

メタボロミクスによる有機農産物の品質評価のための基礎研究

岡崎 圭毅 [独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター根圏域研究チーム／研究員]

背景・目的

有機農業の推進に関する法律が施行され、有機農業の推進が国策として動き始めた。有機農業においては生産物の高付加価値化と収量および品質の安定化が重要である。そのためには有機物の施用が土壌および作物に与える影響を科学的に解明し、その施用効果を的確に評価できる技術の開発が必要である。本課題はメタボローム解析の手法を用いて代謝産物組成を多変量解析により統計的に説明することを目的とする。また、フラボノイドやカロテノイドなど高い健康機能性が報告されている成分と、窒素および堆肥施用量の関係を明らかにする。

内容・方法

GC-MS(ガスクロマトグラフィー質量分析計)およびLC-MS(液体クロマトグラフィー質量分析計)によって、堆肥施用の有無で栽培した作物体内的成分組成の一斉分析を行う。本研究ではダイコンおよびコマツナを供試して、異なる堆肥施用量で3年間管理した圃場において、窒素施肥量および堆肥施用量が代謝産物組成に与える影響を解析する。それぞれの葉身から代謝産物を、メタノール／クロロホルム／水などそれぞれの手法に適した抽出法を用いて回収し、GC-MS、LC-MS、HPLCを用いた分析を行う。GC-MS分析で糖、有機酸、アミノ酸といった特に低分子化合物の組成に及ぼす影響を明らかにする。また、LC-MSおよびHPLC分析では色素類や機能性成分に及ぼす有機物施用の影響を明らかにする。有機物施用が体内成分に及ぼす影響について統計的手法に基づく数値評価を行い、同定された化合物の範囲内で農作物としての付加価値の向上や生理的な意義を考察する。

結果・成果

GC-MS分析については、オートサンプラーのバイアルトレイを特注し、再現性の高いオンライン誘導体化処理の開発を進めている。オンライン処理中に空気中の水分が混入し、一部再現性が低下するという問題が残ったが、除湿器の導入などによって最適化が図られれば、分析の再現性が飛躍的に向上し、より精度の高いプロファイリングが可能になると期待される。また、標品の購入とライブラリーの整備を進め、現在約200種類の低分子代謝産物についてのMSスペクトルおよび保持時間情報の登録を完了し、自動同定が可能になった。質量分析による多次元スペクトルの処理については、スペクトル

データの情報量が多く時間を費やす作業であるが、METIDEAなど研究者によって開発されたピークアライメントなどのツールを導入することにより、作業の効率化を進め、処理速度の改善を図った。これらのツールを用いて圃場試験で各種処理を行ったダイコン(葉身と根部)およびコマツナ(葉身)を経時的に採取し、各部位の抽出液を一斉分析した。ピークの面積値を主成分分析したところ、いずれの作物・時期においても窒素施用の方が堆肥施用よりも全変動に対する寄与率が高かった。また、代謝産物別に見ると、ほとんどの代謝産物は窒素施用量に応答して変動したが、堆肥施用への応答に関しては変動するものとしないものが存在した。以上より、窒素処理に対する生理的な応答は広範囲で明瞭であるのに対し、堆肥処理に対する応答は限定的かつ小さな変化であり、このことは異なる作物、部位、採取時期において一貫していた。

LC-MS分析に関しては健康増進効果が期待されているフラボノイドおよびカロテノイドのターゲット分析をコマツナ試料について実施した。フラボノイド類については加水分解処理によりグリコシド結合を切断し、アグリコン部分をLC-MS-MSにより定量することにより行った。コマツナでは主要なフラボノイドはケンフェロールおよびケルセチンのグリコシドであった。窒素施用量が増加するとフラボノイドの総量には変化がなかったが、ケンフェロール／ケルセチン比率が高まった。一方堆肥施用の有無ではフラボノイド総量・組成ともに変化が認められなかった。カロテノイドについてはLC-MS分析はイオン化効率が悪く不適であったため通常のHPLC分析(C18カラム、UV吸収検出)により行った。コマツナのカロテノイド類はビオラキサンチン、ルテイン、βカロテンが主体であった。これら3種の総量は窒素施用量のみならず堆肥施用量の増加に伴い上昇し、いずれの成分も一様に上昇していた。したがって、堆肥施用による付加価値増進に結びつく成分としてカロテノイド類が有望であることが明らかとなった。

今後の展望

GC-MS分析により堆肥および窒素施用が代謝産物に与える影響を比較評価することに成功したため、今後は易分解性の有機物やC/N比の異なる有機物の施用など堆肥以外の資材施用効果について同様の手法で効果の大きさを調査し、代謝応答の特徴を比較する。また、堆肥施用で現れた代謝変動について、ある程度共通した特徴が認められたため、この特徴付けに寄与している環境要因を特定するため、窒素以外の施肥処理などポット試験を行う予定である。健康増進物質については、カロテノイドやキサントフィル類とこれらに関連する代謝産物について近隣の代謝経路で対象物質を広げ引き続き調査を行う。