- (29) G. Romijn: *Z. Anal. Chem.*, 36, 18(1897).
 (30) M. C. Dearing: U. S. Patent 1925, 795, Sept. 5, 1933; *Chem. Aust.*, 27, 5483 (1933).
 (31) H. Euler, A. Euler. *Ber. Chem. Ges.*, 38, 2551 (1905).
 (32) E. J. Conway: *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*, P. 95~97 (1955).
 (33) 農林省食糧研究所: 醬油味噌分析法, P. 9 (1955).

甘藷の生長・肥大に関する生化学的研究 (第 4 報)*

塊根生育中の L-アスコルビン酸, デヒドロ L-アスコルビン酸及び 2,3-ジケト L-グルロン酸の変化

鈴木繁男, 田村太郎, 広幡哲夫, 根本芳郎, 荒井克祐 (農林省食糧研究所)

昭和 32 年 7 月 17 日 受理

1. ま え が き

われわれは前報^(1,2,3)までに、甘藷の生育中における塊根の肥大と、それに伴う化学成分の変化、及び澱粉の生成・分解に關与する酵素類の消長について報告してきたが、本報では生育中の塊根の L-アスコルビン酸 (AS A)、デヒドロ L-アスコルビン酸 (DHA) 及び 2,3-ジケト L-グルロン酸 (DKG) の変化について報告する。

甘藷にはアスコルビン酸がかなり多く含まれているので、ビタミン C 給源として食品化学的にも重要であり、またアスコルビン酸は生体内の酸化還元系において重要な生理的意義をもつもので、これが生育の状況によって変化する可能性が考えられる。すなわちアスコルビン酸は甘藷の呼吸作用と密接な関係があり⁽⁴⁾、また炭水化物の代謝にも關与すること⁽⁵⁾も報告されているので、すでに報告した甘藷の生育中の炭水化物、及びこれに關与する酵素類の消長と、ビタミン C 群**の変化との關連について何等かの知見を得て、甘藷の生長現象に対する解明の一助に資したいと考えて、今回の実験を行った。

甘藷生育中のビタミン C については、富田⁽⁶⁾は殆んど変化を認めないと報告し、B. D. Ezel 等⁽⁷⁾は品種によって変化するものと、変化しないものとあるとして、それ等の結果は一致していない。その理由として前報でふれた生育環境、サンプリングの他に、重要な要因としてビタミン C の定量法が考えられる。即ちビタミン C の定量のために、従来のインドフェノール法⁽⁸⁾を甘藷に適用する際には、甘藷の色素、還元糖その他の還元性物質のために誤差が入りやすく、適当な方法とは考えられない。このことについては郷⁽⁹⁾も指摘して改良法を発表している。甘藷中のビタミン C 含量については諸報告^(7,9-12)があるが、その値は総ビタミン C で 30~60 mg% とかなりふれが多いので、われわれはその総てがビタミン C であるか疑問をもって、既報⁽¹³⁾のようにして Roe 法を改良して、甘藷中のビタミン C を分別定量したところ、総ビタミン C で 23~28 mg% とやや低い値が得られた。またその際に論議したように、この改良法が生理的にビタミン C 作用を示さない 2,3-ジケト L-グルロン酸を分別定量できるので、この方法によって定量した。

更に DKG の生体内における生理的意義の解明は未だ充分とはいえず、甘藷中の DKG を測定した報告もないので、その生育中における変化をも併せて追求した。

次にビタミン C が試験管中で (in vitro) は β -アミラーゼを阻害することについては、多くの研究⁽¹⁴⁻¹⁸⁾が知られており、富田⁽⁶⁾は生育試験で甘藷中のビタミン C 含量と、 β -アミラーゼ力の関係を論じている。われわれはこの關連は、前記の改良法により更に詳細に検討する必要があると考えて、2,3 の知見を得たので報告する。

2. 実 験 の 部

2.1 試験材料 前報までの化学分析^(1,2)及び酵素力測定⁽³⁾には、同一の甘藷を用いたが、今回の試料はこれ等の実験に使用した甘藷の次の大きさのものを使用した。ただし第 1 回の測定 (7 月 21 日) は、化学分析及び

* Biochemical Studies on the Growth of Sweetpotatoes. Part IV. Changes of L-Ascorbic Acid, Dehydro-L-Ascorbic Acid and 2, 3-Diketo-L-Gulonic Acid during the Growth of Root Tubers. By Shigeo SUZUKI, Tarō TAMURA, Tetsuo HIROHATA, Yoshiro NEMOTO and Katsusuke ARAI (Food Research Institute, Ministry of Agriculture & Forestry)

** ビタミン C 群とは ASA, DHA, DKG をさす。

酵素試験に用いた同一の甘藷試料について行った。

2.2 定量法 試料を定量の直前に2%メタ燐酸で潤しながら、磁製のおろし板で乳鉢中にすりおろした後適当量の海砂を加えて速かに磨砕してから、別報⁽¹³⁾に記載した改良2, 4-ジニトロフェニールヒドラジン法により ASA, DHA, DKG の分別定量を行った。

3. 結果及び考察

甘藷塊根生育中の ASA, DHA, DKG の変化を第1図に示した。

第1図及び第2図を検討すると、農林1号及び沖縄100号の両品種共に、殆んど同様の経過をたどっており、特に生理的に重要と考えられる ASA が、類似した様相を示していることが注目される。この両品種は前報⁽¹⁾でものべたように、作物学的に非常に性質が異なっているため、特に今回の研究に際して試料に選んだのであるが、それにも拘らず、両品種について同様の傾向が見られる。これは前報⁽³⁾に於て、酵素類の消長を検討した際も同様であって、両品種の個々の酵素活性度は異なるけれども、全生育期間中の消長は、ほぼ同様の傾向が認められた。

上記のような傾向が認められたことは、今回の甘藷生育に関する実験結果から、甘藷の生育全般の傾向を推定する可能性を示唆するものであろう。

今回の実験に於ての両品種の生育中のビタミンCの変化の概略は次のようである。総ビタミンC (ASA, DHA, DKG の和) 含量は生育の極めて初期、即ち塊根がまだ充分肥大しない若い時期に非常に多いが、これが生長の進むに従って直線的に減少し、9月2日に極小が見られ、これが直ちに再び急増して、ほぼ初期の含量まで恢復して、更に9月下旬にやや減少し、そのまま大体安定 (25~27 mg %) するという傾向が見られた。これはその後の貯蔵試験の結果⁽¹⁹⁾でも、大体10月下旬の値が12月下旬の値 (23~27 mg %) とほぼ同じいことから裏付けられる。

このように総アスコルビン酸は、両品種ともに9月中旬にピークを示すが、甘藷塊根中

第1図 甘藷生育中のビタミンC群の変化 (農林1号)

第2図 甘藷生育中のビタミンC群の変化 (沖縄100号)

の澱粉の蓄積は、この時期以後に著しい。これは田川等⁽⁶⁾が馬鈴薯について、アスコルビン酸含量が一定値以上になった後に、澱粉の蓄積の最盛期がくると報告したと併行した現象といえるかも知れない。また菅原⁽²⁰⁾は馬鈴薯塊茎の生育に伴い、総ビタミンCが急増すると報告しているが、甘藷はこれ等と異なる様相を示すようである。

B. D. Ezell等⁽⁷⁾も4品種の甘藷を用いて、8月中旬から11月下旬まで9回の掘取期のアスコルビン酸含量を測定して、総アスコルビン酸が全期間を通じて32~35 mg %位に安定している品種 (Yellow Jersey) と、生育

初期の 28~35 mg% から徐々に含量が増加して、42~54 mg% まで増加する品種 (Nancy Hall, Porto Rico, Orange Little Stem) と 2 種のタイプがあるとしているが、われわれの得たような生育初期から総ビタミン C が一直線に減少するという現象は認めていない。

ASA (還元型ビタミン C) は大体において、総ビタミン C と同様の経過をたどり、生育末期 (掘取期) には 19~23 mg% におちついた。

ここで沖縄 100 号品種では、8 月 4 日に極小になったのが、その後ただちに漸増し、9 月初旬からその増加の仕方が急激となる傾向を示すに対し、農林 1 号では、8 月 4 日から約 1 ヶ月ほぼ同様の値で、それから急増する点に若干の差違が認められた。この傾向は、前報⁽²⁾における両品種のブドウ糖及び果糖の濃度変化と、極めて良くにている。

富田⁽⁶⁾は還元型ビタミン C は、生育中殆んど変化なく、全期間を通じて 22~27 mg% と報告しているが、われわれの得た結果とかなり相違する。特に本報のように、生育の初期に 4~8 mg% に激減してから更に増加する事実は、前報^(1,2)で検討した試料の管理、定量法の相違以上の顕著な現象として注目すべき点であろう。

DHA (酸化型ビタミン C) は両品種ほとんど同様の傾向をたどり、生育末期には 2~4 mg% となったが、生育の初期 (8 月 4 日) と、9 月中旬には一時的にかなり高い値を示している。このように総アスコルビン酸と酸化型ビタミン C が、生育の初期から一方的に減少しながら、9 月中旬に再びピークを示すのは、生育初期からこの時期まで一方的に変化したメタボリズムの相が変わったため、反動的に上昇し、次の掘取期 (9 月 30 日) で安定したためと推定される。

つぎに総アスコルビン酸に対する ASA の百分率、及び ASA の DHA に対する比率を第 3 図に示した。

第 3 図 還元型ビタミン C の総ビタミン C 及び酸化型ビタミン C に対する比率の変化

(実線は農林 1 号、破線は沖縄 100 号)

第 3 図に示すように ASA と DHA の比は、両品種について極めて類似しており、特に 9 月 15 日をすぎると、急激に高い値を示すことが注目される。これは生育の初期から 9 月中旬までの甘藷体内のメタボリズムが、不連続的に変化して、次の生育段階に入ったためと考えられる。西田等⁽²¹⁾は同一株より、大中小 1 ケずつの甘藷をとってビタミン C を定量し、小さい藷では酸化型・還元型はほぼ同量であるが、大きい藷では還元型の割合が多いと述べているが、これはある特定の時期における甘藷の大小の比較と考えられる。

われわれの実験では全生育期間を通じて、生育の初期では酸化型と還元型の量は同じでなく、その比率は 0.2~3.0 と変動し、更に 9 月中旬をすぎると還元型が急増するという現象が見られた。

DKG は両品種ともに、生育の全期間を通じて、殆んど変化を認められなかった。DKG の植物体における分布についての研究は少く、M. B. Mills 等⁽²²⁾、S. D. Chen 等⁽²³⁾、J. M. Leichsenring 等^(24,25)の報告がある程度で、それによれば、試料が異っても大体 1~4 mg% 位である。われわれも別報⁽¹⁹⁾でビタミン C 類の定量法の改良法を提案し、その際若干の甘藷について DKG の測定を行ったが、やはり 2~3 mg% であった。これは成熟した甘藷について得られた値であるが、今回の実験で DKG 含量は、生育中にも殆んど変化しないことがわかった。これは植物生体中の DKG 含量が、ASA と DHA の平衡関係によって規定されていることを示唆するものであろう。DKG は生物学的には、ビタミン C 作用がないとされているので、少量ではあるがこれ等の存在には注意する必要がある。特に別報⁽¹⁹⁾で加工食品中の DKG が多いことを指摘したが、Leichsenring 等も馬鈴薯

の DKG が煮沸⁽²⁴⁾, 焙焼, 加圧調理⁽²⁵⁾の際に急増することを述べているので, ビタミン C の含量が多いとされている諸類を利用・加工する際にも留意すべきであろう。

つぎにこれ等のビタミン C 群の生育中における変化を, これまで報告してきた他の諸成分と比較すると, 水溶性糖類と酵素類の変化と, 一連の関係のあることが推定される。これらについては更に続報で検討するが, 特に著しい現象として, 前報⁽³⁾の β -アミラーゼの変化と総ビタミン C の変化とが, 全く逆の傾向を示すことが認められる。即ち総ビタミン C は両品種ともに生育の初期に最高の値を示すのが, 一方的に減少して 9 月 2 日に極小となるのに対し, β -アミラーゼは生育初期に最少で, 9 月 2 日まで一方的に活性度が增加する。

富田⁽¹³⁾は甘藷より Balls⁽²⁶⁾の方法で調製した β -アミラーゼの Crude Paste を用い, これが還元型及び酸化型ビタミン C によって阻害されると報告している。これは前にのべたビタミン C が試験管中で β -アミラーゼを阻害する現象を, 甘藷アミラーゼで実験したものである。更に富田⁽⁶⁾は甘藷の生育試験で, 生育末期にビタミン C 含量が高いが, その際のアミラーゼ力は弱く, 生体中にもこの阻害が認められると述べているが, その実験で報告してあるビタミン C 及び β -アミラーゼの値は, 極めて変動が少いので, 同氏の得た数字から, 生体内におけるこれ等の関連を論ずるのはかなり無理というべきであろう。

この点に関しては, われわれの実験において, 生育中の甘藷塊根内の総ビタミン C 含量と β -アミラーゼ活性度が, 大きく変動しながらも逆の相関を示したことは, 生体内においても, ビタミン C による β -アミラーゼの阻害が行われる充分な可能性を示すものであろう。

要 約

甘藷 (農林 1 号及び沖繩 100 号) 生育中における塊根の L-アスコルビン酸 (ASA), デヒドロ L-アスコルビン酸 (DHA) 及び 2,3-ジケト L-グロン酸 (DKG) の変化を研究して次の結果を得た。

(1) 農林 1 号及び沖繩 100 号の両品種ともに, 殆んど同様の経過を示すが, 総ビタミン C, ASA 及び DHA は生育中の変動がかなり著しい。

(2) 総ビタミン C 含量は, 生育の初期から一方的に減少し, 9 月初旬に最小になり, この時期をすぎると直ちにピークを示す。

(3) 還元型ビタミン C (ASA) は 8 月 4 日に最小を, 酸化型ビタミン C (DHA) は 8 月 4 日及び 9 月 15 日に, 2 つのピークを示した。

(4) 総ビタミン C, ASA, DHA 含量ともに, 生育末期にはかなり安定し, DHA は極めて少量である。

(5) DKG は生育の全期間にわたり, 殆んど変化が認められなかった。

(6) 両品種ともに生育中の総ビタミン C 含量と, β -アミラーゼの活性度との間には, 逆の傾向が見られ, 生育中の甘藷において, ビタミン C による β -アミラーゼ力の阻害が行われる可能性を示した。

本研究に対し貴重な御意見をいただいた東大農学部作物学教室菅原友太博士に深甚な謝意を表する。また本研究の要旨は 1953 年 4 月 6 日の日本農芸化学会大会において発表した。

- (1) 鈴木繁男, 田村太郎, 広幡哲夫, 根本芳郎, 荒井克祐: 本誌, 31, 762 (1957).
- (2) 同上: 本誌, 31, 768 (1957).
- (3) 同上: 本誌, 31, 859 (1957).
- (4) S. Györgye: Studie on Biological Oxidation (1937).
- (5) 例えば田川隆, 岡沢義三: 北大農学部邦文紀要, 1, 240 (1952).
- (6) 富田絹子: 醸酵工学誌, 28, 437 (1950).
- (7) B. D. Ezell, M. S. Wilcox, J. N. Crowder: Plant Phys., 27, 355 (1952).
- (8) 例えば藤田秋治: ビタミンの化学的定量法 p. 155 (1948).
- (9) 郷 千枝子: 醸酵工学誌, 28, 225 (1950).
- (10) 藤田秋治: ビタミン研究, 8 号, 159 (1944).
- (11) B. D. Ezell, M. S. Wilcox: Plant Phys.,

- 27, 81 (1952).
- (12) 富田絹子, 曾根節子: 醸酵工学誌, 27, 272 (1949).
- (13) 田村太郎, 鈴木繁男: 本誌, 29, 492 (1955).
- (14) A. Purr: Biochem. J., 28, 1241 (1934).
- (15) C. S. Hanes: Biochem. J., 29, 2588, 2603 (1935).
- (16) J. Janicki: Enzymologia, 7, 182 (1937).
- (17) 西田泰二: 生化学, 23, 59 (1951).
- (18) 富田絹子: 醸酵工学誌, 29, 137 (1951).
- (19) 鈴木繁男, 田村太郎, 広幡哲夫: 未発表.
- (20) 菅原友太: 農業及園芸, 21, 465 (1946).
- (21) 西田孝太郎: 甘藷の化学とその利用, p. 25 (1948).
- (22) M. B. Mills, C. M. Damron, J. H. Roe: Anal., Chem., 21, 207 (1949).

- (23) SHIH Dzung Chen, Cecilia SeHuck : *Food Research*, 16, 507 (1951).
 (24) J. M. Leichsenring, L. M. Norris, H. L. Pilcher : *Food Research*, 22, 37(1957).
 (25) J. M. Leichsenring, H. L. Pilcher, L. M. Norris : *Food Research*, 22, 44(1957).
 (26) A. K. Balls et al. : *J. Biol. Chem.*, 173, 9 (1948).

ブ タ ノ ー ル 醗 酵 (第 17 報)*

育成 (その 3) 酸化還元電位的考究

本 江 元 吉 (九州大学農学部農芸化学教室)

昭和 32 年 7 月 17 日 受 理

Clostridium acetobutylicum 株を heat shock しないで移植すると (以下移植とはこの意), 代謝が旺盛になって醗酵期間が短縮され, 更に移植を続けると湧き付きは早いが醗酵は緩慢になり, 時には中絶する. この現象は本邦初期の研究当時既に湯川⁽¹⁾によって指摘され, 「斯くの如き簡単なる方法により細菌が生理的性質を転換されるという事実は興味深いことであるが, 之に就ては更に研究の上他日報告するつもりである」と報ぜられた⁽¹⁾. 本報はこの現象の生起因の解明を企てるものである.

実 験

使用菌株: 単孢子分離によって純粋にした *Clostridium acetobutylicum* 314⁽²⁾.

I. redox dyes 添加が孢子からの生育増殖に及ぼす影響 2,6-Dichlorophenol indophenol ($E_0' + 0.335$ V, pH 5.0), Methylen blue (+0.101), Nil blue (-0.020), Janus green (-0.110), Neutral red (-0.205) をそれぞれ 6 mM 及び 3 mM 濃度に加えた蔗糖 6%・大豆粕 0.6%・Speakman 塩の培地 10 ml に, 孢子を生じている 48 時間玉蜀黍培養 0.5 ml を接種し, heat shock 後排気下 37° で培養すると, 生育は Neutral red 添加のものでだけ認められる. 他の dye 添加で生育が認められないのが dye の毒性によるものでないことは, 24 時間培養の栄養細胞を接種するとどの dye も還元されて生育醗酵が正常に終ることから明らかである. Neutral red は他の dye に比べると酸化され難く, 接種された種菌によって一部還元型になったものの若干が操作中もそのまま残るのに対し, 他の dye はことごとく酸化型になる. 他の redox 系を含むことが少いこの培地の酸化還元電位 (以下 ORP と略) は, 添加 redox dye に支配され, Neutral red ではその電位範囲内にひきつけられて低いために生育が起ったのに反し, 他の dye では高いために生育できなかったと考えられる.

第 1 表 ORP 低下物質添加が醗酵期間短縮に及ぼす効果

培地: 蔗糖 6%・大豆粕 0.6%・Speakman 塩・接種時炭酸石灰 0.3%, 300 ml. 種菌: 10 ml. 牛肝臓: 培地中に 3 g を煮沸後粗粉にして添加. フラビン: 種菌培地 10 ml 中に 1.5 mg を加え, 種菌の生育によって還元された状態で接種に伴って本培地に添加. Neutral red: 同上, 種菌培地中 6×10⁻⁶ M. 培養温度: 37°

		醗 酵 期 間 (日)					
移 植 回 数		0	1	2	3	4	5
添 加 物 質	肝 臓	4.5 (5.0)	4.0 (4.5)	3.0 (4.0)	3.0 (3.5)	3.0 (3.3)	2.0 (2.3)
	(無 添 加)			3.0 (3.3)		2.0 (2.3)	
	フ ラ ビ ン						
	(無 添 加)						
Neutral red		4.0 (4.3)	4.3 (4.5)	3.4 (3.7)	3.2 (3.4)	3.0 (3.2)	2.5 (2.8)
	(無 添 加)						
		4			2		
移 植 回 数		肝 臓			フ ラ ビ ン		
添 加 物 質	肝 臓	3.51	2.17		3.40	3.35	
	(無 添 加)						
	ガ ス 量	4.87(8.38)	5.43(7.60)		4.33(7.73)	3.85(7.20)	
	g/300 ml	1.35(9.73)	2.00(9.60)		2.76(10.49)	2.35(9.55)	
醗 酵 経 過	1 日		0.27(9.87)			0.88(10.43)	
	3 日						
	4 日						

II. ORP 低下性物質添加が醗酵期間短縮に及ぼす効果 培地の ORP を下げる物質としては肝臓片やフラビン, redox dye を使用した. 培地中でのこれらの濃度はかなり稀釈されるが, ORP は redox 系の濃度に左右されず E_0' と酸化型/還元型とに支配され, 一方培地中に他の redox 系があっても微量であるから, 培地の ORP は添加物質の E_0' 附近にひきつけられる. 結果は第 1 表. すなわち多少の効果は認められる. この

うち, 肝臓添加では 24 時間までのガス出量が対照に比べて多く, 生育に利があったことが認められる. フラビ

* Butanol Fermentation. Part XVII. Redox-Potential Studies on the Shortening of Fermentation Period by Subculturing. By Motoyoshi HONGO (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kyushu University)