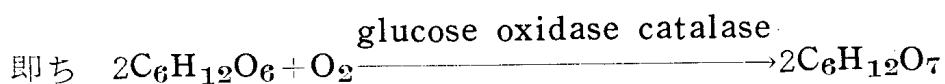
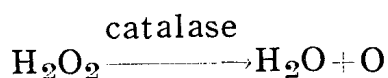
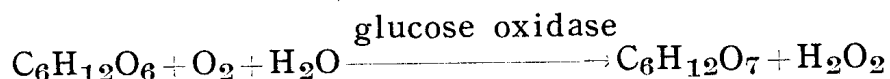


Glucose Oxidase-Catalase系酵素による Ascorbic acid の分解阻止に関する研究 1

宮川金二郎・小笠原愛子

緒 言

Ascorbic acid の分解に関しては古くより数多くの研究がなされており、自動酸化、金属イオン又は有機化合物の触媒作用、酸化阻止等の問題が取り上げられてきたが、Ascorbic acid の嫌氣的分解については Huelin¹⁾ による N₂, CO₂, ガス存在下での報告が見られるに過ぎない。Ascorbic acid が嫌氣的条件下に置かれた場合には分解が阻止される事は当然ではあるが、完全な嫌氣的条件を作り出す事は非常な困難を伴う。最近 glucose oxidase-catalase 系酵素が食品界に注目されているが^{2)~7)}、我々は glucose oxidase-catalase 系酵素により glucose が gluconic acid に酸化される時に溶液中の溶存酸素が消費される事に着目し、



Ascorbic acid-glucose-glucose oxidase-catalase 系による Ascorbic acid の分解阻止について実験を行ない、2, 3 の結果を得たので報告する。

実 験 方 法

Ascorbic acid は和光純薬製の結晶 Ascorbic acid を用い、1/10M McIlvain Buffer に溶解して用いた。水はイオン交換樹脂を通しイオンを除去した後、総ガラス製蒸留器で再蒸留したものを用いた。Glucose oxidase-catalase は

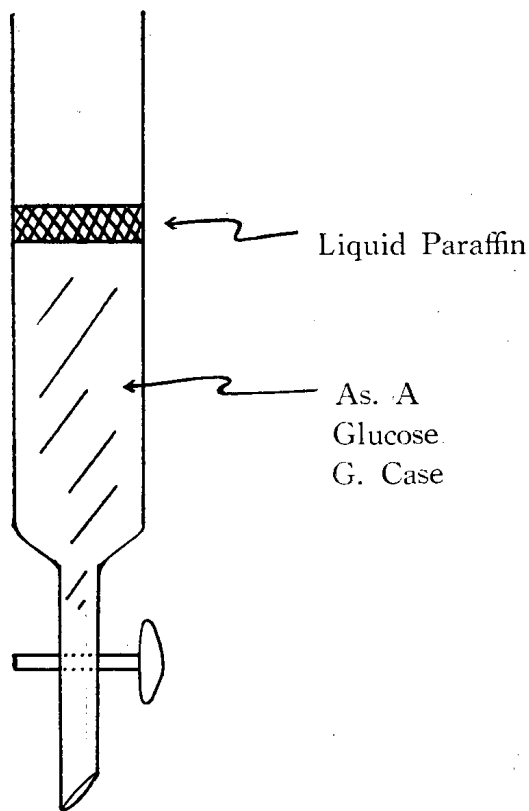


Fig. 1

AsA 分解に及ぼす G.C. ase 量の影響を glucose 10%, AsA 10mg% pH 6.0, 温度 40°C の条件下で測べたのが fig. 2 である。

G.C. ase 5mg/100ml 迄は G.C. ase の添加量の増大に伴って AsA の残存率が大きくなるが、5mg/100ml 以上の濃度になっても AsA 残存率はほぼ一定であるそれ故以後の実験には glucose 10%, G.C. ase 5mg/100ml を使用した。

II G.C. ase 添加による AsA 分解の時間的経過

AsA 10mg% pH 6.0 の溶液を温度

長瀬産業 K.K. より恵与された Deoxin (酵素活性 10,000 単位)⁸⁾ を用いた。fig. 1 の如き先端を引きのぼしコックをつけた 60ml ガラス管を作製し Ascorbic acid (AsA)-glucose-glucose oxidase-catalase (G.Case) 溶液を入れ、上部に流動パラフィンを加えて外気をしゃ断し、恒温槽に入れ一定時間後に取り出し AsA の残存量を測定した。AsA の定量はヨウ素酸カリ滴定法によって行なった。

実験結果

I AsA 分解に及ぼす G.C. ase 濃度の影響

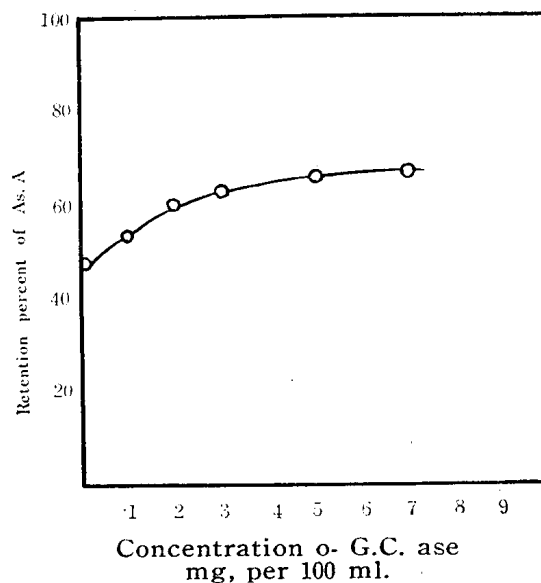


Fig. 2

Relation between Concentration of G. Case and Retention of As. A
pH 6.0
Temperature 40°C.
Concentration of As. A 10mg. percent.
Concentration of Glucose, 10 percent.
Duration of time, 4 hours.

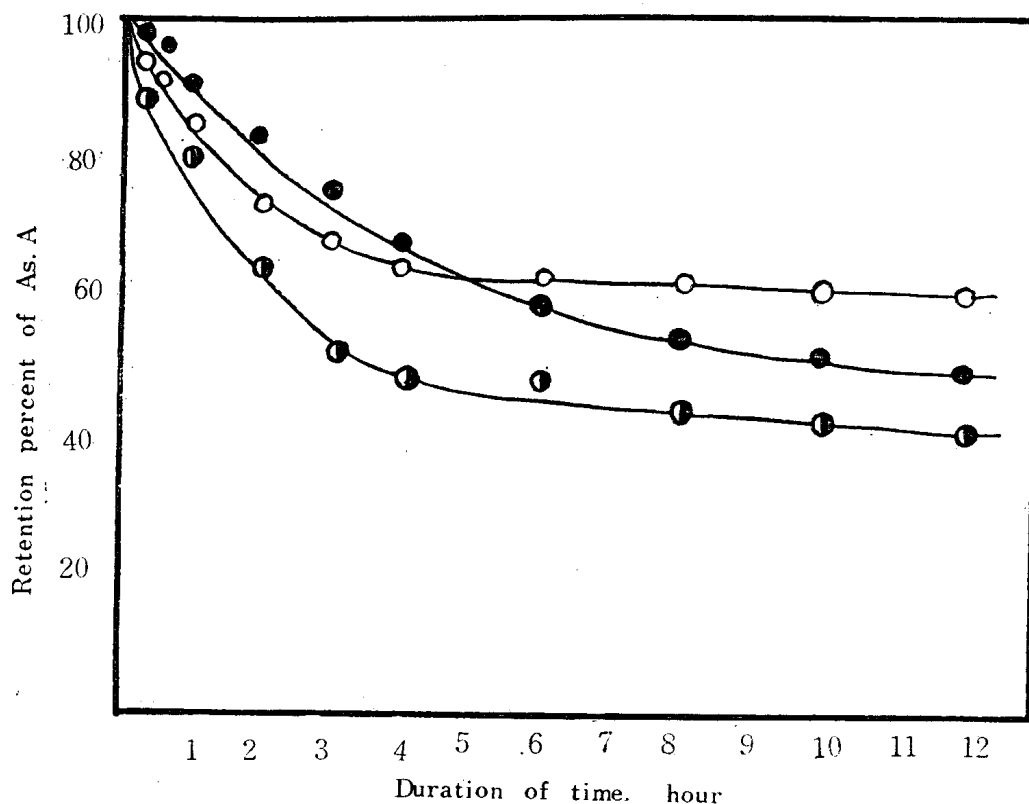


Fig. 3

Relation between Duration of time and Retention of As. A
pH 6.0

Temperature 40C.

Concentration of As. A 10 mg percent.

Concentration of Glucose 10 percent.

Concentration of G. Case 5mg per 100ml.

● As. A

● As. A Glucose

○ As. A Glucose, G. Case

40°C の条件下で glucose 及び glucose-G.C.ase 添加による AsA 残存率を間時的に測べたのが fig.3 である。

glucose の添加は AsA 分解促進をし glucose-G.C.ase 添加は 5 時間ぐらい迄は glucose の影響で As.A の分解を促進するが、5 時間以後は As.A 残存量はほぼ一定となり As.A 分解を阻止する。

III 温度の影響

glucose 及び G.C,ase 添加による As.A 分解の度合を温度 7°C~40°C の範

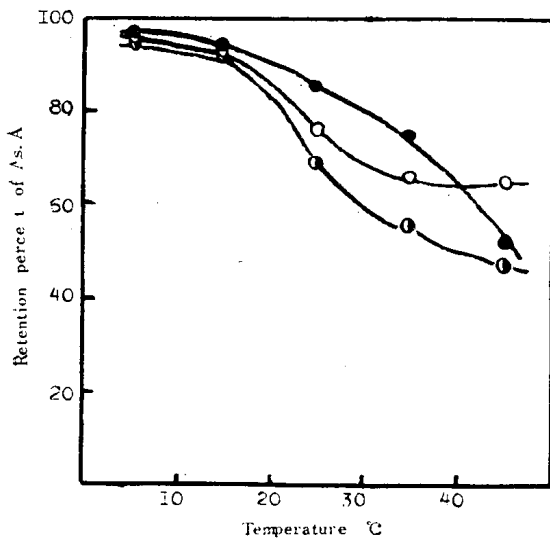


Fig. 4
 Relation between Temperature and Retention of As. A
 pH 6.0
 Concentration of As. A 10mg percent
 G. Case 5mg per 100ml. sol.
 Duration of time. 6 hours.
 ● As. A sol.
 ○ As. A, Glucose, G. Case.
 ◐ As. A, Glucose

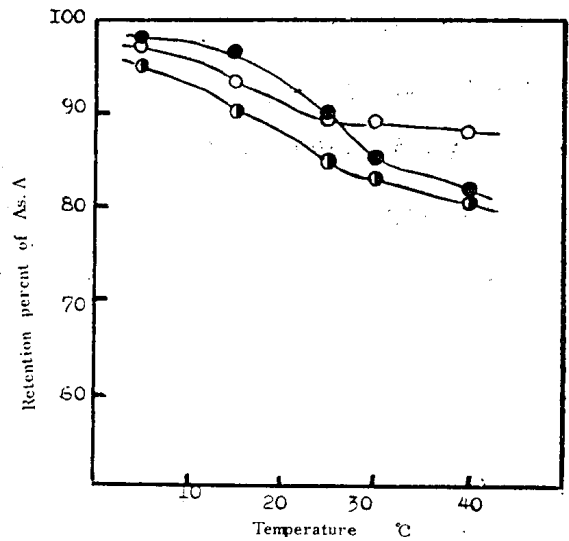


Fig. 5
 Relation between Temperature and Retention of As. A
 pH 6.0
 Concentration of As. A 50mg percent.
 G. Case 5mg per 100ml.
 Duration of time. 6 hours
 ● As. A
 ◐ As. A Glucose
 ○ As. A Glucose G. Case

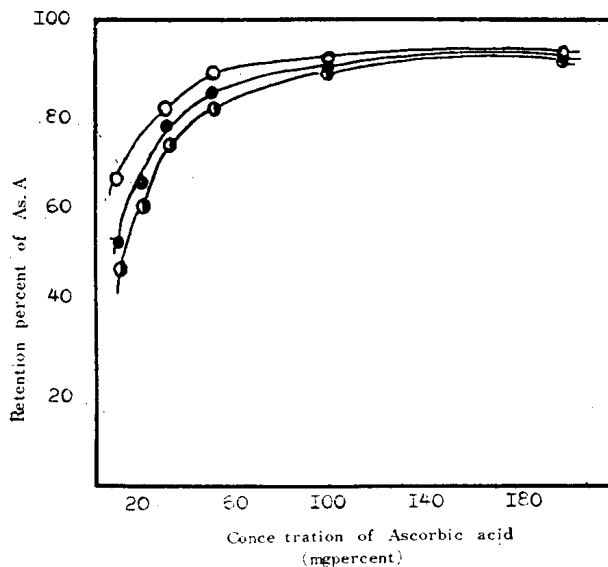


Fig. 6
 Relation between concentration of Ascorbic acid and Retention of As. A
 pH 6.0
 Temperature 40°C
 Concentration of Glucose 10 percent
 Concentration G. Case 5mg per 100ml.
 ● Ascorbic acid
 ◐ As. A Glucose
 ○ As. A Glucose G. Case

围で測べたのが fig.4, fig.5 である。6時間経過後の As.A 残存率は低温においてはいずれの場合もほとんど差はないが、20°C 以上になると温度の影響が現われてくる。約30°C 迄は glucose のみの添加及び glucose-G.C.ase 添加

により As.A 分解が促進されるが、35°C 以上になると glucose-G.C.ase により As.A 分解は阻止される。

IV As.A 分解に及ぼす As.A 濃度の影響

As.A 濃度による分解に及ぼす影響を測べたのが fig.6 である。As.A 濃度 10mg% から 100mg %迄の範囲では glucose-G.C.ase 添加により As.A 分解が阻止されるが 100mg %以上の As.A 濃度ではいずれの場合もほとんど差はない。

V pH の影響

As.A 分解に及ぼす pH の影響を約 pH 2より9の範囲で測べたのが fig.7 である glucose の添加はいずれの pH においても As.A 分解を促進するが

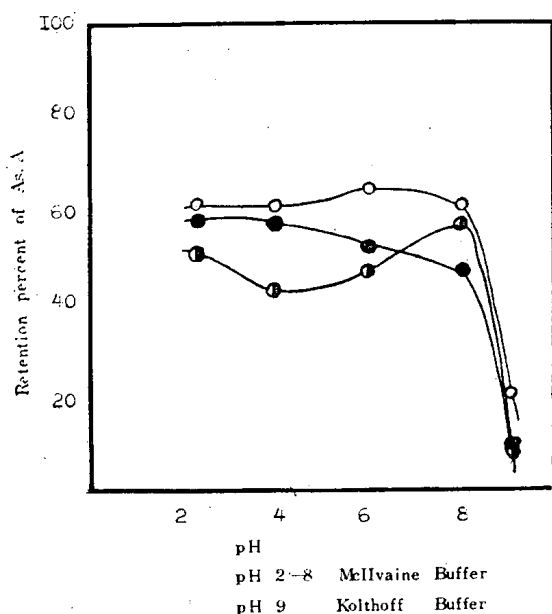


Fig. 7
Relation between pH and Retention of As. A
Concentration of As. A 10mg percent.
Concentration of Glucose 10 percent.
Concentration of G. Case 5mg per.ent.
● As. A
○ (with a dot) As. A Glucose
○ (empty) As. A Glucose G. Case

glucose-G.C.ase 添加は As.A 分解を阻止するしかしいずれの場合も pH 8 以上ではほとんど差はない。

考 察

我々は glucose-G.C.ase 系により As.A 分解が阻止される事を予想したが、結果はこの事を実証している。As.A 溶液中の溶存酸素が As.A 分解の要因であることは明らかであり、glucose が gluconic acid に酸化され溶存酸素が

消費される反応と As.A が Dehydro Ascorbic acid に酸化される反応とは拮抗的であろうと思われる、それ故 As.A 分解は初期においては glucose の分解促進作用により As.A のみの溶液より glucose-G.C. ase-As.A 系の分解の方が、速やかであるが溶存酸素の消失に伴って As.A 分解が阻止される。

fig.4 及び fig 5 に示した温度の影響、及び fig.7 に示した pH の影響は glucose-oxidase の最適温度が 30~40°C で、最適 pH が 6 附近である⁹⁾ 事を考えれば当然の事であろう。

Huelin の報告によれば glucose は As.A 分解に影響を及ぼさないようであるが我々の結果では分解を促進する様である。この事は glucose 中に含まれる微量狭雑物による影響であるか又は glucose の本質的な性質であるかは現在検討中である。

終りに臨み本研究に使用した Deoxin を恵与された 長瀬産業 K K 草井博士に心からの感謝の意を表します。

文 献

- 1) F.E. Huelin: Food Res. **10** 633~39 (1953)
- 2) R.R. Baldwin, et al: Food Teod Technology **7** 275 (1953)
- 3) P. Paul et al: Food Technology **11** 494 (1957)
- 4) D.W. Ohlmeyer: ibid **11** 503 (1957)
- 5) A.T. Zambito: Food Ind. **21** 1554 (1949)
- 6) U.S. Patent 2, 758, 932 (Aug., 14, 1956)
- 7) U.S. Patent 2, 765, 233 (1953)
- 8) 長瀬酵素レポート A-7
- 9) K. Kusai: Ann. Rep. Scient. Works, Fac. Sci. Osa3a Uuiv. **8** 43 (1960)