

野菜による γ -アミノ酪酸の蓄積(第2報) γ -アミノ酪酸生成最適条件の検討

大野一仁 松長 崇 佐野和男

Accumulation of γ -Aminobutyric Acid by Vegetables (Part 2)—Studies on an optimal condition of γ -Aminobutyric acid accumulation reaction —

OHNO Kazuhito, MATSUNAGA Takashi and SANO Kazuo

野菜自体が有する酵素を利用して高濃度の γ -アミノ酪酸(GABA)を生成する技術を開発することを目的に、GABA生成能の高いナスを対象にして反応の最適条件を検討した。その結果、磨砕したナスにグルタミン酸ナトリウムを1%添加して10℃で放置すると、GABA含量を300mg/100g以上に富化できた。GABA生成反応はpHに大きく影響を受け、反応前のpHが5.0付近で最もGABA生成量が大きく、それより低いpHでも高いpHでも反応が抑制された。

GABAを富化したナスの漬物を試作した結果、GABA含量が200mg/100g以上の即席漬及び、浅漬製品を製造できることがわかった。

キーワード:野菜、 γ -アミノ酪酸(GABA)、グルタミン酸ナトリウム(MSG)、グルタミン酸(Glu)、補酵素、ピリドキサルリン酸、リン酸二水素カリウム、リン酸二水素ナトリウム

はじめに

野菜・果実等、自然界に広く分布している γ -アミノ酪酸(GABA)には抗ストレス作用、血圧上昇抑制作用等があることから、GABAを高濃度に蓄積する技術や、GABAを高濃度に含有した素材が開発されている。これらを利用した食品(発芽玄米、調味料、茶、菓子、飲料、乳製品等)が開発され、市場に投入されている。

当所では、地域特産農産物のGABA生成能に着目し、野菜を利用してGABAを蓄積する方法について検討してきた。前報では、著者ら¹⁾²⁾が温州ミカンで用いた方法を応用して、GABA生成能の高い野菜をスクリーニングし、GABA生成酵素(グルタミン酸脱炭酸酵素)の特性について明らかにしてきた。

そこで、本報では、GABA生成能が高かったナスを原料としてGABA蓄積のための最適条件を検討し、その条件を基に高濃度にGABAを含有した漬物の試作を行ったので、結果を報告する。

実験方法

1. 供試野菜

供試野菜(ナス)は、松山市内で購入したものを用いた。

2. 試料の調製

(1)GABA生成反応条件の検討

i)前処理及びGABA富化処理方法(基本手順)

供試野菜には、前報のスクリーニングの結果GABA生成能が高かったナスを用いた。供試ナスを包丁で荒切りし、これを

ミキサー(MX-X103、松下電器産業(株)製)で30秒間ホモジナイズして均質試料を得た。この試料にGABAの基質として20%L-グルタミン酸ナトリウム(以下MSGとする)溶液を、1%(53.4mM)になるように添加してよく混合した。これを10℃の恒温機に1夜(16時間)放置してGABAを富化させた。

ii)反応温度の検討

i)でMSGを添加した試料を、5℃、10℃、35℃に24時間放置し、一定時間ごとにサンプリングしてGABA含量を測定した。

iii)食塩添加量の検討

i)でMSGを添加した試料に食塩を0~12.5%添加して、10℃で16時間放置した後サンプリングしてGABA含量を測定した。

iv)塩類添加による影響の検討

i)でMSGを添加した試料に塩類(食品添加物:塩化カルシウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、焼きミョウバン)を100mMになるよう添加して、10℃で16時間放置した後、サンプリングしてGABA含量を測定した。

v)グルタミン酸添加による影響の検討

i)の基質としてグルタミン酸を10~100%代替して加え、10℃で16時間放置した後サンプリングしてGABA含量を測定した。

vi)pHがGABA生成に及ぼす影響の検討

i)でMSGを添加した試料に1N-HClを加え、pHを4.3~5.5に調整した後、10℃で16時間放置した後サンプリングしてGABA含量を測定した。

この研究は、「野菜加工品ギャバ富化技術開発研究」の予算で実施した。

(2)ナスの漬物の試作

ナスの漬物として、即席漬と、浅漬を試作した。

即席漬は、2～3mm厚に薄く刻んだナスに、食塩を2.5%、MSGを0.4～0.8%添加・混合して漬け込み、冷蔵庫(10℃)で1晩保存してGABAの生成状況を検討した。

浅漬については次のとおり調製した。5mm厚にスライスしたナスに、食塩3%、MSG1%、焼きミョウバン0.2%、同じ濃度の食塩と焼きミョウバンを含む差し水をナス重量の20%分添加し、家庭用漬物器に漬込で10℃で1日下漬した。翌日、ナスをザルに上げ水切りをした後、本漬液(食塩3%、焼きミョウバン0.1%)をナスに対して60%重量添加して袋詰し10℃で貯蔵した。製造工程・貯蔵中のGABA含量、生菌数の変化について検討した。

3. 分析方法

(1) GABAおよびグルタミン酸

既報³⁾の方法にしたがって行った。抽出した試料の分析は、アミノ酸自動分析計(L-8500型、日立製作所製)を用い、ニンヒドリン法で行った。

(2)pH

既報³⁾の方法にしたがって行った。

結果と考察

1. ナスのGABA生成に及ぼす反応温度の影響

ナス磨砕物に、MSGを添加して反応させた際の、反応時間とGABA含量について図1,2に示す。

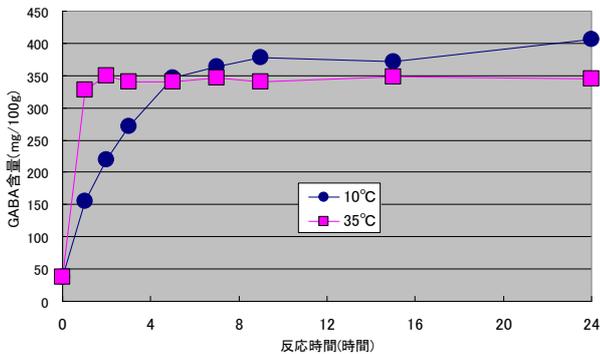


図1 ナスのGABA生成に及ぼす反応温度の影響-1

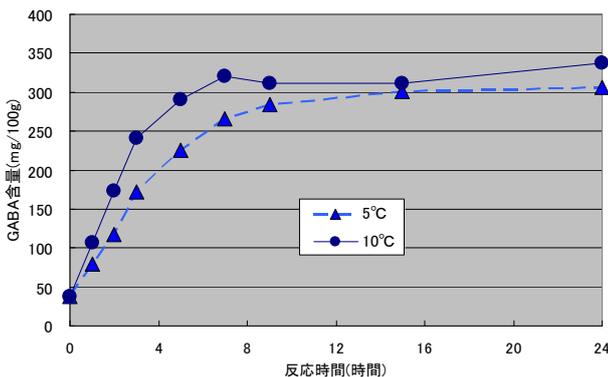


図2 ナスのGABA生成に及ぼす反応温度の影響-2

ナスを磨砕してMSGを添加することで、1日でGABA含量を300mg/100g以上に富化させることができた。

その反応は、処理温度が高い方が早く、35℃では2時間、10℃では7～9時間、5℃では15時間でGABA含量が最大となりその後、24時間までは横ばいであった。

図1、2は異なる時期の異なる品種のナスであり、同じ処理をしても、収穫時期や品種によりGABA生成能が異なることを示唆していた。

ただ、温度別では、5℃、10℃という低温領域でも1夜以内で反応が進むことから、漬物、総菜類のように低温下で加工したり貯蔵する商品への利用が可能であると思われた。

2. ナスのGABA生成に及ぼす反応温度の影響

ナス磨砕物にMSG及び、食塩を添加して反応させた際の食塩の添加量と反応後のGABA含量について、図3に示す。

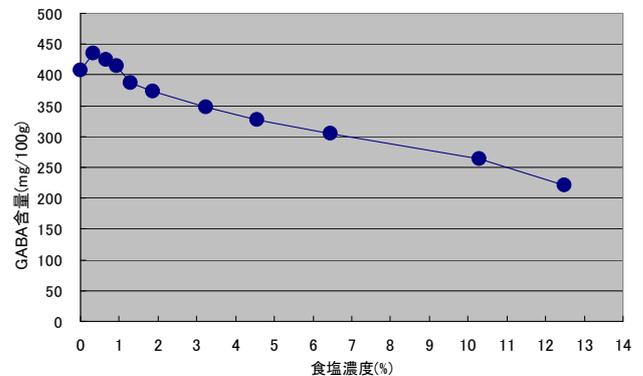


図3 ナスのGABA生成に及ぼす食塩濃度の影響

ナスに少量の食塩を添加すると反応が促進された。食塩無添加では、GABA含量が408mg/100gであるのに対して、食塩0.3%添加では、440mg/100gに増加した。食塩0.7%添加で424mg/100gと若干減少し、0.9%添加では、414mg/100gで、食塩無添加とほぼ同じであった。食塩添加量が1%以上になると、無添加に比べてGABA含量が減少し、食塩1.9%で374mg/100g、食塩3.2%で347mg/100g、食塩6.5%で304mg/100g、食塩12.5%で221mg/100gとなり、食塩の添加量が多いほど、GABAの生成を抑制する傾向にあった。

GABA生成反応は、食塩無添加、あるいは低塩下での処理が好ましいことがわかった。漬物では、家庭での即席漬や浅漬、総菜では、サラダや調理の前処理としての利用が期待できた。

3. ナスのGABA富化に及ぼす塩類添加の影響

ナス磨砕物に、MSG1%及び、100mMになるように塩類を添加して反応させた際のGABA及びグルタミン酸(Glu)含量をモル濃度で表したものを図4に示す。

反応後のGABA含量が、塩類を添加しなかった対照よりも高かったものとしては、リン酸二水素ナトリムがあった。リン酸二水素ナトリムでは、添加したMSGのほとんどがGABAに変換したものと考えられた。

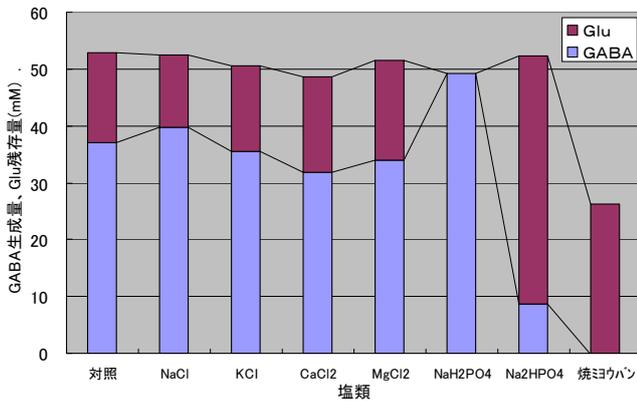


図4 GABA生成に及ぼす塩類添加の影響

同じリン酸塩でもリン酸水素二ナトリウムでは、対照よりも極端にGABA生成量が低く、反応を阻害していた。焼きミョウバンでは、ほとんどGABAが生成せず、しかも反応後のGABA+Gluのモル濃度が約 1/2 に減少し、GABA、Glu以外のものに変換されたのではないかとと思われる。1M-リン酸水素二ナトリウムのpHは9.4、0.5M-焼きミョウバンのpHは2.9であることから、これらの塩類についてはpHが反応を阻害しているものと思われる。なお、ここでは、結果を示していないが、ピロリン酸塩、糖類(単糖、二糖類)、アミノ酸類についても検討したが、反応を促進するものは見出せなかった。

前報³⁾の結果からも明らかであるが、GABAの生成反応においては、補酵素(ピリドキサルリン酸)が大きな役割をしており、補酵素の添加によりGABAの生成量が増加する。そこで、補酵素1mMの添加と、リン酸二水素ナトリウムと似たカリウム塩であるリン酸二水素カリウム100mMとの添加効果を検討した。その結果を図5に示す。

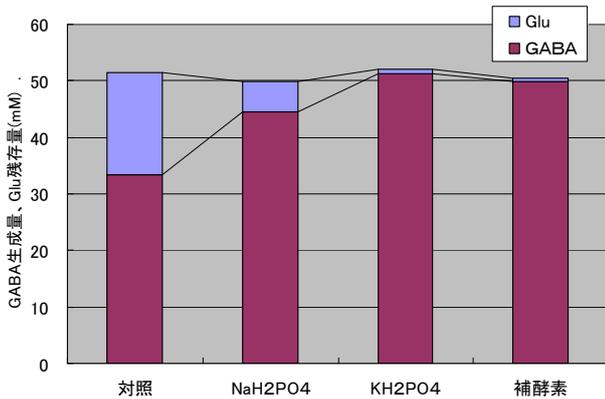


図5 ナスのGABA生成に及ぼす塩類、補酵素の添加効果

いずれの試験区も反応後のGABAとGluのモル数の合計が、添加したMSGのモル数とほぼ同じであり、反応はGABA生成までで止まっていた。リン酸二水素ナトリウムについて、図4の結果と多少異なるが、リン酸塩の添加により補酵素に近い、あるいは同等の効果が得られることがわかった。

GABA生成反応において、補酵素を添加して反応を促進させようとする研究は報告^{4)~6)}されているが、補酵素であるピリドキサルリン酸はビタミンB₆の誘導体であるものの食品添加物として認められていないため、実際に利用されていない。

著者らは、これに代わる食品成分または、食品添加物を捜

していたが、今回の検討である種のリン酸塩化合物が、補酵素に匹敵する作用を有することがわかった。

ただし、100mMは比較的高濃度であることから、今後はより低濃度での効果について検討する必要がある。

4. ナスのGABA生成に及ぼすグルタミン酸添加の影響

GABAを富化するために添加するMSGには、約12%のナトリウムが含まれている。健康面からも、食品中のナトリウム含量を高くしないようにする必要がある。

そこで、GABAを生成させる基質として、Gluの利用について検討した。通常添加するMSGのモル濃度に対して10~100%Gluで代替して反応させ、反応後のGABA、Glu濃度を見た。その結果を図6に示す。

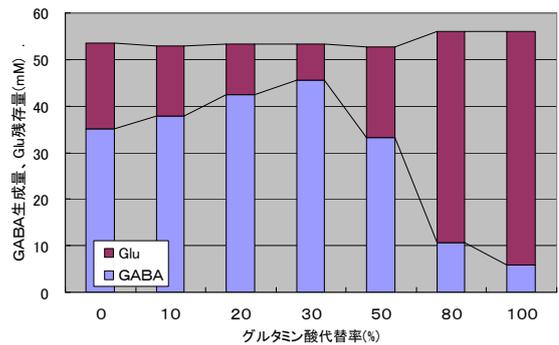


図6 ナスのGABA生成におけるグルタミン酸の併用効果

MSG100%よりも、Gluを少量加えた方がGABAの生成量が高くなった。代替率10~30%代替まではGABAの生成量が増加していき、代替率50%以上でGABA生成が大きく減少していった。

この時の反応前(MSG、Glu添加後)のpHとGABA生成量との関係を図7に示す。

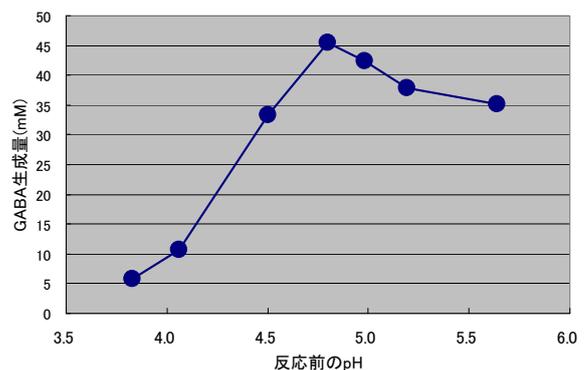


図7 ナスのGABA生成に及ぼす反応前pHの影響(Glu併用)

Glu代替率が高いほど、反応前のpHは低くなる。結果は、図6とは対照的なグラフになったが、反応前のpHが4.8付近で最もGABA生成量が高くなった。Gluの代替率によるGABA生成量の違いは、反応初発pHによるということと説明できると推定した。

5. ナスのGABA生成に及ぼすpHの影響

GABA生成反応のpHによる影響を見るため、基質としてはMSGだけを用い、1N-塩酸でpHを約4.2~5.2に調整して反応させGABA生成量を検討した。その結果を図8に示す。

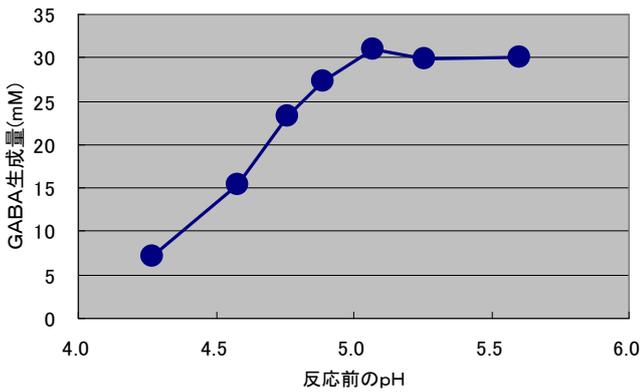


図8 ナスのGABA生成における反応前pHの影響

塩酸による pH 調整では、pH5.0 付近で最もGABA生成量が高かった。pH5.0～5.6(pH未調整)では緩やかに生成量が減少していくのに対して、pH5.0～4.2 とpHが下がるとGABA生成量も大きく減少した。この結果は図7と同様であり、pHがこの反応に大きく関わっていることを示していた。

ただ、最適pHが、塩酸による調整では 5.0 付近であるのに対して、Gluの代替ではpH4.8 とややずれており、これが原料ナスによるばらつきなのか、塩酸とGluの違いなのかは今後改めて検討する必要がある。

6. ナス漬物の試作

(1)即席漬

家庭での漬物調理を想定して、即席漬を試作した。夕方に漬け込み、冷蔵庫で一晩置き、翌日中に食べるというモデルケースで試験した。その結果を図9に示す。

MSGの添加量と一晩漬け込んだ後のナス中のGABA、Glu含量について示しているが、MSGの添加量を多くすると、

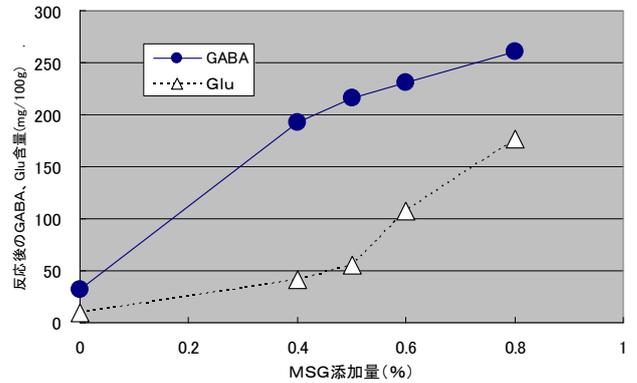


図9 ナス刻み即席漬(10℃-16時間)のMSG添加量と反応後のGABA、Glu含量

反応後のGABAの含量も高くなり、また、残存するGlu含量も高くなる傾向にあった。MSGを0.5%以上添加することで、翌日にはGABA含量200mg/100g以上に富化できることがわかった。MSG添加量が0.5%であれば残存するGlu量も少なく、この配合での調理が好ましいと思われた。

(2)浅漬

漬物製造工場での、浅漬製造を想定して、ナス浅漬を試作した。製造工程中のGABA及びGlu含量の変化を図10に示す。

スライスしたナスを下漬すると、翌日にはGABA含量が200mg/100g近くに増加した。新しい漬液を加えて袋詰して貯蔵すると、さらに1日後には約250 mg/100gになり、その後はほぼ横ばいであった。今回は、Gluを下漬に使用したのみでその後の行程では用いていない。下漬でGABAに変換せずに残存したGluは、本漬(10℃)中にも反応が進行し本漬の1日でほぼ全量がGABAに変換していた。

その後、貯蔵中にはGABA及びGluの含量に大きな変化は認められなかった。

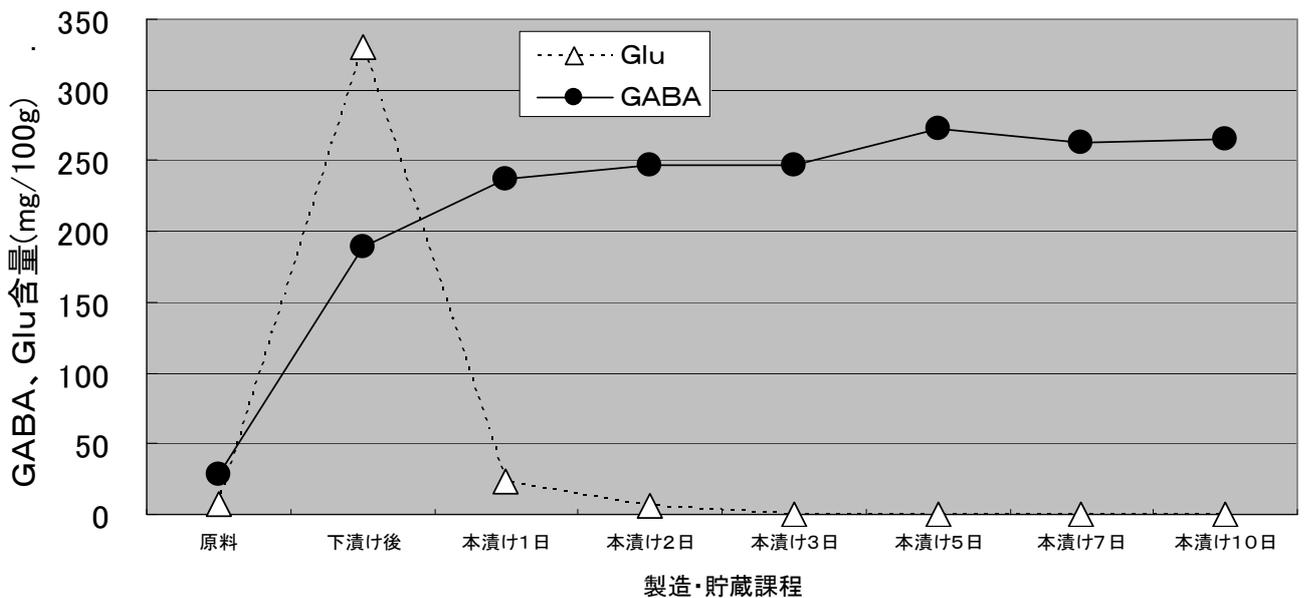


図10 ナス浅漬け製造・貯蔵中のギャバ、グルタミン酸含量の推移

漬物、特に浅漬けの保存性に大きく関与する一般生菌数については、袋詰後貯蔵5日目までは 10^3 /mlオーダーで、7日目でも 1.6×10^4 /mlであり商品性を有していた。製造後約1週間は保存性を有していることがわかった。さらに賞味期限を延ばすためには、原材料の洗浄、本漬液へ有機酸の添加等が必要になると考えられる。

漬物のGABA富化については、これまでに当所でも検討してきた⁷⁾⁸⁾。いずれの方法も漬け込み時にMSGを添加し、漬け込み中に徐々にGABAを富化していくというものである。しかし、現在の市販漬物の主体は浅漬けで、低塩で下漬けた野菜に調味液を加えて包装して、冷蔵条件(10℃以下)で流通販売されている。そこで、本研究では、下漬け～包装・出荷までにGABAを富化させ、その後賞味期限内は、あまり含量に変化がないことが望まれる。

ナスをある程度小さく調理して、低塩下で下漬し、その際GABAの基質であるMSGを加えることで、下漬時あるいは、包装1日後には、GABA生成反応を完了させることができた。

これらの結果から、GABAを高濃度(200mg/100g以上)に含有したナスの浅漬製品を製造できることがわかった。

ま と め

機能性成分γ-アミノ酪酸(GABA)を富化した、野菜の食品素材及び加工品を開発することを目的に、GABA生成能が高いナスを原料として、GABA生成の最適条件を検討し、さらに高濃度にGABAを含有した漬物の試作を行った。

1. ナスをミンチ状に磨砕して、L-グルタミン酸ナトリウム(MSG)を1%添加して放置すると、GABA含量を300mg/100g以上に富化できた。その反応は処理温度が高い方が早く、35℃では2時間、10℃では9時間、5℃では15時間でGABA含量が最大となり、その後24時間までは横ばいであった。
2. ナスに食塩を1%以上添加すると、無添加に比べてGABA生成量が低くなり、食塩の添加量が多いほどその傾向にあった。
3. 塩類の添加がGABA生成に及ぼす影響を検討した結果、リン酸二水素ナトリウム、リン酸二水素カリウムに反応を促進する効果があることがわかった。その添加効果は補酵素(ピリドキサルリン酸)とほぼ同等であった。
4. GABA生成反応はpHに大きく影響を受け、反応前のpHが4.8～5.0付近で最もGABA生成量が大きく、低いpHでも高いpHでも反応が抑制された。
5. 刻みナスの即席漬(10℃-1晩)を試作した結果、MSGを0.5%以上添加することで、翌日にはGABA含量を200mg/100g以上に富化できることがわかった。
6. スライスしたナスに対して、食塩 3%・MSG1%・焼きシヨウパン0.2%を加えて10℃で1日下漬すると、GABA含量が約200mg/100gになった。新しい漬液を加えて袋詰し貯蔵すると、その1日後には約250mg/100gになり、その後10日ま

で横ばいであった。このことから、高濃度(200mg/100g以上)に含有したナスの浅漬製品を製造できることがわかった。

文 献

- 1)大野一仁, 首藤喬一, 串井光雄, 門家重治, 松本恭郎: 温州ミカンによるγ-アミノ酪酸の蓄積, 平成13年度愛媛県工業系研究報告, **40**, 12-19(2002).
- 2)大野一仁, 首藤喬一, 串井光雄, 門家重治, 松本恭郎: 温州ミカンによるγ-アミノ酪酸の蓄積(第2報), 平成14年度愛媛県工業系研究報告, **41**, 14-20(2003).
- 3)大野一仁, 松長崇, 佐野和男, : 野菜によるγ-アミノ酪酸の蓄積, 平成19年度愛媛県工業系研究報告, **45**, 29-34(2007).
- 4)Sadami Ohtsubo, Satoshi Asana, Kazuhito Sato, and Isao Matsumoto, Enzymatic Production of γ-Aminobutyric Acid Using Rice (*Oryzasativa*) Germ, *Food Sci. Technol. Res.*, **6**(3), 208-211(2000).
- 5)末松孝章, 中村雅彦, 佐藤眞治: 米胚芽を用いたγ-アミノ酪酸(GABA)の生産とその摂取効果, 食品工業, **48-24**, 48-59(2005).
- 6)大久長範, 菅原真理, 阿部雪子, 熊谷昌則, 高橋砂織, 胚芽米と鶏スープによるγ-アミノ酪酸の生成, 食科工, **47**, 452-454(2000).
- 7)児玉雅信: 野菜漬物への乳酸菌の利用, 平成2年度愛媛県工技研究報告, **29**, 35-42(1991).
- 8)松本恭郎, 大野一仁, 松田宏, 平岡芳信: 機能性を付与した減塩漬物の開発, 平成5年度愛媛県農林水産加工利用開発会議技術開発研究成果報告書, 1-11(1994).