

ベクチン質の分解と maceration の関係 (6)

小沢潤二郎・岡本賢一

かびの菌糸抽出液のプロトベクチナーゼ作用はベクチン酸溶液の粘度を下降せしめる作用に大体平行し、糖化の活力とはあまり関係がない事を前報に於て述べた⁽¹⁾⁽²⁾。朝井等⁽³⁾も *Asp. niger* の培養液に於て同様な結果を得られてゐる。しかしトマトの酵素液ではこの関係は成り立たなかつた⁽⁴⁾。若しプロトベクチナーゼなる特別の酵素は存在せず、ポリガラクチュロナーゼ=プロトベクチナーゼと仮定しても細胞膜に対する作用は不均質反応である爲このような例外のある事は当然であるかもしれない。筆者等はかびのポリガラクチュロナーゼが植物柔組織に吸着する事を見出し、maceration に対して吸着作用が如何なる影響を及ぼすかを試験した。

1. 大根粉末による *Penicillium expansum* の
Polygalacturonase の吸着

酵素液: *Pen. expansum* の菌糸抽出液を用いた。吸着媒: 大根をおろし金でおろし、蒸溜水にて数日洗滌し、室温にて乾燥後粉末 (60 mesh) としたものを用いた。吸着量の測定: 吸着後の濾液と原酵素液を同量加え、ポリガラクチュロナーゼ作用力を前報と同様にして測定し比較した。(基質の濃度 0.66%, buffer 1/10 容, 還元力は反応液 2 ml を取つて滴定した。)

(a) 吸着時間. 大根粉末 1 g, 酵素液 25ml, pH 5.0 (N/10 醋酸又は N/10 醋酸ソーダにて調節), 20°C に於て振盪しながら吸着し、吸着時間と吸着量の関係に就て第 1 表の結果を得た。

第 1 表

Time of adsorption (min.)	Reaction time (hr.)			
	0	12	24	
	η_{rel}	η_{rel}	η_{rel}	N/50 I ₂
0	2.00	1.06	1.02	1.47
30	2.05	1.30	1.22	0.47
60	2.05	1.40	1.29	0.37
180	2.05	1.56	1.45	0.22

第 2 表

	pH of enzymic solution	Reaction time (hr.)				
		0	12		24	
		η_{rel}	η_{rel}	N/50 I ₂	η_{rel}	N/50 I ₂
Filtrate	3.5	1.98	1.68	0.04	1.68	0.07
	5.0	2.05	1.43	0.13	1.40	0.23
	6.5	2.08	1.29	0.23	1.27	0.37
Original solution		1.94	1.06	0.35	1.06	0.88

(b) 吸着に於る酵素液の pH. 酵素液の pH は N/10 醋酸又は N/10 醋酸ソーダ溶液にて調節した。其他の条件は (a) と同じにして 3 hr. 吸着せしめた。実験結果を第 2 表に示した。

(c) 吸着媒の量。大根粉末を 0.25g, 0.5g, 1g, 2g 取り、吸着媒の量以外の条件を (a) と同じにして 3 hr. 吸着せしめた。第 3 表に実験結果を示した。

第 3 表

	Adsorbent (g)	Reaction time (hr.)		
		0	6.5	18
		η_{rel}	η_{rel}	η_{rel}
Filtrate	2	2.36	2.40	2.26
	1	2.13	2.03	1.83
	0.5	2.02	1.89	1.64
	0.25	1.98	1.73	1.43
Original solution		1.97	1.50	1.17

(d) 吸着に於る酵素液の濃度。原酵素液を 1, 1/2 及び 1/4 の濃度に稀釈し (a) と同じ条件で 3 hr. 吸着せしめた。酵素の作用力は夫々原酵素液 1, 濾液 1, 2 及び 4 の割合に添加して作用せしめて測定した。実験結果は第 4 表に示す通りであつた。

第 4 表

	Concentration of enzymic solution	Reaction time (hr.)				
		0	12		24	
		η_{rel}	η_{rel}	N/50 I ₂	η_{rel}	N/50 I ₂
Filtrate	1	2.05	1.69	0.11	1.61	0.20
	1/2	2.03	1.43	0.13	1.35	0.32
	1/4	2.03	1.25	0.24	1.16	0.72
Original solution		2.01	1.14	0.36	1.09	0.91

大根をおろし金でおろし水洗したもの、水洗後乾燥したものと、更に之を粉碎して 60 mesh の篩を通過せしめたものとの間には吸着の強さに差異を認める事が出来なかつた。0.005 % 及び 0.015 % の CaCl₂, 0.01 % 及び 0.05 % のペクチン酸はポリガラクトニナーゼの吸着に殆ど影響を及ぼさなかつた。大根粉末の代りに皮麻を用いても酵素の吸着が起つた。大根粉末に吸着したポリガラクトニナーゼは pH 10.3 の炭酸ソーダ—重曹の buffer で溶出する事が出来た。

2. かび及び高等植物の Polygalacturonase の大根粉末への吸着

酵素液: *Pen. expansum*, *Rh. tritici*, *Alternaria kikuchiana*, *Sclerotinia cinerea* の菌糸及び人参、トマトの乾燥粉末の水による抽出液を用いた。吸着の条件: 大根粉末 1g, 酵素液 25ml, pH 5.0, 20°C に於て 3 時間吸着せしめた。吸着量の測定: 前の実験と同じ方法によつた。protopectinase 作用の測定: 2 % ペクチン酸溶液の代りに同量の水を加え、其他はポリガラクトニナーゼの測定の場合と同一組成の反応液 (pH 5.0, 35°C) に於て馬鈴薯切片に対す

る protopectinase 作用を比較した。作用時間は 15 hr. とし、acetate buffer の代りに 1 % ammonium oxalate 溶液 (1 % oxalic acid 溶液に pH 5.0 とす) を添加した場合の protopectinase 作用も同時に測った。実験結果は第 5 表及び第 6 表の通りであつた。

第 5 表

		Reaction time (hr.)			Protopectinase	
		0	8	15	Acetate buffer	Ammonium oxalate
		η_{rel}	η_{rel}	η_{rel}		
Pen. expansum	Filtrate	2.22	2.15	2.08	+(+)	+
	Original solution	2.24	1.88	1.64		
Rh. tritici	Filtrate	2.27	2.11	1.99	+(+)	+
	Original solution	2.21	1.72	1.57		
Alternaria kikuchiana	Filtrate	2.18	2.04	1.94	+	+(+)
	Original solution	2.22	1.86	1.75		
Sclerotinia cinerea	Filtrate	2.37	2.35	2.17	+	+(+)
	Original solution	2.21	1.83	1.56		

第 6 表

		Reaction time (hr.)				Protopectinase	
		0	8		15	Acetate buffer	Ammonium oxalate
		η_{rel}	η_{rel}	N/50 I ₂	η_{rel} N/50 I ₂		
Carrot	Filtrate	2.25	2.12	0.37	1.98 0.55	±	+
	Original solution	2.20	2.09	0.38	1.92 0.57		
Tomato	Filtrate	2.22	2.08	—	1.82 —	—	±
	Original solution	2.28	2.05	—	1.80 —		

第 5 表及び第 6 表に示す通りかびのポリガラクトヨロナーゼはすべてよく大根粉末に吸着されるが、高等植物のポリガラクトヨロナーゼは殆ど吸着されない。pH 3.5 に於ても同様な結果を得た。酵素液の protopectinase 作用の強さとポリガラクトヨロナーゼの大根粉末への吸着の難易との間に、一定の関係を見出す事が出来なかつた。即ちトマトの酵素液の場合は吸着が protopectinase 作用に影響するように見えるが、人参の酵素液はポリガラクトヨロナーゼが吸着されないのにも拘らず、かびの酵素に比較してペクチン酸溶液の液化作用に相当する protopectinase 作用を示した。人参のポリガラクトヨロナーゼは基質分子の末端より作用する特殊な酵素と考えられるが、酵素液には protopectinase 作用が認められた。人参の乾燥粉末を水で抽出した残渣を pH 10.3 の炭酸ソーダー重曹 buffer で抽出したが、ポリガラクトヨロナーゼは溶出しなかつた。従つて人参のポリガラクトヨロナーゼは全部植物柔組織に非吸着性であると考えられる。酒精にて沈澱せしめたトマトの酵素は ammonium oxalate を添加しなくても protopectinase の作用を示した。

要 約

- 1) かびの polygalacturonase は植物柔組織（大根）に吸着された。
- 2) 高等植物の polygalacturonase は大根粉末に殆ど吸着されなかつた。
- 3) 酵素液の protopectinase 作用の強弱と, polygalacturonase の大根粉末への吸着の強さとの間に, 一定の関係を見出す事は出来なかつた。
- 4) 人参の酵素液には protopectinase 作用が認められた。

終りに御懇篤な御指導を賜つた片桐英郎先生に深謝する。

文 献

- | | |
|---|---------------------------------|
| (1) 武田, 林, 宇佐美, 小沢: 農学研究, 38, 43 (1948) | (2) 小沢, 武田, 林: 農学研究, 38, |
| 123 (1949) . | (3) 朝井, 齋藤: 農化誌, 26, 382 (1952) |
| | (4) 小沢, 岡本: 農学研究, 40, |
| | 103 (1952) |