

cis-バクセン酸に着目したカキ果実の新規利用に適した品種

甲木 孝弘, 井土 良一

Persimmon Cultivars that are Suitable for the Development of Food Products Containing *cis*-Vaccenic Acid

Takahiro Katsuki and Ryoichi Izuchi

In persimmon fruits cultivation, some harvested fruits go unused; moreover, some immature fruits are discarded by thinning. To utilize them effectively, we focused on *cis*-vaccenic acid, a constituent that is characteristic of persimmon fruits. We investigated the lipid content and fatty acid profiles of immature and mature fruits from 18 persimmon cultivars to find cultivars that could be used for the development of food products containing *cis*-vaccenic acid.

The lipid content of mature fruits was lower than that of immature fruits, but the *cis*-vaccenic acid content and *cis*-vaccenic acid to total fatty acid ratio were higher in mature fruits. Therefore, mature fruits are more appropriate for *cis*-vaccenic acid product development than immature fruits. Among mature fruits, 'Yotsumizo' had the highest *cis*-vaccenic acid content, and 'Matsumoto Wase Fuyu' had the highest *cis*-vaccenic acid to total fatty acid ratio. These results indicate the *cis*-vaccenic acid content increases with maturity, and that 'Yotsumizo' and 'Matsumoto Wase Fuyu' are the most appropriate cultivars for the production of new *cis*-vaccenic acid containing food products.

Key words: Japanese persimmon, *cis*-vaccenic acid, fatty acid profile

1. 背景・目的

全国のカキの収穫量は約23万トンであるのに対し、出荷量は約19万トンであり(平成29年)¹⁾、出荷・利用されないものがあると考えられる。また、カキ幼果は、梅雨の前後に摘果され、未利用のまま廃棄されている。しかし、カキ果実には抗酸化効果を持つβ-カロテンや、2型糖尿病や骨粗鬆症の予防に有効なβ-クリプトキサンチン²⁻⁴⁾、血圧降下作用やウイルスを不活化させる効果を有するカキタンニン^{5,6)}などが豊富に含まれており、廃棄するのではなく、機能性食品素材として利用すべきと考える。

カキでは総脂肪酸の約30%を、炭素数18のn-7系一価不飽和脂肪酸の*cis*-バクセン酸が占めており⁷⁾、これほど高い割合で含まれている野菜や果実は知られていない。さらに、同じ炭素数18の一価不飽和脂肪酸でみると*cis*-バクセン酸が占める割合は95%となり、これも他の果実にはない特徴である。この特徴的な脂肪酸組成を活かすことで、新たな付加価値を有したカキの利用方法の開発が可能になるのではないかと考えた。また、*cis*-バクセン酸は前駆物質であるパルミトレイン酸(炭素数16, n-7)から鎖長延長酵素5(Elovl5)により合成されることから⁸⁾、同じn-7系脂肪酸であるパルミトレイン酸にも着目することとした。

これまでにカキの品種や幼果と成熟果との間で脂肪酸組

成を比較した調査は行われておらず、*cis*-バクセン酸およびパルミトレイン酸含量が多い品種、熟度は不明である。そこで、*cis*-バクセン酸利用に適した品種および熟度を明らかにするために、主要な18品種の幼果・成熟果における脂肪酸組成を分析した。

2. 実験方法

2-1. カキの脂質抽出前処理

本研究で使用した18品種のカキ果実(甘柿:富有, 松本早生富有, 前川次郎, 次郎, 太秋, 西村早生, 禅寺丸, 渋柿:平核無, 刀根早生, 甲州百目, 市田柿, 西条, 堂上蜂屋, 愛宕, 四ッ溝, 台湾正柿, 霜, 豆柿)は奈良県立農業開発センターより入手した。幼果は2016年7月に、成熟果は2016年10-11月に収穫された。セラミック包丁で薄切し、48時間以上凍結乾燥させた後、ミルサー700G(岩谷産業)を用いて粉末化し、-80℃で保存した。

2-2. Brigh-Dyer 法による果実中脂質量測定

凍結乾燥カキ粉末を三角フラスコに1g秤量し、メタノール50mlを加えた後、クロロホルム25mlを加え、室温で3時間振盪した。10分間室温で静置後、吸引濾過した。三角フラスコ内を、メタノール:クロロホルム(2:1)混合溶媒30mlで洗浄し、吸引濾過した。濾液を分液漏斗に

移し、クロロホルム 35 ml, リン酸緩衝生理食塩水 63 ml を加え、激しく振り、下層をナスフラスコに回収した。クロロホルム 20 ml を分液漏斗内に加え、激しく振り、下層を回収する操作を 2 回行った。回収した溶液をロータリーエバポレーター (EYELA) により減圧濃縮させ、さらに窒素ガスで完全に乾固させ、収量を測定した。乾固物はクロロホルムに溶解して 10 ml に定容し、 -20°C で保存した。

2-3. カキ果実の脂肪酸組成分析

抽出物 (10 mg) と標準物質のパルミチン酸, パルミトレイン酸, ステアリン酸, オレイン酸, *cis*-バクセン酸, リノール酸, α -リノレン酸 (Sigma) 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 mg をそれぞれ別々にスクリュウキャップ付試験管に入れ、内部標準として 1 mg/ml ヘプタデカン酸 1 ml を加えた。 60°C の湯浴中で窒素置換しながら溶媒を揮発させ、水で冷却した。0.5 M 水酸化ナトリウム-メタノール 1.5 ml を加え、試験管内を窒素置換し、ヒートブロック HP-21 (ヤマト科学) で 105°C , 9 分間反応させた。冷却後、三フッ化ホウ素メタノール錯体-メタノール溶液 (Sigma-Aldrich) 2 ml を加え、試験管内を窒素置換し、ヒートブロックで 105°C , 7 分間反応させた。冷却後、ヘキササン 3 ml を加え、激しく振った。さらに、飽和食塩水 5 ml を加え、軽く転倒混和した。5 分間静置後、上層をフィルター濾過し、分析まで -20°C で保存した。GC-MS7890A (Agilent Technologies) による分析は以下の条件で実施した。

カラム: SP2380 (100 m \times 内径 0.25 mm, フィルム厚 0.2 μm , SUPELCO)

注入量: 1 μl

注入口温度: 250°C

スプリット比: 20 : 1

キャリアガス: ヘリウム, 1 ml/分

昇温条件: 50°C (1 分間保持) $0 \rightarrow 20^{\circ}\text{C}$ / 分で 140°C まで昇温 $\rightarrow 4^{\circ}\text{C}$ / 分で 240°C まで昇温, 50 分経過まで 240°C で保持

検出器: 飛行時間型質量分析計 JMS-T100GC (JEOL) 標準脂肪酸メチルのトータルイオンカレントクロマトグラムの面積値から作成した検量線を基に、各脂肪酸の含有量を算出した。

3. 結果

3-1. 幼果, 成熟果の脂質含量

脂質量上位 5 品種は、幼果では「刀根早生」が最も多く 557.4 mg/100 g 新鮮重 (FW), 次いで「豆柿」の 537.9 mg/100 g FW, 「四ッ溝」の 423.3 mg/100 g FW, 「甲州百目」の 373.9 mg/100 g FW, 「次郎」の 367.9 mg/100 g FW の順であった (図 1A)。成熟果では「西村早生」の 334.5 mg/100 g FW が最も多く、次いで「松本早生富有」の 302.1 mg/100 g FW, 「豆柿」の 253.6 mg/100 g FW,

「平核無」の 250.4 mg/100 g FW, 「四ッ溝」の 249.6 mg/100 g FW の順であった (図 1B)。また、成熟果 18 品種の平均値は 200.8 mg/100 g FW, 幼果は 366.6 mg/100 g FW であり、幼果の方が 2 倍近く多かった。

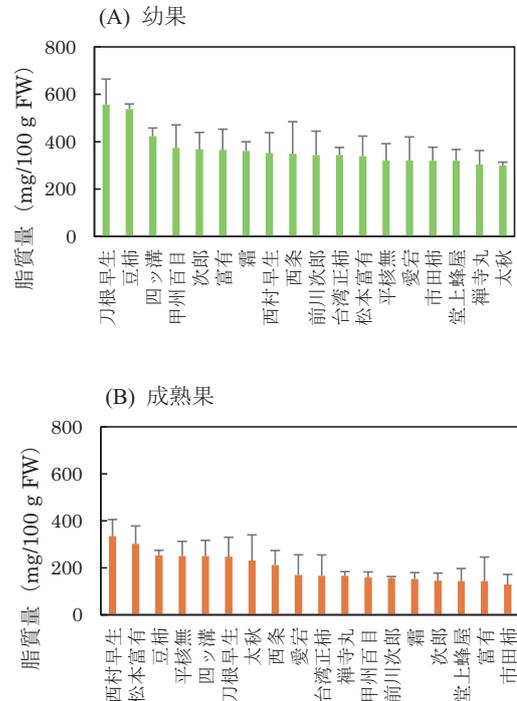


図 1 カキ幼果・成熟果の脂質量

18 品種の幼果・成熟果から脂質を Brigh-Dyer 法により抽出し、その収量を測定した。(A)は幼果、(B)は成熟果の新鮮重 100 g 当たりの脂質量を示している。なお、エラーバーは標準偏差を示す。

3-2. 幼果, 成熟果の全脂肪酸中に占める *cis*-バクセン酸, パルミトレイン酸組成比

幼果と成熟果の脂肪酸組成を比較すると、全ての品種で全脂肪酸中に占める *cis*-バクセン酸, パルミトレイン酸の組成比は成熟果の方が高かった (図 2)。成熟果で *cis*-バクセン酸組成比の上位 5 品種は、「松本早生富有」の 32.4%, 「甲州百目」の 31.4%, 「禅寺丸」の 28.4%, 「次郎」の 27.8%, 「四ッ溝」の 27.2% であった (図 2A)。パルミトレイン酸組成比の上位 5 品種は、「四ッ溝」の 33.2%, 「西条」の 24.6%, 「霜」の 22.4%, 「刀根早生」の 22.2%, 「甲州百目」の 20.4% であった (図 2B)。

3-3. 幼果, 成熟果中の *cis*-バクセン酸含量

cis-バクセン酸含量は、脂肪酸組成比と同様に全品種で幼果に比べ成熟果の方が多かった (図 3)。成熟果の上位 5 品種は、「四ッ溝」の 4.0 mg/100 g FW, 「西村早生」の 13.4 mg/100 g FW, 「太秋」の 13.4 mg/100 g FW, 「松本早生富有」の 12.3 mg/100 g FW, 「刀根早生」の 11.4 mg/100 g FW であった (図 3B)。

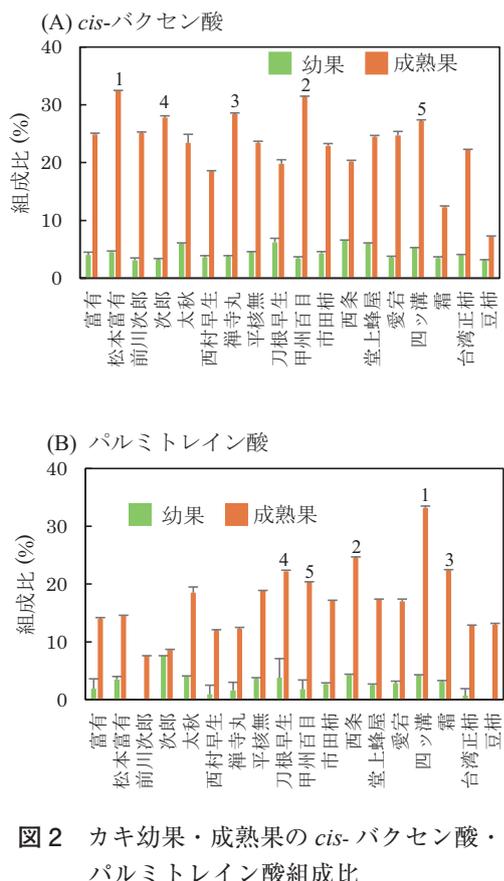


図2 カキ幼果・成熟果の *cis*-バクセン酸・パルミトレイン酸組成比

18品種の幼果・成熟果から脂質の脂肪酸組成を分析し、(A) *cis*-バクセン酸、(B)パルミトレイン酸の組成比を示した。各グラフの黄緑色の棒は幼果、橙色の棒は成熟果を示す。また、棒の上に記した数値は組成比の高い上位5品種の順位を示す。なお、エラーバーは標準偏差を示す。

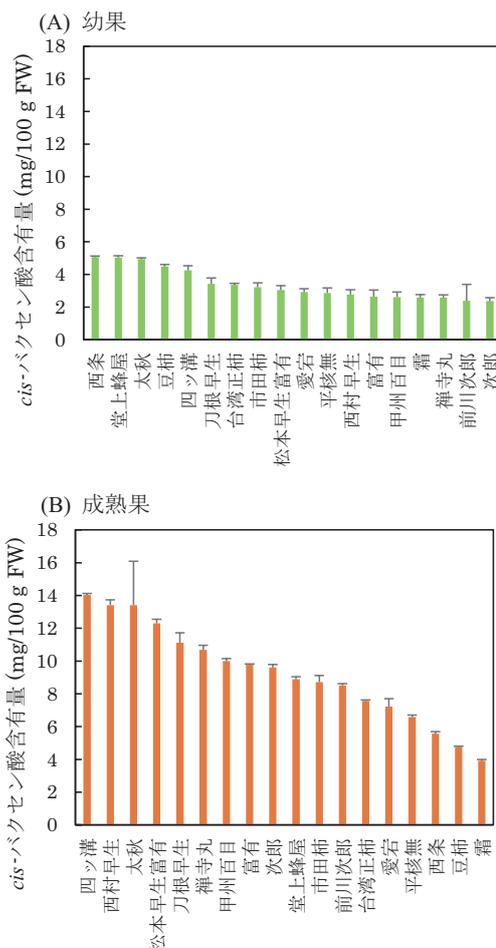


図3 カキ幼果・成熟果の *cis*-バクセン酸含有量

18品種の幼果・成熟果からGC-MSを用いて100g当たりの *cis*-バクセン酸含有量を算出した。(A)は幼果、(B)は成熟果の新鮮重100g当たりの脂質量を示している。なお、エラーバーは標準偏差を示す。

3-4. 幼果、成熟果の全脂肪酸中に占めるその他の脂肪酸組成比

幼果、成熟果の全脂肪酸中に占めるパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸の組成比を示した(図4)。パルミチン酸、リノール酸組成比は全品種で幼果の方が成熟果に比べ高かった(図4A, D)。ステアリン酸、オレイン酸、 α -リノレン酸に関しては、一部の品種を除き、幼果と成熟果に大きな違いはなかった(図4B, C, E)。

4. 考察

4-1. 幼果と成熟果間の脂肪酸組成の違い

脂肪酸組成の結果から *cis*-バクセン酸の占める割合は成熟過程で高くなることが分かった。大腸菌では生育環境温度の低下により、細胞膜脂質の *cis*-バクセン酸比率が高くなることが報告されている^{9,10}。植物でも低温環境下では、生体膜脂質の流動性を保つために飽和脂肪酸よりも融

点の低い不飽和脂肪酸の比率が増加することが知られている¹¹。実際に、低温障害が起こる植物に比べ抵抗性を有する植物の方が、ミトコンドリアのリン脂質中の不飽和脂肪酸の割合が高いことが報告されている¹²。カキ成熟果では飽和脂肪酸のパルミチン酸の比率が幼果に比べ低かったことから、成熟過程での外界の気温低下による細胞膜の流動性の喪失を防ぐために、一価不飽和脂肪酸である *cis*-バクセン酸の比率が高くなった可能性がある。カキを含む果実が幼果から成熟する過程で *cis*-バクセン酸の比率が高くなるという報告は無く、今回の結果は新規の知見である。ただし、オレイン酸やリノール酸ではなく、*cis*-バクセン酸やパルミトレイン酸の比率が上昇する原因は分かっておらず、他の *cis*-バクセン酸を高い比率で含む植物でも幼果と成熟果の脂肪酸組成を調査することで、その要因が判明する可能性がある。

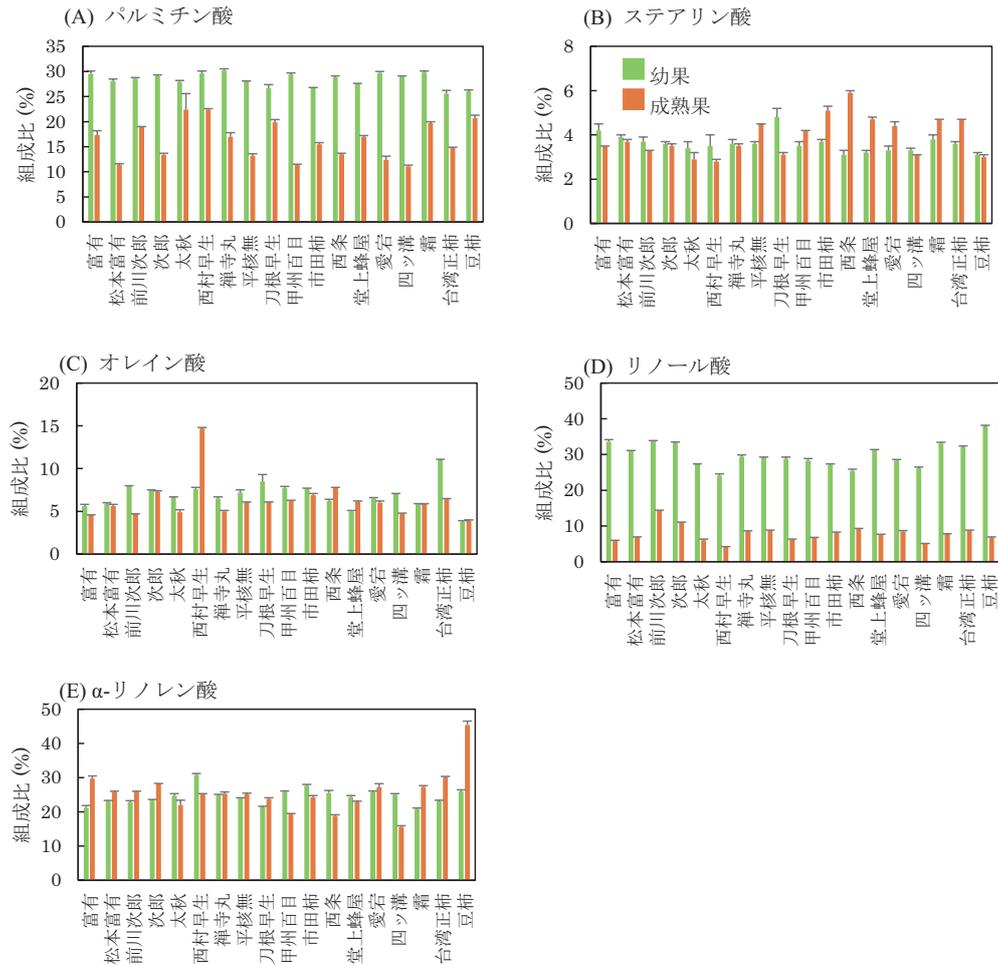


図4 カキ効果・成熟果の脂肪酸組成比

18品種の幼果・成熟果から脂質の脂肪酸組成を分析し、(A)パルミチン酸、(B)ステアリン酸、(C)オレイン酸、(D)リノール酸、(E) α -リノレン酸の組成比を示した。各グラフの黄緑色の棒は幼果、橙色の棒は成熟果を示す。なお、エラーバーは標準偏差を示す。

4-2. *cis*-バクセン酸を特徴とした脂質利用に適したカキ品種

脂質利用に適した品種を、*cis*-バクセン酸の含有量と組成比、さらに*cis*-バクセン酸の前駆体であるパルミトレイン酸の組成比の3つの項目に着目して選定した。全ての項目において成熟果の方が幼果より勝るため、成熟果のみを対象とした。

まず、*cis*-バクセン酸含有量が最も多い品種は「四ッ溝」であった。さらに、パルミトレイン酸の組成比も「四ッ溝」が最も高く、*cis*-バクセン酸と合わせた比率は18品種の中で唯一60%を超えており、生体内で*cis*-バクセン酸に変換されることを考慮すると、最も*cis*-バクセン酸の摂取効果が期待できる品種であると考えられる。

cis-バクセン酸の組成比が最も高い品種は「松本早生富有」であり、*cis*-バクセン酸濃度が最も高い油脂を抽出することが可能である。「四ッ溝」より作付面積は10倍以上¹³⁾、脂質量も上回ることから、「松本早生富有」の方が油脂生産の面では適していると考えられる。

これらの結果から、*cis*-バクセン酸を特徴とした脂質利

用として、渋柿である「四ッ溝」はカキ果実そのものを活かした加工（干し柿、柿チップス、柿ジャムなど）に最も適しており、「松本早生富有」はカキ由来油脂の利用に最も適していると結論づけた。

4-3. 幼果の利用について

幼果についてはリノール酸、 α -リノレン酸を合わせた比率が50%を超えることから、高度不飽和脂肪酸を特徴とするカキ由来油脂としての利用が期待できる。ただし、すでに α -リノレン酸比率が50%以上の亜麻仁油が市販されており、様々な機能性が報告されていることから¹⁴⁾、差別化は難しいと考えられる。幼果に関しては脂肪酸以外の成分について成熟果と比較することで、幼果特有の有効性を見つけ出し、新たな利用方法を探索する必要がある。

4-4. *cis*-バクセン酸の機能性についての可能性

cis-バクセン酸摂取効果の報告は無く、機能性については未知である。しかし、*cis*-バクセン酸は生体で合成されることが知られており、生体内での機能は分かりつつある。

パルミトレイン酸からの *cis*-バクセン酸合成に関与する Elov15 を高発現させたマウスでは、糖負荷試験による血糖値上昇が抑制されることが報告されており¹⁵⁾、冠動脈心疾患患者の血中 *cis*-バクセン酸濃度を測定した研究では、濃度が高い患者ほど糖尿病の罹患率が低いことが分かっている¹⁶⁾。これらから、*cis*-バクセン酸は糖尿病に対して有効な作用を示す可能性が考えられる。また、前駆体のパルミトレイン酸を糖尿病マウスに投与した結果、高血糖状態が緩和されることが報告されている¹⁷⁾。培養細胞を用いた試験においてパルミトレイン酸から *cis*-バクセン酸の合成が促進されることで、糖新生抑制に関わるシグナルが活性化することが報告されていることから¹⁸⁾、*cis*-バクセン酸を摂取すれば、パルミトレイン酸と同等の効果をえられる可能性も考えられる。*cis*-バクセン酸を特徴としたカキ脂質の有効利用には *cis*-バクセン酸の機能性解明が必須であると考えられる。

謝辞

柿幼果及び成熟果を提供して下さった奈良県立農業開発センター果樹・薬草研究センター果樹栽培ユニット総括研究員：杉村輝彦博士、研究開発部基盤技術科植物機能ユニット：北條雅也主任研究員に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 平成 29 年産西洋なし、かき、くりの結果樹面積、収穫量及び出荷量（農林水産省）
(http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kazyu/ 2018.10.10 閲覧)
- 2) Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K., Ikoma Y., Matsumoto H., Ando F., Shimokata H. and Yano M. Associations of serum carotenoid concentrations with the metabolic syndrome: interaction with smoking. *Br J Nutr.* **100**, 1297–1306 (2008)
- 3) Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K., Ikoma Y. and Yano M. High serum carotenoids associated with lower risk for bone loss and osteoporosis in postmenopausal Japanese female subjects: prospective cohort study. *PLoS One.* **7**, e52643 (2012)
- 4) Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K., Ikoma Y. and Yano M. High serum carotenoids associated with lower risk for developing type 2 diabetes among Japanese subjects: Mikkabi cohort study. *BMJ Open Diabetes Res Care.* **3**, e000147 (2015)
- 5) Sagawa T. and Igarashi K. Development of food processing technology for persimmon food products with physiological function. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* **61**, 339–345 (2014)
- 6) Ueda K., Kwabata R., Irie T., Nakai Y., Tohya Y. and Sakaguchi T. Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: Strong effects of extracts from persimmon on a broad range of viruses. *PLoS One.* **8**, e55343 (2013)
- 7) Shibahara A., Yamamoto K., Nakayama T. and Kajimoto G. *cis*-Vaccenic acid in pulp lipids of commonly available fruits. *JAOCs.* **64**, 397–401 (1987)
- 8) Wang Y., Botolin D., Xu J., Cristian B., Mitchell E., Jayaprakasam B., Nair M. G., Peters J. M., Busik J. V., Olson L. K. and Jump D. B. Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. *J Lipid Res.* **47**, 2028–2041 (2006)
- 9) Garwin J. L. and Cronan J. E. Thermal modulation of fatty acid synthesis in *Escherichia coli* does not involve de novo enzyme synthesis. *J Bacteriol.* **141**, 1457–1459 (1980)
- 10) Cronan J. E. Thermal regulation of the membrane lipid composition of *Escherichia coli*. Evidence for the direct control of fatty acid synthesis. *J Biol Chem.* **250**, 7074–7077 (1975)
- 11) Harris P. and James A. T. The effect of low temperatures on fatty acids biosynthesis in plants. *Biochem J.* **112**, 325–350 (1969)
- 12) Lynos J. M., Wheaton T. A. and Pratt H. K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants. *Plant Physiol.* **39**, 262–268 (1964)
- 13) 平成 27 年産特産果樹生産動態等調査（農林水産省）
(http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokusan_kazyu/2018.10.10 閲覧)
- 14) Goyal A., Sharma V., Upadhyay N., Gill S. and Sihag M. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *J Food Sci Technol.* **51**, 1633–1653 (2014)
- 15) Tripathy S., Torres-Gonzalez M. and Jumb D. B. Elevated hepatic fatty acid elongase-5 activity corrects dietary fat-induced hyperglycemia in obese C57BL/6J mice. *J Lipid Res.* **51**, 2642–2654 (2010)
- 16) Djousse L., Matsumoto C., Hanson N. Q., Weir N. L., Tsai M. Y. and Gaziano J. M. Plasma *cis*-vaccenic acid and risk of heart failure with antecedent coronary heart disease in male physicians. *Clin Nutr.* **33** 478–482 (2014)
- 17) Yang Z. H., Miyahara H. and Hatanaka A. Chronic administration of palmitoleic acid reduces insulin resistance and hepatic lipid accumulation in KK-Ay mice with genetic type 2 diabetes. *Lipid Health Dis.* **10**, 120 (2011)
- 18) Tripathy S. and Jump D. B. Elov15 regulates the m-TORC2-Akt-FOXO1 pathway by controlling hepatic *cis*-vaccenic acids synthesis in diet induced obese mouse. *J Lipid Res.* **54**, 71–84 (2013)