



トマト追熟果の熟度とペクチン質の変化との関係について

広瀬, 智久

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 10(1):31-35

(Issue Date)

1971

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00228412>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00228412>



トマト追熟果の熟度とペクチン質の変化との関係について

広 瀬 智 久*

(昭和46年8月31日受理)

On the Change of Pectic Substance of After-ripening Tomato Fruits

Tomohisa HIROSE

貯蔵中の果実の品質を決定する要素は多いが、堅さはその中で重要なものの一つである。ペクチン質は植物の器官中、果実に特に多量に存在し、その熟度と共に細胞膜構成物質の中で、量および存在形態が最も著しく変化する事から、果実の堅さに支配的な関係を持つ事が、古くから知られている。

トマト果実は追熟中に、成熟期間中と同様非常に軟化する。従ってペクチン質の変化は、貯蔵中のトマトの品質に関して重要な意義をもっていると考えられる。

果実類成熟中のペクチン質についての研究は数多く、トマトについても認められるが、その分類法、分析法(特に抽出法)はまちまちであり、又その結果も必ずしも一致していない。

Bonner (1952)⁵⁾ によれば、ペクチン質は(1)ペクチン酸のメチルエステルであるメチルポリガラクトロン酸鎖からなる水溶性ペクチン、(2)ペクチンより更に長いメチルポリガラクトロン酸鎖で構成される不溶性のプロトペクチン、および(3) α 1・4結合をしたガラクトキロン酸の鎖を主体としたペクチン酸とに分けられる。更にペクチン質に働きかける酵素としては(1)プロトペクチンからペクチンを生ずるプロトペクチナーゼ、(2)ペクチンからペクチン酸を生ずるペクチンエステラーゼ、および(3)主としてペクチン酸に働き、ガラクトキロン酸を生ずるペクチナーゼの3種類があり、これらの働きによってペクチン質の分解が起り、果実類では軟化が進むという。Bonner のペクチン質の分類は現在では部分的に修正された²⁾ とはいえ、まだ基本的にはこの分類法を参考としつつ、更に抽出分画に考慮を払って樹熟果及び20°C 追熟果の変化過程について比較検討し、あわせてペクチンエステラーゼ及びポリガラクトキロナーゼ(ペクチナーゼ)の消長を調べた。

実験材料および方法

材 料

品種は福寿2号で Pratt ら¹³⁾の分類に従って、7段階の熟期の果実を使用した。その他に Mature Green より、約10日程若い果実も一緒に採取して実験に供した。以後この stage を Immature-green と呼称する。又以上の果実は、次の追熟果に対比して樹熟果と呼ぶ。別に Mature Green の果実を採取し、20°C 恒温室に保蔵して追熟させた。20°C 追熟区は果実が樹熟果の各成熟度に達した時、夫々の果実を取出し薄い切片として、熱アルコール中で5分間加熱処理し、ついで70%温アルコールで糖分の浸出を繰り返した後、無水アルコール、エーテル処理し、30°C で乾燥、粉碎し試料とした。

ペクチンの抽出

ペクチンは前述の如く、古来水溶性ペクチン、プロトペクチン、ペクチン酸を順に水、塩酸、しゅう酸アンモニウムで抽出するのが一般である⁵⁾。しかし植物体内のペクチン質は、必ずしもこの様な3種類の物質に画然と分離するものとは思われない。

三浦ら¹¹⁾¹²⁾は果実中のペクチン抽出を、水、Calgon、塩酸で順次行ない、それぞれの分画を連続的な考え方に従って意義づけている。更に高野¹⁵⁾は大根のペクチン質の抽出に対して、様々の抽出液の使用を試みているが、しゅう酸アンモニウムによる抽出を、塩酸抽出の前と後の2回にわたって行ない、前者を易溶性ペクチン酸塩、後者を高度の不溶性ペクチン酸塩として意義づけ、多くの知見を得ている。以上従来の種々の方法を考慮し、本実験では次の如く抽出法を決定した。

1) 水溶性ペクチン

試料に50倍量の脱塩水を加え、室温で一夜浸漬して抽出を行ない、水溶性ペクチン分画とした。

2) Calgon (ヘキサ・メタ・リン酸ナトリウム) 可溶性ペクチン

水溶性ペクチン抽出の残さに0.4% Calgon 溶液を加え室温で2時間浸漬して抽出を行ない、Calgon 可溶性ペクチン分画とした。

3) 塩酸可溶性ペクチン

Calgon 可溶性ペクチン抽出の残さに0.05N HCl を加え、85°C で2時間の抽出を行ない、塩酸可溶性ペ

* 保蔵加工学研究室

クチン分画とした。

4) しゅう酸アンモニウム可溶性ペクチン

塩酸可溶性ペクチン抽出の残さに、0.5%しゅう酸アンモニウム溶液を加え、85°Cで2時間抽出し、抽出液をしゅう酸アンモニウム可溶性ペクチン分画とした。

5) 全ペクチン

以上の各分画の合計をもって全ペクチン量とした。

ペクチンの定量

McComb¹⁰⁾ および Disch⁹⁾ の方法に従って、次の如く行なった。水酸化ナトリウムでケン化した抽出液 1ml (2~50% のガラクトン酸を含む) を濃硫酸 6 ml 中に氷冷しつつ加え、湯浴中で10分間加熱し、再び 20°C 以下に冷却して後 0.15% カルバゾール・エタノール溶液 0.5ml を加えてかくはんし、室温に 25±5 分放置して生ずる紫色の吸光度を 520mμ で測定し、Galacturonic acid monohydrate による標準曲線から計算した果実新鮮重 100g 当りのガラクトン酸量をもってペクチン量とした。

酵素活性の測定

1) 粗酵素液の調製

主として Bell³⁾, Hobson⁸⁾ 及び Rose¹⁴⁾ などの方法を検討して、次の如く行なった。ペクチン・エステラーゼでは果実破碎物 30g に対して、塩化ナトリウムを最終濃度 5% になるように、よくかくはんして室温で15分間放置してから、遠心分離後、その残さに 5% 塩化ナトリウム 20ml を加え、再び抽出遠沈後、上

澄を合せて濾過し 50ml に定容とした。

ポリガラクトナーゼの場合は、硫酸アンモニウムを用い、10%の濃度で同様に調製した。

2) 酵素活性度の測定

i) ペクチン・エステラーゼの活性

0.1M—塩化ナトリウムを含む 1% ペクチン溶液 25 ml をとり、水酸化ナトリウムで pH を 7.5 に調整した後、30°C に保温し、これに pH 7.5 に調整した酵素液 0.5ml を加えて反応させる。0.02M 水酸化ナトリウム滴下によって15分間、常に pH 7.5 に保ち、その間に要した水酸化ナトリウム量から生果 100g の1分間の酵素反応によって生じたカルボキシル基の量を計算し、mg 当量で表わした。

ii) ポリガラクトナーゼの活性

1% ペクチン酸溶液 (buffer soln $\frac{1}{2}$ 量 pH 4.2) 4ml と粗酵素液 1ml の15分間の反応による粘度降下を Ostwald 粘度計により測定し

$$A_{1/4hr} = [T_0 - T_{1/4hr} / T_0 - T_a] \times 100$$

で (相対値として) 表わした。

但し、 T_0 : 反応当初落下秒数,

$T_{1/4hr}$: 15分反応後落下秒数,

T_a : 純水 5ml の落下秒数である。

実験結果及び考察

水溶性ペクチン

この分画はいわゆるペクチン或は可溶性の高メトキシルペクチニン酸を含むと考えられる部分である。

Table 1. Comparison of pectin fraction between fruits stored at 20°C and attached on the plant in each ripening stage

		* IMG	MG	B	LP	DP	TR	CR	SR
Water soluble fraction	Attached on the plant	185	180	179	178	184	170	144	112
	Stored at 20°C	—	—	169	160	161	166	152	122
Calgon soluble fraction	Attached on the plant	32	68	98	105	104	112	108	88
	Stored at 20°C	—	—	122	114	121	112	107	95
Hydrochloric acid soluble fraction	Attached on the plant	192	170	115	101	88	75	62	45
	Stored at 20°C	—	—	126	120	118	115	90	72
Ammonium oxalate soluble fraction	Attached on the plant	77	60	55	42	38	38	35	25
	Stored at 20°C	—	—	49	41	39	25	26	15
Total pectin	Attached on the plant	486	478	447	426	414	395	349	270
	Stored at 20°C	—	—	456	435	439	418	375	304

* IMG: Immature-green. MG: Mature-green. B: Breaker. LP: Light Pink. DP: Dark Pink. TR: Table Ripe. CR: Canning Ripe. SR: Soft Ripe.

この水溶性ペクチンは第1表に示すように樹熟果において未熟の果実から Dark pink 頃まではほとんど変化なく Table Ripe 以後次第に減少した。

20°C 追熟果では Breaker から Table Ripe の間かなり低い値であった。

Calgon 可溶性ペクチン分画

Calgon はペクチン質から Ca を取去るのに比較的温和な分離剤として適当であり⁴⁾、ここに抽出される分画は比較的易溶性の低メトキシルペクチニン酸及び比較的溶出しやすい存在部位並びに構造のペクチン酸を含むものと思われる。

Calgon 可溶性ペクチンは未熟果では少く、成熟するにつれて増加し、末期には減少した。追熟果の増減の傾向も全く樹熟果と同様であったが全期間を通じわづかであった。

塩酸可溶性ペクチン

この分画はプロトペクチンと呼ばれ、長いメチルポリガラクトuron酸鎖が酸により分割されて抽出されたものと考えられてきた⁵⁾。未熟果の塩酸可溶性ペクチンは、やはりかなり多く、成熟に従って次第に減少した。20°C 追熟果では減少速度はかなり緩慢であり、全期間を通じ樹熟果より高い値を示した。

しゅう酸アンモニウム可溶性ペクチン

存在部位が細胞膜の深部にあるか、或は存在形態が解離しがたいかの理由により、塩酸の抽出の前の Calgon 分画に抽出されなかった難溶性のペクチン酸塩を主体とした部分であると思われる。

樹熟果、追熟果共に成熟につれて減少し、両者の間に差異は認められなかった。

全ペクチン

以上4つの分画の夫々の消長の結果、全ペクチン質は成熟と共に急速に減少した。また、Calgon 可溶性及び塩酸可溶性分画の含量を反映して、全ペクチンは追熟果の方が常に多かった。

ペクチン質分解酵素の活性 (第1図)

ペクチンエステラーゼの活性は未熟果から Breaker まで急速に増大し、それ以後の変化は少なかった。追熟果は樹熟果とはほぼ同様の傾向であったが、初期の増加はゆるやかで Dark Pink, Table Ripe 期もやや低かった。

ポリガラクトuronナーゼ活性は未熟果では全く認められないし、また Mature Green, Breaker でもわづかであるが、それ以後急増しつつ、Soft Ripe に至った。樹熟果と追熟果とはほとんど同様に増加したが、Dark Pink の頃に追熟果の方がやや低い値を示した。

プロトペクチンは第1次膜そのものの構成に関与、ペクチン酸は Ca Pectate として Middle Lamella を形成しており、果実の熟度が進むにつれて、組織が軟

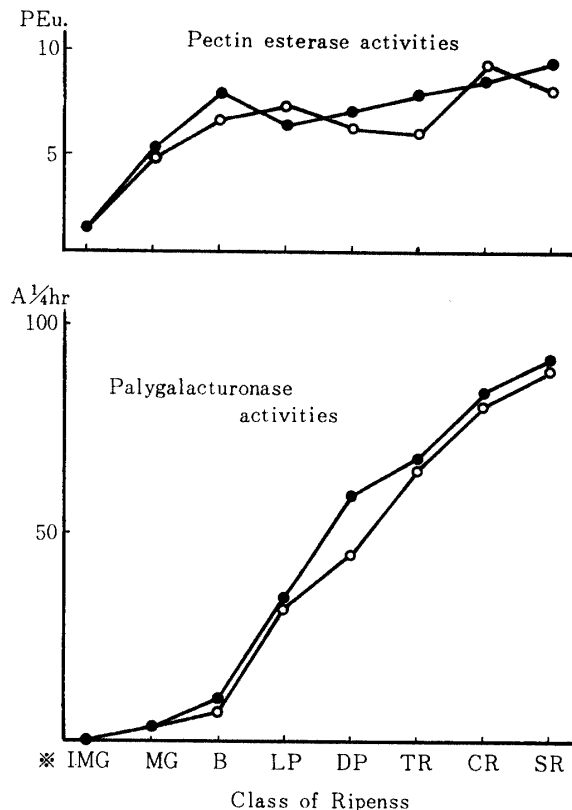


Fig. 1. Changes of pectin esterase activity and polygalacturonase activity in tomato fruits stored at 20°C and attached on the plant.

○: Stored at 20°C.

●: Attached on the plant.

* IMG: Immature-green. MG: Mature-green. B: Breaker. LP: Light Pink. DP: Dark Pink. TR: Table Ripe. CR: Canning Ripe. SR: Soft Ripe.

化するの、これら不溶性ペクチン質が減少することに起因し、その結果可溶性ペクチンが増加すると考えられてきた。

トマト果実においても成熟に伴うペクチン質の変化が調べられ、必ずしも一定の傾向を認められなかった例⁷⁾もあるが、可溶性ペクチンの増加¹⁶⁾、あるいは不溶性ペクチンの全ペクチンに対する比率の減少⁹⁾などの報告が見られる。

本実験でも樹熟果追熟果ともに塩酸可溶性分画は、含有率自体も、またこれらの水溶性分画に対する比率も減少している。しかし、水溶性分画よりも Calgon 可溶性分画が増加した。この分画は前述の如く、ペクチニン酸の一部とペクチン酸の易溶部分と思われるが、これに対して、時期的に丁度塩酸可溶性分画の減少と対応している事から、両者の増減の間には何らかの関係があるように思われる。

また、更にポリガラクトuronナーゼの真の基質は、ペ

クチン酸でありペクチンの充分な分解のためにはペクチン・エステラーゼによる脱エステル化の先行が必要である事¹⁾, Calgon 可溶性分画の増加する成熟の初期には, ポリガラクトツロナーゼ活性は極めて小さく, ペクチンエステラーゼ活性の増加している時期である事実などが考えあわされる。

プロトペクチンはプロトペクチナーゼによって水解され, ペクチンを生ずると考えられてきたが, プロトペクチン自体あいまいな物質であり, またプロトペクチナーゼの存在に関しても何ら直接的な証明はない。現在のところ, トマト果実内のペクチン質に作用する酵素としては, 我々がその作用力を測定し得るものは, ペクチンエステラーゼとポリガラクトツロナーゼのみである。

ポリガラクトツロナーゼは Calgon 可溶性分画しゅう酸アンモン可溶性分画あるいは更に一部の水溶性ペクチンのガラクトツロン鎖の $\alpha 1\cdot 4$ 結合の切断に関与して, 全ペクチン含量を低下させたものと考えられる。

20°C 追熟果のペクチン質の変化においては不溶性部分のペクチンの可溶化がおくれることが樹熟果に比べて特長的であった。

摘 要

- 1) 貯蔵トマトの追熟中のペクチン質並びにペクチン酵素の変化を追究する目的で, 樹熟果の成熟中の変化を調べ, これと比較検討した。
- 2) 水溶性ペクチンは, 未熟果から Dark Pink stage 頃まで, ほとんど増減がなく, それ以後次第に減少した。追熟果では樹熟果に比較して, Breaker stage から Table Ripe stage にかけて, かなり低い値であった。
- 3) Calgon 可溶性ペクチンは, 未熟果では少く, 成熟につれて増加した。全期間を通じて追熟果の含量がやや大であった。
- 4) 塩酸可溶性ペクチンは, 成熟に従って減少した。追熟果の減少速度は樹熟果に比べてかなり緩慢であった。
- 5) Calgon 抽出, 塩酸抽出を行った後のしゅう酸アンモニウム可溶性ペクチンは, 成熟とともに減少した。追熟果は樹熟果との間に全く差異が認められなかった。
- 6) 全ペクチンは成熟とともに減少したが, 追熟果の

減少の方が緩慢であった。

- 7) ペクチンエステラーゼ活性は, 成熟の初期に急増し, Breaker stage 以後変化がなかったが, 追熟果は全期間を通じてやや小さい値をとった。
- 8) ポリガラクトツロナーゼ活性は Breaker stage まで, わづかづつであったが, それ以後成熟末期まで著しく増加した。追熟果もほぼ同様であったが Dark Pink stage 頃やや低かった。

引 用 文 献

- 1) 赤堀四郎: 酵素研究法 2, p. 163-171, 朝倉, 東京, 1964.
- 2) ASPINALL, G. O. and R. S. FANSHAW: *J. Chem. Soc.*, 4215-4225, 1961.
- 3) BELL T. A.: *Bot. Gaz.*, 113, 216-221, 1951.
- 4) BETTELHEIM, F. A. and C. STERLING: *Food Res.*, 20, 118-129, 1955.
- 5) RONNER, J.: *Plant Biochemistry* (山田・丸尾 訳) p. 98-108, Academic Press Inc. New York, 1952.
- 6) DISCHE, Z.: *Method in Carbohydrate Chemistry*, 1, 497-501, Academic Press, New York and London, 1962.
- 7) HAMSON, A. R.: *Food Research*, 17, 370-379, 1952.
- 8) HOBSON, G. E.: *Nature*, 195, 804-805, 1962.
- 9) HOBSON, G. E.: *Biochem. J.*, 86 358-365, 1963.
- 10) McCOMB, E. A. and R. M. McCREADY: *Anal. Chem.*, 24, 1630-1632, 1952.
- 11) 三浦洋, 水田昂: 園学雑, 31, 17-22, 1962.
- 12) 三浦洋, 萩沼之孝, 水田昂: 園学雑, 32, 27-36, 1963.
- 13) PRATT, H. K. and M. WORKMAN: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 81, 467-477, 1962.
- 14) ROSE, A. H., C. D. ATKINS and E. L. MOORE: *J. Food Sci.*, 27, 419-425, 1962.
- 15) 高野泰吉: 園学雑, 35, 43-48, 1966.
- 16) WOODMANSEE C. W., J. H. McCLENDON and G. M. SOMERS: *Food Research*, 24, 503-514, 1959.

Summary

This study was carried out to investigate the changes of pectic substance and pectic enzyme of tomato fruits during storage after harvest at Mature-green stage and compared with those of fruit on the plant at the same ripening stage.

Contents of water soluble pectin showed no significant change by Dark Pink stage and afterwards declined gradually in the fruits stored at 80°C and ripening on the plant. The content was considerably lower in the

former than in the latter through Breaker to Table Ripe stage. Contents of calgon soluble pectin increased during ripening, and contents of the fruits stored at 20°C were higher throughout ripening period as compared to fruits on the plant. Contents of hydrochloric acid soluble pectin decreased with advancing stage but a rate of decreasing was considerable slower in the afterripening fruits. Contents of Ammonium oxalate soluble pectin from the residue after extraction by calgon and hydrochloric acid was decreased with advancement of ripening, and there is no difference between the contents in after-ripening fruits stored and the ripening on the plant. Total pectin decreased during ripening and a decreasing rate was slower in the fruit stored at 20°C than ripening on the plant.

Pectin esterase activities increased remarkably from immature fruits to Breaker, and the subsequent changes were slight. There were only a trace of the polygalacturonase activities before Breaker stage, followed by a marked increase until the last stage of ripening. Activities of these pectic enzymes in the fruits in storage at 20°C were somewhat lower than those in the fruit ripening on the plant.