

カボチャを使用した γ -アミノ酪酸の生成*

大能 俊久^{*1}, 南中 麻希^{*2}

Generation of γ -Aminobutyric Acid in squash

Toshihisa OHNO^{*1} and Maki MINAMINAKA^{*2}

^{*1} Faculty of Environmental and Information Sciences, Department of Environmental and Food Sciences

Squash is one of the plants in which glutamate decarboxylase (GAD:EC 4.1.1.15) activity is very strong. GAD is an enzyme that synthesizes γ -aminobutyric acid (GABA) from glutamic acid. In this research, squash GAD was quantified by GABA and the GAD activity was the strongest in the peel. Furthermore, more than 260 mg of GABA were synthesized in 100 g of squash peel under optimum conditions in which the pH and temperature were 6.2 and 60°C, respectively.

Key Words : Squash, γ -Aminobutyric Acid, Glutamate Decarboxylase, Optimum pH, Optimum Temperature

1. 緒 言

近年の健康志向などにより消費者の生体調節機能を示す食品への関心は高まっている。そのような消費者のニーズに応えるように 2015 年から機能性表示食品も販売されている。アミノ酸の一種 γ -アミノ酪酸 (GABA) は農産物に含まれており⁽¹⁾⁽²⁾, 血圧降下作用⁽³⁾⁽⁴⁾や自律神経障害の改善が認められ⁽⁴⁾, また自律神経系へのリラクゼーション効果⁽⁵⁾も報告されている機能性成分である。GABA を含む機能性表示食品としてサプリメント形状の加工食品やチョコレートなども販売されている。

GABA はグルタミン酸にグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) が作用して生成することが分かっている⁽⁶⁾。GAD 活性の高い農産物の一つとしてカボチャが挙げられており⁽⁷⁾, カボチャを使って GABA が豊富な食品を製造できる可能性がある。GABA を豊富に含んだ食品製造の足掛かりを得るため, カボチャを使用してグルタミン酸ナトリウムを基質とした場合の GABA 生成条件等について検討を行った。

2. 実験方法

2.1 試料

量販店で購入した長崎県産, または北海道産の西洋カボチャを試料とした。なお, 試験はいずれも繰り返し数 3 で行った。

2.2 部位による GABA 生成量の比較

Fig. 1 示すように種付近の実を A, 中間部の実を B, 皮付近の実を C, 皮を D とし, それぞれの部位を採取し, 包丁でおおよそ 1 mm 立法になるように細かく刻んで実験に供した。各部位 0.1 g に, 0.1% グルタミン酸ナトリウム溶液を 1 ml 添加して 40°C で 2 時間振とうした。その後, 3% 5-スルホサリチル酸溶液を 1 ml を加えて反応を停止し, 40°C で 15 分振とうした後 1500×g で 15 分間遠心分離を行った。上清を採取して 0.45 μ m のフィルターでろ過をし, アミノ酸分析機 (JLC-500/V2, 日本電子) によって定量を行った。

* 原稿受付 2020 年 5 月 29 日

^{*1} 環境情報学部 環境食品応用科学科

^{*2} 株式会社金沢シール (〒924-0011 石川県白山市横江町 495 番地)

E-mail: ohno@fukui-ut.ac.jp

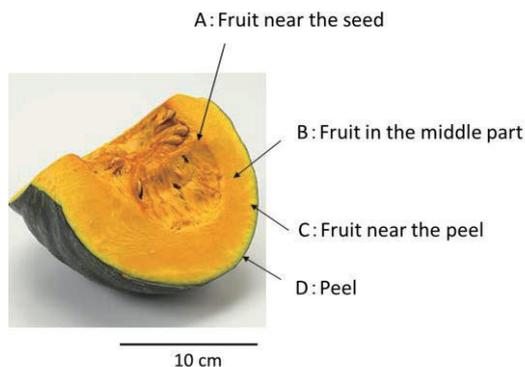


Fig. 1 Sampling site of squash

対照は各部位ごとに 0.1g を測りとりて先に 3%5-スルホサリチル酸溶液を 1 ml 添加し、その後 0.1% グルタミン酸ナトリウム溶液 1 ml を添加して 40°C で 15 分振とうした。それ以降は上記と同じように処理した。

2.3 至適 pH の検討

西洋カボチャの皮を包丁で細かく刻んだもの 0.2 g に種々の pH に調製した McIlvaine 緩衝液 (0.2 M リン酸水素 2 ナトリウム, 0.1 M クエン酸で調整) を 1 ml 添加後, 0.2% グルタミン酸ナトリウム溶液を 1 ml 添加して 40°C で 2 時間振とうした。その後, 3%5-スルホサリチル酸溶液を 2 ml 添加して 40°C で 15 分振とうした。その溶液を 1500×g で 15 分間遠心分離した上清を 0.45 μ m のフィルターでろ過してアミノ酸分析を行った。また, グルタミン酸ナトリウム溶液より先に 3%5-スルホサリチル酸溶液を添加した場合を対照とした。

2.4 至適温度の検討

西洋カボチャの皮を包丁で細かく刻んだもの 0.2 g を測りとり, 調製した McIlvaine 緩衝液 (pH5.8) を 1 ml と 0.2% グルタミン酸ナトリウム溶液を 1 ml 添加した。そして 40°C, 50°C, 60°C, 70°C の各温度で 2 時間振とうした後, 3%5-スルホサリチル酸溶液を 2 ml 加えて各温度で 15 分振とうした。溶液を採取して 1500×g で 15 分遠心分離し, 上清を 0.45 μ m のフィルターでろ過してアミノ酸分析を行った。また, グルタミン酸ナトリウム溶液より先に 3%5-スルホサリチル酸溶液を添加した場合を対照とした。

2.5 反応時間の検討

西洋カボチャの皮を包丁で細かく刻んだものを 0.2 g 測りとり, 調製した McIlvaine 緩衝液 (pH5.8) を 1 ml と 0.2% グルタミン酸ナトリウム溶液を 1 ml 添加し, 60°C で 10 分から 60 分間振とうを行った。その後, 3%5-スルホサリチル酸溶液を 2 ml 添加して 15 分振とうした。溶液を採取して 1500×g で 15 分遠心分離し, 上清を 0.45 μ m のフィルターでろ過してアミノ酸分析を行った。また, グルタミン酸ナトリウム溶液より先に 3%5-スルホサリチル酸溶液を添加した場合を対照とした。

3. 実験結果および考察

3.1 カボチャの部位と GABA 生成量

部位ごとの GABA 量の結果を Fig. 2 に示す。反応後の GABA 量から対照の GABA 量を引いて算出した GABA 生成量は, A は 25.5 mg/100 g, B は 124.8 mg/100 g, C は 155.4 mg/100 g, D は 265.7 mg/100 g となった。種付近から皮にかけて生成量が多くなり, 皮で一番 GABA 生成量が多いことが分かった。このことから, 種付近から皮に向かって徐々に GAD が増加すると考えられる。鶴澤ら⁷⁾は GAD によるカボチャの GABA 生成について調べ, カボチャの実全体をフードプロセッサーで粉碎して均一な試料とし, カボチャ 100 g あたり 40°C 2 時間で 108.6 mg の GABA 生成を報告している。鶴澤らの GABA 生成量と今回の結果は大きな差がないことから, カボチャの

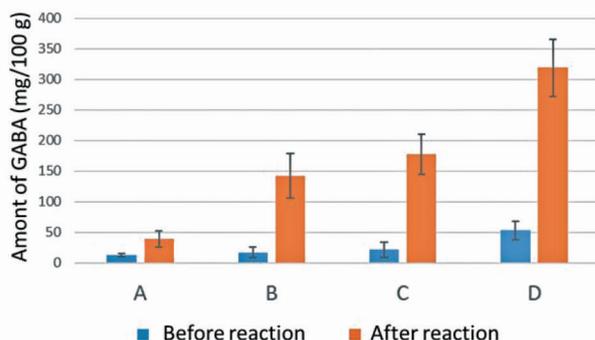


Fig. 2 Amount of GABA before and after reaction

A: fruit near the seed, B: fruit in the middle part,

C: fruit near the peel, D: peel

Data are expressed as mean \pm SD.

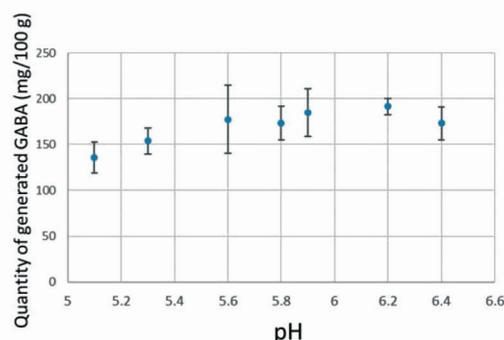


Fig. 3 Quantity of GABA in various pH

Data are expressed as mean \pm SD.

GABA 生成量は 40°C , 2 時間の反応で 100 g あたり数十 mg から数百 mg 程度と考えられる。また、皮での GABA 生成量が最も多かったため以下の実験は皮を使用して行った。

3.2 至適 pH の検討

予備実験の結果から pH5, pH6 付近で GABA 生成量が多くなることが分かったので, pH4.8, pH5.0, pH5.2, pH5.4, pH5.6, pH5.8, pH6.0 に調製した pH 緩衝液を使用した。皮を入れた後で pH を測定したところ, pH 緩衝液の実測 pH は 5.1-6.4 となった。

GABA 生成量を Fig. 3 に示す。pH は実測値で示した。GABA 生成量は pH6.2 が 199.7 mg/100 g と最も多く, 至適 pH は 6.2 だと考えられる。カボチャの GAD の至適 pH が 5.8 との報告がある⁽⁷⁾が, 今回の結果と差がある原因として実験の誤差や実と皮の違いの他, 品種の違いなどが考えられる。pH5.8 に調整した緩衝液に皮を入れると pH6.2 となり最も多くの GABA が生成したことから今後はこの条件で測定を行った。

3.3 至適温度の検討

40°C , 50°C , 60°C , 70°C で反応させた結果を Fig. 4 に示す。各反応温度の GABA 生成量は 60°C で 393.0 mg/100 g のピークとなり, 至適温度は 60°C だと考えられる。また, 至適温度が 60°C という結果は文献⁽⁷⁾と一致していた。得られた結果から次項の反応時間の検討は反応温度 60°C で実験を行った。

3.4 反応時間の検討

反応時間 10-60 分について行った実験結果を Fig. 5 に示す。10 分の反応でも 263.6 mg/100 g の GABA が生成され, 50 分で 401.3 mg/100 g, 60 分で 349.7 mg/100 g であり, 10 分の 1.5 倍, 1.3 倍であった。50 分から 60 分にかけて GABA 生成量が減少しているのは, 実験の誤差が原因だと推測している。これらのことから, 60°C の恒温槽に入れるとすぐに反応が始まり, 10 分間という比較的短い時間で 260 mg/100 g 以上の GABA が生成されることが分かった。

GABA は 1 日あたりの摂取量が約 26 mg で血圧を下げるなどの効果が報告されている⁽⁴⁾。今回の実験ではカボチャの皮 10 g をグルタミン酸ナトリウムと 60°C で 10 分間反応させるだけで約 26mg の GABA を生成させることができた。以上の事からカボチャは GABA を効率的に摂取させる食材として有望であることが確かめられた。

4. 結 言

カボチャを使用した GABA 生成について検討を行い, 部位としては皮部分で一番 GABA 生成量が多いこと, 至適 pH は 6.2 であること, 至適温度は 60°C であること, 60°C で 10 分という比較的短い時間でカボチャの皮 100 g あたり 260 mg 以上の GABA を生成することなどが明らかとなった。このようにカボチャは GABA を効率的に摂取させる食材として有望であることが確かめられた。

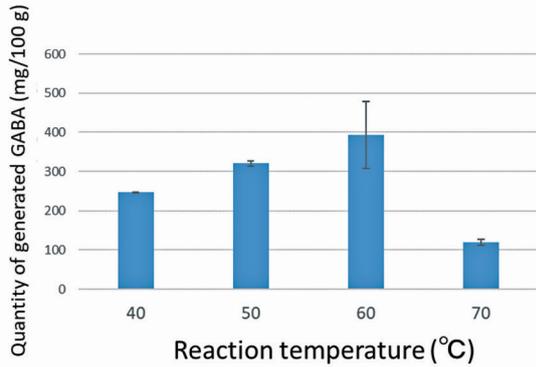


Fig. 4 Quantity of GABA in various reaction temperature
Data are expressed as mean \pm SD.

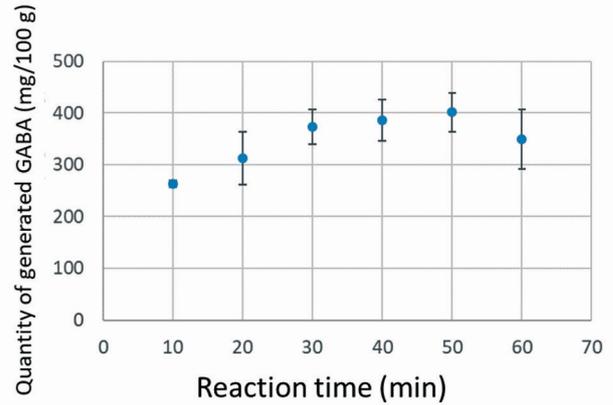


Fig. 5 Quantity of GABA in various reaction time
Data are expressed as mean \pm SD.

謝 辞

環境情報学部環境・食品科学科の一部の卒業生には、本研究を遂行するにあたり在学中に協力していただいた。ここに記して感謝を申し上げる。また、研究で使用したアミノ酸分析機は金井学園事業費の支援を受けて導入したものである。ここに記して感謝を申し上げる。

文 献

- (1) 瀧川重信, 大笹稿, 鈴木達郎, 遠藤千絵, 橋本直人, 齋藤勝一, 山内宏昭, 野田高弘, “小麦胚芽を用いた γ -アミノ酪酸の効率的製造法”, 日本食品科学工学会誌, Vol. 56, No. 2 (2009), pp. 114-117.
- (2) 中村和哉, 奈良一寛, 野口智紀, 大城哲也, 古賀秀徳, “ジャガイモおよびその加工品の γ -アミノ酪酸 (GABA) 含量”, 日本食品科学工学会誌, Vol. 53, No. 9 (2006), pp. 514-517.
- (3) 大森正司, 矢野とし子, 岡本順子, 津志田藤二郎, 村井敏信, 樋口満, “嫌気処理緑茶(ギャバロン茶)による高血圧自然発症ラットの血圧上昇抑制作用”, 日本農芸化学会誌, Vol. 61, No. 11 (1987), pp. 1449-1451.
- (4) 岡田忠司, 杉下朋子, 村上太郎, 村井弘道, 三枝貴代, 堀野俊郎, 小田野明彦, 梶本修身, 高橋励, 高橋丈夫, “ γ -アミノ酪酸蓄積脱脂コメ胚芽の経口投与における更年期障害及び初老期精神障害に対する効果”, 日本食品科学工学会誌, Vol. 47, No. 8 (2000), pp.596-603.
- (5) 藤林真美, 神谷智康, 高垣欣也, 森谷敏夫, “GABA 経口摂取による自律神経活動の活性化”, 日本栄養・食糧学会誌, Vol. 61, No. 3 (2008), pp. 129-133.
- (6) 八木達彦, 福井俊郎, 一島栄治, 鏡山博行, 虎谷哲夫, 酵素ハンドブック第3版, 2008, 朝倉書店, pp. 758.
- (7) 鶴澤昌好, 奥山知子, 村田真由美, 佐藤良二, 大森正司, “ γ -アミノ酪酸高含有カボチャ加工品製造とそのラット血圧上昇抑制作用”, 日本食品科学工学会誌, Vol. 49, No.9 (2002), pp. 573-582.

(2020年9月10日受理)