

奈良県産シャクヤク花の抗酸化能成分と遊離アミノ酸量評価

立本 行江^{*1)}

Evaluation of antioxidant active components and free amino acid content of peonies from Nara Prefecture

TATSUMOTO Yukie ^{*1)}

漢方素材であるシャクヤクの花の有効利用を目的に、総アスコルビン酸（ビタミン C）含有量と抗酸化能及び遊離アミノ酸の検証を進めた。その結果、県産シャクヤク花中には、つぼみ 500.1 mg/100 g 乾燥重、花弁 508.7 mg/100 g 乾燥重、オシベ 345.3 mg/100 g 乾燥重（各平均値）もの総アスコルビン酸を含有することが判明し、ビタミン C の供給源になることが示された。また DPPH 法及び ORAC 法により抗酸化能を測定したところ、生薬栽培用、観賞用を問わず、つぼみ、花弁、オシベの親水性成分に高い抗酸化能を確認し、その要因となる成分としてアスコルビン酸やポリフェノール以外の成分も関与することが示唆された。また花の各部位に遊離アミノ酸のグルタミン、アスパラギン、プロリン、アラニン、GABA、グルタミン酸、セリン等が含有されることから、機能性素材として、ストレスの軽減や肌の保湿にかかる化粧品などへの使用拡大が期待される。

1. 緒言

シャクヤク *Paeonia lactiflora*（ボタン科）の根を乾燥したものは生薬として当帰芍薬散、芍薬甘草湯などの漢方処方に繁用され、奈良県は産地のひとつとして栽培が進められている^{1,2)}。シャクヤクの花は食薬区分の食として扱われるが、生薬採取を目的として栽培されるものは、薬用部位である根の生育のために、摘蕾し廃棄されており³⁾、活用されていない。

シャクヤクの花は、既報⁴⁾より高い抗酸化能を示し、予備試験でアスコルビン酸（ビタミン C）の含有を確認したことから、抗酸化物質としてのアスコルビン酸に注目した。アスコルビン酸はコラーゲンの生成やメラニン色素生成の抑制に重要な役割を占めるとともに、抗酸化作用や免疫調整作用をもつ物質として知られている⁵⁾。

生体内に過剰に発生した生活習慣病発症の原因となる活性酸素種による酸化ストレスの改善には野菜や果物の摂取が有用であることが示されており抗酸化成分の摂取も様々な疾病の予防に役立つと期待されている^{6,7)}。

食品の抗酸化能測定法に DPPH（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl）法、ORAC（oxygen radical absorbance capacity：活性酸素吸収能力）法他、複数の測定法が存在する。既報⁴⁾においてシャクヤク花の DPPH 法による抗酸化能測定を行ったが、シャクヤク花はポリフェノールを含むことから⁴⁾ポリフェノール系抗酸化物質の抗酸化力を示す統一指標である ORAC 法⁸⁾での評価を追加し、複数の測

定で抗酸化能の評価を試みた。

さらにシャクヤク花中の遊離アミノ酸含量について分析を進めた。遊離アミノ酸は従来の栄養素に加え、近年、ヘルスケアの観点から、美肌、スポーツ、シニアの健康維持等に利用され人々の健康生活に活用されている。食品に含まれる遊離アミノ酸に関する成分表は取りまとめられているが、漢方関連素材の食利用部にかかる遊離アミノ酸の分析はデータが極めて少ない状況である。

本研究では奈良県産シャクヤク花に含まれる抗酸化能成分と遊離アミノ酸含量の評価を行ったので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

2022 年 4～5 月に奈良県内のシャクヤク栽培地 11 か所からつぼみ 28 試料、花弁 25 試料、オシベ 19 試料を収穫し、一部検体をつぼみから花弁、オシベに分けた後、予め凍結した後に凍結真空乾燥機（日本真空技術株式会社製 DF-01 型）で乾燥し（真空度 0.1 Torr 以下、加熱温度 25℃）、粉砕して均一な粉末としたのち、500 μm の篩を通したものを試料とし、検査まで -20℃で保管した。

「和シャクヤク（和）」は生薬採取用に栽培されているもの、「洋シャクヤク（洋）」は観賞用に栽培されているものとした。

2.2 試薬

^{*1)} バイオ・食品グループ

1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) は東京化成工業 (株) 製, フェノール試液はナカライテスク (株) 製, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン, 2, 2-アゾビス (2-メチルプロピオンアミジン) 二塩酸塩 (AAPH), Trolox は富士フィルム和光純薬 (株) 製, Fluorescein sodium salt は Sigma-Aldrich 社製をそれぞれ使用した. その他の試薬は, 市販特級品または LC-MS 用を用いた. 標準品は富士フィルム和光純薬 (株) 製 L (+) -Ascorbic Acid 標準品を用いた.

2.3 総アスコルビン酸の定量法

総アスコルビン酸は, 「衛生試験法註解 2010」総ビタミン C の高速液体クロマトグラフィーによる定量法⁹⁾で測定を行った. 測定条件を表 1 に示す.

試料 1 g に 5%メタリン酸溶液で振とう抽出し 50 mL に定容後, 遠心分離し (3,000 rpm×5 min) ろ紙ろ過した. ろ液を 10 µg/mL になるよう希釈し, その 1 mL を試験官に分取し 5%メタリン酸溶液 1 mL を加えた.

インドフェノール溶液を 30 秒経過しても色が消えない量を滴下し, 2%チオ尿素・メタリン酸溶液 2 mL を加え, 最後に 2% 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン・4.5 mol/L H₂SO₄ 溶液 0.5 mL を加えよく振り混ぜた. 試験管に栓をし, 50 °C の湯浴中で 1.5 時間加温し, オサゾンを生じさせたのち, 水冷して室温に戻した. 酢酸エチル 2 mL を加えて 1 時間振とうし, 生成したオサゾン酢酸エチル層に転溶させた. 静置後, 下層を除き, 無水硫酸ナトリウムで酢酸エチル層を脱水し, 孔径 0.45 µm シリンジフィルターでろ過し試験溶液とした.

検量線のため, L (+) -Ascorbic Acid 標準品を 50, 10, 5, 1, 0.5 ppm に段階希釈し, 試料と同様の操作を実施した.

本法により, 還元型及び酸化型アスコルビン酸を合わせた総アスコルビン酸として定量を行った.

表 1 総アスコルビン酸分析方法

装置	株式会社島津製作所製 LC-MS2010EV
カラム	Inertsil HILIC 粒子径 3 µm 内径 4.6 mm×長さ 100 mm
検出器	UV 495 nm
移動相	A: アセトニトリル B: 100 µmol/mL 酢酸アンモニウム水溶液 (90:10)
カラム温度	40 °C
注入量	10 µL
流速	0.5 ml/min

2.4 抗酸化能

2.4.1 DPPH法

須田ら¹⁰⁾の方法に準じ, DPPH ラジカル捕捉活性を測定し, 乾燥重量 1 g あたりの Trolox 相当量 (µmol TE/g 乾燥重量) として算出した. 分析試料は, 各試料 0.2 g に抽出

溶媒 (80%エタノール) 10 mL を加え一晩室温で回転振とうした後, 遠心分離 (10,000 rpm×10 min) で得られた上澄液を適宜希釈し用いた.

2.4.2 ORAC法

試料 0.5 g に n-ヘキサン-ジクロロメタン (1:1) 混液 10 mL を加え攪拌後, 遠心分離 (3,000 rpm×10 min) し, 上澄み液を回収した. さらに, 沈殿物に n-ヘキサン-ジクロロメタン (1:1) 混液を 10 mL 加えて, 上記と同様に攪拌, 抽出し上澄み液を回収した. 上澄み液を合わせロータリーエバポレーター (ヤマト科学製 RE500) を用いて濃縮乾固後, ジメチルスルホキシド 4 mL を加え再溶解した. 0.45 µm シリンジフィルターでろ過後, ジメチルスルホキシドで 5 mL に定容したものを L-ORAC (親油性抗酸化能) 分析試料とした.

続いて, 上記抽出後の残渣に, MWA 溶液 (メタノール: 蒸留水: 酢酸 (90:9.5:0.5)) 10 mL を加え攪拌後, 5 分間超音波抽出した. 10 分間静置し攪拌後, 遠心分離 (3,000 rpm×10 min) し, 上澄み液を回収した. さらに, 沈殿物に MWA 溶液を 10 mL 加えて, 上記と同様に攪拌, 抽出し上澄み液を回収した. 上澄み液を合わせた抽出液を 0.45 µm シリンジフィルターでろ過後, MWA 溶液で 25 mL に定容したものを H-ORAC (親水性抗酸化能) 分析試料とした.

ORAC 法による分析は, 渡辺ら^{11,12)}の方法を一部改変し行った. 96 穴マイクロプレートに適宜希釈した分析試料 35 µL, Fluorescein 溶液 (L-ORAC では 77.5 nmol/L, H-ORAC では 110.7 nmol/L) 115 µL を加え, 37 °C に保ったマルチモード・プレートリーダー (BioTex 製 Synergy HTX) を用い, 蛍光強度 (Em:485/20 nm, Ex:528/20 nm) を測定した. その後 AAPH 溶液を 50 µL 加え, 振とう攪拌し, 添加 2 分後から 2 分間隔で蛍光強度の経時変化を測定した (L-ORAC では 120 分間, H-ORAC では 90 分間). 総 ORAC 値は, L-ORAC および H-ORAC の合計値とし, 乾燥重量 1 g あたりの Trolox 相当量 (µmol TE/g 乾燥重) として算出した.

2.5 ポリフェノール含有量

ポリフェノール量は, 三重県科学技術振興センターの柿ポリフェノールの分析方法に準拠した¹³⁾. 分析試料は各試料 1.0 g に 70%メタノール 40 mL を加え 80 °C 10 分間抽出後, 遠心分離 (10,000 rpm×10 min) した上澄液を可用性ポリフェノールとし, その後 1%塩酸を加えた後, 70%メタノール 40 mL を加え 80 °C 30 分間抽出後, 遠心分離 (10,000 rpm×10 min) した上澄液を不溶性ポリフェノールとし, フォーリン・デニス法により 760 nm での吸光度を測定した.

2.6 遊離アミノ酸

分析条件を表 2, 分析可能な遊離アミノ酸数を表 3 に示す。(本分析法による分析可能な遊離アミノ酸数は 38 種類である.)

新・食品分析法¹⁴⁾の「75 %エタノールによるアミノ酸抽出法」に準拠し, 試料とした.

試料前処理として, Mixtube (1.4 mL 島津サイエンス) にアセトニトリル 50 μL, 試料 25 μL, 内部標準混合溶液として APDS タグ®ワコー用遊離アミノ酸内部標準混合液 No.1:No.2=6.5:0.5 を 25 μL 入れ攪拌し試料溶液とした.

試料溶液 10 μL に, APDS TAG®ワコー用ほう酸緩衝液 185 μL, 反応試薬遊離アミノ酸分析試薬 (LC-MS 用) APDS タグ®12 mg/ mL アセトニトリル溶液 5 μL を加えて, 60 °C で 5 分間, 誘導体化反応を行い, 4 μL を LC-MS に注入した.

標準混合溶液として遊離アミノ酸混合標準液 B 型, 遊離アミノ酸混合標準液 AN-II型, システイン酸, グルタミン, アスパラギン, トリプトファン, テアニン (すべて, 富士フィルム和光純薬 (株) 製) を混合し 500 ppm に用時調製し, これを 100 ppm, 10 ppm に段階希釈し, 検量線とした.

3. 結果及び考察

3.1 総アスコルビン酸の定量

試料概要および測定結果を表 4, 図 1 に示す.

試料は凍結真空乾燥粉末を測定したことから, 乾燥減量より水分率を求め, 新鮮重 100 g 当たりの値を算出し, 参考値として示した. (抗酸化能, 総ポリフェノール量も同様に算出し μmol TE/g 新鮮重及び g /100 g 新鮮重で示した.)

総アスコルビン酸含量は全体平均値で, つぼみ 500.1 mg/100 g 乾燥重 (128.1~984.8 mg/100 g 乾燥重), 花卉 508.7 mg/100 g 乾燥重 (101.6~869.3 mg/100 g 乾燥重), オシベ 345.3 mg/100 g 乾燥重 (96.9~543.2 mg/100 g) で, つぼみと花卉の含量に大きな差はなく, つぼみ, 花卉はオシベの 1.5 倍高い含量であった.

和シヤクヤクは平均値で, つぼみ 507.1 mg/100 g 乾燥重, 花卉 511.1 mg/100 g 乾燥重, オシベ 372.1 mg/100 g 乾燥重, 洋シヤクヤクは平均値で, つぼみ 437.9 mg/100 g 乾燥重, 花卉 485.3 mg/100 g 乾燥重, オシベ 306.2 mg/100 g 乾燥重を示し, 各部位で和シヤクヤク>洋シヤクヤクの傾向が見られたが有意な差はなく同程度の含有と考えられた.

表 2 遊離アミノ酸分析条件

機器	株式会社島津製作所製 LC-MS高速アミノ酸分析システム (UF-Amino Station)
カラム	Shim-pack UF-AMINO 2.1 mm×100 mm
移動相A	APDS TAG®ワコー用溶離液
移動相B	アセトニトリル
グラジエント条件	0 min (A:B=98:2) →0.01 min (A:B=94:6) →2 min (A:B=94:6) →6 min (A:B=70:30) →6.1 min (A:B=40:60) →7 min (A:B=40:60) →7.01 min (A:B=98:2)
流量	0.3 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	4 μL
イオン化	ESI positive
測定モード	SIM
DL温度	250 °C
ネプライザーガス流量	1.5 L/min
ヒートブロック温度	200 °C
ドラインガス流量	10 L/min

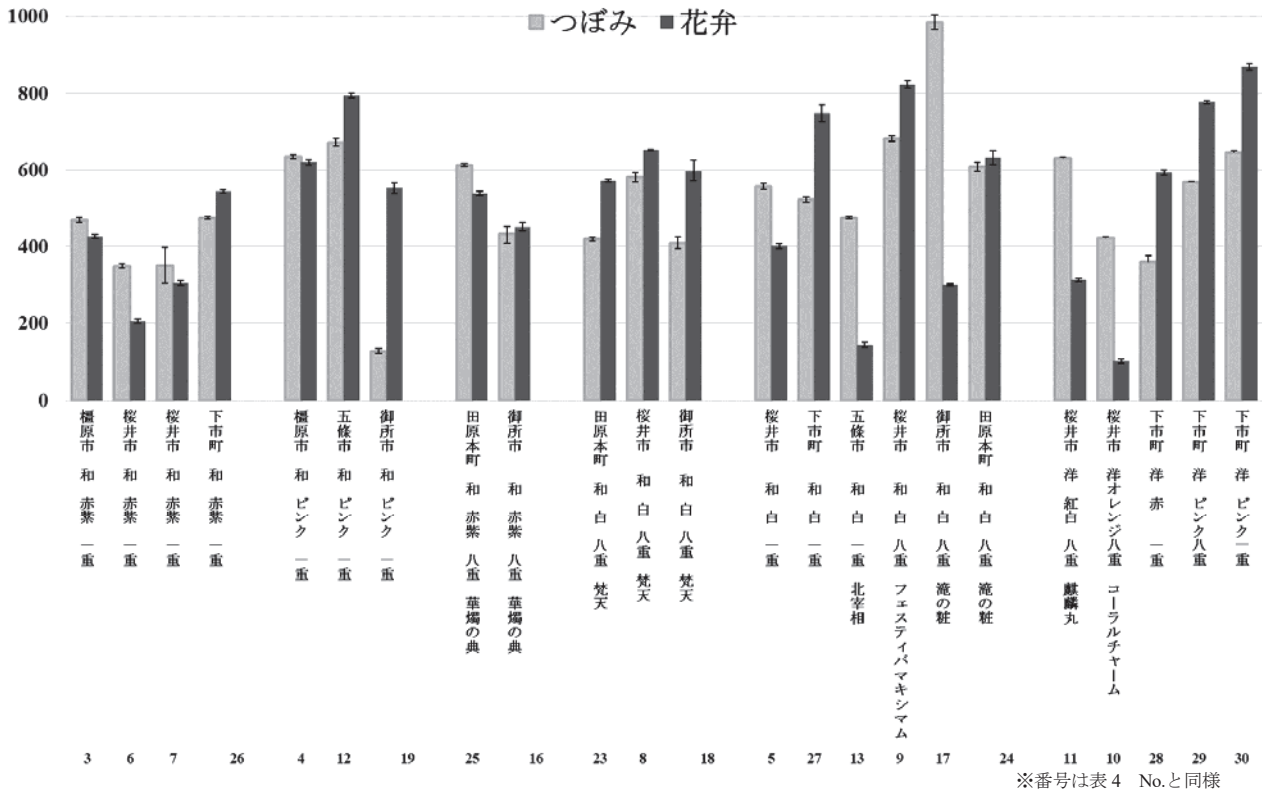
表 3 分析遊離アミノ酸

化合物名		m/z
1 CysAc	システイン酸	290.1
2 Asp	アスパラギン酸	254.1
3 Glu	グルタミン酸	268.1
4 a-AAA	α-アミノアジピン酸	282.1
5 HyPro	ヒドロキシプロリン	252.1
6 Asn	アスパラギン	253.1
7 Ser	セリン	226.1
8 Gly	グリシン	196.1
9 Gln	グルタミン	267.1
10 Sar	サルコシン	210.1
11 His	ヒスチジン	276.1
12 Tau	タウリン	246.1
13 Thr	スレオニン	240.1
14 Cit	シトルリン	296.1
15 Ala	アラニン	210.1
16 1-MetHis	1-メチルヒスチジン	290.1
17 Car	カルノシン	347.1
18 Arg	アルギニン	295.1
19 GABA	γ-アミノ酪酸	224.1
20 3-MetHis	3-メチルヒスチジン	290.1
21 Ans	アンセリン	361.1
22 b-AiBA	3-アミノイソ酪酸	224.1
23 Pro	プロリン	236.1
24 EtOHNH2	エタノールアミン	182.1
25 a-ABA	α-アミノ酪酸	224.1
26 Theanine	テアニン	295.1
27 Cysthi	シスチン	463.1
28 Cys2	シスチジン	481.1
29 Tyr	チロシン	302.1
30 Val	バリン	238.1
31 HyLys	ヒドロキシリジン	403.1
32 Met	メチオニン	270.1
33 Orn	オルニチン	373.1
34 Lys	リジン	387.1
35 Ile	イソロイシン	252.1
36 Leu	ロイシン	252.1
37 Phe	フェニルアラニン	286.1
38 Trp	トリプトファン	325.1

表 4 検体概要及びアスコルビン酸結果

No.	採取地	和洋	種別	採取年月日	花色	形状	Ascorbic acid mg/100 g 乾燥重 (n=3)			Ascorbic acid mg/100g 新鮮重 (n=3)		
							つぼみ	花弁	オシベ	つぼみ	花弁	オシベ
1	橿原市	和		2022.4.25	赤紫	一重	141.1± 0.0	—	—	43.5	—	—
2	橿原市	和		2022.4.25	ピンク	一重	468.6± 1.8	—	—	118.0	—	—
3	橿原市	和		2022.4.30	赤紫	一重	471.1± 6.1	425.4± 4.8	383.2± 2.7	114.5	74.8	77.5
4	橿原市	和		2022.4.30	ピンク	一重	635.2± 5.1	620.7± 7.4	286.0± 3.0	152.1	115.9	59.7
5	桜井市	和		2022.4.29	白	一重	557.7± 7.4	400.5± 7.0	378.7± 8.1	139.4	62.5	74.3
6	桜井市	和		2022.4.29	赤紫	一重	349.1± 6.1	205.3± 5.6	458.8± 5.6	84.4	33.3	82.6
7	桜井市	和		2022.5.5	赤紫	一重	351.0±46.8	305.3± 6.8	312.4±14.7	95.4	51.7	55.6
8	桜井市	和	梵天	2022.5.6	白	八重	581.8±13.1	653.3± 0.5	—	138.0	93.6	—
9	桜井市	和	フェスティバマキシマム	2022.5.6	白	八重	682.1± 7.1	824.2± 9.2	—	171.1	171.9	—
10	桜井市	洋	コーラルチャーム	2022.4.29	オレンジ	八重	421.0± 3.7	101.6± 4.8	96.9± 1.4	90.5	18.3	18.0
11	桜井市	洋	麒麟丸	2022.4.29	紅白絞り	八重	631.1± 4.3	312.7± 4.4	251.5± 9.7	130.3	55.7	42.6
12	五條市	和		2022.5.2	ピンク	一重	672.6±10.3	794.5± 6.2	427.4±21.8	169.8	181.6	110.4
13	五條市	和	北宰相	2022.5.2	白	一重	476.9± 3.3	144.4± 6.5	110.1± 0.4	130.3	29.2	25.7
14	御所市	和	梵天	2022.5.5	白	一重	408.9± 2.4	—	—	108.3	—	—
15	御所市	和		2022.5.5	ピンク	一重	384.1±15.7	—	—	96.3	—	—
16	御所市	和	華燭の典	2022.5.6	赤紫	八重	431.5±23.4	452.6±13.5	543.2± 6.6	146.5	125.5	191.3
17	御所市	和	滝の粧	2022.5.6	白	八重	984.8±18.6	300.1± 2.1	471.3±10.2	288.0	75.5	117.2
18	御所市	和	梵天	2022.5.11	白	八重	409.4±15.3	599.5±27.2	—	102.3	83.9	—
19	御所市	和		2022.5.11	ピンク	一重	128.1± 7.0	554.6±13.9	280.7±16.0	29.5	108.1	69.9
20	御所市	洋		2022.5.11	ピンク	翁	—	289.9± 5.8	165.3± 7.3	—	39.1	33.1
21	御所市	洋		2022.5.11	赤紫	八重	—	452.5±22.3	—	—	63.5	—
22	田原本町	和	梵天	2022.4.28	白	八重	598.2± 6.8	—	—	160.2	—	—
23	田原本町	和	梵天	2022.4.28	白	八重	418.8± 4.2	572.9± 3.0	—	120.8	81.9	—
24	田原本町	和	滝の粧	2022.4.28	白	八重	609.5±11.6	632.9±17.9	434.3± 4.9	152.4	142.7	91.2
25	田原本町	和	華燭の典	2022.4.28	ピンク	八重	613.4± 4.0	540.4± 5.2	—	163.6	76.6	—
26	下市町	和		2022.5.6	赤紫	一重	476.8± 3.9	545.2± 3.7	411.2± 6.3	122.9	135.8	99.4
27	下市町	和		2022.5.6	白	一重	524.0± 7.9	748.9±22.3	340.2± 5.2	131.3	172.1	93.2
28	下市町	洋		2022.5.2	赤	大輪一重	359.9±16.3	594.4± 6.1	457.8± 2.2	75.4	137.4	98.2
29	下市町	洋		2022.5.2	ピンク	大輪八重	569.1± 2.0	777.0± 4.0	438.5±10.7	114.9	100.5	124.9
30	下市町	洋		2022.5.2	ピンク	一重	646.2± 5.4	869.3± 9.6	427.0± 1.9	126.7	127.0	115.5
平均							500.1±170.7	508.7±214.1	345.3±125.6	125.6	94.3	83.2
和平均							507.1±163.9	511.1±206.5	372.1±109.6	129.5	100.9	88.3
洋平均							437.9±243.3	485.3±277.1	306.2±156.0	107.6	77.4	72.1

mg/100g乾燥重



※番号は表 4 No.と同様

図 1 つぼみ及び花弁の総アスコルビン酸結果

新鮮重 100 g に換算すると、全体平均値でつぼみは 125.6 mg、花弁 94.3 mg、オシベ 83.2 mg となり、これは花芽野菜でビタミン C が多いブロッコリー（生）140 mg/100 g、レモン（生）100 mg/100 g と同程度になる⁹⁾。凍結真空乾燥した場合は、生のレモンの摂取より約 4 倍高い含量での摂取が可能となり、シャクヤク花はビタミン C の優れた供給源と考えられる。

県内で多く栽培される生薬栽培用品種間における総アスコルビン酸含量（平均値）を比較したところ（図 2）、つぼみでは花色が赤紫の「華燭の典」が 552.5 mg/100 g 乾燥重で全体平均値 500.1 mg/100 g 乾燥重より高く、花弁では、ピンク一重種 656.6 mg/100 g 乾燥重、白色「梵天」608.6 mg/100 g 乾燥重で、全体平均値 508.7 mg/100 g 乾燥重より高い値を示したが、有意な差は見られなかった。「梵天」の開花した花弁は、つぼみより総アスコルビン酸含量が高く、栽培地域が異なっても同じ傾向が見られた。ピンク一重種のつぼみは、開花後期に採取したつぼみが低含量のため含量のばらつきが大きくなった。

生育による含量増減をみると、洋シャクヤクで、つぼみ<花弁になるものが多く、開花により花弁の総アスコルビン酸含量が高くなることが想定された。

この結果から、生薬栽培用、観賞用問わず、つぼみだけでなく開花後の花弁、オシベに高い含量で総アスコルビン酸（ビタミン C）の含有が確認され、食を含めた、つぼみ、花弁、オシベの部位拡大利用が可能と考えられる。

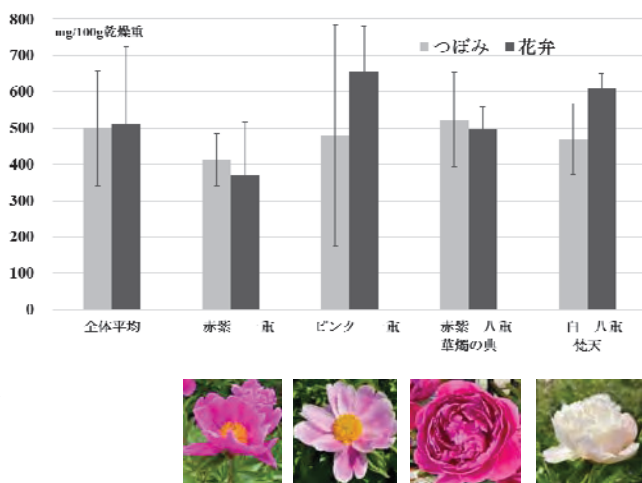


図 2 品種間の総アスコルビン酸測定結果

3.2 抗酸化能

3.2.1 DPPH法

測定結果を表 5、図 3 に示す。

つぼみは全体平均値で 4706.9 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (2505.5 ~ 9422.2 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重)、花弁 5666.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (1859.7 ~ 14875.2 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重)、オシベ 5284.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (2190.2 ~ 12986.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重) となり、

花弁はつぼみより 1.2 倍高い値を示した。

和シャクヤクは平均値で、つぼみ 4666.2 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、花弁 5475.9 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、オシベ 4665.4 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重で、抗酸化能は花弁 > つぼみ = オシベとなった。

洋シャクヤクは平均値で、つぼみ 4894.2 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、花弁 6155.0 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、オシベ 6727.8 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重を示し、抗酸化能はオシベ > 花弁 > つぼみとなり、洋シャクヤクはオシベの抗酸化能が最も高かった。花弁の抗酸化能は洋シャクヤク > 和シャクヤクを示した。

これらの結果は既報⁹⁾と同様、花弁はつぼみより高い抗酸化能を有し、県内各地域で採取したシャクヤクのつぼみ及び花弁の抗酸化能の最大値は、果物で抗酸化能が高いブルーベリー 1189 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重量¹⁵⁾の 8 ~ 13 倍の抗酸化能を有することが判明した。

総アスコルビン酸と DPPH ラジカル捕捉活性について t 検定により相関性を確認したところ、つぼみ、花弁、オシベとも有意な相関性は確認できなかった。

3.2.2 ORAC法

測定結果を表 6、図 4 に示す。

総 ORAC 値は、全体平均値でつぼみは 1753.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (954.4 ~ 4447.6 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重)、花弁 1747.9 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (975.2 ~ 4570.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重)、オシベ 1275.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重 (324.2 ~ 2218.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重) となり、つぼみと花弁の抗酸化能は同程度で、つぼみと花弁はオシベの 1.5 倍高い値を示した。

和シャクヤクは、平均値でつぼみ 1826.6 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、花弁 1796.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、オシベ 1264.6 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重で抗酸化能は、つぼみ > 花弁 > オシベとなった。

洋シャクヤクは、平均値でつぼみ 1415.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、花弁 1622.4 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重、オシベ 1301.6 $\mu\text{mol TE/g}$ 乾燥重で抗酸化能は、花弁 > つぼみ > オシベとなった。

シャクヤクのつぼみ、花弁、オシベの総 ORAC 値には親水性画分の寄与が高く、特に花弁は 85 % 以上の寄与が見られ、各個体の差異は主に H-ORAC 値に由来するところが大きかった。(図 4)

結果よりシャクヤク花の総 ORAC 値は DPPH ラジカル捕捉活性の半分程度の抗酸化能を示し、両者の測定値に相関性は認められなかった。

ORAC 法は水素原子供与反応で DPPH 法は電子供与反応による反応で抗酸化能を評価しており反応機構が異なることと、多くのフラボノイドやフェニルプロパノイドのうち、オルトジフェノール構造やオルトトリフェノール構造を持たない化合物は DPPH ラジカルをほとんど消去せず、ORAC 法では抗酸化能を示すことから、DPPH 法ではフェ

ノール性水酸基が隣合う位置にある化合物では高い活性が見られるが、ORAC 法では顕著な構造活性相関は見られない報告がある⁸⁾。このことからシャクヤク花中の抗酸化に関わる成分の影響により、今回の結果を示したと想定した。

また、総アスコルビン酸と ORAC 法による抗酸化能について t 検定により相関性を確認したところ、つぼみ、花弁、オシベとも有意な相関性は確認できなかった。

アスコルビン酸標準品の H-ORAC 値が 3518±39 μmol TE/g となる研究結果¹⁶⁾より、測定値のアスコルビン酸含量からアスコルビン酸の寄与率を計算すると、つぼみ、花弁、オシベとも 5%以下になり、H-ORAC 値にはアスコルビン酸以外の成分の寄与が大きいと考えられた。

3.2.3 総ポリフェノール量

活用が多く考えられるつぼみと花弁の総ポリフェノールの結果を表 7 に示す。

つぼみは和シャクヤク 14.4~36.9 g/100 g 乾燥重、洋シャクヤク 13.3~30.3 g/100 g 乾燥重、花弁は和シャクヤク 11.4~40.0 g/100 g 乾燥重、洋シャクヤク 19.3~41.5 g/100 g 乾燥重を示し、つぼみと花弁に大きな差はなかった。食用花の花弁でポリフェノールが多い赤系バラで 14.8 g/100 g¹⁷⁾であることから、奈良県産シャクヤクつぼみ、花弁についても同様にポリフェノールを含む素材であることを既報⁴⁾と同様に確認できた。

抗酸化能との相関性を t 検定により確認したところ、花弁の総ポリフェノール量と DPPH ラジカル捕捉活性は $r=0.44$ ($p<0.05$) で、総 ORAC 値では $r=0.46$ ($p<0.05$) となり、弱い正の相関性が確認された。抗酸化能を測定した DPPH 法及び ORAC 法と総ポリフェノール含有量の相関が弱いことから、ポリフェノール以外の他の成分が抗酸化能に影響を及ぼしていることが考えられた。

今後、ポリフェノールを含めた抗酸化能にかかわる含有成分分析が必要と考えられる。

3.2.4 遊離アミノ酸量

シャクヤク花中に遊離アミノ酸として、アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)、 α -アミノアジピン酸 (a-AAA)、ヒドロキシプロリン (HyPro)、アスパラギン (Asn)、セリン (Ser)、グリシン (Gly)、グルタミン (Gln)、サルコシン (Sar)、ヒスチジン (His)、スレオニン (Thr)、Cit (シトルリン)、アラニン (Ala)、1-メチルヒスチジン (1-MetHis)、アルギニン (Arg)、 γ -アミノ酪酸 (GABA)、3-メチルヒスチジン (3-MetHis)、3-アミノイソ酪酸 (b-ABA)、プロリン (Pro)、エタノールアミン (EtOHNH₂)、 α -アミノ酪酸 (a-ABA)、チロシン (Tyr)、メチオニン (Met)、バリン (Val)、オルニチン (Orn)、リジン (Lys)、ロイシン (Leu)、イソロイシン (Ile)、フェニルアラニン (Phe)、トリプトファン (Trp) の 30 種類の

遊離アミノ酸の含有を確認した。特に含有量が多いグルタミン、アスパラギン、プロリン、アラニン、GABA、グルタミン酸、セリンの測定結果を表 8、図 5 に示す。

測定した 30 種の遊離アミノ酸の含有量合計 (全体平均値) からオシベ 1333.2±596.6 mg/100 g 乾燥重、つぼみ 1013.5±485.0 mg/100 g 乾燥重、花弁 194.2±87.3 mg/100 g 乾燥重となり、開花により花弁部分の含有量が減少し、オシベとつぼみの遊離アミノ酸の含有量は花弁の 5 倍以上高いことが判明した。

さらにグルタミン、アスパラギン、プロリン、GABA、セリンは洋シャクヤクが和シャクヤクより高い含有量になる傾向を示した。

コラーゲンの主要構成アミノ酸の一つであるプロリン¹⁸⁾は、全体平均値でつぼみ 132.2±140.1 mg/100 g 乾燥重、オシベ 94.9±86.0 mg/100 g 乾燥重、花弁は 7.1±3.7 mg/100 g 乾燥重を示し、つぼみは花弁の 18 倍の含量が見られた。特に洋シャクヤクでは、つぼみは花弁の 25 倍の含有量を示した。つぼみはしゅんぎく (生) のプロリン含有量 120 mg/100 g¹⁹⁾と同程度になる。

また、ストレスの軽減や血圧抑制、睡眠の質の向上が期待できると言われている GABA^{18,20)}は、つぼみ 92.8±60.4 mg/100 g 乾燥重、オシベ 103.0±47.8 mg/100 g 乾燥重、花弁 17.3±6.6 mg/100 g 乾燥重となり、花弁はつぼみの 1/5 の含有量であった。つぼみやオシベは GABA の含有量が多いトマト (ホール缶) 95 mg/100 g²¹⁾と同程度の含有量になった。

これらの結果から、生薬用、観賞用問わずシャクヤク花から肌に良いプロリンや、リラックス効果や睡眠の質向上に寄与する GABA などを摂取することができる。使用目的により部位の使い分けをすることが、より効率的で望ましいと考える。

表 5 DPPH法結果

No.	抗酸化 μmol TE/g乾燥重 (n=3)			抗酸化 μmol TE/g新鮮重		
	つぼみ	花卉	オシベ	つぼみ	花卉	オシベ
1	4109.5± 234.0	—	—	1268.0	—	—
2	5255.5± 358.9	—	—	1323.0	—	—
3	2714.6± 169.0	6029.0± 629.2	5932.2± 127.3	660.0	1060.0	1199.0
4	6041.2±1009.5	4356.1± 108.5	2824.9± 96.4	1447.0	813.0	589.0
5	6089.7± 229.0	3693.6± 441.6	7787.3± 208.7	1522.0	576.0	1528.0
6	9422.2± 163.4	6833.7± 102.8	5430.9± 385.6	2278.0	1107.0	978.0
7	3352.2± 75.3	8353.5± 531.9	3023.1± 29.8	911.0	1414.0	538.0
8	5326.7± 434.0	6567.8± 485.4	—	1264.0	941.0	—
9	2505.5± 437.5	1859.7± 71.3	—	628.0	388.0	—
10	3575.1±1572.0	5354.3± 205.5	8475.8± 592.7	769.0	964.0	1578.0
11	7347.4± 841.4	7296.7± 599.6	6374.6± 837.5	1517.0	1299.0	1080.0
12	4549.4± 718.9	2080.4± 140.2	2884.6± 113.1	1148.0	476.0	745.0
13	3906.3± 692.8	3526.1± 420.3	7344.0± 200.5	1067.0	714.0	1712.0
14	4427.1± 554.1	—	—	1172.0	—	—
15	4261.4± 183.5	—	—	1068.0	—	—
16	2927.7± 178.4	6273.5± 714.4	3911.4± 516.2	994.0	1739.0	1377.0
17	3121.1± 314.6	3566.4± 231.5	6386.5± 195.3	913.0	897.0	1589.0
18	2592.3± 189.9	4825.8± 194.5	—	648.0	676.0	—
19	5168.9± 34.2	5437.9± 554.9	6303.4± 347.5	1189.0	1060.0	1571.0
20	—	2150.0± 165.7	12986.7±1638.7	—	290.0	2597.0
21	—	2972.0± 20.4	—	—	417.0	—
22	4307.5± 58.9	—	—	1154.0	—	—
23	5147.6± 243.9	2619.9± 60.7	—	1485.0	375.0	—
24	5613.8±1480.4	2347.5± 301.1	2289.3± 70.8	1403.0	529.0	481.0
25	6211.1± 168.2	14875.2± 462.2	3701.7± 562.9	1656.0	2107.0	370.0
26	6873.4±1148.2	10094.6± 951.1	3757.1± 142.5	1772.0	2514.0	908.0
27	3397.3± 436.3	5226.0± 628.4	3739.3± 700.8	851.0	1201.0	1025.0
28	4115.2± 547.0	7950.9± 951.4	4813.6± 155.6	863.0	1838.0	1032.0
29	4513.9± 186.5	5646.1± 117.9	5525.9± 149.3	911.0	730.0	1574.0
30	4919.4± 437.6	11715.0± 46.1	2190.2± 54.2	965.0	1712.0	592.0
平均	4706.9±1580.7	5666.1±3173.4	5284.1±2603.2			
和平均	4666.2±1634.0	5475.9±3225.4	4665.4±1815.3			
洋平均	4894.2±1458.6	6155.0±3227.8	6727.8±3689.2			

※No.は表 4と同じ

表 6 ORAC法 結果

No.	総ORAC μmol TE/g 乾燥重 (n=3)			総ORAC μmol TE/g 新鮮重			L-ORAC μmol TE/g 乾燥重 (n=3)			H-ORAC μmol TE/g 乾燥重 (n=3)			
	つぼみ	花卉	オシベ	つぼみ	花卉	オシベ	No.	つぼみ	花卉	オシベ	つぼみ	花卉	オシベ
1	1426.4± 82.2	—	—	440.0	—	—	1	314.0± 82.3	—	—	1112.4± 3.8	—	—
2	2037.6±162.1	—	—	513.0	—	—	2	221.5± 4.1	—	—	1816.1±162.5	—	—
3	2984.6±135.9	4570.7± 52.0	2218.7± 8.2	726.0	804.0	448.0	3	194.1± 17.7	74.4± 5.2	125.0± 0.0	2790.5±148.7	4496.3± 56.3	2093.7± 8.2
4	2490.0±309.0	2505.8±297.5	1651.9± 6.9	596.0	468.0	344.0	4	208.1± 33.9	77.4± 4.7	27.5± 1.5	2281.9±291.2	2428.4±302.2	1624.4± 6.2
5	2221.3±111.7	975.2 ± 38.3	1005.2± 14.8	555.0	152.0	197.0	5	64.8± 10.1	98.9± 4.4	119.3±15.1	2156.5±114.1	876.3± 34.7	885.9± 21.1
6	1721.5± 74.4	1528.1± 16.0	1043.0± 52.7	416.0	248.0	188.0	6	829.2± 71.9	26.0± 3.7	162.3±27.9	892.3± 67.0	1502.1± 15.8	880.7± 25.1
7	1093.6± 43.9	2394.2± 84.7	1209.1± 34.5	297.0	405.0	215.0	7	46.5± 2.7	169.2±20.0	165.0±10.1	1047.1± 46.6	2225.0± 67.3	1044.1± 26.1
8	1451.3± 62.5	1924.0±237.1	—	344.0	276.0	—	8	96.5± 12.5	45.7±10.8	—	1354.8± 72.3	1878.3±229.2	—
9	1554.9± 6.3	1140.1±323.0	—	390.0	238.0	—	9	412.9± 10.9	42.1± 3.9	—	1142± 6.0	1098.0±326.2	—
10	954.4 ± 15.1	1305.2± 38.7	1152.2± 9.8	205.0	235.0	215.0	10	44.7± 3.6	61.0± 8.2	163.7±13.8	909.7± 12.6	1244.2± 31.7	988.5± 5.3
11	2155.8± 4.6	1742.6±202.6	913.8± 15.5	445.0	310.0	155.0	11	35.2± 0.7	68.7± 3.1	224.7±29.8	2120.6± 4.5	1673.9±199.5	689.1± 14.9
12	1551.4± 48.1	1865.9± 68.6	1062.4± 15.3	392.0	426.0	274.0	12	70.3± 8.0	92.0±15.7	143.6± 8.3	1481.1± 43.4	1773.9± 69.3	918.8±233.1
13	1416.6± 52.4	1205.8±107.3	1433.8± 92.6	387.0	244.0	334.0	13	50.3± 3.3	80.0±10.7	352.7±70.5	1366.3± 49.2	1125.8±117.5	1081.1± 22.4
14	1169.4±122.0	—	—	310.0	—	—	14	31.6± 1.0	—	—	1137.8±122.9	—	—
15	1350.5± 4.3	—	—	339.0	—	—	15	62.3± 4.5	—	—	1288.2± 2.7	—	—
16	2175.5±113.4	2095.4±113.7	1572.7± 7.8	739.0	581.0	554.0	16	85.1± 28.5	247.2±33.2	132.3±19.0	2090.4± 92.6	1848.2±146.3	1440.4± 21.1
17	156.01± 31.3	1437.0± 21.2	1167.6± 41.9	457.0	361.0	290.0	17	112.3± 24.3	125.0± 0.0	81.7±10.7	1448.7± 37.3	1312.0± 21.2	1085.9± 31.2
18	1503.4± 54.9	1189.2± 82.5	—	376.0	166.0	—	18	36.6± 13.4	38.5± 2.0	—	1466.8± 68.2	1150.7± 82.0	—
19	1328.9±110.1	1495.2±205.7	1183.0± 75.3	306.0	291.0	295.0	19	116.5± 15.6	65.7±14.7	89.0±30.5	1212.4±125.7	1429.0±201.5	1094.0± 49.0
20	—	1383.4± 12.8	1894.9±115.4	—	187.0	379.0	20	—	205.3±48.0	205.7±24.0	—	1178.1± 57.0	1689.2± 92.4
21	—	1478.9±292.2	—	—	208.0	—	21	—	175.8±37.8	—	—	1303.1±265.1	—
22	4447.6± 46.9	—	—	1191.0	—	—	22	177.2± 18.1	—	—	4270.4± 54.4	—	—
23	2111.3± 4.9	1478.4± 75.8	—	609.0	211.0	—	23	112.6± 4.0	26.7± 2.0	—	1998.7± 1.6	1451.7± 74.1	—
24	1885.2±298.1	1707.0± 48.9	1065.5± 20.1	471.0	385.0	224.0	24	113.8± 7.5	87.6±20.1	74.0± 9.1	1771.4±304.6	1619.4± 48.2	991.5± 11.7
25	1535.1± 163.3	1973.2± 82.6	324.2± 4.0	409.0	280.0	32.0	25	97.4± 9.1	157.1±16.5	153.1± 1.3	1437.7±154.6	1816.1± 98.7	171.1± 3.3
26	1688.8± 34.8	1549.6± 46.1	1337.2± 42.2	435.0	386.0	323.0	26	165.1± 41.4	42.3± 3.6	160.0±17.8	1523.7± 6.7	1507.3± 47.5	1177.2± 56.2
27	1306.7±104.3	1305.6± 62.5	1430.1± 38.4	327.0	300.0	392.0	27	89.3± 11.0	60.6± 5.7	186.8± 9.3	1217.4± 93.9	1245.0± 60.0	1243.3± 34.2
28	1326.6± 26.9	2135.6± 73.7	1137.4± 32.8	278.0	494.0	244.0	28	48.3± 1.7	59.7± 1.9	149.5±13.7	1278.3± 27.3	2075.9± 75.1	987.9± 19.6
29	1333.9± 37.3	1583.7± 6.1	1407.0±105.6	269.0	205.0	401.0	29	42.2± 0.9	38.4± 1.4	297.9±78.1	1291.7± 37.9	1545.3± 6.2	1109.1± 27.5
30	1304.6± 18.6	1727.1± 28.3	1304.4± 27.6	256.0	252.0	353.0	30	276.7± 29.2	62.1± 3.1	156.2±13.1	1027.9± 18.1	1665.0± 31.4	1148.2± 34.4
平均	1753.1±698.2	1747.9±702.6	1275.7±389.7				平均	148.4±163.1	89.1±58.6	158.5±73.8	1604.7±697.5	1658.8±698.5	1117.2±393.9
和平均	1826.6±728.6	1796.7±812.6	1264.6±422.2				和平均	161.2±172.3	86.5±63.1	140.9±74.9	1665.4±731.2	1710.2±772.8	1123.7±429.9
洋平均	1415.1±443.7	1622.4±279.5	1301.6±335.5				洋平均	89.4±104.8	95.9±62.0	199.6±56.6	1325.6±473.6	1526.5±293.8	1102.0±329.7

※No.は表 4と同じ

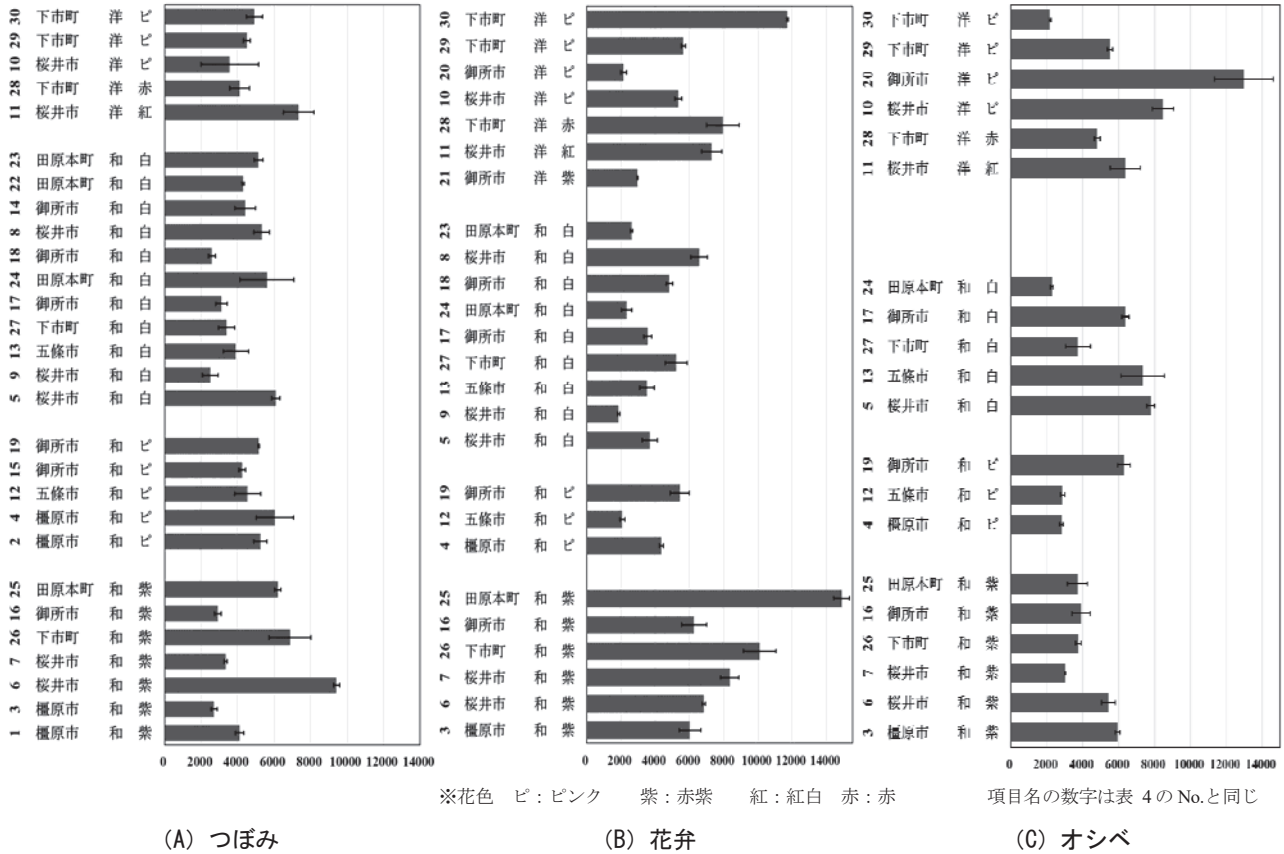


図 3 DPPHラジカル補足活性結果 (Trolox 相当量 μmol/g 乾燥重)

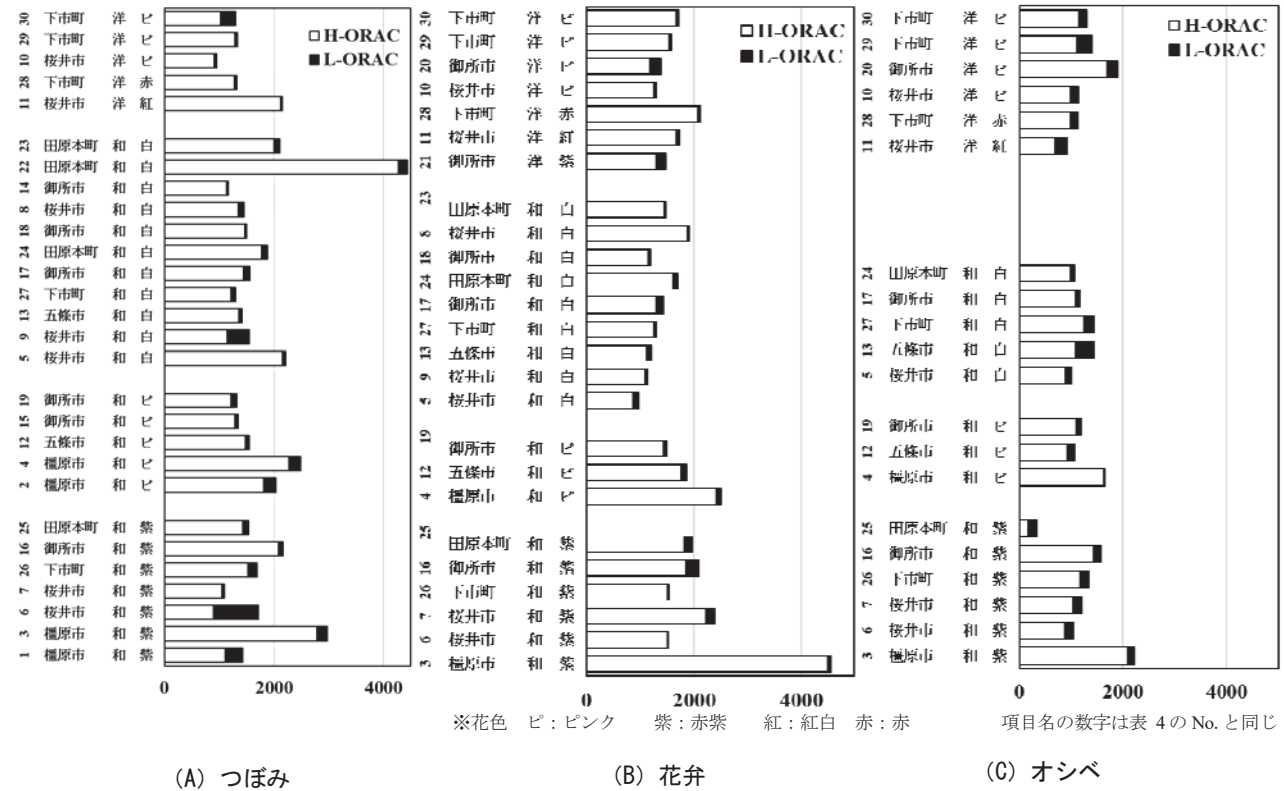


図 4 総ORAC値結果 (Trolox 相当量 μmol/g 乾燥重)

表 7 総ポリフェノール含量結果

No.	g/100 g 乾燥重 (n=3)		g/100 g 新鮮重	
	つぼみ	花卉	つぼみ	花卉
1	15.8±0.4	—	4.0	—
2	20.5±0.3	—	6.0	—
3	16.5±0.3	36.3±0.6	4.0	7.0
4	16.4±0.2	39.8±2.3	8.0	7.0
5	19.3±0.5	28.9±1.6	7.0	6.0
6	22.5±0.3	39.3±0.7	5.0	6.0
7	14.4±0.3	37.2±2.2	6.0	6.0
8	29.8±1.4	39.7±0.8	7.0	5.0
9	17.7±1.7	11.4±0.4	4.0	8.0
10	23.5±2.0	34.1±0.9	4.0	7.0
11	30.3±1.0	34.7±7.0	6.0	6.0
12	23.8±4.1	40.0±1.6	6.0	8.0
13	28.5±2.6	18.5±0.5	6.0	7.0
14	31.1±1.9	—	0.0	—
15	36.9±9.5	—	9.0	—
16	32.8±2.1	39.7±0.9	10.0	8.0
17	31.7±1.5	15.6±0.4	9.0	7.0
18	29.5±1.2	27.7±3.1	5.0	4.0
19	26.1±0.6	25.7±0.5	7.0	5.0
20	—	19.3±1.0	—	4.0
21	—	33.0±3.4	—	4.0
22	28.2±0.5	—	0.0	—
23	28.2±0.6	37.5±0.9	8.0	3.0
24	20.7±0.2	27.0±3.8	8.0	4.0
25	21.0±0.3	37.6±2.2	5.0	2.0
26	33.9±1.9	32.5±0.8	10.0	0.0
27	30.7±1.3	29.3±2.3	8.0	0.0
28	13.3±0.1	41.5±1.9	6.0	0.0
29	29.2±0.9	30.0±1.1	4.0	0.0
30	22.8±4.6	33.4±1.3	3.0	0.0
平均	24.8±6.5	31.6±8.3		
和平均	25.0±6.6	31.3±9.2		
洋平均	23.8±6.8	32.3±6.7		

※No.は表 4と同じ

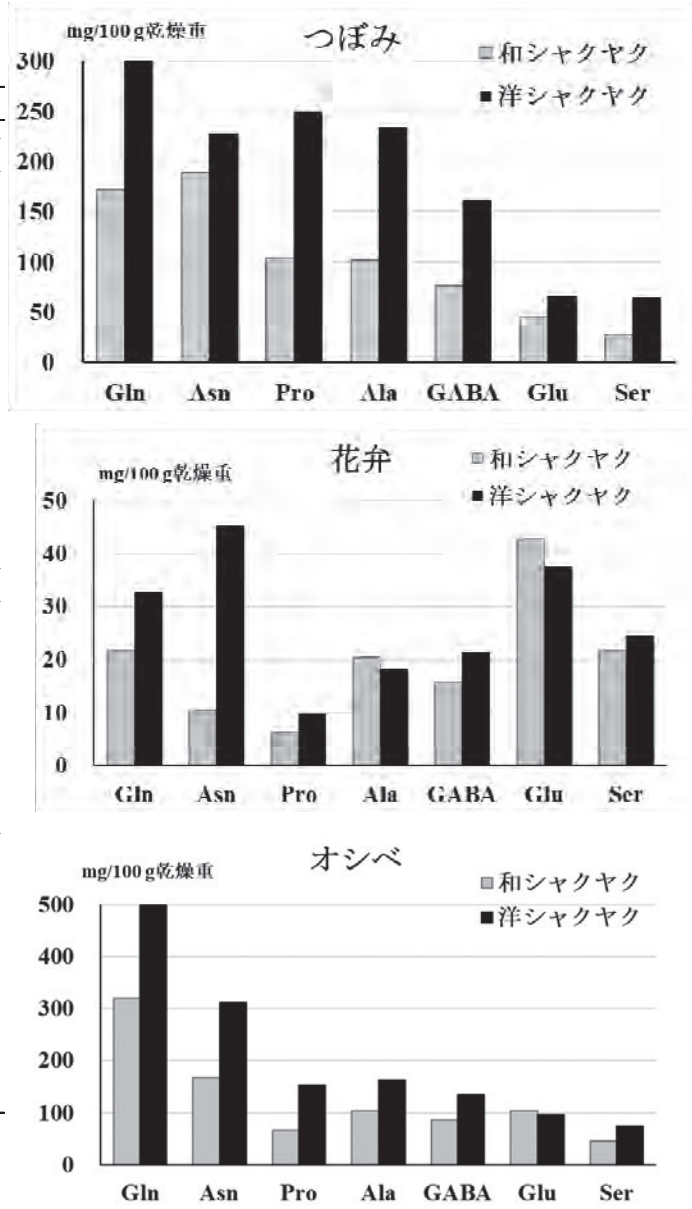


図 5 部位別遊離アミノ酸含有量

表 8 遊離アミノ酸含量結果

単位: mg/100 g 乾燥重 (n=3)

	つぼみ			花卉			オシベ		
	全体平均	和	洋	全体平均	和	洋	全体平均	和	洋
グルタミン (Gln)	197.6 ± 103.3	172.1 ± 97.1	304.6 ± 43.2	24.7 ± 19.1	21.7 ± 14.5	32.7 ± 28.1	379.2 ± 189.1	319.5 ± 133.4	498.5 ± 238.2
アスパラギン (Asn)	197.4 ± 232.9	190.0 ± 258.4	228.5 ± 61.4	19.9 ± 40.9	10.4 ± 6.9	45.3 ± 76.2	215.6 ± 127.8	167.7 ± 77.6	311.4 ± 160.6
プロリン (Pro)	132.2 ± 140.1	104.1 ± 114.9	250.0 ± 187.4	7.1 ± 3.7	6.1 ± 3.1	9.9 ± 4.2	94.9 ± 86.0	66.0 ± 20.2	152.8 ± 135.0
アラニン (Ala)	127.6 ± 91.3	102.2 ± 74.2	234.0 ± 84.0	19.8 ± 11.3	20.4 ± 11.9	18.3 ± 10.4	123.6 ± 63.8	104.1 ± 51.3	162.7 ± 72.9
γ-アミノ酪酸 (GABA)	92.8 ± 60.4	76.1 ± 46.0	162.8 ± 68.2	17.3 ± 6.6	15.8 ± 5.5	21.5 ± 8.2	103.0 ± 47.8	87.1 ± 32.7	134.7 ± 59.9
グルタミン酸 (Glu)	49.4 ± 27.7	45.3 ± 27.8	66.8 ± 21.1	41.4 ± 19.6	42.8 ± 18.8	37.5 ± 23.0	101.5 ± 43.5	104.5 ± 40.3	95.7 ± 52.8
セリン (Ser)	35.8 ± 20.3	28.6 ± 12.1	65.9 ± 20.8	22.5 ± 13.1	21.7 ± 14.9	24.7 ± 7.2	55.1 ± 25.7	45.6 ± 15.9	74.2 ± 32.1
測定遊離アミノ酸含有量合計	1013.5 ± 483.0	869.7 ± 396.0	1617.4 ± 348.7	194.2 ± 87.3	182.3 ± 71.2	226.0 ± 122.9	1333.2 ± 596.6	1101.8 ± 342.3	1795.9 ± 750.4

4. 結言

本研究での主な結果は次のとおりである。

- (1) 奈良県産シャクヤクに総アスコルビン酸（ビタミン C）が、つぼみ 500.1 mg/100 g 乾燥重、花卉 508.7 mg/100 g 乾燥重、オシベ 345.3 mg/100 g 乾燥重（各平均値）の含有が判明した。地域が異なる品種差の検証では成分含量に有意な差はなく、シャクヤク花は生薬栽培用や、観賞用にかかわらず、ビタミンCの供給源として有望である。
- (2) シャクヤク花の抗酸化能は DPPH 法および ORAC 法測定により抗酸化能が高いことが示された。総ポリフェノール含量とは弱い相関があり、ポリフェノールを含む他の成分が抗酸化能に影響していることが示唆された。
- (3) シャクヤク花の各部位に遊離アミノ酸のグルタミン、アスパラギン、プロリン、アラニン、GABA、グルタミン酸、セリン等が含有されることから、機能性素材としてリラックス効果や睡眠の質向上、肌の保湿にかかる化粧品などへの使用拡大が期待できる。

謝辞

本研究にあたり、検体を提供いただいた佐藤薬品工業株式会社、田村薬品工業株式会社、薬王製薬株式会社、奈良県立磯城野高等学校、万葉の楽園協議会、株式会社前忠、福田商店、さんろく自然塾うめだファーム、辻元康人氏、奈良県果樹・薬草研究センター、奈良県薬事研究センターに深謝いたします。

参考文献

- 1) 柴田敏郎, シャクヤクの薬用品種育成について, 特産種苗, 公益財団法人日本特産農作物種苗協会, 16, 24-27, 2013
- 2) 福田真三, 芍薬の生産と資源, 現代東洋医学, 12(4), 77-85, 1991
- 3) 厚生省薬務局監修, "薬用植物栽培と品質評価 Part 3", pp.45-56, 薬事日報社, 東京, 1994
- 4) 立本行江, 首藤明子, 西原正和, 奈良県産シャクヤク花中の機能成分の評価について, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.48, 15-22, 2022
- 5) 香川明夫監修, 八訂食品成分表 2021, 女子栄養大学出版部, 2021
- 6) Macready, A. L., T. W. George, M. F. Chong, D. S. Alimbetov, Y. Jin, A. Vidal, J. P. Spencer, O. B. Kennedy, K. M. Tuohy, A. M. Minihane, M. H. Gordon and J. A. Lovegrove 2014. Flavonoid-rich fruit and vegetables improve microvascular reactivity and inflammatory status in men at risk of cardiovascular disease--FLAVURS: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 99: 479-489
- 7) Feng J. He *et al.*: Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies, *Lancet*, 367(9507), 320-326, 2006
- 8) 渡辺純, 沖智之, 竹林純, 山崎光司, 津志田藤二郎, 食品の抗酸化能測定法の統一化を目指して, 化学と生物, 47(4), 237-243, 2009
- 9) 衛生試験法・注解, 金原出版株式会社, 日本薬学会編, 244-246, 2010
- 10) 須田郁夫, 抗酸化機能; 食品機能研究法, 光琳, 218-223, 2000
- 11) 渡辺純, 箭田浩士, 沖智之, 竹林純, L-ORAC 分析法標準作業手順, 食品機能性評価マニュアル (IV)
- 12) 渡辺純, 沖智之, 竹林純, H-ORAC 分析法標準作業手順, 食品機能性評価マニュアル (IV)
- 13) 西川豊, 前川哲男, 伊藤寿: 共同研究報告書「県内農水産物への機能性成分賦与・強化による健康食品の開発」三重県科学技術振興センター, p17-22
- 14) (社) 日本食品科学工業会 新・食品分析法編集委員会編, 新・食品分析法, 499-501, 光琳, 1996
- 15) 木村英生, 樋口かよ, 小島匡人, 橋本卓也, 地域特産物の抗酸化力向上に関する研究, 山梨県工業技術センター研究報告 No.25, 64-67, 2011
- 16) 阿部大吾, キウイフルーツの品種及び成熟段階の違いが抗酸化成分に及ぼす影響, 近畿中国四国農業研究センター研究報告 15, 35-48, 2016
- 17) 立山千草, 本間伸夫, 並木和子, 内山武夫, 食用花卉に含まれるポリフェノール含有量と抗酸化活性, 日本食品化学工学会誌, 44(4), 290-299, 1997
- 18) 味の素株式会社編, アミノ酸ハンドブック, p170, 株式会社工業調査会, 2003
- 19) 日本食品標準成分表 (八訂) 増補 2023 年, 文部科学省
- 20) 佐々木泰弘, 河野元信, ギャバ (GABA) の効能と有効摂取量に関する文献的考察, 美味技術研究会誌, No.15, 32-37, 2010
- 21) 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門, 機能性成分含有量データ, https://www.naro.go.jp/laboratory/nfri/contents/ffdb/ffdb_pdf/vegetables.pdf