

電子レンジによる グルタミン酸脱炭酸酵素の失活について

亀山 春・遠藤 幸子

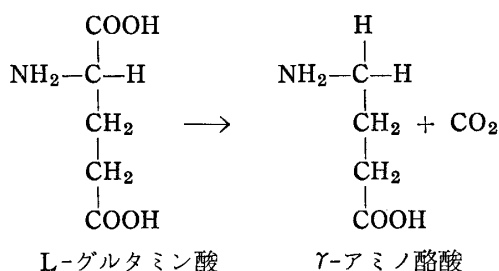
(栄養学研究室)

Studies on Thermal Inactivation of Glutamate Decarboxylase by Electromicrowave Irradiation

Haru KAMEYAMA・Sachiko ENDO

緒 言

グルタミン酸脱炭酸酵素 (L-Glutamate 1-carboxy-lyase, EC 4.1.1.15) は下記の反応を触媒する酵素である。



本酵素は、Okunuki 等¹⁾ によりはじめてユリ科植物の花粉に見出された。その後 Schales 等²⁾³⁾ により、その分布状態について詳細な研究がなされ、極めて広い分布を示す酵素であることが明らかにされている。

本酵素の基質となるグルタミン酸は多くの蔬菜類の中に遊離の状態として存在し、それらの食品のうま味に関与し、又そのナトリウム塩は調味料として、日常の調理に広く用いられている。

本酵素は比較的熱に安定であるため⁴⁾、加熱調理中に、食品中のグルタミン酸や、あるいは調味料として加えられたグルタミン酸ソーダに作用し、その結果食品のうま味を損う可能性もあるものと考えられる。従って本酵素は調理操作中、出来る丈早く失活してほしい酵素である。

最近急速に発展した電子レンジによる調理は、マイクロ波の特異的な性質により短時間に加熱調理を行なうことが出来、上記目的からすれば望ましい調理方法であると予想される。

そこで本邦産の蔬菜のうち、特に本酵素活性の強い、

カボチャ、西洋ニンジンを材料とし、電子レンジによる熱処理あるいは従来の加熱処理を行なった後、酵素液を調製し、そのグルタミン酸脱炭酸酵素の活性を測定し、本酵素の活性の変化の点から、両加熱処理方法を比較検討することを目的として以下実験を行なった。

実験方法

本実験に用いた材料は、市販会津カボチャ、三寸西洋ニンジンである。又電子レンジは National Electronic Range, パナクック NE-5000, 高周波出力500W を用いた。グルタミン酸脱炭酸酵素の活性は、pH 5.8, 37°C, 1時間の反応で生成される γ -アミノ酪酸の量で示した。

加熱処理の条件

上記各材料を1cmの厚さに輪切りにし、各100gをガラス製シャーレに並べ、電子レンジの場合には500W 2分間照射した。(以下電子レンジ調理と略す) 本条件下では各材料の組織は完全にやわらかくなり、供食出来る状態となるが、2分以上照射するとコゲ目がつくので、2分間の条件を選んだ。又通常の熱処理の場合には、沸騰している蒸気鍋の中で電子レンジ調理と同様2分間放置した。(以下蒸調理と略す)

酵素液の調製

無処理および加熱処理した各材料を“ダイコン下し、金で搾り取り、加熱処理によって減量した水分に相当する蒸留水と50ccの0.1Mリン酸緩衝液(pH 5.8)を加え、Warning blenderで3分間混合後、ガーゼ4枚重ねで圧搾濾過し、得られた溶液を3000 rpm 20分間遠沈し、その上清液を酵素液とした。

反応条件

太型試験管(30×200mm)に各酵素液10ccと、グルタ

ミン酸溶液 (890mg/100cc) 10ccを加えた後、37°C、1時間振盪した。反応終了後、直ちに沸騰水浴中に30分間加熱し、反応を停止した。冷却後、3000 rpmで20分間遠沈し、得られた上清液について γ -アミノ酪酸の定量を行なった。

対照実験として、各酵素液に基質を加えた後、直ちに沸騰水浴中で30分間加熱したものについて、本実験と同様の操作を行なった後、本実験値から差引いた。

γ -アミノ酪酸の定量⁵⁾

50~100 μ g 程度の γ -アミノ酪酸を含む反応水溶液 1 ccに、その都度よく混合しながら 0.2 M 硼酸緩衝液 (pH9.0) 0.5cc、60% フェノール溶液 2 cc 及び有効塩素量 7.5% の次亜塩素酸ソーダ溶液 1 ccを加え、沸騰水浴中で10分間加熱した後、冷水で 5分間冷却し、60% エタノール 2 ccを加えて、島津ボシュロム、スペクトロニック 20比色計を用い、630m μ でその吸光度を測定し、水を用いて本実験と同様の操作を行なった盲試験を差引いた後、あらかじめ作成しておいた検量線からその濃度を算出した。 γ -アミノ酪酸の呈色におけるグルタミン酸の阻害に対する補正は行なわなかった。

実験結果及び考察

まず電子レンジ調理あるいは蒸調理したカボチャから調製した酵素液を用い、37°C、1時間の反応によって生成された γ -アミノ酪酸を定量し、無処理の材料から調製した酵素液の場合と比較検討した。

Table I に示す如く、無処理の材料から調製した酵素液を用いると、 γ -アミノ酪酸の生成量は 2361 μ g であるのに対し、蒸調理した場合には 2047 μ g であった。この結果から蒸調理によって、約13%の酵素活性の低下が見られた。しかし2分間の電子レンジによる熱処理を行なうと、 γ -アミノ酪酸の生成量は無処理の 2361 μ g に対してわずか 8 μ g であり、電子レンジ調理により、ほとんどの酵素活性が失われる結果が得られた。

次いで西洋ニンジンを実験を行ない、

Table I. ACTIVITIES OF GLUTAMATE DECARBOXYLASE IN FRESH AND STEAM- AND ELECTROMICROWAVE-TREATED PUMPKIN

Heat Treatment	Activity of Glutamate Decarboxylase μ g of γ -Aminobutyric Acid produced after 1 hr. incubation at 37°C
None	2361
Steam Heating	2047
Electromicrowave Irradiation	8

Enzyme activity was expressed by μ g of γ -aminobutyric acid produced from 1 c.c. of a reaction mixture after 1 hr. incubation at 37°C. γ -Aminobutyric acid was determined by a method of Kitaoka and Nakano⁵⁾.

To 10 c.c. of an enzyme solution in a test tube (30×200mm.) was added 10 c.c. of saturated solution of glutamic acid. After shaking the reaction mixture at 37°C for 1 hour, the reaction was stopped by heating in boiling water for 30 minutes. Then the mixture was centrifuged at 3000 rpm and the resulting supernatant was used for assay of γ -aminobutyric acid. In the control experiment, after addition of glutamic acid into the test tube containing the enzyme solution, the reaction mixture was immediately heated in boiling water for 30 minutes and the entire procedure was carried out in identical fashion.

Table II. ACTIVITIES OF GLUTAMATE DECARBOXYLASE IN FRESH AND STEAM- AND ELECTROMICROWAVE-TREATED CARROT

Heat Treatment	Activity of Glutamate Decarboxylase μ g of γ -Aminobutyric Acid produced after 1 hr. incubation at 37°C
None	449
Steam Heating	385
Electromicrowave Irradiation	3

Enzyme activities in fresh and steam-heated and electromicrowave-irradiated carrot were determined by the same method as described in Table I.

Table II に示した。西洋ニンジンの場合もカボチャの場合と同じ様な傾向が認められた。

即ち、Table II に示す如く、蒸調理の場合には無処理の場合と比較し86%程度の酵素活性が保持されているのに対し、電子レンジ調理の場合には酵素活性のほとんどが失われた。

以上の結果から、グルタミン酸脱炭酸酵素の活性は、蒸調理によってその大部分の活性が保持されているのに対し、2分間の電子レンジ調理によって、その活性がほとんど失われることが認められた。従って蒸調理の場合には、グルタミン酸脱炭酸酵素によってうま味成分であるグルタミン酸が分解される可能性もあるものと考察される。これに対し、電子レンジによる加熱方法は、スピーディーに上記酵素が失活されるため、食物の持つうま味成分の保持の点から、従来の加熱調理方法に比較し、望ましい調理方法であると考察された。

要 約

電子レンジにより熱処理したカボチャ、西洋ニンジン
のグルタミン酸脱炭酸酵素の活性を測定し、従来の加熱
調理方法と比較検討した。

その結果、カボチャ、西洋ニンジンいずれの場合も、
蒸調理した場合は大部分の酵素活性が保持されているの
に対し、電子レンジにより加熱処理した場合には、その
活性がほとんど失なわれることが認められた。これらの
ことから電子レンジによる調理方法は、従来の加熱調理
に比べ、スピーディーに本酵素を失活せしめ、従って、
うま味成分であるグルタミン酸の保持という点から、望
ましい調理方法であると考察された。

終りに、電子レンジを利用させていただきました本学
調理学研究室の皆さんに、又実験に協力して下さった本
学44年度、栄養学特殊研究生 大村茂子、重住江里子両
嬢に謝意を表します。 (昭和45年1月16日受理)

文 献

- 1) K. OKUNUKI: Botan. Mag., (Tokyo), **51**, 270
(1937).
- 2) O. Schales, V. Mims and S. S. Schales: Arch.
Biochem., **10**, 455 (1946).
- 3) O. Schales and S. S. Schales: Arch. Biochem.,
11, 155 (1946).
- 4) 奥貫, 稻垣: “酵素研究法”, II, p.718 朝倉書店
(1956).
- 5) S. KITAOKA and Y. NAKANO: J. Biochem. **66**,
87 (1969).

Summary

It has been found that cooking of carrot and pumpkin in electronic range destroys the glutamate decarboxylase activity extensively while that by steam heating remains greater parts of the enzyme active.

Carrot and pumpkin were cut into slices and steamed or irradiated by electromicrowave in a commercial electronic range for 2 minutes. The heated samples were homogenized in a medium containing 0.1 M phosphate buffer (pH 5.8) and the homogenates centrifuged at 3000 rpm for 20 minutes. The resultant supernatants were used as the enzyme solutions and the activities were determined by estimating colorimetrically the amounts of γ -aminobutyric acid formed on incubation with glutamic acid.

Results of the experiments showed that in both carrot and pumpkin the steam heating remained major parts of the enzyme active (more than about 85%) whereas the electromicrowave irradiation destroyed the enzyme nearly completely.

It may be concluded that for retaining glutamic acid, a flavor enhancer, in fresh vegetables during cooking, use of an electronic range is preferable to that of steam cooker.