

# GABA富化マイクロ野菜の開発

赤塚久修、河村 敏、横山慎一郎

Development of the microvegetable with high GABA content

Hisanobu AKATSUKA, Satoshi KAWAMURA, Shin-ichiro YOKOYAMA

28種のマイクロ野菜からGABAとその前駆体であるグルタミン酸を多く含有する8種のマイクロ野菜を選抜し、炭酸ガス(CO<sub>2</sub>)処理によるGABA含量の富化を試みた。その結果、CO<sub>2</sub>濃度依存的にグルタミン酸含量が減少、GABA含量が上昇することが分かった。さらにこれら8種の中から商品性の高いチャービルを選定し、CO<sub>2</sub>処理後のGABA含量の消長について実験を行い、CO<sub>2</sub>濃度80%以上で5°C・16時間処理することによりGABA含量を通常の約10倍に高めることができた。また、処理後5°Cで保管すると24時間経過後でもGABA含量が維持されることが明らかとなった。この成果を応用し、出荷の際に高濃度CO<sub>2</sub>で密閉包装してその後冷蔵配送することによって、流通過程でGABA含量を富化し、付加価値を向上させたマイクロ野菜を供給することが可能と結論した。

## 1. はじめに

マイクロ野菜とは発芽後2週間程度の成長初期段階で収穫した幼野菜のことで、成熟した野菜と比較して保健機能成分が豊富に含まれている<sup>1)</sup>。近年、料理の付け合わせへの利用など需要が高まっていることから、今後、県内外から新規参入の可能性があり、他社との差別化を図る技術開発が課題である。

GABAはγ-アミノ酪酸(Gamma-Amino-Butyric Acid)の略称で、高等動物においては、抑制性の神経伝達物質として機能していることが知られ、脳機能改善効果や高めの血圧を改善する作用などが認められており、これを利用した医薬品・食品も開発されている<sup>2)</sup>。また植物でもグルタミン酸(Glu)の脱炭酸反応により生成され(図1)、これを触媒するグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD)の反応は、植物に低酸素、低温などのストレスを与えることによって促進される<sup>3)</sup>ことが知られている。また、片桐ら<sup>4)</sup>は、豆もやしにおいて高濃度のCO<sub>2</sub>により、GABA含量が高まることを報告している。

本研究では、マイクロ野菜に含まれるGABAを富加する手法を明らかにし、保健機能食品としてマイクロ野菜の付加価値向上について検討する。

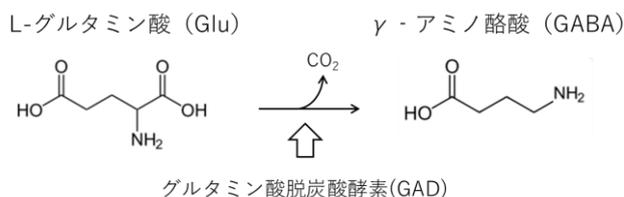


図1 グルタミン酸の脱炭酸反応によるGABAの生成

## 2. 実験方法

### 2.1 実験材料

有限会社甘原ええのお(多治見市)が栽培する表1に示す28種のマイクロ野菜を対象に、GABAとその前駆体

あるグルタミン酸の含量を分析した。そのうち、GABAまたはグルタミン酸を多く含有する8種については、CO<sub>2</sub>処理によるGABA含量の富化を試みた。さらに8種のマイクロ野菜の中で、80%以上の高濃度CO<sub>2</sub>条件下であっても萎れる傾向が少なく、市場性のポテンシャルがあると考えられるチャービルを対象に、CO<sub>2</sub>処理時間・処理温度、開封後のGABA含量の消長を調べる実験を行った。

表1 GABA・グルタミン酸含量の測定対象マイクロ野菜

|          |              |
|----------|--------------|
| シソ科      | アカザ科         |
| ・オレガノ*   | ・スイスチャートカナリア |
| ・バジル     | ・ブライトライト     |
| ・マジュラム*  | ・ルビークイン      |
| ・レモンバーム* | キク科          |
| ・青じそ     | ・サマーレットリーフ   |
| ・赤じそ     | ・シュンギク       |
| セリ科      | タデ科          |
| ・コリアンダー* | ・レッドソレル      |
| ・セロリ*    | ・オセイユ        |
| ・チャービル*  | ナス科          |
| ・ディル     | ・甘長トウガラシ     |
| ・パセリ*    | ヒガンバナ科       |
| ・ミツバ     | ・芽ネギ*        |
| アブラナ科    | ヒユ科          |
| ・クレソン    | ・レッドアマランサス   |
| ・コーラルリーフ | マメ科          |
| ・サラダカラシ菜 | ・クレムソンレッド    |
| ・ミズナ     |              |
| ・ルッコラ    |              |

※CO<sub>2</sub>処理によりGABAの富化を行ったマイクロ野菜

### 2.2 試料調製法

出荷直前のマイクロ野菜の茎上半部から葉までの部分を1.0g採取し、摩砕後、葉緑素・脂溶性物質等不純物を除去し、蒸留水で5 mLに定容したものを測定サンプルとした(図2)。

### 2.3 HPLCによるGABAおよびグルタミン酸の定量

測定サンプルはNBD-F(4-Fluoro-7-nitrobenzofurazan、株式会社同仁化学研究所)による遊離アミノ酸の誘導体

化後(図3)、プレカラム法で分析した(図4)。その結果、GABAとグルタミン酸は独立したピークとして分離された(図5)。これより標準アミノ酸の保持時間との比較により同定し、検量線からマイクロ野菜100 gあたりのGABAとグルタミン酸の含量を求めた。

- 出荷直前のマイクロ野菜 (1.0g)
- ↓
- ホモジナイズ (75%エタノール) 後加温抽出 (50°C)
- ↓
- 遠心 (4,000rpm, 20min) 後、上清をろ過
- ↓
- エバポレーターで濃縮乾固
- ↓
- 蒸留水に転溶し遠心 (12,000rpm, 20min)
- ↓
- 上清をジエチルエーテルで分液し、脂溶性物質を除去
- ↓
- エバポレーターでジエチルエーテルを完全に蒸去
- ↓
- 蒸留水に溶解し、5mLに定容

図2 試料調製

- ホウ酸バッファー(pH=9) 100  $\mu$ L
- 測定サンプル水溶液 50  $\mu$ L
- 100mM NBD-F アセトニトリル溶液 50  $\mu$ L
- ↓
- マイクロチューブへ密栓、攪拌後、遮光し、60°Cで1分加熱、その後氷冷
- ↓
- 50mM HCL 200  $\mu$ Lを加え、フィルターろ過 (アドバンテック東洋(株)、孔径0.45  $\mu$ m)
- ↓
- HPLCへ供する

図3 NBD-Fによる遊離アミノ酸の誘導体化

- \* HPLC装置
- ポンプ : PU-980 (日本分光)
  - 混合ミキサー : LG-980-02
  - 検出器 : FP-920
  - データ処理機 : SIC480 II データステーション (システム インストルメンツ社)
- \* 分析条件
- カラム : YMC-Triart C18, 3  $\mu$ m, 150  $\times$  3.0mm I.D.
  - 流速 : 0.75mL/min
  - カラム温度 : 30°C
  - 検出(FL) : Ex. 480nm, Em. 530nm
  - 溶脱液 : A アセトニトリル/75mM リン酸水溶液 = 16/84(v/v)
  - B アセトニトリル/MeOH/50mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 21/39/40(v/v/v)
  - 注入量 : 5  $\mu$ L

図4 HPCL装置及び分析条件

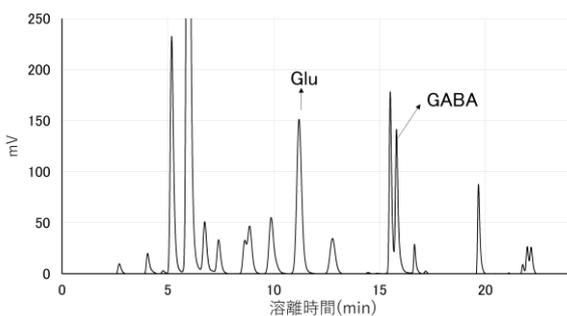


図5 チャービルのクロマトグラム

## 2.4 マイクロ野菜のGABA富化法

片桐ら<sup>4)</sup>の報告を参考に、マイクロ野菜にCO<sub>2</sub>処理を行った。表2に示すガスバリア性を有する袋に栽培トレーごとマイクロ野菜を挿入し、袋の中をCO<sub>2</sub>で置換後、密閉して暗所に静置したものを高濃度CO<sub>2</sub>処理区とした(図6)。所定時間のCO<sub>2</sub>処理後、袋から栽培トレーを取り出す際にガスアナライザー(F-950 Three Gas Analyzer、FLEX INSTRUMENTS)で袋中のCO<sub>2</sub>濃度を測定し、80%以上に保持されていたことを確認した。

また、CO<sub>2</sub>濃度を20%にセットしたCO<sub>2</sub>インキュベータ(MCO-345、サンヨー)に栽培トレーを静置したものを中濃度CO<sub>2</sub>処理区、大気中に静置したものを対象区とした。また栽培トレーを挿入したガスバリア性を有する袋を、CO<sub>2</sub>の代わりに窒素ガス(N<sub>2</sub>)で置換後に密閉して暗所に静置したものをN<sub>2</sub>処理区とした。

表2 ガスバリア性の袋の仕様

|                      |  |
|----------------------|--|
| クリーンガスバリア袋 (株)ユニバーサル |  |
| 材質                   | : 無添加ポリエチレン+ナイロン樹脂                               |
| 透湿度                  | : 4.8g/m <sup>2</sup> (24h)                      |
| 酸素透過度                | : 57.15cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> (24h atm) |
| 寸法                   | : 300mm $\times$ 450mm                           |
| 厚さ                   | : 0.07mm   |



マイクロ野菜(チャービル)を高濃度炭酸ガス充てん・包装

図6 マイクロ野菜の高濃度CO<sub>2</sub>処理

## 3. 結果と考察

### 3.1 28種のマイクロ野菜のGABAとグルタミン酸含量

28種のマイクロ野菜に含まれる、GABAとグルタミン酸の含量を定量した予備実験(n=1)の結果を図7に示す。マイクロ野菜の種類によって、GABAとグルタミン酸の含量、比率は大きく異なることが判明し、GABA含量富化の観点からGABA含量またはグルタミン酸含量のポテンシャルの高いマイクロ野菜として、シソ科3種(マジュラム、レモンバーム、オレガノ)、セリ科4種(パセリ、コリアンダー、セロリ、チャービル)、ヒガンバナ科1種(芽ネギ)を選定した(表1)。

### 3.2 CO<sub>2</sub>濃度による含量の変化

選定した8種のマイクロ野菜について、27°Cで16時間CO<sub>2</sub>処理したものを分析した。CO<sub>2</sub>濃度を0.04%(対象区)、20%(中濃度CO<sub>2</sub>処理区)、および>80%(高濃度CO<sub>2</sub>処理区)と変化させて処理した時のGABAとグルタミン酸の含量を測定した結果(n=3)を図8に示す。対象区におけるGABA含量は、多い種(チャービル)でも10 mg/100 g程度であった。中濃度CO<sub>2</sub>処理区では、グルタミン酸含量の減

少がみられたが、GABA含量はほとんど変化しなかった。一方、高濃度CO<sub>2</sub>処理区では、グルタミン酸含量は対象区と比して大幅に減少しGABA含量が大幅に増加することが分かった。また、高濃度CO<sub>2</sub>処理を行うことによって萎れが生じたが、その程度はマイクロ野菜の種類により異なり、チャービルが高濃度CO<sub>2</sub>処理への耐性が最も大きいことが判明した。

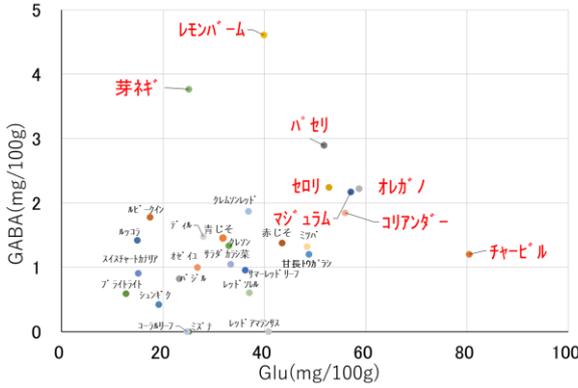


図7 28品目におけるGABA・グルタミン酸含量

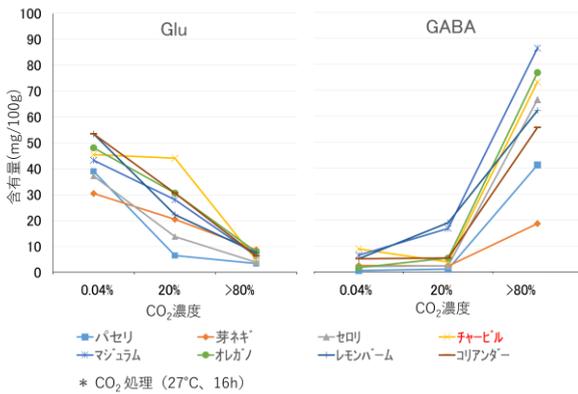


図8 CO<sub>2</sub>濃度によるグルタミン酸・GABA含量の変化

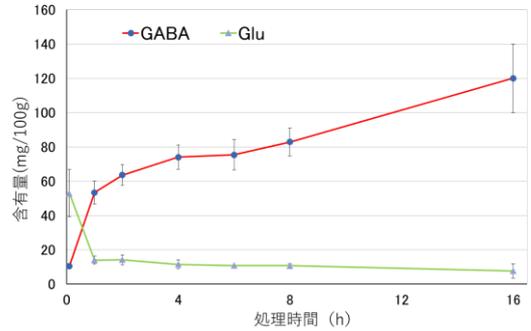
### 3.3 CO<sub>2</sub>処理時間とGABA・グルタミン酸含量の推移

マイクロ野菜のチャービルにおいて、高濃度CO<sub>2</sub>処理を27°Cで行った時の、処理時間に対するGABAとグルタミン酸の含量推移 (n=3) を図9に示す。処理1時間後で、GABA含量は50 mg/100 g以上に増加し、グルタミン酸含量は約1/4まで減少した。GABA含量に関しては、処理時間依存的に増加が見られ、処理16時間後には120 mg/100gと、当初の11.4倍まで増加した。また、8時間までの高濃度CO<sub>2</sub>処理では、チャービルに萎れはほとんど見られなかったが、16時間の処理では萎れの影響が見られた。

### 3.4 CO<sub>2</sub>処理温度とGABA含量の推移

マイクロ野菜のチャービルにおいて、高濃度CO<sub>2</sub>処理をした時の処理温度に対するGABA含量の推移 (n=3) を図10に示す。対象区では27°C、5°CもどちらもGABA含量の増加は見られなかった。一方、高濃度CO<sub>2</sub>処理区では、

5°Cの時は27°Cの時の約80%のGABA含量増加にとどまるが、萎れは抑制されることが分かった。



\* チャービル 高濃度CO<sub>2</sub>処理 (27°C)

図9 CO<sub>2</sub>処理時間とGABA・グルタミン酸含量の推移

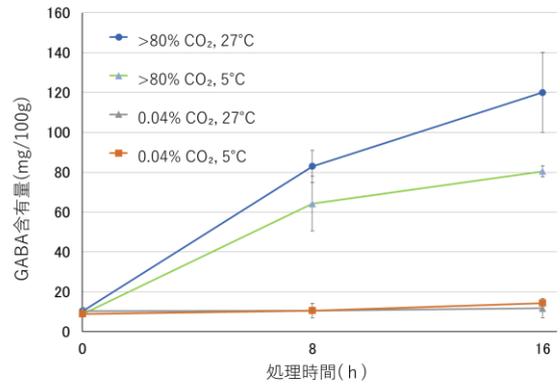


図10 CO<sub>2</sub>処理温度とGABA含量の推移

### 3.5 CO<sub>2</sub>処理後のGABA含量変化

高濃度CO<sub>2</sub>処理 (>80%CO<sub>2</sub>、5°C、16時間) 後に大気中にて暗所に静置したときのGABA含量の推移 (n=3) を調べた結果を図11に示す。グルタミン酸含量は、処理8時間後まで増加する傾向が見られた。一方、GABA含量は処理24時間後でも、概ね処理直後の値を保っていることが分かった。

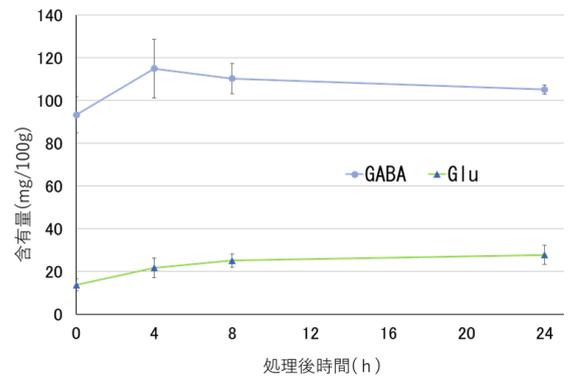


図11 CO<sub>2</sub>処理後(5°C、16h)の時間経過と含量変化

### 3.6 N<sub>2</sub>処理

クリーンガスバリア袋(表2)にチャービルをトレーごと挿

入し、CO<sub>2</sub>に代えてN<sub>2</sub>で置換後密閉し、5℃、16時間の条件で処理をしたときのGABA含量の変化を調べ、N<sub>2</sub>処理前後のGABA含量(n=3)を比較した。その結果、高濃度CO<sub>2</sub>処理でみられたようなGABA含量の増加は確認されなかった(図12)。N<sub>2</sub>による置換はCO<sub>2</sub>と同じ操作により行ったことから袋中のN<sub>2</sub>濃度は80%以上であると考えられ、マイクロ野菜のGABA含量増加はCO<sub>2</sub>に特異的であった。

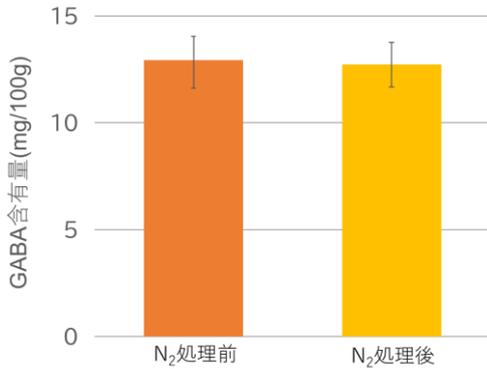


図12 N<sub>2</sub>処理によるGABA含量の変化

#### 4. まとめ

成長初期段階で収穫したマイクロ野菜には、成熟野菜に比してフィトケミカルが豊富に含まれる<sup>1)</sup>。今回、保健機能成分であるGABAに注目し、人為的な富化について検討した結果、以下の成果を得た。

- (1) 28種のマイクロ野菜が含有するGABAとその前駆体であるグルタミン酸をHPLCで定量分析し、それらを多く含有する8種のマイクロ野菜（シソ科3種、セリ科4種、ヒガンバナ科1種）を選抜した。
- (2) 8種のマイクロ野菜を暗所でCO<sub>2</sub>処理すると、CO<sub>2</sub>濃度依存的にグルタミン酸含量が減少し、GABA含量が上昇することが確認された。
- (3) チャービルに対し、27℃で高濃度 (>80%) CO<sub>2</sub>処理をすることにより、GABA含量を当初の11.4倍にまで高めることに成功した。
- (4) チャービルを5℃で高濃度CO<sub>2</sub>処理すると、27℃処理

時の約80%のGABA含量増加にとどまるが、処理で生じる萎れは抑制され、商品性を損なわないことが確認できた。

- (5) チャービルを5℃で高濃度CO<sub>2</sub>処理後、大気条件下に戻し、5℃の暗所で保存したところ、24時間経過後でもGABA含量は処理直後の値を維持することが確認できた。
- (6) 高濃度CO<sub>2</sub>に代えて、高濃度のN<sub>2</sub>にて5℃で処理を行っても、GABA含量は増加しないことが判明した。

以上より、高濃度CO<sub>2</sub>処理はマイクロ野菜のGABA含量富化技術として実用的と考えられる。出荷の際に高濃度CO<sub>2</sub>存在下で密閉包装し、その後冷蔵配送することによって流過程でGABA含量を富化することができる。この成果を応用し、付加価値を向上させたマイクロ野菜を供給することが可能と結論した。

#### 【謝辞】

本研究の遂行にあたり、協力いただいた有限会社甘原ええのおの山田照次氏、並びに金子修二氏に深謝いたします。

#### 【参考文献】

- 1) United States Department of Agriculture, "Specialty Greens Pack a Nutritional Punch", 2014.1, <https://agresearchmag.ars.usda.gov/AR/archive/2014/Jan/January2014.pdf>, (参照 2024.3.1)
- 2) 堀江ら, 化学と生物, 第57巻, 第4号, pp. 207-212, 2019
- 3) 一般社団法人日本植物生理学会, "GABA(ギャバ)について", 2004.5, [https://jspp.org/hiroba/q\\_and\\_a/detail.html?id=69](https://jspp.org/hiroba/q_and_a/detail.html?id=69), (参照 2024.3.1)
- 4) 片桐ら, 日本食品工業学会誌, 第36巻, 第11号, pp. 916-919, 1989