



HOKKAIDO UNIVERSITY

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



ナガイモ (*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)を食用とする野菜の一種であるが、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維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、はなはだしの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。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

御教示によって筆者を導いて下さった。さらに、果樹蔬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畷利郎助教授、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根棒形の芋である。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、褐変現象も同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

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75cm、株間30cmとし肥料は10a当り硫安100kg、過磷酸石灰60kg、硫酸加里30kg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。

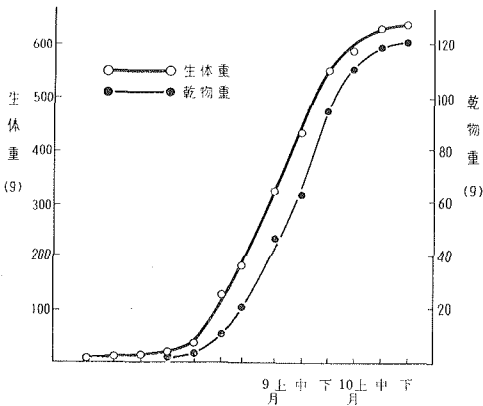


図1 芋重量の増加 (1個体)

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兩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り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り取り後ある期間の必要であることが推察されたので、2年目には掘り取り直後のみでなくある期間貯蔵した後も調査した。貯蔵温度は $18^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、調査個体数は3~5とした。

表1 掘り取り時期ならびに貯蔵期間と変色との関係

貯蔵日数	掘り取り時期						
	9月上旬	9中	9下	10上	10中	10下	11上
掘り取り直後	-	-	-	-	-	-	-
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、掘り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、掘り取り時期が遅い程、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。

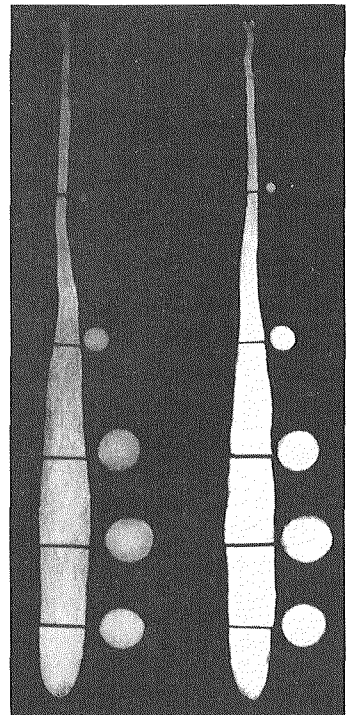


図2 芋の切断面の変色状況
左: 変色芋, 右: 未変色芋
(いずれも9月中旬掘り取り)

(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、掘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

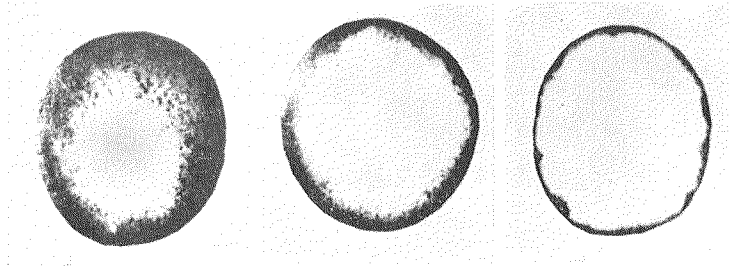


図3 掘取り時期を異にする芋の横断面(もっとも太い部分)

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

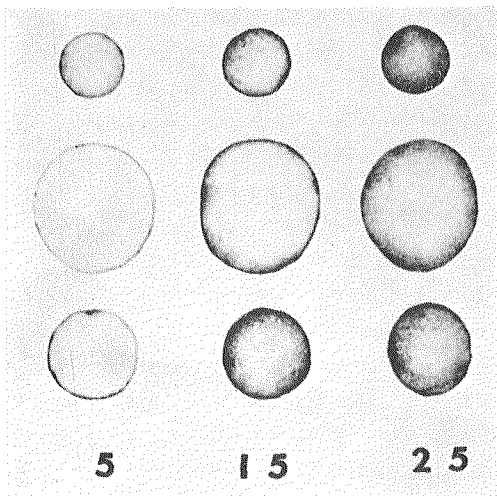


図4 貯蔵温度を異にする芋の断面

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。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十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±1°C、15±1°Cおよび25±1°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±2°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、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		10月中旬		11月上旬	
	2日	7日	2日	7日	2日	7日
25±1°C	+	+	+	+	-	+
15±1°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

変色芋に傷害を与えると、その部分は当然ただちに変色するが、非変色芋の場合には傷害面が白色のまま乾固してゆく。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。これは非変色芋も傷害刺戟によって局部的な変色化を起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り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月上旬掘り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气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、かつその後空气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50cm(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。

フェノール成分の検出：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束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な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 α -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的な呈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%赤血塩磷酸緩衝液(pH 7)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。変色芋はベ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。呈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。

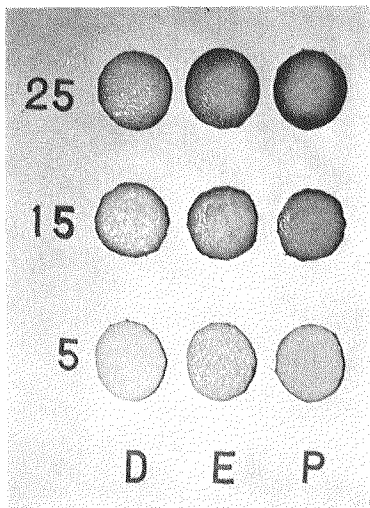


図5 貯蔵温度を異にする試料における変色 (D)、酵素 (E) およびフェノール成分 (P) の分布 (横断面)

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に対して水200ml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、これは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°C、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 o -ジフェノールであると推定した。

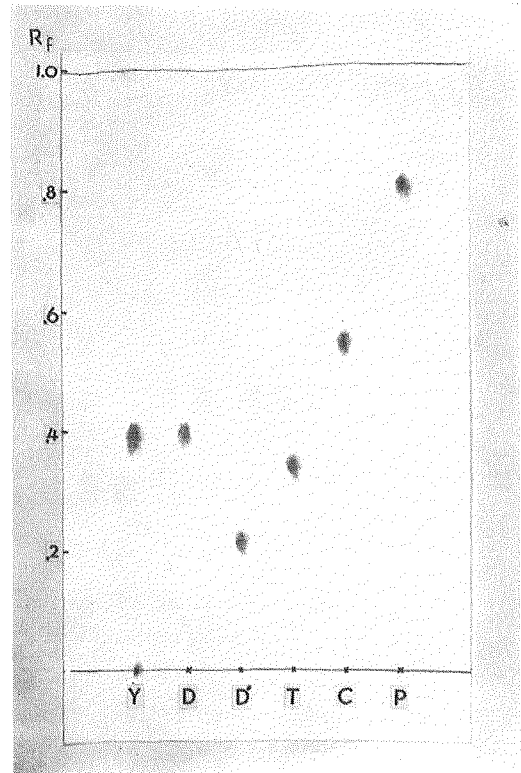


図6 変色成分 (Y) と標準物質のクロマトグラム
D: ドーバアミン C: クロロゲン酸
D': DL-ドーバ P: プロトカテキユ酸
T: L-チロシン

(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の-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 はドーパミンのそれと一致しており、パ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。

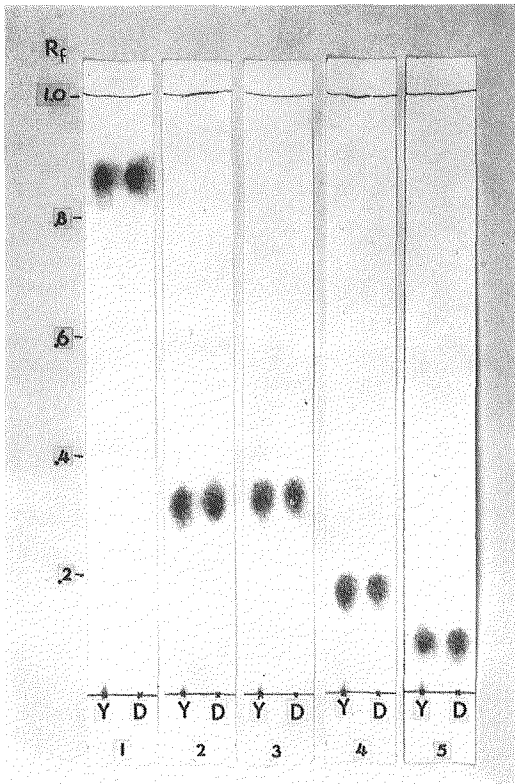


図7 変色成分 (Y) とドーパミン (D) の各種展開液によるクロマトグラム

- (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

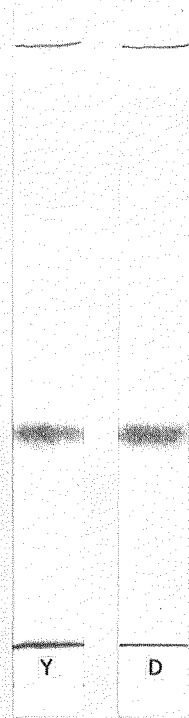


図8 変色成分 (Y) とドーパミン (D) の酵素による発色

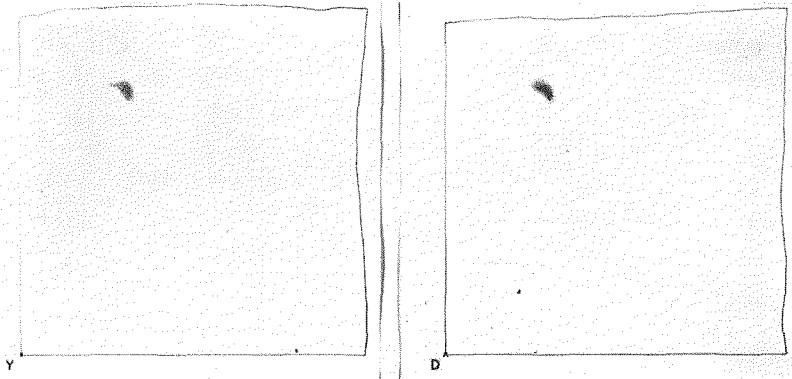


図9 変色成分 (Y) とドーパミン (D) の2次元ペーパークロマトグラム

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

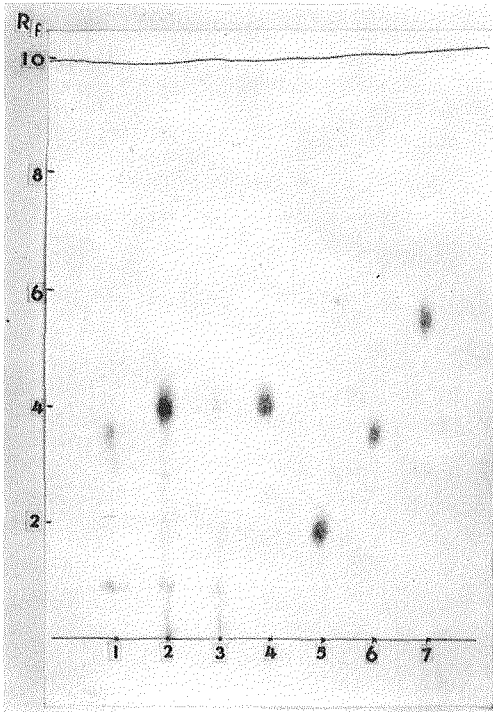


図10 未変色芋 (1)，変色芋 (2) および変色芋を磨砕，攪拌して変色反応を充分に行なわせたもの (3) に含まれているジアゾ反応陽性物

(b) 紫外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，変色成分はドーパミンであると考えられるが，さらに両者の紫外外部吸収を測定して一致するかなん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 m μ ，極小吸収250 m μ 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。

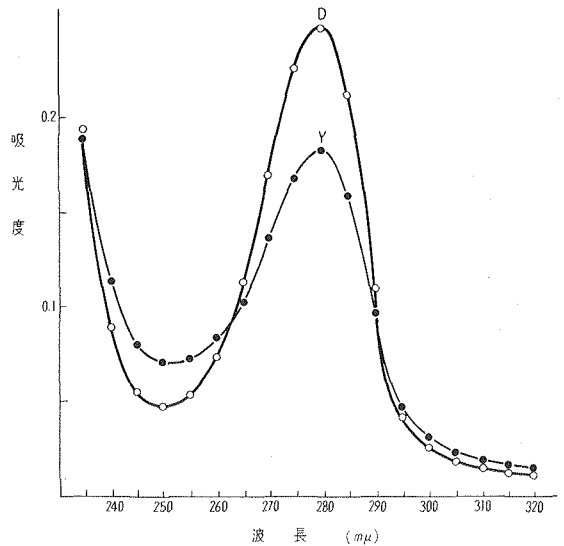


図11 変色成分 (Y) とドーパミン (D) の紫外外部吸収スペクトル

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 磷酸緩衝液 (pH 6) で抽出したものをを用いた。酵素活性度を求めるにはワー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。pH 7 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。

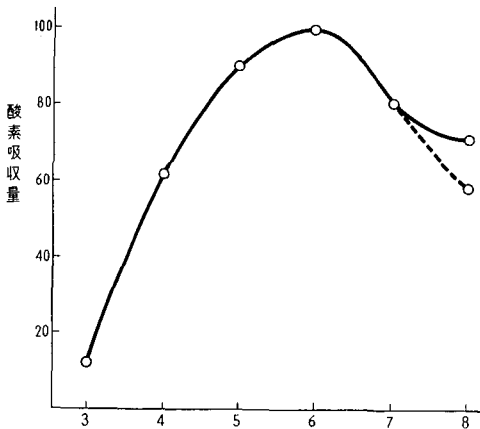


図 12 pH の影響

点線は自働酸化による吸収量を差し引いた値を示す

測定条件

主室: { McIlvaine 緩衝液 1 ml
 { M/100 ドーパミン 1 ml
 側室: 酵素液 0.5 ml
 副室: 10% KOH 0.2 ml
 温度: 25°C

この結果からドーパ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

ドーパミン塩酸塩	L-チロシン
カテコール	L-アスコルビン酸
DL-ドーパ	α-クレゾール
クロロゲン酸	α-フェニレンジアミン
ピロガロール	ヒドロキノン
チラミン	プロトカテキュ酸

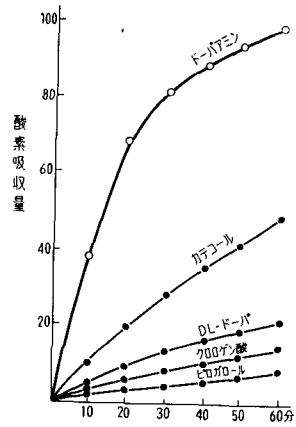


図 13 基質特異性

測定条件

主室: { M/15 磷酸緩衝液 (pH 6) 1 ml
 { M/100 基質 1 ml
 側室: 酵素液 0.5 ml
 副室: 10% KOH 0.2 ml
 温度: 25°C

すなわち、ドーパ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、*o*-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エ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 磷酸緩衝液 (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。

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ん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」と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

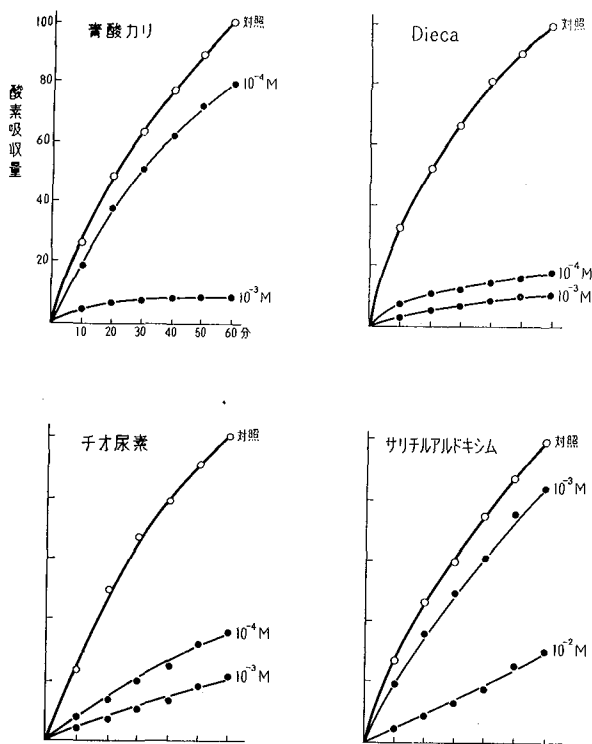


図 14 阻害剤の影響
測定条件

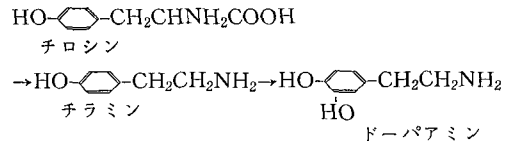
主室:	M/15 磷酸緩衝液 (pH 6)	1 ml
	阻害剤 (対照には水)	0.5 ml
	酵素液	0.5 ml
側室:	M/50 カテコール	0.5 ml
副室:	10% KOH	0.2 ml
温度:		25°C

ゼの3者は常に同時に発現あるいは存在していると考えられることができる。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激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 m μ に極大吸収を、260 m μ 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) はバナナ果皮におけるドーパアミン生成について実験し、



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ビ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、モノフェ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。したがって、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かない。
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

1. ARNOW, L. E. 1937. Colorimetric determination of the components of 3, 4-dihydroxyphenylalanine-tyrosine mixture. *J. Biol. Chem.* 118: 531-535.
2. BUCKLEY, E. H. 1961. Further studies on the biosyntheses of 3-hydroxytyramine in the peel of the banana. *Plant Physiol.* 36, Supplement: xxxviii.
3. CORREALE, P. & I. CORTESE 1953. Papierchromatographische Untersuchungen über die Hydroxyphenylalkylamine des Besengens (Saroathamunus scoparius). *Naturwissenschaften*, 40: 57-58.
4. EIGER, I. Z. & C. R. DAWSON 1949. Sweet potato phenolase. Preparation, properties, and determination of protein content. *Arch. Biochem.* 21: 194-209.
5. GRIFFITHS, L. A. 1959. Detection and identification of the polyphenoloxidase substrate of the banana. *Nature*, 184: 58-59.
6. 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. 正盛滯子・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つ変に関する研究 (第1報) 熟度によるポリフェ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.
13. NAGASAWA, T., H. TAGAKI, K. KAWAKAMI and T. SUZUKI 1961. Studies on the browning compounds of broad bean, *Vicia faba* 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.
14. 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. ———・鶴飼暢雄 1963. 酸化酵素による桃果肉の褐変現象. 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.
18. 岡崎竜子 1960. 食品の褐変現象に関する研究 (牛蒡の褐変化に関与する物質の検出及び分離について). 家政学研究, 7: 11-13.
19. 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.

21. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
5. The tissue grated immediately after digging did not undergo the change into the browning state.
6. 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.