

原著論文

栽培時期，収穫サイズおよび収穫部位がツケナ在来品種大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) のグルコシノレートとイソチオシアネート含有量に及ぼす影響

杵本哲史・西本登志・鷲田和人*・浅尾浩史

Effect Growing Seasons, and Harvest Size, Harvest Parts on Glucosinolate and Isothiocyanate Contents of Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group).

Akihito SUGIMOTO, Toshi NISHIMOTO, Kazuto WASHIDA* and Hiroshi ASAO

Summary

We investigated glucosinolate (GSL) and isothiocyanate (ITC) contents obtained in different plant parts of Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) of various sizes grown in different seasons. Six GSLs were detected. Gluconapin (GNA) and glucobrassicinapin (GBN), found mainly in each plant part, accounted for more than 78% of total GSL contents. The total GSL contents were higher in the crop harvested on January 6 (sown in late October) than in the crop harvested on October 26 (sown in late September). The relative proportion of GNA to the total GSL contents was more than 50% in the crop harvested on October 26. The relative proportion of GBN to the total GSL contents in the crop harvested on January 6, which had been exposed to low air temperatures for a long period during the growing season, was higher than in the crop harvested on October 26 and equal to that of GNA. The ITC contents were higher in each plant part. Irrespective of the plant parts or the growing seasons, the ITC contents were equal to or higher in a large size (maximum leaf lengths were 40–60 cm) than in a regular size (maximum leaf length were 30 cm).

Key Words: Yamato-mana, glucosinolate content, Isothiocyanate content

緒言

アブラナ科植物には，特有の二次代謝物であるカラシ油配糖体のグルコシノレートが存在する．グルコシノレートは β -チオグルコシド，スルフォネートオキシムおよび側鎖から構成される．側鎖はそれぞれ，メチオニン，トリプトファンおよび，フェニルアラニンあるいはチロシンのアミノ酸に由来し，その構造によってグルコシノレートは，それぞれ，アリファティック系，インドール系およびアロマティック系の3グループに大別される．グルコシノレートは植物組織の損傷や破壊時に，内在酵素のミロシナーゼ(チオグルコシダーゼ，EC 3.2.1.147)によって，イソチオシアネート，ニトリル，チオシアネート，エピチオニトリルおよびオキサゾリジンなどの化合物に加水分解される⁷⁾．それらの中でも“NCS”基を持つイソチオシアネートには，抗病原体作用^{5), 8)}や抗菌作用²⁸⁾があることが報告されている．また，イソチオシアネートの発がん抑制効果に関しては，尿中のイソチオシアネートの排泄量が多いほど閉経期前後の乳がんのリスクが低くなる²⁸⁾ことや，アリルイソチオシアネートが膀胱がんの化学的予防ある

いは治療薬として期待できる⁶⁾など多くの報告がある．これらの点から，アブラナ科野菜は機能性食品としての有用性が期待できるため，アブラナ科植物のグルコシノレートの生成に関する研究は多く行われている．

グルコシノレートの生成は，種間^{13), 30)}あるいは品種間^{15), 23)}の遺伝的要因によって大きく変動し，同じ品種内あるいは個体内でも生育段階²⁹⁾や部位^{13), 20)}によって異なる．さらに，グルコシノレートの生成は，土壌の栄養条件¹⁷⁾，生育期間中の降水量¹⁰⁾，気温²⁶⁾および虫害による損傷²⁹⁾などの生育環境条件に影響を受ける．いくつかのアブラナ科野菜は周年栽培されることから，異なる季節でのグルコシノレート含有量が調べられている．冬季に収穫した飼料用キャベツ (*Brassica oleracea* L. var. *truncata*) の葉部におけるグルコシノレート含有量は，夏季に収穫したものよりも少ないという報告²⁵⁾がある．また，ブロッコリー (*Brassica oleracea* L. *Italica* Group) では，グルコシノレート含有量は5月定植の夏作よりも9月定植の冬作の方が多くなったという報告²⁴⁾もあり，グルコシノレート含有量の季節による変動に関する明確な知見は得られていない．これらの研究の多く

は欧州で行われており、わが国のアブラナ科植物においては、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) の地下部のイソチオシアネート含有量について作型 (春まきと晩夏まき) を比較した結果、春まきが晩夏まきよりも多いことが報告されている¹⁶⁾。また、野生種のキレハイヌガラシ (*Rorippa sylvestris* Besser) についての報告²²⁾があるが、ツケナ (*Brassica* 属) のような葉菜類におけるグルコシノレートあるいはイソチオシアネートの含有量を季節ごとに評価した報告は見られない。日本と欧州では、気候や栽培品種が異なることから、わが国においてツケナのグルコシノレートあるいはイソチオシアネートの含有量の季節的な変動を把握することは、ツケナを機能性食品として評価するうえで有効な情報になると考えられる。

ツケナの一つである大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) は、奈良県の在来品種¹⁾として栽培されてきた。大和マナはダイコンの葉に類似した葉身部に不規則な楕円形をした頭葉と翼葉を有する形状の葉を持ち、青菜独特のえぐみが少なく、冬の低温にあたると甘みが増す¹⁹⁾ことから、奈良県下では鍋物やおひたしなどにして食されてきた。奈良県では、大和マナを大和の伝統野菜として認定し、生産・販売支援に力を注いでいる。また、在来品種の揃いが悪い、あるいは収穫後の黄化しやすい欠点を克服するために、自家不和合性遺伝子を利用した育種によって F₁ 品種である‘夏なら菜’と‘冬なら菜’を育成した³⁾。大和マナの持つグルコシノレートの機能性については、大和マナ含有成分のグルコナピン (3-butenyl glucosinolate) の単回投与が、コーン油負荷マウスの脂質吸収を有意に抑制することが見だされている³¹⁾。今後、大和マナの生産を拡大するには、青果物以外に加工食品としての利用を考へることも重要であり、栽培時期が大和マナのグルコシノレートやイソチオシアネートの生成に及ぼす影響を明らかにすれば、利用価値を高めるための有用な情報となる。また、主に流通している青果物の大和マナは、葉長 25–35 cm のサイズであるが、漬け物や青汁加工として利用する場合、大株であっても商品として利用可能である。そこで本研究では、大和マナの固定品種である‘大和真菜’を用いて、異なる栽培時期、収穫サイズおよび収穫部位がグルコシノレートとイソチオシアネートの含有量に及ぼす影響を評価した。

材料および方法

1. 供試材料

大和マナの固定品種である‘大和真菜’ (ナント種苗) を 2008 年 9 月 19, 22, 26 および 30 日に播種して同年 10 月 28 日に収穫した株と、同年 10 月 17, 20, 23 および 28 日に播種して 2009 年 1 月 6 日に収穫した株を供試材料とした。供試材料を最大葉長 30 (M), 40 (L), 50 (2L) および 60 cm (3L) の収穫サイズ別および葉身と葉柄の収穫部位別にして凍結乾燥後、粉末化し分析試料とした。栽培は奈良県農業総合センター圃場 (奈良県橿原市) 内で行った。栽培条件は、条間 15 cm, 株間 7.5 cm の 4 条植えとし、10 a 当たり成分量で窒素 15 kg, リン酸 15 kg およびカリウム 15 kg を元肥として施用した。イソチオシアネートとグルコシノレートの含有量の測定は各区とも 3 株を 1 サンプルとして 3 反復した。

2. グルコシノレート含有量の測定

1) グルコシノレートの抽出

グルコシノレートの抽出は Mellon ら²¹⁾の方法から、抽出容量および抽出時間を改変して行った。供試材料の凍結乾燥した粉末 50 mg に 70% (v/v) メタノールを加え、80°C, 300 rpm で 30 分間振とうすることで、内在酵素のチオグルコシダーゼを失活させるとともに、グルコシノレートを抽出した。その後、遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) し、上清をフィルター (孔径 0.45 μm) でろ過して、グルコシノレート粗抽出液を得た。

2) グルコシノレートのインタクト分析

グルコシノレートの分析は、Mellon ら²¹⁾の方法から、移動相の組成比および検出時間を改変し、グルコシノレート粗抽出液を高速液体クロマトグラフ (HPLC) 装置 (Allience HPLC システム; Waters corp.) と検出器 (フォトダイオードアレイ検出器 2996; Waters corp.) に供することで行った。カラムは COSMOSIL 5C₁₈-MR-II (ナカライテスク, 内径 4.6 mm×長さ 250 mm) とし、カラム温度を 35°C に設定した。検出波長は 235 nm とした。移動相は、溶媒 A [0.05% (v/v) トリフルオロ酢酸/蒸留水] と溶媒 B [0.05% (v/v) トリフルオロ酢酸/メタノール] を用い、流速を 1.0 mL・min⁻¹ として、初期組成比を溶媒 B:0.5% とし、直線的グラジエントで組成比を変化させ、30 分で溶媒 B:40% とした後、5 分で溶媒 B:100% とし、溶媒 B:100% を 9 分間維持し、1 分間で溶

媒 B : 0.5%とした。

3) デスルホグルコシノレートの分析

各グルコシノレートの同定と標準溶液の濃度を測定するため、既存の報告¹⁸⁾に従ってデスルホグルコシノレートの分析を行った。グルコシノレート粗抽出液は、DEAE Sephadex A25 を加えたミニカラム (1,000 μl マイクロピペットチップを用いて自作した) に添加した。カラムを蒸留水、20 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.0) で洗浄後、0.3 Units \cdot mL^{-1} スルファターゼ (*Helix* type H-1, EC 3.1.6.1, Sigma) を 75 μl 添加し、18 時間、室温で静置させ、グルコシノレートのデスルホ化反応を行った。デスルホ化反応後、カラムを蒸留水 0.5 mL で 3 回溶出してデスルホグルコシノレート溶液を得た。デスルホグルコシノレート溶液は、分析まで -30°C で凍結保存した。デスルホグルコシノレート溶液はフィルター (孔径 0.45 μm) でろ過し、分析に用いた。カラムは COSMOSIL 5C₁₈-MR-II (ナカライテスク、内径 4.6 mm \times 長さ 250 mm) とし、カラム温度は 30°C とした。移動相は溶媒 A (蒸留水) と溶媒 B [20%(v/v)アセトニトリル/蒸留水] を用い、流速を 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ とし、既存の報告¹¹⁾の方法から分析時間を変更して次のように行った。初期組成比を溶媒 A : 100%, 溶媒 B : 0% とし、分析開始 1 分間は初期組成比を維持し、直線的グラジエントで組成比を変化させ 38 分間で溶媒 B : 100% とした後、3 分間溶媒 B : 100% を維持して 3 分間で初期組成比 (溶媒 B : 0%) に戻すことで、溶出したデスルホグルコシノレートを検出波長 229 nm で検出した。

4) 各グルコシノレートの同定

グルコシノレートのピークを特定するため、グルコシノレート粗抽出液に 0.5 mL の水と 0.25 mL の 1.0 Unit \cdot mL^{-1} チオグルコシダーゼ (Sigma) を加え、室温で 30 分間酵素反応させた。酵素反応後、酵素を失活させるために 80°C 、300 rpm で 30 分間振とうさせフィルター (孔径 0.45 μm) でろ過した。得られた試料を用いてインタクト分析とデスルホグルコシノレートの分析の方法により酵素反応によって消失したピークの溶出時間を求めた。

6 つのグルコシノレートと推定されるピークが消失したので、粗抽出液を LC/MS (ACQUITY UPLC system/ LCT Premier XE ; Waters corp.) に供し、各ピークに対応するグルコシノレートの質量を測定した。インタクト分析とデスルホグルコシノレート分析における保持時間と UV スペクトルあるいは、LC/MS での分子量の結果と既存の報告^{11),21),27),32)}から 6 つの

グルコシノレートのうち 5 つを、アリファティック系のグルコナピン (以下, GNA) とグルコブラシカナピン (以下, GBN), インドール系の 4OH-グルコブラシシン (以下, 4-OH GBS) とグルコブラシシン (以下, GBS), およびアロマティック系のグルコナスツルチイン (以下, GST) と同定した。さらにもう一つのグルコシノレートを分取 HPLC (ポンプ : PU2086, 検出器 : UV-2075, 溶媒ミキサー : MX-2080-32 ; 日本分光) により分取後, NMR 分析によってインドール系のネオグルコブラシシン (以下, NGBS) と同定した。

5) グルコシノレート標準品の精製と各種グルコシノレート含有量の定量

GST の標準品は Barillari ら⁴⁾によって報告されている方法を次のように修正して精製した。キバナクレス (*Barbarea verna*) の種子を熱水抽出し、遠心分離して得られた上清に 1M Zn(OAc)₂ を添加し、除たんぱく質を行った。さらに遠心分離して得られた上清を DEAE Sephadex A25 カラムクロマトグラフィーに供した。目的物を含む濃縮した画分を熱メタノールで抽出し、遠心分離した。得られた上清に冷エタノールに添加して、遠心分離することで、GST (2.93%) 標準粉末を得た。同様の方法で‘大和真菜’の種子から GNA \cdot GBN 標準粉末 (1.25%) を精製した。

NGBS 標準品は‘大和真菜’の地上部の凍結乾燥した粉末から単離した。凍結乾燥させた粉末を熱水抽出し、遠心分離 (3,100 rpm, 5 分間) して得た上清を DIAION HP-20, ODS カラムに供した。濃縮した画分を DIAION HP-20 により脱塩することで、NGBS 標準品を得た。GNA \cdot GBN, GST および NGBS 標準品を 70%メタノールで溶解させ、3 段階の濃度の溶液を作成し、内部標準としてシニグリン標準品 (Sigma) を加えて標準溶液を得た。標準溶液をインタクト分析とデスルホグルコシノレートの分析の方法で HPLC に供し、デスルホグルコシノレートの分析によって得られたピーク面積、内部標準品のシニグリンのピーク面積、および各グルコシノレートのレスポンスファクター²⁷⁾から GNA \cdot GBN, GST および NGBS の濃度を算出した。算出した標準溶液中の各デスルホグルコシノレート濃度とインタクト分析でのピーク面積から検量線を作成した。4OH-GBS と GBS は、標準試料が得られなかったため、UV スペクトルがほぼ一致していることから同系のグルコシノレートであ

る NGBS の検量線を用いて面積比から半定量した。

3. イソチオシアネート含有量の測定

イソチオシアネート (ITC) 含有量の測定は、イソチオシアネートを 1,2-ベンゼンジチオールで環化縮合反応させ、クロマトグラフィーにおいて吸光度率が非常に高く、単体で安定的な 1,3-ベンゾジチオール-2-チオンを生成させる Zhang ら³³⁾の方法から、イソチオシアネートの抽出と環化縮合反応試薬の濃度を改変させ以下の通りで行った。

グルコシノレート粗抽出液 1.0 mL に対し、1.0 mL の超純水と 0.5 mL の 1.0 Unit・mL⁻¹ チオグルコシダーゼ/PBS (リン酸緩衝生理食塩水) を添加し、混和後、室温で 30 分間酵素反応させた。酵素反応で生じたイソチオシアネートを酢酸エチル層へ移行させるために、5.0 mL の酢酸エチルを加え、20°C、200 rpm で 10 分間振とうさせ、遠心分離 (3,000 rpm, 5 min) した。酢酸エチル層 1.0 mL に対して 1.0 mL のメタノールを加え、混和して 0.5 mL を採取し、0.5 mL の 50 mM ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH8.5) と 0.05 mL の 8 mM 1,2-ベンゼンジチオール/メタノールを加え、混和後、65°C で 60 分間、環化縮合反応を行い、1,3-ベンゾジチオール-2-チオンを生成させた。反応後、室温まで放冷させ、フィルター (孔径 0.45 μm) でろ過し、分析用試料とした。

分析は HPLC 装置 (Alliance HPLC システム; Waters corp.) と検出器 (フォトダイオードアレイ検出器 2996; Waters corp.) を用い、Zhang ら³⁴⁾の方法から流速を変え、以下の条件で行った。分析には、カラムは COSMOSIL 5C18-AR-II (ナカライテスク、内径 4.6 mm×長さ 150 mm) を用い、カラム温度を 35°C に設定した。検出波長は 365 nm とした。移動相に 80% (v/v) メタノールを用いて流速を 1.0 mL・min⁻¹ とし、10 分間分析した。定量は、30、50 および 100 μM フェネチルイソチオシアネート (Sigma) /酢酸エチルを外部標準品として用いて上記と同様の方法で環化縮合反応を行った後、HPLC で分析し、ピーク面積と既知の濃度から検量線を作成することで行った。イソチオシアネート含有量はフェネチルイソチオシアネート換算 (MW:163.24) の値とした。

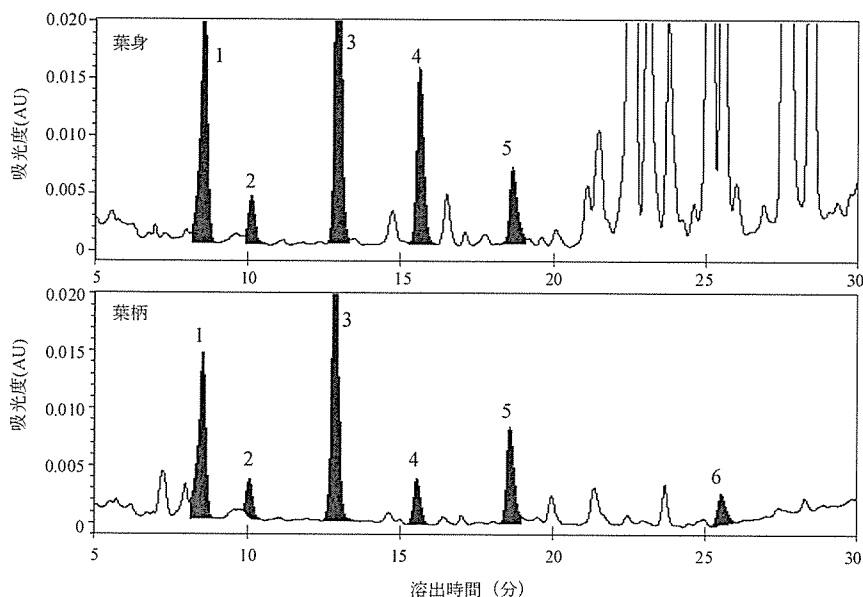
結 果

1. 栽培時期、収穫サイズおよび収穫部位が‘大和真菜’のグルコシノレート含有量に及ぼす影響

検出された 6 種類のグルコシノレート (第 1 図) のうち、アリファリック系の GNA と GBN は、‘大和真菜’の主要なグルコシノレートであり、すべての試験区で検出され、栽培時期、収穫サイズおよび収穫部位に関わらず、全グルコシノレート含有量の 78% 以上を占めた。

収穫日ごとに主要グルコシノレートの構成を見ると、10月28日では GNA 含有量が収穫サイズおよび収穫部位に関わらず 11.0–87.5 μmol・100 g⁻¹FW (以下、μmol・100 g⁻¹) と最も多く、全グルコシノレート含有量の 50% 以上を占め、GBN は 4.5–45.7 μmol・100 g⁻¹ と全グルコシノレート含有量の 14–33% を占めた (第 1 表)。GNA と GBN を除くと GBS と GST の含有量が多く、葉身ではそれぞれ、3.7–6.2 μmol・100 g⁻¹ と 2.3–3.7 μmol・100 g⁻¹ であり、葉柄ではそれぞれ、0.7–1.6 μmol・100 g⁻¹ と 0.9–1.9 μmol・100 g⁻¹ であった (第 2 表)。4OH-GBS の含有量は収穫部位に関わらず少なく (0.5–1.4 μmol・100 g⁻¹)、NGBS の含有量は葉身では検出されず、葉柄では 0.5–1.2 μmol・100 g⁻¹ と少なかった。10月28日収穫の‘大和真菜’において全グルコシノレート含有量に対する個々のグルコシノレート含有量の比率 (以下、含有比率) が 10% を超えるグルコシノレートは GNA と GBN を除いて見られなかった。

1月6日収穫の全グルコシノレートと主要なグルコシノレート (GNA と GBN) の含有量は、10月28日収穫に比べ有意に多くなった。GBN は 1月6日収穫における含有量が 10月28日収穫の値の 2.5–8.6 倍となり、葉身における含有量 (63.3–124.1 μmol・100 g⁻¹) は GNA (66.5–106.2 μmol・100 g⁻¹) と同程度となった。1月6日収穫の 4OH-GBS、GST および GBS の含有量は 10月28日収穫よりも多く、それらの中でも GST は 1月6日収穫における含有量が 10月28日収穫の値の 3.3–13.1 倍となり、葉身における含有量は 9.8–16.7 μmol・100 g⁻¹ で、葉柄における含有量 (7.0–11.5 μmol・100 g⁻¹) は全グルコシノレート含有量の 10.2–12.3% を占めた。4OH-GBS と GBS の含有量は、葉身ではそれぞれ 2.1–3.2 μmol・100 g⁻¹ と 5.4–7.8 μmol・100 g⁻¹ で、葉柄ではそれぞれ 1.8–2.2 μmol・100 g⁻¹ と 1.2–1.9 μmol・100 g⁻¹ であった。NGBS は葉柄のみで検出され、0.5–1.5 μmol・100 g⁻¹ と 10月28日収穫と同程度であった。



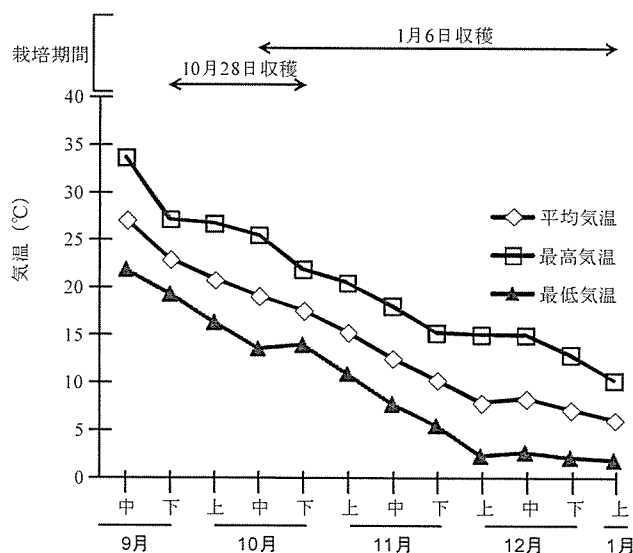
第1図 インタクト分析における‘大和真菜’のグルコシノレートのHPLCプロフィール
 Fig. 1. HPLC profiles of intact glucosinolates derived from ‘Yamatomana’.
 2009年1月6日収穫の3Lにおける葉身(上図)と葉柄(下図)の代表例。
 1: グルコナピン (GNA), 2: 4OH-グルコブラッシン (4OH-GBS),
 3: グルコブラシカナピン (GBN), 4: グルコブラッシン (GBS),
 5: グルコナスツルチン (GST), 6: ネオグルコブラッシン (NGBS)

全グルコシノレートと主要なグルコシノレートの含有量は，葉柄に比べて葉身の方が有意に多く，GNAとGBNは収穫サイズによって含有量が有意に変動した。

なお，9月下旬-10月下旬と10月下旬-1月上旬の期間中の平均気温は，それぞれ19.9および11.0°Cであり，特に12月上旬-1月上旬の平均気温は7.6°Cと10°Cを下回った(第2図)。また，1月6日収穫の‘大和真菜’は，収穫サイズに達するまでの生育期間(70-81日)が10月28日収穫の値(28-39日)の2.1-2.5倍と長くなった。

2. 栽培時期，収穫サイズおよび収穫部位が‘大和真菜’のイソチオシアネート含有量に及ぼす影響

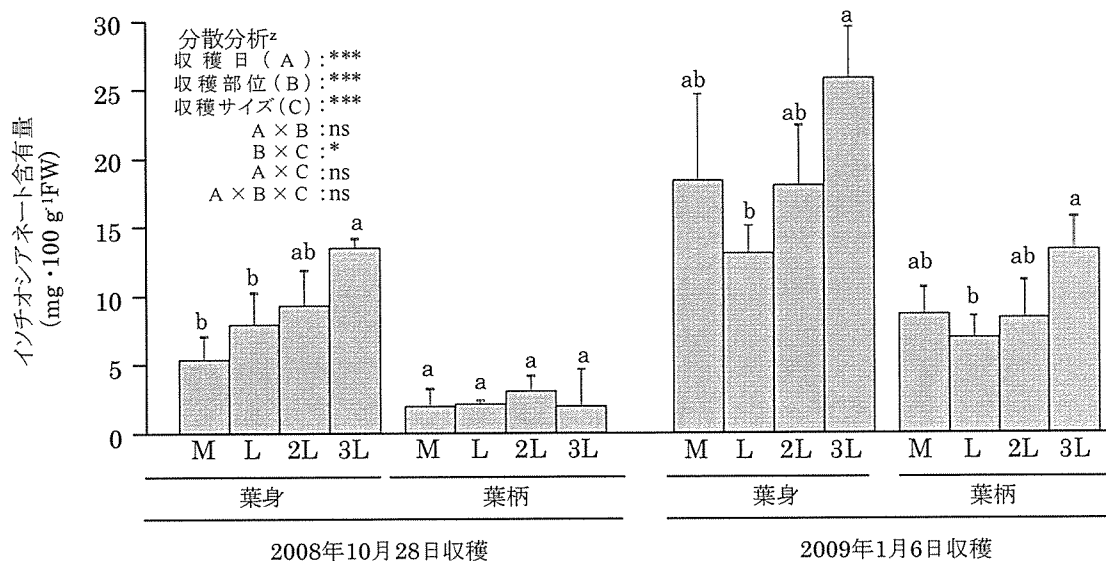
‘大和真菜’のITC含有量は，1月6日収穫の葉身が13.1-25.8 mg・100 g⁻¹と最も多く，次に10月28日収穫の葉身(5.4-13.5 mg・100 g⁻¹)と1月6日収穫の葉柄(7.1-13.2 mg・100 g⁻¹)が同程度であり，10月28日収穫の葉柄が2.0-3.1 mg・100 g⁻¹と最も少なかった(第3図)。分散分析の結果，栽培時期，収穫サイズおよび収穫部位によって，ITC含有量は有意に変動した。収穫サイズに関しては10月28日収穫の葉身のMあるいはLと3L，1月6日収穫の葉身と葉柄のLと3Lにおいて有意な差が認められた。



第2図 栽培期間中における気温
 Fig. 2. Air temperature during the growing season.
 値は10日間毎の平均
 奈良県農業総合センターの観測値

考 察

‘大和真菜’の全グルコシノレート含有量は，栽培時期と収穫サイズで変動し，葉柄で20.7-114.1



第3図 異なる栽培時期, 収穫サイズおよび収穫部位の‘大和真菜’におけるイソチオシアネート含有量
 縦棒は標準偏差を示す(n=3)

Fig. 3. Isothiocyanate contents of ‘Yamatomana’ in different growing seasons, harvest sizes, and harvested parts.
 異なるアルファベットは同一の収穫時期と収穫部位において, Tukey法により5%水準で有意差あり
^z***, *はそれぞれ0.1%, 5%水準で有意, nsは5%水準で有意でない

第1表 異なる栽培時期, 収穫サイズおよび収穫部位の‘大和真菜’における主要なグルコシノレート含有量

Table 1. Mainly glucosinolate contents of ‘Yamatomana’ in different growing seasons, harvest sizes, and harvested parts.

| 収穫日 | 収穫部位 | 収穫サイズ | グルコシノレート含有量(μmol · 100 g ⁻¹ FW) | | |
|-------------------|-----------|-------|--|---------------------|--------------|
| | | | GNA ^z | GBN | Total |
| 2008年10月28日 | 葉身 | M | 36.8 ± 13.8 (55.2) | 22.1 ± 7.7 (33.2) | 66.2 ± 21.3 |
| | | L | 46.4 ± 7.4 (58.1) | 25.2 ± 10.1 (30.5) | 80.6 ± 17.6 |
| | | 2L | 55.5 ± 9.9 (54.5) | 38.5 ± 18.8 (35.0) | 105.3 ± 31.8 |
| | | 3L | 87.5 ± 16.6 (61.2) | 45.7 ± 14.5 (32.2) | 142.7 ± 7.4 |
| | 葉柄 | M | 11.0 ± 5.7 (51.8) | 5.7 ± 3.8 (26.1) | 21.0 ± 10.0 |
| | | L | 12.1 ± 1.6 (58.2) | 4.4 ± 0.5 (21.5) | 20.7 ± 1.7 |
| | | 2L | 16.0 ± 3.5 (54.5) | 8.7 ± 6.3 (26.2) | 30.6 ± 11.7 |
| | | 3L | 13.7 ± 10.3 (74.1) | 5.1 ± 7.9 (14.3) | 21.3 ± 20.8 |
| 2009年1月6日 | 葉身 | M | 88.9 ± 52.7 (40.4) | 93.5 ± 4.6 (46.4) | 208.8 ± 50.8 |
| | | L | 66.5 ± 4.9 (44.6) | 63.3 ± 12.4 (42.0) | 149.9 ± 12.6 |
| | | 2L | 79.2 ± 5.5 (37.4) | 111.5 ± 38.5 (50.6) | 216.1 ± 46.1 |
| | | 3L | 106.2 ± 26.3 (43.4) | 124.1 ± 50.5 (48.3) | 251.4 ± 46.3 |
| | 葉柄 | M | 35.9 ± 21.5 (42.8) | 30.0 ± 5.0 (39.1) | 80.0 ± 18.5 |
| | | L | 33.3 ± 4.8 (50.8) | 22.0 ± 9.4 (32.0) | 66.7 ± 14.7 |
| | | 2L | 35.7 ± 11.4 (40.7) | 36.7 ± 12.9 (42.2) | 87.1 ± 24.0 |
| | | 3L | 54.1 ± 21.5 (46.9) | 44.0 ± 15.7 (38.9) | 114.1 ± 19.4 |
| 分散分析 ^y | 収穫日(A) | | *** | *** | *** |
| | 収穫部位(B) | | *** | *** | *** |
| | 収穫サイズ(C) | | ** | ** | *** |
| | A × B | | ns | ** | ns |
| | B × C | | ns | ns | * |
| | A × C | | ns | ns | * |
| | A × B × C | | ns | ns | ns |

値は平均±標準偏差(n=3)

括弧内は全グルコシノレート含有量に対する各グルコシノレートの含有比率(%)

^z GNA: グルコナピン, GBN: グルコブラシカナピン, Total: 全グルコシノレート

^y ***, **, *はそれぞれ, 0.1%, 1%, 5%水準で有意, nsは5%水準で有意でない

第2表 異なる栽培時期、収穫サイズおよび収穫部位の‘大和真菜’におけるグルコシノレートの含有量
 Table 2. Glucosinolate contents of ‘Yamatomana’ in different growing seasons, harvest sizes, and harvested parts.

| 収穫日 | 収穫部位 | 収穫サイズ | グルコシノレート含有量 ($\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$) | | | |
|-------------------|-----------|-------|---|-----------|-----------|------------|
| | | | GBS ^a | 4OH-GBS | NGBS | GST |
| 2008年10月28日 | 葉身 | M | 3.7 ± 0.4 | 0.8 ± 0.1 | - | 2.8 ± 0.8 |
| | | L | 5.1 ± 0.4 | 0.9 ± 0.1 | - | 2.9 ± 0.3 |
| | | 2L | 6.2 ± 1.1 | 1.4 ± 0.3 | - | 3.7 ± 3.0 |
| | | 3L | 5.8 ± 0.5 | 1.4 ± 0.1 | - | 2.3 ± 1.0 |
| | 葉柄 | M | 1.1 ± 0.1 | 0.8 ± 0.0 | 0.9 ± 0.2 | 1.5 ± 0.3 |
| | | L | 1.2 ± 0.1 | 0.9 ± 0.1 | 0.8 ± 0.2 | 1.4 ± 0.1 |
| | | 2L | 1.6 ± 0.2 | 1.2 ± 0.3 | 1.2 ± 0.3 | 1.7 ± 0.8 |
| | | 3L | 0.7 ± 0.4 | 0.5 ± 0.3 | 0.5 ± 0.3 | 0.9 ± 1.0 |
| 2009年1月6日 | 葉身 | M | 6.5 ± 2.1 | 3.2 ± 0.5 | - | 16.7 ± 2.9 |
| | | L | 7.8 ± 0.9 | 2.5 ± 0.2 | - | 9.8 ± 1.2 |
| | | 2L | 6.6 ± 0.9 | 2.9 ± 0.1 | - | 15.9 ± 1.1 |
| | | 3L | 5.4 ± 0.9 | 2.1 ± 0.5 | - | 13.6 ± 4.0 |
| | 葉柄 | M | 1.7 ± 0.2 | 1.8 ± 0.2 | 1.5 ± 0.3 | 9.1 ± 2.1 |
| | | L | 1.9 ± 0.2 | 2.0 ± 0.1 | 0.5 ± 0.0 | 7.0 ± 2.2 |
| | | 2L | 1.2 ± 0.2 | 1.9 ± 0.2 | 0.8 ± 0.2 | 10.7 ± 2.9 |
| | | 3L | 1.5 ± 0.1 | 2.2 ± 0.3 | 0.7 ± 0.0 | 11.5 ± 2.3 |
| 分散分析 ^a | 収穫日(A) | | * | *** | ns | *** |
| | 収穫部位(B) | | *** | *** | - | *** |
| | 収穫サイズ(C) | | ns | ns | * | * |
| | A × B | | ns | ns | - | * |
| | B × C | | ns | ns | - | ns |
| | A × C | | ns | ns | ns | * |
| | A × B × C | | ns | * | - | ns |

値は平均±標準偏差(n=3), -は未検出

^a GBS:グルコブラッシン, 4OH-GBS:4OH-グルコブラッシン, NGBS:ネオグルコブラッシン, GST:グルコナスツルチン

^b ***, **, *はそれぞれ, 0.1%, 1%, 5%水準で有意, nsは5%水準で有意でない

$\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$, 葉身で 66.2–251.4 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ の範囲であった。グルコシノレート含有量は栽培時期の気温や日射, 土壌条件などの環境条件に影響を受けることから単純に比較はできないが, 他のアブラナ科野菜のグルコシノレート含有量についての報告⁹⁾と比較すると, ‘大和真菜’の葉身の全グルコシノレート含有量 (66.2–251.4 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$) はマスタード (*B. juncea*) の葉 (1,140.6–1242.2 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$) に比べて低いものの, 食用のケール (*B. oleracea*) の葉 (242.8–306.7 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$) やブロッコリー (*B. oleracea*) の花蕾 (102.2–262.7 $\mu\text{mol} \cdot 100\text{g}^{-1}$) と同程度であった。

栽培時期によってグルコシノレート含有量は有意に変化し, 1月6日収穫におけるグルコシノレート含有量が10月28日収穫と比較して多くなった。また, 1月6日収穫の‘大和真菜’は, 12月上旬から収穫日までの1ヵ月間10°C以下の低温条件下にさらされたため, 収穫サイズに達するまでの生育期間が10月28日収穫の2.0倍以上となった。低温条件下で栽培した植物体のグルコシノレート含有量が多くなることは, 10あるいは15°Cで長期間生育したウォータークレス (*Nasturtium officinale*) のGST含有量が, 20

あるいは25°Cで生育したウォータークレスに比べて少なくとも50%多かった報告¹²⁾や, 連続した3年間で栽培期間中の日平均気温が最も低かった年に栽培したブロッコリーとカリフラワーの花蕾における全グルコシノレート含有量が他の2年間に比べて多かった報告²⁶⁾と一致する。低温条件下では植物の生長速度は小さくなることから, 栽培期間において低温にさらされたことや生育期間が長期化したことによって‘大和真菜’の全グルコシノレートや主要なグルコシノレートの含有量が多くなったと推察される。

‘大和真菜’に含まれるグルコシノレートの含有量はGNAが最も多く, 次にGBNが多かった。Kimら¹⁸⁾は‘大和真菜’と同じ*B. rapa* L.であるナバナの花蕾部の主要なグルコシノレートがGNAとGBNであることを示し, 早生品種と比較して中生や晩生の品種においてGBNが多く含有することを明らかにした。本報告では主要なグルコシノレートの中で, GBNは長期間低温にさらされた1月6日収穫の含有比率が10月28日収穫よりも高くなり, GNAと同程度になった。GNAとGBNが属するアルファティック系のグルコシノレートはメチオニンに由来することが知られている³⁰⁾。GNAとGBNの側鎖は炭素数がそ

れぞれ4と5個であり、さらに側鎖の修飾が同じ段階であることから、1月6日収穫のGBNの含有比率が10月28日収穫よりも高かったことはメチオニン側鎖の伸長が原因であると考えられるが、低温条件下で長期間栽培されたことによる影響であるかは明らかでない。

‘大和真菜’の葉身の全グルコシノレート含有量は、葉柄よりも有意に多かった。収穫部位によってグルコシノレート含有量が異なることは、野生ダイコンを用いた報告²⁰⁾と一致する。同じ供試材料を用いてアンジオテンシンI変換酵素(ACE)阻害活性を測定して血圧降下作用を評価したところ、葉身のACE阻害活性は葉柄の約2倍であった²⁾。‘大和真菜’の葉身は葉柄よりもイソチオシアネート含有量多く、さらにACE阻害活性も高いという結果から、葉身が機能性食材として有用であると考えられる。

以上のように、一般的に流通しているMサイズ以上であるL-3L(最大葉長40-60cm)の‘大和真菜’においてMサイズと同等以上のイソチオシアネートが含まれることが示された。さらに、同様の草丈であっても、栽培時期によって‘大和真菜’のグルコシノレートの含有量や含有比率が異なることが示された。漬け物や青汁加工として利用する場合、通常の流れサイズより大きいサイズで収穫した方が単位面積当たりの収量が増加する点で有利であり、収穫サイズが大きい収穫物のイソチオシアネート含有量が通常の流れサイズの収穫物と同等以上であったことは、大和マナを材料として新たな商品開発を行ううえで、有用な情報になるであろう。

摘 要

アブラナ科野菜である大和マナ(*Brassica rapa* L. Oleifera Group)の固定品種である‘大和真菜’について、栽培時期、収穫サイズおよび収穫部位がグルコシノレートとイソチオシアネート含有量に及ぼす影響について評価した。6種類のグルコシノレートが検出され、グルコナピンとグルコブラシカナピンの主要なグルコシノレートは全体の78%以上を占めた。収穫部位や収穫サイズに関わらず、1月6日収穫(10月下旬播種)における全グルコシノレート含有量は、10月28日収穫(9月下旬播種)に比べ多かった。10月28日収穫におけるグルコナピン含有量は、収穫部位や収穫サイズに関わらず全グルコシノレートの

50%以上を占めたのに対し、長期間低温にさらされた1月6日収穫ではグルコブラシカナピンの構成比率が大きくなり、グルコナピンと同程度となった。イソチオシアネート含有量は、全グルコシノレート含有量と同様の傾向を示し、葉身の方が葉柄よりも多く、1月6日収穫の方が10月28日収穫よりも多かった。収穫サイズが大きい(最大葉長40-60cm)‘大和真菜’のイソチオシアネート含有量は通常の流れサイズ(最大葉長30cm)と同等以上であった。

引用文献

1. 青葉 高. 1963. 本邦そ菜在来品種の地理的分布と分類に関する研究(第4報) ツケナ在来品種の分類と地理的分布について. 園学雑. 32: 65-72.
2. 浅尾浩史・西本登志・間島いつか・奥田まみ子・鷲田和人・野本享資. 2011. 大和マナの異なる部位、生育時期および調理におけるアンジオテンシンI変換酵素阻害活性と糖含量の変動. 園学研. 10: 261-265.
3. 浅尾浩史・西本登志・越智康治・梶田季生・高山誠司. 2011. Sハプロタイプに着目して育成したF1大和マナ品種(‘夏なら菜’と‘冬なら菜’). 近畿中国四国農研. 19: 15-19.
4. Barillari, J., D. Gueyraud, P. Rollin and R. Iori. 2001. Barbarea verna as a source of 2-phenylethyl glucosinolate, precursor of cancer chemopreventive phenylethyl isothiocyanate. Fitoterapia 72: 760-764.
5. Beevi, S. S., L. N. Mangamoori, V. Dhand and D. S. Ramakrishna. 2009. Isothiocyanate profile and selective antibacterial activity of root, stem, and leaf extracts derived from *Raphanus sativus* L.. Foodborne Pathogens and Disease 6: 129-136.
6. Bhattacharya, A., L. Tang, Y. Li, F. Geng, J. D. Paonessa, S. C. Chen, M. K. K. Wong and Y. Zhang. 2010. Inhibition of bladder cancer development by allyl isothiocyanate. Carcinogenesis 31: 281-286.
7. Bones, A. M. and J. T. Rossiter. 2006. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. Phytochemistry 67: 1053-1067.
8. Brader, G., M. D. Mikkelsen, B. A. Halkier and E. T. Palva. 2006. Altering glucosinolate profiles modulates disease resistance in plants. Plant J. 46: 758-767.
9. Carlson, D. G., M. E. Daxenbichler, C. H. VanEtten, W.

- F. Kwolek and P. H. Williams. 1987. Glucosinolates in crucifer vegetables: broccoli, Brussels sprouts, cauliflower, collards, kale, mustard greens, and kohlrabi. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112: 173-178.
10. Ciska, E., B. Martyniak-Przybyszewska and H. Kozłowska. 2000. Content of glucosinolates in cruciferous vegetables grown at the same site for two years under different climatic conditions. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2862-2867.
11. EEC Regulation No. 1984/90. 1990. Annex VIII. *Offic. J. Eur. Commun.* L170: 27-34.
12. Engelen-Eigles, G., G. Holden, J. D. Cohen and G. Gardner. 2006. The effect of temperature, photoperiod, and light quality on gluconasturtiin concentration in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *J. Agric. Food Chem.* 54: 328-334.
13. Fahey, J. W., A. T. Zalcmann and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56: 5-51.
14. Fowke, J. H., F-L. Chung, F. Jin, D. Qi, Q. Cai, C. Conaway, J-R. Cheng, X-O. Shu, Y-T. Gao and W. Zheng. 2003. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Res.* 63: 3980-3986.
15. 石田正彦・奥山善直・高畑義人・海妻矩彦. 1995. 日本産ナタネにおけるグルコシノレート含量の品種間差. *育雑.* 45: 357-364.
16. 石井現相・西條了康. 1987. 栽培条件がダイコン搾汁液中のイソチオシアネート含量に及ぼす影響. *園学雑.* 56: 313-320.
17. 石井現相・西條了康. 1988. ダイコンの全グルコシノレート含量に及ぼす硫酸イオン濃度と窒素濃度の影響. *日本土壤肥料学雑誌* 59: 99-102.
18. Kim, S-J., S. Kamaguchi and Y. Watanabe. 2003. Glucosinolates in vegetative tissues and seeds of twelve cultivars of vegetables turnip rape (*Brassica rapa* L.). *Soil Sci. Plant Nutr.* 49: 337-346.
19. 木矢博之. 2006. 冬季におけるツケナ類の収量および品質関連成分. *奈良農技セ研報.* 37: 19-24.
20. Malik, M. S., M. B. Riley, J. K. Norsworthy and W. Jr. Bridges. 2010. Glucosinolate profile variation of growth stages of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *J. Agric. Food Chem.* 58: 3309-3315.
21. Mellon, F. A., R. N. Bennett, B. Holst and G. Williamson. 2002. Intact glucosinolate analysis in plant extracts by programmed cone voltage electrospray LC/MS: performance and comparison with LC/MS/MS methods. *Anal. Biochem.* 306: 83-91.
22. Mizutani, J. and A. Yamane. 1991. Chemodynamics of glucosinolates in kireha-inugarashi, *Rorippa sylvestris*. *Weed Res. (Japan)* 36: 68-73.
23. Padilla, G., M. E. Cartea, P. Velasco, A. de Haro and A. Ordás. 2007. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochemistry* 68: 536-545.
24. Rosa, E. A. S. and A. S. Rodrigues. 2001. Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late seasons. *HortScience* 36: 56-59.
25. Rosa, E. and R. Heaney. 1996. Seasonal variation in protein, mineral and glucosinolate composition of Portuguese cabbages and kale. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57: 111-127.
26. Schonhof, I., A. Krumbein and B. Brückner. 2004. Genotypic effects on glucosinolates and sensory properties of broccoli and cauliflower. *Nahrung/Food.* 48: 25-33.
27. Suzuki, C., M. Ohnishi-Kameyama, K. Sasaki, T. Murata and M. Yoshida. 2006. Behavior of glucosinolates in pickling cruciferous vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 54: 9430-9436.
28. Uda, Y., H. Matsuoka, H. Kumagami, H. Shima and Y. Maeda. 1993. Stability and antimicrobial property of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate, the pungent principle in radish. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 40: 743-746.
29. Velasco, P., M. E. Cartea, C. González, M. Vilar and A. Ordás. 2007. Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea acephala* Group). *J. Agric. Food Chem.* 55: 955-962.
30. Verkerk, R., M. Schreiner, A. Krumbein, E. Ciska, B. Holst, I. Rowland, R. D. Schrijver, M. Hansen, C. Gerhäuser, R. Mithen and M. Dekker. 2009. Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol. Nutr. Food Res.* 53: S219-S265.
31. Washida, K., M. Miyata, T. Koyama, K. Yazawa and K. Nomoto. 2010. Suppressive effect of yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) constituent

- 3-butenyl glucosinolate (gluconapin) on postprandial hypertriglyceridemia in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 1286-1289.
32. Wathelet, J-P., R. Iori, O. Leoni, A. Quinsac and S. Palmieri. 2004. Guidelines for glucosinolate analysis in green tissues used for biofumigation. *Agroindustria* 3: 257-266.
33. Zhang, Y., C-G. Cho, G. H. Posner and P. Talalay. 1992. Spectroscopic quantitation of organic isothiocyanates by cyclocondensation with vicinal dithiols. *Anal. Biochem.* 205: 100-107.
34. Zhang, Y., K. L. Wade, T. Prestera and P. Talalay. 1996. Quantitative determination of isothiocyanates, dithiocarbamates, carbon disulfide, and related thiocarbonyl compounds by cyclocondensation with 1,2-benzenedithiol. *Anal. Biochem.* 239: 160-167.