

ソバ幼植物のフラボノイド組成

渡辺 満・伊藤 美雪

(農業技術研究機構東北農業研究センター)

Composition of Flavonoid Compounds in Buckwheat Seedlings

Mitsuru WATANABE and Miyuki ITO

(National Agricultural Research Center for Tohoku Region, NARO)

1 はじめに

ソバ植物体には種実同様、毛細血管強化作用を有するルチンが含まれている。これまでソバの利用部位は、ほとんど種実に限られていたが、近年、芽物野菜(スプラウト)の対象作物としてソバが注目され、商品化の例が増えており、消費者が利用する場面も増えている。しかし、これまでにソバ植物体の抗酸化物質の検索は行われていないことから、生育期間中の植物体抽出物の抗酸化活性の変動を調査し、その結果をもとに、抗酸化物質の検索を行った。

2 試験方法

ソバ植物体の抗酸化能の変動の調査には、階上早生及び信濃1号の2品種を1999年(平成11年)8月、東北農業研究センター圃場に播種し、発芽後43日目まで計9回収穫したサンプル(地上部)を使用した。抗酸化物質の単離には、平成12年8月に播種した、発芽後4日目の岩手由来種の植物体を供試した。

発芽後の収穫物は50°Cで通風乾燥後粉碎、メタノールで還流加熱抽出し、減圧下で濃縮した。ポリフェノール量はFolin-Denis法で測定し、抗酸化活性はDPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカル消去活性で評価した。ポリフェノールの分析はHPLCにより行った。

抗酸化物質の単離では、上記と同様に粗抽出物を調製し、Sephadex LH-20カラムクロマトグラフィーによる分画に引き続き、抗酸化活性を有する主要フラクションからHPLCにより主要ピークを単離した。単離した化合物は、NMR(核磁気共鳴装置)、MS(質量分析装置)により同定した。各生育ステージ植物体抽出物の単離化合物の定量は、HPLCで行った。

3 試験結果及び考察

(1) 発芽後のソバ植物体抽出物のポリフェノール量及び抗酸化能の変動

ソバ抽出物のポリフェノール量及び抗酸化能は2品種とも同様の変動傾向を示した。すなわち、ポリフェノール含量は発芽直後が最も高く、15日目まで減少し、その後開花初期の23日目まで増加した(図1)。DPPHラジカル消去活性は、発芽後23日目階上早生では発芽直後と同等、信濃1号ではわずかに高かった(図2)。

(2) 発芽後ソバ植物体抽出物のポリフェノール組成変化
ソバ植物体抽出物のHPLCクロマトグラム(350nm)を図3に示す。発芽後1日目には5つの主要ピーク(化合物1-5)が認められたが、生育が進むにつれピーク数は減少し、発芽後19日目には主要ピークは化合物5のみになった。電気化学検出器(+300mV)では化合物1, 2, 5のピークが認められ、これら化合物はラジカル消去活性を有することが示された。化合物3, 4, 5については、これまでにソバ種子から単離した化合物との、HPLCクロ

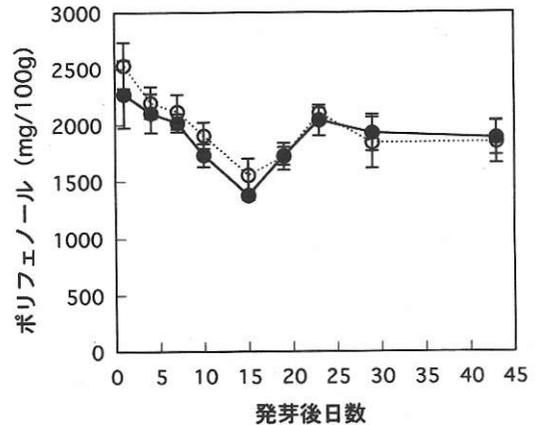


図1 発芽後のソバ植物体抽出物のポリフェノール含量の変化

○: 信濃1号, ●: 階上早生

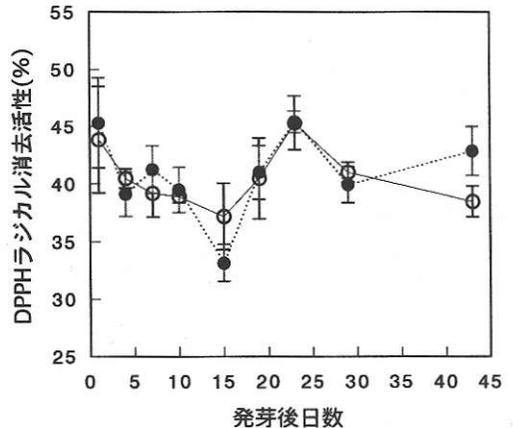


図2 発芽後のソバ植物体抽出物のDPPHラジカル消去活性の変化

○: 信濃1号, ●: 階上早生

マトデータ及び吸収スペクトルの比較から、それぞれフラボノイドのピテキシン、イソピテキシン、ルチンと同定した。

(3) 化合物1, 2の同定

単離した化合物1, 2は¹H及び¹³C NMR(表1)により構造解析した。これらのデータから化合物1, 2のアグリコンはいずれもルテオリンであり、さらにグルコース残基を含むことが示された。化合物2はCOLOC測定によりグルコースのアノメリックプロトン(H1)とルテオリン骨格のC6及びC5との間に、それぞれ²J及び³J連

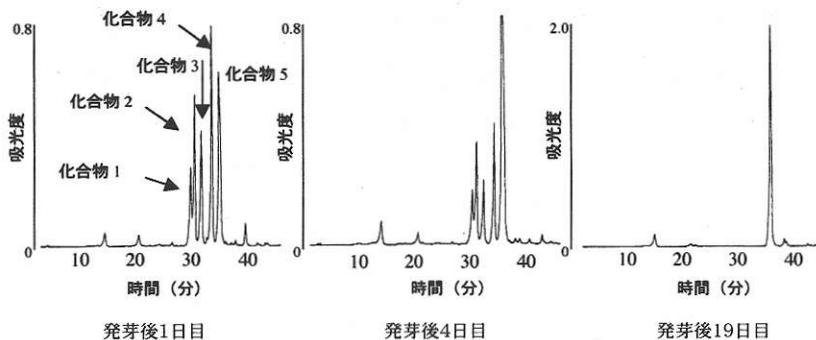
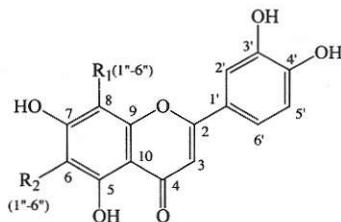


図3 ソバ植物体抽出物 HPLC クロマトグラム (350nm) の変化

表1 化合物1, 2及びルテオリンの¹³C NMR データ

| | 化合物1 (ppm) | 化合物2 (ppm) | ルテオリン (ppm) |
|------------------|------------|------------|-------------|
| C2 | 164.0 | 163.6 | 163.8 |
| C3 | 102.2 | 102.6 | 102.8 |
| C4 | 181.8 | 181.7 | 181.5 |
| C5 | 160.3 | 160.6 | 161.4 |
| C6 | 98.2 | 108.8 | 98.7 |
| C7 | 163.0 | 163.6 | 164.0 |
| C8 | 104.4 | 93.5 | 93.7 |
| C9 | 155.9 | 156.2 | 157.2 |
| C10 | 103.7 | 103.2 | 103.6 |
| C1 ¹ | 121.7 | 121.2 | 121.4 |
| C2 ¹ | 113.8 | 113.2 | 113.3 |
| C3 ¹ | 145.8 | 145.8 | 145.6 |
| C4 ¹ | 149.9 | 149.9 | 149.6 |
| C5 ¹ | 115.7 | 116.0 | 115.9 |
| C6 ¹ | 119.2 | 118.8 | 118.9 |
| C1 ^{II} | 73.4 | 73.1 | |
| C2 ^{II} | 70.8 | 70.5 | |
| C3 ^{II} | 78.7 | 78.9 | |
| C4 ^{II} | 70.8 | 70.2 | |
| C5 ^{II} | 81.8 | 81.4 | |
| C6 ^{II} | 61.6 | 61.4 | |



化合物1: R₁=グルコース, R₂=H; オリエンチン
化合物2: R₁=H, R₂=グルコース; イソオリエンチン

図4 化合物1, 2の構造

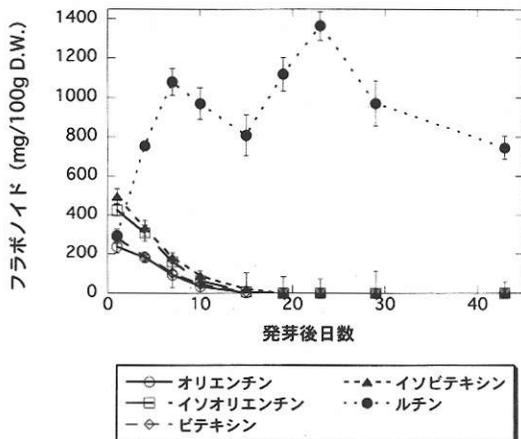


図5 ソバ(階上早生)植物体の各フラボノイド化合物量の变化

結が認められたことから、グルコースの結合位置はC6であることが判明した。化合物1では COLOC 測定による交差信号は認められなかったが、C-グリコシド結合したフラボノイド骨格のカーボンのケミカルシフトは、10ppm 低磁場側にシフトすることが報告されており¹⁾、これを化合物2について検証すると、C6のケミカルシフトがルテオリンよりも10.1ppm 大きな値となっており、文献での記載と一致した。そこで、化合物1の¹³C NMR スペクトルをルテオリンと比較すると、C8のケミカルシフトのみ10.7ppm大きくなっており、その他のカーボンには大きな変化は認められなかった。このことから、化合物1のグルコースの結合位置はC8であることが判明した。以上のことから、化合物1はオリエンチン(ルテオリン-8-C-グリコシド)、化合物2はイソオリエンチン(ルテオリン-6-C-グリコシド)と同定した(図4)。

(4) 発芽後のソバ植物体フラボノイド化合物含量の変化
ソバ(階上早生)植物体の各フラボノイド化合物の含量を図5に示す。発芽後1日目のソバ幼植物では、C-グリコシルフラボノイド化合物はルチンと同程度以上含有されていた。しかし、これらは生育が進むにつれ急速に減少し、逆にルチン含量は急速に増加した。この結果、子葉の消失と共に、植物体の主要フラボノイドはルチンのみとなった。

4 ま と め

ソバ幼植物のポリフェノール量及び抗酸化能は高く、この時期にはルチンに加え、殻に含まれていることが明らかになっているピテキシン、イソピテキシン、ラジカル消去物質であるオリエンチン、イソオリエンチン、といったフラボノイド化合物が、多量に含まれていた。ソバ幼植物はポリフェノール、特にフラボノイドの供給源として、有用な機能性食品素材であることが示された。

引用文献

1) Markham, K.R. 1982. Techniques of flavonoid identification. Academic Press. p.81.