Title	ナガイモ (Dioscorea Batatas) の褐変に関する研究
Author(s)	今河, 茂
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 6(2), 181-192
Issue Date	1967-09-30
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11760
Туре	bulletin (article)
File Information	6(2)_p181-192.pdf



ナガィモ (Dioscorea Batatas) の褐変に関する研究

今 河 茂

(北海道大学農学部農学科果樹・蔬菜園芸学教室)

Studies on the browning of Chinese yam (Dioscorea Batatas)

SHIGERU IMAKAWA

(Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

緒 言

ナガイモ (Dioscorea Batatas DECNE.) は、その塊根 (芋)を食用とするそ菜の一種であるが、調理の際に変色の起こることがしばしばある。すなわち、生のまま磨り下ろすか繊切りにすることが多いが、こうして破壊された組織はただちに白色から褐色へと変わり、はなはだしい場合には黒褐色を呈するようになる。また、このような変色を示す芋 (以後 変色芋 と呼ぶ) は単に見た目に好ましくないばかりでなく、同時に特異な臭気を持ち食味も劣るために不良品として取り扱われている。

植物体の変色現象については古くから多くの観察,実験が行なわれている。特に農産加工の分野では,茶,タバコ,ばれいしょ,果実などの変色は製品の品質上重要な問題であるので,これらについては幾多の研究があり,変色を防止もしくは促進する方法も案出されて実用化されている例が多い。

しかし、ナガイモについては従来見るべき研究がないので、筆者は数年前からこの現象を観察し、さらにその機構を明らかにしようとしてきた。最近、越智 (17)、佐藤 (22)、正盛・斎藤 (8) などの報告に接したが、いずれもこの現象を全面的に解明したものとは言い難く、なお多くの疑問点が残されているように思われる。

本研究は問題の核心と考えられる変色芋発現の様相, 変色成分の本体,ならびに関連酵素の性質の3点に着目 して検討を加えたものである。

本文に入るに先立ち、本研究の課題を与えられると共 に終始懇篤なる御指導を賜わり、さらに本稿の御校閲の 労をとられた恩師沢田英吉名誉教授に対し深く感謝の意 を表する。また、農産物利用学教室の小幡弥太郎教授から は実験に際し多大の便宜を恵与されると共に貴重なる御 助言を賜わった。同教室の坂村貞雄助教授は終始懇切な る御教示によって筆者を導いて下さった。さらに,果樹 疏菜園芸学教室の田村勉教授からは常に御助言と御激励 とを頂いた。なお,実験方法については果樹蔬菜園芸学教 室八鍬利郎助教授,農産物利用学教室石川芳典講師なら びに北海道農業試験場西山保直技官より種々御教示を頂 いた。以上の方々に対し厚く御礼申し上げる次第である。

実 験 材 料

ナガイモは芋の形状によって、塊形、扁形および長形 の3系統(品種群)に大別される。一般に長芋と呼ばれ ているものは長形系統の中でもっとも広く栽培されてい る棍棒形の芋である。北海道で営利栽培の行なわれてい るものは大部分この系統に属しており、この中での品種 の分化は確立していない。本研究ではこの長芋のみを観 察、実験の対象とした。褐変現象は長芋のみでなく、ナ ガイモ種全体を通じて見られるもののようであるが、前 述のように種の中に芋の形質の著しく異なるいくつもの 系統が含まれており,栽培地域も北海道から九州に及び きわめて広範囲で生育環境も多様である。したがって、 褐変現象も一様であるとは限らないであろう。本研究は 表題からはナガイモの種全体を取り扱っているように受 け取られるかもしれないが、問題が多岐にわたることを 避けるため、対象を長芋のみに限定したものである。し かし、系統を異にしても現象の本質には大差がないもの と想像される。ただし、参考のために兵庫県産の大和黒 皮種の褐変状況を調べたところ、長芋の場合とは様相が 異なっていた。したがって、本研究の結果がナガイモ種 全体に適合するとは必ずしも考えられない。

実験材料は種芋を生産者から入手し、これを北海道大学附属農場内の圃場で栽培したものである。この種芋は生産者が自家生産物から選抜増殖を繰り返したもので、形の揃いが良く典型的な長芋であると考えられる。このものを約50gの切芋とし、温床で催芽してから植え込ん

だ。植込み日は年によって多少異なるが、おおむね6月上旬である。 畦幅 75 cm、株間 30 cm とし肥料は 10 a 当り硫安 100 kg、過燐酸石灰 60 kg、硫酸加里 30 kg を全量基肥として施した。試料は同時に掘り取った芋の中から、外観に異常がなく代表的な大きさのものを選んで用いた。

変色芋発現の様相

(1) 生育段階との関係

芋の収穫は晩秋に入って茎葉が完全に枯死した後に行なうのが普通である。しかし、早期出荷を目的としてそれ以前に収穫する、すなわち、早掘りすることがあり、このようなものに変色芋が多いと言われている。芋の生育状況を調べると、図1に示すように個体当りの乾物重は茎葉が枯死する10月下旬まで増加を続けている。

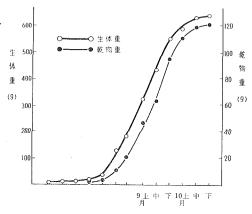


図1 芋重量の増加 (1個体)

したがって,早掘りは芋の生育を中断することになる。 このことから変色芋の発現は茎葉の枯死、もしくは芋の 生育段階と関連があるように推測される。 そこで、この 点を確認するため、9月上旬から11月上旬にわたり10 日毎に掘り取り、ただちに切断および磨砕して変色が起 こるか否かを調べた。調査は5個について行ない、個体 差の大きい場合は適宜追加した。この調査は2箇年行な ったもので両年の間に植込み日で6日、調査日に2~4 日のずれがあり気候条件も異なっていた。しかし、いず れの調査日にも変色するものは見られず、9月上旬であ っても掘取り直後には全く変色しなかった。しかるに、 翌日には変色するようになり2日後には一層強い変色が 認められた。したがって、変色芋の発現には掘取り後あ る期間の必要であることが推察されたので、2年目には 掘取り直後のみでなくある期間貯蔵した後にも調査し た。貯蔵温度は 18°±2°C, 調査個体数は 3~5 とした。

表1 掘取り時期ならびに貯蔵期間と変色との関係

MARKET STATE OF THE STATE OF TH		***************************************	掘収	i)	時 期	en september 2000 miles and	#FTT TO THE PARTY OF THE PARTY
貯蔵日数	9月 上旬	9中	9下	10上	10中	10下	11上
掘取り 直 後	-	-					eren.
1	+	_			_		_
2	++	+	+	_			
4	#	#	+	+	+	_	
7	#	#	++	+	+	+	*****
1 箇月	#	#	#	+	+	+	+

→ 変色しない。 (+)変色する。 (+)著しく変色する。
その結果は表1の通りである。

すなわち、掘取り直後の変色しない状態(未変色芋と呼ぶ)から変色芋になるまで(この過程を変色化と名付ける)の所要期間は、掘取り時期が遅い程、つまり芋の生育が進んでいる程長くなる傾向が認められた。また、茎葉が完全に枯死してから掘り取っても、暖処に長期間貯蔵するとその間に変色化の起こることが観察された。したがって、茎葉の枯死と変色芋の発現との間には直接の関係はないと判断される。

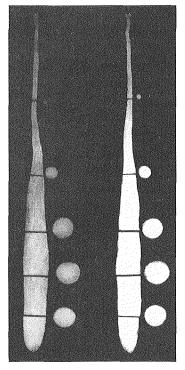


図2 芋の切断面の変色状況 左:変色芋,右:未変色芋 (いずれも9月中旬掘取り)

(2) 変色部位の変化

変色芋の切断面を観察した際、変色が全面にわたって一様に現われず部位によってその程度に差のあることが認められた。そこで、種々の状態の芋を縦断ならびに横断して変色の起こる部位を観察した。縦断面について見ると、掃取り直後には首の部分が黄色を帯びておりこの部分のみ変色し易い。9月中旬掘取りの変色芋では全面が変色した(図 2)。

生育が進むにつれて中心部は変色し難くなり、成熟し

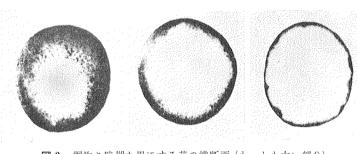


図3 掘取り時期を異にする芋の横断面(もっとも太い部分) 左:9月中旬掘取り、中:10月中旬掘取り、右:11月上旬掘取り (いずれも室温下に貯蔵し、掘取り1箇月後に切断したもの)

たものでは長期間高温下に置いても周辺部のみが僅かに 変色する程度であった。図3はこの状況を横断面で示し たものである。

(3) 貯蔵温度との関係

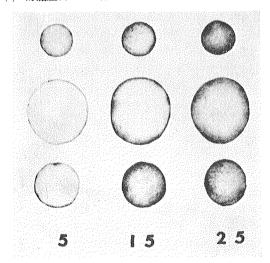


図4 貯蔵温度を異にする芋の断面 左:5°C, 中:15°C, 右:25°C

上段:首 部 掘取り:10月中旬 中段:胴 部 貯蔵期間:7日

下段: 先端部

先に述べたように、11月に入ってから掘り取ったものであっても長期間室温下(18°±2°C)に置くと僅かながら周辺部が変色化したが、この頃市場に出回る芋の中にこのようなものはほとんど見当らない。ただし共進会出品物のように幾日も暖処に置かれた場合には充分に成熟していると認められるものにも変色化の起きた例が多い。これらの事実から変色化と貯蔵温度との間に何らかの関係のあることが推測された。この点を検討するため、9月中旬、10月中旬および11月上旬にそれぞれ掘り取

った試料をただちに $5^{\circ}\pm1^{\circ}$ C、 $15^{\circ}\pm1^{\circ}$ C および $25^{\circ}\pm1^{\circ}$ C の3段階の温度の下に貯蔵した。2日および7日後に切断して変色状態を調べたところ表2ならびに図4のような結果が得られた。すなわち、 15° C 貯蔵のものは室温下 ($18^{\circ}\pm2^{\circ}$ C) の場合とほぼ同様の、 25° Cのものは一層強い変色を示したが、これに反し 5° C で貯蔵したものは掘取り直後と同様全く変色しなかった。

もっとも、このものを高温下に置く と変色化が進むので、低温貯蔵はその

間だけ変色化を抑制する効果を持つものと解される。しかし、その期間が長くなると単にその間のみでなく常温下に移してからもある程度の抑制効果が認められた。すなわち、9月中旬、10月中旬および11月上旬に掘り取った芋を5°Cに1箇月貯蔵した後調査したところいずれも変色せず、常温下に移してからも、同時期掘取りの低

表2 貯蔵温度と変色との関係

掘取り時期	9月	中旬			11月	上旬
貯蔵温度 貯蔵温度	2日	7日	2日	7 目		7日
$25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$	#	#	+	#		+
$15^{\circ} \pm 1^{\circ}\mathrm{C}$	+	#	_	+		_
5° ± 1°C	_	_	_	_	_	

変色程度を示す記号の用い方は表1の場合と同じ

温貯蔵を行なわないものに比し変色化が遅く、かつ変色部位が周辺部に限られて来る傾向が認められた。また、11月上旬掘取りのものは長期にわたって変色化を起こさなかったが、このように遅い時期に掘り取ってただちに低温貯蔵したもの、あるいは翌春まで地中で越冬させてから掘り取ったものは、20°Cで30日間または30°Cで10日間の高温貯蔵を行なっても変色化しなかった。この

ようなものを 非変色芋 と呼ぶことにする。

(4) 傷害による局部的変色化

変色学に傷害を与えると、その部分は当然ただちに変色するが、非変色学の場合には傷害面が白色のまま乾間してゆく。このものを数日後に傷害面と直角に切断してみると、白色の薄い表層の直下にコルク質から成ると見られる褐色の一層があり、それに隣接する部分の組織が数 mm の幅で変色するのが認められた。これは非変色学も傷害刺戟によって局部的な変色化を起こしうることを示すものである。この場合にも温度が関係し、 5° C、 15° C および 25° C の 3 段階の温度の下に切芋を 1 週間貯蔵した後に縦断してみると、 5° C のものは褐色層も変色部分も全く認められず切口は軟腐状態となり、かびが発生していたが、 15° C と 25° C のものには褐色層ならびに変色部分が認められた。

(5) 変色化を阻止する条件

(a) 組織の破壊

未成熟な早掘り芋であっても掘取り時には変色しないが、この状態で磨砕すると2日間20°Cに保っても色調および臭気の点で磨砕直後と同様で、攪拌しても変色しなかった。一方、無傷のまま同じ条件で保存したものは磨砕すると著しく変色した。この現象は変色化前の組織を破壊すると変色化の活動が起こりえなくなることを示すものと解される。

(b) 無酸素下での貯蔵

10月上旬掘取り直後の芋をデシケーターに入れ、内部 の空気を炭酸ガスあるいは窒素ガスで置換し室温下に 10日間保存した。同時に掘り取った芋を空気中に同温度 で同期間放置した。その結果は後者が完全に変色化した のに反し前者は全く変色化せず、かつその後空気中に取 り出してから3日を経ても変色化が起きなかった。ただ し、このものはやがて表面にかびが発生して結局は腐敗 した。この事実は変色化は酸素を必要とする正常な呼吸 作用の行なわれる条件の下でなければ進行しないことを 示すものである。このことに関連して茎葉の除去と芋の 掘上げとが変色化にいかなる影響を及ぼすかについて調 査した。すなわち、変色化は単に茎葉を芋から分離する ことのみによって起こりうるのか、そうではなく芋が地 中から掘り出されることを必要とするのかという点を明 らかにするため次のような実験を行なった。9月下旬に 掘り取って10日間室温下に貯蔵したものと、同じ時に茎 葉を切除するのみで掘り上げずに置き 10 日後に 掘り 取 ったものとを比較すると、前者は著しく変色するのに反 し、後者は少数の個体に弱い変色が見られる程度であっ

た。この期間中の室温は 18°~20°C, 一方地下 50 cm (芋が生育中に占めている位置に相当) の温度は 18°C 一定であった。したがって,温度の差は僅少であるから変色化に対して大きな影響を与えたとは考えられない。芋が掘り上げられて直接空気に接触していたか,地中に埋没していたかの相違が変色化の要因につながるものであると推測される。試みに掘り上げた芋をただちに埋め込んでおいたところ,茎葉切除のみの場合と同じ結果が得られた。これとは逆に,茎葉を分離することなくかつ吸収根を損わぬように芋のみを露出させておき 10 日後に調べると,弱いながら変色が認められた。以上の結果から酸素供給の制限が変色化抑制の効果を持つものと判断される。

変色機構

(1) 変色成分と関連酵素の検出

バレイショ塊茎の変色は主としてフェノール成分の酵素的酸化によるものであることが知られている (16)。したがって、ナガイモの場合にも類似の反応が原因となっていることが考えられるので次のようにフェノール物質と酸化酵素の検出を行なった。

フェール成分の検出: 変色芋ならびに未変色芋の切 片に対し、フェノール物質検出用試薬として1% 塩化第 2鉄溶液,アンモニア性硝酸銀溶液, Hoepfner 試薬お よび M/10 赤血塩溶液+5%硫酸第2鉄稀硫酸溶液のい ずれかを噴霧した。いずれの試薬に対しても変色芋は陽 性、未変色芋は陰性の反応を示した。ただし、未変色芋 中若干のものは維管束の部分のみが僅かに呈色した。変 色芋の場合にも維管東部分が特に強く発色し、フェノー ル成分の集積が認められた。また、変色と試薬による呈 色との間にはその範囲ならびに濃度について対応関係が 見られた。次に一定量の芋を細断し、これを10倍量の 95% エタノールで加熱抽出後, 減圧濃縮して定容とした ものに1%塩化第2鉄溶液を滴下すると暗緑色、さらに 炭酸ナトリウムでアルカリ性にすると暗赤色を呈した。 Hoepfner 試薬の場合には酸性で黄色、 アルカリ性で赤 色となった。これらの呈色反応から 0-ジフェノールの存 在を推定した。未変色芋ではどちらの試薬に対しても変 色芋に比し極めて微弱な星色が見られるのみであった。 そこで、変色芋中のフェノール成分をペーパークロマト グラフィーによって分離確認するためエタノール抽出物 を n-ブタノール, 酢酸, 水 (4:1:2) を用い東洋濾紙 No. 50上で1次元上昇法により展開した。検出には1%塩化 第2鉄溶液、アンモニア性硝酸銀、Pauly 試薬ならびに 0.5% 赤血塩燐酸緩衝液 (pH7) 溶液のいずれかを用い

た。その結果, R_f 0.4の位置に1個の濃いスポットが現われ,それ以外には明瞭なスポットが認められないので,このものがナガイモ中の主たるフェノール成分であると推定した。

酵素の検出: フェノール物質を酸化する酵素として はまずポリフェノールオキシダーゼが考えられるので、 1% ベンチジンエタノール溶液もしくは1% グアヤック 樹脂エタノール溶液を芋の切片に噴霧した。変色芋はべ ンチジンによって青紫色、グアヤックによって青色を呈 した。早色の範囲と濃度はフェノール成分の場合と同様 に、変色のそれと対応した。これに反し、未変色芋には ほとんど呈色が認められなかった。ベンチジンの場合に 過酸化水素を添加すると変色芋と未変色芋のどちらにも 青色が現われた。この検出方法には批判もあるが、以上 の結果から変色芋にのみポリフェノールオキシダーゼが 存在し、ペルオキシダーゼは両者いずれにも含まれてい ると判断される。図5は貯蔵温度を異にする試料を用い, 変色の発現、酵素ならびにフェノール成分の所在を示し たもので、呈色の範囲ならびに濃度について3者間の対 応が明らかに認められる。

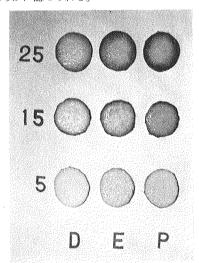


図 5 貯蔵温度を異にする試料における 変色 (D), 酵素 (E) およびフェノ ール成分 (P) の分布 (横断面) 上段: 25°C, 中段: 15°C, 下段: 5°C

酵素液の調製: 変色芋から酵素を抽出するため次のような方法を用いた。芋とその5倍量 (v/w) の氷冷アセトンをワーリングブレンダーにかけた後吸引濾過し、さらにアセトンで洗う。残渣を乾燥剤と共に真空デシケーター中で減圧乾燥する。このアセトンパウダー1g に対し水 200 mℓ を加えて振とうしてから遠沈により上澄液

を得、これを粗酵素液として用いた。同一のアセトンパ ウダーを用いても抽出の都度液の酵素活性度が異なるよ うであったが、これば粘質物が酵素の溶出を妨げるため ではないかと考えられる。

酵素とフェノール成分とによる呈色反応: 前記の酵素液をツンベルグ管の主室に、アセトンパウダー調製の際のアセトン濾液の濃縮液を側室に入れて排気した後両者を混合した。そのままでは変化が認められなかったが、空気を入れて振とうすると液は速かに着色し、やがて褐色の沈澱物を生じた。酵素液に対し100℃、5分間の加熱処理を行なうと、この反応は認められなかった。また、前述のペーパークロマトグラムに対し、発色試薬の代りに酵素液を噴霧すると、試薬で発色させた場合と同じ部分が褐変した。

以上の結果から、ナガイモの変色はバレイショの場合と同様に、フェノール成分の酵素的酸化によるものであり、変色に関与している主成分は1種類の σ-ジフェノールであると推定した。

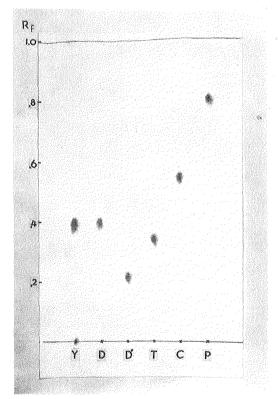


図 6 変色成分 (Y) と標準物質のクロマトグラム D: ドーパアミン C: クロロゲン酸 D': DL-ドーパ P: プロトカテキュ酸 T: L-チロシン

(2) 変色成分の定性

(a) ペーパークロマトグラム

前項で変色成分を一応o-ジフェノールと推定したが、 さらに進んでその本体を知るため、変色芋のエタノール 抽出物を数種の標準物質と共に展開し R_f の一致するも のがあるか否かを調べた。

図6は展開液にn-ブタノール,酢酸,水 (4:1:2) を,検出にはジアゾ試薬を用いて得られたクロマトグラムである。これによると変色成分の R_f はドーパアミンのそれと一致しており,バレイショの変色因子とされているドーパ,チロシンおよびクロロゲン酸の R_f とは明らかに異なっている。したがって,変色成分はドーパアミンである可能性が大きいので図7に示すように数種の展開液によって両者の R_f を比較した。検出には赤血塩を用いた。また,酵素液を噴霧して両者が同じ色調を呈する

ことを確認した (図8)。

さらに、2次元展開を行なって図9のようなクロマトグラムを得た。この場合にも赤血塩で検出されるスポットは1個のみでドーパアミンと一致した。

図 10 は未変色芋 (1)、変色芋 (2) ならびに変色芋を磨砕、攪拌して変色反応を充分に行なわせたもの (3) それぞれのエタノール抽出物と、ドーパアミン (4)、DL-ドーパ (5)、L-チロシン (6)、チラミン (7) をn-ブタノール、酢酸、水 (4:1:2) で展開し、ジアゾ試薬で発色させたものである。(1) にはドーパアミンに相当するスポットはなく、チロシンに当たる位置が淡く発色している。(3) にはドーパアミンに相当する淡いスポットが見られ、変色成分が僅かに残っていたことを示している。(1)、(2) および (3) のいずれにもドーパならびにチラミンの存在は確認できなかった。

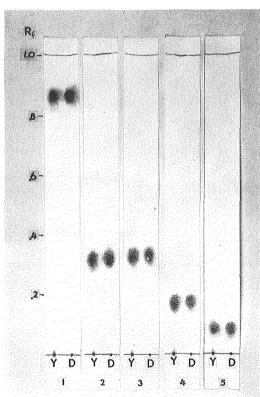


図7 変色成分 (Y) とドーパアミン (D) の 各種展開液によるクロマトグラム

- (1) n-ブタノール, 酢酸, 水 (4:1:5) 下層
- (2) n-ブタノール, 酢酸, 水 (4:1:5) 上層
- (3) フェノール,水 (77:23)
- (4) n-ブタノール, 5% トリクロール酢酸飽和
- (5) n-ブタノール, 0.5N 塩酸飽和

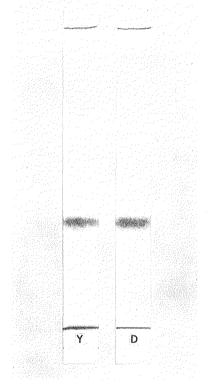


図 8 変色成分 (Y) とドーパア ミン (D) の酵素による発色

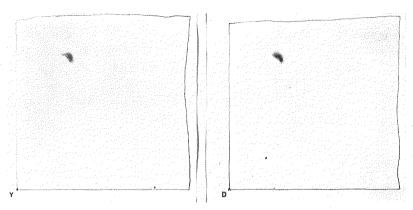


図 9 変色成分 (Y) とドーパアミン (D) の 2次元ペーパークロマトグラム

展開液 縦方向:2% 酢酸

横方向: n-ブタノール, 酢酸, 水 (4:1:5) 上層

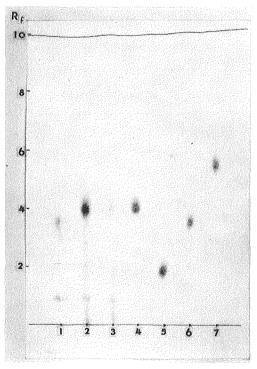


図 10 未変色芋 (1), 変色芋 (2) および変色 芋を磨砕, 攪拌して変色反応を充分に 行なわせたもの (3) に含まれているジ アソ反応陽性物

(b) 紫外部吸収スペクトル

ペーパークロマトグラフィーの結果から、変色成分は ドーパアミンであると考えられるが、さらに両者の紫外 部吸収を測定して一致するか否かを確認することにし た。変色成分はペーパークロマトグラフィーで分離し水で抽出した。ドーパアミンも同様に展開,抽出を行ない,ブランクとしては濾紙に展開液を上昇させ,ドーパアミンに相当する部分を水で抽出したものを用いた。測定の結果は図 11 に示すように,試料,標品いずれも極大吸収280 mµ,極小吸収250 mµであった。試料は標品程シャープな曲線を描いていないが,共存物の影響によるものであろう。

以上の結果を総合すると、ナガイモの変色主成分が ドーパアミン (dopamine, 3,4-dihydroxyphenylethylamine, 3-hydroxytyramine) であることは確実である。

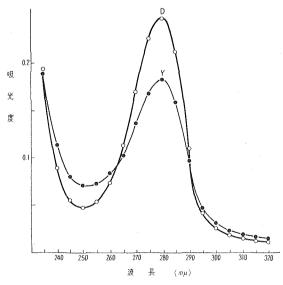


図11 変色成分 (Y) とドーパフミン (D) の紫外部吸収スペクトル

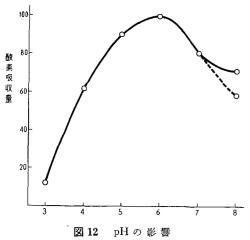
変色に関与している成分が他にあるとしても、それらは特に取り上げる程の重要性を持たないと判断される。なお、ARNOW(1)がドーパの定量法として発表している方法で変色成分を定量した結果、著しい変色を示す芋についてはドーパアミンとして約0.1%(生体中)という値が得られた。

(3) ポリフェノールオキシダーゼの特性

ナガイモの変色に関与している酵素はポリフェノールオキシダーゼに属するものと考えられるので、その特性を明らかにするために pH の影響、基質特異性および阻害剤の影響について調べた。酵素液は pH に関する実験にはアセトンパウダーから水で抽出したものを、その他の場合には M/15 燐酸緩衝液 (pH6) で抽出したものを用いた。酵素活性度を求めるにはg-ルブルグ検圧計で酸素吸収量を測定した。

(a) 最適 pH

酵素活性に対する pH の影響と最適 pH とを知るために、反応液の pH が 3, 4, 5, 6, 7 および 8 の場合におけるそれぞれの酸素吸収量を測定した。pH7 および 8 においては基質の自働酸化の起こることを考慮し (19)、酵素を含む反応液の酸素吸収量から酵素を含まないものの吸収量を差し引いて酵素的酸化による吸収量を推算した。反応開始後 30 分間の吸収量を,値のもっとも大きい pH 6 の場合を 100 とする比で示すと図 12 が得られた。



点線は自働酸化による吸収量を差し引いた値を示す

温 度: 25℃

この結果からドーパアミンを基質とした場合の最適 pH は 6 もしくはこれよりやや小さい値をとると考えられる。なお、カテコールの場合にも同じ結果が得られた。

(b) 基質特異性

ポリフェノールオキシーダーゼの基質特異性は抽出材料によってかなり差のあることが知られている。そこで、表3に示す種々のフェノール物質を基質とした場合の酸素吸収量を測定した。

ドーパアミンの場合の60分間の吸収量を100として 各基質についての吸収量を示すと図13のとおりである。

表3 基質として用いたフェノール類

ドーパアミン塩酸塩	L-チロシン
カテコール	L-アスコルビン酸
DL- F - ~	<i>p</i> -クレゾール
クロロゲン酸	<i>p</i> -フエニレンジアミン
ピロガロール	ハイドロキノン
チラミン	プロトカテキュ酸

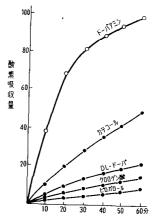


図13 基質特異性 測定条件

-	ᆵ.	{M/15 燐酸緩衝液 M/100 基質	(pH 6)	1 ml
±±.	至:	₹M/100 基質		1 ml
側	室:	酵素液		$0.5 \mathrm{ml}$
副	室:	10% KOH		$0.2 \mathrm{ml}$
.YES	ndr:	OF9C		

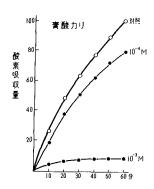
温度: 25℃

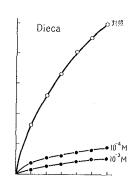
すなわち、ドーパアミンに対して特に高い活性を有しており、カテコール、ドーパなどではその 1/2 以下の酸素吸収を示すに過ぎない。表3のチラミン以下のものについては測定できる程の酸素吸収は見られなかった。

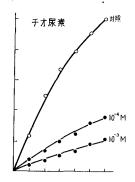
L-アスコルビン酸は単独では酸素吸収を示さないが、 ドーパアミンあるいはカテコールを添加するとかなりの 吸収を示した。ドーパアミンを基質とした場合には反応 開始後20分頃から吸収速度が低下したが、基質を補って も回復しなかった。したがって、速度の低下は基質濃度 の低下によるものではなく、基質酸化物の阻害作用の結 果であろう。本酵素はチロシン、チラミンなどに対して は作用しないので、0-フェノラーゼに属するものである。

(c) 阻害剤の影響

ポリフェノールオキシダーゼの阻害剤としては種々のものが知られているが、特に青酸カリ、チオ尿素、サリチルアルドキシムおよびジェチルジチオカルバミン酸 (dieca) の影響について調べた。終末濃度が 10^{-3} M および 10^{-4} M となるようにして使用したが、サリチルアルドキシムのみは阻害力が弱いので 10^{-2} M をも用いた。Dieca は Na 塩を使用直前に M/15 燐酸緩衝液 (pH 6) に溶解し、青酸カリは塩酸で中和してただちに使用した。







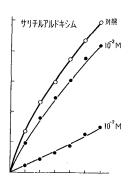


図14 阻害剤の影響

測定条件

側 室: M/50 カテコール 0.5 ml 副 室: 10% KOH 0.2 ml

温度: 25°C

基質としてはドーパアミンの方が望ましいが、カテコールでも同じ阻害率が得られるものとして、これで代用した。

結果は図 14 に示すとおりで、dieca による阻害がもっとも大きく、青酸カリがこれに次いでいる。チオ尿素の阻害はリンゴ果 (14)、あるいはタバコ葉 (9) のポリフェノールオキシダーゼでは 10^{-1} M という高濃度でなければ認められないのに反し、本酵素では 10^{-3} M で明らかに阻害を受けている点が注目される。サリチルアルドキシムについては、 10^{-3} M で 50% 阻害という基準 (7) によれば、阻害作用を認めることができない。

考 察

ナガイモには個体によって著しく変色するものと全 く変色しないものとがある。植物体の変色現象の中で 遺伝的にはほとんど差異のない2つの個体の間に、こ れ程鮮かな対照の見られるものは恐らく他に例がない であろう。植物体の変色については今日まで数多くの 研究が報告されているが、そのほとんどすべてが、まず 変色成分の検索に始まり次いでそのものの消長あるい は系統間での含量の差に及び、時に関連酵素の特性を 検討するといった内容のものである。しかし、ナガイ モについてはそれと同時に変色芋がいかにして生ずる かという点が実用上重要であり、学術的にも生合成の 面で興味のある問題である。筆者の調査によれば、ナ ガイモは通常の収穫期より早く掘り取ってもその時点 においては変色しない。変色芋を生ずるためには、一 定期間ある程度の温度と酸素とを必要とする。これは 活発な呼吸作用を行なうための必要条件である。かか る現象はナガイモに限らず他の植物体についても報告 されていない。佐藤 (22) は早掘りのナガイモ (報文に は単にナガイモとのみ記されているが特に長芋を指し ているものと判断される) について掘取りの翌日にポ リフェノールの含量を測定しているが、掘取り直後に 変色が認められたか否かについては述べていない。も っとも、「生長の旺盛な7月下旬から8月上旬にかけて polyphenol 含量も当然増加することが考えられる レ いう記述から判断すれば、生育中の芋にも掘取り翌日 程度のポリフェノールが含まれていると考えているよ うに受け取られる。ポリフェノールの存在のみで変色 が起こるとは限らないが、筆者が観察した限りでは、 変色しない芋から多量のポリフェノールが検出される ことはなかった。酵素についても同様である。つまり、 変色,ポリフェノールおよびポリフェノールキシダー

ぜの3者は常に同時に発現あるいは存在していると考え ることができる。変色化の進行と生育段階あるいは貯蔵 温度などとの関係を観察した結果から次のような推論が 可能となる。すなわち、生育に伴って変化するものは変 色成分の含量や関連酵素の活性そのものではなく、それ らを発現させるところのある種の「系」の潜在能力であ る。このものは未成熟な芋においては高く、成熟が進む につれて低下し、遂には失われてしまう。未変色芋、す なわち、この能力を持っている芋を適温ならびに酸素供 給という条件の下に置くと、「系」が活動を開始して変色 成分と関連酵素の生成が行なわれる。組織が破壊される と、同時にこの能力も失われてしまうので変色化が起き ない。低温あるいは無酸素下では「系」の活動は抑制さ れている。一度能力を失った非変色芋も傷害刺戟によっ て局部的にその能力を再生しその部分にのみ変色化が起 こる。このような系の存在を想定することによって、変 色芋の発現様相を一元的に理解することができるのでは なかろうか。その実体の解明は今後に残された課題で ある。

変色成分の本体については、ドーパアミンであると推 定したが、越智(17)は奈良県産の「塊状のやまのいも」 を試料としてカテコールであろうと報告している。佐藤 (22) によれば「ナガイモ」には4種のジアゾ反応陽性物 が含まれており、変色主成分と考えられるものは 277 mμ に極大吸収を, $260 \, \mathrm{m}\mu$ に極小吸収を持っている。また, 正盛・斎藤(8)は岡山県産の「つくねいも」中にチロシ ン、ドーパーおよびクロロゲン酸を見出し、これらを褐 変成分であると推定している。かかる相違は果して系統 間の差異として理解すべきものであろうか、疑問に思わ れる。植物体の変色成分として知られているものは:バ レイショ (16) にチロシン、ドーパおよびクロロゲン酸、 カンショ (21) にクロロゲン酸, ゴボウ (18) にカテキン とクロロゲン酸, リンゴ (6), モモ (10, 15) などにはク ロロゲン酸およびカテキン類, ソラマメ (12, 13) にチロ シン,ドーパならびにその配糖体,タバコ(23)にクロロ ゲン酸,チャ(20)にカテキン類というように比較的少数 の物質である。その中でも特にクロロゲン酸の分布は非 常に広い。これに反し、ドーパアミンは日常の食品中で はバナナ果皮に含まれていることが報告されているのみ である (5, 25)。 植物体でドーパアミンを含むことが知ら れている例はごく少なく、バナナ以外ではアボカード (25), エニシダ(3) その他2,3のものにすぎない。

GRIFFITHS (5) はドーパアミンがバナナ果皮の褐変成分であることを明らかにし、ドーパは見出されないと報

告している。BUCKLEY (2) はパナナ果皮におけるドーパアミン生合成について実験し,

の経路を確認した。また、CORREALE & CORTESE (3) はエニシダの芽生えを用いてエピニンがドーパアミンを経てチロシンから生成されることを示している。ナガイモにはチロシンが見出されないとの報告 (11) があり、筆者もまたその存在を確認できなかったが恐らくナガイモにおいても上記の経路によって、ドーパアミンが生成されているものと推測される。

ナガイモのポリフェノールオキシダーゼについてはこ れまでに報告されたものがないが、バナナ果皮が多量の ドーパアミンを含むことから、そのポリフェノールオキ シダーゼがナガイモのそれと類似しているのではないか と考えられる。PALMER (19) によれば、このものはドー パアミンに対して特に高い親和性を持っており、モノフ エノールを酸化しない。ドーパをも酸化するが親和性は 低い。最適pHは7である。このように両者は相似た特 性を持っている。これに反し、変色主成分としてクロロ ゲン酸を含むタバコ(24), リンゴ(14), カンショ(4) な どのポリフェノールオキシダーゼがクロロゲン酸に対し て高い活性を示すことは、酵素-基質の関係において共 通するものがある。したがつて、ナガイモのポリフェノ ールオキシダーゼがドーパアミンに対して特に高い活性 を持っていることは、ナガイモ中にもっとも多量に存在 するポリフェノールがドーパアミンであるという推定を 裏付けるものである。

約言すれば、ナガイモの褐変は変色成分であるドーパアミンの酵素的酸化の結果として現われるものであり、変色成分ならびに酸化酵素の生成は掘取り後に芋が活発な呼吸作用を営む過程において行なわれるものである。

したがって、芋を掘取り後ただちに低温下に置くこと によって、変色芋の発現を防ぐことができる。

摘 要

ナガイモの塊根 (芋) を切断あるいは磨砕すると 褐変することがある。この現象を変色芋の発現様相、変色成分および関連酵素の面から検討し、次の点を明らかにした。以下で変色芋とは切断あるいは磨砕によってただちに褐変するものを、変色化とは変色しない状態から変色

芋になる変化を言う。

- 1. 掘取り時には未成熟な芋であっても変色しない。
- 2. 掘取り後貯蔵中に変色化が起こるが、それに要する期間は温度が高い程短かく、芋の成熟が進んでいる程長くなる。成熟した芋を長期間低温下に貯蔵すれば、その後高温下に置いても変色化が起きない。ただし、傷害面に隣接するわずかの部分のみは変色化する。
- 3. 変色は芋の中心部では弱く、周辺部において強く 現われ、この差は成熟が進むにつれて明瞭となる。
- 4. 低温 (5°C 以下) もしくは無酸素下では変色化が起きない。
 - 5. 掘取り後ただちに磨砕すると変色化しない。
 - 6. 変色成分はドーパアミンである。
- 7. 変色に関与している酵素はポリフェノールオキシダーゼの一種であり、ドーパアミンに対して高い活性を有している。

以上の結果は、芋を呼吸が活発に行なわれる条件下に置くとドーパアミンとこれを酸化する酵素とが生成され、組織が破壊されると両者が反応して有色物質を生ずるために変色が起こることを示している。

ただし、この研究はナガイモの中の一系統である長芋のみについて行なわれたものであるから、他の系統のものについては必ずしもこの通りの現象が認められるとは限らない。

引用文献

- ARNOW, L. E. 1937. Colorimetric determination of the components of 3, 4-dihydroxyphenylalanine-tyrosine mixture. J. Biol. Chem. 118: 531– 535.
- BUCKLEY, E. H. 1961. Further studies on the biosyntheses of 3-hydroxytyramine in the peel of the banana. Plant Physiol. 36, Supplement: xxxviii.
- CORREALE, P. & I. CORTESE 1953. Papierchromatographische Untersuchungen über die Hydroxyphenylalkylamine des Besengensters (Sarothamunus scoparius). Naturwissenschaften, 40:57-58.
- EIGER, I. Z. & C. R. DAWSON 1949. Sweet potato phenolase. Preparation, properties, and determination of protein content. Arch. Biochem. 21:194-209.
- GRIFFITHS, L. A. 1959. Detection and identification of the polyphenoloxidase substrate of the banana. Nature, 184:58-59.

- HULME, A. C. 1953. The isolation of chlorogenic acid from the apple fruit. Biochem. J. 53:337-340.
- 7. James, W. O. 1953. The use of respiratory inhibitors. Ann. Rev. Plant. Physiol. 4:59-90.
- 8. 正盛零子・斎藤高子 1963. 岡山地方農作物の食品 化学的研究. VIII. つくねいも (1) 褐変成分の検索. ノートルダム清心女子大学家政学部時報, 9:9-11.
- 9. 松山 晋 1961. タバコ葉の褐変に関する研究 (第 1報) ポリフェノールオキシダーゼの特性について. 農化、35:405-408.
- 10. 森光国・原田陽一・坪井良至 1965. 白肉種桃の酵素 的かっ変に関する研究 (第1報) 熟度によるポリフ エノールの消長とポリフェノールオキシダーゼの 特性. 食品工誌, 12:88-94.
- 11. 武藤聡雄 1951. Paper partition chromatography による生体内の微量成分に関する研究 (第2報) 根 菜類に於ける遊離 amino acid の分布に就いて. 農化, 24:325-330.
- 12. 長沢俊三 1960. そらまめの褐変成分に関する研究 (第2報) 子実内ポリフェノール成分の分布とチロシン及び Dopa の確認. 農化, 34:237-239.
- NAGASAWA, T., H. TAGAKI, K. KAWAKAMI and T. SUZUKI 1961. Studies on the browning compounds of broad bean, Vicia fava L. Part III. Isolation of dopa-O-β-D-glucoside and enzymic mechanism for the color change of broad bean, Agr. Biol. Chem. 25: 441–447.
- 中林敏郎 1954. 林檎果肉の褐変現象(其の II) 林 檎果肉呼吸の terminal oxidase に就いて. 農化, 28:212-217.
- 15. ----・鵜飼暢雄 1963. 酸化酵素による桃果肉 のかっ変現象. 食品工誌, 10:211-216.
- 16. 小幡弥太郎・坂村貞雄 1953. 馬鈴薯の変色成分の 分離確認 (食品の褐変に関する研究 第5報). 農化, 27:766-769.
- 17. 越智薫子 1960. 食品の褐変現象に関する研究 (やまのいもの褐変現象に関与する物質の検出について). 家政学研究, 7:121-123.
- PALMER, J. K. 1963. Banana polyphenoloxidase. Preparation and properties. Plant. Physiol. 38: 508-513.
- 20. ROBERTS, E. A. H. and D. J. WOOD 1951. A study of the polyphenols in tea leaf by paper chromatography. Biochem. J. 49:414-422.

- RUDKIN, G. O. and J. M. NELSON 1947. Chlorogenic acid and respiration of sweet potatoes. J.A.C.S. 69: 1470-1475.
- 22. 佐藤一郎 1962. ナガイモの"アク"に関する研究 (第1報) 褐変物質とその消長について. 園学雑, 31:134-140.
- SHIROYA, M., T. SHIROYA and S. HATTORI 1955. Studies on the browning and blackening of plant tissues. IV. Chlorogenic acid in the leaves of *Nicotiana Tabacum*. Physiol. Plant. 8:594-605.
- SISLER, E. S. and J. EVANS 1958. A comparison of chlorogenic acid and catechol as substrates for the polyphenoloxidase from tobacco and mushroom. Plant Physiol. 33:255-257.
- UDENFRIEND, S., W. LOVENBERG and A. SJOERDSMA 1959. Physiologically active amines in common fruits and vegetables. Arch. Biochem. 85: 487–490.

Summary

Chinese yam (*Dioscorea Batatas*) is one of common vegetables whose tuberous root (yam) is widely used at home and in confection. And the yams sometimes undergo a rapid browning when cut or grated raw. The problem of browning is connected with the commercial value of the product.

The present study was designed to elucidate the mechanism of this phenomenon, especially on the following points: the conditions which lead to the occurrence of browning yams, the substance responsible for the browning, and the properties of the associated enzyme. And the results obtained may be summarized as follows:

1. Yams in any stage of maturity did not discolor

- immediately after digging.
- 2. The change from a nonbrowning yam to a browning one occurred during storage after digging and the period necessary for the change varied with storage temperature and the maturity of the yam. The lower the temperature and the more mature the yam, the longer the period was.
- 3. The change did not occur at low temperature (below 5°C.) or without oxygen.
- 4. Yams in full maturity which were kept at low temperature for a long time did not undergo the change into browning yams, even if exposed to higher temperature afterward. In the presence of injuries, the small parts of tissue adjacent to injured parts, however, turned to the browning state.
- The tissue grated immediately after digging did not undergo the change into the browning state.
- The browning reaction was observed to be stronger in the outer part than in the center of a yam and the difference became clearer as the maturity advanced.
- 7. The substance causative of the browning was found to be dopamine.
- 8. The enzyme participating in the browning reaction was a kind of polyphenoloxidase and had a high activity to dopamine.

These results indicate that dopamine and an associated enzyme are produced during active respiration and a brown pigment is formed by the reaction between them when the tissue has been destroyed.

This conclusion cannot be generalized throughout the species, because the material was limited to one of the strains belonging to the species.