

# 果樹を用いた健康茶の製造方法と 機能性成分含量に関する研究

鶴 永 陽 子\*

## Studies on the Manufacturing Method and Amount of Functional Components of Health Tea made from Fruit Tree

Yoko Tsurunaga\*

### I 緒 言

高齢化社会を迎え、健康を維持していく上で、生活習慣病にかからない食生活が望まれている。その中で、我が国の日常生活に密着しているお茶は、消費者の健康志向の高まりに伴いその機能性について注目を集めている。近年の研究によって、茶には多くの生理的機能があることが明らかになってきた。例えば、緑茶の抗酸化性(富田, 2002a)、血圧上昇抑制作用(原, 2002a)、血糖上昇抑制作用(原, 2002b)、抗ウイルス作用(原, 2002c)などの機能性が明らかになり、健康食品素材として高い評価を得ている。さらに緑茶の機能性成分の認知度も高まり、今や緑茶カテキンは一般市場にも浸透し、PETボトル緑茶の生産量は清涼飲料市場の中でも大きな割合を占めるまでになっている。

また、ツバキ科のチャ葉以外の材料から作られた健康茶も消費者の「安全志向」「健康志向」を背景に機能性が見直されてきている。健康茶の素材は、世界各地で民間伝承的に飲用されているものが多いが、これは長い食履歴から得られた安心感が消費者ニーズと合致しているためである。こうした状況の中、各社からPETボトル入ブレンド茶が多数販売され、売り上げを伸ばしている。最近では、マスコミ等により健康茶の機能性に関する情報が流れることで健康茶

に使用される原料の機能性が注目され、機能性に関する研究テーマが急増している。その結果、従来の民間伝承的なイメージだけではなく、近年の著しい分析技術の発展を背景として得られた科学的データによる健康茶素材の機能性が多数報告されるようになった。例えば、ルイボスティーの便秘解消作用(中野・人見, 1997)、甜茶の抗アレルギー作用(健康の科学編集部, 1997a)、タラ葉茶の血糖値上昇抑制作用(長村, 1997)が明らかにされるとともに、そのメカニズムについても解明されつつある。

一方、原料供給の面から健康茶をみた場合、いわゆる地域資源と分類される在来種には、カワラヨモギ、アカメガシワ、クロモジなど優れた機能性を有した未利用植物が数多くあることから(豊川ら, 2000; 増田ら, 2002; Katsubeら, 2004)、それらは健康茶素材として大変有望視されている。また、全国各地で地域資源を地域振興や新産業の創出に活用する動きが活発化している。島根県においても、平成12年度から県内5研究機関共同による「薬草の栽培技術の確立と利用技術の開発」が実施され、県内の薬草・山野草において抗腫瘍活性、抗アレルギー活性、抗酸化性及び血圧上昇抑制作用を指標とした機能性評価を行い、優れた機能性を有する植物を見出すことができた(鶴永・仲谷ら, 2002)。しかし、機能性を有するだけでは健康茶素材としては弱く、安定的に原料を調達できること及

\*加工研究部加工グループ

び茶としての嗜好性が良好なことが重要な要素となる。著者らは、機能性、原材料確保の容易さ、嗜好性の観点から、カキ及びヤマモモの葉を素材とした健康茶に注目した。

島根県は渋柿であるカキ‘西条’の栽培が盛んで、栽培面積は日本一（島根県農林水産部生産指導課，2004）である。その果実は生果、干し柿として利用されているが葉の活用はほとんどない。

カキの葉は、機能性成分としてアスコルビン酸やポリフェノールを多く含み（水野，1995；奥田，2002a），特に総アスコルビン酸（以下T-AsA）含量はオレンジの26倍，レモンの17倍（健康の科学編集部，1997b）と著しく高い。その他，近年の研究から強い抗アレルギー活性（小谷ら，1999；松本ら，2001），抗酸化作用（棟久ら，1999）及び育毛作用（桑名ら，1995）などが報告されており，健康茶の原料として非常に優れた素材とされている。

一方，ヤマモモの葉は，これまで食品としての利用はほとんどなく，水及びメタノール抽出液が抗酸化剤として既存添加物リスト（厚生省生活衛生局食品化学課，1996）に記載されているが，ヤマモモ抽出物を用いた抗酸化剤が商品化されているにすぎない。しかし，ヤマモモの葉は，本県で行った共同研究「薬草の栽培技術の確立と利用技術の開発」において，非常に強い抗ウイルス作用，抗アレルギー活性，ACE阻害能，抗腫瘍活及び抗酸化活性を有することが明らかとなっている。また，ヤマモモは出雲市多伎町及び簸川郡斐川町の町の木で，特に斐川町では成人の日には苗木が配布されているためそれらの地域で樹数が多いことから，原料の確保が比較的容易な素材と言える。

本研究ではカキ及びヤマモモの葉を健康茶の素材として用い，高い機能性を有した健康茶の製造技術を確立した。第Ⅱ章では機能性成分含量の高い柿葉を得るための条件（採取時期，新梢長等）について，第Ⅲ章では機能性成分を効率よく保持する柿葉茶の製造方法について明らかにした。第Ⅳ章ではヤマモモ葉が有する強いラジカル捕捉活性に着目し，採取時期や雌雄がその活性に与える影響について調査し，第Ⅴ章ではヤマモモ葉茶の機能性成分を効率よく残存

するための製造方法について検討した。

本研究の発表の機会を与えて下さるとともに，本論文の作成にあたり，島根大学生物資源科学部教授 板村裕之博士には終始熱心なご指導，ご鞭撻を賜りました。また，鳥取大学農学部教授 田邊賢二博士，山口大学農学部教授 山内直樹博士，島根大学産学連携センター地域医学共同研究部門教授 中村守彦博士，同 生物資源科学部教授 太田勝巳博士にはご校閲の労と有益な助言を賜りました。ここに深く感謝の意を申し上げます。

また，島根県農業技術センター加工研究部加工グループ科長 松崎 一氏には，本研究の遂行に際し，研究のきっかけを与えて頂くとともに，食品分析の手法，食品研究に関する基礎等，研究遂行上多くの有益なご指導を頂きました。さらに，同 専門研究員 松本敏一博士には，本研究の遂行と本論文の作成にあたり，示唆に富んだ多くの知見を与えて頂くとともに，終止熱心なご指導，ご支援を賜りました。そして，島根県しまねの味開発指導センター元所長 鐘築章枝氏，同 元所長 澤田眞之輔氏，同 前所長 柳楽紀美子氏には，本研究を進める上で多大なご理解と暖かい励ましのお言葉を頂きました。厚く御礼申し上げます。

また，島根県しまねの味開発指導センター主任研究員 仲谷敦志氏（現・島根県健康福祉部浜田保健所企画員），島根県農業技術センター技術普及部専門農業普及員 生田千枝子氏，島根県産業技術センター浜田技術センター専門研究員 土佐典照博士には，本研究遂行上，多くの有益なご助言及びご協力を頂きました。さらに，実験の遂行及びデータ解析に際して，島根県農業技術センター果樹グループ科長 倉橋孝夫博士，同 専門研究員 持田圭介氏，島根県中山間地域研究センター専門研究員 富川康之氏には多大なるご協力を賜りました。ここに深く感謝の意を申し上げます。

最後に，本稿をまとめるにあたり，多大なご理解，ご支援を頂きました島根県農業技術センター加工研究部長 横山誠司氏，他 加工研究部の皆様，島根県産業技術センター生物応用グループの皆様，島根県産業技術センター浜田技術センターの皆様にも末尾ながら厚く御礼申し上げ

げます。

## II 新梢長及び採取時期が 柿葉及び新梢の機能性及び 機能性成分含量に及ぼす影響

### 1 採取時期が柿葉の機能性成分含量に及ぼす影響

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(矢野, 2002; 佐藤, 1998; 三宅, 1998; 神田, 1998)。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、柿葉及び柿葉茶は、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)は、柿の葉の水抽出物が $\beta$ -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(1997)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(曾根原ら, 1991)。そこで、本節では、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及び可溶性総ポリフェノール含量の推移について検討した。

#### 1) 実験方法

##### (1) 実験材料

分析試料は、島根県農業試験場圃場(益田市)栽植の14年生カキ‘西条’1樹から採取した。5月12日、6月16日、7月23日、8月26日、9月24日及び10月23日に発育良好でサンプル採取時に平均的な長さの新梢5本を採取した。各試料を採取した新梢の長さは5月が約25cmで、6月以降は50~60cmであった。採取した5本の新梢全ての葉を1サンプルとし、真空凍結乾燥機(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Fig.1に示した。

##### (2) 還元型及び酸化型アスコルビン酸含量の測定

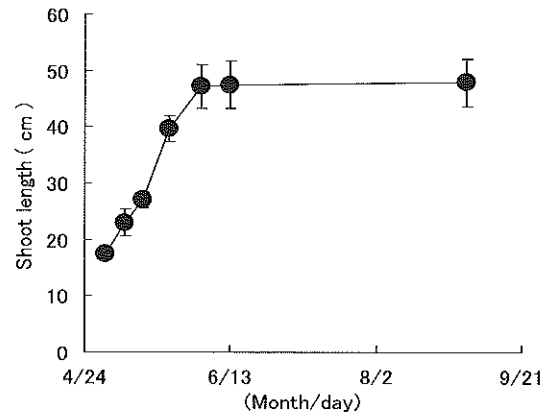


Fig. 1 Seasonal changes of the shoot length in persimmon ‘Saijo’.

Vertical bars indicate standard deviations (n=3) of means

還元型及び酸化型アスコルビン酸分析は、池ヶ谷ら(1999)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200mgに2%メタリン酸水40ml加え、1時間放置して抽出し、50mlに定容した。抽出液は、0.45 $\mu$ 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。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 ODS-2(GLサイエンス, 4.6 $\phi$ ×250mm)、移動相は1%メタリン酸水、検出器波長254nm、カラム温度40 $^{\circ}$ C、流速1.0ml/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。分析試料200mgに80 $^{\circ}$ Cまたは100 $^{\circ}$ Cの熱水を20ml加え、それぞれ80 $^{\circ}$ Cまたは100 $^{\circ}$ Cの恒温水中で抽出を行った。抽出時間は80 $^{\circ}$ Cで1, 3及び5分、100 $^{\circ}$ Cで1, 3, 5, 10, 30及び60分、抽出終了後、ただちに50mlに定容し、酸化分解を防ぐ目的で等量の4%メタリン酸を添加した。なお、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,

1999) に従った。

#### (4) イソケルシトリン及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 200mg 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 50ml に定容したものを熱水試料液とし, HPLC を用いて分析した。なお, 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, 4.6φ×250mm), 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 254nm, カラム温度 40℃, 流速 1.0 ml/分 で分析した。

イソケルシトリン及びアストラガリンは, 既報 (棟久ら, 1999) の結果と HPLC 分析の溶出パターンにおける試料抽出液と標準物質とのリテンションタイムの比較により同定した。

#### (5) 可溶性総ポリフェノール含量の測定

抽出液は前述のイソケルシトリン及びアストラガリンと同一のものを使用した。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。

## 2) 結果及び考察

### (1) アスコルビン酸含量

Fig.2 に示したとおり, 6~7月までの T-AsA 含量は高く, 3,500mg/100g 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 の比率は採取時期でほとんど差がなく, 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

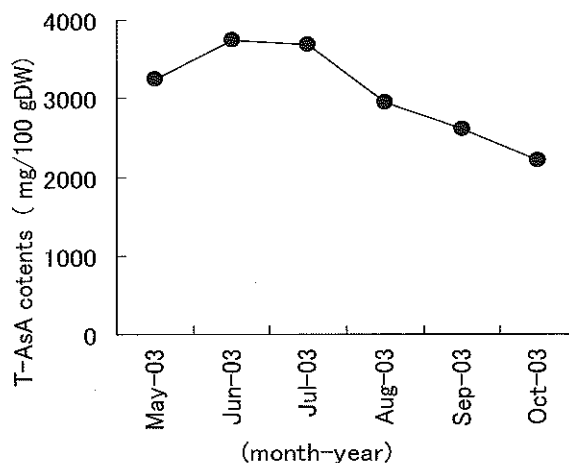


Fig. 2 Seasonal changes of T-AsA contents in persimmon leaf of 'Saijo'.

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。日射量が多く光合成が盛んな時期である 6~7月 は, 光合成生産物である糖含量の増加が期待できる。一方, 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 114mg/100gDW (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。しかし, 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 及び 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℃ 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 (Fig.3)。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) イソケルシトリン及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, 今回の HPLC を用いた分析においても同様の結果が得られた (Fig.4)。柿葉における重量当たりのイソケルシトリン, アスト

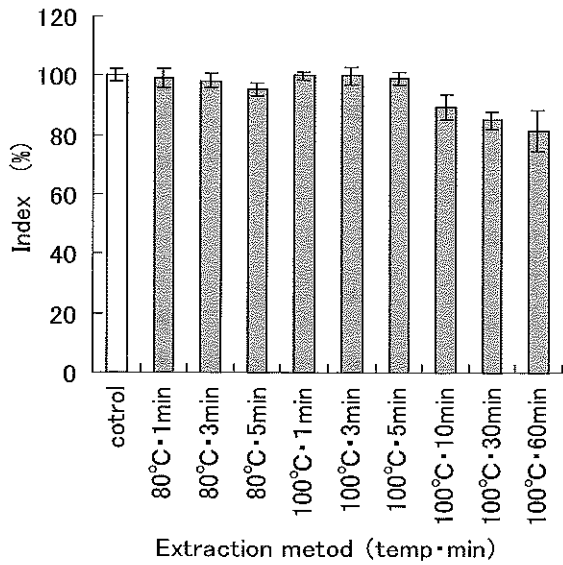


Fig. 3 Effect of temperature and time for hot water extraction on T-AsA contents in persimmon leaf.

Each valuteds were compared as endex (control; 100) Vertical bar indicate standard deviations (n=5) of means

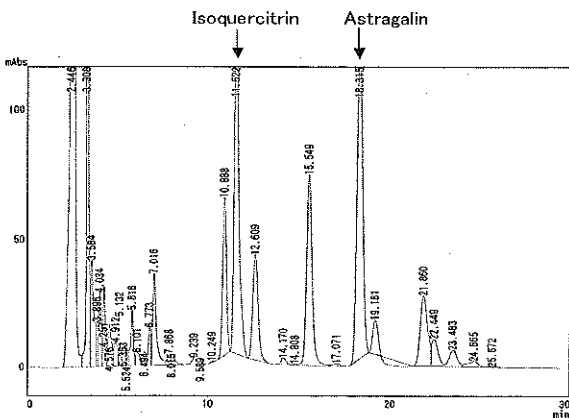


Fig. 4 HPLC chromatogram of isoquercitrin and atragalgin.

HPLC conditions: column, Inertsil ODS80A ; mobile phase, 0.5% $H_3PO_4$ /acetonitrile (82/18, v/v); column temperature, 40°C; injection volume, 20 $\mu$ L; detection wavelength; 254nm; flow rate, 1 ml/min

ラガリン含量は、Fig.5に示したとおり展葉直後の5月葉の含量が最も高く、それぞれ480, 520mg/100gDWであったが、6月葉では、240, 200mg/100gDW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, 240mg/100gDW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いわれる(今村・中嶋, 2005)。しかし、本試験では紫外線量が多い

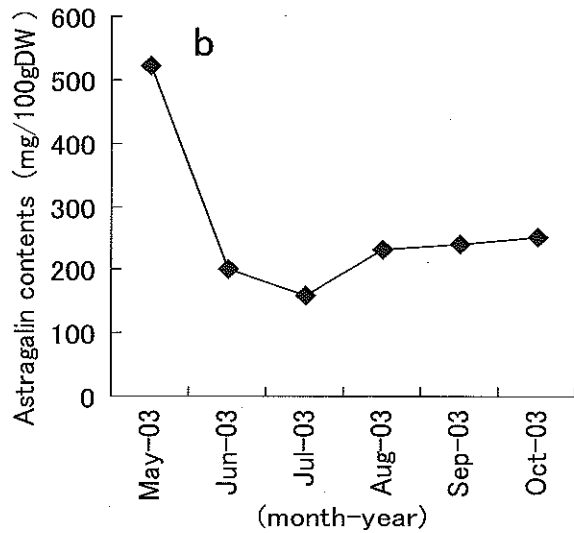
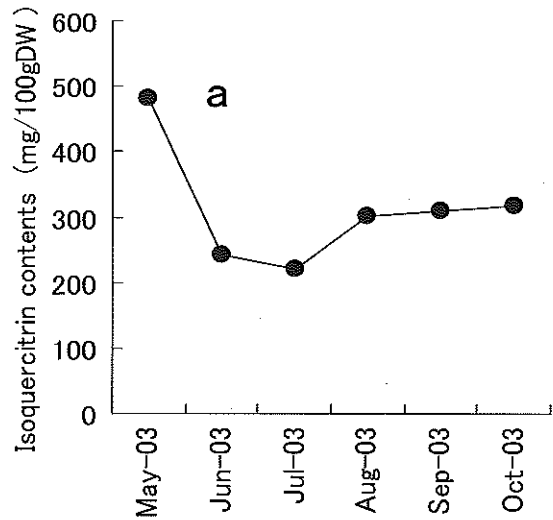


Fig. 5 Seasonal changes of isoquercitrin (a) and astragalgin (b) contents in persimmon leaf of 'Saijo'

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、アストラガリン含量が激減したと考えられる。Fig.1に示したとおり、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まで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正の相関があると考えられる。したがって、5~6月上旬にかけての急速な細胞肥大

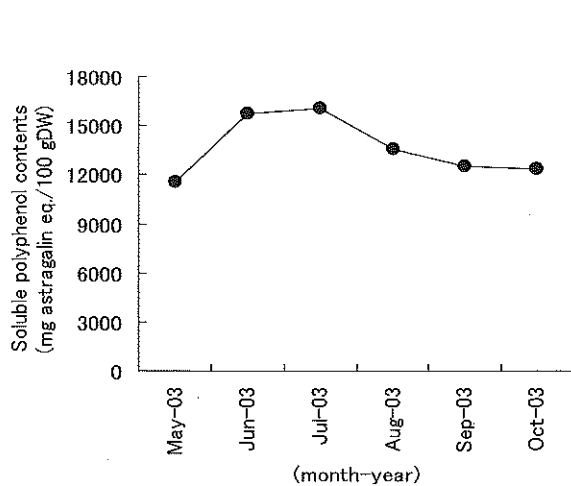


Fig. 6 Seasonal changes of soluble polyphenol contents in persimmon leaf of 'Saijo'.

Each soluble polyphenol contents was detected by Folin method.

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と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月葉では可溶性ポリフェノール含量が11,560mg/100gDW (アストラガリン相当量)で、その後増加し、6月及び7月葉の含量は16,100mg/100gDWで最も高くなったが、それ以降は徐々に減少した (Fig.6)。一方、イソケルシトリンやアストラガリン (Fig.5)と異なり、葉の細胞肥大が旺盛な5~6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してい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10mg/100ml (アストラガリン; 223 $\mu$ mol, イソケルシトリン; 215 $\mu$ mol, アスコルビン酸; 568 $\mu$ molに相当)の濃度で

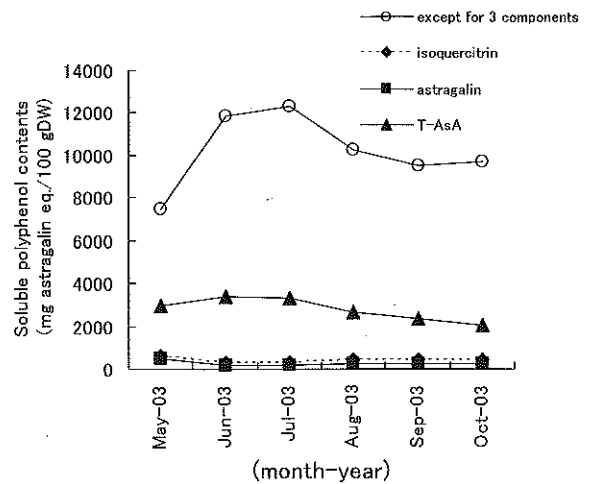


Fig. 7 Seasonal changes of each component contents in persimmon leaf of 'Saijo'.

Each soluble polyphenol contents was detected by Folin method

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倍であった。さらに、3成分 (アストラガリン, イソケルシトリン, アスコルビン酸)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Fig.7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Fig.7に示した。これらの結果からも5~6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類で報告があるのは、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・泉, 1991), ルチン (木村ら, 2003)があるが、今回の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が、その量は40~60mg/100gDWと低かった。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。

これらのことから、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。

## 2 新梢長が柿葉及び新梢の機能性成分含量に及ぼす影響

食用の柿は中国が原産で、葉やヘタは民間薬として広く利用されている (Yonemoriら, 2000)。近年、柿葉の機能性の報告が多くなされているが、機能性成分の高い原料を効率的に得るための研究はほとんどなされていない。前節では、採取時期の違いによる機能性成分を明らかにした。本節では、同時期に採取したカキ‘西条’について、新梢長の違いが柿葉の機能性成分であるアスコルビン酸、イソケルシトリン、アストラガリン含量及び総ポリフェノール含量に与える影響について検討した。また、柿葉茶の製造において、歩留まりを向上させるためには新梢部の利用も有効であることから、新梢の機能性成分含量についても検討した。

### 1) 実験方法

#### (1) 供試材料

2003年6月14日に島根県農業試験場圃場(益田市)栽植の14年生カキ‘西条’の新梢(20~80cm)を採取した。各新梢から、未展開葉部を採取してFoliating-leaves (F-leaves)とし、残りを新梢の長さによりShort (20~40cm), Medium (40~60cm), Long (60cm以上)の4つに分類した (Fig.8)。これら長さ別に分類した新梢から得られた葉をShort-leaves (S-leaves), Medium-leaves (M-leaves), Long-leaves (L-leaves)とし、新梢をShort-shoots (S-shoots), Medium-shoots (M-shoots), Long-shoots (L-shoots)とした。それぞれの試料を真空凍結乾燥 (CHRIST社, ALPHA1-4LDC-1M) で乾燥後粉末としたものを分析試料とした。

#### (2) 還元型及び酸化型アスコルビン酸含量の測定



Short Medium Long

Fig. 8 Typical length of shoots used in the experiment.

還元型及び酸化型アスコルビン酸含量については第Ⅱ章第1節に従い分析した。

#### (3) イソケルシトリン及びアストラガリン含量の測定

イソケルシトリン及びアストラガリン含量については、第Ⅱ章第1節に従い分析した。

#### (4) 総ポリフェノール含量の測定

総ポリフェノール含量については、第Ⅱ章第1節に従い、(+)-カテキン相当量として表した。

#### (5) クロロフィルの測定

80%エタノールで抽出し、Machinney法 (Machinney, 1941) に準じて663nm, 645nm, 750nmの波長の吸光度を測定した。

#### (6) ショ糖含量の測定

80%エタノールで抽出し、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), RI検出器 (RID6A) を用い、カラムNH2P-50 (Shodex, 4.6φ×250mm), 移動相は、アセトニトリル75%を用い、マルトースを内部標準として用いた。

### 2) 結果及び考察

#### (1) T-AsA含量

葉のT-AsA含量は、長い新梢から採取した葉ほど高く、L-leavesは5,310mg/100gDWとF-leavesの1.4倍であった。一方、新梢中のT-

AsA 含量は、M-shoots が最も高く 4,690mg/100gDW であった (Fig.9).

本試験における柿葉の SPAD 値は、長い新梢の葉ほど高かった (Table 1). SPAD 値と光合成速度の両者間には高い相関関係 (Mara, 1995) が報告されていることから、L-leaves ほど糖含量が多いと推察される. 泉 (1999) は、糖含量と T-AsA の関係について報告し、受光量が少なくなるとウンシュウミカン葉の AsA, ブドウ糖及び果糖含量が減少することから、光環境が AsA 含量に与える影響は、主要糖で転流形態であるショ糖含量が主要因と推察している. そこで、柿葉及び新梢中のクロロフィル含量及びショ糖含量を測定した. その結果、Fig.10 及び Fig.11 に示したとおり、葉のクロロフィル含量及びショ糖含

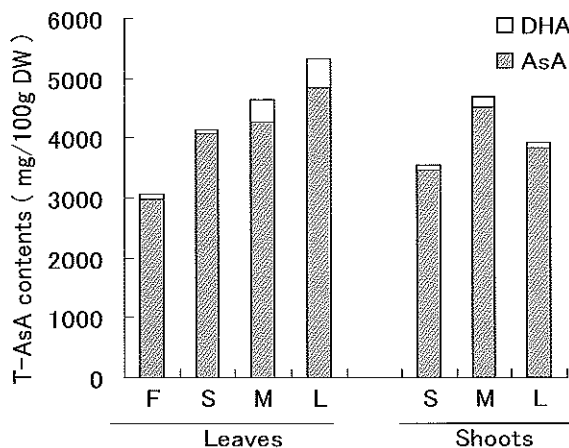


Fig. 9 T-AsA contents of leaves and shoots at different shoot lengths in persimmon 'Saijo'.

AsA: ascorbic acid (reduced)

DHA: dehydroascorbic acid

F (foliating leaves), S (short: 20~40cm), M (medium: 40~60cm), L (long: 60~80cm)

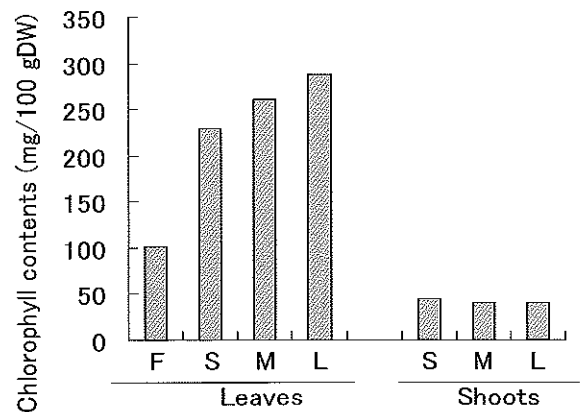


Fig. 10 Chlorophyll contents of leaves and shoots at different shoot lengths in persimmon 'Saijo'.

F (foliating leaves), S (short: 20~40cm), M (medium: 40~60cm), L (long: 60~80cm)

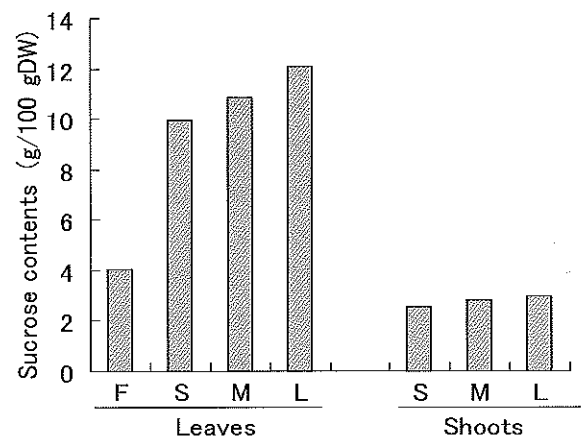


Fig. 11 Sucrose contents of leaves and shoots at different shoot lengths in persimmon 'Saijo'.

F (foliating leaves), S (short: 20~40cm), M (medium: 40~60cm), L (long: 60~80cm)

Table 1 Four classes of shoots and their leaves used in this experiment.

	Shoot length (cm)	Leaf number	Largest leaf (cm)		SPAD <sup>a)</sup>
			length	width	
F-leaves	-	-	-	-	-
S-leaves	20-40	7.2	9.3	4.7	21.4±2.2
M-leaves	40-60	10.6	16.6	7.2	29.0±5.9
L-leaves	60-80	14.6	20.5	8.6	37.1±3.4

a) The values were measured by SPAD-502 (KONICA MINOLTA)  
Mean±SD (n=10)

F-leaves: foliating leaves

S-leaves: leaves detached from short (20~40cm) shoots

M-leaves: leaves detached from medium (40~60cm) shoots

L-leaves: leaves detached from Long (60~80cm) shoots



量は長い新梢から採取した葉ほど高く、T-AsA含量と同様な結果が得られた。さらに、藤原ら（2005）はハウレンソウにおいてSPAD値とAsA含量との間に相関がみられたと報告しており、本試験の結果と合致している。これらのことから、長い新梢の葉ほどT-AsA含量が高かった一因として、糖含量の影響が示唆された。

一方、新梢では、ショ糖含量及びクロロフィル含量が低いにも関わらず、T-AsA含量は高かった。また、ショ糖含量はS~L-shootsではほぼ同等であったにも関わらず、T-AsA含量には差があり、M-shootsが最も高かった。建部ら（1998）はヒマ (*Ricinus communis* L.) の師管液中にAsAが高濃度に存在することを明らかにしている。本試験においても、葉で生成したT-AsAが転流したことによってshootsのAsA含量が高かったと推察される。

本試験で用いた新梢を用いて製茶したところ、茶としての味も良好であった。これまで、柿葉茶の製造は、葉のみを利用し、新梢部は廃棄することが多かった。しかし、今回の試験結果から、新梢もT-AsA含量が高い有望な柿葉茶素材であることが明らかとなった。

## (2) イソケルシトリン及びアストラガリン含量

葉及び新梢のイソケルシトリン含量は、それぞれ240~360, 20~40mg/100gDW, アストラガリン含量は200~270, 10~20mg/100gDWで、新梢中のイソケルシトリン及びアストラガリン含量は葉より極めて少なかった (Fig.12)。葉では、F-leavesが最も高く、長い新梢長から採取した葉ほど、その含有量が低下した。フラボノイドは、紫外線から葉肉細胞を保護するために表皮細胞で生成され、液胞に蓄積される (今村・中嶋, 2005)。長い新梢の葉ほどフラボノイド含量が低下した理由は、葉の細胞サイズが影響していると考えられる。倉橋らは、カキ‘西条’の新梢長と葉面積との関係について検討した結果、両者間には $r=0.942$ の高い相関があることを明らかにしており (未発表)、本試験で、長い新梢長から得られた葉ほど葉面積が大きいことと一致している (Table 1)。このことから、葉面積が大きいL-leavesほど、液胞に局在化

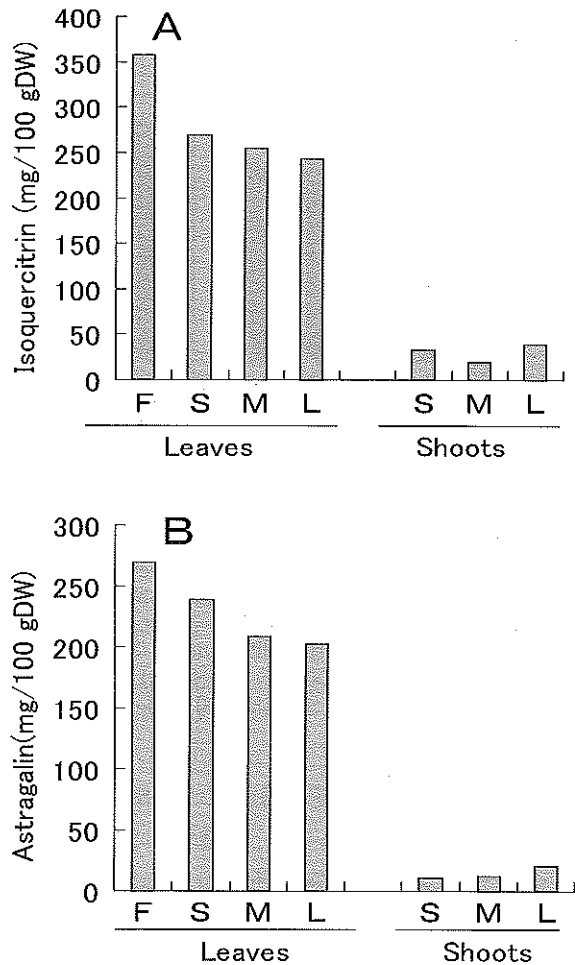


Fig. 12 Isoquercitrin (A) and Astragalain (B) contents of leaves and shoots at different shoots length in persimmon 'Saijo'.

Extracting method: Powdered persimmon leaf tea (200 mg) was extracted with 20ml of boiling milli-Q water for 10min, and then filled up to 50ml.

F (foliating leaves), S (short: 20~40cm), M (medium: 40~60cm), L (long: 60~80cm)

しているフラボノイド成分が希釈され、重量あたりのフラボノイド含量が低下したと考えられた。

フラボノイドはポリフェノールの一種で、総数はアグリコン、配糖体、重合体を含めると4,000種存在する。また、食品中のフラボノイドは配糖体として存在しており、吸収時には腸内細菌により糖鎖が切断される (上原, 2004)。したがって、イソケルシトリン、アストラガリンの体内における吸収代謝形態は、アグリコンであるケルセチン、ケンフェロールである。両者とも抗酸化性を有していることは知られているが、近年の研究でアストラガリンはNC/Ngaマウスを用いた試験により、

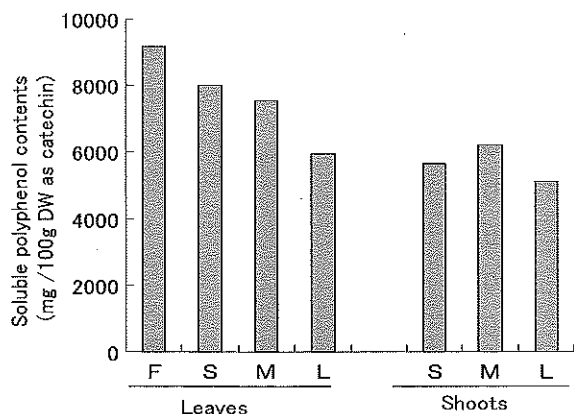


Fig. 13 Polyphenol contents of leaves and shoots at different shoots length in persimmon 'Saijo'.

Extracting method: Powdered persimmon leaf tea (200 mg) was extracted with 20ml of boiling milli-Q water for 10min, and then filled up to 50ml.

F (foliating leaves), S (short: 20~40cm), M (medium: 40~60cm), L (long: 60~80cm)

抗アレルギー活性を有することが報告 (松本ら, 2001) されている。したがって、これらのフラボノイド成分を効率的に摂取できる柿葉茶は優れた機能を有した健康茶であるといえる。

本試験から、新梢長が短く、葉面積が小さい葉を選択することで、イソケルシトリン及びアストラガリン含量の高い柿葉を収穫でき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

F-leavesでは9,200mg/100gDW (カテキン相当量) で最も高く、長い新梢から得られた葉ほどポリフェノール含量が減少した。また、新梢の可溶性ポリフェノール含量は5,100~6,200mg/100gDWで、葉の6,000~9,200mg/100gDWよりやや低かった (Fig.13)。本試験でポリフェノール含量を測定するために用いたフォリン法は、試料抽出物とフォリン・チオカルト試薬の混合時における試薬中のリンモリブデン酸とリントングステン酸に対する物質の還元力に依存している。新梢部ではフォリン法による可溶性ポリフェノールに影響すると思われたイソケルシトリン、アストラガリン含量が低いにも関わらず、その含量は高かった。このことは、新梢にイソケルシトリンとアストラガリン以外のポリフェノール物

質が高濃度に存在することを意味している。現在、柿葉で報告されているポリフェノールとしては、ルチン (木村ら, 2003) があるが、前節と同様にHPLC分析でルチンのピークは認められなかった。また、柿葉は分子量が大きいタンニン (曾根原・泉, 1991) を多く含むため、新梢もそれらが大きく関与している可能性があるが、本試験では明らかに出来なかった。

今回、長い新梢から得られた葉ほどポリフェノール含量が低かった。葉の細胞数は幼原期の時点で決定しているため、その後の葉面積の拡大は細胞の伸長成長によるものである。このことから、L-leavesほど葉の細胞が大きく、葉面積が小さいF-leavesやS-leavesよりも各種ポリフェノールの希釈効果が大きくなり、乾物重あたりのポリフェノール含量が低くなったと推察された。したがって、ポリフェノール含量の高い原料を得るには、新梢長が短く、葉面積が小さい葉を採取すれば良いことが明らかとなった。

### 3 異なる条件下で得られた新梢と圃場栽培樹から採取した成葉における機能性成分含量の比較

第Ⅱ章第1及び2節で、面積の大きい柿葉より小さい方が柿葉の主要フラボノイド類であるイソケルシトリン及びアストラガリンが高含有であることを述べた。

そこで、本節では、葉面積が小さい柿葉を効率的に得る手段として、水挿し栽培を検討した。日本では昔から、タラ、ウドなど樹の芽を食用にしてきた。特にタラノメは、穂木を一芽ずつ切り分け、水耕栽培で発芽させる栽培方法が確立している。柿の場合、成葉は柿葉茶や柿の葉寿司として使用されてきたが、水挿しで得られた新梢や不定芽はほとんど利用及び研究がなされてこなかった。

そこで、異なる生育条件下で得られた新梢と成葉との機能性成分含量を比較した。

#### 1) 実験方法

##### (1) 供試材料

成葉 (M-leaves: Mature-leaves) は、2004年6月に島根県農業試験場ほ場 (益田市) 栽植の15年生カキ '西条' を用い、長さ約30cm



Fig. 14 Shoots derived from twigs of approx. 20 cm in lengths cultured in water for 2 weeks.

の新梢から採取した。不定芽 (A-shoots: Adventitious shoots) は、M-leaves と同一樹を用いて、2004年5月に主幹から発生した長さ約10cmのものを採取した。

カキ‘西条’の前年伸長した枝を約20cmに切ったものを、2004年7月に実験室の窓際で2週間水に挿して得た新梢 (T-shoots: cultured by water-soaking the twigs that grew the year before) を実験材料として用いた。一本の枝から数本の shoot が伸長し、その長さは約10cmであった (Fig.14)。いずれのサンプルも凍結乾燥粉末にして分析に用いた。

#### (2) 還元型及び酸化型アスコルビン酸含量の測定

還元型及び酸化型アスコルビン酸含量は、第Ⅱ章第1節に従い分析した。

#### (3) イソケルシトリン及びアストラガリン含量の測定

イソケルシトリン及びアストラガリン含量は、第Ⅱ章第1節に従い分析した。

#### (4) 可溶性総ポリフェノール含量の測定

可溶性総ポリフェノール含量は、第Ⅱ章第1節に従い、(+)-カテキン相当量として表した。

#### (5) 統計処理

一元配置の分散分析 (ANOVA) を行い、

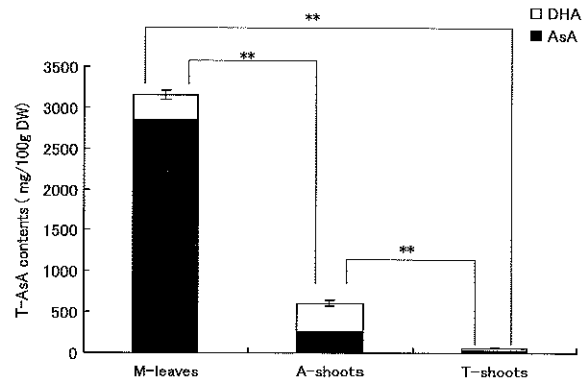


Fig. 15 T-AsA contents in persimmon leaves and shoots derived from different condition.

M-leaves: Mature leaves, A-shoots: Adventitious shoots, T-shoots: Shoots derived from twigs elongated last year

■ AsA: ascorbic acid (reduced)

□ DHA: dehydroascorbic acid

The point and bar indicate mean  $\pm$  standard deviation. (n=3)

The statistical significant of difference was established by sheffe's method. \*\*P<0.01

次に Sheffe's の多重比較を行った。

## 2) 結果及び考察

### (1) T-AsA 含量

M-leaves の T-AsA 含量は約3,150mg/100gDW と最も高かったが、A-shoots と T-shoots では極めて低かった (Fig.15)。

植物中のアスコルビン酸は、D-グルコースから GDP-D-マンノース、GDP-L-ガラクトース、L-ガラクトース、L-ガラクトノ- $\gamma$ -ラクトンを経て生合成されることが報告されている (石川, 2001)。さらにグルコースは、枝が休眠している間は糖代謝により、栄養成分の貯蔵器官である枝及び根にデンプンの形で貯蔵されている。そして、発芽期に、前年に蓄えておいたデンプンは新しい組織に再配分される。したがって T-shoots は M-leaves や A-shoots と比較して、グルコースの原料であるデンプンが貯蔵される根がなく、枝重量が著しく少ないため、アスコルビン酸含量が低くなったと考えられる。一方、M-leaves の T-AsA 含量が A-shoots より高かった理由としては光合成能力の差が考えられる。一般に高等植物は未成熟葉より成葉の方が、光合成能力が高いため、アスコルビン酸生成に必要な糖分が多い。また、アスコルビン酸は、葉緑体で生成され、活性酸素を消去する物質の一つ

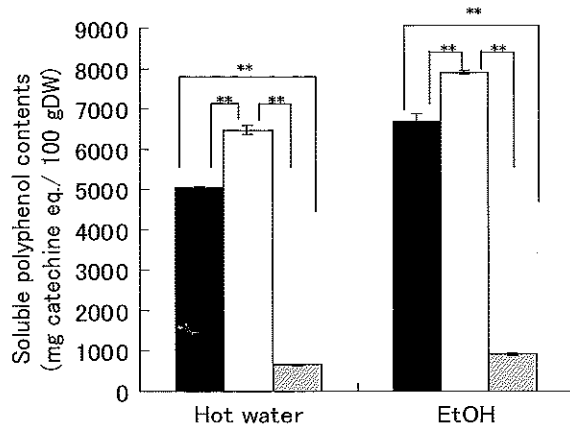


Fig. 16 Polyphenol contents in persimmon mature leaf and shoots derived from different condition.

■ M-leaves: Mature leaves

□ A-shoots: Adventitious shoots

▨ T-shoots: Shoots derived from twigs elongated last year

Hot water: 200mg of freeze dry powdered persimmon leaf was extracted with 20ml of millimeter Q water boiling water for 10min, and then filled up to 50ml.

EtOH : 200mg of freeze dry powdered persimmon leaf was extracted with 20ml of 80% ethanol for one evening, and then filled up to 50ml.

The point and bar indicate mean±standard deviation. (n=3).

The statistical significant of difference was established by sheffe's method. \*\*P<0.01

として機能している (Asada, 1992).

これらのことから、M-leavesは葉緑体が発達しているため、A-shootsよりアスコルビン酸含量が多いと推察される。

## (2) 可溶性ポリフェノール含量

M-leavesとA-shootsのポリフェノール含量は高い値を示し、特に80%エタノール抽出液の含量が高く、それぞれ7,000, 8,000mg/100gDWであった (Fig.16)。ポリフェノールが多いことで知られる緑茶についても同様にポリフェノール含量を測定した結果、10,000mg/100gDW (未発表) であったことから、柿葉のポリフェノール含量は、緑茶より若干少ないことがわかった。一方、T-shootsの80%エタノール抽出液の可溶性ポリフェノール含量は、圃場栽培樹から採取したM-leaves及びA-shootsと比較すると1,000mg/100gDWと著しく低かった。また、健康茶材料としての利用を想定した熱水抽出についても検討したところ、いずれの試料も80%エタ

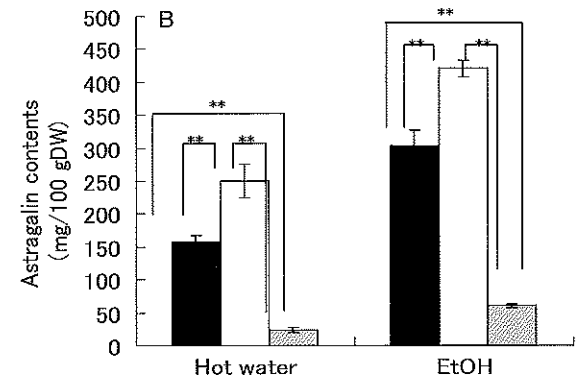
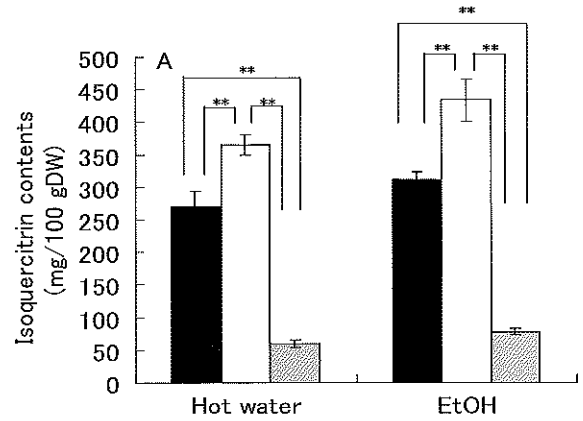


Fig. 17 Isoquercitrin (A) and Astragalgin (B) contents in persimmon mature leaves and shoots derived from different condition.

■ M-leaves: Mature leaves

□ A-shoots: Adventitious shoots

▨ T-shoots: Shoots derived from twigs elongated last year

Hot water: 200mg of freeze dry powdered persimmon leaf was extracted with 20ml of millimeter Q water in boiling water for 10min, and then filled up to 50ml.

EtOH : 200mg of freeze dry powdered persimmon leaf was extracted with 20ml of 80% ethanol for one evening, and then filled up to 50ml.

The point and bar indicate mean±standard deviation. (n=3).

The statistical significant of difference was established by sheffe's method. \*\*P<0.01

ノール抽出液と比較して、それぞれ20~30%程度低い数値となった (Fig.16)。これは、柿葉のポリフェノールが熱水より含水エタノールに溶解しやすい物質であるためと考えられる。そこで、柿葉の主要ポリフェノールであるアストラガリン、イソケルシトリン含量を測定したところ、熱水抽出液より80%エタノール抽出液の方が高かった (Fig.17)。フラボノイド類はアミノ酸の一種であるフェニルアラニンやチロシンから代謝される。そのアミノ酸

は、光合成で生成する糖分、有機酸、糖のリン酸エステルなどと、アンモニアから生成される化合物である。しかし、T-shootsでは水挿した前年生枝から発生させるため、樹体に着生している M-leaves や A-shoots に比べて糖分の貯蔵器官でありソースである枝重量が著しく少なく、また根がないので窒素成分を吸収することができない。したがって、T-shoots ではポリフェノール含量が著しく低くなったと推察される。

圃場栽培樹から採取した M-leaves と A-shoots において、M-leaves より A-shoots がポリフェノール含量、イソケルシトリン、アストラガリン含量が高かった理由としては、フラボノイド生成速度と葉の成長速度の関係が考えられる。フラボノイドは主に葉の表皮細胞中の液胞に局在し、紫外線ストレス回避のためのフィルターとして機能し、展葉期の含量が高い傾向にあるという報告がある (Gould, 1995)。これらの物質の生成速度より葉の細胞における肥大速度の方が早いため、生成されたフラボノイドなどのポリフェノールが希釈され、M-leaves で A-shoots より低くなったと考えられる。

本試験において、健康食品の材料としてほとんど報告がないカキの新梢について、機能性成分の含有量を明らかにした。A-shoots は M-leaves と比較して、T-AsA は少なかったが、ポリフェノール含量は多かった。また、それら成分の生成には、糖養分等の蓄積器官である枝部、供給器官である根部が重要な意味を持つことが明らかとなった。

### III 製造方法が柿葉茶の機能性及び機能性成分含量に及ぼす影響

#### 1 蒸熱加熱及び乾燥方法が柿葉茶の機能性及び機能性成分含量に及ぼす影響

消費者の健康志向が高まる中、薬草・山野草などを利用した健康茶が数多く市販されている。その中で、柿葉は、アスコルビン酸含量が高いことが知られ (水野, 1995; 奥田, 2002a)、最近注目を浴びている健康茶素材の一つである。

島根県では渋柿であるカキ「西条」の栽培が盛んであり、栽培面積は日本一である (島根県農林水産部生産指導課, 2004)。果実は主に生果、干し柿として利用されているが、機能性成分を豊富に含む葉はほとんど利用されていない。

近年の研究では、柿葉の機能性に関する研究も多くなされている (小谷ら, 1999; 松本ら, 2001; 桑名ら, 1995) が、柿葉茶の製造工程が機能性や機能性成分含量に与える影響について検討した例は少ない。そこで、6月中旬の柿葉を利用し、柿葉製茶行程の蒸熱時間、乾燥方法が総アスコルビン酸残存量、ラジカル補足活性、抗アレルギー作用に関与する脱顆粒抑制活性に与える影響について検討した。

#### 1) 実験方法

##### (1) 材料及び柿葉製茶方法

平成14年6月中旬に島根県農業試験場圃場 (益田市) 栽植のカキ「西条」の葉を採取し、柿葉製茶試験に供した。柿葉茶の製造方法は、Fig.18に示すとおり、水道水で洗浄した葉を十分に水切りした後、せいろ (40cm×40cm) を1処理区につき3段重ね、蒸熱処理は0, 1, 3, 5及び10分間とした。乾燥試験としては、日陰乾燥区 (4日間) と機械乾燥区

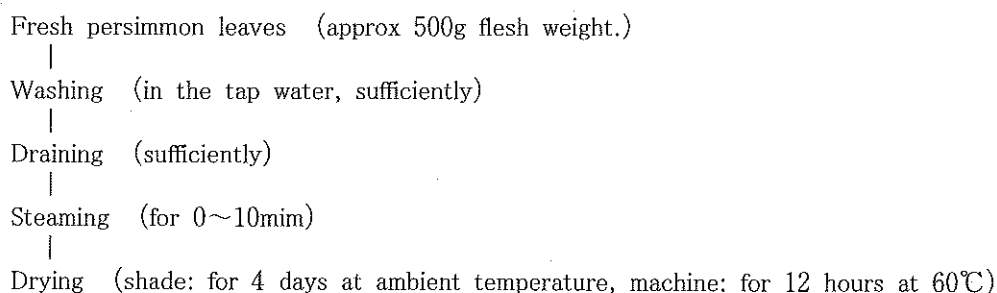


Fig. 18 Manufacturing process for persimmon leaf tea.

(60℃12時間の送風乾燥)を設けた。以上の組み合わせにより処理区を設定し、1処理区につき生葉500gを使用した。また、原料の一部を凍結乾燥し、分析試料とした。

## (2) 分析試料

原料の凍結乾燥品(以下FD品)及び柿葉茶を粉碎器で粉末とした。FD及び柿葉茶とも、流通期間を考慮し、デシケータ内(常温)で半年間保存したものを分析試料とした。

## (3) 還元型及び酸化型アスコルビン酸含量の測定

還元型及び酸化型アスコルビン酸含量は第二章第1節に従い分析した。

## (4) ラジカル捕捉活性の測定

測定用の試料溶液は、熱水を用いて調整した。試料200mgにミリQ水20mlを加え、沸騰水中で10分間加熱抽出し、50mlに定容後ろ過した。ラジカル捕捉活性の測定は、安定なDPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカル用いる須田(2000)の方法に準じ、トロロックス相当量( $\mu\text{mol Trolox eq.} / 1\text{g DW.}$ )で表した。

## (5) 脱顆粒抑制活性の測定

熱水を用いて脱顆粒抑制活性測定のための抽出液を得た。試料1gにミリQ水20mlを加え、沸騰水中で15分間加熱抽出後、ろ過( $0.45\mu\text{m}$ )した。測定は、ヒューマンサイエンス振興財団から入手したラット好塩基球白血球細胞(以下RBL-2H3細胞)を用い、片岡ら(1992)の方法を一部改良した勝部(2002)の方法に準じた。 $5 \times 10^5 \text{ cell/mL}$ に調製したRBL-2H3細胞に、DNP-BSAマウスIgE抗体(SIGMA)を最終 $0.3\mu\text{g/mL}$ になるよう加え、48穴プレート(NUNC)に播種し、 $\text{CO}_2$ インキュベータで一晩培養した。翌日、細胞をリン酸緩衝化生理食塩水(以下PBS)で洗浄した後、遊離液( $116.9\text{mM NaCl}$ ,  $5.4\text{mM KCl}$ ,  $0.8\text{mM MgSO}_4$ ,  $5.6\text{mM}$  グルコース,  $25\text{mM HEPES}$ ,  $2.0\text{mM CaCl}_2$ ,  $1\text{mg/ml BSA}$ ,  $\text{pH}7.7$ )を $130\mu\text{L}$ 、各抽出液及び陰性対照であるPBSを $20\mu\text{L}$ 添加し、 $\text{CO}_2$ インキュベータで10分間静置した。次に、 $4\mu\text{g/mL}$ のDNP-BSA(コスモ・バイオ)を $20\mu\text{L}$ 加え、 $\text{CO}_2$ インキュベータ中で1時間静置し、脱顆粒を惹

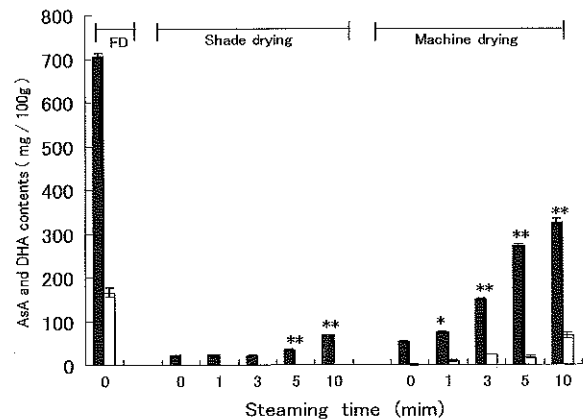


Fig. 19 Effect of process technique on AsA and DHA contents of persimmon leaf tea.

■ AsA: ascorbic acid (reduced)

□ DHA: dehydroascorbic acid

FD: Freeze drying

Vertical bars indicate standard deviations ( $n=3$ ) of means. Total ascorbic acids (AsA+DHA) with asterisk marks are significantly different from non-steaming (identical drying) at  $p<0.05^*$ ,  $p<0.01^{**}$ .

起した。上澄み液 $16\mu\text{L}$ を96穴プレート(NUNC)に移し、 $66\mu\text{L}$ の $5\text{mM}$ ヘキソサミニダーゼ基質溶液( $5\text{mM}$  p-nitrophenyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide (SIGMA), クエン酸緩衝液 $\text{pH}4.5$ )を加え、 $37^\circ\text{C}$ で30分間反応させた。これに $166\mu\text{L}$ の反応停止液( $100\text{mM}$ 炭酸緩衝液,  $\text{pH}10.0$ )を加え、 $405\text{nm}$ の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

ヘキソサミニダーゼ阻害率は次式により求めた。

$$\text{阻害率}(\%) = \{1 - (S-B)/(C-b)\} \times 100$$

S: 各抽出液を細胞に加えたときの $A_{405}$

B: 細胞非存在下で各抽出液を加えたときの $A_{405}$

C: 陰性対照(PBSを細胞に加えたとき)の $A_{405}$

b: 細胞非存在下でPBSを加えたときの $A_{405}$

## 2) 結果及び考察

### (1) T-AsA残存量

Fig.19に柿葉FD品と柿葉茶のAsA残存量及びDHA残存量を示した。蒸熱せずに乾燥した柿葉茶は、T-AsA含量が低く、FD品の10%にも満たなかった。また乾燥処理は凍結乾燥>機械乾燥>日陰乾燥の順に、蒸熱時間は長い方がT-AsA残存量は多いという結果になった。凍結乾燥により製造された食品は、色調、香り、ビタミン類等の成分をより高く保持できること(林, 1986)は良く知られており、

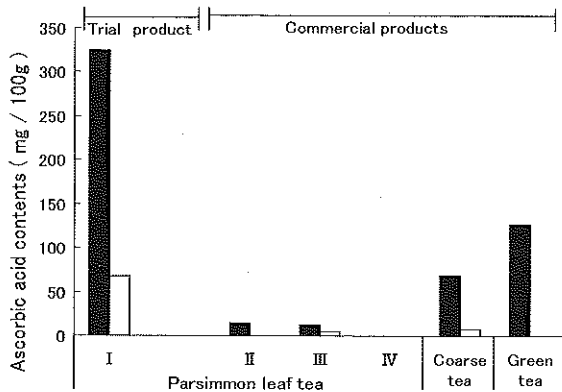


Fig. 20 Comparison of ascorbic acid contents among trial product\* and three kinds of commercial products\*\*.

■ AsA: ascorbic acid (reduced)

□ DHA: dehydroascorbic acid

\*: Persimmon leaf tea I

\*\* : Persimmon leaf tea II, III, IV, Green tea and Coarse tea

本試験においても同様の結果が得られた。FD品には及ばなかったが、10分間蒸熱処理後に機械乾燥した柿葉茶は、半年間常温で保存したにも関わらず、400mg/100gDWのT-AsAが残存していた。AsAは強い還元性を持つため、容易に酸化されDHAとなる。DHAはAsAと比較して非常に不安定で、水共存下ではラクトン環が加水分解され、更に不安定な物質である2,3-ジケトグルン酸になり、順次分解反応が進むことが知られている。(倉田, 1991; 小池・福場, 1995)。我々は、AsA残存量とAsAの酸化に関与する酵素群に注目した。AsAの酸化には、アスコルビン酸オキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ、パーオキシダーゼ等多くの酵素が関与しており(村田・本間, 1998; 小池・福場, 1995)、これら酵素群の残存による複合的な働きによるものと考えられる。日陰乾燥は4日間を要したため、乾燥途中で酵素群によりAsAが酸化されてDHAとなり更に分解が進んだと推察される。一方、蒸熱時間が長くなるに従いAsA残存量が高くなる傾向は、蒸熱時間を長くすることで柿葉中におけるアスコルビン酸オキシダーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ等の酵素群が失活したことに起因すると考えられる。蒸熱処理がT-AsA残存量を高めることは曾根原・泉(1991)も報告しているが、蒸熱時間についての報告はない。アスコルビン酸オキ

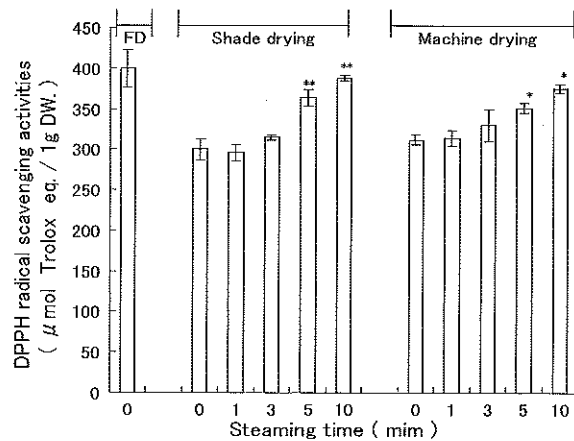


Fig. 21 Effect of the process technique on radical scavenging activities of persimmon leaf tea.

FD: Freeze drying

Extracting method: 200mg of powdered sample was extracted with 20ml of boiling milli-Q water for 10 min, and then fill up to 50ml. Vertical bar indicate standard deviations (n=3) of means. Radical scavenging activities with asterisk marks are significantly different from non-steaming (identical drying) at  $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$ .

シダーゼは75℃以上(桐淵・川嶋, 1987)で、ポリフェノールオキシダーゼは70℃以上(村田・本間, 1998)で失活するといわれている。通常、緑茶の蒸熱時間は30秒から1分程度だが、柿葉の場合、酵素の失活には緑茶より長い蒸熱時間が必要であると推定された。

試作柿葉茶と市販柿葉茶とのAsA及びDHA含量比較を行った。柿葉茶はT-AsA含量が高いことで知られているが、市販柿葉茶には、T-AsAがほとんど含まれていないことが明らかとなった(Fig.20)。市販品のT-AsA含量が著しく低かったことの原因としては、蒸熱無しの乾燥及び流通段階での消失、焙煎の影響が考えられた。柿葉茶などの健康茶の流通を想定すると、室温で長期間保存する機会が多い。本試験結果から、蒸熱処理を10分間行うことでT-AsA残存量の減少を抑えることが明らかとなり、蒸熱処理は柿葉茶の付加価値を高める有効な手段であることが示された。

## (2) ラジカル捕捉活性

ラジカル捕捉活性に対する蒸熱時間の影響をみたところ、処理時間を長くすることで無処理区より高い活性が認められた(Fig.21)。Fig.20で示すとおり、抗酸化力を有するT-

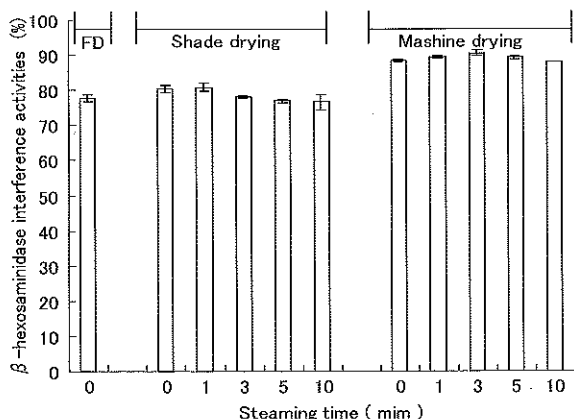


Fig. 22 The effect of the process technique on  $\beta$ -hexosaminidase interference activities of persimmon leaf tea.

FD: Freeze drying

Extracting method: One gram of powdered sample was extracted with 19ml of boiling milli-Q water for 15min.

Vertical bar indicate standard deviations (n=3) of means.

AsA残存量も蒸熱時間を長くした方が高い結果が得られていることから、ラジカル捕捉活性の上昇にはT-AsA残存量の影響が考えられた。しかし、T-AsA残存量が低かった日陰乾燥区も、凍結乾燥区及び機械乾燥区と同程度のラジカル捕捉活性を示しており、ラジカル捕捉活性の主要因をT-AsA残存量に限定すると矛盾が生じる。柿葉にはT-AsAの他に、強い抗酸化性を示すカテキン類やフラボノイド類が含まれており(棟久ら, 1999)、これらの物質が蒸熱処理や乾燥方法により何らかの影響を受け、ラジカル捕捉活性に関与していると推察される。

### (3) 脱顆粒抑制活性

アレルギー症状は、I型からIV型の4タイプに分類され、アトピー性皮膚炎、喘息、花粉症等は、即時型であるI型アレルギーに分類される(立花・山田, 2001)。食品の抗I型アレルギー作用の評価方法に、肥満細胞や好塩基球からの化学伝達物質の遊離反応すなわち脱顆粒抑制を測定する評価系がある。我々は、ラット好塩基球白血病細胞(RBL-2H3)からの $\beta$ -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害活性を測定することにより、試作柿葉茶の脱顆粒抑制について検討した(Fig.22)。いずれの処理区も強い活性を示し、処理区間による有意差は認められなかった。このことから、脱顆

粒抑制に関与している成分は、蒸熱処理などの加熱処理でも変化しにくく、酵素による影響を受けにくい物質であると考えられる。柿葉茶の抗アレルギーに起因する主成分は現在のところ明らかにされていないが、小谷ら(1999)は、アトピー性皮膚炎のモデルマウスとして利用されているNC/Ngaマウスに柿葉熱水抽出物を経口投与すると、血清中のIgEレベルを低下させ、皮膚の炎症を抑制すると報告している。そして、その抽出物にはアストラガリン、トリフォリン、イソケルシトリンが含まれ、それらがIgEレベル低下に関与すると示唆している。今後は抽出液の分画を行い脱顆粒抑制活性の主成分について検討する必要があると考える。

以上、本試験結果から10分間の蒸熱処理と機械乾燥で、原料葉の機能性をより保持した柿葉茶の製造が可能であることが判った。

## 2 蒸熱加熱及び焙煎処理が保存中の柿葉茶の総アスコルビン酸含量及びラジカル捕捉活性に与える影響

著者らは第III章第1節において、6月中旬の柿葉(成葉)を用いて柿葉茶製造工程の検討をしたところ、10分間の蒸熱処理で半年間の常温保存後の柿葉茶中における総アスコルビン酸残存量を高く保持できることを明らかにした。しかし、製造後半年間保存した試料を用いてその測定を行っていたため、総アスコルビン酸含量の蒸熱処理による保持効果が、蒸熱時間あるいは保存期間の長さのどちらに起因するものなのか明確にできなかった。一方、柿葉の収穫時期により、総アスコルビン酸含量を保持するための蒸熱処理時間が異なることが考えられる。そこで、本節では、前節で報告した成葉よりも生育ステージが若い、生育途中の葉を用いて製茶試験を行い、保存前と保存期間中の総アスコルビン酸含量の推移を検討した。さらに、ハブ茶、クワ茶等の多くの健康茶で一般的に行われる焙煎処理が処理直後と保存期間中の総アスコルビン酸及びラジカル捕捉活性に与える影響についても検討した。

### 1) 実験方法

#### (1) 材料及び柿葉製茶方法

2003年5月14日に、前節と同一圃場である



Table 2 Characteristic of materials for persimmon leaf tea at different harvesting time.

Harvesting day	Shoot length (cm)	Leaf number	Chlorophyllmeter (value)
14-May-2003	15.1±2.0	5.5±0.8	23.3±4.0
14-Jul-2002	52.2±7.3	11.5±1.6	30.6±6.0

a) The values were measured by SPAD-502 (KONICA MINOLTA)  
Mean±SE (n=10)

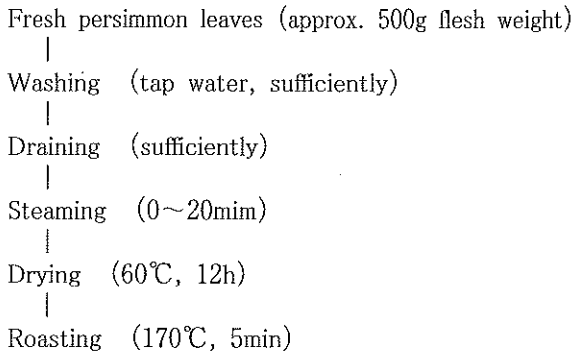


Fig. 23 Manufacturing process for persimmon leaf tea.

島根県農業試験場（益田市）栽植の14年生カキ‘西条’の葉を採取した。前節では成葉を使用した。本節では生育途中の葉を用いた。前節及び本節で用いた原料の新梢長、展開葉数、葉緑素値の数値をTable 2に示す。

今回の試験における柿葉茶の製造方法は、Fig.23に示すとおり、水道水で洗浄した葉を十分に水切りした後、せいろ（40cm×40cm）を1処理区につき3段重ね、緑茶製造で退色や成分損失防止の目的で行われる蒸熱処理を0、1、5、10及び20分間行った。次に、減圧平衡発熱乾燥機（八尋産業株式会社製）を用いて60°Cで12時間の機械乾燥を行った。蒸熱0、5、20分間処理区については、170°Cで5分間の焙煎処理を保存前と370日間保存後に処理する区を設けた。以上の組み合わせにより11処理区を設定し、1処理区につき生葉500gを供試した。

## (2) 分析試料

上記の方法で製造した柿葉茶を粉砕器で粉末化し、分析試料とした。50ml容のガラス製透明サンプル瓶に柿葉茶粉末をヘッドスペースが1/5になるよう封入し、実験室内の弱光下で、アクリル製デシケータ内にて保存した。総アスコルビン酸含量（以下T-AsA）は、保

存前及び30、80、110、140、170、200、370日間保存後に分析した。ラジカル捕捉活性及びポリフェノール含量は、保存前と370日間保存後の2回測定を行った。

## (3) 水分の測定

柿葉茶粉末を105°Cで2時間乾燥して求めた。

## (4) アスコルビン酸含量の測定

アスコルビン酸含量は第II章第1節に従い分析した。

## (5) ラジカル捕捉活性の測定

抽出方法及びラジカル捕捉活性の測定方法は第III節第1節に従った。

## (6) ポリフェノール含量の測定

ポリフェノールの抽出液はラジカル捕捉活性と同一のものをを用い、分析方法は第II章第1節に従い(+)-カテキン相当量で示した。

## 2) 結果及び考察

### (1) T-AsA残存量の推移

Fig.24Aに焙煎未処理での蒸熱処理時間の違いによる保存期間中のT-AsA含量の推移を示した。また、Fig.25に保存前のAsA及びDHA含量を表した。蒸熱処理区では処理時間に関わらず保存前のT-AsA含量量が5,000mg/100gDW前後の数値を示したのに対し、対照区（蒸熱無処理区）では3,344mg/100gDWと蒸熱処理区より約3割低かった。また、対照区（蒸熱無処理区）ではT-AsAの内DHAが約17%を占めていたが、蒸熱5分間処理区では1%以下であった。蒸熱時間が長い20分間処理区では約10%が酸化型へ移行していた。

保存期間中のT-AsA含量は、すべての処理区で減少したが、そのパターンは蒸熱処理時間及び保存期間により異なっていた。保存80日間のT-AsAの減少率は、蒸熱5分間処理区では23%と最も少なかったが、それ以外の蒸

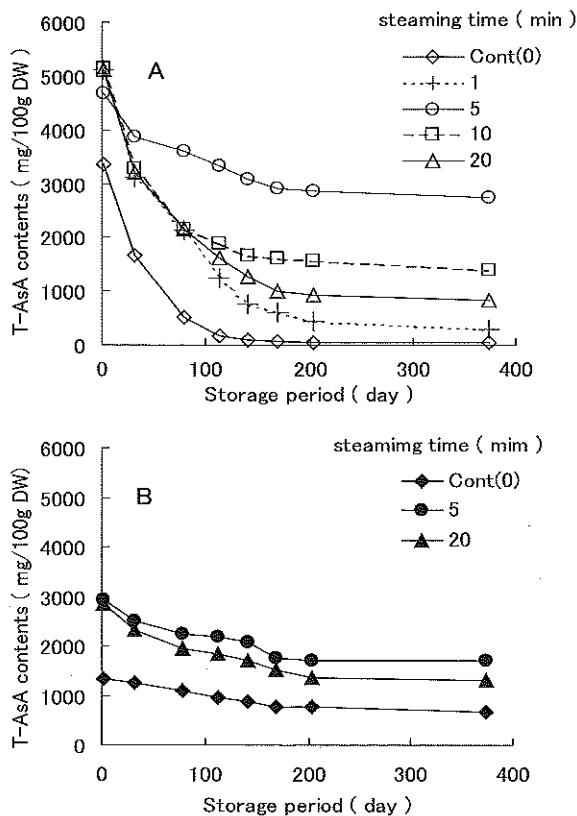


Fig. 24 Effect of steaming without (A) or with (B) roasting treatment on T-AsA contents during the storage persimmon leaf tea.

Cont (0): without steaming treatment

A: without roasting treatment

B: with roasting treatment before the storage

熱処理区では、保存前のT-AsAの50%以上が分解されていた。一方、対照区（蒸熱無処理区）では、保存80日間でT-AsA含量が524mg/100gDWと84%が分解されていた。

保存80~200日間におけるT-AsAの減少率は全処理区間とも保存80日間までと比較すると大幅に低くなっていた。蒸熱5分、10分間処理区では減少率がそれぞれ11、15%であったのに対し、蒸熱1分間処理区では33%、20分間処理区では23%と蒸熱処理時間により異なる結果が認められた。

保存200~370日間では、いずれの処理区もほぼ一定の減少率で推移した。また、味はT-AsA含量が高い処理区ほどT-AsAに起因すると思われる酸味が感じられた。AsAの分解要因としては、アスコルビン酸オキシダーゼやポリフェノールオキシダーゼ等の酵素による酸化、酸素や金属イオンの存在による酸化（小池・福場, 1995；鈴木, 2003a）、紫外線

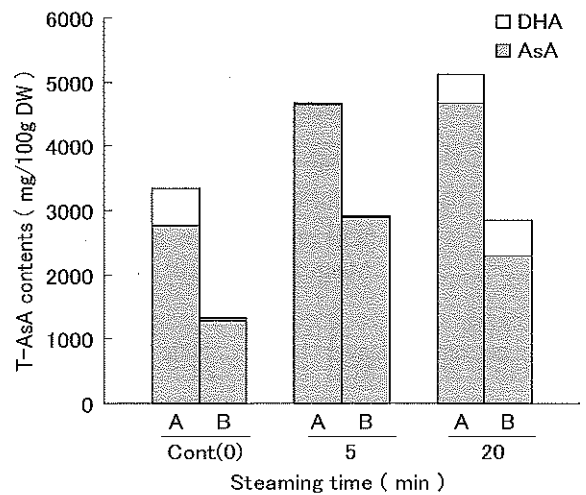


Fig. 25 Effect of steaming without (A) or with (B) roasting treatment on T-AsA contents of persimmon leaf tea.

Samples of persimmon leaf tea were used for this analysis before the storage.

AsA: ascorbic acid (reduced)

DHA: dehydroascorbic acid

Cont (0): without steaming treatment

A: without roasting treatment

B: with roasting treatment

による影響（仲村, 1983a）等が報告されている。これらの要因が複合的に働いてAsAは分解される。本試験では保存を同一条件下で行ったことから、酸素及び紫外線が各処理区でのAsA酸化に及ぼす影響は同程度である。よって異なる蒸熱処理時間で製造した柿葉茶における保存期間中のAsA分解の差は、酵素または金属イオンによる酸化に起因すると推察された。AsAは容易に酸化されて構造的に不安定なDHAとなり、ラクトン環が加水分解されることで、更に不安定な物質である2,3-ジケトグルン酸になることが報告されている（林, 1986；倉田, 1991）。また、アスコルビン酸オキシダーゼは75℃以上（桐測・川嶋, 1987）で、ポリフェノールオキシダーゼは70℃以上（村田, 1998）で失活するとの報告がある。したがって、加熱処理を行わなかった対照区（蒸熱無処理区）では、製造中においてもこれらの酵素群の働きによりAsAの分解が進んだ結果、保存前のT-AsA含量が蒸熱処理区よりも低くなったものと判断された。

仲村ら（1983b）は、茶葉を5、20、30℃で保存し、保存温度とAsA残存量との関係を調べた結果、30℃保存で最もAsAの分解が促進

されることを報告している。本試験では柿葉茶保存開始後の80日間は5月～8月であることから夏の高温時期となっている。このことから、対照区（蒸熱無処理区）及び蒸熱1分間処理区において、保存80日間にT-AsA含量が急激に減少した理由は、この期間がT-AsAの酸化に関与する酵素群が作用しやすい温度帯であったため、AsAの分解が促進され、その含量低下につながったと判断された。しかし、10分間以上の蒸熱処理では、製造直後のT-AsA含量は蒸熱5分間処理区と同程度であるが、保存期間中のT-AsAは減少した（Fig.24）。山根ら（2002）は、AsAの酸化に対する温度と時間の影響をビタミンC注射液と天然物であるレモンを用いて検討したところ、95℃30分間加熱処理でのAsA分解率がビタミンC注射液では20%であったのに対し、レモンでは60%であったことから、レモンに含有される金属イオンが原因ではないかと述べている。微量の金属イオンの存在で、AsAの酸化が急激に進むことが知られており（鈴木・荒井, 2003a）、本研究においても、10分間以上の蒸熱処理により有機物等と結合している金属イオンが遊離して、保存期間中にそれらの金属イオンが酸化触媒として作用したため、AsAが酸化及び分解されたと推察される。

前節ではクチクラ層が発達した成葉を原料とし、10分間の蒸熱処理を施すことでT-AsA含量を最も高く保持したと報告したが、本節で使用した葉は生育途中の葉である。成葉の半分である5分間の蒸熱処理時間が最も良い結果となった。これは成葉と生育途中の若い葉ではAsA保持効果を得るための蒸熱時間が異なることを示唆している。その原因は、葉の厚さやクチクラ層の発達などによる熱伝導率の低下が考えられるが、今回の結果からは結論づけるには至らなかった。また、前節で、最もT-AsA含量が高かった蒸熱10分間処理区（半年間保存後）の数値が約400mg/100gDWであったことと比較すると、今回の試験で得られた柿葉茶のAsA含量は2,900mg/100gDW（蒸熱5分間処理の170日間保存後）であり、大幅に高い数値を示した。前節のT-AsA含量が低かった要因としては、柿園からの柿葉輸

送時、洗浄工程等の前処理の段階で何らかの影響を受け、原料自体のT-AsA含量が低下したものと考えられる。

対照区（蒸熱無処理区）、5分及び20分間蒸熱処理して製造した柿葉茶を焙煎したものを試料とし、焙煎処理が保存中のT-AsA含量に与える影響を検討した。Fig.25で示したように、焙煎処理を行うとT-AsA含量が半減した。Anan（1988）は、緑茶を焙煎して製造するほうじ茶を用いた試験で、160℃で30分の焙煎処理を行ったところ、T-AsA含量が半減したと報告しており、本試験においても、170℃の高温加熱処理によりAsAが熱分解したため柿葉茶のT-AsA含量が半減したと判断された。

焙煎処理を行った場合、柿葉茶の保存期間中におけるT-AsA含量減少パターンは、未処理区と比較して緩やかであった（Fig.24AB）。特に、対照区（蒸熱無処理区）における保存200日間のT-AsAの減少率が、焙煎未処理区では保存前に比べ98%であったのに対し、焙煎処理区では42%にとどまっており、焙煎処理における柿葉茶のT-AsA含量保持効果が顕著に出ていた。これは、焙煎処理における170℃の高温加熱中にAsAが熱分解されるが、AsAの酸化に関与する酵素群のほとんどが失活化された結果、保存中のAsAの減少が少なかったためと考えられる。また、前述で、過剰な加熱処理を行った焙煎未処理の蒸熱20分間処理区が蒸熱5分間処理区と比べてAsAの減少率が大幅に多かった理由として、金属イオンの存在を挙げている。焙煎処理区の場合も蒸熱20分間処理区では金属イオンの影響が考えられるが、焙煎処理の蒸熱5分間処理区と20分間処理区の差は焙煎未処理区のそれと比べて小さかった（Fig.24AB）。焙煎処理区の方が焙煎未処理区より水分含量が低い（Table 3）ことから判断すると、金属イオンの酸化触媒反応は水分が多い程早く進むため、焙煎処理により水分が減少したことにより焙煎未処理区と比較して金属イオンの酸化触媒作用が抑制されたと考えられる。また、蒸熱及び焙煎による加熱処理で酵素がほとんど失活化していると思われる蒸熱5分間以上の処

Table 3 Effects of steaming and roasting treatments on water content.

Steaming time (min)	Water content (%)		
	A	B	C
Cont (0)	8.8	5.5	3.6
1	8.1	—	—
5	9.0	4.4	3.7
10	9.0	—	—
20	8.5	4.4	3.8

Cont (0): without steaming treatment

A: without roasting treatment

B: with roasting treatment before the storage

C: with roasting treatment after the storage

理区や焙煎処理区でも保存期間中にAsAは減少している。これは分析時における試料の取り出しの際に、保存容器を開けたことによる酸素の流入や、弱光下で保存したことによる紫外線の影響、金属イオンが影響したことを示唆している。

健康茶の製造は、焙煎香を出すために乾燥葉の状態に保存し、袋詰め直前に焙煎処理を行うことが多い。そこで対照区（蒸熱無処理区）、蒸熱5分及び20分間処理区について、370日間保存後に焙煎処理した区を設定し、焙煎未処理区と保存前に焙煎処理を行なった区におけるAsA及びDHA含量の比較を行った。その結果、保存後の焙煎処理区は焙煎未処理区と比較していずれの蒸熱処理時間区においてもT-AsA含量が減少し、特にDHA含量の減少が顕著であった (Fig.26)。蒸熱5分間処理の焙煎未処理では、保存期間中のT-AsA含量を高く保持出来たため、焙煎処理を行いT-AsA含量が半減しても、焙煎処理後に保存した区と同程度のT-AsA含量であった。しかし、対照区（蒸熱無処理区）や蒸熱20分間処理区では、焙煎してから保存する方が明らかにT-AsA含量が多かった。

以上のことから、過剰な蒸熱処理時間を施した場合や蒸熱処理を行わずに焙煎処理を行う場合は、保存前に焙煎処理を行い、AsA酸化酵素群を失活させてから保存することにより、流通期間中のT-AsAの減少を抑制することが明らかとなった。

さらに、適切な蒸熱処理時間（本試験では5分間）では焙煎香を出すために袋詰め直前に焙煎処理を行っても高いT-AsA含量を保

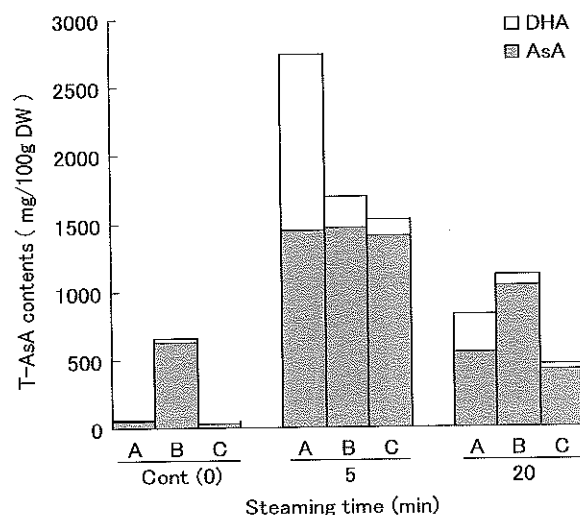


Fig. 26 Effect of steaming without roasting (A), with roasting before storage (B) and with roasting after storage (C) treatment on T-AsA contents of persimmon leaf tea.

Samples of persimmon leaf tea were used this analysis after the storage for 370 days at room temp.

AsA: ascorbic acid (reduced)

DHA: dehydroascorbic acid

A: without roasting treatment

B: with roasting treatment before the storage

C: with roasting treatment after the storage

持できることがわかった。

## (2) ラジカル捕捉活性

焙煎未処理の柿葉茶におけるラジカル捕捉活性は、保存前では蒸熱時間に関わらず約  $500 \mu\text{mol Trolox eq./1 g DW}$  であった (Fig. 27A)。しかし、370日保存後には、蒸熱5分間処理区が  $454 \mu\text{mol Trolox/1 g DW}$  と最も高かった。これは、アスコルビン酸オキシダーゼ等のAsAの酸化に参与する酵素群の失活で、T-AsA含量が高かったことと推察される。

次に、焙煎処理がラジカル捕捉活性におよぼす影響を検討したところ、焙煎未処理と比較して、保存前の活性が1~2割減少した (Fig. 27AB)。保存前と370日間保存後のラジカル捕捉活性の減少量は、焙煎の有無にかかわらず各蒸熱処理区で同程度であった。一方、対照区（蒸熱無処理区）は焙煎処理によりラジカル捕捉活性の低下が抑制された。焙煎処理により保存期間中のT-AsA含量を保持できたにも関わらず、蒸熱処理区ではラジカル捕捉活性にその影響が出なかったことから、T-AsA以外のラジカル捕捉活性を有する他成

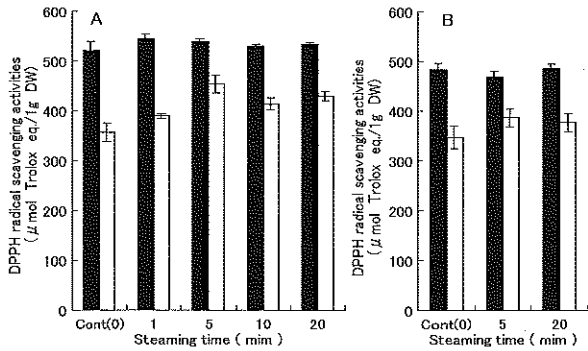


Fig. 27 The effects of the steaming without (A) or with (B) roasting treatment on radical scavenging activities during the storage of persimmon leaf tea.

Samples of persimmon leaf tea were used for this analysis just after immediately the manufacturer (■) and after the storage for 370 days at room temp. (□). Bars indicate SD (n=3).

Extracting method: 200mg of powdered persimmon leaf tea was extracted with 20ml of boiling milli-Q water for 10min, and then filled up to 50ml.

分の関与が示唆された。

そこで、ラジカル捕捉活性、T-AsA含量及びポリフェノール含量についてそれぞれの相関関係を検討したところ、いずれも高い相関関係が認められた (Fig.28). 特にラジカル捕捉活性とポリフェノール含量の相関関係は $R^2=0.9617$ と著しく高かった. ラジカル捕捉活性とポリフェノール含量との関係については、両者間で高い相関が報告されている (Katsubeら, 2004; 津志田ら, 1994; 深井・松澤, 2000). 第II章でも述べたように、柿葉茶のラジカル捕捉活性を示す物質にはT-AsAの他に、イソケルシトリン、ルチン及び(+)-カテキン等が含まれており (棟久ら, 1999), T-AsAの他にもこれらの物質が蒸熱処理や焙煎処理に関与していることが示唆される. 今後これらの物質の分析を行うとともに、柿葉の生育ステージとT-AsA含量を保持するために必要な蒸熱時間との関係について今後明らかにする必要がある.

#### IV ヤマモモ葉のラジカル捕捉活性

##### 1 採取時期及び雌雄がヤマモモの当年葉におけるラジカル捕捉活性に及ぼす影響

ヤマモモ科、ヤマモモ属に属するヤマモモ

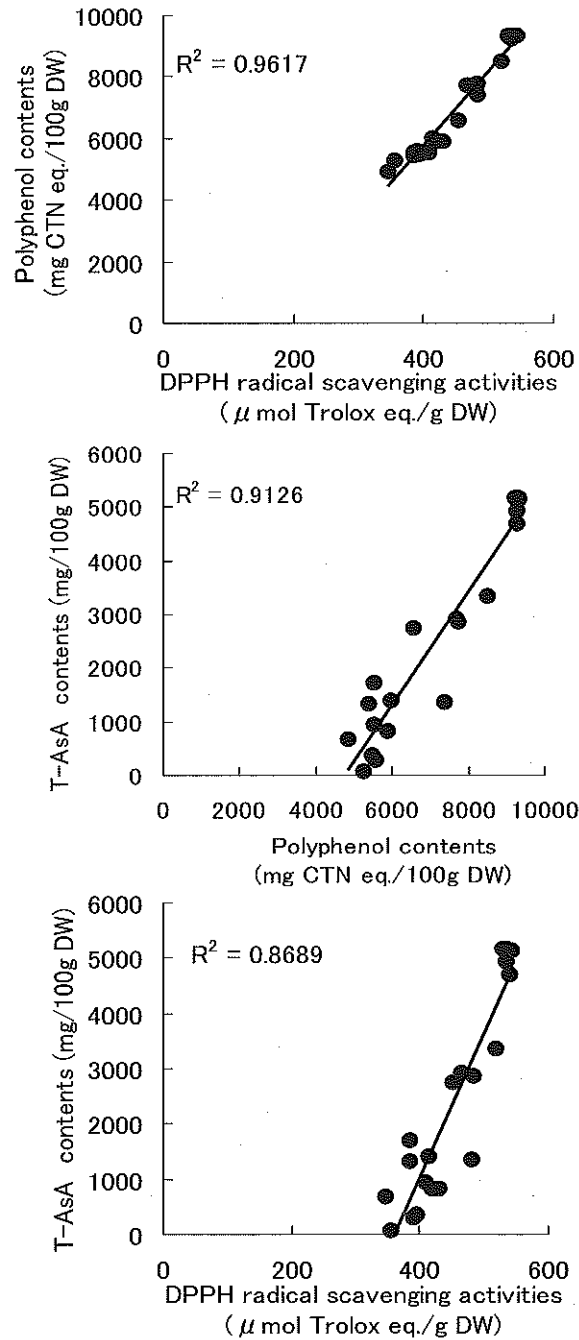


Fig. 28 Relation among T-AsA contents, Polyphenol contents and DPPH radical scavenging activities of persimmon leaf tea.

CTN: (+)-catechin

Polyphenol contents: Folin-Ciocalteu assay

(*Myrica rubra* Sieb. Old & Zucc.) は、中国、日本を原産とする常緑高木である (赤井, 2000). 果物的に価値があるのは数品種に限定されるため、果樹としての評価は低かったが、近年、ふるさと志向や自然食品ブーム、輸送機関の発達に伴い特産品として注目されるようになった (谷岡, 1997). 最近では、街路樹や庭木用だけでなく果樹としても栽培され、徳島県で

は「県の木」、高知県では「県の花」として親しまれている。また、6月下旬の梅雨時期に2～3cmの赤紫色をした果実が実り、生果の他にリキュール、ジャム、ピューレなどに加工される(赤井, 2000)。このように、果実は生果や加工食品素材として利用されている。

著者らは、ヤマモモの葉が強い抗酸化性、抗アレルギー活性(脱顆粒阻害活性)、昇圧酵素活性阻害(ACE阻害能)等多岐にわたる機能性を有することを明らかにした(鶴永・仲谷, 2002)。また、鷺野(2000)は、ヤマモモ抽出物が非常に強い有機ラジカル消去活性、スーパーオキシドアニオン消去能を有する抗酸化剤であることを報告している。しかし、ヤマモモにおける果実以外の利用は、抗酸化剤(厚生省, 1996)に限定されている。

そこで、本節では、これまで食品素材としてほとんど使用されなかったヤマモモの採取部位ごとのラジカル捕捉活性を評価し、高い活性が認められた葉について、採取時期及び雌雄がその活性に及ぼす影響について検討した。

## 1) 実験方法

### (1) 実験材料

供試樹として、生育の揃ったヤマモモ雌株を鳥根県東部(松江市)で1株、県西部(浜田市)の異なる地点から各1株を選び、合計3株を用いた。また、株の性別による比較をするため、県西部の雌株と同地点に自生する同程度の樹勢、樹齢、樹高の雄株1株も供試した。

### (2) 供試材料の部位の違いによるラジカル捕捉活性

供試樹として西部I雌株を用いた。未熟果(緑色)を2002年5月20日に、葉、枝、成熟果(暗赤色)を6月20日に採取し、種子は成熟果から果肉部分を除いたものとした。なお、枝は古葉が着生していた直径5mm程度の小枝を用い、葉については当年葉及び前年までの古葉を用いた。

### (3) 採取時期の違いによる葉のラジカル捕捉活性

採取地による差を確認するため、2002年に県内3地点(西部I雌株、西部II雌株、東部雌株)から当年葉を5、7、10及び12月の合

計4回採取した。なお、東部雌株については、5月の時点では当年葉が展葉しておらず、採取が不可能であったため、3回の採取となった。

### (4) 雌雄の違いによるラジカル捕捉活性

雌雄の違いがヤマモモ葉のラジカル捕捉活性に及ぼす影響について検討するために、2002年6月20日に西部の同地点に自生している樹齢、樹勢がほぼ同等な雌株及び雄株から当年葉を採取した。

### (5) 測定方法

#### a 抽出方法

試料はすべて凍結乾燥粉末を用いた。一般的に、ポリフェノールの抽出方法としては、抽出効率と脂溶性成分の溶解を防ぐ目的から50～80%アルコールを用いることが多い(津志田, 2005)。このため、試料200mgに80%エタノール20mlを添加し、一晩静置抽出後、ろ過してエタノール抽出試料とした。また、本研究では抽出溶媒として健康茶への利用を想定した熱水を用いた。粉末試料200mgに超純水20mlを加え、沸騰水中で10分間加熱抽出し、50mlに定容後にろ過して熱水抽出試料とした。

#### b ラジカル捕捉活性の測定

ラジカル捕捉活性の測定は、安定的なDPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカルを用いる須田(2000)の方法に準じて行い、活性はビタミンEの合成類似物質であるトロロックス(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)相当量( $\mu\text{mol}$  トロロックス相当量/gDW)で表した。

#### c 可溶性ポリフェノール含量の測定

可溶性総ポリフェノール含量の分析は、第II章第1節に従い、値はカテキン相当量で表した。

#### d ミリシトリン含量の測定

ミリシトリンは高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いて分析した。鳥津高速液体クロマトグラフ装置(鳥津製作所, 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, 4.6×250mm)、移動相は0.5%リン酸/アセ

トニトリル=82/18(v/v), 検出器波長254nm, カラム温度40℃で分析した. ミリシトリンの同定は, HPLC分析時の溶出パターンにおける試料抽出液と標準物質とのリテンションタイムの比較により行った.

e 糖含量の測定

糖(果糖, ブドウ糖, ショ糖含量の合計)は鈴木ら(2005)の方法に従い測定した. 80%エタノールで抽出し, 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), RI検出器(RID6A)を用い, カラムNH2P-50(Shodex, 4.6φ×250mm), 移動相は, アセトニトリル75%を用い, マルトースを内部標準として用いた. 測定値は, それぞれ3反復分析の平均値で表した.

2) 結果及び考察

(1) 採取部位の違いによるラジカル捕捉活性

ヤマモモの部位別のラジカル捕捉活性は, 熱水抽出, エタノール抽出とも葉が最も高く, 次いで, 枝, 未熟果の順であり, 成熟果及び種子は, 他部位よりも著しく低かった(Fig.29). 当年葉と古葉は同レベルの活性値を示した. 市川ら(1998; 1999)が成熟果について抗酸化活性成分としてクリサンテミン, ミリシトリン及びケルシトリンを同定し, メラニン生成抑制能, β-カロテン退色法による抗酸化性が強いと報告している. 未熟果が成熟果より高い機能性を有するという報告は, 須田ら(2005)がバナナのDPPHラジカル捕捉活性で, 岩松ら(2005)がニホンナシのポリフェノール含量でそれぞれ確認している.

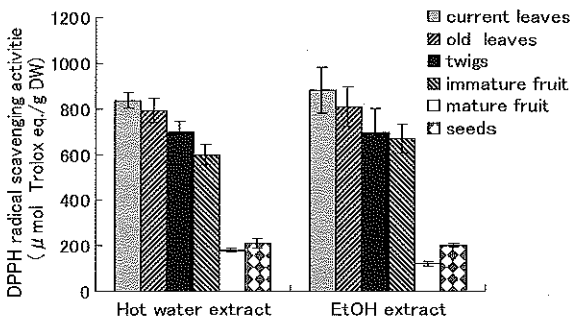


Fig. 29 Effect of picking parts on DPPH radical scavenging activity in bayberry.

Vertical bars indicate standard deviations (n=3) of means.

本研究では, ヤマモモ未熟果の機能性成分を明らかにするには至らなかったが, 機能性食品素材として有望な素材であることが明らかとなった.

一方, 当年葉及び古葉の活性値は, 著者らがこれまでに測定した農産物, 山野草, 葉草等100点以上に及ぶ試料のラジカル捕捉活性(私信)と比較しても著しく高いレベルであった. 果実, 樹皮, 葉から水, エタノール又はメタノールを用いて得られたヤマモモ抽出物は, 既存添加物収載品目リストに抗酸化剤として収載され, 各種加工食品で用いられている(厚生省通知, 1996). 鷲野(1998)は, ヤマモモ抽出物の酸化防止能及び油脂の酸化防止効果について報告し, それらの優れた効果はヤマモモに含まれるミリセチン, ミリシトリンに起因すると述べている. ミリセチンはフラボノール的一种で, ミリシトリンはその配糖体である. ミリセチンの抗酸化性は非常に強く, 緑茶に含有されるカテキン類の抗酸化活性との比較で, エピガロカテキンガレートより劣るもののエピガロカテキンやカテキンよりも強い抗酸化性を持つことが報告されている(富田, 1999b). 本試験ではポリフェノールの組成は検討しなかったが, 今後, ラジカル捕捉活性とポリフェノール成分の関係を明らかにするための詳細な検討が必要である.

(2) 採取時期及び採取場所による葉のラジカル捕捉活性の違い

高いラジカル捕捉活性が認められた当年葉について, 採取時期及び採取場所によるその活性を検討した. 当年葉と同様に古葉もラジカル捕捉活性が高かったが, 古葉におけるその活性は葉齢によってかなり差があると思われる. さらに古葉は異なる葉齢のものが混在し, 葉齢の判別が困難でことから, 当年葉のみを供試した. 各地点で採取した当年葉は, いずれも7月葉におけるラジカル捕捉活性が最も高かった(Fig.30). また, 採取時期によるラジカル捕捉活性の変動は, エタノール抽出が熱水抽出より顕著で, 試料を採取した3地点の全てにおいて, 最大値となった7月採取葉の活性値は12月採取葉の2倍以上であった(Fig.30). ラジカル捕捉活性に関与する抗酸

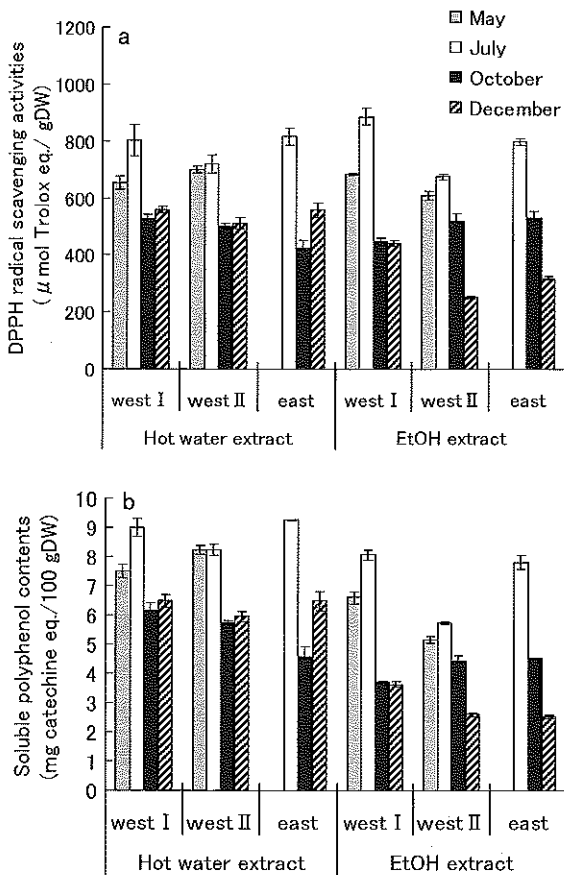


Fig. 30 Effect of picking place on DPPH radical scavenging activities and soluble polyphenol contents in bayberry leaf.

Vertical bars indicate standard deviations (n=3) of means.

化ポリフェノール類は有機物質の中で比較的極性が高く (増田ら, 2002), その抽出溶媒として水, アルコール類が頻繁に使用されている。両者間で異なるのは, エタノールより水の極性が高く, 水で抽出されるポリフェノール成分は極性が高い配糖体のみであるのに対し, エタノールはポリフェノール組成により抽出効率が異なるものの, 配糖体及びアグリコンの両方を溶解できる点である (増田ら 2002, 山田 2005)。また, 水とエタノール含量の割合により, ポリフェノール成分の抽出効率が大きく異なることは多数の報告がある (徳江, 2002; Qian ら, 2004; 鈴木ら, 2002)。これらのことから, ヤマモモ葉に含まれる個々のポリフェノール成分の極性が影響して, エタノール抽出液が熱水抽出液よりラジカル捕捉活性の季節変動が大きかったと考えられる。

さらに, 健康茶への利用を想定した熱水抽出のラジカル捕捉活性は, 80%エタノール抽

出の活性と同等もしくはそれ以上であった (Fig.30)。鈴木ら (2002) は, 赤ワイン抽出物などを用いて Folin-Denis 法の抽出溶媒 (蒸留水, 各種濃度の含水メタノール, 含水エタノール, 含水アセトン, 及びジメチルスルホキシド) による総ポリフェノール含量を比較したところ, 蒸留水は他の溶媒より抽出効率が著しく低いことを明らかにしており, 本試験の結果と異なっている。この点に関して, 柚木崎ら (2005) はハーブ類の水抽出液における DPPH ラジカル捕捉活性を 20~95℃ で検討したところ, 80℃ 以上で顕著にその活性が高くなることを確認している。80%エタノール抽出についても 20~73℃ で検討したところ, 温度が高いほどラジカル捕捉活性が高まることを報告している (柚木崎ら, 2005)。このことは, ラジカル捕捉活性に影響を与えるポリフェノール類の抽出効率が, 抽出温度にも影響されることを示している。本試験における 80%エタノール抽出は室温で行ったことからヤマモモ葉中のポリフェノール成分の抽出が不完全であり, 一方, 熱水抽出は 100℃ で行ったことから, それらの成分が効率よく抽出されているものと考えられた。これらのことから, ヤマモモ葉を健康茶として飲用することは, 葉中のポリフェノール成分を効率的に摂取する方法として有効な手段であることが明らかとなった。

植物のラジカル捕捉活性を示す成分には, ポリフェノール, ビタミン類などがあり (大澤, 1998; 山内, 1998; 津志田, 1998; 東, 1998), 採取時期や成熟度により, その含量は大幅に異なることが報告されている (近藤ら, 2002; 李ら, 2004)。特に, DPPH ラジカル捕捉活性とポリフェノール含量間の相関性については多くの報告がある (津志田ら, 1994, 深井・松澤, 2000)。著者らは, ヤマモモの当年葉についても, 島根県内で採取された 31 試料の分析結果から, ポリフェノール含量と DPPH ラジカル捕捉活性との間に熱水抽出で  $R^2=0.9676$ , エタノール抽出で  $R^2=0.9609$  の高い相関関係があることを確認した (Fig.31)。また, 本試験の供試試料についてもポリフェノール含量を検討した結果, ラジ



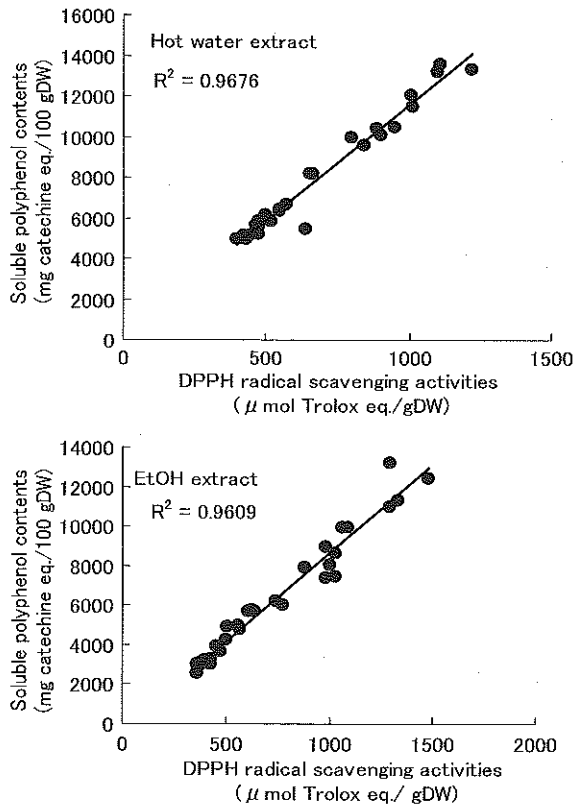


Fig. 31 Relationship of soluble polyphenol contents and DPPH radical scavenging activities in bayberry leaf ( $n=31$ ).

カル捕捉活性と同様な推移傾向を示した (Fig.30). ポリフェノール類の生合成は、紫外線により促進され (寺島, 1999), 遮光処理による緑茶葉カテキン生合成の抑制現象は、玉露栽培の被覆 (遮光) 栽培技術として確立している (小西, 1991). さらに、著者らは、柿葉についても紫外線量が多い6~7月の可溶性総ポリフェノール含量が他の時期に比較して高いことを確認している (未発表). これらのことから、ヤマモモの葉のラジカル捕捉活性が秋~冬季より春~夏季採取が高かった理由の一つとして、紫外線量の違いによるポリフェノール生成量の差が挙げられる. さらに、葉の細胞肥大速度の影響も考えられる. 本研究で用いた西部 I, 西部 II は5月上旬から、東部では6月上旬から展葉が開始し、その後葉面積が増加した. ポリフェノールの一種であるフラボノイド類は表皮細胞の液胞に局在化することから (寺島, 1999), 春及び夏から秋の細胞肥大により細胞あたりのフラボノイド含量が希釈されたことも原因と考えられる.

本研究では東部及び西部から当年葉を採取した. 東部と西部 I のラジカル捕捉活性は同レベルで推移したが、西部 II の7月採取葉の活性は熱水抽出、エタノール抽出とも低いレベルであった (Fig.30). このことは、採取地点よりも樹齢や樹勢などの樹自体の特性がラジカル捕捉活性に影響していることを示唆している. ポリフェノール類の一種であるフラボノイド類はフェニルアラニンやチロシンから生成される. そのアミノ酸は、光合成で生成される糖、有機酸、糖のリン酸エステルなどとアンモニアから生成される化合物である. 藤本 (1994) はカキ '平核無' について、樹齢の増加に伴う光合成速度及び光飽和点の低下を報告し、Yoder・Waring (1994) は、2種のマツ属について、壮齡樹は若い樹より純光合成速度が劣り、その理由として樹齢の増加による気孔抵抗の増大を挙げている. また、山本ら (1992) はウンシュウミカンの光合成速度の大小には樹勢が大きく関与することを明らかにしている. これらのことから、樹勢や樹齢により光合成速度は著しく異なり、そのことがラジカル捕捉活性に影響を及ぼしていると考えられた.

### (3) 雌雄によるラジカル捕捉活性の違い

雄株から採取した当年葉におけるラジカル捕捉活性は、雌株より高く、熱水抽出及びエタノール抽出とも1.6倍で、可溶性ポリフェノール含量については、両抽出とも1.5倍であった (Fig.32). ヤマモモ葉のフラボノイド類をHPLCで分析した結果、ミリセチンの配糖体であるミリシトリンのピーク面積が最も大きく、鷺野 (1998) の報告と同様の結果が得られた (Fig.33). 雌株葉に対する雄株葉のミリシトリン含量は、熱水及びエタノール抽出とも2.3倍であった (Fig.32). ミリシトリン等のフラボノイド類は、葉肉細胞を保護する紫外線フィルターとして作用し、展葉直後の葉はその含量が高い傾向にあることが知られている (寺島, 1999). しかし、展葉間もない葉は光合成機能が未発達なため、シンクとして成熟葉から糖の転流を受けている (大藤, 1999). さらに、試料を採取した6月下旬はヤマモモ果実の糖含量が飛躍的に増加する時

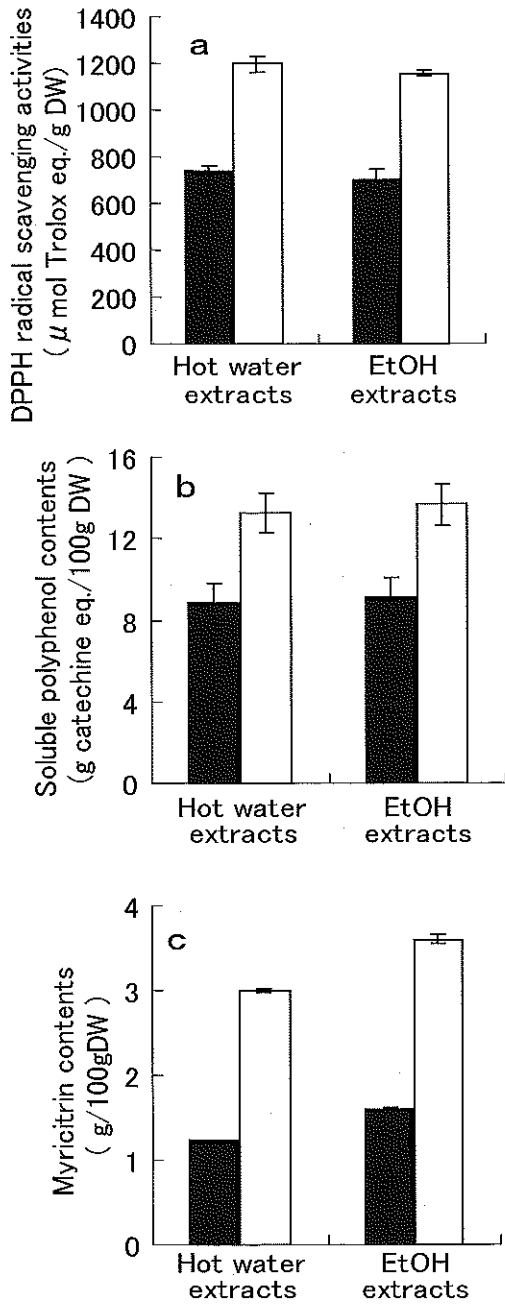


Fig. 32 Effects of sex of tree on radical scavenging activities (a), soluble polyphenol contents (b) and myricitrin contents (c) in bayberry leaf.  
 ■ female tree □ male tree  
 Vertical bars indicate standard deviations (n=3) of means.  
 Polyphenol contents: Folin-Ciocalteu assay

期に相当する (阪村, 1993). 果実・種子など繁殖器官は, 次代の初期生育に必要とされる糖などの栄養成分が蓄積され (山崎, 1993), 光合成産物の多くは果実の肥大や充実のために分配される (高橋, 1998). そのため, 雌株では成熟葉で生成された光合成産物が優先的に果実生産のために転流されたと推

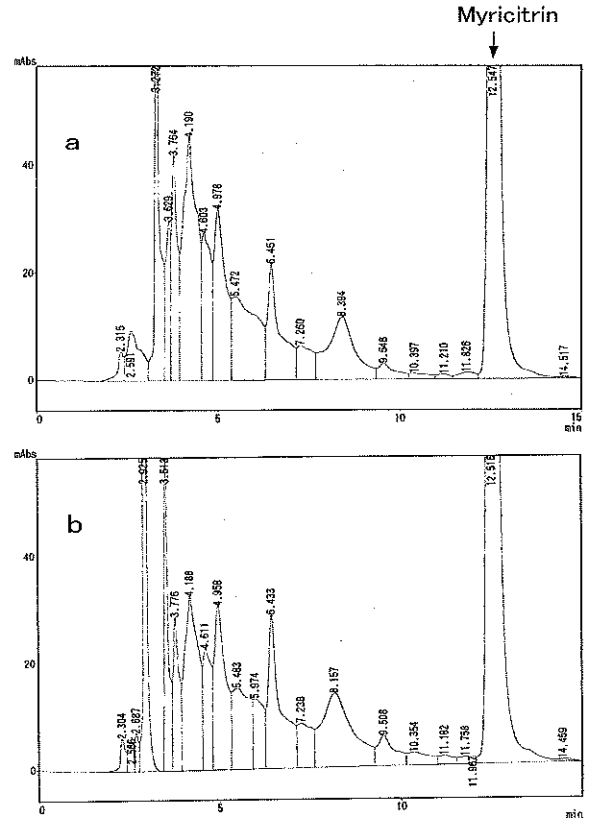


Fig. 33 HPLC chromatograms of hot water (a) and EtOH extracts (b) in male bayberry leaf.

察される。そこで, 雄株及び雌株の当年葉について糖含量を検討した結果, 糖含量は雄株葉が雌株葉より高く, それぞれ7.5, 4.3g/100gDWであった。これらのことから, 雄株葉が雌株葉よりもラジカル捕捉活性が高かった一因として光合成産物である糖含量の差異によるミリシトリン含量への影響が考えられた。

本試験によりヤマモモ当年葉, 古葉及び未熟果のラジカル捕捉活性が非常に高いことが示された。また, 古葉は採取葉により葉齢が異なることを考慮し, 当年葉に限定してラジカル捕捉活性を検討した結果, 採取時期及び雌雄によりその活性は異なることが判った。ヤマモモを有効な抗酸化成分を豊富に含む健康食品素材として位置づけるには, 抗酸化成分含量の日変化, 品種間差, 糖及びポリフェノール含量とその組成等のさらに詳細な検討が必要である。

## V 製造方法がヤマモモ葉茶の機能性成分含量に及ぼす影響

### 1 製造工程がヤマモモ葉茶のアスコルビン酸含量、ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性に与える影響

近年の健康ブームから、様々な生理活性機能を有する健康茶が販売されている。健康茶の機能性や機能性成分含量に関する研究も多くなされ、各種健康茶のアンジオテンシン I 変換酵素 (堀江ら, 1996), 抗酸化性 (梶本・村上, 1999; 西沢千恵子・グエン・グァン, 2001), フラボノイド含量 (棟久ら, 1999; Sakanaka, 2005) などが報告されている。著者らは、第 III 章で柿葉茶における乾燥方法、蒸熱処理時間及び焙煎処理の有無が保存中の機能性や機能性成分含量に与える影響について報告したが、製造工程が健康茶の機能性や機能性成分に与える影響について報告した例は少ない。

そこで、本章では、強い抗酸化性 (鷺野, 2000), 脱顆粒阻害活性 (鶴永, 2005) を有するにも関わらず、健康茶素材としてほとんど利用のないヤマモモの葉を用いて、製茶工程がおよぼすアスコルビン酸含量、可溶性ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性への影響について検討した。併せて、ヤマモモ葉の主要ポリフェノール成分との報告 (鷺野, 2000) があるミリシトリンについても報告する。

#### 1) 実験方法

##### (1) 実験材料及び製茶方法

本試験で用いたヤマモモ葉茶の原材料として、2004年11月21日に島根県浜田市で採取したヤマモモ葉を供試した。ヤマモモ葉茶製造

方法は、Fig.34に示すとおり、水道水で洗淨した葉を十分に水切りした後、せいろ (40×40cm) を3段重ねて使用し、蒸熱処理として1, 3, 5, 10分間及び無処理区を設けた。品温 (葉表面の中心部分を放射温度計により測定) が105℃に達するまでの時間は上から1段目が40秒、3段目20秒であった。各蒸熱処理には生葉を各300g使用し、それぞれ処理した蒸熱葉を3等分して、以下の実験に供した。乾燥方法として、凍結乾及び乾燥処理は3反復実施した。ラジカル捕捉活性の比較として、焙煎種子や乾燥茶葉などの健康茶9種を用いた。なお、ヤマモモ葉茶乾燥区 (2日間)、機械乾燥区 (60℃, 12時間) と日陰乾燥区 (15℃, 10日間) を設け蒸熱処理の組み合わせにより15処理区を設定した。蒸熱及び市販健康茶は、粉碎器で粉末化し1.0mm目を通したものを分析試料とした。

#### (2) 色調

粉碎前のヤマモモ葉茶を分光測色計 (MINOLTA 製CM-1000) を用いてL\*, a\*, b\* 値を測定した。値は、乾燥茶葉の中心部分を3回測定した平均値とし、1処理区につき10枚の茶葉を使用した。

#### (3) アスコルビン酸含量の測定

アスコルビン酸含量については第 II 章第 1 節に従い分析した

#### (4) ミリシトリン含量の測定

フラボノイドの一種であるミリシトリン (ミリセチン-3-ラムノシド) の抽出は、熱水で行った。試料200mgに超純水 (ミリQ水) を20ml添加し、沸騰水中で10分間加熱抽出し、超純水で50mlに定容したものを0.45μmのミクロフィルターでろ過し、HPLCに10μl注入

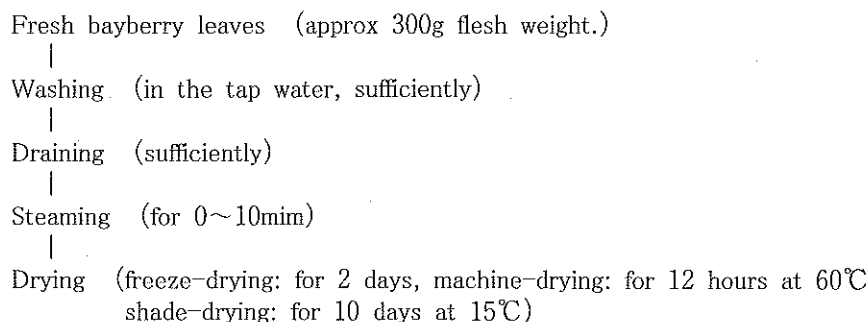


Fig. 34 Manufacturing process for bayberry leaf tea.

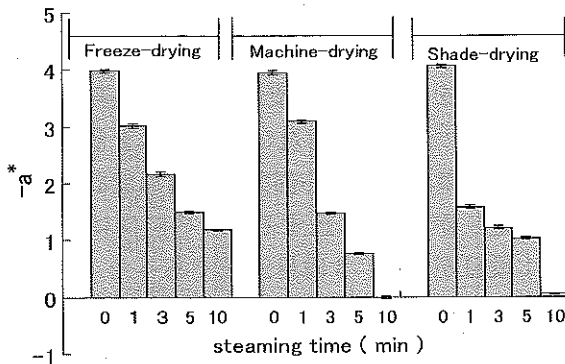


Fig. 35 The color tone of the bayberry leaf tea. The vertical bars represent SD (n=10).

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，4.6×250mm），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254nm，カラム温度40℃，流速1.0ml/分で分析した。

#### (5) 可溶性総ポリフェノール含量の測定

可溶性総ポリフェノールの測定は，前述のミリシトリン含量と同一の抽出液を使用した。測定は，第Ⅱ章第1節の方法に従い，ミリシトリン相当量として表した。

#### (6) ラジカル捕捉活性の測定

ラジカル捕捉活性の測定は，前述のミリシトリン含量と同一の抽出液を使用し，第Ⅲ章第1節の方法に従い分析した。

## 2) 結果及び考察

### (1) 色調

製造方法の影響が最も顕著に現れたa\*値の結果をFig.35に示した。a\*値の増加は緑色の減少を意味するが，蒸熱処理区では無処理区と比較してa\*値が上昇した。短時間の加熱（ブランチング）処理は，緑色野菜の退色防止に有効であることが知られているが，有機酸を多く含む緑色野菜の場合は，加熱処理を行うことで，有機酸によるクロロフィルの分解が誘発される（石谷，1995a；佐伯ら，1987）。これらのことが関与して，蒸熱処理により緑色が退色したと考えられた。

### (2) 総アスコルビン酸含量

乾燥方法別でのT-AsA含量の比較では，凍結乾燥が290~360mg/100gDWと最も高いT-

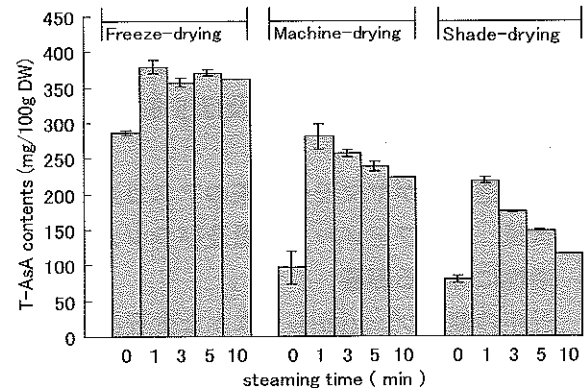


Fig. 36 Effect of steaming time and drying methods on T-AsA contents of bayberry leaf tea during the manufacturing process.

The vertical bars represent SD (n=3)

AsA含量であり，またいずれの乾燥区においても蒸熱処理区が無処理区より高かった（Fig.36）。一方，機械及び日陰乾燥区で最も高いT-AsA含量を示したのは蒸熱1分間処理区で，それ以上の蒸熱処理区では減少した（Fig.36）。

AsAの分解要因としては，アスコルビン酸オキシダーゼやポリフェノールオキシダーゼ等の酵素による酸化（鈴木・荒井，2003a；大羽，1997），酸素や金属イオンの存在による酸化（鈴木・荒井，2003a；小池・福場，1990），紫外線による影響（仲村，1983a）等が報告されている。さらに，酵素の失活温度はアスコルビン酸オキシダーゼが75℃以上（桐淵・川嶋，1987），ポリフェノールオキシダーゼが70℃以上（村田・本間，1998）である。したがって，加熱処理を行わなかった蒸熱無処理区では，乾燥工程中に，これらの酵素群の働きによりAsAの分解が進んだ結果，T-AsA含量が蒸熱処理区よりも低くなったと考えられた。蒸熱無処理区について，乾燥方法別にT-AsA含量を比較すると，凍結乾燥が最も高く，機械及び日陰乾燥は同等であった。凍結乾燥は低温下で乾燥が進行するため，AsA酸化酵素群の作用が少なく，T-AsA含量を他の乾燥区より高く保持できたと考えられた。機械及び日陰乾燥区は，乾燥期間が大幅に異なるにも関わらずT-AsA含量はほぼ同等であった。これは，機械乾燥の60℃という温度帯がAsA酸化酵素群による作用を促進し

たためと推察された。

また、3分間以上の蒸熱処理では、T-AsA含量が蒸熱1分間処理区よりも低かった。これは、加熱処理により色素中のヘムからマグネシウムが離脱するという報告（鈴木・荒井, 2003b）があることから、3分間以上の過剰な蒸熱加熱処理でマグネシウムなどの金属イオンが遊離し、その作用でAsAの酸化が進行したと推察される。あるいは、植物性素材を加熱調理すると、細胞壁を接合しているペクチンが溶出して細胞構造がゆるむ（鈴木・荒井, 2003b）ことから、3分間以上の蒸熱処理により細胞構造が崩れ、AsAが直接空気中の酸素と接触することで、酸化反応が進行し、蒸熱処理時間が長くなるに従いT-AsAが減少したと思われる。しかし、本試験の結果からは断定するにはいたらず、今後蒸熱処理時間とヤマモモ葉の細胞構造に関しては検討する必要があると考える。

さらに、同一の蒸熱処理時間における乾燥方法別のT-AsA含量を比較すると、凍結乾燥>機械乾燥>日陰乾燥区であった。品温は、1分未満でAsA酸化酵素群の失活に必要な温度に達していることから、蒸熱処理区のT-AsA含量の違いは、非酵素的な酸化の影響と思われる。凍結乾燥は、高真空下での昇華現象を原理としているため乾燥中の酸化が抑制され、材料の色調、香り、ビタミン類等の成分をより高く保持できること（亀和田, 1997）は良く知られている。このため、蒸熱処理時間の長短に関わらず高いAsA含量が保持できたものと考えられる。また、AsAは容易に酸化されDHAとなる。DHAはAsAと比較して非常に不安定で、水共存下ではラク톤環が加水分解され、更に不安定な物質である2,3-ジケトグルコン酸になり、順次分解反応が進むことが知られている（林, 1986；倉田, 1991）。日陰乾燥の乾燥時間は機械乾燥の12時間と比較して著しく長いため、葉中の水分が機械乾燥よりも高い状態で推移することから、機械乾燥区よりもT-AsA含量が低くなったものと考えられる。

本試験から、T-AsA含量を高く保持するためには、蒸熱処理後に凍結乾燥する方法が最

も適していることが明らかとなったが、凍結乾燥はランニングコストが非常に高いため、小規模加工場での使用は現実的でない。また、小規模加工場で頻繁に使用される機械乾燥や日陰乾燥でも、1分間程度の蒸熱処理で製造工程中のT-AsAを高く保持できることが分かった。1分間蒸熱処理をして製造したヤマモモ葉茶の味は、蒸熱処理を行うことでヤマモモ葉の青臭みが低減され、飲みやすい味となった。さらに、1分間蒸熱処理を行って製造されたヤマモモ葉茶は、T-AsA含量が高いことでしられる緑茶（150mg/100gDW（鶴永, 2004）よりもその含量が多いことが明らかとなった。

### (3) ヤマモモ葉茶のミリシトリン量

ヤマモモ葉茶の熱水抽出液をHPLCで分析したところ、大きいピークが1つ認められた（Fig.37）。ヤマモモの主要ポリフェノールはミリシトリンとした鷺野らの報告（鷺野, 2000）と、HPLC分析における標品のリテンションタイムが一致したことから、本ピークはミリセチンの3位がラムノシル基により配糖化したミリシトリンと判断された。また、熱水抽出のミリシトリン含量は、1,040~1,370mg/100gDWであったのに対し（Fig. 38）、エタノール抽出では1,220~1,480mg/100gDWであった。一般にフラボノイド類は含水アルコール溶媒の抽出効率が熱水より高いことが知られている（津志田, 2005）が、本研究ではミリシトリンの熱水抽出液の場合はエタノール抽出の約90%とほぼ同程度であった。

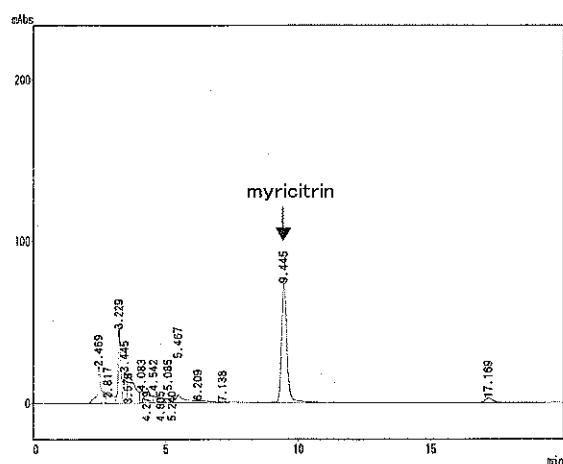


Fig. 37 HPLC chromatogram of myricitrin in bayberry leaf tea.

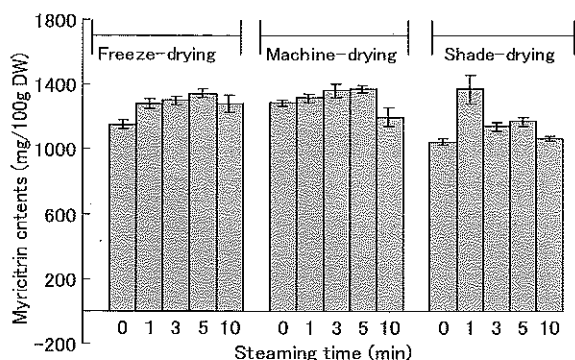


Fig. 38 Effect of steaming time and drying methods on myricitrin contents of bayberry leaf tea during the manufacturing process.

The vertical bars represent SD (n=3)

同一蒸熱処理時間におけるミリシトリン含量を乾燥方法別に比較すると、蒸熱1分間処理区以外は、凍結及び機械乾燥が日陰乾燥よりもミリシトリン含量が高かった。日陰乾燥区では、蒸熱無処理区のミリシトリン含量が1,040mg/100gDWに対し、蒸熱1分間処理区ではその1.3倍、蒸熱3分間以上では1,060~1,170mg/100gDWであることから、ミリシトリン保持のためには蒸熱1分間処理が有効であることが明らかとなった (Fig.38)。

蒸熱処理時間の影響が最も顕著に表れた日陰乾燥区は、乾燥期間が長い為、蒸熱無処理区ではPO等の酸化酵素が作用したものと考えられる。POの基質となるポリフェノール類としては、クロロゲン酸、カテキン、プロアントシアニジンなど分子量が600以下の低分子なものであることが知られている (石谷, 1995b)。また、ミリシトリンのアグリコンであるミリセチンもPOによって酸化される (Jimenez・Garcia, 1999) ことが報告されていることから、蒸熱無処理区ではPOの作用によるミリシトリンの酸化反応によってその含量が減少したものと推察された。一方、蒸熱1分間処理区では加熱処理によりPOが失活して、ミリシトリンの酵素による酸化が抑制されたと考えられる。しかし、日陰乾燥の蒸熱3分間以上の処理区では、1分間処理区よりミリシトリン含量が減少した。ポリフェノール成分の非酵素的反応として、自動酸化、金属イオンによる影響、pHの影響 (石谷,

1995c)などがあり、それらのいずれかが原因と推察される。筆者らは、乾燥までに長い期間を必要とした日陰乾燥において、3分間以上の過剰な蒸熱により、ヤマモモ葉の細胞組織がゆるみ (鈴木・荒井, 2003b)、乾燥工程中にミリシトリンが容易に酸素と接しやすくなった、もしくは有機物と結合していた金属イオンが離脱してミリシトリン含量が減少したと考えている。凍結乾燥区は高真空下で、機械乾燥区は短時間で乾燥するため、蒸熱10分間処理区以外の蒸熱処理区では、製造工程中の短期間では、非酵素的酸化の影響が出なかったものと思われる。

本試験により、ヤマモモ葉茶におけるミリシトリン含量は、ランニングコストが低い機械乾燥でも、凍結乾燥と同程度であることが判った。また、設備投資が不要な日陰乾燥でも1分間の蒸熱処理を行うことにより凍結乾燥及び機械乾燥と同等のミリシトリン含量を有することが明らかとなった。

#### (4) 可溶性ポリフェノール及びDPPHラジカル捕捉活性

可溶性ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性はそれぞれ4,500~5,770, 3,830~5,790mg/100gDW (ミリシトリン相当量)で、全ての乾燥処理方法で蒸熱時間が長くなるにつれて低下する傾向であった (Fig.39, 40)。

ヤマモモ葉の可溶性ポリフェノールとしては、タンニン類及びミリシトリンが報告されている (鷲野, 2000) が、ミリシトリン含量は蒸熱無処理区より処理区の含量が高く、今回のフォリン法による可溶性ポリフェノール含量の結果と異なっていた。そこで、フォリン法による可溶性ポリフェノール含量に占めるミリシトリン含量の割合を検討した。その結果、ミリシトリンの割合は19~28%の範囲と低かった (Fig.40)。ヤマモモ葉の主要ポリフェノールはミリシトリンとの報告 (鷲野, 2000) があるが、本試験の結果から、ミリシトリンのフォリン法に占める割合は低く、72~81%はタンニン類あるいは他のポリフェノール成分であると考えられた。同様に、DPPHラジカル捕捉活性に対するミリシトリン含量の割合を検討した結果、可溶性ポリフェノール

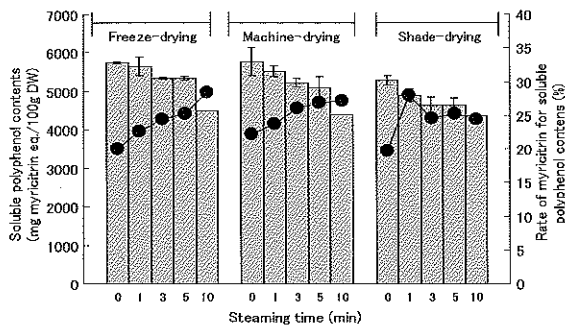


Fig. 39 Effect of steaming time and drying methods on soluble polyphenol contents and contribution rate of myricitrin in bayberry leaf tea during the manufacturing process.

▨: soluble polyphenol contents  
●: rate of myricitrin for soluble polyphenol contents  
The vertical bars represent SD (n=3)

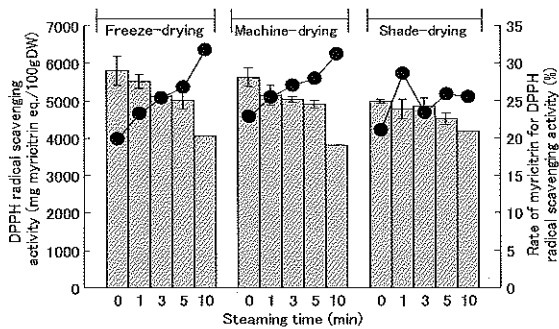


Fig. 40 Effect of steaming time and drying methods on DPPH radical scavenging activities and contribution of myricitrin in bayberry leaf tea during the manufacturing process.

▨: soluble polyphenol contents  
●: rate of myricitrin for DPPH radical scavenging activity  
The vertical bars represent SD (n=3)

ルに対する寄与率と同様な傾向を示し、凍結乾燥及び機械乾燥では蒸熱処理が長くなるほど寄与率が高まり、日陰乾燥では蒸熱1分間処理区で最も高かった (Fig.39, 40).

これらの結果と、可溶性ポリフェノール含量とラジカル捕捉活性の相関関係についての報告が多いことから (Katsube, 2004; 津志田, 1994; 深井・松澤, 2000), ヤマモモ葉茶のラジカル捕捉活性を示す主成分はミリシトリン以外のポリフェノール類と考えられた。さらに、可溶性ポリフェノール及びラジカル捕捉活性に大きく関与するミリシトリン以外の主成分は、蒸熱加熱処理により分解されやすい成分であることが示唆された。これらのことから、ポリフェノール類及びラジカル捕

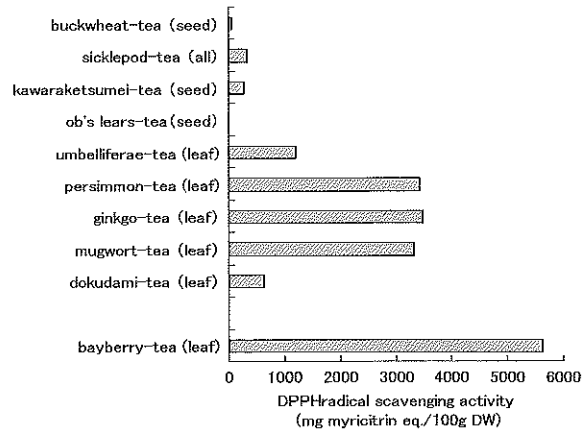


Fig. 41 Comparison of DPPH radical scavenging activities among bayberry leaf tea and nine kinds of commercial health tea

Bayberry leaf tea was manufactured machine-drying without steaming

捉活性が高いヤマモモ葉茶を製造するためには、蒸熱処理を行わず、凍結乾燥または機械乾燥が適するが、ランニングコスト等を考慮すると機械乾燥が現実的と思われた。ヤマモモ葉茶の味の面では、蒸熱処理によって青臭みが減少するため、蒸熱処理を行うのが好ましいが、ポリフェノール類及びラジカル捕捉活性の結果から、その処理は1分間程度の短時間処理にとどめた方が良いと思われた。

また、Fig.41に市販健康茶 (ドクダミ、ハトムギ、カワラケツメイ、エビスグサ、ヨモギ、ソバ、イチヨウ、カキ、アシタバ) とヤマモモ葉茶のラジカル捕捉活性を示した。本試験で用いたDPPHラジカル捕捉活性は、健康茶の抗酸化力を示す指標として多く用いられている (梶本・村上, 1999; 奥田, 2002b) が、市販健康茶の中ではイチヨウ茶、ヨモギ茶及びカキノハ茶の活性が高かったが、それ以上にヤマモモ葉茶が高かった。一方、イチヨウ茶に関しては、梶本・村上 (1999) がランシマット法で油脂酸化防止効果が高いことを明らかにし、ヨモギ葉では生体内過酸化脂質抑制作用を有しその活性本体はカフィータンニン類であるとされている (棟久ら, 1999)。また、柿葉茶は、アスコルビン酸、ポリフェノールを多く含み (鶴永, 2004; 2005), そのジメチルスルホキシド抽出液は、ラジカル消去能 (化学発光法, DPPHラジカル消去法) が高い (木村ら, 2002) ことが報告されている。



Fig. 42 島根県内で製造されている柿葉茶およびヤマモモ葉茶

本試験により、ヤマモモ葉茶は高い抗酸化作用が報告されている市販健康茶よりもさらに強いラジカル捕捉活性を有することから、優れた健康茶であることが示唆された。しかし、本研究で用いたDPPHラジカル捕捉活性は試験管レベルの評価法であるため、今後、動物実験やヒトでの臨床試験など、経口摂取後の人体に対する抗酸化性の有無や強弱及び安全性を検討する必要がある。

## VI 総合考察

従来、食品の機能性として、一次機能（栄養性）及び二次機能（嗜好性）が主に論じられてきた。しかし、近年の分析技術の目覚ましい進歩と健康への関心の高まりが相まって、健康維持に関わる三次機能（生理的機能性）が注目を集めている。特に、生活習慣病の発症や老化の進行に活性酸素が大きく関与し、その予防策として食品中のビタミン、ポリフェノール類をはじめとする抗酸化物質の摂取が有効であるとする知見が多く報告されている。抗酸化物質は、日常的に摂取している野菜や果実にも含まれているが、各地域の未利用資源にもその含量が著しく高い植物がある。例えば、須田ら（2005）は沖縄県産の果実・野菜類のラジカル捕捉活性の一斉分析を行い、サボジラ、カニステル、グアバ、スターフルーツなど沖縄県特産果実の活性値が高いことを報告するとともに、未利用部分であるサボジラの果皮、カニステルの種子でもその含量が高いことを明らかにした。桑原らは

（1999）、未利用資源を利用した機能性素材の開発を目的に、長野県における春季山菜の抗酸化性について検討したところ、コシアブラ（葉茎部）等の山菜に強い抗酸化活性を確認した。また、本県においても平成11～13年度に行われた県内公設試による共同研究「県内食品素材の機能性成分の解析と高付加価値化食品の開発」により、ソバの葉、クワの葉、カキ果実（未脱渋）、メカブ、紫黒米に強いラジカル捕捉活性があることを見出した。平成12～14年度には、共同研究「薬草等の栽培技術の確立と利用技術の開発」が実施され、ヤマモモ、シラカシ、コナラ、クヌギ等が有する非常に強いラジカル捕捉活性を明らかにした。さらに、平成13～14年度には、島根県の特産果実であるカキ「西条」について、島根大学との共同研究「西条柿における機能特性の効率的工業利用のための研究」により、未利用部位であるカキ「西条」の幼果、葉もラジカル捕捉活性が高く、健康食品の素材として有用であることを報告した。

このように、未利用資源の機能性については多くの知見が得られているが、その利用法についての報告は少ない。そこで著者らは、高い機能性が認められた植物から日常的に抗酸化物質を摂取する方法として、健康茶への利用を考えた。

緑茶は、抗酸化性、血圧上昇抑制作用、血糖上昇抑制作用、抗ウイルス作用などの機能性を有することが明らかにされている。特に、カテキン類については多数の報告があり、Maedaら（2005）は、抗アレルギー成分を多量に含有す



る、チャ‘ベニフウキ’について、エピガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)ガレートの抗アレルギー作用を利用する緑茶の製造には、成熟したチャ葉を原料とすべきことを示唆し、ストリクチニンの抗アレルギー作用を利用する緑茶の製造には、チャの茎先端の新芽を使用することを提案している。また、ツバキ科のチャ葉から製造された緑茶、ウーロン茶、紅茶でも、発酵の度合いでカテキン含量が異なることは周知されている。一方、ツバキ科のチャ葉以外の材料から作られた健康茶も消費者の「安全志向」「健康志向」の高まりから注目を集めているものの、健康茶の素材が多種類に及ぶことも影響して、緑茶と比較すると機能性に関する知見は少ない。

そこで、本研究では、県内未利用資源を用いて高機能性健康茶の製造を目的とし、原料の機能性、原材料確保の容易さ、嗜好性の観点からカキ及びヤマモモの葉に着目した。機能性成分含量の高い健康茶を効率的に製造するためには、その含量が高い時期に採取し、その成分含量を損なわない方法で製造する必要がある。

まず、カキ‘西条’の葉について検討した。カキ‘西条’は鳥根県の特産果実で、栽培面積は日本一（鳥根県農林水産部生産指導課、2004）だが、生産者の高齢化が加速する中で放任園が増加し、深刻な問題となっている。また、これまで、アスコルビン酸及びポリフェノールに富む葉は、有用資源にも関わらず放置・廃棄されており、その有効活用が望まれていた。しかし、柿葉茶は、従来から健康茶素材としての人気が高く、多くの製品が販売されている。そのため、持続的に柿葉茶製品を販売するためには、特殊製法、特殊茶葉の利用などによる差別化・高付加価値化をはかることが重要となる。そこで、著者らは、機能性成分含量の高い柿葉を得るための条件を検討した。まず、柿葉のアスコルビン酸含量及びポリフェノール含量の時期的推移について調査したところ、アスコルビン酸とポリフェノールは6～7月の含量が最も高く、それぞれ3,700mg/100gDW、16,100mg/100gDW（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展葉間もない5月葉が最も高く、それぞれ480、

520mg/100gDW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を示した。次に、新梢長を指標として、機能性成分含量の高い柿葉を採取するための方法を検討し、併せて従来は廃棄されている新梢部分の機能性成分含量を明らかにした。T-AsA含量は、長い新梢の葉が非常に高く、また、新梢部にも多く含まれているため、T-AsA含量の多い柿葉茶を効率的に製造するためには、新梢の利用が有効であることを示した。また、イソケルシトリン、アストラガリン及び総ポリフェノール含量は、短い新梢から採取した葉に多く、新梢には少なかった。これらの結果から、イソケルシトリンやアストラガリンは、葉面積の小さい葉に高含有し、その拡大に伴い激減することが判明した。そこで、著者らは、葉面積の小さい葉を効率的に得るための手段として、タラの芽で実用化されている水挿し栽培に着目し、2週間水挿しして得られた10cm程度の新梢の機能性成分をほ場から採取した成葉と新梢（10cm）と比較した。その結果、水挿し栽培の機能性成分は、ほ場から採取した成葉及び新梢より著しく低かった。原因としては、水挿し栽培の新梢では着生している枝量が少なく、根部がないことから、アスコルビン酸やポリフェノール成分の原料である糖及び窒素成分含量がほ場から採取した成葉及び新梢と比較して著しく少ないことが考えられ、高機能茶葉を生産する方法としては適さないことが示された。

これらのことから、機能性成分含量の高い柿葉を収穫するためには、T-AsAは6～7月頃の成葉、アストラガリン、イソケルシトリンは5月頃の展葉間もない葉、可溶性（熱水）ポリフェノール含量は6月～7月の短い新梢の葉が適しており、T-AsA含量の場合は、歩留まりを向上させる手段として新梢部の利用が有効であることが示された。

次に、柿葉茶における製造中の機能性成分を維持する製造方法について検討した。緑茶製造時に行われる蒸熱工程は、チャ生葉における青臭みの除去及びチャ葉における柔軟性の改善効果の他に茶葉中の酵素活性を失活させる目的で行われる。チャ葉中のポリフェノールオキシダーゼを失活されるためには95℃で20秒間保持すれ

ば良いことがしられており、そのため緑茶の製茶ラインの蒸熱処理時間は30秒～1分程度とされている(岩浅, 2002)。

著者らは、カキ‘西条’の生育途中の若い葉(5月葉)と成葉(6月葉)を用いて製茶試験を行い、蒸熱処理及び焙煎処理が製造工程中及び保存中における柿葉茶の機能性及び機能性成分に与える影響について検討した。5月葉と6月葉では、T-AsA含量を保持するための蒸熱処理時間が異なり、前者が5分間であったのに対し後者は10分間必要であった。これは、成葉と生育途中の若い葉ではAsA保持効果を得るための蒸熱時間が異なることを示唆している。その原因として、葉の厚さやクチクラ層の発達などによる熱伝導率の低下が考えられた。また、焙煎処理を行った場合、T-AsA含量は、処理前と比較して半量に減少した。Anan (1998) は、緑茶を焙煎して製造するほうじ茶を用いた試験で、160℃で30分の焙煎処理を行ったところ、T-AsA含量が半減したと報告しており、本研究においても、170℃の高温加熱処理によりAsAが熱分解したため柿葉茶のT-AsA含量が半減したと判断された。しかし、焙煎処理は、370日間の保存中におけるT-AsA含量の減少を抑制する効果も認められた。これは、焙煎処理における170℃の高温加熱中にAsAが熱分解されるが、AsAの酸化に関与する酵素群のほとんどが失活化されたためと考えられた。

一方、ヤマモモの葉は、共同研究「薬草等の栽培技術の確立と利用技術の開発」で強いヒアルロニダーゼ阻害活性、抗インフルエンザウイルス活性、ACE阻害活性などを有することが確認された。しかし、これまでヤマモモ葉が食品として、利用されることはほとんどなく、剪定時に生じる葉は、廃棄物として処理されていた。そこで、著者らは、まずヤマモモの部位別のラジカル捕捉活性を熱水抽出、エタノール抽出で評価したところ、両抽出液とも葉(当年葉及び古葉)の活性が最も高く、次いで枝、未熟果であり、種子と成熟果においては活性が著しく低かった。当年葉及び古葉のラジカル捕捉活性値は、著者らがこれまでに測定した農産物、山野草、薬草等100点以上に及ぶ試料のラジカル捕捉活性(私信)と比較して著しく高く、特に

7月葉の活性が最も高かった。著者らは、柿葉についても紫外線量が多い6～7月の可溶性総ポリフェノール含量が他の時期に比較して高いことを確認している。ポリフェノールの一種であるフラボノイド類の生合成は、紫外線により促進され(寺島, 1999)、遮光処理による緑茶葉カテキン生合成の抑制現象は、玉露栽培の被覆(遮光)栽培技術として確立している(小西, 1991)ことから、夏季にラジカル捕捉活性やポリフェノール含量が高い原因として紫外線量の影響が考えられた。また、ヤマモモ葉のラジカル捕捉活性において雌雄差が懸念されたため、最も影響の出やすい果実生産期である6月の新葉を用いてその有無を検討した結果、雄樹葉のラジカル捕捉活性は雌樹葉の1.6倍であった。これは、ポリフェノール生成に必要な糖含量が、雌株葉より雄株葉が高く、それぞれ4.3、7.5g/100gDWであったことに起因すると考えられた。これらのことから、ラジカル捕捉活性の高いヤマモモ葉を得るためには、7月頃に採取すれば良いことが示された。

次に、蒸熱処理時間及び乾燥方法がヤマモモ葉茶のアスコルビン酸含量、ミリシトリン含量、可溶性ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性及びAsA含量に影響を検討した。T-AsA含量を高く保持するためには、1～5分間の蒸熱処理後に凍結乾燥する方法が最も適していたが、凍結乾燥はランニングコストが非常に高いため、小規模加工場での使用は現実的でない。小規模加工場で頻繁に使用される機械乾燥でも、1分間程度の蒸熱処理で製造工程中のT-AsA含量を高く(凍結乾燥区の蒸熱1分処理区の75%)保持できた。ミリシトリン含量の場合は、機械乾燥においても凍結乾燥と同程度の含量を保持し、設備投資が不要な日陰乾燥も、1分間の蒸熱処理を行うことにより凍結乾燥及び機械乾燥と同レベルのミリシトリン含量を保持できた。可溶性ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性の場合は、蒸熱処理時間が長くなるについて両数値とも減少し、乾燥方法は凍結乾燥もしくは機械乾燥が優れていた。ヤマモモの葉に含まれる可溶性ポリフェノールとしては、タンニン類及びミリシトリンが報告されている(鴛野, 2000)が、フォリン法による可溶性ポリフェノール含

量に占めるミリシトリン含量の割合を検討した結果、ミリシトリンの割合は19~28%の範囲と低く、ヤマモモ葉茶におけるラジカル捕捉活性を示す主成分として、ミリシトリン以外のポリフェノール成分の関与が示唆された。

以上のことから、目的とする成分により、ヤマモモ葉茶の製造方法は異なり、T-AsA含量、ミリシトリン含量を高く維持するためには、蒸熱処理を1分間行うことで、低コストな機械乾燥でも凍結乾燥に近い含量を維持できることが明らかとなった。また、可溶性総ポリフェノール含量、ラジカル捕捉活性の高いヤマモモ葉茶を製造するためには、蒸熱処理を行わずに機械乾燥すれば良いことが判明した。ヤマモモの葉を食品として利用する試みは他に例がなく、本研究により、ヤマモモ葉の新しい健康食品素材としての可能性を見出すことが出来た。

消費者の「安全志向」「健康志向」を背景に、長い食履歴をもつ健康茶の機能性が見直されてきている。また、健康茶は、これまで伝承的に生理活性があると言われてきた素材が多かったが、近年のめざましい分析技術の進歩により、科学的データによる健康茶素材の機能性が多数報告されるようになった。近年、科学的データに裏付けされた健康茶が特定健康食品の認可を得て販売されており、いずれも売り上げは好調である。そして、1990年度には3,700億円だった健康食品市場は、2002年度には1兆300億円となり、今後もさらなる伸びが見込まれている（食品と開発編集部、2004）。また、健康産業新聞が行った薬局・薬店・専門店など100店舗に対する聞き取り調査の結果、食系売れ筋素材の1位に健康茶が選ばれている（食品と開発編集部、2004）ことから、健康茶に対する消費者の期待が伺える。

本研究により、鳥根県内で未利用資源として扱われていたカキ及びヤマモモ葉について、機能性及び機能性成分含量の高い時期を検討し、また製造工程及び保存中においてそれらの成分を保持できる製造方法を明らかにすることで、機能性成分含量の高い高機能健康茶の製造技術が確立した。しかし、本研究では、柿葉茶及びヤマモモ葉茶のラジカル捕捉活性を示す主成分を明らかするには至らず、また用いた分析方法

もすべて試験管内評価系であるため、今後は動物や人による臨床試験を行う必要がある。これらの課題が解決すれば、現在鳥根県内において製造・販売が開始されている「柿葉茶」「ヤマモモ葉茶」のさらなる差別化・高付加価値化につながるものと思われる。そして、本研究の成果がさらに活用され、高機能化に伴う健康茶・健康食品市場の有利販売を通じて、地場産業の育成、健康食品産業の活性化に繋がることを期待している。

## VII 摘 要

高齢化社会を迎え、健康を維持していく上で、生活習慣病にかからない食生活が望まれている。その中で、我が国の日常生活に密着している茶は、消費者の健康志向の高まりに伴いその機能性について注目を集めている。また、ツバキ科のチャ葉以外の材料から作られた健康茶も消費者の「安全志向」「健康志向」を背景に機能性が見直されてきている。

そこで、本研究では、鳥根県内の未利用資源を用いて、高い機能性を有した健康茶の製造技術を確立することを目的とし、その素材としてカキ‘西条’及びヤマモモに注目した。そして、以下の点を明らかにした

### 1 採取時期及び新梢長が柿葉及び新梢の機能性及び機能性成分含量に及ぼす影響

#### 1) 採取時期が柿葉の機能性成分含量に及ぼす影響

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、総ポリフェノール量含量の推移を検討した。その結果、アスコルビン酸と総ポリフェノールは6月から7月の含量がもっとも高く、それぞれ3,700mg/100gDW、16,100mg/100gDW（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、520mg/100gDWで、その後新梢長の急激な伸長に伴い6月には激減した。

#### 2) 新梢長の違いが柿葉及び新梢の機能性成分含量に及ぼす影響

カキ‘西条’を用い、未展開葉の部分を採用

してFoliating-leaves (F-leaves) とし、新梢長でshort (20~40cm), medium (40~60cm), long (60~80cm) の3段階に分け、未展開葉、長さ別に分類した新梢の葉及び新梢を用いて機能性成分を分析した結果、T-AsA含量は、長い新梢から得られた葉に非常に多かった。また、新梢部にもT-AsAが多く含まれていることから、T-AsA含量の多い柿葉茶を効率的に製造するためには、新梢の利用も有効であることが示された。また、イソケルシトリン、アストラガリン及び総ポリフェノール含量は短い新梢から得られた葉に多く、新梢には少ないため、これらの成分を多く含んだ柿葉茶を製造するためには、新梢を入れずに短い新梢の葉を利用することが良いことが明らかとなった。

### 3) 異なる条件下で得られた新梢と圃場栽培樹から採取した成葉における機能性成分含量の比較

カキ‘西条’の成葉は柿葉茶や健康食品素材として使用されているが、不定芽の利用はほとんどない。そこで、圃場で栽培された樹から採取した成葉 (M-leaves: Mature-leaves)、不定芽 (A-shoots: Adventitious-shoots) 及び前年に伸びた枝を水に挿して得られた新梢 (T-shoots: cultured by water-soaking the twigs that grew the year before) におけるT-AsA含量とポリフェノール含量を比較した。その結果、T-AsA含量は、M-leavesが最も高かった。一方、可溶性ポリフェノール含量は、M-leavesとA-shootsが高く、T-shootsの含量は著しく低かった。柿葉の主要フラボノイドであるイソケルシトリン及びアストラガリン含量も可溶性ポリフェノールと同様の結果だった。

## 2 製造方法が柿葉茶の機能性及び機能性成分含量に及ぼす影響

### 1) 蒸熱加熱及び乾燥処理が柿葉茶の機能性及び機能性成分含量に及ぼす影響

6月中旬のカキ‘西条’の葉を利用し、柿葉が有している機能性の低下を抑制する柿葉茶の製造方法を検討した。製造工程の蒸熱時間、乾燥方法を変えて柿の葉茶を製造し、常温保存6か月後のT-AsA残存量、ラジカル捕捉活性及び脱顆粒抑制活性を測定した。機械乾燥前に、10分間蒸熱処理したところ、短時間処理区と比較

してT-AsA残存量及びラジカル捕捉活性は増加した。一方、脱顆粒抑制活性は、いずれの処理区においても強い活性が認められ、乾燥方法及び蒸熱時間による有意差は認められなかった。以上の結果から、原料葉の機能性を低下させにくい柿葉茶の製造方法として、10分間の蒸熱処理と、機械乾燥の組み合わせが適していることが推察された。

### 2) 蒸熱加熱及び焙煎処理が保存中の柿葉茶の総アスコルビン酸含量及びラジカル捕捉活性に与える影響

生育途中のカキ‘西条’の葉を材料とした柿葉茶を用いて、蒸熱処理時間と焙煎処理が370日間保存後のT-AsA含量及びラジカル捕捉活性に及ぼす影響について検討した。(1)焙煎未処理の蒸熱5分間処理区で保存期間中のT-AsA含量を最も高く保持できた。それ以上の蒸熱処理時間区ではT-AsA含量の保持効果が低くなった。また、(2)対照区(蒸熱無処理区)では、保存前の焙煎処理区のみT-AsAを残存させることが出来た。(3)蒸熱5分間処理区では、焙煎処理が保存前後いずれでも同程度のT-AsA含量を示した。

## 3 ヤマモモ葉のラジカル捕捉活性

### 1) 採取時期及び雌雄がヤマモモの当年葉におけるラジカル捕捉活性に及ぼす影響

ヤマモモの部位別のラジカル捕捉活性を熱水抽出、エタノール抽出で評価したところ、いずれも葉の活性が最も高く、次いで枝、未熟果であり、種子と成熟果においては活性が著しく低かった。また、活性が最も高かった当年葉について採取時期及び雌雄がラジカル捕捉活性に及ぼす影響について検討したところ、採取地点にかかわらず、7月採取葉の活性値が最も高かった。また、果実生産期における雌雄別のラジカル捕捉活性は、雄株葉が雌株葉より高かった。

### 4 製造方法がヤマモモ葉茶の機能性成分含量に及ぼす影響

#### 1) 製造工程がヤマモモ葉茶のアスコルビン酸含量、ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性に与える影響

ヤマモモ葉を用いて製茶試験を行い、製造方法の違いによるアスコルビン酸含量、ポリフェノール含量及びラジカル捕捉活性の差異を検討

した。その結果、以下のことが明らかになった。(1)T-AsA含量が高いヤマモモ葉茶を製造するためには、蒸熱処理後に凍結乾燥する方法が最も適する。(2)可溶性ポリフェノール及びラジカル捕捉活性を多く残存させるためには、蒸熱処理を行わずに、凍結乾燥または機械乾燥する方法が適する。(3)ミリシトリン含量を保持するためには凍結乾燥または機械乾燥を行うか、もしくは1分間の蒸熱処理後に日陰乾燥を行う方法が適する。(4)ヤマモモ葉茶のラジカル捕捉活性は、他の市販健康茶と比較して高いレベルであることが明らかとなった。

以上、本研究により島根県内で未利用資源として扱われていた柿及びヤマモモ葉について、機能性及び機能性成分含量の高い時期を検討し、また製造工程及び保存中においてそれらの成分を保持できる製造方法を明らかにすることで機能性成分含量の高い高機能健康茶の製造方法を明らかにすることができた。

## 引用文献

- 赤井昭雄. 2000. ヤマモモ. p.591-597. 農文協編. 農業技術体系. 加工編第11巻素材編. 農山漁村文化協会. 東京.
- Anan, T. 1988. Changes of Chemical Compounds during Green Tea Manufacturing. JARQ. 22: 195-199.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase-hydrogen-peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol Plant*. 85: 235-241.
- 藤原隆広・熊倉裕史・大田智美・吉田祐子・亀野 貞. 2005. 市販ハウレンソウのL-アスコルビン酸および硝酸塩含量の周年変動. 園芸学研究. 4: 259-264.
- 藤本欣司. 1994. カキ‘平核無’の光合成速度の特性. 近畿中国四国農業研究成果情報. 1993: 247-248.
- 深井洋一・松澤恒友. 2000. プルーンの成分特性と抗酸化能. 食科工. 47: 97-104.
- Gould, K.S. 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature*. 378: 241-242.
- 原 征彦. 2002a. 茶の生体機能[Ⅱ]. 血圧上昇抑制作用. p.119-122. 伊奈和男・坂田完三・富田 勲・伊勢村護編著. 茶の化学成分と機能. 弘学出版. 東京.
- 原 征彦. 2002b. 茶の生体機能[Ⅱ]. 血糖上昇抑制作用. p.123-126. 伊奈和男・坂田完三・富田 勲・伊勢村護編著. 茶の化学成分と機能. 弘学出版. 東京.
- 原 征彦. 2002c. 茶の生体機能[Ⅱ]. 抗ウイルス作用. p.137-140. 伊奈和男・坂田完三・富田 勲・伊勢村護編著. 茶の化学成分と機能. 弘学出版. 東京.
- 林 建樹. 1986. アスコルビン酸の化学と食品への利用. 日食工試. 33: 456-462.
- 東 敬子. 1998. 野菜類の抗酸化活性の評価. 食品工業. 41: 56-64.
- 堀江秀樹・後藤哲久・木幡勝則. 1996. 各種茶のアンジオテンシンⅠ変換酵素阻害能の比較. 野菜・茶業試験場研究報告. B(茶業) 9: 37-40.
- 市川亮一・小堀真珠子・新本洋士・津志田藤二郎. 1998. ヤマモモの抗酸化成分の同定. 食科工講演集. 45: 126.
- 市川亮一・大村芳正・井内 晃. 1999. ヤマモモの機能性評価と製品開発. 徳島県立工業技術センター研究報告. 8: 121-126.
- 池ヶ谷賢次朗・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.
- 石川孝博. 2001. 高等植物のアスコルビン酸生成経路. ビタミン. 75:507-510.
- 石谷孝佑. 1995a. クロロフィル成分と変色. p.159-163. 木村 進・中村敏郎・加藤博通編著. 食品の変色の化学. 光琳. 東京.
- 石谷孝佑. 1995b. ポリフェノール成分の変色. ポリフェノール成分の酵素的変色とその防止. p.71-88. 木村 進・中村敏郎・加藤博通編著. 食品の変色の化学. 光琳. 東京.
- 石谷孝佑. 1995c. ポリフェノール成分の変色. ポリフェノール成分の非酵素的変色とその防止. p.88-104. 木村 進・中村敏郎・加藤博通編著. 食品の変色の化学. 光琳. 東京.
- 岩松新之輔・安食雄介・石塚 健. 2005. 和梨

- ポリフェノールの抗酸化活性. 山形県工業技術センター報告. 36: 46-50.
- 岩浅 潔. 2002. 茶の加工科学. p.52-84. 村松敬一郎編著. 茶の科学. 朝倉書店. 東京.
- 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. 日本食品保蔵科学会誌. 25: 69-80.
- Jimenez, M. and C. F. Garcia. 1999. Myricetin an antioxidant flavonol is a substrate of polyphenol oxidase. *J Sci Food*. 79: 1993-2000.
- 梶本五郎・村上智嘉子. 1999. 各種市販茶の抗酸化性とそれらの成分. 栄食誌. 52. 209-218.
- 亀和田光男. 1997. 乾燥食品とは. p.1-18. 亀和田光男・林 弘通・土田 茂編著. 乾燥食品の基礎と応用. 幸書房. 東京.
- 神田智正・柳田顕朗. 1998. リンゴの特徴的成分と生理機能. *食品と開発*. 33(7): 19-21.
- 片岡正博・高垣 弘. 1992. ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) による生薬の抗アレルギースクリーニング. *生薬学雑誌*. 46: 25-29.
- Katsube, T., H. Tabata., Y. Ohta., Y. Yamasaki., E. Anuurad., K. Shiwaku and Y. Yamane. 2004. Screening for Antioxidant Activity in Edible Plant Products: Comparison of Low-Density Lipoprotein Oxidation Assay, DPPH Radical Scavenging Assay, and Folin-Ciocalteu Assay. *J. Agric. Food Chem*. 52: 2391-2396.
- 勝部拓矢. 2002. ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) を用いた脱顆粒抑制活性の測定. p.116-120. 「県内食品素材の機能性成分の解析と高付加価値化食品の開発研究報告書」(平成11年度～平成13年度 県立試験研究期間連携推進事業. 島根県.
- 健康の科学編集部. 1997a. 甜茶. p.14-23. 長谷川佳哉編著. 機能性健康茶読本. 東洋医学舎. 東京.
- 健康の科学編集部. 1997b. カキの葉茶. p.130. 長谷川佳哉編著. 機能性健康茶読本. 東洋医学舎. 東京.
- 木村俊之・山岸賢治・鈴木雅博・新本博志. 2002. 農産物のラジカル消去能の検索. *食科工*. 49: 257-266.
- 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.
- 桐渕壽子・川嶋かほる. 1987. 調理時におけるアスコルビン酸の変化. *家政誌*. 38: 877-887.
- 小池五郎・福場博保. 1990. ビタミンC. p.326-327. 栄養学事典. 朝倉書店. 東京.
- 近藤 悟・津田和彦・武藤徳男・中谷宗一. 2002. カンキツ果実の発育中における抗酸化機能の推移. *園学研*. 1: 63-66.
- 小西茂毅. 1991. 茶の栽培とバイオテクノロジー. 茶樹の生化学. p.11-36. 村松敬一郎編著. 茶の科学. 朝倉書店. 東京.
- 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. *栄食誌*. 52: 147-150.
- 厚生省生活衛生局食品化学課. 1996. 衛化第56号 厚生省生活衛生局長通知「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」既存添加物名簿収載品目リスト.
- 倉橋孝夫. 1998. カキ. p.227-255. 高橋国昭編著. 物質生産理論による落葉果樹の高生産技術. 農文協. 東京.
- 倉田忠男. 1991. 食品加工におけるアスコルビン酸の利用に関する基礎研究. *食品科学振興財団年報*. 236-240.
- 桑原秀明・大沢克己・栗林 剛・小原忠彦. 1999. 未利用資源を利用した機能性素材の開発 (第2報). 春季山菜類の抗酸化性. 長野県食品工業試験場研究報告. 27: 20-23.
- 桑名隆一郎・伊達あけみ・沢村 豊・盛岡雅史. 1995. 毛乳頭をめぐる育毛剤の新しい研究開発. *Fragrance Journal*. 23: 41-48.
- 李 進才・趙習コウ・松井袖一郎. 2004. キュウリの葉の加齢に伴う抗酸化レベルの変化. *園学雑*. 75: 491-495.
- Ma, B. L., M. J. Morrison and H. D. Vodeng. 1995. Leaf Greenness and Photosynthetic Rates in Soybean. *Crop Sci*. 35: 1411-1414.
- Mackinney, G. 1959. Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem*. 140: 315-332.
- Maeda, Y., M. K. Asai., S. Morowaki., H. Horie and K. Kohata. 2005. Changes in

- Epigallocatechin-3-O-3-O-methyl Gallate and Strictinin Contents of Tea (*Camellia sinensis* L.) Cultivar 'Benifuki' in Various Degrees of Maturity and Leaf Order. *Food Sci Technol Res.* 10: 186-19.
- 増田俊哉・小山保夫・稲葉 謙・戸井由紀子・荒田智裕・竹田美雄・仲本勝男・國永秀樹・西里さおり・野中 亮. 2002. 沖縄産食用用植物エタノール抽出物の抗酸化関連活性. 49: 652-661.
- 松本元伸・小谷麻由美・藤田晃人・田中敏郎. 2001. 柿葉抽出物のNC/Ngaマウスにおけるアトピー性皮膚炎抑制作用. 栄食誌. 54: 3-7.
- 三宅義明. 1998. レモン成分の機能性研究. 食品と開発. 33(7): 15-18.
- 水野瑞夫. 1995. カキノキ. p.143-145. 日本薬草全書. 新日本法規. 東京.
- 棟久美佐子・井上知明・小松正幹. 1999. 日本茶及び「健康茶」浸出液の抗酸化作用について(II). 京都府保環研年報. 44: 20-25.
- 村田容常・本間清一. 1998. ポリフェノールオキシダーゼと褐変制御. 食科工. 45: 177-185.
- 長村洋一. 1997. 「タラ葉茶」は本物志向の健康茶. p.54-58. 長谷川佳哉編著. 機能性健康茶読本. 東洋医学舎. 東京.
- 仲村実久. 1983a. 茶に関する研究IX. 茶葉のビタミンCに及ぼす紫外線の影響. 琉球大学農学部学術報告. 30: 235-237.
- 仲村実久. 1983b. 茶に関する研究VIII. 貯蔵による茶葉のビタミンCの変化. 琉球大学農学部学術報告. 30: 231-233.
- 中野昌彦・人見英理. 1997. 「ルイボスティー」の機能性成分と生理作用. p.42-47長谷川佳哉編著. 機能性健康茶読本. 東洋医学舎. 東京.
- 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.
- 西沢千恵子・グエン・グァン・チュエン. 2001. コーヒーと茶類の抗変異原性. ラジカル消去作用および抗酸化性の比較. 食科工. 48: 533-538.
- 大羽和子. 1997. 調理科学と酵素. 日調科誌. 30: 71-75.
- 大澤俊彦. 1998. 酸化ストレスの予防と食品因子. 食品工業. 41: 18-25.
- 大藤雅章. 1999. 高等植物の発生・生長と糖シグナリング. p145-159. 渡邊昭・篠崎一雄・寺島一郎監修. 植物の環境応答. 秀潤社. 東京.
- 奥田拓道. 2002a. 柿の葉茶. p.385-386. 奥田拓道監修. 健康・栄養食品辞典. 東洋医学舎. 東京.
- 奥田拓道. 2002b. よもぎ. p.111-112. 奥田拓道監修. 健康・栄養食品辞典. 東洋医学舎. 東京.
- Qian, J. Y., D. Liu and A. G. Huang. 2004. The efficiency of flavonoids in polar extracts of lycium chinense mill fruits as free radical scavenger. *Food Chem.* 87: 283-288.
- 佐伯俊子・丸山悦子・中西洋子・梶田武俊. 1987. 緑葉クロロフィルの熱安定性に関する研究. 日調科. 20. 125-129.
- 阪村倭貴子. 1993. ヤマモモ果実の生化学的特性. 広島中央女子短期大学紀要. 30: 11-16.
- 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.
- 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.
- 島根県農林水産部生産指導課. 2004. p.45. 園芸まるごとデータブック. 島根県.
- 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.
- 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. 72: 141-147.
- 須田郁夫・沖 智之・西場洋一・増田真美・小林美緒・永井沙樹・比屋根理恵・宮重俊一. 2005. 沖縄県産果実類・野菜類のポリフェノール含量とラジカル消去活性. 食科工. 52: 462-471.
- 須田郁夫. 2000. 抗酸化機能①分光学的抗酸化機能評価. p.218-220. 食品機能研究法. 篠原和毅・鈴木建夫・上野川修一編著. 光琳. 東京.
- 鈴木昭憲・荒井綜一. 2003a. 食品科学. ビタミ

- ンC. p.418-419. 農芸化学の事典. 朝倉書店. 東京.
- 鈴木昭憲・荒井綜一. 2003b. 食品科学. 加熱反応. p.353. 農芸化学の事典. 朝倉書店. 東京.
- 鈴木 誠・渡辺敏郎・辻 啓介・三浦麻子・原島恵美子・中川靖枝. 2002. Folin-Denis法による総ポリフェノール量測定のための抽出溶媒の検討. 食科工. 49: 507-511.
- 鈴木芳孝. 2005. 新簡易包装 (パーシャルシール包装) による青果物の鮮度保持に関する研究. 高知県農業技術センター特別研究報告. 5: 18.
- 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.
- 食品と開発編集部. 2004. 健康食品の市場動向と素材・技術研究. 食品と開発. 39(3): 24-27.
- 立花宏文・山田耕路. 2001. IgEの生成を調節する食品成分. 臨床免疫. 35: 611-618.
- 高橋国昭. 1998. 果樹の生育と物質の生産・分配. p.45-48. 高橋国昭編著. 物質生産理論による落葉果樹の高生産技術. 農山漁村文化協会. 東京.
- 建部雅子・米山忠克・T. H. KIM. 1998. ヒマ (*Ricinus communis* L.) 師管液のアスコルビン酸含有率. 土肥誌. 69: 296-298.
- 谷岡英明. 1997. ヤマモモの隔年結果防止技術. 今月の農業. 2月号: 102-105.
- 寺島一郎. 1999. 光環境と葉の光合成. p.92-101. 渡邊 昭・篠崎一雄・寺島一郎監修. 植物の環境応答. 秀潤社. 東京.
- 徳江 健. 2002. こんにゃくのエタノール抽出成分の抗酸化性. 群馬県工業試験場研究報告. 2001: 50-54.
- 富田 勲. 2002a. 茶の生体機能[Ⅱ]. 抗酸化作用. p.105-118. 伊奈和男・坂田完三・富田勲・伊勢村護編著. 茶の化学成分と機能. 弘学出版. 東京.
- 富田 勲. 2002a. 茶の生体機能[Ⅱ]. 抗酸化作用. (2)抗酸化反応と茶に含まれる抗酸化物質 p.107-110. 伊奈和男・坂田完三・富田勲・伊勢村護編著. 茶の化学成分と機能. 弘学出版. 東京.
- 豊川哲也・鎌田康弘・与座江利子. 2000. 県産資源を活用した機能性食品素材の開発. 沖縄工業技術センター研究報告. 2000: 35-57.
- 鶴永陽子・松崎 一・持田圭介・松本敏一・板村裕之. 2005. 蒸熱加熱および焙煎処理が保存中の柿葉茶の総アスコルビン酸含量およびラジカル捕捉活性に与える影響. 食科工. 52: 391-397.
- 鶴永陽子・松崎 一・持田圭介・板村裕之. 2004. 製造工程の違いが柿葉茶の機能性および機能性成分に与える影響. 食科工. 51: 401-405.
- 鶴永陽子. 2005. 植物に由来する抗アレルギー剤. 特開 2005-281220.
- 鶴永陽子・仲谷敦志. 2002. 薬草等の栽培技術の確立と利用技術の開発. 平成12年度~平成14年度 重点的科学技術開発事業. 研究成果報告書. p.48-53. 島根県.
- 津志田藤二郎. 1998. 食品由来のフェニルプロパノイド系抗酸化成分. 食品工業. 45: 33-41.
- 津志田藤二郎・鈴木雅博・黒木柁吉. 1994. 各種野菜の抗酸化性の評価および数種の抗酸化性成分の同定. 食科工. 41: 611-618.
- 津志田藤二郎. 2005. ポリフェノールの分析技術. 食品と開発. 40(11): 33-41.
- 上原万里子. 2004. フラボノイドの抗酸化作用. 医学の歩み. 208: 996-1000.
- 鷺野 乾. 2000. 酸化防止剤としてのフラボノイド(2). *Foods & Food Ingredients Journal of Japan.* 189: 47-53.
- 鷺野 乾. 1998. 酸化防止剤としてのヤマモモ抽出物. 月刊フードケミカル. 8: 51-56.
- 山田サチ子. 2005. タマネギ外皮からの色素ケルセチンの抽出と定量の教材化-水とエタノールだけを用いる簡便な方法. 化学と教育. 12: 718-719.
- 山本末之・岩崎直人・田中 実. 1992. 極早生ウンシュウミカンの光合成特性ならびに樹勢における品種間差異. 園学雑. 60: 805-810.
- 山根禎子・田代眞一・山根 健・高島征助. 2002. 天然薬物・健康食品などの生理活性の簡易評価法-アスコルビン酸の酸化に対する温度の影響. 医科器械学. 72: 182.



- 山崎耕宇. 1993. 高等植物の形態と組織構造.p. 16-27. 山崎耕宇・杉山達夫・高橋栄一・茅野充男・但野利明・麻生昇平共著. 植物栄養・肥科学. 朝倉書店. 東京.
- 山内 亮. 1998. 抗酸化ビタミンのフリーラジカル捕捉作用. 食品工業. 41: 26-32.
- 矢野昌充. 2002. カンキツによるがん予防. 食科工. 49: 139-144.
- Yoder, B. J., R. H. Waring., M. G. Ryan., A. W. Shoettle and M. R. Kaufmann. 1994. Evidence of reduced photosynthetic rates in old tree. *For Sci.* 40: 513-527.
- Yonemori. K., A. Sugiura and M. Yamada. 2000. Persimmon Genetics and Breeding. p.191-225. In: Janick J. (ed), Plant Breeding Reviews 19, John Wiley & Sons, New York.
- 柚木崎千鶴子・小村美保・小坂妙子・堂園眞澄. 2005. 乾燥温度及び抽出法の違いによるハーブ類の抗酸化活性. 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告. 49: 69-75.

## Summary

Because Japan is an aging society, eating habits that prevent lifestyle-related diseases are necessary to maintain health. Specifically, tea, which is closely related to everyday life in Japan, is attracting attention for its functionalities because of increasing health consciousness among consumers. In addition, the functionalities of health teas that are produced from ingredients other than tea leaves belonging to the family Theaceae have come under review against the backdrop of “safety consciousness” and “health consciousness” among consumers.

This study is intended to establish a manufacturing technology with high functionality using for untapped health tea natural resources in Shimane Prefecture. As raw materials, we specifically examined ‘Saijo’ persimmon and bayberry. Results of this study clarified the following points.

### **Chapter 1. Effects of picking time and shoot length on functionality and amount of functional component in leaves and shoots of Japanese persimmon ‘Saijo’**

#### **1) Effects of picking time on amount of functional component in leaves of Japanese persimmon ‘Saijo’**

Concentrations of functional components in the growing persimmon leaves 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 total ascorbic acid (T-AsA) and polyphenol in persimmon leaves were at their highest levels from June to July (3,700mg/100gDW and 16,100mg astragalín eq./100gDW, respectively). The concentrations of isoquercitrin and astragalín in persimmon leaves were at their highest levels in May (480 and 520mg/100gDW, respectively). The latter two components demonstrated dramatic decreases in June during the time of rapid shoot growth.

#### **2) Effects of shoot length on amounts of functional components of leaves and shoots for tea from Japanese persimmon ‘Saijo’**

The functional components of leaves and their shoots classified into four categories according to length were investigated using Japanese persimmon ‘Saijo’. The obtained results are as follows; T-AsA is abundant in leaves from long shoots, and is also present at a high concentration in shoots. These imply that the use of shoots is effective for the efficient manufacture of persimmon tea with a high T-AsA content. The isoquercitrin, astragalín and total polyphenol contents are high in leaves from S-shoots and low in shoots. Accordingly, to manufacture persimmon tea containing high concentrations of these compounds, it is desirable not to use shoots, but to use leaves obtained from short shoots.

#### **3) Comparison of functional component contents between several shoots taken under different conditions and mature leaves gathered in an orchard of Japanese persimmon ‘Saijo’**

Mature leaves of Japanese persimmon ‘Saijo’ are favorably consumed as materials of health foods and tea. Contents of T-AsA and polyphenol were compared among mature leaves (M-leaves), young shoots (T-shoots: cultured by water-soaking the twigs that grew the year before), and adventitious shoots (A-shoots: obtained from trees planted in an orchard). The highest level of T-AsA was determined for M-leaves samples. Although the polyphenol contents were higher in M-leaves and A-shoot samples, they

were remarkably low in T-shoots. Comparing isoquercitrin and astragaloside contents, which are the main flavonoids contained in persimmon leaves, among the three types, identical results were obtained: they were the highest in A-shoots, second highest in M-leaves, and lowest in T-shoots.

## **Chapter 2. Effects of the manufacturing process on functionality and amount of functional components of persimmon leaf tea**

### **1) Effects of steaming and drying treatment on functionality and functional component of persimmon leaf tea.**

The effective manufacturing process of persimmon leaf tea for maintenance of high level of the functionality was investigated. By steaming treatment for 10 minutes following the drying process, T-AsA and radical scavenging activities were increased in comparison with the short time steaming. The level of T-AsA and radical scavenging activities of the machine drying method was higher than that of the shade drying method. A high level of anti-allergy activities was observed in all processes, and no difference in anti-allergy activities resulted from the steaming time and drying method was observed. These results show that the steaming treatment for 10 minutes following the machine-drying method was suitable for the production of persimmon leaf tea.

### **2) Effects of steaming and roasting treatment on the radical scavenging activities and total ascorbic acid contents in persimmon leaf tea during storage**

Effect of steaming and roasting treatment on the radical scavenging activities and T-AsA contents in persimmon leaf tea during storage. Transition of T-AsA contents and DPPH radical scavenging activities during storage by steam treatments and roast treatments on persimmon leaf tea of 'Saijo' using persimmon young leaves were investigated. The following results were obtained, (1) The steaming treatment for 5 minutes without roasting produced the highest T-AsA contents. (2) In non-steaming treatment, T-AsA was remained only by roasting treatment before storage. (3) In the steaming treatment for 5 minutes, same level of T-AsA contents were confirmed by the roasting treatments before and after storage. (4) T-AsA and other polyphenol may affect the DPPH radical scavenging activities on persimmon leaf tea. It was thus concluded that the suitable steaming and roasting treatments could produce the persimmon leaf tea contained high T-AsA and DPPH radical scavenging activities.

## **Chapter 3. The radical scavenging activities of bayberry leaf**

### **1) Effects of collecting time of leaf and sex of donor tree for leaf on radical scavenging activity of the current leaf in bayberry**

The DPPH radical scavenging activities of different parts (leaf, stem, immature fruit, mature fruit and seed) in bayberry were analyzed by extraction with hot water and 80% ethanol. The highest activity was obtained in the current leaf. Effects of collecting time of leaf and sex of donor tree for leaf on radical scavenging activity of the current leaf were examined. The highest radical scavenging activity was obtained in July. And the activity of leaf of male tree was higher than female tree.

## **Chapter 4. Effects of the manufacturing process on amount of functional components of bayberry leaf tea**

**1) Effects of manufacturing process on amount of ascorbic acid, polyphenol and radical scavenging activities of bayberry leaf tea.**

The effective manufacturing process of bayberry leaf tea for the high functionality and functional component contents were investigated. The following results were obtained. (1) The steaming treatments for more than 1 minute before freeze-drying produced high T-AsA contents. (2) Freeze-drying or machine-drying without steaming treatment is effective to maintain high levels of soluble polyphenol contents and radical scavenging activities in bayberry leaf tea. (3) Freeze-drying, machine-drying or shade drying after steaming treatment for 1 minute was suitable for keeping myricitrin in bayberry leaf tea during manufacture. (4) It was indicated that antioxidative components of the bayberry leaf tea were soluble polyphenol except for the myricitrin. (5) The level of radical scavenging activities of bayberry leaf tea were higher than other nine kinds of health tea tested.

Through this study, we identified the functionalities and flavorings containing large amounts of functional components in leaves of persimmon and bayberry, which has been treated as an untapped natural resource in Shimane Prefecture. Furthermore, we elucidated a manufacturing method that can preserve them during manufacturing processes and storage. Thereby, we established a manufacturing method for high-functional health teas containing large amounts of functional components. We would like to work to promote this technology in the future.