

野菜の加熱調理に関する研究（第6報）

野菜のペクチン質の分別抽出方法について

淵 上 倫 子

ペクチン質は野菜や果物の細胞壁中に存在し、細胞を互に接着し、組織に一定の硬さあるいは食品としてのテクスチャーを与えている。野菜の煮物調理をする際、煮くずれしないで適度なテクスチャーを保持していることが外観上および食味上重要である。しかし、野菜にはその種類により煮え易い野菜とそうでない野菜があり、硬軟適度なテクスチャーを得ることは難かしい。

野菜を中性溶液中で煮た場合軟化するの、野菜のペクチン質がトランスエリミネーションによって分解し、煮汁中に溶出することによって細胞間の結合力が失われるためである。¹⁾ペクチン質のトランスエリミネーションによる分解は、カルボキシル基がメチルエステル化される程度が高い程起り易い。その為、野菜のペクチン質のエステル化度が高い程、中性溶液中で加熱したとき軟化し易いことが考えられる。野菜にはエステル化度の高いペクチン質を多く含むものや、比較的低エステル化度のペクチン質を含むもの、または、メトキシル基が連なって存在するものや、at random に存在するものがあることが考えられる。そこで、これらの性質の異なるペクチン質を比較的低温で安定な状態で抽出する方法を検討した。

ペクチン質の抽出方法として、Bettelheim⁵⁾ら、三浦⁶⁾らの方法、すなわち、野菜をアルコール処理後、水、続いてヘキサメタリン酸ナトリウム溶液中で室温にて4時間抽出し、残渣に塩酸を加えて終末濃度0.05 Nとし、85°C、1時間または4時間抽出する方法がよく用いられている。水に可溶性のペクチンには高メトキシルペクチン、ヘキサメタリン酸可溶性区分には水に不溶性のペクチン、低メトキシルペクチンおよびペクチン酸塩が含まれ、塩酸可溶性区分にはプロトペクチンが含まれているといわれている。しかし、この分別方法の理論的根拠は少ないように思われる。すなわち、この抽出方法はプロトペクチンの存在を認めているが、野菜中にプロトペクチンが存在するかどうかは疑問である。低温状態でヘキサメタリン酸ナトリウム溶液に4時間浸漬しただけでは、多価金属イオンにより巨大分子化しているペクチンがす

べて出ているとは限らない。pH 2 の塩酸に予め浸すことによりカルシウムイオンを除いておいて、次いでヘキサメタリン酸ナトリウム溶液で抽出するともっと多く抽出されるはずである。残ったペクチン質に熱を加えて出たペクチンをプロトペクチンとするのは疑問である。

そこで、これらの疑問点を解明する目的で次のようなペクチン質の分別方法を検討した。すなわち、野菜を pH2 の塩酸溶液中に浸すと多価陽イオンが組織から除去されるため、また、pH2 では低エステル化度のペクチンは凝固するため、メトキシル基の多いペクチン質が溶解する。酸処理後、pH4 の酢酸塩緩衝液に浸漬すると、メトキシル基の少い残ったペクチン質がナトリウム塩となって溶出することが考えられる。この方法で、野菜のペクチン質を抽出し、各々の抽出液のペクチン質量、ペクチン質のエステル化度、比粘度、中性糖含量および塩化カルシウム添加による沈殿性などについて検討した結果、ペクチン質の定量法として有効であるとの結論を得たので、この抽出方法を用いて、各種野菜のペクチン質を抽出し、加熱時の軟化度との関係について検討を行った。その結果を報告する。

実 験 方 法

1. 実 験 材 料

市販の新鮮なごぼう、丸だいこん、さつまいも、アスパラガス、ゆりねを用いた。ゆりね以外は、可食部の維管束の内部のみを実験に供した。

2. ペクチン質の抽出方法

野菜のみじん切り20 gに0.01 N塩酸溶液を加えホモジナイザーで1分間摩砕後0.01 N塩酸溶液で洗浄しながら200 mlの共栓三角フラスコに移し、終末のpHを2.0、重量を200 gとした。35°Cに24時間放置後、ガラスフィルター(G. 2)でろ過し、残渣に0.01 N塩酸を加え、再びホモジナイザーで1分間摩砕後、pH2.0、200 gとして35°Cに24時間放置した。3回目以降は摩砕操作を省き、同様の方法でペクチン質がほとんど出なくなるま

で抽出を繰り返した。各抽出液は遠沈し、冷蔵庫中で2日間精製水で透析し、塩酸抽出区分(A)とした。

次に、Aの残渣に0.1M酢酸塩緩衝液(pH4.0)を加えて200gとし、35℃1日放置を繰り返した。各抽出液は遠沈透析後、酢酸塩緩衝液抽出区分(B)とした。

最後にBの残渣に2%ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液(リン酸でpH4.0とした)を加え200gとし、90℃、3.5時間加熱抽出し、抽出液を遠沈透析し、ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液抽出区分(C)とした。

3. 分析方法

1) ペクチン質の定量

J. T. Galambos のカルバゾール法⁷⁾で定量した。

2) エステル化度の測定

L. G. Bartolome らのガスクロマトグラフ法⁸⁾で測定した。

3) ペクチン質に含まれている中性糖類の定量

ペクチン質に含まれているウロン酸(a)をカルバゾール法で定量し、次にフェノール硫酸法で全糖の測定を行い、その吸光度からガラクトキロン酸に相当する吸光度を減じ、その差を中性糖類による吸光度とし、アラビノースの標準曲線から中性糖の量(b)を求めた。

$$\text{中性糖類の含量(\%)} = 100 \times b / (a + b)$$

4) 比粘度の測定

A, Bの抽出液を減圧濃縮後2日間透析し、ペクチン質の濃度を0.2%とし、カルシウムイオンによる影響を除くため、およびpHを一定にするために0.14Mシュウ酸、シュウ酸ナトリウム混液(pH6.0)と1M酢酸塩緩衝液(pH6.0)を各々試料の半量加え、20℃でオストワルド粘度計を用いて測定した。

5) 塩化カルシウム添加による沈殿性の測定

A, Bの抽出液のペクチン質濃度を0.2%とし、同量の0.5M, 1M, 2M, 5Mの塩化カルシウム溶液を加え沈殿の有無を検討した。

6) 野菜の破断力の測定

野菜を直径1cm厚さ5mmの円盤とし、5gを沸とう精製水10mlの入った試験管中に入れ、沸とう温浴中で15分、30分加熱後急冷し、煮汁中のpHおよび円盤の破断力を測定した。

生および加熱後の破断力の測定には飯尾電機製のカードメーターを使用した。

結 果

1. ペクチン質の抽出量について

野菜のペクチン質の溶出パターンを図1に示した。野菜の種類により溶出の仕方が大きく異った。塩酸抽出区分(A)については、丸だいこん、アスパラガスは第1回抽出でほとんど溶出したが、さつまいも、ごぼう、ゆりねなどは2~3回目でもかなりの量のペクチン質が抽出された。

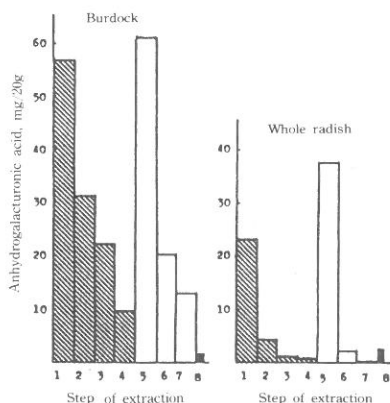


Fig. 1-1. Stepwise extraction of pectic substances from vegetables.

▨ Extraction by 0.01N HCl solution (pH2.0)
 □ Extraction by 0.1M sodium acetate buffer solution
 ■ Extraction by 2% sodium hexametaphosphate solution

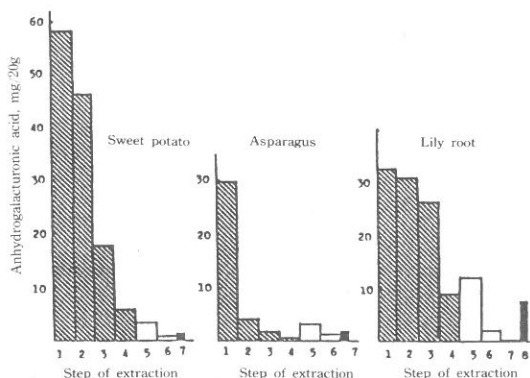


Fig. 1.2. Stepwise extraction of pectic substances from vegetables.

塩酸抽出後、pH4の0.1M酢酸塩緩衝液で35℃1日抽出をくり返し行くと、残ったペクチン質がほとんど抽出された。

A, B, Cの抽出区分のペクチン質量および抽出割合を表1に示した。野菜により、ペクチン質総量に大きな

違いがあることがわかった。ごぼう、さつまいも、ゆりねのペクチン質量は比較的多く、アスパラガスは少なかった。A, B, C区分の割合については、塩酸抽出区分の最も多いものはさつまいもで、96.1%のペクチン質がA区分に抽出された。次いでアスパラガス、ゆりねで

あった。ごぼう、丸だいこんは比較的B区分の割合が多かった。ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液抽出区分は非常に少なく、ほとんどの野菜がA, B区分に抽出されることがわかった。

Table 1. Pectic substances extracted successively with HCl, sodium acetate buffer and sodium hexametaphosphate solution from vegetables.

Vegetables	Anhydrogalacturonic acid, mg/20g				Anhydrogalacturonic acid, %		
	A	B	C	Total	A	B	C
Burdock	119.82	94.18	1.63	215.63	55.6	43.7	0.8
Whole radish	29.89	37.68	2.72	70.29	42.5	53.6	3.9
Sweet potato	128.52	4.18	1.10	133.80	96.1	3.1	0.8
Asparagus	36.0	4.41	1.59	42.0	85.7	10.5	3.8
Lily root	97.92	15.27	7.91	121.1	80.9	12.6	6.5

A: Extraction by 0.01N HCl solution (pH2.0).

B: Extraction by 0.1M sodium acetate buffer solution (pH4.0).

C: Extraction by 2% sodium hexametaphosphate solution (pH4.0).

2. ペクチン質のエステル化度について

生野菜および塩酸 (A), 酢酸塩緩衝液 (B) の第1量し, エステル化度を求め表2に示した。回抽出液の総メトキシル量をガスクロマトグラフ法で定

Table 2. Properties of vegetable pectic substances extracted successively with HCl, sodium acetate buffer and sodium hexametaphosphate solution.

Vegetables	Degree of esterification, %			Viscosity		Precipitate by CaCl ₂					Neutral sugar, %	
	Rare	A	B	A	B	2.5M	0.25M	0.5M	1M	2.5M	A	B
						A	B	B				
Burdock	55.3	62.3	37.1	0.217	0.515	-	+	+	++++	+	96.9	41.8
Whole radish	57.7	66.3	38.5	0.295	0.403	-	-	±	+	++	33.6	14.9
Sweet potato	69.5	72.3	52.8	0.063	0.110	-	-	-	-	±	44.5	44.0
Asparagus	60.8	64.8	50.9	0.234	0.528	-	-	-	-	+	32.0	29.7
Lily root	66.9	66.3	60.1	0.975	0.174	-	-	-	-	±	77.6	66.1

野菜のエステル化度は約55~70%で、比較的高いものはさつまいも(69.5%), ゆりね(66.9%)でごぼうは比較的低い値であった。塩酸抽出区分のペクチン質のエステル化度は約62~72%で酢酸塩緩衝液抽出区分のエステル化度約37~60%と比較すると、いずれも高い値であった。

3. 比粘度について

A, B区分の第1回目の抽出液について、ペクチン濃度を0.1%に調整し、比粘度を測定した結果を表2に示した。

ゆりねを除いた他の野菜はすべて、A区分よりB区分の比粘度の方が大であった。

4. 塩化カルシウムによる沈殿性について

A, B区分の第1回抽出液を0.2%濃度とし、同量の塩化カルシウム溶液を加えて沈殿性の有無を検討した結果を表2に示した。塩酸抽出区分は、いずれの野菜も終末濃度2.5 Mの塩化カルシウム溶液添加により沈殿を起さなかった。酢酸塩緩衝液抽出区分は野菜により沈殿の度合は異ったが、2.5 M塩化カルシウム溶液添加により沈殿を起した。B区分のエステル化度の比較的高かったさつまいも、ゆりね、アスパラガスは1 M塩化カルシウム濃度では沈殿を起さなかったが2.5 Mでわずかにゲル化した。B区分のエステル化度の低いごぼう、丸だいてんは低濃度の塩化カルシウム溶液添加でも沈殿し、2.5 Mでは相当ゲル化した。

5. 中性糖の割合について

A, B抽出区分のペクチン質の中性糖の割合を表2に示した。いずれの野菜についても、A区分のペクチン質の中性糖の割合がB区分より多いことがわかった。

6. 野菜の破断力について

野菜を98℃15分、30分加熱したとき、および未加熱のときの破断力を表3に示した。

ごぼうは98℃30分加熱しても軟化しにくかったが、その他の野菜は相当軟化した。ゆりねは煮くずれを起して測定不能であった。

Table 3. Maceration of vegetable disks after cooking.

Vegetables	Breaking Strength $\times 10^5$ dyne/cm ²			pH of solution after cooking	
	Rare	98℃	98℃	98℃	98℃
		15 min.	30 min.	15 min.	30 min.
Burdock	>500	290.0	201.2	6.07	6.00
Whole radish	156.6	8.7	4.4	6.48	6.35
Sweet potato	>500	14.7	8.0	6.63	6.60
Asparagus	108.9	16.4	9.4	6.30	6.12
Lily root	313.4	0.9	+	6.22	6.12

考 察

加熱調理の際の野菜の軟化とペクチン質との関係を明確にする目的で研究を行っているが、従来からよく用いられているペクチン質の分別定量方法には多くの問題点があり、利用するわけにいかない。そこで、ペクチンの分別抽出方法について検討を行った。

Albersheim⁹⁾は、植物細胞壁中でペクチンとヘミセルロースは共有結合で結ばれているというモデルを提案している。また、Bettelheim⁵⁾ら、三浦⁶⁾らも野菜中にプロトペクチンが存在していることを認めた上での分別抽出方法を行っている。すなわち、アルコール処理した野菜を室温にて、水、続いてヘキサメタリン酸ナトリウム溶液で2時間2回抽出を行っている。この方法では多価金属イオンにより巨大分子化しているペクチン質がすべて抽出されているとは限らない。実際、抽出回数を増すと、より多くのペクチン質が抽出された。しかし、こ

のヘキサメタリン酸ナトリウム溶液で低温抽出をくり返してもすべてのペクチン質が出るわけではない。引き続き0.05 N塩酸溶液(pH 1.35)で加熱すると残りのペクチン質が抽出される。しかし、これをもってプロトペクチンと断定するのは疑問である。あらかじめ、pH 2の塩酸溶液に浸してカルシウム等の多価陽イオンを除去した後、ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液で抽出を行うと、ほとんどのペクチン質が室温にて抽出され、0.05 N塩酸での加熱抽出区分は非常に少なくなるため、プロトペクチンの存在を認めるわけにいかなくなる。そこで、次のような抽出方法を考案した。

野菜を35℃にて、pH 2の塩酸性溶液中に浸すことにより、多価陽イオンが組織より除去されるためペクチン質が溶出する。この際、pH 2では低メトキシルペクチンは不溶性であるため、比較的メトキシル基の多いペクチンが溶解することが考えられる。塩酸でほとんど溶出しなくなるまで抽出を繰り返した後、pH 4の酢酸塩緩衝

液に浸漬すると、残ったメトキシル基の少ない、ペクチン質が溶解することが考えられる。

以上の実験を行った結果、塩酸抽出区分の方が明らかにエステル化度が高く、酢酸塩緩衝液抽出区分のエステル化度が低いことがわかった。

また、ペクチン酸および低メトキシルペクチンなどは多価陽イオンを加えるとゲル化する性質がある。A、Bの抽出液に塩化カルシウム溶液を添加した場合、Aの塩酸抽出区分はゲル化しなかったが、B区分の方は凝固沈殿を起した。このことから、B区分のペクチン質の方がA区分のそれより低エステル化度であることがわかった。

A区分はB区分と比べて比較的中性糖の割合が多いことがわかった。ごぼうのA区分の中性糖が多いのはイヌリンを含むため、ゆりねに多いのはある種の粘質物を含んでいるためかもしれない。

比粘度はA区分の方がB区分に比べると低いので、A区分のペクチン質の分子量がB区分に比べて低いことも考えられる。ゆりねのみ、A区分の比粘度が高い値を示したが、これは粘質物の影響と思われる。

pH 2 の塩酸溶液、引き続き酢酸塩緩衝液 (pH 4.0) 中に 35℃ で浸漬することにより、大部分のペクチン質が抽出されることから、Albersheim⁹⁾ のペクチン質とヘミセルロースあるいはたんぱく質との共有結合説、すなわち、プロトペクチンの存在説は誤りであると思われる。細胞壁ペクチン質はヘミセルロース等との共有結合により不溶化しているのではなく、カルシウムなどの 2 価陽イオンの影響により安定化、不溶化していることが考えられる。

野菜の種類によりペクチン質の溶出パターンが大きく異った。加熱調理したときの軟化の度合と比較すると、軟化しやすい野菜ほど塩酸抽出区分が多い傾向があることがわかった。つまり、A区分が多いということは、エステル化度の高いペクチン質を多く含むことが考えられるため、中性溶液中で加熱するとペクチン質がトランスエリミネーションにより分解を起し易い。そのため、煮汁中への溶出量が増加し、軟化が起り易いと考えられる。

また、煮てもある程度の硬さを保っている野菜は比較的低エステル化度の低いペクチン質を多く含む。低エステル化度のペクチン質は中性溶液中で加熱しても分解しにくい。そのため、加熱調理してもペクチン質が溶出しにくくある程度残っているために硬さを保っているとも考えられる。

くくある程度残っているために硬さを保っているとも考えられる。

ごぼうの場合、ペクチン質をほとんど抽出した後でもある程度の硬さを保っていたので、ペクチン質以外の機械的な組織の構造によることも考えられる。

要 約

調理の際の野菜の軟化とペクチン質の関係を検討する目的で、低温の比較的安定な条件下で野菜のペクチン質を抽出する方法を検討した。その結果、次のような知見を得た。

1) 野菜のみじん切りに 0.01 N 塩酸溶液 (pH 2.0) を加え摩砕後、同溶液で 35℃ 1 日放置を繰り返し、次いで 0.1 M 酢酸塩緩衝液 (pH 4.0) で同様に数回抽出することにより、ほとんどのペクチン質が抽出された。塩酸抽出区分(A)は酢酸塩緩衝液抽出区分(B)と比べてペクチン質のエステル化度が高く、中性糖含量も多く、比粘度は低かった。A区分は塩化カルシウム添加により沈殿しなかったが、B区分は沈殿を起した。以上の結果から、A区分のペクチン質は中性糖およびメトキシル基が多いことが考えられる。B区分のペクチン質は中性糖含量が少なく、メトキシル基が少ないことが考えられ、ペクチン質の分別定量方法として有効であると思われる。

2) ほとんどの野菜のペクチン質が上記のA、B区分に抽出されたので、野菜中にはプロトペクチンは存在しないと思われる。細胞壁中のペクチン質はヘミセルロースなどと共有結合により不溶化しているのではなく、カルシウム等の多価陽イオンの影響により安定化、不溶化していると考えられる。

3) 野菜の種類により、ペクチン質の溶出パターンに大きな違いがみられ、比較的軟化しやすい野菜は、A区分のペクチン質が多く軟化しにくい野菜はB区分のペクチン質が多かった。野菜のペクチン質のエステル化度は約 55 ~ 70 % であった。

終りに、本実験に種々御助言をいただいた美作女子大学小沢潤二郎教授、本学岡本賢一教授に謝意を表します。

文 献

- 1) 後藤重芳, 河上敦子, 高祖美紀子: 調理による蔬菜のペクチン質の変化 (第1報) 中性または酸性で蔬菜を加熱調理したときのペクチン質の変化, *家政誌*, **20**, 235 - 238 (1969)
- 2) 瀧上倫子: 野菜の加熱調理に関する研究 (第5報) 野菜の軟化に及ぼす pH の影響, *岡山県立短大研究紀要*, **26**, 43 - 50 (1982)
- 3) P. Albersheim, H. Neukom, H. Deuel: Splitting of Pectin Chain Molecules in Neutral Solutions, *Arch. Biochem. Biophys.*, **90**, 46 - 51 (1960)
- 4) 小西英子, 瀧上倫子, 河上敦子: 野菜の加熱調理に関する研究 (第1報) ペクチン質のエステル化度とトランスエリミネーションの関係について, *岡山県立短大研究紀要*, **18**, 1 - 4 (1974)
- 5) F. A. Bettelheim, C. Sterling: Factors associated with Potato Texture. II. Pectic Substances, *Food Res.*, **20**, 118 - 129 (1955)
- 6) 三浦洋, 水田昂: γ 線照射の温州ミカンのペクチン質におよぼす影響について, *園芸誌*, **31**, 17 - 22 (1962)
- 7) J. T. Galambos: The Reaction of Carbazole with Carbohydrates, I. Effect of Borate and Sulfamate on the Carbazole Color of Sugars, *Anal Biochem.*, **19**, 119 - 132 (1967)
- 8) L. G. Bartolome, J. E. Hoff: Gas Chromatographic Methods for the Assay of Pectin Methylsterase, Free Methanol, and Methoxy Groups in Plant Tissues, *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 262 - 266 (1972).
- 9) K. Keegstra, K. W. Talmadge, W. D. Bauer, A. Albersheim: The Structure of Plant Cell Walls. III. A Model of the Walls of Suspensioncultured Sycamore Cells based on the Interconnections of the Macromolecular Components., *Plant Physiol.*, **51**, 188 - 196 (1973)
- 10) 瀧上倫子, 小西英子, 岡本賢一, 池田一子: 野菜の加熱調理に関する研究 (第2報) 調理時における野菜の硬化現象について, *岡山県立短大研究紀要*, **21**, 14 - 20 (1977)