

ソバにおける有用物質 D-chiro-inositol 含量の簡易検出法の確立 および品種間差判定への応用

由比真美子・山口将憲*

(東北農業研究センター・*北興化学工業(株))

A Simple Method to Detect D-chiro-inositol Content and Its Varietal Difference
in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench).

Mamiko YUI and Masanori YAMAGUCHI*

(National Agricultural Research Center for Tohoku Region・*Hokko Chemical Industry Co., Ltd.)

1 はじめに

東北地域は平成17年度の全国ソバ作付面積44,700haのうち約30%をしめる重要産地である。現在でも20%程度しかないソバの国内自給率を低下させないためにも、東北地域のソバ生産振興は重要な課題であり、収量性や品質の向上などによって収益性を高めることが必要である。食品の健康機能性について関心が高まる中、ソバでは高ルチン・高抗酸化活性などの研究が行われてきたが、D-chiro-inositol (以下、DCI) に関する育種の研究は進んでいない。DCI (多くはガラクトースが1~3分子結合したFagopyritolとして存在する) には動物実験において血糖降下作用が認められており¹⁾、生活習慣病のひとつとしてその増加が社会問題になっている糖尿病の治療・予防効果が期待されている。

本研究ではまずソバ種子中のDCI含量の簡易検出法を検討した。さらに現在栽培されている主要品種および在来種などの遺伝資源100点について、少量の種子を用いて予備的にDCI含量を調査した結果、品種間差がみとめられたので報告する。

2. 試験方法

(1) DCIの小スケール・多点抽出方法の検討

①種子粉碎物から中性糖を抽出し多糖を除去、②酸加水分解によりDCIを単離、③中和・脱塩して分析用水溶液を調整、の工程で抽出した。1.5ml容ポリプロピレンチューブにソバ種子粉碎物100mgと水200 μ lを入れ、オートクレーブし加水膨潤させ、水800 μ lを加え糊状の溶液とした。約520 μ lずつに分け、等量のエタノールを加え攪拌し、4℃で4時間以上放置後、遠心分離して上清を遠心エバポレーターで濃縮・乾固させ、1N硫酸200 μ lを加えた。懸濁溶解液を遠心分離し、上清約170 μ lを0.5ml容ポリプロピレンチューブに移し加水分解処理(99℃30分)した。1N水酸化バリウム溶液170 μ lを加え中和し、遠心分離後上清227 μ lを回収し、濃縮乾固させ、水150 μ lを加えた(粉碎物100mg/300 μ l相当の濃度に調整)。

(2) 100サンプルを用いた予備比較試験

農業生物資源研究所ジーンバンクから入手した遺伝資源を中心に100品種・系統のソバを供試し、各々20粒をオートナイフで丁寧に剥皮後、冷蔵保管した。これを試験用粉碎器(藤原製作所TQ-100型)で粉碎し、上記の検討結果をもとにDCIを抽出して、薄層クロマトグラフィー(以下、TLC)による検出を次のように行った。シリカゲルTLCプレートにサンプル溶液3 μ lをスポットし、ドライヤーで乾燥させたのち、クロロホルム:メタノール:水=5:5:1の溶媒で展開した。約10cm展開後、溶媒を揮発させ、0.5%過マンガン酸カリウム水溶液を噴霧し、ドライヤーで加熱した。スポットの濃淡を、画像解析装置(アトー社デンスイトグラフ)に取り込み、バックグラウンドに対するスポットの白色変化度合いを数値化した。サンプル中のDCIの展開位置と量は、0.05%および0.1%DCI標準溶液を用いて決定した。

(3) 比較的含量が多い品種・系統のDCI含量確認試験

予備試験で比較的含量が多かった10品種・系統と、主要な7品種、および主要品種のうち「鹿屋在来」を除く6品種のロットが異なる種子について、高速液体クロマトグラフィー(以下、HPLC)による含有量確認試験を行った(2反復)。材料調整・抽出条件は同上とし、HPLC分析条件は次のとおりとした。カラム:Wakosil5NH2カラム ϕ 2.6*250mm, 移動相:アセトニトリル/水=80/20, 2.0ml/min, 20℃, 検出:RI検出器(35℃), インジェクション:10 μ l。

3. 試験結果及び考察

予備比較試験では加水分解処理温度を90℃としたが、2時間処理でも分解程度にムラがあったため、処理時間を6時間とし、十分分解させるようにした。100品種・系統のDCI含量散布図(図1)によると、一部の例外を除き、DCI含量はおよそ2.5~7.0mg/gの間に分布し、平均値は4.4mg/gであった。Steadmanら(2000)²⁾は、剥皮種子に2.9~3.8mg/g程度のDCIが含まれていると報告しており、それに近い値が得られたことから、品種間差をみるための簡易検出法として十分利用できると思われる。

品種「階上早生」は4.7mg/gのDCIを含んでいた。「キタワセソバ」「信濃1号」「最上早生」「しなの夏そ

ば「鹿屋在来」「常陸秋そば」を含めた7品種の平均値は4.4mg/gであった。この値に標準偏差値1.5を加えた5.9より多い値を示したものの8点と、わずかに及ばなかった2点をDCI高含有遺伝資源候補とした。HPLCによる含量確認試験の結果(図2), それぞれの遺伝資源で反復間差は若干ある程度で問題ないと考えられたが, 種子ロット間差はかなり大きいものがあった。「階上早生」は同一ロットの種子では2回の試験とも4.7mg/gで安定していたが, 別ロット種子では2.9mg/gと少なかった。「最上早生」もロット間差が比較的大きく, 4.9と3.9 (mg/g)であった。従って, 栽培条件や種子貯蔵条件などがどのように影響するのか, 今後検討する必要があると考えられる。また, ソバが他殖性作物であることを考慮すると, 同一品種内での個体間差の程度も検討する必要がある。

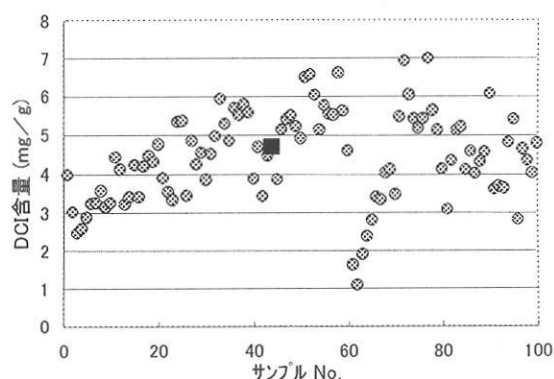


図1 ソバ100品種・系統の D-chiro-inositol 含量
■階上早生

TLC分析値はHPLC分析値よりも全体に高く, バックグラウンドの影響が出ているものと考えられたが, 含量の多少についての傾向は両者で概ね一致していた。従って, TLCによるDCI含量の簡易検出法は, 育種において多点数から低コストかつ効率的に良いものを選抜したい場面では利用価値があると考えられる。今回試験した遺伝資源の中では, 「ポーランド産2」, 「ブラジル・パンコ産」, 「ソ連産19」の3点で, 相対的に高い含量(それぞれ, 平均6.3, 6.2, 7.0 (mg/g))が常に検出された。

4. ま と め

ソバのD-chiro-inositol(DCI)含量の簡易検出法を確立し, 遺伝資源100点を調査したところ, 外国産遺伝資源3点に比較的多く含まれていた。本法は育種において多点数を低コストで効率的に比較したい場合に活用できる。さらに高含量の遺伝資源がないか引き続き検討するとともに, 交配・選抜によってソバのDCI含量を増やすことが可能かどうかについても, 今後明らかにする必要があると考えられる。

引 用 文 献

- 1)Kawa, J.M. et al. (2003) Buckwheat concentrate reduces serum glucose in streptozotocin-diabetic rats. J. Agric. Food Chem. 51: 7287-7291
- 2)Steadman, K.J. et al. (2000) Fagopyritols, D-chiro-inositol, and other soluble carbohydrates in buckwheat seed milling fractions. J. Agric. Food Chem. 48: 2843-2847

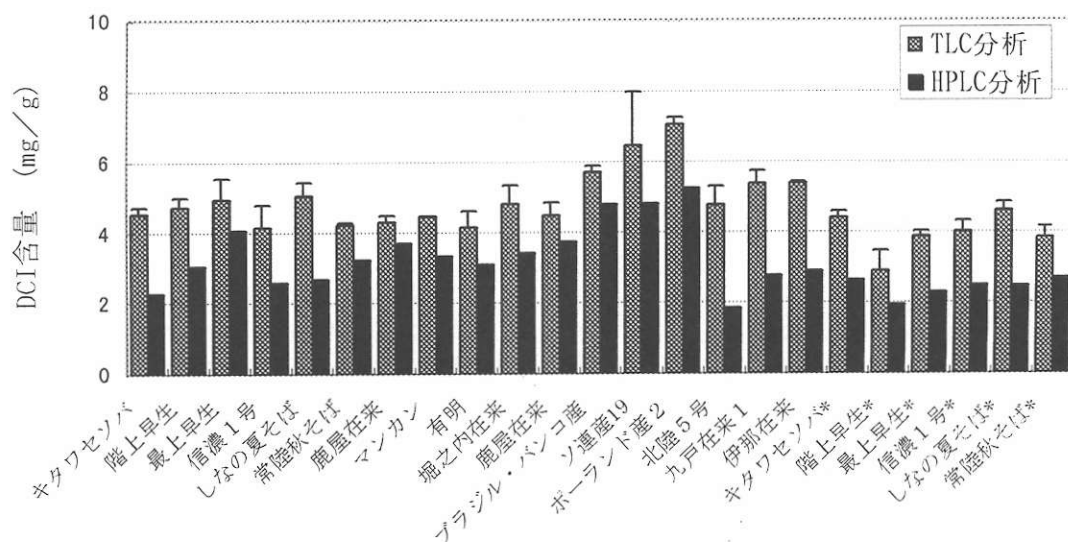


図2 ソバ17品種・系統の D-chiro-inositol 含量

TLC分析値は2反復の平均値, HPLC分析値は2サンプル等量混合液の1回測定値

*を付したものは試験に用いた種子のロットが異なる