アブラナ科スプラウトのHS-SPME/GC-MSを用いた香気成分分析

環境情報学部1年

西村光平

要旨

アブラナ科植物の持つ独特の匂い，辛みはIsothiocyanate(ITC)によるものである．ITCはアブラナ科を食草とする昆虫がアブラナ科であるか否かを判断するうえで用いる重要な香気成分である．草食生物による食害などで細胞が破壊されたときより多くのITCが産生されるが，細胞が傷つかない状態でも微量のITCが常に空気中に放出されている．しかし，細胞を破壊しない状態での香気成分の測定に関する研究は十分には行われていない．そこで私はカイワレダイコン，ブロッコリー，クレス，マスタード，レッドキャベツの５品種のアブラナ科スプラウトにおける香気成分のうちITCについて，植物を出来るだけ傷つけない状態での分析を行うためヘッドスペース固相マイクロ抽出法（Headspace Solid rhase micro extraction; HS-SPME）を用いたGC-MSで解析した．マススペクトルのパターンから4-methylpentyl isothiocyanate，Benzyl isothiocyanate，4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate，4-(methylthio)butyl isothiocyanate，2-phenylethyl isothiocyanateの５種類のITCが同定された． 個々のアブラナ科植物で保有しているITCの種類に違いが見られた．ブロッコリーとレッドキャベツ，カイワレダイコンは共通のITCを保有しており，また，マスタードと前述の３品種の間には共通しているITCは見られなかった．このことはアブラナ科の系統関係と符合していた．

キーワード

Brassicas, Isothiocyanate, Glucosinolate, HS-SPME/GC-MS

背景

　グルコシノレート（glucosinolate; GL）は植物の二次代謝物に属し，一般的に液胞に含まれる．加水分解されることでグルコースと多くの分解生成物を生じる．ミロシナーゼがGLの加水分解を触媒する．そうして出来た分解生成物の一つがイソチオシアネート（isothiocyanete；ITC）であり，アブラナ科の辛味の源である．ITCは揮発性がある物質でアブラナ科独特の匂いの元でもある．(*Xiufeng Yan and Sixue Chen . 2007*)

　アブラナ科の匂いはアブラナ科を食草とする草食生物の誘引物質として働く(*jane L.wolfson 1980*)。アブラナ科に属するブロッコリー(*Brassica oleracea* Var*. italica)*での調査によると、ITC濃度は生育初期に最も高く、成長が進むと低くなる。（*Fernanda et al. 2002*）.

　これまでに、Arabidopsis thariana　をはじめとした多くのアブラナ科植物で、GLとその分解産物に関する研究はなされてきた。しかしながら、細胞破壊しない条件での香気成分に含まれるITCの種類、濃度について調べられた論文は見当たらない。

対象と方法

対象

　アブラナ科スプラウトの香気成分中に含まれているITCをヘッドスペース型固相マイクロ抽出法（HS-SPME）を用いたGC-MSで解析する。今回使用したサンプルは市販されているアブラナ科スプラウト、カイワレダイコン、ブロッコリースプラウト（海洋牧場）クレス、マスタード、レッドキャベツ（村上農園）を使用した。

方法

　今回は、春プロ期間中に行った実験についてまとめていきたいとおもう。市販のスプラウトは根の張った綿ごとパッケージされている。スプラウトを傷つけずにこの綿を外すことは極めて困難であるため、根の部分は切り離して採取した。それぞれのスプラウトを5本採取し、重量と大きさを記録した。茎、葉に切り分けたのちもう一度秤量し、速やかに５０％エタノール100µLを入れた別々の20mLガラスバイアルに投入した。内部標準液（IS）として1mM Cyclohexanone（シクロヘキサノン）10µLを加え、ただちに密栓してHS-SPME/GC-MS分析を行った。抽出にはSPMEファイバーに50 / 30µm DVB/ carboxen/ PDMS (SUPELCO社製)を用い、平衡化に30℃・5分、吸着に5分、脱着に10分の条件で行った。GC/MS装置はAglent 6890/5973 GC / MSDを用いた。CGの条件については、キャピラリーにDB-Wax φ0.25 mm×60 m, 0.25 m。検出器温度は250 ℃、カラムオーブン温度は 50 ℃で3分間保った後、5 ℃/分で加熱していき220 ℃で6分間維持する。キャリアガスはヘリウム、ガス流速: 0.8 mL/分である。

　検出されてきた物質の同定は、データベースのマススペクトルデータを参照した。特に今回はダイコンに含まれるo-Glycosideの分解産物である4-Methylpentyl ITC,5-(methylthio)-4-pentenitrile,Benzenpropanenitrile,3-(Methylthio)propyl ITC, Benzyl ITC, 4-(Methylthio)-3-butenyl ITC, 2-Phenylethyl ITC, 5-(Methylthio)pentyl ITC,のマススペクトルデータとの比較を行った。

　アブラナ科における系統関係についてはYan-Wen Yang et al (1999)の論文を参照した。

結果

引用文献

Yau-Wen Yang,\*,1 Kun-Nan Lai,\* Pon-Yean Tai,\* Din-Pow Ma,† andWen-Hsiung Li‡（1999）Molecular Phylogenetic Studies of *Brassica, Rorippa, Arabidopsis*

and Allied Genera Based on the Internal Transcribed Spacer

Region of 18S–25S rDNA. Molecular Phylogenetics and Evolution

Vol. 13, No. 3, December, pp. 455–462.