

アスコルビン酸酸化酵素の作用と 食品を用いた失活条件

班員 濱田 幹太、廣澤 夢空、福井 隆介、向瀬 紗来
担当教諭 高橋 潤哉

キーワード：アスコルビン酸、アスコルビン酸酸化酵素、リンゴ

We investigated the action of ascorbic acid oxidase and conditions for its inactivation using foods. Experiments were conducted to measure changes in ascorbic acid concentration at different pH and salinity levels. Ascorbic acid oxidase is thought to be inactivated by changing the pH with drinking water. In addition, the salinity has a possibility to inactivate ascorbate oxidase.

1 はじめに

アスコルビン酸（以下AA）はビタミンCのことである。AAは美肌作用や日焼け防止や抗がん作用などが期待されている。しかし、人の体内にはAAを合成する酵素がなく、食事などにより摂取しなければならない。通常AAは還元型で存在しているが、アスコルビン酸酸化酵素（以下AAO）の作用などによって酸化され、酸化型AAとなる。AAOはリンゴやキュウリ、キャベツなどの野菜や果物に含まれている。還元型AAは分解されにくく、安定しているが、酸化型AAは熱に弱く、分解されやすい。つまりAAを効率よく摂取するには酸化を防ぐ必要がある。先行研究では、薬品を用いてpHを変化させるとAAOを失活させられることが分かっている。しかし、調理過程では、薬品を用いてAAOを失活させることはできない。そこで、日常生活での実装を目的として、食品を用いてAAOを失活させる方法を検討するために、飲料水のpHや塩分濃度がAAOに与える影響を調べた。

2 材料と方法

<使用器具>

- ・ハンドプロセッサ
- ・遠心分離機
- ・RQフレックス
- ・pHメーター

<使用薬品・使用食品>

- ・アスコルビン酸
- ・5%メタリン酸水溶液
- ・リンゴ
- ・コココーラ
- ・アクエリアス
- ・紅茶
- ・食塩
- ・砂糖

<実験方法>

実験ではすべて、小型反射式光度計「RQフレックス」（Merck kGaA）（図1）を用いて、液中の還元型AA濃度を測定した。RQフレックスは、試験紙を溶液に浸し変色させ、その試験紙の光の反射率を測定することで濃度を定量できる。以下、AA濃度は還元型AA濃度を指すものとする。またリンゴ果汁は、リンゴ一個に対して、5%メタリン酸水溶液20 mLを加え、ハンドプロセッサを用いて細かく砕いて搾った果汁を3000回転で3分間遠心分離し、その上澄み液のみを採取して使用した。メタリン酸水溶液は、AAが空気酸化を受けるのを防止する安定剤の役割がある。



図1 RQフレックス

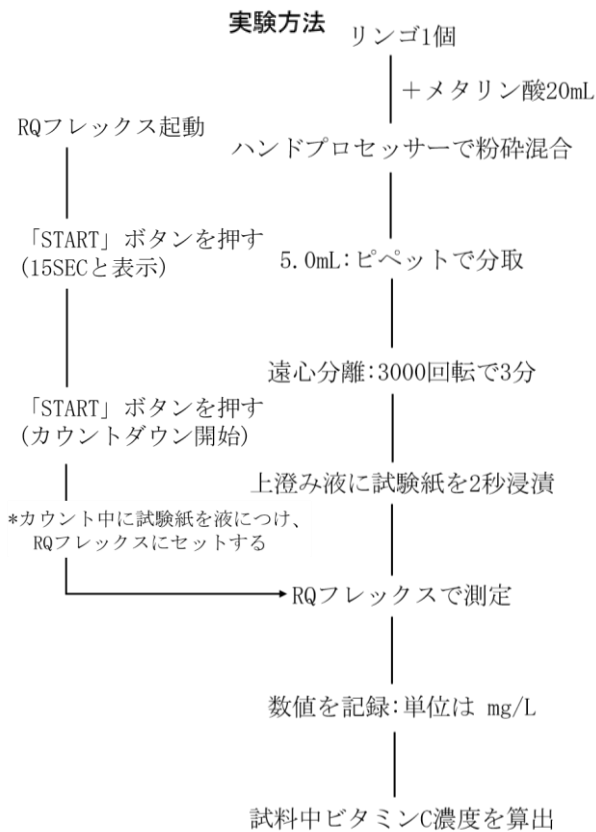


図2 RQフレックスを用いたAA濃度測定方法

<実験1> リンゴに含まれるAA0の作用について

1.0×10⁻³ mol/Lに調製したAA水溶液500 mLに対して、リンゴ果汁20 mLを加え、10分後、液中AA濃度を測定した。次に、加えるリンゴ果汁を50 mLに変えて同様に実験を行った。

<実験2> 飲料水を用いたpHの変化によるAA0の失活条件

AA溶液の2分の1をコココーラ、アクエリアス、紅茶に変えて、実験1と同様に行った。水とコココーラ混合水溶液はpH2.85、アクエリアスはpH3.63、紅茶はpH5.60だった。pHはpHメーターを用いて測定した。

<実験3> 塩分濃度の変化によるAA0の失活条件

1%、5%食塩水を用いてAA水溶液をそれぞれ作り、リンゴ果汁を50 mL加える場合のみで、実験1と同様に行った。

3 実験結果

<実験1>

液中AA濃度は、リンゴ果汁を20 mL加えたときは24 mg/L、リンゴ果汁を50 mL加えたときは41 mg/L減少した(図3)。

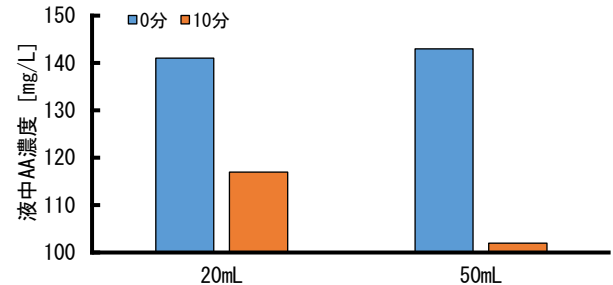


図3 リンゴ果汁を20 mLと50 mL加えた時のAA濃度変化

<実験2>

リンゴ果汁を20 mL加えたとき、液中AA濃度は、コココーラ、アクエリアスでは6 mg/L、紅茶では20 mg/L減少した(図4)。

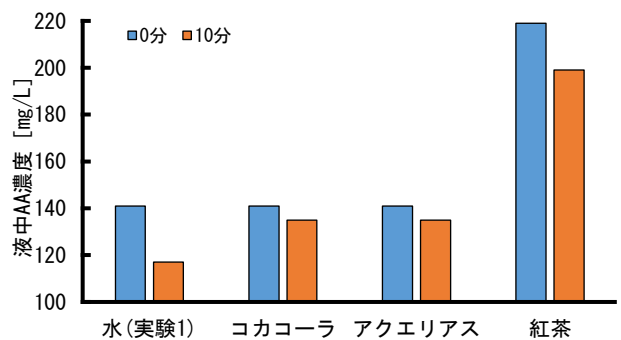


図4 リンゴ果汁を20 mL加えた時の飲料水によるAA濃度変化

リンゴ果汁を50 mL加えたとき、コココーラでは19 mg/L、アクエリアスでは20 mg/L、紅茶では44 mg/L減少した(図5)。

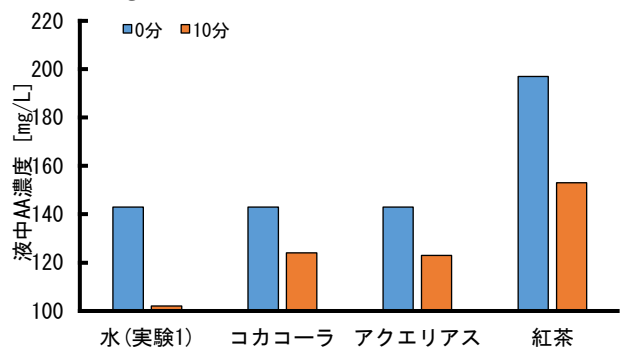


図5 リンゴ果汁を50 mL加えた時の飲料水によるAA濃度変化

<実験3>

液中AA濃度は、塩分濃度が1%のときは27 mg/L、塩分濃度が5%のときは30 mg/L減少した(図6)。

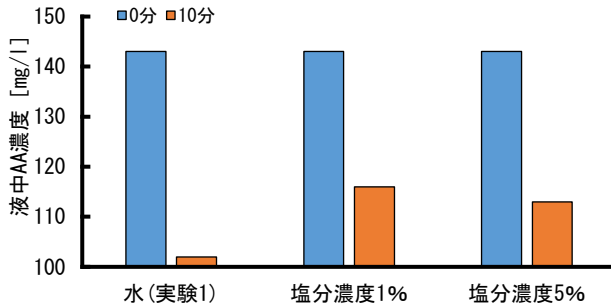


図6 リンゴ果汁を50 mL加えた時の塩分濃度によるAA濃度変化

4 考察

<実験1> AA0量が増えると酸化反応速度も上昇すると言える。これは基質であるAAの量が一定のまま、酵素であるAA0の割合のみが増加したことで、酵素基質複合体の生成量が増加したことによると考えられる。

<実験2> 水(実験1)と比べると、ココロラ、アクエリアスを用いたとき、液中AA濃度の減少量は小さくなったため、AA0は失活したと言える。よって、飲料水を用いてpHを小さくすると、薬品を用いたときと同様にAA0は失活すると考えられる。また、先行研究ではpH3では失活し、pH4で失活しなかったが本研究でpH3.63でも失活すると分かった。

<実験3> AA0が失活したと考えられるココロラ、アクエリアス(実験2)と比較すると液中AA濃度の減少量が小さくなったとは言えないが、水のみを用いた時(実験1)と比較すると、減少量は小さくなった。かまぼこを成形する際に塩を加えることによって筋原線維たんぱく質に浸透し、タンパク質同士の静電的な相互作用を弱め、溶けやすくなる⁽²⁾。このことから、以下のような仮説を立てて、実験4を行った。

仮説: 塩化ナトリウムが水溶液中で電離し、イオンになることでタンパク質の構造を維持する水素結合などの静電的な結合を崩し、結果としてAA0を失活させた。上記仮説が正しいならば、同じ物質量の砂糖を溶かしてもAA0は失活しない。

5 追加実験

<実験4> 塩分・砂糖濃度の変化によるAA0の失活条件

実験3において、AA0を失活できた可能性を検証した。食塩水(0.5%、1%、5%、15%、20%)と、5%、15%食塩水と物質量が等しくなるように調製した砂糖水(以下、それぞれ5%砂糖水、15%砂糖水と表記する)を用いて、実験3と同様に行った。また、加える食塩、砂糖の量が多くなり、体積が大きくなったため、液中AA濃度の単位をmg/Lからmol/kgに変更した。

結果

10分後の液中AA濃度減少量は水のみで 233×10^{-6} mol/kg、塩分濃度0.5%で 77×10^{-6} mol/kg、塩分濃度1%で 27×10^{-6} mol/kg、塩分濃度5%で 167×10^{-6} mol/kg、塩分濃度15%で 8.8×10^{-6} mol/kg、塩分濃度25%で 12×10^{-6} mol/kg、砂糖15%で 140×10^{-6} mol/kgだった。また、砂糖5%では液中AA濃度は増加した。

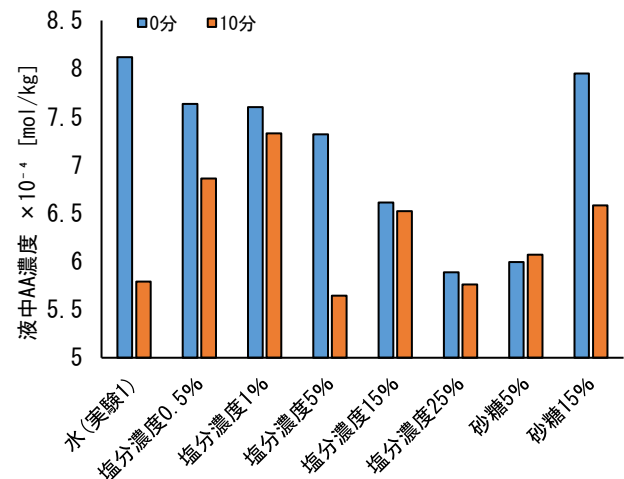


図7 リンゴ果汁を50 mL加えた時の塩分濃度と砂糖によるAA濃度変化

塩分濃度と液中AA濃度に有意な関係は見られなかったが、実験結果から塩分濃度5%、砂糖5%の結果を除いて比較すると、図8のようになった。

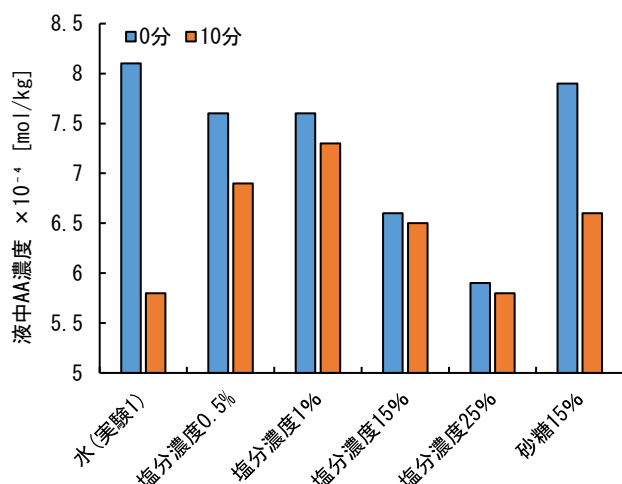


図8 リンゴ果汁を50 mL 加えた時の塩分濃度と砂糖によるAA濃度変化(5%除外)

考察:塩分濃度とAA濃度に有意な関係は見られなかった。しかし、5%食塩水、5%砂糖水を除いたすべての実験結果で、塩分濃度が高くなるほど液中AA濃度の減少量が小さくなるという傾向が見られた。このことから、塩分濃度がAA0に影響を与える可能性は大きいと考えられる。また、15%砂糖水を用いたときは、水(実験1)と同様にAA濃度が大きく減少した。このことから、AA0が砂糖水を用いたときは失活せず、食塩水を用いたときは失活したと考えられる。これは私たちが考える仮説に矛盾せず、仮説が正しいといえる。

6 結論

飲料水を用いて溶液のpHを低くしても、薬品を用いたときと同様にAA0は失活すると分かった。また、pH3.63でもAA0を失活すると分かった。塩分濃度によってAA0を失活させる可能性がある。

7 今後の展望

塩分濃度による失活条件について、5%食塩

水、砂糖水を用いて再度実験を行い、私たちが立てた仮説が正しいか検証する。また、0.5%よりも低い塩分濃度で実験を行い、塩分濃度とAA0の失活に有意な差があることを確かめる。

8 謝辞

石川県立大学の平山琢二先生には、測定器「RQフレックス」をお貸しいただき、その使用方法をご指導いただきました。ありがとうございました。

9 参考文献

- (1) 市川史弥, 金子蒼平, 大竹美保, 加藤颯 “アスコルビナーゼの活性について” 岐阜県立恵那高等学校 2013-08-22
<https://school.gifu-net.ed.jp/ena-hs/ssh/H24ssh/sc3/31218.pdf> (参照2022. 4)
- (2) タンパク質の「変性」ってどんな現象? 元に戻らない? 原理や原因・具体例を現役の研究者がわかりやすく解説 Study-Z ドラゴン桜と学ぶWebマガジン
<https://study-z.net/100186590/2> (参照2022. 10)
- (3) 吉村悦郎. リンゴの褐変を防ぐ食塩の効果とそのしくみ -ハロゲン化物イオンによるポリフェノールオキシダーゼの活性阻害- 2016-3
<https://www.saltscience.or.jp/symposium/2016-3.yoshimura.pdf> (参照2022. 12)