

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：11401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560044

研究課題名(和文) 伝統的食用油の特性を生かした新規健康志向型食用油の創成に関する研究

研究課題名(英文) Development of the new healthy oil with a characteristic similar to the traditional edible oil

研究代表者

池本 敦 (Ikemoto, Atsushi)

秋田大学・教育文化学部・教授

研究者番号：60295615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：秋田の伝統的食用油であるアケビ油は1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート(DAGA)を主成分とし、体脂肪がつきにくく肥満予防に有効であるが、原材料の確保が困難で大量製造による実用化が困難な状況である。本研究では、アケビ油の特性を活かした大量製造可能な新規健康志向型食用油の開発を目的として研究を行った。新規油脂の開発については、酵素法及化学合成法の2つを検討した。前者では、アケビ種子酵素を活用してDAGAを合成することができた。後者では、ピリジン-無水酢酸法で大量にDAGAを合成することができた。これらを使用して、有効性及び安全性を検証し、新たな新規健康志向型食用油を開発することができた。

研究成果の概要(英文)：The akebia oil is the traditional edible oil made in Akita Prefecture. It is composed primarily of 1,2-diacylglycero-3-acetate (DAGA) and effective for the obesity prevention. However the akebia seeds as the raw materials are scarce and the mass production is difficult in large quantities. In this study, we studied on development of the new healthy oil with a characteristic similar to the traditional edible oil using two methods, the enzymatic method and the chemical synthetic method. In the former, we utilized enzymes contained in the microsomal fraction of akebia seeds. In the latter, pyridine and acetic anhydride were used as catalyst and acetyl donor, respectively. We were able to develop new health-oriented edible oil and confirmed the safety and the preventive effect for obesity.

研究分野：栄養生化学

キーワード：アケビ 食用油 1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート アセチル化油脂 ジアシルグリセロールアセチル  
ルトランスフェラーゼ

### 1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化に伴って脂質摂取量が増大し、ガンや心臓病等の生活習慣病が増加した。高脂肪食が肥満・メタボリック症候群や糖尿病へとつながることは、生活者に広く認識されるようになった。一般に食用油はトリアシルグリセロール(TG)を主成分とし(Fig. 1) その栄養学的特性は脂肪酸の種類で決まる(1)。特に重要なのはリノール酸(n-6系)と $\alpha$ -リノレン酸(n-3系)のバランスである。リノール酸は体内でアラキドン酸を経てホルモン様物質に変換されて炎症や血栓形成を促進し、生活習慣病の一因となる。一方、n-3系脂肪酸はこれらに対し抑制的に作用し、脳機能の維持にも重要な役割を果たしている(2)。

以上のような背景から、我々は健康志向型の食用油を開発することを目的に、地域に存在する様々な油糧種子や植物素材を収集し、必須脂肪酸バランスのよい油脂を探索してきた。その過程で、アケビ種子油が脂肪酸ではなく酢酸(アセチル基)を含有する新規油脂であることを見出し、1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート(DAGA)と命名した(Fig. 1)。アケビ油の栄養学的特性をマウスを用いた動物実験で解析したところ、通常の食用油と比較して、体脂肪蓄積性が低く太りにくい性質があることが分かった(3)。

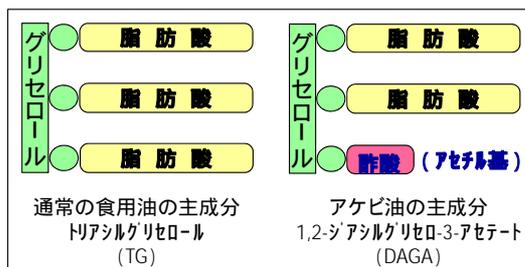


Fig. 1. 食用油脂の主成分

### 2. 研究の目的

アケビ油はかつて秋田で利用されていた伝統的食用油であり、江戸～明治初期には美味であることから「食用油の王様」と呼ばれ珍重された。しかし、原料に量的な限界があり、最盛期でも年間 50 L しか製造されていなかった。このため、菜種・大豆などの安価な輸入原料から大量製造された油に押され、昭和初期に消滅した。

本研究では、アケビ油の DAGA の優れた栄養学的特性を生かすために、酵素反応やアセチル化反応を利用した手法によって、一般植物油を材料としてアケビ油と同等の栄養学的特性を持った新規油脂を低コストで製造する方法を確立することを目的とした。

さらに、製造した油脂の安全性及び有用性を動物実験で検証し、市販の食用油と比較した際の優位性を検証した。同時に DAGA に特有な消化・吸収特性を解析し、低体脂肪蓄

積性のメカニズムを解析した。また、官能評価等により食用油としての調理特性を解析し、現代の生活者ニーズに適合した新規健康志向型食用油を開発することを目的とした。

### 3. 研究の方法

植物油から製造されたジアシルグリセロール(DG)を原材料とし、アケビ種子酵素の DG アセチルトランスフェラーゼを利用して 1,2-DAGA を製造する手法、無水酢酸を用いたアセチル化反応により 1,3-DAGA を製造する手法の 2 つを検討した(Fig. 2)。

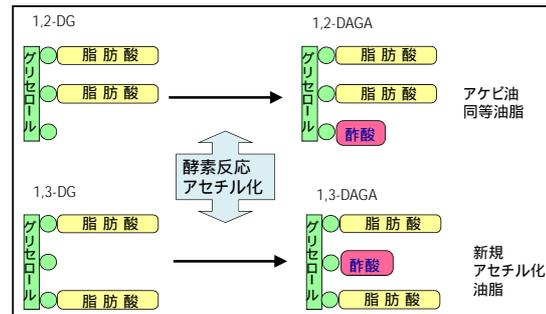


Fig. 2. 新規食用油脂の製造法

製造した新規アセチル化油脂の安全性及び有効性について、品質安定性(酸価、過酸化物価等)とマウスを用いた動物実験等で検証し、DAGA が低体脂肪蓄積性を有し、肥満予防に有効であるかどうか検証した。

また、膵リパーゼ及び培養腸管由来細胞を用いて、新規アセチル化油脂の消化・吸収・再合成の過程を解析し、その低吸収性や細胞内代謝の分子メカニズムを解析した。

製造した新規アセチル化油脂を様々な食品の調理・加工に活用し、官能評価等により食用油としての調理特性を解析し、食生活における活用法を検討した。以上で得られた知見を生かし、生活者ニーズに適合した新規健康志向型食用油を開発し、研究成果を地域社会に還元する活動を行った。

### 4. 研究成果

#### 1) アケビ種子酵素の DG アセチルトランスフェラーゼを利用した 1,2-DAGA の製造

アケビ種子の収穫時期、種子のどの分画に酵素が存在するかを DG の各種分子種と $^{14}\text{C}$ アセチル-CoA を基質として、生成する $^{14}\text{C}$ DAGA の放射活性を測定することで解析した。その結果、アケビ種子に DAGA 合成酵素であるジアシルグリセロール(DG)アセチルトランスフェラーゼ活性が存在することを見出した(Fig. 3)。

しかし、搾油する時期(秋)の成熟種子では酵素活性が失われており、急激に種子中に油脂が蓄積する夏期の種子で最大の活性を有することが分かった。

種子から酵素の調整が困難な場合は、DG

アセチルトランスフェラーゼの遺伝子を同定してcDNAを単離した。大腸菌などで大量発現系を構築し、酵素タンパク質を産生させることができた。調製した酵素について、基質濃度や反応温度・時間、pHなどの至適条件を決定した。

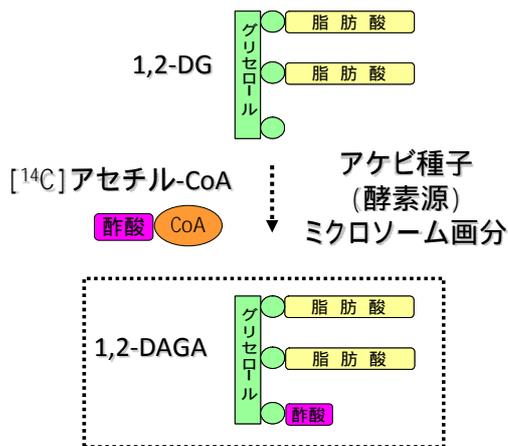


Fig. 3. 酵素法による 1,2-DAGA の合成

2) 無水酢酸を用いたアセチル化反応による 1,3-DAGA 製造手法の確立

無水酢酸をアセチル基供給物質とし、ピリジン触媒で、DG をアセチル化し、1,2-DAGA 及び 1,3-DAGA の混合物を化学合成することに成功した (Fig. 4)。

また、触媒のピリジンは生体にとってを有害であるため、除去する条件を検討した。製造した油脂を水洗することで、十分にピリジンを除去することができた。

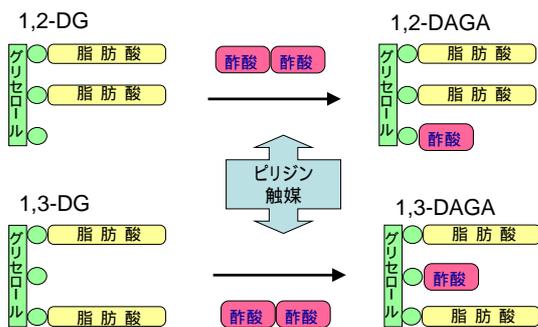


Fig. 4. 化学合成法による DAGA の合成

3) 製造した新規アセチル化油脂の品質安定性の確認と有効性・安全性の検証

化学合成法により製造した DAGA は 1,2-DAGA と 1,3-DAGA の混合物であり、その含有比率は 3:7 であった。粗製造油から、不純物を取り除く方法を検討し、脱ガムや脱酸の至適条件を確立した。また、製造した油

脂をマウスに与える摂食実験を行い、体脂肪蓄積性が低く肥満予防に有効であることを確認することができた (Fig. 5-7)。

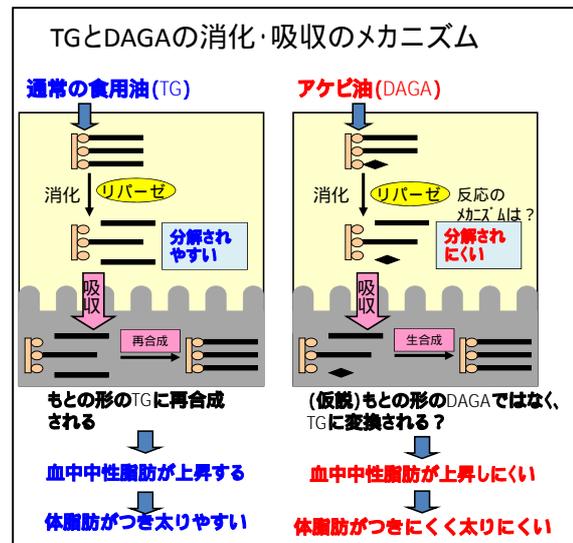


Fig. 5. DAGA の低体脂肪蓄積性の機構

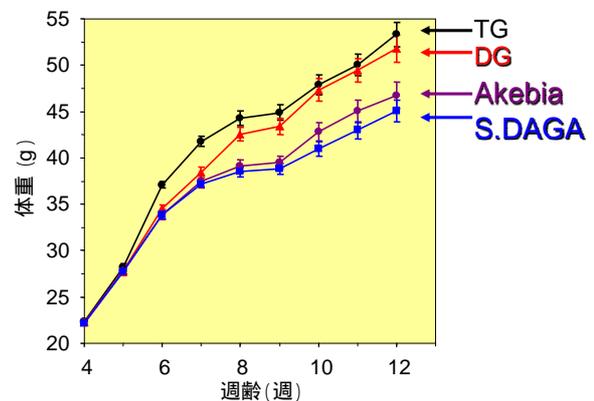


Fig. 6. マウスの体重の変化

TG: トリアシルグリセロール油、DG: ジアシルグリセロール油、Akebia: アケビ油、S.DAGA: 新規合成 DAGA 油

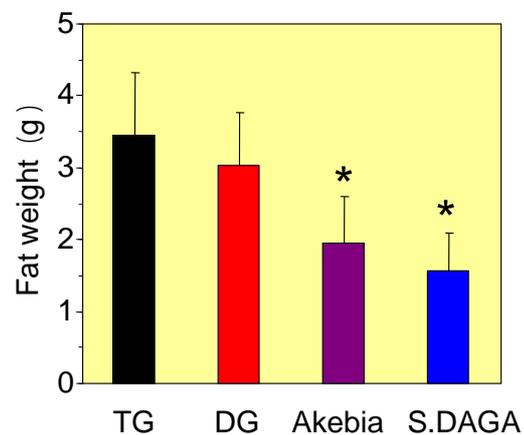


Fig. 7. マウスの内臓脂肪の重量

#### 4) 製造した新規アセチル化油脂の品質安定

製造した油脂から酵素タンパク質などの油脂以外の物質を取り除く精製の方法を検討した。加水・加熱による沈殿物を除去する脱ガム、遊離脂肪酸を除去する脱酸などの工程を遂行した。

油脂の特有の性質を調べ、製造した油脂に固有な品質特性を調べた。具体的には、脂肪酸組成、比重、屈折率、けん化価、よう素価、不けん化物などを測定した。

製造した油脂が基準とする品質レベルの範囲にあることを科学的に確認した。具体的には、酸価 (AV)、過酸化価 (POV)、一般状態 (清澄度、風味等)、色、水分夾雑物などを測定した。

以上の指標を総合的に評価した結果、製造した新規アセチル化油脂は食用油としての品質に適合することを確認できた。

また、製造した油脂をマウスに与える摂食実験を行い、肝臓毒性の指標となる血清 AST 及び ALT を測定した。通常の食用油であるトリアシルグリセロール油 (TG) と新規アセチル化油脂 (S.DAGA) を摂取したマウスの測定値に左派見られなかった。以上のように、新規合成油脂の安全性を確認することができた (Fig. 8)。

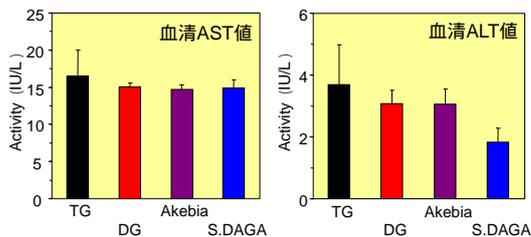


Fig. 8. マウスの血清 AST 及び ALT

TG: トリアシルグリセロール油、DG: ジアシルグリセロール油、Akebia: アケビ油、S.DAGA: 新規合成 DAGA 油

#### < 引用文献 >

- (1) William E. M. Lands、池本 敦、脂質栄養：過去と将来の長期的展望、*脂質栄養学*、**16**, 9-19 (2007)
- (2) 池本 敦、脳機能における n-3 系脂肪酸の必須性 - 行動科学的評価と分子基盤の解析、*脂質栄養学*、**21**, 17-25 (2012)
- (3) 池本 敦、地方発バイオイノベーションの進展と機能性食素材開発・秋田県発フードイノベーション - 秋田の食資源を活用した健康食品素材の開発、*Food style* **21**, **16**, 19-22 (2012)

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

- (1) 池本 敦、三浦愛里、鈴木景子、「マイブレート」を活用した脂質栄養指導の実践、*秋田大学教育文化学部研究紀要 (自然科学)* 査読無、**71**, 79-87 (2016)
- (2) 池本 敦、鈴木景子、伊藤慎一、昌子智由、秋田の伝統食であるアケビ種子油及び果皮を活用した健康食品の開発、*食品と開発*、査読有、**50**, 74-76 (2015)
- (3) 池本 敦、黄 鐘倩、「いきものみつけファーム in 大仙おばこ」における食育・環境教育を通じた地域づくり活動、*秋田大学教育文化学部教育実践研究紀要*、査読無、**37**, 223-231 (2015)
- (4) 黄 鐘倩、鈴木景子、池本 敦、脂質栄養指導の実践、中国産及び日本産菜種油の安全性と品質の評価、*秋田大学教育文化学部研究紀要 (自然科学)* 査読無、**70** 99-110 (2015)
- (5) 池本 敦、食用油脂の製造と安全性及び有効性について、*食品機械装置*、査読有、**51**, 54-63 (2014)
- (6) 池本 敦、オメガ 3 脂肪酸の健康食品・サプリメントとしての実態と利用法、*秋田大学教育文化学部研究紀要 (自然科学)* 査読無、**69**, 121-129 (2014)
- (7) 池本 敦、小泉幸央、杉山俊博、佐藤 博、産学官連携による摘果スイカを活用した高血圧予防食品の開発、*食品と開発*、査読有、**48**, 80-82 (2013)

[学会発表] (計 8 件)

- (1) 鈴木景子、丹羽麻里那、池本 敦、アケビ種子油主成分 DAGA の消化・吸収機構の解析、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年 8 月 28 日 (佐賀)
- (2) 池本 敦、丹羽麻里那、黄 鐘倩、アケビ種子の 1,2-ジアシルグリセロ-3-アセテート (DAGA) 生合成酵素に関する研究、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年 8 月 28 日 (佐賀)
- (3) 三浦愛里、鈴木景子、池本 敦、マイブレートを活用した脂質栄養教育、日本脂質栄養学会第 23 回大会、2014 年 8 月 29 日 (東京)
- (4) 鈴木景子、木村裕美子、池本 敦、アケビ種子油の特性と果皮に含有される脂質吸収抑制成分、日本脂質栄養学会第 23 回大会、2014 年 8 月 29 日 (東京)
- (5) 池本 敦、生活習慣病予防のための脂質栄養とコレステロール、秋田県薬剤師会女性支部会 (招待講演)、2014 年 7 月 13 日 (秋田)

研究者番号：

- (6) 池本 敦、n-3 系脂肪酸の必須性の基盤と DHA の生理機能～脳機能から生活習慣病予防まで～、第 23 回水産油脂技術懇話会(招待講演)、2014 年 6 月 20 日(東京)
- (7) 池本 敦、地域天然植物資源を活用した健康食品・化粧品素材の開発、第 39 回ケミカルエンジニアリング交流会・粉体工学会東北談話会講演会、2013 年 11 月 29 日(秋田)
- (8) 池本 敦、三浦愛里、鎌田友紀、n-3 系脂肪酸による筋肉細胞の遺伝子発現の制御、日本脂質栄養学会第 22 回大会、2013 年 9 月 6 日(高知)

〔図書〕(計 2 件)

- (1) 池本 敦、被災地の未利用農産物を活用した健康食品素材の開発、「東日本大震災と家庭科」(望月一枝・日景弥生・長澤由喜子編著、全 192 頁)、ドメス出版、2014 年 6 月、pp.80-83.
- (2) 池本 敦、食べる - 授業実践・脂肪の質を考える、「生活の発見 生きる力をつける学習 未来をひらく家庭科」(望月一枝・倉持清美・妹尾理子・阿部睦子・金子京子編著、全 207 頁)、教育実務センター、2013 年 4 月、pp.18-19.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

名称：皮膚のしわ形成防止・改善剤、ヒアルロン酸生成促進剤、コラーゲン生成促進剤及び MMP 阻害剤

発明者：坂井田勉、田中 浩、八代洋一、池本 敦、後藤考宏

権利者：日本メナード株式会社、株式会社坂本バイオ、秋田大学

種類：特許

番号：特願 2013-144300

出願年月日：2013 年 7 月 10 日

国内外の別：国内

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

池本 敦 (IKEMOTO, Atsushi)

秋田大学・教育文化学部・教授

研究者番号：60295615

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )