

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	脳神経科学領域 神経・脳代謝制御学教育研究分野 氏名 小野幸輝
<p>(論文題目)</p> <p>無肥料・無農薬による自然栽培法、および無化学肥料・減農薬による栽培法で生育させた「ふじ」の果皮に含まれるポリフェノール“フロリジン”の質量分析</p>	
<p>(内容の要旨：和文で 2、000 字程度)</p> <p><b>諸言：</b></p> <p>果物の適切な摂取と健康の関係については前向きコホート研究のメタアナリシスを始めとして、疾病や死亡のリスクが低減するとの報告が数多くある。中でもバナナやみかんに次ぎ生産量の多いりんごは、古くから健康増進効果が知られているがその鍵は含有するポリフェノールにあるとされる。りんご果皮に多く含まれるフロリジンは、腎臓への選択性を高めた形が臨床で高血糖治療薬として広く使用されており、近年注目されているポリフェノールの一つである。ところがフロリジンは果皮に多く含まれていることから食用とする場合には農薬の影響が懸念される。</p> <p>これに対して青森県津軽地方には無肥料・無農薬で栽培（以後、自然栽培 <b>Natural Cultivation</b>）されているりんごがある。自然栽培されたりんごであれば、農薬の影響を心配せずにりんごポリフェノールを摂取することができるが、自然栽培されたりんごがどの程度ポリフェノールを含むかはこれまでに報告がない。そこで今回我々は、自然栽培されたりんごの果皮に含まれるフロリジン含量を質量分析により計測した。</p> <p><b>方法：</b></p> <p>実験群には無肥料・無農薬による自然栽培圃場のりんごを、対照群には同じ津軽地方で、無化学肥料・減農薬（以後、特別栽培 <b>Special Cultivation</b>）栽培により、青森県特別栽培農産物の認証を受けている圃場のりんごを用いた。りんごの栽培品種は、日本の最大品種で世界でも広く流通している「ふじ」を用いた。それぞれの圃場から 3 本の樹を選定し、7 月の未熟果から 11 月の熟果まで、同一の樹から毎月同一日に 3 ないし 4 個の果実を採取し、総計 106 個を分析に付した。縦径、横径、果実重量を計測したのち果皮を分離し、分離と同時に液体窒素に落として凍結し、裁断後、3 日以上凍結乾燥した。抽出溶媒を用いて乾燥果皮よりフロリジンを抽出し、単位果皮湿重量当たりのフロリジン含量を質量分析により計測した。質量分析には、QTRAP 方式トリプル四重極-タンデム質量分析装置(QTRAP 6500+, SCIEX) に高速液体クロマトグラフィ(UHPLC) システム (ExionLC AD, SCIEX) を結合したシステムを用いた。分析カラムは Luna 3<math>\mu</math>m Phenyl-Hexyl 100 Å, LC Column 150 x 2 mm (No. 00D-4256-B0, Phenomenex)を使用した。フロリジンの定量には Q3 (フラグメントイオン) として得られた m/z 273 を用いた。統計解析は分散分析もしくは有意水準 <math>p &lt; 0.05</math> として多重比較検定 (Dunnett's test, または Tukey-Kramer's test) を行った。</p> <p><b>結果：</b></p> <p>自然栽培および特別栽培のいずれの圃場で生育した果実も、熟すにつれて縦径、</p>	

長径、重量の平均値が有意に増加したが、10月から11月にかけて変化に有意差がなくなった。一方、同一月で比較すると、自然栽培果実は、特別栽培果実に比べて、縦径、長径、重量ともにどの収穫月においても有意に小さかった。果皮重量は、果実の成長に呼応してその湿重量、および乾燥重量のいずれも、果実全体に認められた傾向と一致して増大した。

フロリジン含量は自然栽培および特別栽培のいずれも7月に比べてその他の月で有意に低く、月毎に有意に低下していき10月から11月にかけて有意差が消失した。更に各月毎に比較すると、全ての月で自然栽培果皮のフロリジン含量は、特別栽培果皮のフロリジン含量より有意に大きな値を示した。果皮単位湿重量あたりのフロリジン含量のばらつきの程度には自然栽培と特別栽培の間で有意差があり、自然栽培果実の方が特別栽培より有意に大きかった。

### 考察：

自然栽培および特別栽培されたりんごのサイズ・重量ともに月を追うごとに有意に増加し、月毎に比較すると全ての月において自然栽培された果実は有意に小さかった。またフロリジン含量は自然栽培、特別栽培のいずれも熟すにつれて有意な減少を示し、月毎の比較において自然栽培果実が全ての月で特別栽培果実より有意に多く、かつ含量のばらつきの程度も有意な差が認められた。

今回測定されたサイズ・重量を我が国の慣行栽培ふじと比べると、特別栽培果実ではやや小さく、自然栽培果実はさらに小さいと言えるが、欧州では一般的なサイズでもある。化学肥料を投入しないことの影響が考えられるが、全く下草を刈らず、農薬も肥料も投入しない自然栽培では、土壌や気温等の物理・化学的な環境の違いに止まらず、周辺の生態系との関係も果実の大きさに影響している可能性がある。

これまでの報告によれば、りんごの有機栽培は、慣行栽培より果実のポリフェノール量を増加させると報告されてきたが、自然栽培されたりんご果皮のフロリジン含量が、特別栽培より大きかったことはこれまでの報告と矛盾しない結果と言える。

また果実が熟すに従い、果皮に含まれるフロリジンが急激に減少し、収穫期に近づくに変化が小さくなることは一般的に明らかにされおり、この点においても自然栽培および特別栽培ともに通常のりんごポリフェノールの変化と類似した時間経過を辿った。フロリジンに代表される果皮のポリフェノールがこのような時間的变化を示す理由は十分明らかでないが、ファイトアレキシン作用による未成熟な果実内部を保護する繁殖戦略上からの議論がされている。

今回質量分析により計測した自然栽培の「ふじ」果皮に含まれるフロリジン含量は、りんごを丸ごと摂取した時に体内に取り込まれるフロリジンの量を考える際の材料を提供する。フロリジンは本数値の10倍程度と推定される量を慢性的に摂取しても、毒性は認められないと報告されているが、どの程度の摂取が適切であるかは議論が必要である。また、フロリジンは栽培年による影響が特に顕著であることから、一年のみで比較解析を行った本研究を深化させるために継続的により体系的な研究をおこなっていくことが必要である。