ダイコンの予備加熱による硬化現象機構について

真 部 孝 明*

Studies on the Firming Mechanism of Japanese Radish Root
by Pre-heating Treatment

TAKA AKI MANABE

The Japanese radish roots subjected to pre-heating treatment prior to boiling process in water were harder than the corresponding untreated control. A maximal hardening was obtained at 55°C for about 2 hr, and this temperature was identical with the optimum temperature of pectinesterase (PE) contained in Japanese radish. The degree of esterification of the pectic substances was found to decrease greatly during this pre-heating treatment. Of the total pectic substances, the water soluble fraction decreased while the hot water soluble and hydrochloric acid soluble fractions increased in hardened tissues, compared with the untreated ones. A large amount of potassium ion leaked out into the soaking water from the tissues during pre-heating treatment at more than 50°C, on the other hand, amounts of leaked calcium and magnesium ions was relatively small. It was suggested that pre-heating treatment caused potassium ion migration prior to activation of the PE which was inactive in an intact tissue, and the activated PE promoted demethylation of the pectic substances in the tissue to cause hardening by combination of the resulted free carboxyl groups in the pectic substances and divalent cations in the tissue.

(Received Sept. 3, 1979)

加熱殺菌を必要とする植物起源の加工食品、とくに果実・野菜類では、一般に加熱によって軟化し、組織の脆弱化を伴うものが多い。組織の軟化を防止するために、カルシウム塩を添加するケースが多いが、外部から何ら添加物を加えないで、組織の硬さを保持する方法があれば、その方が望ましい。HOOGZAND と DOESBURG¹⁾ はカリフラワーを 70°C 前後の比較的低温で長時間ブランチングすると、加熱殺菌後、無処理に比較して組織が硬化することを見出した。彼らは、この硬化現象に生体内のペクチンエステラーゼ (Pectinesterase; PE) によるペクチン質のエステル化度の低下に基づくために起る現象であると指摘している。このような前処理は予備加熱とも呼ばれ、ジャガイモ²⁾、サクラソボ³⁾、ダイコン⁴⁾、ニンジン⁴⁾、ビート⁴⁾やインゲンマメ⁶⁾など多数の品目で硬化現象の起ることが認められている。しかし、予備加熱によって硬化現象がほとんど起らない品目もある。たとえば、レンコンやカボチャのような野菜類⁴⁾ とカリゴヤ

バナナのような果実類⁶⁾ では予備加熱による硬化が認められず、かつ PE との関係が不明である。さらに、予備加熱によって硬化が起っても、カルシウムイオンの添加効果がないか、あるいは、かえって軟化する品目⁴⁾ も報告されている。このように、予備加熱による硬化現象については多数の報告があるが、現象面を追求したものが多く、その機構に関する報告は少ない。

ダイコンは予備加熱によって水煮後の硬度が増大することは認められているものの、その硬化現象の機構については全く明らかになっていない。本研究は、ダイコンの予備加熱による硬化現象をまず現象面から把握したのち、主として PE 活性とペクチン質との関係およびカリウムとカルシウム・マグネシウムの組織からの移動について検討し、硬化現象の機構を明らかにするために行った。

* 広島農業短期大学 (〒724 広島市西条町御園字 8511)

Hiroshima Agricultural College, 8511 Misonou Saijo-Cho, Higashihiroshima-shi, Hiroshima-ken, 724

実験材料および方法

1. 実験材料

当短大附属農場で栽培した「西町理想ダイコン」を1978年11月17日に採取して、実験に供した。

2. 予備加熱と水煮方法

供試ダイコンを直径10mmのコルクボーラーで垂直に打ち抜き、さらに5mmの厚みに切り円柱状とした。この円柱20個ずつを予め定温にしておいた蒸溜水100mlを入れた200ml容ビーカーに投入し、一定温度で一定時間保持したのち、そのまま沸騰浴中に浸し、30分加熱した。

3. 硬度の測定

飯尾電機(株)製のカードメーターで硬度を測定した。測定にあたり、重錘は200gとし、感圧軸は試料と接する断面積が0.93mm²、1.72mm²および24.71mm²の3種を用い、感圧軸の先端が陥没した時点の荷重を記録紙から読みとり、20個体の平均値をg/mm²に換算して表わした。

4. ペクチンエステラーゼ活性の測定

試料10gに海砂を入れ、水冷しながら乳鉢中で磨砕し、これに0.5M酢酸ナトリウム水溶液⁷⁾40mlを加え、よく混和したのち、冷蔵庫に1夜放置した。翌日、これを定性濾紙で濾過し、濾液を粗酵素液とした。PE活性は、0.5%ペクチン(かんきつ製試薬)水溶液20mlに、上記粗酵素液10mlを加え、pH7.5に調整し、50℃で15分間反応させ、この間に消費した0.02N水酸化ナトリウムの滴定数から求めた。活性の表示は、試料乾物1g当り、1分間に1μeqの酸を生成した場合の活性を1単位とし、PE unit⁸⁾として表わした。

5. ペクチン質の分離

常法通り、アルコール不溶性固形物(AIS)を調製し、このAIS100mgを用いて、蒸溜水、0.4%ヘキサメタリン酸ナトリウム水溶液、熱水(沸騰60分)および0.05N塩酸(沸騰60分)で順次抽出し、それぞれ水溶性ペクチン画分(WP)、塩類可溶性ペクチン画分(HMP)、熱水可溶性ペクチン画分(HWP)および塩酸可溶性ペクチン画分(HP)の4画分を得た。各抽出液1mlに0.1N水酸化ナトリウム2.5mlと蒸溜水1.5mlを加え、室温で60分間ケン化し、この1mlを用いてカルバゾール法⁹⁾によってペクチンの定量を行った。

6. ペクチンのエステル化度の測定

BARTOLONEとHOEFの方法¹⁰⁾に準拠して次のように行った。抽出液2mlに蒸溜水2mlを加えた未ケン化液

と、抽出液2mlに0.1N水酸化ナトリウム2mlを加えてケン化されたケン化液をまず作成した。20ml容バイエルびんに上記溶液1ml、0.01% *n*-プロパノール0.5ml、蒸溜水3.5mlおよび7%リン酸2.5mlを加え、水冷しながら5%亜硝酸ナトリウム2.5mlを入れ、直ちにシリコンゴムで密栓したのち、ハンドクリッパーを用いてアルミキャップでシールした。水冷15~30分後、このヘッドスペースガス1mlを抜きとり、ガスクロマトグラフィーで、アルコールの亜硝酸エステルを分析した。ガスクロマトグラフィーは日立063型ガスクロマトグラフ(水素炎イオン検出器付)を用い、クロモゾーブW(60~80メッシュ)にPEG1500を20%コートした充填剤を内径3mm、長さ2mのステンレスカラムに詰め、カラム温度50℃、キャリアーガス、ヘリウムで行った。メタノール標準液を用いて亜硝酸エステルとし、クロマトグラムのピークの高さを予め求めておいた。供試液中のペクチン質から遊離したメタノール量はケン化前後の差から求め、別にカルバゾール法で求めたペクチン含量に対するメタノール量比からエステル化度を算出した。

7. カルシウム、マグネシウムおよびカリウムの定量

カルシウムとマグネシウムは207型日立原子吸光分光光度計により、カリウムはFPF-2A型平沼炎光光度計によって測定した。

実験結果および考察

1. 予備加熱と硬化現象

予備加熱時の温度を60℃に一定とし、経時的に試料を抜き取って水煮したダイコンの硬度をFig. 1に示した。予備加熱時間が2時間までは、ほぼ直線的に硬度が増し、その後はほとんど増加を示さなかった。この現象は小西らの報告⁴⁾とよく一致していた。予備加熱を行わなかった対照区は13.7g/mm²であったが、予備加熱を4時間行った処理区では185g/mm²を示し、処理によって約13.5倍の硬度の増加がみられた。

次に、予備加熱時間を一定(60分)にして、処理温度を40℃から80℃まで変えて行った結果をFig. 2に示した。水煮後の硬度が最も高い値を示す予備加熱温度は55℃前後に存在し、40℃以下および70℃以上では、ほとんどその効果が認められなかった。したがって、ダイコンの水煮後の硬度を高める予備加熱時の温度範囲は比較的狭く、50℃から60℃の間に存在していた。

ついで、予備加熱時の浸漬溶液を蒸溜水にかえて、クエン酸緩衝液を用いて、硬化現象の温度依存性を検討し

Fig. 1. Effect of pre-heating time on the firmness of Japanese radish discs

The discs were pre-heated in distilled water at 60°C for the indicated periods before the boiling treatment in boiling distilled water for 1 hr.

Fig. 2. Effect of pre-heating temperature on the firmness of Japanese radish discs

The discs were pre-heated in distilled water at the indicated temperatures for 2 hr before the boiling treatment.

た。その結果, Fig. 3 に示したように pH 5.0 以上では, 対照区よりも却って軟化を起し, pH 3 までは pH の低下と共に硬化が促進される現象がみられた。蒸溜水のみで予備加熱を行った場合の溶液の pH は 5.8~5.9 を示し, 硬度は 185 g/mm² であったので, 単に pH のみの影響とは考えられず, この軟化現象はクエン酸のキレート作用に基くものと考えられる。さらに, 蒸溜水で予備加熱したダイコンをクエン酸緩衝液で水煮を行うと, Fig. 4 に示したように, pH 4.0 前後で硬度は極大を示し, pH 6.0 以上では組織が崩壊状態となった。このように, クエン酸緩衝液を用いて, 予備加熱に伴う硬化現象に対する影響を検討することは困難であることが

Fig. 3. Effect of pH in pre-heating solutions on the firmness of boiled Japanese radish discs

The discs were pre-heated in citrate buffer solutions at 60°C for 2 hr before the boiling treatment.

Fig. 4. Changes of firmness of Japanese radish discs boiled in citrate buffer solutions of varied pH after pre-heating

The discs were pre-heated in distilled water at 60°C for 2 hr before the boiling treatment in citrate buffer solutions for 1 hr.

わかった。しかし, 予備加熱によって硬化した組織をクエン酸塩で処理すれば, 硬度が低下し, 人為的に硬度を調節することが可能である。なお, SISTRUNK と CAIN は⁵⁾, 未熟なインゲン豆を用いて, 65~77°C で低温ブランチングを行うと水煮後の硬度が増すが, この場合に, 塩化カルシウム単独よりもクエン酸を併用するとさらに硬度が増大すると報告しているので, 予備加熱時と水煮時では植物組織の硬軟化に及ぼすクエン酸の影響は異った機作に基くことも考えられる。

2. ペクチンエステラーゼ活性

水煮後の硬度に及ぼす予備加熱時の温度はかなり狭い範囲でのみ有効であることを知ったので, ダイコンから抽出した PE 粗酵素液を用いて, 温度依存性をまず検討し, ついで pH 依存性も併せて行った。ダイコンの PE は Fig. 5 に示したように 50~60°C の間に至適温度が存

Fig. 5. Temperature dependence of pectinesterase activity in Japanese radish root

Ten grams of Japanese radish root were homogenized with 40 ml of 0.5 M sodium acetate solution below 5°C and the slurry was filtrated. Enzyme assay mixture contained 10 ml of the filtrate as enzyme source and 20 ml of 0.5% pectin aqueous solution. The mixture was adjusted and maintained to pH 7.5 at varied temperatures for 15 min by continuous titration with 0.02N NaOH. PE unit was defined as the amount of enzyme activity that could produce 1 μeq of acid per minute per 1 g of the sample in dry weight basis.

Fig. 6. Effect of pH on Japanese radish pectinesterase activity

Assay conditions were the same in Fig. 5 except for varied pH and constant temperature at 50°C.

在し、その値は、前の水煮後の硬度の予備加熱時の温度依存性と酷似していた。いっぽう、pH 依存性は、Fig. 6 に示したように、pH 8.5 前後に至適作用条件が存在していた。ダイコンの pH における活性はこの至適 pH 8.5 における活性と比較すると約 60% とみられるが、

組織内の元来の pH は不明であるので、組織内でどの程度活性を示しているか明らかではない。

3. 予備加熱に伴うペクチン質の変化

予備加熱を行った区と行わない区について AIS を調製し、その AIS 中のペクチン質の溶解度の差に基く画分の構成比を Fig. 7 に示した。水溶性ペクチン画分は

Fig. 7. Changes of pectic substances in AIS fraction of Japanese radish with or without pre-heating treatment

WP: water soluble pectin, HMP: salt (sodium hexametaphate) soluble pectin, HWP: hot water soluble pectin, HP: hydrochloric acid soluble pectin.

予備加熱によって減少し、熱水溶性および酸可溶性ペクチン画分の比率が著しく増加した。すなわち、予備加熱によってペクチン質は水に対する溶解度が減少し、いわゆるプロトペクチン¹⁰⁾の比率が高くなる傾向になった。無処理の対照区において水溶性ペクチン画分の比率が高く、水煮後の硬度が低いのにに対し、予備加熱を行った区では逆に水溶性ペクチン画分が減少し、水煮後の硬度が増大したことから、ペクチン質の溶解度の減少が組織の保特に貢献し、水煮後の変化を少なくしているとみられる。この両者の組織の顕微鏡観察を行った結果、予備加熱を経たものは無処理区と比較して水煮後の細胞壁と中葉組織の厚みが厚く、Buch¹¹⁾がサクランボで観察した結果と一致した。なお、水煮後のダイコン組織からの AIS の収率は対照区、処理区とも 1.60% で、この AIS 中の全ペクチン質はそれぞれ、2.05%、2.25% であった。したがって、予備加熱の有無にかかわらず、全ペクチン量に大きな差は認められなかった。

いっぽう、各画のエステル化度は Fig. 8 に示した。

Fig. 8. Effect of pre-heating treatment on the degree of esterification of pectin fraction in Japanese radish root

Symbols were the same as in Fig. 7.

予備加熱を行っても、水溶性ペクチンのエステル化度にはほとんど変化がなかったが、熱水及び酸可溶性ペクチン画分では減少し、殊に後者では約 30% の低下がみられた。ALBESHEIM ら¹²⁾によると、加熱によるペクチンのグルコシド結合の開裂は、エステル化度の高い程度起りやすく、ペクチン酸ではほとんど起らないと述べている。このことを考慮すると、予備加熱によって水煮後の硬度が増大する現象は、細胞壁や中葉組織のペクチン質のエステル化度の低下によって、共存する組織内の二価カチオンとの架橋によって組織が強化されるとともに、エステル化度の低下によって加熱によるグルコシド結合の開裂が抑制され、高分子で残存する機会が増すことによると考えられる。

4. 予備加熱に伴うカチオンの遺漏

予備加熱によって水煮後のダイコンの硬化現象の起る要因が、細胞壁や中葉組織を構成しているペクチン質の変化、すなわち脱エステル化と二価カチオンの結合にあると仮定すると、硬化を起す予備加熱温度において浸漬液中へのカチオンの移動がある筈である。BARTOLONE と HOFF は²⁾ 50°C 以上に加熱すると、細胞の電解質（主としてカリウムイオン）が細胞壁物質と接触するようになり、PE を活性化するのであろうと推論している。そこで予備加熱の各温度において経時的に浸漬液を抜きとり、溶出したカチオン量を測定した。カリウムイオンは Fig. 9 に示したように、40°C までではほとんど溶出がみられなかったが、50°C になると急激な溶出が起り、それ以上の温度では大きな差がなかった。BARTOLONE と

Fig. 9. Effect of pre-heating time and temperature on the leakage of K⁺ from the discs of Japanese radish

HOFF の指摘しているように、予備加熱時の温度が 50°C になると、細胞膜に無傷の損傷を与え細胞膜に接する細胞内電解質、特にカリウムイオンの解離が起り PE が活性化すると考えられる。

いっぽう、二価カチオン（カルシウムおよびマグネシウムイオン）の組織から浸漬液中への溶出量の温度依存性について得られた結果を Fig. 10 および Fig. 11 に示した。この二価カチオンは両者ともカリウムイオンのように、40°C と 50°C との間で明らかな溶出量の急激な変化がみられず、温度の上昇と共に増加したが、マグネシウムイオンの場合はカリウムイオンと比較的類似した曲線を示した。カリウムイオンの溶出量の方が約 40 倍大きい、二価のカチオンも溶出することから、ダイコ

Fig. 10. Effect of pre-heating time and temperature on the leakage of Ca⁺⁺ from the discs of Japanese radish

Fig. 11. Effect of pre-heating time and temperature on the leakage Mg^{++} from the discs of Japanese radish

ンの予備加熱による硬化現象を次のように考察することができる。すなわち、予備加熱によってダイコンの組織内でまずカリウムイオンの移動が起り、同時に PE が活性化され、ペクチン質に作用して脱エステル化を促し、共存するカルシウムおよびマグネシウムイオンの移動を誘起するような組織内変化と相俟って、遊離のカルボキシル基に二価カチオンが結合して硬化現象が起ると考えられる。

要 約

ダイコンの予備加熱に伴う水煮後の硬化現象を主としてペクチン質の変化とカチオンの組織からの溶出の点から検討した。

- (1) 硬化現象を促進する予備加熱の最適温度は 55°C 前後に存在し、処理時間は 2 時間まで硬度の増大がみられた。
- (2) ペクチンエステラーゼ粗抽出液の活性は、50~60°C で最大で、pH 8.5 前後で最も高かった。この最適温度は最大硬化を起す予備加熱温度と一致した。

(3) 予備加熱によって、水溶性ペクチン画分が減少し、熱水可溶性及び酸可溶性ペクチン画分の比率が増大した。また、予備加熱に伴ってペクチン質のエステル化度の低下がみられた。

(4) 予備加熱時の温度が 50°C 以上になると、浸漬水へのカリウムイオンの溶出が著しく、カルシウムおよびマグネシウムイオンの溶出よりも遙かに大きかった。

以上のことから、ダイコンの予備加熱に伴う水煮後の硬化現象は、まず組織内のカリウムイオンの移動が起り、本来不活性であったペクチンエステラーゼが活性化し、組織内に存在するペクチン質の脱メチル化を促し、共存する組織内の二価カチオンが遊離したカルボキシル基と結合して硬化すると結論した。

文 献

- 1) HOOGZAND, W.A. and DOESBURG, J.J.: *Food Technol.*, **15**, 160 (1961).
- 2) BARTOLONE, L.G. and HOFF, J.E.: *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 266 (1972).
- 3) LA BELL, R.L.: *J. Food Sci.*, **36**, 323 (1971).
- 4) 小西英子・淵上倫子・岡本賢一: 栄養と食糧, **28**, 44 (1975).
- 5) SISTRUNK, W.A. and CAIN, R.F.: *Food Technol.*, **14**, 357 (1960).
- 6) 新田ゆき: 家政学雑誌, **26**, 173 (1975).
- 7) HOBSON, G.E.: *Biochem. J.*, **86**, 358 (1963).
- 8) COLLINS, G.L.: *J. Food Sci.*, **35**, 1 (1970).
- 9) DIETZ, J.H. and ROUSE, A.H.: *Food Res.*, **18**, 169 (1963).
- 10) PILNIK, W.P. and VORAGEN, A.G.: *The Biochemistry of fruits and their products* (Academic Press New York), Ed. by HULME, A.C. p. 70~71 (1970).
- 11) BUCH, M.L., SATORI, K.G. and HILLS, C.H.: *Food Technol.*, **15**, 526 (1961).
- 12) ALBERSHEIM, P., NEWKOM, H. and DEUEL, H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **90**, 46 (1960).

(昭和 54 年 9 月 3 日受理)