



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | エゾワサビ ( <i>Cardamine fauriei</i> Maxim.) の栽培化の基礎となる辛味および抗酸化成分の同定ならびに含量に及ぼすLED 光波長の効果 [論文内容及び審査の要旨]                        |
| Author(s)           | 阿部, 圭馬                                                                                                                    |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                     |
| Degree Name         | 博士(農学)                                                                                                                    |
| Dissertation Number | 甲第11995号                                                                                                                  |
| Issue Date          | 2015-09-25                                                                                                                |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/60158">https://hdl.handle.net/2115/60158</a>                                         |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                           |
| File Information    | Keima_Abe_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                                           |



## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏 名 阿部 圭馬

### 学位論文題名

#### エゾワサビ (*Cardamine fauriei* Maxim.) の栽培化の基礎となる辛味および 抗酸化成分の同定ならびに含量に及ぼす LED 光波長の効果

エゾワサビは北海道の溪流沿いに自生するアブラナ科の山菜で、クレソンに似た食感と風味を有する。最近、組織培養苗を用いた水耕栽培技術が確立され、周年生産が実現可能になった。元来、山菜であるエゾワサビを新規野菜として普及するには、その特長を解明し広く周知する必要がある。しかし、アブラナ科野菜の特長ともいえる辛味や抗酸化成分に関する情報はエゾワサビに関して皆無であることから、本研究では、エゾワサビ植物体に含まれる辛味成分の前駆物質であるグルコシノレート (GSL) の組成および抗菌活性、ならびに抗酸化能に関連する成分の解明を目指した。また、近年光波長が植物体の生育および内生成分含量に影響を及ぼすことが知られるようになり、植物工場など光環境制御との関連から注目を集めている。エゾワサビは水耕栽培される葉菜類であり、光環境制御に適した作物といえる。そこで、各種 LED を用いて照射処理を行い、植物体の生育および機能性成分含量に及ぼす光波長の影響を解明しようとした。得られた結果の概要は、以下のとおりである。

##### 1. 辛味成分の同定

エゾワサビ植物体から GSL を抽出し脱硫化処理後 HPLC で分離したところ、3つのピークが得られた。これらを集めて ESI-MS および  $^1\text{H-NMR}$  で分析した結果、脂肪族 GSL のグルコナピンおよびグルコイバリンならびにインドール GSL のグルコブラシシンと同定された。葉身部の GSL 濃度は、葉柄部や根のそれに比べて高く、このうち 76.8%をグルコナピンが占めていた。エゾワサビ含有 GSL から揮発性のイソチアネート (ITC) をシャーレ内で発生させたところ、大腸菌 (*E. coli*) および植物病原菌である *Plectosporium tabacinum* に対し増殖抑制効果が確認され、エゾワサビ由来 ITC は抗菌活性を有することが明らかになった。

##### 2. 抗酸化成分の同定

エゾワサビ 80%エタノール抽出物の抗酸化活性を2つの方法 (DPPH 法および ORAC 法) で評価し、アブラナ科葉茎菜類 (キャベツ、ブロッコリー、ミズナおよびクレソン) のそれと比較したところ、いずれもエゾワサビが最も高い値を示した。この高い抗酸化活性をもたらす内生成分を特定するため、合成吸着剤 (Diaion HP-20)、ゲル濾過担体 (Sephadex LH-20)、固相抽出カラム (Sep-Pak C18) およびカラムクロマトグラフィー (Inert Sustain C18) を用いて順次分画し、最も強い抗酸化活性を示す画分を得た。MALDI-TOF MS で質量分析したところ、555.3  $m/z$  の大きな分子イオンピークが単独で得られたため、さらに精度の高い HRESI-MS、MS/MS および  $^1\text{H-NMR}$  を行った結果、この物質は  $N^1, N^{14}$ -diferuloylsperimine (DFSM) である可能性が示

唆された。これを実証するため、DFSM を人工合成し、天然物との比較を試みた。その結果、天然物および合成物のどちらも HPLC で 3 個のピークを分離し、それらは保持時間が一致し、全て同じ分子質量 ( $555.3177\text{ m/z}$ ) を有することが確認された。3つのピークは、DFSM の 3 種類のシス-トランス異性体に依拠するものと考えられる。これらの結果から、エゾワサビの主要な抗酸化成分は DFSM であることが判明した。DFSM がアブラナ科植物から見出されたのは初めてである。このほか、エゾワサビはケルセチン、ケンフェロールおよびシアニジンなどの抗酸化成分も豊富に含有することが明らかになった。

### 3. エゾワサビの生育、機能性成分含量および抗酸化活性に及ぼす LED 光波長の効果

エゾワサビ植物体に赤（単独）、青（単独）、緑（単独）、赤＋青および白（対照区）LED 光を照射し栽培したところ、青（単独）区で生育が旺盛となり、葉数、葉身長および総乾物重が増加した。機能性成分含量に及ぼす LED 光照射の影響については、青（単独）または赤＋青区で、総 GSL 含量が増加した。この場合、照射光に青色波長が含まれると脂肪族 GSL が増加し、逆に赤（単独）または緑（単独）区（青色波長を含まない）ではインドール GSL が増加することが判明した。この結果は、GSL 合成への青色光受容体の関与を示唆している。また、青（単独）または赤＋青区で、DFSM、ケルセチン、ケンフェロールおよび総ポリフェノール含量が増加し、植物体の抗酸化活性が顕著に高まることが確認された。この場合、青（単独）区で栽培したエゾワサビの硝酸態窒素含量は、赤＋青区のそれと比べて値が高かったことから、経済生産を考える上で赤＋青 LED 照射が優れた光環境条件であると判断された。

### 4. 抗酸化成分と捕捉される活性酸素種との対応関係

上記 LED 光照射実験におけるエゾワサビの各種抗酸化成分含量と各種ラジカル消去活性値との相関関係を調べ比較した。その結果、DFSM、ケルセチン、ケンフェロールおよび総ポリフェノール含量は、DPPH $\cdot$  (DPPH 法)、ROO $\cdot$  (ORAC 法) および O $_2\cdot$  (ESR スピントラップ法) 消去能との間に強い正の相関を示したのに対し、HO $\cdot$  (ESR スピントラップ法) 消去能との関連は認められなかった。従って、エゾワサビに含まれる抗酸化成分は、生体内で主に ROO $\cdot$  や O $_2\cdot$  の消去に効果を発揮するものと考えられる。

以上の研究により、エゾワサビは 3 種類の GSL を含有し抗菌活性を示すほか、DFSM などを豊富に含み強い抗酸化活性を有する優れた野菜であることが明らかになった。また、赤＋青 LED 光照射条件下で水耕栽培を行うと、GSL および各種抗酸化成分が増加して高機能化することが実証された。これらの成果は、エゾワサビの新規野菜および機能性食品原料としての普及に寄与し、園芸産業の振興ならびにヒトの健康増進に貢献するものと期待される。