

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成24年 1月27日受理

産技連/食品機能成分分析研究会 編

s-food@m.aist.go.jp

水不溶性の柿(カキ)成分乾燥粉末中の縮合型タンニン含有量測定法

作成者： 岐阜県産業技術センター 専門研究員 横山慎一郎

e-mail: yokoyama-shinichiro@pref.gifu.lg.jp

石川県立大学 生物資源環境学部食品科学科准教授 松本健司

e-mail: kmatsu@ishikawa-pu.ac.jp

1. 柿(カキ)について

1. 1 概要

柿は東アジアをその起源とし、山形県以南の日本全国各地で様々な品種が栽培され、日本人にとって最も馴染み深い果物のひとつである。

岐阜県は、古くから有数の柿の生産地であり、年間約 15,500 トン（全国 4 位、農林水産省出荷統計 2009 より）の生産量である。岐阜発祥の固有品種としては、甘柿として「富有」、渋柿として「蜂屋」がよく知られる。特にその干し柿である「堂上蜂屋柿」は千年の歴史を持ち、歴代の皇室や将軍に献上されてきた。またスローフード協会（本部イタリア）によって食の世界遺産とも呼ばれる「味の箱舟」に認定されている。

こうした柿のブランドを高め、品質を維持していく中で、未成熟摘果（図 1-1）が年間約 900 トン排出され、その有効利用が求められていた。近年ではこうした柿未成熟果を乾燥、粉末化（図 1-2）し、パンやお菓子等に添加し活用する取組がなされている。

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

柿摂取の効能については、風邪予防、美肌効果、



図 1-1 未成熟蜂屋柿果実



図 1-2 柿未成熟果乾燥粉末
(蜂屋、八尋産業㈱から提供)

高血圧予防、動脈硬化予防、脳梗塞予防、心筋梗塞予防、がん予防、二日酔い改善等、いくつかの報告がある。近年著者らは、柿未成熟果の乾燥粉末に血中コレステロール低減効果があり、この効果は高コレステロール血症患者に処方されるコレスチラミンといった陰イオン交換樹脂系の胆汁酸排泄促進薬とそのメカニズム（胆汁酸を吸着し排泄する）が共通していること¹⁾、その主たる活性成分は縮合型タンニンであること²⁾を報告している。

1. 2. 1 縮合型タンニンを含む食品

縮合型タンニンが豊富に含まれるとされる食品類は、柿の他、茶、ワインなどである。特に柿未成熟果乾燥粉末には5-30%（w/w）程度と高濃度に含まれる。

<引用・参考文献>

1. K.Matsumoto, S.Yokoyama and N.Gato, *Phytother.Res.*, 24, p205-210 (2010)
2. K.Matsumoto et al, *Phytother.Res.*, 25, p624-628 (2011)

2. 縮合型タンニンについての説明

縮合型タンニンは、いくつかのフラボノイドが炭素-炭素結合によって高分子になったプロアントシアニジン骨格を有し、分解を受けにくく、水に不溶である。柿由来の縮合型タンニンは、エピガロカテキン-3-*O*-ガレート（R1=OH、R2=ガロイル基）を主要な構成とし、その他にエピカテキンガレート（R1=OH、R2=OH）、エピカテキン（R1=H、R2=ガロイル基）、エピカテキン-3-*O*-ガレート（R1=H、R2=ガロイル基）の計4種のフラボノイドから構成される²⁾（図2-1）。

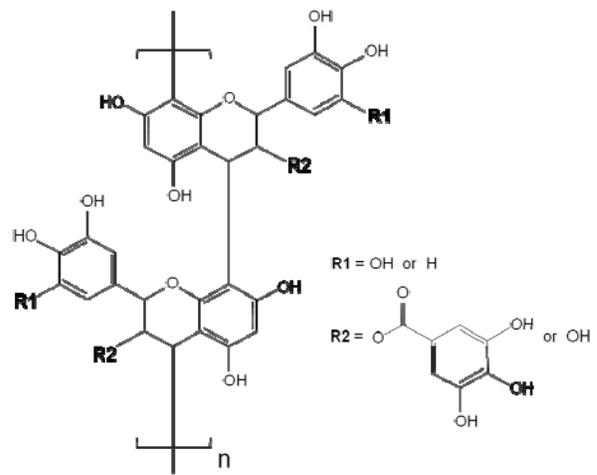


図2-1 縮合型柿タンニンの構造

3. 定量分析の方法について

柿未成熟果乾燥粉末の製造、および粉末中の縮合型タンニンの定量方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

1. 電気乾燥庫（静岡製機社製）
2. 脱水機（家庭用洗濯機でよい）
3. ミルミキサー（大阪ケミカル社製）

4. 15mL 容遮光試験管（普通の試験管をアルミ箔で覆ってもよい）
5. 冷却管付抽出装置（フラスコに冷却器を取り付けたもの）
6. ウォーターバス（80℃に加熱できるもの）
7. 分光光度計（500nm の波長が測定できるもの）

[試薬]

1. バニリン（特級）
2. 濃塩酸（特級）
3. メタノール（特級）
4. ろ紙（Watman 社製 3MM Chr など）
5. (+) -カテキン（純度 \geq 98%、MP Biomedicals 社製など）

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. 6-8 月に得られる緑色の果皮を有する直径 6cm 以下の柿果実のヘタを除き、皮ごと厚さ 3mm 程度のスライス状に裁断し、60℃で 8 時間温風乾燥させる。
2. 得られた柿果実乾燥物を洗濯ネットに入れ、流水（室温）中で 30 分間浸漬・水洗し、水溶性画分を除去する。
3. 水洗した上記柿果実を家庭用洗濯機で 5 分間脱水し、再度同様 60℃で 8 時間温風乾燥させる。
4. 乾燥した上記柿果実をミルミキサーで直径 1mm 以下の粉末に粉碎し、乾燥粉末試料とする。

3. 3 縮合型タンニンの定量法（バニリン塩酸塩法）

1. 500mL 容のフラスコに乾燥粉末試料 2.0g を入れ、塩酸-70%メタノール溶液（メタノール：蒸留水：濃塩酸=70:29:1 の割合で混合した溶液）100mL を加える。
2. 冷却管に取り付け、80℃のウォーターバスで加熱。フラスコの内部が沸騰し始めてから 30 分間抽出する。
3. ろ紙でろ過し、抽出液を回収。ろ紙上の粉末試料を回収し、再度塩酸-70%メタノール溶液 100mL により同様に抽出を行う。
4. 同様にろ過し、抽出液を回収。1 回目の抽出液と合わせ、タンニン定量用試料液とする（遮光保存）。
5. メタノールで 5 倍希釈した上記タンニン定量用試料液 200 μ L を、遮光試験管に入れ、さらに 4%バニリン-メタノール溶液 1.2mL、濃塩酸 600 μ L を添加し、よく混ぜ、15 分間放置する。
6. 上記試料液の光路波長 500nm における吸光度を測定する。
7. (+) -カテキン（1,000 μ g/mL をメタノールで 2 倍ずつ 5 段階希釈）についても同様の操作を行い、検量線を作成し、試料溶液中の縮合型タンニン含有量をカテキン換算量として示す。
8. 各試料液につき 3 回ずつ試行し、その平均値を求める。

4. 分析例

4. 1

種々の品種の柿未成熟果乾燥粉末中の縮合型タンニンの定量分析例

定量には標準試料に (+) -カテキンを用い、その検量線 (0-1,000mg/mL) からカテキン換算値として濃度を算出する。図4-1に種々の品種の柿未成熟果乾燥粉末1gあたりの縮合型タンニン含有量を示す。蜂屋柿の縮合型タンニン含量が最も高い。

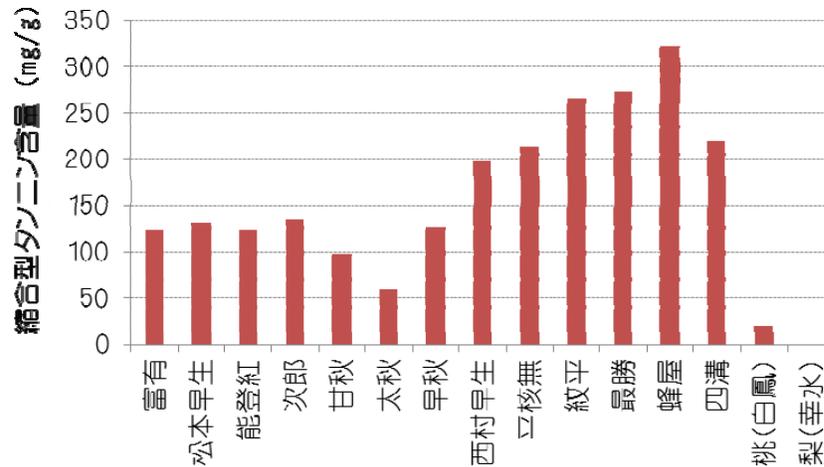


図4-1 種々の品種の柿未成熟果乾燥粉末中の縮合型タンニン定量分析例

5. 分析上の留意、注意点

ここで示したデータは一例であり、縮合型タンニン含量については、気候や摘果の時期による影響を受けるものと思われる。

試料液およびカテキン標準液は、調製後、測定まで遮光試験管等で保存（常温でよい）するのが望ましい。

-以上-