

称号及び氏名	博士（学術）Hataitip Nimitkeatkai
学位授与の日付	平成 17 年 9 月 30 日
論文名	「 <b>Postharvest Characteristics and Control of Odor Emission from Inflorescences of <i>Gypsophila paniculata</i> L.</b> 」 (シュツコンカスミソウ切り花の悪臭発散特性とその制御)
論文審査委員	主査 森 源治郎 副査 阿部 一博 副査 池田 英男 副査 高橋 正昭 副査 稲本 勝彦

## 論文要旨

シュツコンカスミソウ (*Gypsophila paniculata* L.) は、フラワーアレンジメントやブーケの添え花として広く用いられている世界的にも生産量が多い切り花花きであるが、独特な悪臭が消費拡大の障害となっている。本研究では、悪臭のしない切り花を供給することを目的として、原因物質を特定し、その発散特性と生成経路を明らかにした上で、エステル化による悪臭の低減方法について検討した。

### 第1章 カスミソウ属植物花序の悪臭発散特性

*Gypsophila* 属 2 種 4 品種 (*G. elegans* Bied. ‘コベントガーデンマーケット’, *G. paniculata* L. ‘ブリストルフェアリー’, ‘ゴラン’, ‘ユキンコ’) の切り花から発散される揮発性物質をヘッドスペース吸着法により捕集し、FID および質量分析計を検出器としたガスクロマトグラフィーにより定性・定量した。花序から発散される主要な揮発性物質として、オシメン、メチル酪酸 [3-メチル酪酸 (イソ吉草酸), 2-メチル酪酸] およびエタノールが同定され、それぞれの化合物の香気特性および発散量からメチル酪酸が悪臭の原因物質であると判断された。すなわち、メチル酪酸の発散量は、官能検査において

悪臭が強いと評価された‘ブリストルフェアリー’と‘ゴラン’で最も多く、悪臭が弱いと評価された‘ユキンコ’で少なかった。悪臭がほとんど感じられない‘コベントガーデンマーケット’からは、メチル酪酸の発散は認められなかった。次に、‘ブリストルフェアリー’を用いてメチル酪酸の発散特性を調べたところ、未開花の花序では発散がなく、開花に伴って増加し、満開時（開花4日後）に最大に達した。また、満開前後では暗期と比較して明期の発散量が多くなった。花卉を除去すると発散量が大幅に低下したことから、メチル酪酸の主たる発散部位は花卉であると考えられた。

## 第2章 シュッコクカスミソウ花序におけるメチル酪酸の生成経路

メチル酪酸の生成に関係する分岐鎖アミノ酸の代謝について調査した。切り花を3-メチル酪酸の前駆物質と考えられるL-ロイシン、あるいは2-メチル酪酸の前駆物質と考えられるL-イソロイシンを含む溶液に生けると、両者ともメチル酪酸の発散量が増加し、特にL-ロイシンを処理した場合に悪臭が強まることが示された。一方、イソバレリアルデヒド溶液に生けると、イソアミルアルコールの発散が著しく増加するとともにメチル酪酸の発散量も増加した。そこで、L-ロイシンの代謝経路として、ケト酸（ $\alpha$ -ケトイソカプロン酸）を経た後に、アルデヒド（イソバレリアルデヒド）を経由してアルコール（イソアミルアルコール）に至る経路Ⅰと、アシル CoA（イソバレリル CoA）を経由してカルボン酸の一種である3-メチル酪酸に至る経路Ⅱを想定して、各々の代謝経路に関与する酵素の活性を測定した。経路Ⅰにおいて、ケト酸からアルデヒドを生成するピルビン酸デカルボキシラーゼ（PDC）、アルデヒドからアルコールを生成するアルコールデヒドロゲナーゼ（ADH）の活性は、悪臭発生がない未開花小花において高く、悪臭を発生する開花小花では著しく低くなった。なお、アルデヒドからカルボン酸を生成するアルデヒドオキシダーゼ（AO）やアルデヒドデヒドロゲナーゼ（ALDH）の活性はほとんど認められなかった。一方、経路Ⅱにおいてケト酸からアシル CoA を生成するピルビン酸デヒドロゲナーゼ（PDH）、アシル CoA からカルボン酸を生成するアシル CoA ヒドロラーゼ（ACH）の活性は、開花に伴って高まった。これらの結果から、未開花の小花では、L-ロイシンは経路Ⅰ上のPDCとADHによりイソバレリアルデヒドを経由してイソアミルアルコールに代謝されると考えられる。一方、開花後の小花では、PDC活性が急激に低下し、代わって経路Ⅱ上のPDHとACHの活性が高まることで、L-ロイシンはイソバレリル CoA を経由して悪臭原因物質である3-メチル酪酸に代謝されると考えられる。

### 第3章 エステル化によるシュッコンカスミソウ花序からの悪臭発生の抑制

シュッコンカスミソウの開花花序からはエステルが発散はほとんどみられない。メチル酪酸のエステルを生成させることができれば、メチル酪酸の発散量を低下させ、悪臭を低減できるのではないかと考えた。そこで、‘ブリストルフェアリー’ 切り花に対し、第1章で花序から比較的多量の発散が認められたエタノール、第2章で生成経路の存在が確認されたイソアミルアルコール、ならびに花序のヘッドスペース中に微量の存在が報告されている4種のアアルコール（シス-3-ヘキセン-1-オール、1-ヘキサノール、ベンジルアルコール、2-フェニルエチルアルコール）を添加した水に生けた。官能検査では、イソアミルアルコール、ベンジルアルコール、2-フェニルエチルアルコールの悪臭低減効果が認められた。また、メチル酪酸の発散量がエタノールを除く他のアルコール処理により減少した。さらに、エタノール以外のアルコール処理により、それぞれのアルコールを基質とした酢酸エステルが発散が認められ、外生的に与えたアルコールが、エステル化酵素（アルコールアセチルトランスフェラーゼ：AAT）によって、生体内のアセチル CoA と反応することが示唆された。イソアミルアルコールを与えた場合には、メチル酪酸への代謝経路Ⅱにおける中間体であるイソバレリル CoA との反応に基づくと思われるメチル酪酸イソアミルの著しい発散が認められた。次に *in vitro* で、開花小花の抽出液を AAT 粗酵素液として、アルコールに対する基質特異性を調査した。アセチル CoA を用いた場合、アシル受容体としての反応性は、シス-3-ヘキセン-1-オールおよび 1-ヘキサノールで最も高く、エタノールで最も低くなった。イソバレリル CoA を用いた場合には、やはりエタノールのアシル受容体としての反応性が低く、一方でイソアミルアルコールの反応性が最も高く、芳香族アルコール（ベンジルアルコール、2-フェニルエチルアルコール）の反応性も比較的高かった。切り花に種々のアルコールを処理した時にみられるメチル酪酸発散の抑制パターンと、*in vitro* で測定した AAT の基質特異性との間には関連性が認められ、アルコール処理によるメチル酪酸の発散抑制にはエステル生成が関与していると考えられた。これらの結果から、シュッコンカスミソウの開花小花から発散される揮発性物質の中にメチル酪酸が多量に含まれる一方で、メチル酪酸エステルがほとんど含まれない理由として、小花中に含まれるエタノールは AAT との親和性が低いこと、AAT との親和性が高い種類のアアルコールが開花小花中に十分量存在していないことの2点が考えられた。さらに、シュッコンカスミソウの AAT との親和性が高いイソアミルアルコール等のアルコールを生け水に添加することで、メチル酪酸エステルが生成され、メチル酪酸の発散量を低下させることが示された。

## 総括

本研究では、シュッコンカスミソウ花序が発散する悪臭の原因物質がメチル酪酸であることを明らかにした上で、その発散特性や生成経路について検討した。メチル酪酸の発散は、蕾では低く、開花に伴って増加し、満開を過ぎると急速に減少した。メチル酪酸は分岐鎖アミノ酸からケト酸、アシル CoA を経由して生成され、小花の開花に伴って、ケト酸をアルデヒドに導く PDC の活性が低下すること、一方でケト酸からアシル CoA への転換を触媒する PDH 活性が上昇することでメチル酪酸の合成が促され、悪臭発生の原因となるものと推察された。また、花序のヘッドスペース中にはエステルがほとんど存在しなかったが、花序中には AAT 活性が認められ、シュッコンカスミソウ小花が持つ AAT との反応性の高いアルコールを切り花に吸収させることで、酢酸エステルやメチル酪酸エステルが生成され、同時にメチル酪酸の発散を抑制することができた。これらの知見は、今後悪臭の少ないシュッコンカスミソウ切り花の供給を可能にし、その消費拡大に大いに貢献するものと期待される。

## 審査結果の要旨

シュッコンカスミソウ (*Gypsophila paniculata* L.) は、フラワーアレンジメントやブーケに欠かすことのできない添え花であり、世界的にも多く生産されているが、開花時の独特の悪臭が大きな問題になっている。

本研究は、悪臭のない切り花を供給することを目的として、原因物質を特定するとともに、その発散特性と生成経路を明らかにした上で、エステル化による悪臭の低減方法について検討したものである。

第1章では、まず切り花から発散する主要な揮発性物質としてオシメン、メチル酪酸〔3-メチル酪酸 (イソ吉草酸)、2-メチル酪酸〕およびエタノールを同定し、品種によって悪臭発散程度に差異があること、それぞれの化合物の香気特性および発散量から、悪臭の原因物質はメチル酪酸であることを見いだした。次いでメチル酪酸の発散特性を調べ、未開花の花序ではメチル酪酸の発散がなく、開花に伴って増加し、満開時に最大に達すること、満開前後では暗期と比較して明期の発散量が多くなること、メチル酪酸の主たる発散部位は花卉であることを明らかにした。

第2章では、メチル酪酸の生成に関係する分岐鎖アミノ酸の代謝について検討した。3-メチル酪酸の前駆物質と考えられる L-ロイシンの代謝経路として、ケト酸 ( $\alpha$ -ケトイソカプロン酸) を経た後に、アルデヒド (イソバレリアルデヒド) を経由してアルコール (イソアミルアルコール) に至る経路 I と、アシル CoA (イソバレリル CoA) を経由してカルボン酸の一種である 3-メチル酪酸に至る経路 II を想定して、各々の代謝経路に関与する酵素の活性を調べた。未開花の小花では、L-ロイシンが経路 I 上のピルビン酸デカルボキシラーゼ (PDC) とアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) によりイソバレリアルデヒドを経由してイソアミルアルコールに代謝されること、一方、開花後の小花では、PDC 活性が急激に低下し、代わって経路 II 上のピルビン酸デヒドロゲナーゼ (PDH) とアシル CoA ヒドロラーゼ (ACH) の活性が高まったことから、L-ロイシンはイソバレリル CoA を経由して悪臭原因物質である 3-メチル酪酸に代謝されることを示唆した。

第3章では、エステル生成によるメチル酪酸の発散量の抑制について検討するため、切り花を6種類のアアルコール (エタノール、イソアミルアルコール、シス-3-ヘキセン-1-オ

ール, 1-ヘキサノール, ベンジルアルコール, 2-フェニルエチルアルコール) を添加した水に生ける処理を行った。官能検査でイソアミルアルコール, ベンジルアルコール, 2-フェニルエチルアルコール処理による悪臭低減効果が認められた。また, メチル酪酸の発散量はエタノールを除く他のアルコール処理により減少した。さらに, エタノール以外のアルコール処理により, それぞれのアルコールを基質とした酢酸エステルの発散が認められた。これらの結果から, 外生的に与えたアルコールがエステル化酵素 (アルコールアセチルトランスフェラーゼ: AAT) によって生体内のアシル CoA と反応することを示唆した。また, 切り花に 6 種類のアルコールを処理した時にみられるメチル酪酸発散の抑制パターンと *in vitro* で測定した AAT の基質特異性との間には関連性が認められ, アルコール処理によるメチル酪酸の発散抑制にはエステル生成が関与していることを明らかにした。

本研究は, シュッコンカスミソウ切り花が発散する悪臭の原因物質がメチル酪酸であること, さらにその発散特性や生成経路を明らかにしたうえで, 収穫後の切り花に小花が持つ AAT との反応性の高いアルコールを吸収させることで酢酸エステルやメチル酪酸エステルを生成させ, メチル酪酸の発散を抑制できることを見いだしたものである。

これらの成果は, シュッコンカスミソウの消費拡大に大いに貢献するとともに, 花卉園芸学および園芸利用学に貢献するところが大きく, 最終試験の結果と併せて, 博士 (学術) の学位を授与するのが適当と認める。