

漬物の γ -アミノ酪酸

作成者：徳島県立工業技術センター 研究員 宮崎 絵梨
愛媛県産業技術研究所 食品産業技術センター
主任研究員 大野 一仁

1. 漬物について

1.1 概要

漬物は食塩などの浸透圧作用、野菜や副材料の酵素作用そして微生物作用を利用して作られる、日本古来の伝統的保存食品である。日本では漬け床や原料野菜の種類、形状によって数多くの漬物が製造されている。

多くの漬物は乳酸菌などの微生物が作用することで、漬物特有の香りや味など風味が付与される。さらに微生物による発酵を利用した漬物には、原料野菜由来の成分に加えて、微生物の発酵によって生成した代謝産物による機能性増強効果なども期待される。

徳島県では白ウリ、大根、カブラ、野沢菜、壬生菜、茄子など漬物用野菜の栽培が盛んであり、これらを利用した漬物製造も広く行われている。



図1-1 γ -アミノ酪酸を含む漬物

1.2 食品あるいは含有成分の機能性

漬物の機能性としてはまず食物繊維が挙げられる。食物繊維の消化系機能調整作用により、便秘予防や血糖値の上昇抑制、血中コレステロール上昇抑制などの効果が期待される。

キムチやぬか漬けなど乳酸発酵させた漬物の中には、 γ -アミノ酪酸（GABA）を含有しているものがある。GABAは近年その機能性について注目されている成分であり、

血圧上昇抑制作用や精神安定作用、抗利尿ホルモン分泌抑制作用など数多くの機能が報告されている。

1. 2. 1 GABA を含む食品

GABA はカボチャやトマトなどの野菜類や、エノキダケ、ウンシュウミカンなどに含まれている。また漬物（キムチ、ぬか漬け）、発酵食品（チーズ、味噌、納豆）にも GABA を含むものがある。

<引用・参考文献>

1. Billingsly, M., Suria, A., Gilman, R., Shokes, L. and Shahvari, M. Brain Res. Bull, 5.329-333(1980). of Chromatogr., 336, 93-104(1984)
2. Manyan, B., Katz, L., Hare, T.A., Gerber, J.C. and Grossman, M.H., Arch. Neurol, 37, 352-355(1980)
3. Horn, E.M., Shonis, C.A., Holzwarth, M.A. and Waldrop, T.G., J. Hypertens., 16, 625-633(1998)

2. GABA についての説明

動物、植物、微生物など自然界に広く存在するアミノ酸の一種であり、グルタミン酸が脱炭酸されて生成する。中枢神経系における代表的な抑制系の神経伝達物質であることが知られている。乳酸菌がグルタミン酸脱炭酸酵素を有することから、各種食品の製造工程において、乳酸菌を活用した GABA 富化技術に関する研究が盛んに行われている。

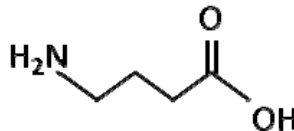


図 2 - 1 γ -アミノ酪酸(GABA)の構造式

3. 定量分析の方法について

発酵漬物に含まれている GABA を、PITC で誘導体化した後 HPLC 装置を用いて定量する方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

[器具]

1. マイクロピペット(10~100 μ l)
2. ボルテックスミキサー
3. サンプルチューブ
4. 試料濾過用フィルター(親水性テフロン膜を使用, ポアサイズ 0.45 μ m, 13mm 径)
5. 減圧乾燥装置
6. 高速液体クロマトグラフシステム (2液グラジエント、UV 検出器、カラム恒温槽)
7. Pico・tag アミノ酸分析用カラム(3.9 \times 300mm, Waters)

[試薬]

1. γ -アミノ酪酸 (特級)
2. トリクロロ酢酸(特級)
3. エタノール(特級)
4. トリエチルアミン (TEA、アミノ酸分析用)
5. イソチオシアン酸フェニル (PITC、アミノ酸分析用)
6. 酢酸ナトリウム三水和物 (アミノ酸分析用)
7. 氷酢酸 (アミノ酸分析用)
8. アセトニトリル (HPLC 用)
9. リン酸水素二ナトリウム(特級)
10. 蒸留水 (HPLC 用)

[試薬の調製]

洗浄液：エタノール／水／TEA (2/2/1,v/v)

誘導化試薬：エタノール／水／TEA／PITC(7/1/1/1,v/v、用時調製)

サンプル希釈液：5mM リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.40)／アセトニトリル(95/5,v/v)

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

標準試料は 2~20 μ g/ml の濃度になるよう 0.1mol/L 塩酸を用いて調製する。

分析用試料は 5g 程度を精秤し終濃度 5%になるようトリクロロ酢酸を加えて磨砕抽出後、0.45 μ m のフィルターで濾過して分析試料とする。

[誘導化方法]

- ① サンプルチューブに分析試料または標準試料 20 μ l を入れ、減圧乾燥する。
- ② 洗浄液 10 μ l をサンプルチューブに入れ、ボルテックスミキサー等で攪拌する。
- ③ 減圧乾燥する。
- ④ サンプルチューブに誘導化試薬 20 μ l を加え、攪拌する。
- ⑤ 20 分間放置する。
- ⑥ 50 ミリトール未満になるまで乾燥する。
- ⑦ 分析まで冷凍保存する。

[分析]

- ① サンプルチューブに希釈液 100 μ l を加え、ボルテックスミキサーで攪拌する。
- ② 上澄みを HPLC に注入する。

3. 3 HPLC による分析方法

(1) 移動相の調製

移動相 A：0.14M 酢酸ナトリウム緩衝液(pH6.4)／アセトニトリル (94/6,v/v)

移動相 B：アセトニトリル／水(60/40,v/v)

(2) 分析条件

装置構成：Waters Alliance e2695-2489UV/VIS 検出器

カラム温度：46 $^{\circ}$ C 検出波長：254nm 注入量：5 μ l

グラジエント条件：

時間(min)	流量(ml/min)	%A	%B	グラジエント曲線
0.0	1.0	100	0	
2.5	1.0	100	0	6
21.0	1.0	56	44	5
21.5	1.0	0	100	6
22.0	1.5	0	100	6
26.0	1.5	0	100	6
26.5	1.5	100	0	6
39.0	1.5	100	0	6
39.5	1.0	100	0	6

(3) 定性及び定量

- ①分離された物質の定性は保持時間により行う。
- ②定量は標準試料を用いた、内標を用いない絶対検量線法による。

4. 分析例

4. 1

以下にキムチの分析例を示す。

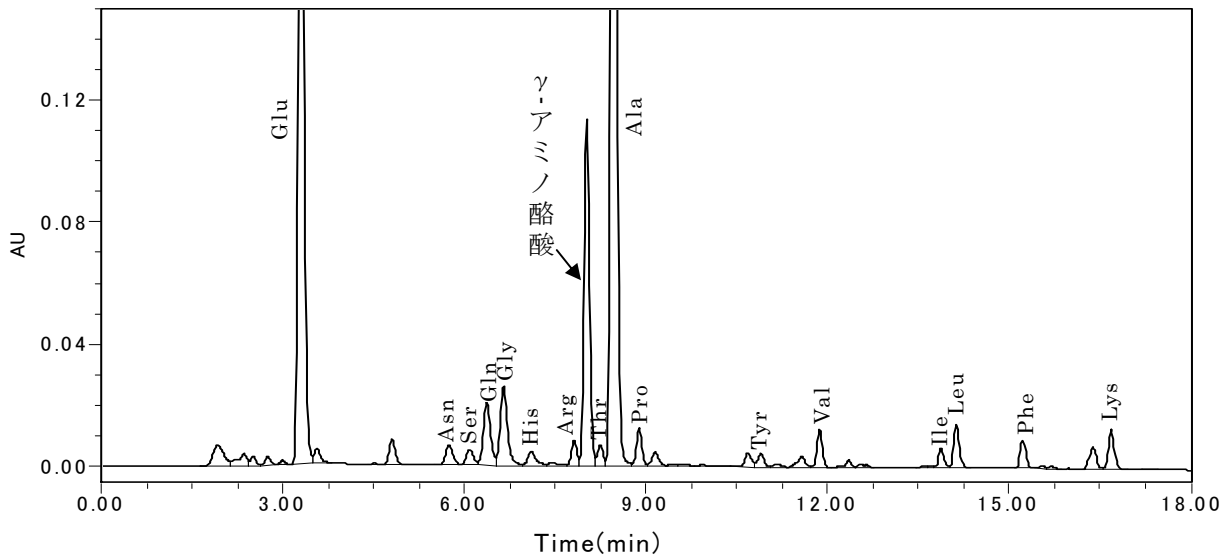


図4-1 キムチのクロマトグラム

5. 食品の分析結果例

上記手法を用い、徳島県内で製造された各種漬物の GABA の定量分析を行った。その結果キムチには 30~153mg/100g、茄子浅漬けには 48~100mg/100g、壬生菜浅漬けには 32~96mg/100g、蕪漬けには 11~65mg/100g、たくあんには 27~53mg/100g、野

沢菜浅漬けには 6~31mg/100g 含まれていた。

また分析法のクロスチェックを目的に、愛媛県と徳島県で発酵漬物 8 種類の分析を行った結果は表 5-1 のとおりである。

表 5-1 発酵漬物の GABA 含量 (単位: mg/100g)

	徳島県	愛媛県	
	PITC 法 (mg/100g)	超高速 HPLC 法 (mg/100g)	ニンヒドリン法 (mg/100g)
発酵漬物①	67	66	68
発酵漬物②	30	29	32
発酵漬物③	117	116	118
発酵漬物④	142	147	146
発酵漬物⑤	142	151	142
発酵漬物⑥	153	161	152
発酵漬物⑦	153	157	151
発酵漬物⑧	36	40	35

6. 分析上の留意、注意点

誘導化上の注意点

NaCl, KCl, Na₂SO₄等の塩類は、25mmol まで影響はない。リン酸塩は 15mmol まで影響はない。TRIS, Urea, (NH₄)₂SO₄は PITC と反応する。脂質は影響がある。反応時間について 20 分以上は感度上昇はない。

PTC 化後の安定性については、乾固状態で冷凍すれば数週間安定である。溶液状態では 4℃または冷凍で 60 時間安定である。

7. その他

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. B.A.Bidlingmeyer, S.A.Cohen and T.L.Tarvin, J. of Chromatogr., 336, 93-104 (1984)
2. B.A.Bidlingmeyer, S.A.Cohen, T.L.Tarvin and B.Frost, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 241-247 (1987)

—以上—

[トップページに戻る](#)