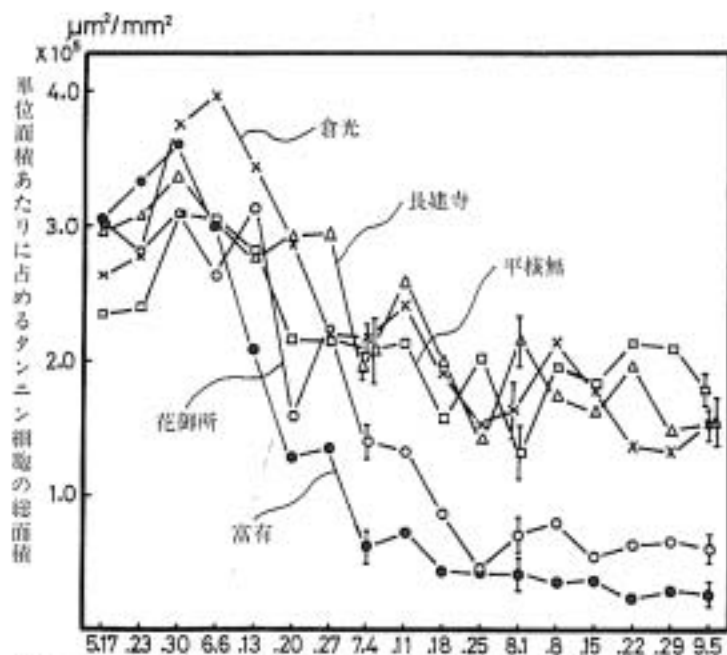
第37図 果肉中の柔細胞の大きさの経時的变化 図中の縦線は S. E. を示す。



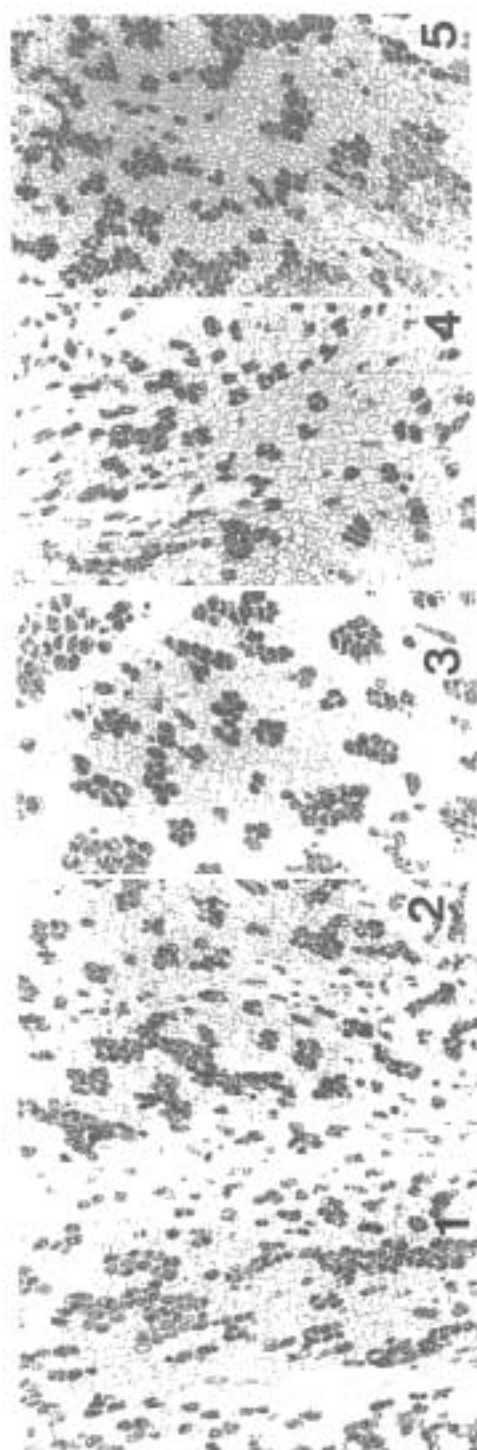
第38図 果肉中のタンニン細胞の大きさの経時的变化 図中の縦線は S. E. を示す。



第39図 果肉切片の単位面積に占めるタンニン細胞の数の経時的变化 図中の縦線は S.E. を示す。

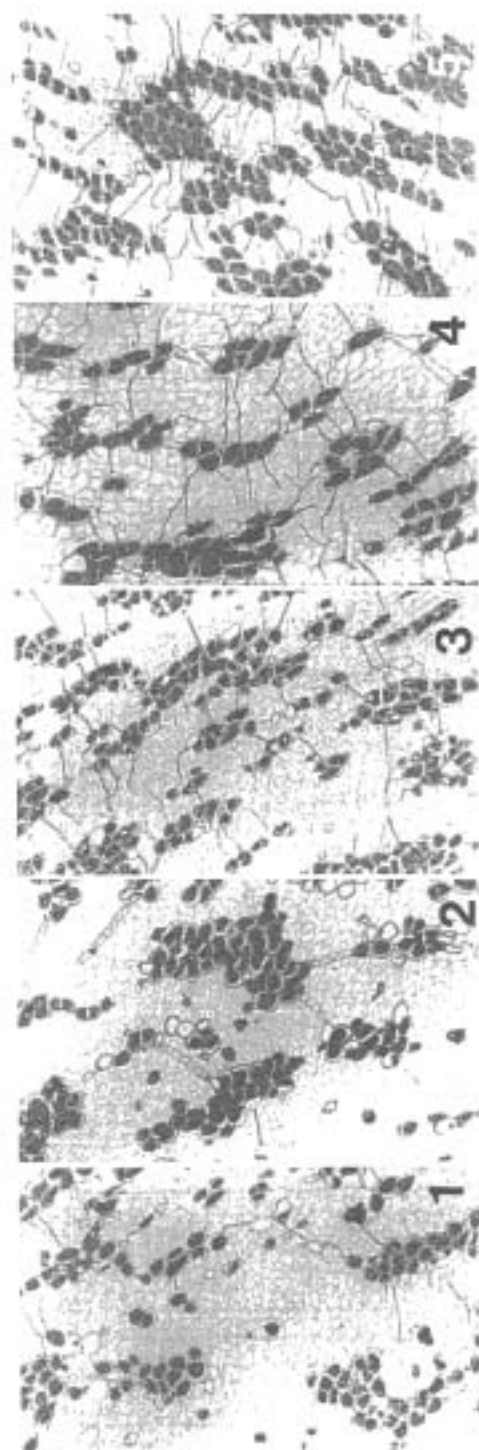


第40図 果肉切片の単位面積に占めるタンニン細胞の総面積の経時的变化 図中の縦線は S.E. を示す。

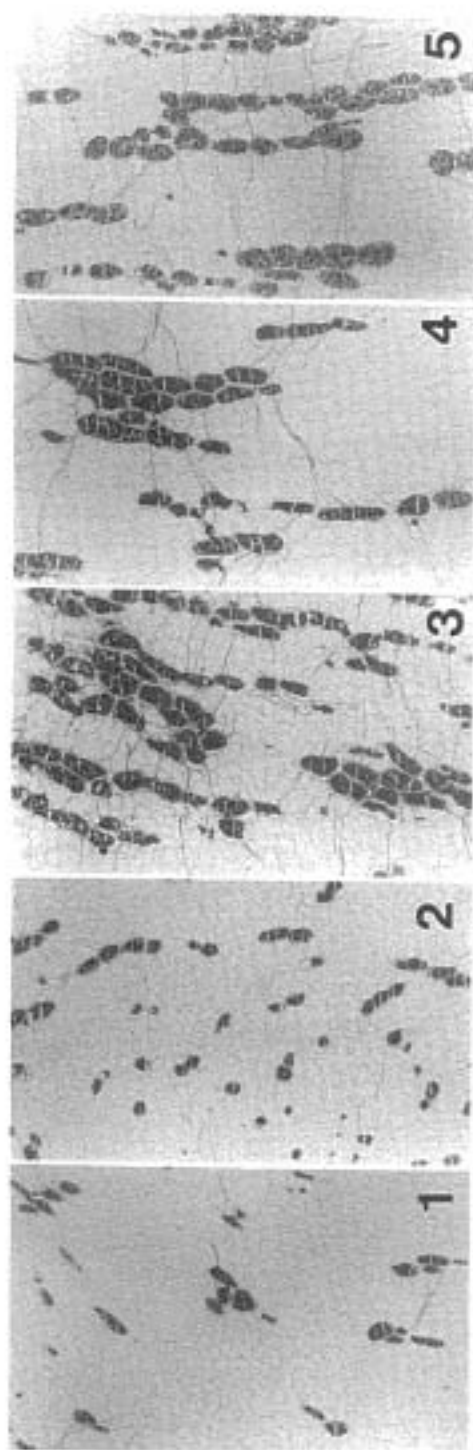


第41図-a 果肉切片におけるタンニン細胞の分布状態 (5月17日の観察)

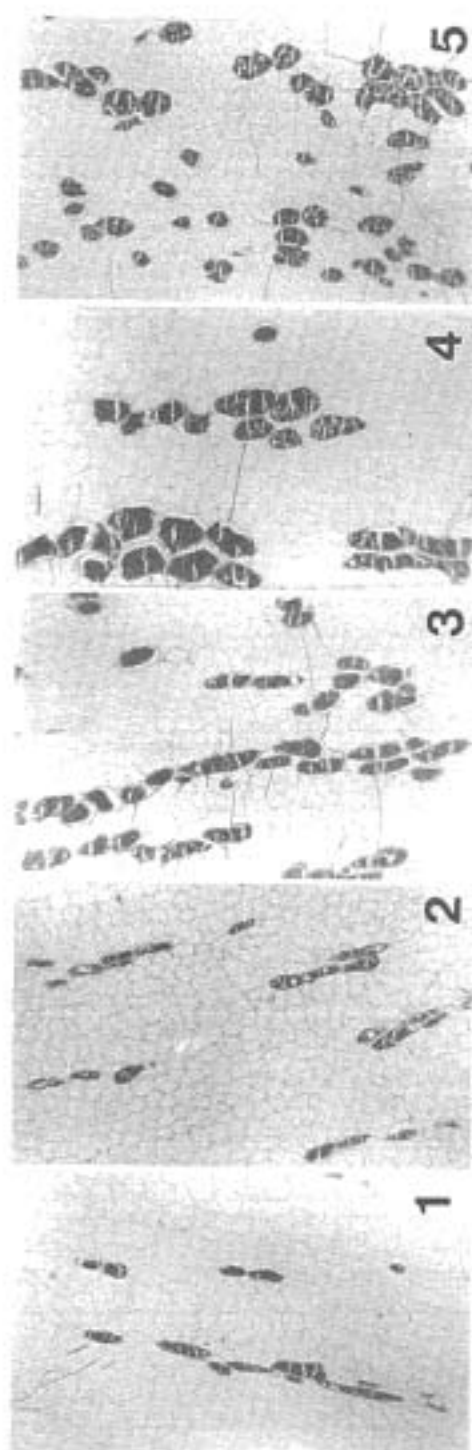
1. 富布 2. 花御所 3. 長建寺 4. 平積無 5. 倉元



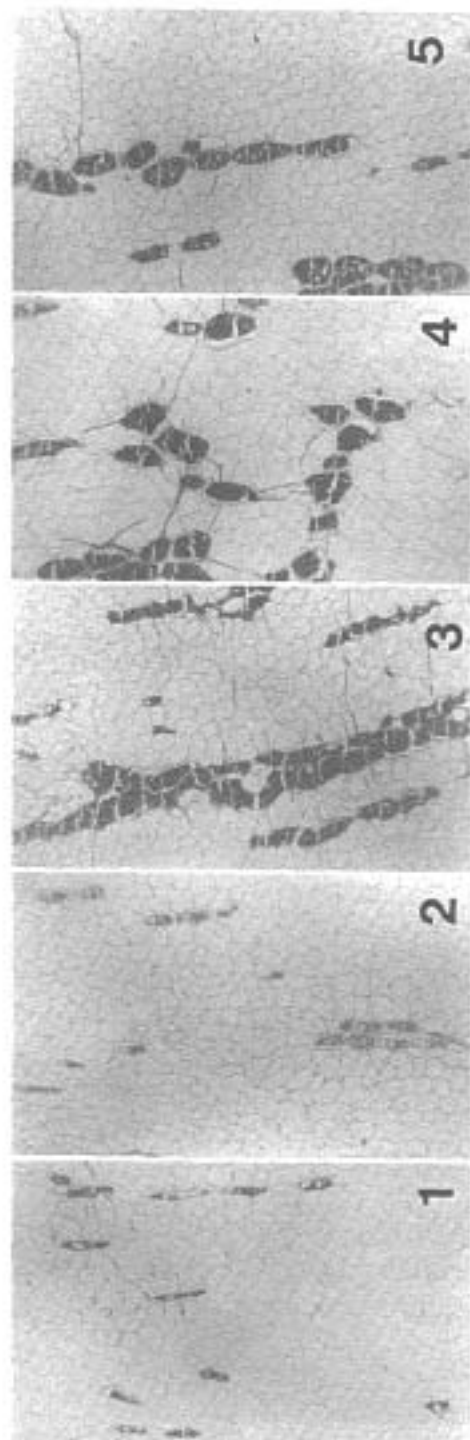
第41図-b 6月13日の観察



第41図-c 7月11日の観察



第41図-d 8月8日の観察



第41図-e 9月5日の観察

ごろよりタンニン細胞の大きさが幾分小さくなっているのが認められたが、これは多分脱渋が完了し褐斑が生じてきたことに関係していると思われる。

さらに、第39図と第40図の果肉切片 1mm^2 あたりに占めるタンニン細胞の数と面積の消長についてみると、その数の変化は品種間で若干の差異はあるものの、脱渋性とその関連は認められなかった。しかし、その面積の変化については PCNA の2品種に顕著な特異性が認められた。このタンニン細胞の占める面積が6月下旬より PCNA の2品種で急激に減少するのは、細胞の大きさが小さいことによっているのは明らかであるが、この減少パターンは第36図の渋味の消長パターンと酷似していた。このことは、「富有」と「花御所」の渋味の減少の第1原因がタンニン細胞の発育停止による希釈効果によっていることを強く示唆しているものと思われる。この点同じ甘ガキでも PVNA である「長建寺」とは対照的であり、「長建寺」ではタンニン細胞の占める面積は測定終了時まで渋ガキの2品種とかわらなかった。

なお、参考のために5月17日、6月13日、7月11日、8月8日、9月5日の5つの時期におけるタンニン細胞の分布状態を第41図に示した。

第3節 pollination constant の甘ガキのタンニン物質の不溶化の時期

前節において、PCNA のカキ果実のタンニンの減少はタンニン細胞の発育停止による希釈効果が第1原因となっていることが強く示唆された。このことは PCNA 果実ではタンニン物質そのものの不溶化がおこる以前に見かけ上の脱渋がおこっている可能性があると思われる。そこで本実験でこのことを明確にするために、PCNA のカキ果実の渋味がほとんど消失している8月上旬に、タンニン物質の不溶化がどの程度おこっているのかを調査した。

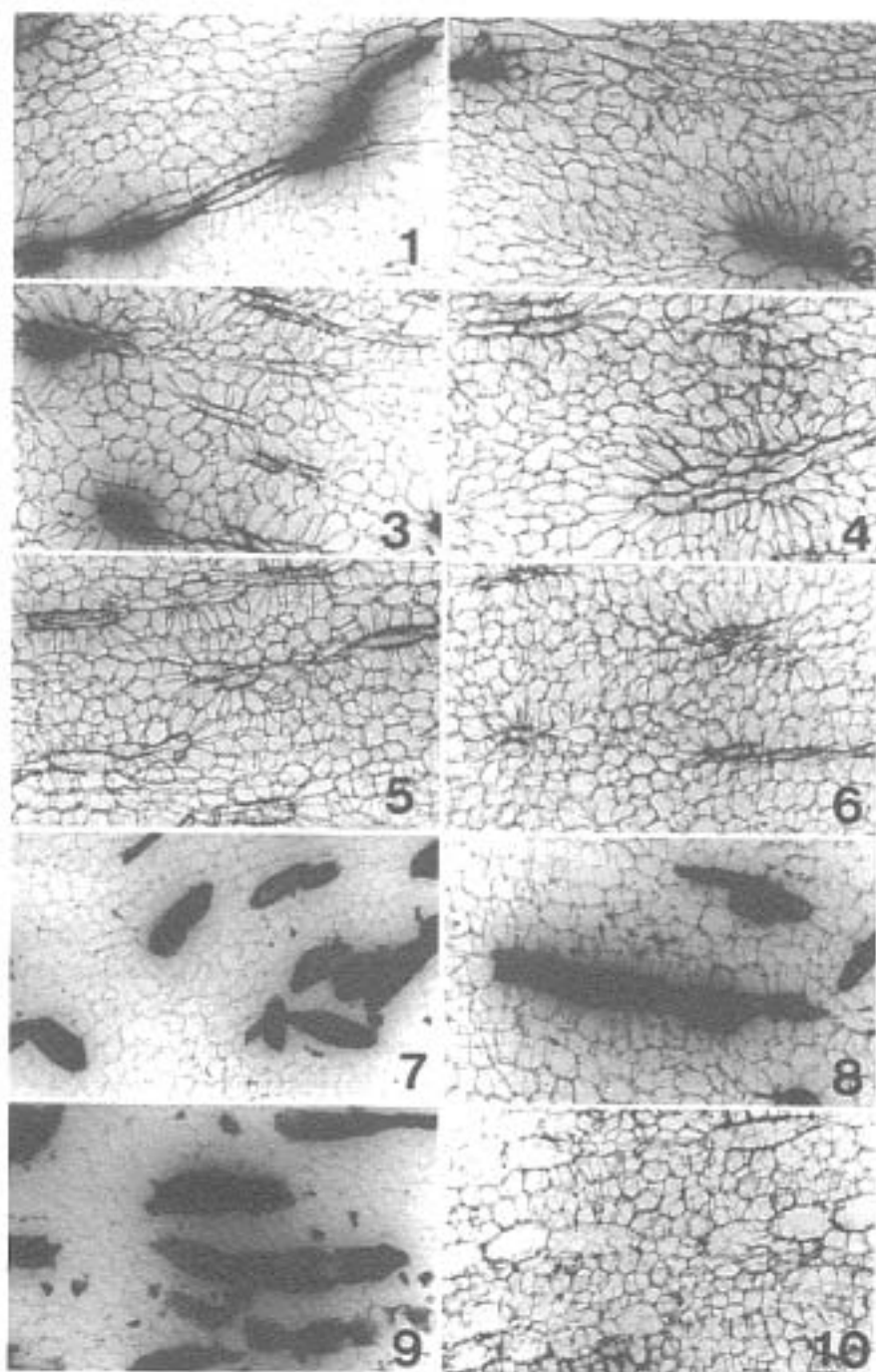
値1項 材料及び方法

1984年8月8日、京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木のうち、PCNA の「富有」、「花御所」、「次郎」、「藤原御所」、「製御所」、「天神御所」、PVNA の「長建寺」、「三國一」、「梅寺丸」および PCA の「倉光」の計10品種の果実を採取した。これらの果実の褐斑の発生程度を調査した後、果肉の一部をとり水結ミクロトーム（エルマ光学 K.K.）により $40\sim 60\mu\text{m}$ の切片を作製し、5%塩化第二鉄水溶液でのタンニン細胞の染色程度を観察

した。また、同時に果肉中の可溶性タンニン含量も Loewenthal 法⁴⁹⁾により測定した。

第2項 実験結果

まず予備的な実験において、タンニン物質がすでに不



第42図 果肉中のタンニン細胞の不溶化程度

1. 富有 2. 次郎 3. 藤原御所 4. 花御所 5. 天柿御所 6. 梨御所 7. 長建寺 8. 三國一
9. 柳寺丸 10. 倉光

第2表 果肉中の可溶性タンニン含量および褐斑発生程度

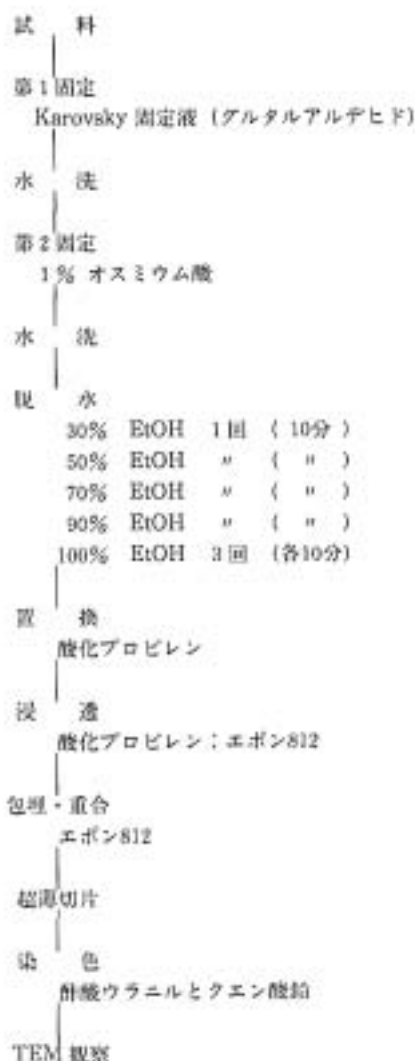
	PCNA						PVNA			PCA
	富有	次郎	藤原御所	花御所	天神御所	製御所	長建寺	三國一	神寺丸	倉光
タンニン含量 (%)	0.31	0.31	0.78	0.78	1.02	0.31	0.55	0.31	1.02	4.78
褐斑発生程度	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-

溶化しているかどうかを細胞レベルで測定する方法を検討したところ、果肉の水結切片を作製し塩化第二鉄で染色することによって明瞭に判別できることがわかった。すなわち、'平核無'の脱渋果と未脱渋果の果肉より1~2層の細胞からなる水結切片を作製し、塩化第二鉄で染色すると、タンニン物質が不溶化している脱渋果の果肉切片ではタンニン細胞が切断されてもタンニン物質が流れ出ないためにタンニン細胞は黒く染色された。ところが、未脱渋果の果肉切片ではタンニン細胞が切断される時に凝固していない内容物が流出するため、タンニン細胞が塩化第二鉄に染まらなかった。つまり、切片中のタンニン細胞の染色程度からその内容物が不溶化しているかどうかを判断できた。ただここで問題となるのは、切片が3層以上の細胞を含むようになると切断されないタンニン細胞を生じるようになることである。このような細胞は内容物が不溶化していなくとも塩化第二鉄で染色され黒く染まる。そのため、切片は3層以上の細胞を含まないことがこの測定の条件となる。

そこで、この方法を用いて PCNA および PVNA の品種のタンニン物質の不溶化程度を調べたところ、第42図のような結果が得られた。調査した PCNA の品種のうち、'花御所'、'製御所'、'天神御所' はタンニン細胞が全く染色されず、内容物がまだ不溶化していないことが認められた。また、'富有'、'次郎' および '藤原御所' でもタンニン細胞の一部は染色され不溶化していることが確認されたが、染色されない凝固していないタンニン細胞もかなり混在していた。しかしそれにもかかわらず、第2表の結果のように、この時期にはどの PCNA の品種もタンニン含量がかなり低い値を示していた。このことは、PCNA 果実の渋味の減少の主たる要因がタンニン物質の不溶化によるのではなく、前節で示されたようなタンニン細胞の発育停止による蓄積効果であることを裏づけるものと思われる。

これに対して、PVNA の3品種では切片中のタンニ

ン細胞はいずれも塩化第二鉄によって明瞭に染色され、これら3品種の渋味の減少がタンニン物質の凝固によっていることが確認された。また、当然のことながら PCNA である '倉光' の果肉切片のタンニン細胞は全く



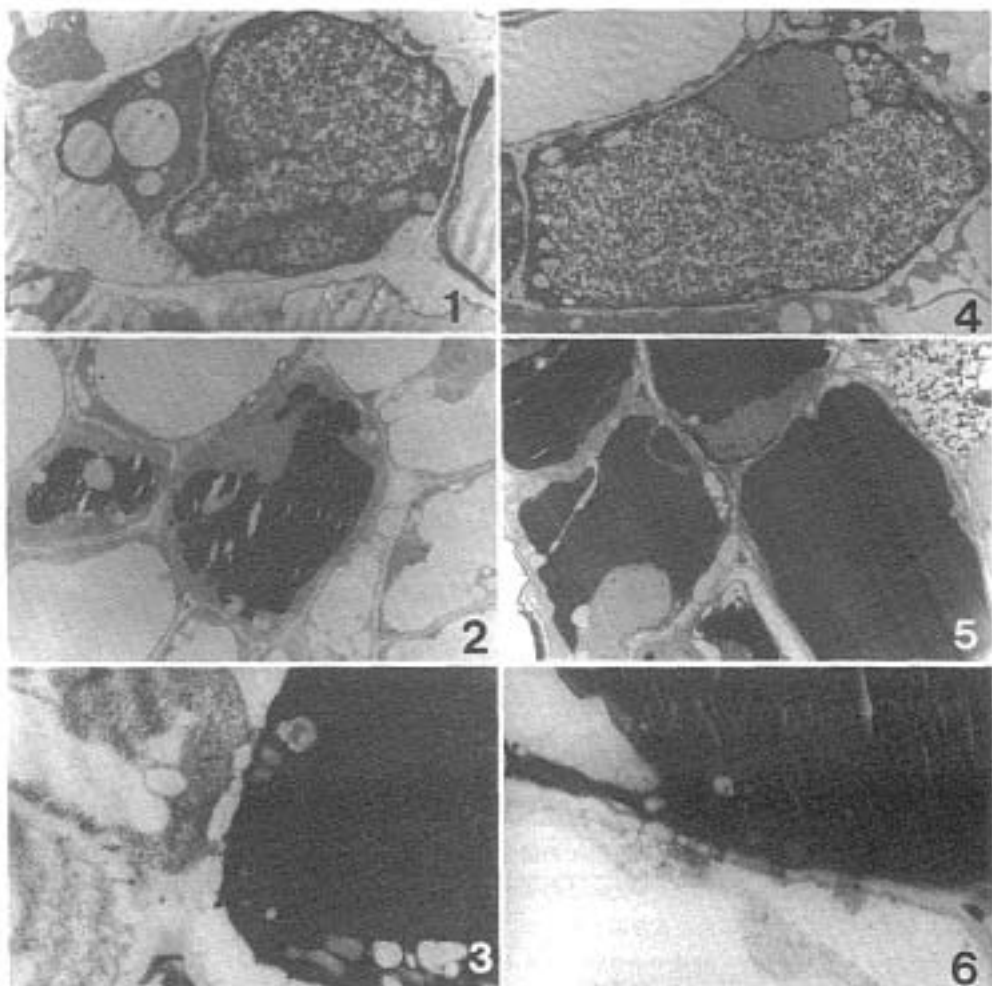
第43図 TEM 観察用の試料作製手順

染色されず、その内容物が不消化していないことが確かめられた。

第4節 考 察

本章において、PCNA のカキ果実の脱渋機構の特異性を組織学的な面より解明する手がかりを得るため、タンニン細胞の発生過程と発育過程の双方を品種間で検討した。タンニン細胞の発生過程については過去に徳川と湯浅⁴⁰⁾の報告があるが、彼らは柔組織細胞のあるものが突然その生理的機能に変化を生じてタンニン細胞を作り出すとしているのみで、その詳細についてはまったくわかっていない。そこでまずこの点について調査したが、

タンニン細胞の発生過程にはやはり新しい知見を得ることができなかった。まず、タンニン細胞がカキ果実の子房内にいつごろからどのようにして形成されるのかを5品種（‘富有’と‘花御所’、‘長建寺’、‘平核無’および‘倉光’）のカキ果実について経時的に調査した。タンニン細胞はいずれの品種においても4月29日にはすでに子房内に存在し、その後維管束系の発達と平行して形成され、5月8日になると子房内のどの部分にもかなりの密度で存在するのが認められた。しかしながら、この過程に品種間差異は認められず、またタンニン細胞がどの細胞から形成されるのかを確認することもできなかった。さらに、本実験において、予備的に‘富有’と‘平核無’につ



第44図 TEMにより観察した‘富有’および‘平核無’のタンニン細胞

- | | |
|--------------|------------------|
| 1. 富有（5月6日） | 2, 3. 富有（5月11日） |
| 4. 平核無（5月6日） | 5, 6. 平核無（5月11日） |

いて分化した初期のタンニン細胞を常法³⁹⁾により第43図に従って透過型電子顕微鏡(TEM)で観察したが、やはりタンニン細胞がどのようにして形成されるかは不明であった。参考のためにその観察結果を第44図に示した。MUELLERとBECKMANはバナナの根³⁷⁾およびワタの根³⁸⁾の組織内のタンニン細胞をTEMにより観察しているが、彼らもその細胞質にオルガネラが豊富に存在しているものの、隣接して存在する柔細胞との区別は液胞内にタンニン物質が蓄積しているだけであり、タンニンの合成の場はわからなかったと述べている。

次に、タンニン細胞の発育過程を経時的に調査したところ、この場合は脱渋性と関連して品種間で大きな差異が認められた。以前にも、宮林²⁵⁾はカキの成熟果でのタンニン細胞の大小、分布密度の品種間差異を調査し、pollination constantの甘ガキのタンニン細胞の大きさが著しく小であることを報告し、並河³³⁾も同様のことを述べているが、本実験においてはこの事実がさらに明瞭になった。すなわち、渋ガキの「平核無」と「倉光」、およびPVNAの「長連寺」のタンニン細胞が7月下旬まで急激にその大きさを増大させるのに対して、PCNAの「富有」と「花御所」のタンニン細胞は6月下旬ごろよりほとんどその大きさの増加が認められなくなり、タンニン細胞の発育がはやく停止することが確かめられた。また、タンニン細胞の分布密度の変化には品種間で大きな差異はなかったが、単位面積あたりに占めるタンニン細胞の総面積は6月下旬より「富有」と「花御所」のPCNAの2品種で極端に小さくなり、その減少パターンはタンニン含量の消長パターンと類似していた。これは同じように樹上での自然脱渋がおこるPVNAの「長連寺」が9月上旬まで渋ガキ2品種とほとんど同じ面積をタンニン細胞が占めているのとは対照的であった。この事実は、PVNAの果実ではその渋味の消失がタンニン細胞内のタンニン物質の凝固に起因しているのに対して、PCNA果実の6月中旬～7月下旬までの渋味の減少はタンニン細胞の発育停止による果実内での希釈効果が主たる原因であることを示唆している。PCNAのカキ果実のこの期間の渋味の減少が、急激におこるのではなく徐々に進行しているのもこのためであろう。そしてPCNA果実のタンニン物質自体の不溶化は7月下旬以後におこっているものと推察される。この仮説は8月上旬にPCNAおよびPVNA果実のタンニン物質の不溶化程度を調査することによって確かめられた。

PCNAの6品種の果実について、タンニン物質の不溶化程度を氷結切片を作製して塩化第二鉄による染色の有無で調査したところ、タンニン含量がほとんど消失している8月8日においても「花御所」、「製御所」、「天神御所」ではそのタンニン細胞は全く染色されず、タンニン物質はまだ不溶化していなかった。さらに、「富有」、「次郎」、「藤原御所」においても凝固していないタンニン細胞がかなり存在していることが認められ、タンニン物質の不溶化が急激に進行していないことが確かめられた。これは、PVNAの3品種のタンニン細胞がいずれも完全に不溶化しているのとは対照的であった。

以上のように、pollination constantの甘ガキの樹上での自然脱渋の機構を考えると、その主たる原因はタンニン細胞の発育が果実発育の初期の段階で停止してしまうということであると思われる。そして、タンニン物質の不溶化はタンニン細胞が発育を停止した時期より徐々に進行していくと思われる。この真の意味での脱渋が何によっておこるか本実験からでは結論づけることができないが、リンゴ葉中のタンニン成分が凍結乾燥しても赤酵素的に徐々に重合して高分子化すること⁴⁰⁾を考えると、多分自然状態でのゆるやかな酸化反応が大きな要素を占めていると推測される。この点についてはさらに検討する必要があるであろう。

第5節 摘 要

PCNAのカキ果実の脱渋機構の特異性を組織学的な面より解明するために、果実内でのタンニン細胞の発生および発育過程を品種間で調査し、脱渋性との関連を検討した。

1) タンニン細胞の発生過程を「富有」と「花御所」(PCNA)、「長連寺」(PVNA)、「平核無」(PVA)および「倉光」(PCA)の5品種で調査した。いずれの品種でも4月29日(開花約20日前)になるとタンニン細胞は子房内に存在するようになり、その後維管束系の発達とともにそれらに平行するように発生してゆき、5月8日になると子房内のどの部位にもかなりの密度で存在していた。この発生過程には品種間で差異がなく、またタンニン細胞がどの細胞から発生するのかを確かめることもできなかった。

2) 果実内のタンニン細胞の発育過程を上記5品種について調べたところ、「長連寺」、「平核無」および「倉光」においては7月下旬まで急激にその大きさが増大したが、

PCNA である '富有' と '花御所' では6月下旬ごろより大きさの増加が認められなくなり、小さいままで発育を停止した。また、タンニン細胞の密度変化には品種間ではほとんど差異が認められなかったため、果実内に占めるタンニン細胞の総面積は '富有' と '花御所' においてタンニン細胞が発育を停止する6月下旬以降に著しく小さくなった。

3) PCNA の6品種およびPVNA の3品種について、タンニン物質の不溶化程度を可溶性タンニンがかなり減少している8月上旬に調査した。PVNA 果実ではいずれの品種もタンニン細胞が完全に凝固していたが、PCNA の '富有'、'次郎'、'藤原御所' では凝固しているタンニン細胞と凝固していないものが混在しており、'花御所'、'紫御所' および '天神御所' のタンニン細胞はまだほとんど不溶化していないことがわかった。

4) 以上のことより、PCNA 果実の樹上での自然脱渋の主たる原因は、タンニン細胞の発育が初期に停止することによる果実内での希釈効果であることがわかった。そして、タンニン物質の不溶化はタンニン細胞の発育停止の後、徐々に進行していることが示唆された。

第4章 タンニン細胞の形態的特性について

前章において、カキ果実のタンニン細胞の発育過程がPCNA の品種とそれ以外の品種とで大きく違っており、PCNA 果実のタンニン細胞は発育の比較的早い時期に小さいままでその発育を停止することがわかった。

一方、カキ果実のタンニン細胞自体の組織学的研究は過去に HOWARD¹⁷⁾ および徳川と湯浅²⁰⁾ の報告があるのみで、現在までのところほとんど調査されていない。また、脱渋様式によるタンニン細胞の形態的差異を分類した北川の報告²⁵⁾ もあるが、これもその構造変化を詳細に調べているわけではない。

そこで本章では、タンニン細胞の形態特性を明確にするために、走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察を中心にして調査を行い、脱渋との関連において品種間でどのような差異が認められるかを検討した。

第1節 タンニン細胞の液胞内容物の形態と時期的変化

タンニン細胞の形態的特性を明確にする手はじめとして、まずその液胞内容物の形態的な特徴を SEM によって観察した。また、この形態に脱渋と関連して品種間で差異が認められるかどうかを経時的に調査した。

第1項 材料及び方法

1982年8月17日、三重大学農学部附属農場植栽の '富有' と '平核無' のカキ成木より果実を採取した。この時期、'平核無' の果実は当然のことながらかなりの渋味を呈するが、'富有' ではもうほとんど渋味がなく、わずかに酸味が残はじめていた。この果肉の一部をとり、第45図のように固定、脱水、乾燥をして²¹⁾ SEM (日立 HHS-2X 型、加速電圧 15KV) により観察した。ただし、果肉の自然の断面でのタンニン細胞の内容物の形態を観察するために、第2固定後の水洗の段階で試料を一度とりだして手で割り、この面を観察した。

さらに、1983年5月17日より9月5日までの間、京都大学農学部附属農場に植栽されている '富有' と '花御所' (PCNA)、'長遠寺' (PVNA)、'平核無' (PVA) および '倉光' (PCA) の5品種のカキ成木より2週間毎に果実を採

試 料

第1固定

0.2% タンニン酸 + 2.5% グルタルアルデヒド

第2固定

2% タンニン酸 + 2.5% グルタルアルデヒド

水 洗

第3固定

1% オスミウム酸

水 洗

置 換

30%	EtOH	1回	(30分)
50%	EtOH	"	(")
70%	EtOH	"	(")
90%	EtOH	"	(")
100%	EtOH	3回	(各30分)

置 換

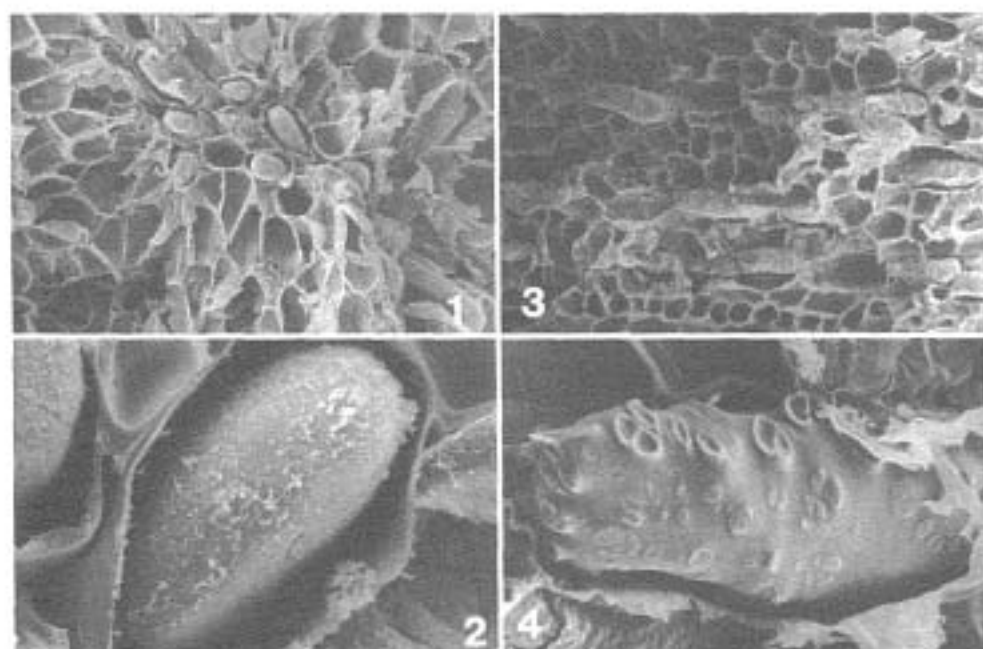
酢酸イソアミル

臨界点乾燥 (CO₂)

蒸 着 (金)

SEM 観察

第45図 SEM 観察用の試料作製手順



第46図 ‘富有’ および ‘平核無’ の果肉断面におけるタンニン細胞の液胞内容物
1, 2. 富有 3, 4. 平核無

取し、その果肉の一部をとり第45図に従って処理してSEMにより観察した。ただしこの場合も先述のように、第2固定後の水洗の段階で試料を削り、この面を観察した。

第2項 実験結果

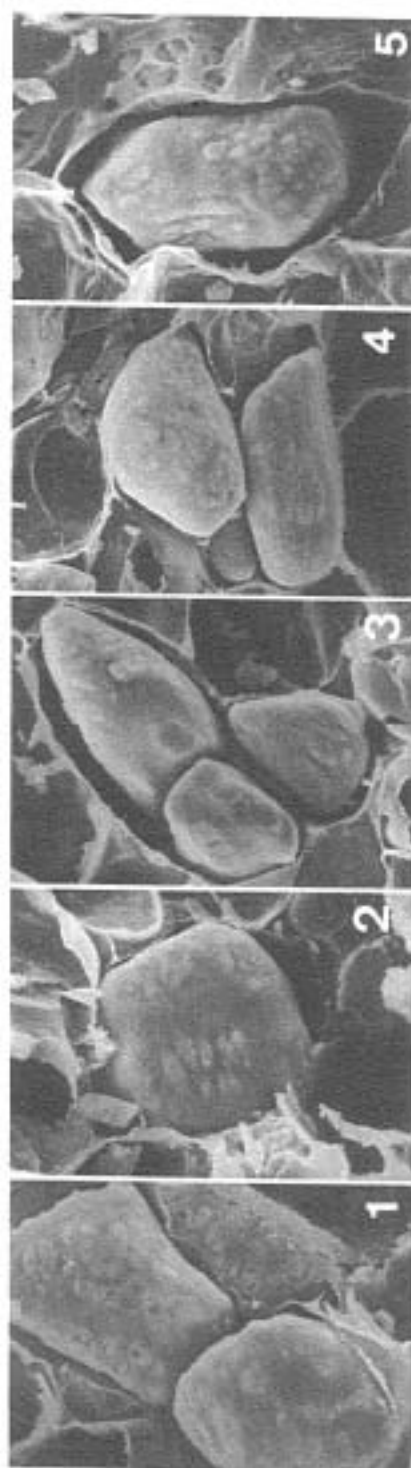
1. 液胞内容物の形態

予備的な実験で固定前に果肉の断面をつくり、その後第45図の処理をしてSEMにより観察するとタンニン細胞の内容物が流れ出てしまっており、果肉の断面もそのために鮮明ではなくなることがわかった。そこでまずグルタルアルデヒドにより固定し、タンニン細胞の液胞内容物（すなわちタンニン物質）を凝固させてから果肉の断面をつくり、それを観察した。その結果は第46図に示すように、タンニン細胞の液胞内容物の表面構造がSEMにより明瞭に観察できた。そしてこの表面構造には両品種の間で大きな違いがあり、‘富有’はその表面が滑らかであるのに対して、‘平核無’には多数の突起が存在しており、顕著な凹凸状紋様が認められた。

2. 時期的変化

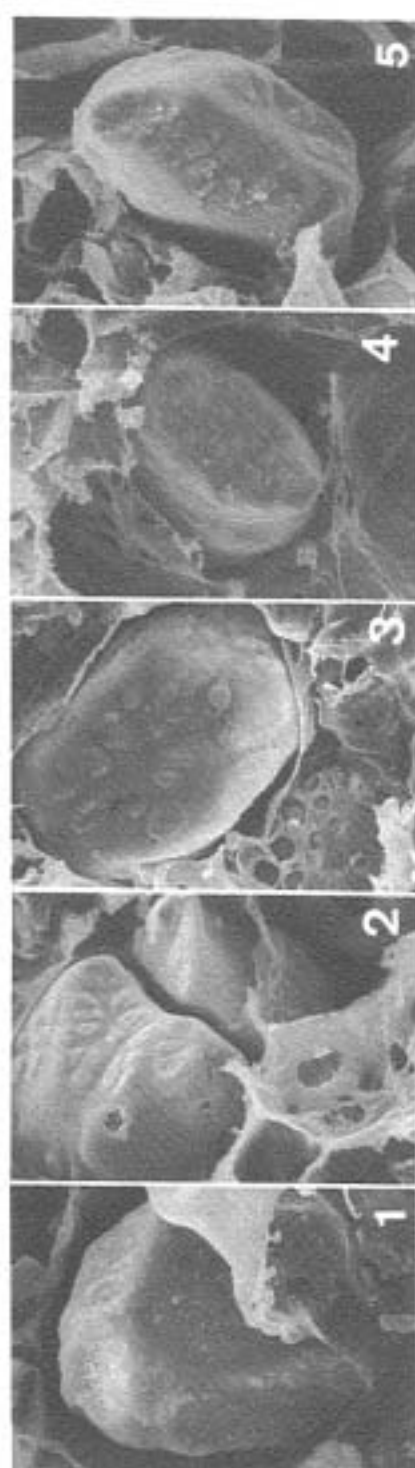
本実験において、各品種の可溶性タンニン含量の消長は前章の第2節で測定した第36図がそのまま摘要できる。

この可溶性タンニン含量の消長と第47図のタンニン細胞の液胞内容物の表面構造の時期的変化を対応させてみると、まずタンニン含量がまだ低い5月17日の観察ではいずれの品種もその表面の凹凸状紋様は顕著でなく比較的滑らかであった。ところがタンニン含量の増加に伴って表面の凹凸状紋様が徐々に顕著になり、6月13日の観察ではいずれの品種においても著しい凹凸状紋様がみられた。その後、7月25日の観察までは‘富有’でその凹凸の大きさが小さいもののどの品種にも凹凸状紋様が認められ、‘富有’や‘花御所’ではこの時期タンニン含量がかなり減少しているにもかかわらず、液胞内容物の表面構造に変化は認められなかった。ところが、8月8日以降の‘富有’、および8月22日以降の‘長建寺’の観察において変化が認められ、凹凸状紋様が全くなりその表面が滑らかになっていた。この液胞内容物の形態変化は、渋味の消失過程より考えてタンニン物質が凝固すること、すなわち脱法の完了と密接に関係していると推察された。‘花御所’では洗ガキ2品種と同様に9月5日までタンニン細胞の内容物の表面に顕著な凹凸状紋様が観察されたが、‘花御所’ではこの時期においてもタンニン物質の凝固がおこっていないことを示唆しているものと思われる。



第47図-a 果肉断面におけるタンニン細胞の液腔内容物の形態変化（5月17日の観察）

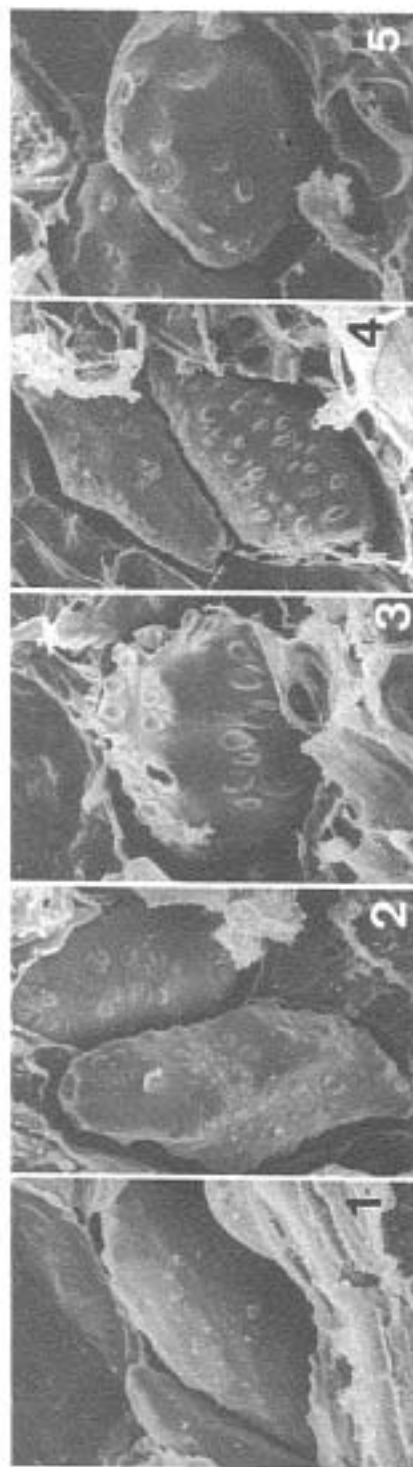
1. 富有 2. 花餅所 3. 長建寺 4. 平枝黒 5. 倉光



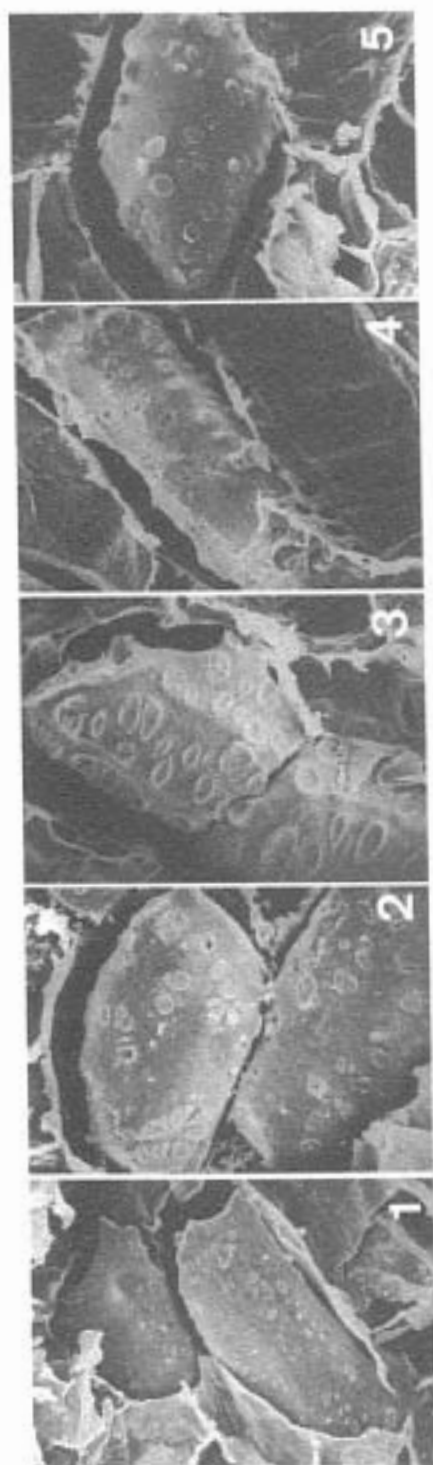
第47図-b 5月30日の観察



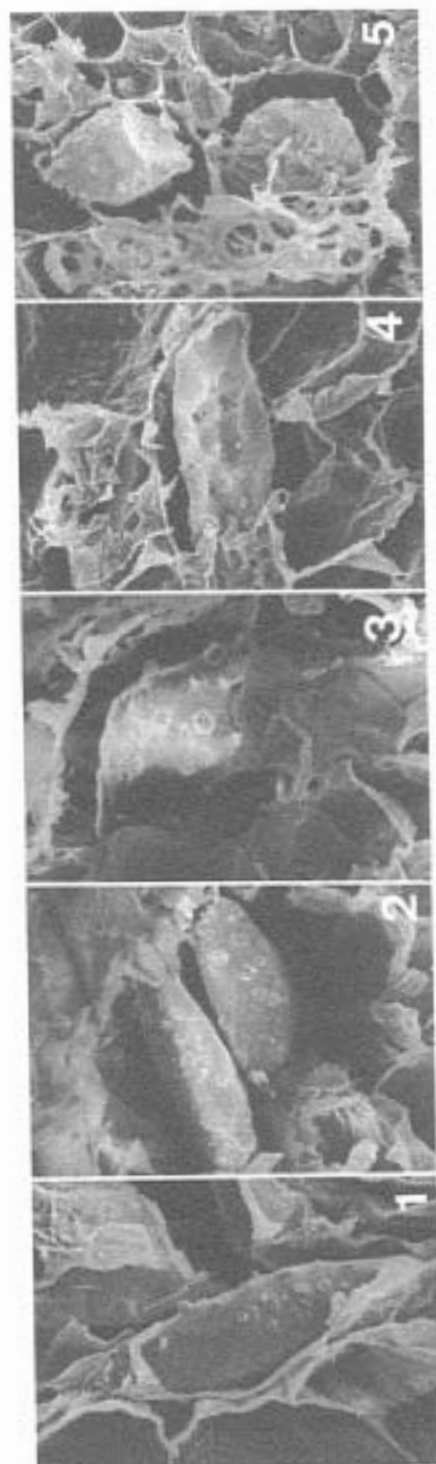
第47図-c 6月13日の観察



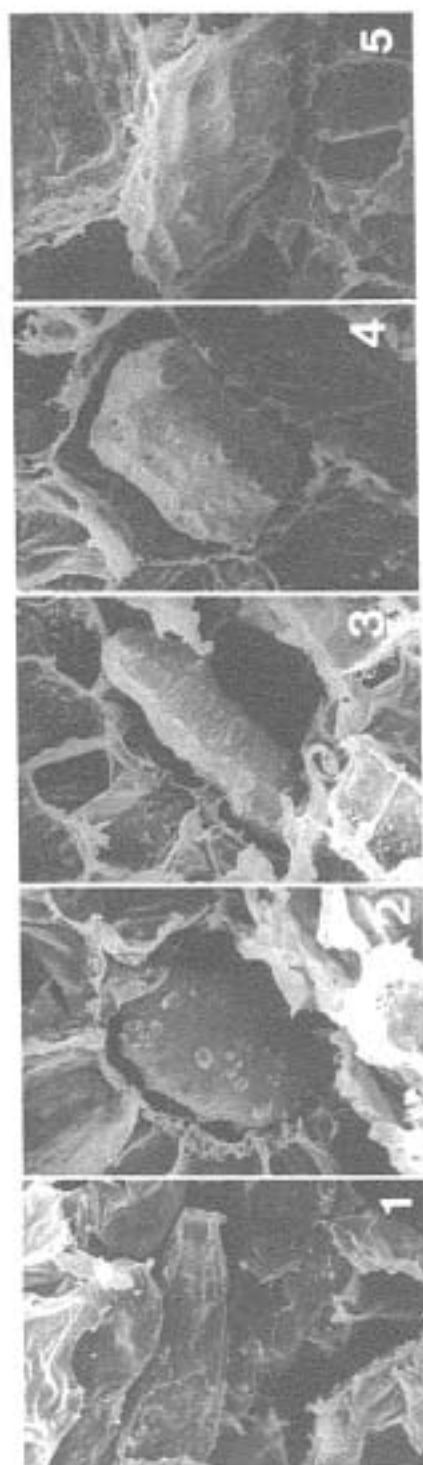
第47図-d 6月27日の観察



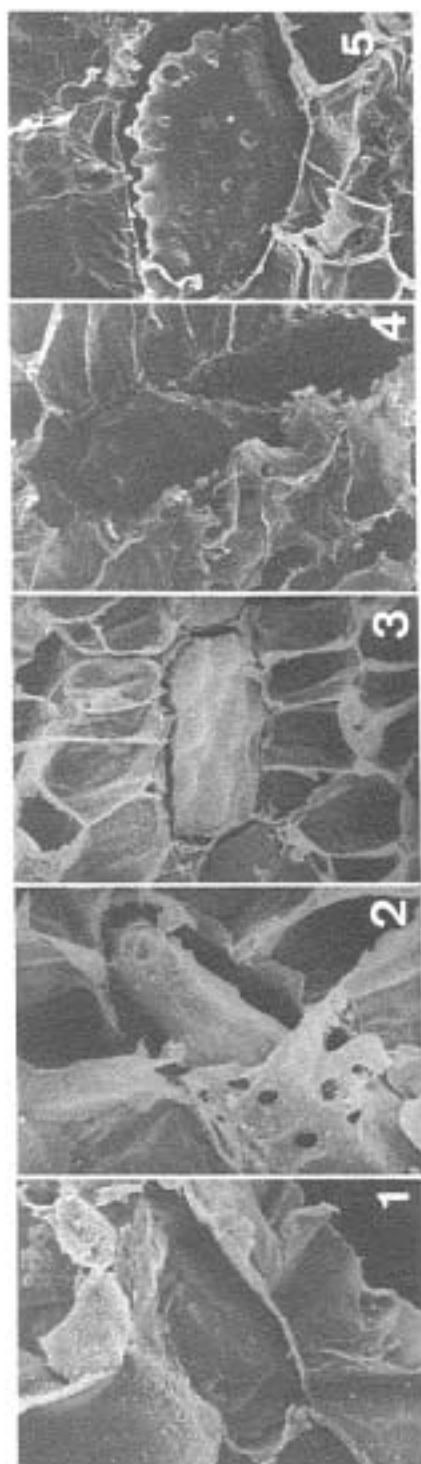
第47図-e 7月11日の観察



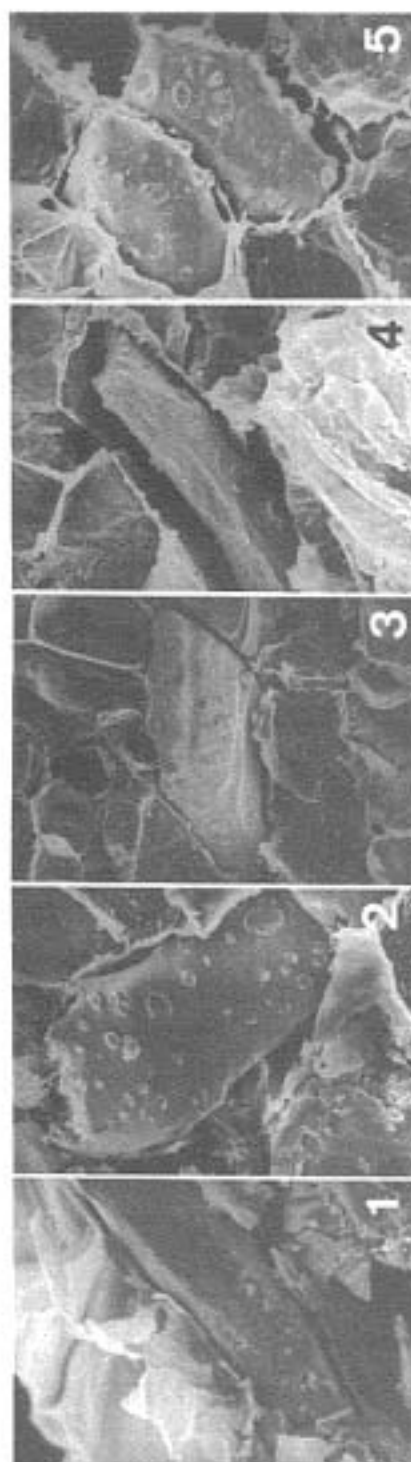
第47図-f 7月25日の観察



第47図-a 8月8日の観察



第47図-b 8月22日の観察



第47図-1 9月5日の観察

前章の結果と一致していた。

なお、本実験の観察中にタンニン細胞の興味ある形態的特性が随所に認められたので、その一部を第48図に示した。

第2節 タンニン細胞の形態的特性

前節の SEM による観察過程で、タンニン細胞の液胞内容物の凹凸に対応してその細胞壁に多数の穴があいているところが見え、観察された。そこでこのことを確かめるために本実験を行い、タンニン細胞の形態的特性を調査した。

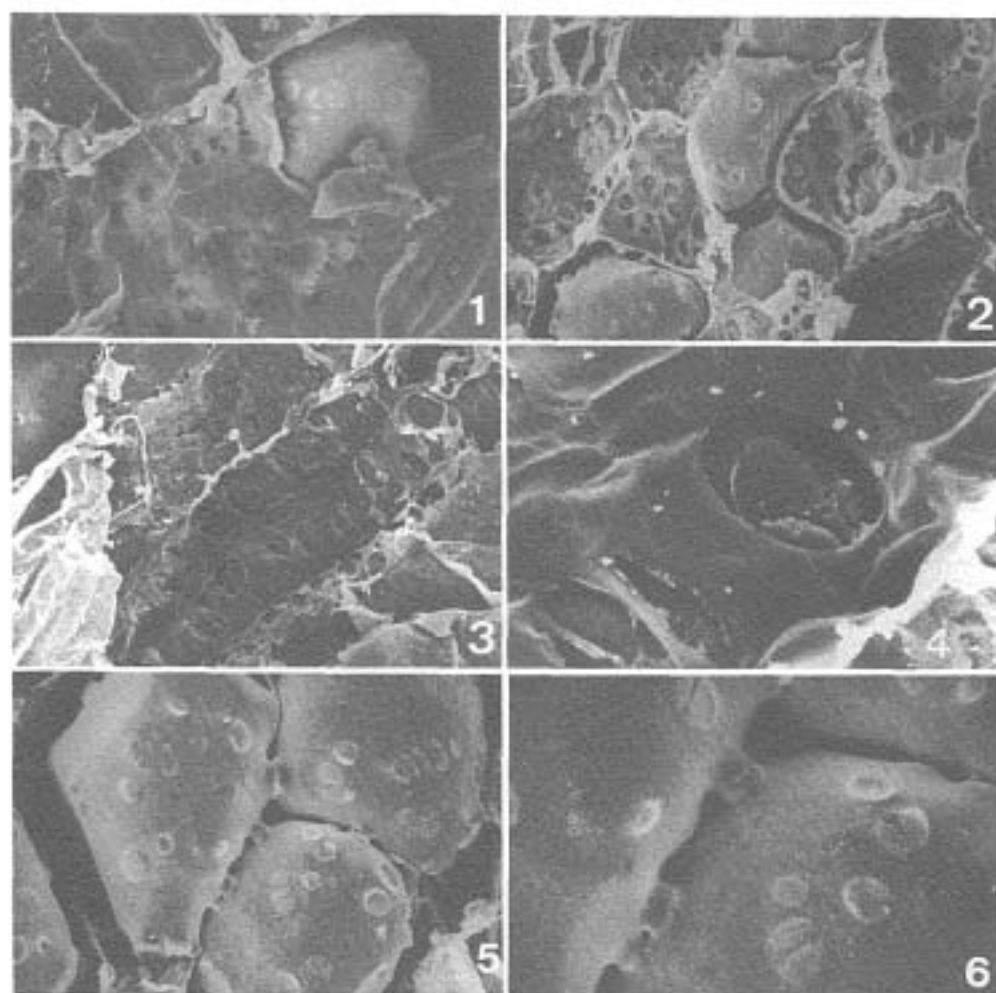
第1項 材料及び方法

供試品種として京都大学農学部附属農場に植栽されているカキ成木より、「富有」と「花御所」(PCNA)、「長建寺」(PVNA)、「平核無」(PVA) および「倉充」(PCA) の5品種を用い、1983年8月29日にこれらの果実よりマセレーション (maceration) した果肉のタンニン細胞を観察するための試料と薄切切片によるタンニン細胞の観察のための試料の2種類を採取した。

まず、マセレーションした果肉のタンニン細胞の観察のためには果肉の一部を第45図の第1固定液で固定した。その後、これを水洗いして Letham の方法²¹⁾により 0.06 M の EDTA 溶液 (pH 10.0) でマセレーションし、ガーゼでろ過した後、ろ液をミラクロス (Calbiochem-Behring Co.) に通して分離した細胞を集めた。タンニン細胞は柔細胞に比べてその大きさが大きく、密度も高いので、集めた細胞を数回デカンテーションすることにより容易にタンニン細胞のみを集めることができた。このようにして集めたタンニン細胞の一部はそのまま光学顕微鏡 (位相差) により観察し、残りは第45図の第2固定液より再び同様に処理して SEM で観察した。さらに、「富有」と「平核無」のタンニン細胞については SEM 観察中にマニピレーターを操作し、タンニン細胞の内部も観察した。

次に、果肉の薄切切片を作製するためには、果肉のスライスを第33図に従って固定、脱水、包埋した。そしてこのブラスチック断面に包埋した試料を前記と同じ方法で 2-4 μ m の切片とし、これを 0.1% Kayaphor NL (日本化薬 K.K. Calceofluor White と同様のもの) により蛍光染色して、その細胞壁の構造を 334-365 nm の励起波長によって蛍光顕微鏡で観察した^{2,10)}。

なお、この時期には「富有」、「花御所」および「長建寺」



第48図 果肉断面の観察中にみられたタンニン細胞の形態的特性

1. 富有 (5月30日) 2. 倉光 (7月11日)
3. 平核無 (8月22日) 5. 倉光 (7月11日)

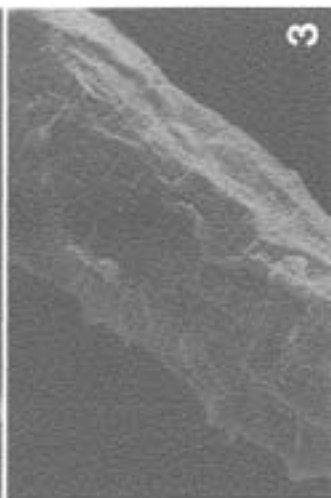
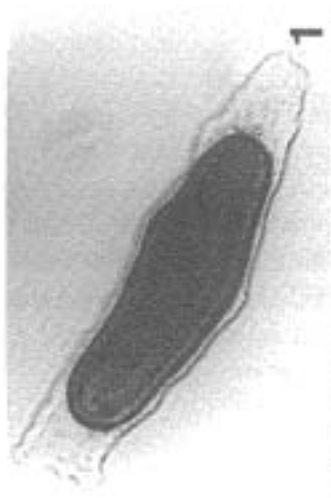
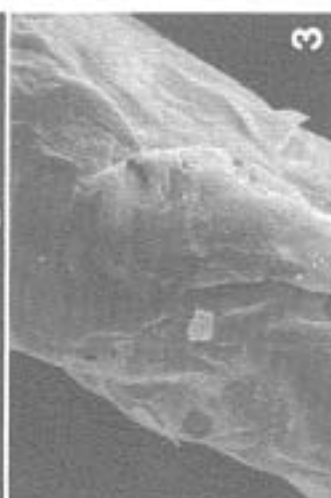
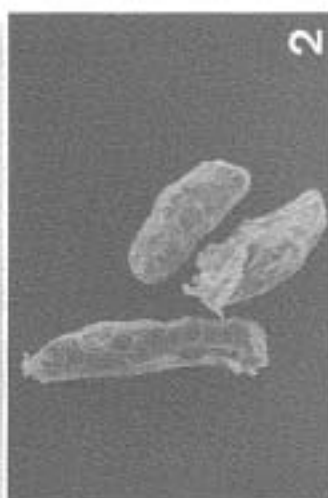
の果実はほとんど脱渋しており、'富有'と'長建寺'の果肉にはかなりの褐斑が生じていた。

第2項 実験結果

1. マセレーションした果肉のタンニン細胞の形態
マセレーションした果肉より集めたタンニン細胞の形態を第49図に示した。まず光学顕微鏡によるタンニン細胞の内部形態の観察結果をみると、脱渋がほとんど完了して果肉に褐斑が生じている'富有'と'長建寺'はその内容物の表面が滑らかであり、渋ガキである'平核無'と'倉光'においては表面に多数の突起が認められ、前掲の観察結果が確かめられた。ただ、'花御所'は果実の

渋味がほとんど消失しているにもかかわらず、表面に若干の突起が存在していた。次にSEMでみると、'平核無'と'倉光'のタンニン細胞の細胞壁には多数の穴の存在がみられた。この細胞壁の穴は'富有'と'長建寺'のタンニン細胞には全く認められず、光顕での観察結果ともあわせて考えると、その細胞内容物の突起と対応したところの細胞壁に穴があいていることが示唆された。また、'花御所'では細胞壁の穴が部分的にふさがっているように観察され、他の甘ガキとは様相を異にしていた。

さらに、'富有'と'平核無'のタンニン細胞について、

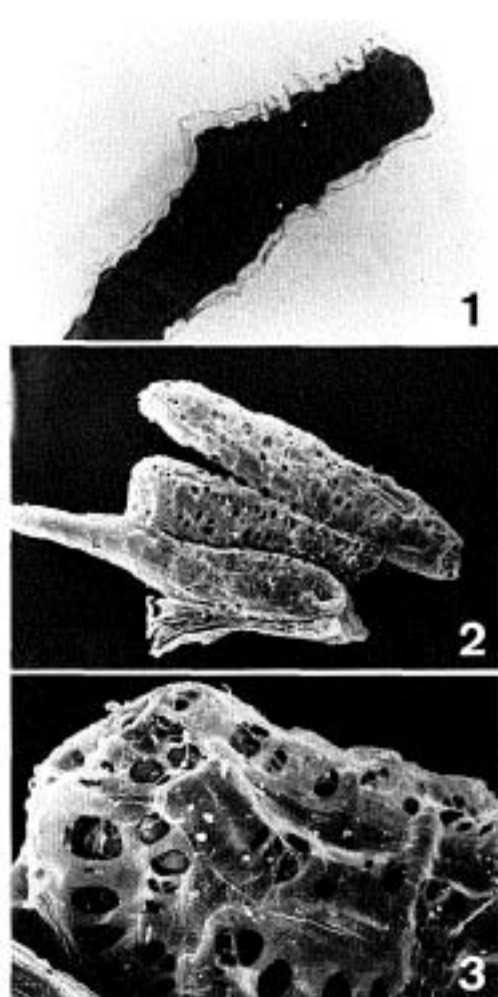


第49図-a 桑肉のマセレーションにより集めたタンニン細胞(富有)

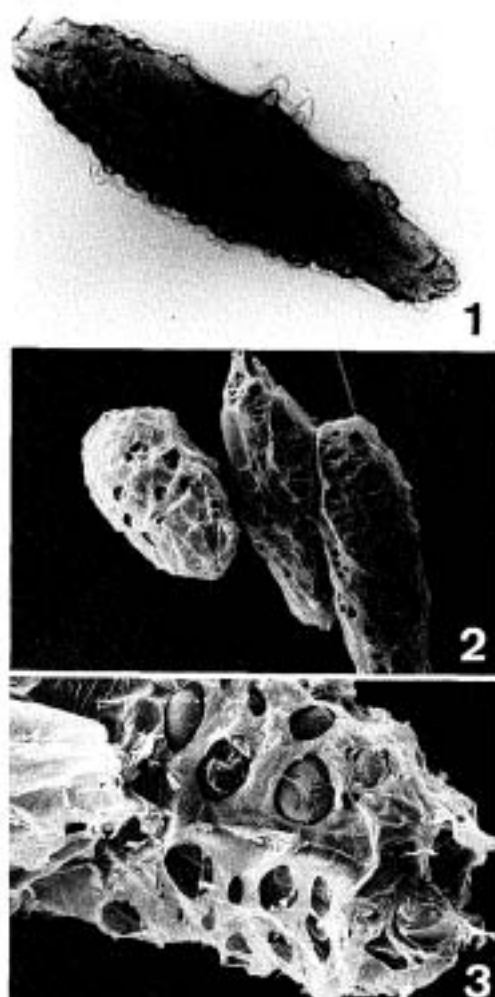
1. 光顕観察 2, 3. SEM 観察

第49図-b 花萼所

第49図-c 長建寺



第49図-d 平核無



第49図-e 倉元

内部形態を確かめるためにマニピレーターを操作して細胞壁の一部をはぎとったところ。第50図のように「平核無」のタンニン細胞では顕著な凹凸状紋様をもった液腔内容物があらわれ、「富有」はその内容物の表面が滑らかであることが確認された。なお、「富有」のタンニン細胞で内容物の表面に若干のくぼみが認められるが、これはマニピレーター操作中にその針でつけた傷である。

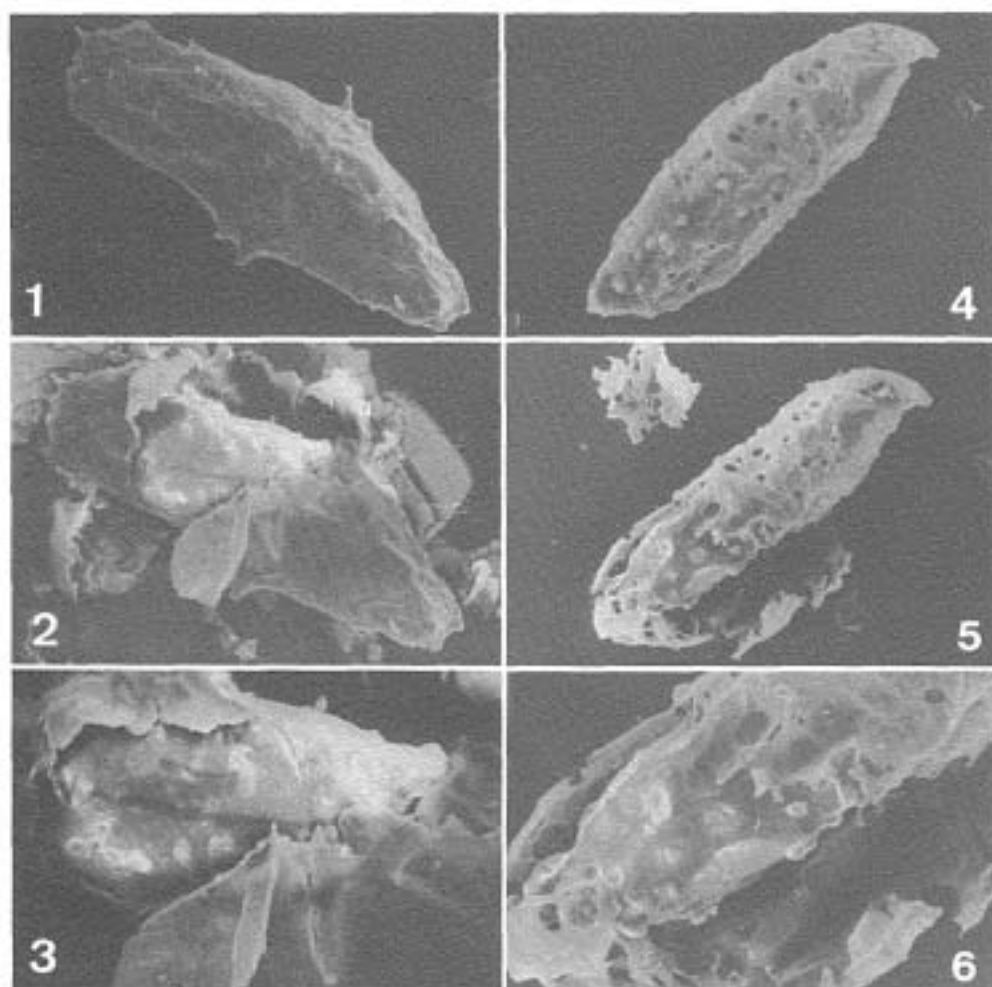
2. 樹脂包埋した果肉のタンニン細胞の観察

上記の観察結果より、タンニン細胞の細胞壁に穴がある品種とそうでない品種があることが認められたが、このことを横断切片によっても調査した。その結果は第51図のようであり、Kayaphor NLでの染色によって細胞壁のみが特異的に pale blue の強い蛍光を発した。他

方タンニン細胞内のタンニン物質は brown の弱い自然蛍光を呈することが認められた。そしてタンニン細胞の細胞壁の構造は予想されたように、「富有」と「長建寺」ではとぎれずに連続していたが、「平核無」と「倉元」はところどころが不連続になっており、あたかも plasmodesmata が発達したもののような形状を示す多数の穴があることが確かめられた。さらに、「花御所」については細胞壁に完全な穴は認められないものの、ところどころにかなり薄い部分が存在していることが確認された。

第3節 タンニン細胞の形態的变化に関する要因

前節までの結果より、タンニン細胞に認められる形態的特性的変化はタンニン物質の不溶化と密接に関係して



第50図 マニピレーターで露出させた‘富有’および‘平核無’のタンニン細胞の内容物

1. 富有：マニピレーター操作前

2, 3. 富有：マニピレーター操作後

4. 平核無：マニピレーター操作前

5, 6. 平核無：マニピレーター操作後

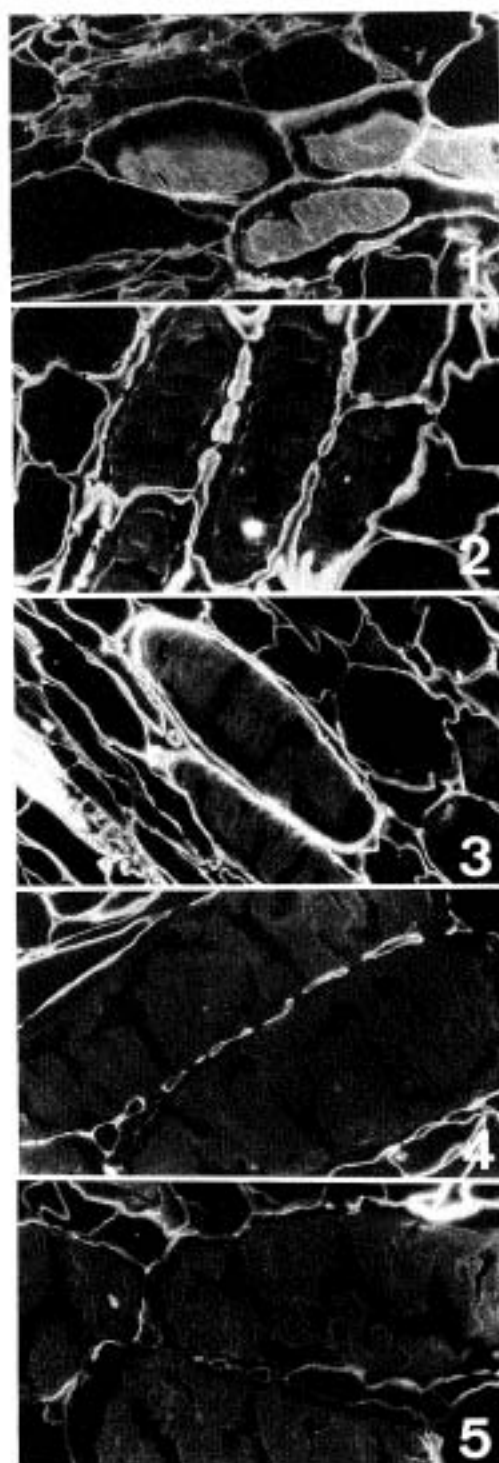
いる可能性が強く示唆された。そこでこのことを明瞭にするために、これまではタンニン細胞の形態変化が認められなかった渋ガキにおいて、その形態の変化を引き起こす要因を調査した。

第1項 材料及び方法

まず、果実の脱渋がタンニン細胞の形態変化を引き起こすかどうかを調査する目的で、京都大学農学部附属農場植栽のカキ成木の‘横野’ (PCA) を、1983年8月3日より10%エタノール 10ml を含むポリエチレン袋を被覆して樹上脱渋させ、その果実を同年11月1日に採取した。この果実は採取時には果肉全体に褐斑が生じていた。また、対照区としては同じ日に無処理の果実を採取した。

これらの果実より果肉の一部をとり、前節と同じ方法で果肉をマセレーションし、タンニン細胞のみを集めて光学顕微鏡と SEM により観察した。

次に、果実の生育ステージの差異によってタンニン細胞の形態に違いが存在するかどうかを調べるために、1983年8月29日および11月1日の2回、京都大学農学部附属農場に植栽されている‘平核無’ (PVA) と‘倉光’ (PCA) の成木より果実を採取した。そしてこれらの果実より果肉の一部をとり、同様にマセレーションし、タンニン細胞を集めて観察した。



第51図 タンニン細胞の細胞壁の構造

1. 富有 2. 花御所 3. 長達寺 4. 平核無
5. 倉光

第2項 実験結果

1. エタノール処理による果実の樹上脱渋

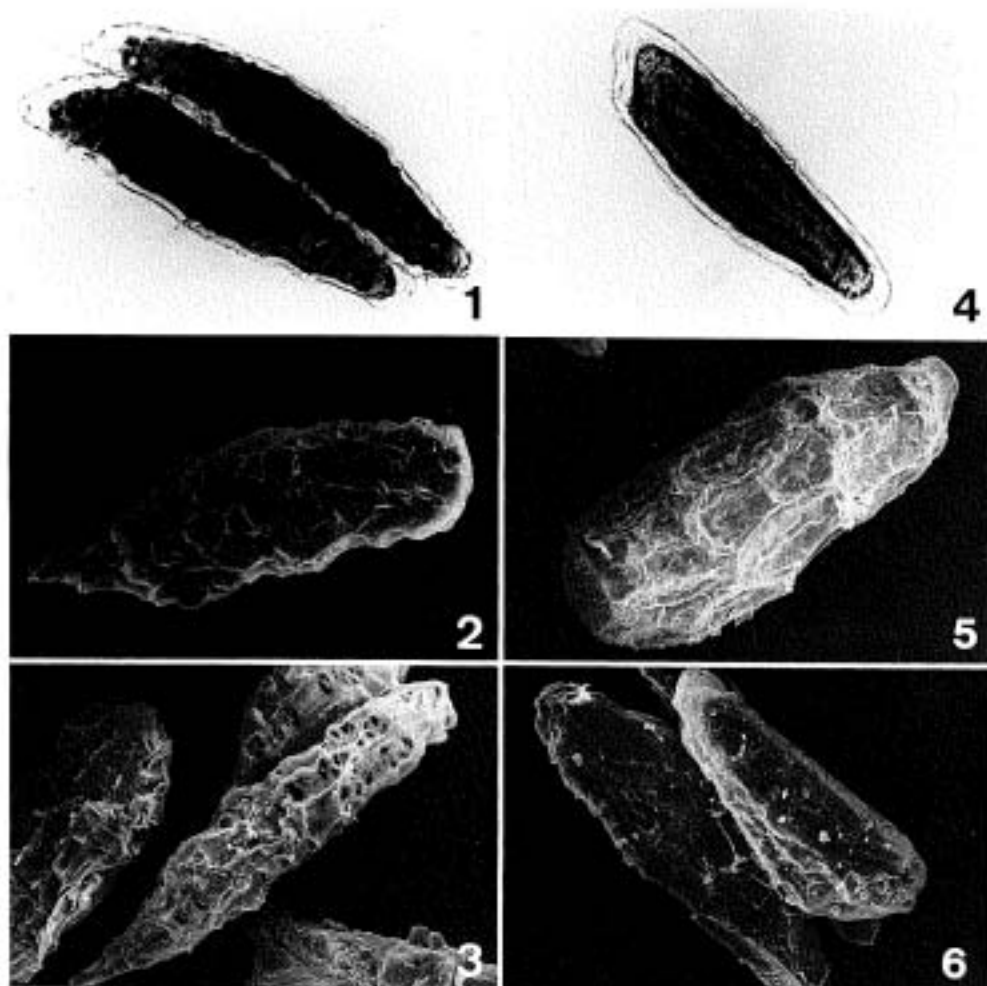
本実験の観察結果は第52図に示した。この結果より明らかに、無処理の果実から集めたタンニン細胞はその液胞内容物に顕著な凹凸が存在し、また細胞壁にいくつもの穴があることが確かめられた。これに対して、エタノール処理によって樹上で脱渋された果実より集めたタンニン細胞は細胞壁に穴は全く認められず、また液胞内容物も滑らかであった。これらの結果は、タンニン細胞の液胞内容物の形態変化とタンニン物質の不溶化との関係を裏づけるものであった。

2. 樹上での果実の生育ステージ

‘平核無’および‘倉光’の観察結果をそれぞれ第53図、第54図に示した。この両者の結果より明らかに、液胞内容物の凹凸には両品種とも観察時期によって差異はほとんど認められなかったが、細胞壁の構造には観察時期によって大きな差異があった。すなわち、‘平核無’、‘倉光’とも8月29日には細胞壁にいくつもの大きな穴が認められているが、11月1日になると両品種ともその穴がふさがっているのが確認された。この事実は、タンニン細胞の機能の低下に伴って、その形態に変化を生じることを示唆するものであろう。

第4節 考 察

本章でタンニン細胞の形態的特性を SEM による観察を中心にして調査したところ、興味ある特徴が明らかになった。まず、8月中旬に果肉の断面でのタンニン細胞の液胞内容物の表面構造を観察したところ、‘平核無’では表面に顕著な凹凸状紋様が認められた。しかしながら、すでにほとんどの渋味が消失し、褐斑の発生がおこっている‘富有’はその内容物の表面に凹凸は存在せず、滑らかであった。さらにこの表面構造の経時的変化を‘富有’と‘花御所’ (PCNA)、『長達寺’ (PVNA)、『平核無’ (PVA) および‘倉光’ (PCA) の5品種の果実について調査したところ、凹凸状紋様は調査したどの品種においても、タンニン細胞内へのタンニン物質の蓄積の増加に伴って顕著になり、タンニン含量のピークが認められる6月13日には著しい凹凸状紋様が認められた。その後、この凹凸状紋様は、‘富有’で若干凹凸の大きさが小さいものの、PCNA の2品種ともタンニン含量のかなりの減少が認められる7月25日まで、他の品種と同様に存在していた。この液胞内容物の形態に変化が生じるのは、



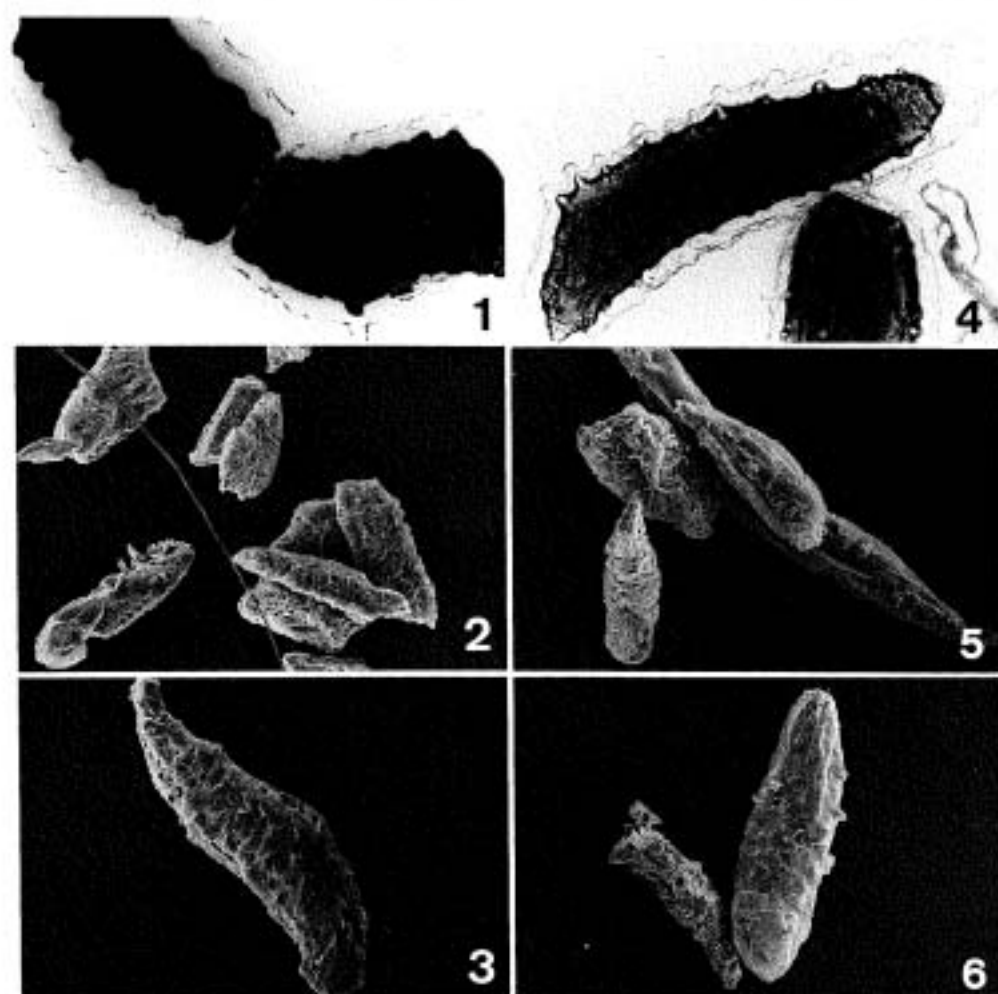
第52図 '飯野' 果実における樹上脱渋処理により生じたタンニン細胞の形態変化

1-3, 無処理 4-6, エタノール処理

8月8日以降の'富有'および8月22日以降の'長建寺'の観察においてであり、その表面は凹凸状紋様がまったくなくなり滑らかになった。タンニン細胞の液胞内容物の形態変化は、エタノールによって樹上脱渋した pollination constant の渋ガキの'横野'果実より集めたタンニン細胞でも認められたが、このことはタンニン細胞の液胞内容物の形態変化がタンニン物質の凝固によって生じることを示唆している。'長建寺'において、その渋味の急激な消失に伴ってタンニン細胞の液胞内容物の形態変化が生じていることを考えると、タンニン含量の減少が果実内のタンニン物質の凝固によっていることは明らかであると思われる。しかしながら、'富有'でこの形態

変化が生じたのが8月8日以降であるということは、タンニン物質の凝固は7月下旬ごろまではおこっていないことを示していると思われる。この時期までにおこるタンニン含量の緩やかな減少は前章で仮定したように、タンニン細胞の発育の比較的に早い段階での停止による果実内での希釈効果であることが確認された。さらに、'花御所'では9月5日の観察においても渋ガキである'平枝無'と'倉光'同様に明瞭な凹凸状紋様が認められ、この時期までタンニン物質の凝固がおこっていないことを示唆しており、前章の結果とこのこともうまく符合していた。

次に、8月下旬に採取した上記5品種の果実の果肉を



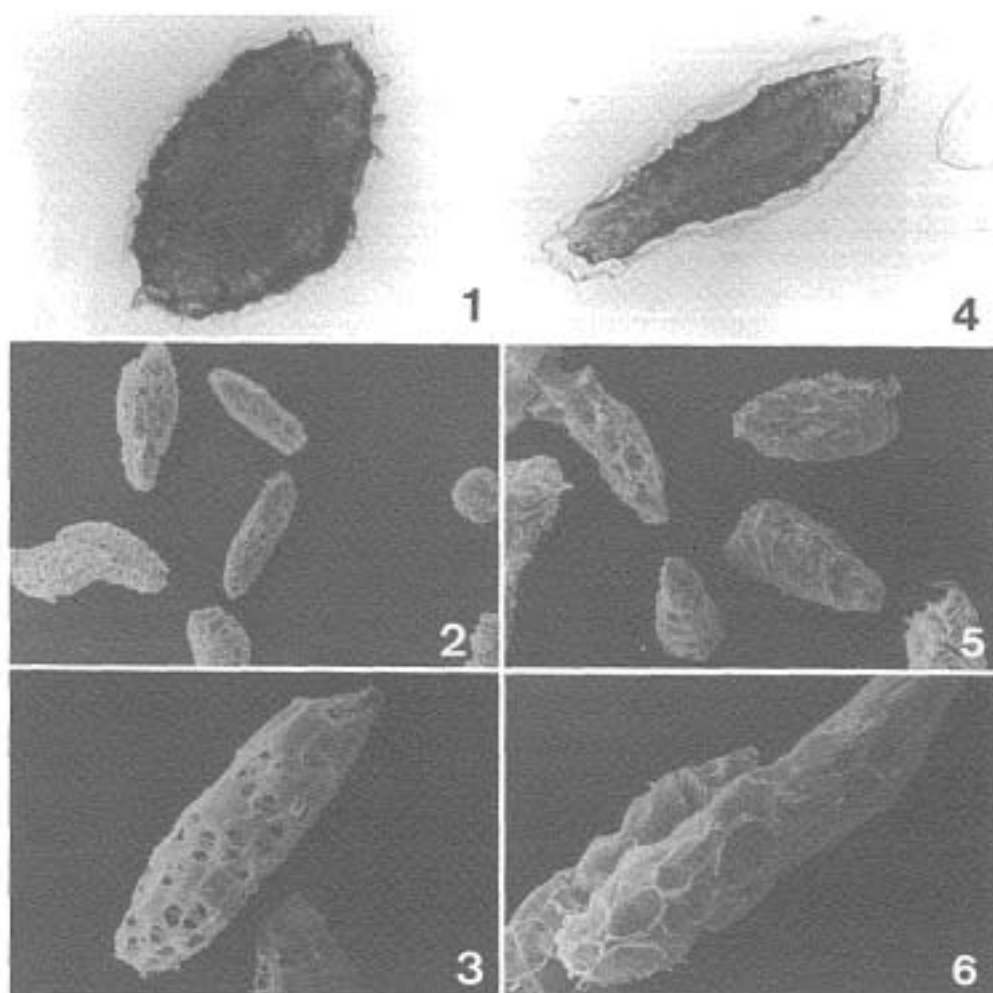
第53図 '平核無' 果実における採取時期の違いによるタンニン細胞の形態変化

1-3, 8月29日採取 4-6, 11月1日採取

EDTA 溶液でマセレーションして集めたタンニン細胞を観察したところ、渋ガキの'平核無'と'倉光'にはタンニン細胞の細胞壁に内容物の凹凸と対応して多数の大きな穴が存在していることがわかった。また、樹上での脱渋が完了している'富有'と'長建寺'のタンニン細胞では内容物が滑らかであり、細胞壁にも穴はみとめられなかった。ただ、'花御所'はこの両者の中間的な様相を示し、内容物には若干の凹凸が存在し、また細胞壁の穴は部分的にふさがっていた。これらの事実は切片による観察からも確かめられ、渋ガキのタンニン細胞に認められる穴はあたかも plasmodesmata の発達した状態のように観察された。HOWARD¹⁷⁾ はその報告の中でカキ果

実中のタンニン細胞同士のつながりを認め、穴のようなもの (pore-like perforation) の存在を示唆している。また、この細胞壁の穴は果肉断面の SEM 観察中にもしばしば認められ、とくに PCNA の'富有'でも早い時期では観察されている(第48図中の1)ところから、タンニン細胞内へのタンニン物質の蓄積に何らかの関係をもっていると考えられる。

一般に植物細胞の細胞壁には、ピット (pits) とよばれる一次細胞壁 (primary wall material) だけからなる薄い細胞壁の部分が随所に存在し、この部分に plasmodesmata が集中していることが知られている¹⁸⁾。そしてこの plasmodesmata は細胞内の物質の移動に能動的な



第54図 '食光' 果実における採取時期の違いによるタンニン細胞の形態変化
1-3, 8月29日採取 4-6, 11月1日採取

役割をしている⁷⁴⁾と考えられている。タンニン細胞の細胞壁に存在するこの多数の大きな穴が *plasmodesmata* の役割をしているとすると、タンニン細胞内にタンニン物質が蓄積する過程を考える上で非常に興味深い事実である。このような細胞壁にみられる穴はタマネギの根においても報告されており⁶⁹⁾、また SCOTT ら⁷⁰⁾ はアボガド果実中の油のう (oil sac) をもつ異形細胞の細胞壁にも多数の穴 (pore) があり、これが *plasmodesmata* の path となって oil の蓄積と関連していることを示している。さらに、PLATT-ALDIA ら⁶⁷⁾ も同様にアボガド果実中の oil cell においてのみ特異的に *plasmodesmata* が存在していることを確認している。カキ果実

のタンニン細胞でもこれらと同じような機能が存在しているのではないだろうか。ただ、タンニン細胞の細胞壁に認められたこの連絡は、切片による観察からではタンニン細胞間でより顕著であり、近接した柔細胞とタンニン細胞の間の連絡は認められるものの数が少ないように思われた。この点はタンニン細胞の発生機構と関連してさらに調査する必要がある。

加えて、渋ガキ果実でも成熟果より集めたタンニン細胞はその細胞壁の穴がふさがってきており、形態変化を起こしているのが観察された。このような変化は PCNA の甘ガキのタンニン細胞ではもっとはやい時期に生じているだろうと推察される。そしてタンニン細胞

の機能の低下により生じるとされるこのような形態変化は、タンニン細胞内のタンニン物質の不溶化と何らかの関係をもっており、PCNA 果実での真の意味での脱渋機構の要因となっている可能性が考えられるが、この点についてはこれからの検討課題であると思われる。

第5節 摘 要

タンニン細胞の形態的特性を明確にするために、主として SEM による観察を行い、この特性と脱渋との関連性を調査した。

1) 8月17日の「富有」と「平核無」の果肉の断面でのタンニン細胞の液胞内容物の表面構造を SEM により観察したところ、「平核無」は顕著な凹凸状紋様を示し、「富有」のそれが滑らかであるのと対照的であった。さらに、「富有」と「花御所」(PCNA)、「長建寺」(PVNA)、「平核無」(PVA) および「倉光」(PCA) の5品種についてこの形態を経時的に調査したところ、凹凸状紋様は7月25日の観察まではどの品種にも認められた。しかし、8月8日以降の「富有」および8月22日以降の「長建寺」の観察に変化がみられ、表面が滑らかになっていることがわかった。ただ、「花御所」は9月5日の観察においても渋ガキの「平核無」と「倉光」同様、その表面に顕著な凹凸状紋様が認められた。

2) 8月29日に上記5品種の果実を採取し、これらの果肉を0.05 M EDTA 溶液でマセレーションしてタンニン細胞を集めて観察したところ、渋ガキの「平核無」と「倉光」はその細胞壁に液胞内容物の凹凸と対応する大きな穴が認められた。しかし樹上での脱渋が完了している「富有」と「長建寺」のタンニン細胞には穴がなく、液胞内容物も滑らかであった。「花御所」ではこの両者の中間的な様相を示し、内容物には若干の凹凸があり、細胞壁の穴は部分的にふさがっていた。

3) 上述の結果は、同品種の果肉の薄切切片による蛍光顕微鏡での観察からも確かめられた。「平核無」と「倉光」のタンニン細胞の細胞壁は不連続であり、あたかも plasmodesmata の発達したような形態が示されたが、「富有」と「長建寺」のタンニン細胞の細胞壁は連続していた。また、「花御所」ではその細胞壁は連続しているものかなり薄い部位が随所に存在していることが確かめられた。

4) 以上のような渋ガキでのタンニン細胞の形態変化は、樹上で人為的に脱渋した「横野」果実および「平核無」

と「倉光」の成熟果より集めたタンニン細胞でも認められ、渋ガキにおいてもタンニン細胞の機能が消失することによってその形態変化がおこることがわかった。

総 合 考 察

従来よりカキ果実の脱渋に関しては、それが渋ガキであれ渋ガキであれ、エタノールやアセトアルデヒドなどの揮発性物質が重要な役割をはたしているということが定説とされてきた^{21,24,31,32,37}。本実験において樹上で自然に脱渋が進行する渋ガキについて、その脱渋過程と果実内のこれら揮発性物質の蓄積との関係を調査したところ、pollination variant の渋ガキ（「長建寺」と「三國一」）は従来からいわれているように、渋味の消失と種子に由来するエタノールおよびアセトアルデヒドの果実内での蓄積が密接な関係をもっていることが確認された。しかしながら、pollination constant の渋ガキ（「富有」と「花御所」）における渋味の減少はこれら揮発性物質の果実内への蓄積と全く無関係に進行しており、また「富有」幼果に樹上でこれらの物質によって脱渋処理を行ってもほとんど効果がないことが明らかとなった。すなわち、カキ果実の脱渋機構を考える時、果実内のエタノールやアセトアルデヒドの蓄積がその渋味の消失と密接に関係している PVNA, PVA, PCA の品種群と、これらの蓄積とは全く無関係に脱渋する PCNA の品種群の二通りにはっきり区別して考える必要がある。前者の脱渋機構については従来よりいわれているタンニン物質のアセトアルデヒドによる縮合説で説明されるものの、後者についてはこの考え方が全く符合しない。それではこの PCNA 果実において樹上で自然脱渋がおこる原因は何であろうか。また、PCNA 果実のみが樹上でのエタノールやアセトアルデヒドの処理によって脱渋できないのは何故であろうか。これらの点を明確にするために、PCNA 果実のタンニン物質の化学的特性およびタンニン細胞の組織学的特性を調査した。

カキ果実において、そのタンニンは縮合型タンニンであることが知られている^{22,23,34}。この縮合型タンニンの場合、それを含んでいる植物の種類によって骨格となるカテキン類の組み合わせが異なること³⁴や、種によって^{23,35}あるいは生育段階によって³⁶その重合度が変わりタンニン物質の分子量分布に差が認められることが報告されている。そこでカキ果実のタンニン物質についてこれらの点を検討したところ、PCNA の品種群の果実

においてそのタンニンを構成する低分子フェノールの組成およびタンニンの分子量分布に特異性が認められた。まず、タンニンの構成成分になるとと思われる酢酸エチル可溶性分画に抽出される低分子フェノールの主たる成分はカテキンと没食子酸であった。そして調査したPVNA, PVA, PCAの品種ではいずれも6月下旬以後にカテキンが検出されなくなるのに対して、PCNAの品種にのみ測定期間を通じて存在していた。没食子酸は逆に、PCNAの品種で6月下旬より以後検出されなくなるのに対して、それ以外の品種では6月下旬にその含量がピークに達し、その後減少していった。次に、分子ふるいクロマトグラフィーでタンニン物質の分子量分布を調査した結果、PCNAの品種のカキはPVNA, PVAおよびPCAのカキに比べて低分子領域のタンニン成分で構成されており、タンニンが重合されにくい状態になっていることがわかった。HASLAM^{11,12)}によれば、プロシアニジンの重合は組織の代謝活性に左右されるとしているが、PCNA果実の代謝がその他の品種群のカキ果実と何らかの違いをもっているのかもしれない。

さらに、PCNA果実のタンニン物質のこのような特異性によって生じるとされる化学的性質の差異を超速心法およびアセトアルデヒドとの反応性によって調査した。まず、'富有'と'平核無'のタンニン成分の変化の様相を超速心法により測定した結果、'富有'ではその成分がほとんど変化しなかったのに対して、'平核無'では複雑に変化した。また、この両品種のタンニンとアセトアルデヒドの反応性を種々の濃度とpHにおいて測定した結果、いずれの場合も'富有'の方が反応性の小さいことが確認された。これらの結果は、甘ガキのタンニン物質は渋ガキのそれよりも化学的な反応性が強い成分からなり、縮合して不溶化しやすい性質をもっていると言う中林の報告²⁹⁾とは全く逆の結果である。しかし、PCNA果実のタンニン物質が渋ガキのそれよりも化学的に安定で反応性が小さいと言う本実験の結果は、PCNA果実のタンニン物質がその他の品種群のカキ果実よりも低分子領域のタンニン成分で構成されているということとうまく符合し、またPCNA果実のみが樹上でのエタノールやアセトアルデヒドの処理によって脱渋できないことの説明になるとと思われる。すなわち、PCNAのカキ果実の脱渋性に関して生じた2つの疑問のうち、エタノールやアセトアルデヒドの処理によって何故脱渋できないのかという点は、タンニン物質の安定

度が高く、その反応性が小さいと言う化学的性質の特異性より説明することができた。それでは渋ガキよりも化学的に安定で大きいタンニン物質であるにもかかわらず、なぜPCNA果実は樹上で自然に脱渋が進行するのであろうか。この疑問はタンニン細胞の組織学的な調査よりは明らかとなった。

カキ果実のタンニン細胞を組織学的に調査した研究はこれまでにほとんど報告されておらず、わずかにHOWARD¹⁷⁾、徳川と湯浅³⁰⁾、並河³¹⁾、宮林³²⁾、北川³³⁾などの報告が認められるにすぎない。このうち、並河および宮林はタンニン細胞の大小と分布密度の品種間差異を調査し、pollination constantの甘ガキのタンニン細胞の大きさが著しく小であったと述べている。そこで、PCNAのカキ果実の自然脱渋との関連においてタンニン細胞の発育過程を経時的に調査してみた。その結果、'長建寺'(PVNA)、'平核無'(PVA)、'倉光'(PCA)のタンニン細胞は7月下旬まで著しくその大きさを増大したのに対して、'富有'と'花御所'(PCNA)のタンニン細胞は6月下旬ごろよりほとんどその大きさの増加が認められなくなり、小さいままでその発育を停止した。また、タンニン細胞の分布密度の変化にはこれら5品種の間に大きな差異は認められず、それゆえ単位面積あたりに占めるタンニン細胞の総面積は、'富有'と'花御所'でタンニン細胞の発育停止に伴って著しく小さくなった。このPCNAの2品種でのタンニン細胞の占める総面積の減少パターンはその可溶性タンニン含量の消長パターンと酷似しており、6月中旬より7月下旬までのPCNA果実の樹上での渋味の減少が、タンニン細胞の発育停止のための果実内での希釈効果によっていることを強く示唆していた。

加えて、タンニン細胞の形態的特性を脱渋との関連において調査したところ、興味ある事実が明らかとなった。まず、カキ果実がまだ未脱渋でタンニン細胞がその機能を有している間、タンニン細胞の液胞内容物の表面には顕著な凹凸状紋様が存在しており、この内容物の凹凸に対応してその細胞壁に大きな多数の穴があいていることがSEMおよび光学顕微鏡によって観察された。そしてこの穴は果肉の薄切切片の観察によると、あたかもplasmodesmataの発達したものの様な様相を呈した。ところが、果実が脱渋されてタンニン物質が凝固し、タンニン細胞がその機能を失うと、タンニン細胞の細胞壁に存在していた多数の穴があきがつまみ、液胞内容物

の凹凸状紋様も消失して表面が滑らかになることがわかった。そこで先の5品種について、タンニン細胞の液胞内容物の形態変化の時期をみると、8月8日以降の「富有」および8月22日以降の「長建寺」果実で変化が認められた。しかしながら、「花御所」は9月5日の観察でも表面には渋ガキの「平核無」および「倉充」と同様に顕著な凹凸状紋様が認められ、形態変化はおこらなかった。これらの結果から考えると「長建寺」の形態変化は果実の脱渋時期と密接に関係しており、脱渋がタンニン物質の不溶化によっていることは明らかであると思われるが、PCNAの果実では若干その様相を異にしている。「富有」のタンニン物質が不溶化するのには、タンニン細胞の液胞内容物の形態変化の時期より考えて7月下旬ごろであろうと思われるし、「花御所」にいたっては9月上旬においてもまだタンニン物質が不溶化していない可能性が示され、「花御所」が成熟期になおわずかに渋味をのこすものがあるという事実を裏づけている。PCNA果実のタンニン物質の不溶化の様相は8月上旬に採取した6品種の果実の永結切片での塩化第二鉄との反応性によっても調査したが、程度の違いはあるもののどの品種もこの時期には完全にタンニン細胞の凝固がおこっていないことが確認された。それにもかかわらず、これらPCNAの果実中のタンニン含量は6月中旬より減少しはじめ、7月下旬までにその大部分の渋味を消失している。これらの事実、先に仮定したようにPCNA果実における6月中旬から7月下旬までのタンニン含量の減少が、真の意味での脱渋によっているのではなく、タンニン細胞の発育停止による希釈効果のためであることを明確に証明している。そして、PCNA果実のタンニン物質の不溶化はタンニン細胞の発育停止の後に、時間をかけて徐々に進行しているように思われる。この真の意味での脱渋が何によっておこるのかは本実験からでは結論づけることができないが、多分自然状態でのゆるやかな酸化反応が大きな要因となっているのではないだろうか。これらの点についてはさらにこれから検討していく必要があろう。

総 括 要

pollination constantの甘ガキにおける樹上での自然脱渋がどのような要因によって進行しているのかを明らかにする目的で、タンニン物質の化学的特性およびタンニン細胞の組織学的特性をその脱渋性との関連において調査した。その結果の概要はつぎのとおりである。

1) まず、pollination constantの甘ガキの脱渋が従来からいわれているようにエタノールやアセトアルデヒドなどの揮発性物質との関係でおこっているのかどうかを調査したところ、これらの物質とは全く無関係に脱渋が進行していることが明らかとなった。また、樹上でこれらの揮発性物質の処理を行ってもほとんど脱渋効果が認められなかった。

2) 次に、カキ果実のタンニン物質の品種間差異を調査したところ、タンニン物質の構成成分となるカテキンと没食子酸含量およびタンニン物質の分子量分布においてPCNAの品種に特異性が確認された。すなわち、果実発育の初期においてカテキンはPCNAの品種で高い含量を示し、逆に没食子酸はそれ以外の品種にのみ多量に検出された。また、PCNA果実のタンニン物質はその他の品種群のカキ果実に比べると低分子量領域のタンニン成分で構成されていた。

3) タンニン物質の質的差異より生じると思われる反応性の違いを調査した。タンニン物質を一定期間インキュベーションし、その間のタンニン成分の変化の様相を超遠心法により測定した結果、PCNA果実のタンニン成分ほとんど変化がなかったが、渋ガキではその成分が複雑に変化した。また、アセトアルデヒドとの反応性を種々のpHと濃度で測定した結果、いずれの場合もPCNA果実のタンニン物質の反応性が小さいことがわかった。これらの結果は、PCNAのカキ果実のタンニン物質は渋ガキのそれよりも化学的な安定度が高いということを示唆していた。

4) カキ果実のタンニン細胞の発生および発育過程をpollination constantの甘ガキの自然脱渋との関連において調査した。その結果、タンニン細胞の発生過程にはPCNA果実の特異性は明らかでなかったが、発育過程には顕著な差異が存在していた。PCNA果実のタンニン細胞は果実発育の初期にその大きさの増加が認められなくなり、他の品種群の果実のタンニン細胞よりもかなり小さいままでその発育を停止した。また、タンニン細胞の分布密度の変化には品種間で差異がなく、それゆえ単位面積あたりに占めるタンニン細胞の総面積はPCNAの品種においてタンニン細胞の発育停止に伴って著しく小さくなっていった。このタンニン細胞の占める面積の減少パターンは、可溶性タンニン含量の増長パターンと酷似しており、樹上でのPCNA果実の渋味の減少がタンニン細胞の果実内での希釈効果であることを

強く示唆した。さらに、PCNA 果実のタンニン物質の不溶化の時期を氷結切片の塩化第二鉄との反応性によって調査したところ、真の意味での脱渋は果実発育のかなりおそい段階でおこなっていることが示された。

5) カキ果実のタンニン細胞の形態的特性を脱渋との関連において明確にするために、SEM による観察を主として、その構造を調査した。果実発育の初期には程度の差はあるもののどの品種にもタンニン細胞の液胞内容物の表面には凹凸状紋様が存在していた。しかし、果実の脱渋が完了しタンニン物質の不溶化がおこるとタンニン細胞の内容物の表面が滑らかになるのが認められた。さらに、この液胞内容物の凹凸に対応して細胞壁に plasmodesmata が発達したような大きな穴があるのが観察され、液胞内容物の表面が滑らかになっているタンニン細胞には認められず、内容物の凹凸状紋および細胞壁の穴とタンニン細胞へのタンニン物質の蓄積との関連性が示唆された。なお、タンニン細胞の液胞内容物の形態変化の観察から PCNA 果実のタンニン物質の不溶化時期を推定したところ、果実発育のかなり後期に凝固がおこなっていることが確かめられた。

6) 以上の結果より、PCNA 果実の樹上での自然脱渋は従来からいわれているようなアセトアルデヒドによる縮合・不溶化によって起こるのではなく、果実発育初期でのタンニン細胞の発育停止が主たる原因であることが明らかとなった。さらに、PCNA の果実がエタノールやアセトアルデヒドで脱渋できないのは、タンニン物質の化学的な反応性の弱さによっていることが確かめられた。

引用文献

- 1) 荒木忠治, 古田道男, 金子勝芳, 明田川太七郎, 1975. カキ果実の脱渋に関する研究(第1報) 脱渋過程におけるアルコール脱木素酵素, パーオキシダーゼ活性および果実成分の変化. 園学雑誌, 44: 183-191.
- 2) O'BRIEN, T. P. and M. E. McCULLY. 1981. The study of plant structure. Principles and selected methods, p. 6-97. Termarcaph Pty Ltd. Wantirna Victoria, Australia.
- 3) 遠藤融郎. 1983. 品種の系統分類. 農業技術体系果樹編, 4. カキ基礎編, p. 81-84. 農山漁村文化協会, 東京.
- 4) ESAU, K. 1977. Anatomy of seed plants. 2nd edition, p. 49-54. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- 5) FEDER, N. and T. P. O'BRIEN. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. Amer. J. Bot. 55: 123-142.
- 6) FAHN, A. 1974. Plant anatomy. 2nd edition, p. 41-47. Pergamon Press, Oxford and New York.
- 7) FREIFELDER, D. 1979. 生物化学研究法(野田晴彦訳), p. 239-303. 東京化学同人, 東京.
- 8) 藤田博, 小高忠男, 内山敬康. 1968. 超遠心法. 日本生物物理学会編集. 純生物物理学講座 2. 物理的測定法 II, p. 19-124. 吉岡書店, 京都.
- 9) GAZIT, S. and I. ADATO. 1972. Effect of carbon dioxide atmosphere on the course of astringency disappearance of persimmon (*Diospyros kaki* Linn.) fruits. J. Food Sci. 37: 815-817.
- 10) GOLDSTEIN, J. L. and T. SWAIN. 1963. Changes in tannins in ripening fruits. Phytochemistry 2: 371-383.
- 11) HASLAM, E., C. T. OPIE and L. J. PORTER. 1977. Procyanidin metabolism—a hypothesis. Phytochemistry 16: 99-102.
- 12) HASLAM, E. 1977. Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. Phytochemistry 16: 1625-1640.
- 13) HASLAM, E. 1979. Vegetable tannins, p. 475-523. In: T. SWAIN, J. B. HARBORNE and C. F. V. SUMER (eds.) Biochemistry of plant phenolics. (Recent advances in phytochemistry; vol. 12). Plenum Press, New York.
- 14) HATHWAY, D. E. 1962. The condensed tannins, p. 191-228. In: W. E. HILLIS (ed.) Wood extractives and their significance to the pulp and paper industries. Academic Press, New York.
- 15) 平田尚美. 1968. 脂肪酸と脂肪酸エステルによるカキ果の脱渋. 果実日本, 23 (10): 34-42.
- 16) 平田尚美. 1969. カキ果実の成熟促進に関するエチレンの利用と問題点. 園学シンポジウム要旨, 昭和44秋: 24-34.
- 17) HOWARD, B. J. 1906. Tannin cells of persimmons. Bull. Torrey Bot. Club, 33: 567-576.
- 18) HUGHES, J. and M. E. McCULLY. 1975. The use of an optical brightener in the study of plant structure. Stain Technology 50: 319-329.
- 19) 石原茂久, 佐々木光, 満久崇雄. 1976. 暖房下において合板から放散するホルムアルデヒドの気中濃度について. 木材研究資料, 10: 100-111.
- 20) 石崎 寛, 久能 均. 1981. 形態観察法. 深見順一, 上杉康彦, 石塚昭造, 富沢長次郎編. 農業実験法 2. 殺菌剤編, p. 63-81. ソフトサイエンス社, 東京.
- 21) 伊藤三郎. 1962. カキタンニンの化学的研究. 園試報, B1: 1-16.
- 22) ITO, S. and Y. OSHIMA. 1962. Studies on the tan-

- nin of Japanese persimmon. Part I. Isolation of leucoanthocyanin from kaki fruit. *Agric. Biol. Chem.* 26: 156-161.
- 23) ITO, S. and M. A. JOSLYN. 1964. Presence of several phenolic components in fruit proanthocyanidins. *Nature* 204: 475-476.
 - 24) ITO, S. 1971. The persimmon. p. 281-301. In: A. C. HULME (ed.) *The biochemistry of fruits and their products*. Vol. 2. Academic Press, London and New York.
 - 25) ITO, S. 1980. Persimmon. p. 442-468. In: S. NAGY and P. E. SHAW (eds.) *Tropical and subtropical fruit*. AVI Publishing, Inc., Westport, Connecticut.
 - 26) JONES, W. T., R. B. BROADHURST and J. W. LYTTLETON. 1976. The condensed tannins of pasture legume species. *Phytochemistry* 15: 1407-1409.
 - 27) JOSLYN, M. A. and J. L. GOLDSTEIN. 1964. Changes in phenolic content in persimmons during ripening and processing. *J. Agric. Food Chem.* 12: 511-520.
 - 28) JOSLYN, M. A. and J. L. GOLDSTEIN. 1964. Astringency of fruits and fruit products in relation to phenolic content. *Advances of Food Research* 13: 179-217.
 - 29) JURD, L. 1962. The hydrolyzable tannins. p. 229-260. In: W. E. HILLIS (ed.) *Wood extractives and their significance to the pulp and paper industries*. Academic Press, New York.
 - 30) 梶浦 実. 1946. 柿の品種とその品種改良 (2). *育種と農芸*. 1: 175-178.
 - 31) 掛下謹次郎. 1930. 二三果実の貯蔵及び成熟過程中に於けるアセタルデハイド及びアルコール量の消長. *農及園*. 5: 1151-1161.
 - 32) KAKESITA, K. 1930. Preliminary report on the study of artificial removal of astringency in kaki. *Proc. Japan Acad.* 6: 397-398.
 - 33) 木村 進, 柴田富男, 須藤節子. 1952. 渋柿の脱渋機構について. *食糧研究所報告*. 6: 7-11.
 - 34) KING, H. G. C. and G. PRUDEN. 1970. Lower limits of molecular weights of compounds excluded from sephadex G-25 eluted with aqueous acetone mixtures. Application of the results to the separation of the components of tannic acid. *J. Chromatogr.* 52: 285-290.
 - 35) 北川博敏. 1968. カキの脱渋および貯蔵に関する研究 (第1報) 脱渋果中のタンニン細胞の顕微鏡的観察. *園学雑誌*. 37: 89-94.
 - 36) 北川博敏. 1968. カキの脱渋および貯蔵に関する研究 (第4報) 果実の大小と脱渋の難易. *農及園*. 43: 1595-1596.
 - 37) 北川博敏. 1969. カキの脱渋および貯蔵に関する研究 (第5報) 温湯脱渋中に生ずるアセタルデヒドと渋味消失との関係. *園学雑誌*. 37: 379-382.
 - 38) 北川博敏. 1970. カキの脱渋および貯蔵に関する研究 (第6報) 温湯脱渋果における渋味の再現について. *園学雑誌*. 38: 202-206.
 - 39) 北川博敏. 1970. カキの栽培と利用. p. 182-232. 養賢堂. 東京.
 - 40) KOMATSU, S. and N. MATSUNAMI. 1924. On Kakishibu, I. Constitution of shibuol, I. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A7*: 15-23.
 - 41) KOMATSU, S., N. MATSUNAMI and M. ISHIMASA. 1925. On Kakishibu, II. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A8*: 43-49.
 - 42) KOMATSU, S. and N. MATSUNAMI. 1925. On Kakishibu, III. Constitution of shibuol, II. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A8*: 231-240.
 - 43) KOMATSU, S. and N. MATSUNAMI. 1928. On Kakishibu, IV. Constitution of shibuol, III. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A11*: 205-209.
 - 44) KOMATSU, S., N. MATSUNAMI and M. KURATA. 1928. On Kakishibu, V. Methylation of shibuol. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A11*: 211-215.
 - 45) KOMATSU, S. and M. KURATA. 1930. On Kakishibu, VI. Potash fusion of methyl shibuol. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. A13*: 323-327.
 - 46) 駒沢利雄, 内田泉. 1956. 柿の脱渋機構について. *農産技研誌*. 3: 69-72.
 - 47) KRAMLING, T. E. and V. L. SINGLETON. 1969. An estimate of the nonflavonoid phenols in wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 20: 86-92.
 - 48) KREBS, K. G., D. HEUSSER and H. WIMMER. 1969. Spray Reagents. p. 878. In: E. STAHL (ed.) *Thin-layer chromatography. A laboratory handbook*. 2nd edition. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York.
 - 49) 京都大学農学部農芸化学教室. 1967. 農芸化学実験書第3巻. p. 1092-1093. 産業図書. 東京.
 - 50) LEA, A. G. H. and G. M. ARNOLD. 1978. The phenolics of ciders: bitterness and astringency. *J. Sci. Fd Agric.* 29: 478-483.
 - 51) LETHAM, D. S. 1960. The separation of plant cells with ethylenediaminetetraacetic acid. *Exp. Cell Res.* 21: 353-360.
 - 52) LEWAK, ST., M. J. GROCHOWSKA, T. KURYL and D. WYZINSKA. 1970. Changes in the leucoanthocyanidin content in the leaves of biennially bearing apple trees. *Acta Soc. Bot. Pol.* 39: 141-150.
 - 53) LLOYD, F. E. 1911. Carbene dioxide at high pressure and the artificial ripening of persimmons.

- Science, N.Ser. 34: 924-928.
- 54) MATSUO, T. and S. ITO. 1978. The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). Agric. Biol. Chem. 42: 1637-1643.
 - 55) 宮林達夫. 1941. 柿果単寧細胞の品種間差異に就いて. 園学雑誌. 12: 143-156.
 - 56) 水平敏知. 1973. 電子顕微鏡. 医学生物学への応用. p.81-132. 医歯薬出版株式会社. 東京.
 - 57) MUELLER, W. C. and C. H. BECKMAN. 1974. Ultrastructure of the phenol-storing cells in the roots of banana. Physiol. Plant Pathol. 4: 187-190.
 - 58) MUELLER, W. C. and C. H. BECKMAN. 1976. Ultrastructure and development of phenolic-storing cells in cotton roots. Can. J. Bot. 54: 2074-2082.
 - 59) 中林敏郎. 1971. 果実および葉のタンニン成分 (第7報) 甘柿と渋柿のタンニン組成の相違. 食品工誌. 18: 33-37.
 - 60) 中村治之輔. 1973. カキ果実の脱渋機構に関する一考察 (I) カキ果実のアルコール脱水素酵素活性について. 食品工誌. 20: 524-528.
 - 61) 中村治之輔. 1973. カキ果実の脱渋機構に関する一考察 (II) カキ果実のアセトアルデヒド含量, エタノール含量およびアルコール脱水素酵素活性の品種間差異. 食品工誌. 20: 529-536.
 - 62) NAKAYAMA, T. O. M. and C. O. CHICHESTER. 1963. Astringency of persimmons (*Diospyros kaki*, L.). Nature 199: 72-73.
 - 63) 荻河功. 1935. 柿の脱渋現象に就いて. 農及園. 10: 269-276.
 - 64) OVERHOLSER, E. L. 1927. Some studies upon the ripening and removal of astringency in Japanese persimmons. Proc. Amer. Soc. 24: 256-266.
 - 65) PERI, C. and C. POMPEI. 1971. Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. Phytochemistry 10: 2187-2189.
 - 66) PERI, C. and C. POMPEI. 1972. An assay of different phenolic fractions in wines. Am. J. Enol. Vitic. 23: 55-58.
 - 67) PLATT-ALDIA, K. A., J. W. OROSS and W. W. THOMSON. 1983. Ultrastructural study of the development of oil cells in the mesocarp of avocado fruit. Bot. Gaz. 144: 49-55.
 - 68) PORTER, L. J. and R. D. WILSON. 1972. The separation of condensed tannins on sephadex G-25 eluted with 50% aqueous acetone. J. Chromatogr. 71: 570-572.
 - 69) SCOTT, F. M., K. C. HAMNER, E. BAKER and E. BOWLER. 1956. Electron microscope studies of cell wall growth in the onion root. Amer. J. Bot. 43: 313-324.
 - 70) SCOTT, F. M., B. G. BYSTROM and E. BOWLER. 1963. *Persea americana*, mesocarp cell structure, light and electron microscope study. Bot. Gaz. 124: 423-428.
 - 71) 瀬野尾章, 波辺齊, 松田祐子. 1979. 樹糖包埋法 (Acrytron 包埋法). Medical Technology 7: 1065-1070.
 - 72) 瀬野尾章, 石田久美子, 佐々木照美. 1983. 光顕用樹糖包埋法とその特徴. Medical Technology 11: 335-340.
 - 73) SIEGELMAN, H. W. 1955. Detection and identification of polyphenoloxidase substrates in apple and pear skins. Archive. Biochem. Biophys. 56: 97-102.
 - 74) STEVENINCK, R. F. M. van. 1976. Cytochemical evidence for ion transport through plasmodesmata. p.131-147. In: B. E. S. GUNNING and A. W. ROBARDS (eds.) Intercellular communication in plants: studies on plasmodesmata. Springer-Verlag, Berlin and Hiderberg.
 - 75) 杉浦明, 原田久, 苦名孝. 1975. カキ果実の脱渋性に関する研究 (第1報) エタノール処理による樹上脱渋 (その1). 園学雑誌. 44: 265-272.
 - 76) 杉浦明, 米森敬三, 原田久, 苦名孝. 1979. カキ果実のエタノールおよびアセトアルデヒド含量の消長と自然脱渋との関係について. 園芸学研集録. 9: 41-47.
 - 77) SUGIURA, A. and T. TOMANA. 1983. Relationships of ethanol production by seeds of different types of Japanese persimmons and their tannin content. Hortscience 18: 319-321.
 - 78) SWAIN, T. and W. E. HILLIS. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Fd. Agric. 10: 63-68.
 - 79) SWAIN, T. 1965. The tannins. p.552-580. In: J. BONNER and J. VARNER (eds.) Plant Biochemistry. Academic Press, New York.
 - 80) 高木俊夫. 1980. 変性剤存在下でのタンパク質の多孔性ガラスビーズおよび高圧シリカゲルクロマトグラフィ. 大澤一真, 田中善喜編集. 巨大粒子のゲルパーミエーションクロマトグラフィ. p. 107-134. 喜多見書房. 東京.
 - 81) 田崎桂一郎, 松岡伸助. 1924. 柿の脱渋に関する研究. 農学会報. 256: 113-132.
 - 82) 徳川義規. 1919. 柿の脱渋に就いて. 植物学雑誌. 33: 41-44.
 - 83) 徳川義規, 湯浅明. 1936. 柿の単寧細胞に関する知見. 植物学雑誌. 50 (503): 277-283.
 - 84) THOMPSON, R. S., D. JACQUES, E. HASLAM and R. J. N. TANNER. 1972. Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction; the isolation, structure, and distribution in nature of plant procyranidins. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1387-1399.
 - 85) WILLIAMS, V. M., L. J. PORTER and R. W.

- HEMINGWAY, 1983. Molecular weight profiles of proanthocyanidin polymers. *Phytochemistry* 22: 569-572.
- 86) 山口一孝, 1958. 植物成分分析法, 上巻, p.224-227.
- 87) 八巻直臣, 喜多孝彰, 古田耕一, 高橋猛夫, 小早川隆, 坂田新, 1974. 自動車排気ガスに含まれる物質に関する研究(2) 主としてアルデヒド類の測定. 島津評論, 31: 77-91.
- 88) 米森敬三, 松島二良, 杉浦明, 1983. 甘ガキと渋ガキのタンニン物質の差異について. 園学雑誌, 52: 135-144.
- 89) 米森敬三, 松島二良, 1984. 甘ガキと渋ガキのタンニン物質の化学的特性, とくに超遠心分離における挙動の差異について. 園学雑誌, 53: 121-126.
- 90) 米森敬三, 松島二良, 1985. カキ果実のタンニン細胞の発育過程と自然脱渋との関連について. 園学雑誌, 54: 201-208.

Summary

Many earlier researchers have studied the removal of astringency in Japanese persimmon fruits, and have indicated that decrease of tannin content in the fruits is associated with ethanol and acetaldehyde accumulation. These volatiles, especially acetaldehyde, allow soluble tannins to coagulate and change into insoluble complexes, thereby leading to the loss of astringency. This mechanism of deastringency has been obtained mainly from studies of astringent-type fruits from which astringency was removed artificially. However, the mechanism for removal of astringency in nonastringent-type fruits during natural growth process has not been understood. The present study was undertaken to elucidate this mechanism, especially focusing on pollination-constant nonastringent (PCNA) type fruits.

1) It was investigated first whether or not ethanol and acetaldehyde are responsible for natural removal of astringency in nonastringent-type fruits on trees. In pollination-variant nonastringent (PVNA) type fruits, ethanol and acetaldehyde greatly increased in accordance with rapid decrease in soluble tannins. On the contrary, in PCNA type fruits, no accumulation of these volatiles in the fruits was measured even before the time when soluble tannins were no longer detected. Moreover, another experiment on trees revealed that treatment of young astringent fruits of a PCNA cultivar, 'Fuyu', with either ethanol or acetaldehyde was ineffective for removal of their astringency. These results evidently indicate that neither ethanol nor acetaldehyde is closely associated with deastringency in PCNA fruits under natural conditions.

2) Qualitative and quantitative comparisons of tannins were made among 4 fruit types: pollination-constant nonastringent (PCNA) and astringent (PCA), and pollination-variant nonastringent (PVNA) and astringent (PVA) type. Catechin and gallic acid were commonly major components of phenolics in ethyl acetate extracts of fruits. In PCNA cultivars, catechin was detected throughout the growing period of fruits, while gallic acid was detected only in earlier stages. On the other hand, in PVNA, PVA, and PCA cultivars, catechin disappeared rapidly in June, while level of gallic acid enhanced remarkably in the same month to reach a maximum in late June, followed by the gradual decline to an extremely low level in late July. Subsequently, variances of molecular weight of tannins in aqueous acetone extracts of fruits were examined by means of size exclusion chromatography, using controlled-pore glass media. In PVNA, PVA, and PCA cultivars, tannins of high molecular weight were predominant, while in PCNA cultivars those of low molecular weight were prevalent.

3) Chemical properties of tannins were examined for cv. 'Fuyu' as a PCNA type and cv. 'Hiratanenashi' as a PVA type. Tannin fractions obtained by size exclusion chromatography were incubated at 40°C. At proper intervals, sedimentation coefficients of components in these fractions were determined by ultracentrifugation method. Sedimentation coefficients of respective components were relatively constant in 'Fuyu', while those in 'Hiratanenashi' showed a great variation during incubation. To make clear the reactivity of tannins to acetaldehyde in both varieties, time required for coagulation of fruit juice which was exposed in acetaldehyde vapor was compared at different tannin concentrations and pHs. The fruit juice from 'Fuyu' coagulated more slowly than that from 'Hiratanenashi' without exception. These results suggest that tannins in PCNA type fruits have milder chemical property than other type fruits, giving a reasonable explanation why the treatment with ethanol and acetaldehyde failed to remove astringency from young astringent fruits of a PCNA cultivar on trees.

4) Fruits of 4 types from incipient through mature stage were observed by light microscopy with the main purpose of elucidating the mechanism of natural removal of astringency in PCNA type fruits. No differences were found in manner of occurrence of tannin cells in ovary. Thereafter, the tannin cells in flesh tissues of PCNA type fruits gradually increased in size and stopped their enlargement at the end of June, whereas those in other types continued

to increase in size until the end of July. Thus, final size of tannin cells was much smaller in the former fruits than the latter. Number of tannin cells per unit area showed almost no difference in all 4 type fruits at any stage. Thus, in PCNA cultivars the area occupied by tannin cells gradually reduced after tannin cells stopped their development. Such a decreasing process was coincident with the decreasing process of soluble tannins in PCNA fruits. Moreover, observation of tannin cells of fresh pericarp sections stained with ferric chloride revealed that tannins in PCNA type fruits did not completely coagulate in early August, although soluble tannins were negligibly low in contents. These results suggest that the decrease of astringency of PCNA fruits on trees may be mainly attributed to the reduction in relative area occupied by tannin cells, but not their coagulation. Such a reduction in area occupied by tannin cells starts when development of tannin cells stops, as mentioned above.

5) To study timing of coagulation of tannin cells in more detail, tannin cells were observed by scanning electron microscopy. The comparative observation between ethanol-treated fruits and untreated fruits revealed that vacuoles of tannin cells had very rough surface. A number of protrusions and large pores which might correspond to plasmodesmata were present in cell walls of tannin cells, when tannins had not yet coagulated in fruits. These protrusions of vacuole surfaces and the large pores of cell walls are probably formed by the outgrowth of tonoplasts at the entry of plasmodesmata in cell walls. On the contrary, when tannins coagulated and browning of flesh tissues became visible to the naked eye, vacuole surfaces turned smooth and large pores in the cell walls became invisible. It indicates that the time of coagulation of tannins can be determined from these morphological changes of tannin cells. So, when seasonal changes in morphology of tannin cells in 4 type fruits were observed, it was verified that in PCNA cultivars coagulation of tannins occurred at late growth stage of fruits.