

フキ“愛知早生フキ”のペルオキシダーゼ活性について

茨木俊行・平野稔彦・山下純隆・馬場紀子
(福岡県農業総合試験場)

Toshiyuki IBARAKI, Toshihiko HIRANO, Sumitaka YAMASHITA, Noriko BABA:
Studies on Peroxidase Activities of Butterbur

フキはキク科に属する多年草で、日本全土に野生種が自生しており、その加工食品も多い。フキの加工品製造に当たってはブランチング(加熱処理)を行い、組織中の酵素類を失活させる必要がある。ペルオキシダーゼ(P. O.)は風味の劣化、呼吸系への関与、クロロフィルの分解等に関与していると考えられており、植物酵素中では最も熱安定性が高い酵素の一つとしても知られている。ここでは‘愛知早生フキ’より抽出したP.O.について二、三の知見を得たので報告する。

1. 試験方法

酵素の抽出 フキの葉柄をP.V.P.及びpH5.0のマックルベン緩衝液と共に磨砕した。これを遠心分離し、その上澄液を粗酵素液とした。

酵素活性の測定方法 過酸化水素水、OPDAを含むpH5のマックルベン緩衝液に粗酵素液を加え、ただちに吸光度を連続的に2分間記録し、それより初速度を算出した。

P.O.の分離 粗酵素液をpH8.3のポリアクリルアミドゲルを用いてマイナス極からプラス極へ電気泳動した。また、粗酵素液をセファデックスG25を用いて低分子部分を除去した後、DEAEセルロースカラムクロマトグラフィーによりP.O.を分離した。

P.O.の性質 部位別活性を測定した。また、粗酵素液について基質親和性、最適pH、熱安定性を調査した。

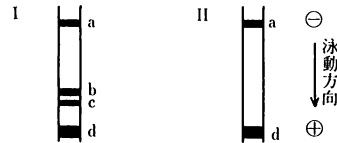
2. 結果及び考察

1) 粗酵素液をディスク電気泳動したところ、4つのアイソザイム(a, b, c, d)が存在することを確認した。そのうちアイソザイムb, cは比較的熱に弱いことが判明した(第1図)。DEAEセルロースカラムクロマトグラフィーにより酵素液を4つの活性ピーク(A, B, C, D)に分離できた。これらのピークを電気泳動したところ、ピークA, Bはアイソザイムdを、Cはaを、Dはb, cを含んでいた(第2図)。この結果、アイソザイムaはb, cに比べ、マイナスの荷電が少ないアイソザイムであると推測できる。同様に、dはb, cに比べ分子量の小さなアイソザイムであると推測できる。

2) フキの皮の部分は重量が全体の7%しかないにも関わらず、P.O.活性は葉柄部全体の50%以上を占めた。剥皮後の部分では葉に近いほど単位重量当たりの活性は高い値を示した。OPDAはP.O.に対し、km値が最も小さく、高い基質親和性を示した。また、Vmaxは最も大きな値を示した。フキのP.O.はphloroglucinolに対してほとんど反応を示さなかった(第1表)。最適pHは5.0で、pH2.5以下、pH8.5以上ではほとんど活性を示さなかった。

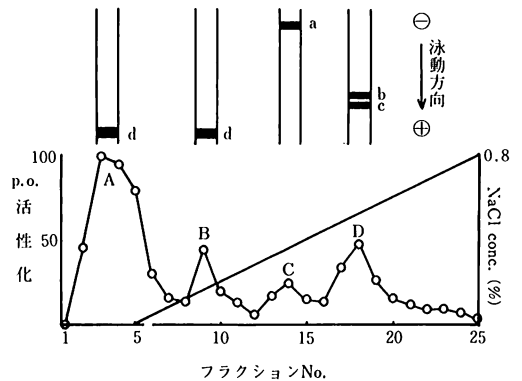
粗酵素液を70℃に保った場合、不活性化するのに20分を要した。沸騰水中では1分間で不活性化した。フキ自体を沸騰水中に保った場合、失活に30分間を要した。

以上のことから、フキを加工利用する場合、加熱時間と残存活性との関係を把握すると共にpHによる活性の制御も考慮するべきである。さらにはポリフェノールオキシダーゼ活性の制御やクロロフィルの保持等も考え合わせる必要がある。



第1図 ペルオキシダーゼアイソザイムのザイモグラム

注) I: 収穫直後のフキより酵素抽出
II: フキを沸騰水に5分間つけた後酵素抽出



第2図 ペルオキシダーゼのDEAEセルロースカラムクロマトグラムと、活性ピークのザイモグラム

第1表 フキペルオキシダーゼの基質親和性

substrate	λ(nm)	Km(mM)	Vmax	比活性
OPDA	430	1.89	2.03	100
catechol	420	8.52	0.41	20.2
guaiacol	470	6.18	0.67	33.0
pyrogallol	430	2.50	0.66	32.5
phloroglucinol	430	∞	0.00	0.0

注) λ: 測定波長