

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06013

研究課題名（和文）ピワ果実の抗酸化性に関する研究

研究課題名（英文）Studies in antioxidant property of loquat fruit

研究代表者

小原 均 (Hitoshi, Ohara)

千葉大学・環境健康フィールド科学センター・教授

研究者番号：40160931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：ピワ果実の消費拡大に寄与可能な高付加価値果実生産を可能とする基礎的知見を得ることと技術開発を図ることを目的に、24品種の収穫適期の果実（果肉）の抗酸化性を比較した結果、‘長崎早生’、‘房光’および‘大房’は比較的高く、健康機能性の高い品種であることが明らかとなった。また、‘田中’を供試し果実の抗酸化性を向上させる方法を検討した結果、着色開始10日前の2000 mg/Lアブシシン酸（ABA）処理が効果的であったが、ABA処理はエチレン生合成を誘導して抗酸化性を向上させると推察されたため、エチレン発生剤であるエセフォンの処理効果を検討した結果、200 mg/L処理が最も効果的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ピワの高付加価値果実生産の高付加価値化の対象を抗酸化性として、ピワ果実の抗酸化性について、入手可能な多数の日本における栽培品種を用いて初めて明らかにしようと試みたこと、さらに、樹上ピワ果実の抗酸化性を高める技術開発を実際と理論から初めて試みたことに本研究の学術的意義があり、また、本研究がピワと異なる種類の果樹の高付加価値果実生産の技術開発を考えるうえで参考となる知見となり得る可能性が考えられることに社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of obtaining fundamental knowledge and developing technology to enable high value-added fruit production that contributes to increased consumption of loquat fruit, antioxidant properties in fruits of 24 loquat cultivars were compared at the optimum harvesting time. As a result, it was found that the fruits of 'Nagasakiwase', 'Fusahikari', and 'Obusa' have relatively high antioxidant property and high health functionality. In addition, methods to improve the antioxidant property in fruit were investigated using 'Tanaka' fruit. As a result, 2000 mg/L abscisic acid (ABA) treatment 10 days before the beginning of fruit coloration was effective. It was suggested that ABA treatment induced ethylene biosynthesis and improved antioxidant properties. Therefore, as a result of examining the treatment effect of ethephon, an ethylene releasing agent, treatment at 200 mg/L was the most effective.

研究分野：農学

キーワード：ピワ品種 抗酸化物質 抗酸化能 プロヒドロジャスモン（PDJ） アブシシン酸（ABA） エチレン エセフォン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ビワ果実は、日本では一般に貯蔵が行われないことから、ハウス栽培はあるものの旬を感じて味わう果実の一つである。しかし、日本におけるビワの結果樹面積と収穫量の推移(農林水産省、2018)を見ると、全国の結果樹面積は1992年の2,440 haをピークに2018年には26年間で約48%減少し、最近10年間を見ると約30%も減少している。また、それに合わせて収穫量は減少し、年次変動も激しい。この原因として、ビワは一般的に傾斜地で栽培され、省力・軽労化しにくいこと、低温障害などにより経営が不安定であることが考えられるが、最大の要因は生産者の高齢化と担い手不足であると考えられる。

果実の健康機能性にかかる研究は多く行われている(小川、2013)が、ビワ果実は抗酸化物質を比較的多く含む果実として知られており(Konら、1988;濱渦ら、1997;Yanoら、2005;Zhouら、2007;Fariaら、2009;Xiら、2012;Hadjipieriら、2017)。近年は抗酸化能にかかる報告も増えている(Ferrerresら、2009;Polatら、2010;Xuら、2011;Ercisliら、2012;Xuら、2014;Zhangら、2015)。しかし、日本の品種にかかる報告は極めて少ない。抗酸化能は活性酸素種除去能力の総量として評価されるため、いくつかの種類の測定法が開発されてきたが一長一短があり、また、異なる測定法では値を比較できない。そこで日本では標準化法として酸素ラジカル吸収能力(oxygen radical absorbance capacity:ORAC)法が選定され、原法の改良法が確立されている(石川、2016)。また、ORAC法ではポリフェノール類の抗酸化能が評価され、総量としてH-ORAC(親水性抗酸化能)とL-ORAC(脂溶性抗酸化能)の和として示されるが、カロテノイド類(CA)の抗酸化能は評価できないため、CAには一重項酸素吸収能評価法(singlet oxygen absorption capacity:SOAC法)が確立されている(向井・大内、2013)。

一方、ストレスへの防御応答として二次代謝産物の生合成促進に重要な役割を担う植物ホルモンであるジャスモン酸(JA)類のJAメチル(MeJA)を収穫前または収穫後のラズベリー(Wang・Zheng、2005)、モモ(Jinら、2009)、ブドウ(Ruiz-Gaciaら、2012;Portuら、2015;Wangら、2015;Serranoら、2016;Gil-Munozら、2018;Garcia-Pastorら、2019)、レモン(Serna-Escolanoら、2019)などの果実に処理を行うと、抗酸化物質含量、抗酸化酵素活性あるいは抗酸化能が高められるまたは維持されることが報告されている。ビワでは、Caoら(2009)は収穫後の果実にMeJA処理を行うと抗酸化物質のうち、総フェノール(TPH)および総フラボノイド含量ならびに抗酸化能が高レベルで維持されることを報告した。しかし、ビワの樹上果実へのJA類の処理効果は明らかにされていない。他方、ストレス応答に関連深い植物ホルモンのABAをブドウ果実に処理すると果皮中のアントシアニンおよびフラボノール含量ならびに抗酸化能が高められる(Zhuら、2016)が、ハイブッシュブルーベリー果実ではTPH含量および抗酸化能には影響しなかった(Buranら、2012)ことが報告されている。また、トマトでは根からABAを吸収させると果実のCA蓄積が促進される(Barickmanら、2014)が、その原因はABAの直接的作用ではなくエチレン生合成誘導による間接的作用と考えられている。しかし、ビワ果実へのABAの処理効果は明らかにされていない。

2. 研究の目的

日本におけるビワ果実生産において、近年の著しい結果樹面積および収穫量の減少を改善する一助として、ビワ果実の消費拡大に寄与可能な高付加価値果実生産を可能とする基礎的知見を得ることと技術開発を図ることを目的に、(1)日本で栽培・保存されているビワ品種を可能な限り用いて、果実の抗酸化能および抗酸化物質含量の品種間比較を行い、高機能性ビワ果実品種の選択を可能とする基礎的知見とするとともに、(2)主要品種の一つである‘田中’果実を用いて抗酸化性を高める技術として、ストレス応答に関連深い植物ホルモンであるジャスモン酸(JA)類の一つであるプロヒドロジャスモン(PDJ)およびアブシシン酸(ABA)の処理効果を検討し、好適な処理方法の確立と抗酸化物質分析ならびに内生植物ホルモン含量および関連酵素遺伝子発現解析から作用機構の解明を試みた。

3. 研究の方法

実験材料には、千葉県農林総合研究センター暖地園芸研究所(千葉県館山市)栽植の無加温ハウスおよび露地で栽培されているビワ成木の果実を供試した。

(1)ビワ果実の抗酸化性の品種間比較:早生から晩生の‘長崎早生’、‘シャンパン’、‘楠’、‘麗月’、‘倉田早生’、‘森尾早生’、‘津雲’、‘土肥’、‘なつたより’、‘山川’、‘大房’、‘野島早生’、‘茂木’、‘瑞穂’、‘はるたより’、‘希房’、‘富房’、‘房姫’、‘白茂木’、‘福原’、‘長尾’、‘五十鈴’、‘房光’および‘田中’果実を収穫適期に採取し、果重、果径(果実横径)、果皮色(Hue値)および果肉色(Hue値)を測定後、果肉中の2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル(DPPH)ラジカル消去活性、H-ORAC、L-ORAC、総フェノール(TPH)および総カロテノイド(TCA)含量を測定した。また、‘大房’、‘茂木’、‘瑞穂’、‘白茂木’、‘房光’および‘田中’果実ではビワ果実の主要カロテノイド成分である-カロテンおよび-クリプトキサンチン含量も測定した。

(2) PDJ および ABA 処理が ' 田中 ' 果実の抗酸化性に及ぼす影響 : PDJ 処理では 25、50 および 100 mg/L PDJ 区を設け、各濃度処理液は 5.0%PDJ 液剤を蒸留水で希釈することにより調製し、0.1%展着剤 (アプローチ BI) を加用した。先行実験で処理適期として明らかにされた着色開始 10 日前に果実を各濃度溶液に約 1 分間浸漬した。ABA 処理では ABA の異なる濃度 (1000、2000 および 3000 mg/L) および時期 (着色開始 10 日前、開始期および開始 10 日後) による処理区を設け、各濃度溶液は 20%S-ABA 粒剤を用いて調製 (0.1%アプローチ BI 加用) し、PDJ 処理と同様に果実に処理を行った。無処理区は着色開始 10 日前の 0.1%アプローチ BI 溶液の果実浸漬処理とした。いずれの処理区においても無処理区の収穫適期に果実を採取し、果重、果径、果皮色、果肉色ならびに果肉中の TPH 含量、TCA 含量および DPPH ラジカル消去活性を測定した。

(3) ABA 処理が ' 田中 ' 果実の抗酸化性、ABA 含量およびエチレン発生量に及ぼす影響 : ABA および無処理区を設け、ABA 区では着色開始 10 日前に 2000 mg/L 溶液 (0.1%アプローチ BI 加用) に果実を約 1 分間浸漬した。無処理区では着色開始 10 日前に 0.1%アプローチ BI 溶液に果実を同様に浸漬した。両区ではともに処理後 0 日、3 日、6 日、12 日、20 日および 26 日 (無処理区の収穫適期) に果実を採取し、果重、果径、果皮色、果肉色、果実のエチレン発生量ならびに果肉中の TCA 含量および ABA 含量を測定した。収穫適期には果肉中の TPH 含量、DPPH ラジカル消去活性、H-ORAC および L-ORAC も測定した。

(4) ABA、エセフォンおよびノルジヒドログアイアレン酸 (NDGA) 処理が ' 田中 ' 果実の抗酸化性およびエチレン発生量に及ぼす影響 : 処理区として 2000 mg/L ABA、100 mg/L エセフォン (エチレン発生剤、10%エセフォン液剤を蒸留水で希釈することにより調製) 1000 μ M NDGA (ABA 生合成阻害剤) 100 mg/L エセフォン + 1000 μ M NDGA (エセフォン + NDGA) および無処理区を設け、着色開始 10 日前に各溶液 (無処理区は蒸留水、各処理液には展着剤として 0.1%アプローチ BI を加用) に果実を約 1 分間浸漬した。処理当日とその後は 2 日から 7 日間隔で無処理区では処理後 27 日 (収穫適期) その他の処理区では処理後 20 日まで果実を採取し、果重、果皮色、果肉色、果実のエチレン発生量および果肉中の TCA 含量を測定した。各処理区の果実の最終採取日には果肉中の TPH 含量、DPPH ラジカル消去活性ならびに β -カロテンおよび β -クリプトキサンチン含量も測定した。

(5) エセフォン処理が ' 田中 ' 果実の抗酸化性、エチレン発生量、エチレン生合成酵素遺伝子発現、ABA 含量および ABA 生合成酵素遺伝子発現に及ぼす影響 : 50、100、200 および 300 mg/L エセフォン区および無処理区を設け、着色開始 10 日前に各溶液 (無処理区は蒸留水、各処理液には展着剤として 0.1%アプローチ BI を加用) に果実を約 1 分間浸漬した。処理後 0 日、6 日、13 日、20 日、27 日 (エセフォン区の収穫適期) 34 日 (無処理区の収穫適期) に果実を採取し、果重、果径、果皮色、果肉色、果実のエチレン発生量ならびに果肉中の TPH 含量、総フラボノイド (TFL) 含量、TCA 含量および DPPH ラジカル消去活性を測定した。また、最も抗酸化性を高めたエセフォン区では果肉中の ABA 含量ならびにエチレンおよび ABA 生合成酵素遺伝子発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) ピワ果実の抗酸化性の品種間比較 : ピワ 24 品種の果肉中の TCA 含量、TPH 含量、DPPH ラジカル消去活性、H-ORAC および L-ORAC は、品種によって大きな差異が見られた。果皮および果肉ともに淡黄色である ' 白茂木 '、' 麗月 ' および ' 土肥 ' は他のすべての品種に比べ TCA 含量が極めて低い傾向にあった。果皮および果肉がともに濃い橙色である ' 房光 ' および ' 茂木 ' は他の品種に比べ β -クリプトキサンチン含量が高い傾向にあり、果肉の橙色は β -クリプトキサンチン含量の影響が大きいことが考えられた。' 大房 ' は β -クリプトキサンチン含量、 β -カロテン含量ともに最も多い傾向にあった。果肉中の親水性物質に関連する TPH 含量、DPPH ラジカル消去活性および H-ORAC は三者間で高い相関を示したが、疎水性物質に関連する TCA 含量と L-ORAC 間では相関がみられなかった。総合的に評価すると、供試した 24 品種のうち、比較的抗酸化性が高い品種として ' 長崎早生 '、' 房光 ' および ' 大房 ' が、低い品種として ' 白茂木 ' および ' なったより ' が挙げられた。先行実験の結果も踏まえると、' 長崎早生 '、' 房光 ' および ' 大房 ' は健康機能性の高い品種であることが明らかとなった。なお、抗酸化能のうち、CA の抗酸化能を評価する SOAC については予備実験の域を出ることができず結果が得られず、抗酸化能の総量を品種間で比較するには至ることができなかつたため、今後の課題である。

(2) PDJ および ABA 処理が ' 田中 ' 果実の抗酸化性に及ぼす影響 : PDJ 処理は先行実験で明らかになった好適な処理日における好適な処理濃度をさらに検討する目的で行ったものであったが、いずれの PDJ 区においても TPH 含量、TCA 含量および DPPH ラジカル消去活性において無処理区との有意な差は見られなかった。この結果から、PDJ 処理は年次の違いにより効果に差異を生じ、効果が不安定であるか、もしくはないものと推察された。ABA 処理では、無処理区と比べいずれの ABA 区においても果重、果径および果肉色には有意な差は見られなかったが、果皮色は着色開始 10 日前の 2000 および 3000 mg/L 区で有意に高かった。TPH 含量は無処理区と比べ着色開始 10

日目の 2000 mg/L 区で有意に高く、TCA 含量およびラジカル消去活性は着色開始 10 日目の 2000 および 3000 mg/L 区で有意に高かった。一方で、着色開始 10 日目のいずれの濃度区でも落果が多く見られ、濃度が高いほど多かったことから、着色開始 10 日目の ABA 処理は成熟を促進し、処理濃度が高いほどその効果が高いと推察された。以上のことから、着色開始 10 日目の 2000 mg/L ABA 処理は‘田中’果実の抗酸化物質含量および抗酸化能を高める好適な方法であると考えられた。

(3) ABA 処理が‘田中’果実の抗酸化性、ABA 含量およびエチレン発生量に及ぼす影響：ABA 区では無処理区に比べ果実肥大ならびに果皮および果肉の橙色化が促進されたが、収穫適期には有意な差が見られなかった。エチレン発生量は、ABA 区では処理後漸増し処理後 12 日にピークを示して漸減したが、無処理区では処理後 6 日以降急増し 12 日には ABA 区におけるピーク値を上回るピーク値を示して急減した。TCA 含量は果肉色とほぼ同様の推移を示し、ABA 区では無処理区に比べ CA 蓄積が促進されたものの収穫適期には有意な差が見られなかった。ABA 含量は、ABA 区では処理後急増し処理後 6 日にピークを示して漸減したが、無処理区では処理後 6 日以降急増し 12 日には ABA 区におけるピーク値を下回るピーク値を示して漸減した。収穫適期における TPH 含量および DPPH ラジカル消去活性は、ABA 区では無処理区に比べ有意に高い値を示した。また、H-ORAC、L-ORAC および両者の和である総 ORAC は ABA 区では無処理区に比べいずれも有意な差は見られなかったものの高い傾向が見られた。以上のことから、着色開始 10 日目の 2000 mg/L ABA 処理は収穫適期の‘田中’果肉中の一部の抗酸化物質含量および抗酸化能を高めるが、その作用機構は処理後の急激な ABA の蓄積とエチレン生成が促進されることに深く関連していると推察された。

(4) ABA、エセフォンおよび NDGA 処理が‘田中’果実の抗酸化性およびエチレン発生量に及ぼす影響：無処理区に比べ他のすべての処理区で果皮および果肉の橙色化が促進された。TCA 蓄積は無処理区と比べてエセフォン、エセフォン + NDGA および ABA 区では早期に促進される、または促進される傾向であったが、NDGA 区では有意な差は見られなかった。各処理区の果実の最終採取日における TCA、 β -カロテンおよび γ -クリプトキサンチン含量はエセフォンおよびエセフォン + NDGA 区で無処理区よりも高い傾向が見られた。また、TPH 含量はすべての処理区間で有意な差は見られず、DPPH ラジカル消去活性は NDGA 区で他のすべての処理区に比べ有意に低かった。エチレン発生量は処理後 2 日で無処理区に比べエセフォン + NDGA 区では有意に高く、エセフォン区では高い傾向を示した。その後、エセフォン区では無処理区よりも有意に高い値で推移したが、エセフォン + NDGA 区では無処理区と比べて有意な差はなかったものの高い値で推移し、エセフォン区よりも低い値で推移した。一方で、エチレン発生は ABA 区ではゆるやかに増加し、無処理区と比べ促進される傾向が見られた。以上のことから、NDGA 処理によって ABA の生合成が阻害されることでエチレン生合成が抑制されていることが示唆された。以上のことから、エチレンが TCA 含量を増加させ、ABA 処理により誘導される内生エチレンが抗酸化性を高める原因であると推察された。

(5) エセフォン処理が‘田中’果実の抗酸化性、エチレン発生量、エチレン生合成酵素遺伝子発現、ABA 含量および ABA 生合成酵素遺伝子発現に及ぼす影響：(2) ~ (4) までの結果から、ABA 処理はエチレン生合成を誘導して抗酸化性を高めると考えられたこと、また、エチレン発生剤であるエセフォンの 100 mg/L 処理は抗酸化性を高めたことから、実用上好適なエセフォンの処理濃度を検討することとした。すべてのエセフォン区では無処理区に比べ果実肥大ならびに果皮および果肉の橙色化が促進されたが、収穫適期には有意な差が見られなかった。TPH、TFL および TCA 含量ならびに DPPH ラジカル消去活性は無処理区に比べ処理後 13 日以降エセフォンの濃度が高まるに従って高くなる傾向にあり、収穫適期で比較すると、200 および 300 mg/L 区では TPH 含量は有意ではないが高い傾向にあり、TFL および TCA 含量は有意に高く、DPPH ラジカル消去活性は 300 mg/L 区では有意に高く、200 mg/L 区でも有意ではないが高かった。これらの結果と経済性を考慮すると好適な処理濃度は 200 mg/L と考えられた。エチレン発生量は無処理区では処理後 6 日以降漸増して 20 日にピーク値を示して急減したのに対し、200 mg/L 区では処理後急増して処理後 6 日から 13 日までは無処理区より有意に高く推移し、処理後 13 日にピーク値を示して 20 日以降急減した。エチレン生合成の鍵酵素である ACC 合成酵素遺伝子 (*ACS1*) および ACC 酸化酵素遺伝子 (*ACO1* および *ACO2*) の発現量はいずれも処理後 13 日に 200 mg/L 区では無処理区に比べて有意に高かった。ABA 含量は無処理区では処理後漸増して処理後 13 日から 20 日にピーク値を示して急減したが、200 mg/L 区では処理後急増して処理後 6 日には無処理区より有意に高くなり 13 日にピーク値を示して急減した。ABA 生合成の鍵酵素遺伝子である *NCED1* は処理後 6 日に 200 mg/L 区では無処理区に比べて有意に高かった。以上のことから、エセフォン処理により抗酸化性が高まる作用機構は、エセフォン処理によって発生するエチレンがエチレン生合成の鍵酵素である ACC 合成酵素および ACC 酸化酵素の両遺伝子発現量を上昇させ、そのことによりエチレン生成が高レベルで長時間持続することが一因であると考えられた。本研究開始当初は PDJ または ABA 処理によりピワ果実の抗酸化性が高められるのではないかと

と仮定していたが、研究を進めるにしたがって、抗酸化性向上にはエチレンが深くかかわることが明らかとなったこと、また、ABA 処理は効果的であるものの高濃度処理を行う必要がありその効果は間接的であることから、着色開始 10 日前の 200 mg/L エセフォン処理をピワの高付加価値果実生産に寄与できる技術として提唱したい。なお、エセフォン処理果は無処理果に比べて成熟が促進されるため、収穫適期を逸すると落果が多発生するため注意が必要である。一方で、熟期が促進されることで作業の分散化も期待できるが、エセフォン処理果の日持ち性は検討していないため、今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小原 均、鈴木純之介、蔦木康徳、齋藤隆徳、大川克哉、近藤 悟
2. 発表標題 収穫前のアブシシン酸（ABA）処理がピワ‘田中’果実の抗酸化物質含量，抗酸化能，ABA含量およびエチレン発生量に及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 均、鈴木純之介、蔦木康徳、齋藤隆徳、大川克哉、近藤 悟
2. 発表標題 収穫前のジャスモン酸誘導体（PDJ）およびアブシシン酸処理がピワ‘田中’果実の抗酸化物質含量および抗酸化能に及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原 均、橋本奈都希、影山浩司、齋藤隆徳、大川克哉、近藤 悟
2. 発表標題 収穫前のアブシシン酸（ABA），エセフォンおよびノルジヒドロゲアイアレチン酸（NDGA）処理が‘田中’果実の抗酸化性に及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------