カキ葉,ガク,幼果に含まれるポリフェノールの経時的変化

誌名	鹿兒島大學農學部學術報告
ISSN	04530845
著者名	松尾,友明 川添,裕子 伊藤,三郎
発行元	鹿児島大學農學部
巻/号	31号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-9
発行年月	1981年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

〔鹿大農学術報告 第31号，p.1-9，1981〕

カキ葉，ガク，幼果に含まれるポリフエノールの経時的変化

松尾友明・川添裕子*・伊藤三郎
（青果保蔵学研究室）

昭和55年8月9日 受理

Seasonal Changes in the Polyphenol Content of Persimmon Leaves, Calyxes and Young Fruit

Tomoaki MATSUO, Hiroko KAWAZOE and Saburo ITOO
(*Laboratory of Postharvest Physiology and Preservation of Fruits and Vegetables*)

緒　　言

果実やその加工製品等の園芸生産物に含まれるポリフェノールは，渋味，変色，濁りの原因物質となり，本来は，できるだけ少ないか，あるいは全く含まれないことが望ましい場合が多い．そこで，植物体内のポリフェノールの生合成や分解を詳細に研究することから，園芸生産物のポリフェノール含量を人為的にコントロールする可能性を探ることは大きな意義を持つものと考えられる．

カキ果実はカキタンニンと呼ばれている高分子ポリフェノール（縮合型タンニン）を含むことが古くから知られていた．最近，筆者らはその本体がプロアントシアニジン　ポリマーであることを明らかにした[18]．一方，果実と同様に，葉やガクにもロイコアントシアニン反応に陽性を示すポリフェノールが存在することが見出されており[9]，果実内タンニンの生合成と関連してその代謝に興味が持たれている．

以上のことを背景として，カキタンニンの代謝に関連する知見を得ようとして，葉，ガク，幼果に含まれるポリフェノールの含量を経時的に調べた．

材料および方法

材料には鹿児島大学農学部附属農場唐湊果樹園産の渋ガキ，品種「平核無」を用いた．1978年4月から8月にかけて8本の樹から無作為に葉10枚，果実10個程度を毎回採取した．採取は雨の日やその直後を避けた．葉，果実は樹冠部の徒長枝ではなく赤道部の結果枝からのみ採取した．葉の場合，出芽，展葉からの生育日数が化学成分の含量に影響すると考えられたので，新梢の最先端部から数えて第1葉，第2葉，第4葉を同時に採取して分析した．1978年の花の満開日は5月14日前後であった．

採取した材料はその日のうちに重量と大きさを測定し，個体差を相殺するために，葉の場合には直径1cmのコルクボーラーでディスクを打抜き，よく混ぜた後，その中から乾燥重量の測定に約 0.4g，L-アスコルビン酸定量用に約 0.4g，ポリフェノール分析用に約 1.0g を精秤して試料とした．ガクと果実の場合は細かく刻んで混ぜ，同様に試料とした．

乾燥重量は 70°C で24時間乾燥器中で乾燥後，精秤して求めた．

ポリフェノール分析用の試料はメタノールに浸漬してフリーザー中で保存した．分画と定量は以下の方法で行った．保存しておいた材料をメタノール中で乳鉢を使い充分に細かく磨りつぶし，ガーゼでろ過後，更に，ブフナーロートで吸引ろ過して不溶物を除いた．ロータリーエバポレーターで減圧濃縮してメタノールを除去後，有機溶媒による3分画を調製した．すなわち，酢酸エチル可溶分画には低分子ポリフェノールが，ブタノール可溶分画には中分子程度のものが，水可溶分画にはポリフェノールのポリマーが分画されると予想した．この予想は，果実のカキタンニンは全くブタノールに不溶で沈殿を生じることと，酢酸エチルにはプロアントシアニジンのダイマーからトライマーかテトラマー程度のものしか溶けないという知見に基づいている．これらの3分画について，総ポリフェノール量を Folin-Denis 法[22]で，プロアントシアニジン量を塩酸-ブタノール法[22]を用いて定量した．

酢酸エチル可溶分画に含まれている個々のポリフェノール成分を調べるために，定量後，シリカゲル G-60 TLC で分析した．展開溶媒には，クロロホルム-酢酸

* 宮崎県小林市立小林中学校

エチル-酢酸 (2：4：1, v/v) を使用した．ポリフェノールの検出にはジアゾ化ベンチジンと塩酸-バニリン試薬[22]を用いた．

アスコルビン酸の定量は以下のように行った．新鮮な試料を5% メタリン酸溶液中で手早く磨砕してろ過した．そのろ液に，更に，5% メタリン酸溶液を加えて定容し，その一定量を 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン比色法で定量した．反応は 50°C, 70分間で行った（いわゆる，時間短縮法である）[11]．総アスコルビン酸の定量には 2,6-ジクロルフェノールインドフェノールを用いて還元型を酸化型に変えた後同様の比色法を用いた．総クロロフィル量は Mackinney の方法を用いて次の条件で定量した[21]．試料を85%アセトンで抽出して80%アセトン中の吸光度を測定した．測定波長は 645, 663, 750 nm を使い，次式に従ってクロロフィル含量 (mg/l) を計算した．

$$Ch(a+b)=0.00805E_{663}+0.0203E_{645}$$

$$E_{663}=E'_{663}-E'_{750},\quad E_{645}=E'_{645}-E'_{750}$$

結　　果

葉の新鮮重を各採取時期別に比較した結果を Fig. 1 に示す．全採取期間を通じて，第1葉は他の葉に比べて小型であり，7月12日に採取したもので 2.5g であった．ところが，第2葉は5月22日にすでに 2.5g に達しており，7月12日採取のものは 3.5g であった．第4葉は全採取期間を通じて第2葉とほぼ同じ新鮮重を示したが，8月12日採取のものは極端に大きく 3.8g にもなっていた．

採取時期による各部位の葉の総ポリフェノール含量を Fig. 2 に示す．この年，最初に出芽して約1週間経過した4月14日に採取した葉では新鮮重が 0.2～0.4g であり，総ポリフェノールは新鮮重当り 0.31～0.35%の含量を示した．しかし，蕾ができ，肥大し始めた頃の5月8日に採取の葉では，すでに約1.0% の総ポリフェノールを含有していた．満開日から約1週間経過した5月22日に採取した第1葉と第2葉は共に高い総ポリフェノール量を示し，1.41% と 1.44% の値に達した．この第2葉の含量は本実験中，最高値であった．果実が 9.2g に生長した6月12日採取の葉では，第1葉，第2葉，第4葉の順で総ポリフェノール含量が低くなった．第1葉の含量は 1.22% であった．7月12日に採取した葉では各葉の様相が極端に変化し，第1葉と第2葉の含量は 0.30% と 0.35% でかなり低い値となった．逆に，第4葉が最も高い値を示し 0.68% であった．この様相は8月12日採取の葉でも

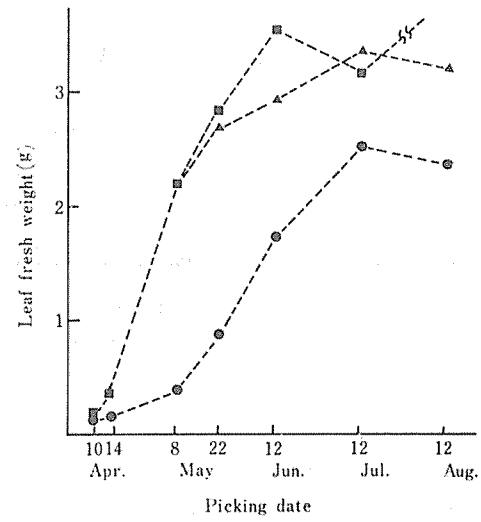

Fig. 1. Comparison of fresh weight of persimmon leaves

Various leaves were assigned numbers, from apex to base, of new branches. Here, only three different leaves, the first, second and fourth leaves, were determined, from 10th April to 12th August. Each spot shows the average fresh weight of ten leaves at three different positions.

The first leaf; ……●……, the second leaf; ……▲……, the fourth leaf; ……■…….

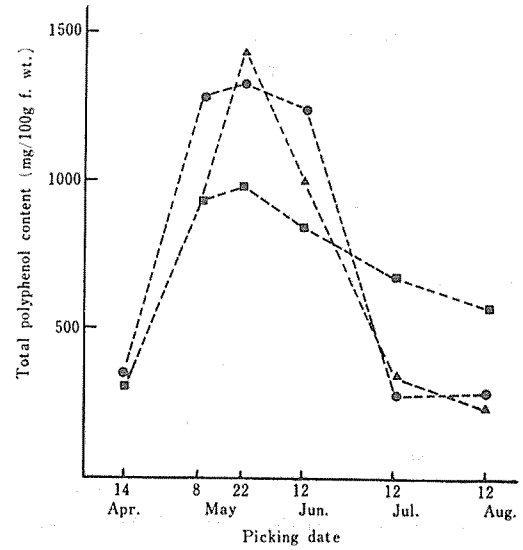

Fig. 2. Comparison of total polyphenol content in persimmon leaves.

Only three different leaves, assigned and picked in the same way as Fig. 1, were determined. Each spot shows the average of three determinations from ten saple leaves. See Fig. 1 for each symbol.

観察された．

以上のことから，新梢の先端から葉に順次番号を付けた場合，同じ順位の葉でも採取時期により総ポリフェノール含量が大きく異なっていることがわかった．また，開花前後ではいずれの葉でも高い含量を示した．その後，特に若い葉では急速に減少し，7月中旬には最高値の5分の1から4分の1の含量となった．

各葉におけるプロアントシアニジン量を経時的に調べた結果を Fig. 3 に示す．プロアントシアニジン量は 550 nmの吸光度の総量で表示した．4，5，6 月に採取した葉の分析でより若い葉にプロアントシアニジンが多く含まれることが明らかとなった．たとえば，5月22日採取の葉では，第1葉の含量が最も高く，第2葉，第4葉の順に低くなった．第4葉の含量は第1葉の約3分の1であった．一方，7月，8月に採取したいずれの葉においてもその含量は極端に低く，その中では第4葉が最も高い含量を示した．

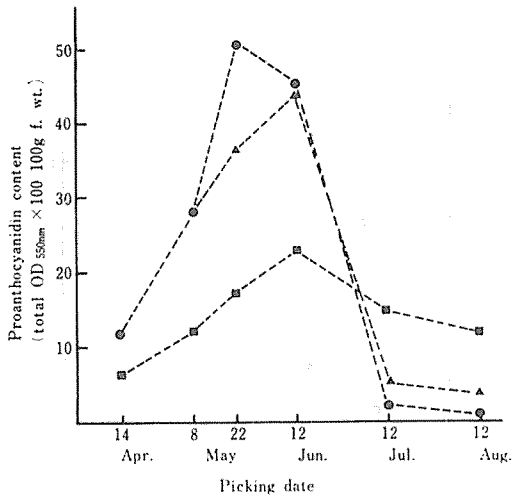

Fig. 3. Comparison of proanthocyanidin content in persimmon leaves.

As to the details of sample leaves, see Fig. 1.

次に，プロアントシアニジンの分子種を概略的に調べるために溶媒分画した3分画について同様な定量を行った (Fig. 4).

全採取時期を通じて，酢酸エチル可溶分画の低分子プロアントシアニジン量は極く微量しか検出されず，6月頃にピークを示す水可溶分画の高分子プロアントシアニジンが大半を占めていた．ブタノール可溶分画の中分子程度のもののピークは高分子のもののそれより早く，開花前後に見出された．注目すべきは，7月，8月に採取された第4葉では，ブタノール可溶分画のプロアントシアニジン量が最も高く，6月12日に採取したものより増加していることである．

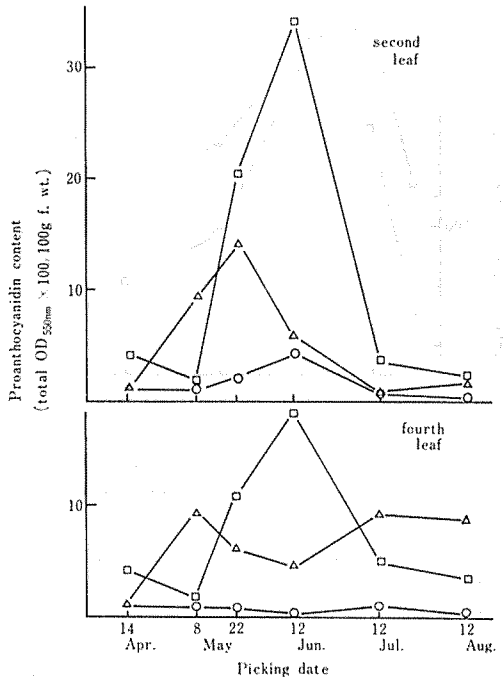

Fig. 4. Comparison of proanthocyanidin content in the three fractions of the extracts from the second and fourth leaves with different picking dates.

As to the details of sample leaves, see Fig. 1. Symbols used here indicate the followings; proanthocyanidin content in the ethyl acetate-soluble fraction; ——o——, that in the butanol-soluble fraction; ——△——, that in the water-soluble fraction; —— □ ——.

ガクの生理的役割，特に，ポリフェノール代謝に関連した知見を得ようとして，ガク片のポリフェノール含量を葉と同様に分析した (Fig. 5)．5月8日に採取したガクは蕾に着いたガクであるが 0.64% (新鮮重当り) の総ポリフェノール量を含有していた．約2週間後の5月22日に採取したガクでは約2倍に増加し，1.16% の濃度に達した．この値は 5，6 月頃の若い葉に匹敵する値である．6月12日採取のガクでも高い含量を維持していたが，果実が 36g に生長した7月12日では 0.76% にまで減少した．8月には，その濃度は更に減少した．

溶媒分画した3分画についてのプロアントシアニジ

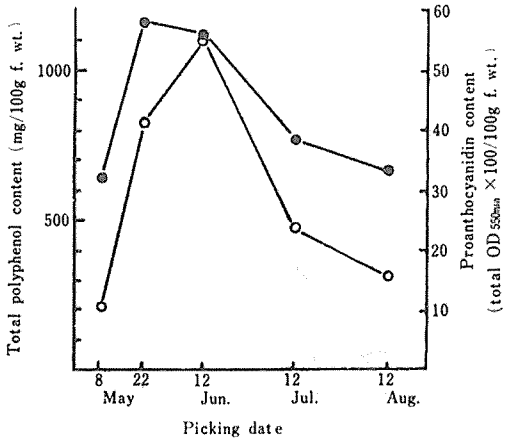

Fig. 5. Seasonal changes of total polyphenol content and proanthocyanidin content in the calyxes during persimmon fruit development.

Total polyphenol content; —●—, proanthocyanidin content; —○—. About young fruit, see Fig. 7.

ン含量の変化を調べた結果が Fig. 6 である．全採取期間を通じてガクの大部分のプロアントシアニジンは水可溶分画に存在した．5月8日に採取したガクは特異的な様相を呈し，ブタノール可溶分画に最も多く含まれていた．その後は，ブタノール可溶分画と水可溶分画に含まれているプロアントシアニジンは急激に増加し，6月中旬にピークを迎えその後は徐々に減少した．

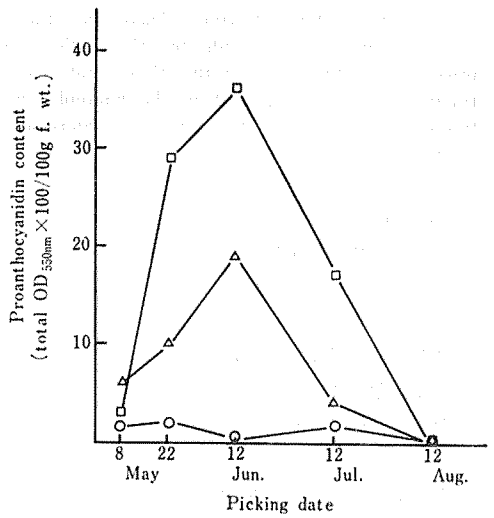

Fig. 6. Seasonal changes of proanthocyanidin content in the three fractions of the calyxes extract during development of persimmon fruit.

Proanthocyanidin content in the ethyl acetate-soluble fraction; —○—, that in the butanol-soluble fraction; —△—, that in the water-soluble residue; —□—. About young fruit, see Fig. 7.

このような葉やガクにおけるポリフェノールの挙動に対して幼果での変動を Fig. 7 に示す．総ポリフェノール量は果実の肥大に先行して急激に増加して，成熟果の約5分の1程度の新鮮重になった7月12日採取の果実で最高値（新鮮重当り 0.63%）に達した．この値は葉やガクで得られた最高値の約2分の1である．プロアントシアニジン量もよく似た挙動を示し，葉やガクに比べて，ブタノール可溶分画にほとんど検出されないのが特徴的であった．6月12日に採取した果実では 90% 以上のものが水可溶分画に存在する高分子のものであった．

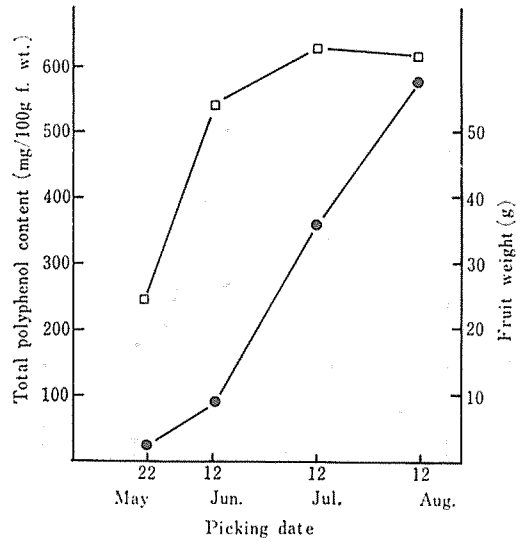

Fig. 7. Seasonal changes of total polyphenol content and average fruit weight of young persimmon fruit during development.

Persimmon fruit (cv. Hiratanenashi) was about 200 grams in weight at a maturation stage in late October (1978). Each spot shows the average of three determinations from the sample fruit. Total polyphenol content; —□—, average fruit weight; —●—.

次に，実際にどのようなポリフェノール成分が存在し，季節に伴って質的変化を遂げるか否かについて調べるために，シリカゲル TLC でポリフェノール成分を部位別に，また経時的に分析した．

4月，5月，6月に採取した葉の酢酸エチル可溶分画のポリフェノール成分を分析，比較したところ，季節的な質的変化は認められなかった．このクロマトグラムの中で，高い Rf 値を持つ2種類の明瞭なスポットは塩酸-バニリン試薬とも反応して赤色を呈した．既知のポリフェノールとのコクロマトグラフィーの結果，カキ葉中には，カテキンとガロカテキンが存在することが推定された．加えて，Rf 値 0.4 以下の位置に複数の濃いスポットが明瞭に観察されたが，その強い呈色からこれらはカキ葉中の低分子ポリフェノールの主成分であると考えられる．しかも，塩酸-バニリン試薬に反応しない点と，酸分解により Rf 値が 0.8 近くになることから，単純ポリフェノールの配糖体であることが推測された．

Fig. 8 は6月12日に採取された葉，ガク，幼果の酢酸エチル可溶分画をシリカゲル TLC で分析，比較した結果を示している．各器官により含まれているポリフェノール成分が明らかに異なっていることがわかった．すなわち，葉には前述したようにカテキン様とガロカテキン様物質に加えて複数の配糖体成分が認められた．ガクではそれらに加えて没食子酸が検出された．一方，幼果では様相が全く異なっており，この分画に含まれるポリフェノール量が微量であるうえに没食子酸以外の他の成分は検出できなかった．

カキ葉は高いポリフェノール含量と共に還元型の L-アスコルビン酸を多量に含むことが知られている．そこで，ポリフェノールの代謝に L-アスコルビン酸が関係していることも考えられたので，各葉と果実における L-アスコルビン酸を定量した (Table 1)．葉

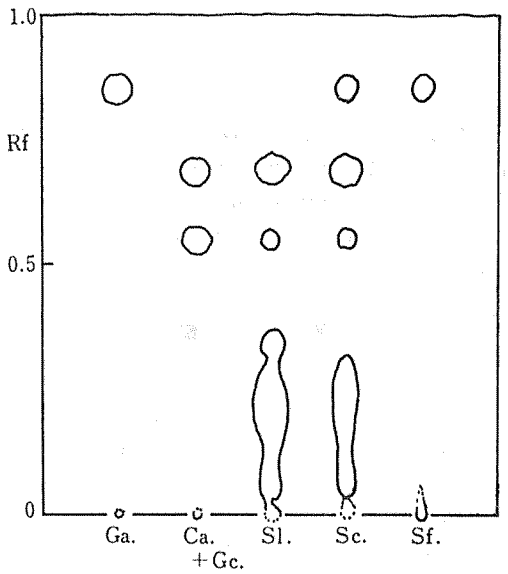

Fig. 8. Silica gel thin layer chromatogram of polyphenol components of EtOAc-soluble fractions extracted from the leaves, calyxes and fruit of persimmon.

Solvent system; $CHCl_3$- EtOAc-AcOH=2:4:1, v/v. Sl.; an EtOAc-soluble fraction from leaves, Sc.; that from calyxes, Sf.; that from fruit. All of them were picked on 12th, June. Ga.; gallic acid, Ca.; (+)-catechin, Gc.; (+)-gallocatechin.

Table 1. Comparison of some properties of persimmon leaves and fruit at various leaf-positions and at different picking dates

Date harvested	Plant parts	Fresh weight (g)	Dry matter percentage (%)	Total chlorophyll content (mg/g)	Total ascorbic acid content (mg/100g f.wt)
5. 22	first leaf	0. 8	25. 2	1. 4	437. 5
	second leaf	2. 7	27. 1	1. 8	858. 4
	fourth leaf	2. 9	27. 8	1. 9	1731. 9
	fruit	1. 8	17. 8	—	417. 0
6. 12	first leaf	1. 8	31. 6	1. 4	878. 5
	second leaf	2. 9	31. 2	2. 2	721. 1
	fourth leaf	3. 6	29. 5	2. 1	1112. 0
	fruit	9. 2	15. 7	—	325. 9
7. 26	first leaf	2. 4	29. 7	—	412. 8
	second leaf	3. 3	25. 9	—	739. 3
	fourth leaf	3. 4	25. 7	—	1181. 9
	fruit	55. 1	12. 4	—	228. 1

の L-アスコルビン酸含量が採取時期により，また同じ時期でも葉の着葉部位により大きな差があることを如実に示している．そして，ポリフェノール含量が第1葉，第2葉の若い葉に多いのに対して，L-アスコルビン酸は第4葉で最も高い値を示した．特に，5月22日採取の第4葉では 1.73% の高いレベルに達していた．しかも，この含量の約 98% が還元型アスコルビン酸であった．果実には第4葉の4分の1程度しか含まれていなかった．

考　　察

カキ果実に含まれるカキタンニンがプロアントシアニジン ポリマーの一種でカテキン，カテキン-3-ガレート，ガロカテキン，ガロカテキン-3-ガレートから構成されていることを，最近，筆者らは明らかにしたが[18]，本実験ではカキ葉中で高分子プロアントシアニジンが開花前後に多量に蓄積すること，特にそれは若い葉で顕著であることが観察された (Fig. 3)．このように成熟葉に比べてより若い葉にポリフェノール（または，タンニン）が多く含まれるという知見は他の植物においても見出されている[1,3]．特に，産業上重要な茶葉でよく研究が進んでおり，岩浅 (1977)[12] はカテキン含量とフェニルアラニン アンモニアリアーゼの活性が先端の若い葉ほど高く，成熟に伴って低下することを観察している．綿やカシの葉では植物病理学的な立場からフラボノイド含量が調べられ，共に若い葉に多いことが報告されている[2,8]．しかしながら，プロアントシアニジン ポリマーの生合成に関する研究はカキ植物体はもとより他の植物についても全く行われていない．

Haslam ら (1974)[4,6,13] は ^{14}C と ^{3}H で二重にラベルした桂皮酸をマロニエやエゾイチゴなどの種子に与えてプロアントシアニジン ダイマーの生合成について研究した．それらの結果に基づいて1つの生合成経路を提唱している[5]．彼らはこの図式の中でカテキンのモノマーとラジカルからダイマーが合成される反応は $NADP^+$ を補酵素とする酸化反応であることを予想している．また，彼らは基質のアイソトープがプロアントシアニジン分子内のどの炭素と水素をラベルするかを調べた結果から，ダイマーの "*upper unit*" と "*lower unit*" のカテキンが，それぞれ，別の代謝プールから派生してくるという重要な知見を得ている[6,13]．Michard ら (1977)[20] はブドウの葉に $^{14}CO_2$ を与え，そのアイソトープの一部がプロアントシアニジン オリゴマーに取込まれるのを TLC を使って明らかにしている．更に，$^{14}CO_2$ の代りに ^{14}C-酢酸を与えるとアイソトープが特異的にダイマーの *A* 環部分に取込まれることを報告した．同様な結果はサンザシの一種 (*Crataegus monogyna*) の葉を用いても得られている[7]．

カキ葉中には Fig. 8 で明らかにしたように，遊離のフラバン-3-オールとしてカテキン様とガロカテキン様成分を検出したが，そのガレートエステルは認められなかった．葉に存在するプロアントシアニジン ポリマーが果実のカキタンニンと同じようにガレートエステルを含んでいるかどうかは不明であるが，カキ葉中で存在するモノマーから Haslam らの生合成経路に従ってポリマーが合成される可能性も考えられる．

一方，果実中の低分子ポリフェノールとしては微量の没食子酸しか検出できなかった (Fig. 8)．それに反して，ガクには没食子酸，カテキン様，ガロカテキン様成分が含まれていた．

カキのガクは他の植物に比べて大きく生理的にも重要な働きを持つと言われている．中村 (1967)[24] はカキ果実の生育過程における種々の時期においてガクを全部か一部を切除することにより，ガクが果実の生育に大きな役割を果していることを証明した．樽谷 (1965)[28] はガクが果実全体の 60% 以上のガス交換を行っていると述べている．

ガクのポリフェノール含量を調べてみると若い葉に匹敵するほどの高い値（5月22日と6月12日の採取のガクで約 1.1%）を示した．そして，果実の生育に先行してその濃度は増加し，果実のポリフェノール量の増加と共に減少することから，果実のカキタンニンの生合成に何らかの役割を果しているようにも考えられる (Fig. 5 と 6)．

葉のポリフェノール量の変化からもガクと同様なことが推測でき，葉も果実のカキタンニンの生合成に何らかの寄与をしているように思われる (Fig. 2 と 3)．

一般に，果実が肥大するのは葉で生産された同化物質が果実内に転流し蓄積するためであると言われているので，たとえば，葉やガクで生合成された低分子の構成成分が果実内に転流して行き，そこで，重合されてカキタンニンが作り上げられる可能性も考えられる．酢酸エチル可溶分画に見られる低分子ポリフェノールの分布の違いが，この「協調的生合成」を示唆するものかもしれない．また，カシの葉では4月に 0.5% であった縮合型タンニン量が徐々に増加して9月には10倍量に達することが報告されているが[2]，この季節的変化の様相は5月から6月にかけて大きなピークを示

すカキの葉のそれと全く異なっていた．このことも果実内タンニンの生合成にカキ葉が重要な役割を持つことを示唆するものかもしれない．

今後，枝の転流物の分析やアイソトープでラベルした前駆物質による生合成実験，あるいは，生合成に関与する酵素の器官別分布の調査などが待たれる．

従来，タンニンはもちろんのこと，低分子のフラボノイド化合物（アントシアニンやフラバノンなど）でさえ，第2次代謝産物として一度生合成されるとほとんど代謝的に分解されないと言われてきた[27]．

ところが，本実験では葉やガクに含まれているポリフェノールが非常に活発に変化することが判明した．5月22日，6月12日採取のガクは約1.1%の総ポリフェノール量を含んでいたが，8月12日には約0.7%にまで減少した．プロアントシアニジン量を見るとこの変化が顕著に観察できる（Fig. 6）．つまり，6月12日から7月12日に至る1か月の間に半分以下にまで減少した．特に，6月12日採取のガクに含まれているプロアントシアニジンは大部分が水可溶の高分子ポリフェノールであるので，これを分解する代謝系がガクに存在するとすれば植物生理学的にも食品科学的にも興味ある知見である．

葉においても，6，7，8月にかけてのポリフェノールの変化は高分子プロアントシアニジンの分解を推測できるが，その分解産物が生成するような実験事実は得られなかった（Fig. 2と3）．

Zaprometov ら（1968）[31,32] はパルスラベル実験の結果から（−）-エピカテキンと（−）-エピガロカテキンの植物体内における半減期が約50時間であり，それらのガレートエステルでは約70時間であることを報告した．同様な実験結果がアントシアニンやルチンでも得られている[26,30]．

^{14}C-プロアントシアニジンを用いた生体内における分解実験の報告は見当らないが，前述の知見と考え合わせれば，カキ植物組織中にその分解系が存在する可能性もあるであろう．

カキ果実に含まれるカキタンニンはすべて特異に分化したタンニン細胞にのみ蓄積しており，成熟過程や人為的脱渋処理に伴って可溶性タンニンの含量が減少するのは，それらのタンニン細胞中で不溶化することにより見掛け上の含量が低下するためと古くから説明されている[10,14,16]．それ故，カキのガクや葉のプロアントシアニジン　ポリマーが細胞内でどのように蓄積し分布しているか，現在のところ知見がないので明らかではないが，果実のカキタンニンで推定されているような不溶化による見掛け上の減少である可能性も考えられる．

カキ葉に多量に含まれる還元型アスコルビン酸の生理的役割，特にポリフェノール代謝に関連した役割はいまだ不明である．しかしながら，Table 1 が示すように，各葉におけるポリフェノールとアスコルビン酸の含量には明確な相関が認められず，ポリフェノールの生合成に関して大きな役割を演じているとは考えにくい．しかし，パセリの細胞培養実験から得られた結果ではフェノラーゼ（4-Hydroxycinnamic acid hydroxylase）の水素供与体であることが知られている[25]．また，L-アスコルビン酸とポリフェノールは共に酸化されやすく組織を還元的に維持するための還元剤か，お互いの抗酸化剤として働く可能性も考えられている[17]．今後，更に体系立てて両者の関係を検討する必要があろう．

カキ葉は「カキ茶」として[29]，ガクは「ある種の漢方薬」として[15]古くから利用されているが，カキ葉の採取適期をアスコルビン酸量を目安として考えれば，5月，6月の第4葉以降の葉が適当であることが予想された．

要　　約

カキタンニン（プロアントシアニジン　ポリマー）の代謝に関する知見を得るために，カキの各器官（葉・ガク・果実）に含まれているポリフェノールの量的，質的変化を経時的に調べた．

1.　4月初期の展葉期から葉に含まれている総ポリフェノール量は増加し始め，開花前後に急激に増加し最高値に達した（新鮮重当り 0.97—1.44%）．この時期では新梢の先端部の葉が高いポリフェノール含量を有していた．その後は，逆に激減して，7月，8月に採取した葉には約5分の1から4分の1しか含まれていなかった．同様に，プロアントシアニジン量を調べたところよく似た変化が明確に観察された．これらの変化は若い葉ほど顕著に観察された．

2.　ガクには若い葉に匹敵するほどの高い総ポリフェノール量およびプロアントシアニジン量を含有し，その季節的な変動も葉のそれに似ていた．

3.　果実中のポリフェノール量の増加は葉とガクの増加にやや遅れて始まった．

4.　TLC 分析の結果から，4，5，6月に採取した葉の酢酸エチル可溶分画にはカテキン様，ガロカテキン様物質と単純フェノールの配糖体様物質が認められた．それらの時期別による質的変化は観察されなかっ

た．ガクでは，それらに加えて没食子酸が検出された．果実では微量の没食子酸のみが検出された．

5. 5月，6月の第4葉は 1.1%～1.7% の高いアスコルビン酸含量を有していた．

これらの結果からカキ植物体でのポリフェノールの，特にプロアントシアニジンの代謝について考察した．

文　献

1) Balsa, C., Alibert, G., Brulfert, J., Queiroz, O. and Boudet, A.M.: Photoperiodic control of phenolic metabolism in *Kalanchoe blossfeldiana*. *Phytochemistry*, **18**, 1159-1163 (1979)
2) Feeny, P.P. and Bostock, H.: Seasonal changes in the tannin content of oak leaves. *Phytochemistry*, **7**, 871-880 (1968)
3) Forrest, G.I. and Bendall, D.S.: The distribution of polyphenols in the tea plant (*Camellia sinensis* L.) *Biochem. J.*, **113**, 741-755 (1969)
4) Haslam, E.; Biogenetically patterned synthesis of procyanidins. *J. Chem. Soc., Comm.*, 594-595 (1974)
5) Haslam, E.; Structure, conformation and biosynthesis of natural procyanidins. in Farkar, L., Gábor, M. and Kallay, F. (eds.), *Proceed. 5th hungarian bioflavonoid symp. flavonoid and bioflavonoids curr. res. tren.*. p. 97-110, Elsevier Sci. Pub., Amsterdam-Oxford-N.Y. (1977)
6) Haslam, E., Opie, C.T. and Porter, L.J.; Procyanidin metabolism - a hypothesis. *Phytochemistry*, **16**, 99-102 (1977)
7) Hölzl, V.J. und Strauch, A.: Untersuchung zur Biogenese der Oligomeren Procyanidine von *Crataegus* 1. [^{14}C]-Acetatinkorporation zur Präparation von markierten Procyanidine. *Planta Medica*, **32**, 141-153 (1977)
8) Howell, C.R., Bell, A.A. and Stipanovic, R.D.: Effect of aging on flavonoid content and resistance of cotton leaves to verticillium wilt. *Physiol. Plant Pathol.*, **8**, 181-188 (1976)
9) 伊藤三郎：カキタンニンの化学的研究．園芸試験場報告，B，第1号，1-16 (1962)
10) Ito, S.; The persimmon. in Hulme, A.C. (ed.), *The biochemistry of fruits and their product. vol.* II, p. 281-302, Academic Press Inc., N.Y. and London (1971)
11) 伊藤三郎，沢井喜代美：ヒドラジン法によるビタミンC定量の時間短縮法について．興津園試年報（果・加）5，60-62 (1969)
12) 岩浅　潔：チャにおけるカテキン生合成に関する研究．茶業試験場研究報告，第13号，101-126 (1977)
13) Jacques, D. and Haslam, E.: Biosynthesis of plant proanthocyanidins. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 231-232 (1974)
14) 金子勝芳：渋ガキの脱渋．食糧，**19**，94-105 (1977)
15) 刈米達夫，北村四郎：カキ．薬用植物分類学．p. 220-221，廣川書店，東京 (1965)
16) 北川博敏：脱渋．カキの栽培と利用．p. 182-232，養賢堂，東京 (1970)
17) Mapson, L.W. and Moustafa, E.M.: Ascorbic acid and glutathione as respiratory carriers in the respiration of pea seedlings. *Biochem. J.*, **62**, 248-259 (1965)
18) Matsuo, T. and Ito, S.: The chemical structure of Kakitannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1637-1643 (1978)
19) Matsuura, S. and Iinuma, M.: Studies on the constituents of useful plants IV. Constituents of the calyx of *Diospyros kaki*. 薬学雑誌，**97**，452-455 (1977)
20) Michard, J., Laparra, J., Lesca, M.F., Blanquet, P. and Masquelier, J.: Preparation of carbon-14-labelled proanthocyanidolic oligomers from *Vitis vinifera* L.. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **116**, 21-26 (1977)
21) 水落勁美：クロロフィル．栽培植物分析測定法．作物分析法委員会編，p. 386-389，養賢堂，東京 (1975)
22) 中林敏郎：タンニン．中林敏郎・木村進・加藤博通共著，食品の変色とその化学．p. 64-115，光琳書院，東京 (1966)
23) 中川致之：茶の品質とカテキンに関する研究．茶業試験場研究報告，第6号，65-166 (1970)
24) 中村三夫：カキのヘタの生理生態学的研究．岐阜大学農学部研究報告，**23**，1-6 (1967)
25) Schill, L. and Grisebach, H.: Properties of a phenolase preparation from cell suspension cultures of parsley. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **354**, 1555-1562 (1973)
26) Steiner, A.M.; Turnover of anthocyanidin-3-monoglucosides in petals of petunia hybrids. *Z. Pflanzenphysiol.*, **65**, 210-217 (1971)
27) Swain, T.: The tannins. in Bonner, J. and Varner, J.E. (eds.), *Plant biochemistry*. p. 552-580, Academic Press Inc., N.Y. and London (1965)
28) 樽谷隆之：カキ果実の貯蔵に関する研究．香川大学農学部紀要，**19**，1-5 (1965)
29) 山下英文：柿の葉の利用に関する研究．福岡医学雑誌，**47**，824-837 (1956)
30) Zaprometov, M.N.: The metabolism of flavonoids in higher plant. in Farkas, L., Gábor, M. and Kállay, F. (eds.), *Proceed. 5th hungarian bioflavonoid symp., flavonoid and bioflavonoids curr. res. tren.*. p. 257-269, Elsevier Sci. Pub., Amsterdam-Oxford-N.Y. (1977)
31) Zaprometov, M.N. and Bukhlaena, V.Y.: Metabolism of ^{14}C-labelled catechols introduced into plants. *Fiziol. Rast.*, **14**, 804-812 (1967)
32) Zaprometov, M.N. and Bukhlaena, V.Y.: Transformation of carbon-14-labelled phenolic compounds in isolated tea plant shoots, *Fiziol. Rast.*, **15**, 457-463 (1968)

Summary

Quantitative and qualitative changes in the phenolics contained in leaves, calyxes and fruit of persimmon (*Diospyros kaki* L.) were investigated during the period from April to August with the purpose of clarifying the metabolism of Kaki-tannin, a proanthocyanidin polymer.

1. The total polyphenol content in persimmon leaves started increasing in early April, and then increased markedly, reaching the maximum of 0.97 to 1.44% around the full bloom. Thereafter the content decreased suddenly, and the leaves picked in July and August showed only one-fifth to one-fourth of the maximum amount. These seasonal changes were noted to be more conspicuous in younger leaves. When the polyphenol contents of the leaves were compared in relation to the age, the first expanding leaves from the top, that is, the youngest leaves contained the highest amount, during the period from April to June, followed by the second and the fourth leaves. The changes of proanthocyanidin content showed similar, though somewhat clearer, seasonal pattern compared with that of the total polyphenol contents.

2. Persimmon calyxes showed high levels of total polyphenol and proanthocyanidin which were comparable to those in young leaves. During the growing season the seasonal changes were similar to those in leaves.

3. Total polyphenol content in the young fruit began to increase shortly after the increase of that was started in the leaves and calyxes.

4. Catechin and gallocatechin-like substances and simple phenolic glycosides other than these were detected on the thin layer chromatogram of ethyl acetate-soluble fraction of the leaves picked in April, May and June. No seasonal difference was observed in the phenolic constituents. The chromatogram obtained from the extracts of calyxes showed the presence of gallic acid in addition to that detected in the leaves. On the other hand, on the chromatogram of young fruit only gallic acid was detected in small quantities.

5. The fourth leaves picked in May and June showed high level of ascorbic acid, from 1.1 to 1.7% of the fresh leaf weight.

Basing on the above mentioned findings, discussion was made on the metabolism of polyphenols in the persimmon plant, particularly on that of proanthocyanidin.