

種子を用いたダイコン青変症の発症リスク評価法

永田 雅靖*・寺西 克倫**

(平成 27 年 9 月 18 日受理)

A New Seed Testing Method for Evaluating the Risk of Blue Internal Discoloration in Daikon-Japanese Radish (*Raphanus sativus* L.) -Roots

Masayasu Nagata and Katsunori Teranishi

I 緒 言

ダイコン (*Raphanus sativus* L.) は、日本で生産される野菜の中ではキャベツに次いで収穫量が多く (1,452 千t)、栽培面積もキャベツに次いで広い (33,300ha) 野菜である (農林水産省, 2015)。また、ダイコンは、サラダや刺身のつま、大根おろしとして生食するだけでなく、煮物や漬け物など利用の用途も多様である。ダイコンの国内生産量の約 60% が加工・業務用として利用され、食品産業の重要な加工原料となっている (農畜産業振興機構, 2014)。

収穫時には品質に問題の無かったダイコンの肥大根部 (以下、根部と記す) の内部が、出荷後 3 日程度で青色に変色する現象が知られている (池下ら, 2011)。このような現象は、日本各地で発生しており、ダイコン青変症 (せいへんしょう) と呼ばれている (図-1)。

青変症を発生したダイコンを見つけた消費者や実需者からは、安全性に関する問い合わせが保健所等に寄せられる。食品産業においては、加工の準備段階で青変症が確認されると、当日の生産計画に大幅な変更を余儀なくされる。ダイコン青変症は、日本各地で散発的に発生しているため、詳細な統計は取られていないが、著者の聞き取り調査では、例えば石川県の全農の販売担当者へのクレーム件数は年によって変動し、少ない年で数件から

十件、多い年 (2009 年) には数十件のクレームが寄せられている。他県でも同様なクレームが寄せられているものと推察される。ある実需者では、おろし用食材で青変症が発生して使用不可となる例が 3 月を中心に十件程度発生し、返金になるケースもある。青変症が発生すると、出荷した大根が回収・廃棄されたり、さらには産地と実需者間で取引停止に至る場合もある。これまで、ダイコン青変症の発生機構や発生要因が明らかでないために、根本的な対策が立てにくく、ダイコン青変症の発生は、産地における潜在的な脅威になっていた。

従来、ダイコン青変症の発症程度の評価は、20℃程度の温度でダイコンを貯蔵し、5~7 日後に根部を切断して青色の発生を確認していた。池下ら (2011) は貯蔵試験による発症評価で、品種によって発症の程度が異なることなどを明らかにした。しかし貯蔵試験による評価は、再現性にばらつきが大きく、判定までに時間がかかることから、ダイコン青変症の発症機構解明や現場での対策に用いることは困難であった。



図-1 ダイコン青変症の例 (品種 '福登' の切断面)

〒 514-2392 三重県津市安濃町草生 360

野菜病害虫・品質研究領域

* 農研機構食品総合研究所食品工学研究領域

** 三重大学大学院生物資源学研究所

ダイコン青変症の色素は、植物性食品に生じる青色色素のため、従来はアントシアニンであると考えられていたが、物質として同定された例は無かった。著者らが青変症を発症したダイコンに含まれる青色色素の有機溶媒に対する溶解性や pH 反応など基本的な化学特性を解析した結果、従来説とは異なって、ダイコン青変症ではアントシアニンとは特性が全く異なる青色色素が生成していることを見いだした(永田ら, 2012)。これらの知見を得る過程で、ダイコン青変症を発症している根部の切片を還元物質であるアスコルビン酸で処理すると青色が退色することも発見した。そこで、この逆反応として、青変症を発症していないダイコン切片を様々な酸化物質で処理してみた結果、過酸化水素水(1~3%)で処理すると、塗布した面に青色色素が生成することを見いだした(寺西ら, 2013b)。さらに、青変症を発症していないダイコン根部の切片を用いて、この方法により、ダイコン青変症を発症しやすい品種と発症しにくい品種を比較したところ、発症しやすいダイコン品種では、過酸化水素処理により明らかな青色の生成が見られるのに対し、発症しにくいダイコン品種では青色が生成しなかった。このことは、ダイコン根部には、無色の色素前駆物質が含まれており、それが酸化を経てアントシアニンとは全く異なる機構で青色色素になることを示している。ダイコン根部を用いたダイコン青変症リスク評価法は、過酸化水素処理により1~10分程度で発症のリスクを知ることができるため、従来の貯蔵試験による発症程度の評価に比べて簡便で、確実性も高いため、栽培や流通の現場でも使われるものと期待している。

しかし、先に開発したダイコンの切片を用いた青変症リスク評価法(寺西ら, 2013b)は、評価のためにダイコンを長期間栽培する必要があった。そこで、同様の検出原理を種子に応用することで、圃場での栽培を必要とせず、ダイコン青変症の発症リスクを簡易・迅速に判定できる検定法の開発を試みた。

本試験を行うにあたり、ダイコン試料を供与いただいた、石川県農林総合研究センター農業試験場砂丘地農業研究センター、増田大祐氏および、神奈川県農業技術センター三浦半島地区事務所、増田義彦氏に深く感謝いたします。

II 材料および方法

供試した18品種のダイコンの品種名、販売元の種苗会社と栽培地を表-1に示す。

表-1 ダイコン根部および種子の青変症リスク評価に用いたダイコン品種、種苗会社およびダイコン根部試料の栽培地

品種名	種苗会社	栽培地
福誉	みかど協和	石川県 ^a
夏みどり8号	中原採種場	石川県 ^a
夏の守	サカタのタネ	石川県 ^a
夏みどり5号	中原採種場	石川県 ^a
俊才	トーホク	石川県 ^a
夢誉	みかど協和	石川県 ^a
秋峠	トーホク	神奈川県 ^b
福天下	みかど協和	神奈川県 ^b
YR健勝2号	丸種	神奈川県 ^b
青づまり2号	中原採種場	神奈川県 ^b
与作	中原採種場	神奈川県 ^b
青大将2号	中原採種場	神奈川県 ^b
YR早生おでん	中原採種場	神奈川県 ^b
ホワイトスティック	ナント	三重県 ^c
源助	タキイ種苗	三重県 ^c
白秋	タキイ種苗	三重県 ^c
冬の浦総太り	カネコ	三重県 ^c
耐病総太り	タキイ種苗	三重県 ^c

^a 石川県農林総合研究センター農業試験場砂丘地農業研究センター(石川県かほく市)

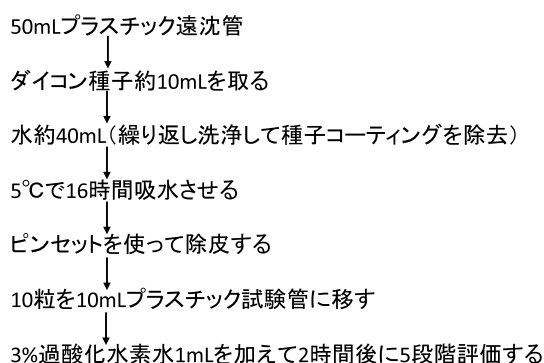
^b 神奈川県農業技術センター三浦半島地区事務所(神奈川県三浦市)

^c 三重大学研究農場(三重県津市)

ダイコンの肥大根部(以下、ダイコン根部)を用いた評価には、石川県農林総合研究センター農業試験場砂丘地農業研究センター(石川県かほく市)、神奈川県農業技術センター三浦半島地区事務所(神奈川県三浦市)、三重大学研究農場(三重県津市)で2012年の秋冬期に、それぞれの標準的な条件で栽培したダイコン根部を用いた。収穫後、4℃で保存したダイコン4本の根部を中央で約3mm厚に縦割りスライスし、1%過酸化水素水を塗布して室温で10分後に写真撮影した。過酸化水素処理で青色色素が生成した根部の切片は、青色の最も濃いものを5、最も薄いものを1として5段階評価した。

ダイコン種子を用いた評価は、それぞれ10mL程度の種子を50mLプラスチック遠沈管に取って水道水を約40mL入れ、超音波洗浄機で繰り返し洗浄して表面の殺菌剤等のコーティングを取り除き、約5℃の冷蔵庫中で16時間程度吸水させた。これらの種子からランダムに10粒を選んで、種皮の一部をGG型ピンセットを使って切開し、種子を取り出した。これらの除皮した種子を10mLプラスチック試験管に移し、3%過酸化水素水1mLを加えて室温で処理し、青色色素の生成や褐変の進行程度を

処理開始後の時間経過とともに観察した。3% 過酸化水素水は、オキシドール（日本薬局方，2.5～3.5 w/v%）の原液を用いた。過酸化水素処理で青変化した 10 粒の種子は、青色が濃く青変化した種子数が多いものを 5，青変化が見られないものを 1 として 5 段階で達観的に評価した（図－2）。



図－2 種子を用いたダイコン青変症リスク評価法の手順

III 結果および考察

ダイコン根部を用いた貯蔵試験や，根部の切片を用いて過酸化水素処理したこれまでの試験により，‘福誉’は比較的青変症が発生しやすい品種であり，‘耐病総太り’は比較的青変症が発生しにくい品種と考えられている（池下ら，2011）．今回の試験で用いた 16 品種のダイコン根部も，過酸化水素処理による青色生成程度は，‘福誉’と‘耐病総太り’の間に分布した（図－3）。

種子を用いた評価条件については，除皮した種子に 3% 過酸化水素処理した直後は，カタラーゼの作用により，酸素の泡が多く発生した．その後，種子に含まれるポリフェノール等による部分的褐変とともに青色色素の生成が進行したが，褐変は 2 時間程度で色が薄くなり，青色のみが残存して観察しやすくなったことから，過酸化水素処理開始 2 時間後に青色の評価を行うこととした．‘福誉’の種子ではほとんどの種子に青色色素の生成が認められたが，繰り返し試験を行っても 10 粒の種子のうち 1 粒程度は青色色素の生成が認められないものもあった（図－4）．‘耐病総太り’の種子ではいずれも青色色素はほとんど生成しなかった．これらの結果から，ダイコン根部で青変症を発症しやすい品種では，その種子においても，根部と同様の青色色素前駆物質を含んでいるものと推察された．

ダイコン根部の切片を用いて過酸化水素処理による青

種子の青色生成程度	5			福天下	福誉
	4	白秋	夢誉		
	3		青大将2号 俊才 YR早生おでん ホワイトスティック	秋峠 YR健勝2号 青づまり2号 夏みどり8号	
	2	源助 冬の浦総太り	夏の守 夏みどり5号 与作		
	1	耐病総太り			
	1	2	3	4	5

ダイコン根部切片の青色生成程度

図－3 ダイコン根部とダイコン種子を用いた青変症リスク評価法による青色生成程度の比較

ダイコン根部：過酸化水素（1%）処理 10 分後の青色生成程度

ダイコン種子：過酸化水素（3%）処理 2 時間後の青色生成程度

色生成程度と，ダイコン種子を用いて行った青色生成程度を合わせてプロットしたところ，根部と種子の 5 段階のスコア値が同じだったものが 8 品種，スコア値の差が 1 であったものが 9 品種であった．これらのスコア値を用いて求めたケンドールの順位相関係数は 0.516 ($p < 0.01$) で，根部と種子の青色生成程度にはやや強い正の相関がみられ，種子を用いる評価法は，根部を用いる評価方法の簡便法として使用できるものと考えられた（図－3）。

さらに，この方法を応用して，ダイコン根部から色素前駆物質を含む画分を分離精製して，紫外吸収スペクトル（UV），赤外吸収スペクトル（IR），核磁気共鳴スペクトル（NMR），マススペクトル（MS）等各種のスペクトル解析および，確認のために合成した標品との比較により，色素前駆物質は，インドールグルコシノレートの 1 種である 4-hydroxy glucobrassicin (4-OHGB) と同定された．これらの結果を受けて，ダイコン青変症の色素はアントシアニンとは異なることが確定した（寺西ら，2014）。

West ら（2004）は，アブラナ科野菜の種子に含まれる 2 種類のインドールグルコシノレートの含量を測定し，ダイコン種子に 4-OHGB が含まれることを示している．また，Ishida ら（2012）は，28 品種のダイコンを用いて，根部に含まれるグルコシノレートのうち，3 種類のインドールグルコシノレートの合計値を求め，全グルコシノレートに対するそれらの割合が品種によって顕著には相違しないことを報告している．後者の論文では，個別のインドールグルコシノレートの定量値は示されてい



図-4 ダイコン種子を用いた青変症リスク評価法による青色生成程度
過酸化水素（3%）で処理2時間後の様子
左：除皮したダイコン品種‘福誉’，右：同‘耐病総太り’

ないが、HPLCクロマトグラムから、ダイコン根部には4-OHGBが含まれていると推察され、青変症が発症する際には、4-OHGBが酸化されて青色色素になるものと考えられた。ただし、ダイコン種子中や根部のインドールグルコシノレート濃度と青変症の発症程度については現時点では必ずしも明らかではないため、今後、栽培時の環境要因による変動や、種子のロット間差等も含めて検討することが必要と考えられる。

ダイコンの栽培期間を約60日間とすると、従来の貯蔵試験法では、収穫してからさらに5~7日が必要である。それに対し、ダイコン根部の切片を用いて過酸化水素処理する場合には、10分程度で青変症リスクの評価が可能である。ダイコン種子を用いた評価法は、吸水から、種皮を除去して過酸化水素処理を含めて1日以内に判定できるため、リスク評価にかかる時間は栽培を行って試験の1/60に短縮できる。

これまでの発生事例の蓄積により、青変症の発症リスクが高い品種であっても、栽培年次や栽培地などによって、青変症の発症件数や発症程度に変動があるとされており、温度、日照、降水、土壌など栽培条件が青変症の発症しやすさに影響していることも考えられる。ダイコン青変症の場合には、収穫後の温度や湿度等流通条件も発症に影響があり、現状では、品種、栽培、流通の3つの段階について総合的に青変症の対策を進める必要がある。ダイコンの根部を用いた評価法と、今回開発した種子を用いたリスク評価法は、併せて特許出願を行った(寺西ら, 2013a)。

我々の研究によって青変症発症機構が明らかになるにつれ、発症機構に基づいた品種・栽培・流通の根本的かつ迅速な対策が求められるようになってきた。

現在、ダイコンの産地では、‘福誉’のようにダイコンの栽培特性として草姿が立性で密植栽培が可能など、生産性が高く、そろいが良く曲がりにくいなど高品質な品種への要望が強い。今回検討した種子を用いたダイコン

青変症リスク評価法は、上記の栽培特性を踏まえた上で、青変症の発症リスクが低い品種を育成する過程を飛躍的に効率化する可能性がある。今後、ダイコン種子を用いた評価法がダイコンの育種に用いられることにより、当該特性の遺伝様式の解明等が効率よく進み、前駆物質量が少なく、優れた栽培特性や高い品質を併せ持ったダイコン品種の育成につながるものと期待している。

摘 要

ダイコン種子を用いたダイコン青変症リスク評価法を開発した。ダイコン種子を洗浄後、16時間程度吸水し、ピンセットで除皮した後、3%過酸化水素水を加え、室温で2時間処理後に種子の青色の着色程度を観察する。種子の青変のポジティブコントロールとして‘福誉’、ネガティブコントロールとして‘耐病総太り’を用いる。ダイコン根部の切片を用いた過酸化水素処理による青変程度スコア値と、種子を用いた本法のスコア値とのケンドールの順位相関係数は0.516 ($p < 0.01$)で、根部と種子の青色発色にはやや強い正の相関がみられた。青変症のリスクを回避するためには、このような種子を用いた評価が、生産者や育種者にとって有効であると考えられた。

引用文献

- 1) 池下洋一・石端一男・金森友里 (2011)：収穫後の貯蔵方法がダイコン青変症の発生に及ぼす影響，園学研，10 (別1)，514.
- 2) Ishida, M., M. Nagata, T. Ohara, T. Kakizaki, K. Hatakeyama and T. Nishio (2012)：Small variation of glucosinolate composition in Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) requires simple quantitative analysis for breeding of glucosinolate component. *Breeding Sci.*, 62, 63-70.
- 3) 永田雅靖・増田大祐・池下洋一・寺西克倫 (2012)：青変症ダイコンに含まれる青色色素はアントシアニンではない，平成24年度園芸学会東海支部大会研究発表要旨，4.
- 4) 農畜産業振興機構 (2014)，平成25年度加工・業務用野菜仕入価格等調査結果，<https://www.alic.go.jp/content/000105916.pdf>.
- 5) 農林水産省 (2015)，平成26年産野菜生産出荷統計，<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001141603>.
- 6) 寺西克倫・永田雅靖 (2013a)：ダイコン青変症の発症リスク評価剤及び評価キット，並びに評価方法，特願2013-184638.
- 7) 寺西克倫・永田雅靖・増田大祐・池下洋一・増田義彦 (2013b)：ダイコン根を用いたダイコン青変症の発症リスク評価法，園学研，12 (別2)，252.
- 8) 寺西克倫・永田雅靖・増田大祐 (2014)：ダイコン根の青変症における原因物質の究明，園学研，13 (別2)，300.
- 9) West, L. G., K. E. Meyer, B. A. Balch, F. J. Rossi, M. R. Schultz and G.W.Haas (2004)：Glucosinolate and 4-hydroxyglucobrassicin contents in seeds of 59 cultivars of broccoli, raab, kohlrabi, radish, cauliflower, Brussels sprouts, kale, and cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 916-926.

A New Seed Testing Method for Evaluating the Risk of Blue Internal Discoloration in Daikon-Japanese Radish (*Raphanus sativus* L.) -Roots

Masayasu Nagata and Katsunori Teranishi

Summary

We developed a new seed testing method for evaluating the risk of blue internal discoloration in daikon (Japanese radish roots), and assessed it against the roots. Seeds of 18 cultivars of daikon were washed and soaked in water about 16 h, then the seed coat was removed with tweezers. The seeds were treated with 3% hydrogen peroxide at room temperature for 2 h and examined for blue pigmentation which indicates the presence of a precursor to the pigment. 'Fukuhomare' was used as a positive control and 'Taibyousubutori' as a negative control. Rankings of seed bluing and root bluing were positively correlated (Kendall's rank-correlation coefficient=0.516, $p<0.01$). To avoid the risk of blue discoloration in daikon roots, this seed testing method will be useful for farmers and breeders.