

# キウイフルーツの枝から抽出した粘性物質の物性

亀岡 啓 續木康広

Characteristic(Properties)of the viscous liquid extracted from twigs of Kiwi fruit

KAMEOKA Kei and TUDUKI Yasuhiro

キウイフルーツの枝に含まれる粘性物質の有効利用を目的として、粘性物質の抽出法やその物性について検討を行った。

粘性物質は、紫外吸収スペクトル分析、アミノ酸分析及び糖の定性反応の結果により、タンパク質を含む多糖類と推測された。また、ゲルパーミエーションクロマトグラフィ（GPC）の結果により、分子量は、数百万以上であることが分かった。抽出液から得られた80%エタノール不溶物（以下アルコール不溶物と表す。）を水に溶解させた場合、濃度と粘度に直線的な相関性があることが分かった。

キーワード：キウイフルーツ、枝、抽出、粘性物質、物性

## はじめに

愛媛県は、全国シェア25%のキウイフルーツ生産量を有する生産地である。栽培時に発生する剪定枝は年間約2万トン廃棄されているが、すべて廃棄処分され有効活用がなされていない。植物の枝には粘性物質が含まれていることが知られているが、当研究所等ではキウイフルーツの枝から粘性物質が抽出できることを見出した。<sup>1)</sup>

粘性物質は、化粧品や製紙用等に広く利用されているが、近年、化粧品は天然物を用いたオーガニックコスメが注目され、需要が増大している。また、紙製造時は、パルプの分散性を保持するために増粘剤が利用されているが、高価であり、代替品が求められている。

そこで、キウイフルーツに含まれる粘性物質の有効利用を目的として、粘性物質の抽出法やその物性について検討を行った。

## 実験方法

### 1. 供試材料

キウイフルーツの剪定枝は、最も一般的な種類である果肉が緑色のヘイワードと酸味が抑えられ甘味が強く果肉の種子部分が赤いレインボーレッドの剪定枝を愛媛県農林水産研究所果樹研究センターから提供を受けて実施した。

### 2. 粘性物質の抽出

選定枝からの粘性物質の抽出は次の方法で実施した。

- (1) 選定枝を約6cmにカットし縦に2分割した後、3倍重量の蒸留水を加え、室温で24時間抽出した。
- (2) 選定枝を乱切りし、3倍重量の蒸留水を加え、室温で24時間抽出した。
- (3) 選定枝を乱切りし、3倍重量の蒸留水を加え、オートクレーブ DL-2010 型（羽生田鉄工所社製）で60℃-30分間処理を行い、そのまま24時間抽出した。
- (4) 選定枝を乱切りにし、3倍重量の蒸留水を加え、ミキサーで粉砕抽出した。

### 3. 粘性物質の物性測定

抽出液は、先端に綿を詰めたロートをを用いて減圧濾過し、不溶成分を除去した。このろ液を以下の試験に使用した。

#### (1) 総固形物量、アルコール不溶物量

総固形物量は、抽出液を105℃で乾燥し、枝重量に対する割合として表した。また、アルコール不

この研究は、「粘性物質の増粘剤への利用に関する研究」の予算で実施した。

溶体量は、抽出液に4倍量のエタノールを加え1時間静置後、遠心分離（8,500rpm、5 min）を行い、得られた沈殿物をエタノールで洗浄後、乾燥し、同様に表した。

## (2) 粘度の測定

粘度計 DV- I Prime LV 型（Brookfield 社製）を用いて、UL 低粘度アダプターにより、各抽出液の粘度を測定した。

## (3) 紫外吸収スペクトルの分析

紫外可視近赤外分光光度計 V-670 型（日本分光社製）を用いて、抽出液の紫外吸収スペクトルを測定し、タンパク質の存在の確認を行った。

## (4) アミノ酸の分析

アルコール不溶物 0.15 g に 20% 塩酸を 10m L 加え、減圧下、110℃、24 時間加熱を行い、加水分解を行った。この加水分解液をアミノ酸分析計 L-8900 型（日立ハイテクサイエンス社製）を用いて、#2622 カラムにより、アミノ酸分析を行った。

## (5) 糖の定性分析

アルコール不溶物について、アンスロン反応<sup>2)</sup>により、糖の定性分析を行った。さらに、GPC 分析計 e2695 型（日本ウォーターズ社製）を用いて、SH1011 カラム（昭和電気社製）により、5 mM 硫酸を溶離液として RI 検出器で、加水分解液中の糖の定性分析を行った。

## (6) GPC 分析

アルコール不溶物をメノウ乳鉢で粉碎後、0.1% 水溶液とし、0.45 $\mu$ m のディスクフィルターでろ過して、GPC 分析用試料とした。糖の定性と同じ GPC 分析計を用いて、HSPgelAQ MB-H カラムにより、蒸留水を溶離液として、RI 検出器で分子量を測定した。

なお、分子量の標準試料として表 1 に示す昭和電気製のプルランを使用した。

表 1 分子量の標準試料

プルラン	P-2500	P-400	P-100	P-20	P-5
分子量 (Mp)	2, 350, 000	344, 000	107, 000	21, 100	5, 900

## (7) 抽出液の保存試験

ハイワードとレインボーレッドからの抽出液にソルビン酸カリウムと安息香酸ナトリウムをそれぞれ 0.1% 及び 0.2% 添加し、30℃ で 10 日間保存後、一般生菌数を測定して評価した。

# 結果と考察

## 1. 粘性物質の抽出

粘性物質の抽出法について検討を行った。

### (1) 剪定枝の前処理方法

剪定枝を2分割、乱切り及びミキサー粉碎処理を行った場合の抽出液の粘度及び総固形物量を表 2 に示す。

表 2 剪定枝の前処理方法の比較

処理方法	種類	粘度 (cP)	総固形物量 (%)
2 分割	ハイワード	6.0	0.7
	レインボーレッド	7.1	0.4
乱切り	ハイワード	9.1	1.7
	レインボーレッド	16.9	1.9
乱切りミキサー	レインボーレッド	10.4	3.5

抽出液の総固形物量は、乱切り処理が2分割処理に比べ2.4~4.7倍以上多く、粘度も高くなる傾向

であった。これは、乱切りによる表面積の増大により粘性物質の抽出量が増大したと考えられる。また、ミキサー粉砕による抽出では、総固形物が 3.5%と高かったが、遠心分離（19,000rpm、10min.）後においても液は茶色の不透明で、その後冷蔵庫で保管していた際、褐色の沈殿物が生じたことから粘性物質以外の物質が含まれていることが示唆された。これらのことから、今後の実験では、前処理方法として乱切り処理を行うこととした。

## (2) 抽出温度の影響

レインボーレッドからの粘性物質の抽出を、室温（23℃）とオートクレーブ処理（60℃、30分）で行い、さらに同じ試料について2回続けて実施した。抽出液の粘度、総固形物量、アルコール不溶物量及び総固形物量に対するアルコール不溶物量の占める割合をそれぞれ図1～4に示す。

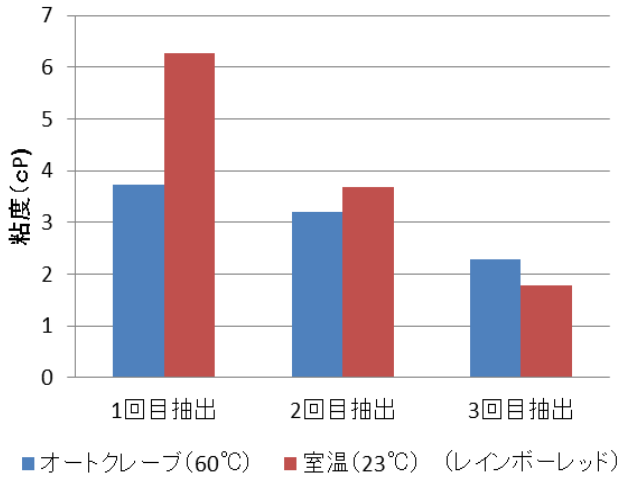


図1 抽出液の粘度

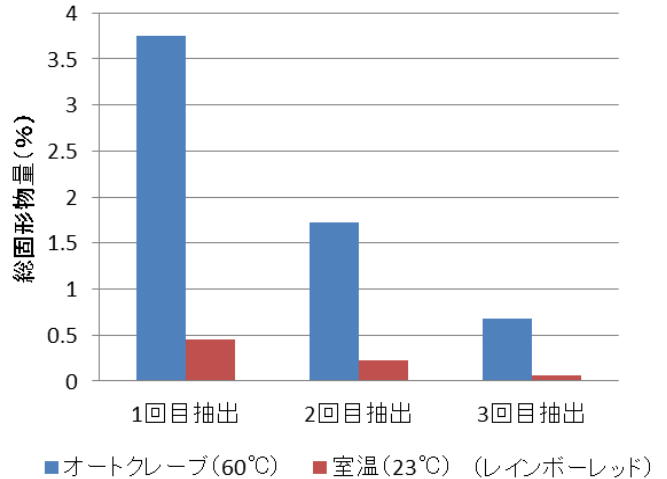


図2 抽出液の総固形物量

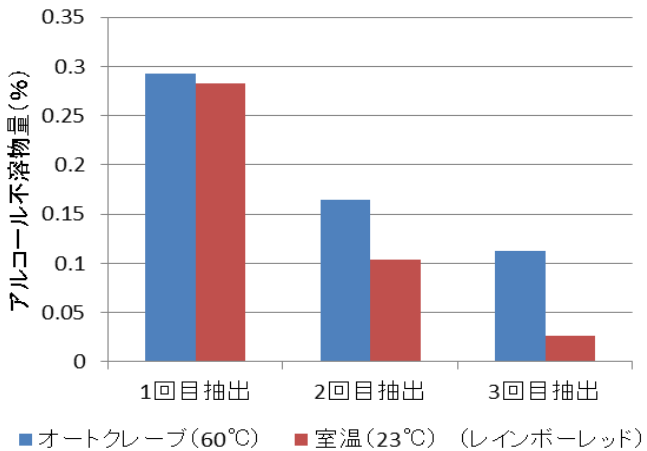


図3 抽出液のアルコール不溶物量

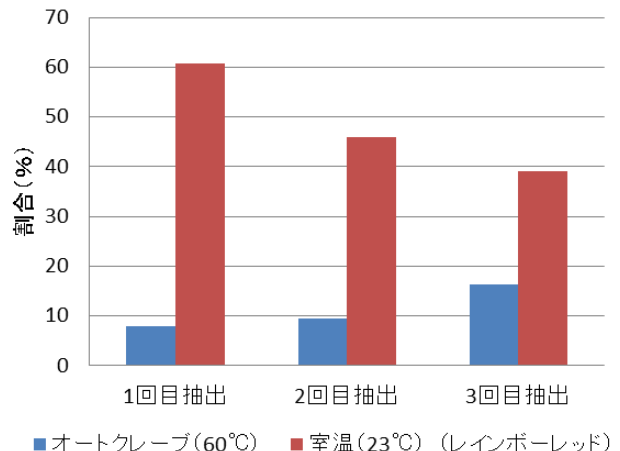


図4 総固形物量に対する  
アルコール不溶物量の割合

図1から、抽出液の粘度は、室温の 6.3cP に比べオートクレーブ処理は、3.7cP と 6 割弱であった。また、抽出回数が多いほど粘度は低下したが、室温では、オートクレーブ処理に比べ低下率が大きい傾向が認められた。図2から、総固形物量は、オートクレーブ処理を行った場合 3.7%と室温の 0.5% に対し 7 倍以上であった。しかし、図3のアルコール不溶物量は、オートクレーブ処理と室温でほとんど差がなかった。また、図4から、オートクレーブ処理は、総固形物量に対するアルコール不溶物量の割合が 10%弱と著しく低かった。これらのことから、粘性物質は、温度に関係なく室温で十分に抽出され、オートクレーブ処理では粘性物質以外の成分が大量に抽出されていると考えられる。このことは、室温での抽出液が無色透明であるのに対し、オートクレーブ処理の抽出液が茶色であったことから、示唆される。

## 2. 粘性物質の物性

抽出液に含まれる粘性物質の各種物性について検討した。

### (1) タンパク質の定性

図5に抽出液の紫外吸収スペクトルを、表3にアルコール不溶物の加水分解液によるアミノ酸分析結果を示す。

抽出液の紫外吸収スペクトル分析により、200nmと280nm付近に吸収が認められた。タンパク質の特徴的な紫外吸収として190~230nmのペプチド結合や芳香族アミノ酸由来の280nm付近の吸収があるが<sup>3)</sup>、抽出液にもこれらの吸収が認められたことから、タンパク質の存在が示唆された。

さらに、抽出液の加水分解物をアミノ酸分析計で分析した結果、表3に示したグルタミン酸、アスパラギン酸、アルギニンなどのアミノ酸が含まれていることが確認できた。



図5 抽出液の紫外吸収スペクトル

表3 アルコール不溶物中のアミノ酸 (mg/100ml)

グルタミン酸 (16.2)	アスパラギン酸 (13.7)	アルギニン (12.7)	ロイシン (11.1)
バリン (9.8)	セリン (9.3)	グリシン (9.2)	アラニン (8.6)
リジン (7.4)	イソロイシン (5.7)	トレオニン (5.5)	フェニルアラニン (3.8)

(2)糖の定性

粘性物質は多糖であると推測されるが、この抽出液に糖が含まれていることを確認するために、ヘイワード及びレインボーレッドのアルコール不溶物についてアンスロン反応を行った。その結果を写真1に示す。アンスロン反応は硫酸酸性下で糖と反応することにより、青緑色に呈色するもので、単糖だけでなく、多糖類も反応する。この結果、両者の抽出液に糖の存在が確認できた。

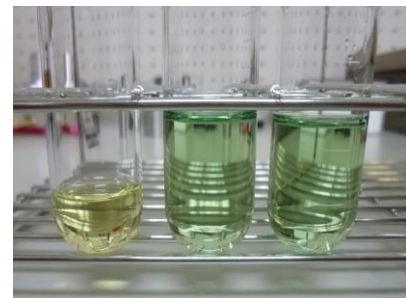


写真1 アンスロン反応結果  
 ブランク ヘイワード レインボーレッド

さらに、抽出物の加水分解液を液体クロマトグラフで分析した結果、グルクロン酸、マンノース、フコース、アラビノース、ガラクトースと思われるピークが確認できた。これは、Robert らが報告したキウイフルーツ枝の粘液に含まれる糖の組成と一致した<sup>4)</sup>。

(3)粘性物質の分子量

ヘイワードとレインボーレッドの抽出液とアルコール不溶物の GPC 分析を行い、粘性物質の分子量を測定した。その結果を図6に示す。

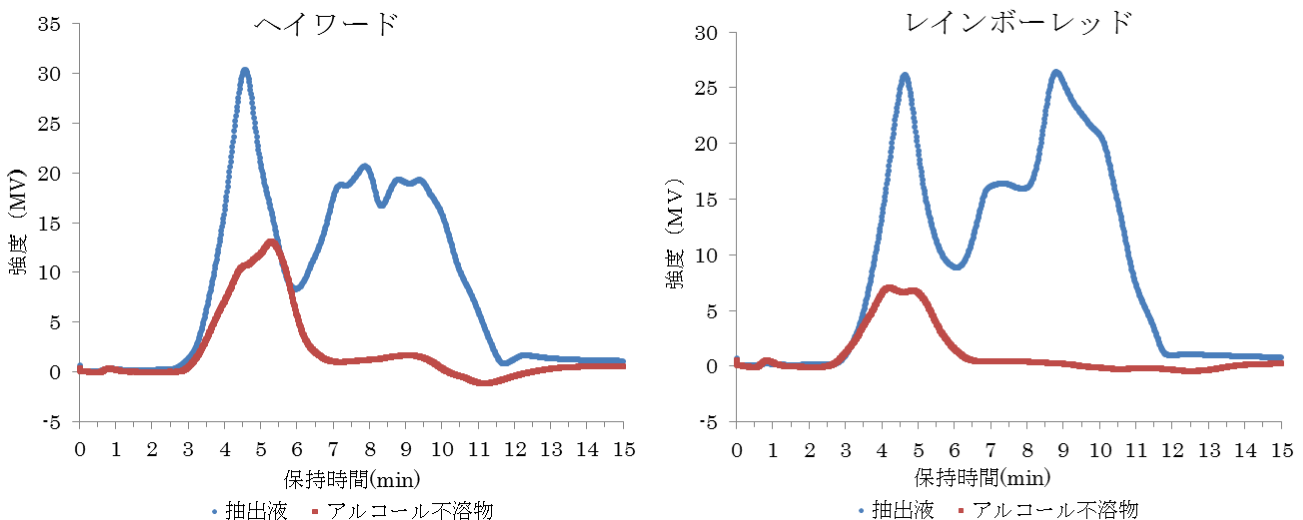


図6 ヘイワード、レインボーレッド抽出液及びアルコール不溶物の GPC 分析

GPC 分子量の標準物質として、分子量 235 万から 5,900 のプルランを使用したが、試料のピークは図 7 に示す GPC 校正曲線の範囲に入っていなかったため、分子量を特定することができなかった。ヘイワード、レインボーレッドともに、抽出液で確認された保持時間 7 分以降の低分子量のピークは、アルコール不溶物で消失し、分子量 235 万の保持時間 5.56 分以前のピークのみ認められた。この結果から、アルコール不溶物に存在する粘性物質の分子量は 235 万以上であることが分かった。

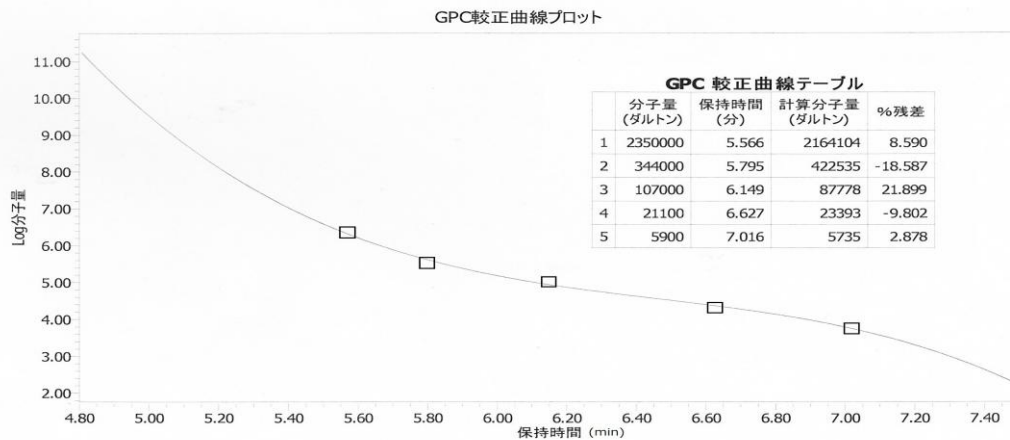


図 7 標準分子量による GPC 校正曲線

#### (4) 抽出液の保存性

抽出液は室温で保管中に腐敗するため、抽出液の保存性向上を目的に、化粧品の防腐剤<sup>5)</sup>として使用されている安息香酸ナトリウムとソルビン酸カリウムを所定量添加し、30℃で 10 日間保存後、一般生菌数を測定した。その結果を表 4 に示す。

表 4 防腐剤による腐敗抑制効果

安息香酸ナトリウム (%)	ソルビン酸カリウム (%)	一般生菌数 (個/ml)	
		ヘイワード	レインボーレッド
0	0	$2.6 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$
0.1	0	$2.3 \times 10^7$	$2.6 \times 10^6$
0.2	0	$1.8 \times 10^7$	$6.5 \times 10^6$
0	0.1	$3.0 \times 10^6$	$5.3 \times 10^6$
0	0.2	$2.4 \times 10^6$	$4.7 \times 10^6$

防腐剤を添加していない場合、品種に関わらず一般生菌数は、 $10^7$  個/ml であったが、レインボーレッドは、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸カリウムの添加とともに 1 桁低下した。ヘイワードは、ソルビン酸カリウムを添加した場合のみ 1 桁低下し、ソルビン酸カリウムによる抑制効果が若干高かった。しかし、添加量を 0.1% から 0.2% に増やしても菌数はほとんど減少せず、防腐剤の添加によって、抽出液の腐敗を抑制することはできなかった。

#### (5) アルコール不溶物量と粘度

レインボーレッドから、室温抽出とオートクレーブ抽出により 3 回抽出した時の抽出液の粘度とアルコール不溶物量の関係を図 8 に示す。また、別途、ヘイワードとレインボーレッドから抽出したアルコール不溶物を乾燥させた後、所定の濃度で再溶解した時の粘度とアルコール不溶物量の関係を図 9 に示す。

図 8 から、アルコール不溶物量と粘度は、比較的良い直線的な相関性が認められ、特に室温抽出では相関係数が 0.98 と高かった。オートクレーブ抽出は、室温に比べ傾きや相関係数も低く、アルコール不溶物量が同じ値でも粘度は低い結果となった。これは、オートクレーブ抽出のアルコール不溶物中の粘性物質の純度が低いためと考えられる。不純物の存在は、オートクレーブ処理のアルコール不溶物が、抽出液と同様に茶色に着色していることから示唆される。また、図 9 から分かったとおり、アルコール不溶物を水に再溶解した場合、アルコール不溶物量と粘度の関係は、図 8 の室温で 3 回抽

出を行った場合とほぼ一致した。

従って、アルコール不溶物を乾燥しても、再溶解すれば、元の粘性が発現することが分かった。なお、ヘイワード、レインボーレッド等のアルコール不溶物と粘度の関係に若干の誤差が生じたのは、純度の違いが影響していると考えられる。

以上の結果から、アルコール不溶物の乾燥体は、腐敗のおそれがないため保存が可能で、濃度を調整することで任意の粘度の水溶液が得られることが分かった。

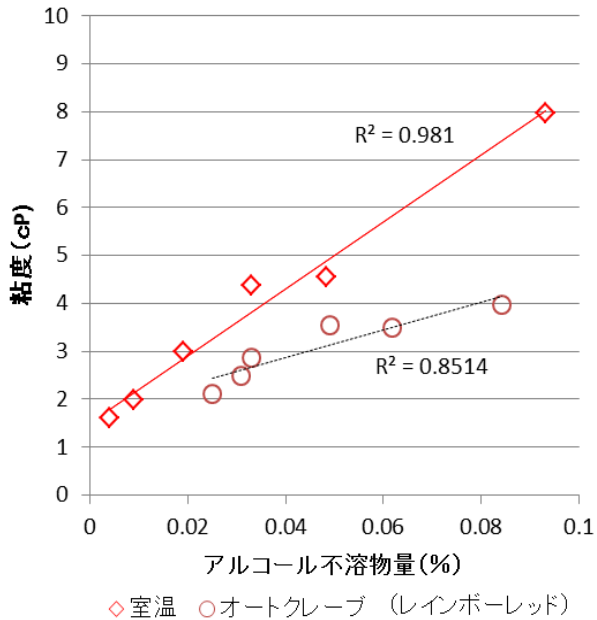


図8 レインボーレッドの室温、オートクレーブ抽出液のアルコール不溶物量と粘度

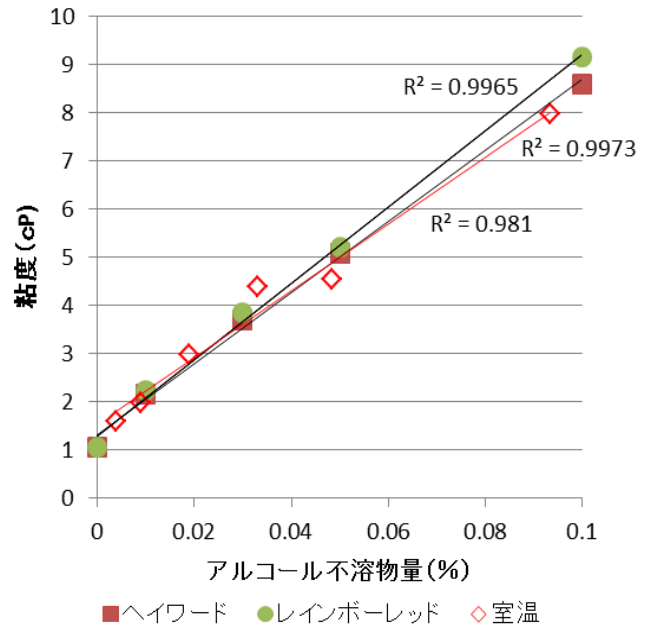


図9 ヘイワード、レインボーレッド抽出液のアルコール不溶物量と粘度

## ま と め

キウイフルーツに含まれる粘性物質の有効利用を目的として、粘性物質の抽出法やその物性について検討を行い、以下の結果を得た。

1. キウイフルーツの剪定枝に含まれる粘性物質は、乱切りした剪定枝に3倍重量の蒸留水を加え、室温で24時間処理することで、抽出することができた。また、2回連続抽出することで大部分が抽出できることが分かった。
2. 粘性物質は、GPC分析により分子量が数百万以上で、その加水分解物を分析することにより、グルタミン酸、アスパラギン酸、アルギニンなどのアミノ酸やグルクロン酸、マンノース、フコース、アラビノース、ガラクトースの糖で構成される糖タンパクであると推測された。
3. 抽出液から得られたアルコール不溶物の水溶液は、濃度と粘度に直線的な相関性があることが分かった。従って、このアルコール不溶物の乾燥体は、腐敗のおそれがないため保存が可能で、任意の粘度の水溶液を調整することが可能である。

## 謝 辞

本研究を進めるにあたり、キウイフルーツ剪定枝の提供にご協力いただきました愛媛県農林水産研究所果樹研究センターの宮田主任研究員に心よりお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 中村仁ら:キウイフルーツのツル(枝梢)の紙への利用技術開発,平成 21 年度シーズ発掘試験(発展型)研究報告書,科学技術振興機構 (2010) .
- 2) 新実験化学講座, 20 生物化学(Ⅱ)(丸善)p.1084-1085(1978).
- 3) 安藤悦郎ら編:生化学研究法Ⅱ,(朝倉書店)p.597-600(1967).
- 4) Robert j.et.al,Carbohydrate Reseach,**153**,p.97-106(1986).
- 5) 化粧品基準,厚生省告示第 331 号(2000).