

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658208

研究課題名(和文)アブラナ科野菜の機能性を増強するガスハイドレート形成貯蔵法

研究課題名(英文)Storage for increasing functional compound in cruciferous vegetables

研究代表者

牧野 義雄(Makino, Yoshio)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：70376565

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):ピロリ菌の毒素に起因する胃癌の発症を抑制する効果を持ち、アブラナ科野菜に含まれる化学物質「スルフォラファン」を増強する方法を検討した。ブロッコリーを気体遮断袋中に封入し、20℃で貯蔵したところ、通気性の高い袋で貯蔵した場合に比べて2 dの間にスルフォラファン濃度が2.3倍となる現象が確認された。一方、低O₂かつ低CO₂で貯蔵した場合、高O₂かつ高CO₂で貯蔵した場合には、スルフォラファンの蓄積は認められなかった。以上の結果から、低O₂と併せて高CO₂を含む環境条件が、スルフォラファン増強のためには不可欠であることが確認された。

研究成果の概要(英文): A method to increase sulforaphane, a phytochemical included in cruciferous vegetables, was studied. The concentration of sulforaphane in broccoli buds sealed in a high-barrier pouch and stored for 2 d was 2.3 times higher than that stored in the air. In contrast, The concentration was not increased under the atmosphere including low O₂ and low CO₂. The atmosphere including high O₂ and high CO₂ was also not effective for increasing the concentration. Therefore, it was concluded that an atmosphere including low O₂ and high CO₂ have to be created to increase sulforaphane.

研究分野：生物プロセス工学

キーワード：機能性物質 野菜 包装

1. 研究開始当初の背景

悪性新生物(癌)の中で、胃癌による死亡率は、男性で第二位、女性で第三位と高くなっている(厚生労働省平成25年人口動態統計月報年計)。胃癌の主要な原因の一つであるピロリ菌(*Helicobacter pylori*)のヒトへの感染率は全世界で50%と推定され(Galan et al., Digest. Disease. Sci., 49, 1088, 2004)、米国の Talalay 博士は、ブロッコリーに含まれる化学物質「スルフォラファン」が、ピロリ菌の増殖を抑制する効果を持つと発表した(米国アカデミー紀要, 89, 2399, 1992)。

ただし、新鮮な状態ではスルフォラファンはほとんど存在しない。アブラナ科の野菜に多く含まれる辛味物質「グルコシノレート」に酵素「ミロシナーゼ(EC.3.2.3.1)」が作用することで、スルフォラファンが生成する。そのためには、野菜組織の細胞構造が何らかの働きかけにより損傷し、双方が接触する必要がある。現在では発芽によってミロシナーゼ反応が促進されることが知られ(Jang, J. Gastro. Hepat., 23, 121, 2008)、ブロッコリーの新芽であるブロッコリースプラウトは健康食品として消費されている。しかし用途が特殊であるため消費量が少なく、波及効果は小さいと考えられる。一方、反応基質であるグルコシノレートは成熟したブロッコリーやキャベツなど、アブラナ科の野菜全般に含まれることが知られており、発芽以外の方法でスルフォラファンを増強することができれば、野菜の付加価値の向上、ひいては消費量の拡大が見込まれる。

一方、水が高圧の無極性ガスに曝されると、ガスハイドレート(または疎水性水和物)と呼ばれる結晶を形成することが知られている(大下ら, 月刊流通技術, 23, 4, 1994)。これは0を超えて温度で水が凝固する現象であり、野菜組織内でガスハイドレートを形成させれば、細胞構造が一部損傷し、スルフォラファン生成反応が促進される可能性が

あるという着想に至った。

2. 研究の目的

スルフォラファン生成反応の基質であるグルコシノレートを多く含むアブラナ科の野菜を、高圧の無極性ガス環境に曝すことで、スルフォラファンの濃度が上がるか否かを調べるとともに、ミロシナーゼ活性の影響も併せて確認する。さらに、核磁気共鳴(NMR)を用いて細胞の損傷程度を定量的に評価することにより、スルフォラファン増強メカニズムを解明する。

収穫後農産物の流通前の処理法としては、予冷、追熟、予措、カラーリング、脱渋、発芽防止(放射線)がある。本研究で取り組む高圧ガス処理による機能性物質の増強は、学問体系としていまだに存在しないことから、従来の学問・技術体系に新たな流通前処理法を加える可能性を秘めているという点で、学術的な特色がある。また、当該処理によってスルフォラファンが増えることが明らかになると見込まれることから、未処理に比べて単位質量あたりの機能性物質が増えることとなり、限られた食料資源でより多くの機能性物質を摂取でき、食料資源の有効利用に寄与できるという意義がある。

3. 研究の方法

ブロッコリーを試料として、スルフォラファン抽出及び分析法を検討した。ブロッコリー花蕾部を粉碎した後、ジクロロメタンで疎水性物質を抽出した。ロータリーエバポレーターで蒸発乾固した後、アセトニトリルで再び溶解した。最後に遠心分離した後、メンブランフィルターで濾過して、分析用試料とした。

次に、ブロッコリーを試料として、生鮮組織に対する無極性ガス水和物の影響について検討した。ブロッコリー花蕾部を核磁気共鳴装置(NMR)用耐圧性ガラスセルに0.9 MPaのXeガスとともに封入し、1にて6d保存

した。比較用として-20 で6 d凍結保存した試料も用意した。

本研究では、ブロッコリーを嫌気状態で貯蔵することにより、スルフォラファンが蓄積されることを偶然発見した。

気体遮断袋 (O_2 透過度: $8 \text{ mL}/(\text{m}^2 \text{ d atm})$) と微細孔袋 (O_2 透過度: $64 \text{ mL}/(\text{m}^2 \text{ d atm})$) の中にブロッコリーを封入した後 20 で貯蔵し、通気性の高い袋 (O_2 透過度: $1,200,000 \text{ mL}/(\text{m}^2 \text{ d atm})$) で貯蔵した場合 (気体組成は大気と同等) とスルフォラファン濃度を比較し、低 O_2 、高 CO_2 環境がスルフォラファン濃度に及ぼす影響を検討した。さらに、ガス混合器で調製した O_2 21%、 CO_2 21% を含む気体をブロッコリーを貯蔵した真空チャンバーに連続的に流し、高 O_2 環境がスルフォラファン濃度に及ぼす影響を検討した。また、気体遮断袋に CO_2 吸着剤を封入し、低 O_2 かつ低 CO_2 である場合のスルフォラファン濃度も併せて調べた。

4. 研究成果

ブロッコリーからのジクロロメタン抽出物を高速液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC-MS) で分析した結果を過去の文献値と比較したところ、同水準であることが確認できたため、本研究で提案した方法はブロッコリー中スルフォラファンの抽出・分析方法として適切であることが明らかになった。

6 d 貯蔵後のブロッコリーの外観品質は、Xe 貯蔵ではやや黄化し、組織の形態がやや崩れる傾向がみられた。また、水和物と考えられる白色の結晶が試料管内にて観察された。これは、Xe 水和物が形成され、それが原因で、組織の損傷が起きたためと考えられた。冷凍貯蔵では、外観が保持された。NMR にてプロトン緩和時間を測定した結果、Xe 貯蔵では冷凍貯蔵に比べて著しく短かった。このことから、外観では変化が大きかった Xe 貯蔵の方が、冷凍貯蔵よりも内部組織の損傷程度は低い可能性が示された。解離のため、新鮮な

試料、Xe 貯蔵後、冷凍貯蔵後の試料を 20 で 1 d 貯蔵した後の外観を観察した結果、Xe 貯蔵では、白色の水和物が消失した以外は、貯蔵前とあまり変化はなかった。冷凍貯蔵では、緑色が濃くなり、外観が大きく変化した。Xe 貯蔵、冷凍貯蔵ともプロトン緩和時間から算出される制限拡散係数が新鮮な試料よりも大きくなったことから、組織が損傷した可能性が考えられた。

気体遮断袋中にブロッコリーを封入し、20 で貯蔵したところ、通気性の高い袋で貯蔵した場合に比べて 2 d の間にスルフォラファン濃度が 2.3 倍となる現象が確認された。その際の袋内 O_2 濃度は 0%、 CO_2 濃度は 25.4% であった。微細孔袋で包装した場合にも 2 d の間に 1.6 倍となり、その際の袋内 O_2 濃度は 1.3%、 CO_2 濃度は 20.6% であった。一方、 O_2 0.002%、 CO_2 0% で貯蔵した場合、 O_2 21%、 CO_2 21% で貯蔵した場合には、スルフォラファンの蓄積は認められなかった。以上の結果から、低 O_2 と併せて高 CO_2 を含む環境条件が、スルフォラファン増強のためには不可欠であることが確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計2件)

Nishimura Y., Makino Y., Oshita S., Akihiro T., Effect of anoxia on concentration of sulforaphane in broccoli buds, 7th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agricultural and Biosystems Engineering, 2014年5月21日, 宜蘭市(台湾)

西村雄斗, 牧野義雄, 大下誠一, 秋廣高

志，ブロッコリーの機能性を増強する貯蔵法，第73回農業食料工学会年次大会，2014年5月17日，琉球大学（沖縄県）

研究者番号：00115693

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

出願状況（計1件）

名称：アブラナ科の野菜に含まれるスルフォラファンを増量する方法

発明者：牧野義雄，西村雄斗，大下誠一，秋廣高志，溝添孝陽

権利者：東京大学、島根大学、住友ベークライト(株)

種類：特許

番号：特願 2015-001980

出願年月日：2015年1月8日

国内外の別：国内

取得状況（計0件）

〔その他〕

なし。

6．研究組織

(1)研究代表者

牧野 義雄（MAKINO Yoshio）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：70376565

(2)研究分担者

秋廣 高志（AKIHORO Takashi）

島根大学・生物資源学部・助教

研究者番号：40508941

(3)連携研究者

大下 誠一（OSHITA Seiichi）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授