

キハダの葉と実の有効活用の検討（第四報）

首藤 明子^{*1)}，大橋 正孝^{*1)}，立本 行江^{*1)}

The Consideration of Effective Use of leaves and fruits of *Phellodendron amurense* (4th Report)

SHUTO Akiko^{*1)}，OHASHI Masataka^{*1)}，TATSUMOTO Yukie^{*1)}

キハダの未利用部位で，食利用が可能な葉と実を活用するために，これまでキハダの葉や実に含まれる栄養成分や機能性成分の含有量を報告してきた。本報では，これまでに採取した2019年～2022年のキハダの葉と実に含まれる遊離アミノ酸含有量を報告する。遊離アミノ酸の中で，機能性アミノ酸として，ストレスの軽減等の向上効果が期待できるγ-アミノ酪酸（GABA）が，葉には 41.2 ± 30.3 mg/100 g，実には 61.9 ± 32.0 mg/100 g含まれていた。また，甘味を呈するアラニンが葉には 28.4 ± 16.1 mg/100 g，実には 82.6 ± 56.8 mg/100 g含まれていた。これらの結果から，葉や実を食することによって，機能性アミノ酸の摂取が期待できる。

1. 緒言

キハダは，ミカン科キハダ属の落葉高木で，内皮はオウバクという生薬として，胃腸薬等，生薬製剤に広く使用されているが，既に食薬区分で食用可となっている葉と実はこれまで一般的な需要がなかった。最近では，キハダを使用した商品が少しずつ増加している。また，キハダの実（乾燥）そのものも販売されるようになった。

しかし，食用可能なキハダの葉や実の研究事例がまだ少ないことから，我々は第一報^{1,2,3)}より葉や実に含まれる栄養成分の分析等を行ってきた。

今回，これまでに採取したキハダの葉と実に含まれる遊離アミノ酸含有量を測定した。近年，機能性アミノ酸が注目され健康食品等に利用されていることから，キハダにも何らかの機能性アミノ酸が多く含有していれば，今後一般的な食品や飲料だけでなく，サプリメント等の健康食品への展開，つまり用途の拡大が期待できる。

2. 実験方法

2.1 試料

測定に使用した葉と実を表1に示す。2019年～2022年に県内各地で採取したものである。採取後，水洗し家庭用の水切り器にかけた後，広げて軽く水分を拭き取った。-20℃で2～3日間程度冷凍した後，凍結真空乾燥機（日本真空技術株式会社製 DF2-01H型）及び凍結乾燥機（東京理化学株式会社製 EYELA FDU-2100）で，約3日間乾燥（真

空度0.1 Torr以下，加熱温度25℃）し，乾燥物を粉砕器（輸入発売元株式会社東京ユニコム T-429）を用いて粉砕し，500 μmのふるいを通過したものを検体とした。

2.2 分析方法

新・食品分析法⁴⁾の「75%エタノールによるアミノ酸抽出法」に準拠して，前処理を行った。

アミノ酸混合標準液B型，アミノ酸標準液AN-II型，L(+)-グルタミン（試薬特級），L-アスパラギン-水和物（試薬特級），L-トリプトファン（試薬特級），L-テアニン，L-システイン酸（和光特級），いずれも富士フィルム和光純薬株式会社製を標準試薬に，また，APDS タグ[®]ワコー用アミノ酸内部標準混合液（富士フィルム和光純薬株式会社製）を内部標準試薬に用いた。誘導体化反応には，APDS タグワコー（富士フィルム和光純薬株式会社製）を用いた。LC/MS 高速アミノ酸分析システム（株式会社島津製作所製 UF-Amino Station）を用いて，アミノ酸を分析した。LCの測定条件を表2に，MSの分析条件を表3に示す。

*1) バイオ・食品グループ

表 1 試料一覧

No.	採取日	樹高 (m)	樹齢	胸高直径 (cm)	胸高円周 (cm)
奈良市19-1	2019年7月9日	10.0	28	31.5	98.9
奈良市19-2		10.0	31	20.5	64.4
奈良市19-3		10.0	27	27.1	85.1
奈良市21-1	2021年6月8日	13.2	28	36.0	113.0
奈良市21-2		15.6	29	30.9	97.0
奈良市21-3		10.5	30	13.7	43.0
奈良市21-4	2021年6月14日	12.3	28	22.3	70.0
奈良市21-5		11.8	27	17.5	55.0
奈良市21-6		12.0	27	17.5	55.0
奈良市21-7		13.2	28	20.1	63.0
奈良市21-8		12.8	26	17.8	56.0
奈良市21-9	2021年6月15日	7.9	25	25.5	80.0
奈良市21-10		8.5	26	23.2	73.0
奈良市21-11		8.8	27	23.9	75.0
奈良市21-12		6.8	26	19.7	62.0
奈良市21-13	2022年6月15日	9.4	27	19.7	62.0
奈良市22-1		12.0	28	27.4	86.0
奈良市22-2		11.5	28	15.9	50.0
奈良市22-3	2022年7月1日	14.0	28	23.6	74.0
奈良市22-4		12.0	28	30.9	97.0
桜井市20-1	2020年7月18日	18.7	56	45.2	141.9
桜井市20-2		17.2	54	41.4	130.0
桜井市20-3	2020年7月23日	18.0	56	31.2	98.0
桜井市21-1	2021年7月9日	15.3	55	35.0	110.0
桜井市21-2		12.5	56	24.8	78.0
桜井市21-3		24.0	57	26.8	84.0
桜井市22-1	2022年7月29日	12.0	36	18.2	57.3
桜井市22-2		15.0	45	18.2	57.3
桜井市22-3	2022年7月30日	5.0	10	4.5	14.0
御所市20-1	2020年7月19日	13.6	40	25.5	80.1
御所市20-2		13.9	39	12.4	38.9
御所市21-1	2021年7月16日	10.0	43	15.9	50.0
御所市21-2		20.0	35	15.9	50.0
御所市21-3		20.0	43	28.7	90.0
御所市22-1	2022年7月23日	15.6	42	28.7	90.0
御所市22-2		14.3	42	23.2	73.0
宇陀市21-1	2021年7月8日	8.0	6	29.6	93.0
宇陀市21-2		5.0	3	15.9	50.0
山添村19-1	2019年6月23日	18.8	32	33.5	105.2
山添村19-2		18.3	32	27.8	87.3
山添村20-1	2020年6月21日	20.9	30	21.0	65.9
山添村21-1	2021年6月21日	16.0	30	15.9	50.0
山添村21-2		11.8	30	17.5	55.0
山添村21-3		11.6	31	20.1	63.0
山添村21-4		12.1	31	22.3	70.0
山添村21-5		11.0	31	19.4	61.0
山添村21-6	2021年6月25日	12.2	31	20.7	65.0
山添村22-1	2022年6月24日	15.0	31	23.2	73.0
山添村22-2		13.5	31	23.9	75.0
山添村22-3		14.8	31	23.6	74.0
山添村22-4	2022年7月1日	15.0	32	22.3	70.0
山添村22-5		16.0	32	20.1	63.0
山添村22-6		12.0	32	15.3	48.0
曽爾村19-1	2019年7月6日	12.0	27	24.0	75.0
曽爾村20-1	2020年7月10日	18.5	23	29.6	92.9
曽爾村21-1	2021年7月2日	11.3	29	42.7	134.0
曽爾村21-2		12.8	30	42.4	133.0
下市町20-1	2020年8月1日	13.7	62	23.9	75.0
下市町20-2		14.0	61	30.6	96.1
下市町20-3		15.0	61	32.8	103.0
天川村19-1	2019年6月27日	20.0	63	61.0	191.5

表 2 LCの分析条件

装置	UF-Amino Station 株式会社島津製作所製
カラム	Shim-pack UF-AMINO 2.1 mm I.D.×100 mm L 株式会社島津製作所製
移動相	A 液：APDS タグワコー用 溶離液 (富士フイルム和光純薬株式会社製) B 液：アセトニトリル LC/MS 用 (富士フイルム和光純薬株式会社製)
流量	0.3 mL/min
カラム温度	40 °C
グラジエント条件 (A 液：B 液)	0 分 (98:2) →0.01 分 (94:6) →2.00 分 (94:6) →6.00 分 (70:30) →6.10 分 (40:60) →7.00 分 (40:60) →7.01 分 (98:2)

表 3 MSの分析条件

装置	LCMS-2020
イオン化法	エレクトロスプレー法
ネブライザーガス流量	1.5 L/min
ヒートブロック温度	200 °C
DL 温度	250 °C

3. 結果及び考察

3.1 機能性アミノ酸

分析した 38 成分の遊離アミノ酸の結果を表 4 に示す。2015 年の食品表示法施行に伴い、機能性表示食品制度が創設された。これまでに機能性アミノ酸を機能性成分として、γ-アミノ酪酸 (GABA) を含むトマトやバナナ、アンセリン、カルノシンを含む地鶏や鯨赤肉などの様々な生鮮食品、加工食品あるいはサプリメントが機能性食品として届出されている⁹⁾。機能性関与成分として届出された (2023 年 3 月 15 日時点) 20 成分の機能性アミノ酸のうち、20 mg/100 g を超える 6 成分 (セリン, アラニン, アルギニン, GABA, プロリン, テアニン) について述べる。

3.1.1 セリン

セリンは、グリシンと可逆的に相互変換される関係にあり、プリン、クレアチン、ポルフィリン等の重要な生体成分の合成に関与している⁹⁾。セリンは、キハダ葉には 14.2 ± 9.0 mg/100 g、実には 53.1 ± 34.2 mg/100 g 含まれていて、ウェットベース (以下、WB とする) のさやいんげん (53.5 mg/100g) と同程度の含有量であった⁷⁾。

3.1.2 アラニン

アラニンは、主要な糖新生アミノ酸として知られ、肝臓におけるアラニンからのグルコース合成速度は他の全ての

表 4 遊離アミノ酸分析結果

遊離アミノ酸(mg/100g 乾燥重)		葉	実
略字	和名		
CysAc	システイン酸	0.2±0.4	0.7±1.3
Asp	アスパラギン酸	30.6±20.2	20.1±13.4
Glu	グルタミン酸	30.5±28.4	12.2±8.5
a-AAA	α-アミノアジピン酸	0.3±0.3	1.1±1.1
HyPro	ヒドロキシプロリン	0.1±0.2	0.5±0.7
Asn	アスパラギン	10.7±8.6	109.3±89.1
Ser	セリン	14.2±9.0	53.1±34.2
Gly	グリシン	1.4±0.8	5.6±3.9
Gln	グルタミン	17.5±12.7	24.4±24.0
Sar	サルコシン	13.4±10.4	16.4±20.9
His	ヒスチジン	3.6±2.2	6.3±6.0
Tau	タウリン	0.6±2.1	2.7±4.5
Thr	スレオニン	14.8±7.0	17.6±10.7
Cit	シトルリン	8.9±22.0	15.8±18.0
Ala	アラニン	28.4±16.1	82.6±56.8
l-MetHis	l-メチルヒスチジン	0.3±0.3	0.7±0.5
Car	カルノシン	0.4±0.4	0.7±0.4
Arg	アルギニン	7.4±18.6	25.9±17.8
GABA	γ-アミノ酪酸	41.2±30.3	61.9±32.0
3-MetHis	3-メチルヒスチジン	0.3±0.3	0.5±0.4
Ans	アンセリン	0.04±0.1	0.2±0.3
b-AiBA	β-アミノイソ酪酸	35.7±26.8	62.8±34.6
Pro	プロリン	25.9±33.9	31.4±24.8
EtOHNH2	エタノールアミン	10.6±3.4	14.3±8.6
a-ABA	α-アミノ酪酸	18.2±13.7	31.5±17.3
Theanine	テアニン	7.6±16.2	26.1±18.1
Cysthi	シスチン	0.8±0.6	0.4±0.5
Cys2	シスチジン	1.5±1.1	5.5±4.6
Tyr	チロシン	7.3±7.1	18.8±20.4
Val	バリン	11.1±7.3	14.0±9.6
HyLys	ヒドロキシリジン	1.2±1.1	0.9±1.1
Met	メチオニン	0.3±0.4	1.4±1.9
Orn	オルニチン	0.04±0.06	0.08±0.13
Lys	リジン	1.7±1.4	7.4±5.9
Ile	イソロイシン	5.3±3.8	9.1±7.1
Leu	ロイシン	5.9±4.4	14.4±10.2
Phe	フェニルアラニン	15.1±9.6	12.1±8.4
Trp	トリプトファン	6.0±3.9	6.8±5.6

アミノ酸からの合成速度よりも大きい⁹⁾。アラニンは、キハダ葉には28.4±16.1 mg/100 g, 実には82.6±56.8 mg/100 g 含まれていた。WBのさやいんげん26.8 mg/100 gと同程度であった⁷⁾。

3.1.3 アルギニン

アルギニンは、オルニチンと共同して成長ホルモンの分泌に関わり、免疫機能の維持、筋力の維持、血管拡張作用がある。循環器系の生理機能調節作用を持ち、アンモニアを解毒化する働きがある⁸⁾。アルギニンは、キハダ実には25.9±17.8 mg/100 g 含まれ、WBの赤玉ねぎ24.1 mg/100 gと同程度の含有量であった⁷⁾。

3.1.4 γ-アミノ酪酸 (GABA)

GABAは、ストレスの軽減や血圧抑制、睡眠の質の向上が期待でき¹⁰⁾、トマト(ホール缶)に95 mg/100 g, 西洋かぼちゃ(えびす, 生)に56 mg/100 g 含まれている⁹⁾。キハダ葉にはGABAが、41.2±30.3 mg/100 g, 実には61.9±32.0 mg/100 g 含まれていた。

3.1.5 プロリン

プロリンは、コラーゲンの主要構成アミノ酸の一つで、ゼラチンや動物の皮に多く含まれている⁸⁾。プロリンは、キハダ葉に25.9±33.9 mg/100 g, 実に31.4±24.8 mg/100 g 含まれていて、さやえんどう33.4 mg/100 g (WB)と同程度の含有量であった⁷⁾。

3.1.6 テアニン

テアニンは茶葉に多く含まれ、リラックス効果¹¹⁾。抗酸化、抗炎症、神経保護、代謝調節、抗肥満効果等種々の効果があるアミノ酸である¹²⁾。テアニンは、キハダ葉に7.6±16.2 mg/100 g, 実に26.1±18.1 mg/100 g 含まれていた。

以上のことから、キハダの葉や実、喫食することによって、セリン、アラニン、アルギニン、GABA、プロリン、テアニンの摂取が期待できる食材であると考えられる。

3.2 採取地別

採取地別のキハダの葉と実の測定した総遊離アミノ酸含有量(検体数に対する平均値)を図1に示す。

実を収穫できなかった地域や検体数が1検体という地域もある。その中で、葉の総遊離アミノ酸含有量について、突出した地域はないが、実については、山添村の総遊離アミノ酸含有量(1314.5 mg/100 g)が顕著に多く、続いて曾爾村(879.7 mg/100 g)が多かった。

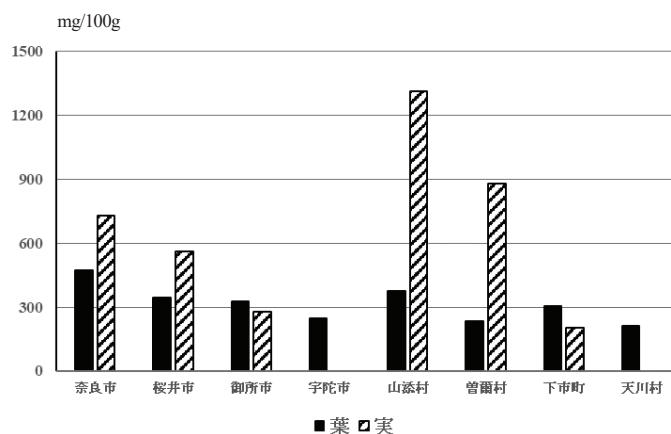


図1 採取地別総遊離アミノ酸含有量

3.3 樹齢別

採取したキハダの樹齢別の葉及び実に含まれる測定した総遊離アミノ酸含有量を図2に示す。

今回、樹齢11年~20年に該当する検体がなく、さらに、樹齢41年~50年の実が得られなかった。キハダ葉は、樹齢による特徴的な傾向は見られなかったが、実、樹齢21

年～30 年をピークにそれ以降は減少する傾向が見られた。

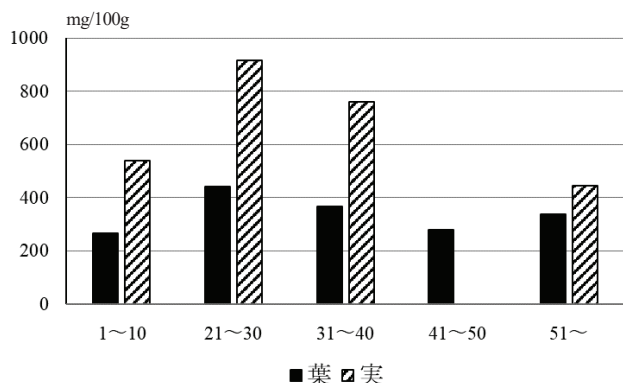


図 2 樹齢別総遊離アミノ酸含有量

3.4 呈味

遊離アミノ酸は、味を呈することが知られている。そこで甘味と苦味を呈する遊離アミノ酸含有量の合計値を図3に示す。甘味は、セリン、グリシン、ヒドロキシプロリン、スレオニン、アラニン、プロリン含有量の合計値を示す。苦味は、ヒスチジン、アルギニン、チロシン、バリン、メチオニン、リジン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン合計値を示す^{6,13)}。葉に比べて、実の方が甘味及び苦味を呈するアミノ酸含有量が多かった。

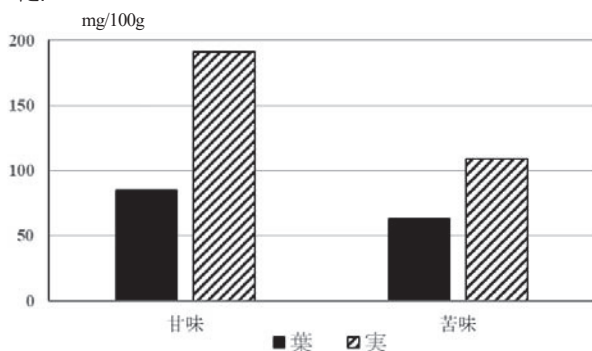


図 3 呈味成分別遊離アミノ酸含有量

4. 結言

本研究での主な結果は次のとおりである。

- 1) キハダの葉及び実には、ストレスの軽減や睡眠の質の向上が期待できるγ-アミノ酪酸 (GABA) や甘味を呈するアラニンが多く含まれていた。
- 2) 採取地別では、キハダ実には山添村や曾爾村に高い総遊離アミノ酸含有量を示した。
- 3) 遊離アミノ酸含有量から、キハダ実には、葉と比較して、甘味や苦味を呈する遊離アミノ酸が多く含まれていた。

謝辞

本研究にあたり、キハダの伐採協力と検体提供をいただきました関係各位に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 首藤明子, 清水浩美, キハダの実と葉の有効活用の検討 (第一報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.46, 33-36, 2020
- 2) 首藤明子, 清水浩美, キハダの葉と実の有効活用の検討 (第二報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.47, 50-53, 2021
- 3) 首藤明子, 立本行江, キハダの葉と実の有効活用の検討 (第三報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.48, 42-51, 2022
- 4) (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
- 5) 消費者庁, 機能性表示食品の届出情報検索, <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc01/>
- 6) 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
- 7) 公益社団法人 日本栄養・食糧学会, 食品の遊離アミノ酸含量表, https://www.jsnfs.or.jp/database_aminoacid.html
- 8) 神谷信一, アミノ酸バイブル, 三水社, 2020
- 9) 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/vaetables.pdf
- 10) 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 農作物の機能性成分・評価情報データベース, <https://www.naro.go.jp/laboratory/nfri/contents/ffdb/Index.html>
- 11) 一般財団法人日本食品分析センター, JFRL ニュース, Vol.6, No.26, Dec.2019
- 12) Li Ming-Yue, Liu Hus-Yan, Wu Ding-Tao, Kenaan Ahmad, Geng Fang, Li Hua-Bin, Gunaratne Anil, Li Hang, Gan Ren-you, L-テアニン: 複数の健康利益と食品用途の茶におけるユニークな機能性アミノ酸, *Frontiers in Nutrition*, vol9, 2022
- 13) 中村直督, 食品でひく機能性成分事典, 女子栄養大学出版部, 2022