

ミカンの根中デンプンの簡易測定法

静岡県柑橘試験場

副主任 杉 山 泰 之

はじめに

ミカンでは豊作年の翌年は不作年になる、いわゆる隔年結果現象が存在する。果樹生産農家からは安定生産技術の開発に対する要望が強く、その現象の解明や対応技術の確立が急がれている。また、平成6年、7年と2年続けて夏季に干ばつがあり、その翌年から全国の温州ミカン産地では大きな隔年結果が発生している。その波は年々大きくなる傾向である。隔年結果の是正に関する技術は昔から研究されているが、なお現在も全国の試験場で新しい技術を研究・開発中である。一方、当試験場では1989年から樹体内の炭水化物含有率に着目し、隔年結果現象・生産性との関連、分析方法等について研究を進めてきた。その結果、炭水化物の中では冬季の根中デンプン含有率に着果負担や木の栄養状態が鋭敏に反映されることがわかってきた。さらに、簡易にデンプンを分析する方法を検討したので、今回報告する。

収穫量と根中デンプン含有率との関係

静岡県下の代表的な青島温州16園について、無

作為に各園5樹を選び、1989年～1991年に毎年12月に着果数、1果重、幹周を調査した。また各樹から5mm程度の根を採取し炭水化物を分析した。デンプンの分析方法は試料0.5gに80%エタノール25mLを加え、可溶性糖類を87℃で30分間抽出後、遠心分離により除去し、残渣に蒸留水10mLを加え、沸騰湯煎中で30分間加熱し、デンプンを糊化させた。冷却後、酵素液〔グルコアミラーゼ (*Rhizopus*, Nagase Biochemicals 製, 1×10^4 GUN \cdot g $^{-1}$) 5mgにマルターゼ (粗酵素, 東京化成製) 10mgを加え、pH5の酢酸緩衝液で50mLに定容したもの〕を加え、40℃で2時間30分加水分解して糖化させた。除タンパクを行った後、Somogyi-Nelson法で定量した。

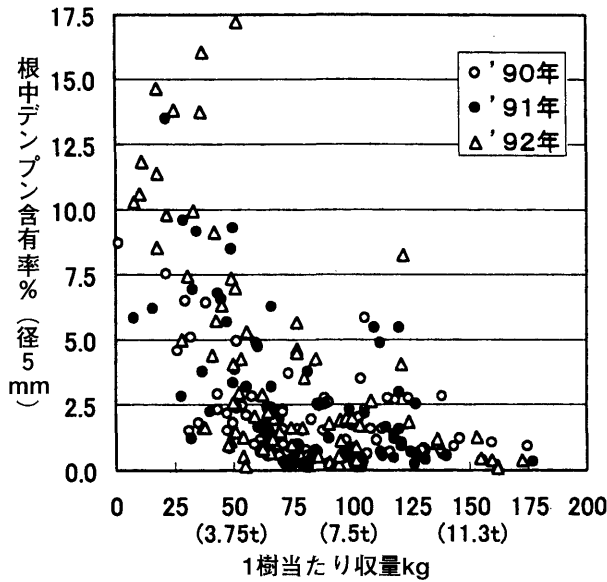
収量と根中デンプン含有率との関係を調査した結果、これらの間には負の相関関係が認められ、収量が少ないとデンプン含有率が多く、収量が多いとデンプン含有率が少なくなる傾向がみられた(図1)。また収量が同じであっても、デンプン含有率に差がある場合が認められ、これは日照条件

本号の内容

§ ミカンの根中デンプンの簡易測定法	1	静岡県柑橘試験場 副主任 杉 山 泰 之
§ 我国の稲作施肥の変遷 (5) 一戦後、昭和40年迄	5	ホクレン農業協同組合連合会 (JAグループ) 管理本部 役員室 農学博士 関 矢 信 一 郎
§ 輪島の千枚田土壌とイネ作り	9	石川県農業短期大学教授 付属農場長 (土壌環境科学) 長谷川 和 久

や前年の収穫量，土壤条件，施肥量などが複雑に作用したものと考えられた。以上の結果から，冬季の根中デンプン含有率は栄養診断の指標となると考えられた。

図 1. 収量と根中デンプン含有率との関係 (大城ら, 2000) (静岡県内代表的な園地における)

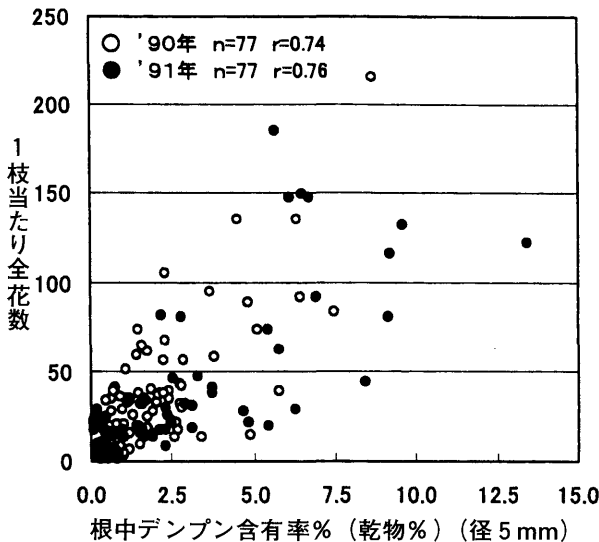


() 内は10a (75本植) 当たり収量を示す

根中デンプン含有率と翌年の着花数の関係

冬季の根中デンプン含有率と翌年の着花数との関係を検討した。その結果デンプン含有率と着花量の間には，正の相関関係がみられ，デンプン含有率が高いほど翌年の着花数は多くなる傾向であ

図 2. 根中デンプン含有率と次年度の着花数との関係 (大城ら, 2000)



った。相関係数は初年目0.74，2年目0.76となった (図 2)。

このように，冬季の根中デンプン含有率と翌年の着花数との間に関係があることが明らかになったことから，着花量の推定の指標として利用可能と考えられた。

冬季の根のデンプン含有率を調査することで，様々な情報が得られることが明らかになった。しかし，従来行っていた酵素分解法では操作が煩雑で分析に長時間を要するため，多数の試料の分析が困難であった。そこで農協の生産指導技術員や農業改良普及員でも簡単に分析できる方法を検討した。

ヨウ素比色法による分析

実験材料には，静岡県各地において栽培されている露地栽培のウンシュウミカン '青島温州' を用いた。21園地より1996年11月29日から12月1日にかけて採取した中根 (直径約 5mm) を分析試料として供試した。採取した中根は洗浄後，80℃で通風乾燥し，微粉碎したものをデンプン測定用試料とした。

実験 1：簡易法におけるデンプン抽出方法の検討 (方法)

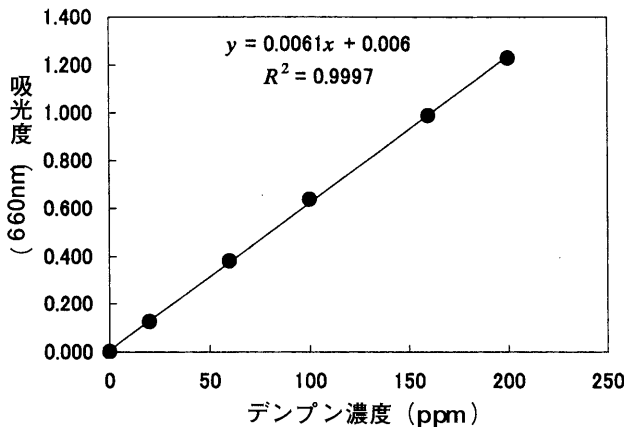
試料中のデンプンを簡易に抽出する方法を検討するため，A：デンプンを糊化させるための熱処理法 3水準とB：上澄み液の分離法 2水準を組み合わせた 2元配置実験計画法として検討した。5点の異なる試料 (根) 0.10gにそれぞれ直接蒸留水 10mLを加えた後，A：熱処理法 (3水準①湯煎中 100℃で30分間②オートクレーブ中 115℃で15分間③オートクレーブ中 115℃で30分間) を行い，デンプンを糊化させた。その後，B：上澄み液の分離法 [2水準①ろ過 (ろ紙：No.2, φ110mm, ADVANTEC製) ②遠心分離 (3000rpm, 常温で5分間)] で沈殿物と分離した。得られた上澄み液に 6 molL⁻¹の塩酸を駒込ピペットにより 3滴加え，さらに 0.05 mol L⁻¹のヨウ素溶液を 2 mL加えて反応させた後，50 mLに定容とし，660nmにおける吸光度を分光光度計で測定した。デンプン標品 (でんぶん溶性・関東化学製) について求めた吸光度-デンプン濃度の検量線からデンプン含量を求め，これらの結果から抽出方法として検討したA，B 2要因の測定

値に及ぼす影響を解析した。なお、対照区は従来法の酵素分解法で行い、各区2反復で行った。

(結果)

量の異なるデンプン標品にそれぞれ蒸留水を加え、沸騰湯煎中で糊化させ、ヨウ素溶液を加えて定容後、660nmにおける吸光度を測定したところ、デンプン濃度と吸光度の間に高い相関($R^2=0.9997$)が認められ、簡易法における検量線としての使用は十分可能であった(図3)。デンプン抽出を行う熱処理方法を比較すると、オートクレーブ中115°C

図3. ヨウ素比色法におけるデンプン標品濃度と吸光度との関係



で15分および30分処理では、いずれの試料でもほぼ同じデンプン含量値を示し、従来法によるデンプン含量値が約7.6%以下になるとそれに比べてやや低くなる傾向にあり、約11%以上ではやや高くなる傾向にあった。しかし、湯煎中100°Cで30分

表1. 簡易法における異なる熱処理および上澄み液分離方法がデンプン測定値に及ぼす影響 (%)

A: 熱処理方法	B: 分離方法	サ ン プ ル 番 号				
		A	B	C	D	E
湯煎・煮沸30分	遠心分離	0.38	3.33	6.93	9.9	19.0
	ろ過	0.29	2.78	5.74	7.4	15.5
オートクレーブ115°C・15分	遠心分離	0.51	3.90	7.86	12.0	20.9
	ろ過	0.41	3.19	6.34	11.3	17.7
オートクレーブ115°C・30分	遠心分離	0.49	3.60	7.91	14.5	20.6
	ろ過	0.45	2.98	6.39	11.4	18.0
従来法		0.71±0.19 ^{Z)}	4.12±0.25	7.64±0.05	11.0±0.32	18.4±0.56
分散分析	熱処理	**	**	**	**	**
	分離方法	**	**	**	**	**
	交互作用	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Z) 平均値±標準偏差

** : 1%水準で有意, n.s. : 有意差無し

間処理では、いずれの試料中においてもデンプン含量値は従来法より低くなる傾向にあった。一方、上澄み液の分離方法を比較すると、遠心分離をする方がろ過をするよりデンプン含量値は高くなり、従来法での値が約11%以上になるとそれより高い値を示す傾向であった(表1)。

以上より、オートクレーブで熱処理し、遠心分離を行う方法を用いることが、従来法で得られるデンプン含量値により近似した値が得られる結果となった。しかし、湯煎中100°Cで30分間熱処理し、ろ過を行う方法では、試料中に含まれるデンプンの含量値は従来法に比べて低くなるものの、含量値の高低は的確に表わされ、また、簡易迅速で特別な機器も使用しないことから生産現場においては実用であると思われた。そこで実験2では、デンプンの抽出方法として湯煎中100°Cで30分間熱処理し、ろ過を行う方法を用いることとした。

実験2：簡易法と従来法によるデンプン測定値間の関係

(方法)

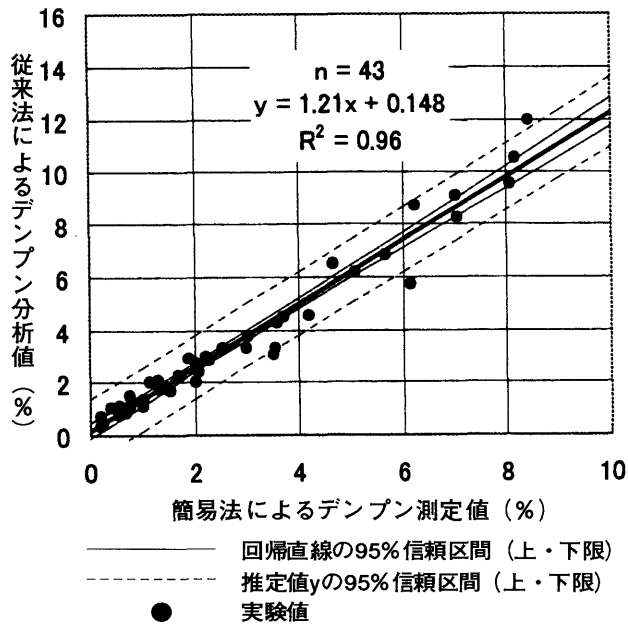
約40点の根の試料を用いて、簡易法では実験1で検討した結果より決定したデンプン抽出方法を用い、簡易法と従来法でデンプン含量を測定し、両方法による測定値間の関係を検討し、簡易法の実用性について検討した。

(結果)

根の試料における簡易法と従来法によるデンプン測定値間には高い相関関係($r=0.981^{**}$)が認められ(図4)、回帰直線 $y=1.21x+0.148$ が推定された。また、回帰式($y=ax+b$)の係数a, bの信頼度95%信頼区間は $a=1.21\pm 0.075$, $b=0.148\pm 0.277$ 、回帰直線の推定の標準誤差は0.587であった。推定値yの95%信頼区間は $y=1.21x+0.148\pm 1.19\sqrt{1.05-0.02x+0.0039x^2}$ で示された。

これらのことから、ウンシュウミカンの根から調製した試料を湯煎中100°Cで

図4. 温州ミカンの根中デンプン含有率における従来法と簡易法との関係および回帰直線と推定値yの95%信頼限界



30分間熱処理し、ろ過を行う方法でデンプンを抽出し、ヨウ素比色法を用いてデンプンを測定する簡易法では、煩雑なデンプン抽出および糖化操作の必要もなく、多点の試料を短時間に測定することが可能となった。また、従来法と比べて測定値はやや低くなるものの相関が高いことが明らかとなったことから、多くの生産現場に即応できる測定方法と考えられた。

以上の結果から、迅速で、特別な薬品や機器を用いることなくウンシュウミカンの根のデンプンを簡単に測定できる簡易法の操作手順を以下のように考えた。

- 1) 採取した根を十分洗浄した後、80℃で通風乾燥後、微粉碎（振動ミル）する。
- 2) 粉碎試料0.10gに蒸留水10mLを加え、沸騰湯煎中で30分間加熱し、デンプンを糊化させる。
- 3) 糊化したデンプンを含む上澄み液と沈殿物を分離するためにろ過を行い、ろ紙上の残渣を数回洗浄後、ろ液を50mLのメスフラスコ中に入れる。
- 4) 6 molL⁻¹の塩酸を駒込ピペットにより3滴加えて微酸性とし、さらに0.05 molL⁻¹のヨウ素溶液を2 mL加えて反応させた後、蒸留水で50mL

に定容する。

- 5) 分光光度計を用いて試料溶液の660nmにおける吸光度を測定する。
- 6) 可溶性デンプン標品について求めた吸光度—デンプン濃度の検量線から試料中のデンプン濃度を求める。

なお、試料1点当たりの測定時間は従来法では9時間要したのに比べ簡易法では1時間程度と著しく短縮され、1日当り100点以上の分析が可能であった。

分析上の注意点として①分析試料は微粉碎する（粉碎が不十分な試料では分析値が低くなる）②デンプン含有率の高い試料ではる過に長時間を要する③デンプンの標準物は試薬会社により分析値が異なる場合がある（今回使用したのは関東化学製のポテトを原料とする「デンプン溶性」であり、アミロースとアミロペクチンの混合比が約11対89のものだった）④ヨウ素溶液は薬局で販売しているヨウドチンキ（ヨウ素 3 g 100mL⁻¹）を5倍にうすめたものでも代用できる⑤正確な分析値を求めたい場合は一度常法と比較し確認する必要がある等である。

現在当試験場ではこの分析方法を用い、冬季根中デンプン含有率の適正值を調査中である。

引用文献

- 1) 大城晃・杉山泰之・片山晴喜・河村精・久田秀彦・岡田長久：ウンシュウミカンにおける冬季根中デンプンによる樹体栄養診断の開発，土肥誌，71，259-262（2000）
- 2) 杉山泰之・大城晃：ウンシュウミカンの栄養診断のためのヨウ素比色法によるデンプン簡易測定法，土肥誌，72，81-84（2001）