

アスパラガスにおけるリグニンの含量, 組織内分布 および組織化学的性状の貯蔵中の変化

荒木 裕子*, 山本 直子*, 箕口 重義

(* 聖徳栄養短期大学)

原稿受付平成9年6月27日; 原稿受理平成9年12月15日

Changes in the Content, Intratissue Distribution and Histochemical Characteristics of Asparagus Lignin during Storage

Hiroko ARAKI, * Naoko YAMAMOTO* and Shigeyoshi MIGUCHI

* Seitoku Junior College of Nutrition, Katsushika-ku, Tokyo 124-8530

The post-harvest lignification of asparagus was investigated. Spears of asparagus 1 day after harvesting were stored at 15-23°C. Immediately, 3, 7 days after storage, the samples were analyzed for their lignin content, histochemical color reactions were observed and taste tests were carried out. The content of lignin after 7 days of storage was more than twice that of the unstored control sample, even when weight loss during storage was considered. Four kinds of histochemical color reactions indicated the cell wall lignin of asparagus to be of the guaiacyl-syringyl type for sclerenchyma, bundle sheath and pith parenchyma, and of the guaiacyl type for all other tissues. Lignin deposition on the vessel and sclerenchyma cell walls was detected from the beginning of storage, while deposition occurred on the other tissues in the latter half of storage. The analytical and taste test results clearly show that lignification proceeded from the lower to the upper part of a spear.

(Received June 27, 1997; Accepted in revised form December 15, 1997)

Keywords: lignin リグニン, asparagus アスパラガス, leaf and stem vegetables 葉茎菜類, preservation 保存, lignification 木化, histochemistry 組織化学.

1. 緒 言

リグニンはセルロース, ヘミセルロースなど高等植物の細胞壁構成成分の補強材として重要な成分ではあるが, 収穫適期を逸した野菜類の粗剛化は可食部組織細胞壁へのリグニンの集積が主たる要因であることはよく知られている.

このような木化 (lignification) 現象は, 野菜類収穫後の流通, 貯蔵, および加工, 調理などの分野で取り上げられ, 村上と竹山¹⁾はダイコン, ニンジンなど5種の野菜について, 切断によるリグニン含量の増加を検証し, ニンジンに関してはその後, 剥皮やスティック状加工に起因する木化とそれに伴う表面の退色現象が明らかにされ, その防止策としての蒸気処理, アルカリや酸の温液処理などが提案されている²⁻⁴⁾. アスパラガスに関しては店頭陳列棚と同一条件下での保蔵でラップフィルムの孔の有無や多少と重量減耗率, テ

クスチャーおよびリグニン含量など品質変動要因の比較⁵⁾や, 収穫後のアスパラガス若茎のN-ホスホノメチルグリシン処理による木化抑制策の提案⁶⁾などがある.

しかし上記の諸研究では野菜類収穫後の木化を化学分析によるリグニン含量の増加として捉えているが, リグニンの種類, 組織内分布など木化に伴う組織化学的变化については明らかにされていない.

一般に, リグニンは複雑な高分子化合物として知られ, リグニン分子を構成するモノマーの基本骨格をフェニルプロパンと見れば^{7, 8)}, その芳香核の構造から①グアイアシルプロパン, ②シリングルプロパン, ③p-ヒドロキシフェニルプロパンの3種に分類され⁹⁾, シダ植物や裸子植物のリグニンは主として①から, 被子植物では①と②から, さらに被子植物でも単子葉類のイネ科植物のそれは①, ②, ③の共重合体にp-

クマール酸がエステル結合したタイプで構成されていることなど^{8, 10, 11}, リグニンの種類別分布に関する植物分類学的類縁関係も次第に明らかにされている。

さらに、同一植物体の器官によるリグニンの種類の違いや¹² 病害、傷害、ストレスなどで新生したリグニンが健全組織のそれと異なる例なども^{13, 14} 報告されている。

この研究では野菜類の収穫後の木化現象解明の一端として、収穫後のアスパラガス若茎を室温貯蔵し、貯蔵に伴うリグニン含量の変化をコロイド滴定法で測定し、リグニンの種類別組織内分布と貯蔵中の変化を組織化学的手法を用いて観察した。

2. 実験材料と方法

(1) 試 料

供試アスパラガスは長野県飯山市産、品種はウエルカム種、収穫は1996年5月14日午後3時、産地出荷規格によるA, B, C級のうちAおよびB級に該当する試料を選び急送し、翌日午前中、さらに次の基準により選別区分し、分析、検鏡および食味テスト用各1組を用意した。

規格A：長さ26 cm、切り口径13~17 mm、6本で重量 200 ± 10 g。

規格B：長さ26 cm、切り口径7~10 mm、20~24本で重量 200 ± 10 g。

(2) 貯 蔵

試料の貯蔵は18×35 cm、厚さ0.3 mmのビニール袋に切り口を下に束ねないで緩やかに収め、開封のままビニール籠に立てて入れ、温度15~23℃、湿度80~91%の室内で貯蔵した。貯蔵期間による試料の区分と記号は次のとおりである。

A0, B0：対照群（収穫1日後）のA, B級試料。

A3, B3：貯蔵3日群（収穫4日後）のA, B級試料。

A7, B7：貯蔵7日群（収穫8日後）のA, B級試料。

(3) リグニンの定量法

木材リグニンの定量には、72%硫酸に不溶な有機物をリグニンとするクラソン法が標準的な定量法とされているが、草本類にはそのままでは適用できないため、野菜類や飼料作物などのリグニン定量法としてアセチルブロマイド¹⁵、ジオキサン¹⁶、アルカリ¹⁷などによるリグニンの抽出と紫外域での吸収を利用する分光学的測定法が採用されている。

しかし、ここではやや複雑ではあるが細胞壁リグニンの定量的抽出が確実なコロイド滴定法^{17, 18}を採用した。

1) 粗細胞壁試料の調製（試料の前処理）

コロイド滴定を妨害する物質には、タンパク質、ペクチン、タンニンなどがあり脱水、脱脂処理とともにこれらの物質除去のための前処理が必要である。

i) アルコール不溶固形物の調製：分析試料は全形のまま貯蔵による重量減耗率を測定したのち上半部、下半部に分割し、常法によりアルコール不溶性固形物(AIS)を調製した。特に最終段階での無水エタノールおよびジエチルエーテル処理は十分に行った。

ii) ペクチン質の抽出除去¹⁹：0.5%シュウ酸アンモニウム溶液で試料生鮮重3倍量での90℃、3時間抽出を2回反復した。

iii) 除タンパク²⁰：ペプシン（Sigma Chem. Co., 475 units/mg）を1/10 N 塩酸に0.1%加えた溶液をAIS 1,000 mgあたり400 ml加え、37℃、24時間の処理を行った。

2) リグニンの抽出

i) 塩 素 化：粗細胞壁試料400~500 mgをとり乾燥精秤し、15%次亜塩素酸ナトリウム液15 mlを氷酢酸3 mlを加え、40℃、40分処理後、濾過洗浄した。

ii) 抽 出：3%亜硫酸ナトリウムと8%炭酸ナトリウム1:3の混合液20 mlを加え、約100℃、20分、湯煎で加熱し、リグニンをスルホン化して可溶化した後、蒸留水約70 mlを加えてさらに20分加熱後、濾過洗浄し、濾液は100 mlにメスアップした。

3) 滴 定

この滴定法は、濾液中の塩化リグノスルホン酸は酸性コロイドで塩基性コロイドのメチルグリコールキトサン（以下MGch）と定量的に結合沈殿する性質のあることを利用したものである。この研究では上の濾液20 mlをとり、アルカリ性にし、（希アンモニア水1 ml, pH>10）これに1/200 N MGch 5 mlを加え反応させ、過剰のMGchを1/400 N ポリビニル硫酸カリウムで逆滴定し空実験値と逆滴定値との差をリグニン値とした。指示薬には0.1%トルイジンブルーを使用し、両規定液は和光純薬社製を用いた。

4) 酸不溶性リグニン（クラソンリグニン）の定量

コロイド滴定値の重量パーセント換算係数を得るため草本類のためのAOAC改良法²¹により粗細胞壁試料の酸不溶性リグニンを測定した。

なお、分析操作の進め方は、分析用全形試料各区約300 gについて、粗細胞壁試料調製までは各区分ごとに一括処理し、以後のリグニン定量操作は各区の粗細胞壁試料から2検体ずつを分取して実施し、その平均

アスパラガスにおけるリグニンの含量、組織内分布および組織化学的性状の貯蔵中の変化

滴定値に重量換算係数を乗じて貯蔵終了時の試料重あたりのmg%値を算出した。

また、重量換算係数は、リグニン含量の多いA7-LとB7-L区の粗細胞壁試料の等量混合物を調製して分析試料とし、各2検体ずつ分取し、コロイド滴定法の滴定値と、クラソンリグニンの定量値を求めそれぞれの平均値から算定した。また、データの統計処理は三元配置法（反復測定なし）による分散分析法によった。

(4) 組織化学的手法

1) 試料の採取と固定、薄切

検鏡用試料は、上下に二分した若茎のそれぞれの下部の5 mm厚さを切り捨てた後、厚さ5 mmの輪切り試料を採取し、10%中性ホルマリンで5℃で24時間以上固定し、ザルトリュース型ミクロトームと電子凍結装置で厚さ40 μmの横断氷結切片を調製した。

2) 呈色反応

組織中のリグニン分子を構成するフェニルプロパンのうちグアイアシルプロパン側鎖のアルデヒド（コニフェリルアルデヒド）の検出反応としてシッフ反応とウイスナー試薬による反応を用い、シリリング基の検出にはモイレ反応とクロス・ピバン反応を用いた。

i) シッフ試薬による反応：常法によるシッフ試薬反応と0.5%アルシャンブルー（pH 1.0）による対比染色。ただし、シッフ試薬の鋭敏度は亜硫酸および強酸（硫酸）の濃度に大きく影響されるので²²、調製時に過剰な亜硫酸を減圧脱気で追い出すとともに保存中の酸化による硫酸の増加防止のため、液面をケロシンで被覆して冷暗所に保存する手段を講じた。

ii) ウイスナー試薬による反応：この試薬処方フロログルシンを95%エタノールに2%濃度に溶かしたもの1容に50%硫酸1容を使用直前に加える変法²³（原法は濃塩酸を使用）によった。標本に保存性なくスライド上の切片に試薬を滴下してカバーガラスをかけ、ただちに観察する必要がある。

iii) モイレ反応：この反応も切片が傷みやすいのでスライドガラス上に切片を載せたまま操作する。1%過マンガン酸カリウム5分処理後水洗し、約12%塩酸で5分処理水洗し、最後にアンモニア水（約14%）を滴下してそのまま封入した。

iv) クロス・ピバン反応：50 ml入り三角フラスコ中の約30 mlの蒸留水に切片を浮かべ塩素ガスを吹き込み、40分静置して塩素化した後、10%亜硫酸ナトリウム液で封入した。

以上の呈色反応は主として木材化学の分野で材種の

識別などに利用されてきたテクニックで具体的な手法が明確でない点もあったので、草本植物の組織レベルでの観察に適用できるようにアレンジした。しかし、シッフ試薬反応以外の反応は標本の保存性が悪いので標本作製後ただちに観察し、写真撮影した。

(5) 食味テスト

官能による硬軟度判定を主眼とした食味テストを対照群、貯蔵3日群および7日群の試料について実施した。試料は下から2 cmずつ輪切りにし、沸騰水中で5分間ボイルした後急冷したものの食味を、次の評価尺度と表現用語を用いて実施した。

ただし、若茎先端20~26 cmは評価の対象から除外した。

+++ (3)：軟らかく味がよい、++ (2)：やや筋っぽいが味はよい、+ (1)：筋っぽく、かなり硬く味もおとる、- (0)：たいへん筋っぽく硬く食べられない。

パネラーはこの研究のメンバー1名と主婦2名計3名であった。

3. 実験結果と考察

(1) 分析結果

アスパラガス収穫後の木化現象は、成分組成の観点からはリグニン含量と粗細胞壁試料収率の増加、および両者の比率の変化などで表現できると考え、分析結果を整理して表示したのがTable 1である。この表では、リグニン含量と粗細胞壁試料の収率は貯蔵終了時の試料重に対する比率で示したが、貯蔵中の重量減耗（2.01~7.90%）を考慮して貯蔵開始時全形試料重（上下に分割しない）に対する比率も表示した。上の3種のデータについて、貯蔵期間（0, 3, 7）、市場規格（A, B）、および若茎の上半部と下半部（U, L）、を要因とする分散分析結果をTable 2に示した。

1) 貯蔵中のリグニン含量の変化

この研究は木化抑制が目的でなく、貯蔵条件は小売店の店頭環境に近く、木化の進行はかなり急速で貯蔵による重量の減耗を算入しても貯蔵7日後試料のリグニン含量はAおよびB級とも対照群試料の2倍以上に達し期間要因の分散比は高度に有意であった（ $p < 0.01$ 、以下 p はTable 2における有意水準を示す）。また規格要因のA級とB級試料間にも一貫したリグニン含量の較差が認められ、分散比は高度に有意であった。

さらに若茎リグニン含量の上下差は貯蔵期間の経過とともに減少する傾向を示すことはAおよびB級試

Table 1. Changes in the lignin content of asparagus spears during storage

Sample	Lignin ^{*1}		Yield of crude cell wall preparation		Lignin/crude cell wall preparation
	(mg%) ^{*2}	(mg%) ^{*3}	(%) ^{*4}	(%) ^{*5}	(%) ^{*6}
A0-U ^{*7}	18.2		0.95		1.92
A0-L	35.9		1.31		2.74
A0		29.1		1.09	
A3-U	18.9		0.92		2.05
A3-L	61.3		1.58		3.88
A3		43.6		1.26	
A7-U	60.7		1.06		5.73
A7-L	77.4		1.58		4.90
A7		67.2		1.28	
B0-U	32.7		1.03		3.17
B0-L	47.7		1.97		2.42
B0		41.2		1.54	
B3-U	46.0		1.29		3.57
B3-L	76.3		2.32		3.29
B3		61.2		1.78	
B7-U	93.3		1.65		5.65
B7-L	99.4		2.75		3.61
B7		88.3		2.13	

*1: The back titration value with an 1/400 N potassium polyvinyl sulfate solution was converted by using the Klason lignin value (1 ml=0.54 mg). *2: mg or g/100 g of raw sample at the end of storage. *3: mg or g/100 g of raw sample converted to a full-size sample weight at the start of storage. *4: g/100 g of dry crude cell wall preparation. *5: A and B: market grade based on the cut end diameter of the spear; 0, 3, 7, No. of days stored; U, upper half of spear; L, lower half of spear.

料に共通であったが、分散分析で上下差の有意性が否定されるほどには達しなかった。

2) 貯蔵中の粗細胞壁試料収率の変化

Table 2 に示されているように粗細胞壁試料収率は貯蔵中有意に増加し ($0.01 < p < 0.05$) 市場等級間および若茎上下間の較差は、さらに高度に有意であった ($p < 0.01$)。

本研究の前処理にはデンプン除去の操作は含まれていないが、あらかじめ組織検査でその必要のないことを確かめており、本研究の粗細胞壁試料の主要成分はセルコース、ヘミセルコースおよびリグニンであるが、リグニンは重量組成比で粗細胞壁試料の数パーセントの水準であり、粗細胞壁試料収率の変化はセルコース、ヘミセルコースなどの細胞壁多糖類分画の変化を反映しているものと推測された。

3) 粗細胞壁試料収率とリグニン含量との比率の貯蔵中の変化

この比率も貯蔵期間中有意に増加した ($0.01 < p$

< 0.05)。このことはセルコース、ヘミセルコースの増加より、リグニンの増加が急ピッチで進行していることを示すものであろうと推測された。

なお、市場等級間と若茎上下間のデータには一定の傾向の違いがなく、したがって両要因の分散比に有意性は認められず、両要因の交互作用の分散比だけが有意であった (Table 2)。

一般に高等植物の細胞壁は骨材成分ともいべきセルコースとヘミセルコース、ペクチンなどのマトリックス多糖類が主成分であり、リグニンは二次壁や細胞間のラメラに沈着して細胞壁を結着補強し強靱性を強め、道管壁のライニングの役割も果たすとされている。

したがって木化の進行にはリグニンとセルコース、ヘミセルコースなどの分画の増加が並行して進むものと考えられ、アスパラガスの木化に関する組織学的観察でも Smith 等²⁾ は走査型電子顕微鏡と蛍光顕微鏡による観察結果から木化の進行に際し、細胞壁の肥厚とリグニンの集積が並行して進行することを確認している。

アスパラガスにおけるリグニンの含量, 組織内分布および組織化学的性状の貯蔵中の変化

Table 2. Results of a three-way analysis of variance (ANOVA) for the data of Table 1

Variance factor	SS	DF	MS	Fs
Lignin				
(1) Among storage days	2,316.11	2	1,158.06	304.0 **
(2) Between market grades	683.13	1	683.13	179.3 **
(3) Between upper half and lower half of spear	606.06	1	606.06	159.1 **
(1)×(2)	127.85	2	63.93	16.8
(1)×(3)	90.06	2	45.03	11.8
(2)×(3)	8.73	1	8.73	2.3
VE	7.61	2	3.81	
Crude cell wall preparation				
(1) Among storage days	1.80	2	0.90	30.0 *
(2) Between market grades	5.15	1	5.15	171.7 **
(3) Between upper half and lower half of spear	9.87	1	9.87	329.0 **
(1)×(2)	0.44	2	0.22	7.3
(1)×(3)	0.07	2	0.04	1.3
(2)×(3)	0.67	1	0.67	22.3 *
VE	0.06	2	0.03	
Lignin/crude cell wall preparation				
(1) Among storage days	28.41	2	14.21	64.6 *
(2) Between market grades	0.20	1	0.20	<1
(3) Between upper half and lower half of spear	0.07	1	0.07	<1
(1)×(2)	2.25	2	1.13	5.1
(1)×(3)	5.45	2	2.73	12.4
(2)×(3)	5.59	1	5.59	25.4 *
VE	0.43	2	0.22	

SS, sum of squares; DF, degrees of freedom; MS, mean square deviation; Fs, variance ratio; VE, residual. *Significance ($p < 5\%$). **Significance ($p < 1\%$).

(2) 呈色反応と貯蔵中の変化

A および B ランク試料の貯蔵区分 0, 3, 7 のそれぞれの上半部 (U), 下半部 (L) の下端横断切片について 4 種類の組織化学的呈色反応を比較したが, 貯蔵中の変化をよく表現していたのは A および B 級試料 0-L, 3-L, 7-L の標本であり, その呈色反応の観察結果をまとめたのが Table 3 である. なお A, B 級試料間の呈色反応の差異は見出せなかった.

1) シッフ試薬およびウイスナー試薬による反応

このうちウイスナー試薬による反応は前述のようにリグニンのグアイアシルプロパンのコニフェリルアルデヒド構造と, フロログルシンとの酸触媒による発色であり^{9,125}, グアイアシルプロパンを骨格とするグアイアシルリグニンは植物界での分布が最も広いので, この反応はリグニンの代表的な検出反応となっている.

シッフ試薬反応はアルデヒド基の検出反応として広く医学, 生物学分野で用いられ, リグニンの検出にも早くから用いられ, 植物病理学分野では鈴木²⁶がリグニンの同定に欠くことのできない反応の一つに挙げている. なお, アスパラガスでは, 表皮組織外側のクチクラがシッフ反応陽性であるがリグニンの存在を示す反応ではない.

また, 両反応はクチクラに対するシッフ試薬反応以外はよく一致したがウイスナー試薬反応のほうが呈色性が弱く退色しやすい弱点があった.

i) 対照試料群 (0-L) における反応: Fig. 1-6, Table 3 に見られるように 0-L では基本組織系の厚壁組織細胞壁と維管束系の道管要素壁にかなり強い陽性反応が見られ, 同じ試料の上半部標本では原生木部道管要素壁には明確な陽性反応が認められたが (Fig. 1-8),

Table 3. Response of asparagus spear butt tissue to different histochemical color reaction for lignin, and changes due to storage of the samples

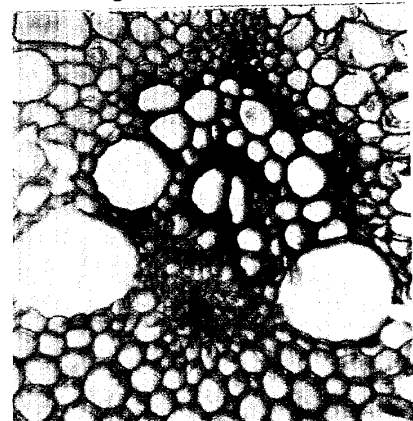
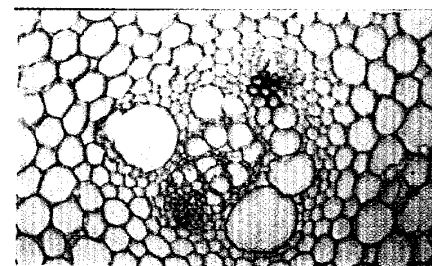
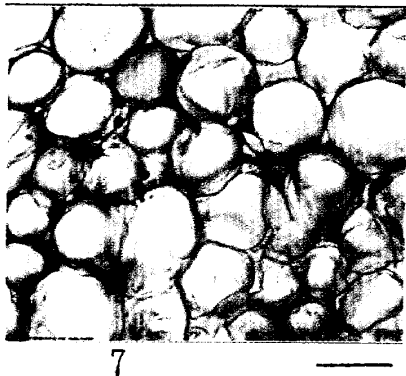
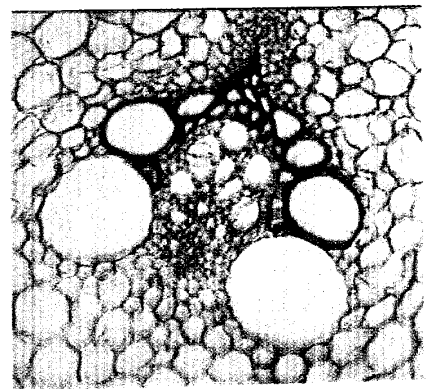
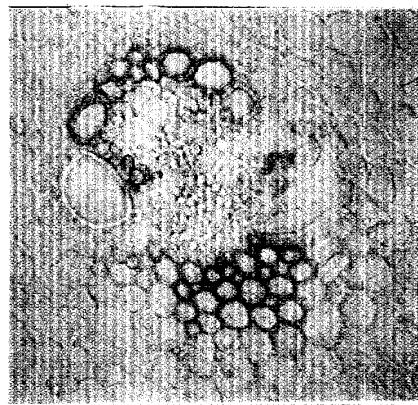
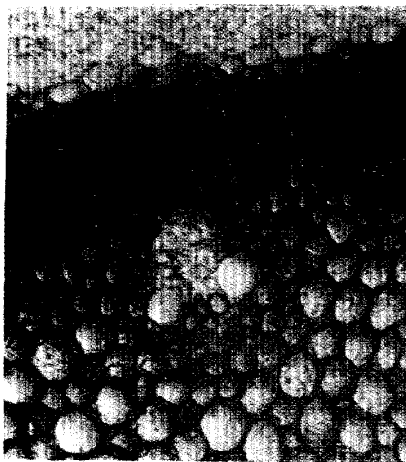
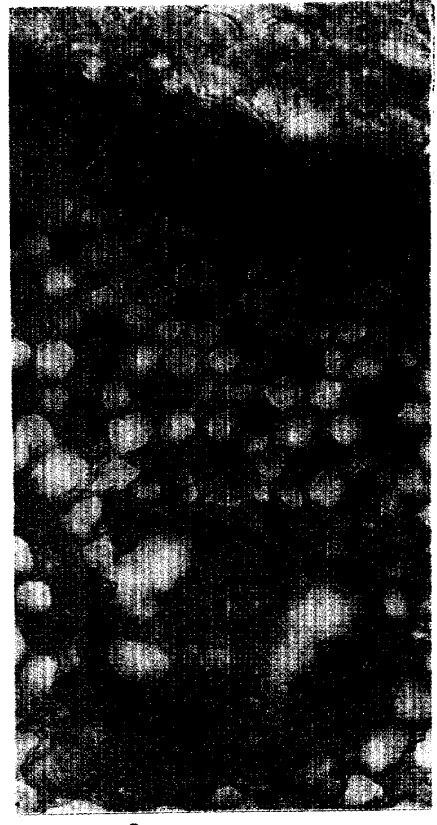
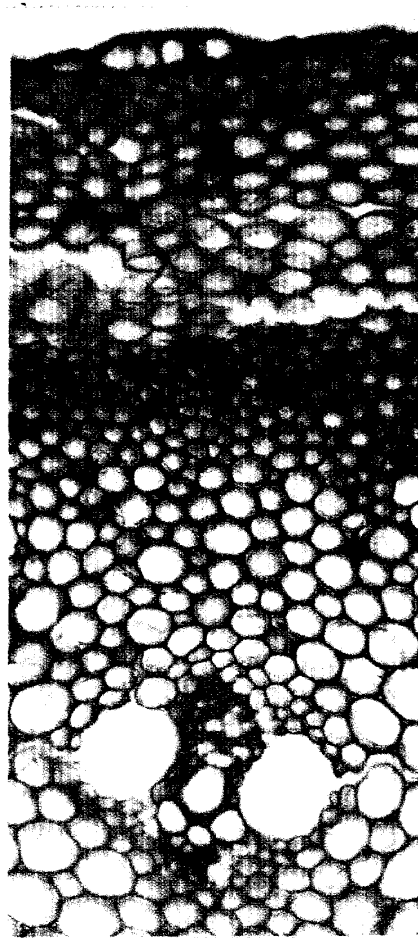
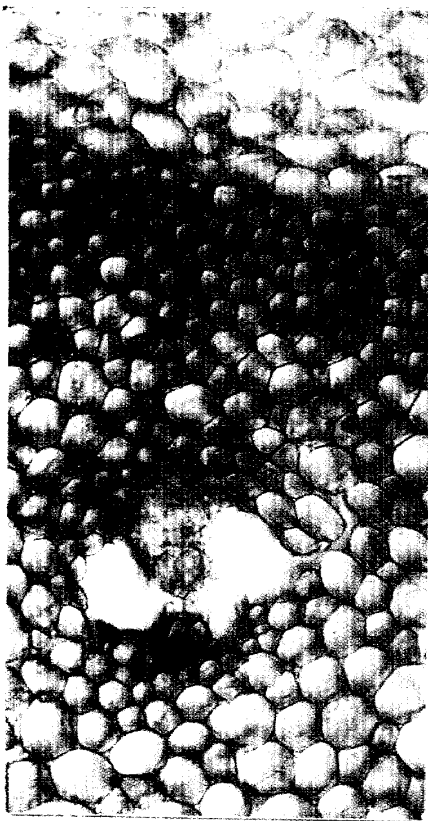
Tissue		Storage time for sample spear (days)					
		0		3		7	
Epidermis	Cuticle	S++	W-	S++	W-	S++	W-
		m-	c-	m-	c-	m-	c-
	Epidermal cell	S-	W-	S-	W-	S-	W-
		m-	c-	m-	c-	m-	c-
Cortex parenchyma		S-	W-	S+	W+	S++	W+
		m-	c-	m-	c-	m-	c-
Sclerenchyma (mechanical tissue)		S++	W++	S+++	W+++	S+++	W+++
		m++	c+	m+++	c++	m+++	c++
Pith parenchyma		S-	W-	S+	W-	S++	W+
		m-	c-	m-	c-	m+	c+
Bundle sheath		S-	W-	S++	W++	S++	W++
		m-	c-	m++	c+	m++	c+
Xylem vessel		S++	W++	S+++	W+++	S+++	W+++
		m-	c-	m-	c-	m-	c-
Phloem		S-	W-	S+	W+	S++	W++
		m-	c-	m-	c-	m-	c-
Xylem parenchyma and xylem fiber tissue		S-	W-	S+	W+	S++	W++
		m-	c-	m-	c-	m-	c-

S, Schiff reagent reaction; W, Wiesner reagent reaction; m, Mäule reaction; c, Cross-Bevan reaction; - to + + +, strength of color reaction at cell wall; : , positive granular or colloidal color reaction substance at inner or outer cell wall.

Fig. 1. Photomicrographs showing the inner tissue distribution of lignin in asparagus spears by using butt end tissue transections and different histochemical color reactions

0, 3, 7, No. of storage days; A and B, market grade; U and L, upper half and lower half of spear. (1) A section of A0-L, stained with the Wiesner reagent, showing the distribution of guaiacyl-type lignin. The sclerenchyma cell walls and vessel element walls were positive. (2) A section of A7-L, stained with the Schiff reagent, showing the distribution of guaiacyl-type lignin. Positive reaction at the sclerenchyma cell walls, vessel element walls, cortex parenchyma cell walls and cuticle were detected, although a positive reaction of the cuticle is not a specific reaction to lignin. (3) A section of B7-L, treated by the Mäule reaction, showing a syringyl-type lignin distribution. Sclerenchyma cell walls were positive, and strongly positive angular-type cells were detected in the sclerenchyma. However, the vessel element walls were negative. (4) A section of A3-L, treated by the Mäule reaction, sclerenchyma cell walls were positive and became sclerified, but all vascular bundle tissue cell walls were negative. (5) A section of B7-L, treated by the Mäule reaction, showing the localization of syringyl-type lignin. All vascular bundle tissue cell walls were negative, but the bundle sheath cell walls were changed to positive. (6) In the vascular bundle in the butt tissue of A0-L, a positive response to the Schiff reaction was detected only in the vessel element walls. (7) In the pith parenchyma tissue of A7-L, the Schiff reaction was positive and a granular substance was detected among the tissue cells. (8) In the young vascular bundle, a positive reaction to the Schiff reagent for A0-U occurred only at the protoxylem vessel element wall. (9) In the butt tissue of A7-L for the vascular bundle with progressive lignification, the majority of cell walls within the vascular bundle such as the vessel, sieve tube and parenchyma were positive to the Schiff reagent, the cell walls of the bundle sheath also became positive, and a colloidal positive substance was observed among the parenchyma cells and inside the vessel elements. Bars: 100 μ m.

アスパラガスにおけるリグニンの含量，組織内分布および組織化学的性状の貯蔵中の変化



厚壁組織細胞壁には極めて弱い反応が見られるだけであった。

ii) 貯蔵3日および7日後試料 (3-L, 7-L) における反応: 貯蔵の進行に伴い次のようなリグニンの組織内分布の変化を示す呈色反応の変化が見られた。

a) 木部, 師部, 厚壁組織および髄部柔組織: 木化が進行し, 維管束内部の木部要素, 師部要素壁の大部分は両呈色反応とも陽性化し, 維管束内部の細胞間や道管要素内, などにコロイド状陽性物質も見られた (Fig. 1-9)。基本組織系組織では厚壁組織細胞壁へのリグニン沈着と厚壁化が進み, 対照群試料 (0-L) ではリグニン反応陰性であった髄部柔組織細胞壁も, 両反応とも陽性化し, 細胞間に顆粒状のリグニン反応陽性物質も見られた (Fig. 1-2, 1-7, Table 3)。

b) 維管束鞘: 対照群試料の細胞壁は陰性であったが3日, 7日後試料では次第に陽性化した (Fig. 1-6では陰性, Fig. 1-9では陽性)。

c) 皮層柔組織: 対照群試料の標本 (0-L) では両反応とも陰性であったが, 貯蔵3, 7日後試料の標本には細胞壁の陽性化が見られ, 細胞間にコロイド状陽性物質も出現した (Fig. 1-2)。

2) モイレ反応およびクロス・ビバン反応

モイレ反応はリグニン中のシリングル基の存在を示す反応で, 過マンガン酸カリウム処理とそれに続く塩酸処理でシリングル基から生成したメトキシ-O-カテコールが, 次のアンモニア処理でメトキシ-O-キノン構造となり, 赤色を呈することが解明されている。木材化学分野ではグアイアシル型リグニンをもつ針葉樹とグアイアシル・シリングル型リグニンをもつ広葉樹材との識別に利用されてきた。

被子植物の単子葉類ユリ科に属するアスパラガスのリグニンについては当初, すべての組織細胞壁リグニンがグアイアシル・シリングル型であろうと推定したが, 今回の組織レベルでの観察では予想に反し, いずれの標本でも厚壁組織細胞壁はモイレ反応強陽性 (赤) を示すが道管要素壁など維管束系組織の細胞壁は陰性 (黄) であった (Fig. 1-3~1-5)。

また, 境界柔組織である維管束鞘は, 貯蔵後半に至ってシッフ試薬反応, ウィスナー試薬反応が陽性化すると同時にモイレ反応も陽性化し, (Fig. 1-5), これら組織のリグニンは厚壁組織細胞壁リグニンと共に, グアイアシル・シリングル型であることを示し, 髄部柔組織細胞壁も同様な経過をたどった (Table 3)。

なお, 3-L, 7-L などの標本では厚壁細胞に高度木

化や高度の異形化も見られた (Fig. 1-2~1-4)。他方, 皮層柔組織に貯蔵中に生成したリグニンは, すべてモイレ反応陰性であった。さらに維管束や髄の細胞間に, 貯蔵中生成したコロイド状や顆粒状の物質もすべてモイレ反応陰性で, これらの物質をリグニンと見なして類別すれば, 維管束リグニン, 皮層柔組織リグニンとともにグアイアシル型リグニンに属するものと推定された。また, 内皮や表皮細胞の細胞壁にはリグニンの分布は認められなかった。

同一植物体内で異なったタイプのリグニンが分布する例は佐藤等¹²がナンキンマメの莢実の殻が木化が進んでも茎, 葉, 根などの他の器官と違ってモイレ反応が陰性という事実から, 器官別試料をアルカリ性ニトロベンゼンによる酸化処理後, 生成するバニリン (V) とシリングアルデヒド (S) との量比 S/V をガスクロマトグラフ分析で求め, モイレ反応の結果を裏付ける知見を得ている。

クロス・ビバン反応もシリングル基の検出反応であるが, 反応の理論はモイレ反応とは異なり, シリングル基の塩素化で生じた2,6-ジクロロピロガロールが亜硫酸ナトリウム処理で赤く発色するのであり, 切片に対する呈色性はモイレ反応と同一で, 切片の傷みも少ないが呈色が弱く不安定であった。

正常な植物体内部の組織レベル (器官別ではなく) のリグニンの種類別分布に関する知見は少ないが, 植物病理学分野の研究で Asada¹³⁾ がベト病感染ダイコンの健病両組織の顕微分光特性 (UV spectra) と, 前述のアルカリ性ニトロベンゼン酸化法による分解物から, 健全組織に最初から沈着していたリグニンはシリングル骨格をもち, 病態組織に新生するリグニンはグアイアシル骨格をもつことを推定した。

筆者等の観察結果も収穫後の木化現象の組織化学的性状の一端を示すもので, 正常な成長, 成熟過程での木化とは異なった内容も含まれていることは明らかであるが, 前述のように組織レベルで2種類のリグニンが異なった分布を示しているのは, 収穫後の木化現象に起因するのか, あるいは種の特性なのか別途確認を要する課題である。

(3) 食味テスト

食味テストの結果を集計表示したのが Fig. 2 であり A および B 級とも評価の高い評点3の部分は下部から上部へと貯蔵期間が進むにつれて上昇し, A7では下から10 cm, B7では12 cm まで上昇した。

リグニン分析値の上下差が貯蔵の進行につれて減少

アスパラガスにおけるリグニンの含量，組織内分布および組織化学的性状の貯蔵中の変化

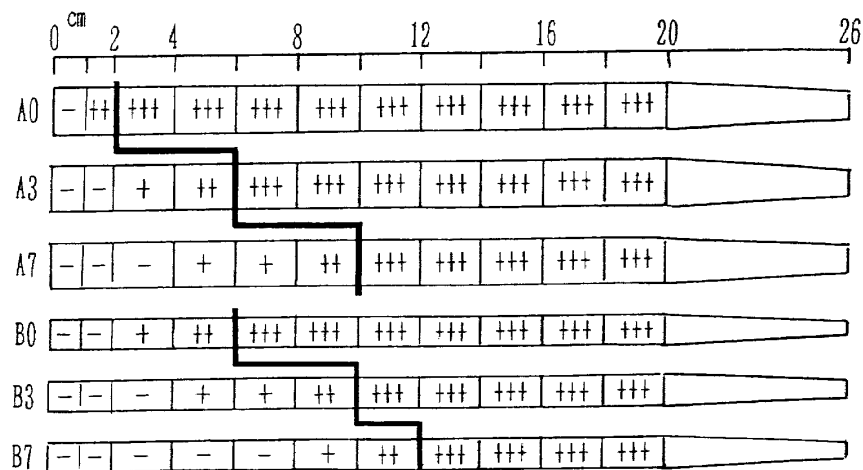


Fig. 2. Results of the taste test on stored asparagus spears

+++ , soft and good in taste; ++ , somewhat fibrous but good in taste; + , fibrous, fairly tough and poor in taste; - , very fibrous, tough and not edible. A0, A3, A7, B0, B3, and B7 are the same as those defined in Table 1. The top of the spear (20-26 cm) means the outside of the asparagus spear being evaluated.

する傾向と考え併せ，アスパラガス若茎の木化は下部から上部へと進行することを示すものと推定された。

4. 要 約

アスパラガスにおける収穫後の木化現象について調べた。市場規格 A および B 級に該当する収穫 1 日後のアスパラガス若茎を 15~23℃の室温で貯蔵し，0，3，7 日後の試料についてリグニン含量の分析，組織化学的呈色反応，および食味テストを実施した。

貯蔵 7 日後試料のリグニン含量は貯蔵による試料重量減耗を考慮しても対照群試料の 2 倍以上に達し，また A および B 級試料間のリグニン含量は全試験区間を通じ B 級のほうが高かった。

4 種の組織化学的呈色反応の観察結果から，厚壁組織，維管束鞘，および髄部柔組織の細胞壁リグニンの種類はグアイアシル・シリリングル型，維管束系組織など，その他の組織のそれはすべてグアイアシル型と推定された。また，道管と厚壁組織細胞壁へのリグニン沈着は貯蔵開始時から，その他の組織細胞壁への沈着は貯蔵期間後半になって検出された。また，細胞間に貯蔵後半に生成したコロイド状または，顆粒状のリグニン様物質はすべてグアイアシル型であった。

アスパラガス若茎の貯蔵による木化が，若茎下部から上へと進行することは，リグニンの分析値と食味テストの結果から明らかであった。

この研究の実験材料選定調達にご協力くださった長野県飯山市の今井喜久江さんに厚く謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) 村上浩紀，竹山祥子：切断による蔬菜可食部リグニンの増加，*栄養と食糧*，**31**，91-94 (1978)
- 2) Bollin, H.R., and Huxsoll, C.C.: Control of Minimally Processed Carrot (*Daucus carota*) Surface Discoloration Caused by Abrasion Peeling, *J. Food Sci.*, **56**, 416-418 (1991)
- 3) Howard, L.R., and Griffin, L.E.: Lignin Formation and Surface Discoloration of Minimally Processed Carrot Sticks, *J. Food Sci.*, **58**, 1065-1067 (1993)
- 4) Howard, L.R., Griffin, L.E., and Lee, Y.: Steam Treatment of Minimally Processed Carrot Sticks to Control Surface Discoloration, *Food Sci.*, **59**, 356-358 (1994)
- 5) Everson, H.P., Waldron, K.W., Geeson, J.D., and Brown, K.M.: Effects of Modified Atmospheres on Textural and Cell Wall Changes of Asparagus during Shelf-Life, *J. Food Sci. Technol.*, **27**, 187-199 (1992)
- 6) Saltveit, M.E., Jr.: Postharvest Glyphosate Application Reduces Toughening, Fiber Content and Lignification of Stored Asparagus Spears, *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **113**, 569-572 (1988)
- 7) 川崎敏男，西岡五夫：『天然薬化学』，広川書店，東京，102-112 (1986)
- 8) 中野準三：『リグニンの化学—基礎と応用』，ユニ出版，東京，20-36 (1990)

- 9) 城代 進, 鮫島一彦:『木材科学講座 4 化学』, 海青社, 大津, 53-62 (1993)
- 10) 林 孝三:『植物色素』, 養賢堂, 東京, 388 (1991)
- 11) 樋口隆昌: リグニンの生合成—植物の進化と関連して—, 化学と生物, **13**, 206-214 (1975)
- 12) 佐藤 惺, 西尾康三, 北村晃子: ナンキンマメ (*Arachis hypogaea* L.) リグニンのシリングアルデヒドとバニリンの量比 (S/V 値) について, 農化, **46**, 603-605 (1972)
- 13) Asada, Y.: Lignin Formation in Japanese Radish Root Injected by *Peronospora parasitica*, *Mem. Coll. Agr., Ehime Univ.*, **19**, 169-183 (1974)
- 14) Matsumoto, I., Ohguchi, T., Inoue, M., and Asada, Y.: Lignin Induction in Root of Japanese Radish by an Homogenate of Downy Mildew-Infected Root Tissue, *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, **44**, 22-27 (1978)
- 15) Morrison, I.M.: A Semimicro Method for the Determination of Lignin and Its Use in Predicting the Digestibility of Forage Crops, *J. Food Agric.*, **23**, 455-463 (1972)
- 16) Asada, Y., and Matsumoto, I.: Formation of Lignin in the Root Tissues of Japanese Radish Affected by *Alternaria Japonica*, *Phytopathology*, **57**, 1339-1343 (1967)
- 17) 千手諒一, 中村公則, 江原 薫: コロイド滴定による草本類のリグニン定量, 九州作物談話会報, **9**, 51-56 (1956)
- 18) 千手諒一:『コロイド滴定法』, 南江堂, 東京, 72-83 (1969)
- 19) 中林敏郎, 鷺山裕厚: 茶葉ペクチンの研究 (其の1) 茶葉ペクチンの定量法の検討, 農化, **30**, 402-405 (1956)
- 20) Hellendoorn, E.W., Noordhoff, M.G., and Slagman, J.: Enzymatic Determination of the Indigestible Residue (Dietary Fiber) Content of Human Food, *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1461-1468 (1975)
- 21) Ellis, G.H.: Report on Lignin and Cellulose in Plants, *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, **32**, 287-291 (1949)
- 22) 箕口重義: Schiff 試薬に関する研究, 医学と生物学, **64**, 95-101 (1962)
- 23) Kneebone, W.R.: A Simple, Rapid, Precise Staining Procedure for Identification of Lignified Tissue in Grasses, *Crop Sci.*, **2**, 268 (1962)
- 24) Smith, J.L., Stanley, D.W., and Baker, K.W.: Nonenzymatic Lignification of Asparagus, *J. Texture Stud.*, **18**, 339-358 (1988)
- 25) 日本木材学会:『木材化学実験書 II 化学編』, 内外産業調査会, 東京, 154-159 (1989)
- 26) 鈴木直治: 甘藷紫紋羽病に関する研究, 農技研報, **C 8**, 1-173 (1956)