

# 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

SATテクノロジー・ショーケース2023

## ■ はじめに

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。特にアミノ酸は、その生理活性機能などから注目度が高い栄養成分の一つである。農産物や加工食品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、食品中の遊離アミノ酸量の測定を行うことには大きな意義がある。

アミノ酸量の測定は、高価なアミノ酸自動分析機(HPLC法)による方法が一般的であるが、多数の試料の遊離アミノ酸一種類だけを測定する手段としては向いていない。簡単に安価な個別のアミノ酸測定方法が求められている。

食品中の遊離アミノ酸の中で、L-アスパラギン酸は旨味を示すアミノ酸の一つであり、体内では窒素代謝に関与することが報告されている。また、エネルギー源として最も利用されやすいアミノ酸の一つで、栄養剤などの成分としても利用されている。

L-アスパラギンは生体内ではアンモニアの運搬役として尿の排出を促進する効果がある。また、運動時のスタミナ向上の生理的活性も知られている。一方で、L-アスパラギンは高温において還元糖と縮合反応を起こし、神経毒や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。

本研究では、高特異性アミノ酸トランスアミナーゼとL-グルタミン酸オキシダーゼを組み合わせた“酵素サイクル反応”を用いた、L-アスパラギン酸およびL-アスパラギンの新規比色定量法を確立し、簡易測定キットを開発した。

## ■ 活動内容

### 1. L-アスパラギン酸測定キットの開発

L-アスパラギン酸測定キットは、既に当社より発売中のGABA測定キット<sup>1)</sup>のGABAトランスアミナーゼをL-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<sup>2)</sup>。試料に2種類の試薬溶液(A液、B液)を室温にて10分ずつ反応させ、発色液を専用の比色計または吸光光度計で測定することで、L-アスパラギン酸を比色定量することができる。

### 2. L-アスパラギン測定キットの開発

L-アスパラギン測定キットでは、7種類の酵素を使用した。L-アスパラギン酸の測定原理と同様に酵素サイクル反応を応用し、A液添加10分間(図1、Step1)で、試料に共存するアスパラギン酸・L-グルタミン酸・L-グルタミン・アスコルビン酸の影響を除去したのち、B液添加10分間(図1、Step2)

で、カタラーゼ阻害下、アスパラギナーゼにより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Step1の酵素サイクルが再び働いて、最終的にL-アスパラギンを比色定量することができる<sup>3)</sup>。

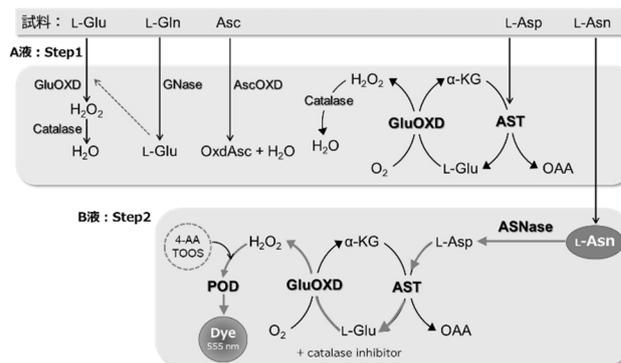


図1. L-アスパラギンの測定原理

### 3. アスパラギン酸およびアスパラギンの測定例

野菜・果実に含まれる遊離アミノ酸について、開発した比色測定キットと外部分析センターにおける測定値を比較した(図2)。いずれの測定キットにおいても、HPLC法との高い相関が認められた。

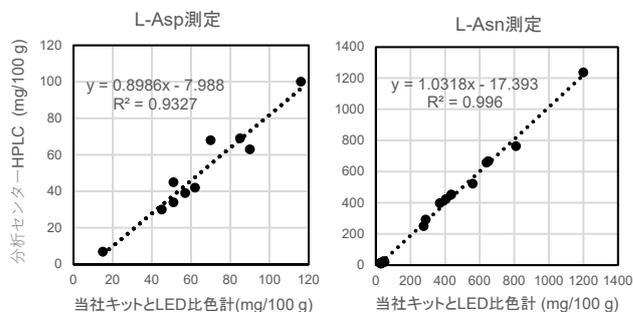


図2. 野菜と果物の遊離アミノ酸分析における当社キット測定値と外部分析センター測定値との相関性

## ■ 関連情報等

- 1) T. Nishiyama, T. Woro, K. Ueda & H. Kusakabe: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **84**, 118 (2020)
- 2) 日本農芸化学会大会要旨集 2021, p766 西山辰也ら
- 3) 特許第 7046408 号 「L-アスパラギンの測定方法、及びそのためのキット」

代表発表者 **新館 啓子(しんたて けいこ)**  
 所属 **株式会社 エンザイム・センサ**  
 問合せ先 **〒305-0047 つくば市千現 2-1-6**  
**つくば研究支援センター D-36-38**  
**TEL: 029-858-9203 FAX: 029-858-9203**  
**e-mail: shintate@enzyme-sensor.com**

■キーワード: (1)アスパラギン酸測定キット  
 (2)アスパラギン測定キット  
 (3)遊離アミノ酸分析  
 ■共同研究者: ウォロ トリアルン(株エンザイム・センサ)  
 西山 辰也(日大生資科)  
 上田 賢志(日大生資科)  
 日下部 均(株エンザイム・センサ)