

生薬の医薬品以外の部位を食品に利用するための加工技術の開発（第4報）

～トウキ葉成分と気象条件との関連性について～

首藤 明子^{*1)}, 清水 浩美^{*1)}, 藤田 和代^{*2)}

The Development of a Processing Technology to Use a Part Except for the Pharmaceuticals of a Crude Drug for a Food (4th Report)

～Relation between the ingredient of *Angelica acutiloba* leaf and the weather condition～

SHUTO Akiko^{*1)}, SHIMIZU Hiromi^{*1)}, FUJITA Kazuyo^{*2)}

ヤマトトウキ葉を食品に展開するために研究を継続している。今回は、昨年度報告したヤマトトウキ葉のフロクマリン類・フタライド類の定量分析結果を基にそれらの含有量に気象条件が影響を及ぼすのかについて検討した。その結果、それらには相関関係があり、フロクマリン類の含有量は、平均気温と日照時間により変動する可能性があり、その二つの因子が大きく影響を及ぼすのが採取日を含めた3日間である可能性が示唆された。

1. 緒言

薬用植物であるトウキは、セリ科シシウド属の多年草であり、根を乾燥させた生薬である当帰は婦人科系の漢方処方として用いられている。

2012年にトウキの葉が食用可となったことから、加工食品や日用品にも市販品の種類が急激に増大しており、生食用としても販売されるようになった。

トウキの主な含有成分であるフタライド類は抗アセチルコリン作用を有し、フロクマリン類は日光等の光によって皮膚などに影響を及ぼす光毒性を誘発することが知られている¹⁾。

筆者らは、より付加価値の高い商品の開発を目指し、これまでヤマトトウキについて、葉（葉身と葉柄、以下、トウキ葉とする）のフロクマリン類・フタライド類を定量分析してきた⁴⁾。フタライド類のLigustilide（以下、Lig.とする）含有量は7月から8月に増加し、10月には減少することが明らかになっている。また、トウキに含まれるフロクマリン類も10月には顕著に減少することが明らかになっている⁴⁾。

トウキ葉のフロクマリン類・フタライド類には季節により含有量の変化が見られることから、気象条件の影響が推

測された。そこで、気象条件がフロクマリン類・フタライド類の含有量に影響を及ぼしているのかを明らかにする解析を行った。

2. 材料及び方法

2.1 フロクマリン類・フタライド類の測定結果

本研究で用いたフロクマリン類・フタライド類は、2016年、2017年の定量分析結果⁴⁾である。その結果を表1に再掲する。何れも県果樹・薬草研究センター（奈良県五條市西吉野町）の圃場で露地栽培されたトウキ葉を7～10月に月1回午前中に採取した。

なお、本研究では、フロクマリン類はPsoralen（以下、Pso.とする）、Xanthotoxin（以下、Xan.とする）、Bergapten（以下、Ber.とする）の合計値とし、フタライド類はLig.とButyridenepthalide（以下、But.とする）の合計値とした。

2.2 気象データ

フロクマリン類のPso., Xan., Ber.は、ストレス化合物のファイトアレキシンであることが知られている⁵⁾。ファイトアレキシンは、病害虫や菌の繁殖、天候等によるストレスに反応して生成される二次代謝産物である。同一の圃

*1) バイオ・食品グループ *2) 一般社団法人奈良県中小企業診断士会

表 1 2016・2017年フロクマリン類・フタライド類定量分析結果

採取日	フロクマリン含有量 (mg/100g)				フタライド含有量 (mg/100g)		
	Pso.	Xan.	Ber.	合計	Lig.	But.	合計
2016年							
7月20日	1.178	54.869	40.966	97.013	216.065	1.666	217.731
8月23日	ND	19.144	46.635	65.779	329.688	ND	329.688
9月26日	ND	10.017	5.258	15.275	485.769	ND	485.769
10月29日	1.055	10.546	1.777	13.378	387.014	2.791	389.805
2017年							
7月25日	0.608	14.988	12.118	27.714	340.636	1.278	341.914
8月29日	1.592	34.416	30.816	66.824	359.014	1.945	360.959
9月25日	1.525	20.204	4.625	26.354	374.033	1.665	375.698
10月24日	0.123	2.676	1.073	3.872	357.821	1.166	358.987

ND：検出せず

場、栽培条件でトウキ葉の採取方法も変えず、定量に関しても同じ方法を用いた結果でフロクマリン類の含有量に差が生じているのは、気象条件がストレスとなり、その含有量に影響を及ぼしたのではないかと推測された。

そこで、トウキ葉の栽培地である奈良県五條市の気象データを気象庁のウェブサイト⁹⁾から抽出した。特に季節変動の大きい気象条件として気温と紫外線量に着目し、高温や紫外線照射は環境ストレスとなり、ファイトアレキシンの生合成を促進する効果があると予想した。使用したデータは、平均気温、日照時間とUVインデックスである。ただし、UVインデックス(推計値)は奈良のデータとした。UVインデックスは1~11+の11ランクに分けた情報であるが、気象庁では、0~13までの14ランクに分けた情報とされている。本研究では、各日の最大値を用いた。

ファイトアレキシンの生合成は、非親和性の病原菌接種による刺激では、72時間以内に開始及び蓄積量のピークとなり、その後、代謝されることが知られている⁷⁾。一連の反応時間は接種後7日程度で終結すると考えられるので、本研究では採取日を含む採取まで10日間の各気象データを抽出し、用いた。

これら抽出した期間の各日において平均気温の最低値は2016年では13.6℃、2017年では11.7℃、最高値は2016年では29.0℃、2017年では28.4℃であった。また、日照時間の最低値は2016年、2017年ともに0時間、最高値は2016年では12.9時間、2017年では11.3時間であった。

気象条件とフロクマリン類との関係を検討するため、それらの気象データとフロクマリン類の無相関検定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 フロクマリン類と気象条件との相関

フロクマリン類と10日間の平均気温、日照時間、UVインデックスとの無相関検定結果を表2~4に示す。気象条件は何れも、採取日を含む積算データとした。

表 2 フロクマリン類と平均気温の無相関検定結果

日数	相関係数(r)	検定統計量(t)	確率
1	0.709	2.464	0.0489
2	0.713	2.489	0.0471
3	0.743	2.717	0.0346
4	0.744	2.729	0.0342
5	0.740	2.698	0.0357
6	0.731	2.625	0.0393
7	0.743	2.721	0.0346
8	0.748	2.762	0.0328
9	0.749	2.770	0.0324
10	0.748	2.763	0.0327

表 3 フロクマリン類と日照時間の無相関検定結果

日数	相関係数(r)	検定統計量(t)	確率
1	0.689	2.330	0.0587
2	0.824	3.560	0.0119
3	0.969	9.605	7.29E-05
4	0.922	5.817	0.0011
5	0.901	5.083	0.0022
6	0.796	3.222	0.0181
7	0.781	3.065	0.0221
8	0.761	2.874	0.0283
9	0.744	2.729	0.0342
10	0.734	2.651	0.0379

表4 フロクマリン類とUVインデックスの
無相関検定結果

日数	相関係数(r)	検定統計量(t)	確率
1	0.958	8.142	0.0002
2	0.912	5.436	0.0016
3	0.935	6.458	0.0007
4	0.891	4.815	0.0030
5	0.878	4.489	0.0042
6	0.848	3.926	0.0076
7	0.843	3.838	0.0086
8	0.845	3.051	0.0225
9	0.780	3.093	0.0213
10	0.719	2.532	0.0446

フロクマリン類と気象条件との無相関検定結果から, 採取日を含む3日間の日照時間で相関係数 $r=0.969$, 有意水準 <0.001 となり相関がないことが否定された。同様に, 平均気温, UVインデックスにおいて相関がないことが否定され, 強い相関が認められた。

ファイトアレキシンの生合成には多くの酵素が関わっている。一般に酵素の反応速度は温度の影響を直接受けるため, 気温はフロクマリン類生合成の反応速度に影響する因子であると考えられる。日照は, 気温とも関連するが, 同時に紫外線照射量とも密接に関係する因子である。紫外線は細胞や組織に傷害を起こすことが知られており, 日照による紫外線が傷害ストレスを引き起こし, ファイトアレキシンであるフロクマリン類生合成反応のトリガーとなっている可能性もある。このため, 気温と日照は相乗的に作用する可能性があることから, 平均気温と日照時間の積(平均気温×日照時間)とフロクマリン類との相関関係をみた。フロクマリン類と採取日を含む採取まで1~10日間の平均気温×日照時間(積算)の無相関検定結果を表5に示す。

表5 フロクマリン類と平均気温×日照時間(積算)の
無相関検定結果

日数	相関係数(r)	検定統計量(t)	確率
1	0.797	3.231	0.0179
2	0.876	4.457	0.0043
3	0.991	17.97	1.91E-06
4	0.935	6.457	0.0007
5	0.904	5.178	0.0021
6	0.819	3.490	0.0130
7	0.813	3.410	0.0143
8	0.797	3.234	0.0178
9	0.784	3.093	0.0213
10	0.768	2.944	0.0258

平均気温×日照時間においてもフロクマリン類との相関がないことが否定された。日照時間, UVインデックス, 平均気温×日照時間とフロクマリン類には相関があることが言える。この結果から, フロクマリン類に影響を及ぼすのは気温と紫外線である可能性が高い。また, フロクマリン類は平均気温と日照時間のそれぞれとよりも, その積との相関が強い。この二つが相乗的に作用しているなら, どちらか一方の影響を弱めることでフロクマリン類生成量の抑制を期待できるかもしれない。

フロクマリン類と日照時間, UVインデックスとの相関は, 採取前3日が最も強かった。平均気温とでは, 4日間の相関係数が0.744で最も大きかったが, 3日間は0.743と4日間に非常に近い値であった。

3.2 各フロクマリン類と気象条件との相関

フロクマリン類, Pso., Xan., Ber.とフタライド類, Lig., But.の定量分析結果と日照時間, UVインデックス及び平均気温×日照時間とのすべてと相関が強かった採取までの3日間の平均気温, 日照時間, UVインデックスの各気象条件との相関係数を表6に示す。

表6 気象条件とフロクマリン類との相関係数

	相関係数			
	Pso.	Xan.	Ber.	合計
平均気温(積算)	0.047	0.591	0.783	0.743
日照時間(積算)	0.493	0.957	0.841	0.969
UVインデックス(積算)	0.347	0.855	0.877	0.935

表1からわかるように, Pso.含有量は非常に少なく, 全ての気象条件とでは弱い相関しか示さなかった。Xan., Ber.の含有量は, 月によって差があるもののPso.の10倍以上含まれていた。Xan., Ber.とフロクマリン類では, 全ての気象条件と強い正の相関がみられた。特に, 日照及びUVインデックスとでは非常に強い相関が認められた。

図1にフロクマリンの生成経路を示す⁹⁾。

Pso.はXan., Ber.の中間生成物である。上記のことから気温や紫外線の影響を受けた時, Xan., Ber.まで一気に反応が進む可能性が高いと考えられる。

採取日を含む採取前3日の平均気温(積算)×日照時間(積算)と各フロクマリン類との関係を図2に, 各フロクマリン類と採取日を含む採取前3日の平均気温(積算)×UVインデックス(積算)を図3に示す。フロクマリン量と平均気温×日照時間及び平均気温×UVインデックスがシンクロしていた(図2, 3)。フロクマリン量は平均気温, 日照時間及びUVインデックスに大きく影響を受けている可能性がある。

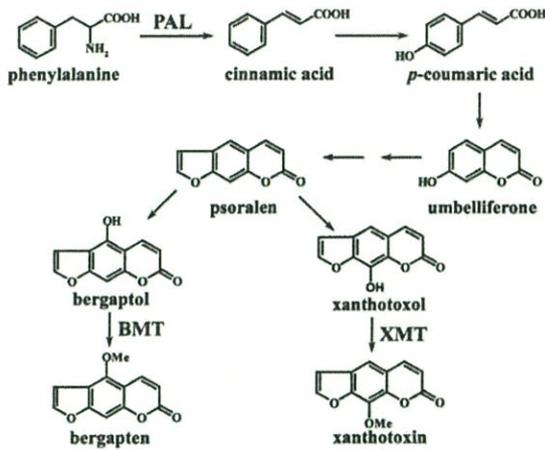


図 1 フロクマリン類生成経路

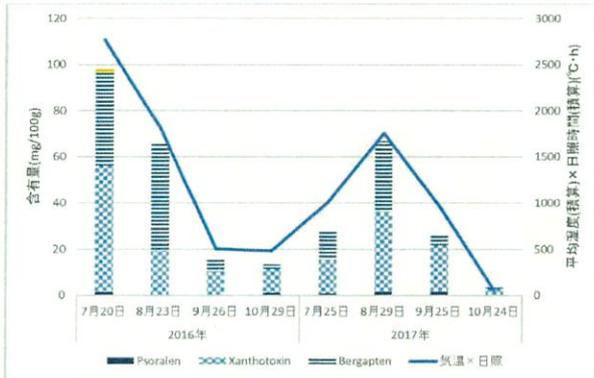


図 2 各フロクマリン量と平均気温×日照時間の関係



図 3 各フロクマリン量と平均気温×UVインデックスの関係

3.3 遮光率と気象条件との相関

遮光ネットを用い、遮光率 50%、30%、遮光なし栽培区におけるフロクマリン類と気象条件との相関をみた。その結果を表 7 に示す。なお、各気象条件は採取前 3 日間を積算したデータを用いた。

遮光なし栽培区では、日照時間と UV インデックスには非常に強い正の相関が認められた。平均気温とでも強い相関がみられた。しかし、何れの気象条件でも遮光率が上が

るほど相関は弱くなっていった。特に、UV インデックスでは顕著であり、遮光率 50%ではフロクマリン類含有量との相関はほとんど認められなかった。このことは、フロクマリン類の生合成に紫外線が影響を及ぼしている可能性を強く示唆している。

表 7 遮光率と気象条件との相関係数

	平均気温	日照時間	UV インデックス
遮光率 50%	0.228	0.218	0.186
遮光率 30%	0.544	0.470	0.498
遮光なし	0.743	0.969	0.935

3.4 フタライド含有量と気象条件との相関

フタライド類と平均気温、日照時間と UV インデックスの相関係数を表 8, 9, 10 に示す。なお、気象条件は何れも採取日を含む積算したデータを用いた。

フロクマリン類とでは強い正の相関を示した気象条件が、Lig では負の相関を示した。

But.は、何れもほとんど相関がなかった。Lig.と日照時間及び UV インデックスとの負の相関は、採取までの期間が長くなるほど弱くなる傾向がみられた。

表 8 フタライド量と平均気温との相関係数

	Lig.	But.	合計
3 日間	-0.370	-0.409	-0.377
5 日間	-0.376	-0.398	-0.382
7 日間	-0.368	-0.367	-0.374
10 日間	-0.347	-0.359	-0.353

表 9 フタライド量と日照時間との相関係数

	Lig.	But.	合計
3 日間	-0.741	0.139	-0.742
5 日間	-0.686	0.040	-0.688
7 日間	-0.601	0.168	-0.601
10 日間	-0.478	0.123	-0.478

表 10 フタライド類と UV インデックスとの相関係数

	Lig.	But.	合計
3 日間	-0.673	-0.075	-0.676
5 日間	-0.627	-0.139	-0.631
7 日間	-0.629	-0.069	-0.632
10 日間	-0.367	0.109	-0.667

3.5 フロクマリン類とフタライド類との相関

フロクマリン類とフタライド類との相関を表 11 に示す。

このことから, フロクマリン類と Lig.両方の生合成に影響を及ぼす因子があると推定される. フロクマリン類の生合成を抑制することにより, Lig.蓄積量の減少を抑えられると期待できる.

表 11 フロクマリン類とフタライド類の相関係数

	Lig.	But.	フタライド類
フロクマリン類	-0.743	-0.012	-0.746

4. 結言

本研究での主な結果は次のとおりである.

- 1) フロクマリン類と気象条件との相関関係から, 影響を及ぼす気象条件は平均気温と日照時間である可能性が示唆された.
- 2) 平均気温と日照時間がフロクマリン類に大きな影響を及ぼす期間は採取日を含む 3 日間であることが推察された.
- 3) 平均気温, 日照時間それぞれ単独よりも, 平均気温と日照時間の積とフロクマリン類に強い相関関係があることから, この二つの因子が相乗的に作用していると推測される.
- 4) 遮光率が上がるほど, 平均気温, 日照時間, UV インデックスともフロクマリン類との相関は弱くなった.
- 5) フロクマリン類とフタライド類とは, 負の相関関係が認められた.

以上を踏まえ, 今後, フロクマリン類に影響を与える因子について詳細な検討を行う予定である.

参考文献

- 1) 北野文理, 大住優子, 植山高光, 北田善三, HPLC による当帰葉および茎中のフタライド類およびフロクマリン類成分同時分析, 日本食品化学学会誌, Vol. 22, 51-55, 2015
- 2) The Committee of Japanese Pharmacopoeia Guide Book.ed., The Guide Book of Japanese pharmacopoeia.15th ed., Hirokawa Publishing, 2006, p.D490-D495
- 3) Anetai, M., Shibata, T., Sato, M., Preparation and chemical evaluation of angelicae radix (Part IX) Increase in contents of some constituents by drying at 40°C of fresh root of *Angelica acutiloba* var. *sugiyamae*, Pharm. Med. Device Regul. Sci., 41, 736-741, 2010
- 4) 首藤明子, 大橋正孝, 清水浩美, 生薬の医薬品以外の部位を食品に利用するための加工技術の開発 (第3報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.44, 6-9, 2018
- 5) Anetai, M., Masuda, T., Takasugi, M., Natural Medicines, 50, 399-403, 1996
- 6) 気象庁 <https://www.jma.go.jp/jma/>
- 7) J. A. Hargreaves, J. W. Mansfield, Stephen Rossall, Changes in phytoalexin concentrations in tissues of the broad bean plant following inoculation with species of *Botrytis*, Physiological Plant Pathology, 11(3), 227-242, 1977
- 8) Terato, M., Ishikawa, A., Yamada, K., Ozeki, Y., Kitamura, Y., Increased furanocoumarin production by *Glehnia littoralis* roots induced via *Agrobacterium rhizogenes* infection, Plant Biotechnology, 28, 317-321, 2011