

収穫時期の違いがカキ ‘西条’ の葉における機能性成分含量に及ぼす影響

鶴永陽子^{1*}・松本敏一¹・倉橋孝夫²・持田圭介²・板村裕之³¹しまねの味開発指導センター 697-0006 島根県浜田市下府町 388-3²島根県農業技術センター 693-0035 島根県出雲市芦渡町 2440³島根大学生物資源科学部 690-8504 島根県松江市西川津町 1060

Effect of Picking Time on Contents of Functional Component in Leaf of Japanese Persimmon ‘Saijo’

Yoko Tsurunaga^{1*}, Toshikazu Matsumoto¹, Takao Kurahashi², Keisuke Mochida² and Hiroyuki Itamura³¹Food Processing Research Institute of Shimane Prefecture, Shimoko, Hamada, Shimane, 697-0006²Shimane Agricultural Experiment Station, Ashiwata, Izumo, Shimane, 693-0035³Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Nishikawatsu, Matsue, Shimane, 690-8504

Abstract

Concentrations of functional components in the growing persimmon leaf were determined using 14-year-old Japanese persimmon ‘Saijo’ tree. The concentrations of functional components were extracted using hot water to estimate the utility of persimmon leaf tea. The results were as follows. The concentrations of T-AsA and polyphenol in persimmon leaf were at their highest levels from June to July (3,700 mg/100 gDW and 16,100 mg astragaline eq./100 gDW, respectively). The concentrations of isoquercitrin and astragaline in persimmon leaf were at their highest levels in May (480 and 520 mg/100 gDW, respectively). The latter two components demonstrated dramatic decreases in June during the time of rapid shoot growth.

Key Words : astragaline, isoquercitrin, polyphenol, total ascorbic acid

キーワード : アストラガリン, イソケルシトリン, ポリフェノール, 総アスコルビン酸

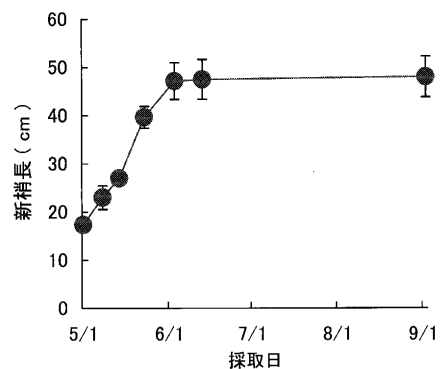
緒 言

近年の健康志向から、食品の3次機能性が注目を集め、果樹の機能性についても多くの報告がある(神田, 1998; 三宅, 1998; 佐藤, 1998; 矢野, 2002). 木村ら(2002)は、200点以上の農産物のラジカル消去能を測定したところ、柿葉および柿葉茶は、非常に高いフリーラジカル捕捉活性を有していたことを報告し、Sakanakaら(2005)らは、柿の葉の水抽出物がβ-カロテンブリーチング法による酸化防止活性が強いことを明らかにしている。また、小谷ら(1999)は、柿葉の主要フラボノイドであるアストラガリンが非常に強い抗アレルギー活性を有すること報告している。しかし、柿葉の収穫時期と機能性成分についての報告例は少ない(曾根原・泉, 1991). そこで、本報では、収穫時期と水溶性ビタミンであるアスコルビン酸含量を明らかにするとともに、柿葉茶への利用を想定し、熱水抽出液を用いてイソケルシトリン、アストラガリン含量、可溶性総ポリフェノール含量の推移について検討した。

材料および方法

1. 実験材料

試料は、島根県農業試験場(益田市)栽植の14年生カキ‘西条’1樹を用いた。2003年5月12日、6月16日、7月23日、8月26日、9月24日、10月23日に発育良好で平均的な長さの新梢5本を採取した。各試料の新梢長は5月が約25 cmで、6月以降は50~60 cmであった。新梢5本から全ての葉を回収して1サンプルとし、真空凍結乾燥機



第1図 カキ‘西条’における新梢長の推移棒は標準偏差 (n = 10)

2005年10月24日 受付. 2006年3月15日 受理.

* Corresponding author. E-mail: tsurunaga-yoko@pref.shimane.lg.jp

(CHRIST 社, ALPHA1-4LDC-1M) で乾燥後粉末にしたものを分析試料とした。また, '西条' の新梢長の推移を第 1 図に記した。

2. 還元型および酸化型アスコルビン酸含量の測定

還元型および酸化型アスコルビン酸分析は, 池ヶ谷ら (1990) の方法に準じて, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) で行った。試料 200 mg に 2% メタリン酸水 40 mL 加え, 時間放置して抽出し, 抽出液を 50 mL に定容した。その抽出液は, 0.45 μ m のマイクロフィルターでろ過し, HPLC を用いて, 還元型アスコルビン酸 (AsA) 含量を測定した。また, 酸化型アスコルビン酸 (DHA) 含量は, 上記抽出液にジチオスレイトールを添加して DHA を還元型に変換して総アスコルビン酸 (T-AsA) 含量を測定し, 先の AsA の測定値を差し引いて求めた。装置は島津高速液体クロマトグラフ装置 (島津製作所, LC10A システム), UV-VIS 検出器 (SPD10A) を用いた。カラムは Inertsil ODS-2 (GL サイエンス, 4.6 ϕ × 250 mm), 移動相は 1% メタリン酸水, 検出器波長 254 nm, カラム温度 40°C, 流速 1.0 mL/分 で分析した。

3. 熱水抽出法の違いによるアスコルビン酸含量の測定

熱水による抽出温度, 時間が柿葉のアスコルビン酸含量に及ぼす影響を検討した。試料 200 mg に 80°C もしくは 100°C の熱水を 20 mL 加え, そのまま 80°C または 100°C の恒温水中で保温しながら抽出を行った。抽出時間は 80°C で 1, 3 および 5 分, 100°C で 1, 3, 5, 10, 30 および 60 分行い, 抽出終了後, ただちに 50 mL に定容し, 酸化分解を防ぐ目的で 4% メタリン酸を等量添加した。HPLC によるアスコルビン酸含量の分析は前述の方法 (池ヶ谷ら, 1990) に従った。

4. イソケルシトリンおよびアストラガリン含量の測定

柿葉の主要ポリフェノールであるイソケルシトリン (ケルセチン 3-O-グルコシド) とアストラガリン (ケンフェロール 3-O-グルコシド) の分析は熱水抽出で行った。試料 200 mg に超純水 (ミリ Q 水) を添加し, 10 分間沸騰水中で加熱抽出し 50 mL に定容したものを熱水試料液とし, HPLC を用いて分析した。装置は島津高速液体クロマトグラフ装置 (島津製作所, LC10A システム), UV-VIS 検出器 (SPD10A) を用い, カラムは Inertsil ODS80A (GL サイエンス, 4.6 ϕ × 250 mm), 移動相は 0.5% リン酸水/アセトニトリル = 82/18 (v/v), 検出器波長 254 nm, カラム温度 40°C, 流速 1.0 mL/分 で分析した。

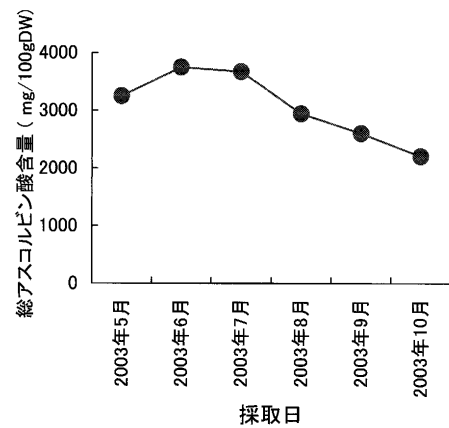
5. 可溶性総ポリフェノール含量の測定

抽出はフラボノイドの方法に準じて行った。ポリフェノール含量は, フォリン-チオカルト試薬を用いたフォリン法 (Swain・Hillis, 1959) によって定量し, アストラガリン相当量として表した。

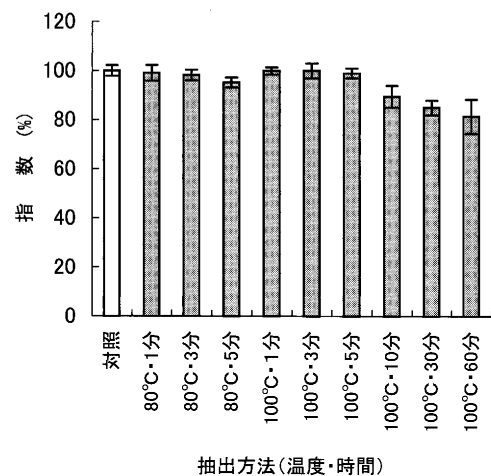
結果および考察

1. アスコルビン酸含量

第 2 図に示すとおり, 6 月から 7 月までの T-AsA 含量は



第 2 図 カキ '西条' の葉における総アスコルビン酸含量の推移



第 3 図 熱水抽出温度および時間が柿葉のアスコルビン酸含量に及ぼす影響

対照 (2% メタリン酸水抽出) を 100 とする
熱水抽出後, ただちに 4% メタリン酸を等量添加
棒は標準偏差 (n = 5)

高く, 3500 mg/100 g 乾物重 (以下 DW) 以上で保持したが, 8 月下旬以降は, 生育に伴い T-AsA 含量は減少し, 10 月葉では 7 月葉の約 60% であった。一方, T-AsA に対する AsA の比率は採取時期による変化はほとんどなく, 時期を通じて T-AsA の 80 ~ 90% を示した (データ略)。6, 7 月の T-AsA 含量が多かった理由として AsA 生合成の出発物質である糖の関与が考えられる。曾根ら (2003) は, イチゴ果実の AsA 含量とスクロースの間に相関があるとし, 泉 (1999) は, ウンシュウミカンの糖含量とアスコルビン酸との間に有意な正の相関があり, 葉の光合成能力を高めて果実への糖の転流量を増大させることが AsA 含量の高い果実生産につながると述べている。6 月 ~ 7 月は, 日射量が多く光合成が盛んな時期であるため, 光合成生産物である糖含量の増加が期待できる。また, 5 月葉は, 未熟であるため糖生成能力が低く, 9 月以降の葉は, 果実生産のため糖転流量が増大し, 葉中糖含量が低下していることが考えられる。

T-AsA 含量が多いことで知られる緑茶の T-AsA 含量が

114 mg/100 gDW (食品成分表5訂, 乾物換算値)であることを考慮すると, 柿葉の T-AsA 含量は著しく高く, 柿葉は T-AsA の供給源として非常に優れた食品素材といえる. 柿葉茶として利用する場合は熱水で抽出するため, AsA の酸化分解が懸念される. そのため, 熱水抽出時の温度と時間が AsA および DHA 含量に与える影響について検討した. その結果, 柿葉の AsA は 100°C で 5 分の加熱処理においても 2% メタリン酸抽出と同程度のアスコルビン酸が残存することが判明した (第3図). このことから柿葉茶として活用する場合も, AsA の供給源として極めて有効であることが示された.

2. イソケルシトリンおよびアストラガリン含量

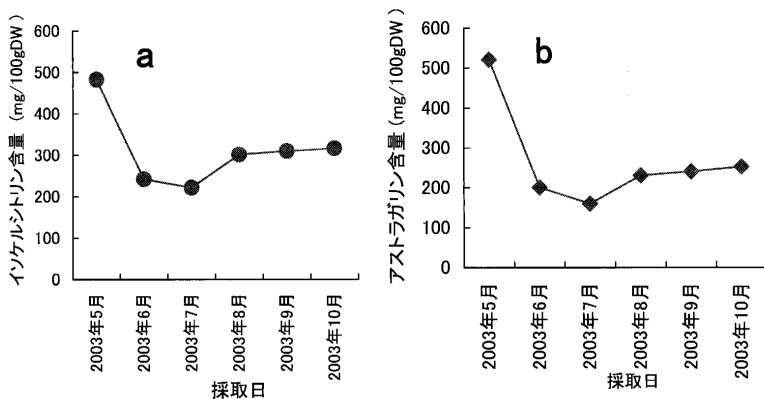
柿葉茶はイソケルシトリン, アストラガリン含量が高いという報告 (棟久ら, 1999) があるが, 本試験の HPLC を用いた分析においても同様の結果が得られた (第4図). 柿葉における重量あたりのイソケルシトリン, アストラガリン含量は, 第4図に示すとおり展葉直後の5月葉の含量が最も高く, それぞれ 480, 520 mg/100 gDW であったが, 6月葉では, 240, 200 mg/100 gDW と著しく減少した. しかし, 7月以降は, 両含量とも徐々に増加し, 果実収穫期である10月葉では 350, 240 mg/100 gDW となった. フラボノイドは, UVB 領域に吸収をもち, 主に表皮細胞の液胞中に蓄積することで紫外線フィルターとして機能していると言われる (今村・中嶋, 2005). しかし, 本試験では紫外線量が多い6~7月よりも5月の含量が大幅に多い結果となった. これは, 葉面積の増加に伴い, 生体重や乾物重も急激に増大することが新居 (1980) によって報告されていることから, 水分や乾物重の著しい増加による希釈効果でイソケルシトリン, アストラガリンが激減したと考えられる. 第1図に示すとおり, カキ '西条' の新梢は5月~6月上旬にかけて急速に伸長し, それ以降は一定値で推移する. さらに, カキ '西条' の葉面積と新梢長は高い正の相関関係にあること (倉橋, 1998), 柿葉の細胞数は展葉期迄に決定してことから, 新梢の伸長速度と葉の細胞肥大速度は比例している

といえる. したがって, 5月から6月上旬にかけての急速な細胞肥大が, 細胞中のフラボノイド生成速度を大きく上回ったためにイソケルシトリン, アストラガリンが希釈され, 重量あたりの含量が低下したと推察される. これは, 細胞肥大が終了する7月以降のフラボノイド含量が増加に転じたことからいえる.

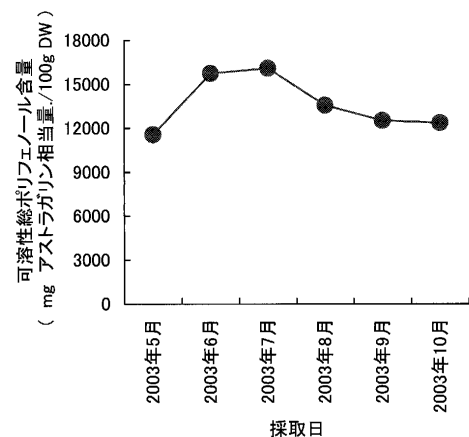
以上のことから, イソケルシトリン, アストラガリン含量が高い柿葉を効率よく採取するためには, 展葉直後の5月の収穫が適していることが明らかとなった.

3. 可溶性総ポリフェノール含量

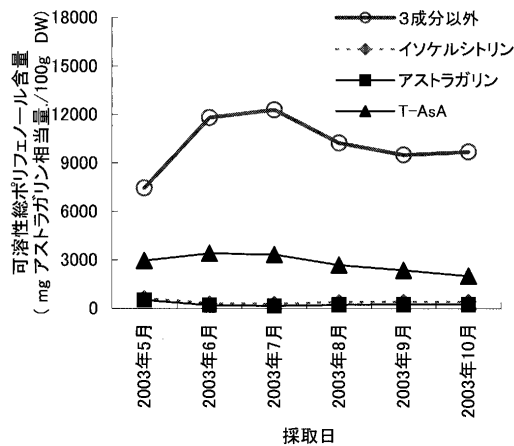
5月葉では 11560 mg/100 gDW (アストラガリン相当量) で, その後増加し, 6月および7月葉の含量は 16100 mg/100 gDW で最も高くなったが, それ以降は徐々に減少した (第5図). 一方, イソケルシトリンやアストラガリン (第4図) と異なり, 葉の細胞肥大が旺盛な5月から6月にも含量の増加が認められた. このことは, フォリン法による可溶性総ポリフェノール含量に, アストラガリン, イソケルシトリン以外の成分が大きく関与することを表している. そこで, フォリン法による可溶性総ポリフェノール含量の数値に及ぼす T-AsA, イソケルシトリン, アストラガリンの影響を, それぞれの標品を用いて 10 mg/100 mL の濃度と比較した. その結果, アストラガリンを1とした場合, イソケルシトリンは 1.34, アスコルビン酸は 0.91 倍の数値を示した. さらに, 3成分の採取時期別含量と対アストラガリン比から算出した可溶性ポリフェノール含量 (アストラガリン換算値) を図6に示した. その結果, 3成分のうち最も含量が高かったのは T-AsA で, イソケルシトリン, アストラガリンは時期を通じて低い値で推移した. さらに, 3成分の合計値を差し引いた可溶性総ポリフェノールの推移を第6図に示した. これらの結果からも5月~6月にかけてイソケルシトリン, アストラガリン以外の水溶性フェノール化合物の含量が増加することが考えられる. 柿葉のポリフェノールで報告があるのは, カテキン (曾根原・泉, 1991; 棟久ら, 1999), エピガロカテキンガレート (曾根原・



第4図 カキ '西条' の葉におけるイソケルシトリン (a) およびアストラガリン (b) 含量の推移



第5図 カキ '西条' の葉における可溶性総ポリフェノール含量 (フォリン法) の推移



第6図 カキ‘西条’の葉における可溶性総ポリフェノール含量（フォリン法）における各成分の推移

泉, 1991), ルチン (木村ら, 2003) があるが, 本研究における HPLC 分析ではエピガロカテキンガレートやルチンは検出されなかった。また, カテキンも検出されたもののその量は 40 ~ 60 mg/100 gDW 程度と低いものであった。その他の成分の報告としては, 曾根原・泉 (1991) が, 酢酸エチル移行部と不移行部に大別し柿葉のポリフェノールについて成分の検索を試みた結果, 移行部は塩化第二鉄液で黒褐色を呈したことで, タンニン系物質の存在を明らかにした。また, 不移行部からは, ロイコアントシアニンの存在を認めている。これらのことからフォリン法による可溶性総ポリフェノール含量の数値には, タンニン系物質やロイコアントシアニン, あるいは報告されていない未知成分が大きく関与していると思われる。

本試験から, 可溶性ポリフェノールを効率よく得るための採取時期は, 6月~7月であることが明らかとなった。

本研究により, T-AsA と可溶性総ポリフェノールは6~7月に, イソケルシトリンおよびアストラガリンは展葉間もない5月に収穫するのが効率的であることが明らかとなった。これらの結果が, 健康食品素材としての利用増大が期待される柿葉の生産現場において, 柿葉採取時期の判断資料として活用されることを期待する。そして, 本研究では, 採取時期の違いによる機能性成分含量を, 新梢長を指標にして明らかにしたが, 加工用途のさらなる拡大を促進するためには, 単位面積あたりの収穫量と機能性成分含量についても明らかにする必要があるため, 今後検討し, 報告したいと考えている。

摘 要

14年生カキ‘西条’を用い, 成育中の柿葉におけるアスコルビン酸, イソケルシトリン, アストラガリン, ポリフェノール含量の推移を検討した。その結果, アスコルビン酸とポリフェノールは6月から7月の含量がもっとも高く, それぞれ 3700 mg/100 gDW, 16100 mg/100 gDW (アストラガリン相当量) であった。また, イソケルシトリン, アスト

ラガリン含量は5月葉が最も高く, それぞれ 480, 520 mg/100 gDW で, その後新梢長の急激な伸長の伴い6月には激減することが明らかとなった。

引用文献

- 池ヶ谷賢次郎・高柳博次・阿南豊正. 1990. 茶の分析法. 茶業研究報告. 71: 55-57.
- 今村隆史・中嶋信美. 2005. オゾン層破壊の機構と紫外線の農産物影響. 農林水産技術研究ジャーナル. 28: 45-49.
- 泉 秀実. 1999. カンキツ果実の品質と貯蔵性に及ぼす栽培時の光環境の影響に関する研究. 日本食品保蔵学会誌. 25: 69-80.
- 神田智正・柳田顕朗. リンゴの特徴的成分と生理機能. 食品と開発. 33: 19-21.
- 木村俊之・山岸賢治・鈴木雅博・八巻幸二・新本洋士. 2003. 柿の葉のラジカル消去成分. 東北農業研究. 56: 267-268.
- 木村俊之・山岸賢治・鈴木雅博・新本洋士. 2002. 農産物のラジカル消去能の検索. 食科工. 49: 257-266.
- 小谷麻由美・藤田晃人・田中敏郎. 1999. ヒト好塩基球細胞およびマウスにおける柿の葉抽出物のアレルギー抑制効果. 日本栄養・食糧学会誌. 52: 147-151.
- 倉橋孝夫. 1998. 落葉果樹の成長と高生産技術. カキ. p. 227-255. 高橋国昭編. 物質生産理論による落葉果樹の高生産技術. 農文協. 東京.
- 三宅義明. 1998. レモン成分の機能性研究. 食品と開発. 33: 15-18.
- 棟久美佐子・井上友昭・小松正幹. 1999. 日本茶および「健康茶」浸出液の抗酸化性について (II). 京都府保環研年報. 44: 20-25.
- 新居直祐. 1980. カキ‘富有’樹の新しょうと葉の発育過程について. 園学雑. 49: 149-159.
- 佐藤充克. 1998. ブドウの機能性成分の研究. 食品と開発. 33: 11-14.
- Sakanaka, S., Y. Tatibana and Y. Okada. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chem. 89: 569-575.
- 曾根一純・望月龍也・沖村 誠・野口祐司・北村恵美. 2003. イチゴ果実中のビタミンCの遺伝. 園学雑誌. 72: 141-147.
- 曾根原直子・泉 敬子. 1991. 柿葉のビタミンCとポリフェノール成分との関係. 日本栄養・食糧学会誌. 44: 213-219.
- Swain, T. and W. E. Hillis. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food. Agric. 10: 63-68.
- 矢野昌充. 2002. カンキツによるがん予防. 食科工. 49: 139-144.