HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	園芸作物果実の成分分析におけるMALDI-TOF MS の利用に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	堀川, 謙太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13594号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74140
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kentaro_Horikawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　堀　川　謙 太 郎

審査担当者　主　査　准教授　鈴　木　卓
副　査　教　授　近　藤 則 夫
副　査　教　授　松　浦 英 幸
副　査　講　師　実　山　豊
副　査　講　師　志　村 華 子

学 位 論 文 題 名

園芸作物果実の成分分析における MALDI–TOF MS の利用に関する研究

本論文は、図 53、表 2 を含む総ページ数 100 の和文論文であり、他に参考論文 1 編が添えられている。

果樹および果菜類の果実は、機能性成分および栄養成分を豊富に含むことから、健康食材として近年注目を集めている。本研究では、質量分析法の一つであるマトリックス支援レーザー脱離／イオン化－飛行時間型質量分析法（MALDI–TOF MS）を用いて、果実成分分析の簡便化および効率化を図ろうとした。注目した成分は、アントシアニンと可溶性炭水化物で、各種成分の標準溶液を用いて、濃度と MALDI–TOF MS におけるピーク高（イオン化強度）との関連性を調べ、定性および定量分析の可否を検討した。次に、果実のアントシアニンを MALDI–TOF MS を用いて計測し、各構成成分の年次間変動および各種抗酸化活性との関連を明らかにすることで、MALDI–TOF MS の有用性を検証しようとした。さらに、MALDI–TOF MS の imaging 機能（MALDI-TOF MSI）を活用し、リンゴ果肉組織における可溶性炭水化物分布を可視化するとともに、リンゴみつ症果におけるソルビトールの果実内集積を追跡した。得られた結果の概要は、以下のとおりである。

１．MALDI–TOF MS を用いたアントシアニンおよび可溶性炭水化物の定量技術の検証

従来報告のあった各種 mono-glucoside アントシアニンに加え、di-glucoside アントシアニン（Cy3G5G、 Pn3G5G および Mv3G5G）について検証した結果、いずれも濃度とイオン化強度の間に強い正の相関（$P < 0.001$、$R^2 > 0.98$）が確認された。4 種類の可溶性炭水化物についても、濃度とイオン化強度の間に強い正の相関（$P < 0.001$、$R^2 > 0.95$）が認められた。この場合、同じモル濃度で比較すると、スクロース＞ソルビトール＞フルクトース＞グルコースの順にイオン化しやすいことも明らかになった。以上の結果、アントシアニンおよび可溶性炭水化物の MALDI–TOF MS による定量が可能であると判断した。

２．MALDI-TOF MS を用いたアントシアニン定量技術のヤマブドウ果実分析への応用

HPLC、MALDI–TOF MS および ESI–FT ICR MS を用いた定性分析により、ヤマブドウ果実

から 19 種類のアントシアニンが検出され、MALDI–TOF MS を用いてこれらの一斉検出が可能であることがわかった。MALDI–TOF MS は、分析時間が HPLC 法より短く、ピークの分離性も優れていた。北海道内各地に自生する 42 個体のヤマブドウ果実を 2 か年にわたって蒐集し分析した結果、アントシアニン含量は個体間差が大きく、遺伝的要因の影響を受けやすい形質であることがわかった。また、ヤマブドウ果実は、欧州ブドウに比べて果皮および果肉の DPPH および ROO ラジカル捕捉活性値が高かった。DPPH および ROO ラジカル捕捉活性値は、各々総ポリフェノール含量と有意な正の相関（$P < 0.001$、$R^2 = 0.61$ および 0.53）を示したのに対し、総アントシアニン含量との間に相関が認められなかったことから、アントシアニンはヤマブドウ果実の抗酸化性を担う主要成分ではないと判断された。

３．リンゴ果実に含まれる可溶性炭水化物分布の MALDI-TOF MSI による可視化とその応用

リンゴ果実横断切片の MALDI–TOF MSI 分析で、フルクトース＋グルコース（$[M+K]^+=219$）、ソルビトール（$[M+K]^+=221$）およびスクロース（$[M+K]^+=381$）に相当する 3 つのピークが検出され、それらの分布を可視化したところ、ソルビトールは果芯部に多く、スクロースは果芯から果皮側にかけて高濃度に分布する傾向が認められた。組織切片を 16 分割し MALDI–TOF MSI における輝度を、隣接する組織（5mm × 5mm × 5mm）の HPLC 分析結果と比較したところ、両者にスクロースで強い正の相関（$P < 0.001, R^2 = 0.6222$）、ソルビトールで弱い正の相関が（$P < 0.1, R^2 = 0.2123$）認められた。リンゴのみつ症果発生との関連を調べるため、果実成熟に伴うソルビトール集積の変化を MALDI–TOF MSI で追跡したところ、未熟果では果芯側に多く分布していたソルビトールが、成熟に伴い果実全体に拡散することが明らかになった。また、スクロースは成熟期間をとおして果皮側で濃度が高かった。

以上の研究は、MALDI–TOF MS が多種類のアントシアニンを含有する果実の網羅的な定量分析に威力を発揮し分析効率を飛躍的に向上させ得ること、並びにリンゴ果肉組織の可溶性炭水化物分布を可視化しリンゴみつ症果発生原因の解明ツールとして有用であることを実証しており、今後の果樹産業の振興ならびに果樹園芸学の発展に貢献することが期待される。

よって、審査員一同は、堀川謙太郎が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。