柿 果 の Pectin-methylesterase (PM) の 2, 3 の 性 質 と 含 有 量 に つ い て

Some Properties of Pectin-methylesterase (PM) in Persimmon Fruits

(昭和 40 年 12 月 1 日 受 理)

中 山 葉 子* 岩 崎 康 男**
(Yôko Nakayama) (Yasuo Iwasaki)

The pectin-methylesterase (PM) of persimmon fruits is extracted most effectively from the pulp with use of 3.0M NaCl solution, and the activity of the enzyme reaches the maximum in the medium of 0.15M NaCl concentration.

The optimum pH is 6.5 at the optimum NaCl concentration.

The PM of the fruits gradually increases with development to maturity and worm-eaten fruits contain more PM than those not so affected.

There is some difference in amount of PM specifically for varieties.

The artificial removal of astringency of astringent fruits exercises no significant influence upon the PM content, and the upper half of the fruit contains less PM than the lower half thereof.

Pectin-methylesterase (PM) は、ペクチンのメチールエステル部を加水分解する酵素で、この酵素は種々の高等植物や微生物に含有されていることが明らかにされており^{1) 2)}、またその性質についても詳しい報告がある^{1) 2) 3)}。しかし柿果の PM に関する報告は見当たらない。この研究は柿果に含まれる PM を抽出する際の食塩濃度、反応液の食塩濃度ならびに pH の相違による活性変

化、および柿の成熟度、品種、脱渋法、柿の部位などの相違による含有量の変化について実験したものである。

実 験 方 法

1. 試料およびその調製

実験に使用した柿は第 1 表のとおりである。柿は帯と

第 1 表 試 料 に 供 し た 柿

品 種	採 取 地	個 数	備 考
富 有	未 熟 ① 適 熟 ② 過 熟 虫 喰	東京 都 杉 並 区	13
			3
			3
			13
平 核 無	全 体 ③ 上 半 下 半 ガ ス 抜 全 体 上 半 下 半 室 温 放 置 ガ ス 抜 後 室 温 放 置	神 奈 川 県 平 塚 市	4
			4
			4
			3
			5
			5
禪 寺 丸	渋 甘	東京 都 新 宿 区	2
			2

種子を除いて細かく切断し、アセトン処理した後風乾、乳鉢で粉碎してデシケーター中に保存した。これを 1.0 g 正秤し、蒸留水または 0.5~5.0 モル濃度の食塩水 100 ml を加えて密栓し、30°C 2時間放置した後その滲液を酵素液とする。また透析が必要な場合は、この滲液を膀胱膜を用いて、2~3°C の低温室で3日間透析した。

2. 基質およびその調製

メトキシル基を 6.66% 含有するイスラエル産のオレンジ・スローセツト・ペクチンの 0.5% 水溶液を基質溶液として用いた。

3. エステラーゼの定量法

Kertesz & McColloch³⁾ による定量法に従って測定した。この方法は PM によって生ずる基質の酸性を中和するに要する苛性ソーダの消費量により、PM 活性度を示すものである。まず 100 ml ビーカーに 50ml の基質溶液をとり、酵素抽出に用いた食塩水の食塩濃度を調整するための食塩水または蒸留水を 5 ml と、消泡剤としてシリコン数滴を加え、30°C に保ち、pH を 6.0 に調節し、酵素液 5 ml を加え、さらに反応液面近く脱炭酸空気を送る装置をセットし、自動電位滴定装置を用いて、常に反応液が pH 6.0 を保つに要する 0.1N NaOH 消費量を 30 分間測定する。ブランクテストは加熱酵素液で同様に測定する。

4. 計算⁴⁾

酵素溶液 1 ml 当たりの PMU*

$$= \frac{\text{反応時間中に遊離したメトキシル基の mg 数}}{\text{酵 素 液 (ml)}}$$

$$= \frac{0.1N \text{ NaOH 消費量 (ml)} \times 3.1}{\text{酵 素 液 (ml)}}$$

(* PMU は、乾物 1 g または酵素液 1 ml につき、pH 6.0, 30°C, 30分間に分解して生ずるメトキシルの mg 数として定義されている。)

5. この方法による過熟柿果中の PM の pH 6.0, 30°C における 0.1N NaOH 滴定量と反応時間または酵

素液 (抽出液は 3.0 モル食塩水) 量との関係は、それぞれ第 1 図および第 2 図の如くで、反応時間 30 分までは酵素液量と 0.1N NaOH 量とは比例する。

第 2 図 アルカリ滴定量と酵素液量との関係
(過熟柿 pH 6.0 30°C 30分間)

実験結果並びに考察

1. 食塩濃度を 0 モルから 5.0 モルまで 0.5 モル間隔で段階的に変えて酵素を抽出し、全反応溶液の食塩濃度をいずれも 0.41 モルになるように調整して、PM 活性度を測定した。その結果を第 3 図に示す。これにより、

第 3 図 酵素抽出に関する食塩濃度の影響
(富有柿過熟)

2.0~3.0モルの食塩溶液で抽出した場合が最も活性度が高い。

2. 透析酵素液の食塩による活性変化

3.0 モル食塩水で酵素を抽出した後、酵素液を透析して食塩その他の塩類を除き、0 から 0.30 モルまで 0.05 モル間隔に全反応液中の食塩濃度を変え、実験を行なった。結果を第 4 図に示す。これにより、全反応溶液中の食塩濃度が 0.15 モルの時に最も PM 活性度が高い。

第 1 図 アルカリ滴定量と反応時間との関係
(過熟柿 pH 6.0 30°C)

第4図 透析酵素液の食塩による活性変化
(富有柿適熟)

3. PM 活性度に及ぼす pH の影響

次に PM の最適食塩濃度における pH の活性度に及ぼす影響を調べた。結果を第5図に示す。これにより 0.15 モル食塩濃度では pH 6.5 の時最も活性が高い。

第5図 PM活性度に対する pH の影響
(富有柿適熟)

4. 柿の成熟に伴う PM の活性変化

以上は富有の適熟果についての実験であったが、同じ条件で富有の未熟、過熟の試料についても実験し、柿の成熟過程における PM 活性の変化を調べた。その結果

第2表 柿の成熟に伴う PM の活性変化

試 料	試料数	酵素液1ml当り PMU×1000	生柿 1 g 当り PMU
富有 未熟	13	566	4.3
〃 適熟	3	1351	12.5
〃 過熟	3	1692	12.8

は第2表のごとくである。これにより、PM 含有量は柿が成熟すると増加する。

5. 虫喰による PM 含有量の変化

虫のついた未熟柿は赤味をおびて柔らかくなり、丁度成熟したような外観となる。この未熟柿の虫喰について PM 含有量を測定した結果を第3表に示す。これにより、虫喰の柿は正常な柿より PM 含有量が多い。

第3表 虫喰による PM 含量の変化

試 料	試料数	酵素液 1 ml 当り PMU×1000	生柿 1 g 当り PMU
富有 虫喰	13	873	6.8
〃 未熟	13	566*	4.3*

* 第2表より

6. 品種による含有量の差異

柿の品種により PM 含有量がちがうことが予想されるので、平核無、禅寺丸についても同様な実験を行なった。その結果を第4表に示す。これにより柿の PM 含有量は品種により異なり、富有柿>禅寺丸>平核無の順になっている。また同一品種でも禅寺丸では渋味のあるものと甘化したものによって異なり、甘化したものが PM 含有量が多い。

第4表 品種による PM 含量の差

試 料	試料数	酵素液 1 ml 当り PMU×1000	生柿 1 g 当り PMU
平核無 (渋)	4	9	0.1
禅寺丸 (渋)	2	125	1.9
〃 (甘)	2	529	8.1
富 有 適熟	3	1351*	12.5*

* 第2表より

7. 脱渋果の PM 含有量

柿を人工脱渋することによって、PM 含有量に差を生じるか否かを実験した。その結果を第5表に示す。これによると渋柿状態のときは PM 含有量は僅かであるが

第5表 平核無の脱渋による PM 含有量の変化

試 料	試料数	酵素液 1 ml 当り PMU×1000	生柿 1 g 当り PMU
渋	4	9*	0.1*
室 温 放 置	3	412	4.0
炭酸ガス抜	3	424	4.1
炭酸ガス抜後 室温放置	3	634	6.1

* 第4表より

室温放置または脱洗すると著しく PM は多くなる。平核無種の性質のためか多少軟化していた。そして15日間炭酸ガス抜きした柿は13日間室温放置したものより僅かに PM 含有量が多いが有意的な差ではない。15日間ガス抜き後、さらに4日間室温放置したものは、PM 含有量がさらに多かった。

8. 柿の部位による PM 含有量の変化

柿を上半、下半に二分し、それぞれの PM 活性度を測定した結果を第6表に示す。脱洗果では上半（花おち

第6表 平核無の部位によるPM含有量の差

試 料	試 料 数	酵素液1ml 当り 生柿 1 g 当り PMU×1000	PMU
全体	4	9 ^{*)}	0.1 ^{*)}
洗 柿 上半	4コを	9	0.1
下半	切半	9	0.1
炭酸ガス抜き 全体	2	424 ^{**)}	4.1 ^{**)}
上半	5コを	363	3.5
下半	切半	523	5.1

^{*)} 第4表より

^{**)} 第5表より

側)より下半(へた側)に PM 含有量が多いが洗柿ではその差はない。

Kertesz はその著書¹⁾で、PM は蒸留水で抽出するよりも約 10% (≒1.8モル) の食塩水を用いると PM 活性度の高い抽出液が得られると報告している。著者らの実験では第3図に示すごとく、柿の PM は食塩濃度 2.0～3.0 モルで最高を示すことが認められた。

PM の最適作用食塩濃度については、すでに他の高等植物により pH 6.0 で 0.10 モル²⁾、pH 6.5 で 2.0 モル³⁾などの報告があるが、著者らの実験では第4図に示すごとく pH 6.0 では最適作用食塩濃度は 0.15 モルであった。しかしこの場合反応期間中に滴下されるアルカリ液により、全反応溶液の食塩濃度が刻々に変化することは考慮されておらず、もしこれをも考慮すれば、実際の最適作用食塩濃度は 0.15 モルより僅かに低い。

PM の最適作用 pH に関しては、今まで pH 7.0 以上のアルカリ側にあるとしている報告が多い⁴⁾が、著者らの実験では 0.15 モル食塩濃度においては最適 pH は 6.5 で得られた。pH 7.0 以上のアルカリ側になると、アルカリによる脱メチル反応が同時に起こり⁵⁾また空気中の炭酸ガスの影響も受けて、苛性ソーダの滴定量は次第に増加する。しかし脱炭酸空気を反応液面に通じて実験し、ブランクテストを注意深く行なっても、pH 6.25 以上ではブランクに要するアルカリの量も漸次増加する。

以上のごとく柿の PM の性質は、他の高等植物の

PM のそれと本質的には大差がないが、柿の PM 含有量については、PM 含有量の高いといわれるトマトが 64.50 PMU/ml 含有するという報告⁶⁾などに比較して、柿の PM 含有量はあまり多いとはいえない。

また柿が成熟すると PM 含有量が多くなることが認められ、虫喰柿でも同様に PM が多かった。さらに PM 含有量は柿の品種によっても相違し、甘化した柿は洗柿より PM 含量が多かった。しかし柿の下半(へた側)は上半より PM 含有量が多く、このような相違が柿のいかなる生化学的機構によるものか明らかでない。

要 約

1. アセトン処理した柿果の試料について、PM に対する食塩濃度と pH の影響を研究し、また柿果の成熟度、部位などによる PM 含有量の変化を測定した。
2. PM 活性度は 2.0～3.0 モル食塩水による抽出液において最大である。しかしながら最適作用食塩濃度は 0.15 モルである。
3. 0.15 モル食塩水中における PM 活性度は pH 6.5 付近で最大となる。
4. 柿が成熟すると PM 含有量が増加する。
5. 虫喰柿では PM 含有量が増加する。
6. 柿の品種によって PM 含有量が異なり、甘化した柿は洗柿より PM 含有量が多い。
7. 洗柿を15日間ガス抜きしたものは、13日間室温放置した柿より PM 含有量が僅かに多いが、有意的差異はない。しかし室内放置柿は脱洗果よりもかえって多少軟化していた。
8. 柿の下半(へた側)は上半より PM 含量が多い。

本研究にあたり、試料を提供していただいた農林省園芸試験場(在平塚)、ペクチンを分与された相馬食品株式会社、御厚意に対し、感謝いたします。また本研究は日本女子大学において行なったものであることを報告し、あわせて深謝いたします。

なお本研究の要旨は第18回日本栄養・食糧学会総会(昭和39年5月17日)において報告した。

文 献

- 1) Z. I. Kertesz: The Pectin Substances, 1st Edition, p. 360 (1951)
- 2) Kertesz & McCulloch: Advances in Carbohydrate Chemistry, V, p. 93 (1951)
- 3) J. P. Buren J. C. Moyer & W. B. Robinson: Food Science, 27, 291 (1962)
- 4) J. I. Kertesz: J. Biol. Chem., 121, 589 (1937)

* (静岡大学教育学部)

** (日本農業研究所)