

ジャガイモ塊茎の生育および冷却貯蔵に伴う ビタミン C 量およびその合成酵素活性の変化

Changes in Vitamin C Content and L-Galactonolactone Dehydrogenase
Activity of Potato Tubers during Tuber Development and Cold-storage.

大羽和子* 山本淳子* 舟橋由美*
(Kazuko Ōba) (Atsuko Yamamoto) (Yumi Funahashi)
小原明子** 石井現相*** 梅村芳樹**
(Akiko Ohara) (Gensho Ishii) (Yoshiki Umemura)

The weight of tubers and contents of starch and vitamin C of potatoes (*Solanum tuberosum* L., cv. Kitaakari, cv. Irish Cobbler) increased during tuber development and reached maximum at the end of July or at the early August. The activity of L-galactono- γ -lactone dehydrogenase (EC 1. 3. 2. 3, GLDHase) increased during tuber development and reached maximum just before the time when vitamin C content reached the maximum value, and then decreased.

When tubers of 7 cultivar varieties of potatoes including cv. Irish Cobbler, cv. Kitaakari, cv. Tsunika, cv. Touya, cv. Hokkai 79, cv. Shimakei 575 and cv. Shimakei 571 were stored at 4°C within 10 days after the harvest at about 20°C, vitamin C contents were markedly decreased during one month after storage and then decreased gradually for 3 months by 50~70%. When tubers were stored at 4°C, both ascorbic acid (AsA) content and GLDHase activity increased after 2 days, and decreased thereafter. The decrease in vitamin C content during cold (4°C) storage was larger than that of storage at 15°C, and GLDHase activity was higher in 4°C-storage tubers than that in 15°C-storage tubers. These results suggest that AsA is supplied by the increased GLDHase activity when a large amount of AsA is exhausted by a strong low temperature stress.

キーワード: ジャガイモ塊茎 Potato Tubers; 貯蔵 Storage; ビタミン C Vitamin C; L-ガラクト
ノラクトンデヒドロゲナーゼ L-Galactonolactone dehydrogenase; 温度ストレス Temperature stress

緒 言

ジャガイモはビタミン C (VC) 含量が比較的多く、一度に食する量も多いので、VC のよい供給源である。しかし、収穫期が春と秋で貯蔵性に富んでいるので、他の時期は貯蔵したいものを食している。ジャガイモの貯蔵温度は、低いほど休眠期間を延長することが可能になり、発芽を抑制できるので、通常 10°C 以下の低温

で貯蔵される。貯蔵中の VC 量の変化についてはいくつかの報告はあるが^{1~3)}、種々の品種のジャガイモを用いて詳細に研究した論文は見当たらない。実際に我々が食しているジャガイモの VC 量は、100 g 当たり成分表に示される 23 mg ではなく、50 mg~数 mg の開きがあることが報告されている^{1~3)}。本研究においては、収穫後の貯蔵条件によって、VC 量がどのように変化するかを詳細に検討し、より好ましい貯蔵条件を明らかにすることを目的とした。一般によく知られている男爵薯の他に VC 高含有品種を含む 7 品種のジャガイモの塊茎を 4°C、15°C、室温に貯蔵し、VC 量の変化を経時的に追跡した。また、VC 量の変化のメカニズムを知る目的で VC 合成酵素である L-ガラクトノラクトンデヒドロゲナーゼ (GLDHase と略す、EC 1. 3. 2. 3)

* 名古屋女子大学家政学部
(Nagoya Women's University)

** 農林水産省北海道農業試験場ばれいしょ育種研究室
(Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Potato Breeding Lab.)

*** 農林水産省北海道農業試験場
(Hokkaido National Agricultural Experiment Station)

ジャガイモ塊茎の生育および冷却貯蔵に伴うビタミンC量およびその合成酵素活性の変化

の活性⁴⁾を同時に測定し、本酵素がVC量の調節に関与している可能性を示した。

実験方法

1. 試料

農林水産省・北海道農業試験場（島松）で栽培された（8月収穫）7品種，“男爵薯”，“キタアカリ”（VC高含有品種，ツニカ×男爵薯），“ツニカ”，“トウヤ”，“北海79号”“島系575”，“島系571”，および長崎産“男爵薯”（市販品，5月収穫）を試料として用いた。

2. 貯蔵方法

北海道農業試験場で収穫後1週間経過した塊茎，および長崎産の市販塊茎を3～5個ずつ紙の茶封筒に入れ，さらにダンボール箱に入れて，4℃および15℃の暗所に貯蔵した。

3. デンプン価の測定

収穫直後にポテトゲージ（加川計量機株式会社製）を用い，空中重量と水中重量を求め次式（1）（2）によりデンプン価を求めた。

$$\text{比重 } E = \frac{\text{空中重量}}{\text{空中重量} - \text{水中重量}} - (1)$$

$$\text{デンプン価}(\%) = 214.5(E - 1.050) + 7.5 - (2)$$

4. ビタミンCの定量

氷水中で冷却した3～5個の塊茎から試料を均一に採取し，5gを細かく刻み，氷冷したホモブレンダー（佐久間製作所）に4%メタリン酸15mlを入れ，最高スピードで30秒間磨砕した。磨砕液をナイロンガーゼ2枚で濾過し，10,000xgで10分間遠心分離した後，上清の総VC量，酸化型VC（デヒドロアスコルビン酸，DHA）量を2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNP）法⁵⁾で定量し，還元型VC（アスコルビン酸，AsA）量を総VC量からDHA量を差し引いて算出した。

5. AsA合成酵素（GLDHase）活性の測定

1) 粗酵素液（ミトコンドリア画分）の調製

使用器具および緩衝液は予め低温（0～4℃）におき，以下全ての操作は低温で行った。

塊茎数個の皮を剥き，1cm角の大きさにした切片200gをフードカッター（ナショナル，MK-K41）に入れ，0.4Mスクロースおよび30mMメルカプトエタノールを含む0.1MK-リン酸緩衝液（pH7.4）を160mlふりかけながらすりおろし，乳鉢に移し，石英砂とともにさらに乳棒で1分間磨砕した。2重にしたナイロンガーゼで濾過した濾液を500xgで5分間遠心分離し，その上清をさらに10,000xgで30分間遠心分離した。得られた沈殿を50～100mlの0.4Mスクロースを含む0.1MK-リン酸緩衝液（pH7.4）によく懸濁し

た。さらに，もう一度10,000xgで30分間遠心分離して得られた沈殿画分を，20%グリセロール，10mM GSHを含む0.1MK-リン酸緩衝液（pH7.4）5～20mlに懸濁し，粗酵素液とした。

2) GLDHase活性の測定

前法⁶⁾に従って活性を求めた。反応液1ml中には，10mMK-リン酸緩衝液（pH7.8），シトクロムC1.5mg，L-ガラクトノ-γ-ラクトン0.75mgおよび粗酵素液が含まれた。L-ガラクトノ-γ-ラクトン依存性の還元型シトクロム（550nm）の増加を25℃で10分間追跡し，1分間に2.0nmolのシトクロムCを還元する（すなわち，1.0nmolのAsAを生成する）酵素量を1unitとした。

6. 蛋白質の定量

子牛血清アルブミンを標準タンパク質として用い，Bradfordの方法⁷⁾に従って定量した。

実験結果および考察

1. 塊茎の生育に伴うデンプン価，VC量およびGLDHase活性の変化

塊茎貯蔵に伴うVC量およびGLDHase活性の変化を解析する上で，塊茎の生育過程でのこれらの変化を知ることが有益であると考え，一般に最もよく利用されている男爵薯と高ビタミンC含有品種として北海道農試で育種されたキタアカリの2品種（いずれも早生）を用いて，塊茎の生育に伴うデンプン価，VC量およびGLDHase活性の変化を測定し，結果をFig. 1に示した。

キタアカリ，男爵薯共に5月下旬に萌芽し，6月下旬に開花したものは，8月上旬まで株当たりの重量が顕著に増加し，8月16日にキタアカリで1.22kg/株，男爵薯では0.94kg/株と最大となり，その後8月下旬まで変化しなかった。

デンプン価も塊茎の生育と共に徐々に増大し，7月下旬にキタアカリ15.1%，男爵薯14.1%と高値を示し以後ほぼ一定の値になった。株当たりの重量もデンプン価もキタアカリの方が男爵薯より多かった。

塊茎のVC量は7月下旬まで著しく増大し，キタアカリでは46～51mg/100g，男爵薯では30～35mg/100gに達した。AsA量は総VC量の85%以上を占め，その変動パターンは総VC量のそれと類似していた。

GLDHase活性は7月下旬まで両品種において著しく増大し，キタアカリで最大活性が10unit/g，男爵薯で7.7unit/gとVC量の多いキタアカリでGLDHaseの活性も高かった。キタアカリでは活性が7月下旬に

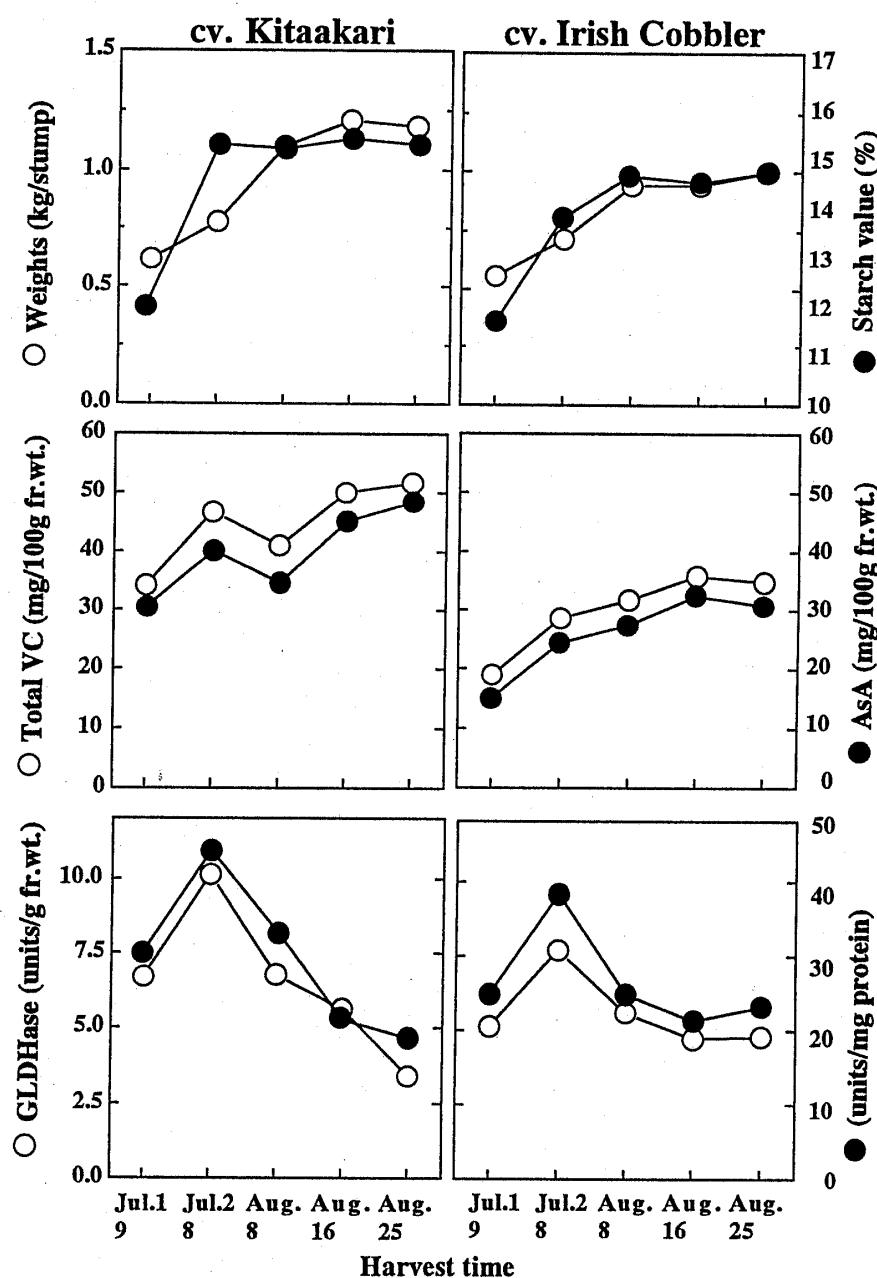


Fig. 1. Changes in weight, starch value, vitamin C content and GLDHase activity of tubers of potatoes (cv. Kitaakari and cv. Irish Cobbler) during tuber development. Tubers were harvested in 1994. Data shown are mean values (n=4).

最高値に達した後著しく減少し、8月下旬には3.4 unit/gまで減少した。男爵薯でも7月下旬以降活性は徐々に減少したが、8月下旬でも5.0 unit/gの活性があった。キタアカリの方が塊茎の生育に伴う酵素活性の増大・減少が顕著であった。蛋白質1mg当たりのGLDHase活性も7月下旬に最大(キタアカリ: 42.6 unit, 男爵薯: 39.2 unit)となり、以後減少した。

以上の結果、GLDHase活性はVC量の増加に先立

ち増大し、塊茎の成熟期には減少することが明らかにされた。

2. 塊茎の冷却貯蔵に伴うVC量およびGLDHase活性の変化

平成7年度に収穫された7品種(キタアカリ, 男爵薯, ツニカ, トウヤ, 北海79号, 島系575, 島系571)の塊茎を4°Cに3ヶ月間貯蔵し、1ヶ月毎に総VC, 還元型VC(AsA), 酸化型VC(DHA)量を測定した結

ジャガイモ塊茎の生育および冷却貯蔵に伴うビタミンC量およびその合成酵素活性の変化

果を Fig. 2 に示した。貯蔵前の新鮮塊茎の総 VC 量はキタアカリで最も多く (46~54mg/100g) 次いでトウヤ (42.6mg/100g), 島系 (38.7, 36.6mg/100g), ツニカ (33.3mg/100g), 男爵薯 (22.4mg/100g), 北海 79 号 (19.0mg/100g) の順であった。中でも、植え付けが2週間遅くて同時に収穫されたキタアカリ2の VC 量が最も多かった。7 品種とも、1 ヶ月後までの VC の減少が著しく、1~2 ヶ月の間には変化が少なく、2~3 ヶ月後に再び減少した。貯蔵3 ヶ月後の総 VC 量は、収穫直後の約 1/2 に減少した。3 ヶ月後でも、高含有品種の総 VC 量が多く、低含有品種で少なかった。AsA 量は総 VC 量の 70~80% を占め、貯蔵中の AsA 量の減少パターンは総 VC 量の減少パターンと類似していた。

7 品種のジャガイモ塊茎を 4℃ に 3 ヶ月間貯蔵し、1 ヶ月毎に GLDHase 活性を測定した結果を Fig. 3 に

示した。収穫直後の GLDHase 活性は VC 量の多かったキタアカリで最も高かった。どの品種においても貯蔵1 ヶ月の間に活性は低下し、1~2 ヶ月の間に活性が増大し、2~3 ヶ月の間に再び減少する傾向がみられた。

そこで、キタアカリと男爵薯を材料として、貯蔵期間中の VC 量と GLDHase 活性の変化を詳細に経時的に追跡した結果を Table 1 に示した。

キタアカリと男爵薯の総 VC 量は貯蔵前各々 46.6 mg/100g と 28.7mg/100g であったが、4℃ に貯蔵すると2日後には各々120%, 114% まで増加した。1週間後には各々80%, 92% まで激減し、以後は徐々に減少して85日後には30% まで減少した。キタアカリと男爵薯の貯蔵前の AsA 量は各々総 VC 量の約 85% と 83% を占め、貯蔵中の AsA の変動パターンは総 VC のそれと類似し、85 日後には貯蔵前の 1/3 弱の量

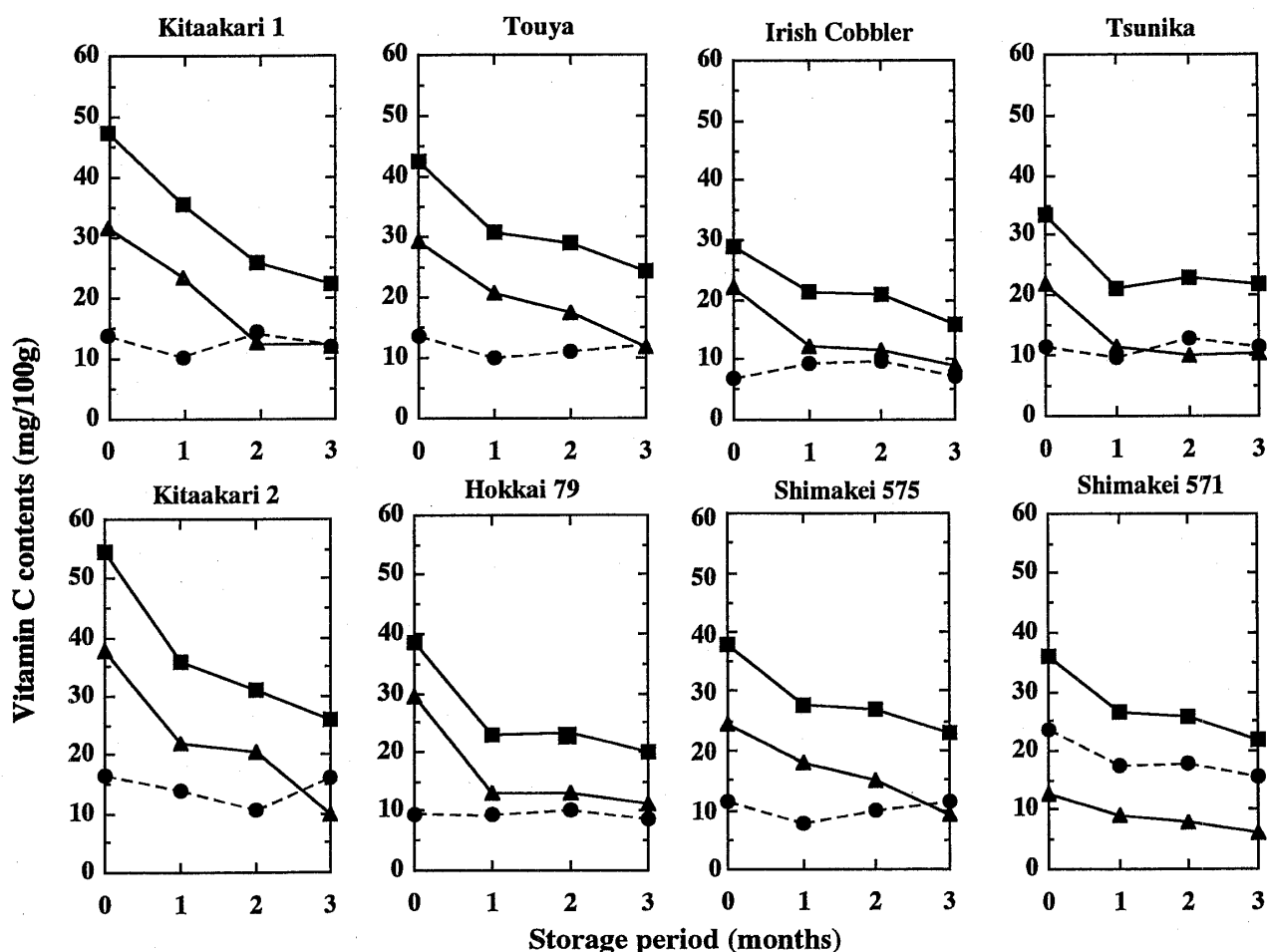


Fig. 2. Changes in vitamin C content of potato tubers during storage at 4°C for 3 months
Tubers were harvested in 1995. Data shown are mean values (n=4).

■, Total VC; ▲, AsA; ●, DHA. Kitaakari 2 was planted 2 weeks later than other varieties and harvested the same time.

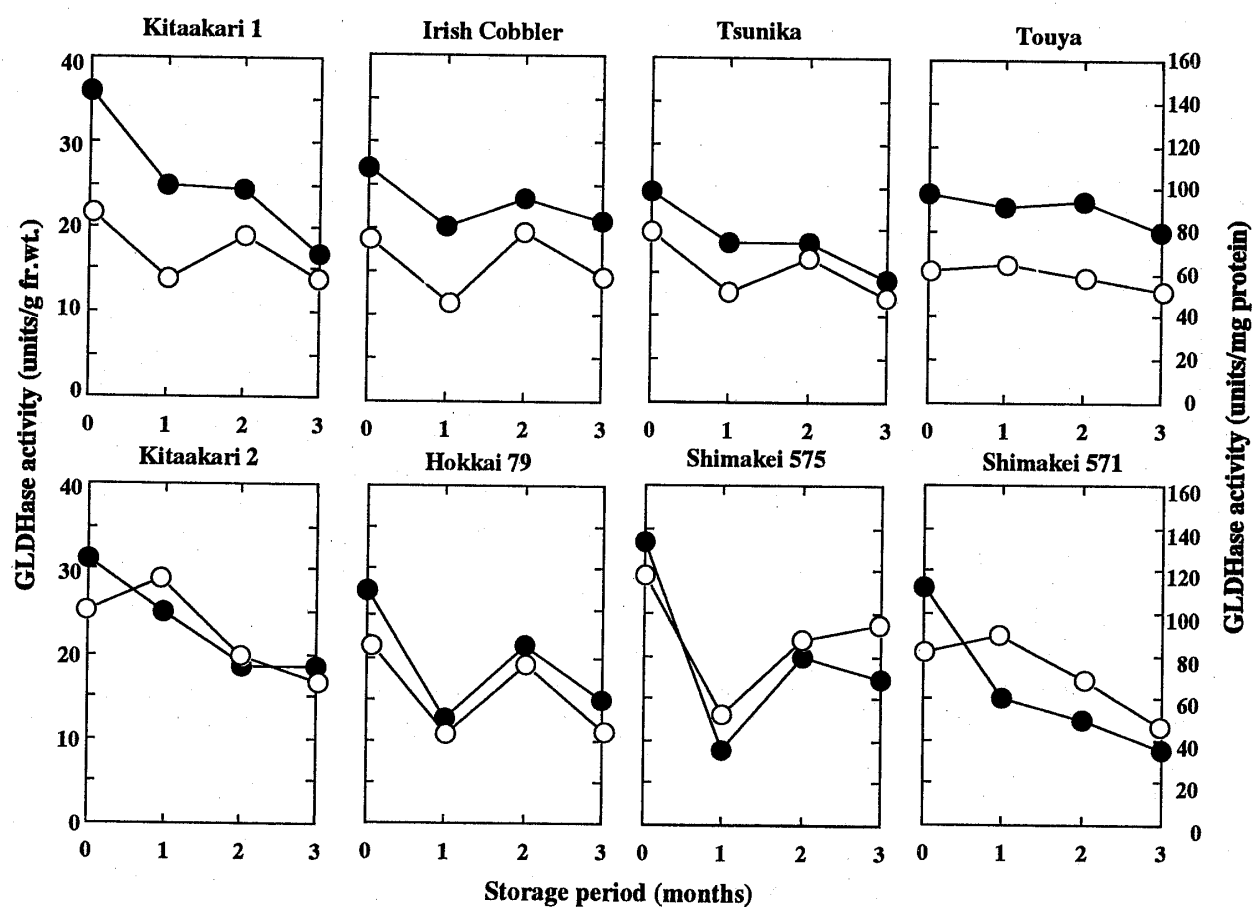


Fig. 3. Changes in GLDHase activity of potato tubers during storage at 4°C for 3 months

Tubers were harvested in 1995. Data shown are mean values (n=4).

○ Activity of units/g fr. wt., ● Activity of units/mg protein.

に減少した。両塊茎の貯蔵前の DHA 量は各々の総 VC 量の約 15%, 17% であり, 85 日後には貯蔵前の 57%, 56% まで減少した。

キタアカリと男爵薯の GLDHase 活性は貯蔵前に各々 10.2, 7.7 unit/g であったが, VC の減少率が最大であった 5 日後には 13.8, 14.2 unit/g まで増大し, 以後減少して再び 1 ヶ月後頃から徐々に増大し, 71 日後には各々最高値 16.3, 14.7 unit/g になり, 以後再び減少した。蛋白質 1mg 当たりの GLDHase 活性の変動パターンは g 新鮮重当たりの変動パターンと類似していた。

以上の結果, VC 量が急激に減少したり, VC 量が低い状態になると GLDHase 活性が高くなることが観察されたので, GLDHase の活性は生体内の VC 量を一定に保持するように調節されていると考えられる。また, 4°C 貯蔵 2 日後に AsA 量が増大するのは, 塊茎が低温ストレスを受け AsA の著しい消費が起こり, それを補うべく AsA の生合成が盛んになりオーバー

シフト的に AsA 量が増加したものと推察される。

3. 塊茎の VC 量および GLDHase 活性に及ぼす貯蔵温度の影響

塊茎を 4°C に貯蔵すると VC の減少が著しく, 3 ヶ月後では貯蔵前の 1/2~1/3 まで減少した (Fig. 2, Table 1)。そこで, 男爵薯の貯蔵温度を 4°C と収穫した時との温度差が 10°C 以内の 15°C に設定し, VC 量の減少の程度を比較した (Fig. 4)。貯蔵前には総 VC 量が 22.1 mg/100 g であったものが, 4°C 貯蔵では 15°C 貯蔵に比べ最初の 1 ヶ月間の VC 量の減少が著しく 3 ヶ月後には VC 量は 11.0 mg/100 g となった。貯蔵 3 ヶ月間をとおして常に 15°C 貯蔵の方が VC の残存率が高かった。また, データは示さなかったが, 室温 (20~30°C) で貯蔵した男爵薯の 2~3 ヶ月後の VC 残存率は 4°C で貯蔵した場合の VC 残存率よりも高かった。

一方, GLDHase 活性は, Fig. 4 に示すように, VC 量の残存率の低い 4°C 貯蔵で著しく増大し, 3 ヶ月間

ジャガイモ塊茎の生育および冷却貯蔵に伴うビタミン C 量およびその合成酵素活性の変化

Table 1. Changes in Vitamin C contents and GLDHase activity of potato tubers during storage at 4°C for 85 days

cv. Kitaakari

Storage periods (day)	Contents of			GLDHase activity	
	Total VC	AsA	DHA	(Unit/g)	(Unit/mg prot.)
	(mg/100g)				
0	46.6±1.3	39.8±1.3	6.8±1.1	10.2±1.0	32.9±3.3
2	56.1±0.6	48.7±0.6	7.4±1.6	10.6±1.1	34.7±3.4
5	43.8±1.3	37.3±1.3	6.5±0.5	13.8±1.6	37.9±4.3
8	38.1±1.9	32.4±1.9	5.7±0.5	10.5±0.9	26.6±2.2
11	35.0±0.8	30.6±0.8	4.4±0.1	10.1±1.2	31.7±3.6
28	36.2±0.6	30.5±0.6	5.7±0.2	10.1±0.4	25.8±1.0
42	20.5±0.5	14.8±0.5	5.7±0.3	7.7±0.5	25.8±1.6
56	18.1±0.4	13.0±0.4	5.1±0.2	9.2±0.9	32.8±3.2
71	12.0±0.4	9.5±0.4	2.6±0.1	16.3±1.4	46.1±4.1
85	14.0±0.3	10.1±0.3	3.9±0.2	12.3±1.1	35.5±3.1

mean values (n=4) ± S. D.

cv. Irish Cobbler

Storage periods (day)	Contents of			GLDHase activity	
	Total VC	AsA	DHA	(Unit/g)	(Unit/mg prot.)
	(mg/100g)				
0	28.7±2.0	23.9±2.0	4.8±0.5	7.7±1.1	30.3±4.5
2	32.6±0.5	25.9±0.5	6.7±0.3	13.2±0.9	40.9±2.8
5	30.6±0.5	25.9±0.5	4.7±0.3	14.2±1.4	39.1±4.0
8	26.5±0.8	22.5±0.8	4.0±0.2	10.6±1.2	29.6±3.2
11	24.5±1.1	19.0±1.1	5.5±0.2	10.9±1.5	32.9±4.5
28	21.0±0.7	15.7±0.7	5.3±0.2	7.1±1.1	21.4±3.5
42	11.4±1.5	7.2±1.5	4.2±0.2	7.8±0.6	23.6±1.7
56	11.2±0.3	6.7±0.3	4.5±0.1	14.0±2.6	40.1±7.4
71	7.7±0.3	5.0±0.3	2.7±0.1	14.7±1.4	40.7±4.0
85	9.0±0.2	6.3±0.2	2.7±0.1	13.3±2.0	38.3±5.7

mean values (n=4) ± S. D.

高い値を保持したが、15°C 貯蔵では活性の顕著な増大は観察されなかった。したがって、貯蔵温度が低いほど VC の消費が著しく、それを補うべく合成酵素活性が顕著に増大するものと考えられる。

以上の結果、塊茎の収穫後早い時期に 4°C の低温(温度差 15°C 以上)といった温度ストレスを受けると、それに引き続き VC 合成酵素活性が増大し、VC 量が一過的に増加することが示唆された。

また、GLDHase 活性は塊茎成熟過程の VC 合成の盛んな時や VC 量が激減したり、VC 含量の低い状態が続くと高くなり、VC 含量の調節に関与していることが強く示唆された。植物が低温ストレスを受けると、活性酸素が発生し、それによる細胞内での酸化ストレスが生ずると言われている^{8~11)}。塊茎を 4°C で貯蔵すると、15°C で貯蔵したより AsA の減少が大であった。

より低い温度で貯蔵された塊茎の方が温度ストレスを強く受け、活性酸素の発生が多く、活性酸素種を抗酸化剤として捕捉することが知られている AsA の消費が大であったと考えられる。

植物が傷害ストレスを受けると、活性酸素が発生するといわれている¹²⁾。ジャガイモを切片にして放置した実験では、12 時間後に AsA の減少が起こるとともに GLDHase 活性の増大が誘起され、24 時間以降に AsA の増大が観察されている⁴⁾。

このような事実から、野菜類の貯蔵や非加熱調理に際しては、植物の種々のストレスに対する応答反応を考慮し、それを利用したり制御することによって、機能性成分を増加させたり品質の劣化を抑制することが望まれる。

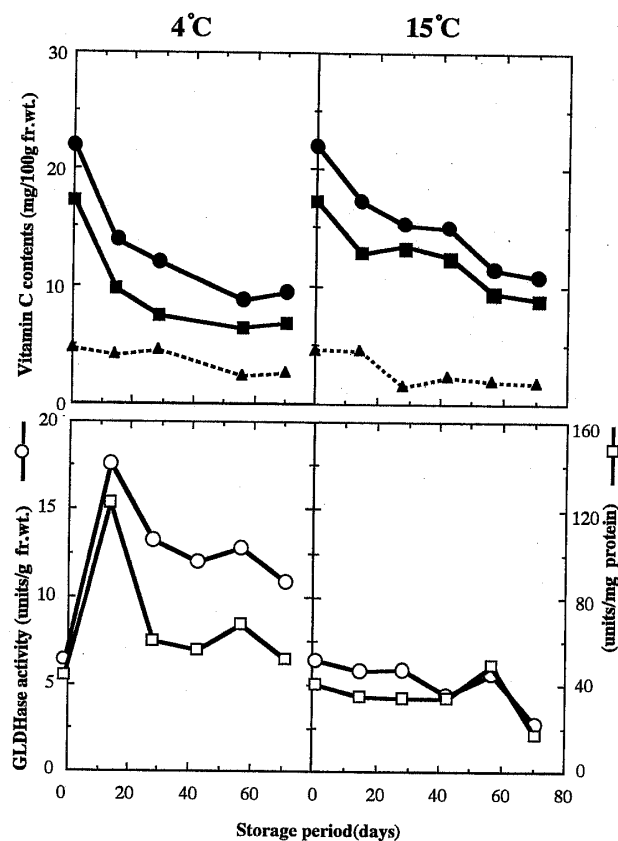


Fig. 4. Changes in vitamin C content and GLDHase activity of tubers of potato (cv. Irish cobbler) during storage for 70 days at 4°C and 15°C. Tubers were harvested in 1994 at a farm in Nagasaki. ●, Total VC; ■, AsA; ▲, DHA.

要 約

1) キタアカリ (VC 高含有品種) および男爵薯の生育に伴って、塊茎の重量、デンプン価、ビタミン C (VC) 量が増大し、7 月下旬から 8 月上旬に最大値に達した。VC 合成酵素 (GLDHase) 活性は 7 月下旬に最大になり以後減少した。

2) ジャガイモ (7 品種) 塊茎を冷却 (4°C) 貯蔵すると VC 量も GLDHase 活性も 1 ヶ月後に顕著に減少し、1~2 ヶ月の間は変化が少なく、2~3 ヶ月後に再び減少した。3 ヶ月後の VC 量は収穫直後の 1/2~1/3 になった。GLDHase 活性は VC 量が著しく減少する

時期および貯蔵 2 ヶ月以降の VC 含量の低い時期に高くなった。

3) 収穫直後に塊茎を 4°C に移すとその 2~3 日後に VC 量および GLDHase 活性が増大し、以後減少した。

4) ジャガイモ塊茎を 15°C に貯蔵した方が、4°C に貯蔵した場合よりも VC 量の減少が小さく、GLDHase 活性は低く保たれた。

本研究は農林水産特別試験研究費により行われたものである。また、実験の一部を実行された太田みゆき、市川友美、神戸ひとみ、中村弘子、水田小緒里さんに謝意を表する。

文 献

- 1) 大羽和子：家政誌，**39**，1051 (1988)
- 2) Kadam, S. S., Dhumal, S. S., and Jambhale, N. D. : 「Potato : Production, Processing, and Products」 (Salunkhe, D. K., Kadam, S. S., and Jadhav, S. J. ed) CRC Press Boca Raton, Boston (1991)
- 3) Kida, Y., Honda, N., Uchida, M., Kunisada, Y. and Fukuda, M. : *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **38**, 160 (1991)
- 4) Ôba, K., Fukui, M., Imai, Y., Iriyama, S., and Nogami, K. : *Plant Cell Physiol.*, **35**, 473 (1994)
- 5) 田村太郎，鈴木繁男：農化，**29**，492 (1955)
- 6) Ôba, K., Ishikawa, S., Nishikawa, M., Mizuno, H., and Yamamoto, T. : *J. Biochem.*, **117**, 120 (1995)
- 7) Bradford, M. : *Anal. Biochem.*, **72**, 248 (1976)
- 8) Foyer, C., Rowell, J., and Walker, D. : *Planta*, **157**, 239 (1983)
- 9) Spychalla, J. P. and Desborough, S. L. : *Plant Physiol.*, **94**, 1214 (1990)
- 10) Leonardis, S., Lorenzo, G., Borraccino, G. and Dipierro, S. : *Plant Physiol.*, **109**, 847 (1995)
- 11) Dipierro, S. and Borraccino, G. : *Phytochemistry* **30**, 427 (1991)
- 12) 道家紀志：現代化学増刊 30 「植物のシグナルトランスダクション」 (蓮沼卯嗣，平野久編)，p. 108，東京化学同人 (1996)

(平成 10 年 8 月 31 日受理)