

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	玉城 志博
題 目	シークワーシャー (<i>Citrus depressa</i>) 果実からのペクチンに関する研究 (Studies on Pectins from Fruit of Shekwasha (<i>Citrus depressa</i>))
<p>シークワーシャー (<i>Citrus depressa</i>) は沖縄県の山地に自生している柑橘植物で、その果実は沖縄県の特産品である。ペクチンは植物細胞壁に存在する多糖類の一種で、食品工業において、ゲル化剤や増粘剤、安定剤などとして利用されている。</p> <p>本研究では、シークワーシャー果実の果皮および内皮からペクチンの分離およびその構造特性を検討した。</p> <p>シークワーシャー果皮および内皮から 0.05 M HCl、85℃の条件で抽出を行い、各種イオンクロマトグラフィーを用いてそれぞれのペクチンを得た。果皮および内皮由来ペクチンの収率は新鮮物当たり、それぞれ 2.6、4.1%で、全糖、ウロン酸、水分、灰分の含量およびメトキシ化度は、果皮由来ペクチンがそれぞれ、88.0、78.0、4.7、7.2、62.9%で、内皮由来ペクチンはそれぞれ、89.3、79.2、4.1、8.8、66.2%であった。構成糖比は果皮および内皮由来ペクチンそれぞれ、D-GalA : D-Gal : L-Ara : L-Rha : D-Glc : D-Man = 100 : 9.20 : 1.34 : 1.02 : 0.88 : 0.78、および D-GalA : D-Gal : L-Ara : L-Rha = 100 : 10.3 : 1.53 : 0.944 と算出された。比旋光度 (25℃) および分子量は、果皮由来ペクチンでそれぞれ、+149° および 6.8×10^4、内皮由来ペクチンで +188° および 4.1×10^4 であった。IR および NMR スペクトルにおいてそれぞれのペクチンは標品ペクチンのスペクトルと良い一致を示した。メチル化分析において、1→2、1→2,4 結合ラムノース残基、1→4、1→3、1→6、1→3,6 結合ガラクトース残基、1→3、1→5 結合アラビノース残基などペクチンに特徴的な結合様式が認められた。果皮および内皮由来ペクチンのホモガラクトツロナンの分子量はそれぞれ、2.1×10^4、1.8×10^4 であった。それぞれのペクチンは一般的なゲル化条件でゲルを形成した。これらの結果からシークワーシャー果皮および内皮由来ペクチンの構造モデルを提案した。</p> <p>また、沖縄県のもう一つの代表的な柑橘植物であるタンカン (<i>Citrus tankan</i>) 果皮から、ペクチンを分離し、その基礎的な構造特性について検討した。</p> <p>タンカン果皮由来ペクチンの収率は新鮮物当たり、2.8%で、全糖、ウロン酸、水分、灰分の含量およびメトキシ化度は、それぞれ、94.0、80.0、7.0、11.0、63.2%で、構成糖比は D-GalA : D-Gal : L-Ara : L-Rha = 100 : 11.3 : 3.6 : 2.6 と算出された。比旋光度 (25℃) および分子量は、それぞれ +201° および約 9.2×10^4 であった。一般的なゲル化条件でゲルを形成した。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Yukihiro Tamaki
題 目	Studies on Pectins from Fruit of Shekwasha (<i>Citrus depressa</i>) (シークワーシャー (<i>Citrus depressa</i>) 果実からのペクチンに関する研究)
<p>Shekwasha (<i>Citrus depressa</i>) is a citrus plant grown naturally in Okinawa, Japan. The fruit is regarded as a significant agricultural product. Pectin is one of polysaccharides in plant cell wall. It is mainly utilized as a gelling agent, a thickening agent and a stabilizer in food industry. In this study, the object is to isolate and structurally characterize pectins from pericarp and endocarp of shekwasha.</p> <p>Pectins were extracted in 0.05 M HCl at 85°C for 1 h. The yield of pectin from pericarp was 2.6%, based on fresh weight, and its composition was 88.0% total carbohydrate, 78.0% uronic acid, 4.7% ash, 7.2% moisture and 62.9% methoxylation. The yield of pectin from endocarp was 4.1%, and its composition was 89.3% total carbohydrate, 79.2% uronic acid, 4.1% ash, 8.8% moisture and 66.2% methoxylation. The molar ratios of sugar components of the pectins were estimated to be D-GalA: D-Gal: L-Ara: L-Rha: D-Glc: D-Man=100: 9.20: 1.34: 1.02: 0.88: 0.78 (pericarp), and D-GalA: D-Gal: L-Ara: L-Rha=100: 10.3: 1.53: 0.944 (endocarp). The specific rotations (25°C) and the molecular weights were calculated to be +149° and 6.8×10^4 (pericarp), and +188° and 4.1×10^4 (endocarp), respectively. IR and NMR spectra of the pectins and the de-esterified pectins were consistent with those of standard pectin and de-esterified standard pectin. Typical linkage mode such as 1→2 and 1→2,4 linked Rha, 1→4, 1→3, 1→6 and 1→3,6 linked Gal, and 1→3 and 1→5 linked Ara was recognized in methylation analyses of the pectins. The molecular weights of homogalacturonans of the pectins were estimated to be 2.1×10^4 (pericarp) and 1.8×10^4 (endocarp). The pectins and the de-esterified pectins turned into gels by the generalized methods. The schematic structural models of the pectins were proposed from the result above.</p> <p>Furthermore the pectin from pericarp of Tankan (<i>Citrus tankan</i>), which is also a popular citrus fruit in Okinawa, was extracted and its structure was basically characterized. The yield of pectin from the pericarp was 2.8%, based on fresh weight, and its composition was 94.0% total carbohydrate, 80.0% uronic acid, 7.0% ash, 11.0% moisture and 63.2% methoxylation. The molar ratio of sugar components of the pectin was estimated to be D-GalA: D-Gal: L-Ara: L-Rha =100: 11.3: 3.6: 2.6. The specific rotation (25°C) and the molecular weight of the pectin were calculated to be +201° and 9.2×10^4, respectively. The pectin and the de-esterified pectin turned into gels by the generalized methods.</p>	

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	玉城 志博
審査委員	主査 琉球大学 教授 田幸 正邦
	副査 琉球大学 准教授 福田 雅一
	副査 宮崎大学 教授 福田 亘博
	副査 鹿児島大学 教授 菅沼 俊彦
	副査 佐賀大学 教授 光富 勝
審査協力者	
題 目	シークワーシャー (<i>Citrus depressa</i>) 果実からのペクチンに関する研究 (Studies on pectins from fruit of Shekwasha (<i>Citrus depressa</i>))
<p>沖縄県は亜熱帯に位置し、多数の生物が自生している。沖縄県民は古くから生物資源を利用して食卓を潤し、独特の食文化を創造して健康生活の向上に役立て、長寿県を達成する一助にした。それらの生物資源の中に本県特産の1つであるシークワーシャー (<i>Citrus depressa</i>) がある。</p> <p>シークワーシャーは野生の柑橘植物で、鹿児島県の奄美大島以南から沖縄県にかけて自生している。果実の大きさは約縦経3cm、横経4cmで、重量は平均25gで、収穫期は、調理用(レモン等の代用)が8月～10月中旬、果汁用が10～12月、生食用が12～1月である。近年の生産量は約1,000トンで、シークワーシャー果実に機能性成分であるノビレチンおよびタンゲレチンをはじめとするポリメトキシフラボノイド類が多量含まれることが報告され、注目されている。従って、沖縄県ではシークワーシャー果実を圧搾し、その果汁を主な製品として製造・販売されている。しかしながら、圧搾粕については廃棄されているのが現状である。</p> <p>柑橘類には、多糖類の1種のペクチンが含まれる。ペクチンは細胞壁に含まれる複雑なヘテロ多糖で、主として食品工業でゲル化剤、安定剤および増粘剤として広く利用されている。</p> <p>本研究は、沖縄県国頭郡大宜見村で収穫したシークワーシャー果実(果皮および内皮)から</p>	

ペクチンを分離・同定し、化学構造を検討したものである。また、本県および鹿児島県特産のタンカン果皮からペクチンを分離し、その化学特性について検討した。

シークワーシャー果皮および内皮を0.05M HClに分散させ、85℃、3時間で多糖の抽出を行い、DEAEクロマトグラフィーによりそれぞれの精製多糖を得た。果皮および内皮から得た多糖の収率は2.6および4.1%（対新鮮物）であった。全糖、ウロン酸、灰分、水分の含量およびメトキシ化度は、果皮から抽出した多糖が88.0、78.0、7.2、4.7および62.9%で、内皮から抽出したそれは、89.3、79.2、8.8、4.1および66.2%であった。構成糖を高速液体クロマトグラフ（日本ダイオネックス社製）等で同定・定量したところ、果皮由来多糖はD-GalA:D-Gal:L-Ara:L-RhaD-Glc:D-Man=100:9.20:1.34:1.02:0.88:0.78で、内皮由来多糖はD-GalA:D-Gal:L-Ara:L-Rha=100:10.3:1.53:0.94であった。比旋光度（25℃）はそれぞれ+149° および188° で分子量は68,000 および41,000であった。赤外吸収スペクトル（IR）、¹H-¹³C-NMRを測定した結果、果皮および内皮から分離した多糖は標品のペクチン（レモン由来）のそれらと良く一致した。これらの結果から、シークワーシャー果皮および内皮から分離・精製した多糖はペクチンと同定した。

メチル化分析の結果、ラムノースは1→2、1→2,4結合、ガラクトースは1→4、1→3、1→6、1→3,6結合、アラビノースは1→3、1→5結合している事が示唆された。

果皮および内皮由来ペクチンは無処理の状態で蔗糖を加える事によってゲルを形成した。また、脱エステル化したペクチンはカルシウムを加えるとゲルを形成した。これらペクチンの化学構造のモデルを提出した。

次に、沖縄県特産の1つであるタンカン（*Citrus tankan*）果皮から精製した多糖を検討した。タンカン由来多糖の収率は2.8%であった。全糖、ウロン酸、灰分、水分含量およびメトキシ化度はそれぞれ94.0、80.0、11.0、7.0および63.2%であった。構成糖比はD-GalA:D-Gal:L-Ara:L-Rha=100:11.3:3.6:2.6であった。比旋光度および分子量はそれぞれ+201° および92,000であった。IRおよびNMRの結果は標品のペクチンと一致したので、ペクチンと同定した。

以上のように、本論文は沖縄県特産シークワーシャー果皮および内皮からペクチンを分離・同定し、これらの化学構造について検討を加えたものである。また、タンカンからペクチンを分離・同定して化学特性を明らかにしたものである。特に、前者から初めてペクチンを分離している。従って、本論文は博士（農学）の学位として十分の価値があると判定した。

最終試験結果の要旨				
学位申請者 氏 名	玉城 志博			
審査委員	主査	琉球大学	教授	田幸 正邦
	副査	琉球大学	准教授	福田 雅一
	副査	宮崎大学	教授	福田 亘博
	副査	鹿児島大学	教授	菅沼 俊彦
	副査	佐賀大学	教授	光富 勝
審査協力者				
実施年月日	平成20年1月25日			
試験方法（該当のものを○で囲むこと。）				○口答
<p>主査および副査は平成20年1月25日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について諮問を行った。具体的には別紙の様な質疑応答がなされ、いずれも満足出来る回答を得た。</p> <p>その結果、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な学力ならびに識見を有すると認めた。</p>				

学位申請者
氏 名

玉城 志博

Q, 今回抽出した、シークワーシャー果皮、内皮のペクチンの分子量の違いはどのように考えるか。

A, 果皮、内皮に存在している状態で分子量に差異があり、それが抽出したペクチンに反映されている。

Q, 果皮、内皮のペクチン分子量が異なっている。かなり純度の高いペクチンが得られており、またそれを詳細に分析しているので、何か違いが分かるのではないか。

A, 多糖は均一なものの集合ではなく、ある性質を持ったものの集合であると考えられるので、詳細な違いを見出すのは難しい。

Q, ペクチンの一般成分中に灰分が入っているが、なぜか。

A, 抽出方法で一部省略したステップがあり、陽イオン交換樹脂に供した後に水酸化ナトリウムで中和を行った。メトキシル化度が約 60%と算出されており、理論値と実験結果はほぼ一致するものである。

Q, 搾汁残渣では果皮、内皮が混雑した状態である。今回の研究では何故、分けて分析したのか。

A, 基礎的知見を得るために分けた。

Q, 外皮には二箇所のラムノガラクトクロナン領域が、内皮には一箇所のラムノガラクトクロナン領域が存在することになっている。ウロン酸量に対するラムノースの比は両者間で変わらない。何故このようなことがいえるのか。

A, 果皮の分子量は約 68000 と算出された。ホモガラクトクロナン領域を分離して分子量を求めたところ、約 21000 と算出された。このことからホモガラクトクロナン領域が三箇所存在し、その間(二箇所)にラムノガラクトクロナン領域が存在することが考えられる。

分子量が根拠となっている。

Q, ペクチン中にマンノースが存在するということを聞いたことがない。

A, 柑橘類由来のペクチンにはマンノースが存在するということは、珍しいことではない。

Q, 塩酸抽出以外の方法、熱水やシュウ酸での抽出を試みたことはあるか。

A, 熱水での抽出は行っていない。

当初から食品での利用を考えていたので、シュウ酸での抽出は行っていない。

Q, 冒頭で紹介していた modified citrus pectin はどのようなものか。

A, ペクチンをアルカリ処理することにより、メチル基置換部分では、 β 脱離が起こる。

それによって分子量が小さくなる。また更に酸で処理することにより、更に分子量が小さくなる。そこで、比較的酸に弱いアラビノースが加水分解され、その結果ガラクトースリッチなペクチンが得られる。

Q, Modified citrus pectin の効能はどのようなものか。

A, ガンの予防、重金属の除去作用などである。

Q, 側鎖のあるラムノガラクチュロナン領域を分離することは可能か。

A, ラムノガラクチュロナン分解酵素、アラビノース分解酵素、ガラクトース分解酵素で処理した後に MS などでは分析する方法はある。しかし今回はラムノガラクチュロナン領域を切断する酵素が入手できなかったもので、分離していない。

Q, 分子量を、ゲル濾過で算出した際、ペクチンは HPLC で、ラムノガラクチュロナン領域は Sephadex を用いているが、使い分けた理由は。またゲル濾過で分子量を算出する場合、側鎖の影響などはあるか。

A, 分子量の関係から、最適な分画分子量範囲を持つカラムを用いた。

ゲル濾過においては側鎖、立体構造の影響を受ける。

Q, シークワーシャー、タンカンなどのペクチンは基本的な構造に差はないとしているが、温度変化における旋光度が異なっていた。これは構造に起因する、即ち異なる構造を有しているということか。

A, 多糖の立体構造の温度依存を知る目的で旋光度を測定した。分析した結果からは差異が認められなかったが、旋光度の結果から、若干の立体構造の違いを有することが考えられる。

Q, 標品ペクチンの由来はなにか。また標品ペクチンとは違いがあったか。

A, 標品ペクチンはレモン由来のペクチンである。柑橘類のペクチンはその間にあまり違いがなく、概ね同様の性質であった。