

アスコルビン酸酸化酵素の活性は 植物体部位によって異なる？

中山 伸・藤井 修平
上田 純一*・山本 良一

はじめに

アスコルビン酸は植物界に広く分布しているビタミンの一種であるが、かつて長旅の航海をする船乗りが罹りやすかった壊血病を治す物質として発見された。壊血病は、アスコルビン酸の不足によりコラーゲン生合成が妨げられるために生じるということが明らかにされている。ほとんどの動植物がブドウ糖あるいはガラクトースから数段階の反応を経てアスコルビン酸を合成する能力を持っている。植物では果実（ミカン、レモンなど）や野菜などに多く含まれている¹⁾。植物体内では、特に葉緑体には細胞中アスコルビン酸の約40%が含まれると報告されている²⁾。動物体内では、副腎や肝臓、胸腺などに多く含まれる。ヒトを含む霊長類やモルモットなどはアスコルビン酸合成に必要なグロノラクトンを2-ケトグロノラクトンに酸化する酵素を遺伝的に欠く。このことから、アスコルビン酸は、ヒトでは生命を維持するために摂取することが必須であり、ビタミンに位置づけられている。ヒト成人の場合には、アスコルビン酸はビタミンの中もっとも大量に必要とされる、一日の必要量は約50 mgと言われている。

アスコルビン酸は六単糖リン酸代謝の産物で、他の糖や酒石酸³⁾などへ容易に代謝利用される。いろいろな酸化剤やポリフェノール酸化酵素、または特異的にはアスコルビン酸オキシダーゼなどにより可逆的に酸化され、容易にデヒドロアスコルビン酸となる。アスコルビン酸の特異的生理活性については不明な点が多くあるが、アスコルビン酸やデヒドロアスコルビン酸がそれぞれ電子供与体・電子受容体としてはたらくことから、生体内において水素運搬体として酸化還元役割を担っていると考えられている。

アスコルビン酸オキシダーゼ（EC 1. 10. 3. 3）は空気中の分子状酸素を用いてアスコルビン酸をデヒドロアスコルビン酸に酸化する好氣的酸化酵素で、キュウリ・カボチャ・ニンジンなどの高等植物にその活性が高いことが知られている。

本学食品科学コースでは、開講科目の食品基礎実験の中でビタミン関連実験としてニンジン中アスコルビン酸酸化酵素活性の測定を行ってきた。”紅葉おろし”とは大根おろしに赤とうがらしを混ぜ合わせた物をさすが、俗にはニンジンをおろすことで得られたニンジンおろしと

* 本学非常勤講師，大阪府立大学総合科学部

ダイコンおろしと混ぜた物も”紅葉おろし”としてよく使われる。食品基礎実験では、ニンジンおろしと大根おろしを混ぜて紅葉おろしを作らせ、ニンジンの処理の相違によりダイコン中のアスコルビン酸の酸化の程度が異なることをインドフェノール法を利用して理解させようとした。このとき、使用するニンジンの部位によりアスコルビン酸酸化に大きなばらつきが見られた。アスコルビン酸オキシダーゼ活性が植物体の部位により異なっていることの反映ではないかと予想し、本研究を行った。

本研究の目的は、植物体としてニンジンとキュウリを使用し、植物体の部位によってそのアスコルビン酸オキシダーゼ活性に違いが見られるかどうか検討し、ビタミン C 摂取を効率よく行うための食材の取り扱いについて知見をえることにある。

実験材料と実験方法

1) 実験材料

ニンジン (*Daucus Carota* L.) とキュウリ (*Cucumis sativus* L.) は、最寄りの野菜販売店で購入し、実験材料として使用した。

2) アスコルビン酸オキシダーゼ活性の測定

ニンジンとキュウリは長軸に対して大きく 3 つに横断した。部位別にそれぞれおろし金でおろし、ホモジネイトとした。各ホモジネイトの 2 g を遠沈管に秤量した。同様に遠沈管に秤量したホモジネイトを沸騰水中で 5 分間加熱処理し酵素活性を失活させた。各遠沈管にアスコルビン酸溶液 (濃度 0.2 mg/ml) 10 ml を加え 30°C で 30 分インキュベートした。3000 回転で 10 分間、遠心分離し上澄みを得た。5 ml の 0.002% 2,6-ジクロロフェノールインドフェノールを加え、遠心分離により得られた上澄みをパストゥールピペットによって一滴ずつ滴下し、インドフェノールの青色が消えるまでの滴数を数えた。滴数は残存しているアスコルビン酸量に逆比例していると考え、アスコルビン酸オキシダーゼの相対活性の強さとして評価した。

3) アスコルビン酸の定量

ニンジンおよびキュウリを各 25 g ずつビーカーに秤量した。それらのビーカーに 5% メタリン酸を 30 ml 加えホモジナイザー (ポリトロン PT 10-35, Kinematic GmbH Littau 製, スイス) で磨砕処理した。得られたホモゲナイズを遠心分離 (3000 rpm, 10 分) し、上澄み液を試料溶液とした。試料溶液を 10 倍に希釈した後、その各 1 ml をそれぞれ測定用および空試験用の試験管にとった。また、50 µg/ml 濃度の測定用アスコルビン酸標準溶液を別の試験管に 1 ml とり標準試料とした。これらに 0.02% 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCP) 溶液 0.1 ml 加えよく混合した。これらに 3% チオ尿素溶液を 0.1 ml を加えてよく混合し過剰の DCP を還元した。次に、酢酸ナトリウム溶液 1 ml を加え測定用試料溶

液とした。空試験用にはほう酸—酢酸ナトリウム溶液 1 ml を加えよく混合した。それを 15 分以上室温に放置し生成した蛍光の強さを蛍光分光光度計 (RF-1500, 島津製作所, 京都) 励起波長 350 nm, 蛍光波長 430 nm で測定した。

結果と考察

1. ニンジンの異なる部位のアスコルビン酸酸化酵素の活性測定

アスコルビン酸オキシダーゼはアスコルビン酸を空気中の酸素によってデヒドロアスコルビン酸に酸化する酵素である。この酵素は銅を含み活性中心をなすと考えられ、青色を呈する。ニンジンには比較的強いアスコルビン酸酸化酵素活性があり、なまで調理する際にはビタミン C の酸化に注意を払うことが必要であると指摘されている。ところが、ニンジンは生で大根おろしと混ぜ「もみじおろし」としてよく使われる。そこで本学の食品科学コースの食品基礎実験においてダイコン中のアスコルビン酸が酸化されてしまうことを理解させる実験をおこなった。その実験でニンジンのアスコルビン酸酸化酵素活性の測定を行なったが、その測定結果が各実験班ごとに大きくばらついた。結果がばらつく理由を検討した結果、ニンジンを輪切りにして各班に渡していることによって班によってニンジンの部位が異なることが原因ではないかと考えられた。このことからニンジンのアスコルビン酸酸化酵素がニンジンの部位により偏って存在する可能性がある。表 1 にニンジンの異なる部位でのアスコルビン酸酸化酵素活性を示す。ニンジンを 3 つの部分に分けすりつぶし一定量 50 ml の遠沈管にいれ一定量のアスコルビン酸溶液を加えて 30℃30 分反応させた。その結果、茎に近い部分が根の先端部よりもアスコルビン酸酸化酵素活性が高かった。次に一番活性の高い根の先端部の髄と周囲の部分の活性の違いを検討した。髄が周辺部より活性が高く、ニンジンの部位によってこの酵素の活性が異なるという結果が得られた (表 2)。インキュベートしている間に非酵素的にアスコルビン酸が酸化される可能性がある。この可能性を消去するために、すりつぶしたニンジンをインキュベートする前に沸騰水中で 5 分間加熱処理し、アスコルビン酸酸化酵素を失活させたものを 30℃30 分間反応させた。結果は表 1 に示すようにニンジンの部位によるインドフェノー

表 1 ニンジン中のアスコルビン酸酸化酵素活性

	Top	Middle	Bottom
無 処 理	34.3±9.2 (6)	27.0±8.8 (6)	24.3±7.4 (6)
熱 処 理	11.3±0.6 (3)	12.0± 0 (3)	12.0± 0 (3)

() 内の数は測定個数を表わす

表 2 ニンジン中のアスコルビン酸酸化酵素活性 (2)

	Medulla	Outer	numbers
活 性	36.0±7.5	28.3±7.4	3

ルの滴定数には差が認められず、アスコルビン酸酸化活性は低く部位による差は認められなかった。非酵素的な酸化はほとんど寄与していないことが分かった。

次に、アスコルビン酸含量の部位による差異を検討した。アスコルビン酸酸化酵素活性と同じように茎に近い部分が根の先端部に比べてアスコルビン酸の含量が高いという結果が得られた (表 3)。

2. キュウリのアスコルビン酸酸化酵素活性の部位による差異

次にニンジンで観察されたことが同じようにキュウリでも観察されるかを検討した。キュウリを 3 つの部分に分けすりつぶし 50 ml の遠沈管にいれ一定量のアスコルビン酸溶液を加えて 30℃30 分反応させた。結果は表 4 に示す。茎に近い部分が先端部よりもアスコルビン酸酸化酵素活性が高い結果が得られた。非酵素的な酸化を調べるためにインキュベートする前に沸騰水中で 5 分間キュウリを加熱処理した。アスコルビン酸酸化酵素を失活させてたものを 30℃30 分間反応させたものの結果を表 1 に示す。キュウリの部位によるインドフェノールの滴定数には差が認められなかった。

次に、アスコルビン酸含量の部位による差異について検討した。結果を表 5 に示す。アスコルビン酸酸化酵素活性と同じように茎に近い部分が先端部に比べて含量が高いという結果が得られた。

以上の結果より、キュウリ、ニンジンともアスコルビン酸含量の高いところにはアスコルビン酸酸化酵素活性も高いという相関が観察された。効果的にアスコルビン酸を摂取するにはこのことに注意をはらう必要がある。紅葉おろしとしてアスコルビン酸含量の高いダイコンとニンジンを混ぜると、ニンジン中のアスコルビン酸酸化酵素がダイコンのアスコルビン酸を酸化させるので注意が必要である。アスコルビン酸は酸性では比較的安定であるので酢を加えるな

表 3 ニンジンのアスコルビン酸含量

	Top	Middle	Bottom	Numbers
アスコルビン酸含量 (mg/100 g)	3.27±0.77	—	3.07±0.60	3

表 4 キュウリ中のアスコルビン酸酸化酵素活性

	Top	Middle	Bottom
無 処 理	56.3±24.6 (6)	39.7±5.5 (6)	35.3±6.2 (6)
熱 処 理	15	17	17

() 内の数は測定個数を表わす

表 5 キュウリのアスコルビン酸含量

	Top	Bottom	Numbers
アスコルビン酸含量 (mg/100 g)	6.61±1.31	8.26±0.05	3

どしてアスコルビン酸酸化酵素活性をおさえれば，効果的にビタミン C を摂取できる。新鮮な野菜などを特にすりつぶして利用する場合にはビタミン C の摂取の観点からいえば酢などの添加が推奨される。

謝辞

本研究は，一部，平成 10 年度帝塚山学園特別研究費で行われた。

文 献

- 1) 庄古光治，日常食品食品成分早見表（4 訂版），医歯薬出版（1983）
- 2) Gerhardt, B. *Planta* **61** : 101-129 (1964)
- 3) Saito, K. and Kasai, Z. *Phytochemistry* **8** : 2177-2182 (1969)
- 4) 山脇和樹・森田典子・村上公一・研田卓夫，日食工誌：**40**, 636-640 (1993)
- 5) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編，食品分析法，光琳，(1982)