カキの葉の組織構造並びに食物繊維成分について

楠 喜久枝*・藤田 守*・松隈美紀*・馬場良子*
三成由美*・田所忠弘**・印南 敏***・前川昭男**

Studies on Microscopic Observations of Tissue Structures and Dietary Fiber Components in Persimmon (*Diospyros Kaki*) Leaves

KUSUNOKI Kikue*, FUJITA Mamoru*, MATSUGUMA Miki*, BABA Ryoko*
MINARI Yoshimi*, TADOKORO Tadahiro**, INNAMI Satoshi*** and MAEKAWA Akio**

*Department of Food and Nutrition, Faculty of Home Economics, Nakamura Gakuen University,
5-7-1 Befu, Jyonan-ku, Fukuoka 814-01

**Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156

***Department of Nutrition, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,
1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156

Morphological and histochemical changes of tissue structures in persimmon leaves were investigated using a fresh leaf, a freeze-dried powder and a semi-purified dietary fiber preparation isolated from the powder. Concentration and composition of dietary fiber (DF) and other chemical components in the latter two samples were also analyzed. Morphological observation showed that the fresh persimmon leaf distributed palisade and spongy parenchyma between the upper and lower epidermis. It was observed by histochemical techniques that the cell walls and vacuoles of the cells were stained strongly by Periodic Acid Schiff (PAS) reagent. The PAS reaction with the cell walls and vacuoles of May and July leaves was much stronger than those of the September leaf. The cell walls of all fresh leaves each month were stained by Alcian Blue (AB, pH2.5 or pH1.0) with almost the same intensity. The cells in the freeze-dried specimen were found to be morphologically nearly intact and the cell walls were stained by PAS and AB reagents with the same intensity as those of fresh leaves. The existence of polysaccharides, which were stained by PAS and AB reagents, was also observed in the semi-purified DF preparation. The freeze-dried specimen contained from 41 to 43% (dry basis) DF which consisted of almost equal amounts of lignin, cellulose and hemicellulose. These results suggest that persimmon leaves are constituted by 4 main tissues and contain dietary fiber with a complex structure consisting of nearly an equal amount of major plant fiber components and a small amount of pectic substance and mucopolysaccharide-like substances as acid polysaccharides in the cell walls. (Received Aug. 6, 1996)

*中村学園大学食物栄養学科 (〒814-01 福岡市城南区別府 5-7-1)

**東京農業大学農学部農芸化学科 (〒156 東京都世田谷区桜丘 1-1-1)

***東京農業大学農学部栄養学科 (〒156 東京都世田谷区桜丘 1-1-1)

カキ (*Diospyros Kaki* Linn. f.) の葉は古くは中国で薬膳用の中薬¹⁾として、わが国でも民間薬の要素をもつものとして煎汁またはカキ茶の形で利用されてきた²⁾。カキの栄養学的有用性は一般の野菜や果物、及びあらゆる樹木葉に比べてアスコルビン酸 (AsA) 含有量の高いことで古くは三輪²⁾を始めとしていくつかの研究報告がある^{3)~5)}。

筆者らも先にカキ茶の有効利用を図る一環として、AsA含有量の季節変動やその嗜好性の他、人体におけるAsAの利用などについて報告を行ってきた^{6)~8)}。最近、食品成分の機能性が関心を集めているが、カキの葉にはポリフェノールやフラボノイドなどの抗酸化成分が含まれることも報告されており^{4),9)}、その点からも注目すべき素材といえる。

ところで、山下⁴⁾は一連の研究の中で、便秘性の慢性腎炎の患者と肋膜炎の患者にカキ茶粉末を投与したところ排便回数の増加を認め、習慣性便秘症に有効であったことを報告している。このことは、カキ茶粉末にも食物繊維 (Dietary fiber, DF) が多く含まれている可能性を示唆している。何故なら、食物繊維は一般的に糞便量を増大させ、排便頻度を高め、便秘を予防、改善することが古くから知られているからである¹⁰⁾。

同様な茶粉末である抹茶に約40%のDFが含まれていることも示唆的である¹¹⁾。近年における栄養学領域の研究の進歩は、DFが従来の必須栄養素とは異なる作用で、人間の健康に密接にかかわり、恒常性の維持作用とそれに伴う疾病の予防的役割をもつ物質と位置づけるようになった。

その結果、今日ではDFの目標摂取量さえ設定されるにいたっている¹²⁾。

しかしながら、カキ茶粉末のDF含量ばかりでなく、DFそのものについての詳細な研究はみられない。そこで、本研究ではまず、カキ茶素材としての生葉とその凍結乾燥粉末の組織構造について形態学的、組織化学的な面から基礎的検討を行うとともに、カキの葉粉末及びその抽出標品のDFについて検討したので報告する。

材料および方法

1. 材 料

福岡県朝倉郡夢野において、樹齢40年の富有種のカキの生葉を平成7年5、7及び9月に地上2.0mの南側より採取して用いた。

2. 生葉の形態学的観察法

カキ生葉の形態的特徴を知る目的で、生葉の中央脈を含まない中心部をそれぞれ以下の顕微鏡観察のために供

試した。

1) 光学顕微鏡による形態学的観察法 供試した葉の10mm四方を切りだし、0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.4) で調整した4.0%ホルムアルデヒドで24時間固定後、エタノール濃度を順次上昇させて (70, 80, 90, 95, 99%, 無水アルコール) 脱水を行い、キシロールで透徹、パラフィン (Histosec; MERCK社) 包理を行った。試料は、ミクロトームで6.0 μ mの切片を作製後脱パラフィンを行い、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し、光学顕微鏡で観察した。同様の方法を用いて、カキの葉の凍結乾燥粉末試料および抽出DF標品の観察も行った。

2) 透過型電子顕微鏡による観察法 カキの葉の微細構造を観察するために、9月に採取した葉を1.0mm四方に細切し、0.1Mカコジル酸緩衝液 (pH7.4) で調整した2.0%パラホルムアルデヒド (TAAB社) 及び2.5%グルタルアルデヒド (TAAB社) の混合液 (half-Karnovsky) で前固定し、カコジル酸緩衝液で洗浄後、1.0%四酸化オスミウム (TAAB社) で後固定を行った。その後、水洗し、エタノール濃度を順次上昇させて (55, 75, 95%, 無水アルコール) 脱水を行い、プロピレンオキサイド (石津製薬株式会社) を用いた後、エポキシ樹脂に試料を包理し、恒温器内に入れ60℃で重合を行った。

その後、超ミクロトーム (EM-ULTRA CUT Reichert-J社・WIEN・AUSTRIA) で光学顕微鏡用に1.0 μ mの準超薄切片を作製し、トルイジンブルー (TB, TAAB社) 染色を施し、光学顕微鏡で観察した。さらにダイヤモンドナイフで電子顕微鏡用超薄切片を作製し、酢酸ウラニル (MERCK社)、クエン酸鉛 (TAAB社) で二重染色後、透過型電子顕微鏡 (JEM-1200EX; 日本電子株式会社) で観察を行った。

3) 走査型電子顕微鏡による観察法 供試した葉の1mmを前述の2)と同様に脱水後、t-ブチルアルコールに置換、凍結後t-ブチルアルコール凍結乾燥 (EIKO Engineering Co., LTD.) を行った。乾燥後、金パラジウム蒸着を施し、走査型電子顕微鏡 (JSM-5400; 日本電子株式会社) を用いて観察した。

同様の方法を用いてカキの葉の凍結乾燥粉末試料および抽出DF標品の観察も行った。

3. 組織化学的観察法

カキの葉におけるDFおよびその他の多糖類の局在を知る目的で、供試葉を組織化学的な検索に供した。

1) 過ヨウ素酸-Schiff (PAS) 反応 多糖類の検出法としてPAS反応^{13),14)}を行った。6.0 μ mのパラフ

イン切片を作製し、脱パラフィン、1.0%過ヨウ素酸で5分間酸化反応後、cold Schiff試薬(武藤化学薬品株式会社)で15分間呈色し、光学顕微鏡で観察した。同様の方法を用いて、カキの葉の凍結乾燥粉末試料及び抽出DF標品についても観察を行った。

2) アルシアンブルー (AB) pH2.5及びpH1.0染色法
酸性多糖類を検出するため、ABのpH2.5染色¹⁴⁾及びpH1.0染色¹⁵⁾を行った。

ABpH2.5染色法は、3.0%酢酸水になじませた後、pH2.5染色液(武藤化学薬品株式会社)に30分間浸し、さらに3.0%酢酸水で3分間洗った。

ABpH1.0染色は、切片を0.1N塩酸水に浸漬後pH1.0染色液(武藤化学薬品株式会社)に30分間浸し、さらに0.1N塩酸水で3分間洗った。染色後の切片は、それぞれ封入し、光学顕微鏡で観察を行った。同様の方法を用いて、カキの葉の凍結乾燥粉末試料及び抽出DF標品についても観察を行った。

4. 凍結乾燥粉末の調整法

カキの葉のDFを始めとする各種成分を分析し、さらにDF標品を得るために、凍結乾燥粉末を調整した。すなわち、生葉試料を5mmにミンチ機(ミートチョッパーM22:南常鉄工株式会社,大阪府)で粉砕し、乾燥機内の棚温度-25℃~-30℃(この時の品温は-10℃~-15℃)で予備凍結を5時間行った。

次に真空凍結乾燥機(米国FMC社製 改良型)を用いて機内の真空を1 Torr以下で棚温が-25℃~-30℃より乾燥を始めて、15時間かけて60℃~65℃まで上げて乾燥した。

その後1mmパス(16メッシュ)のフルイにかけて製品にした。このときの製品の最終品温は45℃で水分含量は5%以下となった。

5. 凍結乾燥粉末からのDF標品の抽出法

カキの葉のDFの組織構造を知るために、DF標品の抽出を行った。凍結乾燥粉末10gを500mlのビーカーに取り、85%メタノールを50ml加え、沸騰水浴中で加温しながらよく攪拌した。メタノールが沸騰し始めたら直ちにガラスフィルターで濾過した。この時ビーカー内の残渣は、メタノールですべてフィルター内に洗いこんだ。

以上の操作を3, 4回繰り返して、0.1Mナトリウムリン酸緩衝液(pH6.8)を50ml加え、試料を80℃, 15分にて糊化した。冷却後、2%のパンクレアチン(Sigma社)を5ml加え、40℃, 5時間反応させた。4倍量のエタノールを添加し、沈澱を生成した後、吸引濾過を行い残渣をエタノール、アセトンで数回洗浄し、自然乾燥した。

6. 凍結乾燥粉末及び抽出DF標品の成分分析法

水分、タンパク質、脂質及び灰分は、常法により測定した。総食物繊維(TDF)はLEE¹⁶⁾らのAOAC変法、DF画分の測定はSOUTHGATEらの方法¹⁷⁾に従った。ペクチン質は可溶性と不溶性に分け、それぞれm-ヒドロキシジフェニール法¹⁸⁾により測定し、両者を合計して全ペクチン量とした。

上記の成分分析結果は、いずれも3あるいは4測定値の平均値として表した。

結 果

1. 生葉の形態学的観察

1) 光学顕微鏡による形態学的観察 カキの葉の5, 7及び9月におけるHE染色及びTB染色の結果をそれぞれFig.1に示した。葉の横断面には、上面の表皮、柵状組織、海綿状組織、下面の表皮の4層が観察された。

上面の表皮は中央部に大きな液胞をもった1層の表皮細胞から成り、5, 7, 9月と成熟するにつれて円柱状から立方状、さらに扁平状へ移行した。

柵状組織は1層の円柱状の細胞から成り、細胞の中央に核、その上部及び下部の細胞質に棒状の液胞が観察された。

海綿状組織は円形の細胞で構成され、細胞周縁部に核が存在し、細胞質の大部分を占める巨大な液胞が観察された。

5月葉は各組織の細胞が密に配列しているのに対し、7月葉は海綿状組織に細胞間隙が観察され、9月葉になると、さらに細胞間隙は拡大した。

下面の表皮は1層の立方状の表皮細胞から成り、気孔を構成する小型の孔辺細胞もところどころに認められた。

2) 透過型電子顕微鏡による観察 観察の結果をFig.2に示した。表皮細胞の上面にはクチクラが観察され、表皮細胞の中央部には発達した液胞がみられた。また、隣接する表皮細胞の細胞壁は湾曲し、表皮細胞間には細胞間隙はみられなかった。

柵状組織の細胞壁は上面の表皮細胞より薄く、隣接する細胞間には原形質連絡が認められた。そして細胞の中心部には核がみられ、核の上部及び下部には多数の液胞がみられた。また、細胞の周縁部には葉緑体が多数観察され、葉緑体の内部にはデンプン粒が認められた。

海綿状組織の細胞壁は、表皮細胞より薄く、細胞の中央部には発達した液胞がみられ、細胞質の大部分を占めていた。細胞の周縁部には柵状組織と同様、葉緑体が観察され、葉緑体の内部にはデンプン粒も認められた。また、細胞間隙が発達していた。

細胞壁は上面の表皮細胞のクチクラ側において最も厚く、隣接する細胞間では中層が見られるものもあったが、組織間で差異は認められなかった。

3) 走査型電子顕微鏡による観察 観察の結果をFig. 3 a, b, cに示した。カキの葉の横断面 (Fig. 3 a) では、上面の表皮、柵状組織、海綿状組織及び下面の表皮の4層の立体的構築が観察された。

上面の表皮細胞は自由表面側の細胞壁中央部に盛り上がりが見られた。柵状組織は1層の円柱状の細胞が密に配列し、また、海綿状組織では、細胞の一部が相互に接着して網目状構造を呈した。下面の表皮では表皮細胞と孔辺細胞がみられ、ところどころに長い毛状突起が観察された。

葉を表皮と平行に中心部より割断し、柵状組織側 (Fig. 3 b) と海綿状組織側 (Fig. 3 c) とに分割し、組織内部より観察を行ったところ、柵状組織側では、円柱状細胞が密につまり、一方、海綿状組織側では、三次元的網目構造が観察された。

また、柵状組織側及び海綿状組織側において、葉脈の構造も観察された。

2. 生葉の組織化学的観察

1) PAS反応 5, 7及び9月葉のPAS反応の結果をFig. 4 (1-a, b, c)に示した。いずれの月も上面の表皮では、表皮細胞の細胞壁及び細胞内の大部分を占める液胞が濃い赤紫色を呈した。特に、表皮細胞のクチクラ側の細胞壁に強い反応が認められた。

柵状組織の細胞では、細胞壁、そして棒状にのびた液胞及び顆粒状構造に反応が見られ、特に液胞が強い反応を示した。9月葉と比較して、5月及び7月葉で強い反応が見られた。

海綿状組織では、円形をした細胞の細胞壁、液胞、及び顆粒状構造が赤紫色を呈した。下面の表皮では、表皮細胞と孔辺細胞の細胞壁及び液胞に反応が見られた。しかし、海綿状組織と下面の表皮には、上面の表皮細胞の細胞壁及び柵状組織の細胞の液胞のように強い反応は見られなかった。

2) ABpH2.5及びpH1.0染色 5, 7及び9月葉をABpH2.5で染色した結果をFig. 4 (2-a, b, c)に示した。上面の表皮では、細胞壁が濃青色を呈し、特に、クチクラ層が強く染色された。これに比べ柵状組織と海綿状組織では、反応が弱かった。また、下面の表皮では、特に孔辺細胞の細胞壁が濃青色を呈した。

ABpH1.0染色の結果をFig. 4 (3-a, b, c)に示した。上面の表皮細胞の細胞壁は青色、柵状組織の円柱状細胞の細胞壁は薄青色、海綿状組織の円形の細胞の細胞

Table 1 Content and composition of TDF in freeze-dried powder of persimmon¹

Kinds of DF	May	July	September
	g/100 g dry matter		
TDF ²	44.4	41.6	42.8
SDF ²	2.7	2.7	2.9
IDF ²			
Hemicellulose	13.7	13.0	12.8
Cellulose	13.4	11.0	10.8
Lignin	14.6	14.9	16.3
Total pectin	2.8	2.7	2.9
Soluble	0.7	0.8	1.1
Insoluble	2.1	1.9	1.8

1 Each value represents the mean of triplicate determinations.

2 TDF: Total dietary fiber, SDF: Soluble dietary fiber
IDF: Insoluble dietary fiber

壁は薄青色、下面の表皮の表皮細胞及び孔辺細胞の細胞壁は青色に染色された。

ABpH2.5とpH1.0染色試料を比較すると、ABpH2.5染色試料の方が強く染色された。

3. 凍結乾燥粉末

1) DFの含量とその組成 5, 7及び9月葉の試料中のDFの含量とその組成をTable. 1に示した。

いずれの月のDF含量も40%を超え、42~44%の範囲内にあり、大きな変動は見られなかった水溶性難消化性多糖類 (SDF) は僅かで、そのほとんどがペクチン質であった。不溶性食物繊維 (IDF) ではヘミセルロース、セルロース、リグニンがほぼ同じ割合で含まれるが、リグニンの含量はどの月の試料でも多い傾向を示した。特に9月の試料では他の月に比べて含量の高いことを認めた。

2) 走査型電子顕微鏡による観察 凍結乾燥した試料を走査型電子顕微鏡を用いて観察した結果をFig. 5 aに示した。

その結果、試料がミキサーで細かく粉碎されたにもかかわらず、生葉の立体構築で観察された上面の表皮、柵状組織、海綿状組織、及び下面の表皮の4層が比較的保持されていた。

3) 組織化学的観察

(a) HE染色: HE染色の結果をFig. 6 aに示した。細かく粉碎された組織小片は上面の表皮、柵状組織、海綿状組織及び下面の表皮の4層が比較的保持されていた。柵状組織及び海綿状組織の細胞は縮小し、細胞間隙は拡大しているのが観察された。各層を構成する細胞の細胞質は縮小されていた。

(b) PAS反応: PAS反応の結果をFig. 6 bに示した。上面の表皮、柵状組織、海綿状組織、及び下面の表

Table 2 Analytical data for semi-purified dietary fiber preparation isolated from freeze - dried powder of persimmon¹⁾

Item	Moisture	Protein	Lipids	Ash	TDF ²⁾
%	5.7	20.1	—	8.9	65.3

1) Each value represents the mean of duplicate determinations except TDF.

2) TDF: Total dietary fiber. This value represents the mean of four determinations.

皮の細胞壁及び液胞が赤紫色を呈した。特に、上面と下面の表皮細胞の細胞壁及び上面の表皮細胞の液胞に強い反応が認められた。

(c) **AB染色**：ABpH2.5染色の結果をFig. 6 cに示した。上面の表皮、柵状組織、海綿状組織及び下面の表皮の細胞壁が青く染色された。特に、上面の表皮細胞の自由表面側細胞壁及び下面の表皮細胞の細胞壁が濃青色を呈した。

ABpH1.0染色の結果をFig. 6 dに示した。上面の表皮、柵状組織、海綿状組織、及び下面の表皮の細胞壁が薄い青色を呈した。上面の表皮細胞のクチクラ側の細胞壁及び下面の表皮細胞の細胞壁が青く染色された。ABpH2.5染色試料とABpH1.0染色試料を比較すると、ABpH2.5染色試料の方が強く染色された。

4. 抽出DF標品

1) **DF標品の抽出率と一般成分** 結果をTable. 2に示した。DFの抽出は2回行い、平均収率は69.0% (68.6%と69.3%)であった。

この標品におけるTDF含量の平均値(4測定値)は65.3%であり、他に、この標品はかなりのタンパク質と灰分を含むことを認めた。

2) **走査型電子顕微鏡による観察** 抽出食物繊維を走査型電子顕微鏡を用いて観察した結果をFig. 5 bに示した。

抽出食物繊維試料は凍結乾燥粉末試料と比較して4層の組織は細胞の配列が乱れ、細胞壁が変形し、細胞の形態的变化が見られた。

3) 組織化学的観察

(a) **HE染色**：HE染色の結果をFig. 7 aに示した。生葉で観察された4層の組織は細胞の配列が乱れ細胞壁は観察されたが、大部分の細胞において核、細胞小器官及び細胞基質は消失していた。上面の表皮の表皮細胞内の液胞がわずかに観察された。

(b) **PAS反応**：PAS反応の結果をFig. 7 bに示した。細胞壁及び上面の表皮細胞内の液胞は濃い赤紫色を呈した。

(c) **AB染色**：ABpH2.5染色及びpH1.0染色の結果をそれぞれFig. 7 c, dに示した。前者の場合、細胞壁は青色を呈した。後者の場合、細胞壁は薄青色を呈した。

考 察

カキの生葉のHE染色及びTB染色の結果より、上面の表皮、柵状組織、海綿状組織、下面の表皮の4層から成ることが分かった。また、柵状組織は単層から成り、茶葉の2層とは形態を異にしている(楠; 未発表)。このことは両者の葉の表面積と光合成に関連していると思われる。

透過型電子顕微鏡で観察した結果、上面の表皮の外表面にはクチクラの存在と細胞壁が顕著に肥厚し、細胞内の中央部には発達した液胞の存在することが示された。また、隣接する表皮細胞の細胞壁は湾曲していた。カキの葉を走査型電子顕微鏡により観察した結果、葉の表面では凹凸があり、下面では、表皮細胞に隣接する気孔がみられ、一對の孔辺細胞が観察された。また、葉脈付近には長い毛状突起が観察された。

柵状組織の細胞は規則正しく配列しているのに対して、海綿状組織では、細胞間隙が発達し網目状構造として観察された。

一般的に、細胞壁はセルロース微繊維とマトリックス多糖類からなる超分子構造をもつといわれている^{19),20)}。また、植物の細胞表層糖鎖はゴルジ装置または細胞膜で合成され、細胞膜ではセルロースと1, 3- β -グルカンのみを合成し、その他の糖類はすべてゴルジ装置で合成される。

合成された糖鎖は、ゴルジ小胞によって細胞外へ分泌され、ゴルジ小胞と細胞膜が融合する際に、糖鎖が細胞壁の構成成分として組み込まれる機構とセルロースの合成が深くかかわっているといわれている²¹⁾。

これらのことから、本研究に用いたカキの葉においても、形態学的、組織化学的検索及び凍結乾燥粉末に含まれるDF含量とその組成を測定した結果より、カキの葉の細胞壁、特に上面の表皮のクチクラ側の細胞壁にセルロース、ヘミセルロース及びリグニンなどのDFやペクチンのような水溶性難消化性多糖類の存在している可能性が示唆された。

上面の表皮で顕著に見られた隣接する表皮細胞の細胞壁の湾曲構造は、表皮細胞間の結合強度を高めていると考えられた。

柵状組織の細胞では、細胞の中心部に核が位置し、核上部及び核下部には大小多数の液胞が見られた。このこ

とから、光学顕微鏡によるPAS反応の観察で認められた棒状の液胞は多糖類を含む大小多数の液胞によることが確認された。

海綿状組織の細胞では、広大な細胞間隙が観察され、細胞中央部には発達した液胞が見られ、細胞質の大部分を占めていた。PAS反応は、多糖類の組織化学的証明法として広く用いられている^{(13),(14),(22),(23)}。本実験のPAS反応の検索結果より、各層の細胞壁、液胞及び顆粒状構造に反応が見られた。特に、上面と下面の表皮細胞の細胞壁及び柵状組織の円柱細胞内の核上部と核下部に見られる棒状の液胞に強い反応が認められた。このことから、カキの葉において多糖類は各層の細胞壁、液胞及び顆粒状構造、特に上面及び下面の表皮の細胞壁、柵状組織の液胞に局在することが示唆された。また、柵状組織及び海綿状組織において細胞の辺縁部に観察された顆粒状構造は、透過型電子顕微鏡による観察の結果より、葉緑体に含まれる澱粉粒であることが示された。

AB染色は、動物組織における酸性ムコ多糖類の染色法として広く用いられている。特異性はAB溶液中の水素イオン濃度、または電解質濃度によって変化することが知られている。AB染色はpH2.5では、スルホン基を有する多糖類とシアル基を有する多糖類を染色し、pH1.0では、スルホン基を有する多糖類のみを特異的に染色することが知られている^{(14),(15),(24),(25)}。本実験におけるABpH2.5染色の検索結果より、各層の細胞壁が青染され、特に上面及び下面の表皮細胞の細胞壁が濃く染色された。ABpH1.0染色の検索結果、上面及び下面の表皮細胞の細胞壁が青く染色されており、柵状組織及び海綿状組織の細胞の細胞壁は薄い青色を呈した。

これらの結果より、カキの葉の各層を構成する細胞の細胞壁には、スルホン基及びシアル基を有する酸性多糖類様物質の存在する可能性が推測された。

カキの葉の凍結乾燥粉末中には、DFが抹茶粉末とほぼ同程度含まれることが判明した。印南は別にカキの葉の凍結乾燥粉末中のDF量を酵素重量法で測定した結果、47.5%と42.8%という値を得ている（未発表）。したがって、カキの葉の粉末は良好なDF給源であるといえる。

DFの組成を見ると、IDFが大部分でTDFの94%をしめる。セルロース、ヘミセルロース、リグニンがほぼ同量含まれるが、リグニンの含量が多い傾向を認めた。SDFはごくわずかでほとんどがペクチン質であった。山下¹⁾はカキ茶粉末を便秘性の患者に投与し、便秘の改善を認めているが、発酵されにくいDF成分を多く含むことが原因していると推察される。

リグニンがセルロースやヘミセルロースより多く含ま

れる代表的な食品例としてはココアがあるが、緑葉野菜のDF組成を調べた成績でもこのような現象はほとんど見られていない⁽²⁶⁾。リグニンは胆汁酸吸着能の強いDF^{(27),(28)}として知られているので、大腸内における二次胆汁酸の生成や排泄の観点からも注目してよいDF素材かもしれない。

凍結乾燥粉末から抽出されたDF標品の回収率は約70%であった。そのDF含量は65%であり、なお、20%ものタンパク質を含んでいた。今回はできるだけ温和な条件での抽出を選択したため、精製が不十分であったことを否めない。したがって、DF標品の抽出には、尚検討を要する点があるが、酵素を用いたDFの抽出の場合、タンパク質が十分分解されずに残っていることは酵素重量法によるDF測定からも窺えるところである。

タンパク質は細胞壁そのもの、あるいはその部分と結びついているので分解されずに残っている可能性が考えられる。

要 約

カキ茶の原料となるカキの葉中の食物繊維の存在状態を明らかにするために、種々の試料を用いて、形態学的、組織化学的及び分析化学的な面から検討を行った。

1. カキの生葉の横断面には、上面の表皮、柵状組織、海綿状組織及び下面の表皮の4層の組織が観察された。表皮細胞の細胞壁及び上面の表皮細胞の液胞に多糖類の強い呈色反応が認められた。

2. 5月及び7月葉の組織化学的観察結果を9月葉と比較すると、5月及び7月葉において多糖類の強い呈色反応を認めた。酸性ムコ多糖類様物質は各層の細胞壁、特に上面の表皮細胞の自由表面側細胞壁に強く染色されたが、月別で顕著な差異は認められなかった。

3. 凍結乾燥粉末試料の観察結果より、生葉で観察された4層が比較的保持されていた。また、PAS反応及びAB染色に対しては生葉とほぼ同様の反応が認められた。

4. 抽出食物繊維標品は、4層の組織の配列が乱れ、大部分を占める細胞壁に形態的变化がみられたが、PAS反応及びABの両染色に対しては生葉とほぼ同様の反応が見られた。

5. カキの葉の凍結乾燥粉末の主成分は食物繊維（無水物換算で41～43%）であり、その組成はリグニン、セルロース、ヘミセルロースがほぼ同量含まれ、水溶性難消化性多糖類はわずかで、ほとんどがペクチン質で占められた。

以上のことから、カキの葉は4層の主組織から構成され、各層の細胞壁にはほぼ同量のリグニン、セルロース

Fig. 1 Light micrographs of persimmon leaf (cross section)

1: HE stain, 2: TB stain (—50 μ m)

a: May, b: July, c: September (—50 μ m)

Fig. 2 Transmission electron micrograph of persimmon leaf (—10 μ m)
 N: nucleus, S: starch grain, V: vacuole,
 C: chloroplast, IS: intercellular space

Fig. 3 Scanning electron micrographs of persimmon leaf
 a: cross section (—20 μ m)
 b: upper side (—10 μ m)
 c: lower side (—10 μ m)

Fig. 4 Light micrographs of persimmon leaf (—50 μ m)
 1: PAS reaction, 2: AB pH 2.5 stain, 3: AB pH 1.0 stain
 a: May, b: July, c: September

Fig. 5 Scanning electron micrographs of freeze-dried powder and semi-purified dietary fiber preparation of persimmon leaves)

a: Freeze-dried powder (—10 μ m)
 b: Semi-purified dietary fiber preparation (—10 μ m)

Fig. 6 Light micrographs of freeze-dried powder ($50\mu\text{m}$)

a: HE stain b: PAS reaction
c: AB pH 2.5 stain d: AB pH 1.0 stain

Fig. 7 Light micrographs of semi-purified dietary fiber ($50\mu\text{m}$)

a: HE stain b: PAS reaction
c: AB pH 2.5 stain d: AB pH 1.0 stain

及びヘミセルロースと、さらに酸性多糖類として僅かなペクチンのほか、ムコ多糖類様物質を結合した複雑な構造を有する食物繊維を含むことが示唆された。

文 献

- 1) 中山時子監修：中国食文化事典，角川書店，p. 475 (1988)
- 2) 三輪春雄：醸造誌，**16**, 716, 937 (1938)，**17**, 177 (1939)
- 3) 北原増雄・竹内良光：岐阜大学農学部研究報告，**5**, 101 (1954)
- 4) 山下英文・高安慎一・広畑龍造・沢田藤一郎：福岡医学誌，**47**, 824 (1956)
- 5) 小川安子・伊東淳子：調理科学，**5**, 236 (1972)
- 6) 楠 喜久枝・萩原由美・宮崎綾子：中村学園研究紀要，**11**, 145 (1978)
- 7) 三成由美・楠 喜久枝：中村学園研究紀要，**15**, 309 (1982)
- 8) 三成由美・楠 喜久枝：中村学園研究紀要，**15**, 317 (1982)
- 9) 曾根原直子・泉 敬子：日本栄養・食料学会誌，**44**, 213 (1991)
- 10) 奥 恒行：食物繊維（改訂新版）、（印南 敏・桐山修八編，第一出版，東京）p. 88 (1995)
- 11) 科学技術庁資源調査会：科学技術庁資源調査報告，第16号 (1992)
- 12) 厚生省保険医療局健康増進栄養課監修：第5次改訂日本人の栄養所要量，（第一出版，東京），p. 59 (1994)
- 13) 勝山 努・山上 修・本田孝行・金井正光：病理と臨床，**4**, 883 (1986)
- 14) 勝山 努・小野謙三：病理技術マニュアル4，日本病理学会編，p. 369 (1986)
- 15) LEV, R. and SPICER S. S. : *J. Histchem.*, **12**, 309 (1964)
- 16) LEE, S. C. and HICKS, V. A. : In *New Developments Ed. in Dietary*. Ed. by Furda, I. and Brine, C. J. Plenum Press, New York (1990)
- 17) SOUTHGATE, D. A. T. : In *Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, Ed. by, Spiller, G. A., CRC Press Inc. Boca Raton FL, p. 41 (1988)
- 18) COMBELL, L. A. and PALMER, G. H. : *Topics in Dietary Fiber Research*, Ed. by Spiller, G. A., Plenum Press, New York, p. 105 (1978)
- 19) CARPITA, N. C. and GIBEAUT, D. M. : *Plant J.*, **3**, 1 (1993)
- 20) DARVILL, A. G., MCNEIL, M., ALBESHEIM, P. *et al.* : The primary cell walls of flowering plants. Academic Press, New York, **1**, 91 (1980)
- 21) STAHELIN, L. A. and M OOR, L. : *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **46**, 261 (1995)
- 22) NETTLETON, G. S. and CARPENTER, A. M. : *Stain Technol.*, **52**, 63 (1977)
- 23) 羽山正義： *Medical Technology*, **17**, 543 (1977)
- 24) MOWRY, R. W. : *J. Histochem. Cytochem.*, **4**, 407 (1956)
- 25) MOWRY, R. W. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **106**, 402 (1963)
- 26) SOUTHGATE, D. A. T., BAILEY, B., COLLINSON, E. and WALKER, A. F. : *J. Human Nutr.*, **30**, 303 (1976)
- 27) BALMER, J. and ZILVERSMIT, D. B. : *J. Nutr.*, **104**, 1319 (1974)
- 28) STORY, J. A. and KRITCHEVSKY, D. : *J. Nutr.*, **106**, 1292 (1976)

(平成8年8月6日受理)