

切り干しダイコンの煮えにくさとペクチンの状態

加賀田江里, 小宮山展子, 林 真愉美*, 渕上 倫子**, 松 浦 康

(中国学園大学現代生活学部, *中国短期大学, **岡山県立大学保健福祉学部)

原稿受付平成 19 年 11 月 30 日; 原稿受理平成 20 年 5 月 10 日

Relationship between Pectin in Dried Japanese Radish Roots (Kiriboshi Daikon) and Difficulty to Cook

Eri KAGATA, Nobuko KOMIYAMA, Mayumi HAYASHI, * Michiko FUCHIGAMI**
and Yasushi MATSUURA

Department of Human Nutrition, Chugoku Gakuen University, Okayama 701-0197

**Chugoku Gakuen Junior College, Okayama 701-0197*

***Department of Nutritional Science, Okayama Prefectural University, Soja 719-1197*

The relationship between the hardness of dried Japanese radish root and the pectin content was investigated. When extracted with boiling water, the amount of pectin extracted from dried Japanese radish root was less than that from raw Japanese radish root. On the other hand, when the pectin was successively extracted with boiling water and a hot oxalate buffer solution (pH 4.3), the dried Japanese radish root was easily softened due to the removal of calcium from the tissue. The amount of pectin extracted from the dried radish root was almost the same as that from raw Japanese radish root. The results of gel-permeation chromatography and DEAE-Toyopearl chromatography showed that the pectin from the dried Japanese radish root had been degraded into low-molecular-weight substances. However, while the dried Japanese radish root did not macerate in a boiling water and acidic solution, it did when boiled in a neutral solution, the result of a β -elimination reaction.

(Received November 30, 2007; Accepted in revised form May 10, 2008)

Keywords: dried Japanese radish root 切り干しダイコン, pectin ペクチン, degradation 分解, chemical cross-linking 架橋, insolubility 不溶性化, difficult to cook 煮えにくさ.

1. 緒 言

ペクチンは細胞壁の中層に主として存在し, 細胞どうしを接着するセメントの役割をはたしている. 野菜類が煮えて柔らかくなるのは, 不溶性ペクチンが分解溶出し, 細胞どうしの接着力が弱くなるのが原因であると考えられている^{1)~6)}.

野菜のペクチンの加熱による分解は, 一つは, β -脱離反応であり, 他の一つは加水分解反応であるが, 加水分解反応にはポリガラクトンナーゼ (polygalacturonase) が多少なりとも関与している可能性もある. 野菜類にはポリガラクトンナーゼの存在が報告されている^{7)~9)}. また, 野菜を予加熱するとペクチンメチルエステラーゼ (pectin methylesterase) が働き, 野菜の組織を硬化するという報告もある^{10)~12)}, また, テクチャーの改善や煮崩れの防止への予加熱や塩類の影

響に関する研究報告も多数ある^{13)~17)}.

切り干しダイコンは組織が切断されるとともに, 乾燥過程において細胞壁の機能は大きく損なわれて酵素は溶出し, 溶出された酵素によりペクチンは分解され, 変質が進んでいることが考えられる. 渕上¹⁸⁾は切り干しダイコン中のペクチンはペクチンメチルエステラーゼが作用した結果, 低メトキシルペクチンとなり, β -脱離反応が起こりにくくなって煮えにくくなっていると考えしている. また, ペクチンの粘度の低下があることからペクチンの分解が起こっているとしている. 本研究においては, 切り干しダイコンの多糖類, 特にペクチンの変質について検討した結果, ゲル濾過あるいはイオン交換クロマトグラフィーによりペクチンが低分子化していることを明らかにし, また, 切り干し大根のペクチンのメチルエステル化度は明らかに低下

しているが、中性付近では、なお、 β -脱離反応が起こり、ペクチンや多糖類が多量に溶出し、組織は急速に軟化することを見いだしたので、これらについて報告する。

2. 実験材料および方法

(1) 実験材料

市販のダイコン（青首大根、*Raphanus sativus*，長崎県産），および切り干しダイコン（青首大根，岡山県産）を使用した。市販の生ダイコンは生および予加熱試料とした。予加熱ダイコンは1 cm 角に切り，70℃の脱イオン水中において60分間加熱した。

(2) ペクチンの抽出方法

1) 生ダイコンならびに切り干しダイコンからのペクチンの分別抽出方法

市販のダイコンまたは，4℃において2時間脱イオン水に浸けた市販切り干しダイコンを，それぞれ脱イオン水で作った氷とともに脱イオン水中においてブレンダーを用いて細切し，それらをそれぞれ，氷水中にて3時間抽出後，プフナーのロートを用いて濾過し，脱イオン水20 mlを用いて3回洗浄し，濾液，洗浄液をあわせて冷水抽出区分とした。次いで，残渣を脱イオン水中にて20分間煮沸し，直ちに氷水中において冷却後上記と同様に，濾過，洗浄し，濾液，洗浄液を合わせて沸騰水抽出区分とした。最後に，煮沸抽出残渣を0.05 M シュウ酸-シュウ酸アンモニウム緩衝液（pH 4.25，以下シュウ酸塩緩衝液）を用いて75～80℃において1時間ずつ合計3回抽出し，直ちに氷水中において冷却後⁹⁾，上記と同様に濾過，洗浄し，シュウ酸塩緩衝液抽出区分とした。それぞれの抽出画分は濾液，洗浄液を合わせて4℃において透析した。透析は約10 mlの試料液をセルロースチューブに入れ，紙タオルを用いて水分を十分ぬぐい去り，その重量を測定した。その後，1,500 mlの脱イオン水に対して透析した。合計2回水を換えて合計で48時間透析し，セルロースチューブを取り出し，紙タオルで水をぬぐい，その重量を計測した。定量値の計算のとき，重量の増加分をml数として補正した。透析内液中に含まれるペクチン量または，多糖類（ペクチンを含む）の量をそれぞれ抽出区分のペクチン量または，多糖類の量とした。

2) 生，予加熱，切り干しダイコンからのペクチンの抽出方法

生，予加熱，切り干しダイコンをそれぞれ0.05 M

シュウ酸塩緩衝液（pH 4.25）を加えてブレンダーを用いて細切し，0.05 M シュウ酸塩緩衝液（pH 4.25）を用いて75～80℃において1時間ずつ合計3回抽出し，濾過，洗浄し，濾液，洗浄液を合わせて4℃において上記と同様に透析した。メチルエステルの定量，ゲル濾過，DEAE-トヨパルククロマトグラフィーにはこの試料を用いた。

(3) ペクチン，ペクチン酸および多糖類の定量方法

ペクチンとペクチン酸はガラクトン酸（Sigma社製）を標準試薬としてBlumenkrantz and Asboe-Hansenの方法¹⁹⁾を用いて測定し，無水物として計算した。測定機器は分光光度計（バイオフィトメーターBHP-20，タイテック株式会社製）を用いた。

多糖類はアラビノガラクトン（カラマツ由来，Sigma社製）を標準物質としてDuboisらのフェノール硫酸法²⁰⁾によってペクチンと同じ機器を用いて測定した。この場合，全糖にはペクチンが含まれるが，フェノール硫酸法ではペクチンの呈色度合いが低いために，次のように計算して多糖類の量を算出した。まず，全糖の吸光度を求めておく。次いで同じ試料を用いて上記方法により求めたペクチンまたはペクチン酸の量に相当する吸光度（ガラクトン酸を標準液とした）を差し引いて，中性多糖類の吸光度（アラビノガラクトンを標準物質とした）を求め，この値から中性多糖類の量を計算する。中性多糖類の量とペクチンまたはペクチン酸の量を合計して多糖類の量とした。

(4) メチルエステルの定量方法

(2)-2)の方法によってシュウ酸塩緩衝液を用いて抽出したペクチンのメチルエステル化度の定量を行った。定量方法は，Matsuuraらのアルコールオキシダーゼ法の改良法²¹⁾を一部変更して用いた。すなわち，ペクチンをけん化後，硫酸銅溶液を用いて沈殿させるとき用いる硫酸銅溶液の濃度を1.0%から1.56%へと変更した。すなわち，ペクチン溶液を密閉容器にとり，氷水中で冷却した後，2.0 M 水酸化ナトリウム溶液を0.1 M になるように加えて60分間けん化した。けん化した溶液をとり，1.56%硫酸銅（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）溶液を1.5倍量加え，よく混合した後，遠心沈殿（5,000 rpm/min，5分間）して上清を得た。上清中のメタノールを0.40 M リン酸塩緩衝液（pH 6.0）中でアルコールオキシダーゼにより酸化した後，呈色剤としてFuloral Pを加えて生ずる黄色を420 nmにおいて分光光度計（バイオフィトメーターBPM-20，タイテック株式会社製）を用いて測定した。

切り干しダイコンの煮えにくさとペクチンの状態

(5) ペクチンのゲル濾過方法

0.1 M 酢酸ナトリウム液により平衡化した Sephacryl S-500 のカラム (1.0 cm×80 cm) に生, 予加熱ダイコン, 切り干しダイコンよりシュウ酸塩緩衝液で抽出したペクチン [抽出法 (2)-2)] を 3~5 mg 添加し, 0.1 M 酢酸ナトリウム液を用いて溶出し⁹⁾, 3 ml 分画とし, 各画分中のペクチンを定量した。

(6) ペクチン酸溶液の調製方法

生, 予加熱ダイコン, 切り干しダイコンよりシュウ酸塩緩衝液で抽出したペクチン [抽出法 (2)-2)] 液を氷水中において十分冷却し, 0.1 M になるように 2 M 水酸化ナトリウム液を加えて氷水中において 60 分間けん化した。けん化した液は 0.1 M リン酸液を用いて中和した (pH 6.0) 後, 倍量の水を加えて DEAE-トヨパルクロマトグラフィー用試料液とした。

自己融解に関する実験の試料は, シュウ酸塩抽出液を透析したものをトルエンを加えて密閉容器中において室温に 1 週間放置した後⁹⁾, けん化したものについて DEAE-トヨパルクロマトグラフィーを行った。

(7) ペクチン酸の DEAE-トヨパルクロマトグラフィー

生, 予加熱ダイコン, 切り干しダイコンよりシュウ酸塩緩衝液で抽出したペクチン [抽出法 (2)-2)] および自己融解させたペクチンを前述の方法でけん化してペクチン酸とした試料について DEAE-トヨパルクロマトグラフィーを行った。前報⁹⁾の方法を若干変更して行った。すなわち, 溶出液をリン酸塩緩衝液 (リン酸二水素カリウムとリン酸水素二ナトリウムを用いた) に変更するとともに, カラム容量を小さくした。0.05 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) を用いて平衡化した DEAE-トヨパール 650 M (トソー株式会社製) のカラム (内径 1.5 cm×長さ 1.5 cm) にペクチン酸溶液 (ペクチン酸として約 1.0 mg) を添加し, 0.05 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) を用いて洗浄後, 0.20 M, 0.25 M, 0.30 M, 0.35 M, 0.40 M, 0.60 M リン酸塩緩衝液 (pH 6.0) 10 ml をそれぞれ用いて順次溶出した。次いで, 0.10 M 水酸化ナトリウム溶液 10 ml, 最後に 0.50 M 水酸化ナトリウム溶液 10 ml を用いて, それぞれ溶出した。

自己融解に関する実験のみ前報⁹⁾にしたがって酢酸塩緩衝液により溶出した。

(8) 切り干しダイコンの煮熟軟化方法

切り干しダイコンを脱イオン水に浸けてもどし, 脱イオン水を用いて洗浄後, 水分を濾紙を用いてできる

だけ除去した後, pH 5.0 と pH 6.99 のリン酸塩緩衝液 (リン酸二水素カリウムとリン酸水素二ナトリウムを用いた) 中において煮沸し, 軟化の有無は手指で押さえて組織が崩壊すれば軟化したと判定すると共に, 軟化する時間を測定した。

(9) β -脱離反応の測定方法 (チオバルビツール酸反応)

β -脱離反応により生成した二重結合は岡本ら²²⁾ のチオバルビツール酸反応によって測定した。試料溶液 0.4 ml を中試験管にとり, 0.125 規定の硫酸溶液に溶かした 0.05 規定の過ヨウ素酸ナトリウム溶液を 0.5 ml 加えて, 80℃の水浴中において 15 分間加熱した。冷却後, 1% 亜ヒ酸ナトリウム溶液を 1 ml 加えて混和し, 次いで 0.3% のチオバルビツール酸ナトリウム溶液を 4 ml 加えてよく混和した後, 沸騰水中において 10 分間加熱した。吸光度を 548 nm において測定し, 単位ガラクトロン酸残基当たりの吸光度として示した。

(10) 統計処理

実験データのうち, 必要なものは 3 回測定した値の平均値±標準偏差で示し, *t*-検定により検定した。 *p* < 0.05 で有意であるとした。

3. 実験結果

(1) 冷水, 沸騰水, シュウ酸塩緩衝液により分別抽出されたペクチンおよび多糖類の溶出量

生ダイコン, 切り干しダイコンについて, 冷水, 沸騰水, シュウ酸塩緩衝液によりペクチンと多糖類を順次抽出した結果を Table 1 に示した。冷水によるペクチンの抽出量は生大根では 2.0 mg/g 乾燥重量, 切り干し大根では 3.5 mg/g 乾燥重量と両者共に少量であったが, 両者間には有意の差があった。一方, 冷水に溶出する多糖類は生ダイコン 10.6 mg/g 乾燥重量, 切り干しダイコン 9.0 mg/g 乾燥重量であり, 両者間に有意の差はなかった。沸騰水中で 20 分加熱抽出すると, 生ダイコンはペクチンが 9.8 mg/g 乾燥重量が溶出して軟化した, 20 分間では切り干しダイコンは軟化しなかった。切り干しダイコンのペクチンの溶出量は 6.5 mg/g 乾燥重量で, 生ダイコンより有意に少なかった。一方, 多糖類の沸騰水への溶出量と冷水への溶出量については有意の差はなく, また, 生大根と切り干しダイコンの間で有意の差がなかった。また, ペクチンについて, 冷水抽出と沸騰水抽出の間に有意の差があり, 沸騰水抽出の方が値が大きかった。

シュウ酸塩緩衝液によりペクチンを抽出すると, 切

Table 1. Amounts of pectin and polysaccharides extracted with cold water, hot water and hot acidic oxalate buffer solution from raw and dried Japanese radish roots

Extraction		Pectin		Polysaccharides	
		Amount (mg/g dry weight)	Rate (%)	Amount (mg/g dry weight)	Rate (%)
Raw Japanese radish root	Cold water	2.0±0.1 a	2.5	10.6±1.9	12.0
	Hot water	9.8±2.2 b	12.3	9.4±2.8	10.7
	Hot oxalate buffer solution	68.0±3.5 c	85.2	68.0±3.5	77.3
Dried Japanese radish root	Cold water	3.5±0.3 d	4.2	9.0±1.2	9.9
	Hot water	6.5±1.6 e	7.9	9.6±2.4	10.5
	Hot oxalate buffer solution	72.6±2.5	87.9	72.6±2.5	79.6

First, pectin and polysaccharides were extracted with cold water at 4°C for 3 h, then they were put in boiling water for 20 min and finally put in 0.05 M oxalate buffer solution (pH 4.3) 3 times at 75–80°C for 1 h. Values are mean±SD ($n=3$). Differences are as follows: “b” is significantly different from “a” (t -test, $p<0.05$). “e” is significantly different from “d” (t -test, $p<0.05$). “d” is significantly different from “a” (t -test, $p<0.05$). “e” is significantly different from “b” (t -test, $p<0.05$).

Table 2. DEAE-Toyopearl chromatography of pectic acid from raw, preheated and dried Japanese radish roots

Eluent	Raw	Preheated	Dried	Autolysis
0.20 M phosphate buffer solution	2.9	5.9	8.8	34.1*
0.25 M phosphate buffer solution	2.3	3.3	9.9	
0.30 M phosphate buffer solution	6.4	5.5	25.8	
0.35 M phosphate buffer solution	54.7	47.8	50.3	65.9*
0.40 M phosphate buffer solution	22.0	19.7	3.2	ND
0.60 M phosphate buffer solution	1.9	6.4	1.0	ND
0.10 M sodium hydroxide solution	1.1	1.4	ND	ND
0.50 M sodium hydroxide solution	8.7	10.0	1.0	ND

Values were expressed as rate (%) of the amount of the eluted pectic acid. PH of phosphate buffer was 6.0. *, pectic acid was eluted with acetate buffer of pH 6.0.⁷⁾ Autolysis: pectin of Japanese radish root was extracted with oxalate buffer (pH 4.3) at 75–80°C, then the extracted solution was dialyzed against water, and stood at room temperature for 1 week in the presence of toluene. ND, not detected.

り干しダイコンは生ダイコンと同様に直ちに軟化した。シュウ酸塩緩衝液によりペクチンの大部分が溶出したが、溶出量は切り干しダイコン 72.6 mg/g 乾燥重量、生ダイコンでは 68.0 mg/g 乾燥重量の溶出であって、両者間に有意の差はなかった。シュウ酸塩緩衝液で抽出された多糖類はペクチンと同量になっているが、これは、ペクチンの存在量が圧倒的に大きいために、中性多糖類が定量に入らなくなったためであり、中性多糖類が存在しないということではない。

(2) ペクチンのメチルエステル化率

切り干しダイコンのペクチンのメチルエステル化率はモルパーセントとして 21.5%，生ダイコンのそれは 41.2%であり、切り干しダイコンのペクチンのメチルエステル化率は低かった。70°C, 60 分予加熱したダイコンのペクチンも 28.5%と低下していたが、切り干しダイコンに比べて低下の程度は小さかった。

(3) DEAE-トヨパールクロマトグラフィーにおけるペクチンの溶出パターン

生, 予加熱, 切り干しダイコンのペクチンを

切り干しダイコンの煮えにくさとペクチンの状態

DEAE-トヨパールクロマトグラフィーにかけた結果を Table 2 に示した。アルカリによって溶出する高分子量のペクチン酸は、生ダイコンでは約 10% あったが、切り干しダイコンにすると著しく減少した。一方、切り干しダイコンでは低濃度のリン酸塩緩衝液によって溶出される画分が増加しており、特に、0.30 M リン酸塩溶液によって溶出するペクチン酸が増加し、0.40 M リン酸塩溶液によって溶出するペクチン酸が減少した。

自己融解の程度をみるために、生ダイコンのシュウ

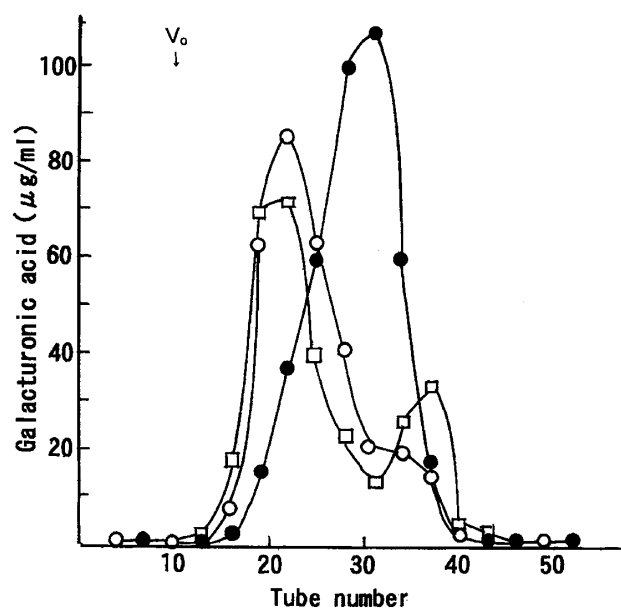


Fig. 1. Gel-permeation chromatography of pectin from raw, preheated and dried Japanese radish roots

Column, 1.0×90 cm column of Sephacryl S-500. Pectin was eluted with 0.1 M sodium acetate solution into 3 ml fractions. -○-, raw; -□-, preheated; -●-, dried Japanese radish root.

酸塩緩衝液抽出液 [抽出法 (2)-2] を透析後、室温において 1 週間放置したものについて検討した。このペクチンは 0.20 M 酢酸塩緩衝液により溶出される区分が増加し、水酸化ナトリウム溶液による溶出区分は消失していた。

(4) ペクチンのゲル濾過

ダイコンと切り干しダイコンのシュウ酸塩緩衝液抽出ペクチン [抽出法 (2)-2] についてゲル濾過クロマトグラフィーを行い比較した結果、切り干しダイコンのペクチン分子はピークが後方へ移行し、低分子化されていた (Fig. 1)。予加熱ダイコンのペクチンも低分子化されていたが、切り干しダイコンよりその程度は低かった。

(5) 切り干しダイコンの軟化

切り干しダイコンを中性溶液中において煮沸すると、煮沸後 4 分で軟化が始まった。煮沸後 20 分では指を接触させると組織が崩壊してしまうほどに軟化した。pH 5.0 における加熱では軟化しなかった (Table 3)。なお、切り干しダイコンの浸出液の pH は 5.3 であった。

(6) チオバルビツール酸反応

切り干しダイコンの酸性 (pH 5.0) および中性 (pH 6.99) のリン酸塩溶液中における煮沸 20 分後の抽出溶液についてチオバルビツール酸反応を行った (Table 4)。中性における煮沸によって二重結合が生成していることが明らかとなった。酸性での加熱ではその生成は微量であった。

3. 考 察

野菜が煮えて柔らかくなる現象については幾つかの報告があり^{1)~5)}、それらによると、組織の軟化は主としてβ-脱離反応によりペクチンが分解され、不溶性

Table 3. Maceration of dried Japanese radish roots when boiled in acidic or neutral solutions

	Boiling time (min)								
	1	2	3	4	6	8	10	15	20
0.10 M phosphate buffer solution, pH 6.99	—	—	±	5+					
0.05 M phosphate buffer solution, pH 6.99	—	—	±	5+					
0.01 M Phosphate buffer solution, pH 6.99	—	—	—	—	±	±	+	2+	
0.10 M phosphate buffer solution, pH 5.00	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Pieces of dried Japanese radish root were boiled in phosphate buffer solutions. —, no maceration; ±, hard but some parts were macerated; +, the pieces were weakly macerated; 2+, macerated but some parts were hard; 5+, the tissues were touched with fingers and collapsed.

Table 4. Thiobarbituric acid reaction of pectin extracted from dried Japanese radish roots when boiled in acidic and neutral solutions

	Thiobarbituric acid reaction (OD/mmol Gal A)	Extracted pectin (mg/g dry weight)	Extracted polysaccharides (mg/g dry weight)
Phosphate buffer solution, pH 5.00	ND	9.8±2.3	12.4±0.9
Phosphate buffer solution, pH 6.99	16.5±5.3	73.6±4.6*	85.9±3.8*
Boiling in phosphate buffer solution at pH 6.99 after boiling at pH 5.00	8.3±2.6*	64.9±5.5*	62.5±5.2*

OD, optical density. Gal A, galacturonic acid residues. ND, not detected. Values are mean±SD ($n=3$). *, significantly different from pH 5.00 (t -test, $p<0.05$).

のペクチンが可溶化するためであるとされている。

一方、組織の硬化現象（冠水化現象）についても報告があり^{10)~12)}、それは、ペクチンがペクチンメチルエステラーゼの作用により脱メチル化され、遊離したカルボキシル基が多価陽イオンにより架橋されてペクチンが巨大分子化されて不溶性化されるとともに、 β -脱離反応も起こりにくくなるために、加熱によっても可溶化しないことによるものと考えられている。

冷水によるペクチンの溶出量は少なかったが、切り干しダイコンにおける溶出量が有意に多かった。切り干しダイコンにおいてペクチンの分解が進んでいたためと考えられる。冷水による多糖類の抽出量については両者間に有意の差はなかった。沸騰水によるペクチンの溶出量も両者共に比較的少量であったが、生ダイコンの方が溶出量は有意に多くなっている。熱水抽出によって溶出するペクチンは組織の軟化に関係するペクチンと考えられるが、それは総溶出ペクチンの12.3%ないしはそれ以下であった。切り干しダイコンでは同じ条件において7.9%のペクチンが溶出しているが、この条件では軟化しなかった。

熱シュウ酸塩緩衝液による溶出は切り干しダイコンと生ダイコンにおいて有意の差はなかった。ペクチンはシュウ酸塩緩衝液によって大部分が溶出され、その際、切り干しダイコンの組織は急速に軟化するので、ペクチンはセルロースやタンパク質との結合が起こっているのではなく、あるいは、それらとペクチンが物理的に接着しているということでもなく、カルシウムなどによって架橋され、その結果、ペクチンがゲル化することが原因と考えられる。しかし、切り干しダイコンにおいては沸騰水による軟化が起こらないことが生ダイコンと異なる点である。このことについて渕上¹⁸⁾は切り干しダイコンのペクチンは風乾により低エ

ステル化度となり β -脱離反応が起こりにくいためであるとしている。切り干しダイコンの場合は、製造時の組織の切断により、あるいは、乾燥時の細胞死によりペクチンメチルエステラーゼが作用して、カルボキシル基の遊離が起こり、二価イオンと結合する度合いが大きくなって巨大分子化した結果、ペクチンの不溶化が起こり、組織が硬化するとともに煮熟軟化しにくかったと考えられる。事実、渕上¹⁸⁾の報告にあるようにメチルエステルを定量した結果は切り干しダイコンのペクチンのメチルエステル化率は21.5%であり、生ダイコンの41.2%に比べて低下していた。これらの現象は予加熱ダイコンにおけるものと同じであるが、以下にも述べるようにペクチンの変質は切り干しダイコンの方がかなり進んでいる。切り干しダイコンをシュウ酸塩緩衝液と共に加熱すると、短時間の加熱で軟化し、軟化の程度は非常に軟らかいものであった。このことは、シュウ酸塩緩衝液により多価イオンが除去され、不溶化していたペクチンが可溶性となった結果であると考えられる。このように、切り干しダイコンの場合の硬化は β -脱離反応の低下と共に、架橋によるペクチンの不溶性化が大きな原因であると考えられる。

ペクチンは自己融解によって分解されることをタマネギペクチンによって明らかにしたが⁹⁾、ダイコンにおいてもそれは起こり得ると推定される。そこで、ダイコンを70~80℃においてシュウ酸塩緩衝液により抽出した抽出物を1週間室温において放置したものについてDEAE-クロマトグラフィー分析を行うと、タマネギの場合と同様な分解が起こっていることが明らかになった (Table 2)。すなわち、高分子のペクチン酸と考えられる水酸化ナトリウム溶液により溶出する区分²³⁾²⁴⁾が無くなり、0.2M酢酸塩緩衝液により溶出する区分が増加している。これはペクチン分子のガラ

切り干しダイコンの煮えにくさとペクチンの状態

クツロン酸鎖の α -1,4結合がポリガラクトナーゼにより分解除去され、結果として中性糖含量の大きい弱酸性ペクチン性多糖を生成したものと考えられる²⁵⁾²⁶⁾。このように、ダイコンにもペクチン分解酵素は存在し、自己融解と同様のことが切り干しダイコンにおいても起こっていると思われる。

ゲル濾過によると、切り干しダイコンのペクチンは明らかに低分子化していた (Fig. 1)。一方、切り干しダイコンのペクチンのシュウ酸緩衝液塩抽出物は水酸化ナトリウム溶液による溶出区分は残っているが、その割合は非常に小さくなっており、また、0.40 M リン酸塩緩衝液により溶出される画分も減少し、低濃度のリン酸塩緩衝液により溶出される画分が増加した。特に、0.20 M リン酸塩緩衝液による溶出区分が増加しており、切り干しダイコンのペクチンも分解されて低分子化し、弱酸性ペクチン酸へと変化していることが示された²³⁾²⁴⁾。すなわち、切り干しダイコンのシュウ酸塩緩衝液抽出物中のペクチンは低分子化していることが DEAE-トヨパールクロマトグラフィーによっても明らかとなった (Table 2)。

Diethylaminoethyl 基による陰イオン交換クロマトグラフィーにおいて、高分子のペクチン酸はアルカリによって溶出され、低分子化あるいは弱酸性化したペクチン酸は酢酸塩によって溶出されることが報告されている⁹⁾²⁵⁾²⁶⁾。

Bartolome *et al.*¹⁰⁾ によるジャガイモの硬化現象に関する報告以来、植物組織の硬化の原因はペクチンメチルエステラーゼによるカルボキシル基の遊離と、それによって多価金属イオンによる架橋が促進されることが原因であるとの報告が出されてきた¹¹⁾¹²⁾¹⁸⁾。ペクチンが分解され低分子化していることは切り干しダイコンの組織の硬化の記述と矛盾するようであるが、Bartolome *et al.* の説に従えば、低分子化したペクチンも多価イオンによる架橋により不溶性化することは可能であると考えられる。このことは、酸性のシュウ酸塩溶液中で加熱すると切り干し大根は短時間のうちに軟化することからも容認されることが考えられる。このように、切り干しダイコンのペクチンは一方でポリガラクトナーゼにより低分子化されながら、一方で脱メチル化による架橋の促進により巨大分子化されて不溶性となっていると思われる。測上ら¹⁸⁾ は切り干しダイコンのペクチンの比粘度が低下していることを見だし、これはポリガラクトナーゼの作用により、ペクチンが分解されたためであると考察している。

リン酸塩緩衝液中において切り干しダイコンを酸性側で加熱すると軟化しないが、中性において加熱すると短時間のうちに軟化することが分かった。チオバルビツール酸反応により β -脱離反応の有無を検討した結果、中性溶液中における加熱において二重結合が生成していることが明らかとなった。この場合の軟化は β -脱離反応によるペクチンの可溶性化が原因であることが明らかになった。すなわち、中性溶液中での加熱により酸性溶液中での加熱の約 7.5 倍のペクチンが溶出しており、中性多糖類は約 7 倍の溶出量であった (Table 4)。切り干しダイコンのペクチンは低メトキシ化されて β -脱離反応が起こりにくくなっているが、中性においては、なお、 β -脱離反応が起こり得ることが明らかになった。使用した切り干しダイコン自体の pH は 5.3 であり、このままでは軟化は起こりにくいので、pH を中性付近へ近づければ軟化は起こりやすくなることを示した。

加熱の際にはペクチン分子のガラクトツロン酸残基のみでなく、中性糖側鎖も分解されるという報告²⁷⁾ もあり、中性多糖類の状態についても検討する必要があると思われる。組織の軟化はペクチンの中性糖側鎖の分解あるいはヘミセルロースの可溶性化などとの関連においても検討されなければならないかも知れない。

4. 要 約

切り干しダイコンの硬化に関係すると考えられるペクチンの変質について検討した。切り干しダイコンを沸騰水を用いて抽出したときに溶出するペクチン量はダイコンのそれに比べて少なかった。一方、沸騰水抽出残渣を熱シュウ酸塩緩衝液を用いて抽出すると、切り干しダイコンあるいはダイコンともに短時間のうちに軟化し、溶出ペクチン量はほぼ同じであった。また、切り干しダイコンのペクチンは低分子化されているにもかかわらず、沸騰水中においてダイコンが軟化する条件で軟化しなかった。しかし、熱シュウ酸塩緩衝液によってダイコンと同様に軟化するので、切り干しダイコンのペクチンは低分子化しているが、一方で、多価金属イオンにより架橋されて巨大分子化し、不溶性化しているために軟化が起こりにくいと考えられる。切り干しダイコンは弱酸性溶液中において加熱すると軟化しないが、中性溶液中において加熱すると軟化した。チオバルビツール酸反応陽性物質が増加し、ペクチンの溶出量も増加したので β -脱離反応による分解が起こったためと考えられる。このように、切り干し

ダイコンの硬化は β -脱離反応の起こりにくさと共に、架橋によるペクチンの不溶性化が原因であると考えられる。

引用文献

- 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(第一報) 中性又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) 測上倫子: 野菜の軟化に及ぼす加熱時の pH の影響, 栄食誌, **36**, 219-224 (1983)
- 3) 測上倫子: 野菜を加熱調理した際の軟化の難易とペクチン質との関係, 家政誌, **38**, 465-473 (1987)
- 4) 測上倫子: ペクチン質の加熱分解に及ぼす pH の影響, 栄食誌, **36**, 294-298 (1983)
- 5) 吉岡博人: 果実・野菜組織の軟化とペクチンおよびペクチン分解酵素, 日食工誌, **39**, 733-737 (1992)
- 6) Albersheim, P., Neukom, H., and Duell, H.: Splitting of Pectin Molecules in Neutral Solution, *Arch. Biochem. Biophys.*, **90**, 46-51 (1960)
- 7) 小沢潤二郎, 岡本賢一: ペクチン発酵について, 第 15 報, 農学研究, **41**, 17-20 (1953)
- 8) Hatanaka, C., and Ozawa, J.: Enzymic Degradation of Pectic Acid, *Agric. Biol. Chem.*, **28**, 627-632 (1964)
- 9) Matsuura, Y., Matsubara, K., and Fuchigami, M.: Molecular Composition of Onion Pectic Acid, *J. Food Sci.*, **65**, 1160-1163 (2000)
- 10) Bartolome, L. G., and Hoff, E. J.: Firming of Potatoes Biochemical Effect of Preheating, *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 266-270 (1972)
- 11) 小西英子, 測上倫子, 岡本賢一: 調理の際の野菜の硬化, 栄食誌, **28**, 44-46 (1975)
- 12) 真部孝明: ダイコンの予備加熱による硬化現象機構について: 食品工誌, **27**, 234-239 (1980)
- 13) Fuchigami, M., Tamura, S., and Okuda, H.: Effects of Cations and Anions on the Softening of Cooked Japanese Radish Roots and on the Pectic Composition after Cooking, *Nihon Kasei Gakkaishi (J. Home Econ. Jpn.)*, **44**, 649-654 (1993)
- 14) Stanley, D. W., Bourne, M. C., Stone, A. P., and Wismer, W. V.: Low Temperature Blanching Effect on Chemistry, Firmness and Structure of Canned Green Beans and Carrot, *J. Food Chem.*, **60**, 327-333 (1995)
- 15) 真部正敏, 樽谷隆之: カルシウム添加が白肉種モモ缶詰果肉の性状に及ぼす影響について, 食品工誌, **25**, 213-218 (1978)
- 16) 堀内久弥, 袴田恵子: 冷凍ニンジンのテクスチャーに対するカルシウム添加の効果, 食品工誌, **25**, 213-218 (1978)
- 17) Anthon, G. E., Blot, L., and Barrett, D. M.: Improved Firmness in Calcified Diced Tomatoes by Temperature Activation of Pectin Methylesterase, *J. Food Sci.*, **70**, 342-347 (2005)
- 18) 測上倫子: 調理のさいのだいこんの軟化とペクチン質の変化との関係, 家政誌, **37**, 1029-1038 (1986)
- 19) Blumenkrantz, N., and Asboe-Hansen, G.: New Method for Quantitative Determination of Uronic Acids, *Anal. Chem.*, **54**, 484-489 (1973)
- 20) Dubois, C., Gills, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F.: Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956)
- 21) Matsuura, Y., Matsubara, K., Sasaki, A., and Fuchigami, M.: Modified Alcohol Oxidase Method Used to Determine the Degree of Pectin Methylesterification, *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 157-160 (2004)
- 22) 岡本賢一, 畑中千歳, 小沢潤二郎: 4, 5-不飽和ジガラクトクロン酸のチオバルビツール酸反応, 農学研究, **50**, 61-65 (1964)
- 23) 畑中千歳, 小沢潤二郎: 酵素によるペクチン酸の分解(第 6 報), ペクチン質の DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー, 農化, **42**, 645-650 (1968)
- 24) Fuchigami, M.: Relationship between Pectic Composition and the Softening of the Texture of Japanese Radish Roots during Cooking, *J. Food Sci.*, **52**, 1317-1321 (1987)
- 25) Matsuura, Y., and Hatanaka, C.: Weakly Acidic Pectic Polysaccharides of Japanese Radish and Cabbage, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2583-2588 (1988)
- 26) 松浦 康: 植物細胞壁由来の多糖類に関する研究, 岡山県立大学保健福祉学部紀要, **7**, 1-16 (2000)
- 27) Plat, D., Ben-shalom, N., Levi, A., Reid, D., and Goldschmid, E. E.: Degradation of Pectic Substances in Carrots by Heat Treatment, *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 362-365 (1988)