

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15945

研究課題名(和文)加工操作による農産物内在ペクチンのグローバル構造変化

研究課題名(英文)Global structural changes of endogenous pectin in agricultural products due to processing operations

研究代表者

今泉 鉄平 (Imaizumi, Teppei)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：30806352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：細胞壁多糖類ペクチンはその複雑な構造と特性から、これまで十分に理解が進んでいない。そこで、本研究では加工操作に伴う農産物中ペクチンの変化について原子間力顕微鏡を用いたグローバル構造解析などを駆使して新たな知見の獲得を目的とする。原子間力顕微鏡を用いた解析の結果、水溶性ペクチン、キレート可溶性ペクチン、希アルカリ可溶性ペクチンのそれぞれで特徴的なグローバル構造を示すことを明らかとした。また、これらのペクチンはブランチングや乾燥といった加工によってその特徴が大きく変化した。農産物加工において特に、加熱による細胞膜損傷が細胞壁変化のトリガーとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペクチンは野菜や果物の細胞壁構成成分であり、食感形成や整腸作用など、機能面での重要性も明らかとなってきた。そのため、加工操作によるペクチン構造の変化についての理解を深め、制御することが出来るようになれば、加工農産物における効果的な機能向上をもたらすことにもつながる。本研究では、そのような特徴把握をグローバル構造解析という先駆的なアプローチで試みており、新規知見の獲得をもたらした。また、電気インピーダンス解析を行うことで、細胞壁変化にける細胞膜損傷の重要性を示し、農産物の食感形成メカニズム解明の一端を明らかにすることができた。本研究で得られた知見は農産物加工の最適プロセス構築に有用である。

研究成果の概要(英文)：Pectin, a cell wall polysaccharide, has not been well understood due to its complex structure and properties. In this study, we aimed to gain new knowledge on the changes of pectin in agricultural products during processing by using atomic force microscopy and global structural analysis.

The atomic force microscopic analysis revealed that water-soluble pectin, chelate-soluble pectin, and dilute alkali-soluble pectin each show a characteristic global structure. The characteristics of these pectins were significantly modified by processing, such as blanching and drying. It was suggested that cell membrane damage caused by heating may trigger cell wall changes, especially in agro-processing.

研究分野：食品工学

キーワード：ペクチン 電気インピーダンス 細胞壁 グローバル構造 原子間力顕微鏡 細胞膜損傷 ブランチング 乾燥

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

古来より、農産物の保存性を高めることを目的として乾燥品や冷凍品など様々な加工品が作られてきた。しかしながら、成熟した現代社会においては、単に保存性を有するだけでは食品としての価値は高くなく、嗜好・食感機能や健康性機能・生体調節機能など付加価値を有する食品の開発が求められている。農産物の機能性制御のカギとなる物質として、細胞壁多糖類の一種であるペクチンが考えられた。ペクチンは植物組織の細胞間結着物質であり細胞壁の構成物質であることから食感形成に強く関与し、低分子化や分子間架橋形成によって農産食品の食感が変化することが示唆されている。また、ペクチンは血漿コレステロール正常化作用や食物アレルギーの抑制作用など様々な生理機能が報告されているが、プレバイオティクス効果による炎症性腸疾患の抑制にはペクチンの側鎖領域を必要とするなど、形態的特徴の重要性が増している。したがって、乾燥やブランチング(熱湯処理)における処理条件が、ペクチン分子の長さや側鎖構造、分子間ネットワークといったグローバル構造に及ぼす影響についての知見は、高機能加工農産物の設計指針を構築する上で重要となる。

2. 研究の目的

細胞壁多糖類ペクチンはその複雑な構造と特性から、これまで十分に理解が進んでいない。そこで、本研究では加工操作に伴う農産物中ペクチンの変化について原子間力顕微鏡を用いたグローバル構造解析などを駆使して新たな知見の獲得を目的とする。また、ペクチン分子の化学的特徴解析も行うことで、加工操作に伴う変化の過程や食感形成などの機能面への寄与についても解明を試みた。

3. 研究の方法

(1) 細胞壁ペクチンの抽出および化学構造解析

加工操作を行った各種農産物からアルコール不溶性固形物 AIS を作成した。精秤した AIS から蒸留水、CDTA 溶液、0.05 M Na_2CO_3 + 20 mM NaBH_4 溶液により順次ペクチン抽出を行い、それぞれ水溶性ペクチン画分(WSP)、キレート可溶性ペクチン画分(CSP)、希アルカリ可溶性ペクチン画分(DASP)とした。各画分中に含まれるペクチン量はカルバゾール硫酸法によって決定した。また、フェノール硫酸法により求めた全糖量との差分から中性糖量を算出した。また、フーリエ変換赤外分析法により得られた FT-IR スペクトルより、ペクチン分子の構造解析を行った。

(2) 原子間力顕微鏡を用いたグローバル構造解析

ペクチン溶液 3 μL を劈開したマイカ上に滴下し、室温で一晩乾燥させ、原子間力顕微鏡による観察を行った。測定モードは Dynamic Force Mode とし、室温、大気圧下で行った。ばね定数 15 Nm^{-1} のシリコン製カンチレバー(背面 Al コート)を使用した。走査範囲は 1 μm × 1 μm 、解像度は 512 × 512 とした。AFM 高さ画像からペクチン繊維を定量的に分析するために、MountainsSPIP Expert 9.0 (Image Metrology) を用いて解析を行った。解析前処理として、三次多項式フィッティングによる表面傾き補正を、メディアンフィルタリング(5×5)によるスムージングおよびノイズ除去を行った。その後、MountainsSPIP の粒子解析およびスケルトン解析モジュールを用い、ペクチンの繊維の抽出および解析を行った。WSP 画分には粒子解析モジュールを、CSP および DASP

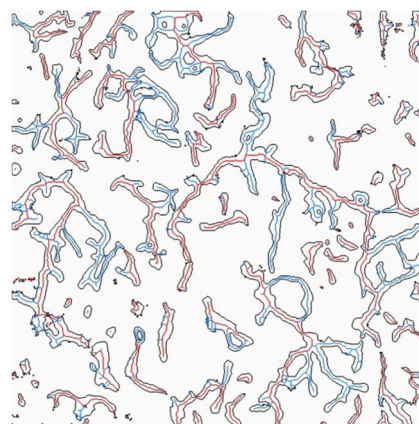


図 AFM 画像のスケルトン解析の例
黒線：ペクチン繊維の輪郭、
赤線：分岐を除いた繊維、
青線：分岐構造

画分にはスケルトン解析モジュールを適用した。

(3)電気インピーダンス解析を用いた組織状態評価

加工に伴う農産物の組織状態評価のため、電気インピーダンス測定を行った。LCRメータに接続した針状ステンレス電極を試料に挿入し、周波数ごとのレジスタンスおよびリアクタンスを、測定周波数 50 Hz ~ 5 MHz の範囲で 200 点掃引測定した。得られた Cole-Cole プロットに対して CPE を含んだ等価回路モデルを当てはめ、細胞内抵抗、細胞外抵抗および細胞膜容量を決定した。

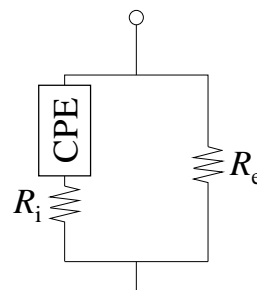


図 CPE モデル

4. 研究成果

(1) 加工操作によるペクチンのグローバル構造変化

乾燥やブランチング処理、カルシウム処理がペクチンのグローバル構造に及ぼす影響について調査を行った。AFM によって得られた画像を解析した結果、WSP では粒子状、CSP では繊維状のペクチンが表れることを確認した。また、DASP ではネットワーク構造を形成する傾向が見られた。CSP の発達した繊維構造はブランチング後においても維持されたが、未処理試料とは異なる様相を示し、CSP の化学構造や分子間相互作用に何らかの変化を生じたことが考えられた。また、乾燥処理後には、CSP の繊維は小型化し、繊維間での干渉は見られなかった。低分子化に由来すると思われる繊維構造の小型化は、乾燥前にブランチング処理を行うことで抑制できた。また、ブランチングと乾燥のいずれの処理によっても DASP のネットワーク形成能は低下した。また、カルシウム処理がペクチンに及ぼす影響についても調査したところ、WSP において粒子の粗大化が見られた。CSP、DASP においてはカルシウム架橋による繊維構造やネットワーク構造の発達が見られた。

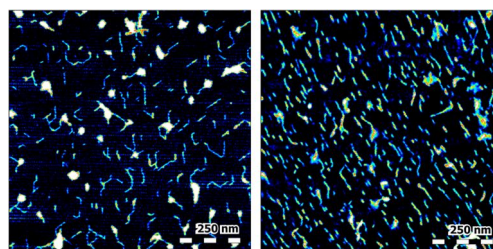


図 カルシウム処理によるグローバル構造の変化

左：カルシウム処理あり
右：カルシウム処理なし

(2) ペクチンの化学的特徴の把握

本研究で用いたペクチンの化学構造の特徴を把握した。その結果、今回の研究では DASP で中性糖割合が高く表れ、側鎖構造が発達したペクチンで構成されていたことが示唆された。DASP ではネットワーク形成能に優れており、このような特徴に側鎖構造が寄与していた可能性が考えられた。また、FT-IR 分析ではこれらペクチンの分子構造の特徴の違いをより詳細に把握することができ、特にメトキシル化度の評価に活用した。

メトキシル化度は 60 の低温ブランチングによって低下する一方で、50 では脱メトキシル化の傾向が強く表れなかった。また、高温加熱後の試料の軟化は脱メトキシル化が進行した場合に緩和された。

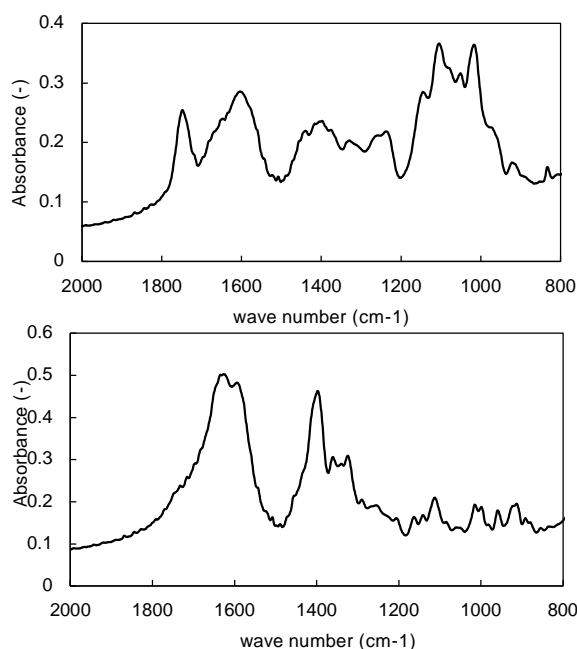


図 ペクチンの FT-IR スペクトル
上：WSP，下：CSP

(3) 細胞膜損傷による細胞壁変化の誘導

上記のように低温ブランチングの効果に差が表れた原因を明らかとするため、電気インピーダンス解析による組織状態評価を行った。その結果、60 での低温ブランチングは、ペクチンメチルエステラーゼの至適温度へと加熱させるのみではなく、細胞膜を損傷させて膜内イオン漏出を引き起こすことにより PME 活性を促進していると示唆された。60 での処理では膜損傷が著しく起きており、それに伴いカルシウムイオン等の漏出量が増加していた。結果ペクチンのメトキシ化度は低下し、CSP や DASP が増加した。

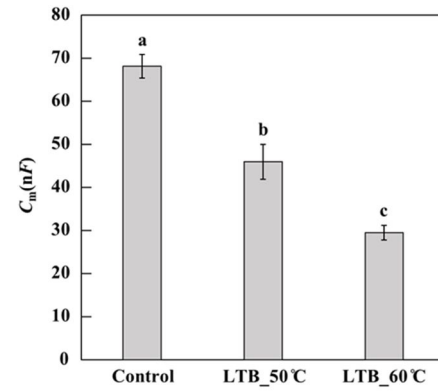


図 各処理後における細胞膜容量

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Naruemon Piyasathianrat, Teppei Imaizumi, Pongphen Jitareerat	4. 巻 1336
2. 論文標題 Effect of calcium ascorbate infiltration against browning in fresh cut apple	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 279-286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.17660/ActaHortic.2022.1336.37	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Haruki Ando, Teppei Imaizumi	4. 巻 27
2. 論文標題 Changes in electrical properties and void distribution of mung bean sprout during hot water heating	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 311-318
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3136/fstr.27.311	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tatsushi Aoyagi, Tatsuya Oshima, Teppei Imaizumi	4. 巻 139
2. 論文標題 Quantitative characterization of individual starch grain morphology using a particle flow analyzer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 LWT-Food Science and Technology	6. 最初と最後の頁 110589
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lwt.2020.110589	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tatsuya Oshima, Kodai Kato, Teppei Imaizumi	4. 巻 143
2. 論文標題 Effects of blanching on drying characteristics, quality, and pectin nanostructures of dried cut-persimmons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 LWT-Food Science and Technology	6. 最初と最後の頁 111094
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lwt.2021.111094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imaizumi Teppei, Tanaka Fumihiko, Uchino Toshitaka	4. 巻 257
2. 論文標題 Effects of mild heating treatment on texture degradation and peroxidase inactivation of carrot under pasteurization conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Food Engineering	6. 最初と最後の頁 19 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jfoodeng.2019.03.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teppei Imaizumi, Pongphen Jitareerat, Natta Laohakunjit, Nattapon Kaisangsri	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of microwave drying on drying characteristics, volatile compounds, and color of holy basil (<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Agriculture and Natural Resources	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Teppei Imaizumi, Hayato Ogino, Haruki Ando	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of heating under pasteurization conditions on mechanical and electrical properties of mung bean sprouts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Engineering in Agriculture, Environment and Food	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Tatsuya Oshima, Teppei Imaizumi, Nakako Katsuno, Takahisa Nishizu
2. 発表標題 Analysis of interaction between calcium and carrot pectin using atomic force microscopy
3. 学会等名 The XX CIGR World Congress 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅原輝, 今泉鉄平, 勝野那嘉子, 西津貴久
2. 発表標題 低温ブランチングによるニンジンの細胞膜損傷とペクチンの変化
3. 学会等名 第79回農業食料工学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Oshima, Teppei Imaizumi, Nakako Katsuno, Takahisa Nishizu
2. 発表標題 AFM observation of carrot pectin growth by adding calcium
3. 学会等名 13th International Conference on Agrophysics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Narumon Piyasathianrat, Teppei Imaizumi, Pongphen Jitareerat
2. 発表標題 Effect of calcium ascorbate infiltration against browning in fresh cut apple
3. 学会等名 V ISHS Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅原輝, 今泉鉄平, 大島達也, 勝野那嘉子, 西津貴久
2. 発表標題 低温ブランチングによる細胞膜損傷がニンジン組織中のペクチン状態に及ぼす影響
3. 学会等名 農業施設学会 2022年学生・若手研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤春希, 今泉鉄平
2. 発表標題 ブランチングおよび冷凍によるモヤシの組織構造と電気的特性の変化
3. 学会等名 日本冷凍空調学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田貴子, 大島達也, 今泉鉄平
2. 発表標題 品種の違いが干し柿の品質に及ぼす影響
3. 学会等名 農業施設学会 2020年秋季学生・若手研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島達也, 今泉鉄平
2. 発表標題 各種デンプンの損傷に伴うモルフォロジーの変化
3. 学会等名 農業施設学会 2020年秋季学生・若手研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tatsuya Oshima, Kodai Kato, Teppei Imaizumi
2. 発表標題 Changes of pectic substances in blanched and dried persimmon fruits
3. 学会等名 INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOOD SCIENCES FST, UKM - GIFU UNIVERSITY 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Teppei Imaizumi, Haruki Ando
2. 発表標題 Relationships between inner air spaces and electrical properties of heated mung bean sprout
3. 学会等名 INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOOD SCIENCES FST, UKM - GIFU UNIVERSITY 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島達也, 今泉鉄平
2. 発表標題 ブランチングおよび乾燥処理が富有柿のペクチンナノストラクチャに及ぼす影響
3. 学会等名 農業食料工学会関西支部 第122回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒田貴子, 大島達也, 今泉鉄平
2. 発表標題 干し柿製造過程における柿内在ペクチンの変化
3. 学会等名 美味技術学会 第20回 例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島達也, 今泉鉄平, 勝野那嘉子, 西津貴久
2. 発表標題 真空含浸処理による青果物の組織構造と電気的特性の変化
3. 学会等名 2021年農業施設学会学生・若手研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayato Ogino, Haruki Ando, Satoshi Iwamoto, Teppei Imaizumi
2. 発表標題 Effects of heating under pasteurization conditions on mechanical and electrical properties of mung bean sprout
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM, SASJ, and 13th CIGR VI Technical Symposium joining FWFNWG and FSWG Workshops (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Tatsuya Oshima, Kodai Kato, Satoshi Iwamoto, Teppei Imaizumi
2. 発表標題 Effects of blanching pretreatment on drying characteristics and pectic states of dried 'Fuyu' persimmon
3. 学会等名 2019 International Joint Conference on JSAM, SASJ, and 13th CIGR VI Technical Symposium joining FWFNWG and FSWG Workshops (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Teppei Imaizumi, Haruki Ando, Satoshi Iwamoto
2. 発表標題 Electrical impedance analysis for evaluating tissue conditions of processed vegetables
3. 学会等名 International Symposium on A New Era in Food Science and Technology 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------