

# トマト果実の軟化に伴うペクチン及びペクチンエステラーゼ活性の変化

誌名	福岡県農業総合試験場研究報告. B, 園芸 = Bulletin of the Fukuoka Agricultural Research Center. Series B, Horticulture
ISSN	02863030
著者	茨木, 俊行 平野, 稔彦 山下, 純隆 馬場, 紀子
巻/号	8号
掲載ページ	p. 63-66
発行年月	1988年11月

## トマト果実の軟化に伴うペクチン及びペクチンエステラーゼ活性の変化

茨木俊行・平野稔彦・山下純隆・馬場紀子  
(経営環境研究所経営部)

トマトは果実の硬度維持が大変重要であり、ペクチン及びペクチンエステラーゼ活性はこれに深く関与している。ここでは、トマト果実の軟化に伴うこれら活性の変化について検討した。

ペクチンエステラーゼの至適pHは6.5~8.5までの広い範囲に存在した。ペクチンエステラーゼ活性は未熟期のごく初期に増大し、その後過熟期にかけてほぼ一定の活性を保った。

トマト果実の軟化にともない、プロトペクチンが減少した。水溶性ペクチンをセファデックスG25によりゲルろ過したところ、これはガラクトuron酸に分解され、さらに低分子の化合物にまで分解されることが判明した。

ペクチンエステラーゼは果実の軟化を律速しており、この生成を制御することにより軟化が防止できる。

[Keywords: Tomato fruit, pectin, pectinesterase, column chromatography, optimum pH.]

## 緒 言

トマトは最近の消費指向を反映して、「完熟トマト」が生産出荷されるようになってきた。これは従来の未熟果を収穫するのではなく、樹上で完熟させることにより食味のよいトマト生産を目指したものである。一般に果実は熟度が進むにつれ着色及び果実の軟化が進行する。樹上でクライマクテリックピークをむかえたトマトは果実の硬度維持が大変重要である。

一方ペクチンは、プロトペクチン、水溶性ペクチン及びペクチン酸等からなり、植物の細胞壁を構成し、細胞同士を結合させる役割を果している。そのため果実の軟化に大きく関与している。未熟な果実には水溶性ペクチンが相対的に少なく、果実が軟化するにともないプロトペクチンは水溶性ペクチンに変化する。このペクチンの分解過程にはペクチンエステラーゼ (PE)、エンドポリガラクトuronナーゼ (endo-PG)、エクソポリガラクトuronナーゼ (exo-PG) などが関与していると考えられている。ここではトマト果実の軟化に及ぼすペクチンおよびPE活性の変化について報告する。

## 材料及び方法

供試果実、1987年7月16日に福岡市西区元岡で収穫した隣耕トマト「TVR-2」の6段果を用いた。

また、果実硬度測定には山電製レオナーメーターの球形アダプターを用い、トマト果実の赤道部が3mm歪むのに要する力を測定した<sup>1)</sup>。次に、果実中のPE及びペクチンを下記の方法で抽出、定量した。

## 1 果実の軟化に及ぼすPEの影響

## (1) 粗酵素液の抽出

トマト果実10.0gに、pH8のマックルベン緩衝液10ml及びポリビニルポリピロリロン (PVP) 1gを加え磨砕した。これを3,000r.p.m.で10分間遠心分離し、上澄みをセロファン紙で透析した。定量にした後これを粗酵素液とした。

## (2) PEの定量

ペクチンのメトキシルがPEによって加水分解され、遊離されたカルボキシルをアルカリで滴定する方法で行った。基質として、0.1Mの塩化ナトリウムを含む1%のペクチン (Pectin, from Citrus: 和光純薬工業株式会社製) 溶液50mlを用いた。ペクチンをあらかじめ分析したところ、水溶性ペクチン66.7%、プロトペクチン3.3%、その他30.0%であり、メトキシル飽和度は62%であった。ペクチン溶液は、反応を開始する前に0.1Nの水酸化ナトリウムでpHを7.00に調整した。ペクチン溶液に粗酵素液0.2mlを加え、直ちに電位差自動滴定装置を用いて、pHが常に7.00になるように1/50Nの水酸化ナトリウムで滴定した。反応は30℃の温湯中で行った。記録紙よりその初速度を計算し、酵素活性は

1分間に20  $\mu$ moleのカルボキシルを遊離する酵素量を1 unitとした。

## 2 果実の軟化に伴うペクチン質の変化

### (1) 抽出及び定量

伊藤らの方法<sup>6)</sup>に従い水溶性ペクチン、ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン、アルカリ可溶性ペクチンを抽出、定量した。

### (2) セファデックスG25によるカラムクロマトグラフィー

直径14mmのカラムに、80mmの高さになるようにセファデックスG25を詰めた。void volume ( $V_0$ )は6.1, inner volume ( $V_i$ )は7.5, total volume ( $V_t$ )は12.3であった。ろ液は1mlずつのフラクションに分取した。溶出液についてカルバゾール発色させ、ペクチン含量を定量した。

## 結果及び考察

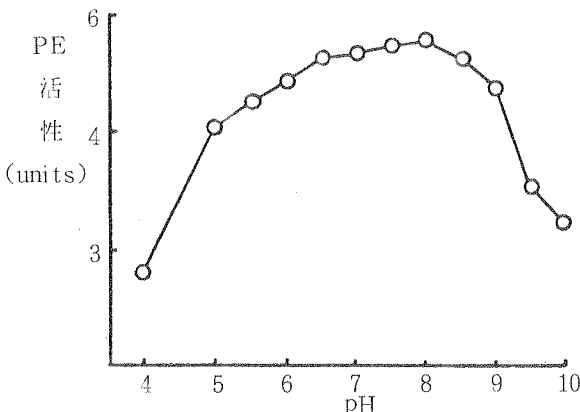
### 1 果実の軟化に及ぼすPEの影響

#### (1) PEの至適pH

PEはpH 8.0でもっとも活性が高かった。しかしpH 6.5~8.5の範囲では至適pHの90%以上の活性を有していた。したがってPEはpH 7.5を中心に広い範囲に至適pHを有する酵素である(第1図)。

#### (2) 熟度別PE活性

トマト果実を熟度別に5段階(1:未熟~5:過熟)に分けて収穫した。各々の色は、1:緑色、2:緑白色、3:淡桃色、4:明赤色、5:暗赤色であり、色差計での測定値および果実硬度を第1表に示した。収穫後直ちに磨砕し粗酵素液を得た。果実硬度測定値は熟度が進むにつれ低下した。熟度3から熟度4にかけては急激に低下したが、熟度4から熟度5にかけては低下割合は小さかった。またL値、



第1図 トマト果実ペクチンエステラーゼ活性に及ぼすpHの影響

第1表 トマト果実の果実硬度と色差値

熟度	果実硬度	L値	a値	b値
1	189	47.5	-10.7	22.7
2	126	45.0	-2.3	21.8
3	91	50.3	6.4	22.1
4	33	42.8	24.3	17.8
5	31	35.1	32.5	15.6

注) ① 熟度1:未熟果実~熟度5:過熟果実

② 果実硬度(g)

第2表 トマト果実の軟化とPE活性

熟度	1	2	3	4	5
PE活性	3.5	5.5	5.0	5.2	5.6

注) ① 単位:(units)

② 熟度は第1表に準ずる。

b値は減少し、a値は増加した<sup>7)</sup>。

各熟度のトマト果実より抽出した粗酵素液についてそのPE活性を測定したところ熟度1では比較的活性は弱かったが、熟度2より活性が増大し、それ以降はほぼ一定の活性を示した(第2表)。小倉ら<sup>4)</sup>は、ペクチンの分解には、まずPEが作用し、ペクチンのエステル結合を分解した後PGが作用し、グルコシド結合を切断するという機構を示唆した。中川ら<sup>2)</sup>はトマトを3つの生育ステージに分け、それぞれの細胞壁より得たPE活性を調査している。それによると、生育ステージが進むにつれ、PE活性は増加した。中川らの生育ステージが著者らのどの熟度に相当するかは明らかではないが、少なくとも生育初期の段階ではPE活性が増加することを認めた。

## 2 果実の軟化に伴うペクチン質の変化

### (1) 果実硬度とペクチン含量

果実硬度とペクチン含量を第3表に示した。果実硬度測定値は熟度の進行につれて減少した。ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン及びアルカリ可溶性ペクチン含量は未熟果程高かった。水溶性ペクチンは果実の熟度に対し、一定の傾向は示さなかった。果実硬度測定値と、ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン及びアルカリ可溶性ペクチン含量は相関が高く、果実硬度が低下するにつれ減少した。ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン、アルカリ可溶性ペクチンは水溶性ペクチンに変化すること、及び水溶性ペクチン含量

第3表 トマト果実のペクチンと果実硬度

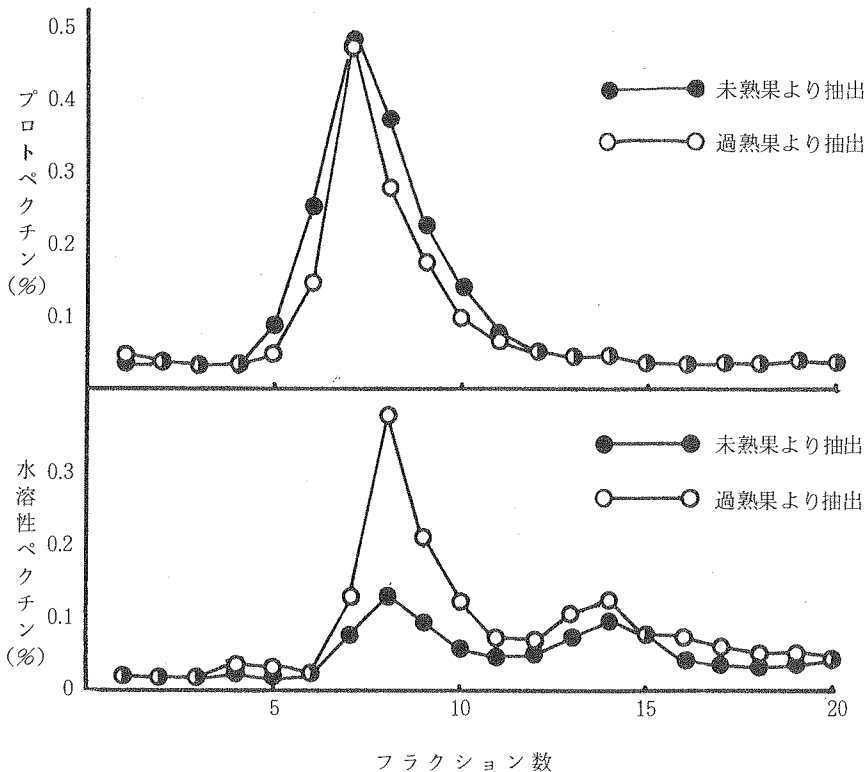
	果実硬度	T-P	W-P	P-P	A-P
未熟果実	139	0.46	0.11	0.14	0.21
	99	0.34	0.07	0.16	0.11
	88	0.45	0.12	0.19	0.14
適熟果実	52	0.38	0.09	0.21	0.08
	49	0.39	0.11	0.22	0.06
	45	0.42	0.14	0.20	0.09
過熟果実	35	0.45	0.14	0.23	0.08
	34	0.40	0.12	0.21	0.07
相関係数		0.05	0.17	0.83	0.88

注) ① T-P: 全ペクチン, W-P: 水溶性ペクチン  
 P-P: ヘキサメタリン酸可溶性ペクチン  
 A-P: アルカリ可溶性ペクチン  
 ② 単位 果実硬度 (g), ペクチン (%)  
 ③ 相関係数は果実硬度とペクチンの相関: R 2 乗

が果実の熟度に関係なくほぼ一定の値を示すことから、水溶性ペクチンは他の化合物に変化することが推測される。

(2) ペクチンのセファデックスG25による分離

未熟果実及び過熟果実から抽出した各画分について、セファデックスG25を用いたカラムクロマトグラフィーを行った(第2図)。ヘキサメタリン酸可溶性ペクチンとアルカリ可溶性ペクチンの合計量をプロトペクチンとして表した。分子量4,000以上の高分子化合物はフラクションNo.6以降に、分子量1,500以下の低分子化合物はフラクションNo.13以降に溶出される。プロトペクチン抽出液のクロマトグラムはフラクションNo.8をピークとした高分子画分のみ溶出された。未熟果実と過熟果実のピークの高さはプロトペクチンの絶対量の違いによるものである。水溶性ペクチン抽出液のクロマトグラムは高分子画分と低分子画分の2つのピークを有していた。カルバゾールはカルボキシル基と反応して発色するため、高分子化合物のペクチン及び低分子化合物のガラクトuron酸ともに反応する。一般にペクチンは果実の軟化にともないプロトペクチンが水溶性ペクチンに、さらにガラクトuron酸に分解される。このため水溶性ペクチン抽出液のクロマトグラムでは、水溶性ペクチンと、その分解物であるガラクトuron酸とが溶出される。フラクションNo.8のペクチン含量



第2図 トマト果実より抽出したペクチンのセファデックスG25  
 カラムクロマトグラム

(水溶性ペクチン)は未熟果実の方が多いが(約3倍)、フラクションNa14では未熟果実と過熟果実のペクチン含量(ガラクチュロン酸)はあまり変わらない。したがって、軟化果実ではガラクチュロン酸からさらに低分子の化合物に分解されたものと考えられ、上記(1)の推測を確認した。

果実の熟度の進行にともない、不溶性ペクチンは減少し、水溶性ペクチンは増大する。またこれらの現象は果実の軟化と一致するという報告<sup>3),5)</sup>がある。今回、プロトペクチンが果実の熟度の進行、特に果実硬度と強い相関があることを確認した。これがPE等の酵素類によって水溶性ペクチンに分解され、さらにガラクチュロン酸、低分子化合物に分解が進むことも示唆した。

以上のことから、トマト果実の軟化は次のような機構で行われることが解った。果実が熟し始める極く初期にPE活性が増大し、これに伴ってプロトペクチンは水溶性ペクチンに変化する。これと同時に水溶性ペクチンはポリガラクチュロン酸に、さらに低分子の化合物に変化する。したがってPE活性の増大、すなわち、PEの細胞内での生成が果実の軟化を律速している。この報告をもとに、PEの生成を制御する諸条件、例えば温度やCA状態等の検討

を押し進めることによりトマト果実の軟化を防止できる。

### 引用文献

- 1) 茨木俊行・山下純隆・平野稔彦・馬場紀子 (1988) : トマトの流通利用技術確立に関する研究(第5報) トマトの果実硬度測定法. 福岡農試研報B-7, 97~100.
- 2) 南出隆久・上田悦範・岩田 隆 (1987) : トマト果実の成熟に伴うカルシウムの存在形態の変化. 園芸学会雑誌56(1), 39~44.
- 3) 中川弘毅・佐久間章・竹花秀太郎 (1970) : トマト果実の追熟老化期における細胞壁結合活性の増大について. 千葉大学園芸学報18号, 77~82.
- 4) 小倉長雄・大野富二雄・中川弘毅・竹花秀太郎 (1979) : エンドポリガラクチュロナーゼによるペクチン質分解の機構について. 千葉大学園芸学報26号, 47~51.
- 5) 小倉長雄・中川弘毅・竹花秀太郎 (1975) : 白熟期トマト果実の短期高温貯蔵がその後の室温貯蔵性におよぼす影響について. 日本農芸化学会誌49(4), 189~196.
- 6) 作物分析法委員会 (1983) : 栄養診断のための栽培植物分析測定法, 479~481.

### Changes in Pectic Substance and Pectinesterase Activities during Ripening of Tomato Fruits.

IBARAKI Toshiyuki, Toshihiko HIRANO, Sumitaka YAMASHITA and Noriko BABA

### Summary

Changes in pectic substance and pectinesterase activities during ripening of tomato fruits were measured. The results obtained were as follows.

Protopectin from tomato pericarp decreased during ripening of tomato fruits. Water soluble pectin was separated into galacturonic acids, and farther into lower molecular substances.

The optimum pH of the pectinesterase activity was 8.0, with more than 90% of the maximum activity at pH 6.5~8.5. The activity of pectinesterase was low in small green fruits, and increased with ripening. It showed no difference between mature green and table ripe stage.

Pectinesterase which was produced in the cell determines ripening of tomato fruits, therefore these results showed that the control of the production of pectinesterase could prevent softening.