

第56回近畿アグリハイテクシンポジウム
柿タンニンの底力！ ～柿タンニン利用のこれまでとこれから～
主催：NPO法人近畿アグリハイテク

平成25年12月19日(木) 13時から
奈良女子大学コラボレーションセンター

柿タンニンの正体 ～複雑な構造解析への挑戦～

鹿児島大学名誉教授
松尾 友明

一番お話ししたいことは？

「柿渋」「カキタンニン」の研究の面白さ、可能性、重要性をお伝えして、若い学生さん達、次世代の研究者の方に興味を持っていただきたい。

そして、現在の我々が予想できないような、基礎研究、用途開発、応用研究をしていただきたい。

私の仕事の1つだと思っています。

渋柿は何故渋いのか？

渋味成分であるカキタンニン(ポリフェノールの重合体)が高濃度で含まれるから！

*古くから渋抜き技術が発達した。

**柿渋としての利用

渋柿未熟果実・柿渋の利用

渋柿（渋柿の渋味成分）



柿渋（発酵生産物）



様々な利用



伊勢型紙



清酒のおり下げ



渋うちわ



どうして、こんな利用が可能なのか？

* * 柿渋のタンニンの研究は困難！



讃岐漆器



柿渋とは何か？

(現在は発酵方式と加熱抽出方式がある)

日本の伝統文化における、柿渋の多様な利用:

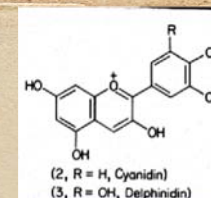
清酒のおり下げ、伊勢型紙の原板、漆器の下地、染色剤、塗料、建築資材など

何故、こんな利用ができるのか？ その秘密は？
どうして、こんな特性が生まれるのか？

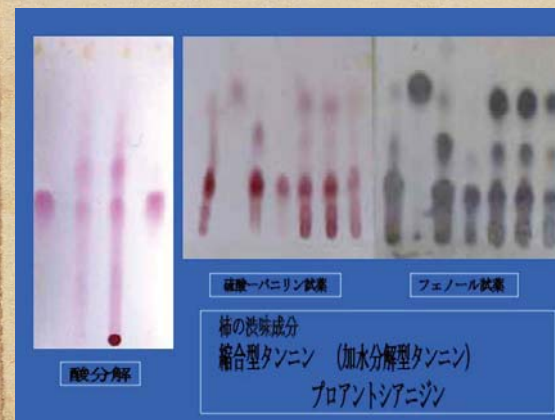
その秘密はカキタンニン(渋柿の渋味成分)の化学構造に潜んでいるのであろう。

正体その1: 構成成分の解明
(～縮合型タンニンの構造は複雑？)

- 1) 強酸による分解
～プロアントシアニジン ポリマの1種
- 2) 構成ユニットへの低分子化、
単量体の解明
～4種類のカテキン類から構成
- 3) ユニット(単量体の構成成分)の割合
～約1:2:1:2



強酸による分解



プロアントシアニジン ポリマー & オリゴマー のプロ？ 『前の』あるいは『以前の』という意味の接頭語。

つまり、強酸処理によりアントシアニジンという、赤い色素を生じる化合物ということです。

B環の水酸基の数によって、3種類存在する。(ペラルゴニジン、シアニジン、デルフィニジン)

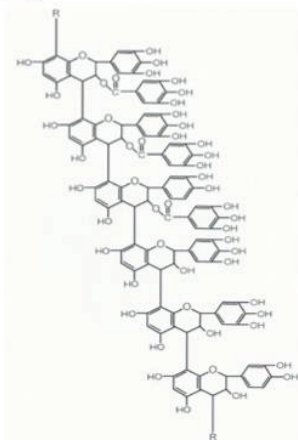
チオリシス分解により初めて構成成分に分解できた！！



正体その2:カキタンニン分子の溶解性

- 1)なぜカキタンニンは水に溶けるのか？
単量体のカテキン類とオリゴマーとの比較
- 2)カキタンニンはメタノール、エタノールには溶けるが、酢酸エチル、アセトン、ジオキサンなどの比較的非極性の溶媒には溶けない。
- 3)ジメチルフォルムアミド、ジメチルスルフォキサイドによく溶ける。両極性溶媒！
～カキタンニンゲルも溶解できる。

インタクトカキタンニンの推定化学構造



これまでの研究

- チオリシスによる、構成成分の同定
- 化学修飾後のゲル浸透クロマトグラフィーによる分子サイズの推定
- プロアントシアニジン ポリマーである

材料と方法

渋柿（品種：平種無）



ほぼ無色透明なインタクトカキタンニンの調製法



- ①遠心分離
- ②ろ過（自動連続限外ろ過装置）
- ③濃度測定（Folin-Ciocalteu法）

品質管理

- ①電気伝導度の測定（電解質の混入度を検定）
- ②酸化還元電位の測定（酸化程度を検定）
- ③紫外光可視光吸収スペクトラムの測定（溶液の色の定量化）

～SEC/HPLC :: single peak !



インタクトカキタンニンの着色溶液



音叉振動式（SV型）
粘度計
エー・アンド・デイ製
単位⇒cP(センチポワズ)

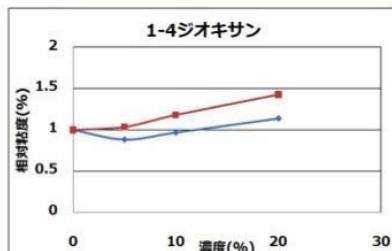
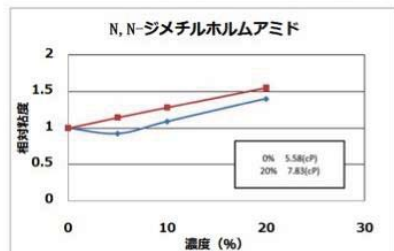
各種有機溶媒の添加効果

有機溶媒	誘電率	双極子モーメント	構造式	極性
N-Nジメチルホルムアミド	36.7	3.86D	<chem>CN(C)C=O</chem>	大
アセトン	20.7	2.69D	<chem>CC(=O)C</chem>	
イソプロピルアルコール	18.3	1.68D	<chem>CC(C)O</chem>	
THF (テトラヒドロフラン)	7.58	1.7D	<chem>C1CCOCC1</chem>	
1-4ジオキサン	2.24	0.45D	<chem>C1CCOCCO1</chem>	小

どの有機溶媒を添加しても顕著な粘度変化は観察されなかった。
分子間の疎水性結合の関与が小さい。

— カキタンニン
— コントロール

カキタンニン溶液の濃度 : 5.25%
コントロール : RO水に有機溶媒を添加
測定温度 : 19.5℃

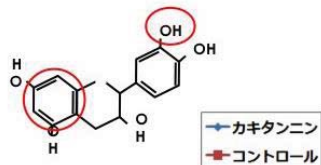


正体その3: カキタンニンの分子の大きさ

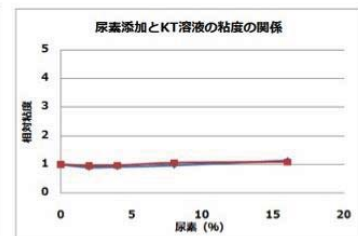
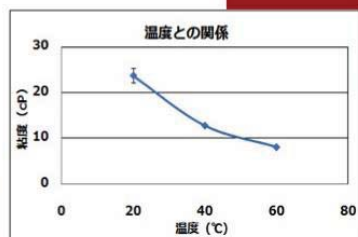
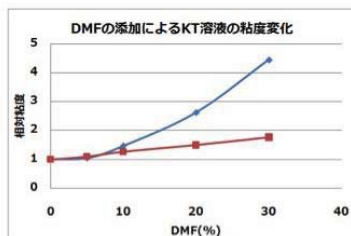
- 1) 粘度の比較
- 2) HPLC/GPCによる分析
- 3) 光散乱分析による分子サイズと分子量

～古典的な研究では、カキタンニン分子は壊れていた？！

高温処理と添加剤の効果

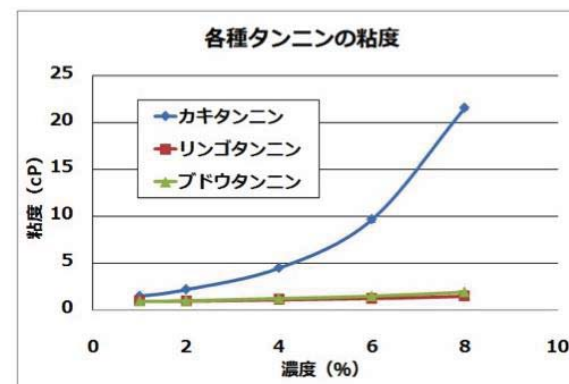


カキタンニン溶液の濃度 : 8%
コントロール : RO水に添加剤を添加
測定温度 : 19.5℃

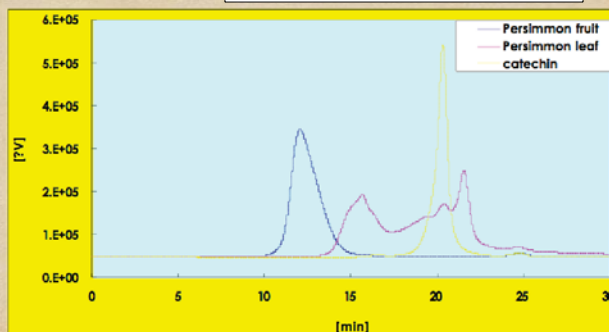
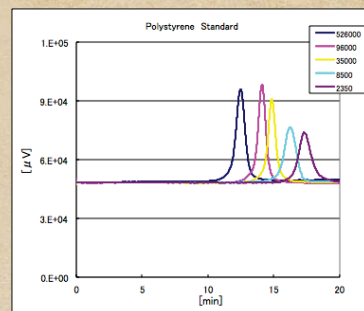
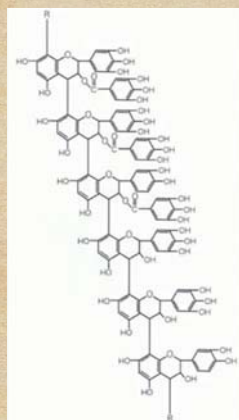


カキタンニンの濃度と粘度

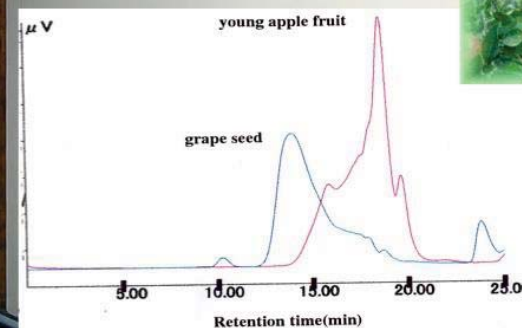
分子量 : ブドウタンニン (MW: 2500~3750)
< リンゴタンニン (MW: 1000~1250)
< カキタンニン (MW: 1万以上)



KTの分子間相互作用: 樽と樽の間に結合?

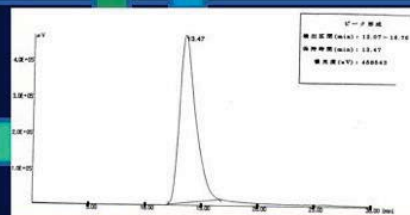


リンゴ摘果およびブドウ種子のタンニンの分子サイズと分布

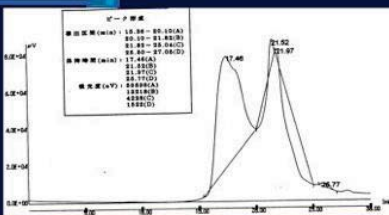


樹木のタンニンの分子量と分子量分布の解析

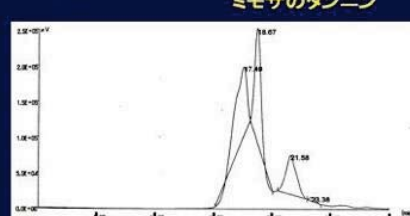
各種タンニンの分子サイズの比較



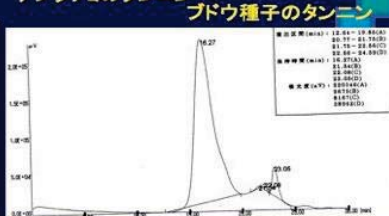
渋柿のタンニン



ケブラチョのタンニン



ミモザのタンニン



ブドウ種子のタンニン

①HPLCによるカキタンニンの分子量と分子サイズの測定

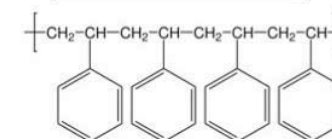
カキタンニンの分子量と粘度

Mw-(Daltons)	1.979×10^6
Rh-(nm)	18.652

ポリスチレンの分子量と粘度

Mw-(Daltons)	2.848×10^6
Rh-(nm)	56.249

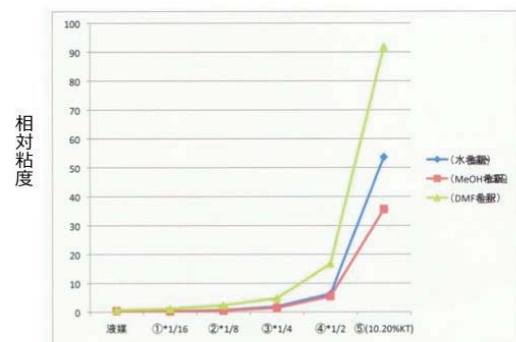
ポリスチレンの構造



➤直線的な構造
➤様々な分子量のものが手に入る

カキタンニンは
分子量は大きく、分子サイズは低かった

異なった溶媒中でのカキタンニンの粘度変化



**粘度の高さと回転半径が必ずしも一致しなかった。分子間の異なった作用が影響しているかもしれない。

異なる3種類の溶媒中でのカキタンニンの絶対分子量と回転半径の測定

静的光散乱分析:

装置: 大塚電子 DLS-8000

温度: 25.7~26.0 °C

角度: 20~150、7角度
~ ポアサイズ 0.8 μm の
フィルターでろ過

**溶液中での分子の広がりはどう
なっているのか?



サンプル1: (水溶液)

dn/dc (ml/g): 0.2261

溶媒の屈折率: 1.3311

濃度 (mg/ml): 0.506~2.024

サンプル2: (MeOH溶液)

dn/dc (ml/g): 0.2749

溶媒の屈折率: 1.3286

濃度 (mg/ml): 0.666~2.664

サンプル3: (DMF溶液)

dn/dc (ml/g): 0.1506

溶媒の屈折率: 1.4281

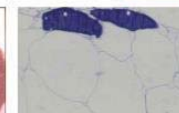
濃度 (mg/ml): 0.740~2.960

カキタンニン分子の挙動の不思議

カキタンニン研究の疑問点・謎

~ 基本の化学構造はプロアントシアニジンである。

- (1) 果実内の推定濃度と水に対する溶解度: 高い
- (2) 水溶液の粘性: 低い
- (3) チオリシスでの分解性: 不完全
- (4) HP-20 樹脂への結合能: 低い
- (5) ゲルの強度、割れる程度: 脆い
- (6) リンゴの効果及びブドウの種子のプロアントシアニジンとの相違点:



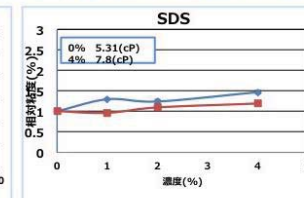
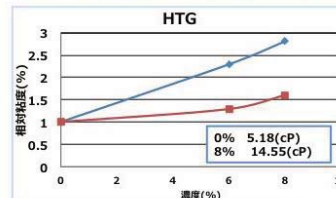
とてもユニークな化合物なんですよ!



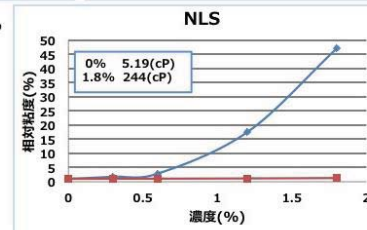
予想以上の高分子化合物!

ひも状構造ではないという仮説??

カキタンニン溶液の粘度に対する界面活性剤添加効果

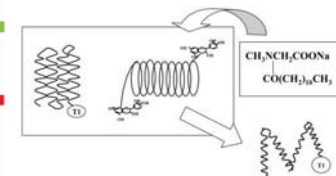


＜添加した界面活性剤＞
n-Heptyl-β-D-thioglucoside (HTG)
ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)
N-ラウロイルサルコシナトリウム (NLS)
ソルビタントリオレート
TWEEN20
NONIDED P-40



粘度上昇のメカニズム?

N-ラウロイルサルコシナトリウム



特異な構造ゆえ、他の分子との多様な相互作用

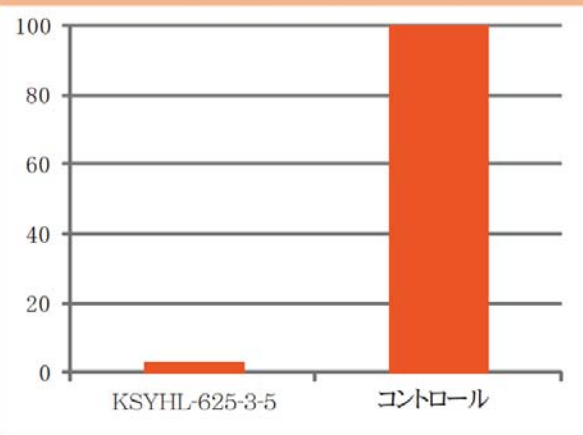
- 1) プロリンリッチな繊維状タンパク質との結合
～ * ゼラチンなどとの結合: 皮のなめし
* * 草食系動物の唾液タンパク質との結合
* * * 清酒のおり下げ工程の除タンパク質
- 2) 重金属やホウ酸との結合
～ * 泥染などの鉄を使った染色、発色
* * 金属の回収、除去など
- 3) アルカロイドとの親和性
- 4) ホウ酸、リン酸との結合

カキタンニンの特異な分子特性

ま と め

- 1) カキタンニンとはポリフェノールの重合体であり、酸やアルカリに比較的弱い。抗酸化性や活性酸素除去作用が強い。
- 2) カキタンニンは高分子化合物であるが、その分子量からの予想に反して粘度が低い、できたゲルも脆いという特異な物性を示す。
- 3) 水溶液中では高濃度で存在するが、酢酸エチル等の有機溶媒には溶けない。偏った両性極性を持つ? 特殊なフォールディング構造を持つ??

ノロウイルスゲノム残存率 (%)



広島大院・生物圏科学・島本 整

Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: strong effects of extracts from persimmon on a broad range of viruses. PLoS ONE 8(1):e55343(2013)

カキタンニン分子の生体内挙動

- 1) 生合成
- 2) 生分解

カキタンニンの応用研究のトピックス

- 1) 人工的低分子化と混合法
- 2) オイルとの親和性と新分野の開拓
カーボンナノチューブの可溶化?
- 3) マイクロカプセル、ナノカプセル
～変性を防ぐ、いい方法である。
- 4) 他の高分子化合物との結合、高い親和性の利用
ゾルやゲルとしての利用
- 5) 予想できない新分野の開発の可能性