



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ミニトマト果実の成熟における酵素活性およびペクチン質の変化

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 稲荷, 妙子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2599

氏 名 (本 国 籍)	稲 荷 妙 子 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 258 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 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	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	ミニトマト果実の成熟における酵素活性およびペクチン質の変化
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 加 藤 宏 治 副査 岐阜大学 教授 山 内 亮 副査 静岡大学 教授 碓 氷 泰 市 副査 信州大学 教授 細 野 明 義

論 文 の 内 容 の 要 旨

ミニトマト果実の成熟に伴う組織の軟化機構を明らかにする目的で、ミニトマト果実の成熟過程におけるペクチン加水分解酵素とペクチン質の変化について検討した。ペクチン加水分解酵素の一つであるペクチンエステラーゼ (PE) の活性は未熟果 21,000、緑熟果 70,000、成熟果 100,000 U/100g と成熟に伴い増加した。これは他の果実のいずれの成熟段階に比べても極めて高く、ミニトマト果実の大きな特徴であった。果実中のタンニン量が成熟と共に減少すること、およびタンニンはペクチンとの反応を阻害するという事実から、成熟に伴う活性増大の要因の一つは、成熟によるタンニン量の減少と考えた。精製した PE (粗酵素液に対する精製度と回収率は、247 倍、26%) の分子量は 15,000、至適温度 50 °C、至適 pH 7.0、耐熱温度 50 °C、pH 安定性 6.0 ~ 7.0 で、ミカエリス定数はレモンペクチン (メトキシル含量 10.4%) 0.48% であった。PE 活性に対して Co^{2+} は阻害作用を示したが、他の陽イオンは賦活作用を示し特に Na^+ はその作用が顕著であった。その他では、 α -フェナントロリン、EDTA が阻害作用を、NaF、システイン塩酸塩が賦活作用を示した。PE のアミノ酸組成ではアスパラギン酸、アラニン、グルタミン酸等の含有量が高く、他の PE のアミノ酸組成に類似していた。もう一つの加水分解酵素であるポリガラクトクトナーゼ (PG) の活性も PE と同様に成熟につれ増加した。部分的に精製した PG の分子量は 30,000 でその至適温度は 48 °C、至適 pH 4.0、耐熱温度 50 °C、pH 安定性 5.0 ~ 6.5 で、ミカエリス定数は 0.26% ポリガラクトクトン酸であった。 Na^+ は PE と同様 PG 活性促進効果を示した。また、EDTA、クエン酸ナトリウムは賦活作用を示し、塩酸フェニルヒドラジンと塩酸セミカルバジド (酸性アミノ酸を活性中心にもつ酵素に阻害作用を示す) は阻害作用

を示したことから、活性中心のアミノ酸は酸性アミノ酸であると推定した。亜硫酸ナトリウム、システイン塩酸塩など還元剤の添加によっても活性は大きく阻害された。次に、成熟に伴いペクチン質多糖がどのように変化するかについて検討した。果実に含まれるペクチンを4つのタイプのペクチン、即ち WP（水可溶性ペクチン）、PP（ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン、2価の金属イオンと結合して水に不溶といわれている）、HP（塩酸可溶性ペクチン、セルロースなどと結合して水に不溶といわれている）、および KP（水酸化カリウム可溶性ペクチン）に分画した。ガラクトチュロン酸量と中性糖量を合わせたペクチン総量は未熟果 680 mg、緑熟果 364 mg、成熟果 172 mg と減少し、特に中性糖量は未熟果 330 mg、緑熟果 87 mg、成熟果 34 mg と激減した。これは主に未熟果では 81% と組成比が最も高かったが、成熟果では 15% と激減した HP 画分に多く含まれていたグルコースとガラクトースの減少によるものであった。反対に未熟果では 5% であった WP は、成熟果では 66% と成熟に伴い激増し、未熟果実中の HP 画分が果実の成熟に伴い WP 画分に変化すると考えられた。高メトキシルペクチンであった WP と HP は成熟に伴いメトキシル含量が減少し、低メトキシルペクチンであった PP は変化しなかったが、全体では 14.4%（未熟果）から 10.8%（緑熟果）、9.4%（成熟果）と顕著に減少した。これは成熟に従って増大し、他の果実に比べて極めて活性の高かった PE によると考察した。AIS 中のミネラル Ca、Mg、Na、K、Cu、Fe 量を測定したが、熟度による変化は見られなかったため、ミネラルはミニトマトの軟化には関与しないと考えた。KP 以外の WP、PP、HP の分子量は熟するに従って低くなり、ペクチン全体では未熟 315,000、緑熟 104,000、成熟 9,000 と顕著に低分子化した。成熟することによって HP 量が激減したこと、特に中性糖量、中でも主にグルコースとガラクトースの減少が認められ、その結果 WP 量の増加を促し、HP が WP に変化したのであると考えられる。以上からミニトマトの軟化は以下のような現象であると説明している。即ち、果実中のタンニン量の減少から始る PE 活性の増大が低メトキシルペクチン量を増大させ、結果として PG が作用しやすくなり、特に中性糖を減少させながらペクチンの低分子化を誘導し、これが結果としてペクチンの総量を減少させると共にペクチン分子の水溶性を増大させた。これらが組織の軟化をもたらしたと結論した。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文はミニトマト果実の成熟に伴う組織の軟化機構を明らかにする目的で、ミニトマト果実の成熟過程におけるペクチン加水分解酵素とペクチン質の変化について検討したものであり、以下のような内容である。ペクチン加水分解酵素の一つであるペクチンエステラーゼ（PE）の活性は果実の成熟に伴い増加したが、その理由として、1) タンニンはペクチンとの反応を阻害する、2) 果実中のタンニン量が成熟と共に減少したことを挙げている。粗酵素液に対して収率 26% で、247 倍に精製した酵素の分子量は 15,000 であり、またその諸性質として、至適温度 50 °C、至適 pH 7.0、耐熱温度 50 °C、pH 安定性 6.0 ~ 7.0 で、ミカエリス定数 {レモンペクチン（メトキシル含量 10.4%）} 0.48 %等を求めている。陽イオンの Co^{2+} は活性を阻害したが、他は賦活すること特に Na^+ はその作用が顕著であることを認めている。もう一つの加水分解酵素であるポリガラクチ

ェロナーゼ (PG) の活性も同様に成熟につれ増加した。部分的に精製した PG の分子量は 30,000 でその至適温度は 48 °C、至適 pH 4.0、耐熱温度 50 °C、pH 安定性 5.0 ~ 6.5 で、ミカエリス定数は 0.26 %ポリガラクトuron酸等を諸性質として求めている。PE と同様、Na⁺ は PG 活性に対しても活性促進効果があった。次に、成熟に伴いペクチン質多糖がどのように変化するかについて検討している。果実に含まれるペクチンはアルコール不溶という性質を利用して果実の他の成分と分別し、アルコール不溶性固形物 (AIS) から、溶解性により 4 つのタイプのペクチン即ち、水可溶性ペクチン WP、ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン PP (2 価の金属イオンと結合して水に不溶といわれている)、塩酸可溶性ペクチン HP (セルロースなどと結合して水に不溶といわれている)、水酸化カリウム可溶性ペクチン KP に分画した。ペクチン総量 (ガラクトuron酸量+中性糖量) は成熟に伴い減少したが、特にグルコースとガラクトースの減少が顕著であった。これは主に未熟果で組成比 81 %と最も高かった HP 画分が、成熟果では 15 % と激減したことによるものである。反対に、WP 画分は未熟果で 5 %であったが、成熟果では 66 % と激増した。これは未熟果実中の HP 画分が果実の成熟と共に WP 画分に変化するためと考えられた。メトキシル含量は全体では 14.4 % (未熟果) から 9.4 % (成熟果) と顕著に減少した。これは成熟に従って増大した PE によるためである。AIS 中のミネラルでは、Ca、Mg、Na、K、Cu、Fe 量の熟度による変化は認められなかったことから、これらはミニトマトの軟化には関与していないと考えた。ペクチン全体の分子量は熟するに従って顕著に低分子化した。以上のように、ミニトマト果実の軟化は、成熟に伴う果実タンニン量の減少が PE 活性の増大をもたらし、それが PG の作用を容易にさせ、結果としてペクチン質の低分子化とその質的变化 (HP の WP への変化、即ち水溶性ペクチン質の増加) が果実の軟化をもたらしたと結論している。

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. Purification and Some Properties of Pectinesterase from Fruits of a Miniature-Fruited Red Type Tomato,
Food Science and Technology Research, 6 (1)、54-58、2000、(食品科学工学会)
2. Changes in Pectic Polysaccharides during the Ripening of Cherry Tomato Fruits,
Food Science and Technology Research, 8 (1)、印刷中、2002、(食品科学工学会)