

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	Manikharda (マニクハルダ)			
	主査	琉球大学	教授	和田 浩二
	副査	琉球大学	准教授	高良 健作
審査委員	副査	鹿児島大学	教授	橋本 文雄
	副査	佐賀大学	教授	林 信行
	副査	琉球大学	准教授	岩崎 公典
審査協力者	印			
実施年月日	平成30年1月19日			
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	<input checked="" type="radio"/> 口答・筆答			

主査及び副査は、平成30年1月19日（金）の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏名	Manikharda (マニクハルダ)
[質問1] 島トウガラシとタカノツメのカプサイシノイド類としては、カプサイシンおよびジヒドロカプサイシンを測定し比較していますが、島トウガラシの成熟ステージの果実ではノルジヒドロカプサイシンも測定しています。なぜ、島トウガラシとタカノツメとの比較ではノルジヒドロカプサイシンを測定していないのですか。	
[回答1] カプサイシノイド類はHPLC分析で定量を行いました。まず、島トウガラシとタカノツメのカプサイシノイド類としては、カプサイシンおよびジヒドロカプサイシンを対象として分析法を設定し定量を行ったため、ノルジヒドロカプサイシンを分析できませんでした。一方、島トウガラシの成熟ステージの果実ではHPLC分析条件を変更し、量的には少ないのですが、ノルジヒドロカプサイシンを定量することができました。現在の学位論文には定量値だけを示していますが、カプサイシノイド類の分析結果としてHPLCクロマトグラムも掲載します。	
[質問2] 本研究でのフレーバー成分や機能性成分の分析結果は、新鮮重(FW)あたりで表記されています。一方、本研究で用いたトウガラシ試料は多量の水分を含んでいると考えられますが、島トウガラシとタカノツメの水分含量を教えてください。水分含量の違いや変化を考えると乾燥重(DW)当たりの比較は非常に重要となります。どのように考えられていますか。	
[回答2] タカノツメのほうが、島トウガラシにくらべて約9%水分含量が多いことから、水分含量の違いによる影響を学位論文中で考察したいと思います。一方、島トウガラシはタカノツメのように乾燥した粉末だけでなく、その香りや辛味の強さから新鮮な果実を泡盛に漬けた香辛料としても多く利用されています。したがって、新鮮重あたりでのフレーバー成分や機能性成分の数値も重要なと考えます。	
[質問3] 第3章と第4章の島トウガラシの揮発性成分の分析結果において、第3章では2-ヘキセナール、第4章ではエステルが一番多いように見えます。なぜ同じ品種の測定にもかかわらず、結果が異なるのでしょうか。	
[回答3] 島トウガラシとタカノツメの揮発性成分の分析では、Egginkらのトウガラシ属を対象とした分析方法を若干改変して用いましたが、抽出初期の加温による酵素反応により2-ヘキセナールが多くなったことが考えられます。一方、島トウガラシの成熟ステージの果実の揮発性成分の分析では、酵素反応を阻害し、より効率よく揮発性成分を分析するために、抽出溶媒として10%NaCl溶液を用い、さらに水溶性の内部標準物質を用いて定量を行いました。したがって、これらの手法の違いが結果に影響したことを学位論文では考察させていただきます。	
[質問4] ORAC活性と総ポリフェノール含量の分析結果において、カプサンチンはカロテノイドですから、総ポリフェノール含量に含まれているような表記は誤りではないでしょうか。またORAC活性評価試験には、対象が親水性物質と疎水性物質の二つの評価法があります。評価法によってカプサンチンの影響はどうなのでしょうか。	
[回答4] 総ポリフェノール含量に含まれていると思われる表記は修正します。また、ORAC活性評価試験は親水性物質を対象とした手法を用いました。したがって、カプサンチンの影響は小さいと考え、学位論文において再度考察させていただきます。	

[質問5] 細胞中の脂質生成の抑制には、島トウガラシ抽出物中のカプサイシノイド含量が大きく影響していると思います。具体的に、島トウガラシ抽出物中のカプサイシノイド含量を教えてください。

[回答5] 本研究で用いた成熟した島トウガラシ果実からのメタノール抽出物には、カプサイシンは $21.48\mu\text{g}/\text{mg}$ 抽出物、ジヒドロカプサイシンは $7.11\mu\text{g}/\text{mg}$ 抽出物の濃度で含まれていました。学位論文中にも明確に記述します。

[質問6] 細胞中の脂質生成の抑制評価において、島トウガラシ抽出物中のカプサイシンの濃度は $21.48\mu\text{g}/\text{mg}$ 抽出物であることは理解しましたが、別の脂質生成の抑制のスライドでは、例えば、島トウガラシ抽出物の濃度として $500\mu\text{g}/\text{ml}$ に対してカプサイシン標準品の濃度は $10\mu\text{g}/\text{ml}$ という表記がありますが、この対応はどうなっているのですか。

[回答6] 島トウガラシ抽出物 $500\mu\text{g}/\text{ml}$ にはカプサイシンが $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 含まれるように濃度調整を行っています。したがって、島トウガラシ抽出物 $250\mu\text{g}/\text{ml}$ にはカプサイシンが $5\mu\text{g}/\text{mg}$ 、島トウガラシ抽出物 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ にはカプサイシンが $1\mu\text{g}/\text{mg}$ というように濃度対応しています。

[質問7] 島トウガラシ抽出物では脂質生成の抑制において、抽出物中の成分の相乗効果を示唆されていますが、その効果は細胞に対してどのように働いているのでしょうか。グルコーストランスポーターに関連するようなものでしょうか。

[回答7] 脂肪細胞中のグリセロール3-リン酸脱水素酵素活性の測定では、抽出物は酵素活性に大きな影響を与えたかったことから、グルコーストランスポーターへの関連は少ないと考えられます。一方で、カプサイシンがペルオキシソーム増殖因子活性化受容体として知られるPPAR γ の発現の抑制を示し、同じカプサイシン量を含む島トウガラシ抽出物ではさらに強い抑制を示したことから、カプサイシン以外の化合物との相乗効果がPPAR γ 発現の上流にあるカプサイシン受容体TRPV1に働くことが示唆されます。この点については学位論文で再度考察させていただきます。

[質問8] 学位論文の中でトウガラシのジェノタイプ（遺伝子型）について考察していますが、例えば、島トウガラシではカプサイシンがジヒドロカプサイシンより含量が高いのに対し、タカノツメでは逆の傾向にあります。このように他の遺伝子型のトウガラシについて同様の情報を持ってていますか。辛味に関しても重要な情報と思います。

[回答8] 他の遺伝子型のトウガラシは激辛味品種からわずかな辛味しか呈さない低辛味品種まで多種多様であり、辛味発現は遺伝的要因と環境要因が関わり複雑です。一方、カプサイシンの量を調節している遺伝子の一つPunIがその重要な働きを示すことが報告されており、この遺伝子はパプリカと共通するものと認識しています。したがって、カプサイシン含有個体を効率的に選抜する遺伝子マーカーとして活用できることが考えられます。