ソラマメサヤの酵素的褐変と一酸化炭素処理 による褐変の防止

藤本 健四郎, 進 藤 成 範, 金 田 尚 志

東北大学農学部食糧化学科

The Enzymatic Browning of the Pods of Broad Beans and Prevention of the Browning by CO Treatment

Kenshiro Fujimoto, Shigenori Shindo, Takashi Kaneda

Department of Food Chemistry, Tohoku University, Sendai, Miyagi

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 25 (4), 349~352 (1972)

The pods of the broad beans (*Vicia fava*) darken remarkably at room temperature and this browning is considered to be derived from phenolase action, but nothing is known on the properties of phenolase in pod of this bean. The properties of the phenolase was, therefore studied, and the treatment with CO gas which had been found to be effective for the prevention of discoloration of Shiitake mushroom, was carried out. Phenolase was prepared according to the method described and the enzyme activity was measured colorimetrically. The optimal pH of phenolase was 4.0 and optimal temperature was 12°C. As to the substrate specificity, all *o*-diphenols tested were oxidized and of all, the highest activity was noticed with L-dopa. The enzyme was inactive with *p*-cresol. The phenolase lost the activity by CO treatment and the browning of the pods of the beans was efficiently prevented by this method, and the most effective period of which was 4 hrs.

(Received February 12, 1972)

筆者らは野菜、果実などの酵素的褐変につき検討を行っているが、生シイタケの場合、一酸化炭素(CO)で処理するのがもっとも効果的なことを報告した¹⁾。この方法は密封容器中にシイタケを入れ、COガスまたはCOを含む都市ガスを通すもので加熱をしないため風味保持の点で非常にすぐれている。

本法が他の酵素的褐変を起こしやすい生鮮野菜類に対しても応用できないかと考え、その有効性を検討した。春から夏にかけて出まわるソラマメ(*Vicia fava*)はサヤつきのまま店頭で売られているが、このソラマメのサヤは室温ですみやかに褐変するため品質保持がきわめて困難である。またソラマメサヤ褐変のための基質となるポリフェノール化合物についての研究²⁾はあるが、褐変酵素であるフェノラーゼについて詳しいことは全く不明である。そこでソラマメサヤのフェノラーゼの性状を調べ、あわせてCO処理の効果を検討した。

実 験 方 法

1. 供試品

はじめの品質による影響が大きいのでソラマメは入手可能な限り新鮮な褐変していない市販品を使用した。

2. フェノラーゼの抽出法

Fig. 1 に示すごとく Nakamura らの方法³⁾により、フェノラーゼを抽出した。酵素標品の収率はソラマメサヤ500 g から35~45 mg であった。

3. 酵素活性の測定法

Ponting⁴⁾ らによる Peacock の変法⁵⁾ を用いた。すなわち、共栓付試験管に pH 4.0, 1/10M クエン酸 1/5M, リン酸ナトリウム緩衝液 10ml を入れ基質として 0.5M カテコール 1 ml と酵素溶液 1 ml を加え試験管を振り混ぜた後、25°C における 420m μ での吸光度を測定した。

Fig. 1. Diagrammatic representation of the extraction of the phenolase from the pods of broad beans.

4. 酵素溶液におよぼす種々の要因の影響

1) 至適 pH: 1/10M クエン酸, 1/5M リン酸ナトリウム緩衝液を用いてフェノラーゼの至適 pH を求めた。

2) 基質特異性: カテコール, L-dopa, クロロゲン酸, D-カテキン, ピロガロール, *p*-クレゾールについてそれぞれのモル濃度を 0.008 M とし比色法とワールブルグ法⁶⁾とで活性を測定した。

3) 至適温度 反応温度を 7°C から 60°C まで変えてそれぞれの活性を比色法で測定した。

4) CO 処理 緩衝溶液に酵素溶液を溶かして試験管に入れ, 氷で冷却しつつ都市ガスを 1 分間 2,400 ml の速度で吹き込み 30 および 60 分後の活性を測定した。

5. ソラマメサヤに対する CO 処理による影響

デシケーター中に褐変していない新鮮なサヤつきのソラマメを 1 群に 28 個ずつ入れ都市ガス (CO 含量 16%) を 1 分間 2,400 ml の速度で通して CO 処理した。CO 処理時間は 1, 2, 4, 6, 9 hrs. の 5 とお行ない CO 処理後は室温に放置しコントロールと比較した。(抽出した酵素は 60 分の CO 処理でほとんど失活したが, シイタケ

の試験において⁷⁾ シイタケにふくまれるフェノラーゼを失活させるにはより時間を要することを認めていたのでこのように長時間処理を行なった。

結果と考察

1. フェノラーゼにおよぼす pH の影響

Fig. 2 に示すごとくソラマメサヤのフェノラーゼの至適 pH は 4.0 付近にあるように思われる。これは至適 pH 4.8 のシイタケフェノラーゼをはじめ他の野菜類のフェノラーゼの至適 pH に比べ低いことが特徴的である。

2. 基質特異性

Fig. 3 に示すごとくカテコールに対してもっとも高い

Fig. 2. Effect of pH on the phenolase activity.

Fig. 3. Substrate specificity of the phenolase.

Fig. 4. Absorption spectra of browning substances.

Fig. 5. Substrate specificity of the phenolase.

活性が認められた。しかしFig. 4 に示すごとく褐変物質の可視部吸収極大の波長がそれぞれ異なるため、420m μ の吸光度から酵素活性を求める比色法には問題があると考えられたので、ワールブルグ検圧計で酸素吸収量を測りそれぞれの活性を測定した。

酸素吸収量から得られた結果は Fig. 5 に示すように比色法と同様に p -クレゾール以外は全部活性が認められたが活性の強さは比色法とは異なり、なかでも L -dopaに対しては最も高い活性が認められ、またクロゲン酸に対してもかなり高い活性が認められた。これはソラマメサヤ中の基質としての主成分が L -dopaとクロゲン酸であることを考えると納得のいく結果である。しかし反応時間を10分までとるとカテコールがもっとも高い活性を

Fig. 6. Effect of the temperature on the phenolase activity.

示している。

3. 至適温度

Fig. 6 に示すごとく 50°C 以上は活性が急速に弱まり 40°C 以下は温度が低くなるにつれて少しずつ活性を増すが 7°C では 12°C に比べいく分活性の弱まることが認められ至適温度はほぼ 12°C 付近であると思われる。これをシイタケフェノラーゼと比較すると 40°C 以下の温度による活性の変動は小さく、またシイタケフェノラーゼの至適温度 48°C に比べてかなり低いことが特徴的である。

4. フェノラーゼに対する CO 処理の影響

Fig. 7. Effect of carbon monoxide on the phenolase activity.

Table 1. Appearance of pods after 4 days storage at room temperature (Each group contains 28 pods)

CO	Browning			
	None	Slightly	Considerably	Completely
Control	6	11	4	5
Treatment for 1 hr.	10	14	2	2
2 hrs.	6	16	6	0
4 hrs.	17	7	3	1
6 hrs.	7	11	5	5
9 hrs.	0	2	16	10

The figures indicate the number of pods.

Fig. 7 に示すごとく 30 min. の CO 処理によりフェノラーゼの活性は著しく阻害され、60min. 処理により活性はほとんど消失した。このことからソラメサヤ中のラッカーゼは存在しても活性は小さいものと考えられる。

5. ソラメサヤに対する CO 処理の褐変防止効果

Table 1 は肉眼的にみた CO 処理 4 日目のソラメサ

ヤの褐変状態である。この結果 CO 処理 4 hrs. のものはコントロールと比較して効果がみられた。しかし CO 処理 9 hrs. のものは逆にコントロールに比べ褐変度が著しくなった。これはバナナの低温障害果の黒褐色化現象⁹⁾にみられるのと同様に 9 hrs. という長時間の CO 処理によりある種の呼吸酵素系の活性が低下しその結果正常な呼吸系路が阻害され酸化基質をほかに求める結果、フェノラーゼが活性化し褐変が起こるものと推定される。また CO 処理を 4 hrs. 行なった後 5°C の低温室に 10 日間放置しその後室温に 4 日間放置した結果、コントロールのソラメサヤがすべて褐変したのに対して、CO 処理のソラメサヤは全く褐変せず新鮮な緑色を保ち CO 処理によりかなりの効果がみられた。

要 約

ソラメサヤのフェノラーゼの性質および CO 処理によるソラメサヤの酵素的褐変の防止について検討し、つぎの結果を得た。

- (1) 至適 pH は 4.0 付近にある。
- (2) 数種のポリフェノールを基質として活性を比較するとすべての *o*-ジフェニールは酸化され L-dopa を基質とする場合、もっとも活性が高い。
- (3) 至適温度は 12°C 付近である。
- (4) フェノラーゼは一酸化炭素処理によって完全に不活性化される。ソラメサヤの褐変は一酸化炭素の処理時間を選べばかなり防止できる。

文 献

- 1) 藤本健四郎, 宮代正子, 金田尚志: 栄養と食糧, **23**, 341 (1970)
- 2) 長沢俊三: 農化, **34**, 233 (1960)
- 3) Nakamura, T., Sho, S. and Ogura, Y.: *J. Biochem.*, **59**, 481 (1966)
- 4) Ponting, J. D. and Joslyn, M. A.: *Arch. Biochem.*, **19**, 47 (1948)
- 5) Peacock, B. C.: *Queensland J. Agr. Sci.*, **21**, 255 (1964)
- 6) Keilin, D. and Mann, T.: *Proc. Roy. Soc. B*, **125**, 187 (1938)
- 7) 藤本健四郎, 宮代正子, 金田尚志: 栄養と食糧, **23**, 336 (1970)
- 8) 邨田卓夫, 古衡山: 食品工誌, **13** (11), 446 (1966)

(昭和47年2月12日受理)