

(技術名) ヘチマのGABAの定量に適用可能な酵素比色法							
(要約) 酵素比色法は、 <u>ヘチマ</u> に含まれる <u>GABA</u> を定量可能であり、HPLC法と相関が高く、高額な機器が不要で簡易かつ低価格な測定方法である。							
農業研究センター・農業システム開発班				連絡先	098-840-8512		
部会名	野菜・花き	専門	食品品質	対象	ヘチマ	分類	普及
普及対象地域	沖縄県全域						

[背景・ねらい]

野菜等の生鮮食品に含まれる γ -アミノ酪酸 (GABA) は、血圧降下等の機能性関与成分であり、製品の高付加価値化に利用されている。機能性表示食品の開発および品質保証等においては、安価で簡易な GABA の定量に要望がある。GABA の定量方法としては、蛍光試薬である *O*-フタルアルデヒドで GABA を標識し、高速液体クロマトグラフィーを用いる方法 (以下、HPLC 法という。) 等が利用されているが、2020 年に GABA トランスアミナーゼ等の酵素反応を用いた酵素比色法が実用化され、既にトマト果汁等の分析に利用されている。酵素比色法をヘチマに適用する場合、繊維質等の夾雑成分の影響が懸念されるため、実用にあたっては既存分析法との比較が必須である。そこで、ヘチマの GABA の簡易な測定を目的として、酵素比色法と HPLC 法との相関を調べ、実用性を確認する。

[成果の内容・特徴]

1. 酵素比色法は、HPLC 法に比較して測定までの操作が簡易で所要時間が短く、また高額な機器が不要であり非常に低価格である (表)。
2. 酵素比色法は、HPLC 法と有意な正の相関 ($r=0.9902$, $p<0.001$) と高い直線性 ($R^2=0.9971$) を示し、ヘチマ生鮮重 100 g あたり約 5 ~ 30 mg の範囲で定量が可能である (図)。
3. 酵素比色法は、一般的なヘチマの GABA 含量 (生鮮重 100 g あたり約 5 ~ 15 mg) の範囲において、特に正確かつ精度が高い (図)。

[成果の活用面・留意点]

1. 生産法人および出荷団体等の生産現場、ヘチマを原料とする機能性表示食品等の研究開発者において、少量の検体からヘチマの GABA の定量分析に利用できる。
2. 酵素比色法は、株式会社エンザイム・センサのキット「GABA ミエール®」を使用し、規定の手順に準じ、GABA 含量を測定する。
3. 酵素比色法は、生鮮重 100 g あたり 20 mg 以上では HPLC 法と比較して約 2 mg 程度の過小値を示す傾向があるが、ヘチマの GABA の定量に実用可能である。
4. GABA 添加試験には「サザンヘチマ」(2019 年 6 月収穫) の乾燥粉末を用いている。酵素比色法の測定には、生鮮および乾燥粉末から 75%エタノール抽出した試料が利用できる。

[具体的データ]

表 30検体測定時の酵素比色法とHPLC法の比較

分析手法	酵素比色法		HPLC法	
抽出	2時間30分	ヘチマ乾燥粉末 ↓ 75%エタノールでGABA抽出	2時間30分	ヘチマ乾燥粉末 ↓ 75%エタノールでGABA抽出
測定に必要な工程と所要時間	前処理 0分	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	9時間	↓ 検量線用標準物質の調製 ↓ 送液用溶媒、蛍光試薬の調製 ↓ HPLC機器起動、分析条件設定 ↓ 分離用カラムの取り付け、カラム洗浄 ↓ 抽出液の希釈、フィルターろ過 ↓ 溶媒組成の平衡化(6分)
		測定 50分 ^z 20分/検体		↓ 酵素試薬と反応(20分) ↓ 測定(約1秒)
全工程合計	3時間20分		27時間42分	
機器金額 ^x		20,000円(比色計、分注器具類)		約850万円
付属品価格 ^x		— (機器金額にあわせて記載)		30,690円(分注器具類)
1検体 所要量		50 μL		50 μL
あたりの 所要額 ^x		917円(試薬類)		951円(試薬類、溶媒類、カラム)
メリット		操作が簡易・所要時間短い キットが低価格		測定が自動化
デメリット		測定が手作業		操作が煩雑・所要時間長い 機器が高額

^z酵素比色法は、標準物質1点、ヘチマ試料30点の計31点を1分間刻みで反応させて所要時間を圧縮して測定した。

^yHPLC法は、ブランク1点、標準物質5点、ヘチマ試料30点の計36点測定した。

^x金額は税別で示した。

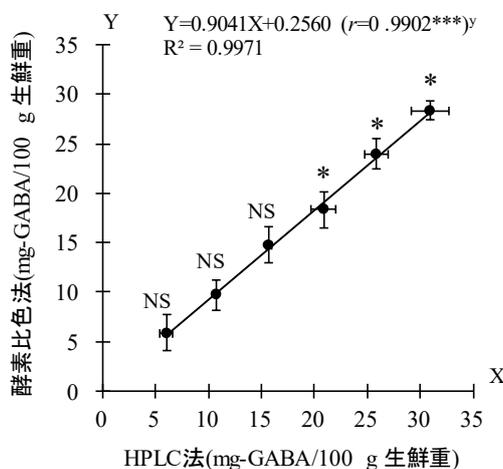


図 ヘチマ試料へのGABA添加試験による酵素比色法とHPLC法の相関^z

^z添加試験は、乾燥粉末0.2 gにGABA非添加1点および生鮮重100 gあたり約5 mg刻みで5~24 mg換算量のGABAを添加した5点の計6点濃度とし、75%エタノール抽出液を各濃度4反復測定した。データは平均値±95%信頼区間を示し、対応のあるt検定により有意差を示す。*: $p < 0.05$, NS:有意差なし

^yピアソンの積率相関係数 r と相関の検定の結果を示す。***: $p < 0.001$

[その他]

課題 ID : 2016 農 007

研究課題名 : 地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発

予算区分 : 受託 (農林水産省・戦略的プロジェクト研究推進事業)

研究期間 (事業全体の期間) : 2020 年度 (2016-2020 年度)

研究担当者 : 土田永渡、前田剛希、棚原尚哉

発表論文等 : 土田永渡ら (2021) 地域農林水産物・食品の機能性発掘シンポジウム発表