

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：23803

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19312

研究課題名（和文）工場野菜の機能性成分や香り成分の含有量を高めるための、情報伝達気体の曝露

研究課題名（英文）Fumigation of trace gas to crops to enhance its functional components and aroma components in plant factory

研究代表者

谷 晃 (Tani, Akira)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：50240958

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：以下のように、微量気体の曝露によってバジルの含有成分を増やすことができる可能性が示唆された。

CO<sub>2</sub>濃度1000 ppmの曝露により、含有成分が一部有意に上昇した。根の成長やSPAD値の上昇など、一部形態が変化した。エチレンの曝露により、含有成分が一部有意に上昇、または上昇傾向にあった。オシメンの曝露はスイートバジルの含有成分に対して大きな影響を及ぼさなかった。サリチル酸メチルの曝露はスイートバジルの精油含有量に対して影響しなかった。ただし、バジルにオイゲノールを多く生産する個体とエストラゴールを多く生産する個体という2つのケモタイプがあり、それらの混在のため、データがばらついた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

野菜工場（完全人工光型）で生産される野菜の香り成分や機能性成分を高める方法として、人工光の質（波長）や強度の研究が広く行われており、一部で有効性が報告されている。しかし、実用レベルでは、そのために特定波長を発する人工光源を、通常栽培で用いる白色光源に加えて装備せねばならず、植物工場の経営において初期コストがかさみ経営を圧迫する。情報伝達物質の候補気体を植物に曝露することで、この植物の“立ち聞き”機能を積極的に利用し、防御物質として生産される香り成分や機能性成分の代謝系を活性化できれば、野菜工場のコスト削減と高付加価値野菜の生産を両立できる。本研究成果はその端緒を切り拓いた。

研究成果の概要（英文）：Effects of trace gas fumigation on f aroma components of sweet basil were investigated as follows.

By CO<sub>2</sub> fumigation, aroma components of sweet basil were enhanced. Root growth and SPAD value were also affected by the fumigation. By ethylene fumigation, the content of an aroma component was significantly raised and some others tended to increase. By ocimene fumigation, aroma components of sweet basil were not significantly affected. By methyl salicylate fumigation, aroma components of sweet basil were not significantly affected. It should be noted that sweet basil has two chemotypes which produce eugenol mainly or estragole mainly. Co-existence of the two chemotypes in the experiment increased data deviation.

研究分野：農業気象学

キーワード：オイゲノール エストラゴール アリルイソチオシアネート サリチル酸メチル スイートバジル オシメン エチレン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

申請者はここ 20 年ほど、植物の二次代謝物であり葉から放出されるテルペン類を対象に、その放出機構の解明、CO<sub>2</sub> 濃度、オゾン濃度、土壌水分などの環境要因がテルペン類放出に及ぼす影響評価、気候変動による放出変動と大気環境への影響予測、などの研究を行ってきた。その中で植物は様々な環境ストレスに応じてテルペン類の生産量を変化させるだけでなく、ストレス負荷によってこれまで検出されていないテルペン類を生合成し放出することを、自ら実験で突き止めた。文献調査によると、複数の植物で類似の報告がなされている。また、テルペン類や植物の青臭い香りの成分である青葉アルデヒドは、情報伝達機能を持ち、周囲の植物へと危機情報が伝わることで周辺研究で報告されている。

このようなことから、野菜工場で栽培される野菜の香り成分や機能性成分の含有量を高めたり、通常は含有しない有効物質を生産させるために、特定のガス成分の曝露が使えるのではないかと着想した。

野菜工場で栽培される野菜の香り成分や機能性成分の含有量を変化させる試みは、波長の異なる人工光源 (例えば、Abe et al., *Scientia Horticulturae*, 2015) や低温環境 (例えば、田中、園芸学研究、2004)、培養液中の特定の無機成分の調整 (例えば、Adams, P., *J. Hort. Sci.*, 1991) などの手法を用いて行われてきた。しかし、人工光源の購入費用とランニングコストは、植物工場の経営を圧迫するため、それが一因として倒産した工場も少なくない。低温環境の実現も、寒冷期にビニルハウスで栽培している作物を外気に曝すなどでは可能であるが、“洗わずに食べられる” 清浄野菜を育てる野菜工場では野菜を外気に曝すわけにもいかず、室内で低温処理を実施するために冷房電力を要する。無機物の調整は、高糖度の果菜類の生産や透析患者向けの低カリウム野菜の生産で用いられているが、用途は限られている。

本研究で用いるテルペン類や緑の香り成分などの物質は植物が生産する物質であり、用いる濃度範囲ではヒトに全く毒性がないため、消費者にとっても抵抗なく受け入れられる。また、非常に低濃度 (ppb レベル) で情報伝達の役割を果たすので、費用対効果が極めて高い。

これまで、植物の生産する揮発物をシグナルとして植物に曝露して野菜の含有成分量を変化させる試みは全く行われてこなかった。その理由としては、野菜栽培に携わる研究者で、大気科学や生態学的見地から関心が持たれてきたテルペン類や緑の香り成分を測定でき、取り扱える研究者がほとんどいなかったことがあげられる。人工環境下での野菜栽培を研究の原点として持ち、かつ大気科学的視点からテルペン類を取り扱ってきた申請者ならではの着想である。

研究は、一つ一つの物質を異なる濃度で複数の植物に曝露し効果を検証する、という探索性の高い研究であるため、挑戦的研究 (萌芽) に申請し、採択された。

### 2. 研究の目的

蛍光灯や発光ダイオードなどの人工光を用いた野菜工場 (完全人工光型) で生産される野菜の香り成分や機能性成分を高める方法として、光の質 (波長) や強度の研究が広く行われてきた。これまで、波長の短いエネルギー量の大きい青色光や紫外線でサニーレタスのアントシアニン含有量が高まるなど、一部で有効性が報告されている。しかし、実用レベルでは、そのために短波長を発する人工光源を、通常栽培で用いる白色光源に加えて装備せねばならず、植物工場の経営において初期コストを圧迫する。他の波長においても、植物種によって効果が報告されている事例があるが、白色光と比べて高価な専用光源を備えるという点では同じである。このような理由から、初期コスト (購入経費) とランニングコスト (電気代) が高つく人工光源に依存しすぎるのは、野菜工場の経営を圧迫する可能性があり、実際最近の調査で 6 割〜8 割の野菜工場が赤字であるとのデータがある (複数のニュースソース)。

申請者は、制御環境下での野菜栽培研究以外に、ここ 20 年ほど野菜や樹木から放出される微量有機気体の研究を行ってきた。植物が二次代謝物質として生産し放出するテルペン類は、大気中で反応性が極めて高く局地的なオゾン生成 (光化学オキシダントの主成分) や有機エアロゾル生成に関与するため、植物の放出機構やそれに与える環境要因を明らかにしてきた (Tani et al., *Atmos Environ* 2008, Tani et al., *Atmos Environ* 2009, Mochizuki et al., *Atmos Environ* 2012 など)。

その一方で、植物が生産する緑の香り成分と呼ばれる物質群やテルペン類の一部は、情報伝達物質として働き、周囲の植物へ危険を知らせる役割があることが、最近の報告から明らかになってきた。野外の植物は、ある植物の葉が虫に食べられると、その葉から放出される防御物質を感知し (立ち聞き)、防御物質の生産量を自ら高めるというのである。これは、生産される防御物質の同定 (例えば Muramoto et al., *Plant Physiol*, 2015) や遺伝子発現の証拠 (Arimura et al., *Nature*, 2000) から、実際に自然界で起こっている事実であると証明されてきた。

本研究では、情報伝達物質の候補気体を植物に曝露することで、この植物の“立ち聞き”機能を積極的に利用し、防御物質として生産される香り成分や機能性成分の代謝系を活性化させることを目指す。これによって、野菜工場で生産される野菜の機能性成分含有量を高めることを最終目標とする。

### 3. 研究の方法

#### ①ガス濃度調整装置の製作

水耕栽培した野菜に、情報伝達物質の候補となるテルペン類、青葉アルデヒド類、植物ホルモ

ン様物質などを曝露する装置を製作した。

定格 40 L/min 程度のエアープンプを用いて、外気を取り込み白金触媒へ送る。白金触媒は 400°C に熱せられており、取り込んだ空気中の微量有機成分を水と CO<sub>2</sub> へ分解し清浄な空気を作成する。これら空気を、**低濃度ライン**、**中濃度ライン**、**高濃度ライン**へ送る。各ラインへ送られた空気のうち 1 L/min をパーミエーターへ通気し、パーミエーター内で気化した候補物質の濃度調整に用いた。候補物質を、内径 1~6 mm のガラス管（長さ 8 cm）に 1 cm ほどの深さで入れ、パーミエーター内に設置した。パーミエーター内部は恒温槽となっており、温度に対する蒸気圧関数に従って、候補物質が気化する。パーミエーターで製作できる候補物質の濃度は ppm 以上であるため、さらに希釈を要する。流量 1 L/min で出てくるパーミエーター出口の空気の一部を、希釈ラインの空気と混合することで ppb~ppm までの広範囲な候補物質濃度の空気を作成できるようにした。

曝露物質として、情報伝達物質の候補となる以下の物質を用いた。

- ✓ モノテルペンのオシメン
- ✓ 植物ホルモン様物質であるエチレン、サリチル酸メチル
- ✓ エチレンに対して相補作用を持つ二酸化炭素

どの物質でもほぼ同じ範囲の濃度空気を作るためには、ガラス管の内径（内径が小さい→蒸発面積が小さい→揮発量が少ない）と希釈ラインとの混合率を、物質ごとに調整しながら、低濃度（ppb レベル）、中濃度（数十 ppb レベル）、高濃度（数百 ppb~1 ppm）の空気精製に適した設定を決定した。

濃度測定には、加熱脱着装置付きのガスクロマトグラフ質量分析計（ATD-GCMS）を用いた。

### ②曝露実験装置の製作

曝露に用いる容器は、縦 60cm×横 80cm×高さ 50cm の骨格をアングルで作成し、その骨格を透明アクリル製あるいは透明塩ビ製のものを特注で購入する塩化ビニルで覆った。上部から、白色光と遠赤色光を発する発光ダイオード（LED）を用いて照射した。植物葉面での光合成有効量子束密度（PPFD）を 100~150 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> 程度を確保できるように、光源を選定するとともに、光源と植物の距離を保った。

### ③曝露実験

対象植物はハーブ植物のスイートバジル (*Ocimum basilicum*)、レタス (*Lactuca sativa var crispata*、品種名：リーフレタス)、ワサビナ (*Brassica juncea*、品種名：わさび菜)、ミズナ (*Brassica rapa subsp Japonica*、品種名：サラダ京水菜)、サラダナ (*Lactuca sativa var capitata*、品種名：サンタクララ) とする。これら植物は以下の機能性成分を含む。

**スイートバジル**：リナロール、カンファー、オイゲノールなどのテルペン類（香り成分、リラックサ効果）、エストラゴール（刺激性、発がん性が疑われている物質で低減策を検討する）  
**リーフレタス、ワサビナ、ミズナ**：アリルイソチオシアネートなどのチオシアネート類（辛味と香りの成分）

これら植物を水耕栽培して、ある程度の大きさに達したところで**曝露実験**に用いた。候補物質を 1 種類パーミエーターに入れて、3 種の濃度空気を作り植物へ曝露した。2 週間~3 週間栽培した後、上記の目的成分の含有量を測定した。葉に含まれる目的成分を溶媒で抽出後に、**ガスクロマトグラフ質量分析計（GCMS）**で測定した。

曝露実験は計 5 回実施した。処理区の曝露物質および設定濃度を表 1 に示す。

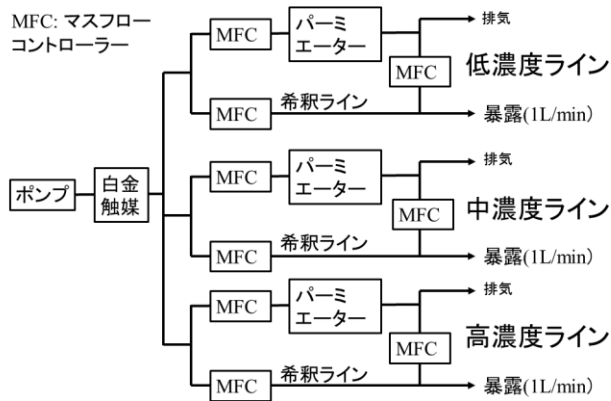


図1 曝露実験用ガス濃度調整装置

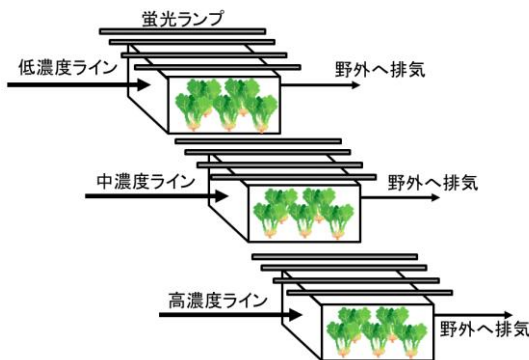


図2 植物への曝露装置

表 1 各処理区の設定条件

	処理区1	処理区2	処理区3
第1回	対照区	CO <sub>2</sub> (1000 ppm)	CO <sub>2</sub> (5000 ppm)
第2回	対照区	エチレン(0.5 ppm)	CO <sub>2</sub> (1000 ppm)

	対照区	低濃度区	中濃度区	高濃度区
第3,4回	大気濃度	オシメン(0.2 ppb)	オシメン(1 ppb)	オシメン(5 ppb)
第5回	大気濃度	MeSa(0.2 ppb)	MeSa(1 ppb)	MeSa(5 ppb)

MeSa: サリチル酸メチル

#### 4. 研究成果

##### 4. 1 CO<sub>2</sub>の曝露がスイートバジルの成長に及ぼす影響（第1回曝露実験）

SPAD値は、大気濃度区が1000 ppm区および5000 ppm区に対して有意に低い値を示した。

生体重、乾燥重、茎長、葉数、葉長、葉幅および含水率について、4処理区で有意差はなかった。地下部の根の長さは、大気濃度区が1000 ppm区および5000 ppm区に対して有意に低くなった。根の乾燥重について、3処理区で有意差はなかった。

ユーカリプトールおよびリナロールの含有量は、1000 ppm区において大気濃度区に対して有意に高くなった。オイゲノールの含有量は3処理区で有意差は見られなかったが、他2物質と同様の傾向を示し、大気濃度区で最も低い値を示した。

##### 4. 2 CO<sub>2</sub>とエチレンの曝露がスイートバジルの成長に及ぼす影響（第2回曝露実験）

葉長、葉幅は、エチレン区において有意に低い値を示した。SPAD値は、大気濃度区においてエチレン区およびCO<sub>2</sub>区に対して有意に低い値を示した。含水率は、CO<sub>2</sub>区において大気濃度区およびエチレン区に対して有意に低い値を示した。生体重、乾燥重、茎長および葉数は、3処理区で有意差はなかった。根の乾燥重は、CO<sub>2</sub>区で有意に高い値を示した。根の長さは、3処理区で有意差はなかった。ユーカリプトールの含有量は、エチレン区において、CO<sub>2</sub>区に対して有意に高くなった。ユーカリプトールを除いた3物質では3処理区で有意差が見られなかったが、3つの物質全てにおいて、エチレン区で含有量が最も高い値を示した。

##### 4. 3 オシメンの曝露がスイートバジルの成長に及ぼす影響（第3回曝露実験）

第3回、第4回は曝露物質としてオシメンを用いた。SPAD値は、中濃度区において低濃度区に対して有意に低い値を示した。生体重、乾燥重、茎長、葉数、葉長、葉幅および含水率は、4処理区で有意差はなかった。地下部の成長については、4つの処理区間で、根の乾燥重と根の長さには有意差はなかった。

スイートバジルの主要含有成分であるオイゲノール、ユーカリプトール、メチルオイゲノールおよびエストラゴールの含有量は、4処理区で有意差はなかった。第1回、第2回ではリナロールが検出されたが、第3回ではほとんど検出されなかった。これは抽出方法の違いによるものかもしれない。

ユーカリプトールを除く3種では、植物個体によって生産されない物質があるため、検出された個体数は、2～8と大きな差異があった。生産する個体間でも含有量に大きな差異があるため、標準偏差は大きくなった。高濃度区で、オイゲノール、エストラゴール、およびメチルオイゲノールの含有量が低い傾向にあったが、有意差は見られなかった ( $p > 0.05$ )。

##### 4. 4 オシメンの曝露がレタス、ワサビナ、ミズナおよびサラダナの成長に及ぼす影響（第4回曝露実験）

レタスの地上部の成長については、4つの処理区において、生体重、乾燥重、茎長、葉数および含水率に有意差はなかった。

ワサビナの茎長は、低濃度区で他の処理区よりも有意に大きくなり、高濃度区では中濃度区に対して有意に大きくなった。ワサビナの葉数は低濃度区および高濃度区で有意に高くなった。ワサビナの生体重は4処理区で有意差はなかった。ワサビナの乾燥重は、呈味試験を行った際に重量の大部分を占める葉3個体で使用したため、測定する必要はないと判断した。

ミズナの葉数は、高濃度区で中濃度区よりも有意に高くなった。4処理区において、ミズナの生体重、乾燥重、茎長および含水率について有意差はなかった。

サラダナでは、4つの処理区において、生体重、乾燥重、茎長、葉数および含水率について有意差はなかった。地下部の成長量については、根の乾燥重、根の長さには有意差はなかった。

ミズナの含有成分である1-ブテン-4-イソチオシアネートの相対値、ワサビナの含有成分である1-ブテン-4-イソチオシアネートの相対値およびアリルイソチオシアネートの濃度(mg/g)において、4処理区で有意差はなかった。

#### 4. 5 サリチル酸メチルの曝露がスイートバジルの成長に及ぼす影響（第5回曝露実験）

サリチル酸メチルを曝露して、スイートバジルを育てた結果、地上部生体重、植物高、葉枚数、地下部乾物重に、処理区間で有意差はなかった ( $p>0.05$ )。根長および地上部乾物重は、中濃度区で対照区あるいは低濃度区と比べ有意に小さくなった ( $p<0.05$ )。処理区ごとの、スイートバジルの主要含有成分であるオイゲノール、ユーカリプトールの濃度 (mg/g)、メチルオイゲノールおよびエストラゴールの相対値は、4処理区間で有意差はなかった。ユーカリプトールを除く3種では、植物個体によって生産されない物質があるため、検出された個体数は、3~7と大きな差異があった。生産する個体間でも含有量に大きな差異があるため、標準偏差は大きくなった。高濃度区で、オイゲノール、エストラゴール、およびメチルオイゲノールの含有量が低い傾向にあったが、有意差は見られなかった ( $p>0.05$ )。

#### 5. まとめ

以下のように、微量気体の曝露によってスイートバジルの含有成分量を増やすことができる可能性が示唆された。

- ✓ CO<sub>2</sub>濃度 1000 ppm の曝露により、含有成分量が一部有意に上昇した。根の成長や SPAD 値の上昇など、一部形態が変化した。
- ✓ エチレンの曝露により、含有成分量が一部有意に上昇、または上昇傾向にあった。また葉面積が低下した。
- ✓ オシメンの曝露はスイートバジルに対して大きな影響を及ぼさず、高、中濃度区での SPAD 値の上昇のみに留まった。
- ✓ サリチル酸メチルの曝露はスイートバジルの精油含有量に対して影響しなかった。
- ✓ ただし、スイートバジルにオイゲノールを多く生産する個体とエストラゴールを多く生産する個体という2つのケモタイプがあり、それらの混在のため、データに大きなバラツキが起こった。

今後は、曝露濃度の範囲を広げ ppm レベルの濃度で実験を行うとともに、2つのケモタイプを分別して、実験に用いることができないか検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 米谷 礼、望月 智貴、谷 晃
2. 発表標題 CO2, C2H4の曝露がバジルの生長および香気成分に及ぼす影響
3. 学会等名 富士山麓アカデミック&サイエンスフェア2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tani A
2. 発表標題 Introduction of Laboratory of Plant & Environmental Sciences, School of Food and Nutritional Sciences of University of Shizuoka
3. 学会等名 Research exchange between Vietnam National University of Agriculture and University of Shizuoka (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 谷 晃、その他	4. 発行年 2019年
2. 出版社 大気環境の事典	5. 総ページ数 464
3. 書名 朝倉書店	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----