

漢方生薬当帰の生産工程の効率化と品質に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-11-11 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 工藤 喜福, KUDO Yoshitomi メールアドレス: 所属: 金沢大学, 金沢大学, 金沢大学
URL	http://hdl.handle.net/2297/00068064

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



学位論文要旨

【Abstract】 I developed a new indoor seedling raising method using Paperpot (PP) for the winter term in order to shorten the cultivation period and improve the production stability of *Angelicae acutilobae radix* (Toki, 当帰). First, I revealed a strong positive correlation between leaflet length and root head diameter to solve the problem that the root thickness cannot be measured, which is a disadvantage of this method. This was established as an index that can be used for seedling selection. Next, I established a new seedling raising method as described below. In September, three seeds should be sown per one hole of PP filled with culture soil mixed with fertilizer which has abundant Nitrogen and Phosphorus. In February, thinning should carry out and seedling with 12.8-17.3 cm terminal leaflets is the most suitable for transplant.

Based on the quality evaluation JP18 criteria, Toki produced from PP-seedling (PT) has the same quality as the current cultivation method (TT). The content of (Z)-ligustilide (ZL), which is the main component of Toki, is not mentioned in JP18 criteria, PT is characterized by less ZL and more lateral roots than TT. These differences would affect quality evaluation, but ZL content of individual are related to the ratio of the root. It means the content of ZL can be inferred roughly with the observation of shape.

【背景】

当帰は江戸時代に日本で開発され、伝統的に生産され続けている重要な生薬である。当帰は第18改正日本薬局方（以下 JP18）において「トウキ *Angelica acutiloba* の根」に由来すると規定されている。近年、この種が中国に導入され低価格な中国産当帰が日本で流通するようになり、日本産当帰の需要が減ったことに加え、日本の生産者の高齢化により生産戸数が減少している。当帰の自給率向上における最大の課題は相対的な日本産生薬の高価格にあり、その解決には生産コストの削減、すなわち生産工程の効率化が必須である。従来のトウキの栽培暦は一年間育苗を行い、翌春に苗を掘り上げ定植し、その年の秋に収穫する。長期に及ぶ育苗期間は圃場の生産効率や苗生産の安定性を低下させており新規参入者の障壁となっている。

また、製品としての当帰の品質評価において形状（個体重量の重さ、主根と側根の比率）は重要な指標とされてきた。加えて近年では主要成分である (Z)-ligustilide（以下、ZL）などの組成含量も指標とされる場合がある。しかしながらこれらの指標をもとに当帰を評価する場合、個体差が大きいことが知られており、このことが生産者にとっての生産目標の曖昧さにもなっている。当帰の明確な品質評価法が存在しない現状では、筆者が提案する上述の生産工程の効率化においても、従来法で生産された当帰との同等性の評価も実施できない。

【解決すべき問題】

問題 1 : 当帰の生産方法に効率化が図られていない

問題 2 : 当帰の形状、成分含量の個体差が大きく品質評価が曖昧

【目的】

効率的な当帰の生産方法を開発すると同時に当帰に含まれる ZL の個体差とその要因を明らかにすることで品質評価における適切な指標を提案する。

【本研究で行ったこと】

問題 1 に対して 本研究では当帰の自給率向上を志向し、ペーパーポット（以下 PP）を利用した新たな栽培方法の開発を試みた。PP は、特殊加工した紙製の育苗鉢で蔬菜類、水稻などの育苗に広く使われている。PP を用いる事で屋内での育苗が可能になり、環境要因や虫害の影響を受けにくくなるだけでなく、冬期の育苗が可能となり栽培期間の短縮や、掘り上げの労力を削減可能である。具体的には、**実験 A** : PP を用いて育苗した苗（PP 苗）の生育評価方法の開発、**実験 B** : PP を用いた冬期育苗方法の開発（①播種時期の検討、②播種数の検討、③施肥が苗の生育に及ぼす影響、④間引き時期の検討）、**実験 C** : PP 苗の生育度合いの差が定植後の生育に及ぼす影響、**実験 D** : PP 苗から生産した当帰の品質評価を行った。

問題 2 に対して 当帰の重要な品質評価指標である形状と ZL 含量の関連を調査すると共に、個体差の程度、要因を調査するため、**実験 E** : 当帰に含まれる ZL の個体差と局在性を明らかにした。

【方法】

実験 A : PP を用いて育苗した苗の生育評価方法の開発

播種 2017 年 10 月、11 月、2018 年 9 月～12 月。PP にトウキの種子を播種し、金沢大学・薬用植物園のビニルハウス（以下、ビニルハウス）または金沢大学環日本海域研究センター附属植物園実験温室（以下、温室）で翌年 3 月中旬～4 月上旬まで管理した。その後、苗の葉柄長、頂小葉長、両側小葉長、根長、根頭部径を測定し、各地上部と地下部の相関を調査した。なお、以降の実験においても PP と培養土は同じものを使用し、苗の管理はビニルハウスまたは温室で行った。以下、特に断りがない限り播種は PP に行うものとする。

実験 B : PP を用いた冬期屋内育苗方法の開発

①播種時期 : 実験 A の方法を参照。②播種数 : 播種 2017 年 10 月。PP1 穴あたりの播種数を 1 粒～4 粒と変えて播種を行い、翌年 4 月に発芽率、PP 利用率を評価した。PP 利用率とは PP 1 冊 130 穴に対し生育株が存在する穴の割合を表す。③施肥 : 播種 2018 年 9 月。元肥（マグアンプ K 以降、MK または、発酵油かす 以降、FO）または、液肥（以降、LF）を組み合わせた 6 条件間の生育を比較した。④間引き : 2018 年 10 月に PP1 穴あたり 3 粒播種を行った。その後、異なる時期（2018 年 12 月～2019 年 3 月）に PP1 穴当たりの苗の数が 1 本になるように間引きを行い生育を比較した。

実験 C : PP 苗の生育度合いの差が定植後の生育に及ぼす影響

播種 2018 年 9 月。翌年 4 月 6 日に PP 苗を頂小葉長の長さに応じて 7 段階に分類した（P1 : 2.0–2.9 cm ～ P7 : 12.8–17.3 cm）。その後、各 PP 苗と伝統的な方法で育苗した苗（以降、TS）を 2019 年 4 月に定植し、苗の生存率、抽苔率を測定した。更に生存率から抽苔率を減じて生産率を算出した。収穫後、生重量を測定し、屋外乾燥を行った。乾燥後、湯もみ加工（根を約 70°C の湯に 1 時間浸漬

した後に、湯内で土砂を取り除く)を行った。最終的には加熱乾燥を行い、製品重量を測定した。

実験 D : PP 苗から生産した当帰の品質評価

2015 年 12 月または 2017 年 10 月に播種を行い、これまでと同様の方法で栽培、加工を行った当帰 (2017 年産 PT, 2019 年産 PT) を用いた。なお、両年とも対照として TS を定植し、PP 苗と同様の条件で栽培、調製して当帰 (2017 年産 TT, 2019 年産 TT) を用いた。また、2019 年産 PT, TT について湯もみに要する時間を測定した。

各年の PT, TT について、JP18 に則り希エタノールエキス含量、灰分、酸不溶性灰分を測定して品質を比較した。さらに、根頭部、主根、側根の 3 部位に分類し、乾燥を行い、重量を測定し、形状を評価した。形状評価後、HPLC 法により ZL の定量を行った。

実験 E : 当帰に含まれる ZL の個体差と局在性

2016 年 4 月に金沢大学・薬用植物園の圃場にトウキの種子を播種し 2017 年 4 月に移植した。11 月に収穫を行い、1 ヶ月間屋外乾燥をおこなった。13 個体 (KT1-13) を抽出し、洗浄、加熱乾燥を行い、後述するようにそれぞれ 13 部位 (RHUO, RHUI, RHLO, RHLI, RM1~4, RL1~5) に分けた。まず、根を 3 つの部分 (根頭 RH, 主根 RM, 側根 RL) に分割した。更に RH を葉の跡を含む上部と含まない下部に分けたのちに、上部は表皮から 5mm の外側 (RHUO) と内側 (RHUI) の 2 つに分けた。下部も同様に外側 (RHLO) と内側 (RHLI) の 2 つに分けた。主根は更に直径別に RM1 : 25.0mm 以上 ~ RM4 : 8.1mm 未満の 4 段階に分類した。また、側根も同様に 5 つに分類した (RL1 : 8.0 mm 以上 ~ RL5 : 1.1mm 未満)。各サンプルの重量を測定した後、HPLC 法により ZL の定量を行った。

【結果・考察】

実験 A : PP を用いて育苗した苗の生育評価方法の開発

各部位の長さを測定したところ、根頭部径は頂小葉長と両側小葉長との間に強い正の相関が認められた ($r \geq 0.98$)。苗の根頭部径が大きくなるに従って定植後の生育は旺盛になることが報告されており、慣行的な栽培方法では、根頭部径を基に苗を選抜する。しかし、PP 苗の根は培養土と紙筒に包まれているため、紙筒を破らない状態で根頭部径を測定することができず、根頭部径を基準にする苗の選別を行うことができない。そこで、PP 苗の地上部から地下部を予測可能な手法を検討した。頂小葉長 (x) と両側小葉長 (x) について、根頭部径 (y) を予測する回帰直線を算出したところ、頂小葉長では $y = 0.7423x - 0.1178$, $R^2 = 0.96$, 両側小葉長では $y = 0.4011x + 0.4099$, $R^2 = 0.97$ であった。本数式を用いることで PP 苗の機能を損なわずに苗の生育評価、選抜が可能となった。

実験 B : PP を用いた冬期育苗方法の開発

①播種時期：本実験では播種を 9 月~12 月の異なる時期に 4 回を行い、最適な播種時期を検討した。その結果、発芽率、頂小葉長ともに 9 月播種条件で最高値を示した。つまり、9 月に播種を行うことで充実した苗を最も多く得ることができ、時期が遅くなるほど、苗の生育が抑制されることが明らかとなった。②播種数：各条件の発芽率は同程度であったが、PP 利用率は播種数の増加とともに上昇し、播種数が 3 粒以上では利用効率はほぼ同値であった。つまり、種子が健全に発芽する 10 月までに播種を行うのであれば播種数は 3 粒程度で十分である。③施肥：頂小葉長は対照区に対して LF 区、FO + LF 区、MK + LF 区の 3 区において有意に頂小葉長が増加した。窒素 (N) とリン (P) はトウキの成長に大きな影響を及ぼすと報告されており、本実験で最も N と P が多く含まれる MK + LF

区で最も成長が旺盛であった。つまり、トウキの育苗において施肥は有効であり、特に N と P を多く含む肥料が効果的である。④間引き：頂小葉長は 2 月または 3 月間引き条件で高い値を示した。一方で 3 月に間引きを行った場合、2 月に比して作業時間は 2 倍になり、最適な間引き時期は 2 月であると考えられる。

実験 C：PP 苗の生育度合いの差が定植後の生育に及ぼす影響

移植後の生育について

生存率、抽苔率は頂小葉が長くなるにつれて上昇し、特に P6、P7 においては 90%以上の高い生存率を示した。また、P6 と TS は同程度の根頭部径であるにも関わらず、P6 は著しく高い抽苔率を示した。また、根頭部径が TS より細い P4、P5 でも TS に比して高い抽苔率が認められた。生産率では TS が最も高い生産率を示した。

・収穫量の比較

生重量、製品重量は P7 が最も高く、TS と P6 は同程度であった。つまり、PP 苗は根頭部径が大きくなるほど、定植後の生存率や収穫量も増加する一方、TS に比して容易に開花し薬用価値の無い個体が多くなる事が明らかとなった。

実験 D：PP 苗から生産した当帰の品質評価

JP18 の規定に関して

PT と TT は生産年に関わらず、希エタノールエキス含量、灰分、酸不溶性灰分の全項目で JP18 の規定値を満たした。また、PT と TT の値は同程度であった。湯もみの揉み洗い工程に要する時間は PT が有意に長かった。

形状に関して

TT に比して PT は根頭部、主根の割合が小さく、側根の割合が大きかった。

ZL に関して

PT、TT とともに部位別の含量に有意差は認められなかった。一方、1 個体あたりの ZL 含量は PT に比して TT で有意に含量が高かった。これまでに ZL は湯もみにより低下することが報告されており、本研究における PT、TT 間の含量差は、側根が多いという PT の形状特性に起因し、側根が多くなったために面積が増加し、熱や湯など湯もみの影響をより強く受けたと考えられる。

実験 E：当帰に含まれる ZL の個体差と局在性について

重量と形状の個体差

13 個体の全根乾燥重量は 68.2~132.3 g であった。更に全根乾燥重量に対する各部分の重量比は、RH で 29.0~43.8%、RM で 10.6~25.4%、RL の場合は 31.3~56.6%であり、根の重量、各根部の重量比は個体差が大きいことが明らかとなった。

ZL 含量の個体差

ZL 含有量は、KT11 で最低値 (0.08%)、KT3 で最高値 (0.22%) を示し、個体差は最大で約 2.7 倍であった。

ZL の局在性

RH、RM、RL の部位別 ZL を比較したところ、RL の含量が最も高く、RH は最も低い値となった。RM と RL について ZL 含量を根の直径ごとに比較しところ、根が細くなるにつれて含有量が増える

傾向が認められた。また、RHの外側は内側よりも有意に含量が高かった。以上、部位別のZL含量差は大きく、品質評価に大きな影響を与える可能性がある。

ZL含量の形状の関連

根全体の重量と個体ごとのZL含量との間に有意な相関関係は認められず、個体ごとのZL含量と各部位の重量との間にも有意な相関係数は認められなかった。すなわち、重量とZL含量には関連がないことが明らかとなった。一方で、根頭の重量比と総ZLの間に比較的強い負の相関が観察された。また、加工により極端に細い側根が脱落したと仮定した根部(RM+RLから直径1.1mm未満の側根を除いたもの、以下、PC)の重量比と総ZLとの間に有意な相関が認められた。この相関関係は、細い根にZLが局在しているという結果を支持しており、個体間の含有量の違いは、根の形状とZLの局在に起因すると考えられる。

従来、当帰の品質評価では味、匂い、形が重要視されてきたが、本研究では根の形状が品質評価に影響を与える可能性を明らかにした。

【総括】

- ・PP苗の根頭部径は小葉の長さを測定することで正確に推測することが可能であった。
- ・頂小葉長が12.8–17.3 cm以上のPP苗を植え付けることで従来の栽培方法と同等以上の収穫量を得ることが可能であった。しかし、PP苗は抽苔率が高い傾向があり栽培方法をさらに改良する余地がある。
- ・PP苗からJP18の規定を満たす当帰を生産できることが明らかとなり、当帰の生産期間を12ヶ月短縮することが可能になった(圃場栽培期間は約6ヶ月短縮、図1)
- ・当帰の主要成分であるZLは根全体の重さが同じであっても含有量に大きな違いが存在することが明らかになった。一方、ZLは細い根に局在する傾向が認められ、PCの重量比が高い個体ほど高いZL含量が高く、形状と成分含量が関連していることを明らかにした。本結果は、当帰の生産における品質評価の指標として活用できると考えられる。

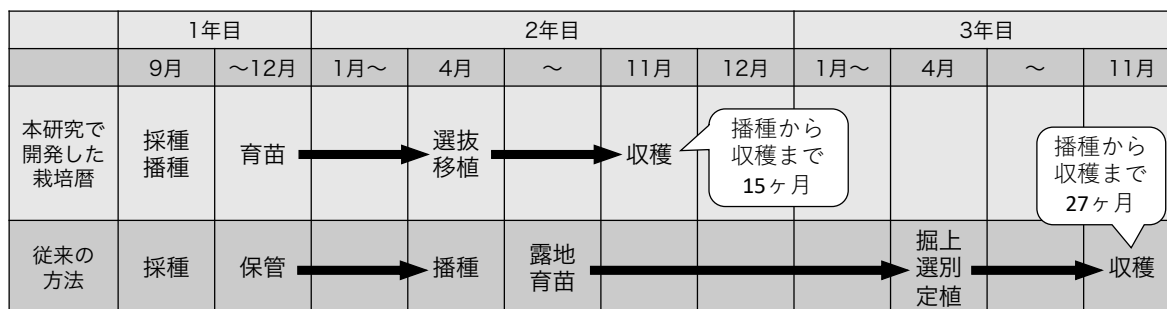


図1. トウキの栽培期間短縮の概略

審査結果の要旨

当帰は、日本固有種トウキ *Angelica acutiloba* の根を、独自の方法で加工された生薬である。当帰はかつて国産 100%であったが、近年、安価な中国産に押され約 20%にまで落ち込んでいる。解決策として、国産当帰の生産価格の削減および品質面での優位性を示すことが挙げられ、本研究は生産工程の効率化と品質に関する課題に取り組んだものである。

まず当帰の生産工程において、ペーパーポット (PP, 紙製の移植鉢) 苗の導入を試み、冬期の屋内育苗方法と併用することで従来の 27 ヶ月を 15 ヶ月に短縮することに成功した。さらに PP 苗では根頭径による苗選別が困難である事に対し、小葉の長さで適切な苗を評価する新規選別法を考案した。この効率法で生産される当帰は従来法と同等以上の収穫量を得ることが可能である。次に上述の効率法で生産された当帰は、従来法の当帰と側根部が多いなど形状がやや異なるものの日本薬局方の規定を満たしていた。また部位別の (Δ)-ligustilide 含量から、成分局在性と加工工程を総合した品質の変動要因も考察した。

以上、本研究は伝統的な生薬生産技術に斬新な発想で効率化を試みた初めての研究であり、学術的な重要性に加え国産当帰の実用面での導入が期待される。国内での当帰生産の普及に対する貢献は大きく、審査委員会は本論文が博士 (創薬科学) に値すると判断した。