

## ニホンミツバチの未利用資源である発酵したハチミツの遊離アミノ酸組成について

高橋 純 一<sup>\*、1</sup>

(2021年9月11日受付；2022年3月16日受理)

**要旨：**ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* のハチミツは、自然発酵することが知られている。しかし、発酵したハチミツは、販売されることがほとんどない未利用資源となっている。本研究では、発酵したニホンミツバチのハチミツを食品として利用するため一般成分と25種の遊離アミノ酸を分析した。発酵したハチミツは、グルタミンやGABA、シスチン、フェニルアラニン、プロリンの5種で大幅な含有量の増加が確認された。さらに、未発酵のハチミツでは未検出であったヒスチジンやシトルリン、テアニン、シスチン、メチオニン、トリプトファンの6種が発酵したハチミツのみに確認された。一方で、一般栄養成分には大きな相違は見られなかった。発酵したハチミツのみで増加していた遊離アミノ酸の存在が、今回はじめて確認された。これらのアミノ酸は、ヒトやミツバチにとって有用であることから、未利用資源である発酵ハチミツの利用が期待できる。

**キーワード：**発酵、アミノ酸、ハチミツ、ニホンミツバチ、未利用資源

ハチミツは、古くからヒトが天然の貴重な甘味料として利用してきた<sup>1)</sup>。現在は、糖質摂取の目的よりも、健康維持や自然食品として利用されていることが多い<sup>2)</sup>。日本だけでなく世界的にもハチミツの需要は増加しているが、生産量は減少している<sup>3)</sup>。国内では需要を補うためセイヨウミツバチの生ハチミツが輸入されているが、消費者は国産のハチミツを嗜好しており、需要と供給のバランスが一致していない状態である。さらに国産ハチミツは、養蜂従事者の高齢化や蜜源植物の減少により、生産量の増加は今後も困難である<sup>4)</sup>。

ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* は、本州・四国・九州に分布する在来種である(図1)。ニホンミツバチは養蜂種として明治時代に輸入されたセイヨウミツバチ *Apis mellifera* と比べて、飼養が困難なことやハチミツの生産量が低いため養蜂業での利用は少ない<sup>5)6)</sup>。また、ニホンミツバチのハチミツは、一般的なセイヨウミツバチの生ハチミツと異なり、採蜜した数日から数週間後に自然発酵により性状が液体からクリームや固形状に変化することがある<sup>7)</sup>(図1)。発酵過程では、ハチミツが容器から溢れ出したり破裂したりするため、販売前に冷蔵保管または加熱などの処置をして水分量を減らして発酵を抑制させる必要がある<sup>3)5)6)8)</sup>。ニホンミツバチのハチミツは、生産量が少なく、販売に手間がかかるため自家

消費または廃棄されており、食品としてほとんど流通していない。その結果、現在国内で流通している生ハチミツの99%は、セイヨウミツバチにより採蜜されたものである<sup>4)</sup>。伝統的養蜂の存続やセイヨウミツバチ不足問題の解消のためにも、このような在来種による未利用資源のハチミツを有効利用することは重要であると考えられる。

明治以前は、国内にはニホンミツバチしか生息していなかったため本種のハチミツが食されていた<sup>3)5)6)</sup>。ニホンミツバチの養蜂は、「日本書紀」や「津嶋紀喜乾」に記録があり、507-531年頃に対馬島で、627年に奈良県三輪山でニホンミツバチを飼養していた記載がある。江戸時代になるとハチミツの性状や食べ方(治療)、飼養方法の文献が多数見られるようになる。例えば「大和本草」や「日本山海名産図会」には、ハチミツの味や色の違いに関する記述が存在し、これは発酵の有無または蜜源植物の相違による可能性が推測されている<sup>5)6)8)</sup>。また、江戸末期から明治初期には、和歌山県(紀州藩)で生産されたニホンミツバチのハチミツを東京(江戸)に船で運び、販売していた記録もあり、この時代は各地で養蜂が行われハチミツの消費量も増加したようである<sup>5)6)</sup>。これらのことから、明治以前は発酵したニホンミツバチのハチミツを食べていた可能性が高く、液体状の生ハチミツは、明治以降にセイヨウミツバチが輸入されてから

\* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: jit@cc.kyoto-su.ac.jp)

<sup>1</sup> 京都産業大学生命科学部先端生命科学科 (603-8047 京都市北区上賀茂本山)

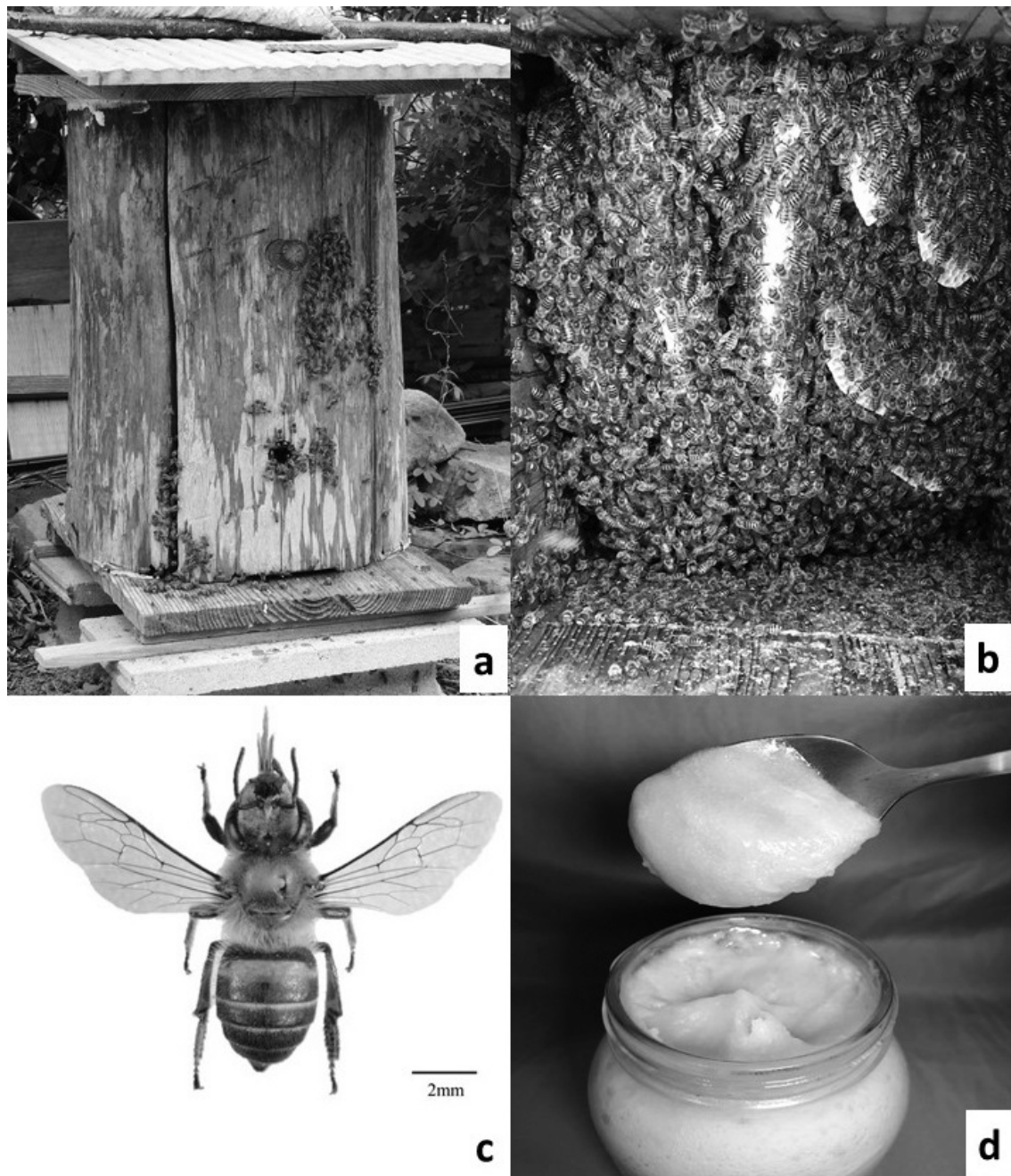


図1 ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* の伝統的巣箱 a と巣箱の内部 b, 働きバチ成虫 c, 発酵したハチミツ d。

一般化したと推定される。

国産ハチミツの各栄養成分に関する分析は、多くがセイヨウミツバチの生ハチミツで行われており<sup>9-12)</sup>、ニホンミツバチのハチミツに関する分析例は少ない。また、遊離アミノ酸に関する分析もほとんど行われていない<sup>7)</sup>。そこで本研究では、未利用資源であるニホンミツバチの発酵ハチミツを食品として利用するにあたり、通常の生（未発酵）ハチミツとの差別化を目的に、これらのハチミツの一般成分と遊離アミノ酸組成を分析した。

## 調査方法

### 1. 分析試料

実験に使用したニホンミツバチのハチミツは、2021年7月に和歌山県みなべ町および田辺市の民家で飼養されているニホンミツバチの20個の巣箱とした。ハチミツは巣箱ごとに分けて採集した。採集方法は、巣房の蓋に穴をあけてハチミツだけを回収する一般的な方法で行った<sup>5)</sup>。採蜜およびハチミツの保管に使用した器具類は、すべて乾熱滅菌または $\gamma$ 線処理をしたものを使用した。採蜜したハチミツは、ただちに800gずつを1,000mLの耐熱ガラス製のIWAKI広口メジューム瓶（AGC

テクノグラス, 静岡)に入れて密閉した。ハチミツは, 採集後に発酵したハチミツ (以下, 発酵後) と, 発酵したハチミツの発酵前のハチミツ (以下, 発酵前), 未発酵だったハチミツ (以下, 未発酵) の3区分とした。ニホンミツバチの20個の巣箱から採集したハチミツは, 巣箱ごとに少なくとも2個以上の1,000 mLのメジューム瓶に800 gずつ入れて密閉した。以後の分析には, 各巣箱由来の2個のメジューム瓶に保管したハチミツを使用し, そのうち1個を実験室内で25℃の常温で, もう1個を冷蔵(4度)で1週間放置した。室温に静置した区の中で, 1週間後に発酵したハチミツを発酵後区 ( $n=15$ ), 発酵しなかったハチミツを未発酵区 ( $n=5$ ) として2区分に分けた。発酵の判断は, 液状からクリームやスポンジ, 固形への状態変化と, 気泡の発生やアルコール香気臭が確認されたものを発酵後区, それ以外は未発酵区とした。発酵前区 ( $n=15$ ) は, 4℃で保管されているハチミツのうち, 発酵後区に分類されたハチミツと同じ巣箱由来の検体を使用した。

## 2. 栄養成分分析

栄養成分の分析は, 各ハチミツから50 gを使用した。エネルギーは, 食品表示基準(平成27年内閣府令第10号)によるエネルギー換算係数を用いて計算により導いた。水分は減圧加熱乾燥法, タンパク質は燃焼法(タンパク質換算係数は6.25を使用), 炭水化物は, 計算式:  $100 - (\text{水分} + \text{タンパク質} + \text{脂質} + \text{灰分})$ , ナトリウムは原子吸光度法を用いて測定した。糖度(Brix)は, ハチミツ用屈折計REPO-4(アタゴ, 東京)で測定した。果糖やブドウ糖, ショ糖含量は, 崎原<sup>13)</sup>の分析方法に従って高速液体クロマトグラフ(HPLC)法で分析した。ハチミツは, 超純水で10倍に希釈し, モルカットLGC(メルク, 東京)でろ過したものを使用した。HPLCは, Prominence-i(島津製作所, 京都)を使用した。カラム

はGL Science InertSphere<sup>®</sup> Sugar-2(300 mm L.×7.8 mm I.D., 9 μm)を使用した。流量は0.3 mL/min, カラム温度は85℃, 注入量は20 μLとした。検出器はRID-20A(島津製作所)を使用した。標準物質には, フルクトース, グルコース, ツラノース, スクロース, マルトースを用いた。また, 脂質はソックスレー抽出法, 食物繊維は酸素-重量法, 灰分は直接灰化法, 食塩相当量は計算式:  $\text{ナトリウム} \times 2.54$ を用いて算出したが, 一般的なハチミツと同じように含まれていない場合が多く, 今回も定量下限未満の検体が多かった( $n=32/35$ )ことから表には記載していない。

## 3. 遊離アミノ酸分析

遊離アミノ酸分析は, プレカラム誘導体化-高速液体クロマトグラフ法を用いた。各ハチミツは20 gを超純粋で10倍に希釈し, 孔径0.2 μmメンブランフィルターでろ過後に分析した。機器は, NexeraX2(島津製作所), カラムはYMC-Triart C18 75×3 mm, 1.9 μm, 移動相Aに20 mmol/Lのリン酸(カリウム)緩衝液pH6.5, 移動相Bにアセトニトリル/メタノール/水=45/40/15(v/v/v)を使用した。誘導体化は30 μLのメルカプトプロピオン酸溶液(10 mg/mL), 15 μLのo-フタルアルデヒド溶液(10 mg/mL), 5 μLのハチミツ希釈液を混合して1分静置後, 5 μLのクロロギ酸フルオレニルメチル溶液(2.5 mg/mL)を混合して2分間ほど静置した。

## 4. 統計解析

各区の一般成分および有利アミノ酸の量は平均値±標準偏差で示した(表1・2)。一般成分および遊離アミノ酸の各量については, 一元配置分散分析を行い, 区間に有意差が見られたものについてはTukey-Kramerの多重比較検定を行った。 $p$ 値<0.01の場合に統計学的有意差があると見なした。

表1 ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* のハチミツの一般成分(100 gあたり)

一般成分	発酵前 ( $n=15$ )	発酵後 ( $n=15$ )	未発酵 ( $n=5$ )
	平均±標準偏差	平均±標準偏差	平均±標準偏差
エネルギー (kcal)	325.3±3.87 <sup>b</sup>	316.1±1.68 <sup>a</sup>	334.2±6.19 <sup>c</sup>
水分 (g)	21.3±0.91 <sup>b</sup>	20.7±0.58 <sup>a</sup>	17.4±0.91 <sup>c</sup>
タンパク質 (g)	0.2±0.08 <sup>b</sup>	0.3±0.06 <sup>a</sup>	0.2±0.11 <sup>c</sup>
炭水化物 (g)	80.8±0.94 <sup>b</sup>	78.7±0.43 <sup>a</sup>	82.8±1.57 <sup>b</sup>
ナトリウム (mg)	3.6±0.40	3.4±0.50	4.0±1.10
糖度 (Brix)	79.4±0.63 <sup>b</sup>	77.9±0.80 <sup>a</sup>	81.0±0.29 <sup>c</sup>
ブドウ糖 (g)	28.4±0.54	27.9±0.45	28.4±0.57
ショ糖 (g)	1.3±0.36	1.2±0.23	1.6±0.45
果糖 (g)	35.3±1.63	33.8±1.07	35.3±0.41

分析方法: エネルギー(食品表示基準によるエネルギー換算係数), 水分(減圧加熱乾燥法), タンパク質(燃焼法, タンパク質換算係数は6.25), 炭水化物( $100 - (\text{水分} + \text{タンパク質} + \text{脂質} + \text{灰分})$ ), ナトリウム(原子吸光度法), 糖度Brix(屈折率法), ブドウ糖およびショ糖, 果糖(HPLC法)。

異英記号間(a-b, b-c, a-c)に有意差あり( $p < 0.01$ )。

表2 ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* のハチミツの遊離アミノ酸組成

項目	発酵前 (n=15)	発酵後 (n=15)	未発酵 (n=5)
	平均 (mg/kg) ± 標準偏差	平均 (mg/kg) ± 標準偏差	平均 (mg/kg) ± 標準偏差
アスパラギン酸	2.9 ± 0.25 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.15 <sup>b</sup>
グルタミン酸	2.6 ± 0.32 <sup>b</sup>	7.4 ± 0.38 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.17 <sup>b</sup>
アスパラギン	8.0 ± 0.54 <sup>b</sup>	16.3 ± 0.33 <sup>a</sup>	8.4 ± 0.33 <sup>b</sup>
セリン	4.0 ± 0.28 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.17 <sup>a</sup>	3.4 ± 0.20 <sup>b</sup>
グルタミン	13.6 ± 0.81 <sup>b</sup>	40.1 ± 2.67 <sup>a</sup>	14.6 ± 0.37 <sup>b</sup>
ヒスチジン	未検出 <sup>1,b</sup>	2.9 ± 0.14 <sup>a</sup>	未検出 <sup>1,b</sup>
グリシン	1.3 ± 0.17 <sup>b</sup>	3.1 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.10 <sup>c</sup>
トレオニン	2.2 ± 0.28 <sup>b</sup>	2.8 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.15 <sup>a</sup>
シトルリン	未検出 <sup>1,b</sup>	2.1 ± 0.15 <sup>a</sup>	未検出 <sup>1,b</sup>
アルギニン	3.9 ± 0.25 <sup>b</sup>	8.8 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.17 <sup>c</sup>
B-アラニン	2.3 ± 0.45 <sup>b</sup>	3.6 ± 0.26 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.12 <sup>c</sup>
アラニン	5.1 ± 0.81 <sup>b</sup>	8.1 ± 0.35 <sup>a</sup>	5.8 ± 0.10 <sup>b</sup>
タウリン	1.5 ± 0.41 <sup>b</sup>	3.6 ± 0.27 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.17 <sup>b</sup>
テアニン	未検出 <sup>1,b</sup>	2.1 ± 0.19 <sup>a</sup>	未検出 <sup>1,b</sup>
GABA	2.2 ± 0.61 <sup>b</sup>	14.7 ± 0.61 <sup>a</sup>	2.5 ± 0.16 <sup>b</sup>
チロシン	4.6 ± 0.34 <sup>a</sup>	4.8 ± 0.30 <sup>a</sup>	6.5 ± 0.29 <sup>b</sup>
シスチン	未検出 <sup>2,b</sup>	20.7 ± 0.59 <sup>a</sup>	未検出 <sup>2,b</sup>
バリン	3.9 ± 0.49	4.3 ± 0.60	3.7 ± 0.27
メチオニン	未検出 <sup>1,b</sup>	2.2 ± 0.26 <sup>a</sup>	未検出 <sup>1,b</sup>
トリプトファン	未検出 <sup>1,b</sup>	2.1 ± 0.19 <sup>a</sup>	未検出 <sup>1,b</sup>
フェニルアラニン	45.9 ± 5.92 <sup>b</sup>	75.8 ± 1.24 <sup>a</sup>	44.8 ± 1.36 <sup>b</sup>
イソロイシン	2.9 ± 0.81	2.3 ± 0.21	2.4 ± 0.17
ロイシン	3.8 ± 0.75	3.4 ± 0.30	3.6 ± 0.19
リジン	6.6 ± 0.68 <sup>b</sup>	12.5 ± 1.08 <sup>a</sup>	6.0 ± 0.23 <sup>b</sup>
プロリン	70.6 ± 10.36 <sup>b</sup>	154.7 ± 4.19 <sup>a</sup>	68.3 ± 0.70 <sup>b</sup>

未検出は検出限界濃度以下を示す (<sup>1</sup>2.0 mg/kg 未満, <sup>2</sup>20 mg/kg 未満)。  
異英記号間 (a-b, b-c, a-c) に有意差あり ( $p < 0.01$ )。

## 結果および考察

### 1. 栄養成分分析

ハチミツの一般栄養成分について、発酵後区 (n=15) と発酵前区 (n=15)、未発酵区 (n=5) の3区の結果を表1に示した。多重比較の結果、エネルギー、水分、タンパク質、糖度は3区間で、炭水化物は発酵後区が発酵前区および未発酵区との間でそれぞれ有意差が確認された ( $p < 0.01$ )。発酵後区は、発酵前区および未発酵区と比較すると、エネルギーおよび、炭水化物、糖度が有意に減少していた。水分は、発酵前区と比較して発酵後区で少なく、未発酵区と比較すると発酵後区が多かった。一方、発酵後区のタンパク質は、発酵前区および未発酵区よりも有意に高いことがわかった。ナトリウムおよびブドウ糖、ショ糖、果糖には変化が見られなかった。

ニホンミツバチのハチミツは、一般的にセイヨウミツバチのハチミツ (CODEX 基準値 20% = 18.47 g 以下) に比べて水分が高いことが知られている<sup>5,6)</sup>。セイヨウミツバチのハチミツは、自然発酵が起きにくく、中東や

欧州でハチミツ酒を醸造するときは、微生物や水分を添加している<sup>14,15)</sup>。今回分析した未発酵区の水分は、100 g あたり 17.4 ± 0.91 g であった (表1)。一方、発酵前区の水分は、100 g あたり 21.3 ± 0.91 g であり、未発酵区よりも有意に高かった。花蜜をもとに作られるハチミツは、働きバチが水分を低下させ、糖度が高くなった状態で巣房に貯められている。セウミツバチの巣ではハチミツの水分を 100 g あたり約 15-19 g に、ニホンミツバチの巣では約 17-24 g に調整している<sup>5,6)</sup>。今回分析した未発酵区のハチミツは、ニホンミツバチのハチミツの中では、糖度が高く、水分も低いため自然発酵が起きなかったと推定された。

### 2. 遊離アミノ酸分析

ハチミツ中に含まれていた 25 種の遊離アミノ酸分析の結果を表2に示した。発酵後区と発酵前区を比較すると、20 種類の遊離アミノ酸 (アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、ヒスチジン、グリシン、トレオニン、シトルリン、アルギニン、β-アラニン、アラニン、タウリン、テアニン、GABA、シスチン、メ

チオニン, トリプトファン, フェニルアラニン, リジン, プロリン) が発酵後区で有意に増加していた ( $p < 0.01$ )。そのうちグリシン, アルギニン,  $\beta$ -アラニンは3区間でも有意差が確認された ( $p < 0.01$ )。一方, バリン, イソロイシン, ロイシンは3区間で有意差は確認されなかった。特に発酵後区で含有量が大きく増加したものは, プロリン ( $154.7 \pm 4.19$  mg/kg), フェニルアラニン ( $75.8 \pm 1.24$  mg/kg), グルタミン ( $40.1 \pm 2.67$  mg/kg), シスチン ( $20.7 \pm 0.59$  mg/kg), GABA ( $14.7 \pm 0.61$  mg/kg) であった。また, ヒスチジンやシトルリン, テアニン, シスチン, メチオニン, トリプトファンは, 発酵前区および未発酵区のすべての検体で検出限界濃度以下であったのに対し, 発酵後区ではすべての検体から検出された。

発酵後区で有意に増加していた20種の遊離アミノ酸のうち, 高い含有量を示したグルタミンやGABA, シスチン, フェニルアラニンは, 国内外のセイヨウミツバチの生ハチミツでは微量または検出限界濃度以下であることが知られている<sup>9-12)16)</sup>。今回の分析により発酵したハチミツは, 一部の遊離アミノ酸量が増加していることが明らかになった。

ハチミツ中には, 多様な微生物類が存在していることが知られており, 発酵に関与する可能性のある乳酸菌や酵母も確認されている<sup>7)17-19)</sup>。実際にこれらの微生物のうち, 耐糖性酵母 *Zygosaccharomyces* 属の *Zygosaccharomyces siamensis* が国内ではニホンミツバチのハチミツ中でのみ見つかっている<sup>7)16)</sup>。発酵後のハチミツのみで増加していた一部の遊離アミノ酸は, もともとハチミツに存在している微生物が発酵過程で生合成をしている可能性が推定された。ミツバチは, 花蜜は炭水化物源として, 花粉はタンパク質源として利用している<sup>20)</sup>。ニホンミツバチが集めてくる花粉には, 主にリジンやメチオニン, フェニルアラニン, ロイシン, バリン, イソロイシン, トレオニン, トリプトファン, セリン, シスチン, アルギニン, ヒスチジン, チロシンが含まれている<sup>11)20)21)</sup>。今回の分析では, 一部の必須および非必須アミノ酸が, 発酵後区で含量が増加していた(表2)。これらのうちフェニルアラニンやプロリンの濃度は, 加齢の進んだオスバチよりも若齢個体の体液中で高く, 性成熟の過程でオスバチの精嚢や女王バチの卵黄膜で高濃度になるという報告がある<sup>6)22)</sup>。フェニルアラニンについては, オスバチが交尾飛翔をするときの酸化的代謝に利用されているという報告もある<sup>23)</sup>。また, グルタミンは, 働きバチ成虫の飛翔筋に多く含まれている。飛翔筋は採餌, 巢内の保温, 天敵に対する発熱防衛(熱殺蜂球)などの行動を行う上で重要な組織である<sup>6)</sup>。今回の分析により発酵したハチミツは, これらのアミノ酸含量が生ハチミツよりも増加しており, ニホンミツバチにとって発酵したハチミツは有用な餌であると推定された。

## ま と め

ニホンミツバチの発酵したハチミツは, 発酵前区や未発酵区のハチミツと一般成分には大きな相違は見られなかった。ただし, 発酵前区の水分は, 未発酵区よりも高く, その一方で糖度は低いため, これらが発酵に関連している可能性が推定された。一方, 検出された遊離アミノ酸は, 発酵前区や未発酵区では19種であったが, 発酵後区で25種であった。発酵後区のハチミツのみに含まれていた6種類の遊離アミノ酸は, ヒスチジンやシトルリン, テアニン, シスチン, メチオニン, トリプトファンであった。また, 発酵後区における25種の遊離アミノ酸の含有量は, チロシンとイソロイシンを除いて発酵前区または未発酵区よりも増加していることがわかった。特に, グルタミンやGABA, シスチン, フェニルアラニン, プロリンは発酵後区で大幅に増加していた。ニホンミツバチの発酵ハチミツは, これまで食品としてほとんど利用されていなかったが, 一般的に流通しているセイヨウミツバチの生ハチミツには存在していない6種の遊離アミノ酸が含まれているだけでなく, 分析した25種のうち19種の遊離アミノ酸含有量が増加していた。今回の分析によりはじめて明らかになった発酵したハチミツにおける遊離アミノ酸の分析データは, 未利用資源であるニホンミツバチの発酵ハチミツの有効利用につながる結果になると期待する。

## 利 益 相 反

本論文発表内容に関連して申告すべきCOI状態はない。

ハチミツの採集には, みなべ・田辺地域世界農業遺産推進協議会による協力を受けた。

## 文 献

- 1) Crane E (1999) The World History of Beekeeping and Honey Hunting. p 704. Routledge, UK.
- 2) 渡辺 考 (2003) ハチミツの百科. p 205. 真珠書院, 東京.
- 3) García NL (2018) The current situation on the international honey market. *Bee World* **95**: 89-94.
- 4) 農林水産省生産局畜産部 (2020) 養蜂をめぐる情勢. <https://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/sonota/attach/pdf/bee-8.pdf> (2021年8月11日閲覧).
- 5) 吉田忠晴 (2000) ニホンミツバチの飼育法と生態. p 136. 玉川大学出版部, 東京.
- 6) 佐々木正己 (2001) 養蜂の科学. p 159. サイエンスハウス, 東京.
- 7) 近野真央, 田村直也, 高橋純一 (2021) ニホンミツバチのハチミツから単離された酵母 *Zygosaccharomyces siamensis* について. 京都産業大学総合学術研究所所報 **16**: 1-10.
- 8) 渡辺 武 (1954) 蜂蜜薬効論—東洋医学より見た蜂蜜の薬能と応用—. 日本東洋医学雑誌 **5**: 35-41.
- 9) 兼松 弘, 青山 稔, 丸山武紀, 新谷 勳 (1982)

- 産地および蜜源植物の異なる蜂蜜のアミノ酸分析. 栄養と食糧 **35**: 297-303.
- 10) 真山昭彦, 中島明子, 越後多嘉志 (1982) 蜂蜜の糖, 有機酸および遊離アミノ酸組成と嗜好との関係. ミツバチ科学 **3**: 131-4.
  - 11) 越後多嘉志 (1993) ハチミツの科学. 調理科学 **26**: 47-53.
  - 12) 榎本俊樹 (2019) ハチミツの成分特性. 化学と教育 **67**: 134-5.
  - 13) 崎原 卓, 三浦 徹, 三枝朋樹 (2009) はちみつの糖度分析. 関税中央分析所報 **49**: 35-9.
  - 14) 寺本祐司 (2001) ハチミツ酒について. 日本醸造協会誌 **96**: 314-8.
  - 15) 北本勝ひこ, 春田 伸, 丸山潤一, 後藤慶一, 尾花望, 齋藤勝晴 (2017) 食と微生物事典. p 113. 朝倉書店, 東京.
  - 16) Cotte JF, Casabianca H, Giroud B, Albert M, Lheritier J, Grenier-Loustalot MF (2004) Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity. *Anal Bioanal Chem* **378**: 1342-50.
  - 17) Saksinchai S, Suzuki M, Chantawannakul P, Ohkuma M, Lumyong S (2012) A novel ascosporeogenous yeast species, *Zygosaccharomyces siamensis*, and the sugar tolerant yeasts associated with raw honey collected in Thailand. *Fungal Divers* **52**: 123-39.
  - 18) Čadež N, Fülöp L, Dlačny D, Péter G (2015) *Zygosaccharomyces favi* sp nov., an obligate osmophilic yeast species from bee bread and honey. *Antonie van Leeuwenhoek* **107**: 645-54.
  - 19) Chikano M, Takahashi J (2020) Complete mitochondrial DNA sequence of the yeast *Zygosaccharomyces siamensis* (Saccharomycetes: Saccharomycetales) from fermented honey of the *Apis cerana japonica* in Japan. *Mitochondrial DNA Part B* **5**: 2645-7.
  - 20) 佐々木正己 (2010) 蜂からみた花の世界—四季の蜜源植物とミツバチからの贈り物. p 413. 海游舎, 東京.
  - 21) 小泉常治 (1958) 花粉中の Amino acid に就いて. 北海道学芸大学紀要 **9**: 87-99.
  - 22) Berger B, Crailsheim K, Leonhard B (1997) Proline, leucine and phenylalanine metabolism in adult honeybee drones (*Apis mellifica carnica* Pollm). *Insect Biochem Mol Biol* **27**: 587-93.
  - 23) Micheu S, Crailsheim K, Leonhard B (2000) Importance of proline and other amino acids during honeybee flight. *Amino Acids* **18**: 157-75.

*J Jpn Soc Nutr Food Sci* **75**: 113-118 (2022)

## Research Data

### Composition of Free Amino Acids in Fermented Honey, an Untapped Resource from Japanese Honeybees

Jun-ichi Takahashi<sup>\*,1</sup>

(Received September 11, 2021; Accepted March 16, 2022)

**Summary:** The honey of the Japanese honeybee, *Apis cerana japonica*, is known to ferment spontaneously. Fermented honey is an underutilized resource that is rarely sold. Here we report the first analysis of the general composition and free amino acid composition of honey obtained in a fermented state from Japanese honeybees, for use as food. Fermented honey showed a significantly higher content of five of the 25 free amino acids analyzed: glutamine, GABA, cystine, phenylalanine, and proline. Another six amino acids (histidine, citrulline, theanine, cystine, methionine, and tryptophan), which are undetectable in unfermented honey, were confirmed to be present in fermented honey. No significant differences in general components were evident. The free amino acids that are increased in fermented honey are important nutrients for both humans and honeybees. Fermented honey from Japanese honeybees can be used as a new value-added food rich in important amino acids.

**Key words:** fermentation, amino acids, honey, honeybee, untapped resources

\* Corresponding author (E-mail: jit@cc.kyoto-su.ac.jp)

<sup>1</sup> Faculty of Life Sciences, Kyoto Sangyo University, Kitaku, Kamigamo, Motoyama, Kyoto, Kyoto 603-8047, Japan