

Mass Spectrometry-based Lipidomics for Freshness Markers Discovery in Cabbage

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2023-06-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Putri, Wulandari Zainal メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/00101280

氏 名 (本 国 籍)	Putri Wulandari Zainal (インドネシア共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 7 9 3 号
学 位 授 与 年 月 日	令和 5 年 3 月 1 3 日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Mass Spectrometry-based Lipidomics for Freshness Markers Discovery in Cabbage (質量分析を用いたリピドミクスによるキャベツの鮮度マ ーカーの探索)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 THAMMAWONG, Manasikan 副査 岐阜大学 教 授 中 野 浩 平 副査 農研機構 教 授 薦 瑞 樹 副査 岐阜大学 助 教 今 泉 鉄 平 副査 岐阜大学 客員教授 永 田 雅 靖

論 文 の 内 容 の 要 旨

青果物には、健康増進のための基本栄養素やフィトケミカルが豊富に含まれている。特に、キャベツは世界中で消費され、これらの成分を豊富に含むことで近年注目されている。しかしながら、キャベツは品質が変化しやすいため、それらの内容成分は収穫後に容易に分解され、結果として急速な鮮度低下を生ずる。そのため、鮮度は、市場における消費者の購入動機として重要な要因となる。通常、鮮度は、色や艶、萎れなどの外観によって判断されるが、こうした評価は主観的であり、評価者によって判断結果が異なることがたびたびおこる。従って、定量的な判定が可能な鮮度評価法の開発が望まれている。鮮度低下は、生体膜の完全性の喪失を伴う老化の進行に従うため、生体膜の健全性の評価は、より正確な鮮度判定を与えることが期待される。生体膜は、両親媒性の脂質二重膜で構成され、内外を隔てるバリアとして役割のほか、物質輸送やシグナリングあるいは生命活動のエネルギー源となるため、恒常性の維持のため必要不可欠である。従って、本論文では、青果物の老化過程で生ずる生理反応についての情報を包含する脂質プロファイルの変動を明らかにし、その鮮度評価への適用可能性について検討した。

研究では、5℃、10℃、20℃に貯蔵した玉キャベツについて、その第3外葉を対象として経時的に脂質分析を行った。脂質は、MTBE法により抽出し、高速液体クロマトグラフィー・質量分析法によって分離・検出した。同時に、ガスクロマトグラフィーによる通気法により貯蔵中の呼吸速度（二酸化炭素排出速度）を連続的に計測し、その積算値を鮮度の参照データとした。脂質検出においては、イオントラップ・三連四重極型質量分析計を用い、Multiple Reaction Monitoring (MRM) による 1,350 種類の脂質分子種をターゲットとした。

その結果、600 種類のピークが確認されたが、繰り返し計測による変動係数が小さい 300 種類

の脂質由来ピークを統計解析の対象とした。積算呼吸量を目的変数とした部分最小自乗回帰 (PLSR) により、4 つの潜在変数を有するモデルがクロスバリデーションにより構築され、直線性・予測性ともに良好であった ($R^2Y=0.953$, $Q^2Y=0.722$)。また、Permutation Test やテストデータセットによる外部交差検証によって、過学習によるオーバーフィッティングもなく堅牢なモデルが構築されたことが確認された。こうした良好なモデルが得られたことは、キャベツの鮮度と密接に関連する脂質分子種が存在することを示している。そこで、VIP スコアによる重要変数の選択を行い、10 種類の脂質分子種を鮮度マーカー候補として選抜した。なお、これらの成分については、プロダクトイオンスキャンによるフラグメントパターンと予測パターンの一致から、正しくアノテーションされていることを確認した。積算呼吸量に対する単回帰分析において、選択されたそれぞれの脂質分子の変動は有意であったが相関係数は小さく、単一の脂質分子種の定量による正確な鮮度評価は困難であることが示された。一方、各積算呼吸量における選択された 10 種類の鮮度マーカー候補のプロファイルについて階層的クラスター解析を行ったところ、貯蔵積算温度が近接しているプロファイル同士でグルーピングされた。

以上のことから、脂質プロファイリングによるキャベツの鮮度評価の可能性が示された。今後は、貯蔵ガス環境や振動・衝撃等の温度以外のストレス環境におけるマーカー物質の検証が必要であると同時に、マーカー物質の定量分析データに基づく鮮度予測モデルの構築が課題となろう。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者 Putri Wulandari Zainal 氏は、質量分析によるフードメタボロミクス の有用性に鑑み、同手法を基盤とした農産物の品質保証技術に関する研究論文のレビューし、各種機器分析とデータマイニングに基づく判定技術の課題を整理した。その上で、液体クロマトグラフィー・質量分析法に基づく脂質成分の網羅的解析 (リピドミクス) によって、貯蔵温度や貯蔵時間が異なるキャベツの脂質プロファイルを明らかにし、収穫からの積算呼吸量と関連付けながら鮮度マーカーとなる脂質分子を数種特定した。ビタミン C 等の定量による従来の鮮度判定法よりも精度良く積算呼吸量を推定できることを示し、選択された脂質分子による青果物鮮度の定量化理論を提案した。

本論文は、脂質分析による青果物鮮度評価の可能性を拓いたもので、ポストハーベスト工学分野における品質評価理論の深化に大きく貢献するものと認める。

基礎となる学術論文

1) Zainal PW, Aurum FS, Imaizumi T, Thammawong M and Nakano K: Applications of mass spectrometry-based metabolomics in postharvest research. **Reviews in Agricultural Science** 10, 56–67, 2022.

(https://doi.org/10.7831/ras.10.0_56)

2) Zainal PW, Syukri D, Fahmy K, Imaizumi T, Thammawong M, Tsuta M, Nagata M and Nakano K: Lipidomic profiling to assess the freshness of stored cabbage. **Food Analytical Methods** 16, 304–317, 2023.

(<https://doi.org/10.1007/s12161-022-02422-z>)