

ペクチンの分解と maceration の関係 (3)

小 沢 潤 二 郎 ・ 武 田 晃

酵素、熱及酸（室温）による、ペクチン質の分解と maceration の条件の異同に就て行った実験結果を報告する。

1. pectinase と pH との関係 (續)

(a) *Bacillus natto*. 基質として Norris 及 Resch のペクチン酸（調製したペクチンをアルカリで鹼化したもの⁽¹⁾）を用いた。酵素液は培養液（ペプトン水に 35°C 3 日間培養）にアセトンを加えて沈澱せしめ之を水に溶解したものを使用した。⁽²⁾ 反應液の組成は既報⁽³⁾ と同じ。温度 35°C, 作用時間 5hr.。結果を第 1 表に示した。

トン水に 30°C 7 日間培養）にアセトンを加えて沈澱さしたものを使用した。反應液の組成、条件は前と同じ、第 2 表は其結果である。

E. aroideae の maceration の最適 pH は 6.5 附近であつて、この場合も *B. natto* と同じような事が考えられる。

(c) *Saccharomyces cerevisiae*. 基質としてペクチン A, 酵素液として培養液（麦芽汁に 27°C 3 日間培養）の菌体を除いたものを其儘使用した。反應液の組成及条件は前と同じ。第 3 表に其結果を示した。

粘度の下降の optimum は maceration⁽²⁾

第 1 表

pH.	5.6	6.0	6.4	6.8	7.3	7.8	8.4	9.0
粘度の下降 馬鈴薯切片の柔軟化度	0.045 ±	0.119 ±	0.182 ±(±)	0.239 ±	0.343 ±	0.468 ±(+)	0.564 +	0.559 +

(備考) maceration の実験にはペクチン溶液の代りに水を加えた。他の条件は同じ。

青かび、くものすかびの場合と異つて、粘度の下降と maceration の最適 pH が相当距つてゐる。しかし馬鈴薯の細胞膜のペクチンは、Norris 等のペクチン酸と異つて methoxyl 基を含んでゐる。ペクチンは鹼化すれば後に述べるように粘度が高くなる。ペクチンの鹼化は、pH 5~6 よりアルカリ性となるにつれて速に行われる、又ペクチンが不純な時 pH による變化が著しいようである。粘度から測定した *B. natto* の pectinase の最適 pH が maceration の夫よりもアルカリ性の方に傾いてゐるのは上記のようにペクチンの物理化学的な性質によるものではなからうか。

(b) *Erwinia aroideae*. 基質とした鹼化したペクチン F を用いた。酵素液は培養液（ペプ

第 2 表

pH.	5.7	6.6	7.3	8.0
粘度の下降	0.056	0.096	0.148	0.213

第 3 表

pH.	3.05	3.6	4.2	5.6
粘度の下降	0.015	0.143	0.118	0.020

(備考) 鹼化しないペクチン A を用いたのは酵素液に pectase が認められなかつた爲である。

R. tritici *P. expansum* の菌糸抽出液にも同じく pectase はなかつた。

に較べて pH の高い方にある。あまり純粋でないペクチン、特にペクチン酸の溶液は pH が 4 より 3 に下ると粘度が下降する。この場合も、polyase 作用の他にペクチン質の物理化学的な性質が maceration に影響してゐるのではないかと思われる。

2. pectinase と温度との関係 基質として *Rhizopus tritici*. *Penicillium expansum*. *S. cerevisiae* には鹼化しないペクチン A, *B. natto* には Norris 等のペクチン酸を用いた。酵素液は *R. tritici* 及 *P. expansum* は菌糸抽出液、*S. cerevisiae* 及 *B. natto* は

第 4 表

		30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	55°C
R. tritici pH. 4.3	粘度の下降 4.5hr.	0.187	0.206	0.230	0.230	0.110	0.102
	N/50 沃度消費量 cc 4.5hr.	0.004	0.06	0.07	0.07	0.03	0.02
	馬鈴薯切片の柔軟化度 2hr.	+	+(+)	++	++	±	—
P. expansum pH. 4.3	粘度の下降 4.5hr.	0.105	0.125	0.148	0.172	0.081	0.070
	N/50 沃度消費量 cc 4.5hr.	0.13	0.16	0.19	0.20	0.12	0.09
B. natto pH. 6.8	粘度の下降 5 hr.	0.164	0.239	0.307	0.355	0.390	0.382
S. cerevisiae pH. 3.8	粘度の下降 15 hr.	0.115	0.143	0.153	0.162	0.110	—

(備考) pH. の場合と同様加熱して酵素を破壊したものを対照として加え酵素を加えた時の粘度下降の値より差引いた。

第 5 表

酵 素 液	酵素液の pH	対 照		58°C		80°C	
		馬鈴薯切片が完全に柔軟化する時間(分)	粘度の下降	馬鈴薯切片の柔軟化度	粘度の下降	馬鈴薯切片の柔軟化度	粘度の下降
R. tritici	5.2	165	0.188	+	0.019	—	0.000
P. expansum	5.2	585	0.147	+(±)	0.019	—	0.005
B. natto	6.8	420	0.209	卅(++)	0.196	+	0.104

(備考) 作用時間及 pH を R. tritici 165分 pH. 4.1, P. expansum 585分 pH. 4.1, B. natto 420分 pH. 6.8 として測定した。

pH の場合と同じものを使用した。反応液の組成は前と同じ。第4表は其結果である。

B. natto の pectinase は 50°C 附近が optimum で他のものよりも耐熱性である。maceration に於ても同様の傾向が見られた⁽²⁾ 温度に関しては pectinase と maceration の作用の条件が大体一致すると言える。

Davison 等⁽⁴⁾ の報告によれば protopectinase の破壊温度は 48°C, pectinase は 60°C で耐熱性が相当異つてゐる事になる。著者等の実験の結果は第5表の通りで、Davison 等のように明確な相違は認められなかつた。実験方法は前と同じ酵素液を試験管に取り、栓をして恒温槽中に20分間放置し、冷却してmaceration 及 pectinase の作用を測定した。pectinase に対する基質は何れも Norris 等のペクチン酸を用い、其他の条件は前と同じにした。

3. 加熱による maceration 馬鈴薯や大根を 70°C の温水中に浸漬すれば長時間(約 10hr.) の後に僅かに柔軟化する。70°C 以下では殆ど

柔くならなかつた。ペクチン溶液を 65~70°C に加温して還元糖及粘度の下降を測定した結果は第6表に示す通りである。

第 6 表

	温度	10hr.		24hr.	
		N/50 沃度消費量	粘度の下降	N/50 沃度消費量	粘度の下降
ペクチン酸 F pH. 4.9	65°C	0.07	0.039	0.16	0.075
	70°C	0.10	0.102	0.23	0.238
Norris 等のペクチン酸 pH. 4.5	65°C	0.06	0.053	0.14	0.046
	70°C	0.10	0.098	0.22	0.215

第6表の反応液はペクチン酸F或は Norris 等のペクチン酸を 1%, McIlvaine の buffer を全溶液の 1/20 加えたものである。之を 30cc フラスコ (100cc) に取り、冷却器をつけて恒温槽中に放置し、一定時間後に反応液 2cc を取つて還元糖を定量した。粘度は反応液の一部を取つて 30分間に 20°C に冷却した後測定した。実験結果はあまり正確ではないが (pH は反応後 0.1~

0.2程度下降してゐた。) 65°C 附近でもペクチンの分解は僅々に行われる。70°C 以下でmaceration が殆ど認められないのは馬鈴薯等の冠水現象がペクチンの分解よりも顯著に現われる爲であると考えられる。實際馬鈴薯大根等は60~70°Cの水の中に放置すると速に硬化する。

温度が高くなれば maceration は速に行われる。ペクチン溶液の分解も同様に急激である。第7表は前と同じ條件で、95°C に於て反應させた結果である。此際 pH が低い程速に反應する。野菜等を煮て柔らかくなるのはペクチンの分解が冠水現象よりも顯著な爲であらう。

第 7 表

時間 hr.	3	10	24	48	96	144
pH						
3.5	0.42	1.33	3.48 (5.50)	(9.26)	(9.78)	(8.11)
4.0	0.34	1.11	2.72 (3.15)			
4.9	0.25	0.73	1.50			
5.4	0.20	0.55	1.28			

(備考) 表の數字は反應液が 95°C に上昇した時を 0hr. とし、0hr. に於る N/50 沃度消費量或は N/10 Na-thiosulfate の滴定値を差引いたものである。括弧内の數字は Lehmann-Schoorl 法による反應液 10cc の滴定値 (N/10 Na-thiosulfate)。Willstätter Schudel 法によるウロン酸の滴定値は過大となると言われてゐる。又表より明らかなようにウロン酸の破壊が起る。其故速度恒數は求められなかつた。

4. 室温に於る稀酸による maceration

1% ペクチン A 溶液を pH 1.5~2.5 に 24hr 35°C に放置しても還元糖の増加は認められな

かつた。しかし馬鈴薯や大根はこの程度の酸で容易に柔軟化する。ペクチン或はペクチン酸等の溶液の粘度と pH との関係に就て行つた實驗結果を第8表に示す。

ペクチン或はペクチン酸等の濃度を 0.67% とし pH を N/10 の塩酸及苛性ソーダで調節して 35°C に 4hr. 放置し、30分間に 20°C に冷却した後粘度を測定した。pH が低くなつた場合ペクチン溶液の粘度の下降が僅かに認められたが、著者等の用いたペクチンがあまり純粋でなかつた爲であるかもしれない。不純物としては灰分が相当粘度に影響してゐるようである。methoxyl 基の一部を石灰で鹼化したペクチン A の溶液では粘度の下降は顯著となる。ペクチン分子を相互に結合した Ca, Fe 等が酸によつて除去され、膠質粒子が小さくなる爲であらう。急激な粘度の下降は pH 2.5 以下で起り丁度 maceration の條件と一致する。其故二つの現象の類似性を想像する事が出来る。即ち稀酸による maceration は酵素や熱による場合と異つてペクチンの glycosid 結合の分解によるのではなく、ペクチン分子間或はペクチン分子と他の物質との間の Ca, Fe 等による結合が切れる爲に起るものと想像せられる。

皮麻は稀酸によつて柔軟化しない。馬鈴薯切片も稀薄な CaCl₂ 溶液で冠水瘻の状態にし更に稀薄なアルカリ溶液 (pH 12.0 以下) で細胞膜のペクチンを鹼化すれば稀酸によつて柔軟化しなくなる。皮麻や macerate しなくなつた馬鈴薯を塩酸 (PH 1.6) に室温で 12hr 浸漬し、蒸溜水で洗い NaOH を少量加えて中性の状態に保つと macerate する。此現象は次のように説明する事が出来る。ペクチン酸は、pH

第 8 表

pH	1.6	2.5	2.8	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	12.5 以上
ペクチン A' (1)	1.695	1.695	1.708	1.733	1.771	1.796				
Norris等のペクチン酸			1.480*	1.592	1.820	—	1.889	1.889	1.875	1.843** 1.764
ペクチン A' Ca 塩 (2)	1.686	1.686	—	1.728	1.806	—	1.811	—	—	1.801*** 9.078
ペクチン A Ca 塩 (3)	1.283	1.288	—	1.651	—	2.000	2.000			

(備考) (1) 温州蜜柑の果皮より、ペクチン A を調製したと同様の方法でつくつたもの

(2) ペクチン A' のカルキソキシル基の25%を Ca 塩とし他をエステルとして残したもの

(3) ペクチン A のカルボキシル基の56%を Ca 塩とし他をエステルとして残したもの * 僅かに乳濁してゐた。 ** pH 9.0→8.2 實驗中に下降 *** pH 9.0→7.6 實驗中鹼化の爲下降。

2.5 以下となると解離を妨げられる爲と思われるが、不溶性となつて沈澱する。皮麻の細胞膜のペクチンは methoxyl 基の含量が非常に少いと想像され、ペクチン酸と同じく酸によつて不溶性となり、皮麻は macerate しない。NaOH を加えればペクチンは Na 塩となつて溶解する爲皮麻は柔軟化する。

ペクチンを鹼化すれば粘度が高くなるようである。ペクチン A' の 2% 溶液 10cc に N/10 NaOH は溶液を 7.5cc 加え 24hr. 20°C で鹼化し、HCl を加えて pH 7.0 及 4.5 とし、水をペクチンの濃度が 0.67% となるように加え、粘度を測定すれば第 9 表のようになる。

第 9 表

pH	鹼 化 前	鹼 化 後
7.0	1.816	1.80
4.5	1.723	1.786

5. 考 察 ペクチン質の分解と maceration の條件が非常に異つてゐる場合は Davison 等のように、protopectin と pectin との分解に區別する事が出来るかもしれない。しかしこの場合次の事柄を考慮しなければならない。(1) 植物柔組織の細胞間隙物質は調製したペクチンと全然同一の化学組成であるとは考えられない。(2) ペクチンの主成分である polygalacturon 酸は重合度が異つてゐるか、遊離してゐるか、或は Ca や Fe 塩となつてゐるか等で物理化学的性質が大分ちがつて来る。酵素に対しても methylester となつてゐる時は作用されないと言われてゐる。抽出したペクチンと細胞膜のペクチンの polygalacturon 酸は此等の点で多少相違してゐる筈である。又同

じ理由で反應液の無機物が影響する、細胞が死ねば無機物の影響で冠水諸の状態になる可能性がある。(3) 細胞間隙にある場合と溶液ではペクチンの反應速度が異なるにちがいない。(4) ペクチン溶液の粘度の下降と細胞間隙中のゲル状のペクチンの溶解とは或場合には類似した現象かもしれないが、勿論同じものではない。粘度は膠質粒子の形や帯電の状態が関係するものと思われる。上記の理由で僅かな條件の相違によつて maceration とペクチンの分解を異つた化学變化であると決めるわけにはゆかない。又條件が同じだからと言つて同じ化学作用であるとも決定する事は出来ない。著者等の実験結果では両者の條件にあまり著しい距りがあるように思われぬ。特に polygalacturon 酸のカルボキシル基の状態を考慮にいれ、粘度の變化を主に粒子の大きさや形によるものであると假定した場合は殆ど相違がないと言つてもよさそうである。Davison 等の條件に就ての実験結果を見ても両者にそんなに著しい違いがあるとは思われず、又前報で述べたようにペクチン質の分解に polyase 及 oligase を認めるならば Davison 等のように両者を異つた化学變化であると断定する事は出来ないのではないかと思ふ。

終に御指導を賜つた片桐先生に深謝の意を表する。

文 献

- (1) F. W. Norris and C. E. Resch, Biochem J. 31 (1937) 1945
- (2) 小澤、農學研究 37 (1947) 14
- (3) 武田、林、宇佐美、小澤、農學研究 38 (1948) 43
- (4) F. R. Davison and J. I. Willaman, Bot. gaz. 83 (1927) 329
- (5) 小澤、武田、林、農學研究 38 (1948) 123