
新規低分子不凍活性の解明と食品保存への応用

東京理科大学工学部応用生物科学科・教授 朽津 和幸

■ 目的

冷凍食品は保存、流通中の氷晶肥大や食材の部分乾燥による品質・食味低下が不可避で、抑制技術が必要である。一方、凍結を回避して食品・飲料・医薬品等を過冷却状態で保存する流通法も凍結・融解の手間がないため注目されるが、過冷却状態の長期維持は困難で、過冷却を促進・安定化する技術開発が必要である。冷凍食品の品質維持には、氷結晶成長抑制や再結晶阻害作用のある不凍活性物質を活用した過冷却保存が有効と考えられ、安定で効果の高い物質の探索が求められている。

寒冷地で生育する植物は、氷結晶成長抑制や再結晶阻害作用のある不凍活性物質の宝庫と考えられる。植物体の殆どの組織が高い深過冷却能力(-20～-30°C)により耐寒するササ類は、過冷却能力と相関の高い未知の不凍活性を持つことが想定される。ササは、タケノコ等食用に供される植物と近縁で、日本の山岳地帯に大量にあるため、資源として有望である。そこで本研究では、特に過冷却能力の高いチシマザサを用いて、その深過冷却機能のメカニズムやそれに関与する物質の解明を目指す。

■ 方法

1) 栃木県山岳地帯にて季節を追ってチシマザサを採取し、その葉鞘を用いて、冷却速度 5°C/h で冷却した際の潜熱放出を示差熱分析により測定することで、耐寒性(過冷却能力)を測定した。低温ステージを用いた氷微細結晶成長の顕微鏡観察法により細胞内抽出物の不凍活性を測定した。

2) 過冷却能力が顕著に上昇する前後のチシマザサ葉鞘を裁断し、液体窒素温度で凍結後、粉碎、計量して、CE-TOFMS 法によりメタボローム解析を行った。

■ 結果および考察

1) チシマザサ葉鞘の過冷却能力の季節変化を調べた。11月8日(試料A)に比べ、12月23日の試料Bでは、約5°Cの過冷却能力の増大が見られた。

2) 細胞内抽出画分の濃縮液の不凍活性を測定した。試料Aには殆ど不凍活性がみられなかったが、試料Bには、不凍活性がみられた。

3) 過冷却能力増加前後における組織破砕物(試料A, B)のメタボローム解析を行い、イオン性代謝産物を比較解析した。主成分分析(PCA)の結果、両試料の差異寄与因子(寄与率70%)として、過冷却能に寄与する約120種の候補イオン性物質を同定した。このうち市販物質約50種については、細胞内不凍活性候補物質として、水溶液の不凍活性の有無について解析を開始した。過冷却能の増加に伴い、浸透圧調節に寄与すると想定される物質や、TCA回路・解糖系代謝産物等が蓄積されることが明らかになった。これ以外にも、蓄積量が変化する数百種程度の物質が見出された。これらの同定には、高額な費用を必要とする、LC-MSMSやGC-MSMS等を用いたメタボローム解析の併用が有効と考えられた。

4) 核磁気共鳴(NMR)法を用いた溶液のDiffusion(拡散)測定により、過冷却能力増加に伴う水の性質の変化を解析する可能性について、本分野の世界的権威であるWestern Sydney大学W.S.Price教授を2016年4月に招聘し、協議した。その結果に基づき、11-12月に同大学を訪問し、共同解析を実施した。

■ 結語

本研究では、植物体の殆どの生きている組織が高い深過冷却能力(-20～-25°C)による耐寒をするチシマザサ葉に着目し、葉鞘組織の過冷却能力の季節変動と細胞内に存在する未知の不凍活性の季節変化の解析を行った。11月8日から12月23日に間に、チシマザサ葉鞘の過冷却能力が著しく上昇した。また、11月8日の試料にはほとんど不凍活性が見られなかったが、12月23日の試料には顕著な不凍活性が検出された。不凍活性をもたらす細胞内物質の候補を同定するため、CE-TOFMSによるメタボローム解析を両時期の葉鞘組織について行い、比較した。その結果、この間の細胞内代謝産物の動態が明らかになり、不凍活性をもたらしている可能性のある物質の候補を同定した。