

クマイザサ葉のイソオリエンチン含量と生育環境

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者	松田, 友彦 山崎, 雅夫 富塚, 登 西澤, 信 鈴木, 悌司
巻/号	34巻6号
掲載ページ	p. 343-347
発行年月	2008年11月

クマイザサ葉のイソオリエンチン含量と生育環境

松田友彦*¹・山崎雅夫*^{1§}・富塚 登*¹
西澤 信*¹・鈴木悌司*²

* 1 東京農業大学生物産業学部食品科学科

* 2 東京農業大学生物産業学部生物生産学科

Effect on Growth Environment of Isoorientin Content of
Sasa Leaf (*Sasa senanensis* REHDER)

MATSUTA Tomohiko*¹, YAMAZAKI Masao*^{1§}, TOMIZUKA Noboru*¹,
NISHIZAWA Makoto*¹ and SUZUKI Teiji*²

* 1 Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Agriculture,
196, Yasaka, Abashiri-shi, Hokkaido 099-2493

* 2 Department of Bioproduction, Tokyo University of Agriculture, 196, Yasaka, Abashiri-shi 099-2493

Sasa leaves growing wild in east area of Hokkaido, Japan, and soil were collected a two month from May to Nov. of 2005. Isoorientin was extracted with MeOH from sasa leaf, and prepared with liquid-liquid distribution and then column chromatography. The quantitative assay of isoorientin was used with LC/MS. Soil constituents were determined about mineral elements (Na, Mg, Si, P, Ca, Zn, B) and the nitrogen in the form of nitrate (NO₃⁻) and soluble N applied as ammonium (NH₄⁺). Isoorientin content of sasa leaves were correlated with phosphorous ($r = -0.540$ $P < 0.01$) in lower layer soil (depth 20~30cm). However, there was no correlation between isoorientin content and other constituents in soil. Isoorientin content of sasa leaf grown in open field was higher one grown in forest floor, was high in May and Nov., and the tendency to decrease in July to Sep. Isoorientin content of Kumai sasa (*Sasa senanensis* REHDER) was lowest during sasa genus grown in Hokkaido. Isoorientin content of sasa leaf growing in snow, at relative light intensity 0%, was ca. 30 (ug/g dry matter), and increased to ca. 200 (ug/g dry matter) for 2 weeks after removal snow from leaf in Apr. of 2006. Sasa leaf grown above snow, at relative light intensity (rPPFD) 35%, contained ca 310 (ug/g dry matter) of isoorientin. Therefore, the habitat isolation may have been caused by the difference of isoorientin content of sasa leaf. (Received Jun. 9, 2008; Accepted Sep. 29, 2008)

Key words : sasa leaf, flavonoid growth environment, isoorientin

ササ葉, フラボノイド, 生育環境, イソオリエンチン

ササ葉は民間医薬として利用される¹⁾ほか, 抗白血病, 抗腫瘍, 抗酸化性など²⁾を示す, トリシン, ルテオリン, アピゲニンなどのフラボン配糖体を含有することが知られている^{3)~5)}。

日本を中心に分布するササ属は分類上タケ亜科に属し, 1億tを越えるバイオマス資源⁶⁾であるものの, 医薬品や健康食品, 飲料などへの利用がなされつつあるが, 資源としての活用は十分ではない。筆者らはササ葉の有用性に着目したその利用について取り組み, 既報⁷⁾でササ葉アルコール抽出液に魚油, 魚粉に対する抗酸化効果

を認め, その効果にはフラボン類の関与が推察された。

植物におけるフィトケミカル成分の役割については不明な点が多く, ササのバイオマス資源としての活用や飲料原料とするうえで, その生育環境とフィトケミカル成分との関連について検討することは意義があると考えられる。

今回, タケ・ササ葉の主要フラボン類の一つ⁸⁾であり, 機能が知られているイソオリエンチン (ルテオリン 6-C-グルコシド) 含量について土壌成分, 日照などの生育環境との関連について検討した。

* 1 〒099-2493 北海道網走市八坂196

§ 連絡先 (Corresponding author) E-mail: m-yamazaki@bioindustry.nodai.ac.jp

実験方法

1. 試料および方法

クマイザサ (*Sasa senanensis* REHDER) は北海道東部地域の網走, 相生, オンネトー, 陸別, 弟子屈, 留辺蘂, 置戸, 温根湯, 東藻琴, 女満別, 卯原内, 双鏡台, 佐呂間, 紋別, 興部, 名寄, 丸瀬布, 滝上, 雄武, 厚岸, 白糠, ルクシ峠, 野上峠の23カ所, ミヤコザサ (*S. nipponica* MAKINO et SHIBATA) は標茶, 筑紫恋の2カ所, チシマザサ (*S. kurilensis* MAKINO et SHIBATA) は1カ所 (猿払) より, それぞれ2005年5月から11月にかけて葉を採取した。また, 網走市カラマツ林内のクマイザサについて雪中に生育しているものと, 雪上に生育しているものを2006年4月に採取した。ササの選別は文献^{9), 10)}に従った。

2. 相対光量子束密度の測定

相対光量子束密度 (相対照度) の測定には三商SUN ILLUMINO (SLX-1332) を用いた。

3. 土壌の採取と元素分析

土壌をオートルーガにて採取し, 地上部から10cmまでを上層部, 20~30cmの間を下層部とし, 分析に供した。採取土壌に10倍容の純水を加え浸透抽出後, 濾過, 定容した液を供試液とした。供試液について金属元素, アンモニア態窒素, 硝酸態窒素, についてそれぞれ分析した。金属元素の分析は, 島津社製ICPS-8000 E型装置による高周波プラズマ発光分析 (ICP) により行い, ベリリウムを内部標準物質としカルシウム, リン, ケイ素, 亜鉛, マグネシウム, ナトリウム, ホウ素について分析をおこなった。アンモニア態窒素はインドフェノール青法, 硝酸態窒素はブルシン法にて測定した。

4. イソオリエンチン含量

ササ葉は根元をハサミにて葉鞘から切断した。切断した葉はさらにハサミで細断し, 重量測定後メタノールに浸漬した。浸漬は一晩行い, これを2回繰り返した。抽出残渣を除去した後, 得られた抽出液をロータリエバポレータにて濃縮乾固し, 水に溶解後石油エーテルおよびジエチルエーテルにてそれぞれ液液分配を行った。分配後の水層を濃縮し, 60%メタノールを溶離液としたセファデックスLH 20 (2cm×80cm) にてイソオリエンチン画分を分画した。同画分を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析に供した。HPLCは島津社製CLASS-LC 10システムを用いた。検出はダイオードアレイ検出器と質量分析計 (パーセプティブ社製Mariner) を組み合わせたLC/MSにより, 分離されたピークの保持時間と吸収スペクトル, m/z値を標品と比較し定性, 定量を行った。HPLCカラムには東ソー社製TSKgel ODS-80 TsQA (4.6×150mm) を用い, カラム温度40℃, 移動相として水/アセトニトリル/メタノール/ギ酸 (70/20/10/2) を用い流速1 ml/分とした。

実験結果および考察

1. ササ葉イソオリエンチン含量と土壌成分の影響

北海道東部に自生するササ葉のイソオリエンチン含量を示した結果を表1に示した。ササ葉採取地点の上部が開けた場合を開放地, 林内の場合を林床環境とそれぞれみなした。この結果, 同じクマイザサであっても地域によりイソオリエンチン含量には, 0.82から247.35 ($\mu\text{g/g}$ 乾物) と大きな差異がみられた。クマイザサ葉イソオリエンチン含量と土壌の金属元素, 窒素化合物の含量との間の相関について検討したところ, 下層土壌リン含量とイソオリエンチン含量との間に負の相関 (-0.540 ; $p < 0.01$) がみられた (表2)。栽培作物では施肥によりアーティチョーク¹¹⁾のフラボノイド含量やイチゴ¹²⁾のフラボノイド含量, フェノール含量との関連が報告され, ナスの葉¹³⁾ではフラボノイドであるアントシアニン含量は窒素やリンの施肥量に影響を受けることが報告されている。しかしながら, イソオリエンチン含量と強く相関

表1 北海道東部地域のササ葉に含まれるイソオリエンチン (L6CG) 含量

	L6CG含量 ($\mu\text{g/g}$ 乾物)	日照環境	採取月
クマイザサ			
網走	85.12	林床	5
相生	247.35	開放地	5
オンネトー	92.97	林床	5
陸別	163.22	開放地	5
弟子屈	112.21	開放地	7
留辺蘂	117.95	開放地	7
置戸	102.81	開放地	7
温根湯	18.37	開放地	7
野上峠	21.55	林床	7
双鏡台	45.58	林床	8
紋別	4.54	林床	9
興部	66.82	開放地	9
名寄	0.82	林床	9
丸瀬布	3.19	開放地	9
滝上	98.89	開放地	9
厚岸	3.55	林床	9
東藻琴	95.86	開放地	11
女満別	95.86	開放地	11
卯原内	201.10	開放地	11
佐呂間	95.63	開放地	11
雄武	187.93	開放地	11
白糠	86.24	林床	11
ルクシ峠	104.91	開放地	11
ミヤコザサ			
標茶	93.65	開放地	9
筑紫恋	166.80	開放地	9
チシマザサ			
猿払	125.11	林床	11

表2 クマイザサ葉イソオリエンチン含量と土壌の金属元素、アンモニア態窒素、および硝酸態窒素との相関

		イソオリエンチン	
金属元素	Na	上層	0.155
		下層	0.162
	Mg	上層	0.004
		下層	0.084
	Si	上層	-0.157
		下層	-0.128
	P	上層	0.146
		下層	-0.540**
	Ca	上層	0.225
		下層	0.259
	Zn	上層	-0.179
		下層	-0.070
	B	上層	0.015
		下層	-0.016
窒素化合物	アンモニア態窒素	上層	0.150
		下層	0.077
	硝酸態窒素	上層	-0.110
		下層	0.314

上層：地表～深さ10cm (** : p<0.01) (n=23)
下層：深さ20～30cm

を示す土壌成分はなく、森林土壌に分布するササの植生は、広域であることから、畑地土壌におけるほかの植物^{11)~13)}で見られるような土壌の金属や窒素化合物との関連はみられなかった。

2. 季節変動と植生環境

クマイザサのイソオリエンチン含量を日照環境で区別し、採取月毎にまとめた(図1)。この結果、開放地、林床環境にかかわらず5月、11月に比べ夏季(7月、9月)の値は低くなる傾向がみられ、5月から11月に向けてフラボン、フラボノールが徐々に増加するピーマン¹⁴⁾

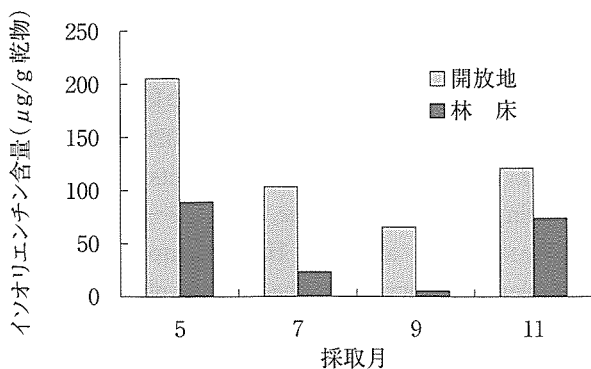


図1 クマイザサ葉イソオリエンチン含量の季節変動と生育環境

の季節変動パターンとは異なる傾向を示した。

開放地では5月から9月に68%減少、林床環境では同時期で94%減少した。葉のフラボノイド成分の季節変動として報告されている茶カテキン¹⁵⁾やイチョウ葉フラボノール配糖体¹⁶⁾に比べ非常に大きい変動を示した。また、開放地のほうが林床環境に比べイソオリエンチン含量が高く、日照とフラボン含量との間に何らかの関連があることが推察された。

北海道の森林面積の約9割を占めるササは、多くが林床に生育している⁶⁾。北海道東部地域の人工林の多くが落葉針葉樹のカラマツ林であるが、この地域のカラマツは概ね5月上旬に開芽、6月上旬には葉の展葉が停止し10月下旬から落葉を開始し11月下旬にはすべて落葉する。このため、葉をつける夏季の林内の照度は低下する。夏季のイソオリエンチン含量の減少と秋季の含量増加は、すでに報告¹⁷⁾がある林内に生育するクマイザサの光合成速度の季節変化に一致する。このようなことから、イソオリエンチンは照度変化やそれに伴う光合成活動に関係すると考えられる。開放地でも林床に似た季節変動を示しているが、今回の開放地環境は完全な裸地とは言えず、周囲の樹木によってつくられる日陰の影響もあると考えられる。日照に着目したササの生育環境と稈高、葉量、といった生育状況に関する報告^{18),19)}はみられるものの、フィトケミカル成分に関する知見はない。このようなことから、季節変動や日照との関連についての詳細な検討については、さらに条件に注意して実施する必要があると考える。

3. 種の異なるササ葉のイソオリエンチン含量

道内に分布するササ属3種におけるイソオリエンチン含量を比較したところ、開放地においてはクマイザサに比べミヤコザサのほうがイソオリエンチン含量は2倍高い値を示し、林床環境では、クマイザサに比べチシマザサは1.7倍高い値を示し、品種間で差異がみられた(図2)。

ササ葉の無機物組成、構成糖、アミノ酸組成などの一般成分に品種間で差がないことが知られている^{20),21)}。しかしながら、強い抗酸化活性が知られているイソオリエ

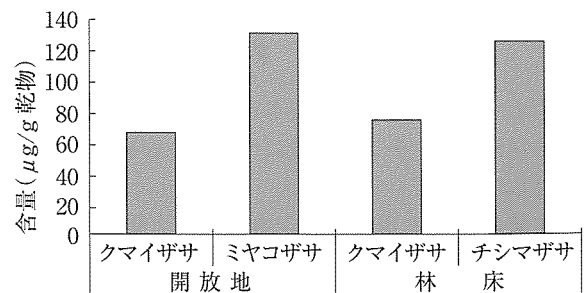


図2 種の異なるササ葉のイソオリエンチン含量
開放地：9月採取 林床：11月採取

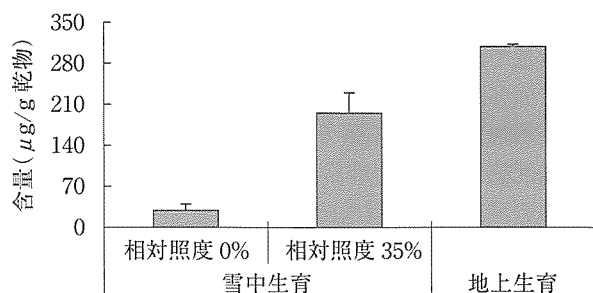


図3 日照を変えたときのクマイザサ葉イソオリエンチン含量

相対照度 : 相対光子束密度

相対照度 0% : 雪中から掘り出し採取した葉

相対照度 35% : 雪中から掘り出し 2 週間日照環境においた後に採取した葉

地上生育 : 隣接する雪上にて生育中の葉 (相対照度 35%)

採取 : 2006年 4 月 (網走市)

ンチン含量の差異は興味深く、バイオマス資源として天然色素やその機能性に着目したササの活用の際には、品種を考慮する必要があると考えられた。

4. 日照の影響

落葉カラマツ林内で相対照度 0% となる雪中のクマイザサ葉について、イソオリエンチン含量は約 30 ($\mu\text{g/g}$ 乾物) であった。一方、隣接する場所で葉が雪上に出た状態で生育するクマイザサ葉イソオリエンチン含量は約 310 ($\mu\text{g/g}$ 乾物) と日光が届かない雪中のササ葉に比べ 10 倍高い値を示した (図 3)。一方、雪中から掘り起こし、日光が当たる状態 (相対照度 35%) に置いたササ葉のイソオリエンチン含量は 2 週間後に約 200 ($\mu\text{g/g}$ 乾物) を示し、2 週間でイソオリエンチンの含量が 6.6 倍に増加した。このことから日照がイソオリエンチンの産生に大きく影響することが示唆された。フラボノイドは紫外線に対する植物の防御成分であり²⁾、ササ葉のイソオリエンチンも同様の役割を担っていることが推察された。フラボノール配糖体が新葉の春に含量が高く、夏に減少し、秋に回復するものの日照の影響を受けないイチヨウ葉¹⁰⁾と対照的であった。しかし、開放地において日照が強くなる 7 月、9 月の夏季のササ葉フラボン含量が低い値を示すことから、今後は日照との関連について詳細に検討する必要があると考えている。

要 約

バイオマス資源として期待されるクマイザサの天然色素、イソオリエンチンの含量について生育環境との関連を検討した。

ササ葉のイソオリエンチン含量と、土壤の金属元素 (Na, Mg, Si, P, Ca, Zn, B)、窒素化合物量との間の関係は、下層土壤 (深さ 20~30cm) のリン含量と負の相関を示したものの、ほかの土壤成分との間に相関はみられなかった。イソオリエンチン含量には季節変動がみ

られた。また、チシマザサやミヤコザサに比べ、クマイザサのイソオリエンチン含量は低い値を示した。

相対照度 0% のササ葉ではイソオリエンチン含量は、相対照度 35% に比べて 1/10 と低い値である一方、相対照度 0~35% に 2 週間置いた葉では 6.6 倍に増加した。イソオリエンチン含量は日照と関連することが示唆された。

謝 辞 実験の遂行にあたりご助言を頂きました北海道立林業試験場緑化樹センター研究主任の錦織正智氏に御礼申し上げます。また実験を手伝ってくれた、本学学生堅田嶺君、梅村由樹さんに感謝します。

文 献

- 1) 赤松金芳: 和漢薬 (医歯薬出版, 東京), p.649 (1978)
- 2) DUKE, J. A.: Handbook of Biologically Active Phytochemicals and Their Activities (CRC Press, Boca Raton, FL), p.9 (1992)
- 3) 太田達男・宮崎利夫・田口平八郎: クマザサ葉のフラボノイドについて, 東京薬科大学研究年報, 8, 152~153 (1958)
- 4) NAKAJIMA, Y., YUN, Y.-S. and KUNUGI, A.: Six new flavonolignans from *Sasa veitchii* (Carr.) Rehd. *Tetrahedron*, 59 (40), 8011~8015 (2003).
- 5) PARK, H.-S., LIM, J.-H., KIM, H.-J., CHOI, H.-J. and LEE, I. S.: Antioxidant flavone glycosides from the leaves of *sasa borealis* Arch. Pharm. Res., 30 (2), 161~166 (2007)
- 6) 農林水産省農林水産技術会議事務局編: バイオマス変換計画 (光琳, 東京), p.654 (1991)
- 7) 山崎雅夫: 過熱水蒸気と植物バイオマスを使った魚粉の抗酸化的製造, 日食保蔵誌, 33 (6), 303~306 (2007)
- 8) 田中信壽・和田浩志・瀧野裕之・井上 猛・安田大輔・神田秀一郎・清川千晶・芦田憲昭・鈴木崇史・山崎浩平・袴塚高志: タケ・ササ類の成分研究, 薬学雑誌, 118 (8), 332~337 (1998)
- 9) 小池孝良編: 樹木生理生態学 (朝倉書店, 東京), p.199 (2004)
- 10) 伊藤浩司・新宮弘子: 新しいササの見方 1 - ミヤコザサ節の確認 - 北方林業, 34 (12), 329~334 (1982)
- 11) ELIA, A.: Mineral nutrition aspects in artichoke growing, *Acta. Horticulturae*, 730, 239~249 (2006)
- 12) WANG, S. Y. and LIN, H.-S.: Compost as a Soil Supplement Increases the Level of Antioxidant Compounds and Oxygen Radical Absorbance Capacity in Strawberries, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (23), 6844~6850 (2003)
- 13) LOPEZ-CANTARERO, I., LORENTE, F. A. and ROMERO,

- L. : Are chlorophylls good indicators of nitrogen and phosphorus levels?, *J. Plant. Nutr.*, **17** (6), 979~990 (1994)
- 14) 井奥加奈・高田陽子・青山紗弓・竹井よう子：ピーマンを主とした市販野菜類のフラボノイド含量における季節変動, *食科工*, **52** (4), 190~195 (2005)
- 15) YAO, L., CAFFIN, N., D-ARCY, B., JIANG, Y., SHI, J., SINGANUSONG, R., LIU, X., DATTA, N., KAKUDA, Y. and XU, Y. : Seasonal variations of phenolic compounds in Australia-grown tea (*Camellia sinensis*), *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 6477~6483 (2005)
- 16) 高柿了士：イチヨウ葉エキスの特性と利用, *New Food Ind.*, **40** (5), 1~7 (1998)
- 17) 森 茂太・丸山 温, 北尾光俊：クマイザサとチシマザサ, *北方林業*, **52** (8), 186~187 (2000)
- 18) 河原輝彦・只木良也：ササ群落に関する研究 (Ⅲ) 明るさとミヤコザサの現存量, *日林誌*, **60** (7), 244~248 (1978)
- 19) 豊岡 洪・佐藤 明・石塚森吉：クマイザサの生育におよぼす明るさの影響, *日林北支講*, **30**, 139~141 (1981)
- 20) 川瀬 清・氏家雅男・三宅基夫：ササの資源化に関する研究 第5報 ササの葉抽出物の成分組成, *北海道大学農学部演習林研究報告*, **44** (4), 1475~1491 (1987)
- 21) 津田真由美・斉藤直人・関 一人・青山政和：ササの化学組成, *林産試験場報告*, **9** (3), 17~20 (1995)
- 22) BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., JONES, L. R., ed. : *Biochemistry and molecular biology of plants* (American society of plant physiologists, Maryland), p.1303 (2005)
-