サトイモ粘質物および多糖画分の性状 石々川英樹 中川建也

Characterization of taro mucilage and polysaccharid

ISHIISHIKAWA Hideki and NAKAGAWA Tatsuya

要旨

愛媛県が育成した 2 品種のサトイモ、'愛媛農試 V2 号'および'媛かぐや'の水溶性高分子成分をゲルろ過クロマトにより分子サイズで分画し、多糖およびタンパク質成分と粘度との関連を調査した結果、サトイモの粘り成分は多糖のアラビノガラクタンと考えられ、その含量は粘りの強い品種'愛媛農試 V2 号'で多く、粘りの弱い'媛かぐや'で少なかった.

サトイモを沸騰水中で加熱した後に行った同様の分析から、2品種ともアラビノガラクタン含量に変化は認められなかったが、タンパク質濃度は 1/4 以下となった. 加熱後においてもアラビノガラクタンの粘性に変化は認められず、加熱前後あるいは両品種に含まれるアラビノガラクタンの分子量はほぼ同じと推定された.

キーワード: サトイモ, 愛媛農試 V2 号, 媛かぐや, アラビノガラクタン, 粘性, ゲルろ過クロマト

1. 緒言

愛媛県における、2012 年のサトイモ生産量は 6400 トンで全国第 8 位に位置している (農林水産省野菜生産出荷統計). 県東部の四国中央市は, 県内生産量の 1/2 以上を占める主産地であるほか, 県南部の大洲市での生産量も多く, 京阪市場向けの重要な品目であるとともに, 郷土料理の「いも炊き」に欠かせない食材として県民に親しまれている野菜である. 愛媛県では, これまでの主要品種であった '女早生'に比べ, 収量性や孫芋の形状が優れる子・孫芋用品種として'愛媛農試 V2 号'(図 1, 2008 年登録)を育成したのに加え(浅

図1 '愛媛農試V2号'【巻末カラー写真参照】

海, 2011), '筍芋'と 'えび芋'の人工交配により 親芋用品種として'媛かぐや'(図 2, 2010年登録)を 育成し(中川, 2013), 生産現場への普及が進められて いる.



図2 '媛かぐや'【巻末カラー写真参照】

サトイモには、'石川早生'や'土垂'のように粘りが強い品種と、'筍芋'のように粘りが弱い品種とがあり、愛媛県が育成した2品種についてみると '愛媛農試 V2号'は粘りが強いのに対し、'媛かぐや'は粘りよりもホクホクとした食感が特長の品種である.

サトイモの粘りは、食感や食味を左右する重要な成分の一つであり、滝ら(1972)は、'石川種'の水溶性粘質物を除タンパクした後に強い粘性を持つ多糖成分を抽出し、その構成糖としてアラビノースとガラクトースが約1:6の割合で結合していることから、アラビノガラクタンがサトイモの粘りの主体であろうと報告している。また、栗波・河野(1992)は、サトイモの乾燥粉末から抽出した可溶性多糖類を定量し、品種、部位および産地別比較を行っている。

これらの報告では、分析の前処理として除タンパクや乾燥が行われており、生のサトイモあるいは食用に加熱した場合の粘質物に関する検討が行われておらず、粘りに関連する物質の特定や加熱後の変化に関する報告は確認できていない.

著者らは、津久井ら(1999)がヤマイモの粘質物を分析する際に用いたゲルろ過クロマトの手法によって、サトイモの水溶性高分子成分を分子サイズの違いによって分画し、その成分を分析した. さらに、画分別の相対粘度を比較することによって、サトイモの粘りと関連する成分について検討するとともに、食感としての粘りが大きく異なる'愛媛農試 V2 号'と'媛かぐや'の品種比較、並びに加熱による成分や粘性の変化について検討を行った.

2. 材料および方法

2.1 供試材料

愛媛県農林水産研究所内の圃場で慣行栽培(4月上旬定植, N:P:K=24:24:24) を行い,2011年11月中旬に収穫した'愛媛農試 V2号'孫芋および2012年12月中旬に収穫した'媛かぐや'親芋を分析に供した.

2.2 水溶性高分子成分の抽出

異なる 3 株から、大きさや外観が標準的なサトイモを1個ずつ選び3個をサンプルとした.3個の皮をむき、縮分しながらおろし金ですりおろした後均質になるよう混和し、4~5gを遠沈管に秤量し蒸留水を加えて撹拌した後、遠心分離(3000rpm5 分間)と上澄み液を回収する作業を2回繰り返し、蒸留水で20mlに定容して粗抽出液とした.粗抽出液10mlを透析用セロハンチュー

ブ (DIALYSIS TUBING T1) により 20 時間透析し、糖類や遊離アミノ酸など分子量 3500以下の低分子成分を除去したあと、一時的に粘度を低下させるために 2M 食塩水を加えて 20 mℓに定容した. 再度遠心分離 (3000rpm5 分間)を行い、その上澄み液を 0.22 μmの HPLC 用シリンジフィルターを通過させて得た抽出液をゲルろ過クロマトに供した.

サトイモの加熱方法は、生の分析に供試したのと同じ3個のサトイモを薄くスライスし、均質になるよう4~5gを測りとった後に蒸留水 $10 \text{ m}\ell$ を加えて 10 分間 100 \mathbb{C} の湯煎により加熱した。室温まで冷却した後、ホモジナイザーによりサトイモを粉砕し、生の場合と同様の方法で粗抽出液の回収と、透析、遠心分離、ろ過を行った抽出液をゲルろ過クロマトに供した。

2.3 ゲルろ過クロマトによる分画と多糖およびタンパク質の定量

抽出液 $10 \, \text{m}\ell$ をトョパール HW-75F(東ソー製)を充填したカラム(ミリポア社製 $2.2 \, \text{cmI.D.} \times 90 \, \text{cm}$)に添加し、 $0.4 \, \text{M} \, \text{塩化ナトリウム溶液(流速 } 0.4 \, \text{m}\ell/分)にて溶出させ、<math>6 \, \text{m}\ell$ ずつ $60 \, \text{本の画分に分取した}$.

画分別の多糖濃度は、竹内ら(2001)の高感度フェノール・硫酸法により定量した。すなわち、全ての画分から溶出液 100 μℓを試験管にとり 5%フェノール試薬を 100 μℓ加えて撹拌した後、硫酸 500 μℓを再現性良く一定の高さから勢いよく添加し、30 分間静置して十分に発色させた後、マイクロプレートリーダーにより 480nm の吸光度を測定し、ガラクトースで作成した検量線から多糖濃度を求めた。

画分別のタンパク質濃度は、Thermo Scientific 社製 Modified Lowry Protein Assay Kit を用いた改良 Lowry 法 により測定した。すなわち、全ての画分から溶出液 50 μ lを試験管にとり、ローリー試薬 250 μ lを加えた 10 分後に 1N フォリン-チオカルト試薬 25 μ lを添加して撹拌し、室温で 30 分間静置した後マイクロプレートリーダーにより 750nm の吸光度を測定し、 BSA (牛血清アルブミン)で作成した検量線からタンパク質濃度を求めた。

2.4 相対粘度の測定

画分の相対粘度は、高分子成分の存在が確認できた 画分から 1 本おきに溶出液 5 mℓをオストワルド粘度計 No.1 に添加して溶液の通過時間を測定した.

今回行ったゲルろ過クロマト,多糖とタンパク質濃度の測定および相対粘度の計測は,22℃に設定した実

験室内で行った.

2.5 多糖成分の加水分解と構成糖の同定

多糖を多く含む画分を集めてセロハンチューブで透析し、溶出液に含まれる塩化ナトリウムを除去した. その後、ロータリーエバポレーターで 1/5 程度の容積に濃縮し、4 倍量の 100%エタノールを加えて多糖類を析出させた. 析出物は遠心分離(3000rpm5 分間)後の沈殿物として回収し、2N 硫酸を加えて 100 で 時間の条件で加水分解を行った. 加水分解液は飽和炭酸ナトリウムで中和した後、遠心分離(3000rpm5 分間)により上澄み液を回収し、 $0.45~\mu$ mのフィルターを通して HPLC用のサンプルとした. HPLCの条件は分析カラム Shodex SUGAR SP0810、カラム温度 80 で、蒸留水を $0.8~m\ell$ 分で送液し RI 検出器により溶出時間から糖類の同定を行った.

3. 結果および考察

3.1 '愛媛農試 V 2 号'の高分子成分および粘度

図3に'愛媛農試 V2号'の生、図4に'愛媛農試 V2号'加熱後の水溶性高分子成分の画分別多糖とタンパク質濃度、および相対粘度の測定結果を示した.生のサトイモに含まれる高分子成分として、溶出量 180 ml付近にピークを示す多糖と 290 ml付近にピークを示すタンパク質の存在が確認された.

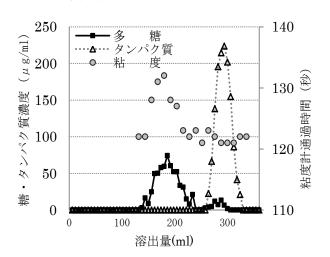


図 3 '愛媛農試 V 2 号'生の高分子成分濃度 と相対粘度

今回のゲルろ過クロマトの条件で、分子量 200 万のブルーデキストラン 2000 を溶出させた場合、そのピークは溶出量 270 ml付近に出現することから、サトイモに含まれる多糖の分子量は、200 万よりもかなり大きい

と考えられた. 画分別の相対粘度は, 多糖濃度と密接に関連しており, 多糖の最も多い画分では多糖を含まない画分に比べ, 粘度計を通過するのに要する時間が10 秒程度長くなったが, タンパク質濃度が高い画分で粘度が高くなる状況は認められなかった.

次に、沸騰水加熱後に抽出した'愛媛農試 V2 号'の水溶性高分子成分について同様の分析を行った結果、多糖成分は生の場合と同じ溶出量 180 ml付近に観察されるピークに加え、270 ml付近に新たなピークが観察された.270 mlを中心とした 240~300 mlの画分について、ョウ素デンプン反応の有無を調査した結果、252~288 mlの画分について青色の発色が確認されたことから、加熱することで新たに生じた多糖は可溶性のデンプンと考えられた.タンパク質濃度は、生の分析結果に比べて濃度が1/4以下に低下したことから、タンパク質の熱変性によって可溶性であったタンパク質が変化し、可溶性物質として抽出されなくなった可能性が推察された.

画分別の相対粘度は、生サトイモの結果と同様で溶出量 180 mℓ前後の画分で粘度が最も高いことが確認できたが、可溶性デンプンと推定した成分あるいはタンパク質を多く含む 270~300 mℓの画分で、粘度が高くなる状況は認められなかった.

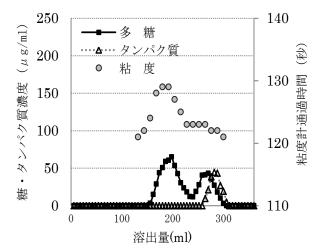


図 4 '愛媛農試 V 2 号'加熱後の高分子成分濃度 と相対粘度

溶出量 $180 \text{ m}\ell$ 付近にピークとなる多糖の構成糖を明らかにするために、 $162\sim210 \text{ m}\ell$ (第 $27\sim35 \text{ 画分}$) 間の溶出液を回収して脱塩、濃縮、エタノールによる析出を行った後、酸加水分解して HPLC により糖類の分析を行った結果、加水分解液ではアラビノースとガラクトースの溶出位置にそれぞれピークが観察されたことから、'愛媛農試 V2 号'に含まれ、粘性をもつ多糖は

アラビノガラクタンであると考えられた(図5).

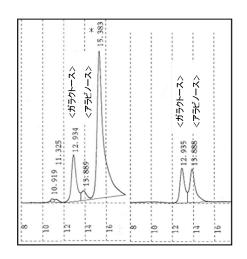


図 5 '愛媛農試 V 2 号'多糖加水分解後の構成糖(左) と標準品(右)のクロマトグラム

*:15.38 分のピークは未同定

ゲルろ過クロマトによる,この多糖成分のピーク出現時間や大きさは,加熱の有無による違いは観察されなかったことから,今回の加熱条件ではアラビノガラクタンの分子サイズや含量にほとんど変化は生じていないと考えられた。また,滝ら(1972)は '石川種'に含まれるアラビノガラクタンはタンパク質と結合し、除タンパクの前処理によって分離された可能性を指摘しているが、'愛媛農試 V2 号'をサンプルとした今回の分析において、アラビノガラクタンがタンパク質と結合している状況は確認できなかった。

3.2 '媛かぐや'の高分子成分および粘度

'媛かぐや'生の水溶性高分子成分の画分別多糖とタ ンパク質濃度、および相対粘度の測定結果を図 6 に示 した. 生のサトイモに含まれる高分子成分は、溶出量 180 mℓ付近にピークを示す多糖と 290 mℓ付近にピーク を示すタンパク質が認められたことは'愛媛農試 V2 号'と類似しているが、180 mℓ付近にピークとなる多糖 濃度は'愛媛農試 V2 号'よりかなり低いのに対し、タ ンパク質のピークは'愛媛農試 V2号'よりも明らかに 大きいのが特徴的であった. 図3と図6ではゲルろ過 クロマトに供する際の希釈倍率が異なるため単純な比 較はできないが、全ての画分に含まれる'媛かぐや' のタンパク質総量は 17.0mg で '愛媛農試 V2 号'の 8.2mg に比べて 2 倍程度であり, 多糖とタンパク質のバ ランスは品種によって大きく異なっていた. また, 290 ml付近にはタンパク質濃度と連動する糖のピークが観 察されることから、糖とタンパク質とが結合した成分 である可能性が示唆された. 相対粘度は, '愛媛農試

V2号'とは異なり、明らかに粘度が高い画分は認められなかった.

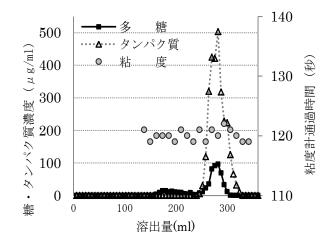


図6 '媛かぐや'生の高分子成分濃度と相対粘度

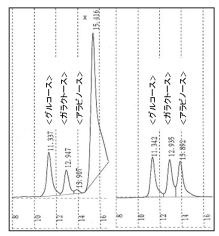


図7 '媛かぐや'粗抽出液加水分解後の構成糖(左) と標準品(右)のクロマトグラム

*:15.41 分のピークは未同定

・愛媛農試 V2 号'でアラビノガラクタンと推定した 180 mℓ前後の位置に溶出した成分について、画分を集めた後に加水分解し、HPLC により構成糖を分析した結果、明確な糖のピークが確認できなかった.そこで、溶離液で希釈される前の'媛かぐや'粗抽出液にエタノールを加えて析出させた高分子成分を加水分解し、HPLC による糖の分析を行った結果、アラビノースとガラクトースのピークが確認されたことから、'媛かぐや'にもアラビノガラクタンが含まれていると考えられた(図 7).沸騰水加熱後の分析結果(図 8)は、'愛媛農試 V2 号'で加熱後にみられた変化と類似し、タンパク質濃度が 1/10 程度と大幅に減少し、さらに溶出量 270 mℓ付近の多糖は、ヨウ素デンプン反応によって生のサンプルでは見られなかった可溶性デンプンであることが確認できた.相対粘度は生の場合と変わりなく、粘

度の高い画分は見られなかった.

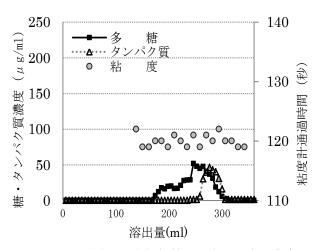


図 8 '媛かぐや'加熱後の高分子成分濃度と 相対粘度

加熱前後におけるアラビノガラクタンの溶出時間やピークの大きさに明確な違いが認められないことから、今回の加熱条件では、アラビノガラクタンの分子サイズや含量の変化は無いと考えられるのは、'愛媛農試 V2 号'と同様であった.

3.3 多糖成分の品種比較

'愛媛農試 V2 号'と'媛かぐや'の両品種には,多糖 成分としてアラビノガラクタンが含まれており、その 分子量はゲルろ過クロマトの溶出時間が 2 品種ともほ とんど変わらないことから,ほぼ同程度と考えられた. 生のサトイモ 100g あたりのアラビノガラクタン含量を, 画分の糖濃度の積算から求めると, '愛媛農試 V2 号' で 265mg, '媛かぐや'で 26mg となり, 品種によって 10 倍程度の濃度差があると推察された. 滝ら(1972) は、'石川種'から抽出精製した多糖成分の重量を測定 する方法によって、生のサトイモ 100g あたり 1g 程度 のアラビノガラクタンが含まれていることを報告して おり、今回の'愛媛農試 V2号'で得られたアラビノガ ラクタン含量は、その 1/3 程度であった. この要因とし ては、品種間差の存在以外に今回実施した高分子成分 の精製過程で, アラビノガラクタンがフィルターに吸 着されるなどにより十分に回収できていない可能性が 考えられ, より正確な定量方法について今後のさらな る検討が必要である.

また、多糖成分を加水分解した後の糖分析(図 5,7)におけるアラビノースとガラクトースの各ピーク面積から、それぞれの標準品で作成した検量線により濃度を求め、さらに分子量(アラビノース 150、ガラクトース 180)からモル比を算出したところ、'愛媛農試 V2号'が1:5.4、'媛かぐや'で1:5.6であり滝ら(1972)の1:6と大差ないことから、アラビノガラクタンを構成する糖の比率については、品種間差は大きくないと考えられ、ガラクトースを主体とする粘性の高い多糖成分がサトイモの粘りに影響していると推察された.

一方,サトイモの主成分はデンプンであり,特に加熱した際のデンプンの物理性が食感に大きく影響している可能性も容易に推察されることから,今後は食感としての粘りを数値化するための手法の確立と合わせて,品種によるデンプンの加熱特性を調査するほか,'ハツ頭'や'土垂'など粘りの特徴が異なる他の品種についてもアラビノガラクタン含量を明らかにすることによって,理化学的な成分と食感との関連についてのより詳細な検討が可能と考えられる.

引用文献

浅海英記 (2011): サトイモ 子・孫いも用品種「愛媛 農試 V2 号 (伊予美人)」の育成, 研究ジャーナル, **34 (6)**, 49-50.

栗波 哲・河野通佳 (1992): サトイモ塊茎の水煮後の 硬さに及ぼす体内成分の影響, 土肥誌, **63**, 304-309. 竹内宏治・井熊武志・高橋裕司・匂坂慶子・高澤俊英 (2001): 高感度フェノール-硫酸法, 帯大研報, **22**, 103-107.

滝 基次・山田哲也・中屋謙一・森重洋史(1972): サトイモの粘質物の研究(第1報), 三重大農学報, 43, 105-113.

津久井学・永島俊夫・佐藤広顕・小嶋秩夫・谷村和八郎 (1999):ヤマイモの粘質物および多糖画分の性状,食科工,46,575-580.

中川建也(2013): 甘みがあってホクホクした食感,特 徴ある愛媛のサトイモ品種「媛かぐや」, JATAFF ジ ャーナル, **1 (1)**, 21-22.