

# ビワ種子中の青酸配糖体及びその分解成分の 各種加工法における含有量調査

長谷川貴志, 矢崎 廣久, 石井 俊靖, 宮本文夫

## Estimation of Cyanogenic Glycosides and Their Degradation Products in *Eriobotrya japonica* Seeds under Various Storage and Processing Methods

Takashi HASEGAWA, Hirohisa YAZAKI, Toshiyasu ISHII  
and Fumio MIYAMOTO

### Summary

Recently, loquat (*Eriobotrya japonica*) seeds has been noted as an antitumor effect and utilized as a kind of health foods. The loquat seeds contain amygdalin (AM) which is decomposed into prunasin (PR), benzaldehyde (BAL) and free cyanogen by catabolic enzyme emulsin in seeds. Furthermore BAL is oxidized to benzoic acid. In order to find stable conditions of AM, the quantity of AM and its degradation products were determined with various stored and processed seeds in passage of time. Storage and processing methods of seeds were heating (boiling, steaming, oven heating), drying (sun, air), alcoholization (95%, 35%) and cold storage (4°C, -20°C, -70°C).

The results were as follows: (1) AM in seeds were almost decreased under alcoholization, sun-drying and oven heating conditions. (2) AM in seeds were remained under air-drying and cold storage conditions. However, an active little emulsin was also remained in these seeds. (3) AM in seeds were remained under boil and steam heating conditions and the emulsin in these seeds were inactivated.

Consequently, boil and steam heating methods were the best processing methods for loquat seeds.

### I. はじめに

ビワ (*Eriobotrya japonica*) は中国原産のバラ科の常緑樹で、葉は「枇杷葉」と呼ばれ、鎮咳、健胃、消炎、利尿作用があり<sup>1,2)</sup>、昔から民間薬として用いられてきた。種子は「枇杷仁」として「杏仁」の代用として古くから用いられ<sup>3)</sup>、また民間伝承的にアルコール漬けや乾燥粉末として利用されてきた。

ビワの葉及び種子に含まれる成分としては、青酸配糖体の一種であるアミグダリン (amygdalin: AM) が挙げられ、このAMは癌に対する抑制効果があるという報告<sup>4)</sup>もあり、健康食品として注目されている。

AMは桃や杏、梅などバラ科植物の種子に広く含有されているが、種子中に含まれるエムルシンなどの分解酵素によって容易に分解され、プルナシン (prunasin: PR)、マンデロニトリルを経てベンズアルデヒド (benzaldehyde: BAL)、グルコース、遊離シアンになることが知られている<sup>5)</sup>。また、BALはさらに酸化をうけて最終的に安息香酸 (benzoic acid: BA) になる<sup>6)</sup>。現在、ビワ種子は一部の愛好者の間で効能効果を期待するような使われ方がなされているが、AMやその分解物の成分量について、桃仁や杏仁、梅加工食品に関する調査はあるものの<sup>7,8)</sup>、ビワについてはその実態が知られていない。

そこで、ビワ種子が健康食品として用いられる場合の有用性及び安全性について、伝統的に行われているアルコール漬けや自然乾燥、低温保存などに加えて、今回著者らが提唱する加熱処理など様々な加工を行い、残存するAM及び分解・生成するPR、BAL、BA、遊離シアンの含有量とその経時的な変化を追跡し、成分的な側面を考慮した、より良い加工保存方法に関する比較検討を行った。

### II. 実験方法

#### 1. 試料

千葉県内の生産地で購入したビワ果実より種子を取り出し水洗した後、種子原形 (ホール) 及び四分割したもの (スライス) についてTable 1に示す様な種々の加工保存処理を行い、処理前 (Control) 及び2週間後 (2W)、2ヶ月後 (2M)、4ヶ月後 (4M) までの試料を以下に示す分析条件により調査した。

#### 2. 試薬

1) AM, PR, BA, BAL標準液: AM, BA及びBALは和光純薬工業株式会社製を、PRはSigma社製をメタノールに溶解して、各々1000 µg/mLの標準原液を調製した。

2) シアン標準溶液: シアン化カリウム2.5 gを水に溶かして1000 mLとし、衛生試験法<sup>12)</sup>に従って標定し、シアンとして1000 µg/mLの標準原液とした。

3) その他の試薬: メタノール、アセトニトリルはHPLC用試薬を用い、精製水はミリポア社製MILLI-Q Laboにより作製して用いた。その他の試薬はすべて市販の試薬特級品を用いた。

Table 1. Storage and Processing Methods for Loquat Seeds

Storage and Processing Methods		Seeds
Heating	Boiling (3min)	Whole <sup>a)</sup>
	Steaming (3min)	Whole
	Oven Heating (100°C, 10min)	Slice <sup>b)</sup> , Whole
Drying	Sun-drying	Slice, Whole
	Air-drying	Slice, Whole
Alcoholization	95% Alcohol	Slice, Whole
	35% Alcohol	Slice, Whole
Cold storage	4°C	Whole
	-20°C	Whole
	-70°C	Whole

a) whole seeds  
b) sliced seeds

### 3. 装置

高速液体クロマトグラフ装置：日本分光製PU-2089型ポンプ、日本分光製AS-2055型オートサンプラー、日本分光製CO-2065型カラムオープン、日本分光製MD-2015型フォトダイオードアレイ検出器

分光光度計：島津製作所製MPS-2000

電気定温乾燥機：サンヨー製MOV-102F

超音波発生装置：シャープ製UT-304

### 4. 試験方法

#### 1) AM, PR, BA, BALの測定

試料を粉碎し、その0.1gを水/メタノール(1:1)混液25mLで30分間超音波抽出後0.45μmメンブランフィルターでろ過し、そのろ液を、以下の条件によりHPLCで測定した。

(HPLC条件)

カラム：Wakosil-II 5C18 RS (4.6mm i.d.×150mm)

移動相：アセトニトリル/水/0.1Mリン酸緩衝液(pH4.0)  
(16:74:10)

流量：1.0ml/min

カラム温度：37°C

測定波長：200~400nm (AM, PR定量波長：210nm, BA定量波長：230nm, BAL定量波長：250nm)

注入量：10μL

#### 2) 遊離シアンの測定

試料を粉碎し、その3.3gを採取し、衛生試験法の定量方法に準じて調整し、4-ピリジンカルボン酸・ピラゾロン法によりシアン標準液を用いて1~10mg/mLの範囲で検量線を作成し、波長638nmにおける吸光度を測定した。

### 5. AM, PR, BA, BALの添加回収試験

あらかじめ分解酵素を加熱処理により失活させ、濃度を測定しておいたピワ種子粉末に、AMを20mg/g, PRを4.2mg/g, BAL及びBAを各々5mg/gとなるように標準品を添加した後、既述の定量操作を6回行い、回収率を求めた。

## III. 結果及び考察

### 1. 試験方法の検討

ピワ種子には成分分解酵素のエムルシンが含まれており、操作中に短時間で作用するので、分解酵素による成分の消失を避ける必要がある。そこで未処理の種子を、蒸気で3, 5, 10分間加熱した後粉碎し、そのAM, PR, BA, BALの含有量を測定した。Table 2の結果より、加熱を行わなかった種子では粉碎中に酵素が働き、AMが急速に分解することがわかった。また、加熱を行った試料は、いずれもあまり差がないことがわかった。この結果から低温保存の種子についても中心部まで十分加熱し分解酵素を失活させることを考慮し、試料を粉碎する前に10分間蒸気で加熱することとした。

### 2. AM, PR, BA, BALの検量線及び定量限界

AM, PR, BA, BALの検量線は1~200μg/mLの範囲で良質な直線性を示した。また、定量限界はAM及びPRが0.2mg/g, BA及びBALが0.1mg/gであった。

### 3. AM, PR, BA, BALの添加回収試験

添加回収試験の結果をTable 3に示した。いずれの成分についても回収率は94%以上、変動係数は2%以下と良好な結果が得られた。

Table 2. Relationship between Steaming Time and Each Components

Time (min)	AM <sup>a)</sup> (mg/g)	PR <sup>b)</sup> (mg/g)	BA <sup>c)</sup> (mg/g)	BAL <sup>d)</sup> (mg/g)
0	15.51	2.67	N.D. <sup>e)</sup>	6.18
3	53.10	1.82	N.D.	N.D.
5	51.74	1.62	N.D.	N.D.
10	53.44	1.59	N.D.	N.D.

a) AM : amygdalin  
b) PR : prunasin  
c) BAL : benzaldehyde  
d) BA : benzoic acid  
e) N.D. : not detected

Table 3. Recoveries of AM, PR, BA and BAL from Loquat Seeds

Components		Blank	Added (mg/g)	1	2	3	4	5	6	Average (%)	C.V. <sup>a)</sup> (%)
AM	Found (mg/g)	0.74	20.00	19.38	19.76	19.42	19.71	19.53	19.59	—	—
	Recovery (%)	—	—	93.20	95.11	93.40	94.87	93.97	94.27	94.14	0.72
PR	Found (mg/g)	N.D. <sup>b)</sup>	4.20	4.04	4.10	4.15	4.25	4.16	4.10	—	—
	Recovery (%)	—	—	96.25	97.72	98.82	101.2	98.94	97.67	98.44	1.56
BA	Found (mg/g)	0.36	5.00	5.39	5.50	5.43	5.52	5.42	5.45	—	—
	Recovery (%)	—	—	100.4	102.7	101.3	103.1	101.2	101.8	101.8	0.85
BAL	Found (mg/g)	1.47	5.00	6.49	6.51	6.60	6.42	6.54	6.48	—	—
	Recovery (%)	—	—	100.4	100.7	102.6	99.0	101.4	100.1	100.7	0.87

a) C.V. : coefficient of variation  
b) N.D. : not detected

#### 4. 加工・保存法別の成分量変化

##### 1) 加工処理前の種子

加工処理前のピワ種子中の成分含有量は、AM 46.7mg/g, PR 1.1 mg/g検出されたが、BA, BAL, 遊離シアンは不検出であった。

##### 2) 加熱処理を施した種子

Fig. 1に見られるとおり、ポイル加熱、スチーム加熱した種子ではAM含有量は4ヶ月後まで約50mg/gでほぼ変化が見られず、その他の成分はほとんど検出されなかった。このことから、加熱により成分分解酵素は不活化され、AMの分解が生じなかったこ

とが明らかとなった。

オープン加熱では、スライスした種子のAM含有量は2週間後に33.9mg/g (72.6%)まで低下し、遊離シアンは60.7 μg/gに増加していた。しかし、2ヶ月経過してもそれ以上のAMの分解はみられず、4ヶ月経過後もAM含有量は31.2mg/g (66.8%)と変動はほとんどなかった。一方、ホールの種子ではAMは2週間後で1.6 mg/g (3.4%)と極端に低下し、2ヶ月後にはほぼ消失していた。これはホールでは種子の中心部までオープンの熱が十分に届かず、分解酵素を部分的にしか失活できなかったためと考えられる。

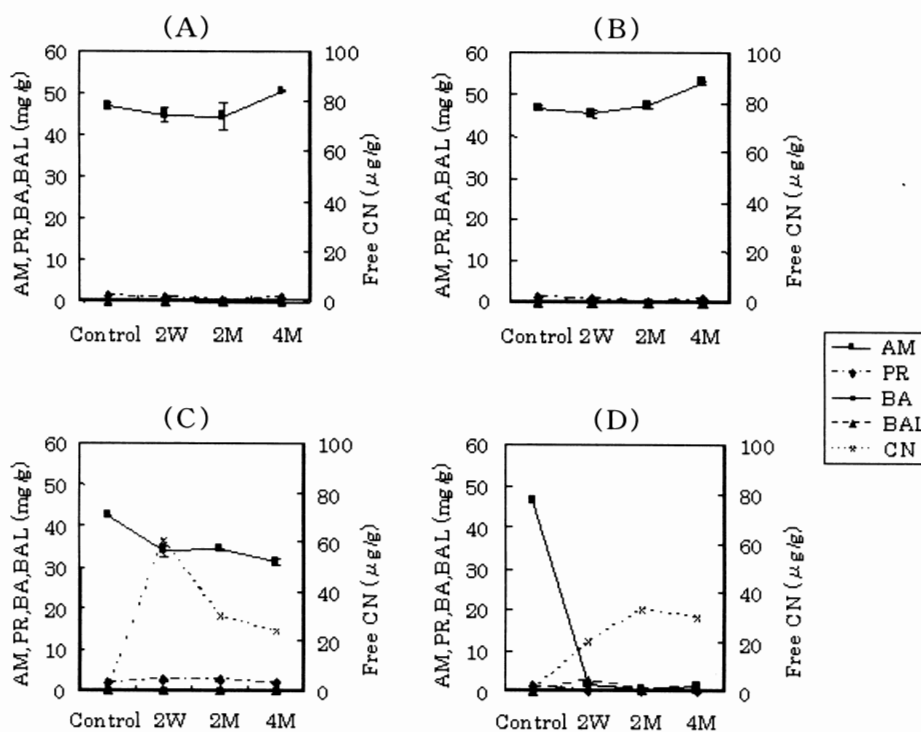


Fig. 1. The Analytical Values Each Components in Heated Seeds

2W : after 2 weeks, 2M : after 2 months, 4M : after 4 months  
(A) Boiling (Whole), (B) Steaming (Whole), (C) Oven Heating (Slice), (D) Oven Heating (Whole)

3) 自然乾燥処理した種子

Fig. 2 に示すように、天日干しのスライスした種子ではAM含有量は2週間後に36.3mg/g (77.7%) に減少しており、AMの分解による遊離シアンも41.0 μg/g検出されたが、2週間経過以降ではAMの分解による含有量の低下はほとんどなかった。しかし、ホールの種子ではAM含有量は2週間後には12.1mg/g (25.9%)、2ヶ月後には2.4mg/g (5.1%) と急速に分解が進んでいた。これはスライスの種子では切片内部まで太陽の光熱がある程度影響を与え分解酵素を不活性化できるが、ホールでは酵素を十分に失活できないため、種子内に残存した分解酵素が働きつづけたためと考えられる。

風乾したスライスの種子では、遊離シアンが約10 μg/g検出され、AMも若干分解されていたものの、全期間を通じ約40mg/gの値を示していた。一方、ホールの種子では4ヶ月後まで遊離シアンは検出されず、AM含有量も約50mg/gとほぼ一定しており、AMの分解は抑制されていた。しかし、4ヶ月後の種子に加熱処理を行わずに粉碎し、含有量を測定したところ、AM含量の低下とPR、BALの増加が観察されたことから、酵素は失活していない

ものの、その働きが抑制されていたことが示唆された。

4) アルコール漬けの種子及びアルコール

伝統的に行われてきた本法について、Fig. 3 に示すように95%アルコール漬けではAMは2週間後には種子からほぼ消失しており、アルコール溶液からもほとんど検出されなかった。遊離シアンはアルコール溶液においては呈色妨害反応があるために測定できなかったが、種子そのものからは比較的高濃度検出された。また、アルコール溶液からBALが3.8~6.0mg/g (処理前の種子に含有されていたAMの40~60%に相当) 検出された。

また、市販の焼酎に相当する35%アルコール漬けもほぼ同様の結果が得られた。

5) 低温保存した種子

種子を冷蔵(4℃)・冷凍保存(-20℃, -70℃)した結果をFig. 4 に示す。低温保存した種子では、4ヶ月経過後までAMは分解されることなく残存しており、分解生成物も検出されなかった。しかし、分解酵素は残存しているので、解凍後の取り扱いには注意が必要と考えられる。

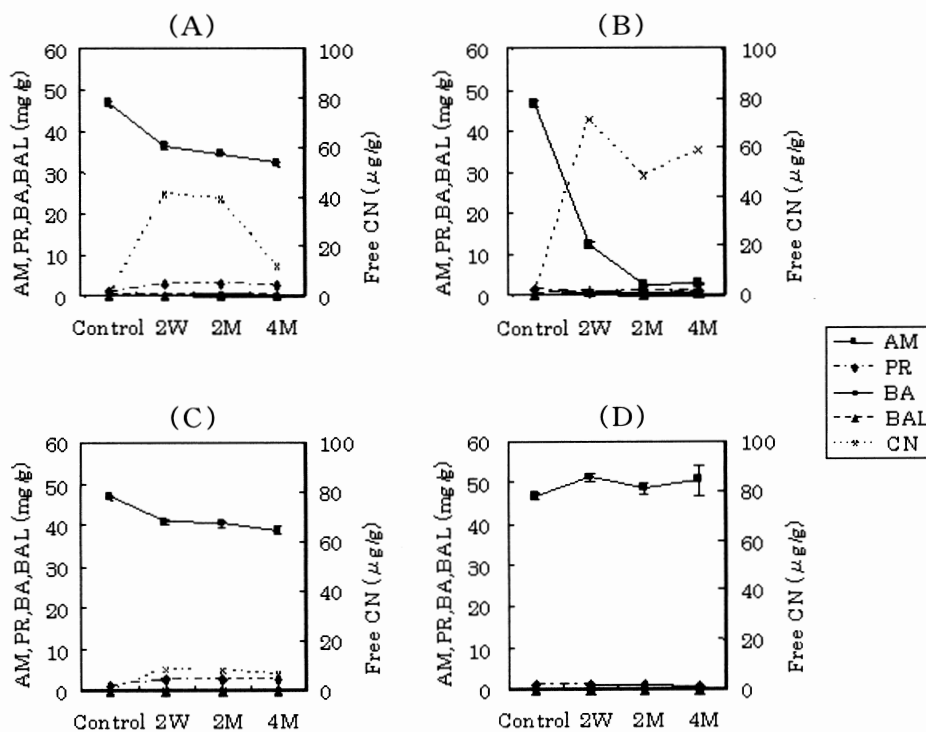


Fig. 2. The Analytical Values of Each Components in Dried Seeds  
 (A) Sun-drying (Slice), (B) Sun-drying (Whole), (C) Air-drying (Slice), (D) Air-drying (Whole)

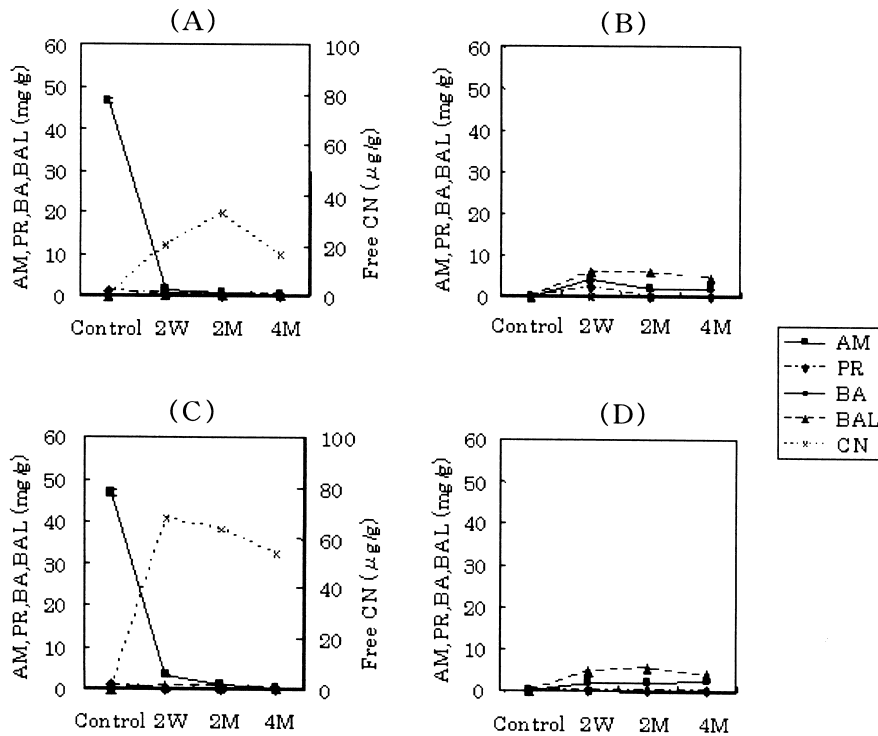


Fig. 3. The Analytical Values of Each Components in 95% Alcoholized Seeds and Alcohol Solutions

(A) Alcoholized Seeds (Slice), (B) Alcohol Sol. (Slice), (C) Alcoholized Seeds (Whole), (D) Alcohol Sol. (Whole)

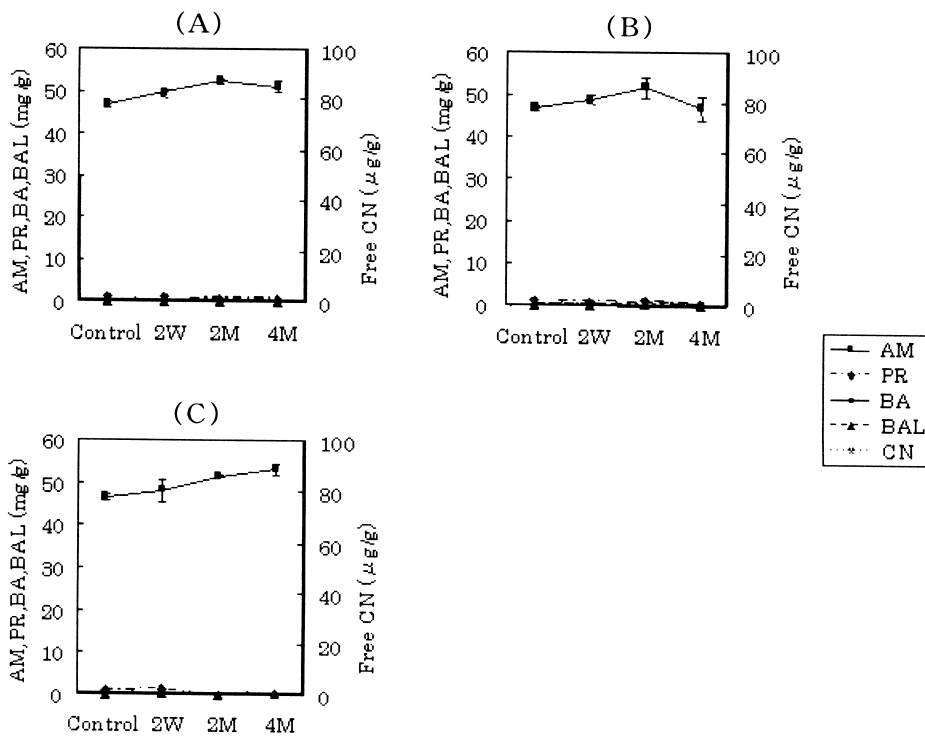


Fig. 1. The Analytical Values of Each Components in Cold Stored Seeds

(A) 1°C (Whole), (B) -20°C (Whole), (C) -70°C (Whole)

#### IV. まとめ

ピワ種子の有効成分であるAMに着目して、有効性（AM含有量）と安全性（遊離シアン生成量）の見地から分解物を含めたそれらの含有量を追跡した。結果は古来より行われている「アルコール漬け（焼酎漬け）」ではAMが大幅に減少もしくは消失し、成分的には良くない保存法であることがわかった。

「天日干し」及び「オープンでの加熱処理」は、スライスした種子ではAMが比較的残存しており、良い結果が得られたが、ホールの種子ではAMはほぼ分解していた。

低温保存の種子では、AMは良好に保存されていたものの、分解酵素も残存しているため、解凍時に何らかの方法で酵素を失活する必要があると思われた。

また、風乾保存の種子でもAMはほぼ残存しており、保存方法としては優れていたが、分解酵素の存在も示唆されることから保存後の取り扱いには十分な注意が必要と思われた。

ボイル加熱、スチーム加熱した種子は急速な加熱操作により、分解酵素を失活できるので、AMの分解がほとんどなく、最良の加工保存方法であるとの結論が得られた。

#### V. 謝辞

本稿を終えるにあたり、ピワ試料の入手で助力いただいた小泉光正健康福祉部技監、また文献及び基礎データ収集に御尽力いただいた福島悦子元主席研究員に深謝申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 水野瑞夫監修, 田中俊弘編: 日本薬草全書, p.550-553, 新日本法規出版(1995)
- 2) 新訂原色牧野和漢薬草大圖鑑, p.170, 北隆館(2002)
- 3) 新訂和漢薬, p.358-359, 医歯薬出版(1970)
- 4) Toshiyuki, F., Hideyuki, I., Teruo, M., Harukuni, T., Hoyoku, N., Takashi, Y.: Anti-tumor Promoting Effect of Glycosides from *Prunus persica* Seeds, Biol. Pharm. Bull., 26 (2), 271-273 (2003)
- 5) Haisman D.R., Knight D.J.: The Enzymic Hydrolysis of amygdalin, Biochem.J., 103 (2), 528-534 (1967)
- 6) 畑中久勝, 金田吉男: 梅肉エキスの衛生学的検討, 食衛誌, 26, 350-356 (1985)
- 7) 大西栄子, 山田俊雄, 山田和雄, 井上肇, 瀬山義幸, 山下三郎: キョウニンならびにその製剤中のアミグダリン定量, 分析化学, 33, 477-481 (1983)
- 8) 梶原直子, 富山千恵子, 二宮隆博, 細貝祐太郎: 高速液体クロマトグラフィーによる杏仁中のアミグダリンの測定とその調理過程における消長, 食衛誌, 24 (1), 42-46 (1982)
- 9) 寺田久屋, 坂部美雄: 高速液体クロマトグラフィーによる梅肉エキス中アミグダリンの定量, 衛生化学, 34 (1), 36-40 (1988)
- 10) 寺田久屋, 山本勝彦: 高速液体クロマトグラフィーによる梅加工食品中のシアン配糖体, ベンズアルデヒド及び安息香酸の同時定量法の検討, 食衛誌, 33 (2), 183-188 (1992)
- 11) 寺田久屋, 山本勝彦: 梅加工食品中のシアン配糖体及びその分解物の含有量調査, 食衛誌, 33 (2), 189-195 (1992)
- 12) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000, p241-244, 金原出版(2000)