

日本食品保蔵科学会誌

VOL. 36 NO. 6

会 長	松本 信二	副 会 長	上田 悦範	小宮山美弘	早坂 薫
編集委員長	上田 悦範				
編 集 委 員	石田 裕	稲熊 隆博	井上 茂孝	内野 昌孝	竹永 章生
	寺井 弘文	津久井亜紀夫	藤島 廣二	松田 茂樹	

<研究ノート>

- 新香辛野菜ハマダイコンの数種漬工程における根部成分の変化 (261)
 /伴 琢也・本谷宏志・小林伸雄
- ソフトパックにより包装されたイチゴの損傷発生に及ぼす衝撃の影響 (265)
 /北澤裕明・佐藤達雄・石川 豊
 中村宣貴・椎名武夫

<研究ノート> (英文)

- ジャガイモ塊茎由来 α -アミラーゼの精製および性状について (271)
 /中村 優・小泉怜児・内野昌孝
 佐藤広顕・高野克己

<情 報>

- 食と農の資料館めぐり (1)
 物流博物館 (277)
 /玉井幹司

- <文献抄録> (281)

Food Preservation Science

CONTENTS OF VOL. 36 NO. 6 (2010)**<Research Note>** (Japanese)

- Changes in Inner Contents of New Savory Wild Radish during Some Soaking Processes
BAN Takuya, HONTANI Hiroshi and KOBAYASHI Nobuo (261)
- Effect of Shock on the Damage Occurrence of Strawberry Packaged by Foam Fruit Tray
KITAZAWA Hiroaki, SATO Tatsuo, ISHIKAWA Yutaka,
NAKAMURA Nobutaka and SHIINA Takeo (265)

<Research Note> (English)

- Purification and Characterization of α -Amylase from Potato Tuber
NAKAMURA Yu, KOIZUMI Reiji, UCHINO Masataka,
SATO Hiroaki and TAKANO Katsumi (271)

<Information> (Japanese)

- Museum of Logistics
TAMAI Kanji (277)

新香辛野菜ハマダイコンの数種漬工程における根部成分の変化

伴 琢也*[†]§・本谷宏志*・小林伸雄*

* 島根大学生物資源科学部

Changes in Inner Contents of New Savory Wild Radish during Some Soaking Processes

BAN Takuya*[†]§, HONTANI Hiroshi* and KOBAYASHI Nobuo*

* 1 Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University,
1060, Nishikawatsu, Matsue-shi, Shimane 690-1102

In this study, we made pickles from new savory wild radish and determined the changes in the endogenous contents of the roots during the soaking processes. The changes in weight and endogenous contents of the roots, such as total soluble solids; total phenol concentrations; and reduced ascorbic acid, varied according to the soaking methods. The concentration of isothiocyanate in the roots increased during the pickle curing process. On the basis of these results, we concluded that the roots of new savory wild radish can be used as raw materials for making pickles.

(Received Feb. 24, 2010; Accepted Oct. 21, 2010)

Key words : functional component, isothiocyanate, signature agricultural product, soaking process, wild radish
機能性成分, イソチオシアネート, 特産農作物, 漬加工, ハマダイコン

ハマダイコン (*Raphanus sativus* L. f. *raphanistroides* Makino) は本邦およびアジア大陸東部の海岸域に自生し、その起源はこれまでのオグラ型細胞質等の研究から、従来の栽培ダイコンの野生化説に対し、中国大陸に由来する野生種説が支持されているアブラナ科ダイコン属の植物である^{1)~3)}。ハマダイコンの根部は小型で繊維質に富み⁴⁾、非常に強い辛味を呈することから、全国的にこれまでほとんど食用に供されてこなかった。これに対し、山陰地域では自生するハマダイコンを「野大根」と称してそば等の薬味として利用する習慣があり、一部では栽培化も試みられている。近年、日本では消費者の農産物に対するニーズの多様化とともに在来の農作物の見直しや、これらの植物資源を有効利用した育種、さらには特産品の開発が全国各地で進められている。このような背景のもと、私たちは新しい山陰地域の特産物としてのハマダイコンの栽培化と育種を2002年より進めており、新香辛野菜、通称「出雲おろち大根」の作出に成功した⁵⁾(図1)。「出雲おろち大根」は主に島根県内を中心に生食用(おろし用)として普及を開始しているが、今後、さらなる栽培振興や販路の拡大のためには新たな利用形態を模索する必要がある。そこで本研究では、ハマダイ



図1 ハマダイコン選抜系統(2008年産)

コンを利用した新たな食品を開発することを目的に、数種の漬物の試作とその加工工程における根部成分の変化を調査した。

実験方法

1. 供試材料

2006年9月、島根大学生物資源科学部実験圃場にハマダイコン選抜系統(4世代目)を播種し、通常の栽培ダ

* 〒690-8504 島根県松江市西川津町1060

† (現住所): 東京農工大学農学部 (〒183-8509 東京都府中市幸町3-5-8)

§ Corresponding author, E-mail: tban@cc.tuat.ac.jp

イコンの管理方法に従い栽培した。2007年1月から3月にかけて根部を収穫し、洗浄後、直ちに定法に従い漬加工を実施した。実験に供試したハマダイコンの根部の平均重量は 143.8 ± 7.8 g ($n=60$)であった。各漬加工の詳細は以下のとおりである。

(1) 浅漬 ハマダイコンの根部5 kgを市販漬物樽(3斗用, 直径51cm×高さ42cm, 新輝合成(株))内に並べ、根部全体が浸かる程度の5%食塩水を添加した。重石は原菜重量の5倍である25kgとした。貯蔵は4℃の冷蔵庫内において14日間とした。

(2) 醤油もろみ漬 ハマダイコンの根部5 kgを市販漬物樽(3斗用, 直径51cm×高さ42cm, 新輝合成(株))内に並べ、20kgの醤油もろみを添加した。重石は原菜重量の4倍である20kgとした。貯蔵は4℃の冷蔵庫内において28日間とした。

(3) たくあん漬 干し工程としてハマダイコンの根部8 kgを4℃で10日間乾燥させた。乾燥後の根部の重量は原菜重量の81.6%であった。糠床(食塩320 g, 米糠500 g, 市販のたくあん漬の素9.5 gを混合したもの)を市販漬物樽(3斗用, 直径51cm×高さ42cm, 新輝合成(株))を用いて調製し、根部を漬込んだ。重石は原菜重量の1.5倍である12kgとした。貯蔵は4℃の冷蔵庫内において60日間とした。

各漬工程において根部を経時的に3個体ずつ採取し、重量測定と内成分の分析を行った。

2. 測定・分析方法

根部の内成分の測定のため、各個体の中央部を皮付きのまま切り出した。還元型アスコルビン酸含量は、10 gのサンプルに10%メタリン酸水溶液25 mlを添加し、磨砕後、蒸留水で50 mlに定容した抽出液を小型反射式光度計(RQflex10, Merck KGaA, Germany)で測定することにより算出した。ポリフェノール含量はFolin-Denis法で測定した。可溶性固形物含量の測定のため、根部を市販のダイコンおろし器でおろし、Miracloth(CALBIOCHEM, Germany)でろ過後、搾汁液を得た。可溶性固形物含量は屈折式糖度計を用いて測定した。イソチオシアネート含量の測定は浅漬を行った根部でのみ実施した。分析方法は江崎ら⁶⁾の方法に準じ、浦島ら⁷⁾の手法を参考に測定した。すなわち、前述の搾汁液を密閉容器に入れ、30℃で30分間インキュベートし、イソチオシアネートを生成させた。サンプル5 mlに20 mlのエタノール-アンモニア溶液(39:1, v/v)を添加し、30℃で60分間インキュベートし、チオウレアを生成させた。サンプル25 mlに1 mlの50%酢酸水溶液を添加し、ろ紙でろ過した。サンプル1 mlに4 mlの改良グロート試薬を添加し、37℃で45分間インキュベートした。サンプルの600 nmの吸光度を測定し、あらかじめ作成したアリルチオウレアの検量線からイソチオシアネート含量を算出した。

結果および考察

漬工程の経過に伴う根部の重量変化を図2に示した。浅漬およびたくあん漬加工を行った根部の重量は調査期間を通じて減少した。これに対し、醤油もろみ漬では漬直後に著しい減少がみられ、その後ほぼ一定の値をとった。野菜類を漬加工した場合、野菜内の水分が漬液中に浸出し、漬液中の塩分が野菜内に浸入することが知られている⁸⁾。さらに、この脱水および塩分の浸入程度は、野菜類の細胞液と漬液の浸透圧の差により変化することが示唆されている。本実験においても根部の重量変化は漬工程毎に異なり、そのなかでもたくあん漬工程で減少率が最も高いことが明らかになった。

根部搾汁液の可溶性固形物含量について、浅漬工程では約12度で安定した(図3)。これに対し、醤油もろみ漬およびたくあん漬加工を行った根部のそれは漬工程の経過とともに増加した。可溶性固形物含量の増加については、根部からの水分の浸出による濃縮効果と原菜への漬液の浸透が考えられる。醤油もろみ漬工程では漬直後から根部重量の急激な減少と可溶性固形物含量の増加がみられた(図2, 図3)。これに対し、たくあん漬工程では根部の重量が急減した収穫後10~15日における可溶性固形物含量の増加程度はほかの調査時期と比較して同

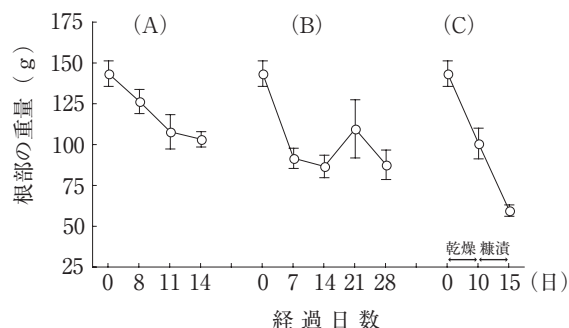


図2 各種漬け工程における根部の重量変化
(A): 浅漬, (B): 醤油もろみ漬, (C): たくあん漬

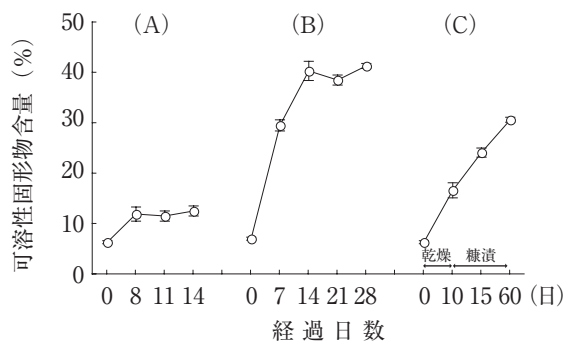


図3 各種漬け工程における根部搾汁液の可溶性固形物含量の変化

(A): 浅漬, (B): 醤油もろみ漬, (C): たくあん漬

程度であった。以上の結果は、たくあん漬と比較して、醤油もろみ漬では漬液の浸透程度が高いことを示すものである。漬液中の糖質は漬物の食味のみならず物理性にも大きな影響を及ぼし、高濃度の糖質は原菜の過度な収縮の原因となる。一般的な栽培ダイコンと比較してハマダイコンの根部は繊維質に富み、肉質は硬い。ハマダイコンの醤油もろみ漬加工は製品の食味の低下と硬化を導く恐れがあることから、本品種独自の漬床の調製条件の探索が必要であろう。

漬工程の経過に伴う根部の総フェノール含量の変化を図4に示した。浅漬およびたくあん漬工程において、総フェノール含量がほとんど変化しなかったのに対し、醤油もろみ漬工程では加工直後から著しい増加がみられ、その増加は貯蔵期間を通じて継続した。醤油もろみ漬の漬液は、ダイズ、食塩等を原料として調製する。ダイズ子実にはイソフラボン等のフェノール物質が含まれることから⁹⁾、漬工程においてこれら物質が漬液から根部に浸透し、その結果として総フェノール含量が増加したものと考えられる。たくあん漬の漬床は米糠・食塩等を原料として調製するが、米糠にも種々のフェノール物質が含まれる。しかし、醤油もろみ漬工程と比較して、たくあん漬工程ではポリフェノール含量は調査期間を通じてほとんど変化しなかった。今回調製した醤油もろみ漬とたくあん漬の漬床の性状は全く異なるものであったことから、フェノール物質の漬床から根部への浸透程度には漬床の水分含量等の物理性が大きな影響を及ぼすものと考えられる。

根部の還元型アスコルビン酸含量に関して、浅漬工程では日数の経過とともに増加した。これに対し、醤油もろみおよびたくあん漬工程では増加の後、減少した(図5)。各漬工程における還元型アスコルビン酸含量の増加は、ほかの内成分の変化と同様、根部からの脱水に伴う濃縮効果の結果であるものと推測される。たくあん漬工程における急激な還元型アスコルビン酸含量の低下の原因は不明である。しかし、ダイコン根部におけるアスコルビン酸含量はたくあんの褐変に非常に大きな影響を及ぼすことから¹⁰⁾、今後詳細な検討が必要と思われる。

図6に浅漬工程における根部のイソチオシアネート含量の推移を示した。辛味ダイコンの食味に関する最大の特徴ともいえる本成分含量は漬工程の経過に伴い増加し、根部の試食においても辛味の存在が確認できた。これに対し、醤油もろみおよびたくあん漬を行った根部では、試食において辛味が確認できなかった。これは、根部のイソチオシアネートが漬工程において分解された結果であるのか、ほかの物質との共存により不感になったのか、その原因は不明である。辛味ダイコンの加工品における辛味成分の保持は加工品の商品価値を決定する重要な要因であるため、この点に関しても精査が必要であろう。

本研究により、ハマダイコンの漬加工は十分可能であり、数種の漬加工を行った場合の根部成分の変化が明らか

になった。ハマダイコンの漬物を調製する場合、本ダイコンの特徴である辛味を製品に活かすためには浅漬加工が有効であると考えられる。さらに本ダイコンは繊維質に富むが、醤油もろみ漬における食感評価が良好であった。今後、漬物をハマダイコンの新たな利用法の一つとして位置付け、おろしとともに積極的に普及を図る予定である。

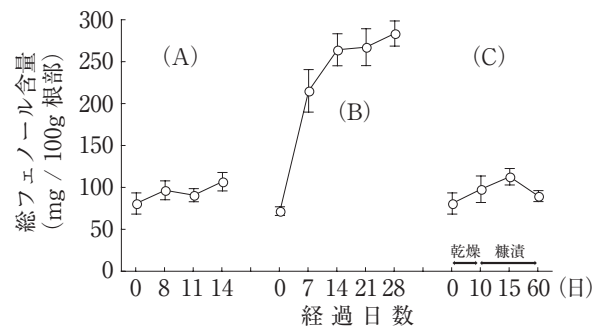


図4 各種漬け工程における根部中の総フェノール含量の変化

(A)：浅漬，(B)：醤油もろみ漬，(C)：たくあん漬

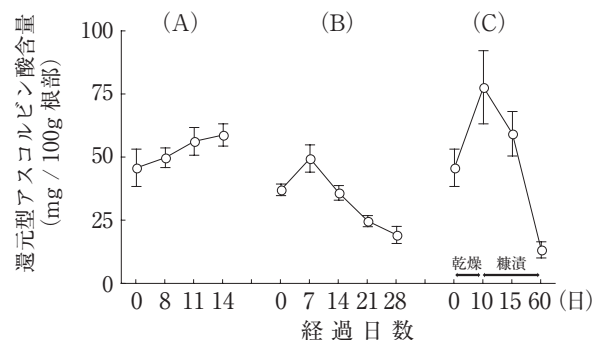


図5 各種漬け工程における根部搾汁液の還元型アスコルビン酸含量の変化

(A)：浅漬，(B)：醤油もろみ漬，(C)：たくあん漬

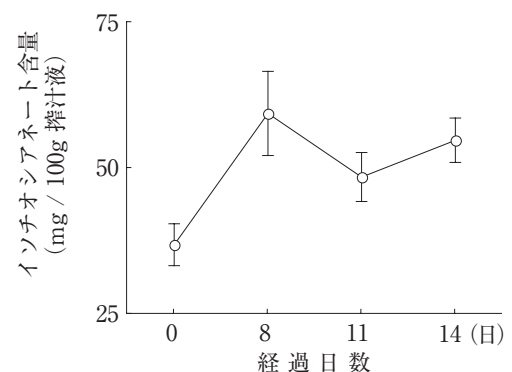


図6 浅漬工程における根部中のイソチオシアネート含量の変化

謝 辞 本研究の一部は(財)山崎香辛料振興財団平成18年度研究助成金によって行われた。漬加工に関して、農事組合法人みよりの里講武理事 石橋享子氏を始め組合員の皆様にご協力いただいた。ここに記して謝意を表す。

文 献

- 1) 青葉 高：ものど人間の文化史43 野菜—在来品種の系譜— (法政大学出版局, 東京), pp.158~160 (1981)
 - 2) YAMAGISHI, H., TATEISHI, M., TERACHI, T. and MURAYAMA, S.: Genetic relationship among Japanese wild radishes (*Raphanus sativus* f. *raphanistroides* Makino), cultivated radishes and *R. raphanistrum* revealed by RAPD analysis, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **67**, 526~531 (1998)
 - 3) YAMAGISHI, H. and TERACHI, T.: Molecular and biological studies on male-sterile in the Cruciferae. III. Distribution of Ogura-type cytoplasm among Japanese wild radishes and Asian radish cultivars, *Theor. Appl. Genet.*, **93**, 325~332 (1996)
 - 4) 牧野富太郎：原色牧野植物大圖鑑 (北隆館, 東京), p.149 (1982)
 - 5) 伴 琢也・小林伸雄・本谷宏志・門脇正行・松本真悟：ハマダイコンの栽培化と利用について, *園学研*, **8**, 413~417 (2009)
 - 6) 江崎秀男・小野崎博通：大根中の辛味成分の比色定量法, *栄養と食糧*, **33**, 161~167 (1980)
 - 7) 浦嶋泰文・須賀有子・福永亜矢子・池田順一・堀兼明：有機物連用圃場におけるダイコンの品質, *近中四農研報*, **1**, 61~75 (2002)
 - 8) 小川敏男：漬物製造学 (光琳, 東京), pp.25~56 (1999)
 - 9) NAIM, M., GESTETNER, A. B. and BIRK, Y.: Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones, *J. Agruc. Food Chem.*, **24**, 1174~1177 (1976)
 - 10) 小川敏男：漬物製造学 (光琳, 東京), pp.105~136 (1999)
- (平成22年2月24日受付, 平成22年10月21日受理)

ソフトパックにより包装されたイチゴの 損傷発生に及ぼす衝撃の影響

北澤裕明^{*1§}・佐藤達雄^{*2}・石川 豊^{*1}
中村宣貴^{*1}・椎名武夫^{*1}

*1 〔独〕農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

*2 茨城大学農学部附属フィールドサイエンス教育研究センター

Effect of Shock on the Damage Occurrence of Strawberry Packaged by Foam Fruit Tray

KITAZAWA Hiroaki^{*1§}, SATO Tatsuo^{*2}, ISHIKAWA Yutaka^{*1},
NAKAMURA Nobutaka^{*1} and SHIINA Takeo^{*1}

*1 National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-12, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642

*2 Field Science Center, Collage of Agriculture, Ibaraki University,
4668-1, Ami, Ami-cho, Inashiki-gun, Ibaraki 300-0331

We investigated damage caused by shock in 'Tochiotome' strawberries by considering fruits with using two types of firmnesses (approximately 5.1 and 6.1 N). Two types of fruits were harvested at different times and were packaged by using a conventional form fruit tray. The fruit were dropped from heights of 0.10, 0.15, 0.20, and 0.25m, and the relationship between shock acceleration and damage occurrence and between shock frequency and damage occurrence were determined; the relationships were observed to be well described by power approximate curve. For the fruit with a firmness of 5.1 N, shock frequencies required to damage the fruit were approximately 34% lesser than those required in the case of 6.1 N for each shock acceleration value. Simulation of damage occurrence during transportation by a home delivery service indicated that such differences in the fruit firmness significantly influence the shipping quality of fruits. Therefore, more effective or improved packaging methods should be developed for transporting strawberries with a low firmness.

(Received Jul. 21, 2010; Accepted Oct. 31, 2010)

Key words : cushioning packaging, fruit firmness, shock, strawberry, transportation

緩衝包装, 果肉硬度, 衝撃, イチゴ, 輸送

イチゴは軟弱果実の代表的な存在であり¹⁾, その輸送中の振動や衝撃による損傷を防止することが課題となっている。これまで, 振動が果実の損傷発生に及ぼす影響については, 多くの研究が行われてきた。中村ら²⁾は, 包装形態の違いが振動によるイチゴの損傷発生に及ぼす影響について調査し, 一般的なイチゴの包装形態である2段詰め包装(以下, 2段詰め)と比較し, 長距離輸送や高級品の出荷に用いられるソフトパック包装(以下, ソフトパック)は, 振動による果実の損傷防止効果に優れることを明らかにした。打田³⁾は, 果肉硬度の違いが

振動によるイチゴの損傷性に及ぼす影響について検討し, 果肉硬度の違いの要因となる品種や収穫時期を考慮した損傷対策の必要性を示唆している。また, 実輸送における振動を考慮した包装方法についても, いくつかの提案がみられる^{4)~6)}。

しかし, ウンシュウミカン⁷⁾やレモン⁸⁾, モモ⁹⁾およびリンゴ^{10), 11)}などの果実において, 衝撃が損傷発生に及ぼす影響について多くの研究事例がある一方で, イチゴにおいて衝撃がその損傷発生に及ぼす影響について検討した事例は少ない。前報¹²⁾において筆者らは, 2段詰めさ

*1 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

*2 〒300-0331 茨城県稲敷郡阿見町阿見4668-1

§ Corresponding author, E-mail: ktz@affrc.go.jp

れた‘とちおとめ’を用いて、衝撃による損傷発生に関する評価試験を実施し、衝撃加速度および衝撃繰り返し回数と果実の損傷発生との関係を累乗近似曲線により表すとともに、この曲線を用いて輸送中の損傷発生予測を行ったが、近年の品種¹³⁾や包装形態の多様化を考慮すると、果実の物性や包装形態ごとの詳細な調査が必要であると考えられる。

本研究では、ソフトパックにより包装されたイチゴの損傷発生に及ぼす衝撃の影響について、2種類の果肉硬度のイチゴを用いて調査した。また、果肉硬度の違いが輸送中の衝撃による損傷発生に及ぼす影響について、実輸送データに照らした予測を試みた。

実験方法

1. 供試材料

(1) イチゴ 供試材料は、茨城県内で生産された‘とちおとめ’とした。着色程度は85%以上、平均果実重量は約13g (2L階級相当)であった。あらかじめ目視による選抜を行い、奇形果や傷のある果実を取り除いた。果実の果肉硬度は果実硬度計 (KM-1, 藤原製作所) により測定した。赤道面の対極2箇所における円筒形プランジャー (5 mm) 貫通時の最大抵抗力を測定し、それら2値の平均を1果あたりの果肉硬度とした。この硬度計の表示単位はkgfであるため、計測値に9.80665を乗じNに換算した。この方法で測定した試験期間中の果肉硬度は、1~2月の調査日では、平均6.1N (5.9~6.4N)、3~4月の調査日では、平均5.1N (5.0~5.2N)であった。そのため、以下に説明する落下試験をそれぞれの時期に実施することにより、果肉硬度の違いによる損傷性を比較することとした。

(2) 包装形態 供試したソフトパックは、蓋つきのポリスチレン製パックの内部に果実の形状に適合するようホールが成型された発泡ポリエチレン製のトレーを内包したものである (図1)。トレーに収納できる果実数は20である。実際の輸送において、これが段ボール箱に梱包されることを想定し、パック底面にイチゴ梱包用の段ボール箱と同質かつ同一面積の段ボール板 (3 mm厚、



図1 供試したイチゴの包装形態

Fフルート)を両面テープで貼り付け、以降に説明する落下試験に供した。

2. 落下高さが衝撃加速度に及ぼす影響

筆者らが以前に実施した青果物の輸送環境調査において、輸送中に想定される落下高さは最大で0.20m前後であることが示唆された¹⁴⁾。そのため、本実験においてはイチゴを詰めたソフトパックを0.10, 0.15, 0.20および0.25mの各高さから木製テーブル上に落下させた際の衝撃加速度を計測した。その際、ソフトパックに内包したトレーの中心付近のホール底面に衝撃計測解析システム (SMH-12, 神栄テクノロジー) に接続された加速度センサー (2366W, 昭和測器) を両面テープで貼り付け、上から果実を載せた。ほかのホールにも果実を収納した。計測された衝撃加速度および速度変化を衝撃・振動解析ソフトウェア (SMS-500, 神栄テクノロジー) に入力し、3次元方向の波形を合成することにより、トレーに生じた最大の衝撃加速度を算出した。試験は各高さについて20回繰り返し返した。

3. 果実の損傷評価

(1) 衝撃加速度および衝撃繰り返し回数の違いが果肉硬度の異なる果実の損傷発生に及ぼす影響 本実験では、各高さから果実を詰めたパックの落下を繰り返し、20果中5果、すなわち25%の果実に水浸状のスポットや果汁の滲出が伴う変形が認められた時点をも損傷発生と定義した。

衝撃の繰り返しによる果実の損傷を疲労破壊の一種であると仮定すると¹⁵⁾、衝撃加速度*G*と損傷発生までの衝撃繰り返し回数*T*との関係は以下の式で表される。

$$T=cG^b \dots \dots \dots (1)$$

ここで、*b*および*c*は定数である。各落下高さに対応する衝撃加速度ごとの損傷発生までの衝撃繰り返し回数を調査し、式(1)との整合性について検討した。各高さおよび果肉硬度ごとに3反復行った。

(2) 輸送中の衝撃による損傷発生に及ぼす果肉硬度の影響評価 輸送工程における衝撃による損傷発生について、実輸送に照らした予測を行った。使用したデータは、久留米市内から東京都内 (大田市場) までソフトパックを2個収納した段ボール箱を4個結束し、これを冷蔵の宅配便にて輸送した際に、最下段の箱内に発生した衝撃加速度および衝撃回数の値である¹²⁾。これらの計測は、輸送環境記録計 (DER-mini, 神栄テクノロジー) により行った。ここで、*T*回の衝撃により損傷する果実に*n*回の衝撃が印加された際の損傷度*D*は、

$$D=nT^{-1} \dots \dots \dots (2)$$

と定義され、損傷発生時における損傷度*D*は1となる。式(1)および(2)を用いて、この行程における各衝撃1回あたりの損傷度*D*を算出し、この総和が1となる箇所を、予測される商品性が喪失する箇所とした。なお、

ここで用いた記録計における計測値と2. で用いた加速度センサーによる測定値との整合を図るため、前報¹²⁾およびISHIKAWA, *et al.*¹⁴⁾の報告に基づき、計測された衝撃加速度値を2倍したうえで、損傷発生予測を行った。

結果および考察

1. 落下高さが衝撃加速度に及ぼす影響

0.10, 0.15, 0.20および0.25mの各高さから落下させた際の衝撃加速度は、それぞれ、32.5, 49.5, 66.3および86.0Gとなり(図2)、両者の関係は以下の式で表された。

$$G = 367.6H^{1.06} \quad (R^2 = 1.00) \quad (3)$$

ここで、Gは衝撃加速度、Hは落下高さ(m)である。

2. 果実の損傷評価

(1) 衝撃加速度および衝撃繰り返し回数の違いが果肉硬度の異なる果実の損傷発生に及ぼす影響 1. で得られた式(3)を用いて、落下高さを衝撃加速度に読み替え、各衝撃加速度をソフトパックに印加した際の果実の損傷発生に及ぼす衝撃加速度と衝撃繰り返し回数を調査した。それぞれの果肉硬度における損傷までの衝撃繰り返し回数は、果肉硬度が5.1Nの場合、32.5Gでは7.7回、49.5Gでは4.7回、66.3および86.0Gでは、それぞれ3.0回となった(図3)。一方、6.1Nの場合、それぞれ12.0, 7.7, 5.3および3.7回となった。このように各衝撃加速度に対する損傷発生までの衝撃繰り返し回数は5.1Nの果実では6.1Nの果実と比較し18~41%、平均すると34%減少した。

また、いずれの果肉硬度においても損傷までの衝撃加速度Gと衝撃繰り返し回数Tとの関係は、それぞれ以下の式で表され、2段階めされたイチゴの繰り返し衝撃による損傷発生¹²⁾と同様に式(1)で示した疲労破壊による損傷発生モデルとよく一致した。

5.1N:

$$T = 267.0G^{-1.03} \quad (R^2 = 0.93) \quad (4)$$

6.1N:

$$T = 829.8G^{-1.31} \quad (R^2 = 1.00) \quad (5)$$

(2) 輸送中の衝撃による損傷発生に及ぼす果肉硬度の影響評価 式(2)、(4)および(5)より、実際の宅配便による輸送経路における1回あたりの衝撃に対する損傷度を算出し、これに基づき各果肉硬度の果実が損傷する地点を予測した。その結果、2.(1)において、果肉硬度の違いによる各衝撃加速度に対する損傷発生までの衝撃繰り返し回数Zの差は平均で34%であったが、この差は実際における輸送中の損傷発生状況に大きな変化をもたらす可能性が示唆された(図4)。ここで、果肉硬度6.1Nの果実の商品性が喪失すると予測されるのは、出荷から15時間を経た後、宅配業者倉庫に約7時間保管され、ここから大田市場に向けて輸送が再開される時点

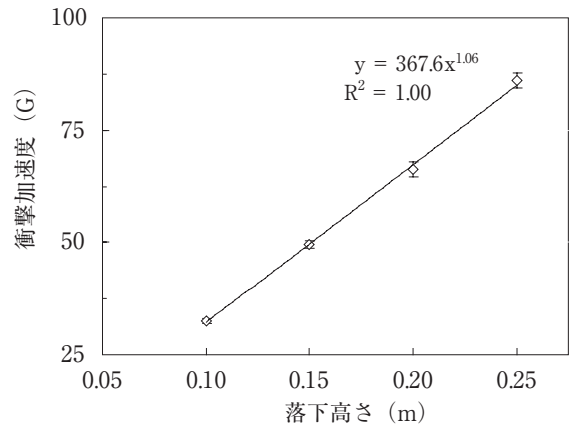


図2 落下高さと衝撃加速度の関係

(各点は20反復の平均値を示し、エラーバーは標準誤差を示す)

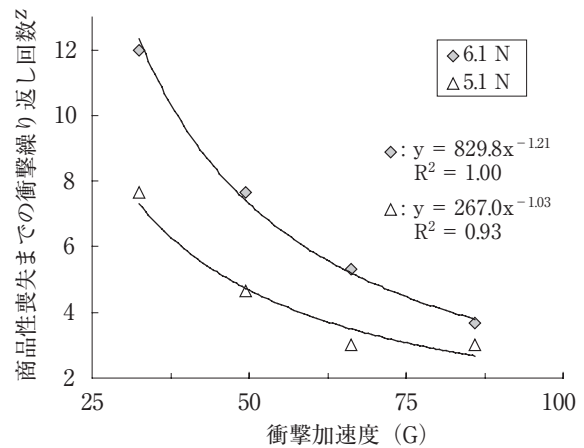


図3 衝撃加速度および果肉硬度の違いが果実の商品性喪失までの衝撃繰り返し回数に及ぼす影響

(各点は3反復の平均値を示す)

Z: 1パック20果中5果に損傷が発生するまでの落下回数

となる。また、ここで供試した果実と同様の果肉硬度を示す、冬から初春に収穫される‘さちのか’や‘とちおとめ’などの品種¹⁶⁾の輸送においては、この結果と同様な損傷傾向になるものと推察される。

一方、果肉硬度5.1Nの果実の商品性が喪失すると予測されるのは、出荷から、およそ7時間半経過した地点となる。春どりされる一季成りイチゴや夏秋どりされる四季成りイチゴでは、その果肉硬度が5.0Nを下回る傾向にあり^{16),17)}、それらの果実では、さらに短時間での商品性の喪失が懸念される。

本研究においては、いずれの果肉硬度の果実を用いた場合においても、大田市場に到着する前に果実の商品性が喪失する可能性が高いものと予測された。実際の流通においては、さらに市場から小売店といった経路が存在することを考慮すると、少なくとも宅配便による輸送を想定した場合、ソフトパック包装の衝撃に対する緩衝性能は不足しているものと考えられた。さらに果肉硬度の

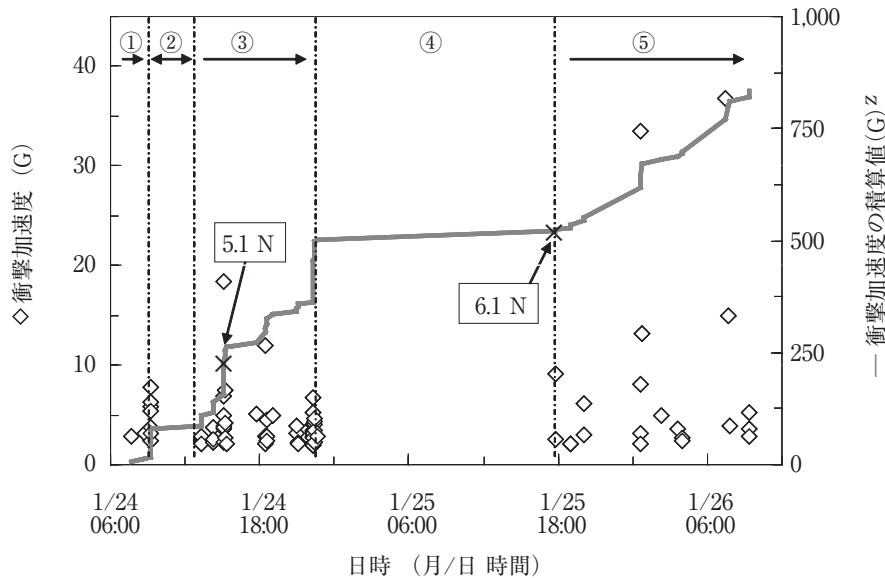


図4 イチゴを久留米市内から大田市場まで宅配便輸送した際における衝撃発生状況およびソフトパック包装されたイチゴの商品性喪失箇所予測

(線上の×は商品性喪失箇所を示す)

- ①：出荷から宅配業者までの輸送
- ②および④：宅配業者倉庫にて保管
- ③および⑤：宅配業者トラックによる輸送

Z：前報¹²⁾に基づき、各衝撃加速度を2倍したうえで積算した値

低い品種あるいは果肉硬度が低くなる収穫時期におけるイチゴの流通が想定されている現状を踏まえると、新たな損傷防止対策について検討する必要があると考えられた。

要 約

イチゴの衝撃による損傷発生に及ぼす果肉硬度の影響について、ソフトパックにより包装された異なる収穫時期より得られた2つの果肉硬度(約5.1および6.1N)のイチゴ‘とちおとめ’を用いて調査を行った。0.10, 0.15, 0.20および0.25mの高さから落下させた際に果実が損傷発生に至るまでの衝撃加速度と衝撃繰り返し回数との関係は、いずれの硬度においても累乗近似曲線により表され、疲労破壊による損傷発生モデルに従った。各衝撃加速度に対する損傷発生までの衝撃繰り返し回数は、果肉硬度が5.1Nの果実では、6.1Nのものと比較し平均で34%少なかった。この違いは、果実の輸送性に大きな違いをもたらすと予測されたとともに、果肉硬度の低い品種に対応した新たな包装設計の必要性が示唆された。

謝 辞 本研究は、文部科学省科学研究費補助金若手研究(B)(課題番号：21780236)の一部として実施されたものである。ここに記して御礼申し上げる。

文 献

- 1) 中村宣貴・梅原仁美・岡留博司・中野浩平・前澤重禮・椎名武夫：振動周波数および振動方向がイチゴの損傷に及ぼす影響，農業施設，**38**，101～108(2007)
- 2) 中村宣貴・梅原仁美・根井大介・岡留博司・石川豊・中野浩平・前澤重禮・椎名武夫：包装条件の違いがイチゴ果実の損傷に及ぼす影響，農業施設，**39**，1～8(2008)
- 3) 打田 宏：イチゴの輸送振動による損傷について，日本包装学会第17回年次大会講演予稿集，60～61(2008)
- 4) SINGH, S. P.: New package system for fresh berries, *Pack. Tech. Sci.*, **5**, 3～12(1992)
- 5) 北澤裕明・石川 豊・中村宣貴・椎名武夫：イチゴ輸送中の損傷を防止する新たな包装形態，日食保蔵誌，**34**，19～23(2008)
- 6) KITAZAWA, H., ISHIKAWA, Y., LU, F., HU, Y., NAKAMURA, N. and SHINA, T.: Alleviation of Strawberry Bruising due to Vibration Using 1-Layer Packaging with Cushioning, *J. Pack. Sci. Tech., Jpn.*, **19**, 33～42(2010)
- 7) 岩元陸夫・早川 昭・河野澄夫・真子正史：選果工程中に受ける落下衝撃の温州ミカン品質に及ぼす影響，農機誌，**38**，539～544(1977)
- 8) 池田裕朗・石川 豊・北澤裕明・路 飛・赤阪信二・塩田 俊：収穫から選果までの間にレモン果実が受ける衝撃解析，園学研，**9**，107～112(2010)
- 9) VERGANO, P. J., TESTIN, R. F., NEWALL JR., W. C. and TREZZA, T.: Damage Loss Cost Curves for Peach Impact Bruising, *J. Food Qual.*, **18**，265～278

- (1995)
- 10) LU, L. -X. and WANG, Z. -W.: Dropping Bruise Fragility and Bruise Boundary of Apple Fruit, *Trans. ASABE*, **50**, 1323~1329 (2007)
- 11) LU, F., ISHIKAWA, Y., KITAZAWA, H. and SATAKE, T.: Measurement of Impact Pressure and Bruising of Apple Fruit Using Pressure-Sensitive Film Technique, *J. Food Eng.*, **96**, 614~620 (2010)
- 12) 北澤裕明・石川 豊・路 飛・胡 耀華・中村宣貴・椎名武夫：イチゴ輸送中の衝撃解析と損傷発生予測, *園学研*, **9**, 221~227 (2010)
- 13) 國久美由紀：栽培イチゴにおけるゲノム特異的DNAマーカーの開発と品種識別技術への応用, 筑波大学生命環境科学研究科, 博士(農学)学位論文 (2008)
- 14) ISHIKAWA, Y., KITAZAWA, H. and SHINA, T.: Vibration and Shock Analysis of Fruit and Vegetables Transport —Cherry Transport from Yamagata to Taipei—, *JARQ*, **43**, 129~135 (2009)
- 15) 岩元睦夫・河野澄夫・早川 昭：青果物輸送の等価再現化に関する研究(第3報), —損傷に影響する振動加速度パワースペクトルの評価—, *農機誌*, **42**, 69~74 (1980)
- 16) 山下ルミ・坂東一宏：イチゴ品種比較試験, 徳島県立農林水産総合技術支援センター農業研究所 平成18年度 試験成績概要書 (<http://www.green.pref.tokushima.jp/nogyo/onlbook/gaiyosyo/2006/yasai12.pdf>) (2010年7月15日確認)
- 17) 岩瀬利己・庭田英子・村上卓司：イチゴ‘なつあかり’の夏秋どり栽培における収量・果実品質と育苗方法, *東北農業研究*, **61**, 157~158 (2008)
(平成22年7月21日受付, 平成22年10月31日受理)
-

Purification and Characterization of α -Amylase from Potato Tuber

NAKAMURA Yu*¹, KOIZUMI Reiji*¹, UCHINO Masataka*^{1§},
SATO Hiroaki*² and TAKANO Katsumi*¹

* 1 Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502

* 2 Department of Food and Cosmetic Science, Tokyo University of Agriculture,
196 Yasaka, Abashiri, Hokkaido 099-2493

In this study, α -amylase from potato tuber was purified and characterized for the analysis of potato processing. One subunit (42 kDa, pI 5.8) of purified α -amylase showed high homology with known glycosidases. This enzyme exhibited optimum activities at pH 6.0 and 50°C. In addition, α -amylase showed 40% activity at 60°C. The adhesiveness was increased by 70% after treatment with purified α -amylase. These results suggested that α -amylase was active during cooking.

(Received Apr. 20, 2010 ; Accepted Oct. 27, 2010)

Key words : potato, α -amylase, potato processing, purification, amino acid sequence

ジャガイモ, α -アミラーゼ, ジャガイモ加工, 精製, アミノ酸配列

Potato (*Solanum tuberosum*) is next important agricultural product after rice, wheat, and corn. The production of potatoes in Japan is approximately 3 million tons per year. In addition, 60% of the domestic consumption is in the form of processed food and fresh produce.

SATO *et al.* reported that the collapse of potatoes during cooking is due to cell separation, which was also influenced by the characteristics of pectin.¹⁾ The pectin degradation during cooking occurred mainly by the key enzyme polygalacturonase.²⁾

However, the main component of potato, except for water, is starch (17.6% ; w/w), not pectin. Therefore, changes in the amount and quality of starch were thought to have an effect on the quality of potato products. There are many reports about starch in various fields.³⁾ For example, characters of starch among potato cultivars were studied to elucidate thermal and viscoelastic properties of potato starch as a starch material. However, there are few studies about starch during potato cooking.

SATO *et al.* reported that starch in potatoes was degraded by steaming.⁴⁾ Gelatinization and swelling of starch involved during steaming is responsible for the changes in the texture of potatoes. Therefore, this factor of degradation of potato starch during

cooking should be clarified for a better understanding of potato processing.

α -Amylase (endo-1, 4- α -D-glucan glucohydrolase, EC 3.2.1.1) plays a significant role in the degradation of raw starch granules.⁵⁾ For example, the quality of wheat was assessed by measuring α -amylase activity⁶⁾ because of its relationship with low viscosity. Witt and Sauter inferred that α -amylase participates at the start of starch degradation in potato tuber.⁷⁾ However, the role of α -amylase with regard to food processing has not been reported or discussed. The correlation between the activity of α -amylase and the reduction of viscosity after cooking was reported.⁴⁾ In addition, endogenous amylase affects the texture of soba (buck wheat noodle) and physical property of bread.^{8), 9)}

In this study, we purified and characterized α -amylase from potato tuber and clarified the relationship between α -amylase and food processing property.

Materials and Methods

The potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Toyoshiro was used as an experimental sample because this cultivar is mainly used for processed food in Japan and 300,000 t of this cultivar are produced per year.¹⁰⁾

§ Corresponding author, E-mail : muchino@nodai.ac.jp

The specific gravity of each tuber was measured using a potato gage (DPG-0.3 K; Asahikawa Keiryō, Asahikawa). Subsequently, the potatoes were classified on the basis of specific gravity; low specific gravity: 1.075~1.084 and high specific gravity: 1.095~. Potatoes with low specific gravity were used in this study, because potatoes with low specific gravity have high α -amylase activity.¹¹⁾

1. Extraction of the crude enzyme and enzyme assay

Potato tubers were peeled and cut to small cubes (1 cm, dice). The pieces were homogenized in 0.1 M McIlvaine buffer (pH 6.0) containing 10 mM CaCl₂ using a food processor (MK-K 60-W; Panasonic, Japan). Subsequently, homogenates were centrifuged at 18,000 g for 30 min and the supernatant was collected (F-1). The extract was treated with rivanol (6, 9-diamino-2-ethoxyacridine lactate, Sigma) and acid clay for removal of polyphenols. Next, ammonium sulfate was added to 50% saturation. The precipitate obtained was dissolved in 1 ℓ of 20 mM McIlvaine buffer (pH 6.0) and dialyzed with the same buffer overnight (F-2). Unless otherwise specified, all steps were conducted at 4 °C.

The activity of α -amylase was measured with the Blue value method modified by FUWA.¹²⁾ One unit of α -amylase activity was defined as reduction by 10% of the optical intensity of the starch-iodine complex color in 1 min at 50°C. The protein amount was determined according to the method of Lowry et al. using BSA as a standard.¹³⁾

2. Enzyme purification

The crude enzyme was loaded on α -cyclodextrin (α -CD)-linked sepharose 6B-epoxy-activated column ($\phi 2 \times 30$ cm) (Amersham Biosciences Co.), previously equilibrated with 10 mM McIlvaine buffer (pH 6.0), and eluted with the same buffer containing 0.25% β -CD. After affinity chromatography, the concentrated samples were then applied to chromatography on a TSKgel G3000SW_{XL} column (TOSHO Corp., $\phi 0.78 \times 30$ cm) and eluted with 20 mM McIlvaine buffer (pH 6.0).

3. Analysis of α -amylase by electrophoresis

Native-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed according to Ornstein and Davis, using 7.5% (w/v) acrylamide gels containing 1.0% (w/v) soluble starch.^{14),15)} After electrophoretic separation, the gel was incubated at 40°C for 3 h in 0.2 M McIlvaine buffer (pH 6.0). The gel was stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB R-

250) for protein detection or with I₂/KI for active staining of amylase. A protein standard molecular weight marker (Pharmacia Biotech) was used for native PAGE. Sodium dodecyl sulfate (SDS)-PAGE was performed according to the procedure of KING and LAEMMLI.¹⁶⁾ Precision Plus Protein™ Standards (Bio-Rad Co.) were used as molecular weight standard proteins. Gels were stained for protein detection with CBB R-250.

4. Determination of N-terminal amino acid sequence

The purified enzyme was separated by two-dimensional electrophoresis (2-D; ATTO Co) according to the manufacturer's instructions. The first dimension was based on isoelectric focusing (pH 3.0~10) using a tube gel system (ATTO Co.), and the second dimension was based on SDS-PAGE using a 5~20% gradient polyacrylamide gel (ATTO Co.).

Gels were stained for protein detection with CBB R-250. Precision Plus Protein™ Standards (Bio-Rad Co.) were used as molecular weight standard proteins. The electrophoresed gel of the purified native amylase was electroblotted onto a polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane. The N-terminal amino acid sequence of the enzyme was determined by Edman sequencing on a pulsed liquid-phase protein sequencer following the manufacturer's manual (PPSQ-20; SHIMADZU).

5. Enzyme characterization¹⁷⁾

The enzyme activity as a function of pH was tested at 50°C with 0.1 M McIlvaine buffer for values of pH 3.0 to 9.0. The effect of temperature on the enzymatic activity was determined at pH 6.0, in the range from 20°C to 70°C.

The effects of various inhibitors and metal ions on enzyme activity were determined. The enzyme was adjusted to 1.0 mM as final concentration in the presence of 2-mercaptoethanol (2-Me), dithiothreitol (DTT), iodoacetic acid, *p*-chloromercuribenzoate (*p*-CMB), or ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and left overnight. Then, the enzyme was examined for survival activity. The effects of metal ions was determined by preincubating the enzyme in the assay buffer at 4 °C for 1 h in the presence of Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Al³⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Fe³⁺, Ag⁺, or Hg²⁺. Residual enzyme activity was assayed at 50°C after addition of the substrate.

6. Texture after α -amylase treatment

The tuber was cut cylindrically ($\phi 1$ cm \times 1 cm), and treated with/without α -amylase (0.5 U) in 20 mM

McIlvaine buffer (pH 6.0) at 50°C for 1 h. After treatment, the cylindrical tuber was boiled in distilled water for 30 min and their adhesiveness was measured. The adhesiveness (J/m^3) was determined using a Rheoner (RE 2 - 33005 ; Yamadwen, Tokyo).

Results and Discussion

1. Enzyme purification

Purified α -amylase had a maximum activity of 2.835 U/mg protein, increase of 10^2 -fold (Table 1). These results imply that α -Amylase was purified at high level. α -Amylase was purified for the purpose of production of monosaccharides by use of α -amylase. There are many reports on the purification of α -amylase by affinity chromatography using α -CD. The specific activity and purification rate in these reports ranged from 0.1 to 2.0 U/mg protein and 10 to 200-fold, respectively. Our results are within these ranges. Therefore, this method was supported for purification of α -amylase.

Analysis by native-PAGE revealed a single band stained by CBB at 140 kDa. In addition, the band of active staining with iodine was almost at the same position of that of the CBB staining (Fig. 1-a). After purified α -amylase was applied on SDS-PAGE, 2 protein bands were confirmed and their molecular weights were approximately 42 and 48 kD, respectively (Fig. 1-b). The concentration of the smaller molecular weight band was twice the concentration of the bigger molecular weight band. These results show that α -amylase consists of a heterotrimer that is linked by a disulfide bond. The molecular weight of α -amylase in various organisms was reported to be mainly in the range from 40 to 50 kDa.¹⁸⁾ Therefore, only one subunit of this enzyme was having amylase activity.

Table 1 Summary of purification of α -amylase from potato

Purification Step	Total protein (mg)	Total activity (units)	Specific activity (units/mg)	Yield (%)	Purification rate (-fold)
F-1	563.0	15.6	0.028	100	1
F-2	155.8	5.8	0.038	38	1
F-3	6.9	7.6	1.100	49	40
$(\alpha$ -CD Sepharose 6B)					
F-4	1.4	4.0	2.835	25	103
$(G3000 SW_{XL})$					

(Potato tuber/100 g)

Next, purified enzyme was applied to 2-D electrophoresis and 3 spots, i.e., spot I (48 kDa, pI 5.8), II (42 kDa, pI 5.8), and III (42 kDa, pI 6.1), were observed (data not shown).

On the basis of the partial N-terminal amino acid sequence, spot II (42 kDa, pI 5.8 ; QLFSFAPDAASITYMYRGFA) shows 92% homology with the N-terminal region of the starch phosphorylase subunit L (AN. Q 9 XH 53) from *S. tuberosum* using the FASTA program with Swiss Prot. Confirmation of the possibility that purified protein was phosphorylase, the phosphorylase activity was measured according to the method of HELEN *et al.*¹⁹⁾

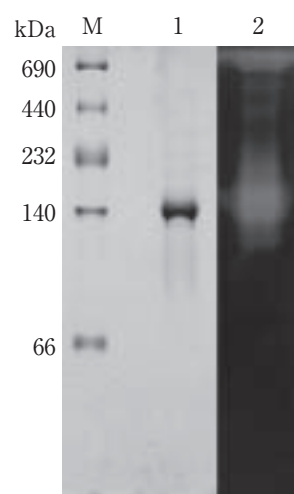


Fig. 1-a Native-polyacrylamide gel electrophoresis of purified α -amylase from potato tuber

Abbreviations : 1, Stained by Coomassie Brilliant Blue R-250 ; 2, Stained by I_2/KI ; M, Molecular Weight Marker

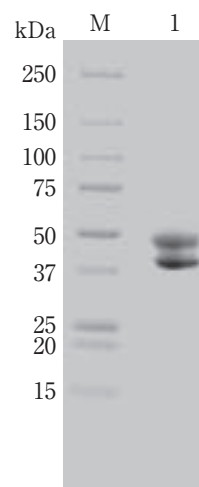


Fig. 1-b Separation by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of purified α -amylase from potato tuber

Abbreviations : 1, purified α -amylase ; M, Molecular Weight Marker

Table 2 Characteristics of α -amylase from potato

	Molecular weight (kDa)	pI	OptimumPH	OptimumTEMP. (°C)	StabilityPH	StabilityTEMP. (°C)
Potato	42	5.8	6.0	50	5.0~8.5	<50
Rice	90	9.6	5.0	60	3.5~6.0	<50
Barley	45	4.7	5.5	37	—	—
Pea	45	—	5.5	—	—	—
Yam	48	—	5.8	60	—	—

Abbreviation: pI: isoelectric point

However, no activity was detected for the purified enzyme. In addition, the purified enzyme was different from the known phosphorylase with regard to its biochemical characteristics (molecular weight and pI). The pI value was within the range described for plant amylases (4.7 to 9.6) (Table 2). However, the amino acid sequence of spot I showed low homology with the protein described. The concentration of spot III was very small compared with that of spot I and II. Therefore, this spot is not important for amylase activity. These results show that the main active unit has a molecular weight of 42 kDa and a pI of 5.8.

2. Enzyme characterization (Table 2)

α -Amylase of potato showed maximum activity at pH 6.0 and 50°C and maximum stability at pH 5.0~8.5 and 50°C or less. The activity of this enzyme remained 40% at 60°C. The range of pH stability of this enzyme is small compared with others. However, the thermal conductivity of potato is lower than that of other vegetables and the pH during boiling of potatoes is usually neutral or slightly acidic. Therefore, the enzyme could be active during cooking.

The enzymatic activity was inhibited by approximately 50% by Hg^{2+} and Ag^+ . The sulfhydryl binding reagents iodoacetamide or p-CMB inhibited amylase activity. This result shows that the enzyme has a cysteine residue in its active site. These characteristics of α -amylase were similar to those reported previously.¹⁸⁾

WITT and SAUTER reported that α -amylase from potato tuber shows maximum activity at pH 7.2~8.0 and has a molecular weight of 44 kDa.⁷⁾ These results were similar to our data. However, some characteristics of α -amylase were different. These differences may depend on the isozyme or cultivar.²⁰⁾ Therefore, characteristics of isozymes of α -amylase from various potato cultivars should be determined in future.

3. Effect of α -amylase treatment on potato

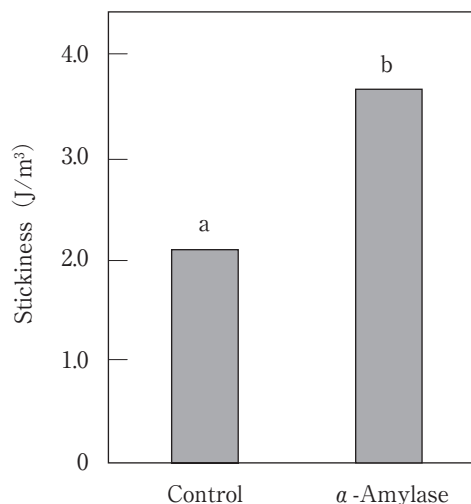


Fig. 2 Effect of α -amylase treatment on texture of potato

The texture of cooked potato was measured by the Rheoner (Yamaden Co.) Values are expressed as mean (standard error), $n=7$. Differences with a p value < 0.05 were considered significant with Scheffe's test, and a and b indicate significance.

processing

The adhesiveness following amylase treatment was 3.69 J/m² and that without treatment was 2.17 J/m². Thus, the adhesiveness was increased by 70% by α -amylase (Fig. 2). The increase in adhesiveness by α -amylase treatment suggests that the action of α -amylase during boiling prevents the collapse of potatoes. α -Amylase shows stability at pH 5.0~8.5 and at temperatures below 50°C. In addition, potatoes are usually cooked at a slightly acidic pH and it takes 10~20 min until the center of the tuber reaches a temperature required to inactivate α -amylase.²¹⁾ Therefore, these data support the effect of α -amylase on the collapse of potato.

There are many reports that show the effects of α -amylase on the properties of food during processing.²²⁾ CHAMBERLAIN *et al.* reported that α -amylase affects the properties of bread because internal α -amylase reacts during fermentation and baking.²³⁾ The amount of reducing sugar in rice increased 2-fold during boiling by α -amylase.²⁴⁾

According to these report, α -amylase is active during boiling potatoes. The report on rice supported this possibility.^{22), 25)} In addition, NAKANO *et al.* reported that on the report, the product with the use of low specific gravity potato occur defective the reason why too soft.²⁶⁾ Those phenomena show similar to raw potato. In contrast to retort, a high degree of specific gravity was shown soft hardness in boiling. By consideration of those phenomena, it was postulated that property of potato processing was affected with difference in behavior of heat between retort and boiling.

In conclusion, we purified and characterized α -amylase of potato. The enzyme consisted of one 48-kDa unit and two 42-kDa units. The small molecular weight unit is the main component of α -amylase based on the amino acid sequences. The enzymatic property is almost similar to that of amylases of other organisms, which supports its effects on the physical property of food during cooking. On the basis of physical experimental data, we concluded that α -amylase affected the structure and changed the physical property of potatoes during cooking. This is the first report that clarifies the relationship between α -amylase activity and the physical property of potato.

References

- 1) SATO, H. and TAKANO, K.: Comparative Texture Profiles and Pectin Substance Change by Steaming of Potatoes with Different Specific Gravity : Studies on the Processing Characteristics of Potatoes Part 4, *Food Preser. Sci.*, **26**, 17~21 (2000)
- 2) NAKAMURA, Y., UCHINO, M., SATO, H. and TAKANO, K.: Effect of Intrinsic Polygalacturonase on Collapse of Potato Tuber, *Food Sci. Technol. Res.*, **56**, 286~290 (2009)
- 3) ZOBEL, H., MOLECULES TO GRANULES - A COMPREHENSIVE STARCH REVIEW, *STARCH-STARKE*, **40**, 44~50 (1988)
- 4) SATO, H., NAGASHIMA, T. and TAKANO, K.: Studies on Processing Characteristic of Potatoes. Part V. Properties of starch prepared from potatoes with different specific gravity, *Food Sci. Technol. Res.*, **48**, 475~481 (2001)
- 5) TANIGUCHI, A., KIKUCHI, S. and TAKANO, K.: Properties of Amylase from Germinated Waxy Wheat Seed, *Journal of Home Economics of Japan*, **61**, 203~211 (2010)
- 6) KATO, J. and OKUMURA, O.: Quality division of the wheat based on α -amylase activity, *Central Agricultural Experiment Station*, **69**, 318~322 (2002)
- 7) WITT, W. and SAUTER, J. J.: Purification and properties of a starch granule-degrading α -amylase from potato tuber, *J. Exp. Bot.*, **47**, 1789~1795 (1996)
- 8) SUGIMOTO, M.: Dcrease of physical property of buckwheat noodles by alpha-amylase in sprouted soba, *Food and technology*, **381**, 10~12 (2003)
- 9) BLASZCZAK, W., SADOWSKA, J., FORNAL, J. and ROSELL, C. M.: Structural changes in the wheat dough and bread with the addition of alpha-amylases, *Eur. Food Res. Technol.*, **219**, 348~354 (2004)
- 10) Calbee-potato inc. homepage (<http://www.calbee-potato.co.jp/life/dictionary/>)
- 11) SATO, H., NAKAMURA, Y. and TAKANO, K.: Difference in Enzymatic Degradation of Starch between Potato Tubers with Different Specific Gravities during Steaming Treatment, *Food Preser. Sci.*, **35**, 79~84 (2009)
- 12) Fvwa, H.: A new method for mierodetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate, *J. Biochem.*, **41**, 584~603 (1954)
- 13) LOWRY, O. H.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265~275 (1951)
- 14) EUGENE, F., RODERTSON, H., KATHLEEN, D., PETER, J. M. and Henry, C. R.: Rapid Isoelectric Focusing in a Vertical Polyacrylamide Minigel Sstem, *Anl. Biochem.*, **167**, 290~294 (1987)
- 15) GENNADY, D. M.: HANDBOOK of DETECTION of ENZYMES on ELECTROPHORETIC GELS, CRC PRESS, 354~355, 343~344 (2003)
- 16) LAEMMLI, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assemble of the head of bacteriophage T 4, *Nature*, **227**, 680~685 (1970)
- 17) TSUJII, Y., UCHINO, M. and TAKANO, K.: Purification and Characterization of Polygalacturonase from Polished Rice, *Food Preser. Sci.*, **33**, 189~196 (2007)
- 18) Enzyme Database-BRENDA (<http://www.brenda-enzymes.org/>)
- 19) HELEN, H. M., YING, Y. B., WASSERMAN, P. and GEORGE, M. C.: Purification and Characterization of the Maize Amyloplast Stromal 112-kDa Starch Phosphorylase, *Archive of Biochemistry and Biophysics*, **388**, 155~164 (2001)
- 20) ODA, S., KANETI, M. and OKA, M.: Varietal difference in α -amylase isozyme of Japanese and Austrarian wheats, *Jpn. J. Breed*, **39**, 232~233 (1989)

- 21) KASAI, M.: Textural property of vegetables and cooking, *Journal for the integrated study of dietary habits*, **17**, 100~104 (2006)
- 22) TSUJII, Y., KITAMURA, R., UCHINO, M. and TAKANO, K.: Effect of Endospermous Amylase on Suitability for Processing of Glutinous Rice, *Food Preser. Sci.*, **33**, 63~69 (2007)
- 23) CHAMBERLAIN, N., COLLINS, T. H. and MCDERMOTT, E. E.: Alpha-amylase and bread properties, *J. Food. Technol.*, **16**, 127~152 (1981)
- 24) MARUYAMA, E., KAJITA, T., NISHI, T. and MIYATA, Y.: Studies on the Cooked Rice Part IV: Behavior of amylase activity of Cooked Rice, **32**, 253~258 (1981)
- 25) MATSUURA, C., OHARA, A., YAMAUCHI, H., MORI, M. and FUJIKAWA, S.: Disintegration Differences in Cooked Potatoes from Three Japanese Cultivars: Comparison of Starch Distribution within One Tuber and Tissue Structure, *Food Sci. Technol. Res.*, **8**, 252~256 (2002)
- 26) NAKANO, A.: The hardness of potato treated with retort, *Journal of agricultural cryo-sciences information*, **6**, 19~20 (2000)

ジャガイモ塊茎由来 α -アミラーゼの精製および性状について

中村 優^{*1}・小泉怜児^{*1}・内野昌孝^{*1}
佐藤広顕^{*2}・高野克己^{*1}

* 1 東京農業大学生物応用化学科
(〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)

* 2 東京農業大学食品香粧学科

(〒099-2493 北海道網走市八坂196)

ジャガイモの加工特性への関与が考えられる α -アミラーゼをジャガイモ塊茎から精製し、その性状およびジャガイモの物性への影響を調べた。アフィニティークロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーにより得られた精製 α -アミラーゼを二次元電気泳動に供したところ、48 kDa, pI 5.8と42 kDa, pI 5.8および6.1のタンパク質スポットが確認され、42 kDa, pI 5.8のタンパク質についてN末端アミノ酸配列を解析したところ、既知の α -アミラーゼとの類似性を示した。また精製 α -アミラーゼは、pH 6.0および50℃で最大活性を示し、 Hg^{2+} および Ag^+ にて活性は阻害され、60℃においても20%の残存活性を示した。さらに精製 α -アミラーゼ処理により、未処理に対して付着性が70%増加したことから、ジャガイモの加熱調理過程における α -アミラーゼの作用が考えられた。

(平成22年4月20日受付；平成22年10月27日受理)