

温州ミカンによる効率的な γ -アミノ酪酸富化方法に関する研究

— γ -アミノ酪酸蓄積反応の最適条件に関する研究—

大野一仁 笹山新生 開 俊夫

Studies on the efficient Accumulation of γ -Aminobutyric Acid by Satsuma Mandarin
gamma-aminobutyric acid wealth-ized method Satsuma Mandarin

—Studies on an optimal condition of γ -Aminobutyric acid accumulation reaction —

OHNO Kazuhito, SASAYAMA Shinsei and HIRAKI Tosio

温州ミカンを利用して、 γ -アミノ酪酸(GABA)を安定的に生成する技術を開発することを目的に、GABA生成能の高い温州ミカンの選抜方法と、安定的なGABA富化条件について検討した。その結果、温州ミカン果肉のpHが高いほど富化反応後のGABA含量が高く、果肉pHが3.8以上で300mg/100g以上に、pH3.9以上で400mg/100g以上になることから、果肉のpHがGABA生成能の高い果実を選抜する指標になると推測された。また、無包装で室温貯蔵した温州ミカンのGABA生成能は、貯蔵前300mg/100gに対して貯蔵1週間後には480mg/100gに増加した。温州ミカン(晩生品種：大津4号)を果肉のpHが3.9以上になるまで室温で貯蔵すると、グルタミン酸ナトリウム(MSG)を1%添加し10°Cで1晩貯蔵することで、GABA含量が400mg/100g以上の温州ミカンGABA富化素材を得ることができた。

キーワード：温州ミカン、 γ -アミノ酪酸(GABA)、グルタミン酸ナトリウム(MSG)、グルタミン酸(Glu)、品種、貯蔵

はじめに

カンキツ類は愛媛県を代表する主要農産物で、温州ミカンの生産が平成16年に和歌山県に次ぐ全国2位に後退したものの、イヨカン、ナツカン等のカンキツ類全体では、全国1位の生産を誇っている。

カンキツ類は、その特徴ある「香り」と「食味(甘味と酸味)」から、季節を感じさせる、嗜好性の高い農産物として広く普及している。最近の育種技術で開発された様々な新品種も、「香りがよい」、「食味がよい」、「食べやすい(剥皮しやすい)」等のいわゆる「おいしさ」の点から消費者に受け入れられている。

一方、食品の機能性(成分)に関する研究の進展に伴い、特定の食品で健康維持を図っていこうという動向があり、「特定保健用食品」「健康機能食品」を始め、多くの健康食品が上市されている。

カンキツにおいても、「健康維持」という観点からの研究が進められており、カンキツの成分である、 β -クリプトキサンチン、ヘスペリジン、ナリルチン、オーラプテン、ペクチン等多くの成分の機能性が解明されてきており、これらの成分を利用した加工食品も開発されている。

著者らは、野菜・果実等、自然界に広く分布しているアミノ酸の一種で、抗ストレス作用、血圧上昇抑制作用等があることから機能性成分として注目されているGABAを、温州ミカンが生成する能力が高いことを見出し、GABAを富化した温州ミカン素材の生成方法を開発

した^{1) 2)}。

その方法は、温州ミカン果肉にMSG(グルタミン酸ナトリウム(食品添加物))を添加・混合してGABAを高濃度に富化するものであるが、この方法は、原料によりGABA生成能が大きく異なる等の欠点がある。

そこで、GABA富化反応の不安定化要因(促進因子及び阻害因子)を明らかにするとともに、GABAを安定的に富化する方法について検討したので、結果を報告する。

実験方法

1. 供試温州ミカン

試験に供した果実を表1に示す。供試温州ミカンは、松山市下伊台の愛媛県農林水産研究所果樹研究センターのほ場で収穫されたものである。ただし、温室ミカンは、市販品を松山市内の量販店で入手した。

表1 供試温州ミカン

系統区分	品種名	収穫日	試料調整日
温室	不明	(9月25日)	9月27日
極早生	日南1号	10月15日	10月23日
早生	宮川早生	11月4日	11月11日
中生	南柑20号	11月25日	12月3日
晩生	大津4号	12月5日	12月15日

この研究は、「平成20～21年高濃度GABA安定富化技術開発研究」の予算で実施した。

2. 試料の調製

(1) 前処理及び GABA 富化処理方法 (基本手順)

温州ミカン果実は、剥皮して果皮とじょうのう(果肉)に分けた。じょうのうは、ミキサー(MX-X103、松下電器産業(株)製)で 30 秒間ホモジナイズして均質試料を得た。

調製したじょうのう均質化試料に、GABA の基質として 20%-MSG 溶液を、1%(53.4mM)になるように添加してよく混合した。これを 10℃の恒温機に 1 夜(16 時間)放置して GABA を富化させた。

(2) 品種別温州ミカンの GABA 生成能の検討

表 1 に示した品種別温州ミカン 10 個を供試し、均質試料を得た。上記の基本手順に従うとともに、均質試料に 1N-水酸化ナトリウムを加えて pH を 5.5 に調製した試験区、補酵素(0.4%ピリドキサルリン酸水溶液)をじょうのうに対して 1 mM 添加後、pH を 5.5 に調製した試験区も併せて設けて GABA を富化させた。

(3) 固体別温州ミカンの GABA 生成能の検討

品種別温州ミカン 10 個それぞれに、均質資料を調製し、(2)の手順に従い、GABA 富化処理を行った。

(4) 温州ミカン貯蔵中における GABA 生成能の検討

中生(南柑 20 号)については、果実を無包装(新聞紙で全体を囲んだキャリーに入れた)、ポリエチレンフィルム包装、気密性フィルム包装したものを室温で 6 週間貯蔵した。また、無包装については、3℃下でも同様に貯蔵した。

(5) 酸添加による温州ミカン果肉の GABA 生成能の検討

中生品種(南柑 20 号)に有機酸(クエン酸)又は無機酸(塩酸)を添加し、室温で 30 分間放置後、(2)の手順に従い、GABA 富化処理を行った。

3. 分析方法

(1) GABA の定量

反応前試料は 5.0g をとり、反応後の試料は各試験区の全量に対して、73%エタノールを加えてホモジナイザーで磨砕して 100ml に定容し、60℃で 1 時間加温抽出した。冷却後、ろ紙(アドバンテック No.5B)でろ過し、そのろ液の 20ml をエバポレータでエタノールを除去した。次に、ジエチルエーテルで色素等脂溶性物質を除去した。ジエチルエーテルをエバポレータで完全に除去した後、pH 2.2 クエン酸リチウム緩衝液で 10ml に定容し、孔径 0.20μm のメンブランフィルターでろ過して分析用試料溶液とした。

分析は、アミノ酸自動分析計(日立 L-8500 型)を用い、ニンヒドリン法で行った。

(2) pH

果肉の pH は、そのまま pH メーター(Φ40 型、ベックマン(株)製)で測定した。

結果と考察

1. 品種別温州ミカンの GABA 生成能

品種別温州ミカン果肉の GABA 生成能を図 1 に示す。

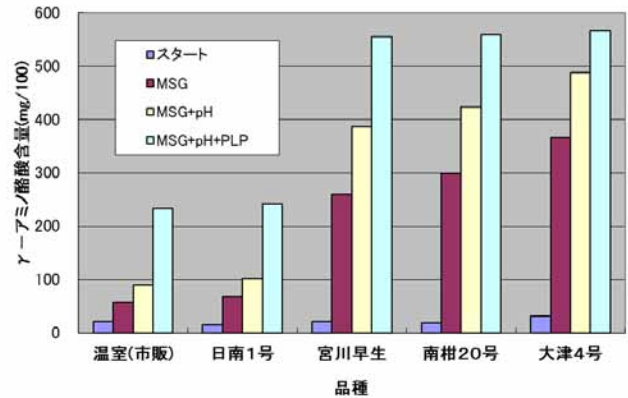


図 1 品種別温州ミカン果肉の GABA 生成能

処理前の温州ミカン果肉中の GABA 含量は、15~32mg/100g で、品種間の顕著な差は認められなかった。

温州ミカン果肉に MSG を 1% 添加した際の GABA 生成量は、60mg/100g~370mg/100g と品種によって大きく異なり、晩生>中生>早生>極早生の順で収穫時期の遅い品種ほど高い傾向にあった。

一方、反応前に pH を 5.5 に調整すると、GABA 生成量が上がり、早生で 390mg/100g、中生、晩生で 400mg/100g 以上に GABA を生成することができた。

さらに、補酵素であるピリドキサルリン酸を添加することで、早生、中生、晩生では 550mg/100g 以上に生成することができた。温室と極早生でも pH 調整、補酵素添加で GABA 生成量を増加することができたが、早生、中生、晩生ほどの効果は認められず、品種により GABA 生成能が大きく異なることが分かった。

ただ、補酵素であるピリドキサルリン酸は、ビタミン B₆ の関連物質で、生体内に存在し、様々な酵素反応の補酵素として働いていることが分かっているものの、また、様々な研究で補酵素の有用性が認められ³⁾、特許申請されている例⁴⁾もあるものの、現在のところ、食品添加物としては認められていないことから、実際に食品加工で使用することはできない。穀類等を利用した GABA の富化は、補酵素は添加せずに、GABA 能力の高い原料を選ぶという方法がとられているのが現状である。

そこで、GABA 富化方法として、補酵素の添加は行わず、MSG の添加のみと、pH 調整の試験区について検討した。

2. 品種別温州ミカンの固体別 GABA 生成能

品種別温州ミカン果肉の固体別 GABA 生成能について、分析した結果を図 2~5 に示す。

果肉の pH は、極早生では 3.2~3.6、早生は 3.6~3.9、中生は 3.5~3.8、晩生は 3.8~4.2 と収穫時期が遅いほど高い傾向にあった。

反応後の GABA 含量は、果肉の pH と相関があり、pH が高いほど GABA 生成量が高い傾向にあった。pH 調整効果が認められるのは、おおよそ pH 3.5~3.9 であった。

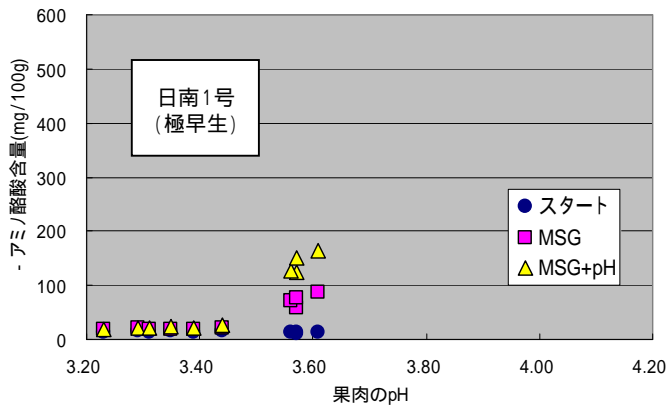


図2 極早生果肉の pH と GABA 生成能

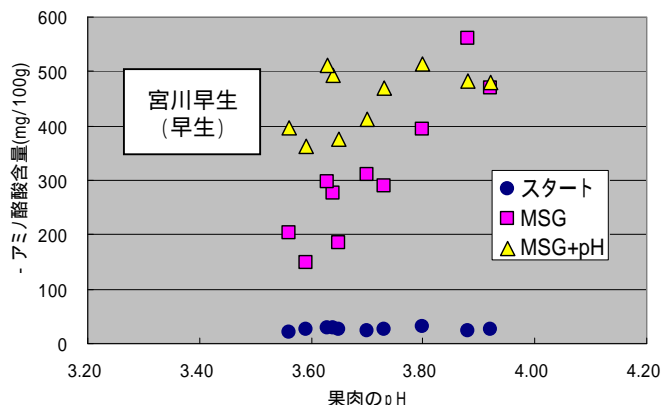


図3 早生果肉の pH と GABA 生成能

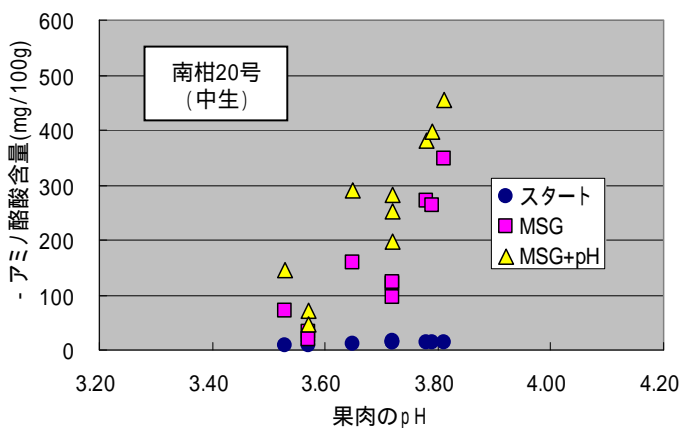


図4 中生果肉の pH と GABA 生成能

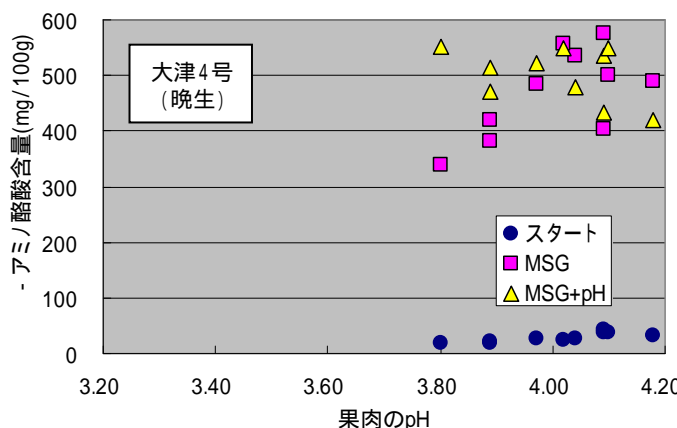


図5 晩生果肉の pH と GABA 生成能

図2～5の結果を1つのグラフにまとめた。その結果を図6に示す。果肉 pH が 3.8 以上で 300mg/100g 以上に、pH3.9 以上で 400mg/100g 以上になり、果肉の pH が GABA

生成能の高い果実を選抜する有効な指標になると推測された。

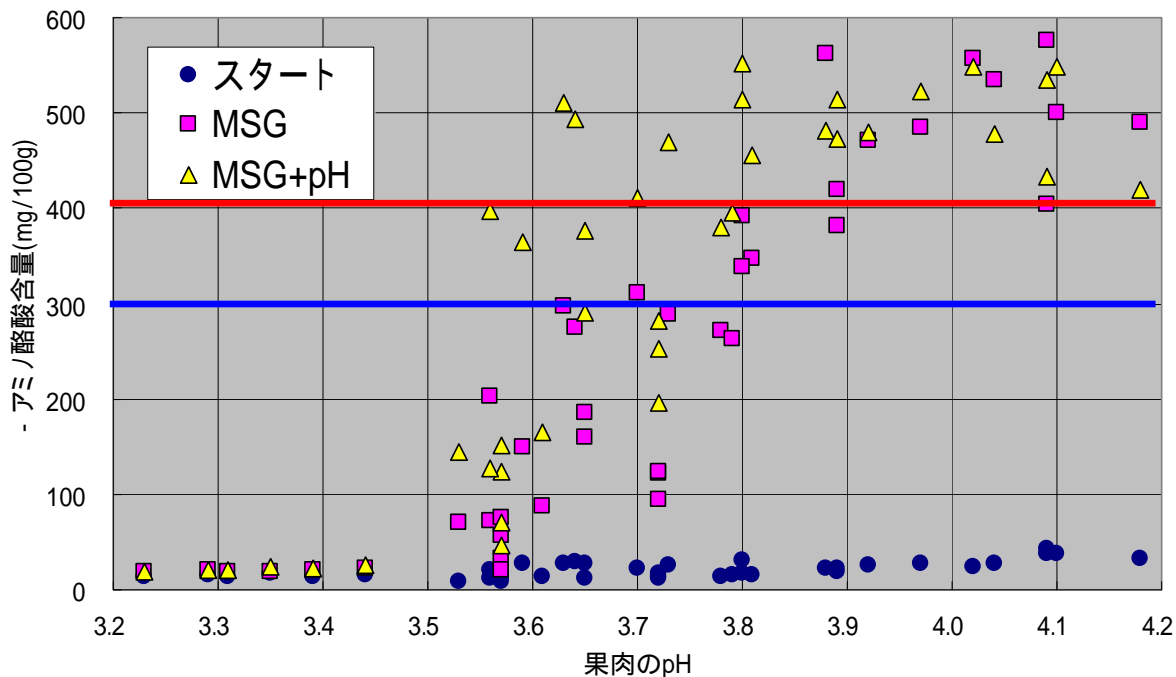


図6 温州ミカン果肉の pH と GABA 生成能(全品種)

3. 温州ミカン貯蔵中の GABA 生成能の変化

中生品種(南柑 20 号)を包装方法、温度を変えて貯蔵したときの、貯蔵中における果肉中の GABA 含量の変化を図 7 に示す。

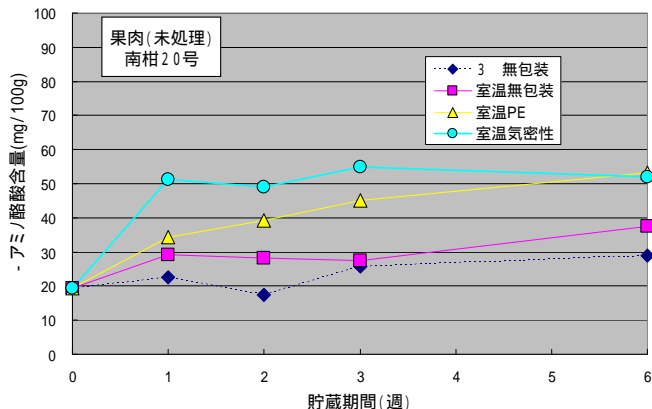


図 7 温州ミカン貯蔵中の果肉中の GABA 含量の変化

貯蔵前の GABA 含量は、約 20mg/100g であった。機密性の高いフィルム(脱酸素剤使用可能)で包装して室温貯蔵すると、1 週間で 50mg/100g まで上昇し、その後は横ばいであった。次に、ポリエチレンフィルムで包装したものは、貯蔵中に徐々に増加していき、1 週間で約 35mg/100g、2 週間で約 40mg/100g、6 週間で 50mg/100g 以上になった。室温無包装、3℃無包装では、貯蔵中の増加は僅かであった。

このような条件で貯蔵した温州ミカンの果肉について、GABA 生成能の変化を図 8 に示す。基質として L-MSG を 1% 添加した結果である。

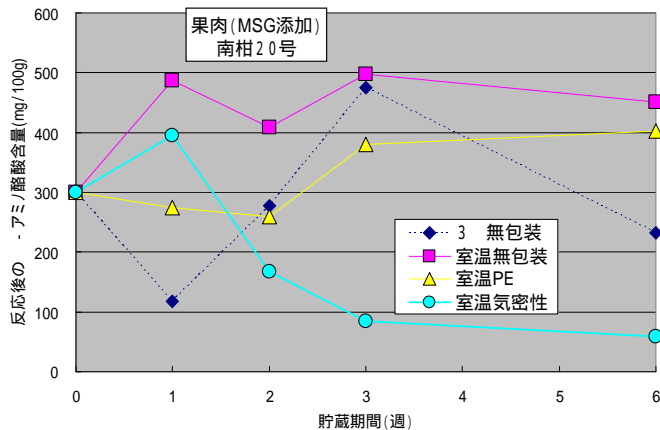


図 8 貯蔵温州ミカンの果肉の GABA 生成能変化 (MSG 添加区)

室温無包装では、貯蔵 1 週間後から生成能が上昇し、その後は横ばいであった。気密性フィルムでは、貯蔵 1 週間後に上昇したものの、その後は急激に減少した。ポリエチレン包装では、2 週間目までは横ばいでその後僅かに上昇した。3℃貯蔵は減少と増加を繰り返していた。

貯蔵した温州ミカンの果肉について、MSG 添加時に pH を 5.5 に調整場合の GABA 生成能の変化を図 9 に示す。増減の程度の違いはあるが、MSG 添加の場合と同じ

傾向であった。以上の結果から、実用性の点も考慮すると無包装で、室温貯蔵する方法がもっともよい貯蔵方法であると言えた。

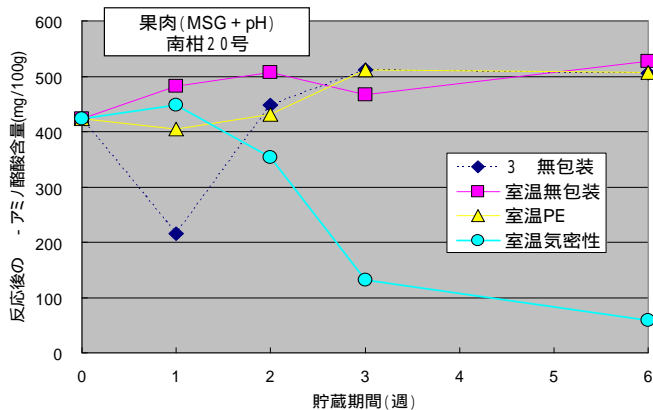


図 9 貯蔵温州ミカンの果肉の GABA 生成能変化 (MSG 添加、pH 調整区)

4. 酸添加による温州ミカン果肉の GABA 生成能

これまでの検討で、温州ミカン果肉の pH が GABA 生成能に大きく関与していることが分かり、果肉の pH の測定が果実の最適な選抜法であると判断した。

ここでは、pH の高い中生品種(南柑 20 号)の果肉に有機酸(クエン酸)又は無機酸(塩酸)を添加して pH を 4 から 3 近くまで下げた状態で 30 分間放置した後、MSG を 1% 添加し、更に反応の至適 pH である 5.5 に調整して 10℃で 1 晩反応させて生成した GABA 生成能の結果を図 10 示す。

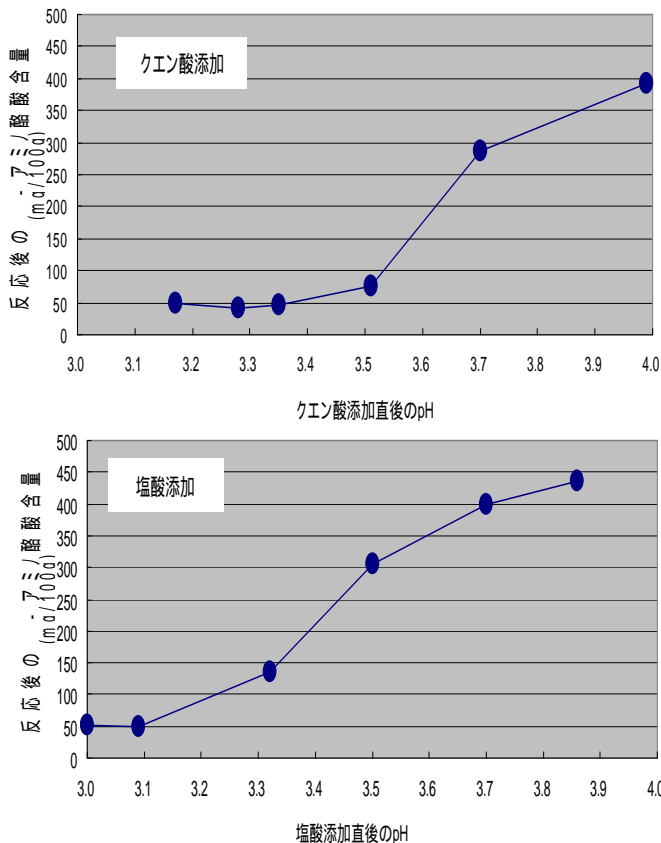


図 10 酸添加果肉の pH と GABA 生成能

その結果、果肉の pH を一度下げると、極端に GABA 生成能が低下することが分かった。

このことから、GABA 生成能の高い果実を利用して、果肉を潰した時の pH が低いと、後から pH 調整等の処理をしても GABA 生成量が低下することが分かった。果肉をつぶした際の pH が反応に大きく関わっていることが判明した。

5. GABA 富化温州ミカン果肉素材を利用した加工品の試作

温州ミカン(晩生品種：大津4号)を果肉の pH が 3.9 以上になるまで室温貯蔵すると、MSG を 1% 添加した後、10℃ で 1 晩貯蔵することで、GABA 含量が 400mg/100g 以上の温州ミカン GABA 富化素材を得ることができた。

温州ミカン GABA 富化素材を用いて、ミカンソース(ケチャップ様調味料)、ミカン大福、ミカンスコーン、ミカンあん玉を試作した。

ま と め

温州ミカンを利用して、 γ -アミノ酪酸(GABA)を安定的に生成する技術を開発することを目的に、GABA 生成能の高い温州ミカンの選抜方法と、安定的な GABA 富化条件について検討した。

1. 温州ミカン果肉の pH は 3.2~4.2 の範囲にあり、収穫時期が遅い品種ほど pH が高くなった。
2. 果肉の pH は、GABA 生成能に大きく関与していた。富化反応後の GABA 含量は、果肉の pH が高いほど高く、果肉 pH が 3.8 以上で 300mg/100g 以上に、pH 3.9 以上で 400mg/100g 以上になり、果肉 pH が GABA 生成能の高い果実を選抜する指標になると推測された。
3. 果実を室温貯蔵すると、果肉中の GABA 含量は貯蔵中に増加する傾向にあったが、特に気密性の高いフィルム包装で貯蔵すると短期間に高くなった。
4. 富化処理した果肉の GABA 生成能は、無包装貯蔵による果実が最も高く、貯蔵前の 300mg/100g に対して貯蔵 1 週間後には 480mg/100g に増加し、その後 6 週間まで横ばいであった。これらの結果から、無包装で室温貯蔵する方法が最も実用的であると判断した。
5. GABA 生成能の高い果実の果肉に酸を添加すると、生成能が低下することが分かった。
6. 温州ミカン(晩生品種：大津4号)を果肉の pH が 3.9 以上になるまで室温貯蔵すると、MSG を 1% 添加した後、10℃ で 1 晩貯蔵すると GABA 含量が 400mg/100g 以上の温州ミカン GABA 富化素材を得ることができた。
7. 温州ミカン GABA 富化素材を用いて、ミカンソース(ケチャップ様調味料)、ミカン大福、ミカンスコーン、ミカンあん玉を試作した。

文 献

- 1) 大野一仁, 首藤喬一, 串井光雄, 門家重治, 松本恭郎: 温州ミカンによる γ -アミノ酪酸の蓄積, 平成 13 年度愛媛県工業系研究報告, **40**, 12-19(2002).
- 2) 大野一仁, 首藤喬一, 串井光雄, 門家重治, 松本恭郎: 温州ミカンによる γ -アミノ酪酸の蓄積(第 2 報), 平成 14 年度愛媛県工業系研究報告, **41**, 14-20(2003).
- 3) 末松孝章, 中村雅彦, 佐藤真治: 米胚芽を用いた γ -アミノ酪酸(GABA)の生産とその摂取効果, 食品工業, **48-24**, 48-59(2005).
- 4) Sadami Ohtsubo, Satoshi Asana, Kazuhito Sato, and Isao Matsumoto: Enzymatic Production of γ -Aminobutyric Acid Using Rice (*Oryzasativa*) Germ, *Food Sci. Technol. Res.*, **6**(3), 208-211(2000).