

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 胡 芳宇

本論文は、様々な NMR 測定手法を組み合わせることによって、牛乳成分の非破壊的定性、定量分析及び各成分の牛乳中における存在状態について研究した結果について述べている。本論文は第一章の序論、第六章の結論を含む全 6 章からなる。

第一章においては、NMR 測定法の原理と歴史全般の概説を行い、NMR 測定法の食品分野への応用及びその意義について述べている。また現在牛乳成分の分析に使われている一般的な測定方法についても述べ、それらの方法と NMR 測定法の比較を行い、NMR を用いた牛乳の非破壊測定の目的と意義を説明している。

第二章では、市販牛乳の NMR 測定について述べている。市販牛乳の 1 次元 NMR スペクトル ( $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、 $^{31}\text{P}$  NMR) 及び 2 次元 NMR スペクトル ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC、 $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC、 $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC 及び  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  HMBC) を測定した。牛乳中の成分トリアシルグリセロールと乳糖に由来するシグナルの帰属に成功した。また、微量成分であるクエン酸イオン、レシチン、クレアチン、N-アセチル糖など化合物のシグナルも帰属に成功した。

第三章では、1次元  $^1\text{H}$  NMR 及び 2次元  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC スペクトルを用いた牛乳の各成分の定量について述べている。まず、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルを用いて牛乳の総脂質含量及び乳糖含量を簡便に計算することができた。次に、牛乳の  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC NMR スペクトルを用いて、牛乳に含まれているクエン酸イオン、N-アセチル糖、トリメチルアミン、酪酸、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸を同時に定量することができた。NMR スペクトルにより定量した牛乳の各成分の含量は、文献値とほぼ一致していることを明らかにした。

第四章では、ウシの初乳のNMR測定について述べている。分娩後1日目のウシ初乳の $^{13}\text{C}$ 及び $^1\text{H}$  NMRスペクトルを市販牛乳のスペクトルと比較したところ、乳脂肪のメチル、メチレン基に由来するシグナルの高さは市販牛乳のほぼ4倍であった。したがって、1日目の初乳の脂肪含量は市販牛乳の約4倍であることが示された。乳糖に由来するシグナルの高さによると、初乳と市販牛乳中の乳糖含量はほぼ同じであった。1日目の初乳の $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQCスペクトル上にクレアチン及びレシチンのシグナルが直接観察され、それらの成分の濃度は市販牛乳より高いことが示された。次に初乳及び市販牛乳中のリン化合物を $^{31}\text{P}$  及び $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  HMBC NMRスペクトルにより調べた。市販牛乳中から無機リン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コリンリン酸及び糖-1-リン酸が検出され、初乳からは上記に加えてUDP糖、クレアチンリン酸、糖-2-リン酸も検出された。1日目の初乳からHPLCを用いてUDP糖と糖-2-リン酸を精製し、NMRスペクトルを測定した結果、それらの成分がUDP-glucose, UDP-galactose及びglucose-2-P, galactose-2-Pであると同定した。

第五章では、1次元 $^{31}\text{P}$  NMRスペクトルから分娩後1ヶ月の牛乳中のリン化合物の成分変化について述べた。分娩後1日目の初乳中にglucose-2-P と galactose-2-Pの存在が確認され、2日目までに消失した。UDP-糖は初乳に濃く含まれ、徐々に減少し10日目までにはUDP-糖は消失した。ホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンの含量は1日目において濃度が高く、最初の3日間で含量が急激に下がり、4日目以降は低含量で落ち着いた。クレアチンリン酸とコリンリン酸の含量は、分娩後1ヶ月の間で徐々に下がったが、その変化はそれほど大きくなかった。

以上、牛乳のNMR測定を行った結果、牛乳中の成分について非破壊的に1次元及び2次元NMRスペクトルにより定性、定量することに成功した。さらにウシ初乳と市販牛乳の違いをNMRにより解明し、初乳から新しい成分を検出し、同定した。今回の研究で確立されたNMR測定法は食品や医薬品などの成分分析及び品質管理に貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。