

フェノール物質がペクチンエステラーゼに及ぼす影響

稲荷妙子, 竹内徳男

家政学部家政学科食物栄養学専攻

(2001年9月10日受理)

The Effect of the Phenolic Substances on the Pectinesterase

Department of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru Gifu, Japan(〒501 - 2592)

INARI Taeko and TAKEUCHI Tokuo

(Received September 10, 2001)

緒 言

果実組織の軟化はペクチン質を含んだ多糖類成分の生理的变化によると考えられている。ペクチン質は果実組織の中間層と主な細胞壁の成分であり¹⁾, 未熟果実のペクチンは、水不溶性プロトペクチンからなるといわれている。従って、果実組織の軟化はペクチンエステラーゼとポリガラクトクロナーゼのようなペクチン加水分解酵素がペクチンに作用し、その分解を通じておこると想定されている。

トマトは世界中で最も食されている果実・野菜のひとつである。トマト果実のペクチン加水分解酵素や果実の軟化について今までにも報告されているが²⁻⁵⁾, 著者らもミニトマト果実のペクチンエステラーゼ(以後、PEと略する)の精製とその理化学的性質について既に報告した⁶⁾。すなわち、ミニトマトのPE活性は果実の成熟に伴って増加が見られたことから、ペクチン加水分解酵素が果実の軟化に影響を及ぼす重要な要素であると考えられた。しかし、何故成熟期にPE活性が増加するのかという理由は不明である。また、

果実は一般的に未熟果は渋く、成熟に伴って渋味は消失し、固有の可食状態になることが多い。従って本報では、ミニトマトPEが成熟に伴って増加した理由を探る目的で、果実の熟度によって含量の変化するフェノール物質がPEにどのような影響を及ぼすかについての実験を試みた。

実験方法

1. 試料

試料は露地栽培されたミニトマト(ペペ)を成熟別に採取して用いた。分別方法は既報⁶⁾に従った。

また、使用したフェノール物質は、いずれも試薬品でタンニン酸、フェルラ酸、クロロゲン酸、ケルセチン、没食子酸、ルチン(和光純薬株式会社製)、カテキン(東京化成工業株式会社製)、4-アミノ安息香酸(ナカライデスク株式会社製)、ナリンギン(Fluka Biochemika)である。

2. PEの抽出

PEは食用適期(成熟果)のミニトマトから既報⁶⁾により抽出した粗酵素液に、硫酸ア

ンモニウムを40%飽和加えて塩析した部分精製酵素液 (pH6.0) を用いた。

3. PE 活性に及ぼすフェノール物質の影響

PE 活性は従来⁶⁾と同様, 基質として1%ペクチン(0.1M NaCl 含有)20ml を用いる基本系で測定した。フェノール物質の影響を調べる際は, 基質に目的濃度になるようにフェノール物質を加え, ペクチン濃度等その他の条件は基本系と同様にしてPE活性を求めた。フェノール物質添加系のPE活性をフェノール物質無添加の基本系の活性値に対する残存活性率(%)として表した。

4. PE 安定性に及ぼすタンニン酸の影響

PE 部分精製酵素液にタンニン酸を0.1%, 0.5%, 1.0%, 2.0%相当量になるように直接添加し, 直ちにpHを7.0に調整して2時間冷蔵(5℃)保存後, PE活性を求め, タンニン酸を添加していない酵素活性に対する残存活性率(%)として表した。

5. ミニトマト中のタンニン量

ミニトマト果実中のタンニン量を成熟別にFolin-Denis法により求めた⁷⁾。

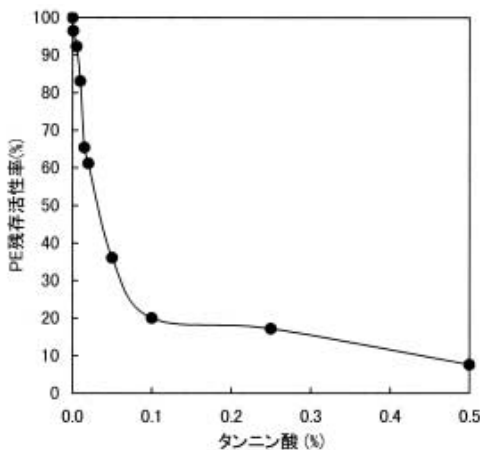


図1 タンニン酸添加におけるPE残存活性率

実験結果及び考察

1. PE 活性に及ぼすフェノール物質の影響

ミニトマトPE活性測定時に及ぼすフェノール物質の影響を図1に渋味物質の代表的なタンニン酸について示した。タンニン酸は, 反応液中0.001%と非常に低い濃度でも残存活性率が96.5%となり, PE活性を3.5%も弱体化させることが分かった。同様に, 0.01%で16.9%, 0.05%で63.9%, 0.5%で92.4%と強く活性阻害が見られ, タンニン酸は濃度に依存的にPE活性を阻害・弱体化させることが分かった。

ミニトマトPE活性測定時に及ぼす9種のフェノール物質の影響を図2にPE残存活性率で示した。ルチン以外, 実験したすべてのフェノール物質はPE活性に対し阻害作用を示すことが分かった。特に, 0.5%でタンニン酸はPE残存活性率が7.6%に対し, 他のフェノール物質は80%以上であることより, タンニン酸は他のフェノール物質に比べて極めて低い濃度でPEを阻害することが判明し

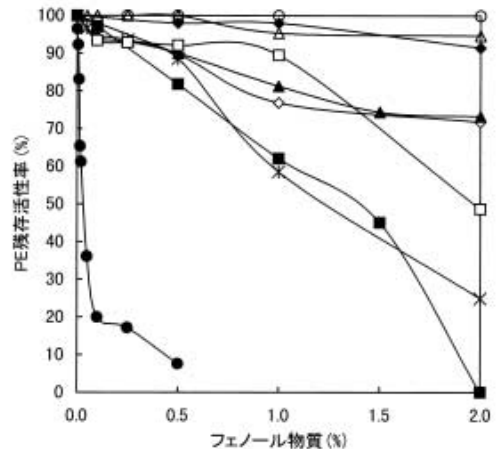


図2 各種フェノール物質添加におけるPE残存活性率

- タンニン酸
- カテキン
- ✱ フェルラ酸
- クロロゲン酸
- ▲ ケルセチン
- 没食子酸
- ◆ 4-アミノ-酪酸
- ルチン
- △ ナリンギン

た。PE 活性に対する阻害効果はカテキンとフェルラ酸が大きく、没食子酸やクロロゲン酸、ケルセチン、4 アミノ n 酪酸という順で、ナリンギンが若干影響を及ぼす程度であることが分かった。また、どのフェノール物質も濃度が高くなるにつれ、PE 活性に対する阻害が大きくなることが分かった。

2. PE 安定性に及ぼすタンニン酸の影響

タンニン酸を添加した酵素溶液を2時間冷蔵庫で保存後、活性測定したところ、図3で示したように、酵素液中のタンニン酸濃度0.1%で残存活性率91.5%、0.5%で82.2%、1.0%で76.5%、2.0%で32.2%とタンニン酸濃度が高くなるに従って残存活性率は下がった。酵素液を低温に保ち、その温度による失活を避けたにもかかわらず、タンニン酸は濃度に依存的にPEを弱化させた。すなわち、タンニン酸はPEを構成するタンパク質と結合、不溶化等により不活性化をもたらせたと考えられる。このことは古くから、タンニンはタンパク質混在除去剤として利用されていることから類推できる。

なお、活性測定は基質1%ペクチン20mlに対し、酵素液を0.1ml加えて測定した。そ

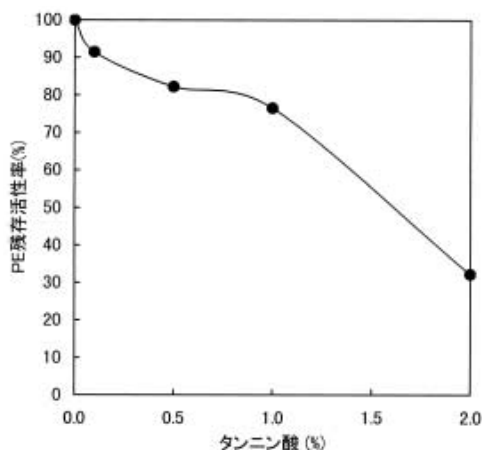


図3 タンニン酸のPE安定性に及ぼす影響

のため、活性低下は活性測定時のタンニン酸濃度の影響ではないかとの疑問から、酵素液中のタンニン酸濃度を活性測定時のタンニン酸濃度に換算して、図1の結果と比較したが、タンニン酸のいずれの濃度でも残存活性率がより低く、酵素自体をタンニン酸は大きく阻害していることが判明した。

3. ミニトマト果実のタンニン量とPE活性

ミニトマト果実のタンニン量は、未熟果では0.167%、緑熟果0.039%、成熟果で0.033%であった。人間のタンニン酸の渋味の閾値は0.1%である。よって、ミニトマト果実の渋味は未熟のみ感じる濃度で、緑熟、成熟果では感じられない濃度である。

ミニトマト果実の成熟におけるPE活性の変化⁶⁾とタンニン量を図4に示した。成熟するに従ってタンニン量は減少し、PE活性は増加した。タンニンは図1で示したように渋味を感じる0.1%でPE活性を強く阻害し、PE残存活性率が20%であることが判明した。ミニトマトの未熟はタンニン量が0.167%であることから、未熟のミニトマトPEはタンニンによって活性が阻害されていると考察できる。緑熟、完熟果でもタンニン量が0.03%以上含まれるため、阻害はされるがその阻害効果は未熟に比べると些少である。

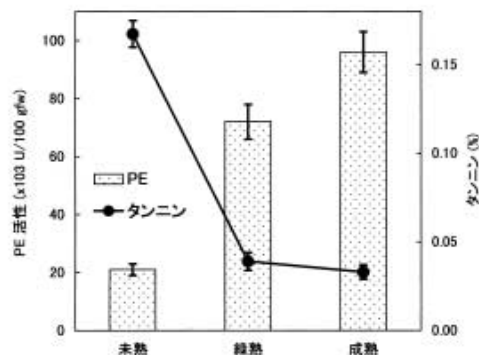


図4 ミニトマト果実の成熟におけるペクチンエステラーゼ(PE)活性とタンニン量の変化

以前の研究より(未発表), 渋柿である富士柿の PE 活性は渋が感じられるタンニン量 0.1%以上では PE 活性は認められず, タンニン量が 0.1%以下になった脱渋後, PE 活性が認められたことと, 今回のミニトマトの結果と一致する。よってタンニンがミニトマト果実中の基質であるペクチンと PE との酵素反応を制御していると考えられた。また, タンニンはミニトマト PE 自体の安定性に影響を及ぼすことが, 今回の実験で分かった。そこで, ミニトマトの成熟に伴って PE 活性が増大する要因は他にもあると思われるが, タンニン量の減少がその要因の 1 つには間違いないと考察される。

要 約

ミニトマト中のペクチンエステラーゼ(PE)活性は果実の成熟と共に増加したことから, 果実の軟化に影響を及ぼすと考えられた。今回, ミニトマト PE が成熟に伴って増加した理由を探る目的で, 果実の熟度によって含量の変化するフェノール物質が PE にどのように影響するかについての実験を試みた。

その結果,

- 1) ミニトマト PE 活性に及ぼす 9 種のフェノール物質の影響を調べた結果, ルチン以外, 実験したすべてのフェノール物質は PE 活性に対し阻害作用を示すことが分かった。タンニン酸が 0.1% で PE 残存活性率 20% と PE 活性を最も阻害した。また, いずれのフェノール物質も濃度が高くなるにつれ, PE 活性に対する阻害が大きくなることが分かった。
- 2) 酵素液にタンニン酸を加えて 2 時間保存した場合, タンニン酸は濃度依存的に PE を不安定にした。
- 3) ミニトマト果実のタンニン量は, 未熟果

では 0.167%, 緑熟果 0.039%, 成熟果 0.033% であった。ミニトマトの未熟果はタンニン量が多いため, PE 活性が阻害されたと思われる。そして, ミニトマトの成熟に伴って PE 活性が増大する要因に, タンニン量の減少が関与すると考察した。

文 献

- 1) Tuji, K. and Mori, B. (1997) "Shokumotusen no Kagaku". Asakura Shoten, Tokyo (in Japanese).
- 2) Gross, K.C. and Wallner, S. J. (1979). Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. *Plant Physiol.*, **63**, 117 - 120
- 3) Brady, C.J., Macalpine, G., Mcglasson, W. B. and Ueda, Y. (1982). Polygalacturonase in tomato fruits and the induction of ripening. *Aust. J. Plant Physiol.*, **9**, 171 - 178.
- 4) Grierson, D. and Tucker, G.A. (1983). Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening. *Planta*, **157**, 174 - 179.
- 5) Watson, C.F., Zheng, L. and Della, P.D. (1994). Reduction of tomato polygalacturonase beta subunit expression affects pectin solubilization and degradation during fruit ripening. *Plant Cell*, **6**, 1623 - 1634.
- 6) Inari, T., Yamauchi, R., Kato, K. and Takeuchi, T. (2000). Purification and some properties of pectinesterase from fruits of a miniature fruited red type tomato. *Food Sci. Technol. Res.*, **6**, 54 - 58.
- 7) 稲荷妙子・友枝幹夫 (1990). 柿渋の脱渋に関する一考察 岐阜女子大学紀要 19号. 49 - 54.