報 文

エタノールで萌芽抑制したバレイショの3か月投与による
ラットを用いた安全性試験

(平成8年2月16日受理)

片平理子* 別府道子*

Three-Month Study on the Safety of Potatoes Treated with Ethanol for
Sprout Suppression in Male Wistar Rats

Riko KATAHIRA and Michiko BEPPU

(Faculty of Home Economics, Tokyo Kasei Gakuin University: 2600, Aihara-cho,
Machida-shi, Tokyo 194-02, Japan)

Recently we have developed a new method to suppress sprouting of potatoes (*Solanum tuberosum* Linnaeus) by post-harvest application of ethanol (EtOH) as a dip treatment. As a part of an evaluation of its practical value, a 3-month toxicity study of EtOH-treated potatoes (May Queen) was performed in rats. Male Wistar rats were divided into three groups and were fed on modified AIN-93G diet containing 23% starch from 4 weeks to 15 weeks of age. Commercially available potato starch, untreated potato powder and EtOH-treated potato powder were used as starch. During the experimental period, general appearance and behavior were the same in all groups. No adverse effect of EtOH-treated potato feeding was observed in rats as regards the body and organ weights, blood biochemical and hematological tests, uric biochemical test, and histopathological examination of liver and kidneys. Based on these results, we concluded that potatoes whose sprouting was suppressed by EtOH treatment had no toxic effect on male Wistar rats under the experimental conditions employed.

(Received February 16, 1996)

Key words: バレイショ *Solanum tuberosum* L. (potato); 萌芽抑制 sprout suppression; エタノール処理 ethanol treatment; 毒性 toxicity; ラット rat

緒 言

バレイショは品種固有の休眠期間の後、萌芽、成長すると萎凋や栄養価の低下、有害物質のグリコアルカロイドの生成などが同時に起こり、著しく商品価値が落ちるため、種々の萌芽抑制方法が考案された。薬剤による方法では収穫前の葉面へのマレイン酸ヒドラジド処理による萌芽抑制が古くから行われ、最近ではクロロプロファミン(イソプロピル・クロロフェニルカーバメイト)のポストハーベスト処理による萌芽抑制方法の実用が世界的に進みつつある。しかし日本ではポストハーベストでの薬剤使用は認められておらず、数年前に輸入冷凍バレイ

ショから当時の国内の残留基準値以上のクロロプロファミンが検出され問題視された¹⁾。この他に収穫後のγ線照射による萌芽抑制も実用化されている。

しかし、Dikshithらは50 mg/kg/dでクロロプロファミンをラットへ30日間投与した実験で、肝臓及び血清のALPの上昇を認めたことから、これより高濃度での長期間投与により肝障害が引き起こされるのではないかと指摘している²⁾。一方、樺島らはラットとマウスでの経口急性毒性実験から、脾臓の腫大と貧血などを認めている³⁾。以上のようなことからクロロプロファミンを萌芽抑制剤として使用した場合に、その残留による人体に対する影響も危惧されるであろう。また、照射バレイショに対する消費者の反応から、日本においては適用拡大の可能性は低いと思われる。

* 東京家政学院大学家政学部: 〒194-02 東京都町田市相原町 2600

このような現状からみて、我が国では現在主として低温貯蔵して貯蔵期間を延長している。しかし、コスト高や青果用としては春先以降の流通の場での萌芽による商品性の低下、また、フライ加工用原料としては貯蔵中の糖の増加により製品が暗色化するため加工直前にリコンディショニングの手間がかかる、などの問題点もある。

著者らは青果物の品質保持のためのエタノールの応用を検討し、バレイショに100%エタノール浸漬処理をすると、浸漬時間の延長に応じて効果的に貯蔵中の萌芽を抑制することを見だし、この処理によるバレイショ貯蔵中の品質保持効果について報告してきた⁴⁾。エタノールは古来から喫食され、また防腐目的で用いられているため、微量の摂取は人体に害はないと考えられる。萌芽抑制剤として使用して残留した場合にも、残留による毒性は問題にならないといえる。

しかし、本来バレイショは植物ホルモンなどによる遺伝子発現や代謝活性の調節により、一定期間の休眠後に萌芽・生長する。このイモの萌芽を抑制するということは、バレイショの生理に何等かの影響を与えていると推測される。その一例として γ 線による萌芽抑制時には、糖代謝⁵⁾や抗酸化⁶⁾に関する酵素活性への影響や、フェノール性物質や脂質⁷⁾、硝酸性窒素⁸⁾などの含量の変化が報告されている。

著者らの考案したエタノールによる萌芽抑制方法においても、植物の貯蔵器官(塊茎)であるバレイショにとって異物であるエタノールによる処理がストレスとなり、何らかの応答が起こり塊茎内に人体に有害な化合物を生成するおそれもある。

そこで、著者らが検討してきた萌芽抑制方法の実用化の可能性を探るために、エタノール処理により萌芽抑制したバレイショについてラットを用いた3か月間給餌投与試験を行い、実際にヒトが食用可能か否かを推定した。

実験材料及び方法

1. 実験材料及び成分分析

1993年秋に収穫された後、低温貯蔵により強制休眠させた北海道産青果用メークイン300kgを1994年3月末に購入した。未処理バレイショ粉末(以下未処理粉末とする)は直ちに120kgを1時間蒸煮してテンプンを糊化後裏ごしし、1晩室温風乾、翌日1時間60℃で温風乾燥後粗砕、最終的にミキサーにかけ粉碎したものを500メッシュのふるいにかかけ均質な粉末を調製した。残りのバレイショは購入後引き続き10日間低温の7℃で貯蔵し、萌芽直前の4月上旬に100%エタノールに室温下で2時間浸漬処理後風乾し、22℃に約1か月貯蔵した。貯蔵後に萌芽抑制された個体を選別し未処理粉末と同様の方法でエタノール処理バレイショ粉末(同、処理粉末とする)を調製した。未処理、処理粉末それぞれ

を密封し低温に保蔵して漸次実験に供した。

以上により得た2種の粉末について、四訂日本食品標準成分表⁹⁾に準じて一般成分分析を行った。また、糖は平らの方法¹⁰⁾で抽出後、HPLCにより組成を求めた。分析は、カラム: Polyspher CHPB (Cica-Merck社製, 7.8 mm i.d.×300 mm), 溶離液: 水, 流速: 0.4 ml/min, カラム温度: 90℃, 検出器: RIで行った。エタノールはGCにより定量分析した。分析は、カラム: 20% APS201 on Flusion T (3 mm i.d.×2 m), キャリヤガス: N₂, 流速: 30 ml/min, カラム温度: 105℃, 試料注入温度: 150℃, 検出器温度 150℃, 検出器: FIDで行った。

2. 実験飼料

実験飼料はAIN-93G精製試料¹¹⁾を、デンプン粉末23%, ショ糖40%に改変したものを基本配合とし、市販 α 化バレイショデンプン粉末(日本クレア(株), オカノール), 前述した末処理及び処理粉末をデンプン原料として作成した3種類の飼料を実験飼料とした。

3. 実験動物及び飼育方法

実験動物は3週齢のWistar系雄ラット(埼玉実験動物(株))を購入し、市販固形飼料(CE-2, 日本クレア(株))で1週間予備飼育した。4週齢のラットを、各群の体重が等しくなるように各群に7匹を割り当て、実験飼料と水を自由摂取させた。

ラットは個別ケージに収容し、温度20~24℃, 12時間ごとの明暗切り替え条件に設定した飼育室で、各々の実験飼料で3か月間飼育し、観察・測定を行った。

4. 観察、測定及び検査

1) 飼育中の観察・測定

実験飼料給与期間中、動物の外観、行動及び呼吸などの状態を1日1回観察し、体重と飼料摂取量を隔日に測定した。実験開始11週目より剖検までの2週間はラットを個体別に代謝ケージに移し、排せつ後15分以内の新鮮尿についてpH, タンパク質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンの異常の有無を尿検査試験紙(プレテスト, 和光純薬工業(株)製)で調べ、剖検前4日間の排せつ糞量, 尿量を測定した。

2) 血液検査

3か月の実験飼料給与後、12時間以上絶食させた動物をバントバルビタールナトリウム麻酔下に腹部大動脈より採血し、血清を分離しH736-60特型自動分析装置((株)日立製作所製)を用いて、総タンパク質(TP), アルブミン(ALB), A/G, 総ビリルビン(T-BIL), グルコース, 中性脂肪(TG), リン脂質(PL), 遊離脂肪酸(FFA), 総コレステロール(T-CHOL), 尿素窒素(BUN), クレアチニン(CRE), ナトリウム(Na), 塩素(Cl), カリウム(K), カルシウム(Ca), 無機Pと, GOT, GPT, ALP, LDHを測定した。また, EDTA加血液を用いて, シスメックスCC780型自動計数装置((株)東

Table 1. Composition of Potato Powders Used in the Present Study

Component	Potato starch	Powder of untreated potato	Powder of EtOH-treated potato
Moisture (%)	8.5 ^{a)}	10.3	9.1
Crude protein (%)	0.1 ^{a)}	6.0	6.0
Crude fat (%)	0.0 ^{a)}	0.9	1.0
Carbohydrate (%)	91.1 ^{a)}	77.3	78.3
Crude fiber (%)	0.0 ^{a)}	1.5	1.5
Ash (%)	0.3 ^{a)}	4.0	4.1
Energy (kcal/100 g)	367	342	347
Sucrose (%)	b)	1.2	3.0
Glucose (%)	b)	4.3	2.0
Fructose (%)	b)	5.4	1.6
Ca (mg/100 g)	b)	11	12
K (mg/100 g)	b)	1700	1700
Fe (mg/100 g)	b)	1.3	1.5
Ethanol (mg/100 g)	b)	0.00	0.04
Vitamin C (mg/100 g)	b)	5.0	4.5

^{a)} Data are provided by Nihon Crea Inc.

^{b)} Not determined

亜医用電子) によって、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン量(Hb)を測定し、これらより平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球色素濃度(MCHC)を算出した。

3) 剖検及び病理組織学的検査

放血死後、直ちに内部諸臓器について肉眼的に病変の有無を観察し、各臓器を摘出して湿重量を測定した。肝臓、腎臓は常法¹²⁾によりブアン固定後パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作成して病理組織学的に検索した。

5. 統計処理法

得られた各測定値は一元配置による分散分析を行い、有意差が認められた場合は更に Bonferroni の多重比較により 5% 危険率で各群間の平均値の差の検定を行った。

結 果

Table 1 に未処理及び処理粉末の成分分析結果を示した。ショ糖、果糖、ブドウ糖の糖組成に違いがみられた。すなわち未処理粉末に対し処理粉末はショ糖含量が高く、還元糖含量が低い結果となった。また、処理粉末ではアルコールが微量検出されたが、それ以外の一般成分、ミネラル含量では両粉末組成に大きな違いはみられなかった。

体重の経時変化は Fig. 1 に示すように、処理粉末摂取群（以下処理群）は未処理粉末摂取群（同、未処理群）及び市販バレイショデンプン摂取群（同、市販群）

Fig. 1. Growth curves of rats fed on modified AIN-93G diets containing 23% starch for 12 weeks

と同様で成長速度や程度に差はなく、いずれも順調に発育した。

Table 2 に成長結果並びに体重増加量、飼料摂取量、飼料効率をまとめた。いずれの項目にも 3 群の間には統計的に有意な差はみられず、解剖前 4 日間に代謝ケージで測定した排せつ糞及び尿量にも差がなかった（データは示していない）。

各臓器及び脂肪組織重量測定の結果を Table 3 に示したが、いずれの項目においても 3 群間に統計的に有意な差はなかった。

剖検時に各種臓器を摘出しながら実施した肉眼による観察所見においては、いずれの臓器にも異常は認められ

Table 2. Effects of Potato Powders on Body Weight Gain, Food Intake, and Food Efficiency Ratio

Parameter	Potato starch (7) ^{a)}	Untreated potato (7)	EtOH-treated (7)
Initial weight (g)	99.5 ± 5.0	97.0 ± 8.5	96.9 ± 8.3
Final weight (g)	514.5 ± 40.3	551.4 ± 71.8	524.6 ± 34.5
Weight gain (g/12 weeks)	421.7 ± 38.6	461.5 ± 65.1	435.3 ± 34.5
Food intake (g/12 weeks)	1782.7 ± 136.7	1897.7 ± 176.3	1799.3 ± 68.0
Food efficiency ratio ^{b)}	23.6 ± 0.8	24.2 ± 1.8	24.2 ± 1.2

^{a)} Figures in parentheses are number of rats in each group.

^{b)} Weight gain/Food intake

Data given are means ± SD.

Table 3. Effects of Potato Powder on Weights of Organs and Adipose Tissues

	Potato starch (7) ^{a)}	Untreated potato (7)	EtOH-treated (7)
	Relative weight (g/100 g body weight)		
Organ			
Liver	2.48 ± 0.11	2.61 ± 0.26	2.44 ± 0.20
Heart	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.27 ± 0.01
Spleen	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.18 ± 0.02
Kidneys	0.60 ± 0.05	0.56 ± 0.03	0.59 ± 0.03
Lungs	0.27 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.02
Testes	0.75 ± 0.09	0.71 ± 0.05	0.70 ± 0.04
Epididymides	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.04	0.23 ± 0.03
Adrenals	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.000
Adipose tissue			
Epididymal	1.89 ± 0.35	2.29 ± 0.30	2.25 ± 0.43
Dorsal	2.69 ± 0.68	3.07 ± 0.43	2.97 ± 0.46

^{a)} Figures in parentheses are number of rats in each group.

Data given are means ± SD.

Table 4. Effects of Potato Powders on Hematological Findings of Male Wistar Rats

Parameter	Potato starch (6) ^{a)}	Untreated potato (4)	EtOH-treated (6)
RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	861 ± 76	903 ± 12	856 ± 66
WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	43 ± 7.6	50 ± 8.5	44 ± 14
Hb (g/dl)	16.1 ± 1.3	17.1 ± 0.6	15.8 ± 0.9
Ht (%)	47.9 ± 4.2	49.7 ± 0.7	46.5 ± 2.9
MCV (μ)	55.7 ± 0.7	55.0 ± 1.0	54.3 ± 2.5
MCH (pg)	18.8 ± 0.4	19.0 ± 0.7	18.7 ± 0.7
MCHC (%)	33.7 ± 0.7	34.5 ± 0.9	34.2 ± 0.7

^{a)} Number of blood samples analyzed

Data given are means ± SD.

なかった。

病理組織学的検索の結果、腎臓組織はいずれの群のいずれの個体にも糸球体、尿細管及びその上皮、間質などに壊死や浮腫、線維化などは認められず、炎症像、出血なども認められなかった。肝臓でも、いずれの個体にも病変や細胞壊死巣はみられなかった。

Table 4 に血液学的検査結果を、Table 5 に血液の生化学検査結果をまとめた。採血量不足のため数匹について

は検査不能であったため、各群の供試サンプル数が異なっている。処理群の LDH が未処理群に比して有意に高値を示したが、他は血液学検査の各血球数や赤血球恒数、生化学検査の血中タンパク質、脂質、窒素化合物、電解質や酵素活性のいずれの項目にも各群間に差があるとはいえず、測定値の範囲も動物実験データ集などの記載¹³⁾とおおむね一致した。

尿検査では、いずれの群の個体も潜血反応、ビリルビ

Table 5. Effects of Potato Powders on Values of Blood Biochemistry

Parameter	Potato starch (7) ^{a)}	Untreated potato (6)	EtOH-treated (7)
TP (g/dl)	5.77± 0.24	5.83± 0.24	5.70± 0.24
A/G	3.24± 0.84	3.17± 0.39	3.19± 0.62
ALB (g/dl)	4.37± 0.40	4.42± 0.12	4.30± 0.21
T-BIL (mg/dl)	0.24± 0.12	0.22± 0.07	0.17± 0.09
Glucose (mg/dl)	146 ± 27	161 ± 61	128 ± 11
TG (mg/dl)	68 ± 46	88 ± 70	53 ± 11
PL (mg/dl)	128 ± 14	129 ± 17	134 ± 15
FFA (mEq/L)	0.73± 0.12	0.85± 0.19	0.83± 0.09
T-CHOL (mg/dl)	78 ± 9	75 ± 9	84 ± 7
BUN (mg/dl)	15.9 ± 1.9	14.6 ± 2.8	17.5 ± 2.2
CRE (mg/dl)	0.69± 0.15	0.55± 0.05	0.60± 0.08
Na (mEq/L)	145 ± 1.4	144 ± 2.0	143 ± 1.7
Cl (mEq/L)	106 ± 2.1	106 ± 1.3	106 ± 1.8
K (mEq/L)	6.46± 0.79	6.35± 0.40	6.61± 0.53
Ca (mg/dl)	9.49± 0.34	9.42± 0.20	9.49± 0.25
P (mg/dl)	7.40± 1.32	7.37± 1.19	6.46± 0.56
GOT (IU/L/37°C)	232 ± 91	209 ± 47	204 ± 22
GPT (IU/L/37°C)	31 ± 8.3	27 ± 3.1	26 ± 6.0
LDH (IU/L/37°C)	3034 ± 461	2810 ± 484	3743 ± 710*
ALP (IU/L/37°C)	214 ± 34	204 ± 26	207 ± 46

^{a)} Number of serum samples analyzed

Data given are means±SD.

*: Significantly different from untreated potato powder at $p < 0.05$ but not different from potato starch group.

ン、ブドウ糖は検出されなかった。ケトン体はアセト酢酸として 5~20 mg/dl, アセトンとして 100~400 mg/dl, タンパク質は 30~100 mg/dl の範囲で, pH は 6 前後で試験紙でいずれの群もほぼ同様の結果を示し, 異常は認められなかった。

考 察

エタノールによるバレイショの萌芽抑制方法の実用化に向けて, エタノール処理及び未処理粉末を飼料に一部加えラットに 3 か月間投与し安全性を検討した。

その結果, 低温貯蔵されていたメークインを萌芽期に 22°C に移して貯蔵すると, 未処理では直ちに 100% のバレイショが萌芽したのに対し, エタノール処理したバレイショの 1 か月貯蔵後の萌芽率は約 50% であった。2 種の粉末の成分分析結果では糖組成に相違がみられた。低温貯蔵中にバレイショの還元糖含量は増加し, その後常温貯蔵する間に減少するため¹⁴⁾, これはエタノール処理による影響というよりも粉末調製までの貯蔵温度の違いの影響と推測された。測定した他の成分には大きな違いはなく, 処理粉末を含有する飼料はラットに忌避されることなく未処理粉末及び市販バレイショデンプンの飼料と同程度に摂取された。また, 処理群のラットの成長や飼料効率と市販群及び未処理群のラットのそれらとのあいだに統計的な差はみられなかった。

剖検時の臓器及び脂肪組織重量には各群間に飼料によ

る差はみられず, また肝臓と腎臓の病理組織学的検索でも, いずれの群の個体にも異常は認められなかった。

更に, 血液学的及び血液生化学的検査と尿試験紙による検査結果では, LDH 活性のみに処理群と未処理群の間に有意差がみられたものの, 処理粉末摂取により肝臓, 腎臓及び他の臓器に著しい影響が及ぼされたと推察されるような他の検査結果は認められなかった。総合するといずれの群も電解質, 糖, 脂質の代謝などにはば異常はないことが示された。

今回は安全性確認の第一歩としてラットを用いた 3 か月間の給餌投与実験を行い, 本研究の投与量及び投与期間の条件で得られた結果から考えられる限りにおいては, エタノールにより萌芽抑制したバレイショを摂取したラットに毒性の発現は認められなかった。結果から食用バレイショの萌芽抑制のために, エタノール浸漬による方法が応用できる可能性が示唆された。

今後は処理後長期間貯蔵したバレイショ全体, あるいは溶媒抽出などにより得た特定の画分についての, 急性及び慢性毒性試験や, 変異原性試験, 催奇毒性試験などを実施し, 更に食品としての健全性について検討を重ねていく必要があると考えられる。

要 約

エタノール浸漬処理によりバレイショの萌芽を抑制する方法の実用化に向け, ラットを用いた 3 か月間給餌

投与試験を行った。すなわち、改変 AIN-95G 飼料のデンプン（試料の 23%）分として、エタノール処理により萌芽抑制したバレイショから調製した粉末を用いて作成した飼料を 4 週齢から 15 週齢までラットに投与し、成長に対する影響の検討や各種検査を実施し、市販 α 化バレイショデンプン及び未処理バレイショ粉末で作成した飼料を投与したラットのそれらと比較した。

未処理及びエタノール処理したバレイショから調製した粉末の成分分析の結果、糖組成、アルコール残量以外には大きな違いはみられなかった。

飼料総摂取量、体重増加、飼料効率や解剖所見、各臓器重量は 3 群間に統計的に有意な差はなかった。更に、肝臓・腎臓の病理組織学的検索、血液及び尿検査の結果、いずれの群にも異常は認められず、各臓器機能に問題がないと考えられた。

以上の結果より、本実験条件下においてはエタノール処理により萌芽抑制したバレイショは、本試験で検査した範囲においては毒性は認められず、食用としての利用も可能であることが示唆された。

実験全般にわたり、実験技術の御指導、御助言を下された本学元実験助手の岩見聡子氏に感謝致します。

なお、本研究はアルコール専売事業特別会計研究開発委託費により(社)アルコール協会からの再委託研究として実施したものであり、発表に際し許可をいただいた通商産業省並びに(社)アルコール協会に感謝致します。

文 献

- 1) 小若順一: “ポストハーベスト農業汚染”(1990) 家の光協会。
- 2) Dikshith, T. S. S., Carrera, G., Raizada, R. B., Mitjavila, S.: *Toxicol. Lett.* **45**, 281~288 (1989).
- 3) 樺島順一郎, 市川久次: 東京衛研年報, **44**, 288~293 (1993).
- 4) 片平理子, 別府道子: 東京家政学院大学紀要 **33**, 69~76 (1993).
- 5) Hayashi, T., Kawashima, K.: *J. Food Sci.* **48**, 1,242~1,245 (1983).
- 6) Matkovics, B.: *Acta Aliment.* **14**, 213~229 (1985).
- 7) Mondy, N. I., Gosselin, B.: *J. Food Sci.* **54**, 982~984 (1989).
- 8) Mondy, N. I., Seetharaman, K., Munshi, C. B.: *ibid.* **57**, 1,357~1,358 (1992).
- 9) 科学技術庁資源調査会編: “四訂日本食品標準成分表” p. 14~35 (1982) 大蔵省印刷局。
- 10) 平 春枝, 田中弘美, 斉藤昌義: 日食工誌. **36**, 968~980 (1989).
- 11) Reeves, P. G., Nielsen, F. H., Fahey, Jr., G. C.: *J. Nutr.* **123**, 1,939~1,951 (1993).
- 12) 佐野 豊: “組織学研究法” p. 71 (1981) 南山堂。
- 13) 田島嘉雄監修: “実験動物の生物学的特性データ”(1989) ソフトサイエンス社。
- 14) 藤巻正生編: “ポスト・ハーベストの科学と技術” p. 58~60 (1984) 光琳。