

カキ果実のカロテノイド含有量の品種間差

井土 良一

Varietal Differences in Carotenoid Content of Persimmon Fruit

Ryoichi Izuchi

The carotenoids content in young and mature fruits of 18 persimmon cultivars, which are rich in carotenoids, was determined for. The carotenoids lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, β -carotene, and lycopene, were analyzed via high-performance liquid chromatography. Lutein, zeaxanthin, and β -carotene were detected in young fruits, and all five carotenoids were detected in mature fruits. Among all carotenoids, only lutein and β -carotene were more abundant in young fruits than mature fruits. β -Cryptoxanthin was abundant in the 'Ichidagaki' cultivar, whereas lycopene was predominant in the 'Fuyu' cultivar. Persimmons are generally rich in several carotenoids, which can provide health benefits when consumed regularly.

Key words: persimmon, carotenoids, β -carotene, β -cryptoxanthin, lycopene, lutein, zeaxanthin

I. 背景・目的

カキ果実にはカロテノイドが豊富に含まれており、摂取による健康効果が期待できる。ヒトの血液中には β -カロテン、 α -カロテン、 β -クリプトキサンチン、リコピン、ルテイン、ゼアキサンチン^[1]が多く検出され、これらのカロテノイドの摂取はヒトの健康維持に役立つことが報告されている^[2]。カロテノイドは一重項酸素やフリーラジカルに対する消去能を有するため、生体内での酸化ストレスによって生じる疾病に対して効果があると考えられる。

中国で栽培されるカキの品種については品種間のカロテノイド含有量が報告されている^[3]。日本国内では季節や貯蔵中におけるカロテノイド含有量の変動については報告されている^[4,5]。しかし、国内品種間でのカロテノイド組成の違いを示したデータはない。そこで、我々は、国内主要品種15種類、海外の品種2種類、原種に近い1種類の果実からカロテノイドを抽出し、品種間でカロテノイド組成に違いがあるのか、幼果にも含まれているのかをHPLCを用いて分析した。

II. 実験と材料

1. カキ果実とサンプリング方法

カキ果実は奈良県農業研究開発センター・果樹・薬草研究センター、カキ品種見本園にて栽培されている樹（2016年栽培）から17品種の幼果（すべて7月6日に採取）と18品種の成熟果を入手した。品種は国内品種として「太秋」^{タイ}、「刀根早生」^{トネワセ}、「西村早生」^{ニシムラワセ}、「前川次郎」^{マエカワジロウ}、「松本早生」^{マツモトワセ}富

有^{ユウ}の成熟果を10月12日に採取し、「愛宕」^{アタゴ}、「市田柿」^{イチダガキ}、「甲州百目」^{コウシュウヒャクメ}、「西条」^{サイジヨウ}、「次郎」^{ジロウ}、「禅寺丸」^{ゼンジヨウ}、「平核無」^{ヘイカネナシ}、「富有」^{ユウ}、「四ツ溝」^{ヨツミゾ}、「堂上蜂屋」^{ドウジョウハチヤ}と海外の品種である「台湾正柿」^{タイワン}、「霜」^{シヨウシ}、原種に近い品種である「豆柿」^{マメガキ}の成熟果は11月14日に採取した。「堂上蜂屋」については実が少なかったため、幼果の採取は行わなかった。採取した成熟果は色彩色差計（コニカミノルタ、CM-3500d）で果皮表面の色調（L*a*b*）を測定した。

果実は皮ごと細かく裁断し、凍結乾燥後に粉末化した。乾燥粉末2.0 gからヘキサンをういてソックスレー抽出を行い、濃縮乾固後、ヘキサンで10 mLに定容した。

2. カロテノイド標準溶液の調製方法

各カロテノイド標品の純度はHPLCで検出されたピーク面積の総和に対する割合から算出した。標準溶液の濃度は、次に示す方法に従って測定した吸光度から計算式(1)を使って算出し、純度で補正した。

β -クリプトキサンチン（Extrasynthese）と β -カロテン（Fujifilm WAKO）は少量のクロロホルムに溶解後、ヘキサンで10 mLに定容して、450 nmにおける吸光度と比吸光度（文献値^[6,7] $E1\%_{1cm}=2460, 2590$ ）から濃度を算出した。ゼアキサンチンとルテイン（ChromaDEX）は少量のクロロホルムに溶解後、エタノールで50 mLに定容して445 nmの吸光度とモル吸光係数（文献値^[8] $\epsilon=145$ ）から濃度を算出した。リコピンは0.724 mg/Lアセトン溶液（DHI LAB）を入手した。内部標準は β -アポ-8'-カロテナールを用い、少量のクロロホルムに溶解後、

シクロヘキサンで 100 mL に定容して 460 nm の吸光度と比吸光度 (文献値^[9] $E_{1\%}^{1\text{cm}}=2640$) から濃度を算出した。

$$\begin{aligned} \text{吸光度 (A)} &= E_{1\%}^{1\text{cm}} \times \text{濃度 (\%)} \times \text{光路長 (1 cm)} \cdots \text{計算式(1)} \\ &= \epsilon \times \text{濃度 (M)} \times \text{光路長 (1 cm)} \end{aligned}$$

E: 比吸光度 濃度 1% の時の吸光度, 濃度% = 質量 g/100mL × 100

ϵ : モル吸光係数 $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} = (\text{質量 g} / \text{分子量}) / \text{体積 L}$

3. HPLC サンプルの調製

ヘキサン溶液 1 mL に酸化防止剤として 0.01% (w/v) ジブチルヒドロキシトルエン (BHT) 含有エタノール 0.5 mL と内部標準を加えたのち、遠心エバポレーター (35 °C) を用いて減圧乾燥した。乾固後、メチル-*t*-ブチルエーテル (MTBE) 1 mL とエタノール 1 mL, 60% KOH 水溶液を加えて 50 °C で 1 時間加温してエステル結合を加水分解した。その後、MTBE 3 mL, 10% NaCl 水溶液 3 mL を加えて激しく攪拌し、1000 rpm で 1 分間遠心して得た上層 3 mL を別の試験管に移し、窒素ガスを吹き付けて乾燥させた。MTBE: メタノール = 1:1 溶媒で溶解させてろ過したものを HPLC サンプルとした。1 品種につき、3 つずつサンプルを調製した。

4. HPLC 分析

HPLC 分析条件は隅田ら^[10]の方法を元に改良して行った。具体的には、オートサンプラー SIL-10AF, UV 検出器 SPD-20AV と蛍光検出器 RF-10AxL を搭載した LC-20A (Shimadzu Corp.) を用い、カラムはカロテノイドカラム C₃₀ (YMC Co. Ltd., 250 mm × 4.6 mm・粒径 5 μm), カラム温度は 37 °C, 移動相は A 液: メタノール/MTBE/水 = 81/15/4 (0.1% 酢酸アンモニウム含有), B 液: メタノール/MTBE = 9/1 とし、グラジエント条件は 0 分 (B:0%) → 5 分 (0%) → 15 分 (10%) → 27 分 (30%) → 40 分 (100%) → 45 分 (100%), 流速は 1 mL/分, 注入量は 10 μL とした。カロテノイドの検出には吸収波長 450 nm を, α-トコフェロールの検出には励起波長 298 nm, 蛍光波長 325 nm を用いた。

カロテノイド標品および α-トコフェロール標品は MTBE: メタノール = 1:1 に溶解し、内部標準溶液を加えて、サンプルと同様の処理をした後に HPLC 分析を行い、検量線を作成した。

Ⅲ. 結果と考察

1. 幼果と成熟果のカロテノイド含有量

幼果ではルテイン, ゼアキサンチン, β-カロテンが検出された (図 1)。ルテインは 1.54–6.20 μg/g で, ‘台湾正柿’ が最も多く, ‘霜’ が最も少なかった。国内の品種では ‘次郎’ (6.05 μg/g) が最も多く, ‘前川次郎’ (2.00

μg/g) が最も少なかった。ゼアキサンチンは 0.53–1.40 μg/g で, ‘四ッ溝’ が最も多く, ‘市田柿’ が最も少なかった。β-カロテンは 2.94–6.57 μg/g で, ‘豆柿’ が最も多いが, 生産品種では ‘市田柿’ (5.37 μg/g) が最も多く, ‘霜’ が最も少なかった。国内品種では ‘西条’ (3.58 μg/g) が最少だった。

成熟果では, ルテイン, ゼアキサンチン, β-クリプトキサンチン, β-カロテン, リコピンも 5 種全てが検出された (図 2)。ルテインは 0.66–2.68 μg/g で, ‘前川次郎’ が最も多く, ‘松本早生富有’ が最も少なかった。ゼアキサンチンは 1.55–11.09 μg/g で, ‘豆柿’ が最も多く, ‘台湾正柿’ が最も少なかった。国内生産品種では ‘刀根早生’ (2.37 μg/g) が最も少なかった。β-クリプトキサンチンは 1.65–24.61 μg/g で, ‘市田柿’ が最も多く, ‘台湾正カキ’ が最も少なかった。国内品種では ‘平核無’ (2.67 μg/g) が最も少なかった。β-カロテンは 1.17–4.79 μg/g で, ‘四ッ溝’ が最も多く, ‘堂上蜂屋’ が最も少なかった。リコピンは 0.05–40.54 μg/g であったが, ‘富有’ だけが顕著に多く, 次に多い ‘前川次郎’ (8.44 μg/g) と比べても 5 倍近くの差があった。

抗酸化作用を持つ脂溶性ビタミン E の一つである α-トコフェロールも調査した。幼果では 0.14–2.18 μg/g で, ‘西条’ が最も多く, ‘愛宕’ が最も少なかったが, 成熟果では 0.22–5.48 μg/g で, ‘愛宕’ が最も多く, ‘西条’ が最も少なかった (図 3)。

2. カロテノイド含有量の品種間差について

本研究において, 5 種類のカロテノイドについて分析したが, 幼果では 3 種類のカロテノイドのみが検出された。ルテインと β-カロテンでは幼果の方が成熟果よりも含有量は多くなる傾向があり, 幼果よりも成熟果で高濃度な品種は, ルテインは ‘前川次郎’, β-カロテンは ‘富有’ のみだった。ゼアキサンチンは幼果よりも成熟果の方が多かった。幼果に比べると成熟果の方で品種間差が大きくなる傾向がみられた。成熟したカキ果実は色づきとともに, ゼアキサンチン, β-クリプトキサンチン, リコピンなどが増加すると思われる。しかし, 未熟果でもある程度カロテノイドが含まれていることや, 品種によっては見た目の色づきに大きな違いがないにもかかわらず, カロテノイド含有量には違いがあった。例えば, ‘市田柿’, ‘前川次郎’ や ‘豆柿’, ‘甲州百目’ などの成熟果においてはゼアキサンチンや β-クリプトキサンチンが主要なカロテノイドとなっているが, ‘富有’ ではリコピンが圧倒的に多く含まれ, ‘台湾正柿’ は他の品種に比べてカロテノイド含有量が少なかった。

成熟果において, 甘カキと渋カキのカロテノイド含有量に特徴的な違いはなかった。‘松本早生富有’ は ‘富有’ の枝変わり品種であり, ‘太秋’ は ‘富有’ の交雑品種であるが, ‘富有’ 程カロテノイド含有量は多くなく, リコ

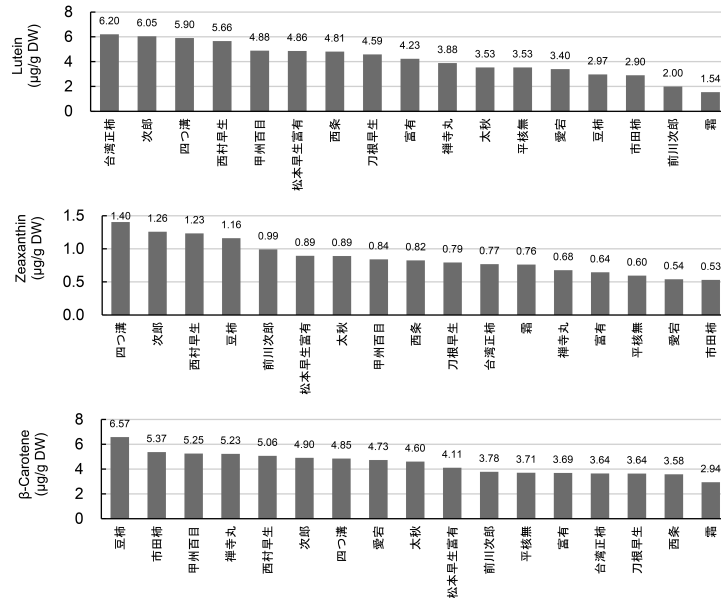


図1 カキ幼果のカロテノイド量における品種間差

各品種のカロテノイド量は3回測定の平均値を示した. DW: Dry Weight (乾燥重量) の略

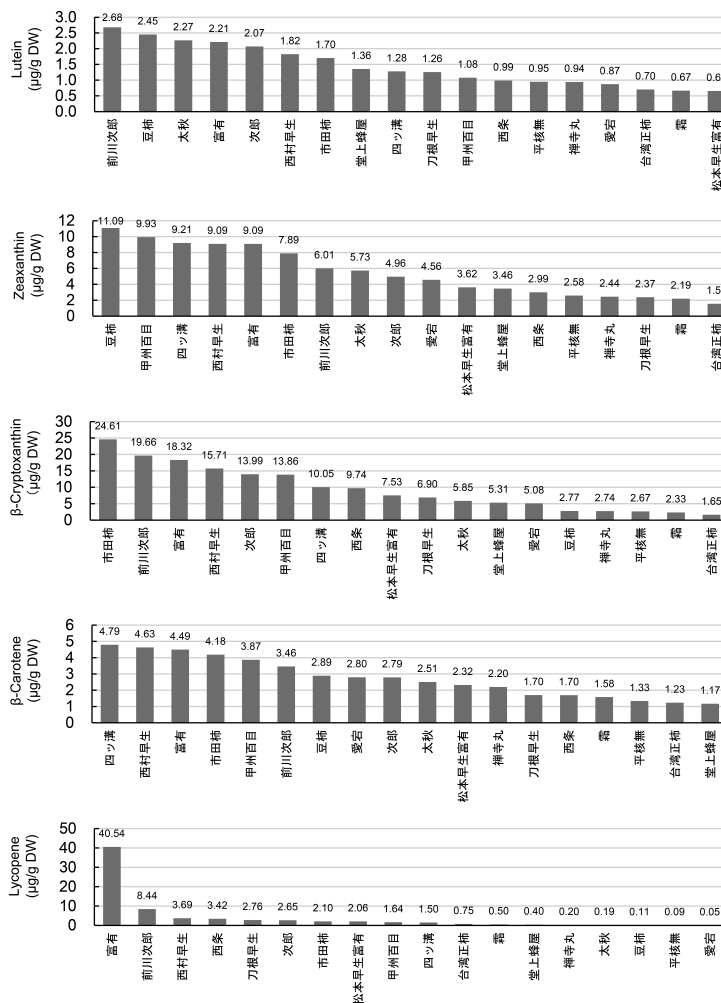


図2 カキ成熟果におけるカロテノイド量の品種間差

各品種のカロテノイド量は3回測定の平均値を示した. DW: Dry Weight (乾燥重量) の略

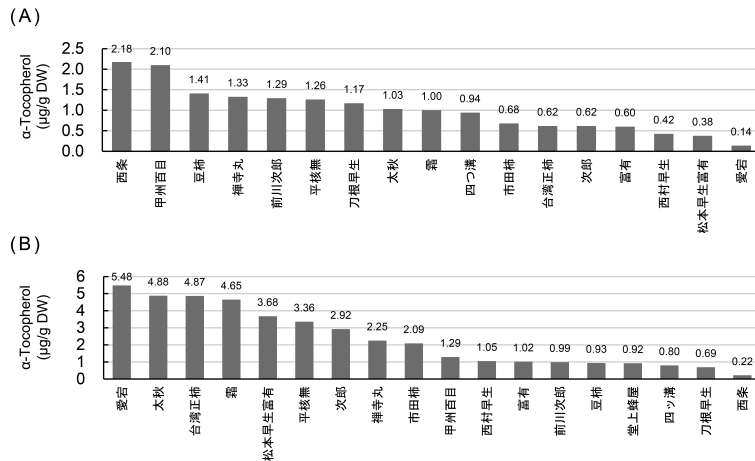


図3 カキ果実における α -トコフェロール量の品種間差

(A) 幼果と (B) 成熟果の含有量を示す。各品種のカロテノイド量は3回測定の平均値を示した。DW: Dry Weight (乾燥重量) の略

ピンも他の品種と違いはなかった。どちらも‘富有’に比べて採取時期が早く、その違いがカロテノイド生成に影響があったかもしれない。‘富有’のリコピン含有量は気温の下がる11月頃から増加することが報告されており^[4]、‘松本早生富有’と‘太秋’は‘富有’よりも1ヶ月早い10月の採取であったことが影響した可能性がある。一方で、‘富有’系統以外の品種は11月の採取でもリコピン含有量は少なく、リコピンの蓄積は‘富有’の特徴であると考えられる。

今回分析した海外の2品種は国内品種に比べていずれのカロテノイド含有量も少ないことが分かった。他の海外品種ではカロテノイドを多く含み、日本の品種と違いはないことが報告されている^[3]ため、今回分析した2品種のカロテノイド蓄積が十分ではなかったか、生成能が低かつ

たことが考えられる。

さらに、カキ成熟果の表面の色調を測定したが(表1)、最もカロテノイド総含有量の多い富有でも赤色(a^* 正方向)や黄色(b^* 正方向)が他の品種よりも強いわけではなく、カロテノイド含有量の少ない刀根早生の方が赤色や黄色が強くと表れていた。特定の品種内であれば成熟とともにカロテノイドの増加と色調の赤色や黄色が強くなっていくことが知られているが、異なる品種間ではカロテノイド量と色調との関係に相関はないことが分かった。カロテノイドは果皮に高濃度に蓄積することが分かっているため、果肉部分と果皮部分のカロテノイド組成についても調査が必要である。また、カキ果実の色はカロテノイド以外のカキタンニンのような成分も大きく影響している可能性も考えられる。

表1 成熟果のカキ品種間におけるカロテノイド総量と皮表面の色調の違い

品種	カロテノイド総量 (µg/g)	L*	a*	b*	メトリック彩度 $\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$	メトリック色相角 θ
台湾正柿	5.89	61.57	23.86	59.36	63.98	68.10
霜	7.26	58.26	32.67	50.81	60.40	57.26
平核無	7.62	61.83	34.37	60.06	69.20	60.22
禅寺丸	8.52	56.43	35.52	50.81	62.00	55.04
堂上蜂屋	11.70	53.95	37.59	50.34	62.83	53.25
愛宕	13.36	64.18	25.67	62.10	67.20	67.54
刀根早生	14.99	60.70	37.05	64.31	74.22	60.05
松本早生富有	16.19	58.93	32.16	57.19	65.61	60.65
太秋	16.55	60.20	27.50	59.95	65.96	65.36
西条	18.83	63.69	26.14	62.96	68.17	67.45
豆柿	19.31	-	-	-	-	-
次郎	26.46	61.26	30.40	56.89	64.50	61.88
四ッ溝	26.82	61.58	34.14	60.28	69.28	60.47
甲州百目	30.38	57.79	44.38	58.90	73.75	53.00
西村早生	34.94	56.85	38.61	56.78	68.66	55.78
前川次郎	40.25	59.57	36.47	56.72	67.43	57.26
市田柿	40.49	59.34	41.44	60.28	73.15	55.49
富有	74.65	55.00	35.82	49.88	61.41	54.32

豆柿は色差測定を行わなかった。

3. カキのカロテノイドの利用

β -クリプトキサンチンは温州ミカンなどに豊富に含まれており、骨粗しょう症予防効果などがよく知られている^[11, 12]。温州ミカンのじょうのう部分には1.7 mg/100 g 新鮮重量（食品成分DB, <https://fooddb.mext.go.jp/>）含まれている。‘市田柿’は β -クリプトキサンチンが最も多いが、値を新鮮重量に換算すると246.1-492 μ g/100 g（水分量を80-90%と仮定）となり、ミカンの方が3.5-7倍多いと思われる。この品種はほとんどが干しカキに加工されている。ミカンほど含有量は高くないが、干しカキ製造で大量に排出される‘市田柿’の果皮を、 β -クリプトキサンチンの利用に用いることができるかもしれない。

リコピンはトマトに多く含まれ、抗酸化活性が強く、動脈硬化予防や前立腺がん予防との関係が報告されている。生食用トマトの含有量は0-19.98 mg/100 g 新鮮重量と報告されており^[13]、‘富有’の値を新鮮重量に換算すると0.4-0.8 mg/100 g 程度（水分量を80-90%と仮定）となる。トマトの含有量に比べると少ないものの、‘富有’は甘い果実であることから誰にでも食べやすい食材と思われる。また、先述と同様に、加工時に排出される果皮を利用することでリコピンを有効活用できるかもしれない。

カキ果実には他の果実や野菜に比べて、カロテノイド含有量は少ないが、多種類のカロテノイドを多く含むという点では特別な果実であり、積極的な摂取によってカロテノイドの持つ健康効果が期待できる。

謝辞

本研究に際してカキ果実をご提供していただいた奈良県農業研究開発センター/果樹・薬草研究センターに感謝いたします。

参考文献

- [1] L. A. Kaplan, J. M. Lau, E. A. Stein, Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs, *Clinical physiology and biochemistry*, **8**, 1-10 (1990)
- [2] A. Milani, M. Basirnejad, S. Shahbazi, A. Bolhassani, Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment, *British journal of pharmacology*, **174**, 1290-1324 (2017) doi: 10.1111/bph.13625.
- [3] C. Zhou, D. Zhao, Y. Sheng, J. Tao, Y. Yang, Carotenoids in fruits of different persimmon cultivars, *Molecules* (Basel, Switzerland), **16**, 624-636 (2011) doi: 10.3390/molecules16010624.
- [4] 新川 猛, 鈴木 哲也, 尾関 健, 加藤 雅也, 生駒 吉識, カキ ‘富有’の成熟に伴うカロテノイドの蓄積特性, 園芸学研究, **6**, 251-256 (2007) doi: 10.2503/hrj.6.251.
- [5] 新川 猛, 尾関 健, 加藤 雅也, 生駒 吉識, 収穫後の高温処理によるカキ ‘富有’ 果肉中のカロテノイド含量の増強, 園芸学研究, **7**, 123-128 (2008) doi: 10.2503/hrj.7.123.
- [6] George Britton, [Carotenoids : handbook], Birkhauser, Basel, (2008).
- [7] Delia B. Omni Rodriguez-Amaya, [A guide to carotenoid analysis in foods], *ILSI Press*, Washington, D.C., (2001).
- [8] 高市 真一, 三室 守, 富田 純史, [カロテノイド: その多様性と生理活性], 裳華房 (2006).
- [9] EFSA Panel on Food Additives, Nutrient Sources added to Food, Scientific Opinion on the re-evaluation of β -apo-8'-carotenal (E 160e) as a food additive, *EFSA Journal*, **10**, 2499 (2012) doi: 10.2903/j.efsa.2012.2499.
- [10] 隅田 孝司, 浜田 智, 東 誠広, 小川 浩史, 多田 幹郎, C30 カラムによる温州ミカン果汁中の β -クリプトキサンチン定量法, 日本食品科学工学会誌, **46**, 467-472 (1999) doi: 10.3136/nskkk.46.467.
- [11] M. Sugiura, M. Nakamura, K. Ogawa, Y. Ikoma, F. Ando, H. Shimokata, M. Yano, Dietary patterns of antioxidant vitamin and carotenoid intake associated with bone mineral density: findings from post-menopausal Japanese female subjects, *Osteoporosis international*, **22**, 143-152 (2011) doi: 10.1007/s00198-010-1239-9.
- [12] M. Sugiura, M. Nakamura, K. Ogawa, Y. Ikoma, F. Ando, M. Yano, Bone mineral density in post-menopausal female subjects is associated with serum antioxidant carotenoids, *Osteoporosis international*, **19**, 211-219 (2008) doi: 10.1007/s00198-007-0457-2.
- [13] 伊藤 秀和, 森本 進, トマトに含まれるリコピンの可視・近赤外分光法を用いる非破壊計測の可能性について, 照明学会誌, **93**, 510-513 (2009) doi: 10.2150/jiej.93.510.