



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Chemical Studies on the Volatile Compounds of Snake Fruit (*Salacca edulis*, Reinw) Cv. Pondoh

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Supriyadi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2643

氏名(本国籍)	Supriyadi (インドネシア共和国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第302号
学位授与年月日	平成15年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	Chemical Studies on the Volatile Compounds of Snake Fruit(<i>Salacca edulis</i> , Reinw) Cv. <i>Pondoh</i> (スネーク・フルーツ(<i>Salacca edulis</i> , Reinw) Cv. <i>Pondoh</i> の揮発性化合物に関する化学的研究)
審査委員会	主査 静岡大学 教授 渡邊 修治 副査 静岡大学 教授 衛藤 英男 副査 信州大学 教授 廣田 満 副査 岐阜大学 教授 木曾 眞

論文の内容の要旨

東南アジア原産 *Salacca* 類に分類されるスネーク・フルーツ (*Salacca edulis*, Reinw) のうち、インドネシアで最もポピュラーな栽培種 *Pondoh* の成熟に伴う果実の化学的変化、特に香気成分の質的、量的変化とその香気特性をアロマセンサーで解析した。また、本種の甘い香気特性を有する短鎖有機酸メチルエステル類のメタノールの生合成的起源を明らかにした。

スネーク・フルーツ栽培種 *Pondoh* 成熟過程での物理的性質、糖含量、揮発性化合物における変化：受粉後 3.5 ヶ月～6.0 ヶ月後を 6 つの成熟段階で分け果実を収穫した。果実は成熟にしたがって糖度を増すが、スクロースが減少する成熟段階 6 で急激に軟化した。また、香気成分は SAFE (solvent assisted flavor evaporation) 抽出装置を用いて抽出後分析した。揮発性化合物の大部分が短鎖有機酸のメチルエステルであった。その他、カルボン酸、アルコール、フラン、ラクトン等も検出された。成熟段階 5 まで有機酸の量は徐々に増加し、段階 6 で最大に達するのに対し、メチルエステル量は段階 4-6 の間で劇的に増加し、その結果カルボン酸量よりも高くなった。よって、スネーク・フルーツの香りに重要なエステルは段階 4-6 の間で主に生合成されていると考えられる。

Pondoh 栽培種スネーク・フルーツの揮発特性の分析と E-nose による熟成判別 : GC-Olfactory (においかぎ装置付き GC 分析) 判別によって、スネーク・フルーツに特徴的な香りを有するカルボン酸 (2 種)、メチルエステル (6 種)、アルコール、フラネオール計 10 種の揮発性化合物を見出した。成熟が進むにつれ甘い果実香を有するメチルエステル類が増加した。果実の成熟度を識別するためにスネークフルーツの水抽出画分を Sensor Array (α FOX400) と Fingerprint Mass Spectrometry systems (α KRONOS) を装備した Electronic Nose 分析に供した。

両システムを使用することで、果実の成熟度を容易に見分けることが出来た。 α FOX400 と α KRONOS により同じ程度に成熟度を判別できた。また、メチルエステルのフラグメントイオンによって成熟度を判別できたがカルボン酸に由来するイオンでは明確な区別が出来なかった。

スネーク・フルーツ栽培種 Pondoh 中のメチルエステル生合成 : 塩化カルシウムの存在下で果汁を得たときはメタノールが検出されなかったが、非存在下ではメタノールが検出された。よってメタノールは酵素的に生成されていることが示唆された。ペクチンメチルエステルの加水分解を触媒する酵素ペクチンメチルエステラーゼ PME 活性は果実の成熟段階が進むにつれ増加し、段階 5 と 6 で最大となり、メタノール量の増加曲線、PME 活性変化、およびメチルエステル類の増加曲線は一致した。Hexanoyl-CoA を用いて methyl hexanoate の生合成を検討した。メタノール、hexanoyl-CoA と粗酵素の存在化反応させ、GC-MS で methyl hexanoate の同定を試みた。また、hexanoyl-CoA および methylpectin の存在下、粗酵素とともに反応させることにより methylhexanoate の生成を GC-SIM で確認できた。以上の事実より、粗酵素は acyl-CoA と methylpectin からカルボン酸のメチルエステルを生成することを初めて明らかにすることが出来た。一方、methyl hexanoate と粗酵素からは hexanoic acid は検出されなかった。以上のことから、スネークフルーツの主要香気成分であるメチルエステル類はメチルペクチン由来のメタノールと acyl-CoA とから粗酵素によって生合成されることを初めて明らかにすることができた。

スネークフルーツはインドネシアをはじめとした産出国の消費者には好まれる果実であるが、日本をはじめとする他の国々では好まれていない。本研究の結果、その主たる理由が短鎖有機酸のにおい特性にあることが明らかとなった。一方、本種の甘い特有な香気特性は短鎖有機酸のメチルエステル類に起因し、これらの含量は成熟香気に急激に増加すること、さらには糖含量、硬度などを考慮することで、消費に適切な収穫期を限定する際に有益な情報を与えることができた。

果実におけるエステル類の研究は、メロン、イチゴ、パッションフルーツ、バナナなどで研究されているが、メチルエステル類の生合成経路に関してはこれまでまったくその報告がなかった。今回、果実の成熟に伴ってその活性が高まるペクチンエステラーゼがメチルペクチン類を加水分解し、その際生じるメタノールと活性型短鎖有機酸類との間で、酵素反応によりメチルエステル類が生成することをはじめて明らかにできた。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は東南アジア原産 *Salacca* 類に分類されるスネーク・フルーツ (*Salacca edulis*, Reinw) のうち、インドネシアで最もポピュラーな栽培種 *Pondoh* の成熟に伴う果実の化学的変化、特に香気成分の変化とその生化学的解析結果について述べたものである。

スネーク・フルーツ栽培種 *Pondoh* 成熟過程での物理的性質、糖含量、揮発性化合物における変化：受粉後 3.5 ヶ月～6.0 ヶ月後を 6 つの成熟段階で分け果実を収穫した。果実は成熟にしたがって糖度を増すが、スクロースが減少する成熟段階 6 で急激に軟化した。また、香気成分は SAFE (solvent assisted flavor evaporation) 抽出装置を用いて抽出後分析した。揮発性化合物の大部分が短鎖有機酸のメチルエステルであった。その他、カルボン酸、アルコール、フラン、ラクトン等も検出された。成熟段階 5 まで有機酸の量は徐々に増加し、段階 6 で最大に達するのに対し、メチルエステル量は段階 4-6 の間で劇的に増加し、その結果カルボン酸量よりも高くなった。よって、スネーク・フルーツの香りに重要なエステルは段階 4-6 の間で主に生合成されていると考えられる。

Pondoh 栽培種スネーク・フルーツの揮発特性の分析と E-nose による熟成判別：GC-Olfactory (においかぎ装置付き GC 分析) 判別によって、スネーク・フルーツに特徴的な香りを有するカルボン酸 (2 種)、メチルエステル (6 種)、アルコール、フラネオールの計 10 種の揮発性化合物を見出した。成熟が進むにつれ甘い果実香を有するメチルエステル類が増加した。果実の成熟度を識別するためにスネークフルーツの水抽出画分を Sensor Array (α FOX400) と Fingerprint Mass Spectrometry systems (α KRONOS) を装備した Electronic Nose 分析に供した。

両システムを使用することで、果実の成熟度を容易に見分けることが出来た。 α FOX400 と α KRONOS により同じ程度に成熟度を判別できた。また、メチルエステルのフラグメントイオンによって成熟度を判別できたがカルボン酸に由来するイオンでは明確な区別が出来なかった。

スネーク・フルーツ栽培種 *Pondoh* 中のメチルエステル生合成：塩化カルシウムの存在下で果汁を得たときはメタノールが検出されなかったが、非存在下ではメタノールが検出された。よってメタノールは酵素的に生成されていることが示唆された。ペクチンメチルエステルの加水分解を触媒する酵素ペクチンメチルエステラーゼ PME 活性は果実の成熟段階が進むにつれ増加し、段階 5 と 6 で最大となり、メタノール量の増加曲線、PME 活性変化、およびメチルエステル類の増加曲線は一致した。Hexanoyl-CoA を用いて methyl hexanoate の生合成を検討した。メタノール、hexanyl-CoA と粗酵素の存在化反応させ、GC-MS で methyl hexanoate の同定を試みた。また、hexanyl-CoA および methylpectin の存在下、粗酵素とともに反応させることにより methylhexanoate の生成を GC-SIM で確認できた。以上の事実より、粗酵素は acyl-CoA と methylpectin からカルボン酸のメチルエステルを生成することを初めて明らかにすることが出来た。一方、methyl hexanoate と粗酵素からは hexanoic acid は

検出されなかった。以上のことから、スネークフルーツの主要香気成分であるメチルエステル類はメチルペクチン由来のメタノールと acyl-CoA とから粗酵素によって生合成されることを初めて明らかにすることができた。

上記のように、本論文は、スネークフルーツの香気特性を明らかにし、アロマセンサーという新しい手法でその特性変化を解析し、その結果を成熟度の指標に示した点、また、未解明であった短鎖有機酸メチルエステル類のメタノールの起源をはじめ明らかにし得たという点において優れた成果を得ている。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた

基礎となる学術論文

1. Changes in the volatile compounds and in the chemical and physical properties of snake fruit (*Salacca edulis* Reinw) cv. *Pondoh* during maturation
Supriyadi, Suhardi, Masayuki Suzuki, Koichi Yoshida, Tokie Muto, Akira Fujita and Naoharu Watanabe, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7627-7633 (2002).

2. Maturity discrimination of snake fruit (*Salacca edulis*, Reinw) cv. *Pondoh* based on volatiles analysis using an electronic nose device equipped with a sensor array and fingerprint mass spectrometry, Supriyadi, Kanako Shimizu, Masayuki Suzuki, Koichi Yoshida, Tokie Muto, Akira Fujita, Naomi Tomita and Naoharu Watanabe, *Flavour Fragrance J.*, in press