

酵素サイクル反応を用いたL-アスパラギン酸とL-アスパラギンの新しい比色測定キットの開発

○新館 啓子¹⁾ ウォロトリアルシ¹⁾ 西山 辰也²⁾ 上田 賢志²⁾ 日下部 均¹⁾ 1) (株)エンザイム・センサ 2) 日大生資

■ 研究の背景

近年の健康志向の高まりにより、食品中の栄養成分の分析には高いニーズがある。特に遊離アミノ酸は、その生理活性から注目度の高い栄養成分である。

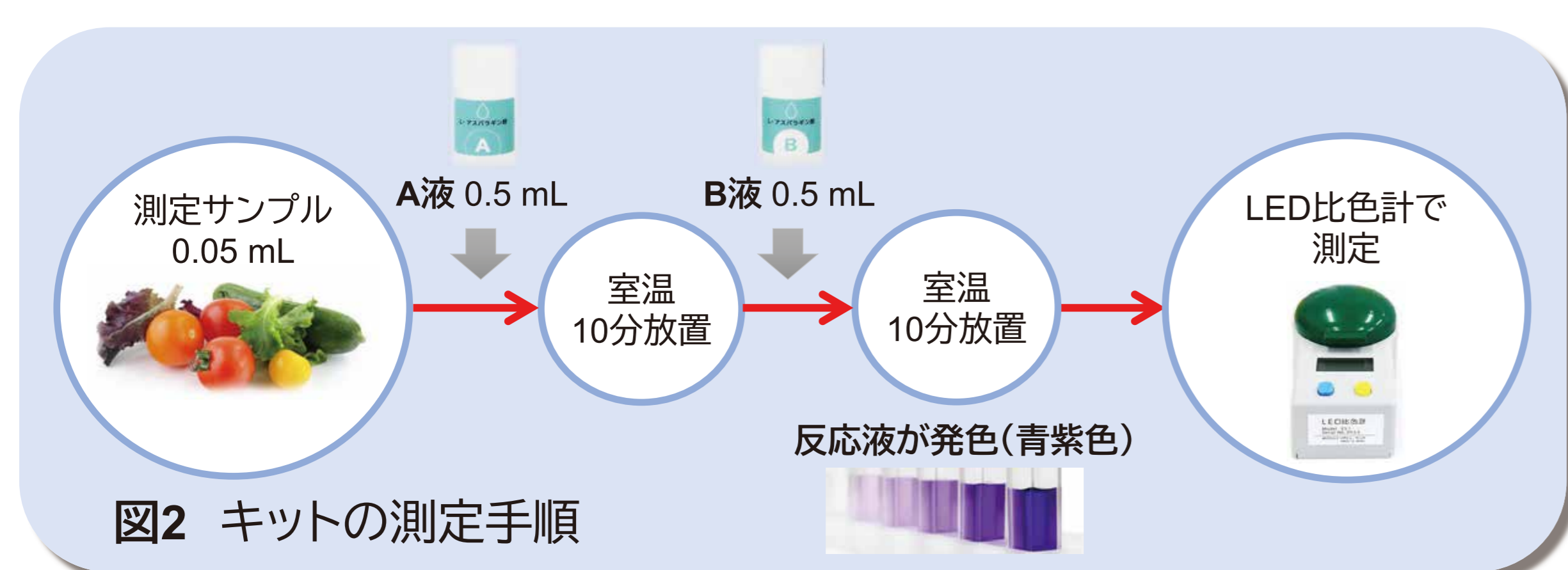
農産物や加工食品中のアミノ酸含有量を示すことで、その食品の付加価値を提示することができることから、遊離L-アスパラギン酸と遊離L-アスパラギン(図1)の測定を行うことには大きな意義がある。一方で、栄養成分であると同時に、アスパラギンは一定の条件下で発がん性が懸念されるアクリルアミドを生成することが知られている。遊離アミノ酸の測定技術が、安全な加工食品原料の選定にも寄与できると期待される。

■ 目的

本研究では、高特異性アミノ酸トランスアミナーゼ(AST)とL-グルタミン酸オキシダーゼ(GluOXD)の組み合わせによる“酵素サイクル反応”を用いたL-アスパラギン酸及びL-アスパラギンの比色定量法を確立し、簡易測定キットの製品化を目的とした。

■ L-Asp測定キット及びL-Asn測定キットの開発

L-アスパラギン酸測定キットは、当社より発売中のGABA測定キットのGABAトランスアミナーゼをアスパラギン酸トランスアミナーゼに置き換えて開発した(図2, 3, 4)。



L-アスパラギン測定キットは、L-アスパラギン酸の測定原理を応用した。A液添加10分間(図5, Step 1)で、試料に共存するL-アスパラギン酸、L-グルタミン酸、L-グルタミン、アスコルビン酸を除去したのち、B液添加10分間(図5, Step 2)で、カタラーゼ阻害下、アスパラギナーゼ(ASNase)によりL-アスパラギンをL-アスパラギン酸に変換した。このL-アスパラギン酸にA液の酵素サイクル反応が再び働き、パーオキシダーゼ(POD)による発色反応との共役により、L-アスパラギンを比色定量することができた(図2, 3, 5)。

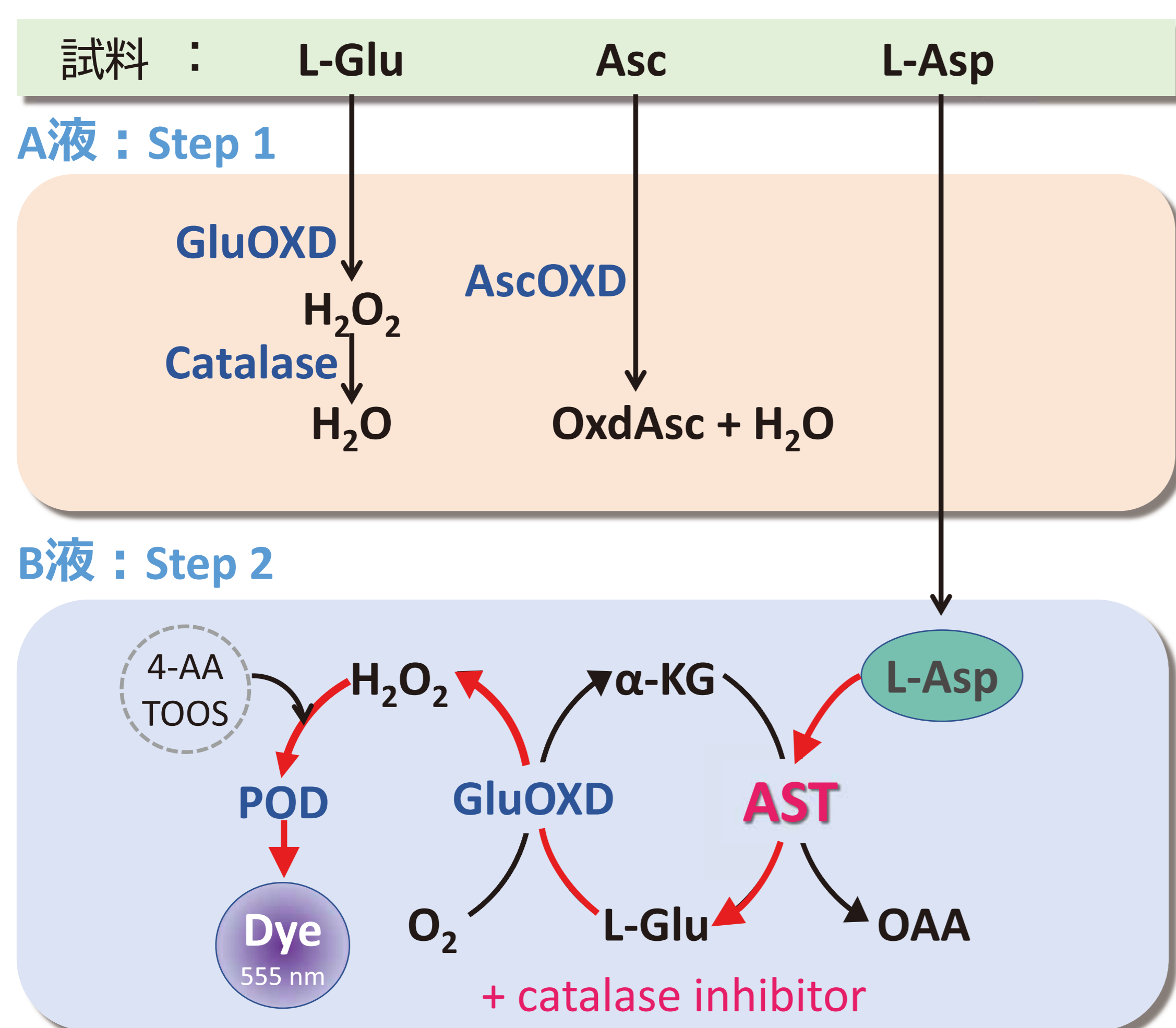


図4 L-アスパラギン酸の測定原理

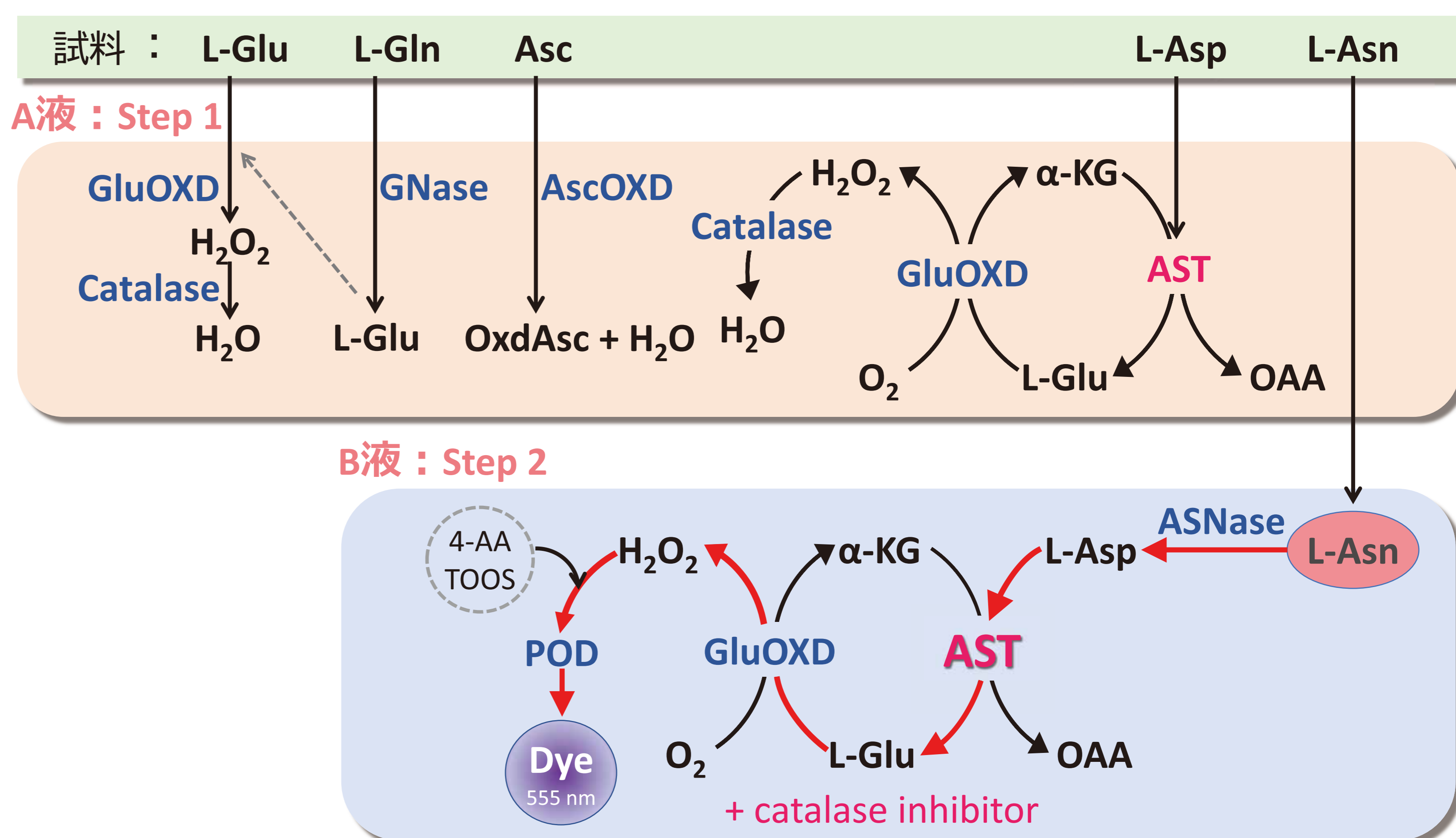


図5 L-アスパラギンの測定原理

■ L-アスパラギン酸とL-アスパラギンの測定例

アスパラガス、トマト、レンコン、メロン及びさくらんぼなどの野菜や果物に含まれる遊離のL-アスパラギン酸とL-アスパラギンについて、開発した比色測定キットによる測定値と外部分析センターにおけるアミノ酸自動分析機(HPLC)による測定値を比較した(図6)。

両測定キットにおいて、HPLC法との非常に強い相関が認められた。

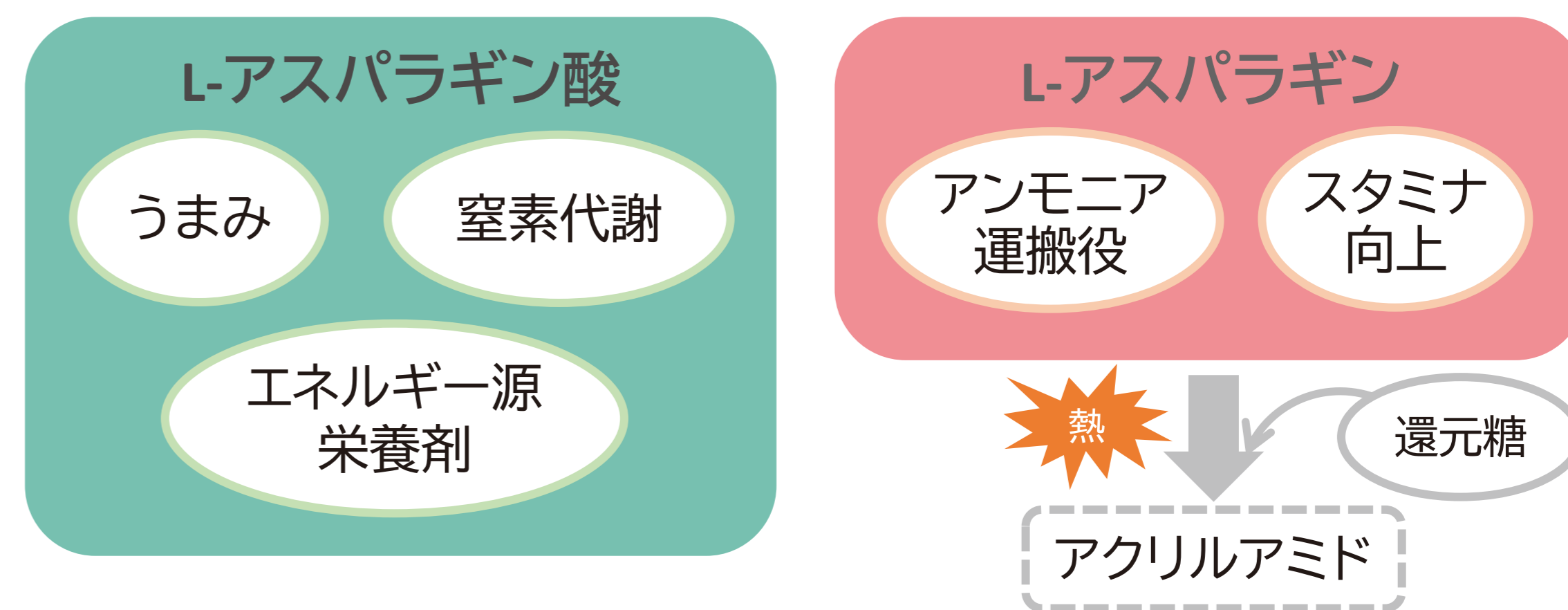


図1 L-アスパラギン酸とL-アスパラギンの生理活性及びL-アスパラギン由来の有害物質(アクリルアミド)の生成

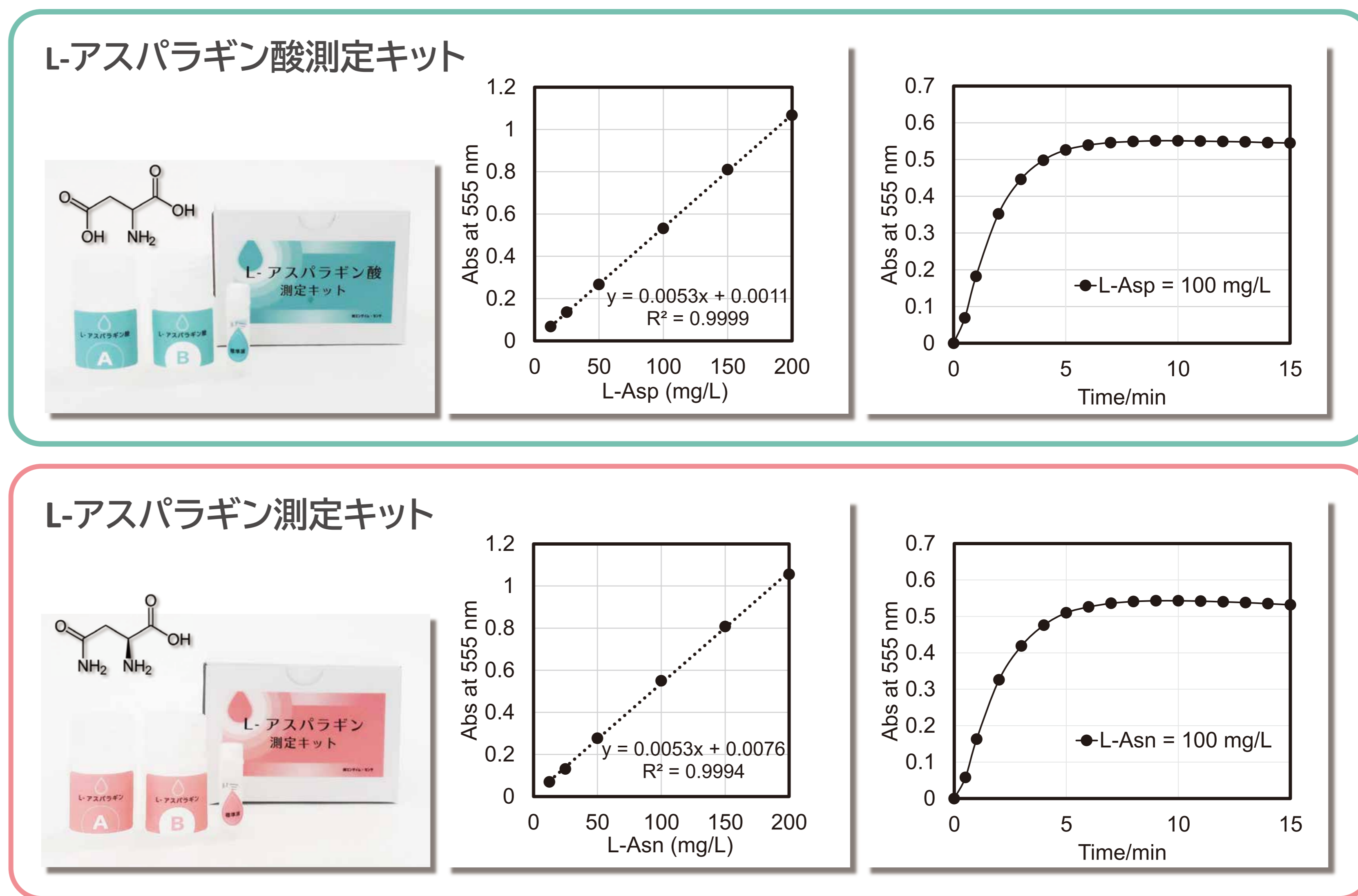


図3 L-アスパラギン酸とL-アスパラギン測定キットの検量線及びタイムコース

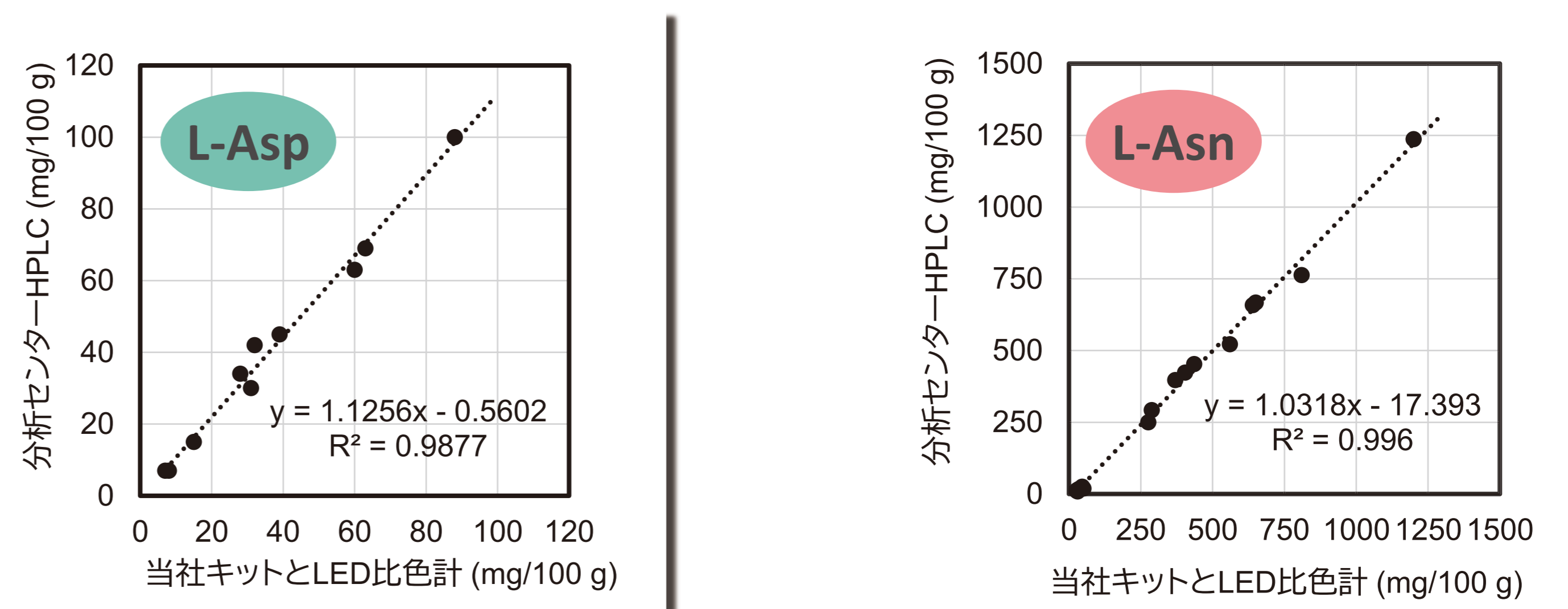


図6 野菜と果物の遊離アミノ酸分析における当社キット測定値と外部分析センター測定値との相関