

博士学位論文

ユチャ（油茶）種子の脂質特性と生理機能

東京工科大学

バイオ・情報メディア研究科

バイオニクス専攻

2020年3月

ソ イ

Wei Zeng

# 目次

略語一覧	1
第一章 序論	3
第二章 カメリア種子油の脂質特性	12
第三章 ユチャ種子の脂質特性に及ぼす栽培品種と栽培地域の影響	30
第四章 ユチャ種子に含まれるポリフェノールおよび抗酸化作用	48
第五章 ユチャ油の自動酸化安定性及び熱安定性	64
第一節 ユチャ油の自動酸化安定性	68
第二節 ユチャ油の熱安定性	72
第三節 加熱に及ぼすユチャ油に含まれた不ケン化物の影響	81
第六章 ユチャ油の摂取がラットの脂質代謝に及ぼす影響	92
総括	101
参考文献	102
謝辞	112

## 略語一覽

ADGD: Acyl digalactoglyceride  
Cg: Catechin gallate  
CL-18: Changlin-18 (cultivar of *Camellia oleifera*)  
CL-40: Changlin-40 (cultivar of *Camellia oleifera*)  
COSO: *Camellia oleifera* seed oil  
DG: Diacylglycerol  
DPPH: 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
ECg: Epicatechin gallate  
ECN: Equivalent carbon number  
EGC: Epigallocatechin  
EGCg: Epigallocatechin gallate  
EI-MS: Electron ionization mass spectrum  
FDA: *Food and drug administration*  
FID: Flame ionization detector  
FRAP: Ferric ion reducing antioxidant power  
GC: Gas chromatography  
GCg: Gallocatechin gallate  
GS83-4: Ganshi83-4 (cultivar of *Camellia oleifera*)  
GY-5: Ganyong-5 (cultivar of *Camellia oleifera*)  
GZY-1: Ganzhouyou-1 (cultivar of *Camellia oleifera*)  
HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol  
HPLC: High performance liquid chromatography  
LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol  
MG: Monoacylglycerol  
MGD: Monogalactosyl diglyceride  
MUFA: Monounsaturated fatty acid  
NIST: National institute of standards and technology  
OOL: Dioleoyl linoleoyl glycerol  
OOO: Trioleoylglycerol  
PC: Phosphatidylcholine  
PE: Phosphadylethanolamine  
PI: Phosphatidylinositol  
POO: Dioleoyl palmitoyl glycerol  
PPP: Tripalmitoylglycerol  
PPS: Dipalmitoyl stearoyl glycerol  
PSS: Distearoyl palmitoyl glycerol  
PUFA: Polyunsaturated fatty acid  
RBD: Refined, bleached and deodorize  
SE: Sterol

SFA: Saturated fatty acid  
SPME: Solid phase microextraction  
SQD: Sulfoquinovosyl diglyceride  
SSS: Tristearoylglycerol  
TAG: Triacylglycerol  
TLC: Thin layer chromatography  
TOF-MS: Time of flight mass spectrometer  
UFA: Unsaturated fatty acid  
UM: Unsaponifiable matter  
YKX-2: Yuekexia-2 (cultivar of *Camellia oleifera*)

## 第一章 序論

ユチャ（油茶）とは、広義ではツバキ科（*Theaceae*）カメリア属（*Camellia*）の油分が多い種子の作物を指し、狭義では *Camellia oleifera* を指す。

カメリア属は、ツバキ科の一属で、中国や日本を含む、東アジア、東南アジア原産である。カメリア属の植物は  $S7^{\circ} \sim N35^{\circ}$ 、 $E80^{\circ} \sim 140^{\circ}$  の間に分布し、特に中国の南部に分布している。残りは日本やインドシナ半島、インド東部、フィリピンで栽培されている。

カメリア属とは、ヨーロッパに初めて観賞用植物を取り入れたイエズス会宣教師の G. J. Kamel に敬意を表して、スウェーデンの植物学者 C. Linnaeus によって名付けられた。Linnaeus は当時、日本のツバキ（*C. japonica*）とお茶（*C. sinensis*）の2つの種だけを挙げていたが、今ではカメリア属は300種を超え、ツバキ科では最も大きな属になった<sup>1)</sup>。

暖かい地域ではカメリア属の植物は経済的価値が高く、ほとんどのカメリア属の植物は色鮮やかな花を咲かせることから、装飾的な価値がある。代表的なカメリア属の植物を表1に示した<sup>2)</sup>。現在、世界で最も広く普及しているカメリア属の植物は *C. sinensis* で、その葉を利用してお茶が作られている。カメリア属の植物は観賞用やお茶を作ることだけでなく、種子に多くの油分が含まれていることから、油脂の生産にも利用されている。カメリア油は中国と日本では長く利用されていたが、ヨーロッパでは油用植物として茶や観賞用植物より300年遅れて導入された<sup>3-5)</sup>。

Table 1.1 Representative species of *Camellia*

Name of species	Customary name	Flower color	main purpose	Main distributed
<i>Camellia chrysantha</i>	Golden camellia	Yellow	Ornamental	China, Vietnam
<i>Camellia crapnelliana</i>	Crapnell's camellia	White	Ornamental	China, Japan
<i>Camellia granthamiana</i>	Grantham's camellia	White	Ornamental	China
<i>Camellia hongkongensis</i>	Hong Kong camellia	Pink	Ornamental	China
<i>Camellia japonica</i>	Tsubaki	Red, pink, purple	Ornamental, oil production	China, Japan, south Korea
<i>Camellia nitidissima</i>	Yellow camellia	Yellow	Ornamental	China, Vietnam
<i>Camellia oleifera</i>	Tea oil camellia	White	Oil production	China
<i>Camellia rusticana</i>	Snow camellia	Red, Pink	Ornamental	India
<i>Camellia sinensis</i>	Tea plant	White	Tea production	All over the world

## 1.1 ユチャの栽培

ユチャは常緑樹で低木が多いが、一部高木もある。幹は直立するものと、根本から分枝するものがある。葉は単葉で鋸歯があり、革質で厚く、光沢がある。ユチャの花はほとんどが10月上旬に開花し、11月で満開になる。花が受粉すると、3月上旬に子房が徐々に拡大しながら若い果実を形成し、ゆっくりと成長する。3月下旬から8月下旬にかけて、果実の成長は徐々に加速し、10月下旬にはユチャの果実は熟す。したがって、ユチャは普通の植物と異なり、果実の開花から成熟までに秋、冬、春、夏、秋の5つの季節を経る。

ユチャの栽培は温暖な気候と適度な降水が必要とされ、ほとんどは北半球でN15°~30°の間に分布している。したがって、世界のユチャ栽培は主に中国に集中しており、ベトナムやタイでも少量栽培されている。2018年に中国のユチャ栽培面積は470万haを超えて、日本全国の面積の12.4%と相当し、中国の主要な油料作物になった。中国のユチャ生産地帯を図1.1に示した。この中の湖南省(Hunan province)、江西省(Jiangxi province)、広西省(Guangxi province)の栽培面積は全体の76.2%に達した<sup>6)</sup>。

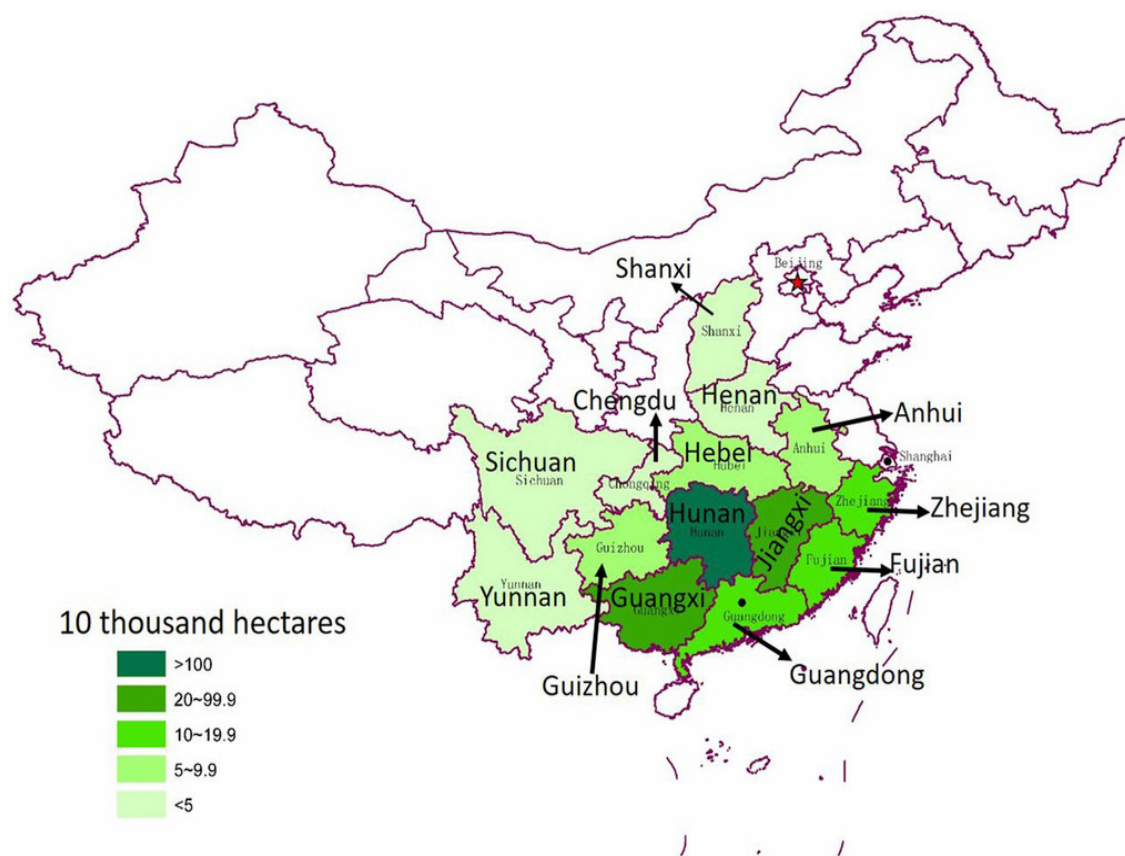


Fig. 1.1 The main planting area of *Camellia oleifera* in China<sup>6)</sup>

## 1.2 採油および精製

ユチャ油の製造方法は、一般的に圧搾法および抽出法を併用して行われているが、近年では Cellulase (セルラーゼ) などの酵素を用い、遠心分離機で油を分離する方法もある<sup>7)</sup>。ユチャ油の一般的な搾油および精製工程を図1.2に示した。

図1.3にユチャ果実と種子の写真を示した。摘み取ったユチャの果実を乾燥させ、種子を取り出し、夾雑物を除去した後、ユチャ種子を粉砕する。次に粉砕したユチャ種子を蒸し

て圧搾する。圧搾によって得られた油はろ過され、精製工程に移る。一方、圧搾ケーキは抽出機に送られ、*n*-Hexane (*n*-ヘキサン) で油を抽出し、得られた抽出油は精製工程に移る。

圧搾および抽出によって得られたユチャ原油中の Phospholipid (リン脂質) は非常に少ないため、一般的な工場では脱ガム工程を経ない。そのため、ユチャ油の精製工程は Sodium hydroxide (水酸化ナトリウム) を用いた脱酸から始め、次に白土と活性炭を用いた脱色を行い、最後に脱臭、脱ろうを行う。初期段階では、脱色時に活性炭は使用されていなかったが、後に Benzo [a] pyrene (ベンゾ[a]ピレン) がユチャ油に多いことが発見されたため、現在では一般的に白土量の 1000 分の 3 の活性炭を加えて脱色する。

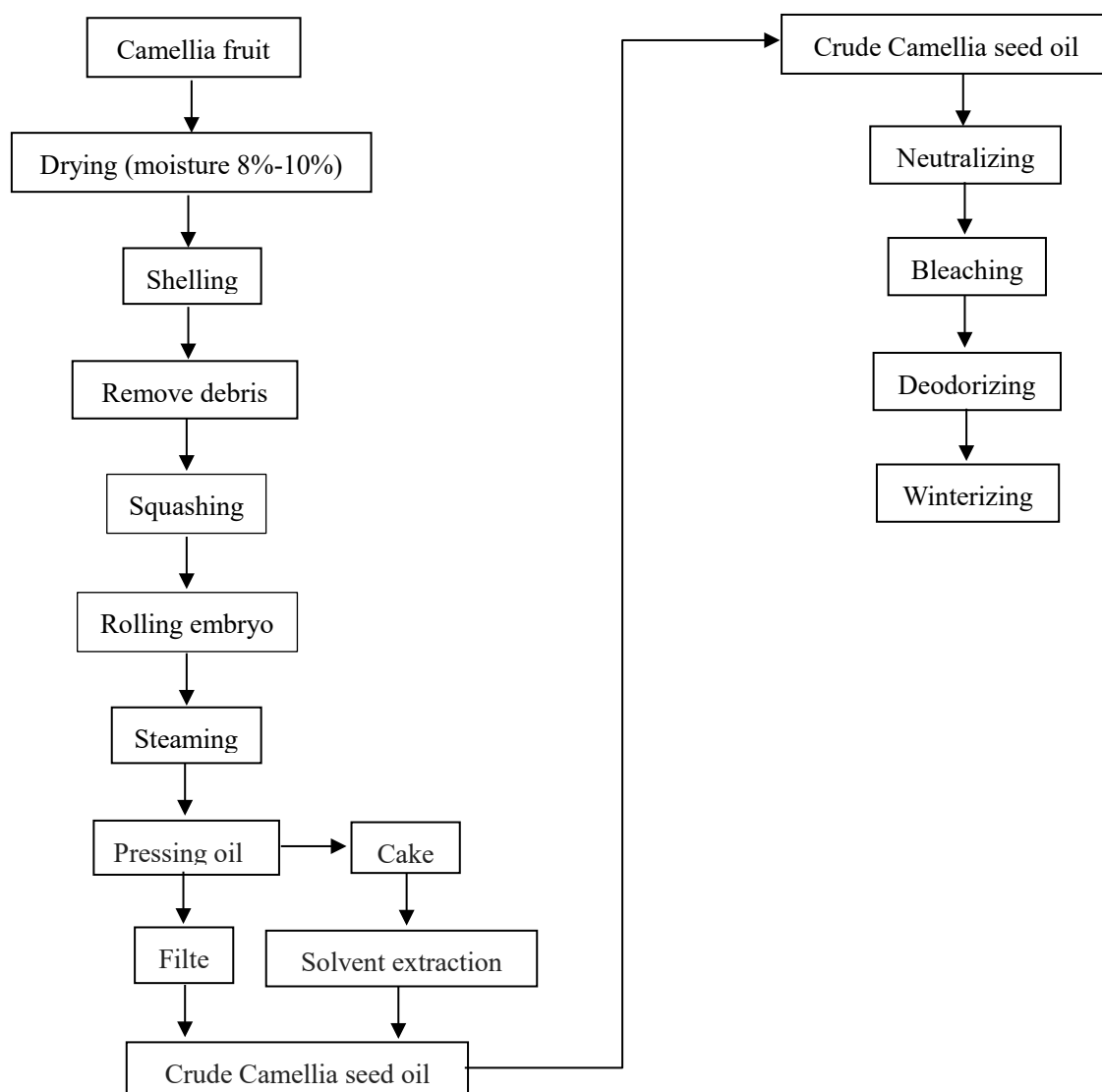


Fig. 1.2 production process of *Camellia oleifera* seed oil



Fig. 1.3 The photo of *Camellia oleifera* fruits and seeds



### 1.3 ユチャ油の成分と特性

ユチャ油は常温で明るい黄色の液体で、水に溶けないが、Diethyl ether（ジエチルエーテル）、Chloroform（クロロホルム）、Benzene（ベンゼン）、Petroleum ether（石油エーテル）、Carbon disulfide（二硫化炭素）などの有機溶媒に溶ける。

#### 1.3.1 ユチャ油の物理的特性

ユチャ油の一般的な物性値を表 1.2 に示した。ユチャ油のヨウ素価は 83-89 I<sub>2</sub> g/100g で、不乾性油に属する。ケン価は 193-196 mg/g である。

Table 1.2 Physicochemical properties of *C. oleifera* seed oil

Item	Characteristic value	Ref.
Refractive index (n <sup>40</sup> )	1.460-1.464	8
Relative density (d <sub>20</sub> <sup>20</sup> )	0.912-0.922	8
Iodine value (I <sub>2</sub> ) (g/100g)	83-89	8
Saponification value (KOH) (mg/g)	193-196	8
Unsaponifiable matter (%)	0.1-1.5	8
Freezing point (°C)	-8.0	9
Smoke point (°C)	215	9

#### 1.3.2 ユチャ油の脂肪酸組成およびトリアシルグリセロール組成

ユチャ油の脂肪酸のほとんどは Triacylglycerol (TAG, トリアシルグリセロール) として存在しており、多種類の脂肪酸が含まれている。Yang らは、10 種類のユチャ栽培品種の脂肪酸組成を分析し、その結果を表 1.3 に示した<sup>10)</sup>。表 1.3 からユチャ油の脂肪酸組成の特徴は、他の植物種子油と比較して、モノ不飽和脂肪酸の Oleic acid（オレイン酸）の含有量が非常に高く、オリーブ油の脂肪酸組成と似ている。一方、ユチャ油の多価不飽和脂肪酸が菜種油、大豆油と比較して著しく少ないことから、酸化安定性が高い要因となっている。

次に、ユチャ油の TAG 組成を表 1.4 に示した。Liu らは中国産の 46 種類のユチャ栽培品種を用いて、ユチャ種子油の TAG 組成、または sn-2 位の脂肪酸分布を調べた<sup>11)</sup>。15 種類の TAG 種が見つかり、主な TAG は OOO + SLO (80.39%)、OOP(11.14%)および OOL + SLL (4.76%)であった。また、PPLn、SSLn、PSLn は見られたが、PPP、SSS、PSP、SPS などの飽和 TAG 種は検出されなかった。Sn - 2 位は主にオレイン酸 (60.77%)、Linoleic acid（リノール酸）(15.23%)および Palmitic acid（パルミチン酸）(14.22%)によって多く占められていた。

Table 1.3 Fatty acid composition of *C. oleifera* seed oil (%)

<b>Fatty acid</b>	<b>16:0</b>	<b>16:1</b>	<b>18:0</b>	<b>18:1</b>	<b>18:2</b>	<b>18:3</b>	<b>20:1</b>	<b>24:1</b>	<b>ΣSFA</b>	<b>ΣMUFA</b>	<b>ΣPUFA</b>	<b>ΣUFA</b>
Maximum value	9.55	0.55	2.97	81.39	10.79	1.11	0.97	0.36	12.49	82.78	11.27	90.17
Minimum value	7.68	0.16	1.46	75.78	4.85	0.30	0.68	0.08	9.78	77.08	5.17	87.45
Average	8.89	0.25	2.08	78.75	8.16	0.51	0.81	0.14	11.19	80.07	8.67	88.74

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

Table 1.4 Triacylglycerol composition of *C. oleifera* seed oil (%)

<b>Triacylglycerol</b>	<b>LLL<sub>n</sub></b>	<b>LLL</b>	<b>LLO</b>	<b>PLL</b>	<b>OOL+SLL</b>	<b>POL</b>	<b>PPL</b>	<b>OOO+SLO</b>	<b>OOP</b>	<b>POP</b>	<b>SOO</b>	<b>SLS</b>	<b>POS</b>
Maximum value	0.06	0.21	1.01	0.50	10.33	2.79	0.01	84.42	16.74	0.47	0.23	3.45	0.14
Minimum value	0.00	0.02	0.02	0.02	2.73	0.13	0.00	66.08	8.17	0.02	0.10	0.80	0.02
Average	0.02	0.07	0.37	0.14	4.76	0.88	0.01	80.39	11.14	0.10	0.17	1.93	0.08

P, 16:0; S, 18:0; O, 18:1; L, 18:2; Ln, 18:3.

### 1.3.3 ユチャ油の微量成分

ユチャ油には TAG 以外に微量ではあるが、数多くの成分が含まれている。微量成分の種類と含有量は他の食用油とは異なる。ユチャ油の微量成分には、Mono・Diacylglycerol (モノ・ジアシルグリセロール)、Free fatty acid (遊離脂肪酸)、Glycolipid (糖脂質)、リン脂質、Sterol (ステロール)、Squalene (スクアレン)、Tocopherol (トコフェロール)、Chlorophyll (クロロフィル)、Polyphenol (ポリフェノール) などがある。近年では、ユチャ油に含まれる微量成分、特にポリフェノールが注目され、多くの研究が行われている。

#### 1.3.3.1 スクアレン

スクアレンは 1906 年、辻本満丸がサメ肝油中で発見し<sup>12)</sup>、続いて植物油ではオリーブ油に存在することを発見した。スクアレンはステロール生合成における前駆体であり、動物の皮表脂質の構成成分として重要な生理的役割を果たしている。Tang らはユチャ油とオリーブ油のスクアレン含有量を比較したが、ユチャ油のスクアレンの最高含有量は 0.156 g/kg、最低値はわずか 0.077 g/kg、平均値は 0.117 g/kg であった。オリーブ油のスクアレンの最高含有量は 8.401 g/kg、最低値は 4.511 g/kg、平均 5.78 g/kg であった<sup>13)</sup>。そのため、オリーブ油中のスクアレン含有量はユチャ油の約 50 倍であることを明らかにしている。

#### 1.3.3.2 ステロール

ユチャ油のステロールに関する報告は比較的少なく、山口と倉田らはユチャ油には Campesterol (カンペステロール)、Stigmasterol (スチグマステロール)、Sitosterol (シトステロール)、Lupeol (ルペオール)、 $\alpha$ -Spinasterol ( $\alpha$ -スピナステロール)、Amyrin (アミリン)、Cycloeucaenol (シクロユーカレノール) の 7 種類のステロールが含まれていることを報告したが<sup>14)</sup>、Wang らは Cycloartenol (シクロアルテノール)、アミリン、Lanosterol (ラノステロール) を主成分として 11 種類のステロールを報告した<sup>15)</sup>。したがって、ユチャ油中のステロールのさらなる分析が必要である。

しかし、どの研究でも、Triterpene alcohol (トリテルペンアルコール) はユチャ油中のステロールの主成分であることがわかった。また、新しいトリテルペンアルコール化合物である Camelliols (カメリオール) A, B および C が *C. sasanqua* 種子油で最初に発見された<sup>16)</sup>。

#### 1.3.3.3 トコフェロール

トコフェロールには 4 種類の同族体があり、それぞれ生理活性および抗酸化作用の程度に差がある。日常的に摂取するトコフェロール、つまりビタミン E は約 30% を植物油から得ているのが現状で、植物油脂はビタミン E の供給源の 1 つであるといえる<sup>17)</sup>。Zhang らは水蒸気爆発法で抽出したユチャ油のトコフェロール含有量は 50.8 mg/100g だと示し<sup>18)</sup>、ひまわり油とほぼ同じレベルであった<sup>19)</sup>。また、圧搾法で抽出したユチャ油のトコフェロール含有量は 20~23 mg/100g を示した<sup>20)</sup>。したがって、抽出方法によってユチャ油中のトコフェロール含有量に違いが生じる可能性が示唆された。但し、2 つの報告ではどちらも  $\alpha$ -トコフェロールのみ検出されていた。

#### 1.3.3.4 ポリフェノール

植物油に含まれているポリフェノール量は、油の抽出方法や精製工程と大きな相関関係がある。例えば、未精製のバージンオリーブ油に含まれるポリフェノールの量は多いため、

食材に独特の風味を与えるが、精製されたオリーブ油にはポリフェノールはほとんど含まれていない。

Wang らは中国の 15 地域から収集した 3 種類カメリア種子油 (*C. sinensis*, *C. oleifera*, *C. chekiangoleosa*) のポリフェノール化合物を分析した。このうち、ユチャ油サンプルのポリフェノール総濃度は 20.6~39.5  $\mu\text{g/g}$  の範囲であった。ユチャ油に含まれるポリフェノールの主成分として、Cinnamic acid (ケイ皮酸) は 10.6  $\mu\text{g/g}$ 、Benzoic acid (安息香酸) は 12.2  $\mu\text{g/g}$  で定量され、茶ポリフェノールである Catechin (カテキン) の含有量は 1.0~5.2  $\mu\text{g/g}$  であった。他には Protocatechuic acid (プロトカテキ酸)、Vanillic acid (バニリン酸)、Naringenin (ナリンゲニン) を含め、合計で 24 種類のポリフェノールが検出された<sup>21)</sup>。

Lee らによって、ユチャ油中に Lignan (リグナン) である Sesamin (セサミン) と化合物 B が分離された (図 1.4)。化合物 B の分子式は  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7$  と同定され、新しく発見されたリグナンであった。彼らはこれら 2 つのリグナンに対して *in vitro* で抗酸化評価を実施し、2 つの化合物が強力な抗酸化力を有することを示した<sup>22)</sup>。Zhong らはコールドプレスユチャ油の総ポリフェノール含有量およびポリフェノール組成を調べた。コールドプレスユチャ油の総ポリフェノール含有量は、アボカド種子油の含有量に似ているが、ポリフェノール組成はかなり異なった<sup>23)</sup>。しかし、他の報告では、ユチャ油中のセサミンに関連する内容は見られなかった。これは抽出方法に関連している可能性があるため、この論文の第 4 章では、ユチャ種子にセサミンが含まれているかどうかを分析した。

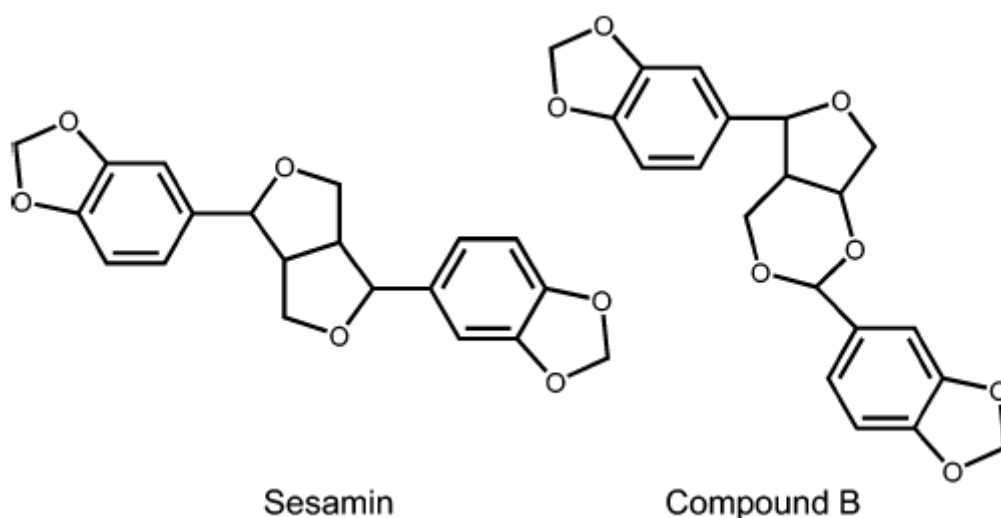


Fig. 1.4 Structures of sesamin and compound B isolated from the methanol extract of *C. oleifera* seed oil

#### 1.3.4 呈味成分

ユチャ油には多価不飽和脂肪酸の含有量が低いいため、刺激臭を生成しにくい。そのため、一部の中国ユチャ油生産者は、ユチャ油を「清油」と呼んでいるが、一部国外の卸売業者はユチャ油の臭いをナッツ (nutty) またはスモーキー (smoky) と評価している。Zhong らの行った SPME-GC-MS 分析により、9 つの揮発性成分はユチャ油のヘッドスペースに存在し、主に  $\text{C}_5$ - $\text{C}_9$  Saturated aldehyde (飽和アルデヒド) であった<sup>24)</sup>。

## 1.4 生理機能

中国で古代から薬としてユチャ油を使用する習慣がある。民間で圧搾のユチャ原油を用いて皮膚に塗ると湿疹を治療し、また傷口に塗ると創傷治癒を促進する。現代の研究では、ユチャ油には生物活性を持つことが示されている。また、中国の薬局方では、高血圧や心臓病の予防、妊婦や赤ちゃんの保護、髪を滑らかで明るい色にする医薬用油として挙げられている<sup>25)</sup>。

ユチャ油を一定期間与えたラットを酢酸誘発潰瘍性大腸炎にさせたところ、抗酸化酵素活性が高くなり、炎症性損傷、脂質過酸化反応が抑制され、他の油を与えたラットより炎症が改善されたことが報告された<sup>26)</sup>。また、Chaikulらはメラニン合成能を有する細胞にユチャ油を添加したところ、メラニン生成に対する阻害活性を示した<sup>27)</sup>。さらに、ユチャ油は、新生児の皮膚炎、皮膚の発赤、痛み、腫れなどの皮膚疾患の予防と制御に大きな利点があることも報告された<sup>28)</sup>。

一方、ユチャ油はラットのCCl<sub>4</sub>誘発酸化障害に対して肝保護効果があることが明らかにされており、ユチャ油の抗酸化特性に関連している可能性がある<sup>29)</sup>。Tuらはユチャ油が*in vitro* および*in vivo* でEthanol（エタノール）誘発性胃損傷に及ぼす予防効果を評価したが、ユチャ油は炎症と酸化ストレスの抑制を介してエタノール誘発性の急性胃粘膜損傷を改善した<sup>30)</sup>。

上記に示したユチャ油の生理機能に関する研究は、ユチャ油に含まれるポリフェノールまたは微量成分に焦点を合わせている。中国でユチャ油は主に食用として使われているが、ユチャ油を摂取した際の脂質代謝については研究があまりされていなかった。

そこで本研究では、まず第二章では3つの代表的なカメリア種子油であるユチャ油、ツバキ油及び茶種子油を用いて、それらの屈折率、密度、酸価、過酸化物価、ヨウ素価、ケン化価、脂肪酸組成、トリアシルグリセロール、トコフェロール組成および不ケン化物組成などのカメリア種子油の物理的および化学的特性を調べた。

第三章では4つの代表的なユチャ栽培品種の果実が中国の6つの異なる場所から収集され、それら種子の含油率、脂肪酸組成、トリアシルグリセロール組成、トコフェロール含有量およびステロール組成などの脂質特性を比較して検討した。

第四章ではユチャ種子に含まれる生理活性成分について、ポリフェノールに着目して定量及び定性分析を行うと共に、抗酸化活性を評価した。

ユチャ油は主に食用として使用されるため、第五章ではユチャ油を自動酸化、または加熱した際の過酸化物価、カルボニル価、酸価、極性化合物量、着色度、トコフェロール含有量、脂肪酸組成を測定することでユチャ油の酸化および加熱安定性を調べた。また、ユチャ油に含まれる不ケン化物の加熱への影響について検討した。

ユチャ油の植物ステロール組成が特徴的であるので、第六章では、ユチャ油の生理機能として、コレステロールを負荷した飼料を与えたラットにユチャ油を摂取させることで、コレステロール代謝をはじめとする脂質代謝にどのような影響があるのかを調べた。

上記の研究を通じて、ユチャ油は国際市場で注目を集めると期待される。

## 第二章 カメリア種子油の脂質特性

### 2.1 序言

カメリアまたはツバキ (*Camellia*) 属の植物は、ツツジ目ツバキ科の一属で、日本や中国を含む東アジアから東南アジア、ヒマラヤにかけて分布し、ツバキ科では最も大きな属である<sup>31)</sup>。この属には世界中で 300 種類以上の品種が含まれている<sup>32)</sup>。カメリア属の中で最も有名な品種は *C. sinensis* (お茶) であり、その葉は世界で最も広く消費されているお茶の製造に使われている。*C. reticulata*、*C. japonica*、*C. williamsii*、*C. cuspidata*、*C. sasanqua* などの他の品種はヨーロッパで広く使われている観賞用植物である<sup>31)</sup>。*C. japonica* (ツバキ) および *C. oleifera* (ユチャ) の種子は、昔から食用油の原料として長い歴史を持つ。これらの油はオレイン酸に富んでいるため、日本では主に毛髪などの化粧品の原料として、中国では加熱調理用の食用油として使用されている<sup>33-35)</sup>。

過去数十年で、ユチャはカメリア属の中で油糧作物として栽培面積が最大であるため、カメリア種子油に関する研究はユチャに集中していた。中国国家統計局のデータによると、2017 年には中国で 243 万トンのユチャの種子が収穫され<sup>36)</sup>、約 60 万トンのユチャ油が搾油された。ユチャ油はオレイン酸が豊富であるため、同じ木質油のオリーブ油としばしば比較される。オリーブ油の脂肪酸に 54.1~75.5%がオレイン酸であることが示されており<sup>37)</sup>、ユチャ油のオレイン酸含有量より少なかった。また、序論で説明したように、ユチャ油にはポリフェノール<sup>21)</sup>、Flavonoid (フラボノイド)<sup>38)</sup>、スクアレン<sup>15)</sup>、セサミン<sup>22)</sup> などの多くの生理活性物質が含まれている。さらに、ユチャ油は抗酸化作用<sup>22,39)</sup>、抗炎症作用<sup>26)</sup>、抗菌作用<sup>40)</sup>、肝保護作用および胃保護作用を有することも報告されていた<sup>41)</sup>。

ツバキは日本原産の植物であり、日本の海岸沿いから青森県まで広く分布し、国外では朝鮮半島や中国に分布する<sup>42)</sup>。日本では、平成 30 年でツバキ油の生産量合計は 45.1 キロリットルであり、その中でも東京都では 28.4、長崎県は 15.5 キロリットルを生産していた<sup>43)</sup>。ツバキ油の特徴として、ツバキ油の粘度は他の植物油より高い。長崎県の名産品である五島うどんはツバキ油を使用して、煮込んでもコシのある食感を生み出している。さらに、ツバキ油がいくつかの生理活性を持ち、抗炎症作用<sup>44)</sup>、抗癌作用<sup>45)</sup> および抗ウイルス作用<sup>46)</sup> を有することが報告された。上記のカメリア種子油産量のデータから、ツバキ油の産量はユチャ油よりかなり少なく、市場において値段も高いため、人々は日常生活でツバキ油の代わりにユチャ油を使用することが多かった。茶の木は、ツバキ科の中で最も栽培されている品種で、茶種子は通常使用されないため、油を生産するための大きな可能性を持っているが、茶種子油の現在の用途はまだ限られている。しかし現在では、ユチャ油とツバキ油および茶種子油などのカメリア種子油に関する系統的な比較研究例はなかった。さらに、カメリア種子油の基本的なデータがないため、世界のほとんどの国ではまだカメリア種子油の規格が作成されていない。

そこで本研究では、3 つの代表的なカメリア種子油であるユチャ油、ツバキ油及び茶種子油を合わせた 17 種のカメリア種子油試料を使用した。それらの屈折率、密度、酸価、過酸化価、ヨウ素価、ケン化価、脂肪酸組成、トリアシルグリセロール、トコフェロール組成および不ケン化物組成に基づいて、カメリア種子油の物理的および化学的特性を調べた。

## 2.2 実験材料と方法

### 2.2.1 試料及び試薬

2017年に17種のカメリア種子油を異なる工場から集めた。そのうち9種類のユチャ種子油と3種類の茶種子油を中国江西省カン州市(Ganzhou city, Jiangxi province, China)の地元市場から購入した。3種類のツバキ油、2種類の茶種子油、エキストラバージンオリーブ油、および菜種油は東京の小売業から購入した。各試料油のブランド、製造場所、加工モード、および有効期限を表2.1に示した。なお、分析までの試料油の酸化を防ぐため、全ての試料油を冷凍庫(-20°C)で保存した。

Boron trifluoride (三フッ化ホウ素)、トコフェロール標準品、ラノステロール、スクアレンおよび5 $\alpha$ -cholestane-3 $\beta$ -ol (5 $\alpha$ -コレスタン-3 $\beta$ -オール)は、Sigma-Aldrich社から購入した。 $\beta$ -アミリンはフナコシ社から購入した。他の試薬は和光純薬(株)から購入した。すべての化学薬品は分析グレードまたはHPLCグレードであった。

### 2.2.2 屈折率と密度

各試料油の屈折率は、屈折計 ATAGO PAL-RI を用いて 20°C で測定した。密度は、試料油 5 mL を 25°C で正確に秤量して求めた。

### 2.2.3 酸価<sup>47)</sup>

各試料油 10 g を三角フラスコに秤量し、100 mL のエタノールとジエチルエーテルの混合液 (1:1, v/v) を入れて溶解し、溶液は Phenolphthalein ethanol solution (フェノールフタレインエタノール溶液) (1%) を指示薬として、0.1 M の Potassium hydroxide (水酸化カリウム) 標準溶液で滴定した。酸価は以下の式より計算した。

$$AV = (A \times f \times 5.611) / S$$

ただし、

A: 0.1 M 水酸化カリウム標準溶液の滴定量(mL)

F: 0.1 M 水酸化カリウム標準溶液の力価

S: 試料油の質量(g)

Table 2.1 Brand, production region, and expiry date of each oil

Type	Brand	Production region	Processing mode	Expiry date
<i>C. oleifera</i>	Wokang	Changning, Hunan, China	RBD	2018/6
	Qiandaoyuan	Hangzhou, Zhejiang, China	RBD	2018/4
	Lvhai	Jian, Jiangxi, China	RBD	2018/3
	Yeling	Liuan, Anhui, China	RBD	2018/5
	Wanyufang	Wannian, Jiangxi, China	RBD	2018/2
	Baohua	Shaoguan, Guangdong, China	RBD	2018/6
	Jinhao	Yongzhou, Hunan, China	RBD	2018/6
	Yangshan	Ganzhou, Jiangxi, China	RBD	2018/1
<i>C. japonica</i>	Enquan	Shangrao, Jiangxi, China	RBD	2018/6
	Imamura	Goto, Nagasaki, Japan	RBD	2019/5
	Kuzusako	Sakurajima, Kagoshima, Japan	RBD	2018/6
<i>C. sinensis</i>	Takada	Oshima, Tokyo, Japan	RBD	2018/10
	Liudachashan	Puer, Yunnan, China	NM	2018/9
	Qiandaoyuan	Hangzhou, Zhejiang, China	RBD	2018/2
	Liudaoxiang	Wuzhou, Guangxi, China	RBD	2018/1
	Noguchitokutarosyouten	Sashimi, Ibaraki, Japan	NM	NM
Olive	Ryokumon	Oyama, Tochigi, Japan	NM	NM
	Nisshin oillio	Isogo, Yokohama, Japan	Cold Pressed	2018/1
Rapeseed	Nisshin oillio	Isogo, Yokohama, Japan	RBD	2019/3

NM, not marked.

RBD, refined, bleached and deodorize.



#### 2.2.4 過酸化価値<sup>48)</sup>

5 g の各試料油を 50 mL の Acetic acid (酢酸) および 2, 2, 4-Trimethylpentane (2, 2, 4-トリメチルペンタン) (3:2, v/v) 混合溶液と共に三角フラスコに溶解した。次に Saturated potassium iodide solution (飽和ヨウ化カリウム溶液) 0.1 mL を加え、混合物を 1 分間振とうした後、30 mL 純水を加えた。指示薬として 1% Starch solution (デンプン溶液) を用いて、溶液を 0.01 M Sodium thiosulfate (チオ硫酸ナトリウム) 標準溶液で滴定した。

PV は以下の式で計算した。

$$PV \text{ (meq/kg)} = (A \times F \times 10) / B$$

ただし、

A: 0.01 M チオ硫酸ナトリウム標準溶液の滴定量

F: 0.01 M チオ硫酸ナトリウム標準溶液の力価

B: 試料油の質量 (g)

#### 2.2.5 ヨウ素価およびケン化価<sup>49, 50)</sup>

ヨウ素価およびケン化価は脂肪酸組成に基づいて計算して求めた。

#### 2.2.6 脂肪酸組成<sup>51, 52)</sup>

脂肪酸組成を分析するために、まず、三フッ化ホウ素-メタノール法を用いて各試料油をメチル化した。各試料油 20 mg をねじ口試験管に量りとり、0.5 mol/L 水酸化ナトリウム-メタノール溶液 1 mL を加え、ウォーターバスを用いて 90°C で 10 分間加熱した。その後、14%三フッ化ホウ素-メタノール溶液 1 mL を加え、90°C で 2 分加熱した後、*n*-ヘキサン 5 mL を加えて 90°C で 1 分間加熱した。放冷後、Sodium chloride (塩化ナトリウム) 飽和水溶液 7 mL を加えてよく振とうし、放置後、上層のヘキサン層を取り、Sodium sulfate (硫酸ナトリウム) を加えて一晚脱水し、各試料油の脂肪酸メチルエステルを得た。

脂肪酸組成はガスクロマトグラフィーで分析した。脂肪酸メチルエステルを約 2% (w/v) の *n*-ヘキサン溶液とし、その 1  $\mu$ L をガスクロマトグラフに注入した。ガスクロマトグラフィーの分析条件を次に示す。

装置	GC-4000plus
カラム	CP-SIL88 キャピラリーカラム(VARIAN) (0.25 mm×60 m)
キャリアガス	N <sub>2</sub>
流量	1.0 mL/min
カラム温度	140°C, 2 min →4°C/min→180°C→2°C/min→225 °C, 30 min hold
注入口温度	240°C
検出器温度	240°C
検出器	FID

### 2.2.7 トリアシルグリセロール組成<sup>53)</sup>

トリアシルグリセロール組成は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって同定した。500 mg の各試料油を Acetone (アセトン) で 10 mL 全量フラスコに合わせ、20  $\mu$ L の試料溶液を HPLC に注入した。標準試料として大豆油を用いてトリアシルグリセロール分子種を同定した。以下に HPLC の分析条件を示す。

装置	Jasco CO-965
ポンプ	Jasco PU-880
カラム	Develosil C30-UG-5 (4.5mm×250mm, 野村化学)
カラム温度	30°C
移動相	アセトン/アセトニトリル(7:3, v/v)
流速	1.0 mL/min
検出器	refractive index detector Shodex RI -71 (昭和電工)

### 2.2.8 トコフェロール含有量<sup>54)</sup>

トコフェロール異性体は、HPLC 法により分析した。10 mL 全量フラスコに油脂 1 g を量りとり、*n*-ヘキサンで標線に合わせた。その 10  $\mu$ L を HPLC に注入して測定した。トコフェロール含有量は、トコフェロール標準品から作った  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -トコフェロール検量線を用いて計算した。以下に HPLC の分析条件を示す。

装置	Jasco CO-2065
ポンプ	Jasco CO-2080
カラム	Shodex 5SIL-4E (4.6mm×250mm, 昭和電工)
カラム温度	30°C
移動相	<i>n</i> -ヘキサン/2-プロパノール(997:3, v/v)
流速	1.0 mL/min
検出器	Jasco FP-2020 PLUS spectrofluorometric detector

### 2.2.9 スクアレン及びステロール組成<sup>55, 56)</sup>

ガラス栓付き試験管に 1 g 試料油及び 1 mg の  $5\alpha$ -コレスタン- $3\beta$ -オール (内部標準) を量りとり、1 M 水酸化カリウム-メタノール溶液 10 mL を加えて 80°C で 1 時間ケン化した。室温に冷却した後、30 mL の温水を添加し、不ケン化物を 20 mL のジエチルエーテルで 3 回抽出した。合わせたジエチルエーテルを 6 mL の水で 3 回洗浄した。その後、無水硫酸ナ

トリウムを添加した。一晚放置後、ろ過してロータリーエバポレーターで濃縮した。最後に、不ケン化物をクロロホルムに 0.1 mg/mL の濃度で再溶解し、分析まで-20°Cで保存した。

不ケン化物をガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) で分析した。GC-MS の分析条件を以下に示す。

装置	Shimadzu GCMS-QP2010
カラム	VF -1701ms (30m×0.25 mm, Agilent)
キャリアガス	He
流量	1.0 mL/min
カラム温度	280°C
注入口温度	300°C
イオン化法	EI(+):70 eV
インターフェース温度	250°C
イオン源温度	200°C
イベント時間	0.4 s
m/z 範囲	20~440

不ケン化物はNISTライブラリーにより報告された質量スペクトルとのマッチングにより同定し、すべての不ケン化物量は各ピークのピーク面積を内部標準物質 5 $\alpha$ -コレスタン-3 $\beta$ -オールのピーク面積と比較して計算して求めた。

#### 2.2.10 統計計算の方法

全ての実験は3回行った。得られた値は平均値±標準偏差 (SD) で示し、SPSS 25.0 (IBM) で統計分析を行った。有意差検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行った後、SPSS にて多重比較の Tukey 検定を用い、 $p < 0.05$  の時、有意差ありと判定した。

## 2.3 結果および考察

### 2.3.1 酸価と過酸化物価

食用油の精製工程では、脱酸と脱臭の程度が酸価と過酸化物価に直接影響し、保存条件もこれらの指標に影響を及ぼす<sup>57)</sup>。そのため、酸価と過酸化物価は食用油の重要な品質指標である。各試料油の酸価と過酸化物価を表 2.2 に示した。各試料油は異なる酸価および過酸化物価を示したが、これは加工方法および貯蔵方法の違いによって引き起こされる可能性と考えられた。表 2.2 に示したように、酸価はユチャ油、ツバキ油および茶種子油がそれぞれ 0.1~0.5、1.5~1.9、および 0.2~1.0 mg/g であった。食用油脂のコーデックス基準によると<sup>58)</sup>、酸価が 0.6 mg/g 未満だと、油の元の臭いや味には影響を与えないとされるが、ユチャ油はこの基準を満たした。一方、ユチャ油の過酸化物価は、4.7~17.8 meq/kg と食用油としては比較的高い値を示した。このことは、ユチャ油の保存状態だけでなく、精製工程にも問題があるのではないかと思われた。

### 2.3.2 物理化学的性質

各試料油の物理化学的性質を表 2.3 に示した。カメラア種子油の 25°Cにおける密度および 20°Cにおける屈折率は、0.911~0.920 g/cm<sup>3</sup> および 1.4633~1.4665 の範囲内であった。ユチャ油は他のカメラア種子油と同じ密度と屈折率を示した。一方、オリーブ油の密度は 0.912 g/cm<sup>3</sup> (25°C)、屈折率は 1.4696 (20°C)で、菜種油の密度は 0.918 g/cm<sup>3</sup> (25°C)、屈折率は 1.4762 (20°C)であった。ユチャ油の屈折率はオリーブ油より低いことが分かった。

カメラア種子油のヨウ素価およびケン化価はそれぞれ 79.9~89.1 g/100g および 192.7~196.2 mg/g の範囲であった。一方、オリーブ油および菜種油のヨウ素価はそれぞれ 79.1 g/100g と 110.7 g/100g で、ケン化価は 196.9 mg/g と 196.3 mg/g を示した。3種類のカメリア油の間で屈折率に有意差が見られなかったが、密度、ヨウ素価およびケン化価に有意差が見られた。カメラア油の上記特性はオリーブ油及び菜種油と異なっていた。ヨウ素価は、油脂中の不飽和脂肪酸の含有量および二重結合の数に由来するため、これら 3種類のカメリア種子油は、全ては不乾性油であることを示した。ユチャ油のヨウ素価は、茶種子油よりも低かったが、ツバキ油よりも高い値を示した。このことは同じカメラア種子油でも、品種によってヨウ素価が異なることが明らかとなり、ユチャ油の規格にヨウ素価が利用できることが示唆された。

ケン化価は、1 g の油脂をケン化するのに必要な水酸化カリウムのミリグラム数と定義されおり、油脂を構成するトリアシルグリセロール平均分子量も反映できる<sup>59)</sup>。3種類のカメリア種子油のケン化価がほぼ同じ値を示したことから、トリアシルグリセロール平均分子量がほぼ同じと示唆された。

Table 2.2 Acid value (mg/g) and peroxide value (meq/kg) of each oil

	<i>C. oleifera</i>		<i>C. japonica</i>		<i>C. sinensis</i>		<b>Olive</b>	<b>Rapeseed</b>
	Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Mean	Mean
Acid value	0.1-0.5	0.3±0.1	1.5-1.9	1.7±0.2	0.2-1.0	0.7±0.3	0.3	0.1
Peroxide value	4.7-17.8	9.9±4.0	2.0-6.7	4.2±2.4	5.9-32.8	17.4±9.8	8.1	2.2

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1.

Table 2.3 Physicochemical properties of each oil

	<i>C. oleifera</i>	<i>C. japonica</i>	<i>C. sinensis</i>	<b>Olive</b>	<b>Rapeseed</b>
Density (g/cm <sup>3</sup> , 25°C)	0.920±0.002 <sup>c</sup>	0.915±0.003 <sup>b</sup>	0.911±0.003 <sup>a</sup>	0.912 <sup>ab</sup>	0.918 <sup>bc</sup>
Refractive index (20°C)	1.4665±0.0038 <sup>ab</sup>	1.4633±0.0013 <sup>a</sup>	1.4653±0.0031 <sup>ab</sup>	1.4696 <sup>b</sup>	1.4762 <sup>c</sup>
Saponification value (mg/g)	193.7±0.7 <sup>b</sup>	192.7±0.3 <sup>a</sup>	196.2±0.5 <sup>c</sup>	196.9 <sup>c</sup>	196.3 <sup>c</sup>
Iodine value (g/100g)	83.9±1.1 <sup>b</sup>	79.9±0.6 <sup>a</sup>	89.1±2.8 <sup>c</sup>	79.1 <sup>a</sup>	110.7 <sup>d</sup>

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1; Mean ± SD.

a-d, Different letters indicate significant differences p<0.05 (Tukey's test).

### 2.3.3 脂肪酸組成

脂肪酸組成は食用油の中で最も重要な特徴である。各試料油の脂肪酸組成を表 2.4 に示した。カメリア種子油では、11 種類の脂肪酸（0.1%含有量を超えた脂肪酸）が検出された。そのうちにパルミチン酸（16：0）、オレイン酸（18：1）、そしてリノール酸（18：2）が、カメリア種子油の主要な脂肪酸であった。3 種類のカメリア種子油の脂肪酸組成に有意差が見られ、ユチャ種子油中のオレイン酸含有量は 81%であり、それはオリーブ油中のオレイン酸含有量 77%に近く、ツバキ種子油中のオレイン酸含有量 87%より低かった。茶種子油は 3 つのカメリア種子油の中でオレイン酸が最も低い含有率（58%）を示したが、高いリノール酸含有率（22%）及びパルミチン酸含有率（15%）を示した。

菜種油は高温で加熱するとアクロレインなどの有毒物質を生成しやすい。これは高濃度の Linolenic acid（リノレン酸）（18：3）によるものと報告された<sup>60</sup>。カメリア種子油中に僅かなリノレン酸（0.1~0.2%）が含まれていることから、その問題点が避けられると考えられた。さらに、ユチャ種子油およびツバキ種子油はオレイン酸に富んでいるので、他の液体油より極めて強い酸化安定性を有する可能性がある。したがって、ユチャ種子油及びツバキ種子油は高温加熱に非常に適していると考えられた。

また、3 種類カメリア種子油の飽和脂肪酸（SFA）と不飽和脂肪酸（UFA）の間に違いが見られた。茶種子油の SFA（18%）は、他の 2 種類カメリア種子油の SFA（約 10%）よりもおよそ 8%高かった。ユチャ、ツバキおよび茶種子油のモノ不飽和脂肪酸（MUFA）は、それぞれ 81.1%、87.0%、および 59.3%であった。ユチャおよびツバキ種子油には、高濃度の MUFA が含まれていたが、多価不飽和脂肪酸（PUFA）はほとんど含まれていなかった。これらの結果より、ユチャとツバキ種子油は、酸化による不快な臭いが生成しにくいと示唆された。

Table 2.4 Fatty acid composition of each oil (%)

Fatty acid	<i>C. oleifera</i>	<i>C. japonica</i>	<i>C. sinensis</i>	Olive	Rapeseed
Myristic acid (C14:0)	ND	ND	0.1±0.0	ND	ND
Palmitic acid (C16:0)	8.1±0.6 <sup>b</sup>	7.5±0.4 <sup>b</sup>	14.8±1.5 <sup>d</sup>	11.2 <sup>c</sup>	3.7 <sup>a</sup>
Palmitoleic acid (C16:1)	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.1 <sup>a</sup>
Stearic acid (C18:0)	1.7±0.2 <sup>a</sup>	2.1±0.1 <sup>b</sup>	2.6±0.4 <sup>c</sup>	2.5 <sup>c</sup>	1.5 <sup>a</sup>
Oleic acid (C18:1)	80.5±1.3 <sup>c</sup>	86.6±0.6 <sup>d</sup>	58.4±4.9 <sup>a</sup>	77.2 <sup>c</sup>	64.3 <sup>b</sup>
Linoleic acid (C18:2)	8.3±0.8 <sup>b</sup>	3.0±0.4 <sup>a</sup>	22.3±3.9 <sup>c</sup>	6.7 <sup>b</sup>	19.6 <sup>c</sup>
α-Linolenic acid (C18:3)	0.2±0.1 <sup>ab</sup>	0.1±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>b</sup>	0.5 <sup>c</sup>	8.3 <sup>d</sup>
Arachidic acid (20:0)	0.1±0.0	0.1±0.0	ND	ND	0.5
Gadoleic acid (C20:1)	ND	ND	0.1±0.0	0.4	0.5
Erucic acid (C22:1)	0.5±0.1 <sup>b</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.7±0.2 <sup>c</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.9 <sup>d</sup>
Lignoceric acid (C24:0)	0.1±0.0	ND	0.1±0.1	0.1	0.2
Other	0.4±0.2 <sup>b</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.3 <sup>b</sup>	0.3 <sup>ab</sup>	0.4 <sup>b</sup>
∑SFA	10.0±0.8 <sup>b</sup>	9.7±0.3 <sup>b</sup>	17.6±1.3 <sup>d</sup>	13.8 <sup>c</sup>	5.9 <sup>a</sup>
∑UFA	89.6±0.9 <sup>c</sup>	90.1±0.3 <sup>c</sup>	81.8±1.1 <sup>a</sup>	85.9 <sup>b</sup>	93.7 <sup>d</sup>
∑MUFA	81.1±1.3 <sup>c</sup>	87.0±0.5 <sup>d</sup>	59.3±4.9 <sup>a</sup>	78.7 <sup>c</sup>	65.8 <sup>b</sup>
∑PUFA	8.5±0.8 <sup>b</sup>	3.1±0.9 <sup>a</sup>	22.5±4.0 <sup>c</sup>	7.2 <sup>b</sup>	27.9 <sup>d</sup>

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid; ND, not detected.

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1; Mean ± SD.

a-d, Different letters indicate significant differences p<0.05 (Tukey's test).

#### 2.3.4 トリアシルグリセロール組成

天然食用油のほとんどは分子の構成単位をグリセロールとして、これに脂肪酸がエステル結合したトリアシルグリセロール (TAG) で存在しており、食用油の特性を反映した独自の TAG 組成がある<sup>61, 62)</sup>。各油サンプルの TAG 組成は表 2.5 に示した。ユチャおよびツバキ種子油の TAG の等価炭素数 (ECN) は 44 から 50 の範囲であったが、茶種子油の TAG の炭素数は 42 から 52 の範囲であった。ツバキ種子油の高オレイン酸含有量に基づいて、ツバキ種子油は Triolein (OOO, トリオレイン) 比率が最も高い値を示した。ユチャ油の OOO は、TAG 分子種の 60%以上を占めていたが、オリーブと菜種油の OOO の比率は、それぞれ 47%と 40%であった。しかし、茶種子油の主な TAG 分子種は、OOO (28.5%)、Dioleoyl linoleoyl glycerol (OOL, ジオレオイルリノレオイルグリセロール、16.2%) および Dioleoyl palmitoyl glycerol (POO, ジオレオイルパルミトイルグリセロール、16.1%) であり、他の 2 種類のカメリア種子油との違いが見られた。



Table 2.5 Triacylglycerol composition of each oil (%)

		<i>C. oleifera</i>		<i>C. japonica</i>		<i>C. sinensis</i>		Olive		Rapeseed	
ECN	TAG	TAG	ECN	TAG	ECN	TAG	ECN	TAG	ECN	TAG	ECN
40	LLL <sub>n</sub>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.7	0.7
42	LLL	ND	ND	ND	ND	2.6±0.3	2.6±0.3	ND	ND	1.1	1.1
	OLL	3.0±0.8 <sup>c</sup>		0.1±0.0 <sup>a</sup>		7.3±1.2 <sup>d</sup>		1.3 <sup>b</sup>		8.5 <sup>d</sup>	
44	OOL <sub>n</sub>	ND	3.8±1.0 <sup>c</sup>	ND	0.1±0.0 <sup>a</sup>	ND	10.4±1.3 <sup>d</sup>	ND	2.0 <sup>b</sup>	10.6	19.4 <sup>c</sup>
	PLL	0.8±0.5 <sup>b</sup>		ND		3.1±0.1 <sup>c</sup>		0.7 <sup>b</sup>		0.3 <sup>a</sup>	
	OOL	11.1±3.4 <sup>b</sup>		7.0±2.8 <sup>a</sup>		16.2±0.5 <sup>c</sup>		14.6 <sup>c</sup>		29.9 <sup>d</sup>	
46	POL	2.6±1.0 <sup>b</sup>	13.6±4.4 <sup>b</sup>	1.3±0.6 <sup>a</sup>	8.3±2.4 <sup>a</sup>	9.6±1.0 <sup>c</sup>	27.2±0.7 <sup>d</sup>	4.1 <sup>b</sup>	18.7 <sup>c</sup>	2.0 <sup>b</sup>	31.9 <sup>c</sup>
	PPL	ND		ND		1.5±0.2		ND		ND	
	OOO	62.1±7.5 <sup>d</sup>		69.8±7.3 <sup>d</sup>		28.5±3.3 <sup>a</sup>		46.8 <sup>c</sup>		39.7 <sup>b</sup>	
48	POO	7.0±2.7 <sup>b</sup>	69.9±3.6 <sup>b</sup>	6.6±1.8 <sup>b</sup>	77.1±3.9 <sup>c</sup>	16.1±0.6 <sup>c</sup>	47.6±2.2 <sup>a</sup>	16.6 <sup>c</sup>	66.6 <sup>b</sup>	4.8 <sup>a</sup>	43.9 <sup>a</sup>
	PPO	0.8±0.1 <sup>b</sup>		0.7±0.1 <sup>b</sup>		3.0±0.4 <sup>c</sup>		3.2 <sup>c</sup>		0.4 <sup>a</sup>	
50	SOO	5.9±0.9 <sup>ab</sup>		7.0±1.0 <sup>c</sup>		5.2±0.1 <sup>a</sup>		6.6 <sup>b</sup>		ND	ND
	PSO	0.8±0.4 <sup>a</sup>	6.7±0.6 <sup>ab</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	7.8±0.8 <sup>b</sup>	1.1±0.1 <sup>b</sup>	6.3±0.1 <sup>a</sup>	ND	6.6 <sup>ab</sup>	ND	ND
52	SSO	ND	ND	ND	ND	1.5±0.1	1.5±0.1	ND	ND	ND	ND

ECN, equivalent carbon number; TAG, triacylglycerol; ND, not detected.

P, 16:0; S, 18:0; O, 18:1; L, 18:2; Ln, 18:3.

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1; Mean ± SD.

a-e, Different letters indicate significant differences p<0.05 (Tukey's test).

### 2.3.5 トコフェロールの含有量

トコフェロールは抗酸化剤として重要な役割を果たしており、食用油の酸化を防ぐだけでなく、人体からフリーラジカルを除去することもできる<sup>63)</sup>。カメリア種子油、オリーブ油、菜種油のトコフェロール含有量を表 2.6 に示した。カメリア種子油では、 $\alpha$ -トコフェロールのみが検出され、トコフェロール含有量は他の植物油に比べて、必ずしも多くはなかった。カメリア種子油中トコフェロールの総含有量はオリーブ油と類似しているが、菜種油より低かった。カメリア種子油のトコフェロール含有量は品種に依存しており、ユチャ、ツバキ及び茶種子油は、それぞれ 134~238 mg/kg、154~254 mg/kg、および 234~361 mg/kg の範囲であった。一般的に食用油の脱臭工程でトコフェロールの一部も同時に蒸留され、トコフェロール含有量が減少する<sup>64)</sup>。そのため、カメリア種子油のトコフェロール濃度の違いは、生産工場の精製能力の違いによると考えられた。

Table 2.6 Tocopherol contents of each oil (mg/kg)

	<i>C. oleifera</i>		<i>C. japonica</i>		<i>C. sinensis</i>		<b>Olive</b>	<b>Rapeseed</b>
	Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD	Means	Mean
α-Tocopherol	170.9-237.9	200.4±25.3 <sup>b</sup>	154.1-253.9	208.4±50.5 <sup>b</sup>	134.0-360.5	262.4±90.0 <sup>c</sup>	135.5 <sup>a</sup>	188.0 <sup>b</sup>
β-Tocopherol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	29.2	98.5
γ-Tocopherol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	41.1	516.6
δ-Tocopherol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	43.6
Total tocopherol	170.9-237.9	200.4±25.3 <sup>a</sup>	154.1-253.9	208.4±50.5 <sup>a</sup>	134.0-360.5	262.4±90.0 <sup>b</sup>	205.8 <sup>a</sup>	846.7 <sup>c</sup>

ND, not detected.

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1.

a-c, Different letters indicate significant differences p<0.05 (Tukey's test).

### 2.3.6 ステロール組成

食用油中の不ケン化物の主成分はステロールである。植物油中に最も多く含まれるステロールは、 $\beta$ -シトステロール、カンペステロール及びスチグマステロールであるが、カメリア種子油中のステロール組成に関する報告は非常に限られている<sup>65)</sup>。カメリア種子油から抽出した不ケン化物のガスクロマトグラムを図 2.1a に示した。8 つの主なピークがクロマトグラム上に観察された。主成分であるピーク 5 と 7 の EI-MS スペクトルを図 2.1b および図 2.1c に示した。ピーク 5 は  $m/z$  215、241、393 により Lanosterol (ラノステロール、図 2.2a) として同定された。ピーク 7 は  $m/z$  189、203、218 により  $\beta$ -Amyrin ( $\beta$ -アミリン、図 2.2b) として同定された。同様に、ピーク 1、3、4、6 および 8 は MS スペクトルから Squalene (スクアレン)、Ergosterol (エルゴステロール)、7-Stigmastenol (7-スチグマスタノール)、Tirucallol (チルカロール) および Cyclartenol (シクロアルテノール) として同定された。

カメリア種子油のステロール組成は、他の植物油のステロール組成とは異なった(表 2.7)。3 種類のカメリア種子油には同じ不ケン化物が含まれていたが、含有量は種類によって異なった。茶種子油は最高濃度 (648 mg/100g) を示し、ツバキ種子油は最低濃度 (194 mg/100g) を示した。茶種子油に高濃度の不ケン化物含有量は、前述のように不十分な精製によると考えられた。カメリア種子油ではラノステロール、 $\beta$ -アミリンおよび 7-スチグマスタノールが主要なステロールであり、すべての不ケン化物の約 70% を占めていた。ユチャ、ツバキ、および茶種子油のラノステロール含有量は、それぞれ 81.7、50.4、および 270.8 mg/100 g であった。ユチャ、ツバキ、および茶種子油の  $\beta$ -アミリン濃度は、それぞれ 52.0、59.5、および 42.2 mg/100 g であった。エルゴステロール、チルカロール、シクロアルテノール、ルペオールなどのステロールもカメリア種子油に検出された。しかし、Wang らによって報告された  $\beta$ -シトステロールは検出されなかった<sup>15)</sup>。

一方、ステロールの組成は同じカメリア属であっても品種によって異なり、ユチャ油ではラノステロールが最も多いステロールであったのに対し、ツバキ油では  $\beta$ -アミリンが、また茶種子油では、ラノステロールと 7-スチグマスタノールの割合が高かった。このことから、品種によってステロール合成系が微妙に異なることが示唆され、ステロール組成は、カメリア油の特定や品種の鑑別に利用可能と思われた。

動物や真菌では、ラノステロールはステロイドとして合成されるが<sup>66)</sup>、ラノステロールが植物油で見つかったのは初めてであった。ラノステロールには、哺乳類の白内障の形成を防ぐ可能性があることが報告されている<sup>67)</sup>。また  $\beta$ -アミリンは Oleanolic acid (オレオノール酸) の前駆体であり<sup>68)</sup>、弱い抗 HIV 活性を示す<sup>69)</sup>。これらのことから、カメリア種子油に含まれる不ケン化物は特別な生物活性を持っている可能性があると考えられた。

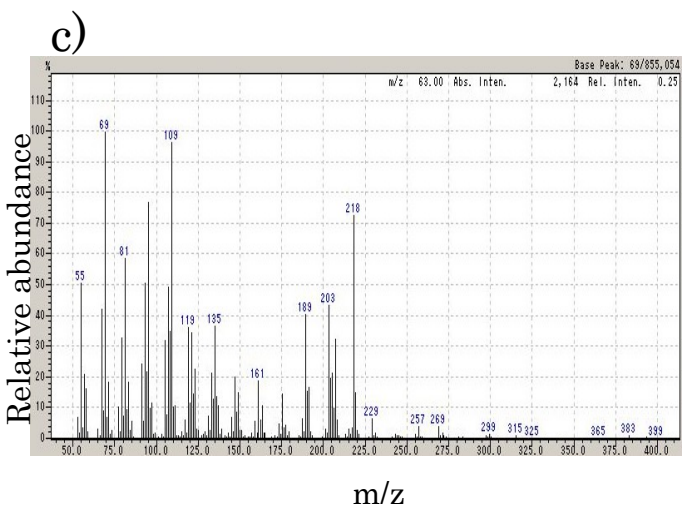
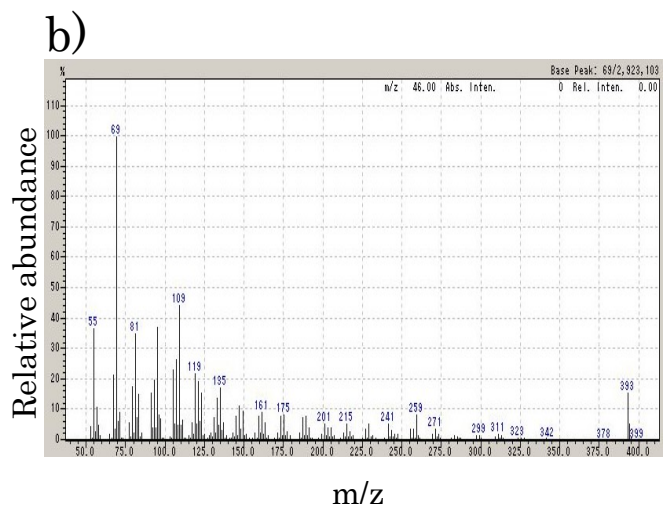
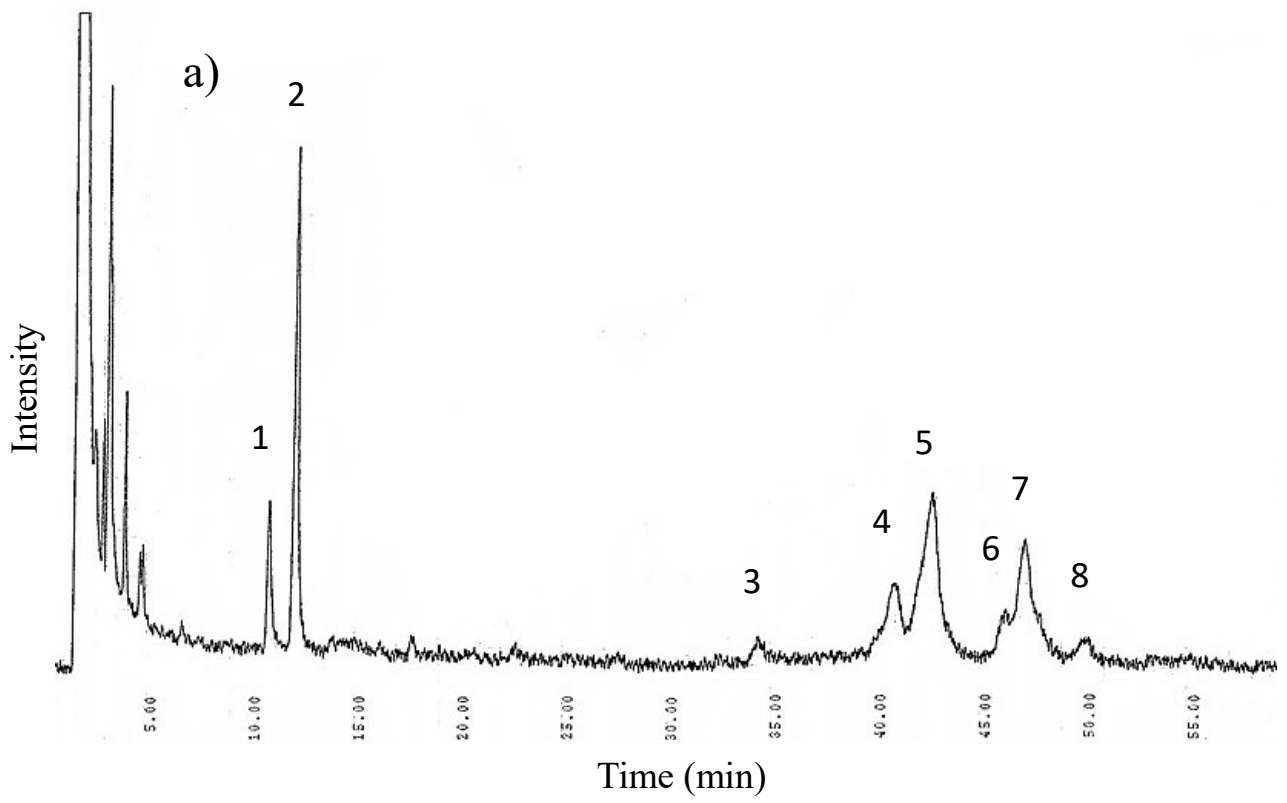


Fig. 2.1 GC chromatogram of the unsaponifiable matters from *Camellia japonica* seed oil (a) and EI-MS spectra of major unsaponifiable compounds (b, lanosterol; c,  $\beta$ -amyirin) in *camellia japonica* seed oil.

1, squalene; 2, internal standard,  $5\alpha$ -cholestan- $3\beta$ -ol; 3, ergosterol; 4, 7-stigmastenol; 5,  $\beta$ -amyirin; 6, tirucallol; 7, lanosterol; 8, cycloartenol

Table 2.7 Sterol and squalene composition of each oil (mg/100g)

Species	<i>C. oleifera</i>	<i>C. japonica</i>	<i>C. sinensis</i>	Olive	Rapeseed
Squalene	29.5±0.8 <sup>a</sup>	22.3±2.1 <sup>a</sup>	63.2±4.4 <sup>b</sup>	295.2 <sup>c</sup>	ND
Brassicasterol	ND	ND	ND	ND	33.0
β-Sitosterol	ND	ND	ND	96.4 <sup>a</sup>	190.8 <sup>b</sup>
Campesterol	ND	ND	ND	26.0 <sup>a</sup>	87.5 <sup>b</sup>
Ergosterol	8.2±0.4 <sup>b</sup>	5.1±0.4 <sup>a</sup>	20.6±2.7 <sup>c</sup>	ND	ND
Lupeol	12.1±0.8 <sup>b</sup>	7.3±1.3 <sup>a</sup>	18.6±2.2 <sup>c</sup>	ND	ND
β-Amyrin	52.0±7.7 <sup>ab</sup>	59.5±4.1 <sup>b</sup>	42.2±4.3 <sup>a</sup>	ND	ND
Lanosterol	81.7±14.2 <sup>b</sup>	50.4±4.4 <sup>a</sup>	270.8±27.1 <sup>c</sup>	ND	ND
Tirucallol	7.3±1.0 <sup>a</sup>	11.1±1.7 <sup>b</sup>	30.6±3.4 <sup>c</sup>	ND	ND
7-Stigmastenol	38.5±1.8 <sup>b</sup>	24.5±0.7 <sup>a</sup>	178.2±8.1 <sup>c</sup>	ND	ND
Stigmasterol	ND	ND	ND	12.8 <sup>a</sup>	11.1 <sup>a</sup>
Cyclartenol	16.4±1.7 <sup>b</sup>	13.5±2.0 <sup>a</sup>	23.6±0.4 <sup>c</sup>	ND	ND
Total	245.7±2.1 <sup>b</sup>	193.7±2.7 <sup>a</sup>	647.8±9.6 <sup>c</sup>	430.4 <sup>d</sup>	322.4 <sup>c</sup>

ND, not detected.

*C. oleifera*, n = 9; *C. japonica*, n = 3; *C. sinensis*, n = 5; Olive, n = 1; Rapeseed, n = 1.

Mean ± SD.

a-e, Different letters indicate significant differences  $p < 0.05$  (Tukey's test).

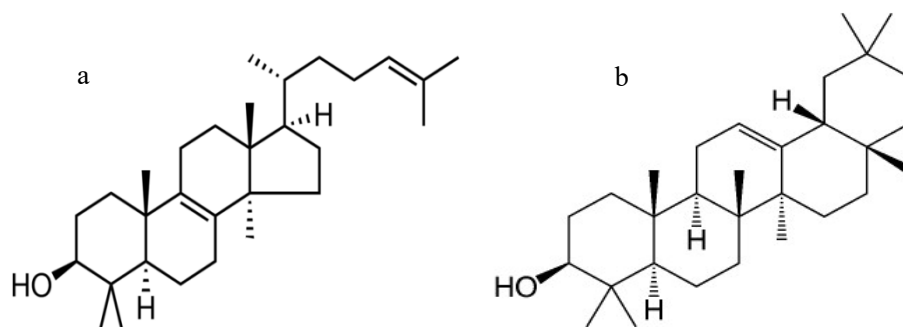


Fig. 2.2 Structural formula of lanosterol (a) and β-amyrin (b)

## 2.4 結論

本研究では、3種類の代表的なカメリア（ユチャ、ツバキ、茶）種子油の化学的および物理的特性を体系的に比較した。カメリア種子油のトコフェロール及びステロール組成に違いは見られなかったが、オリーブ油、菜種油などの他の植物油とは全く異なった。すべてのカメリア種子油の主要な脂肪酸はオレイン酸であったが、ユチャ油と他のカメリア種子油の脂肪酸およびトリアシルグリセロール組成に違いが見られた。このことから、カメリア種子油の脂質特性は品種によって異なることが明らかとなった。

## 第三章 ユチャ種子の脂質特性に及ぼす栽培品種と栽培地域の影響

### 3.1 序言

ユチャは、東アジアで栽培されている重要な油料作物であり、世界の 4 つの主要な木質油糧作物（パーム、ココナッツ、オリーブ）の 1 つである<sup>70)</sup>。ユチャの使用は、世界初の地理書である山海経に記載され、今まで 2300 年にわたる長い使用歴史があった<sup>71)</sup>。

ユチャ種子は、黒くて硬い殻と黄色いユチャ仁で構成されている。乾燥したユチャ仁には、約 50%の油が含まれている<sup>15)</sup>。第 2 章の結果に示したように、ユチャ種子の脂肪酸組成はオリーブ油と非常に似ているために、民間でよく東洋のオリーブ油と呼ばれた。しかし、オリーブ油の特徴に対する研究が多く、一般的にオリーブ油は高級な油であると考えられており、ユチャ油に対する認識はほとんどなかった。

ユチャは高収量の油糧作物として、栽培が容易、根が発達し、乾燥した貧しい土壌にも植えることができる。さらに、ユチャは常緑の植物であり、不毛の丘や土地に植えて、土壌浸食を防ぎ、生態環境の保護作用を有する<sup>72)</sup>。長い間、中国の耕作地の不足は問題視されており、耕作地の単位生産量は限界に近づいているが、穀物と油の単位収量の改善余地は非常に限られている。ユチャは森林資源として、食糧の耕作地と競合しないという顕著な特徴を持ち、耕作地を占有しないだけでなく、他の作物を植えるためにより多くの耕作地資源を空けることもできる。中国では、全体の 69%が山岳地帯であり、人口の半分以上がそこに住んでいる。海岸地域と比較して、山岳地帯は一般に後進地域である。ユチャの栽培は地元の農家の収入を増やすことに期待ができると言える<sup>73)</sup>。

中国は多様な油糧種子を生産する国であり、世界の油糧種子貿易量の過半数を輸入していることは既に述べたが、油脂の大量輸入を行うことによって国内の油脂需要を充足し、世界最大の食用油輸入国になった。さらに、人口の増加に伴い、国際的な油糧作物の価格の上昇圧力は高まり続けており、食用油の需要と供給の長期的なバランスは依然として大きな圧力に直面している。そのため、ユチャの栽培を積極的に推進することで、ますます厳しくなる食用油の需要供給バランスを緩和し、国産食用油の安定性を確保できる。

したがって、2009 年に中国政府はユチャの中長期の開発計画を策定し、ユチャ産業の発展を積極的に推進することを決定した。2008 年には、中国に 301.8 万ヘクタールのユチャ林があり、ほとんどの栽培品種は低収量品種または野生品種で、1 ヘクタールあたりのユチャ種子油の産量はわずか 8.69 kg であった。そのため、林業関連部門はいくつかの新しいユチャ栽培品種を導入して、低産量ユチャ林の改良を通じて、1 ヘクタールあたりのユチャ種子油の産量を 37.5 kg に増やす計画を立てていた<sup>74)</sup>。

Yang らは、中国の様々な地域から 10 種類の新しい品種のユチャ種子を収集し、油に含まれる脂肪酸組成を分析した。結論として、これらの品種に脂肪酸組成の違いは見られなかった<sup>10)</sup>。しかし、脂質特性について、トリアシルグリセロール組成、トコフェロール含有量、ステロール含有量などの詳しい研究はされておらず、新しい栽培品種のユチャ種子の脂質特性に対する植栽地域の影響も不明である。

そこで本研究では、4 つの代表的なユチャ栽培品種の果実を、中国に 6 つの異なる場所から収集し、これら種子の含油率、脂肪酸組成、トリアシルグリセロール組成、トコフェロール含有量およびステロール組成などの脂質特性を比較して検討した。



## 3.2 材料および方法

### 3.2.1 実験材料および試薬

本章では、Ganzhouyou-1 (GZY-1)、Changlin-40 (CL-40)、Yuekexia-2 (YKX-2)、野生種を含めて、4つの異なるユチャ栽培品種を使用した。すべてのユチャの果実は、中国のカン州市ユチャ協会によって提供された。その中のCL-40品種のユチャ果実は、中国の6つ主要なユチャ産地である福建省龍岩市(Fujian Longyan), 広東省河源市(Guangdong Heyuan), 広西省百色市(Guangxi Baise), 江西省カン州市(Jiangxi Ganzhou), 江西省宜春市(Jiangxi Yichun), および湖南省チン州市(Hunan Chenzhou)から収集された。ユチャ果実の他の3つの栽培品種は、江西省カン州市から収集された。これらの地方の地理と天気に関する情報を表3.1に示した。これらのユチャ果実は2017年10月に収集された。すべてのユチャ果実は日光の下で1週間乾燥され、種子と分けて収集された。各ユチャ果実には2~7個の種子が含まれており、これらも1週間日光の下で乾燥した。その後、油脂を抽出するまで冷蔵庫に保存した。ユチャ果実および種子の重量と直径、ユチャ種子の重量、サイズ、含水率、含仁率、および含油率を表3.2(異なる栽培品種)と表3.3(異なる栽培地域)に示した。

三フツ化ホウ素、トコフェロール標準品、ラノステロール、スクアレンおよび5 $\alpha$ -コレスタン-3 $\beta$ -オールは、Sigma-Aldrich社から購入した。 $\beta$ -アミリンはフナコシ社から購入した。他の試薬は和光純薬(株)から購入した。すべての化学薬品は分析グレードまたはHPLCグレードであった。

Table 3.1 Geographic and weather information of planting regions in China of each *C. oleifera* sample

Region	longitude	Latitude	Annual average temperature (°C)	Annual precipitation (mm)	Annual sunshine duration (h)
Jiangxi Ganzhou	E 114°57'	N 25°46'	19.4	1461.2	1778.3
Fujian Longyan	E 116°44'	N 24°42'	20.0	1718.3	1809.1
Guangdong Heyuan	E 114°52'	N 23°52'	21.5	2006.0	1842.6
Guangxi Baise	E 106°23'	N 24°51'	20.5	1070.6	1705.8
Jiangxi Yichun	E 115°14'	N 28°03'	17.2	1629.9	1667.3
Hunan Chenzhou	E 112°42'	N 25°34'	18.0	1493.9	1707.2

The weather average values (1981-2010) were obtained from China Meteorological Administration<sup>75)</sup>.

Table 3.2 Properties of *C. oleifera* fruits and seeds from different cultivars

Cultivar	Planting region	Weight of fruits (g) <sup>a</sup>	Diameter of fruits (cm) <sup>a</sup>	Weight of seeds (g) <sup>a</sup>	Length of seeds (cm) <sup>a</sup>	Width of seeds (cm) <sup>a</sup>	Height of seeds (cm) <sup>a</sup>	Moisture of seeds (%) <sup>β</sup>	Ratio of the kernel to seeds (%) <sup>a</sup>	Oil extracted from seeds with hexane(%) <sup>β</sup>	Oil extracted from seeds with Bligh-Dyer method (%) <sup>β</sup>
GZY-1		19.9±5.9 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>b</sup>	1.8±0.3 <sup>bc</sup>	2.1±0.2 <sup>b</sup>	1.8±0.2 <sup>b</sup>	1.6±0.1 <sup>c</sup>	7.2±0.2 <sup>b</sup>	60.6±1.1 <sup>bc</sup>	26.0±0.3 <sup>c</sup>	27.2±0.3 <sup>bc</sup>
YKX-2	Jiangxi	83.0±23.2 <sup>b</sup>	5.5±0.4 <sup>c</sup>	1.6±0.3 <sup>b</sup>	2.3±0.2 <sup>b</sup>	1.9±0.1 <sup>bc</sup>	1.3±0.2 <sup>b</sup>	9.0±0.3 <sup>c</sup>	37.3±1.3 <sup>a</sup>	11.6±0.2 <sup>a</sup>	13.3±0.8 <sup>a</sup>
Wild	Ganzhou	6.5±1.5 <sup>a</sup>	2.2±0.2 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	1.6±0.1 <sup>a</sup>	1.5±0.9 <sup>a</sup>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	4.7±0.3 <sup>a</sup>	62.9±0.3 <sup>c</sup>	29.6±0.6 <sup>d</sup>	30.7±0.5 <sup>c</sup>
CL-40		20.2±6.6 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>b</sup>	2.0±0.7 <sup>c</sup>	2.3±0.2 <sup>b</sup>	2.0±0.2 <sup>c</sup>	1.6±0.3 <sup>c</sup>	6.7±0.2 <sup>b</sup>	58.1±1.7 <sup>b</sup>	23.8±0.5 <sup>b</sup>	25.1±0.8 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Values represent the mean ± SD (n = 10); <sup>β</sup> Values represent the mean ± SD (n = 3).  
a-d, Different letters indicate significant differences p≤0.05 (Tukey's test).

Table 3.3 Properties of *C. oleifera* fruits and seeds from different regions

Cultivar	Planting region	Weight of fruits (g) <sup>a</sup>	Diameter of fruits (cm) <sup>a</sup>	Weight of seeds (g) <sup>a</sup>	Length of seeds (cm) <sup>a</sup>	Width of seeds (cm) <sup>a</sup>	Height of seeds (cm) <sup>a</sup>	Moisture of seeds (%) <sup>β</sup>	Ratio of the kernel to seeds (%) <sup>a</sup>	Oil content of seeds (%) <sup>β</sup>
CL-40	Jiangxi Ganzhou	20.2±6.6 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	2.0±0.7 <sup>b</sup>	2.3±0.2 <sup>b</sup>	2.0±0.2 <sup>b</sup>	1.6±0.3 <sup>b</sup>	6.7±0.2 <sup>ab</sup>	58.1±1.7 <sup>a</sup>	23.8±0.5 <sup>b</sup>
	Fujian Longyan	20.7±6.4 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	1.0±0.6 <sup>a</sup>	1.7±0.3 <sup>a</sup>	1.5±0.3 <sup>a</sup>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	6.3±0.2 <sup>a</sup>	57.5±1.5 <sup>a</sup>	25.3±0.2 <sup>b</sup>
	Guangdong Heyuan	20.3±5.5 <sup>a</sup>	3.7±0.2 <sup>a</sup>	1.3±0.5 <sup>ab</sup>	1.9±0.3 <sup>ab</sup>	1.7±0.2 <sup>ab</sup>	1.4±0.3 <sup>ab</sup>	7.5±0.3 <sup>b</sup>	56.7±2.1 <sup>a</sup>	22.3±0.6 <sup>a</sup>
	Guangxi Baise	20.7±7.3 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	1.9±0.6 <sup>b</sup>	2.3±0.3 <sup>b</sup>	1.9±0.2 <sup>ab</sup>	1.5±0.3 <sup>ab</sup>	6.9±0.5 <sup>ab</sup>	57.7±2.0 <sup>a</sup>	24.1±0.2 <sup>b</sup>
	Jiangxi Yichun	19.4±6.2 <sup>a</sup>	3.6±0.3 <sup>a</sup>	1.1±0.4 <sup>ab</sup>	2.0±0.3 <sup>ab</sup>	1.7±0.3 <sup>ab</sup>	1.2±0.3 <sup>ab</sup>	6.9±0.2 <sup>ab</sup>	60.5±1.0 <sup>a</sup>	27.1±0.6 <sup>c</sup>
	Hunan Chenzhou	21.3±6.7 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	1.5±0.6 <sup>ab</sup>	2.0±0.2 <sup>ab</sup>	1.8±0.3 <sup>ab</sup>	1.3±0.3 <sup>ab</sup>	7.4±0.2 <sup>ab</sup>	58.1±1.0 <sup>a</sup>	24.0±0.9 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Values represent the mean ± SD (n = 10).

<sup>β</sup> Values represent the mean ± SD (n = 3).

a-c, Different letters indicate significant differences p≤0.05 (Tukey's test).

### 3.2.2 ユチャ果実と種子の特性

10個の新鮮なユチャ果実と10個の乾燥した種子をランダムに選んで、果実の重量と直径、ユチャ種子の重量、サイズ、含仁率、含水率<sup>76)</sup>を測定した。

### 3.2.3 脂質の抽出

脂質の抽出では、*n*-ヘキサンと Bligh-Dyer 法<sup>77)</sup>の2つ方法を用いて、それぞれ抽出した。

ユチャ種子を実験室用粉砕機によって粉砕した。粉砕されたユチャ種子 50 g を 250 mL の *n*-ヘキサンを用いて油を抽出した。3時間浸した後、ろ過した。残渣はもう一回 250 mL *n*-ヘキサンで抽出した。次に *n*-ヘキサン抽出物を混合して水で3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加えて一晚脱水した。最後にロータリーエバポレーターを用いてヘキサンを除去し、分析まで試料油を冷凍庫-20°Cで保存した。

Bligh-Dyer 法で抽出した場合では、粉砕した4つ異なる栽培品種のユチャ種子に、380 mL のクロロホルム-メタノール-水 (1 : 2 : 0.8) 混合液を加え、3時間浸した後、ろ過した。これをもう一回繰り返して、集めたろ過液を分液漏斗に移し、クロロホルムと水を1容ずつ加え、下層を回収して、無水硫酸ナトリウムを加え、一晚脱水した。その後、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、分析まで全脂質は-20°Cの冷凍庫で保存した。

### 3.2.4 ケイ酸カラムクロマトグラフィーによるユチャ種子全脂質の分画<sup>78)</sup>

Bligh-Dyer 法で抽出したユチャ種子の全脂質をケイ酸カラムに通して中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分画した。

ケイ酸 60 g を詰めたカラム管内に、抽出した全脂質 3 g を注入した。600 mL のクロロホルム、800 mL のアセトンおよび 600 mL の Methanol (メタノール) を、この順に連続的に流下させ、それぞれを回収した。回収した溶液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、さらに窒素ガスで溶媒を完全に除去した。濃縮された各脂質はクロロホルムに溶かして、-20°Cの冷凍庫で保存した。

### 3.2.5 TLC による各脂質クラスの定性

3.2.4 に分画された各脂質サンプルをそれぞれ 10 mg/mL とし、TLC シリカゲルプレートに 5  $\mu$ L スポットした。

TLC の分析条件は下記の通りである。

#### (1) 中性脂質

展開溶媒：ヘキサン：エーテル：酢酸 (80 : 30 : 1)

発色：50% Sulfuric acid (硫酸) を噴霧し、130°C加熱した。

#### (2) 糖脂質

展開溶媒：クロロホルム：メタノール：水 (65 : 16 : 2)

発色：Anthrone (アンスロン) 試薬を噴霧、130°C加熱した。

#### (3) リン脂質

展開溶媒：クロロホルム：メタノール：酢酸：水 (25 : 15 : 4 : 2)

発色：Zinzade 試薬を噴霧し、観察した。

### 3.2.6 TLC-FID による各脂質クラスの定量

Chromarod-S5 に 3.2.4 に分画された各脂質サンプル(5 mg/mL)を 3  $\mu$ L スポットした。展開溶媒で展開した後、イアトロスキャンで定量した。

TLC-FID の分析条件は下記の通りである。

機器	イアトロスキャン MK-6/6s (三菱化学ヤترون)
展開溶媒	ヘキサン：エーテル：酢酸(80:30:1)
固定相	クロマトロッド-S5 (三菱化学ヤترون)
空気流速	1.8 L/min
水素流速	100 mL/min
スキャンスピード	30 sec
検出器	FID

### 3.2.7 脂肪酸組成

ヘキサンで抽出した各ユチャ種子油のメチルエステル化および脂肪酸組成の分析は 2.2.6 と同様に行った。

### 3.2.8 トリアシルグリセロール組成

ヘキサンで抽出した各ユチャ種子油のトリアシルグリセロール組成の分析は 2.2.7 と同様に行った。

### 3.2.9 トコフェロール含有量

ヘキサンで抽出した各ユチャ種子油のトコフェロール含有量の測定は 2.2.8 と同様に行った。

### 3.2.10 スクアレン及びステロール組成

ヘキサンで抽出した各ユチャ種子油のスクアレン及びステロールの分析は 2.2.9 と同様に行った。

### 3.2.11 統計計算の方法

全ての実験は 3 回行った。得られた値は平均値 $\pm$ 標準偏差 (SD) で示し、SPSS 25.0 (IBM) で統計分析を行った。有意差検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行い SPSS にて多重比較の Tukey 検定を用いて、 $p < 0.05$  の時、有意差ありと判定した。

### 3.3 結果および考察

#### 3.3.1 ユチャ果実と種子の特性

異なる栽培品種のユチャ果実と種子の特性、異なる栽培地域から採取されたユチャ果実と種子の特性をそれぞれ表 3.2 および表 3.3 に示した。Bilgh-Dyer 法で抽出した全脂質は、複合脂質が含有していたので、どちらの抽出率もヘキサン法より高く、13.3% (YKX-2)~30.7% (野生種) であった。含油率は 11.6%(YKX-2)~29.6% (野生種) で、ユチャの栽培品種に依存した。ユチャ種子の含油率は、YKX-2 を除き、オリーブの油分 (26.5%~33.8%) に類似していた<sup>79)</sup>。ユチャ種子の油分は、種子の含仁率と密接に関連しており、含仁率が高いほど、含油率が高くなる。同じ栽培品種 (CL-40) で、ユチャ果実のサイズと重量はほぼ同じであるが、種子のサイズと重量は異なった。東部の福建省龍岩市で栽培したユチャ種子が最も重く、中部の江西省カン州市に栽培したユチャ種子は最も軽かった。

この研究からユチャの果実サイズと重量が種子の油分に影響することが分かった。果実と種子のサイズが大きいほど水分量も多いことから、乾燥速度が影響したと言える。そのため、含水量はすべての種子間で異なった。また、含水率を差し引いても、小さな果実ほど高い含油率を有していた。さらに、植え付け地域は種子の含油率への影響も観察され、高緯度 (北半球)、または寒冷地である江西省宜春市で栽培された CL-40 は、高い含油率 (27.1%) を示した。降水量が少ない西部地域 (広西省百色市) で栽培された CL-40 の種子含油率は、他の地域で栽培されたユチャ種子と大きな差は見られなかった。

この他にも土壌、標高、肥料などの環境因子がユチャ種子の含油率が影響していると推測されるが<sup>80)</sup>、これらの結果から、ユチャ種子の含油率はユチャの栽培品種に依存すると考えられる。

### 3.3.2 脂質組成

天然の植物油脂のほとんどはトリアシルグリセロールである中性脂質が主成分であり、それ以外にも様々な微量成分が混在している。主なものは糖脂質、リン脂質、ジアシルグリセロール、ステロールである。

Bligh-Dyer 法で抽出した各ユチャ種子油の脂質クラスの定性結果を図 3.1 に示し、定量結果を表 3.4 に示した。ケイ酸カラムクロマトグラフィーによりユチャ種子油を分画をしたところ、ユチャ種子の全脂質のほとんどは他の植物油脂と同様に中性脂質が主成分であり、84.2%(YKX-2)~94.1%(野生種)の比率を示した。栽培品種では、YKX-2 の中性脂質含有量が比較的少なく、対して糖脂質とリン脂質が多くなっていた。

次に各脂質クラスの定性分析をしたところ、全ての栽培品種のユチャ種子油に含まれている脂質種はほぼ同じであった。TLC-FID より定量したところ、ユチャ種子油に中性脂質の主成分はトリアシルグリセロール (TAG)、糖脂質の主成分はモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGD)、リン脂質の主成分はホスファチジルエタノールアミン (PE) とホスファチジルコリン (PC) であった。品種に関係なく、トリアシルグリセロールが圧倒的多数を占めていることから、ユチャが植物油に対する有用な供給源であることが確認できた。

Table 3.4 Lipid composition of *C. oleifera* seed oil from different cultivars with Bligh-Dyer method extracted

	GZY-1	YKX-2	Wild	CL-40
Neutral lipid	91.3±2.4 <sup>b</sup>	84.2±3.1 <sup>a</sup>	94.1±1.6 <sup>b</sup>	90.7±2.1 <sup>b</sup>
TG	97.0±0.5 <sup>b</sup>	93.4±0.4 <sup>a</sup>	97.7±0.3 <sup>b</sup>	96.5±0.5 <sup>b</sup>
DG+Sterol	2.3±0.1 <sup>a</sup>	2.1±0.1 <sup>a</sup>	2.3±0.0 <sup>a</sup>	2.2±0.2 <sup>a</sup>
MG	0.7±0.0 <sup>a</sup>	4.5±0.2 <sup>b</sup>	ND	1.3±0.0 <sup>a</sup>
Glycolipid	0.4±0.1 <sup>a</sup>	5.2±0.3 <sup>c</sup>	0.7±0.0 <sup>ab</sup>	1.4±0.1 <sup>b</sup>
MGD	57.8±0.7 <sup>a</sup>	60.9±0.8 <sup>ab</sup>	68.1±0.5 <sup>b</sup>	61.6±0.7 <sup>ab</sup>
ADGD+DGD	30.3±0.3 <sup>a</sup>	34.6±0.2 <sup>b</sup>	31.7±0.2 <sup>a</sup>	32.1±0.2 <sup>a</sup>
SQD	11.9±0.2 <sup>c</sup>	4.5±0.1 <sup>b</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	16.3±0.2 <sup>d</sup>
Phospholipid	3.5±0.2 <sup>ab</sup>	5.7±0.6 <sup>b</sup>	2.2±0.1 <sup>a</sup>	4.6±0.3 <sup>b</sup>
PE	50.4±0.4 <sup>a</sup>	46.3±0.8 <sup>a</sup>	57.4±0.3 <sup>b</sup>	57.4±0.4 <sup>b</sup>
PI	13.4±0.1 <sup>b</sup>	1.1±0.0 <sup>a</sup>	12.4±0.1 <sup>b</sup>	1.2±0.0 <sup>a</sup>
PC	36.2±0.5 <sup>ab</sup>	52.6±1.0 <sup>c</sup>	30.2±0.2 <sup>a</sup>	41.4±0.4 <sup>b</sup>

TAG, Triacylglycerol; DG, Diacylglycerol; MG, Monoacylglycerol; MGD, Monogalactosyl diglyceride; ADGD, Acyl digalactoglyceride; SQD, Sulfoquinovosyl diglyceride; PE, Phosphadylethanolamine; PI, Phosphatidylinositol; PC, Phosphatidylcholine.

Mean ± SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

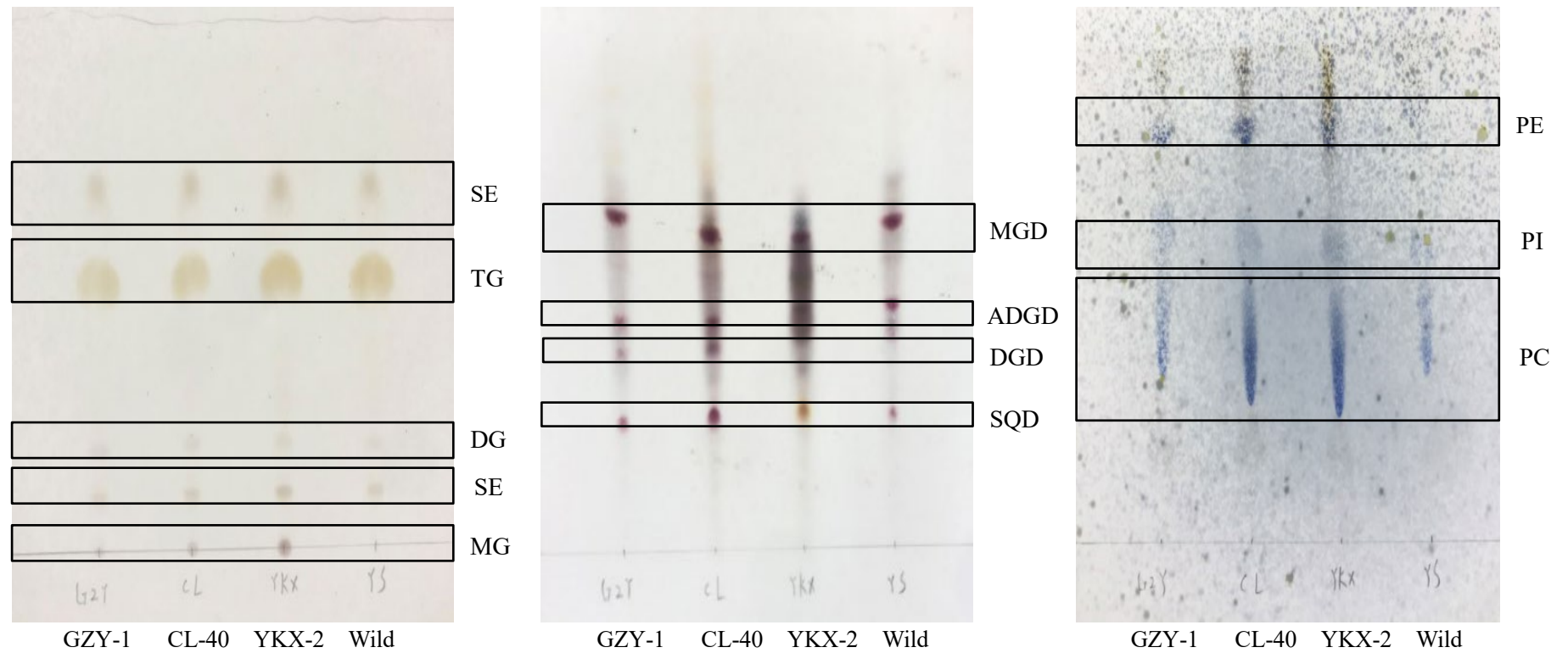


Fig. 3.1 TLC of *C. oleifera* seed oil neutral lipid, glycolipid and phospholipid

SE, Sterol ester; TG, Triacylglycerol; DG, Diacylglycerol; S, Sterol; MG, Monoacylglycerol; MGD, Monogactosyl diglyceride; ADGD, Acyl digalactoglyceride; SQD, Sulfoquinovosyl diglyceride; PE, Phosphatidylethanolamine; PI, Phosphatidylinositol; PC, Phosphatidylcholine.

### 3.3.3 脂肪酸組成

異なる栽培品種と栽培地域のユチャ種子油の脂肪酸組成を、それぞれ表 3.5 と 3.6 に示した。ユチャ種子油のオレイン酸 (18:1) 含有量は 76.3%~80.5%に達し、ほとんどの植物油のオレイン酸含有量より高いが、飽和脂肪酸含有量は少なかった。

第 2 章の結果と同じように、ユチャ種子油はパルミチン酸 (16:0)、ステアリン酸 (18:0)、オレイン酸 (18:1)、リノール酸 (18:2)、が主要な脂肪酸であるが、微量のパルミトレイン酸 (16:1)、 $\alpha$ -リノレン酸 (18:3) および Eicosenoic acid (エイコセン酸、20:1) も検出された。すべてのユチャ種子油には、同様のタイプの脂肪酸成分が含まれていたが、含有率は異なっていた。栽培品種 GZY-1 のリノール酸含有率は他の栽培品種より有意に高く、YKX-2 のパルミチン酸含有率も有意に高かった。ユチャ種子油の脂肪酸組成も、栽培地域から違いが見られ、低緯度 (北半球) またはより暖かい地域の広東省河源市からのユチャ種子油は、オレイン酸含有量 (78.9%) が低く、リノール酸含有量 (9.7%) が高かった。得られた結果はオリーブ油の報告と類似しており<sup>81)</sup>、栽培地域の温度が高いほど、オレイン酸の含有量は少なく、パルミチン酸 (16:0) およびリノール酸 (18:2) の含有量は増加した。

ユチャ種子油には、高レベル (86.8~89.6%) の不飽和脂肪酸と低レベル (10.3~12.9%) の飽和脂肪酸が含まれていた。ユチャ種子油の最も豊富な不飽和脂肪酸は一価不飽和脂肪酸 (76.8~81.0%) であるが、多価不飽和脂肪酸の含有量は低かった (8.6~12.5%)。この結果から、ユチャ種子油が高い酸化安定性と熱安定性を持っていることが示唆された。前述のように、ユチャ油の脂肪酸組成は栽培品種に依存したが、栽培地域はあまり影響を与えなかった。

Table 3.5 Fatty acid composition (%) of *C. oleifera* seed oil from different cultivars

Cultivar	GZY-1	YKX-2	Wild	CL-40
Planting region	Jiangxi Ganzhou			
Fatty acid				
16:0	9.3±0.2 <sup>b</sup>	11.5±0.3 <sup>c</sup>	9.0±0.2 <sup>ab</sup>	8.7±0.1 <sup>a</sup>
16:1	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>
18:0	1.2±0.1 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>b</sup>	1.6±0.1 <sup>b</sup>	1.8±0.1 <sup>c</sup>
18:1	76.3±0.2 <sup>a</sup>	76.3±0.5 <sup>a</sup>	79.6±0.2 <sup>b</sup>	80.3±0.1 <sup>b</sup>
18:2	12.2±0.1 <sup>d</sup>	9.7±0.2 <sup>c</sup>	8.9±0.0 <sup>b</sup>	8.3±0.0 <sup>a</sup>
18:3	0.3±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.0 <sup>a</sup>
20:1	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.0 <sup>a</sup>	0.4±0.0 <sup>a</sup>	0.4±0.0 <sup>a</sup>
Other	0.2±0.1 <sup>ab</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.2±0.0 <sup>ab</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>
∑SFA	10.5±0.2 <sup>a</sup>	12.9±0.3 <sup>b</sup>	10.5±0.2 <sup>a</sup>	10.5±0.2 <sup>a</sup>
∑UFA	89.3±0.2 <sup>b</sup>	86.8±0.3 <sup>a</sup>	89.3±0.2 <sup>b</sup>	89.4±0.2 <sup>b</sup>
∑MUFA	76.8±0.2 <sup>a</sup>	76.8±0.5 <sup>a</sup>	80.1±0.2 <sup>b</sup>	80.8±0.3 <sup>b</sup>
∑PUFA	12.5±0.1 <sup>d</sup>	10.0±0.2 <sup>c</sup>	9.2±0.0 <sup>b</sup>	8.6±0.1 <sup>a</sup>

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

Mean ± SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).



Table 3.6 Fatty acid composition (%) of *C. oleifera* seed oil from different regions

Cultivar	CL-40						
	Planting region	Jiangxi Ganzhou	Fujian Longyan	Guangdong Heyuan	Guangxi Baise	Jiangxi Yichun	Hunan Chenzhou
Fatty acid							
16:0	8.7±0.1 <sup>ab</sup>	9.1±0.4 <sup>b</sup>	9.0±0.2 <sup>ab</sup>	8.4±0.2 <sup>a</sup>	8.4±0.0 <sup>a</sup>	8.5±0.2 <sup>a</sup>	
16:1	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.1 <sup>a</sup>	0.0±0.1 <sup>a</sup>	
18:0	1.8±0.1 <sup>bc</sup>	1.7±0.1 <sup>b</sup>	1.5±0.0 <sup>a</sup>	2.1±0.0 <sup>bc</sup>	1.7±0.0 <sup>b</sup>	1.8±0.1 <sup>c</sup>	
18:1	80.3±0.1 <sup>b</sup>	80.4±0.8 <sup>b</sup>	78.9±0.2 <sup>a</sup>	79.6±0.2 <sup>ab</sup>	80.4±0.1 <sup>b</sup>	80.5±0.1 <sup>b</sup>	
18:2	8.3±0.0 <sup>b</sup>	7.9±0.3 <sup>a</sup>	9.7±0.1 <sup>d</sup>	9.1±0.1 <sup>c</sup>	8.6±0.1 <sup>b</sup>	8.3±0.1 <sup>b</sup>	
18:3	0.3±0.0 <sup>b</sup>	0.3±0.0 <sup>b</sup>	0.3±0.0 <sup>b</sup>	0.2±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.3±0.0 <sup>b</sup>	
20:1	0.4±0.0 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.5±0.0 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>	
Other	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.1 <sup>a</sup>	
∑SFA	10.5±0.2 <sup>a</sup>	10.8±0.4 <sup>a</sup>	10.5±0.2 <sup>a</sup>	10.5±0.1 <sup>a</sup>	10.3±0.2 <sup>a</sup>	10.3±0.2 <sup>a</sup>	
∑UFA	89.4±0.2 <sup>a</sup>	89.1±0.5 <sup>a</sup>	89.5±0.1 <sup>a</sup>	89.4±0.1 <sup>a</sup>	89.7±0.1 <sup>a</sup>	89.6±0.2 <sup>a</sup>	
∑MUFA	80.8±0.3 <sup>b</sup>	81.0±0.7 <sup>b</sup>	79.5±0.2 <sup>a</sup>	80.1±0.2 <sup>ab</sup>	80.8±0.1 <sup>b</sup>	81.0±0.2 <sup>b</sup>	
∑PUFA	8.6±0.1 <sup>b</sup>	8.1±0.3 <sup>a</sup>	10.0±0.1 <sup>d</sup>	9.3±0.1 <sup>c</sup>	8.9±0.2 <sup>b</sup>	8.6±0.1 <sup>b</sup>	

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid.

Mean ± SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

### 3.3.4 トリアシルグリセロール組成

トリアシルグリセロールは、油の物理的特性およびヒトの健康機能に関連している<sup>82)</sup>。表 3.7 と表 3.8 は、各ユチャ種子油のトリアシルグリセロール組成を示している。ユチャ種子油のオレイン酸含有量が高いため、主要なトリアシルグリセロール分子はトリオレイン (OOO, 51.4%~60.1%) であった。栽培品種 GZY-1 と YKX-2 のオレイン酸含有量はともに 76.3%であるが、YKX-2 の OOO 含有量は GZY-1 より有意に低かった。GZY-1 のジオレオイルリノレオイルグリセロール (OOL) とジオレオイルパルミトイルグリセロール (POO) 含有量はそれぞれ 16.9%と 10.5%であったが、YKX-2 はそれぞれ 13.9%と 17.5%であった。これらの結果から、ユチャの栽培品種はトリアシルグリセロール組成に影響を及ぼしていた。異なる栽培地域に関して、温暖な地域で栽培したユチャ種子油には、他の地域と比べてオレイン酸含有量が比較的少ない。そのため、OOO が少なく、OOL と POO が多く含まれていた。また、Tripalmitoylglycerol (PPP, トリパルミトイルグリセロール)、Tristearoylglycerol (SSS, トリステアロイルグリセロール)、Dipalmitoyl stearoyl glycerol (PPS, ジパルミトイルステアロイルグリセロール)、および Distearoyl palmitoyl glycerol (PSS, ジステアロイルパルミトイルグリセロール) などの飽和トリアシルグリセロールは、ユチャ種子油には見られないことから、ユチャ油の融点は比較的低いことが示唆された。

Table 3.7 Triacylglycerol composition (%) of *C. oleifera* seed oil from different cultivars

Cultivar	GZY-1	YKX-2	Wild	CL-40
Planting region	Jiangxi Ganzhou			
Triacylglycerol:				
LLL	1.2±0.1 <sup>b</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>
OLL	4.9±0.1 <sup>c</sup>	2.9±0.2 <sup>b</sup>	2.5±0.2 <sup>a</sup>	2.6±0.1 <sup>ab</sup>
PLL	0.9±0.1 <sup>ab</sup>	1.0±0.2 <sup>b</sup>	0.8±0.1 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>
OOL	16.9±0.4 <sup>c</sup>	13.9±0.3 <sup>b</sup>	14.2±0.3 <sup>b</sup>	12.5±0.0 <sup>a</sup>
POL	3.6±0.6 <sup>a</sup>	5.0±0.1 <sup>b</sup>	3.9±0.3 <sup>a</sup>	3.4±0.2 <sup>a</sup>
PPL	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>b</sup>	0.2±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>
OOO	56.0±0.7 <sup>b</sup>	51.4±0.7 <sup>a</sup>	56.6±0.5 <sup>b</sup>	60.1±0.3 <sup>c</sup>
POO	10.5±0.7 <sup>a</sup>	17.5±1.1 <sup>d</sup>	15.0±0.3 <sup>c</sup>	13.0±0.3 <sup>b</sup>
PPO	1.0±0.2 <sup>a</sup>	2.4±0.1 <sup>c</sup>	1.4±0.1 <sup>b</sup>	1.1±0.1 <sup>ab</sup>
SOO	3.9±0.0 <sup>a</sup>	4.2±0.7 <sup>ab</sup>	4.2±0.5 <sup>ab</sup>	5.1±0.4 <sup>b</sup>
PSO	0.8±0.0 <sup>a</sup>	0.7±0.1 <sup>a</sup>	0.7±0.2 <sup>a</sup>	0.8±0.1 <sup>a</sup>

Mean ± SD (n = 3). The total triacylglycerol measured normalized to 100%.

P, 16:0; S, 18:0; O, 18:1; L, 18:2.

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 3.8 Triacylglycerol composition (%) of *C. oleifera* seed oil from different regions.

Cultivar	CL-40					
	Planting region	Jiangxi Ganzhou	Fujian Longyan	Guangdong Heyuan	Guangxi Baise	Jiangxi Yichun
Triacylglycerol:						
LLL	0.5±0.1 <sup>ab</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.7±0.1 <sup>b</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>
OLL	2.6±0.1 <sup>a</sup>	2.6±0.1 <sup>a</sup>	3.1±0.2 <sup>b</sup>	2.9±0.1 <sup>b</sup>	2.8±0.2 <sup>b</sup>	2.7±0.1 <sup>ab</sup>
PLL	0.6±0.1 <sup>a</sup>	0.7±0.1 <sup>ab</sup>	1.0±0.1 <sup>b</sup>	0.9±0.1 <sup>b</sup>	0.8±0.1 <sup>ab</sup>	0.8±0.1 <sup>ab</sup>
OOL	12.5±0.0 <sup>ab</sup>	12.1±0.4 <sup>a</sup>	14.1±0.1 <sup>c</sup>	12.9±0.2 <sup>b</sup>	13.4±0.4 <sup>b</sup>	12.8±0.2 <sup>b</sup>
POL	3.4±0.2 <sup>a</sup>	3.6±0.1 <sup>ab</sup>	4.1±0.2 <sup>b</sup>	3.9±0.2 <sup>ab</sup>	3.8±0.4 <sup>ab</sup>	3.7±0.2 <sup>ab</sup>
PPL	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>a</sup>
OOO	60.1±0.3 <sup>c</sup>	59.7±0.7 <sup>c</sup>	56.2±0.6 <sup>a</sup>	57.5±0.5 <sup>b</sup>	58.0±0.2 <sup>b</sup>	59.3±0.3 <sup>c</sup>
POO	13.0±0.3 <sup>a</sup>	13.9±1.0 <sup>a</sup>	14.3±0.3 <sup>a</sup>	14.0±0.6 <sup>a</sup>	13.7±0.9 <sup>a</sup>	12.9±0.2 <sup>a</sup>
PPO	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>ab</sup>	1.5±0.1 <sup>b</sup>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	1.3±0.2 <sup>ab</sup>	1.3±0.1 <sup>ab</sup>
SOO	5.1±0.4 <sup>b</sup>	4.7±0.1 <sup>b</sup>	3.8±0.1 <sup>a</sup>	5.3±0.4 <sup>b</sup>	4.6±0.1 <sup>ab</sup>	4.8±0.5 <sup>b</sup>
PSO	0.8±0.1 <sup>a</sup>	0.8±0.1 <sup>a</sup>	1.2±0.2 <sup>b</sup>	0.8±0.1 <sup>a</sup>	1.0±0.1 <sup>ab</sup>	1.0±0.2 <sup>ab</sup>

Means ± SD (n = 3). The total triacylglycerol measured normalized to 100%.

P, 16:0; S, 18:0; O, 18:1; L, 18:2.

a-c, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

### 3.3.5 トコフェロール含有量

トコフェロールは食用油の微量成分であり、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -トコフェロールおよびそれらの同族体（トコトリエノール）は、天然のトコフェロールである。しかし、図 3.2 に示すように、ユチャ油には $\alpha$ -トコフェロールのみが検出された。ユチャ油中のトコフェロールの含有量は 21.2 mg/100g~36.4 mg/100g で、他のほとんどの食用油よりも少なかった<sup>83)</sup>。栽培品種では、野生種のユチャ油が最も高いトコフェロール含有量を示した。興味深いことに、野生種の含油率も 9 つのサンプルの中で最も高かった。栽培地域では、江西省宜春市から収集されたユチャ種子が、含油率とトコフェロールのどちらも最高含有量を示した。しかし、他のサンプルにトコフェロールと含油率との間に相関関係は見られなかった。また、ユチャ種子のトコフェロール含有量も、栽培品種や植栽地域によって異なった。野生種の種子 (10.8 mg/100g) のトコフェロール含有量は、YKX-2 種子のトコフェロールの 3 倍であった。同じ品種 CL-40 について、江西省宜春市 (北部地域) のユチャ種子のトコフェロール含有量は、広東省河源市 (南部地域) のトコフェロール含有量よりも 1.5 倍高かった。

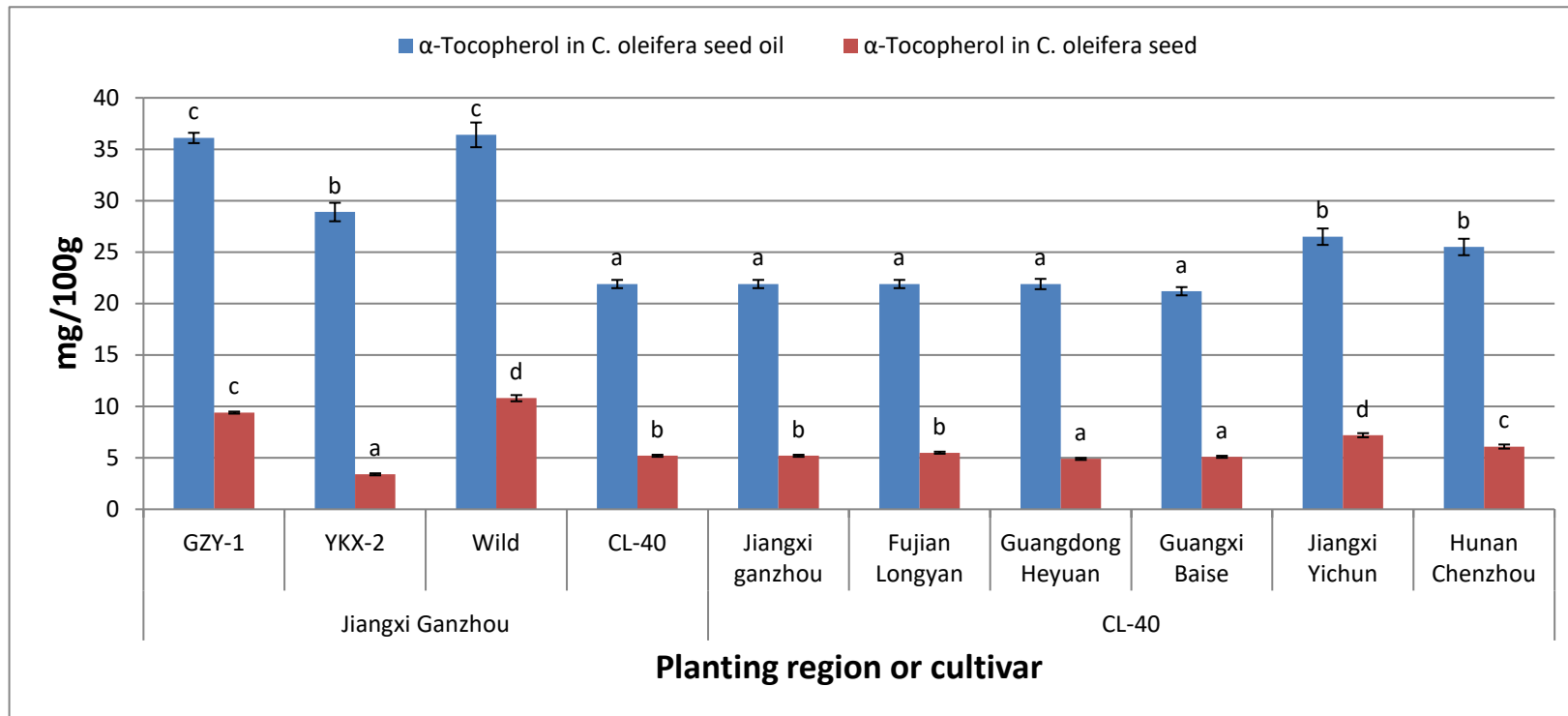


Fig. 3.2 Tocopherol contents (mg/100g) of *C. oleifera* seed oil and *C. oleifera* seed from different cultivars and regions

Mean  $\pm$  SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

### 3.3.6 ステロールとスクアレンの組成

植物ステロールは、血清中コレステロールや低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) 低下作用<sup>84)</sup>、抗炎症作用、抗菌作用、抗酸化作用<sup>85)</sup> など、さまざまな生物活性を持っている。さらに、ステロールプロファイルを使用して、食用油の種類を鑑別できる<sup>86)</sup>。表 3.9 と表 3.10 に、それぞれ異なる栽培品種と地域のユチャ油中のスクアレンとステロール組成を示した。ユチャ油の総ステロール含有量は、281.3 mg/100g (野生種) ~684.8 mg/100g (YKX-2) で、品種および栽培地域に依存していることが観察された。また、ユチャ種子の総ステロール含有量と含油率の間には負の相関 ( $R^2 = 0.81$ ) が見られ、含油率が高い種子ほど、ステロール含有量は低かった。

ユチャ油のステロールは、ラノステロール、 $\beta$ -アミリン、および 7-スチグマスタノールが主成分であり、総ステロールの約 70% を占めていた。ユチャ油のステロール組成は、他の植物油とは異なり、主に動物および真菌に見られるラノステロールおよびエルゴステロールがユチャ油に検出された。また、ステロールの前駆体であるスクアレンも検出された。福建省竜岩市に植えられた CL-40 に含まれるスクアレンが最も高く (90.3 mg/100g)、江西省カン州市に植えられた野生種のスクアレン量は最も少なかった (5.2 mg/100g)。以前の研究では、*C. reticulata* は比較的高い遺伝的多様性を有することが報告されており<sup>87)</sup>、ステロールの生合成でもそのような傾向が見られた。

異なる品種のユチャ種子のスクアレンとステロールの含有量をユチャ種子の含油率から換算して表 3.9 に示した。栽培品種 YKX-2 (79.4 mg/100g) および野生種 (83.3 mg/100g) は、種子中の異なる含油量を示したが、ステロールおよびスクアレンの含有量が最も低かった。逆に、広西省百色市 (149.4 mg/100g) と福建省竜岩市 (137.7 mg/100g) で栽培されたユチャ種子の総ステロールおよびスクアレン含有量は、最も高い値を示した (表 3.10)。栽培地域は、ユチャ種子のステロール合成にほとんど影響しないと示唆された。

Table 3.9 Sterol and squalene composition (mg/100g) of *C. oleifera* seed oil and *C. oleifera* seed from different cultivars

cultivar	GZY-1	YKX-2	Wild	CL-40
<b>Planting region</b>	<b>Jiangxi Ganzhou</b>			
Unsaponifiable:				
Squalene	29.8±1.5 <sup>a</sup> (7.7±0.4 <sup>b</sup> )	80.8±9.3 <sup>c</sup> (9.4±1.1 <sup>c</sup> )	5.2±0.4 <sup>a</sup> (1.5±0.1 <sup>a</sup> )	29.1±0.5 <sup>b</sup> (6.9±0.1 <sup>b</sup> )
Ergosterol	16.9±1.2 <sup>ab</sup> (4.4±0.3 <sup>b</sup> )	21.4±1.7 <sup>b</sup> (2.5±0.2 <sup>a</sup> )	14.6±1.1 <sup>a</sup> (4.3±0.3 <sup>b</sup> )	18.9±0.6 <sup>b</sup> (4.5±0.1 <sup>b</sup> )
Lupeol	50.1±3.1 <sup>c</sup> (13.0±0.8 <sup>b</sup> )	18.9±0.9 <sup>b</sup> (2.2±0.1 <sup>a</sup> )	9.8±0.5 <sup>a</sup> (2.9±0.1 <sup>a</sup> )	51.7±1.2 <sup>c</sup> (12.3±0.3 <sup>b</sup> )
β-Amyrin	157.9±5.7 <sup>b</sup> (41.1±1.5 <sup>c</sup> )	201.2±21.9 <sup>c</sup> (23.3±2.5 <sup>a</sup> )	91.4±5.6 <sup>a</sup> (27.1±1.7 <sup>a</sup> )	144.4±5.8 <sup>b</sup> (34.4±1.4 <sup>b</sup> )
Lanosterol	130.6±6.0 <sup>c</sup> (34.0±1.6 <sup>c</sup> )	222.5±18.9 <sup>d</sup> (25.8±2.2 <sup>b</sup> )	67.5±2.2 <sup>a</sup> (20.0±0.7 <sup>a</sup> )	101.1±2.9 <sup>b</sup> (24.1±0.7 <sup>b</sup> )
Tirucalol	21.8±0.9 <sup>bc</sup> (5.7±0.2 <sup>c</sup> )	22.9±0.3 <sup>c</sup> (2.7±0.0 <sup>a</sup> )	19.9±1.7 <sup>b</sup> (5.9±0.5 <sup>c</sup> )	17.2±0.3 <sup>a</sup> (4.1±0.1 <sup>b</sup> )
7-Stigmastenol	91.7±2.4 <sup>b</sup> (23.9±0.6 <sup>d</sup> )	97.9±10.3 <sup>b</sup> (11.4±1.2 <sup>a</sup> )	55.2±3.5 <sup>a</sup> (16.3±1.0 <sup>b</sup> )	86.9±2.7 <sup>b</sup> (20.7±0.6 <sup>c</sup> )
Cycloartenol	26.3±1.3 <sup>b</sup> (6.8±0.3 <sup>c</sup> )	19.2±0.6 <sup>a</sup> (2.2±0.1 <sup>a</sup> )	17.6±0.6 <sup>a</sup> (5.2±0.2 <sup>b</sup> )	28.9±1.0 <sup>c</sup> (6.9±0.2 <sup>c</sup> )
Total	525.1±15.1 <sup>b</sup> (136.5±3.9 <sup>c</sup> )	684.8±36.7 <sup>c</sup> (79.4±4.3 <sup>a</sup> )	281.3±12.7 <sup>a</sup> (83.3±3.8 <sup>a</sup> )	478.2±13.5 <sup>b</sup> (113.8±3.2 <sup>b</sup> )

Mean ± SD (n = 3).

The data in parentheses ( ) were from *C. oleifera* seeds.

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 3.10 Sterol and squalene composition (mg/100g) of *C. oleifera* seed oil and *C. oleifera* seed from different regions

Planting region	Cultivar				CL-40	
	Jiangxi Ganzhou	Fujian Longyan	Guangdong Heyuan	Guangxi Baise	Jiangxi Yichun	Hunan Chenzhou
Unsaponifiable:						
Squalene	29.1±0.5 <sup>a</sup> (6.9±0.1 <sup>a</sup> )	90.3±7.8 <sup>b</sup> (22.8±2.0 <sup>b</sup> )	29.5±0.3 <sup>a</sup> (6.6±0.1 <sup>a</sup> )	29.5±0.8 <sup>a</sup> (7.1±0.2 <sup>a</sup> )	25.2±2.1 <sup>a</sup> (6.8±0.6 <sup>a</sup> )	20.9±1.0 <sup>a</sup> (5.0±0.2 <sup>a</sup> )
Ergosterol	18.9±0.6 <sup>b</sup> (4.5±0.1 <sup>a</sup> )	28.6±2.0 <sup>d</sup> (7.2±0.5 <sup>c</sup> )	18.0±0.6 <sup>ab</sup> (4.0±0.1 <sup>a</sup> )	24.5±0.4 <sup>c</sup> (5.9±0.1 <sup>b</sup> )	14.8±2.0 <sup>a</sup> (4.0±0.5 <sup>a</sup> )	19.5±1.3 <sup>b</sup> (4.7±0.3 <sup>a</sup> )
Lupeol	51.7±1.2 <sup>d</sup> (12.3±0.3 <sup>c</sup> )	59.7±4.8 <sup>c</sup> (15.1±1.2 <sup>d</sup> )	51.8±3.5 <sup>d</sup> (11.6±0.8 <sup>bc</sup> )	43.2±0.5 <sup>c</sup> (10.4±0.1 <sup>b</sup> )	15.6±1.9 <sup>a</sup> (4.2±0.5 <sup>a</sup> )	24.1±1.6 <sup>b</sup> (5.8±0.4 <sup>a</sup> )
β-Amyrin	144.4±5.8 <sup>b</sup> (34.4±1.4 <sup>b</sup> )	137.8±7.8 <sup>b</sup> (34.9±2.0 <sup>b</sup> )	117.2±2.6 <sup>ab</sup> (24.6±2.5 <sup>a</sup> )	214.4±13.2 <sup>c</sup> (50.9±4.3 <sup>c</sup> )	147.6±11.9 <sup>b</sup> (40.0±3.2 <sup>b</sup> )	104.0±5.3 <sup>a</sup> (25.0±1.3 <sup>a</sup> )
Lanosterol	101.1±2.9 <sup>ab</sup> (24.1±0.7 <sup>a</sup> )	93.3±7.3 <sup>a</sup> (23.6±1.8 <sup>a</sup> )	125.5±8.5 <sup>b</sup> (28.0±1.9 <sup>ab</sup> )	158.4±6.2 <sup>c</sup> (38.2±1.5 <sup>c</sup> )	119.3±9.1 <sup>b</sup> (32.3±2.5 <sup>b</sup> )	163.3±8.3 <sup>c</sup> (39.2±2.0 <sup>c</sup> )
Tirucallol	17.2±0.3 <sup>ab</sup> (4.1±0.1 <sup>a</sup> )	30.8±3.8 <sup>c</sup> (7.8±1.0 <sup>c</sup> )	20.5±2.7 <sup>b</sup> (4.6±0.6 <sup>ab</sup> )	24.8±1.2 <sup>b</sup> (6.0±0.3 <sup>b</sup> )	14.9±1.9 <sup>ab</sup> (4.0±0.5 <sup>a</sup> )	14.5±1.0 <sup>a</sup> (3.5±0.2 <sup>a</sup> )
7-Stigmastenol	86.9±2.7 <sup>ab</sup> (20.7±0.6 <sup>ab</sup> )	83.1±4.0 <sup>a</sup> (21.0±1.0 <sup>ab</sup> )	100.3±8.0 <sup>b</sup> (22.4±1.8 <sup>b</sup> )	97.3±4.9 <sup>b</sup> (23.4±1.2 <sup>b</sup> )	74.2±5.7 <sup>a</sup> (20.1±1.6 <sup>ab</sup> )	77.0±3.5 <sup>a</sup> (18.5±0.9 <sup>a</sup> )
Cycloartenol	28.9±1.0 <sup>b</sup> (6.9±0.2 <sup>ab</sup> )	20.5±0.8 <sup>a</sup> (5.2±0.2 <sup>a</sup> )	30.2±2.2 <sup>b</sup> (6.7±0.5 <sup>ab</sup> )	31.4±5.4 <sup>b</sup> (7.6±1.3 <sup>b</sup> )	24.1±1.9 <sup>ab</sup> (6.5±0.5 <sup>ab</sup> )	32.8±3.3 <sup>b</sup> (7.9±0.8 <sup>b</sup> )
Total	478.2±13.5 <sup>ab</sup> (113.8±3.2 <sup>a</sup> )	544.2±31.1 <sup>b</sup> (137.7±7.9 <sup>b</sup> )	486.3±30.0 <sup>ab</sup> (108.4±6.7 <sup>a</sup> )	620.0±33.7 <sup>c</sup> (149.4±8.1 <sup>b</sup> )	435.7±17.4 <sup>a</sup> (118.1±4.7 <sup>a</sup> )	456.0±16.4 <sup>a</sup> (109.4±3.9 <sup>a</sup> )

Mean ± SD (n = 3).

The data in parentheses ( ) were from *C. oleifera* seeds.

a-e, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).



### 3.4 結論

本章では、異なる栽培品種、または異なる栽培地域からのユチャ種子の脂質特性について比較分析を実施した。すべてのユチャ種子油の総脂肪酸の76%以上はオレイン酸(18:1)が占めており、トリオレイン(OOO)が総トリアシルグリセロールの50%以上を占めていたが、栽培品種によってパルミチン酸(16:0)やリノール酸(18:2)の割合が異なった。ユチャ種子油には、 $\alpha$ -トコフェロールのみが検出されたが、その含有量は栽培品種および栽培地域でそれぞれ異なった。またユチャ種子油のステロールは、ラノステロール、 $\beta$ -アミリン、および7-スチグマスタノールが主成分であり、他の植物油のステロールと異なると共に、その含有量は栽培品種によって大きく異なっていた。

ユチャの栽培品種は、栽培地域よりも脂質特性に大きな影響を与えることを認めた。栽培地域に関して、降水量、日照時間はユチャ種子の脂質特性にほとんど影響しないが、南北における気温差がより強く影響すると示唆された。

## 第四章 ユチャ種子に含まれるポリフェノールおよび抗酸化作用

### 4.1 序言

ユチャは中国で約 2300 年前から利用されており、中国の漢方薬の古書である本草綱目に「ユチャ種子は苦味、毒性、鎮咳去痰作用を持ち、種子を粉砕して油を取り除くことで服の洗浄ができる」という関連記録がある。

現在、ユチャ種子は主に油の生産に使用されている。ユチャ種子油の工業生産後、残ったユチャ粕は、約 8% の Saponin (サポニン) が含まれている<sup>88)</sup>。サポニンは、Sapogenin (サポゲニン) と糖から構成される配糖体の総称である<sup>89)</sup>。純粋なサポニンは白色の無定形粉末で、水、メタノール、Butanol (ブタノール)、含水エタノール溶液に可溶で、泡立ち、乳化、分散、湿潤する優れた非イオン性界面活性剤である。界面活性作用があるため細胞膜を破壊する性質があり、血液に入った場合には赤血球を破壊 (溶血作用) する、また、水に溶かすと水生動物の鰓の表面を傷つけたりする魚毒性を発揮することから、ユチャ粕はエビを養殖する際に、その池に生息する魚、昆虫、および他の有害な水生動物の排除によく使用されている<sup>90, 91)</sup>。また、ユチャ種子中のサポニンは、飲料、健康食品、化粧品などの分野で乳化剤として広く使用されている<sup>92)</sup>。ユチャ種子から分離されたサポニンは、抗菌、抗炎症、鎮痛、殺虫、抗癌、アルコール吸収の阻害、血中脂質の低下などの幅広い薬理活性があると報告されている<sup>93, 94)</sup>。また、HPLC-MS の分析により、ユチャ粕には約 30 種類のサポニンが含まれていることが分かった<sup>95)</sup>。

さらに、ユチャ種子には多糖類やタンパク質も多く含まれている。いくつかの研究では、ユチャ種子中の多糖類の含有量は 6%~8% であり、ユチャ種子から抽出された多糖類は、血糖値を下げ、グルコース代謝の障害を修復し、抗癌作用、抗血栓作用、抗酸化作用を示した<sup>96-98)</sup>。大豆や菜種などの油料作物は、油を抽出した後の残渣にタンパク質が多く含まれているため、粕は一般的に飼料として使われている。脱脂されたユチャ粕には 14~20% の粗タンパク質が含まれ、7 つの必須アミノ酸を含んだ 17 種類のアミノ酸が同定された<sup>99, 100)</sup>。ユチャ粕は、生物活性が高い植物タンパク質源で、低コストの原料である。しかし、ユチャ粕は多くの毒性を有する茶サポニンを含んでいるため、飼料としての使用は制限されている。上記に加えて、ユチャ種子には油、澱粉、粗繊維、有機酸、アルカロイド、ポリフェノールなども含まれている<sup>100)</sup>。それらの含有量は、栽培品種、栽培地域、栽培条件、ユチャ木の光合成の生理学的特性などに関連している。

お茶にはカテキンが豊富に含まれていることが広く知られている。そのため、お茶を飲むことは人体に多くの利点がある。お茶とユチャは同じカメリア属に属しているが、ユチャ種子に含まれるポリフェノールに関する知見は非常に少ない。ポリフェノールはベンゼン環に複数のヒドロキシル基を有する物質の総称である。野菜、果実、穀物などのほとんどの植物に含有され、その数は 5000 種類以上が存在している。代表的な植物ポリフェノールとしては、ブドウに含まれる Anthocyanin (アントシアニン)、お茶に含まれるカテキンなどが挙げられる。各種ポリフェノールの機能性に関する研究は、ここ数十年の間に盛んに行われており、その抗酸化作用、抗炎症作用などが次々と明らかになっている。それに伴い、心疾患、癌、アレルギーなど各種疾病に対する抑制作用、あるいは予防作用と言った有用性にも期待されている<sup>101)</sup>。

今までに、20.6~39.5  $\mu\text{g/g}$  のフラボノイドがユチャ種子の原油に含まれていることが報告

されている<sup>21)</sup>。また、ゴマに含まれているリグナンであるセサミンがユチャ種子油に存在している報告もあった<sup>22)</sup>。フラボノイドはカテキンやアントシアニンなどを含み、一般的に抗酸化作用を持ち、生活習慣病などの予防に期待ができる物質である<sup>102)</sup>。セサミンはゴマに多く含まれる物質であり、生体内で肝臓や血清でのコレステロール吸収および合成阻害効果といった健康機能を有していることからサプリメントにも使用されている<sup>103)</sup>。

そこで本研究では、異なる栽培品種、栽培地域から採取されたユチャ種子に含まれているポリフェノールの定量および定性分析を行うと共に、抗酸化活性を評価する。これらの分析を通してユチャに含まれる生理活性成分の科学的データの収集を目的として実験を行った。

## 4.2 材料と方法

### 4.2.1 実験材料

本章の実験を使用した材料は、第3章で使用した材料に加えて、Changlin-18 (CL-18)、Ganshi83-4 (GS83-4)、Ganyong-5 (GY-5)というユチャ栽培品種を使用した。乾燥した大豆、白胡麻、ひまわりの種（生瓜干）、茶種子およびツバキ種子は対照として使用した。各ユチャ種子の乾燥方法は3.2.1と同様に行った。

Catechin gallate (Cg, カテキンガレート)、Epigallocatechin gallate (EGCg、没食子酸エピガロカテキン)、Epicatechin gallate (ECg, エピカテキンガレート) は、Sigma-Aldrich 社から購入した。Sodium carbonate (炭酸ナトリウム)、Gallic acid (没食子酸) は関東化学 (株) から購入した。他の試薬は和光純薬 (株) から購入した。すべての化学薬品は分析グレードまたは HPLC グレードであった。

### 4.2.2 フォリン-デニス法による総ポリフェノール量<sup>104)</sup>

各サンプル 20 g をそれぞれ粉砕機で粉砕し、80%メタノール 100 mL を加えて3時間放置した。その後、溶液をアスピレーターで吸引ろ過し、残渣に80%メタノール 100 mL を加えて再び吸引ろ過し、ポリフェノールを抽出した。没食子酸を80%メタノールで25、50、100、200、400 µg/mL の濃度で調整し、標準溶液とした。

試験管に水 3.2 mL、試料溶液または標準溶液 200 µL、Folin-Dennis reagent (フォリン-デニス試薬) 200 µL を加えて、さらに7.5%炭酸ナトリウム 400 µL を加えて1時間放置した。ブランクはフォリン-デニス試薬の代わりに水 200 µL を加えた。この溶液の760 nmにおける吸光度を測定し、得られた試料溶液の吸光度と標準溶液で作成した検量線から総ポリフェノール量を求めた。

### 4.2.3 FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power) 法による抗酸化力<sup>105)</sup>

各サンプル 10 g をそれぞれ粉砕機で粉砕し、50%エタノール 50 mL を加えて3時間放置した。その後、溶液をアスピレーターで吸引ろ過し、残渣に50%エタノール 50 mL を加えて再び吸引ろ過し、試料溶液とした。

FRAP 溶液 3 mL と試料溶液または Trolox 標準溶液 100 µL を加えて3分間放置した。ブランクは試料溶液の代わりに50%エタノール 100 µL を加えた。その後、593 nm での吸光度を測定し、得られた試料溶液の吸光度と検量線からユチャの抗酸化力を求めた。

FRAP 溶液 : 10 mM TPTZ 溶液 (40 mM 塩酸で調製) : 300 mM 酢酸緩衝液 (pH3.6) : 20 mM 塩化鉄 (III) = 10 : 1 : 1 (v/v/v) の割合で混合液を作成した。

Trolox 標準溶液 : Trolox 標品を 0.125、0.0625、0.0313、0.0156 mg/mL の濃度で調製した。

### 4.2.4 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 法による抗酸化力<sup>106)</sup>

各サンプル 10 g をそれぞれ粉砕機で粉砕し、80%エタノール 50 mL を加えて3時間放置した。その後、溶液をアスピレーターで吸引ろ過し、残渣に80%エタノール 50 mL を加えて再び吸引ろ過し、試料溶液とした。

DPPH 溶液 : 400 µM DPPH 溶液をエタノールで、0.2 M MES buffer (pH 6.0) を水酸化ナトリウムでそれぞれ調製した。400 µM DPPH エタノール溶液 : 0.2 M MES buffer (pH6.0) : 20%エタノール=1 : 1 : 1 (v/v/v) の割合で DPPH 混合液を作成した。

各試料溶液を試験管にそれぞれ 0、60、120、240、360、480  $\mu\text{L}$  分注し、1.8 mL DPPH 混合液を添加し、80%エタノールを用いて全量を 2.4 mL とした。これらを室温、暗所に 20 分間放置した後、測定試料とした。

標準物質には、0.2 mM Trolox を用いた。0.2 mM Trolox を試験管にそれぞれ 0、60、120、180、240、300  $\mu\text{L}$  を分注し、1.8 mL DPPH 混合液を添加し、80%エタノールを加え、全量を 2.4 mL とした。これらを室温、暗所に 20 分間放置した後、標準液とした。

測定試料または標準液はそれぞれ 520 nm での吸光度を測定し、得られた試料溶液の吸光度と検量線からユチャの抗酸化力を求めた。ブランクは Trolox を含まない 50%エタノールを用いて、標準液を同様に調製した。

#### 4.2.5 HPLC によるセサミン分析<sup>103)</sup>

ユチャ種子 20 g を粉碎機で粉碎し、メタノール 100 mL を加えて 3 時間放置した。その後、溶液をアスピレーターで吸引ろ過し、残渣にメタノール 100 mL を加えて再び吸引ろ過した。このろ液をエバポレーターで濃縮し、*n*-ヘキサン 100 mL で定容した。

測定試料 10  $\mu\text{L}$  を HPLC に注入し、HPLC の分析条件を次に示す。

装置	Jasco CO-2065
ポンプ	Jasco PU-2080
カラム	ODS-80Ts
カラム温度	30°C
移動相	<i>n</i> -ヘキサン/クロロホルム(8:2, v/v)
流速	1.0 mL/min
検出器	Jasco FP-2020 PLUS spectrofluorometric detector
検出波長	励起波長:280 nm、蛍光波長:340 nm

#### 4.2.6 HPLC-UV によるカテキンの分析<sup>107)</sup>

標準物質はカテキン、Epigallocatechin (EGC, エピガロカテキン)、EGCg、Cg、ECg、Gallocatechin gallate (GCg, ガロカテキンガレート) を用いた。それぞれ標準物質は 10 mg/100mL の濃度になるように精秤し、アセトニトリルと水の混合液(1:9, v/v)で溶解した。

4.2.6 に抽出した測定試料または標準溶液 10  $\mu\text{L}$  を HPLC に注入し、HPLC の分析条件を次に示す。

装置	Jasco CO-2065
ポンプ	Jasco PU-2080
カラム	Wako sil-II 5C18 HG
カラム温度	40°C
移動相	A : 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 95.45 : 4.5 : 0.05 B : 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 49.95 : 50.0 : 0.05
グラジエント	0~5 分 : A 90%、B 10% 5~8 分 : A 70%、B 30% 8~10 分 : A 70%、B 30% 10~15 分 : A 20%、B 80% 15~20 分 : A 20%、B 80%
流速	1.0 mL/min
検出器	Jasco UV-2075 Plus

検出波長	270 nm
------	--------

#### 4.2.7 HPLC-PDA によるポリフェノールの分析

粉碎したユチャ種子 5 g にアセトニトリルと水の等量混合液 80 mL を加え、30°C で 40 分間振とうした。その後同じ液で 100 mL に定容し、しばらく静置した後に上清をろ過した。試料溶液とした。

試料溶液 10  $\mu$ L を HPLC-PDA に注入し、HPLC の分析条件を次に示す。

装置	Shimadzu CTO-10AC
ポンプ	Shimadzu LC-8A
検出器	Shimadzu SPD-M10A
検出波長	270 nm
カラム	Wako sil-II 5C18 HG
温度	40°C
流速	1.0 mL/min
注入量	10 $\mu$ L
移動相	A 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 95.45 : 4.5 : 0.05 B 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 49.95 : 50.0 : 0.05 A : B = 1 : 1 で混合した溶液を使用

#### 4.2.8 HPLC-TOF-MS によるポリフェノールの分析

4.2.7 に抽出した試料溶液 10  $\mu$ L を HPLC-TOF-MS に注入し、HPLC の分析条件を次に示す。

装置	Agilent 1200 series
検出器	JMS-T100LC AccuTOFTM LC-TOF MS
検出波長	346 nm
カラム	Wako sil-II 5C18 HG
温度	40°C
流速	1.0 mL/min
注入量	10 $\mu$ L
移動相	A 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 95.45 : 4.5 : 0.05 B 水 : アセトニトリル : 85%リン酸 = 49.95 : 50.0 : 0.05 A : B = 1 : 1 で混合した溶液を使用
イオン化モード	ESI+

#### 4.2.9 統計計算

全ての実験は 3 回で行った。得られた値は SPSS 25.0 (IBM、米国) で統計分析を行い、平均値  $\pm$  標準偏差 (SD) で示した。有意差検定は、各グループに一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、 $p \leq 0.05$  の時、SPSS にて多重比較の Tukey 検定を用いて有意差ありと判定した。

### 4.3 結果および考察

#### 4.3.1 フォリン-デニス法による総ポリフェノール量

ユチャ 12 種類の吸光度から換算したポリフェノール総量(mg/100g)を図 4.1 に示した。

図 4.1 より、ユチャ種子中の総ポリフェノール量は 806~2148 mg/100g の範囲であった。また総ポリフェノール量が最も多い栽培品種は GZY-1 で  $2148 \pm 109$  mg/100g、次いで GS83-4 で  $1797.6 \pm 39.9$  mg/100g であった。最も少ないものは野生種で  $806 \pm 6$  mg/100g であった。ユチャ種子のポリフェノール含有量は茶種子、ツバキ種子、大豆、ゴマ、ヒマワリ種子と比較しても大きな値であった。特に GZY-1 や GS83-4 はダークチョコレート ( $1664$  mg/100g) と比較してより多くのポリフェノールを含んでいるため<sup>108)</sup>、食品や化粧品への応用に期待ができることが示唆された。この結果からユチャに含まれているポリフェノール量は品種によって大きな差があることが分かった。同じ品種で異なる栽培地域のところに、南部の広東省河源市に栽培されたユチャ種子 (GDHY,  $1969 \pm 68$  mg/100g) が高いポリフェノール含有量を示したが、他の 4 つのサンプルはほとんど同じであった。植物は太陽からの紫外線などから身を守るためにポリフェノールを産生する。特に温暖な地域では太陽光が強く、厳しい条件下でも栽培される必要がある。つまり温暖な気候で栽培される植物は、自身の身を守るためにポリフェノールを多く産生していると考えられる。このことから南部の温暖な地域で栽培されたユチャ種子は、その環境下で成長するためにポリフェノールを多く産生したと考えられる。

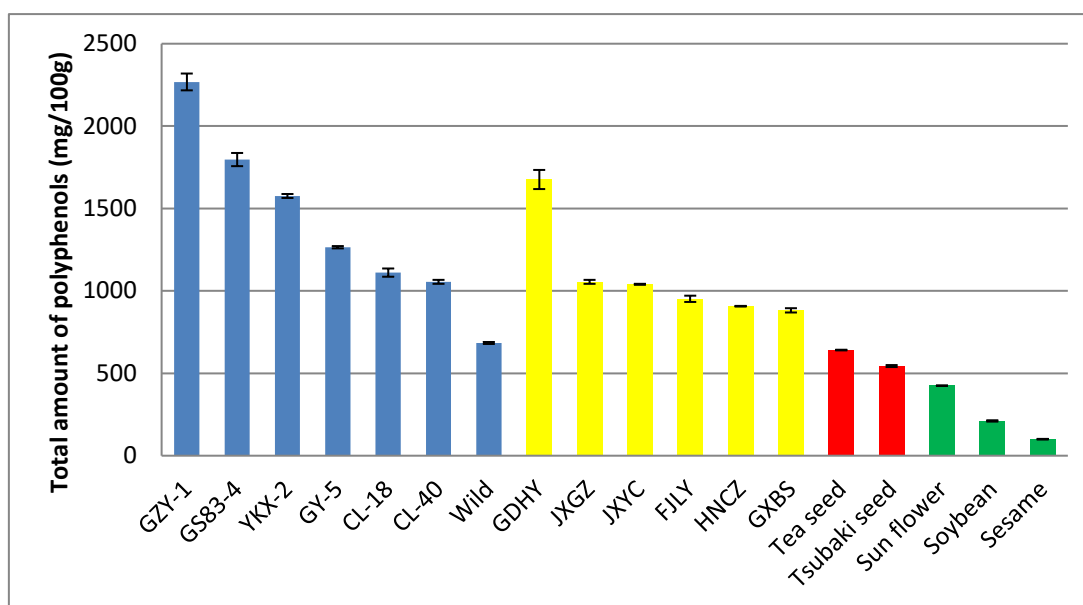


Fig. 4.1 Total polyphenol content in each *Camellia oleifera* seed (mg/100g)

Mean ± SD, n = 3.

#### 4.3.2 ユチャ種子から抽出物の抗酸化力

異なる栽培品種のユチャ種子、異なる栽培地域のユチャ種子、または他の油糧作物の抗酸化力をそれぞれ表 4.1、4.2 および 4.3 に示した。

DPPH 法で分析したところ、各栽培品種のユチャの抗酸化力は 7.3~101.9 Trolox  $\mu\text{mol/g}$  であった。YKX-2 の  $102 \pm 9$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$ 、GZY-1 の  $98.2 \pm 2.6$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$  が強い抗酸化力を示した。最も低い値を示したのは野生種の  $7.3 \pm 0.4$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$  であった。大豆、ゴマ種子はほとんど抗酸化力を示さず、茶種子、ツバキ種子、ヒマワリ種子は異なる程度の抗酸化力を示した。ほとんどのカメリア属の種子は大豆、ゴマ、ヒマワリ種子と比較しても高い値であるため、カメリア属の種子は強い抗酸化作用があると示唆された。同じ品種で異なる栽培地域の場合には、温暖な地域で栽培したユチャ種子は強い抗酸化力を示した。

FRAP 法で分析したところ、ユチャ種子の抗酸化力は 11.6~120 Trolox  $\mu\text{mol/g}$  であった。GZY-1 の  $120 \pm 4$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$  が一番強く、次に GS83-4 の  $110 \pm 2$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$ 、YKX-2 の  $69.2 \pm 1.7$  Trolox  $\mu\text{mol/g}$  が強い抗酸化力を示した。最も低い値を示したのは湖南省チン州市 (HNCZ) に栽培された CL-40、ツバキ種子、大豆、ゴマ、ヒマワリ種子と同程度の抗酸化力を示した。FRAP 法によるユチャ種子の抗酸化力は、DPPH 法と同様に大きな差が見られたことから品種による影響が大きいと示唆された。

DPPH 法と FRAP 法の結果を比較すると、どちらも GZY-1、GS83-4、YKX-2 が強い抗酸化力を示した。中でも GZY-1 は特に強力な抗酸化力を持つことが示唆された。2つの試験において、GDHY で栽培されたユチャ種子のみ異なる結果を示した。この要因として2つの試験方法の反応機構が異なることが挙げられる。FRAP 法では物質の鉄イオン還元力を測定する試験である。これに対して DPPH 法では安定な有機ラジカルである DPPH と抗酸化物質との反応である。従って GDHY のユチャ種子は、還元力は弱いがラジカル消去能が強いと考えられる。

この結果と 4.3.1 で求めた総ポリフェノール量の相関関係を図 4.2 に示した。図 4.2 よりユチャ種子抽出物の抗酸化力測定結果と総ポリフェノール量は相関関係 ( $R^2 = 0.72$ ) が見られた。



Table 4.1 Antioxidant capacity of each *Camellia oleifera* seed from different cultivar ( $\mu\text{mol/g}$ )

Cultivar	GZY-1	GS83-4	YKX-2	GY-5	CL-18	CL-40	wild
<b>Planting region</b>	<b>Jiangxi Ganzhou</b>						
Antioxidant capacity:							
DPPH method	98.6±2.6 <sup>d</sup>	52.5±2.9 <sup>c</sup>	101.9±3.4 <sup>d</sup>	22.8±0.8 <sup>b</sup>	24.1±0.2 <sup>b</sup>	23.2±0.1 <sup>b</sup>	7.3±0.4 <sup>a</sup>
FRAP method	119.6±4.4 <sup>d</sup>	110.2±1.8 <sup>d</sup>	69.2±1.7 <sup>c</sup>	31.5±3.7 <sup>b</sup>	51.9±7.2 <sup>b</sup>	14.1±0.5 <sup>a</sup>	11.7±4.7 <sup>a</sup>

Mean  $\pm$  SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 4.2 Antioxidant capacity of each *Camellia oleifera* seed from different planting location ( $\mu\text{mol/g}$ )

Cultivar	CL-40					
Planting region	GDHY	JXYC	FJLY	JXGZ	HNCZ	GXBS
Antioxidant capacity:						
DPPH method	105.9±13.0 <sup>c</sup>	31.3±0.2 <sup>b</sup>	30.5±0.6 <sup>b</sup>	23.2±0.1 <sup>ab</sup>	9.7±1.6 <sup>a</sup>	11.2±1.8 <sup>a</sup>
FRAP method	40.5±0.6 <sup>d</sup>	30.3±0.8 <sup>cd</sup>	23.4±3.0 <sup>c</sup>	14.1±0.5 <sup>b</sup>	7.2±0.9 <sup>a</sup>	11.8±0.8 <sup>ab</sup>

Mean  $\pm$  SD (n = 3).

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 4.3 Antioxidant capacity of each oil crop ( $\mu\text{mol/g}$ )

Type	Tea seed	Tsubaki seed	Sunflower	Soybean	Sesame
Antioxidant capacity:					
DPPH method	52.1±1.5	6.6±0.3	13.0±1.2	0.9±0.1	0.9±0.1
FRAP method	42.7±1.8	8.4±0.2	8.5±0.1	5.2±0.1	6.0±0.1

Mean  $\pm$  SD (n = 3).

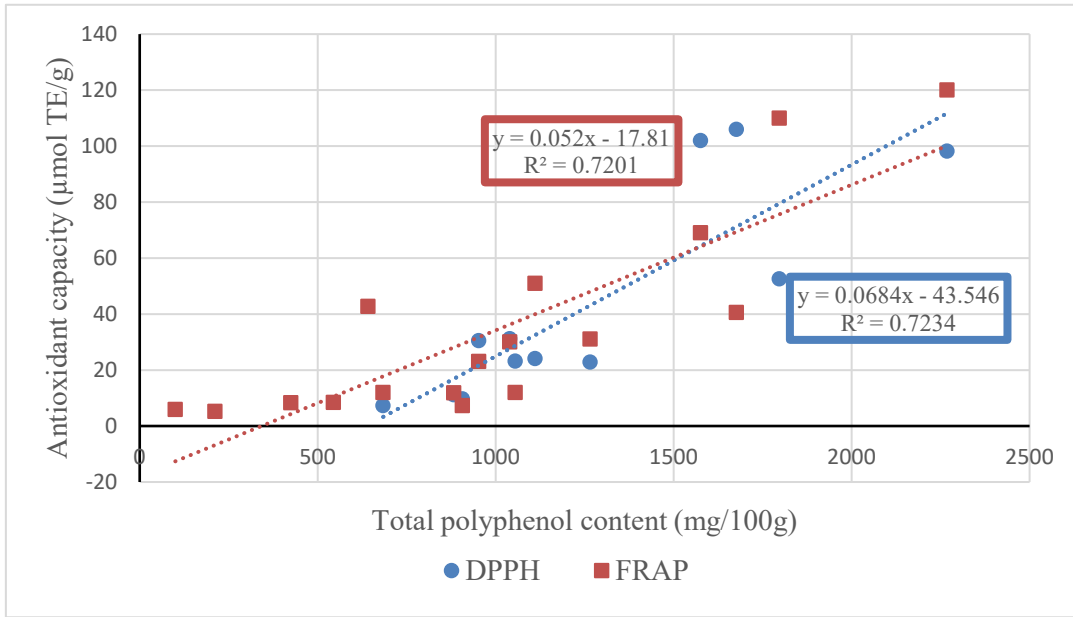


Fig. 4.2 Correlation between total polyphenol content and antioxidant capacity

### 4.3.3 HPLCによるセサミンの分析

HPLCで分析したセサミン標品、ユチャ種子（GZY-1）のクロマトグラムを図4.3に示した。

図4.3(a)ではセサミン標品は2.70分に溶出したが、図4.3(b)のユチャ種子を測定した結果では、セサミンのピークは極めて小さかった。この結果からユチャにはセサミンはほとんど含まれていないことが示唆された。

Leeらは、セサミンおよびセサミンに類似した化合物がユチャ油に検出され、その含有量はそれぞれ33.88と18.41 mg/100gであると定量された<sup>22)</sup>。しかし、本研究で検出されたユチャ種子中のセサミンは極めて微量であった。

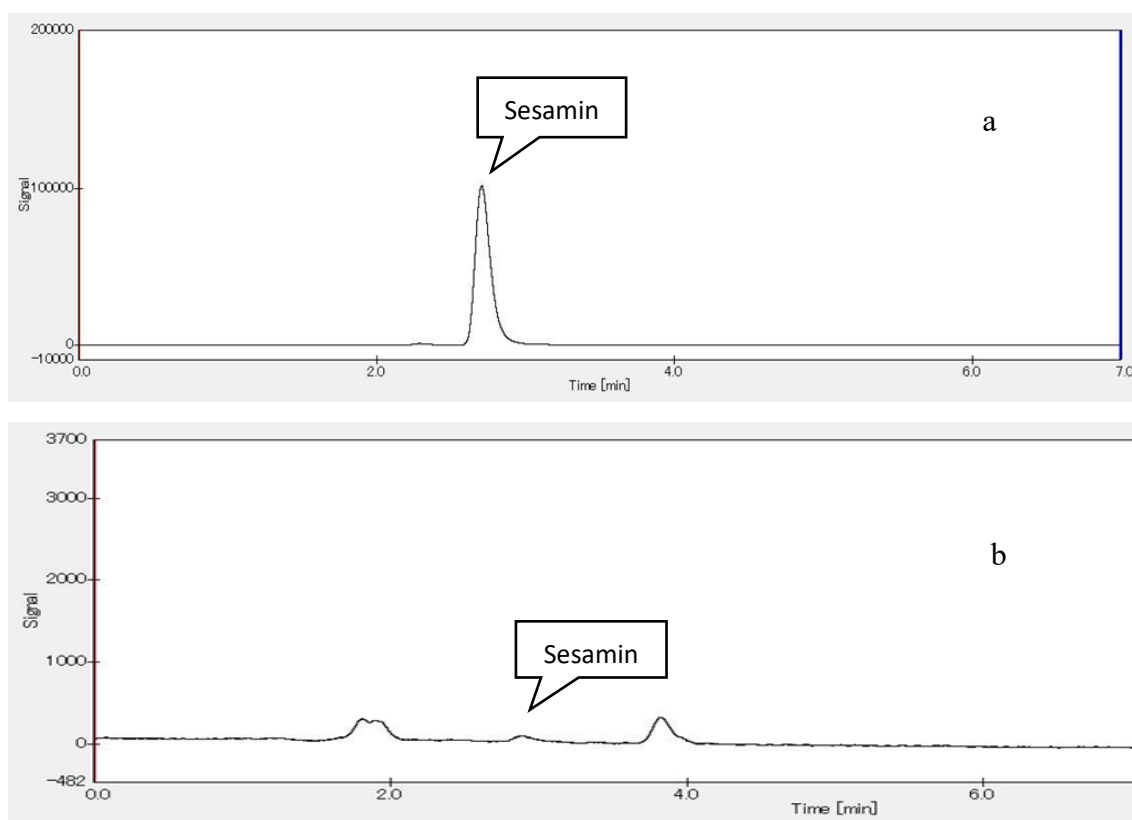


Fig. 4.3 HPLC chromatogram of sesamin standard (a) and *Camellia oleifera* seed extract (b)

#### 4.3.4 HPLCによるカテキン類の分析

ユチャ種子抽出物のカテキン類のHPLCクロマトグラムを図4.4に示した。いくつかのカテキン標準品を用いたところ、カテキンは8.71分、エピガロカテキン(EGC)は7.74分、エピガロカテキンガレート(EGCg)は10.62分、エピカテキンガレート(ECg)は13.31分、カテキンガレート(Cg)は13.35分、ガロカテキンガレート(GCg)は11.45分に溶出した。これに対し、図4.4のユチャ抽出物のクロマトグラムでは、11.75分、12.07分、12.83分、13.31分、13.45分、13.60分にピークが観察された。これらのピークのうち、11.75分のピークはGCg、13.31分のピークはECgであると考えられる。これによりユチャにはGCg、ECgが含まれていると示唆された。

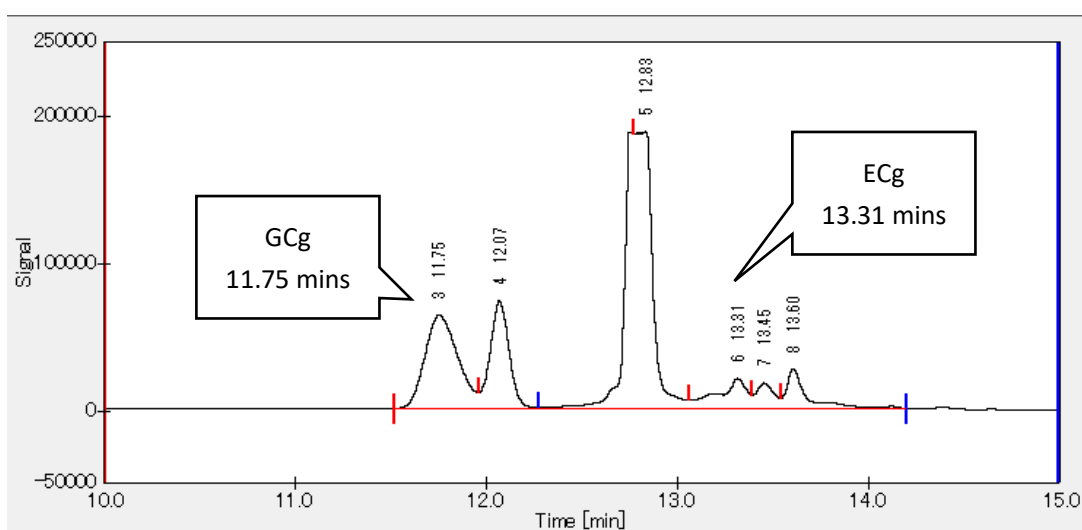


Fig. 4.4 HPLC chromatogram of *C. oleifera* seed extract

#### 4.3.5 HPLCによるポリフェノール類の分析

ユチャ種子の抽出物は、フォトダイオードアレイを用いて分析した。3つのピークが確認された(図 4.5 a)。4.6分のピークは279 nm(図 4.5 b)、19.7分のピークでは265、347 nm(図 4.5 c)、29.4分のピークでは265、347 nm(図 4.5 d)とそれぞれ最大吸収波長を示した。

4.6分のピークの極大吸収は、4.3.4で同定されたGCgの極大吸収と一致した。また、他の2つのピーク(19.7分、29.4分)は図 4.4の12.07分と12.83分のピークと一致していると考えられた。極大吸収からはどのような化合物か不明であるため、HPLC-TOF-MSを用いて分析した。

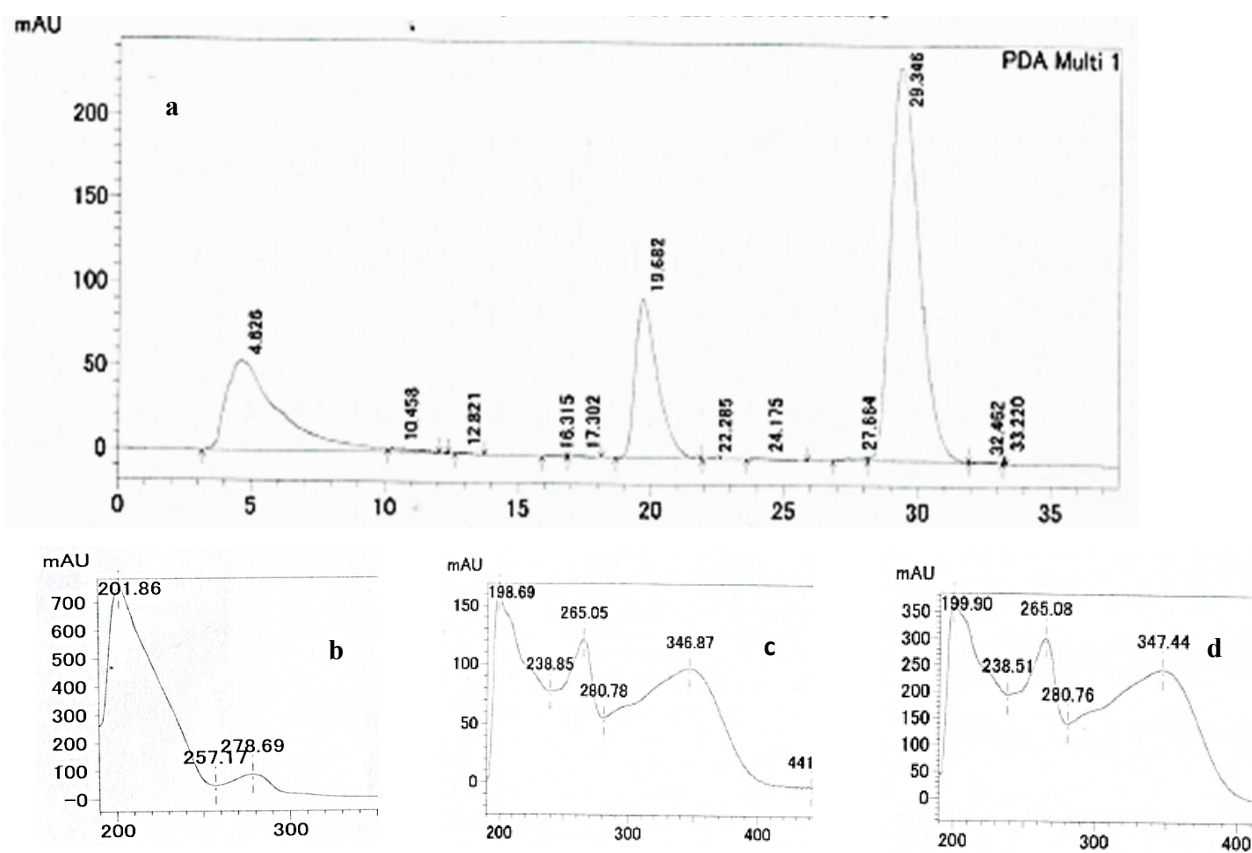


Fig. 4.5 HPLC chromatogram of *C. oleifera* seed extract (a) and absorption spectrum of 3 major peaks (b, 4.6 min; c, 19.7 min; d, 29.4 min)

#### 4.3.6 HPLC-TOF-MS によるポリフェノールの分析

ユチャ種子抽出物を 347 nm で分析したクロマトグラムと 2 つの成分の質量スペクトルを図 4.6 に示した。23.4 分のピークは m/z 287、595、757 により  $C_{33}H_{40}O_{20}$  の分子式として推測され、36.4 分のピークは m/z 287、595、727 により  $C_{32}H_{30}O_{15}$  の分子式として推測された。以前の報告から判断すると、これらの 2 つの物質は kaempferol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside} および kaempferol 3-O- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside} であると示唆された (図 4.7) <sup>109, 110</sup>。

2 つの物質はどちらも Kaempferol glycoside (ケンフェロール配糖体) で、Aglycon (アグリコン) であるケンフェロールは、フラボノイドの一種である天然のフラボノールで、さまざまな植物や植物由来の食品に含まれている。いくつかの疫学的研究で、ケンフェロールといくつかのケンフェロール配糖体が抗酸化、抗炎症、抗微生物、抗がん、心保護、神経保護、抗糖尿病、抗骨粗鬆症、エストロゲン/抗エストロゲン作用、抗不安、鎮痛および抗アレルギー活性を持つことが示されている <sup>111</sup>。

これらの結果から、ユチャ種子中のポリフェノールは主にケンフェロールであり、その含有量は非常に高いため、脱脂されたユチャ粕は食品や化粧品への利用に期待ができると示唆された。

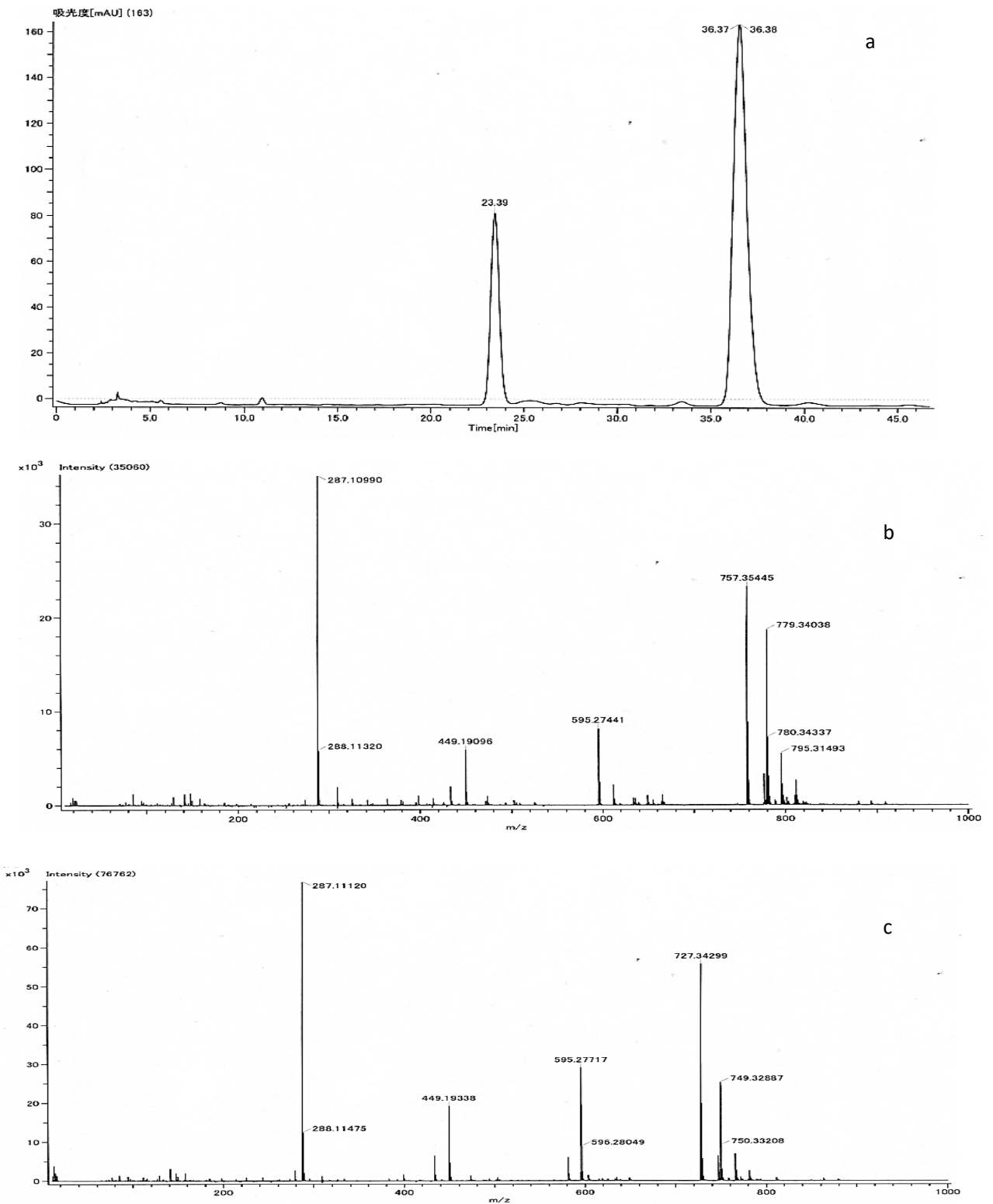


Fig. 4.6 HPLC-TOF-MS chromatogram of *Camellia oleifera* seed extract (a) and TOF-MS spectra of 2 compounds (b, c)

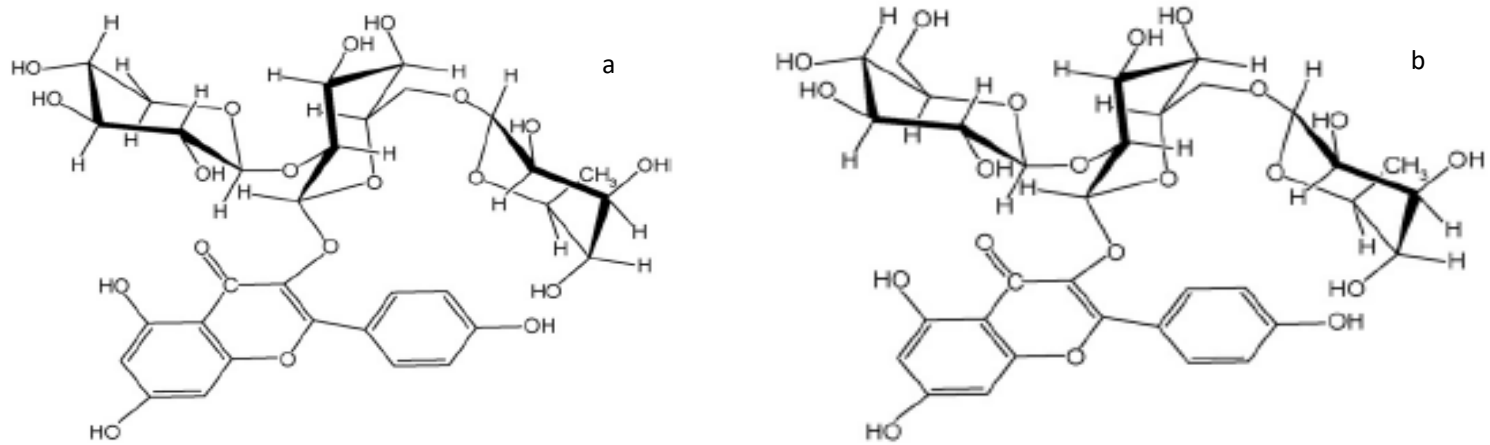


Fig. 4.7 structure of 2 kaempferol glycoside from *Camellia oleifera* extract

a: kaempferol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside};

b: kaempferol 3-O- $\{\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- $\beta$ -D-glucopyranoside}.



#### 4.4 結論

ユチャ種子に含まれている総ポリフェノール量は 806~2148 mg/100g であった。抗酸化力測定において FRAP 法では 11.6~120 Trolox  $\mu\text{mol/g}$ 、DPPH 法では 7.3~102 Trolox  $\mu\text{mol/g}$  で、強い抗酸化活性を示した。また総ポリフェノール量と抗酸化活性は栽培品種や栽培地域によって異なった。

ユチャ種子に含まれるポリフェノールを HPLC で分析した結果、ユチャ種子にはセサミンはほとんど含まれておらず、カテキン類である GCg、ECg、およびフラボノイドであるケンフェロールが含まれていることが認められた。以上の結果から、ユチャ種子のポリフェノール含有量は品種や産地によって違いがあり、特に GZY-1 といった品種や GDHY といった温暖な地域で栽培されたユチャはポリフェノールが豊富に含まれ、高い抗酸化力を示した。

## 第五章 ユチャ油の自動酸化安定性及び熱安定性

### 5.1 序言

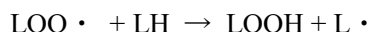
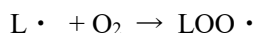
食用油脂は、自然の食品原料または食品加工の添加物として使われ、食品の栄養と風味に重要な役割を果たす。食用油の酸化は食品の品質低下の重要な原因であるため、酸化安定性は食用油の重要な指標となる。さまざまな条件下で、食用油は自動酸化、光増感酸化、熱酸化、酵素酸化を受ける<sup>112)</sup>。この章では、ユチャ油の自動酸化安定性と熱安定性について詳しく検討した。

油脂の自動酸化は、大気中の酸素と脂質との自発的な反応であり、油脂の酸化または劣化を引き起こす最も多いプロセスである<sup>113)</sup>。食用油の自動酸化は、油脂を構成する脂肪酸からのフリーラジカル連鎖反応であり、反応プロセスは、下の式に示すように開始、成長、分解、停止の4段階に分けられる<sup>114)</sup>。

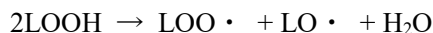
「開始反応」



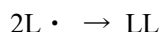
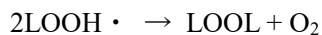
「成長反応」



「分解反応」



「停止反応」



LH: 脂質

連鎖開始反応の段階では、熱、金属、光、過酸化物などのラジカルによって、脂肪酸の水素原子を引き抜いて、脂質ラジカル (L·) を形成する。一方、開始反応の起こりやすさは分子内の水素原子の位置に依存する。例えば、リノール酸の場合、2つ二重結合に挟まれた C<sub>11</sub> の位置から1つの水素原子を除去するのに必要なエネルギーは 50 kcal/mol であるが、同じ脂肪酸の C<sub>8</sub> または C<sub>14</sub> の位置から1つの水素原子を除去するエネルギーは 75 kcal/mol である<sup>115)</sup>。従って、二重結合を複数有する多価不飽和脂肪酸は酸化反応を受けやすい。成長反応では、脂質ラジカルは空気中の酸素と反応して脂質ペルオキシラジカル (LOO·) を形成し、それが他の脂肪酸分子から水素ラジカルを引き出して脂質ヒドロペルオキシドと別の脂質ラジカルを生成する。そして、この段階で連鎖反応が起こり、脂質ラジカルが連続的に生成される。また、脂質ヒドロペルオキシドは不安定であるため、分解反応が起こり、低分子化合物や重合体などの多く種類の化合物を生成する。最後に、脂質フリーラジカルの二分子反応、または酸化防止剤と反応すると、酸化反応は停止する<sup>114)</sup>。

油脂の高温処理では、色々な物理的および化学的反応が発生し、これらの反応には、油と食材の成分の分解だけでなく、これらの物質間の相互反応も発生する。高温処理におい

る油脂の主な反応は、熱酸化、加水分解、重合の3つの反応に分類される<sup>116)</sup>。

熱酸化は、基本的には自動酸化と同じである。フライ調理では油脂は150~200°Cの高温条件で、飽和脂肪酸も酸化される。さらに、熱酸化の速度は自動酸化よりかなり速い<sup>117)</sup>。また、一次酸化生成物の脂質ヒドロペルオキシドは不安定であるため、脂質ヒドロペルオキシドはフライ温度において急速に分解して二次酸化生成物を形成する。そのため、フライ油にはヒドロペルオキシドはほとんど蓄積されない。一方、食用油の主成分であるトリアシルグリセロールは、フライ調理中に食材の水または水蒸気によって加水分解され、遊離脂肪酸、ジアシルグリセロール、モノアシルグリセロール、およびグリセロールを生成する。加水分解で生じる遊離脂肪酸はフライ食品の風味に影響を与えるだけでなく、フライ油の発煙点を低下させる<sup>114)</sup>。フライ油中には、熱酸化重合と熱重合を含む2種類の重合反応がある。熱酸化重合では、水酸基やカルボニル基を含むC-Cのような重合物を生成するが、熱重合は環状化合物や二量体などの重合物を生成し、どちらも強い毒性を示す<sup>114)</sup>。

生活水準の向上に伴い、加熱調理油およびフライ油の栄養価にますます注目が集まっている。優れた加熱調理油は以下の条件を満たす必要がある: 1、飽和脂肪酸の割合が低い; 2、リノレン酸の割合が低い; 3、高い酸化安定性と風味安定性; 4、トランス脂肪酸なし(非水素添加植物油)<sup>118)</sup>。本論文の第二章及び第三章にユチャ油の脂質特性を分析したことから、ユチャ油は良い調理用油と考えられる。

油脂の酸化安定性と熱安定性は食用油の重要な指標であり、これらの指標に影響を与える要因は、外部要因と内部要因に分けることができる。外部要因は脂質の特性に関係なく、油の保存環境と処理過程によって決まる。主に水分、温度、酸素濃度、酸素促進剤、酸化防止剤、相乗剤、光、時間、加工食品の種類などが含まれ、その中でも酸素濃度や温度、時間は最も重要な要素である<sup>119)</sup>。

油脂の酸化安定性に関する外部要因とは異なり、内部要因は脂質自体の組成に由来する。食用油は主成分であるトリアシルグリセロールと微量成分で構成されており、食用油自体の脂質特性は酸化安定性に大きな影響を及ぼす<sup>120)</sup>。食用油の酸化安定性は、主にリノール酸やリノレン酸などの油中の多価不飽和脂肪酸の量によって決まる。食用油中の二重結合の数が増えると、油の酸化速度は非線形の高速度増加を示した。酸素吸収に基づいて、油脂中に含まれるステアリン酸、オレイン酸、リノール酸およびリノレン酸の相対的な酸化速度の比率は1:10:100:150であった<sup>121)</sup>。主成分であるトリアシルグリセロールの他、食用油中には遊離脂肪酸、モノアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、金属、糖脂質、リン脂質、過酸化物質などの微量成分が含まれているが、これらの物質は基本的に油脂の精製過程で除去された。精製された油に残っている微量成分は、ほとんどは不ケン化物であり、表5.1に植物油中の主な不ケン化物の分類を示す<sup>122)</sup>。

Table 5.1 Classification and representative of unsaponifiable compounds in vegetable oil

Compound category	Representative compound	Main distribution
Chlorophyll	Chlorophyll a, Chlorophyll b	Most vegetable oils
Tocopherol	$\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -, $\delta$ - Tocopherol/ Tocotrienol	Most vegetable oils
Carotenoid	$\beta$ -Carotene, Lutein	Most vegetable oils
Polyphenol	Sesamin, Flavonoid	Sesame oil, virgin olive oil
Hydrocarbon	Squalene	Olive oil
Sterol	$\beta$ -Sitosterol, campesterol, stigmasterol	Most vegetable oils

異なる植物油には、それぞれ異なる微量成分が含まれる。たとえば、大豆油には  $\gamma$ -および  $\delta$ -トコフェロールが豊富で、ひまわり油には多量の  $\alpha$ -トコフェロールが含まれる。パーム油には  $\beta$ -カロチンが豊富で、米ぬか油にはフェルラ酸とステロールを縮合した  $\gamma$ -オリザノール、また、ごま油にはリグナンであるセサミン、セサモールが含まれる。食用油の微量成分、特にトコフェロール、ポリフェノールは、食用油の保存や調理中の安定性に重要な役割を果たす<sup>122-125</sup>。

さらに、食用油に含まれた様々な微量成分間には相乗効果がある。Yi らの研究では、パーム油中にカロテノイドが自身に抗酸化効果を持つが、トコフェロールと抗酸化相乗効果があることを示した<sup>126</sup>。ポリフェノール化合物はトコフェロールの分解を防ぐことから、優れた相乗的な抗酸化効果があった<sup>127</sup>。

しかし、油脂の熱酸化安定性に影響を与えるステロールについては、さまざまな報告があるが、Smouse らは、油脂の酸化に対してステロールはほとんど影響を及ぼさないと報告した<sup>128</sup>。Gordon らは、 $\Delta^5$ -アベナステロールやフコステロールなどの Ethylidene (エチリデン) 側鎖を持つステロールは、食用油の加熱に対して抗酸化作用を示したが、他のエチリデン側鎖を持たないエルゴステロール、 $\beta$ -シトステロール、スチグマステロールおよびコレステロールなどのステロールに抗酸化作用はなかった<sup>129</sup>。Winkler らは、3.8% Brassicasterol (ブラシカステロール)、26.9%カンペステロール、0.6%Campestanol (カンペスタノール)、17.2%スチグマステロール、48.2% $\beta$ -シトステロール、1.1%Sitostanol (シトスタノール)、1.3% $\Delta^5$ -Avenasterol ( $\Delta^5$ -アベナステロール)、および 0.8% $\Delta^5$ -Stigmastenol ( $\Delta^5$ -スチグマステノール) を含む混合ステロールは、大豆油に対して 1.0%-2.5%の濃度、8 時間加熱で重合抑制作用を示したが、2.5%以上では重合促進された<sup>130</sup>。しかし、Wang らは、前の実験と類似したステロール混合物を用い、同様の実験を繰り返したが、大豆油の酸化安定性度の改善は見られなかった<sup>131</sup>。Singh らは、トリオレイン、キャノーラ油、高オレインヒマワリ油およびアマニ油に、1%、2%および 5%のシトステロールをそれぞれ添加し、180°Cで 72 h まで連続的に加熱して、重合物の生成を抑制したが、トリアシルグリセロールの加水分解は促進された<sup>132</sup>。また、燕麦、コメ、トウモロコシ繊維由来のトリテルペン、炭化水素及びステロールはフライ油で抗酸化の役割を果たすことができたと報告された<sup>133, 134</sup>。

ステロールが食用油の熱安定性を高めることができることに対して、2つの仮説があった。1つ目は、脂質フリーラジカルは、アベナステロールなどのステロールのアリル基と結合し、脂質酸化の連鎖反応を中断する(図 5.1)<sup>129</sup>。2つ目は、シトステロールなどのステロールは加熱により、水が除去されステラジエン化する。これにより、C<sub>2</sub>および C<sub>7</sub>のアリル H が不安定になり、脂質フリーラジカルと結合して脂質の酸化を停止する。(図 5.2)<sup>132</sup>。

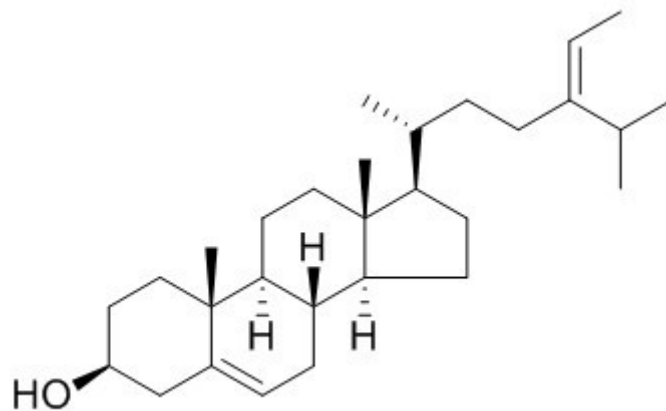


Fig. 5.1 Structural formula of  $\Delta^5$ -avenasterol

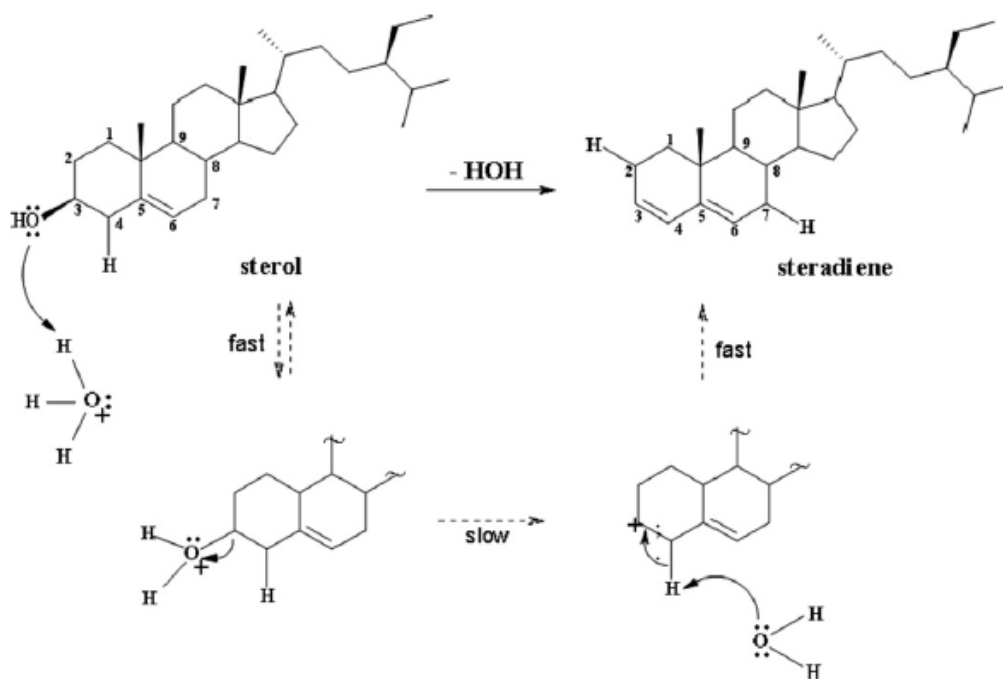


Fig. 5.2 Elimination of water from  $\beta$ -sitosterol to generate stigmastadienes<sup>132)</sup>

そこで、本研究ではユチャ油を酸化、または加熱した際の過酸化物価、カルボニル価、酸価、極性化合物量、着色度、トコフェロール含有量、脂肪酸組成を測定することで酸化および加熱安定性を調べることを目的とする。第3節では、ユチャ油に含まれた不ケン化合物、特に炭化水素であるスクアレン、 $\beta$ -アミリン及びエチリデン側鎖を持つラノステロールは加熱の影響に検討した。

## 第一節 ユチャ油の自動酸化安定性

### 5.2.1 材料および方法

#### 5.2.1.1 実験材料

実験には大豆油、菜種油、オリーブ油、ユチャ油の 4 種類の油を用いた。大豆油および菜種油は日清オイリオ㈱から購入した。オリーブ油は金田油店から購入した。ユチャ油は中国春源緑色食品有限公司によって提供された。全ての試料油は精製油であった。

#### 5.2.1.2 酸化安定性試験

大豆油、菜種油、オリーブ油、ユチャ油をそれぞれ 7 つの褐色ビンを用いて、各ビンに各油 20 g を入れ、60°C で 14 日間自動酸化させた。2 日おきにサンプリングし、過酸化物価とカルボニル価を測定した。

#### 5.2.1.3 脂肪酸組成

未酸化の各試料油のメチルエステル化および脂肪酸組成の分析は 2.2.6 と同様に行った。

#### 5.2.1.4 過酸化物価

各油脂サンプルの過酸化物価の分析は 2.2.4 と同様に行った。

#### 5.2.1.5 カルボニル価(ブタノール法)<sup>135)</sup>

各油サンプル 150 mg を 10 mL の全量フラスコに 1-ブタノールで合わせ、次に試験管に試料溶液または各 2-Decenal (2-デセナール) 標準溶液を 1 mL 量りとり、2, 4-Dihydrophenylhydrazine (2, 4-ジヒドロフェニルヒドラジン) 溶液を 1 mL 加え、よく振り混ぜた。恒温水槽 45°C で振とうさせながら 20 分加熱した後、室温まで冷却した。次に 8% 水酸化カリウム溶液 8 mL を加えよく振り混ぜた。その後 3000 rpm で 10 分間遠心分離し、上層をセルに取り、1-ブタノールを対照として波長 420 nm における吸光度を測定した。それを元に検量線を作成し、試料の吸光度を当てはめ、カルボニル価を求めた。また、カルボニル価の計算方法を下記に示す。

カルボニル価 = 吸光度から換算した 2-デセナール量 (μM) / 試料溶液 1 mL 中の油脂量 (mg)  
2, 4-ジヒドロフェニルヒドラジン溶液 : 1-ブタノール 100 mL に塩酸 3.5 mL を加え、2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン 50 mg を溶かした。

8% 水酸化カリウム溶液 : 1-ブタノール 100 mL に水酸化カリウム 8 g を溶かした。

2-デセナール標準溶液 : trans-2-デセナール 308 g を 100 mL 全量フラスコに量りとり、1-ブタノールを標線まで加え溶かした。これを 1-ブタノールで 50 倍、100 倍、200 倍に希釈した。

#### 5.2.1.6 統計計算の方法

全ての実験は 3 回に行った。得られた値は平均値 ± 標準偏差 (SD) で示し、EXCEL 2010 (Microsoft) で統計分析を行った。

## 5.2.2 結果および考察

### 5.2.2.1 脂肪酸組成

表 5.2 に各種油脂の脂肪酸組成を示した。

4 種類の油は主にパルミチン酸(16:0)、ステアリン酸(18:0)、オレイン酸(18:1)、リノール酸(18:2)、リノレン酸(18:3)から構成された。ユチャ油、オリーブ油、菜種油中の最も多い脂肪酸はそれぞれオレイン酸であり、含有量はそれぞれ 81.8%、79.1%、66.0%であった。ユチャ油の脂肪酸組成がオリーブ油と類似していたが、ユチャ油に含まれるパルミチン酸はオリーブ油より若干低く、リノール酸は若干高かった。一方、大豆油の主な成分はリノール酸(18:2)で 57.4%含まれており、オレイン酸は 21.1%含まれた。また、菜種油はユチャ油やオリーブ油と違って、リノール酸(18:2)とリノレン酸(18:3)が比較的多く含まれていた。

油脂の構成成分である脂肪酸中で特に酸化されやすい脂肪酸は、活性メチレン基を多く持つ多価不飽和脂肪酸である。そのため、酸化されやすい油脂は、リノール酸(18:2)やリノレン酸(18:3)を多く含んでいる大豆油や菜種油だと考えられる。それに対し、ユチャ油およびオリーブ油は多価不飽和脂肪酸が 6.6~8.1%と少ないため酸化安定性が高いと予想された。

Table 5.2 Fatty acid composition of each oil (%)

	Olive oil	Soybean oil	Rapeseed oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
Fatty acid:				
14:0	ND	0.1±0.0	ND	ND
16:0	9.9±0.1	9.9±0.2	3.6±0.1	7.6±0.1
16:1	0.7±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.0
18:0	2.9±0.0	3.7±0.0	1.5±0.0	1.7±0.0
18:1	79.1±0.2	21.1±0.1	66.0±0.3	81.8±0.1
18:2	6.0±0.1	57.4±0.3	18.4±0.2	7.8±0.2
18:3	0.6±0.0	6.4±0.1	8.0±0.3	0.2±0.1
20:0	0.0±0.0	0.3±0.0	0.5±0.0	ND
20:1	0.3±0.0	0.2±0.0	1.0±0.0	0.5±0.0
22:0	ND	0.3±0.0	0.3±0.0	ND
22:1	0.2±0.1	ND	0.1±0.1	ND
24:0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
Other	0.2±0.1	0.4±0.2	0.4±0.1	0.2±0.2
ΣSFA	12.9±0.1	14.4±0.2	6.0±0.1	9.4±0.1
ΣUFA	86.9±0.1	85.2±0.2	93.6±0.2	90.4±0.2
ΣMUFA	80.3±0.2	21.4±0.1	67.3±0.2	82.4±0.1
ΣPUFA	6.6±0.1	63.8±0.3	26.3±0.3	8.1±0.2

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid; ND, not detected.

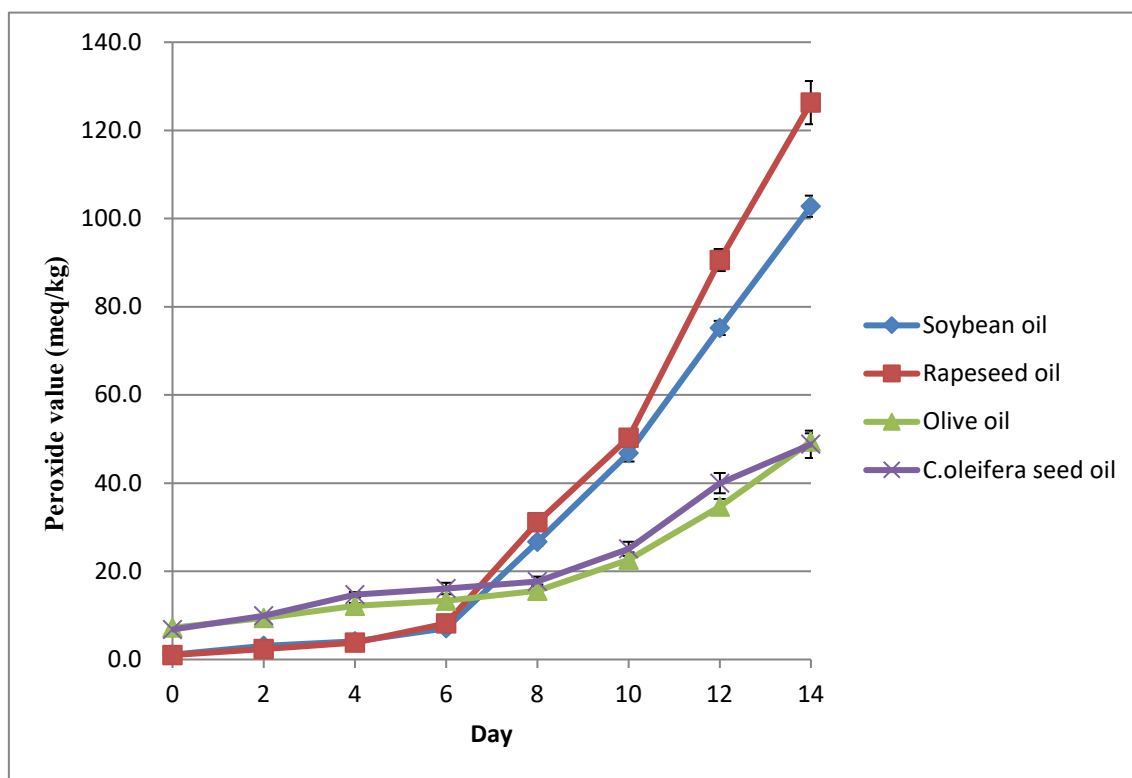
Mean ± SD; n = 3.

### 5.2.2.2 過酸化物価

各油脂を 60°C で自動酸化させたときの過酸化物価の値を図 5.3 に示した。油の酸化による最初の主な生成物は Hydroperoxide (ヒドロペルオキシド) で、その含有量を示したのが過酸化物価である。過酸化物価は、油及び油製品の生産、貯蔵、販売中の酸化状態を監視するための効果的な指標である<sup>136)</sup>。

図 5.3 の結果から、過酸化物価はどの油脂も日数が経つにつれ上昇傾向になり、特に 6 日目から各油脂の過酸化物価は急速に上昇した。ユチャ油とオリーブ油を比較して、過酸化物価の変化はほぼ同じであり、ユチャ油が 6.8 meq/kg から 48.8 meq/kg、オリーブ油が 7.2 meq/kg から 49.4 meq/kg と比較的緩やかに上昇した。それに対し、大豆油は 1.1 meq/kg から 102.8 meq/kg、菜種油が 1.0 meq/kg から 126.3 meq/kg と比較的急激に上昇した。

ユチャ油とオリーブ油の初期の過酸化物価は比較的高いが、14 日間の酸化後、過酸化物価は 50 meq/kg を超えておらず、菜種油と大豆油はそれぞれ 10 日と 12 日で 50 を超えていた。これにより、ユチャ油はオリーブ油と同程度、過酸化物を生成しにくいと思われた。



Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.3 Change in peroxide value of each oil



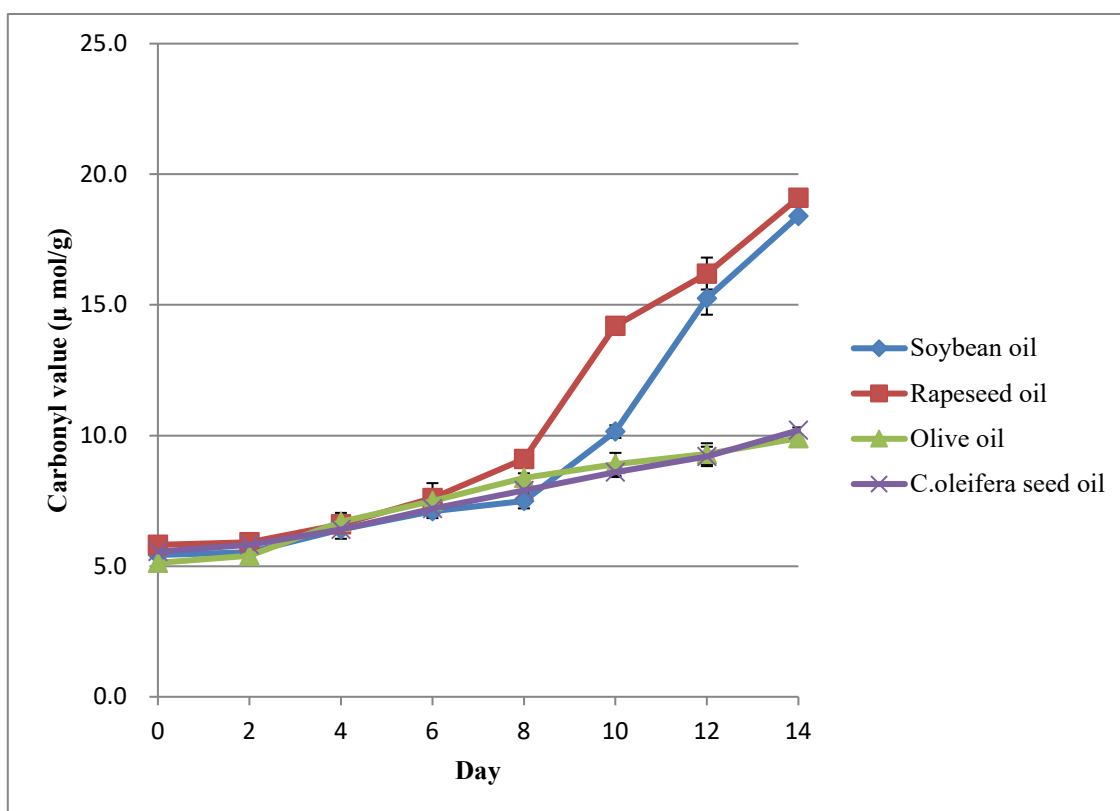
### 5.2.2.3 カルボニル価

油脂を 60°C で自動酸化させたときのカルボニル価の値を図 5.4 に示した。油は空気、温度、微生物、熱、光によって酸化されて過酸化物を形成し、過酸化物はさらに分解されてカルボニル化合物になり、その蓄積量はカルボニル価である。

カルボニル価は過酸化脂質によって生成された二次酸化生成物を示すため、カルボニル価の変化も 5.2.2.2 の過酸化物価の変化と同様に、ユチャ油とオリーブ油の上昇傾向はほぼ一致していた。ユチャ油のカルボニル価が 5.6  $\mu\text{mol/g}$  から 10.2  $\mu\text{mol/g}$ 、オリーブ油が 5.1  $\mu\text{mol/g}$  から 9.9  $\mu\text{mol/g}$  と比較的緩やかに上昇した。それに対し、大豆油は 5.4  $\mu\text{mol/g}$  から 18.4  $\mu\text{mol/g}$ 、菜種油が 5.8  $\mu\text{mol/g}$  から 19.1  $\mu\text{mol/g}$  と急激に上昇した。

大豆油には、菜種油よりもはるかに多くの多価不飽和脂肪酸が含まれているが、この実験では、菜種油は大豆油より酸化されやすい結果を示した。この原因として大豆油中により多く含まれているトコフェロールの役割と考えられた。

カルボニル価の結果から、ユチャ油は大豆油や菜種油より酸化安定性が高く、オリーブ油と同程度の結果を示した。



Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.4 Change in carbonyl value of each oil

## 第二節 ユチャ油の熱安定性

### 5.3.1 実験方法

#### 5.3.1.1 実験材料

実験に使用した油は 5.2.1.1 と同様である。

#### 5.3.1.2 加熱安定性試験

大豆油、菜種油、オリーブ油、ユチャ油をそれぞれ 5 つの試験管を用いて、各試験管に各油 7 g 入れ、180°C で 1 日 8 時間、計 5 日間加熱した。その後、酸価、カルボニル価、着色度、極性化合物量、トコフェロール含有量、脂肪酸組成を測定した。

#### 5.3.1.3 酸価(マイクロ法)<sup>137)</sup>

サンプルを約 1 g 三角フラスコに量りとり、溶剤(メタノール：ジエチルエーテル=1：1)を 10 mL 入れた。次に 1% Cresol red (クレゾールレッド) を数滴入れ、メタノール性 0.025 M 水酸化カリウムで滴定した。

また、ブランクとして溶媒のみを 10 mL で滴定した。

以下に計算方法を示す。

$$\text{酸価} = \frac{56.11 \times (A - B) \times 0.025 \times f}{\text{試料脂質の採取量(g)}}$$

ただし、

A：本試験での滴定量(mL)

B：空試験での滴定量(mL)

f：メタノール性 0.025 M 水酸化カリウムの力価 (0.99)

メタノール性 0.025 M 水酸化カリウム：水酸化カリウム 2.8 g をメタノール 35 mL に溶解し、遠心分離機にかけた。その上澄みをメタノールで 50 mL に希釈した。この溶液 5 mL に純水 20 mL を加え、メタノールで 200 mL に希釈した。

力価測定：0.1 M 塩酸標準溶液で滴定して定めた。

1%クレゾールレッド：o-クレゾールレッド 0.5 g をメタノール 45 mL+純水 5 mL に溶かした。

#### 5.3.1.4 カルボニル価

各油脂サンプルのカルボニル価の分析は 5.2.1.5 と同様に行った。

#### 5.3.1.5 極性化合物量

各油脂サンプルの極性化合物量は TLC-FID で分析して行った。各試料をそれぞれクロロホルムで 10 mg/mL に合わせた。それをクロマロッドに 1 μL スポットし、展開溶剤(ヘキサン：ジエチルエーテル：酢酸=80:30:1)で展開した。展開後、イアトロスキャンを用いて分析を行った。また、TLC-FID で得られた結果を確認するために、薄層クロマトグラフィーを行った。測定方法は 3.2.5 および 3.2.6 と同様に行った。

#### 5.3.1.6 着色度

10 mL 全量フラスコに各油 1 g を量りとり、*n*-ヘキサンで標線に合わせた。その後、分光光度計を用いてヘキサンを対照に波長 420 nm で各試料溶液を 2 回ずつ測定した。

#### 5.3.1.7 トコフェロール含有量

各油脂サンプルのトコフェロール含有量の分析は 2.2.8 と同様に行った。

#### 5.3.1.8 脂肪酸組成

加熱前および 40 時間を加熱した後の各油脂サンプルは、2.2.6 と同様に行って脂肪酸組成を分析した。

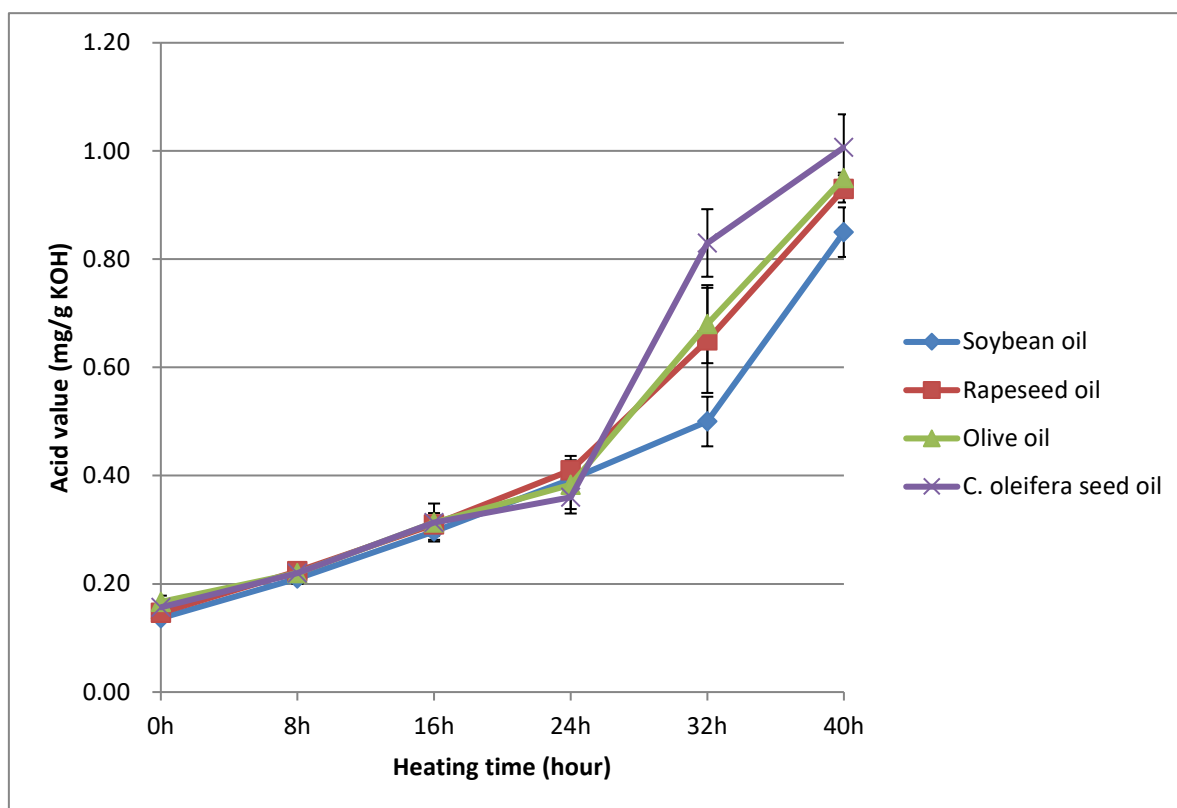
#### 5.3.1.9 統計計算

全ての実験は 3 回行った。得られた値は平均値±標準偏差 (SD) で示し、EXCEL 2010 (Microsoft)で統計分析を行った。

### 5.3.2 結果および考察

#### 5.3.2.1 酸価

図 5.5 に各油脂を 180°C で加熱した時の酸価を示した。酸価は、油の加熱中の加水分解によって生成された遊離脂肪酸の量を示し、遊離脂肪酸は油脂食品の酸敗臭や風味に影響を及ぼす。180°C で各油脂の遊離脂肪酸の生成は、加熱時間と相関し、特に 24 時間加熱した後、酸価は急速に上昇した。ユチャ油の酸価は最初の 0.16 mg/g から 40 時間後の 1.01 mg/g に上昇し、4 種類の油脂中で最も速く上昇した。それに対し、大豆油の酸価は 0.14 mg/g から 0.85 mg/g と比較的緩やかに上昇した。一方、オリーブ油と菜種油の酸価上昇速度はほぼ一緒であった。油脂中に一価不飽和脂肪酸の含有量が高いほど、加水分解速度も速いことが示唆された。これも以前の研究と一致していた<sup>138)</sup>。



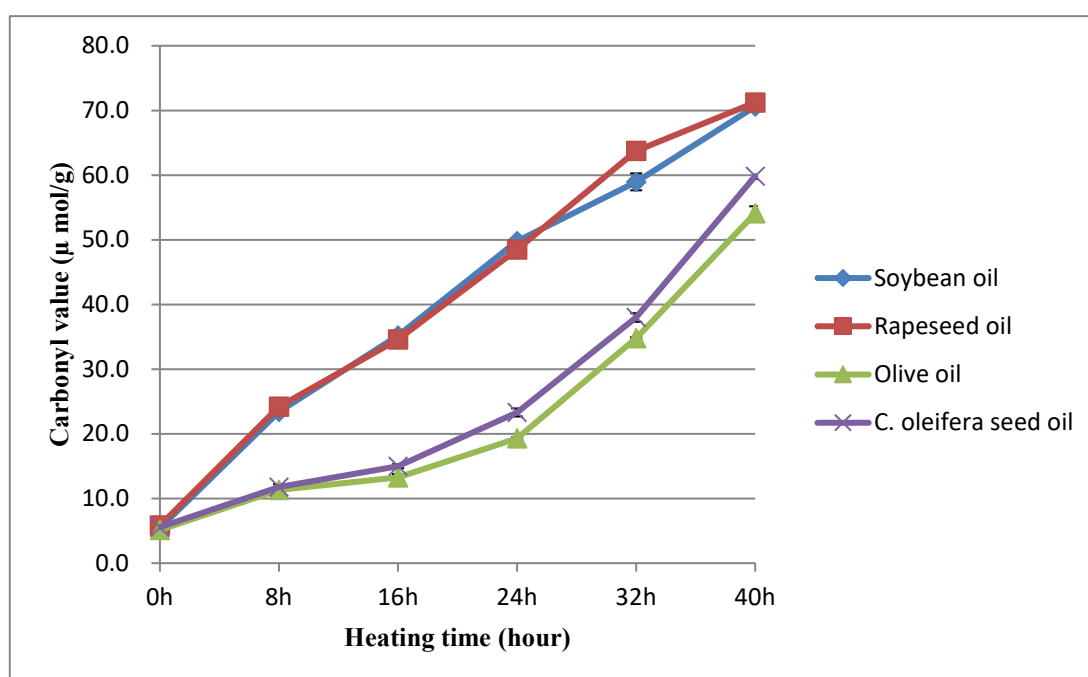
Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.5 Change in acid value of each oil during frying

### 5.3.2.2 カルボニル価

カルボニル化合物にはアルデヒドとケトンが含まれ、ヒドロペルオキシドの分解によって生成される二次酸化生成物であり、油脂食品の臭いの主要な成分である。

図 5.6 に各油脂を 180°C で加熱した時のカルボニル価を示した。菜種油と大豆油を 24 時間加熱した後、そのカルボニル価はフライ油の基準値上限に近い、それぞれ 48.5  $\mu\text{mol/g}$  と 49.8  $\mu\text{mol/g}$  になった。ユチャ油とオリーブ油は、40 時間加熱した後、この値を超え、それぞれ 59.9  $\mu\text{mol/g}$  と 54.1  $\mu\text{mol/g}$  になった。オレイン酸を多く含有しているユチャ油とオリーブ油は、より優れた熱酸化安定性を示した。ユチャ油はオリーブ油より不飽和脂肪酸の含有量が少し高いため、熱安定性はオリーブ油より低く、大豆油や菜種油より熱安定性が優れていた。



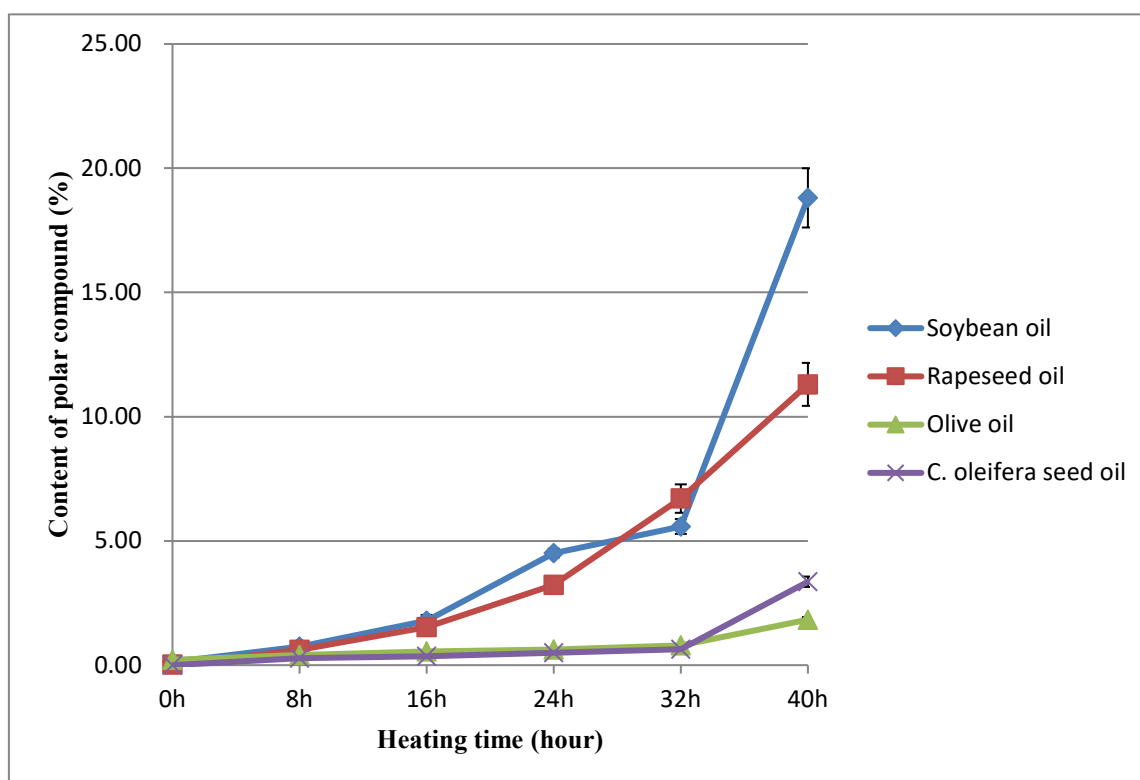
Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.6 Change in carbonyl value of each oil during frying

### 5.3.2.3 極性化合物量

図 5.7 に各油脂を 180°C で加熱した時の極性化合物量を示した。極性化合物量はフライ油の劣化度評価の 1 つの指標として有効な方法である。ユチャ油とオリーブ油は、大豆油や菜種油に比較して極性化合物の増加が少なく、優れた耐熱性を示した。これらの 4 種類の油脂の中で、大豆油は最も多くの多価不飽和脂肪酸を含んでいるため、極性化合物量が 0 時間の 0.1% から 40 時間の 18.8% となり、極性化合物を最も生成しやすいことが分かった。次いで菜種油が極性化合物を生成しやすかった。一方、ユチャ油とオリーブ油は加熱 32 時間まではほとんど極性化合物が生じなかったが、40 時間後ではユチャ油はオリーブ油よりも極性化合物が多く生成された。

この結果から、ユチャ油とオリーブ油は加熱により極性化合物は生成しにくいことが示唆された。



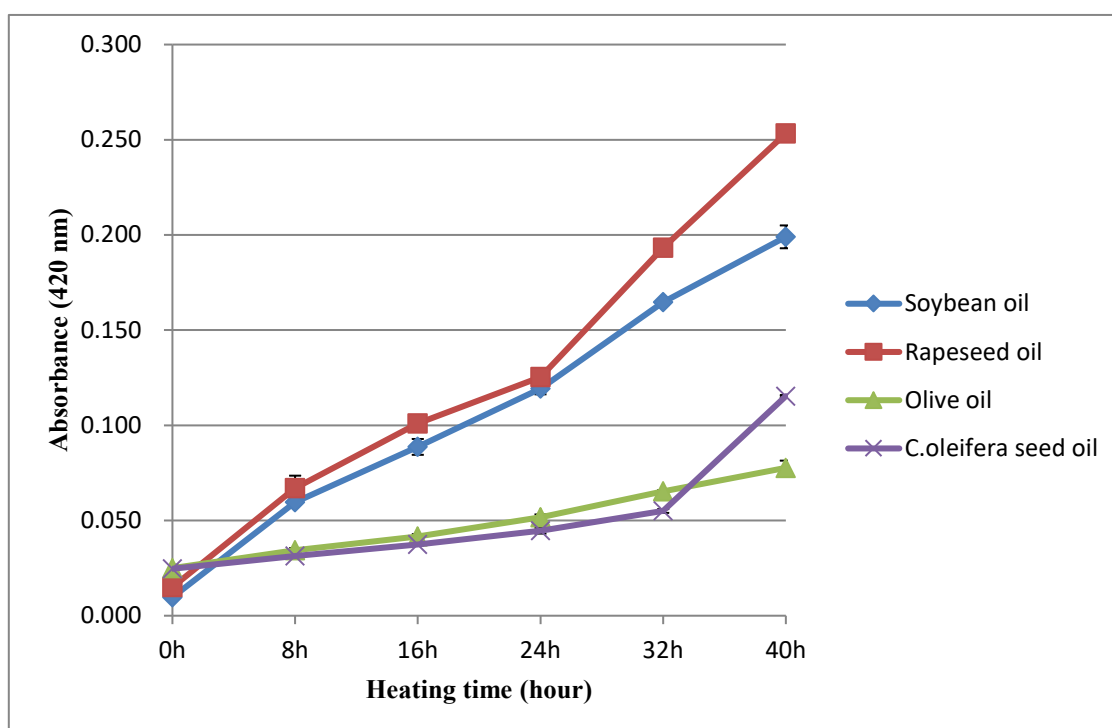
Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.7 Change in polar compounds content of each oil during frying

### 5.3.2.4 着色度

図 5.8 に各油脂の着色度を示した。フライ油の着色度は、油の酸敗の程度を視覚的に評価できる。この結果から、着色度はどの油脂も日数が経つにつれ上昇傾向にある。着色度は、オリーブ油の値が 0.025 から 0.078 と比較的緩やかに上昇した。ユチャ油も 32 時間までは、オリーブ油と同じように着色度の上昇が 0.025 から 0.055 と緩やかであったが、32 時間から 40 時間にかけて 0.055 から 0.115 と急激に上昇した。それに対して、大豆油の着色度は 0.010 から 0.199、菜種油は 0.015 から 0.253 と急激に上昇した。

着色度の変化は、極性化合物量と似た挙動を示した。着色度は、加熱酸化で生じる重合物に一部由来するとされる。極性化合物の大部分は重合物と考えられているので、極性化合物と似た挙動を示したと思われた。



Mean  $\pm$  SD, n = 3.

Fig. 5.8 Change in coloring degree of each oil during frying

#### 5.3.2.5 トコフェロール含有量

天然の酸化防止剤として、トコフェロールは油脂のフライ過程で非常に優れた抗酸化力を示す<sup>139)</sup>。表 5.3 に各種油脂の加熱時間におけるトコフェロール含有量を示した。

加熱前ユチャ油には $\alpha$ -トコフェロールのみ含まれており、その含有量は 13.9 mg/100g で、4 種類の油脂の中、最低値であった。総トコフェロール量は、オリーブ油が 18.4 mg/100g と、ユチャ油よりも少し多く含まれており、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ -トコフェロール、全ての種類のトコフェロールが含まれていた。大豆油と菜種油にはトコフェロールが多く含まれており、そのうち大豆油が最も多く、86.7 mg/100g を示した。

加熱時間が長くなると、各油脂中に含まれるトコフェロールの量は減少した。32 時間でユチャ油とオリーブ油のトコフェロールはすべて消失したが、大豆油と菜種油は 40 時間で少量残っていた。

また、 $\gamma$ 、 $\delta$ -トコフェロールの熱安定性は $\alpha$ 、 $\beta$ -トコフェロールより強いことが示された。大豆油を 8 時間加熱すると、 $\delta$ -トコフェロールはわずかに 4% 減少したが、 $\alpha$ -トコフェロールは 29% 減少した。加熱に対して、 $\gamma$ 、 $\delta$ -トコフェロールは油の酸化を防ぐことに対して効果的と考えられた。

一方、ユチャ油とオリーブ油のトコフェロール含有量は少ないが熱安定性は強いことが示された。ユチャ油の熱安定性には脂肪酸組成に加えて、トコフェロール以外の微量成分が関与している可能性が示唆された。



Table 5.3 Change in tocopherol content of each oil during frying (mg/100g)

<b>Tocopherol</b>	<b>Olive oil</b>	<b>Soybean oil</b>	<b>Rapeseed oil</b>	<b><i>C. oleifera</i> seed oil</b>
0h				
$\alpha$ -Tocopherol	14.4±0.2	6.9±0.2	11.5±0.1	13.9±0.1
$\beta$ -Tocopherol	1.4±0.0	2.8±0.1	7.0±0.2	ND
$\gamma$ -Tocopherol	2.0±0.1	48.5±1.4	34.6±0.3	ND
$\delta$ -Tocopherol	0.6±0.0	28.5±1.5	1.6±0.1	ND
Total tocopherol	18.4±0.2	86.7±3.1	54.7±0.5	13.9±0.1
8h				
$\alpha$ -Tocopherol	12.3±0.1	4.9±0.1	7.2±0.1	8.7±0.1
$\beta$ -Tocopherol	1.0±0.0	2.0±0.0	4.3±0.1	ND
$\gamma$ -Tocopherol	1.7±0.0	43.1±0.8	26.2±0.1	ND
$\delta$ -Tocopherol	ND	27.3±0.1	1.5±0.0	ND
Total tocopherol	15.0±0.1	77.3±0.9	39.2±0.3	8.7±0.1
16h				
$\alpha$ -Tocopherol	10.3±0.1	3.0±0.1	5.1±0.1	5.1±0.1
$\beta$ -Tocopherol	0.8±0.0	1.4±0.1	3.0±0.1	ND
$\gamma$ -Tocopherol	1.4±0.0	29.8±0.1	18.8±0.2	ND
$\delta$ -Tocopherol	ND	23.7±0.1	1.5±0.0	ND
Total tocopherol	12.4±0.1	57.9±0.4	28.3±0.3	5.1±0.1
24h				
$\alpha$ -Tocopherol	5.1±0.3	1.8±0.0	2.0±0.0	0.8±0.0
$\beta$ -Tocopherol	ND	1.1±0.0	1.4±0.0	ND
$\gamma$ -Tocopherol	0.9±0.0	16.4±0.5	8.6±0.1	ND
$\delta$ -Tocopherol	ND	20.5±0.4	1.3±0.0	ND
Total tocopherol	5.9±0.3	39.7±0.8	13.3±0.1	0.8±0.0
32h				
$\alpha$ -Tocopherol	ND	0.8±0.0	0.9±0.0	ND
$\beta$ -Tocopherol	ND	0.9±0.0	1.1±0.1	ND
$\gamma$ -Tocopherol	ND	8.1±0.1	3.8±0.1	ND
$\delta$ -Tocopherol	ND	16.2±0.1	1.1±0.0	ND
Total tocopherol	ND	26.0±0.2	6.8±0.2	ND
40h				
$\alpha$ -Tocopherol	ND	ND	ND	ND
$\beta$ -Tocopherol	ND	ND	ND	ND
$\gamma$ -Tocopherol	ND	5.6±0.1	1.5±0.1	ND
$\delta$ -Tocopherol	ND	13.4±0.4	0.8±0.1	ND
Total tocopherol	ND	19.0±0.6	2.3±0.0	ND

Mean ± SD, n = 3.

ND, not detected.

### 5.3.2.6 脂肪酸組成

表 5.4 に各種油脂加熱前後(0 時間と 40 時間)の脂肪酸組成を示した。

表 5.4 の各試料の 0 時間と 40 時間を比較すると、全ての試料において多価不飽和脂肪酸の割合が減少したため、飽和脂肪酸と一価不飽和脂肪酸の割合が増加した。

0 時間のユチャ油はパルミチン酸(16:0)が 7.6%、ステアリン酸(18:0)が 1.7%、オレイン酸(18:1)が 81.8%だったが、40 時間になると、二重結合数の多いリノール酸(18:2)で、7.8%から 5.1%に割合が減少していた。

一方、多価不飽和脂肪酸の割合は加熱前と比べて、オリーブ油は 1.3%、大豆油は 7.8%、菜種油は 7.5%、ユチャ油は 2.9%減少した。このことからユチャ油とオリーブ油は熱重合しにくいと示唆された。

Table 5.4 Changes in fatty acid composition before and after heating

	Olive oil		Soybean oil		Rapeseed oil		<i>C. oleifera</i> seed oil	
	Before heating	After heating	Before heating	After heating	Before heating	After heating	Before heating	After heating
Fatty acid								
14:0	ND	ND	0.1±0.0	0.1±0.1	ND	ND	ND	ND
16:0	9.9±0.1	10.1±0.1	9.9±0.2	12.5±0.1	3.6±0.1	4.3±0.1	7.6±0.1	8.6±0.2
16:1	0.7±0.0	0.7±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0
18:0	2.9±0.0	2.9±0.0	3.7±0.0	4.6±0.1	1.5±0.0	1.8±0.1	1.7±0.0	1.9±0.1
18:1	79.1±0.2	79.8±0.1	21.1±0.1	25.0±0.2	66.0±0.3	72.0±0.4	81.8±0.1	83.0±0.2
18:2	6.0±0.1	4.9±0.1	57.4±0.3	51.5±0.2	18.4±0.2	14.4±0.1	7.8±0.2	5.1±0.0
18:3	0.6±0.0	0.4±0.0	6.4±0.1	4.5±0.0	8.0±0.3	4.4±0.2	0.2±0.1	0.1±0.0
20:0	0.0±0.0	ND	0.3±0.0	0.3±0.1	0.5±0.0	0.6±0.1	ND	ND
20:1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.3±0.1	1.0±0.0	1.3±0.1	0.5±0.0	0.7±0.1
22:0	ND	ND	0.3±0.0	0.3±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	ND	ND
22:1	0.2±0.1	0.2±0.1	ND	ND	0.1±0.1	0.2±0.1	ND	ND
24:0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0
Other	0.2±0.1	0.5±0.1	0.4±0.2	0.5±0.1	0.4±0.1	0.6±0.1	0.2±0.2	0.5±0.1
ΣSFA	12.9±0.1	13.1±0.1	14.4±0.2	18.1±0.1	6.0±0.1	7.0±0.2	9.4±0.1	10.6±0.2
ΣUFA	86.9±0.1	86.3±0.2	85.2±0.2	81.4±0.1	93.6±0.2	92.4±0.2	90.4±0.2	88.9±0.1
ΣMUFA	80.3±0.2	81.0±0.1	21.4±0.1	25.4±0.2	67.3±0.2	73.6±0.3	82.4±0.1	83.7±0.1
ΣPUFA	6.6±0.1	5.3±0.1	63.8±0.3	56.0±0.2	26.3±0.3	18.8±0.1	8.1±0.2	5.2±0.0

Mean ± SD, n = 3.

ND, not detected.

### 第三節 加熱に及ぼすユチャ油に含まれた不ケン化物の影響

#### 5.4.1 実験方法

##### 5.4.1.1 実験材料

まず、3.2.3 に *n*-ヘキサンで抽出した GZY-1 のユチャ油から不ケン化物を抽出した。抽出方法は 2.2.9 と同様に行った。

次に、抽出したユチャ油の不ケン化物を菜種油に添加した。添加量は菜種油に対してそれぞれ 0.25%、0.5%(w/w)であった。また、ユチャ油に不ケン化物の主な成分である  $\beta$ -アミリン、ラノステロール、オリーブ油に不ケン化物の主な成分であるスクアレンは菜種油に対してそれぞれ 0.05%(w/w)を添加した。

##### 5.4.1.2 加熱安定性試験

菜種油、菜種油 + 0.25%ユチャ油の不ケン化物、菜種油 + 0.5%ユチャ油の不ケン化物、菜種油 + 0.05%  $\beta$ -アミリン、菜種油 + 0.05%ラノステロール、菜種油 + 0.05% スクアレンの合計で 6 つのサンプルをそれぞれ試験管に加えて加熱した。加熱方法は 5.3.1.2 と同様に行った。

##### 5.4.1.3 酸価(マイクロ法)

各油脂サンプルの酸価の分析は 5.3.1.3 と同様に行った。

##### 5.4.1.4 カルボニル価

各油脂サンプルのカルボニル価の分析は 5.2.1.5 と同様に行った。

##### 5.4.1.5 極性化合物量

各油脂サンプルの極性化合物量の分析は 5.3.1.5 と同様に行った。

##### 5.4.1.6 着色度

各油脂サンプルの着色度の測定は 5.3.1.6 と同様に行った。

##### 5.4.1.7 トコフェロール含有量

各油脂サンプルのトコフェロール含有量の分析は 2.2.8 と同様に行った。

##### 5.4.1.8 脂肪酸組成

加熱前および 40 時間を加熱した後の各油脂サンプルは、2.2.6 と同様に行って脂肪酸組成を分析した。

##### 5.4.1.9 統計計算

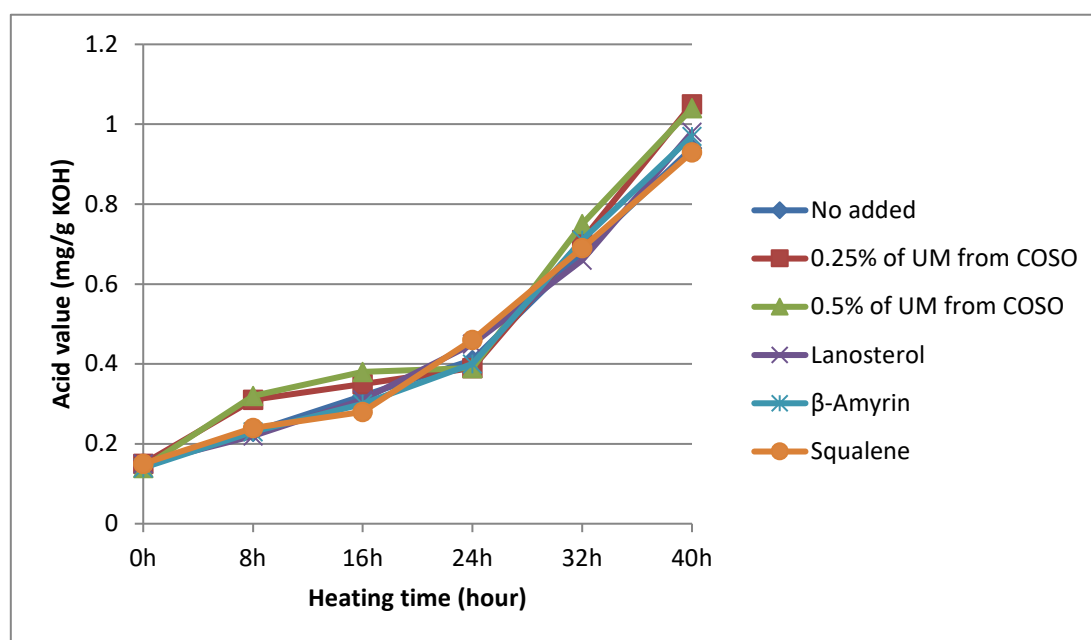
全ての実験は 3 回行った。得られた値は平均値±標準偏差 (SD) で示し、SPSS 25.0 (IBM) で統計分析を行った。有意差検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、SPSS にて多重比較の Tukey 検定を用いて、 $p < 0.05$  の時、有意差ありと判定した。

## 5.4.2 結果および考察

### 5.4.2.1 酸価

表 5.5 および図 5.9 に各油脂サンプルを 180°C で加熱した時の酸価を示した。

各サンプルは 40 時間加熱した後、グループ間に大きな差は見られなかったが、ユチャ油の不ケン化物、ラノステロール、 $\beta$ -アミリンを添加した菜種油は無添加の菜種油に比べて少し増加した。また、炭化水素であるスクアレンを添加した菜種油の酸価は、無添加の菜種油の酸価とほぼ同等であった。この結果から、ステロールは加熱中の油の加水分解を促進する可能性が示唆された。



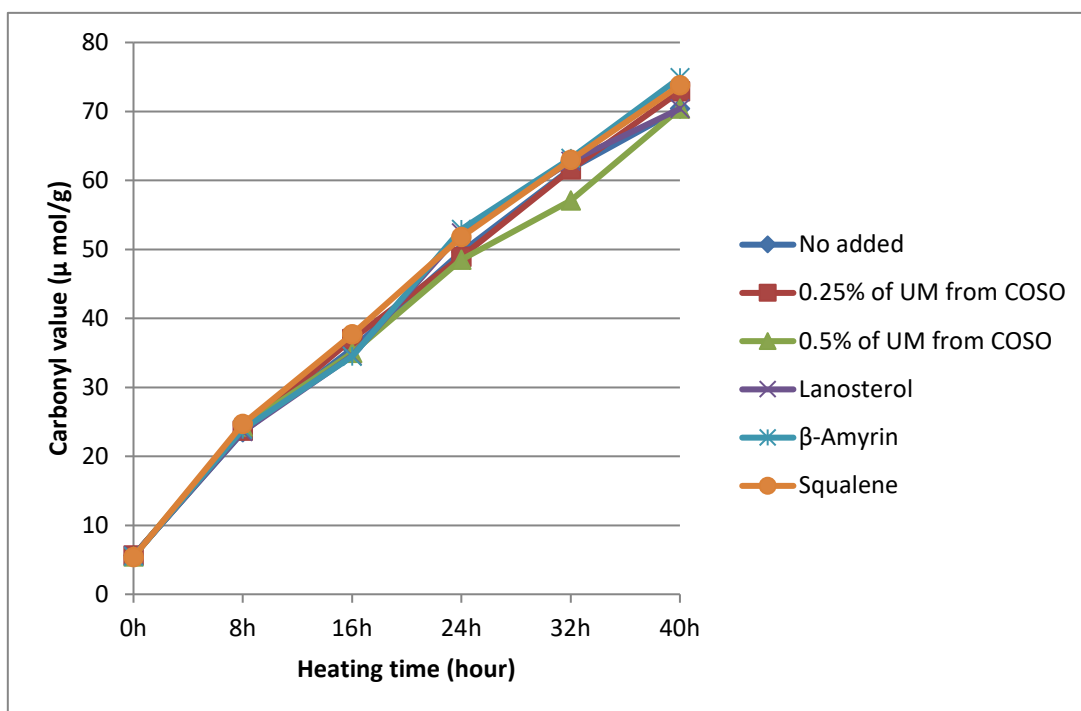
UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Fig. 5.9 Acid value of each sample during heating time

#### 5.4.2.2 カルボニル価

表 5.6 および図 5.10 に各油脂サンプルを 180°C で加熱した時のカルボニル価を示した。

40 時間加熱した後、酸価の結果と同じように、全ての試料油のカルボニル価は同様に増加した。180°C 加熱に対して、ユチャ油に含まれているステロールやスクアレンは抗酸化作用が見られず、スクアレン及びβ-アミリンは油の熱酸化に対してわずかに促進した。



UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Fig. 5.10 Carbonyl value of each sample during heating time

Table 5.5 Acid value of each sample during heating time

Heating time		0h	8h	16h	24h	32h	40h
Add substance:							
	None	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.32±0.02 <sup>a</sup>	0.41±0.05 <sup>a</sup>	0.68±0.05 <sup>a</sup>	0.94±0.01 <sup>a</sup>
Rapeseed oil	0.25% of UM from COSO	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>b</sup>	0.35±0.05 <sup>ab</sup>	0.39±0.04 <sup>a</sup>	0.71±0.03 <sup>ab</sup>	1.05±0.09 <sup>b</sup>
	0.5% of UM from COSO	0.14±0.01 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>b</sup>	0.38±0.04 <sup>b</sup>	0.39±0.01 <sup>a</sup>	0.75±0.03 <sup>b</sup>	1.04±0.04 <sup>b</sup>
	0.05% Lanosterol	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.04 <sup>a</sup>	0.45±0.06 <sup>b</sup>	0.66±0.06 <sup>a</sup>	0.98±0.10 <sup>ab</sup>
	0.05% β-Amyrin	0.14±0.00 <sup>a</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>	0.30±0.03 <sup>a</sup>	0.40±0.07 <sup>a</sup>	0.71±0.04 <sup>ab</sup>	0.97±0.06 <sup>ab</sup>
	0.05% Squalene	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.24±0.02 <sup>a</sup>	0.28±0.02 <sup>a</sup>	0.46±0.04 <sup>b</sup>	0.69±0.03 <sup>a</sup>	0.93±0.05 <sup>a</sup>

UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Mean ± SD, n = 3.

a-b, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 5.6 Carbonyl value of each sample during heating time

Heating time		0h	8h	16h	24h	32h	40h
Add substance:							
	None	5.6±0.2 <sup>a</sup>	23.5±0.2 <sup>a</sup>	35.6±0.2 <sup>b</sup>	49.6±0.5 <sup>b</sup>	61.7±0.5 <sup>bc</sup>	70.4±0.8 <sup>a</sup>
Rapeseed oil	0.25% of UM from COSO	5.6±0.2 <sup>a</sup>	23.7±0.2 <sup>a</sup>	37.0±0.3 <sup>c</sup>	48.9±0.2 <sup>ab</sup>	61.6±0.6 <sup>b</sup>	72.9±0.6 <sup>b</sup>
	0.5% of UM from COSO	5.5±0.1 <sup>a</sup>	24.3±0.2 <sup>ab</sup>	35.0±0.5 <sup>ab</sup>	48.5±0.5 <sup>a</sup>	57.1±0.3 <sup>a</sup>	70.4±0.7 <sup>a</sup>
	0.05% Lanosterol	5.6±0.1 <sup>a</sup>	23.6±0.1 <sup>a</sup>	34.6±0.1 <sup>a</sup>	52.4±0.3 <sup>cd</sup>	62.8±0.3 <sup>c</sup>	70.4±0.2 <sup>a</sup>
	0.05% β-Amyrin	5.5±0.1 <sup>a</sup>	23.9±0.1 <sup>a</sup>	34.5±0.2 <sup>a</sup>	52.9±0.1 <sup>d</sup>	63.2±0.2 <sup>d</sup>	74.9±0.5 <sup>b</sup>
	0.05% Squalene	5.4±0.1 <sup>a</sup>	24.7±0.0 <sup>b</sup>	37.7±0.2 <sup>c</sup>	51.8±0.3 <sup>c</sup>	63.0±0.3 <sup>cd</sup>	73.8±0.7 <sup>b</sup>

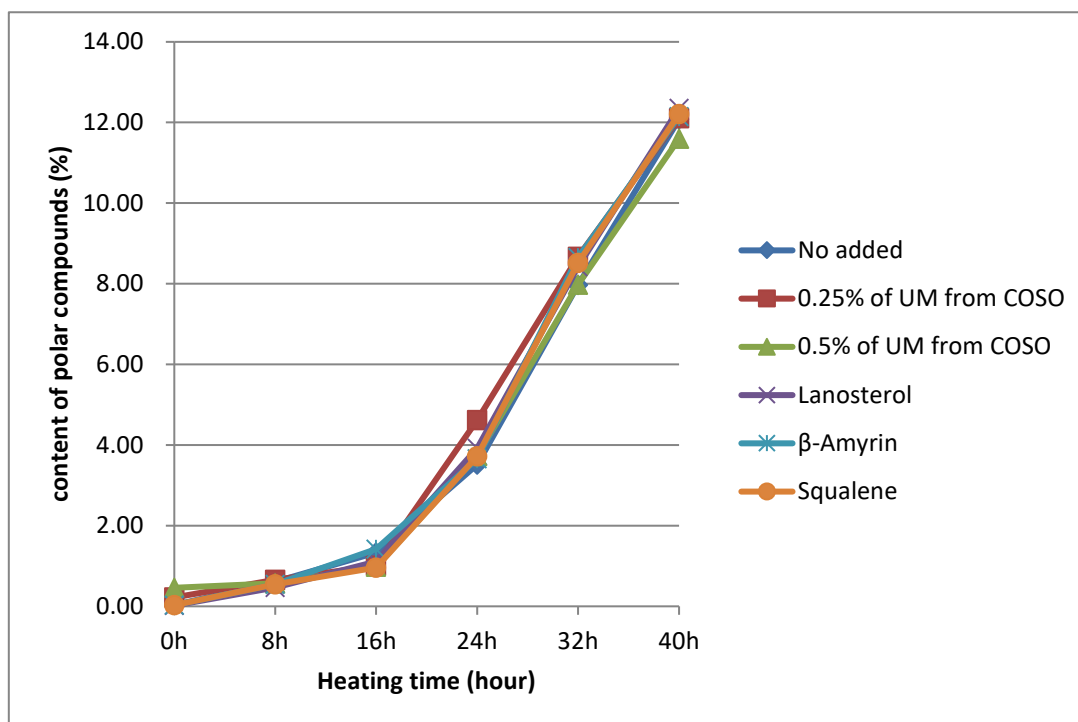
UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Mean ± SD, n = 3.

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

### 5.4.2.3 極性化合物量

表 5.7 と図 5.11 に極性化合物量の測定結果を示した。図 5.11 から、経時的に極性化合物は増加したが、それぞれの試料油において極性化合物含有量の増加率に有意差は見られなかった。

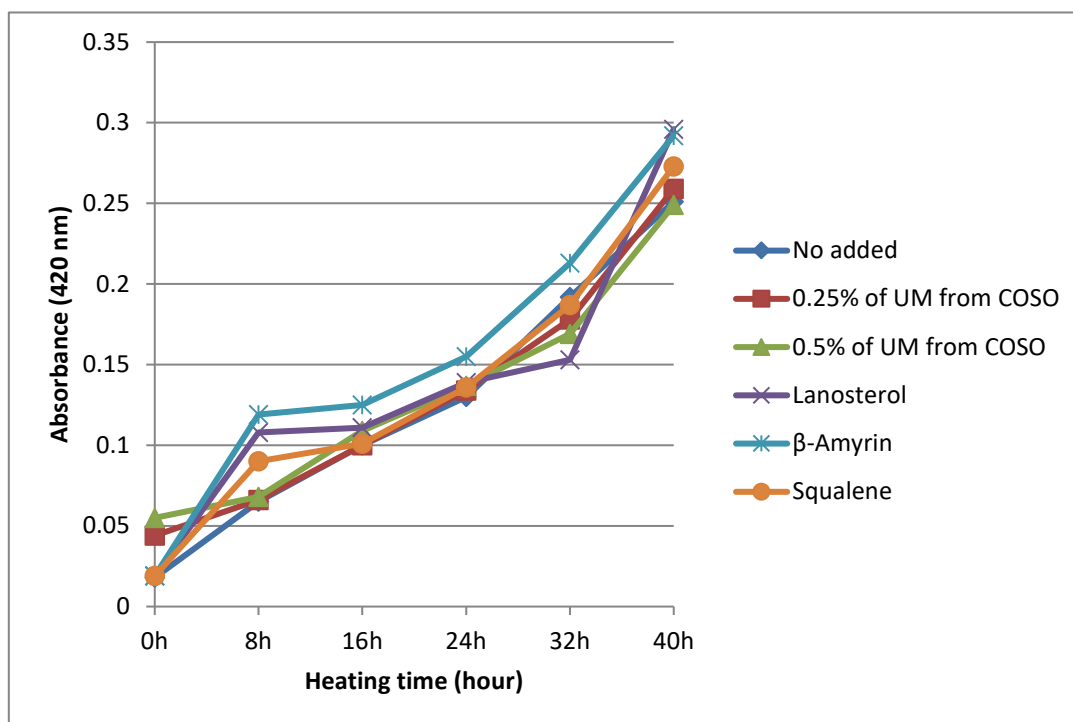


UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Fig. 5.11 Polar compounds content of each sample during heating time

#### 5.4.2.4 着色度

表 5.8 と図 5.12 に着色度の測定結果を示した。着色度は、全てのサンプルで加熱時間の増加とともに上昇し、スクアレン及びステロールを菜種油に添加すると、着色を促進することが分かった。ステロールを添加したサンプルと比較して、ユチャ油の不ケン化物を添加したサンプルの着色度の上昇は著しくなかった。これはユチャ油の不ケン化物には抗酸化剤であるトコフェロールが含まれていたためと示唆された。



UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Fig. 5.12 Coloring degree of each sample during heating time



Table 5.7 Polar compounds content of each sample during heating time (%)

Heating time		0h	8h	16h	24h	32h	40h
Add substance:							
	None	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.61±0.07 <sup>b</sup>	1.33±0.16 <sup>c</sup>	3.52±0.17 <sup>a</sup>	7.97±0.51 <sup>a</sup>	12.08±0.99 <sup>a</sup>
Rapeseed oil	0.25% of UM from COSO	0.22±0.02 <sup>b</sup>	0.66±0.06 <sup>b</sup>	1.01±0.04 <sup>a</sup>	4.62±0.25 <sup>c</sup>	8.67±0.63 <sup>b</sup>	12.11±0.76 <sup>a</sup>
	0.5% of UM from COSO	0.46±0.03 <sup>c</sup>	0.57±0.09 <sup>ab</sup>	0.98±0.06 <sup>a</sup>	3.73±0.32 <sup>a</sup>	7.98±0.81 <sup>a</sup>	11.60±0.92 <sup>a</sup>
	0.05% Lanosterol	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.47±0.04 <sup>a</sup>	1.11±0.10 <sup>b</sup>	3.92±0.28 <sup>b</sup>	8.42±0.47 <sup>ab</sup>	12.35±1.32 <sup>a</sup>
	0.05% β-Amyrin	0.03±0.01 <sup>a</sup>	0.55±0.02 <sup>ab</sup>	1.42±0.11 <sup>d</sup>	3.66±0.36 <sup>a</sup>	8.65±0.64 <sup>b</sup>	12.15±0.64 <sup>a</sup>
	0.05% Squalene	0.03±0.01 <sup>a</sup>	0.55±0.05 <sup>ab</sup>	0.96±0.06 <sup>a</sup>	3.72±0.41 <sup>a</sup>	8.52±0.58 <sup>ab</sup>	12.21±1.08 <sup>a</sup>

UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Mean ± SD, n = 3.

a-c, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

Table 5.8 Coloring degree of each sample during heating time

Heating time		0h	8h	16h	24h	32h	40h
Add substance:							
	None	0.018±0.001 <sup>a</sup>	0.065±0.001 <sup>a</sup>	0.100±0.003 <sup>a</sup>	0.130±0.003 <sup>a</sup>	0.192±0.003 <sup>c</sup>	0.251±0.005 <sup>a</sup>
Rapeseed oil	0.25% of UM from COSO	0.044±0.003 <sup>b</sup>	0.066±0.001 <sup>a</sup>	0.100±0.003 <sup>a</sup>	0.134±0.004 <sup>a</sup>	0.178±0.002 <sup>b</sup>	0.259±0.003 <sup>b</sup>
	0.5% of UM from COSO	0.055±0.003 <sup>c</sup>	0.068±0.001 <sup>a</sup>	0.109±0.003 <sup>ab</sup>	0.137±0.003 <sup>a</sup>	0.169±0.005 <sup>ab</sup>	0.249±0.007 <sup>a</sup>
	0.05% Lanosterol	0.019±0.001 <sup>a</sup>	0.108±0.002 <sup>c</sup>	0.111±0.004 <sup>ab</sup>	0.139±0.003 <sup>a</sup>	0.153±0.003 <sup>a</sup>	0.296±0.002 <sup>d</sup>
	0.05% β-Amyrin	0.019±0.001 <sup>a</sup>	0.119±0.002 <sup>d</sup>	0.125±0.005 <sup>b</sup>	0.155±0.005 <sup>b</sup>	0.213±0.004 <sup>d</sup>	0.292±0.003 <sup>d</sup>
	0.05% Squalene	0.019±0.001 <sup>a</sup>	0.090±0.002 <sup>b</sup>	0.101±0.001 <sup>a</sup>	0.136±0.003 <sup>a</sup>	0.187±0.003 <sup>bc</sup>	0.273±0.003 <sup>c</sup>

UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

Mean ± SD, n = 3.

a-d, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

#### 5.4.2.5 トコフェロール含有量

表 5.9 に、菜種油に無添加、ユチャ油不ケン化物 0.25%、ユチャ油不ケン化物 0.5%、スクアレン 0.05%、ラノステロール 0.05%、 $\beta$ -アミリン 0.05%を添加した際の過熱によるトコフェロール含有量の経時的変化を示した。ラノステロールや $\beta$ -アミリンを菜種油に添加し、24 時間加熱したところ、菜種油中のトコフェロールはすべて分解された。このことから、ステロールはトコフェロールの加熱劣化を促進したと考えられた。

Table 5.9 Tocopherol content of each sample during heating time (mg/100g)

<b>Tocopherol</b>	<b>Rapeseed oil</b>	<b>0.25% of UM from COSO</b>	<b>0.5% of UM from COSO</b>	<b>0.05% Squalene</b>	<b>0.05% Lanosterol</b>	<b>0.05% <math>\beta</math>-Amyrin</b>
<b>0h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	12.1 $\pm$ 0.2	12.6 $\pm$ 0.1	13.4 $\pm$ 0.0	12.1 $\pm$ 0.3	12.2 $\pm$ 0.1	12.0 $\pm$ 0.2
$\beta$ -Tocopherol	7.8 $\pm$ 0.3	7.8 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 0.1	7.5 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 0.1	7.8 $\pm$ 0.2
$\gamma$ -Tocopherol	36.0 $\pm$ 1.4	36.1 $\pm$ 0.2	36.2 $\pm$ 0.3	34.6 $\pm$ 0.9	35.6 $\pm$ 1.1	36.2 $\pm$ 0.4
$\delta$ -Tocopherol	2.0 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 0.0
Total	56.3 $\pm$ 1.8	57.0 $\pm$ 0.4	57.9 $\pm$ 0.4	54.6 $\pm$ 1.3	56.7 $\pm$ 1.4	56.1 $\pm$ 0.6
<b>8h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	7.4 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.0	9.3 $\pm$ 0.1	7.4 $\pm$ 0.1	7.5 $\pm$ 0.1	9.2 $\pm$ 0.1
$\beta$ -Tocopherol	5.4 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.0	5.4 $\pm$ 0.0	5.5 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.0	5.8 $\pm$ 0.0
$\gamma$ -Tocopherol	28.2 $\pm$ 0.1	27.2 $\pm$ 0.1	27.0 $\pm$ 0.3	28.3 $\pm$ 0.3	30.0 $\pm$ 0.2	31.6 $\pm$ 0.2
$\delta$ -Tocopherol	1.8 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.0
Total	41.2 $\pm$ 0.3	41.3 $\pm$ 0.0	42.0 $\pm$ 0.1	41.4 $\pm$ 1.0	44.9 $\pm$ 0.3	48.5 $\pm$ 0.3
<b>16h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	4.5 $\pm$ 0.0	5.3 $\pm$ 0.0	5.7 $\pm$ 0.0	3.8 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0
$\beta$ -Tocopherol	3.6 $\pm$ 0.0	3.6 $\pm$ 0.0	3.3 $\pm$ 0.0	3.0 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.0	ND
$\gamma$ -Tocopherol	20.7 $\pm$ 0.1	19.5 $\pm$ 0.0	17.6 $\pm$ 0.2	17.4 $\pm$ 0.1	8.5 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.0
$\delta$ -Tocopherol	1.7 $\pm$ 0.0	1.7 $\pm$ 0.0	1.7 $\pm$ 0.0	1.7 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0
Total	29.0 $\pm$ 0.2	28.4 $\pm$ 0.0	26.8 $\pm$ 0.3	24.4 $\pm$ 0.1	13.3 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.0
<b>24h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	2.0 $\pm$ 0.0	2.3 $\pm$ 0.0	2.7 $\pm$ 0.0	1.9 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\beta$ -Tocopherol	1.9 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 0.0	1.8 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\gamma$ -Tocopherol	10.9 $\pm$ 0.1	9.2 $\pm$ 0.0	9.1 $\pm$ 0.2	10.2 $\pm$ 0.1	ND	ND
$\delta$ -Tocopherol	1.4 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.0	1.4 $\pm$ 0.0	ND	ND
Total	14.6 $\pm$ 0.0	13.1 $\pm$ 0.1	13.4 $\pm$ 0.2	13.7 $\pm$ 0.1	ND	ND
<b>32h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	0.7 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\beta$ -Tocopherol	0.8 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\gamma$ -Tocopherol	3.0 $\pm$ 0.0	3.5 $\pm$ 0.0	4.5 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\delta$ -Tocopherol	1.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	ND	ND
Total	3.9 $\pm$ 0.0	4.6 $\pm$ 0.0	6.2 $\pm$ 0.1	5.1 $\pm$ 0.1	ND	ND
<b>40h</b>						
$\alpha$ -Tocopherol	ND	ND	ND	ND	ND	ND
$\beta$ -Tocopherol	ND	ND	ND	ND	ND	ND
$\gamma$ -Tocopherol	1.5 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	1.4 $\pm$ 0.0	ND	ND
$\delta$ -Tocopherol	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0	ND	ND
Total	1.8 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 0.0	1.6 $\pm$ 0.0	ND	ND

UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil; ND, not detected.

Mean  $\pm$  SD, n = 3.

#### 5.4.2.6 脂肪酸組成

表 5.10 に各油脂加熱前後（0 時間と 40 時間）の脂肪酸組成を示した。40 時間加熱後、菜種油中のリノール酸およびリノレン酸の減少が見られた。しかし、不ケン化物を添加した菜種油と無添加の菜種油とで、これら高度不飽和脂肪酸量に違いは見られなかった。この結果から、ユチャ油に含まれる不ケン化物、ステロール、スクアレンは高度不飽和脂肪酸の加熱による減少に影響を及ぼさないことが示唆された。

Table 5.10 Fatty acid composition of each sample during heating time (mg/100g)

Add substance	None		0.25% of UM from COSO	0.5% of UM from COSO	0.05% Squalene	0.05% Lanosterol	0.05% $\beta$ -Amyrin
	0h	40h					
16:0	3.6±0.1	4.3±0.1	4.3±0.1	4.3±0.1	4.4±0.1	4.3±0.1	4.3±0.1
16:1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
18:0	1.5±0.0	1.8±0.1	1.8±0.1	1.8±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1	1.8±0.1
18:1	66.0±0.3	72.0±0.4	71.8±0.3	71.5±0.4	72.3±0.3	72.1±0.4	72.1±0.3
18:2	18.4±0.2	14.4±0.1	14.5±0.2	14.6±0.1	14.3±0.2	14.4±0.2	14.2±0.2
18:3	8.0±0.3	4.4±0.2	4.4±0.1	4.5±0.2	4.2±0.2	4.3±0.1	4.4±0.1
20:0	0.5±0.0	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
20:1	1.0±0.0	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1
22:0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1
22:1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
24:0	0.1±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
Other	0.4±0.1	0.6±0.1	0.5±0.2	0.6±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
$\Sigma$ SFA	6.0±0.1	7.0±0.2	7.1±0.2	7.1±0.1	7.0±0.1	6.9±0.1	7.0±0.1
$\Sigma$ UFA	93.6±0.2	92.4±0.2	92.4±0.3	92.3±0.4	92.5±0.3	92.5±0.3	92.4±0.3
$\Sigma$ MUFA	67.3±0.2	73.6±0.3	73.5±0.2	73.2±0.3	74.0±0.2	73.8±0.3	73.8±0.2
$\Sigma$ PUFA	26.3±0.3	18.8±0.1	18.9±0.1	19.1±0.2	18.5±0.2	18.7±0.1	18.6±0.1

UM, Unsaponifiable matters; COSO, *camellia oleifera* seed oil.

SFA, saturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid;

PUFA, polyunsaturated fatty acid.

Mean±SD, n=3.

## 5.5 結論

本章では、ユチャ油の酸化安定性及び熱安定性を、大豆油、菜種油及びオリーブ油と比較した。

酸化安定性試験では、ユチャ油は、オリーブ油と同様に大豆油や菜種油よりも低い過酸化価とカルボニル価を示し、ユチャ油とオリーブ油は大豆油及び菜種油よりかなり強い酸化安定性を有することが認められた。

加熱安定性では、酸価、カルボニル価、極性化合物量、着色度、残存トコフェロール量、加熱前後の脂肪酸組成などの様々な指標から、ユチャ油の加熱安定性はオリーブ油と同等に、大豆油や菜種油より加熱安定性に優れていると判断された。

一方、ユチャ油に含まれる不ケン化物は加熱に対して、抗酸化作用は認められなかった。

## 第六章 ユチャ油の摂取がラットの脂質代謝に及ぼす影響

### 6.1 序言

多くの文献ではオリーブ油の摂取には、血中コレステロール低下作用が確認され、これは主にオリーブ油中の高オレイン酸による役割と考えられた<sup>140)</sup>。オレイン酸は、血中の低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) 量を減少させ、高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-C) 量は変化させないと考えられている。また、オレイン酸含有量の高い油を摂取すると、心筋梗塞などの冠動脈疾患の危険因子に対して改善効果を示した<sup>141)</sup>。さらに、FDA (アメリカ食品医薬品局) が 2018 年 11 月に声明を発表し、オレイン酸含有量が 70% を超える植物油は、食品パッケージラベルに「冠動脈性心臓病のリスクを軽減する」といった健康強調表示を使用できるようになった<sup>142)</sup>。

LDL-C を低下させるのに有効な物質は、オレイン酸以外にも植物油に含まれる植物ステロールが挙げられる。植物ステロールは植物細胞膜の重要な構成成分であり、ステロール骨格と 1 つの側鎖から構成される<sup>143)</sup>。これまでに、さまざまな植物で 250 種類以上の植物ステロールが同定され、代表的な植物ステロールとしては、 $\beta$ -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールが挙げられる。これらの側鎖の位置や長さが異なり、通常は遊離状態や脂肪酸エステル、配糖体の形で存在している<sup>144)</sup>。

1950 年代で既に大豆油由来の植物ステロールが LDL-C を低下させる活性を持つことが明らかとなった<sup>145)</sup>。その後の *In vitro* および *In vivo* 実験、ならびに臨床試験では、植物ステロールが著しいコレステロール低下効果を有することが証明された<sup>146-148)</sup>。植物ステロールは、内因性コレステロールの合成を減らし、コレステロールの逆輸送と排泄を増やすなど、複数のメカニズムによってコレステロールを減らすことが報告された。しかし、現在、最も有力なメカニズムとしては、植物ステロールが腸内コレステロールの吸収を抑制できると考えられている<sup>149-155)</sup>。コレステロールは疎水性化合物であるため、腸内胆汁酸によって乳化され、球状ミセルが形成される。植物ステロール構造はコレステロールと類似しており、球状ミセルの形成の際にコレステロールと競合することで、コレステロールの吸収を減少させる<sup>144)</sup>。

以前から植物ステロールは血中の総コレステロール (T-Chol) と LDL-C を下げることができるが、トリグリセリドの低下には効果がないと考えられている。しかしながら、最近の動物試験および臨床研究では、植物ステロールが血中トリアシルグリセロール濃度の調節においても有効であることが報告された<sup>156, 157)</sup>。

第二章及び第三章の実験結果より、オリーブ油の脂肪酸組成はユチャ油と非常に似ていること、およびユチャ油のオレイン酸含有量はオリーブ油よりもわずかに高いことが示された。また、ユチャ油は特別なステロール組成を有することから、ユチャ油の摂取が血中コレステロール低下作用を示すことが期待される。しかし、今までユチャ油の摂取による生理機能の検証は行われてこなかった。そこで本研究では、コレステロールを負荷した飼料を与えたラットに、ユチャ油を摂取させることで、コレステロール代謝をはじめとする脂質代謝にどのような影響があるのかを明らかにすることを目的とした。

## 6.2 材料及び方法

### 6.2.1 実験材料

餌を作る際の試料油には大豆油、オリーブ油、ユチャ油を使用した。大豆油は日清オリオ株式会社から購入した。オリーブ油は金田油店、ユチャ油は金龍魚会社 (Wilmar, Co., Ltd., China) より購入した。全ての油試料は精製油である。この3つの油の脂肪酸組成及び不ケン化物組成を表 6.1 及び表 6.2 に示した。

Table 6.1 Fatty acid composition of each sample oil (%)

Fatty acid	Soybean oil	Olive oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
16:0	10.2±0.2	9.8±0.2	7.0±0.3
16:1	ND	0.6±0.0	ND
18:0	4.0±0.1	3.0±0.0	1.9±0.1
18:1	23.2±0.4	79.6±0.2	81.9±0.2
18:2	55.1±0.7	5.7±0.0	8.0±0.1
18:3	6.2±0.1	0.4±0.1	0.1±0.0
20:0	0.3±0.0	0.3±0.1	ND
20:1	0.1±0.0	0.2±0.0	0.4±0.1
22:0	0.4±0.1	ND	ND
Other	0.6±0.1	0.3±0.1	0.6±0.2

ND, not detected; Mean ± SD, n=3.

Table 6.2 Squalene and sterol composition of each sample oil (mg/100g)

Unsaponifiable	Soybean oil	Olive oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
Squalene	8.4±0.1	197.8±6.9	4.0±0.4
β-Sitosterol	196.4±1.4	86.6±1.1	ND
Campesterol	77.5±1.8	ND	ND
Stigmasterol	68.1±2.3	ND	ND
Ergosterol	ND	ND	23.0±0.8
Lupeol	ND	ND	10.4±0.4
β-Amyrin	ND	ND	78.8±2.6
Lanosterol	ND	ND	140.1±5.3
Tirucallol	ND	ND	55.0±2.1
7-Stigmastenol	ND	ND	47.2±1.2
Cyclartenol	ND	ND	14.9±0.4
Total	350.4±0.9	284.4±7.6	373.4±9.7

ND, not detected; Mean ± SD, n=3.

### 6.2.2 実験動物及び飼育方法

SD系雄ラット8週齢を日本チャールス・リバー株式会社より18匹購入し、市販の固形飼料(CRF-1, 日本チャールス・リバー株式会社)にて1週間予備飼育した後、本飼育を行った。群間の体重の平均がほぼ一定になるよう3群に分け、飼料はAIN-93G飼料に1%コレステロール、0.5% Bile acid (胆汁酸)を添加し、大豆油7%を添加したAIN-93G改変飼料(オリエンタル酵母株式会社)、オリーブ油7%を添加したAIN-93G改変飼料、ユチャ油7%添加したAIN-93G改変飼料をそれぞれ3週間与えた。これらのラットに与えた飼料組成を表6.3に示した。飼料と水は自由摂取とし、1週間ごとに体重測定を行い、摂食量及び摂水量を毎日測定した。

飼育は昭和女子大学で行い、5連のラット飼育用ステンレスケージにラットを1匹ずつ入れ、室温20~25℃、明暗サイクル12時間(8~20時)に設定された動物飼育室で行った。なお、本研究は昭和女子大学実験動物委員会の承認を得た後(承認番号18-06)、動物論理規定に従い実施した。

本飼育最終日には、8時間絶食の後、麻酔器(MK-AT210D, 室町機械株式会社)を用いてIsoflurane(イソフルラン)麻酔下にて腹部大動脈よりEDTA-2Na入りの真空採血管にて採血し、屠殺した。採血終了後直ちに肝臓、腎臓、脾臓、腎周囲の白色脂肪組織を摘出し、冷生理食塩水により十分に洗浄した後に重量を測定した。また、摘出した肝臓は分析を行うまでの間、-30℃で保存した。

Table 6.3 Compositions of experimental diets (g/100g)

	Soybean oil	Olive oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
Soybean oil	7.0	-	-
Olive oil	-	7.0	-
<i>C. oleifera</i> seed oil	-	-	7.0
Cornstarch	39.75	39.75	39.75
$\alpha$ -Cornstarch	13.2	13.2	13.2
Casein	20.0	20.0	20.0
Sucrose	10.0	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0
Mineral mix (AIN-93G-MX)	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix (AIN-93-VX)	1.0	1.0	1.0
L-Cystine	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014
Total	100.0	100.0	100.0



### 6.2.3 血漿成分

採取した血液は、10 分間遠心分離(1,900 × g)し、下層の血漿を分取した。血漿トリアシルグリセロール (TG)、総コレステロール (T-Chol)、HDL-コレステロール (HDL-C) の濃度をそれぞれ測定キット (和光純薬工業株) を用いて測定した。

### 6.2.4 肝臓中の脂質分析

解剖により採取した肝臓の TG 及び T-Chol 量はそれぞれ測定キット (和光純薬工業株) を用いて測定した。

肝臓中の脂質抽出は Bligh-Dyer 法を改変し以下のように抽出した<sup>7)</sup>。すなわち、重量を正確に測定した肝臓 0.6~0.7 g に対して生理食塩水 0.3 mL 及びクロロホルム:メタノール(1:2, v/v) を加え、室温で 2 分間ホモジナイズした。ホモジネートを 10 分間遠心分離 (1,900 × g) し、上清を分取した。残分にクロロホルム:メタノール:生理食塩水 (1:2:0.8, v/v/v) を 3.8 mL 加え、さらに 2 分間ホモジナイズ後、10 分間遠心分離 (1,900 × g) により上清を得た。全上清にクロロホルム、生理食塩水をそれぞれ 2 mL ずつ加え、10 分間遠心分離 (1,900 × g) 後、下層のクロロホルム層を回収した。これに無水硫酸ナトリウムを加え、一晚脱水後、窒素ガスで溶媒を全て除去した。肝臓から抽出した総脂質のメチルエステル化および脂肪酸組成の分析は 2.2.6 と同様に行った。

### 6.2.5 統計計算の方法

得られた数値は SPSS 25.0 (IBM) で統計分析を行い、各群の平均値及び標準誤差を算出し、平均値±標準誤差 (SE) で示した。有意差検定は、一元配置分散分析 (ANOVA) を行い、 $p < 0.05$  の時、SPSS にて多重比較の Tukey 検定を用いて有意差ありと判定した。

### 6.3 結果および考察

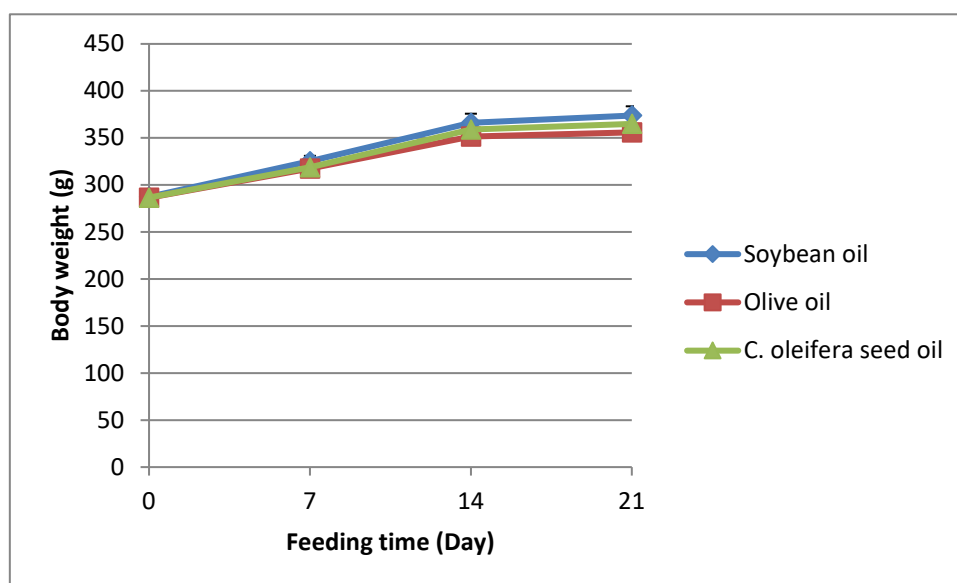
#### 6.3.1 各油サンプルの脂肪酸組成及び不ケン化物組成

表 6.1 より、大豆油はリノール酸が最も多く (55.1%)、次にオレイン酸 (23.2%)、パルミチン酸 (10.2%)、リノレン酸 (6.2%) の順で示された。オリーブ油とユチャ油中の脂肪酸組成は似ており、オレイン酸含有率がそれぞれ 79.6%、81.9%であり、オリーブ油に含まれるパルミチン酸はユチャ油より 2.8%多いが、リノール酸が 2.3%少ないと示された。

不ケン化物組成では、3種類の油は全く異なる結果を示した。大豆油は $\beta$ -シトステロール (196.4 mg/100g)、カンペステロール (77.5 mg/100g)、スチグマステロール (68.1 mg/100g) が主成分であり、オリーブ油はスクアレン (197.8 mg/100g)、 $\beta$ -シトステロール (86.6 mg/100g) が主成分であり、ユチャ油はラノステロール (140.1 mg/100g)、 $\beta$ -アミリン (78.8 mg/100g)、チルカロール (55.0 mg/100g) が主成分として多く含有していた。ユチャ油の不ケン化物総量 (373.4 mg/100g) は大豆油 (350.4 mg/100g) とほぼ同じで、オリーブ油 (284.4 mg/100g) より多く含まれていた。

#### 6.3.2 ラットの摂食量、摂水量及び体重変化

各群間の体重変化は、全ての群で有意差はなかった (図 6.1)。また、試験開始時と試験終了時の体重増加量、毎日平均の摂食量及び摂水量にも、全ての群で有意差はなかった (表 6.4)。このことから、ラットの油の嗜好については差がないことが示唆された。



Mean  $\pm$  SE, n = 6.

Fig. 6.1 Changes in body weight

Table 6.4 Body weight gain, food intake, and water intake

	<b>Soybean oil</b>	<b>Olive oil</b>	<b><i>C. oleifera</i> seed oil</b>
Body weight gain (g)	86.4±7.5	69.5±7.7	78.3±5.8
Food intake/day (g)	32.3±0.8	30.6±1.0	32.6±1.2
Water intake/day (g)	19.9±1.2	18.9±1.4	19.9±1.8

Mean ± SE, n = 6.

### 6.3.3 各臓器の重量

解剖後、ラットの肝臓重量、腎周囲の白色脂肪組織重量、腎臓重量、脾臓重量及び膵臓重量を表 6.5 に示した。各臓器重量において、群間で有意差は見られなかった。

Table 6.5 Organs weights

	<b>Soybean oil</b>	<b>Olive oil</b>	<b><i>C. oleifera</i> seed oil</b>
Liver (g)	16.5±0.6	15.0±0.8	16.0±0.9
White fat (g)	6.9±0.7	5.6±0.6	6.3±0.7
Kidney (g)	2.3±0.1	2.2±0.1	2.2±0.1
Spleen (g)	0.7±0.0	0.7±0.0	0.7±0.0
Pancreas (g)	1.4±0.2	1.4±0.1	1.4±0.1

Mean ± SE, n = 6.

### 6.3.4 血漿脂質濃度

表 6.6 にラット血漿中の TG、T-Chol 及び HDL-C の濃度を示した。ユチャ油群の血漿 TG 濃度は大豆油群、オリーブ油群に比べ有意に低かった。T-Chol では、大豆油群に比べユチャ油群とオリーブ油群が高い値を示し、オリーブ油群と大豆油群に有意差が見られた。一方、HDL-C は群間に有意差が見られなかった。

Table 6.6 TG, T-Chol, and HDL-C concentrations in plasma

	<b>Soybean oil</b>	<b>Olive oil</b>	<b><i>C. oleifera</i> seed oil</b>
TG (mg/dL)	67.1±7.2 <sup>a</sup>	70.8±4.9 <sup>a</sup>	41.1±7.3 <sup>b</sup>
T-Chol (mg/dL)	94.7±12.2 <sup>a</sup>	234.8±44.2 <sup>b</sup>	212.8±44.6 <sup>ab</sup>
HDL-C (mg/dL)	31.8±2.7	40.0±3.2	36.8±3.1

Mean ± SE, n = 6.

a-b, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

### 6.3.5 肝臓脂質濃度

表 6.7 にラット肝臓中の TG および T-Chol 濃度を示した。ラット肝臓中の TG 濃度は、3 群間に有意差が見られなかった。一方、オリーブ油群の T-Chol の濃度は大豆油群より有意に低かった。

Table 6.7 TG and T-Chol contents in the liver

	Soybean oil	Olive oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
TG (mg/g)	89.1±3.2	75.4±4.2	85.1±5.3
T-Chol (mg/g)	53.7±1.8 <sup>a</sup>	41.9±2.3 <sup>b</sup>	52.3±4.0 <sup>ab</sup>

Mean ± SE, n = 6.

a-b, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

6.3.4 及び 6.3.5 の結果を総合的に考察すると、血漿中 TG 濃度と肝臓中 TG 濃度の間に相関関係は見られなかった。ユチャ油の脂肪酸組成はオリーブ油と似ているが、ユチャ油を摂食したラットの血漿 TG は他 2 群より低い値を示した。このことから、ユチャ油に含まれるステロールが血漿 TG を低下させたと考えられた。多くの動物試験や臨床試験により、植物ステロールが TG を減少させることが報告されている。そのメカニズムは、植物ステロールが TG と脂肪酸の吸収を妨げることで、TG と脂肪酸の代謝に影響を与えること、肝臓の TG 分泌を減らすことがそれぞれ報告された<sup>158-165</sup>)。ユチャ油群ラットの肝臓の TG は、他 2 群と有意差が見られなかったことから、ユチャ油に含まれるステロールは TG と脂肪酸の吸収を妨げると考えられた。

コレステロール合成中間体であるスクアレンを過剰摂取すると、血中コレステロールが上昇することが知られている<sup>28</sup>)。この実験では、スクアレン含有量が高いオリーブ油を摂取したラットでも同様の結果が観察された。オリーブ油群ラットの血漿 T-Chol 濃度は最も高いが、肝臓の T-Chol は大豆油群より有意に低かった。いくつかの研究において、植物ステロールが肝臓中の SREBP2 発現量を低下させ、HGM-CoA レダクターゼ活性を阻害することが報告されている<sup>166-168</sup>)。この結果から、オリーブ油に含まれるステロール及びスクアレンは肝臓コレステロールの合成を減少させると示唆された。また、オリーブ油群ではスクアレンからコレステロールが合成され、血漿コレステロール濃度が高くなったことから、肝臓でのコレステロール合成を抑えられた可能性が示唆された。ユチャ油に含まれるステロールの主成分であるラノステロールは、スクアレンからコレステロールへ合成する中間体であるため、ユチャ油群でもオリーブ油群と同様に、血漿コレステロールを上昇させた可能性が考えられた。

また、ユチャ油群とオリーブ油群で血漿 T-Chol 濃度と肝臓 T-Chol 濃度の間に相関関係が見られなかったことから、スクアレンまたはラノステロールからのコレステロールの合成は、肝臓以外の他の合成場所である可能性が示唆された。

### 6.3.6 肝臓脂質の脂肪酸組成

肝臓総脂質の脂肪酸組成を表 6.8 に示した。ユチャ油群において肝臓の脂肪酸はオレイン酸が最も高く (49.5%)、ほぼ半分を占めていた。次にパルミチン酸 (19.2%)、パルミトオレイン酸 (9.8%)、アラキドン酸 (7.1%)、ステアリン酸 (5.9%)、リノレン酸 (3.8%) の順となった。オリーブ油群においてもオレイン酸が最も高く (42.8%)、2 番目はパルミチン酸 (21.4%)、3 番目以降の順はユチャ油群と異なった。大豆油群においてリノール酸が最も高い値 (29.9%) を示した。このことから、3 群間のそれぞれの肝臓の脂肪酸組成は、餌に加えた油の脂肪酸組成に応じた事象だと考えられた。

オリーブ油とユチャ油のオレイン酸含有率はほぼ同じであるが、ユチャ油群の肝臓のオレイン酸含有率はオリーブ油群より有意に高く、逆にリノール酸及びアラキドン酸は有意に低い結果となった。

Table 6.8 Fatty acid composition of the liver lipid (%)

Fatty acid	Soybean oil	Olive oil	<i>C. oleifera</i> seed oil
14:0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.9±0.1
15:0	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
16:0	17.0±0.5 <sup>a</sup>	21.4±0.4 <sup>b</sup>	19.2±0.9 <sup>ab</sup>
16:1	5.8±0.2 <sup>a</sup>	7.1±0.4 <sup>b</sup>	9.8±0.3 <sup>c</sup>
18:0	6.5±0.1 <sup>a</sup>	8.5±0.3 <sup>b</sup>	5.9±0.1 <sup>a</sup>
18:1	26.6±0.3 <sup>a</sup>	42.8±1.1 <sup>b</sup>	49.5±1.1 <sup>c</sup>
18:2	29.9±0.5 <sup>a</sup>	6.1±0.6 <sup>b</sup>	3.8±0.2 <sup>c</sup>
18:3	1.5±0.0 <sup>a</sup>	0.1±0.0 <sup>b</sup>	0.1±0.0 <sup>b</sup>
20:3	0.4±0.0 <sup>a</sup>	0.3±0.0 <sup>a</sup>	0.6±0.0 <sup>b</sup>
20:4	8.2±0.1 <sup>a</sup>	9.1±0.3 <sup>a</sup>	7.1±0.4 <sup>b</sup>
20:5	0.3±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>b</sup>	0.1±0.0 <sup>c</sup>
22:5	0.6±0.0 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>b</sup>	0.1±0.0 <sup>b</sup>
22:6	1.5±0.0 <sup>a</sup>	2.7±0.2 <sup>b</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>
Other	0.8±0.0	0.7±0.0	0.7±0.0

Mean ±SE, n = 6.

a-c, Different letters indicate significant differences  $p \leq 0.05$  (Tukey's test).

#### 6.4 結論

第六章ではコレステロールを負荷した飼料を与えたラットにユチャ油、オリーブ油、大豆油を摂取させることにより、各群の脂質代謝について検討した。ラットの摂食量、摂水量、体重、臓器重量は食餌の違いによる差は認められなかった。血漿 T-Chol 濃度は、大豆油群が他 2 群と比較して低い値を示した。ユチャ油群とオリーブ油群では有意差はみられなかった。血漿 TG 濃度は、ユチャ油群が他 2 群と比較して有意に低い値を示した。大豆油群とオリーブ油群では有意差はみられなかった。血漿 HDL-C 濃度は、3 群間で有意差は見られなかった。肝臓 T-Chol 濃度は、オリーブ油群が他 2 群と比較して有意に低い値を示した。ユチャ油群と大豆油群で有意差はみられなかった。肝臓脂質の脂肪酸組成の変化は摂取した油の脂肪酸組成に応じていることが明らかになった。

以上より、高コレステロール食を摂取したラットに対して、ユチャ油は血漿 T-Chol 濃度低下作用を持たないことが示唆されたが、一方で、ユチャ油には血漿 TG 濃度低下作用がある可能性が示唆された。

## 総括

本研究では、ユチャ種子及びユチャ種子油を用いて、それらの脂質特性及び生理機能について詳しく検討した。

まず、第二章では 3 つの代表的なカメリア種子油であるユチャ油、ツバキ油及び茶種子油の脂質特性を体系的に比較した。物理化学特性、脂肪酸組成及びトリアシルグリセロール組成では、茶種子油とは異なり、ユチャ油とツバキ油は似ていることが分かった。また、3 種類のカメリア種子油のトコフェロール及びビステロールの組成は同じだったが、含有量はそれぞれ異なった。このことから、ユチャ油はツバキ油の代わりに使用できる。

次に、第三章では異なる栽培品種及び栽培地域のユチャ油の脂質特性を比較検討した結果、ユチャの栽培品種は、栽培地域よりも脂質特性に大きな影響を与えることが分かった。栽培地域に関して、降水量、日照時間はユチャ種子の脂質特性にほとんど影響しないが、南北における気温差がより強く影響すると示唆された。

第四章ではユチャ種子に含まれる生理活性成分であるポリフェノールを調べた。他の油糧作物と比べて、ユチャ種子にはポリフェノールが多く含まれ、強い抗酸化力を有することを認めると共に、ユチャの栽培品種及び栽培地域は、ユチャ種子のポリフェノール含有量及び抗酸化力に影響することが示された。また、ユチャ種子に含まれるポリフェノールの主成分は、フラボノイドであるケンフェロールと同定した。

第五章では、ユチャ油は主に食用として使われているため、その酸化安定性及び加熱安定性を評価した。ユチャ油の酸化および熱安定性をオリーブ油と菜種油、大豆油と比較した。その結果、ユチャ油の酸化安定性と加熱安定性はオリーブ油と類似していたが、大豆油と菜種油よりも大幅に優れていたことが示された。第二章と第三章の結果で、ユチャ油とオリーブ油に含まれる不ケン化物が他の油とは異なることから、オリーブ油の不ケン化物の主成分であるスクアレン、ユチャ油の不ケン化物の主成分であるラノステロール及びβ-アミリンの加熱における油の劣化に及ぼす影響を調べた。その結果、これらの不ケン化物は油脂の熱安定性を向上させなかった。

最後の第六章では、コレステロールを負荷した飼料を与えたラットにユチャ油、オリーブ油、大豆油を摂取させ、各群の脂質代謝に対する影響を調べた。高コレステロール食を摂取したラットに対して、ユチャ油及びオリーブ油は血漿中の総コレステロール濃度を上昇させたが、ユチャ油には血漿トリアシルグリセロール濃度を低下させる作用がある可能性が示唆された。

以上、ユチャ種子及びユチャ油に関して体系的な研究を行った結果、ユチャ業界に基本的なデータを提供し、ユチャ業界の将来の発展に貢献できると言える。今後さらなるユチャ種子の食品、工業製品、化粧品、医薬品などへの広範囲な領域での応用が期待される。

## 参考文献

- 1) Kroupa, S. Ex epistulis Philippinensibus: Georg Joseph Kamel S. J. (1661–1706) and his correspondence network. *Centaurus*. **57**, 229-259 (2016)
- 2) 日本ツバキ協会. *日本ツバキ図鑑*. 誠文堂新光社. p. 1-260 (2010)
- 3) Xia, L.; Zhang, A.; Xiao, T. An introduction to the utilization of camellia oil in China. *Am. Camellia Yearbook*. **48**, 12–15 (1993)
- 4) Tang, L.; Bayer, E.; Zhuang, R. Obtain, properties and utilization of Chinese tea seed oil. *Fett Wiss. Technol.* **95**, 23-27 (1993).
- 5) He, S.; Gu, Y. The comprehensive utilization of camellia fruits in China, seed oil, for cooking, industrial uses, as fuel, fertilizer. *Am. Camellia Yearbook*. **37**, 104-106 (1984)
- 6) Liang, H.; Hao, B.; Chen, G.; Ye, H.; Ma, J. Camellia as an oilseed crop. *Hortscience*. **52**, 488-497 (2017)
- 7) Peng, L.; Ye, Q.; Liu, X.; Liu, S.; Meng, X. Optimization of aqueous enzymatic method for *Camellia sinensis* oil extraction and reuse of enzymes in the process. *J. Biosci. Bioeng. In Press* (2019)
- 8) Standardization Administration of the People's Republic of China. *Tea seed oil GB/T 11765–2003*. Standards press of China, Beijing (2003)
- 9) Miao, J.; Che, K.; Xi, R.; He, L.; Chen, X.; Guan, X.; Zhuang, X.; Wen, X.; Cao, Y. Characterization and benzo[a]pyrene content analysis of camellia seed oil extracted by a novel subcritical fluid extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **90**, 1503-1508 (2013)
- 10) Yang, C.; Liu, X.; Chen, Z.; Lin, Y.; Wang, S. Comparison of oil content and fatty acid profile of ten new camellia oleifera cultivars. *J. Lipids* **2016**, 1-6 (2016)
- 11) Liu, J.; Liao, Z.; Sun, T.; Feng, N.; Long, Q.; Zhong, H.; Zhou, B. Fatty acids, triacylglycerol and sn - 2 fatty acids distributions variations in seed oil from camellia cultivars. *J. Nutr. Food Sci.* **6**, 143-153 (2018)
- 12) 辻本満丸. 黒子鮫油に就て. *工業化学雑誌* **9**, 953-958 (1906)
- 13) Tang, F.; Shen, D.; Liu, Y.; Zhong, D.; Wu, Y.; Teng, Y. Analysis of main chemical components in camellia oil and olive oil. *J. Chinese Cereals and Oils Association*. **28**, 108-113 (2013)
- 14) 山口和隆, 倉田正治. 不ケン化物のガスクロマトグラフィー/質量分析法による油脂の法化学的な異同識別. *分析化学* **54**, 1091-1100 (2005)
- 15) Wang, X.; Zeng, Q.; Verardo, V.; Contreras, M. Fatty acid and sterol composition of tea seed oils: Their comparison by the “Fancy Tiles” approach. *Food Chem.* **233**, 302-310 (2017).
- 16) Akihisa, T.; Arai, K.; Kimura, Y.; Koike, K.; Wilhelmus C. M. C. Kokke; Shibata, T.; Nikaido, T. Camelliols A–C, three novel incompletely cyclized triterpene alcohols from *sasanqua* oil (*camellia sasanqua*). *J. Nat. Prod.* **62**, 265-268 (1999)
- 17) 日本植物油協会. *植物油の栄養問題*. 日本植物油協会. p. 38 (1996)
- 18) Zhang, S.; Pan, Y. G.; Zheng, L.; Yang, Y.; Zheng, X.; Ai, B.; Xu, Z.; Sheng, Z. Application of steam explosion in oil extraction of camellia seed (*Camellia oleifera* Abel.) and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid, and antioxidant activities. *Food Sci. Nutr.* **7**, 1004-1016 (2019)



- 19) 戸谷洋一郎. *油脂の特性と応用*. 幸書房. p.285 (2012)
- 20) Yang, K.; Hsu, F.; Chen, C.; Hsu, C.; Cheng, M. Quality characterization and oxidative stability of camellia seed oils produced with different roasting temperatures. *J. Oleo Sci.* **67**, 389-396 (2018)
- 21) Wang, X.; Zeng, Q.; Contreras, M.; Wang, L. Profiling and quantification of phenolic compounds in Camellia seed oils: Natural tea polyphenols in vegetable oil. *Food Res. Int.* **102**, 184-194 (2017)
- 22) Lee, C. P.; Yen, G. C. Antioxidant activity and bioactive compounds of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 779-784 (2006).
- 23) Zhong, H.; Danny, R. B.; Andrea, G. B.; Paul, D. P.; Kevin, R. Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chem.* **100**, 1544-1551 (2007)
- 24) Zhong, H.; Danny, R. B.; Andrea, G. B.; Paul, D. P.; Kevin, R. Effect of added caffeic acid and tyrosol on the fatty acid and volatile profiles of camellia oil following heating. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 9551-9558 (2006)
- 25) Pharmacopoeia of the People's Republic of China. *The state pharmacopoeia commission of the People's Republic of China*. Chemical Industry Press, Beijing. p. 193 (2005)
- 26) Lee, W.; Tung, Y.; Wu, C.; Tu, P.; Yen, G. Camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) modifies the composition of gut microbiota and alleviates acetic acid-induced colitis in rats. *J. Agric. Food Chem.* **66**, 7384-7392 (2018)
- 27) Chaikul, P.; Sripisut, T.; Chanpirom, S.; Sathirachawan, K.; Ditthawuthikul, N. Melanogenesis inhibitory and antioxidant effects of camellia oleifera seed oil. *Adv. Pharm. Bull.* **7**, 473-477 (2017)
- 28) Feng, Q.; Song, N.; Huang, H. X.; Xie, Y. J.; Zheng, F. Progress in medicinal research of Camellia oil. *Zhongguo Shiyan Fangjixue Zazhi.* **22**, 215-220 (2016)
- 29) Lee, C. P.; Shih, P. H.; Hsu, C. L.; Yen, G. C. Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *Food Chem. Toxicol.* **45**, 888-895 (2007)
- 30) Tu, P.; Tung, Y.; Lee, W.; Yen, G. Protective effect of camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) against ethanol-induced acute oxidative injury of the gastric mucosa in mice. *J. Agric. Food Chem.* **65**, 932-941 (2017)
- 31) Kole, C. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Plantation and Ornamental Crops*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. p. 11-38 (2011)
- 32) Zhao, D.; Parnell, J.; Hodkinson, T. Typification of names in the genus *Camellia* (Theaceae). *Phytotaxa.* **292**, 171-179 (2017)
- 33) Jung, E.; Lee, J.; Baek, J.; Jung, K.; Lee, J.; Huha, S.; Kim, S.; Koh, J.; Park, D. Effect of *Camellia japonica* oil on human type I procollagen production and skin barrier function. *J. Ethnopharmacol.* **112**, 127-131 (2007)
- 34) Vela, P.; Salinero, C.; Sainz, M. Phenological growth stages of *Camellia japonica*. *Ann. Appl. Biol.* **162**, 182-190 (2013)
- 35) Gunstone, F.D.; Harwood, J.L.; Padley F.B. *Tea seed oil*. In *Lipid Handbook*. 1st ed. Chapman and Hall, London. p. 315-316 (1994)

- 36) National Bureau of Statistics of China [Internet]. Beijing, China. <http://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01&zb=A0D0N&sj=2017>. Accessed 11 October 2018.
- 37) Oğraş Ş.Ş.; Kaban G.; Kaya M. The effects of geographic region, cultivar and harvest year on fatty acid composition of olive oil. *J. Oleo Sci.* **65**, 889-895 (2016)
- 38) Liu X.; Jia L.; Gao Y.; Li B.; Tu Y. Anti-inflammatory activity of total flavonoids from seeds of *Camellia oleifera* Abel. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. **46**, 920-922 (2014)
- 39) Shen, J.; Zhang, Z.; Tian, B. Lipophilic phenols partially explain differences in the antioxidant activity of subfractions from methanol extract of camellia oil. *Eur. Food Res. Technol.* **235**, 1071-82 (2012)
- 40) Feás, X.; Estevinho, L.M.; Salinero, C.; Vela P.; Sainz, MJ.; Vázquez-Tato, M.P.; Seijas, J.A. Triglyceride, antioxidant and antimicrobial features of virgin *Camellia oleifera*, *C. reticulata* and *C. sasanqua* oils. *Molecules*. **18**, 4573-87 (2013)
- 41) Cheng, Y.; Lu, C.; Yen, G. Beneficial effects of camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) on hepatoprotective and gastroprotective activities. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **61**, 100-102 (2015)
- 42) 日本ツバキ協会. <https://japancamellia.org/> Accessed 9 October 2019
- 43) 日本農林水産省. 特用林産物生産統計調査平成 30 年特用林産基礎資料：ツバキ油 (2018)  
<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00501004&tstat=00001021191&cycle=7&year=20180&month=0&tclass1=000001021192&tclass2=000001132663> Accessed 9 October 2019
- 44) Kim S.; Jung E.; Shin S.; Kim M.; Kim Y.S.; Lee J.; Park D. Anti-inflammatory activity of camellia japonica oil. *BMB Rep.* **45**, 177-82 (2012)
- 45) Thao, N.T.P.; Hung, T.M.; Lee, M.K.; Kim, J.C.; Min, B.S.; Bae, K. Triterpenoids from *Camellia japonica* and their cytotoxic activity. *Chem. Pharm. Bull.* **58**, 121-124 (2010)
- 46) Akihisa, T.; Tokuda, H.; Ukiya, M.; Suzuki, T.; Enjo, F.; Koike, K.; Nikaido, T.; Nishino, H. 3-Epicabraleahydroxylactone and other triterpenoids from camellia oil and their inhibitory effects on epstein-barr virus activation. *Chem. Pharm. Bull.* **52**, 153-156 (2004)
- 47) JOCS Standard Method 2.5.2.1-2013, Acid value. *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 48) JOCS Standard Method 2.3.1-2013, Peroxide value (Acetic acid-isooctane method). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 49) AOCS Official Method, Cd1c-85: Iodine value (calculated from fatty acid compositions) (2017)
- 50) AOCS Official Method, Cd 3a-94: Saponification value of fats and oils, by calculation (2017)
- 51) JOCS Standard Method 2.4.1.2-2013, Preparation of methyl esters of fatty acids (Boron trifluoride-methanol method). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 52) JOCS Standard Method 2.4.2.2-2013, Fatty acid composition (FID temperature programmed gas chromatography). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)

- 53) JOCS Standard Method 2.4.6.2-2013, Triacylglycerol composition (High performance liquid chromatography). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 54) JOCS Standard Method 2.4.10-2013, Tocopherols (High performance liquid chromatography). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 55) JOCS Standard Method 2.4.8-2013, Unsaponifiable matter. *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 56) Jill W. *Gas Chromatographic Analysis of Plant Sterols*. AOCS Lipid Library (2017)
- 57) Dalia I.; Sánchez, M.; Jaime L.; José A. Núñez, G.; Gabriela S.; Julia L.; Perfecto P. Effect of the refining process on Moringa oleifera seed oil quality. *Food Chem.* **187**, 53-57 (2015)
- 58) Codex committee on fats and oils. Codex standard 19-1981: Standard for edible fats and oils not covered by individual standards.
- 59) Shahidi, F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6th ed Vol. 1. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, p. 10 (2005)
- 60) Endo, Y.; Hayashi, C.; Yamanaka, T.; Takayose, K.; Yamaoka, M.; Tsuno, T.; Nakajima, S. Linolenic Acid as the main source of acrolein formed during heating of vegetable oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **90**, 959–964 (2013)
- 61) Buchgraber M.; Ulberth F.; Emons H.; Anklam E. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **106**, 621-648 (2004)
- 62) Saliu F.; Modugno F.; Orlandi M.; Colombini M.P. HPLC-APCI-MS analysis of triacylglycerols (TAGs) in historical pharmaceutical ointments from the eighteenth century. *Anal Bioanal Chem.* **401**, 1785-1800 (2011)
- 63) Robertsii, L.; Oates, J.; Linton, M.; Fazio, S.; Meador, B.; Gross, M.; Shyr, Y.; Morrow, J. The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans. *Free Radic. Biol. Med.* **43**, 37–46 (2007)
- 64) Vaisali, C. ; Charanyaa, S. ; Belur, P. D. ; Regupathi, I. Refining of edible oils: a critical appraisal of current and potential technologies. *Int. J. Food Sci. Technol.* **50**, 13-23 (2015)
- 65) Weihrauch, J.L.; Gardner, J.M. Sterol content of foods of plant origin. *J. Am. Diet Assoc.* **73**, 39-47 (1978)
- 66) John M. R. Cholesterol biosynthesis: lanosterol to cholesterol. *J. Chem. Educ.* **79**, 377-384 (2002)
- 67) Zhao, L.; Chen, X.; Zhu, J.; Xi, Y.; Yang, X.; Hu, L.; Ouyang, H.; Patel, S.H.; Jin, X.; Lin, D.; Wu, D.; Flagg, K.; Cai, H.; Li, G.; Cao, G.; Lin, Y.; Chen, D.; Wen, C.; Chung, C.; Wang, Y.; Qiu, A.; Yeh, E.; Wang, W.; Hu, X.; Grob, S.; Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts. *Nature.* **523**, 607-611 (2015)
- 68) Yasumoto S.; Seki H.; Shimizu Y.; Fukushima E.O.; Muranaka T. Functional characterization of CYP716 family P450 enzymes in triterpenoid biosynthesis in tomato. *Front Plant Sci.* **8**, 1-13 (2017)
- 69) Mengoni, F.; Lichtner, M.; Battinelli, L.; Marzi, M.; Mastroianni, C.M.; Vullo, V.; Mazzanti, G. In vitro anti-HIV activity of oleanolic acid on infected human mononuclear cells. *Planta Medica.* **68**, 111–114 (2002)

- 70) Ma, J. L.; Ye, H.; Rui, Y. K.; Chen, G. C.; Zhang, N. Y. Fatty acid composition of *Camellia oleifera* oil. *J. Verbrauch. Lebensm.* **6**, 9-12 (2011)
- 71) Sahari, M.A.; Ataii, D.; Hamed, M. Characteristics of tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **81**, 585-588 (2004)
- 72) Liu, J.; Wu, L.; Chen, D.; Yu, Z.; Wei, C. Development of a soil quality index for *Camellia oleifera* forestland yield under three different parent materials in Southern China. *Soil Tillage Res.* **176**, 45-50 (2018)
- 73) Qin, S.; Rong, J.; Zhang, W.; Chen, J. Cultivation history of *Camellia oleifera* and genetic resources in the Yangtze River Basin. *Biodiversity Science.* **26**, 384-395 (2018)
- 74) National Forestry and Grassland Administration. *National Oil-Tea Camellia Industry Development Plan (2009–2020)*. National Forestry and Grassland Administration, People's Republic of China. p. 1-14 (2009)
- 75) China Meteorological Administration [Internet]. Beijing, China. <https://data.cma.cn/data/weatherBk.html> Accessed 11 May 2019
- 76) JOCS Standard Method 2.1.3.2-2013, Moisture (air oven method). *In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials*, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 77) Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917 (1959)
- 78) 宮沢陽夫, 藤野泰郎. 脂質・酸化脂質分析法入門. 学会出版センター. p. 74-76 (2000)
- 79) Agar, I.T.; Hess-Pierce, B.; Sourour, M.M.; Kader, A.A. Quality of fruit and oil of black-ripe olives is influenced by cultivar and storage period. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3415-3421 (1998)
- 80) Huang, J.; Ahrends, A.; He, Jun.; Gui, H.; Xu, J.; Mortimer, P. An evaluation of the factors influencing seed oil production in *Camellia reticulata* L. plants. *Ind. Crops Prod.* **50**, 797-802 (2013)
- 81) Rizwan, S.; Benincasa, C.; Mehmood, K.; Anjum, S.; Mehmood, Z.; Alizai, G. H.; Azam, M.; Perri, E.; Sajjad, A. Fatty acids and phenolic profiles of extra virgin olive oils from selected Italian cultivars introduced in southwestern province of Pakistan. *J. Oleo. Sci.* **68**, 33-43 (2019)
- 82) Smiddy, M.A.; Huppertz, T.; van Ruth, S.M. Triacylglycerol and melting profiles of milk fat from several species. *Int. Dairy J.* **24**, 64-69 (2012)
- 83) Gliszczynska-Świgło, A.; Sikorska, E.; Khmelinskii, I.; Sikorski, M. Tocopherol content in edible plant oils. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **57**, 157-161 (2007)
- 84) Kritchevsky, D.; Chen, S.D. Phytosterols – health benefits and potential concerns: a review. *Nutr. Res.* **25**, 413–428 (2005)
- 85) Toiu, A.; Mocan, A.; Vlase, L.; Pârvu, A.E.; Vodnar, D.C.; Gheldiu, A.-M.; Moldovan, C.; Oniga, I. Comparative phytochemical profile, antioxidant, antimicrobial and in vivo anti-inflammatory activity of different extracts of traditionally used romanian *ajuga genevensis* L. and *A. reptans* L. (Lamiaceae). *Molecules.* **24**, 1597-1618 (2019)
- 86) Itoh, T.; Tamura, T.; Matsumoto, T. Sterol composition of 19 vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **50**, 122-125 (1973)
- 87) Xin, T.; Huang, W.; De Riek, J.; Zhang, S.; Ahmed, S.; Van Huylenbroeck, J.; Long, C. Genetic diversity, population structure, and traditional culture of *Camellia reticulata*. *Ecol. Evol.* **7**,

- 8915–8926 (2017)
- 88) Chen, Y.; Yang, C.; Chang, M.; Ciou, Y.; Huang, Y. Foam properties and detergent abilities of the saponins from *Camellia oleifera*. *Int. J. Mol. Sci.* **11**, 4417–4425 (2010)
  - 89) Hostettmann, K. *Saponins*. Cambridge university press. Cambridge. p. 3 (1995)
  - 90) Jia, T.; Wang, W.; Sun, L.; Lv, S.; Yang, K.; Zhang, N.; Huang, X.; Liu, J.; Liu, H.; Liu, R.; Gawish, F. A.; Habib, M. R.; El-Emam, M. A.; King, C. H.; Zhou, X. Molluscicidal effectiveness of lu-wei, a novel plant-derived molluscicide, against *oncomelania hupensis*, *biomphalaria alexandrina* and *bulinus truncatus*. *Infect. Dis. Poverty.* **8**, 27-36 (2019)
  - 91) Tang, Y. The use of saponin to control predaceous fish in shrimp ponds. *N. Am. J. Aquac.* **23**, 43–45 (1961)
  - 92) Zhao, P.; Gao, D.; Xu, M.; Shi, Z.; Wang, D.; Yang, C.; Zhang, Y. Triterpenoid saponins from the genus *Camellia*. *Chem. Biodivers.* **8**, 1931-1942 (2011)
  - 93) Ye, Y.; Fang, F.; Li, Y. Isolation of the saponin from defatted seeds of *Camellia oleifera* and its neuroprotective effects on dopaminergic neurons. *J. Agric. Food Chem.* **62**, 6175-6182 (2014)
  - 94) Zong, J.; Wang, R.; Bao, G.; Ling, T.; Zhang, L.; Zhang, X.; Hou, R. Novel triterpenoid saponins from residual seed cake of *Camellia oleifera* Abel. show anti-proliferative activity against tumor cells. *Fitoterapia.* **104**, 7-13 (2015)
  - 95) Zhang, X.; Yang, S.; Han, Y.; Zhao, L.; Lu, G.; Xia, T.; Gao, L. Qualitative and quantitative analysis of triterpene saponins from tea seed pomace (*Camellia oleifera* Abel) and their activities against bacteria and fungi. *Molecules.* **19**, 7568-7580 (2014)
  - 96) Jin, X.; Ning, Y. Antioxidant and antitumor activities of the polysaccharide from seed cake of *Camellia oleifera* Abel. *Int. J. Biol. Macromol.* **51**, 364-368 (2012)
  - 97) Shen, S.; Cheng, H.; Li, X.; Li, T.; Yuan, M.; Zhou, Y. H.; Ding, C. B. Effects of extraction methods on antioxidant activities of polysaccharides from camellia seed cake. *Eur. Food Res. Technol.* **238**, 1015–1021 (2014)
  - 98) Zhang, S.; Li, X. Hypoglycemic activity in vitro of polysaccharides from *Camellia oleifera* Abel. seed cake. *Int. J. Biol. Macromol.* **115**, 811-819 (2018)
  - 99) Li, X.; Deng, J.; Shen, S.; Li, T.; Yuan, M.; Yang, R.; Ding, C. Antioxidant activities and functional properties of enzymatic protein hydrolysates from defatted *Camellia oleifera* seed cake. *J. Food Sci. Technol.* **52**, 5681–5690 (2015)
  - 100) He, S. N.; Gu, Y. The comprehensive utilization of camellia fruits. *Am. Camellia Yearbk.* **37**, 104–107 (1982)
  - 101) 食品機能性の科学編集委員会. *食品機能性の科学*. 産業技術サービスセンター p.299 (2008)
  - 102) Bematoniene, J.; Kopustinskiene, D. M. The role of catechins in cellular responses to oxidative stress. *Molecules.* **23**, 965-975 (2018)
  - 103) 安本知子. ゴマ種子中のセサミン・セサモリン含有量の変動要因解析と高含有品種の育成および脂質代謝における機能性評価. *作物研報.* **9**, 27-61 (2008)
  - 104) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一. *食品機能研究法: ポリフェノールの比色定量法 (フオリン-デニス法)*. 光琳. p.318~322 (2000)
  - 105) López-Alarcón, C.; Denicola, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A

- review on chemical and cellular-based assays. *Anal. Chim. Acta.* **763**, 1-10 (2013)
- 106) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一. 食品機能研究法 : 分光学的抗酸化機能評価. 光琳. p.218~220 (2000)
- 107) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一. 食品機能研究法 : 緑茶中の機能性成分(カテキン類 およいかフェイン)の定量法. 光琳. p.328~331 (2000)
- 108) Perez-Jimenez, J.; Neveu, V.; Vos, F.; Scalbert, A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the phenol-explorer database. *Eur. J. Clin. Nutr.* **3**, 112-120 (2010)
- 109) Chen, J.; Liao, B.; Jong, T.; Chang, C. Extraction and purification of flavanone glycosides and kaempferol glycosides from defatted *Camellia oleifera* seeds by salting-out using hydrophilic isopropanol. *Sep. Purif. Technol.* **67**, 31-37 (2009)
- 110) Du, L.; Wu, B.; Chen, J. Flavonoid triglycosides from the seeds of *Camellia oleifera* Abel. *Chin. Chem. Lett.* **19**, 1315-1318 (2008)
- 111) Calderón-Montaña, J. M.; Burgos-Morón, E.; Pérez-Guerrero, C.; López-Lázaro, M. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Rev. Med. Chem.* **11**, 298-344 (2011)
- 112) Shahidi, F. Antioxidants in food and food antioxidants. *Mol. Nutr. Food Res.* **44**, 158-163 (2000)
- 113) Pokorný, J.; Yanishlieva, N.; Gordon, M. *Antioxidants in Food: Practical Applications*. Woodhead Publishing, Ltd., Cambridge, England, p. 7-21 (2001)
- 114) 戸谷洋一郎, 原節子. 油脂の科学. 朝倉書店 p. 154-169 (2015)
- 115) Min, D. B.; Boff, J. M. *Lipid Oxidation of Edible Oil*. Marcel Dekker, New York, p. 335-363 (2002)
- 116) Fritsch, C.W.; Measurements of frying fat deterioration: A brief review. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **58**, 272-274 (1981)
- 117) Dimitra, H.; Vasso, O.; Constantina, T. The effect of process time and temperature on the accumulation of polar compounds in cottonseed oil during deep-fat frying. *J. Sci. Food Agric.* **83**, 314-319 (2003)
- 118) Shahidi, F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6th ed. Vol. 4. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, p. 5 (2005)
- 119) Aladedunye, F. A. Curbing thermos-oxidative degradation of frying oils: Current knowledge and challenges. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **117**, 1867-1881 (2015)
- 120) Shahidi, F.; Zhong, Y., Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem. Soc. Rev.* **39**, 4067-4079 (2010)
- 121) Beckmann, H. J. Hydrogenation practice *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 282-290 (1983)
- 122) 遠藤泰志. 食用油脂の微量成分. *油化学.* **39**, 611-617 (1990)
- 123) Lee, J.; Kim, M.; Choe, E. Antioxidant activity of lignan compounds extracted from roasted sesame oil on the oxidation of sunflower oil. *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 981-987 (2007)
- 124) Hemalatha, S.; Ghafoorunissa. Sesame lignans enhance the thermal stability of edible vegetable oils. *Food Chem.* **105**, 1076-1085 (2007)
- 125) Nyström, L.; Achrenius, T.; Lampi, A.; Moreau, R.; Piironen, V. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. *Food Chem.* **101**, 947-954 (2007)

- 126) Yi, J.; Andersen, M.; Skibsted, L. Interactions between tocopherols, tocotrienols and carotenoids during autoxidation of mixed palm olein and fish oil. *Food Chem.* **127**, 1792-1797 (2011)
- 127) Leonardis, A. D.; Macciola, V. Heat-oxidation stability of palm oil blended with extra virgin olive oil. *Food Chem.* **135**, 1769-1776 (2012)
- 128) Smouse, T. H. *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. Am. Oil Chem. Soc. p. 85 (1985)
- 129) Gordon, M. H.; Magos, P. The effect of sterols on the oxidation of edible oils. *Food Chem.* **10**, 141-147 (1983)
- 130) Winkler, J.; Warner, K. The effect of phytosterol concentration on oxidative stability and thermal polymerization of heated oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **110**, 455-464 (2008)
- 131) Wang, T.; Hicks, K.; Moreau, R. Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other phytosterol conjugates. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **79**, 1201-1206 (2002)
- 132) Singh, A. Sitosterol as an antioxidant in frying oils. *Food Chem.* **137**, 62-67 (2013)
- 133) Jiménez, P.; García, P.; Bustamante, A.; Barriga, A.; Robert, P. Thermal stability of oils added with avocado (*Persea americana* cv. Hass) or olive (*Olea europaea* cv. Arbequina) leaf extracts during the French potatoes frying. *Food Chem.* **221**, 123-129 (2017)
- 134) Tian, L. L.; White, P. J. Antipolymerization activity of oat extract in soybean and cottonseed oils under frying conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 1087-1094 (1994)
- 135) JOCS Standard Method 2.5.4.2-2013, Carbonyl value (Butanol method). In Standard Methods for the Analysis of Fats, Oils and Related Materials, Japan Oil Chemists' Society, Tokyo (2013)
- 136) 奥山治美; 菊川清見. 脂質栄養と脂質過酸化. 学会センター関西 p.98 (1998)
- 137) 宮澤陽夫, 藤野泰郎. 脂質・酸化脂質分析法入門. 学会出版センター p.54 (2006)
- 138) Mohammed, A.; Long, K.; Lai, O. M.; Muhammad, K.; Ghazali, H. M. Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetable oils. *Food Chem.* **105**, 1382-1389 (2007)
- 139) Zeb, A.; Nisar, P. Effects of high temperature frying of spinach leaves in sunflower oil on carotenoids, chlorophylls, and tocopherol composition. *Front Chem.* **5**, 19-26 (2017)
- 140) Gouvinhas, I.; Machado, N.; Sobreira, C.; Dominguez-Perles, R.; Gomes, S.; Rosa, E.; Barros, A. Critical review on the significance of olive phytochemicals in plant physiology and human health. *Molecules.* **22**, 1986-2020 (2017)
- 141) Trevisan, M.; Krogh, V.; Freudenheim, J.; Blake, A.; Muti, P.; Panico, S.; Farinaro, E.; Mancini, M.; Menotti, A.; Ricci, G. Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. *JAMA.* **263**, 688-692 (1990)
- 142) FDA statement. Statement from FDA Commissioner Scott Gottlieb, M.D., on a new qualified health claim for consuming oils with high levels of oleic acid to reduce coronary heart disease risk.  
<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/statement-fda-commissioner-scott-gottlieb-md-new-qualified-health-claim-consuming-oils-high-levels> Accessed 14 October 2019
- 143) Moreau, R. A.; Whitaker, B. D.; Hicks, K. B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog. Lipid Res.* **41**, 457-500 (2002)
- 144) He, W. S.; Zhu, H.; Chen, Z. Y. Plant sterols: chemical and enzymatic structural modifications

- and effects on their cholesterol-lowering activity. *J. Agric. Food Chem.* **66**, 3047-3062 (2018)
- 145) Peterson, D. W., Effect of soybean sterols in the diet on plasma and liver cholesterol in chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **78**, 143-147 (1951)
- 146) Gil-Ramírez, A.; Caz, V.; Martín-Hernández, R.; Marín, F. R.; Largo, C.; Rodríguez-Casado, A.; Tabernero, M.; Ruiz-Rodríguez, A.; Reglero, G.; Soler-Rivas, C. Modulation of cholesterol-related gene expression by ergosterol and ergosterol-enriched extracts obtained from *Agaricus bisporus*. *Eur. J. Nutr.* **55**, 1041-1057 (2016)
- 147) Cofan, M.; Ros, E. Clinical application of plant sterol and stanol products. *J. AOAC Int.* **98**, 701-706 (2015)
- 148) Ellegard, L. H.; Andersson, S. W.; Normen, A. L.; Andersson, H. A. Dietary plant sterols and cholesterol metabolism. *Nutr. Rev.* **65**, 39-45 (2007)
- 149) Park, Y.; Carr, T. P. Unsaturated fatty acids and phytosterols regulate cholesterol transporter genes in Caco-2 and HepG2 cell lines. *Nutr. Res.* **33**, 154-161 (2013)
- 150) Liang, Y. T.; Wong, W. T.; Guan, L.; Tian, X. Y.; Ma, K. Y.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. Effect of phytosterols and their oxidation products on lipoprotein profiles and vascular function in hamster fed a high cholesterol diet. *Atherosclerosis.* **219**, 124-133 (2011)
- 151) Ho, S. S.; Pal, S. Margarine phytosterols decrease the secretion of atherogenic lipoproteins from HepG2 liver and Caco2 intestinal cells. *Atherosclerosis.* **182**, 29-36 (2005)
- 152) De Smet, E.; Mensink, R. P.; Konings, M.; Brufau, G.; Groen, A. K.; Havinga, R.; Schonewille, M.; Kerksiek, A.; Lütjohann, D.; Plat, J. Acute intake of plant stanol esters induces changes in lipid and lipoprotein metabolism-related gene expression in the liver and intestines of mice. *Lipids.* **50**, 529-541 (2015)
- 153) Fernández, C.; Suárez, Y.; Ferruelo, A. J.; Gómez-Coronado, D.; Lasunción, M. A. Inhibition of cholesterol biosynthesis by  $\Delta^{22}$ -unsaturated phytosterols via competitive inhibition of sterol  $\Delta^{24}$ -reductase in mammalian cells. *Biochem. J.* **366**, 109-119 (2002)
- 154) He, W. S.; Wang, M. G.; Pan, X. X.; Li, J. J.; Jia, C. S.; Zhang, X. M.; Feng, B. Role of plant stanol derivatives in the modulation of cholesterol metabolism and liver gene expression in mice. *Food Chem.* **140**, 9-16 (2013)
- 155) Plat, J.; Nichols, J. A.; Mensink, R. P. Plant sterols and stanols: effects on mixed micellar composition and LXR (target gene) activation. *J. Lipid Res.* **46**, 2468-2476 (2005)
- 156) Taha, D. A.; Wasan, E. K.; Wasan, K. M.; Gershkovich, P. Lipid-lowering activity of natural and semi-synthetic sterols and stanols. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **18**, 344-367 (2015)
- 157) Rideout, T. C.; Marinangeli, C. P. F.; Harding, S. V. Triglyceride-lowering response to plant sterol and stanol consumption. *J. AOAC Int.* **98**, 707-715 (2015)
- 158) Miettinen, T. A.; Gylling, H. Regulation of cholesterol metabolism by dietary plant sterols. *Curr. Opin. Lipidol.* **10**, 9-14 (1999)
- 159) Tomoyori, H.; Kawata, Y.; Higuchi, T.; Ichi, I.; Sato, H.; Sato, M.; Ikeda, I.; Imaizumi, K. Phytosterol oxidation products are absorbed in the intestinal lymphatics in rats but do not accelerate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Nutr.* **134**, 2738-2738 (2004)
- 160) Rideout, T. C.; Harding, S. V.; Jones, P. J. H. Consumption of plant sterols reduces plasma and hepatic triglycerides and modulates the expression of lipid regulatory genes and de novo lipogenesis in C57BL/6J mice. *Mol. Nutr. Food Res.* **54**, 7-13 (2010)



- 161) Feng, S.; Dai, Z.; Liu, A. B.; Huang, J.; Narsipur, N.; Guo, G.; Kong, B.; Reuhl, K.; Lu, W.; Luo, Z.; Yang, C. S. Intake of stigmasterol and beta-sitosterol alters lipid metabolism and alleviates NAFLD in mice fed a high-fat western-style diet. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Biol. Lipids.* **1863**, 1274-1284 (2018)
- 162) Kuo, Y. H.; Lin, C. H.; Shih, C. C. Ergostatrien-3beta-ol from *Antrodia camphorata* inhibits diabetes and hyperlipidemia in high-fat-diet treated mice via regulation of hepatic related genes, glucose transporter 4, and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *J. Agric. Food Chem.* **63**, 2479-2489 (2015)
- 163) Fukuoka, D.; Okahara, F.; Hashizume, K.; Yanagawa, K.; Osaki, N.; Shimotoyodome, A. Triterpene alcohols and sterols from rice bran lower postprandial glucose-dependent insulinotropic polypeptide release and prevent diet-induced obesity in mice. *J. Appl. Physiol.* **117**, 1337-1348 (2014)
- 164) Schonewille, M.; Brufau, G.; Shiri-Sverdlov, R.; Groen, A. K.; Plat, J. Serum TG-lowering properties of plant sterols and stanols are associated with decreased hepatic VLDL secretion. *J. Lipid Res.* **55**, 2554-2561 (2014)
- 165) Plat, J.; Mensink, R. P. Plant stanol esters lower serum triacylglycerol concentrations via a reduced hepatic VLDL-1 production. *Lipids.* **44**, 1149-1153 (2009)
- 166) Harding, S. V.; Rideout, T. C.; Jones, P. J. Hepatic nuclear sterol regulatory binding element protein 2 abundance is decreased and that of ABCG5 increased in male hamsters fed plant sterols. *J. Nutr.* **140**, 1249-1254 (2010)
- 167) Batta, A. K.; Xu, G.; Honda, A.; Miyazaki, T.; Salen, G. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat. *Metab. Clin. Exp.* **55**, 292-299 (2006)
- 168) De Smet, E.; Mensink, R. P.; Konings, M.; Brufau, G.; Groen, A. K.; Havinga, R.; Schonewille, M.; Kerksiek, A.; Lütjohann, D.; Plat, J. Acute intake of plant stanol esters induces changes in lipid and lipoprotein metabolism-related gene expression in the liver and intestines of mice. *Lipids.* **50**, 529-541 (2015)

## 謝辞

本論文は、東京工科大学にて遠藤泰志教授のご指導のもと、取り組んできた一連の研究をまとめたものです。遠藤泰志教授は、修士課程から7年間にわたり、公私問わず私を支えてくださり、留学生生活を安心して過ごすことができました。本論文に関しては、研究のテーマ設定や進め方、取りまとめに至るまで並々ならぬご指導とご鞭撻を賜りました。厳格なる態度で学問の基礎を学ばせてくださったことは、これから研究者としての道を歩むにあたり、貴重なご教示でした。ここに深く感謝致します。

副査である今井伸二郎教授・梶原一人教授・多田雄一教授・野嶽勇一教授には査読と本学位論文作成にあたりご助言をいただきました。厚く御礼申し上げます。

第6章における動物実験には昭和女子大学の渡辺睦行准教授・小曾根南美さんにご協力いただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

また、GC-MS、LC-TOF-MSを取り扱うにあたり、ご助言を賜りました浦瀬太郎教授・藤沢章雄准教授に厚く御礼申し上げます。

ユチャ果実を提供してくださった中国カン州市ユチャ協会の劉常春会長、ユチャ油を提供してくださった中国春源綠色食品有限公司の王照飛社長に感謝の意を表します。

本論文を作成するにあたり、東京工科大学食品機能化学研究室の伊藤大樹さん、西村佳子さんにご協力いただきました。厚く御礼を申し上げます。

本研究を遂行する上で実験全般にわたりご指導、ご協力をいただきました食品機能化学研究室の青山実樹さん・藤森彩香さん・鷲尾藍紀さんをはじめ、4年生各位に御礼を申し上げます。

最後に、これまで私を暖かく応援してくれた両親、私を明るく励まし続けてくれた妻 余心茹、娘 曾芷悠に心から感謝します。

2019年10月 ZENG, Wei