

熊本県阿蘇地域久木野在来ソバ粉の総ポリフェノールおよびルチン含量と抗酸化力：
ルチン高含有品種 サンルチンならびに市販の北海道産キタワセソバとの比較評価

Total Polyphenol and Rutin Contents, and Antioxidant Capacity of Native *Kugino-zairai* Buckwheat Cultivated in Kumamoto-Aso Area: Comparison with Rutin-rich *SunRutin* and Commercial *Kitawase-soba* Cultivars

上田裕人¹⁾、阿部淳^{2,3)}、浦部一浩²⁾、伊藤正規²⁾、石井直行²⁾、星良和¹⁻³⁾、小野政輝¹⁻³⁾、安田伸^{1-3)*}

1)東海大学大学院生物科学研究科、2)東海大学農学部、3)東海大学先進生命科学研究高機能食品開発部門

Yuto Ueda¹⁾, Jyun Abe²⁾, Kazuhiro Urabe²⁾, Masanori Ito²⁾, Naoyuki Ishii²⁾, Yoshikazu Hoshi¹⁻³⁾, Masateru Ono¹⁻³⁾, and Shin Yasuda^{1-3)*}

1)Graduate School of Bioscience, Tokai University, 2)School of Agriculture, Tokai University, 3)Division of Functional Food Science, Institute of Advanced Biosciences, Tokai University

*連絡先：安田伸（東海大学先進生命科学研究高機能食品開発部門）

*Corresponding author: Shin Yasuda (Division of Functional Food Science, Institute of Advanced Biosciences, Tokai University)

[要旨]

熊本地震からの創造的復興に向けたブランド創成事業の一環で、2017年度産の熊本県阿蘇地域の久木野在来ソバ粉の分析を行なった。その結果、乾燥重量1gには6.99mgの総ポリフェノール、1.73mgの総フラボノイドが含まれ、同地域で栽培され提供を受けたルチン高含有品種サンルチンと市販の北海道産キタワセソバとほぼ同等であった。ルチン含量は同1gあたり0.181mgと他の2品種と比べて低値であったものの、他の2品種と近似した抗酸化能を有しており、同1gあたり1.04μmolのtrolox相当の抗酸化力を認めた。

[Abstract]

This study is a part of the innovative restoring project from the Kumamoto earthquake to produce local branded products. We investigated the total polyphenol, flavonoid and rutin contents, and antioxidant capacity of native *Kugino-zairai* buckwheat cultivated at Kumamoto-Aso area in 2017. Amounts of total polyphenol and total flavonoid in 1 g of the native buckwheat dried powder were 6.99 mg and 1.73 mg, respectively. The values were almost comparable to those of rutin-rich cultivar *SunRutin* harvested in the same area and commercial *Kitawase-soba* from Hokkaido. Rutin content of the native buckwheat was 0.181 mg/g dried powder, and it was lower than the others. However, trolox-equivalent antioxidant capacity of the native buckwheat showed 1.04 μmol TE/g dried powder and it was comparable to the others.

[Key Words]

Buckwheat, polyphenol, flavonoid, rutin, antioxidant capacity

1. はじめに

本学では、熊本県の「郷土の食材開発モデル事業」に選定された3プロジェクトのうち、南阿蘇村環境保全農業推進協議会による「南阿蘇のあか牛と南阿蘇そばのヘルシーハンバーガープロジェクト」における活動を地域と連携して推進している。これは2016年4月に発生した熊本地震からの創造的復興に向けて、2016年12月に熊本県がキリン株式会社ならびに公益財団法人

人日本財団と締結した『復興応援 キリン絆プロジェクト』熊本支援」に関する包括支援協定に基づくものである[1, 2]。2017年10月には、「地域ならではのブランド育成を図るため、復興のシンボルとなる商品を開発し、その商品を核とした観光客誘致や地域活性化、大学連携組織との活動、都市圏での商品PRなどに活用される」ことを目的に、「食産業復興支援」として熊本県に支援金が助成され、活動が開始された経緯がある。

ソバ（蕎麦、学名 *Fagopyrum esculentum*）は、タデ科ソバ属の一年草であり、冷涼な気候のもとで栽培され、擬似穀類に分類される。わが国では、主に種子部位を製粉してソバ粉として利用し、それをを用いたソバの麺やソバ粉を餅状にしたソバがき（蕎麦掻き）等を食用とする。時に重篤なアレルギーを引き起こすことから食品衛生法、食品表示法により特定原材料を含む旨の表示対象となっているものの、優れた栄養成分とルチン等のフラボノイド性の抗酸化成分を含む食材であり[3, 4]、日本では古くより食経験を有する。縄文時代には東日本まで伝来していたとされ、寿司、天ぷらと並ぶ代表的な日本料理としても知られる。特に調味として作られるそばつゆ（そば汁）もまた、地域によって風味や濃淡が異なるため、地域の伝統食材や地域ブランド推進などの側面から、わが国では広く消費者にも親しまれている食材である。しかしながら、現状では約 48,000t の玄ソバを輸入に頼っており、そのうち約 94%を中国産、米国産およびロシア産が占めている[5]。

2016 年における全国のソバの収穫量は 28,500 t（100%）であるのに対し、北海道産が 12,300t（43%）と約半数を占め、次いで、茨木産（1,970t、7%）、山形産（1,840t、6%）、長野産（1,780t、6%）、福井産（1,500t、5%）、その他（9,110 t、32%）が続く[5]。北海道では優良品種制度をもとにキタワセソバの栽培が盛んであり、道内作付面積のおよそ 90%を占める。熊本県のソバ生産量は決して高くはないものの、2015 年～2016 年における熊本県のソバの主産地である阿蘇地域では、近年の米の生産調整に伴う転作作物および畑作での輪作体系作物として定着しており、ソバの作付面積、生産量ともに増加傾向にある[6]。とくに南阿蘇村（旧久木野村地区）では、転作作物の中心作物であるソバについて第 3 セクターを立ち上げ、6 次産業化推進を目的に、作業受託、人材派遣、生産者からのソバの買い上げ、製粉業者への販売を行なっている[7]。さらに、「そば研修センター・そば道場」を開設し、地域資源ならびに観光資源としても活用するための特徴的な取組みを行なっている。

熊本県南阿蘇村は高地で冷涼な環境でソバ栽培に適しており、南阿蘇村久木野在来の固有の特産ソバ粉を用いた地域ブランド化を推進している。これまでに国内外の計 27 品種・系統のソバ中のルチン含量の差異に関する分析結果が報告されている[8]。また、九州における在来種を含むソバ子実中のルチン含量の品種間差

異の報告では、熊本県で栽培された久木野在来のソバの子実中のルチン含量は 12.8～14.6 mg/100g DW と報告されている[9]。性状や特性がある程度明らかになっている登録品種のソバに対し、在来系統それぞれにおける機能性成分含量の変動や健康有益性、生理機能性との関連性についての研究は未だ不明な点も多く残る。

本研究では、産官学連携の推進ならびに復興への貢献を目的に、先行して食材の成分および機能性分析を行うこととした。即ち、南阿蘇村久木野在来のソバ粉中のポリフェノール、フラボノイド、機能性成分ルチン含量を分析し、同村で栽培され提供を受けた高ルチン含有品種 サンプルチンならびに市販の北海道産キタワセソバと比較評価することとした。さらに、ラジカル消去活性を指標とした抗酸化力について調査した。

2. 結果の概要

1) 試料の調製

材料には、熊本県南阿蘇村で栽培され 2017 年秋期に収穫された久木野在来ソバならびにルチン高含有ソバ品種 サンプルチンについて、阿蘇高原久木野、久木野そば研修センター（熊本県阿蘇郡南阿蘇村）で製粉されたソバ粉として、2017 年 12 月に熊本県南阿蘇村より提供されたものを使用した。本研究では、広く流通する市販の北海道産キタワセソバのソバ粉（2017 年幌加内町産、石臼挽き型）（匠製粉、北海道余市郡余市町）を比較対象に用いた。

既報のソバ粉中のルチン分析法より[10]、抽出溶媒を倍量にして抽出を行なった。即ち、ソバ粉試料それぞれ 3g よりメタノールで加熱還流抽出を行ない、200 ml に定容した抽出液を得た。うち一部（30 ml）を遠心エバポレーターで濃縮し凍結乾燥させたところ、久木野在来ソバ粉より 30.5 mg、サンプルチンソバ粉より 22.7 mg、北海道産キタワセソバ粉より 29.4 mg の抽出物を得た。したがって、本抽出法により久木野在来ソバ粉より 6.78%、サンプルチンソバ粉より 5.04%、北海道産キタワセソバ粉より 6.53%の収率とともに抽出物を得ることができた。同時に熱水抽出も試みたものの、恐らくデンプン質によるものと考えられる白濁が顕著であり、本メタノール抽出物のみを以降の実験に用いることとした。

2) 成分分析

抽出液中のポリフェノール含量はフォーリンチオカルト法に基づき、筆者らの既報に従ってクロロゲン酸

相当量として分光学的に定量した[11]。その結果、久木野在来ソバ粉乾燥重量1 gあたり6.99 mgが含まれており、同村で栽培されたサンルチンソバ粉で認められた7.29 mgと市販の北海道産キタワセソバ粉で認められた8.20 mgと同等の値であった (Table 1)。次にフラボノイド含量を既報に基づき、ここではルチン相当量として分光学的に測定した[12]。その結果、在来ソバ粉乾燥重量1 gあたり1.73 mgが含まれており、サンルチンソバ粉で認められた1.79 mgと同等であり、北海道産キタワセソバ粉で認められた2.11 mgよりはやや低値を示したものの大差は認められなかった。

Table 1. Amounts of total polyphenol and flavonoid in native *Kugino-zairai*, *SunRutin*, and *Kitawase* buckwheat cultivars

Buckwheat	Origin (cultivated and harvested)	Amount (mg per g of dried powder)	
		Polyphenol (CAE)	Flavonoid (RE)
<i>Kugino-zairai</i>	Kumamoto-Aso	6.99±0.36 ^a	1.73±0.16 ^a
<i>SunRutin</i>	Kumamoto-Aso	7.29±0.77 ^a	1.79±0.04 ^{ab}
<i>Kitawase</i>	Hokkaido	8.20±1.46 ^a	2.11±0.23 ^b

Data shown represent mean ± S.D. from four experiments. Values not sharing a common superscript letter are considered significantly different at $P < 0.05$, using the Scheffé's multiple comparison and ANOVA. CAE; chlorogenic acid equivalent, RE; rutin equivalent.

ソバ粉の主要な機能性フラボノイド成分にケルセチン配糖体であるルチンが挙げられる。続いて抽出液中のルチン含量を、既報をもとに逆相 ODS カラムを備えた HPLC により分析した[13]。即ち、ガードカラムを連結させた YMC 社製 ODS カラム (YMC-Pack ODS-A、内径 4.6 mm x 150 mm、粒子径 3 μm、細孔径 12 nm) を用いた逆相クロマトグラフィーによるグラジエント法により、移動相 A (0.25% 酢酸) および移動相 B (メタノール) の濃度勾配とともに、温度 30°C、注入量 20 μl、流速 1.0 ml/min、波長 350 nm における UV 検出において、外部標準法で定量分析を行なった。移動相 B の割合は注入後 0 分から 15 分までに 15%→35%、15 分から 20 分までの 5 分間を一定にした。次に、20 分から 50 分までに 35%→100%、50 分から 60 分までの 10 分間を一定にした。直後に 100%→15% に設定し、60.1 分から 70 分までの 10 分間を濃度勾配初期濃度 15% で平衡化させた。ルチンの標準物質 (ナカライ社製) には、初期移動相 (移動相 A: 移動相 B, 85:15) を用いて 1 mg/ml より段階希釈したものを使用した。分析試料は、ミリポア社の 0.45 μm シリンジフィルターで濾過し、これを HPLC に供した。抽出原液を 2 倍希釈した試料を用いて分析に供した結果、溶出時間 27 分付近において、ルチンに該当するピークを検出した (Figure 1)。

東海大学先進生命科学研究所紀要 第 2 巻 2018 年 3 月

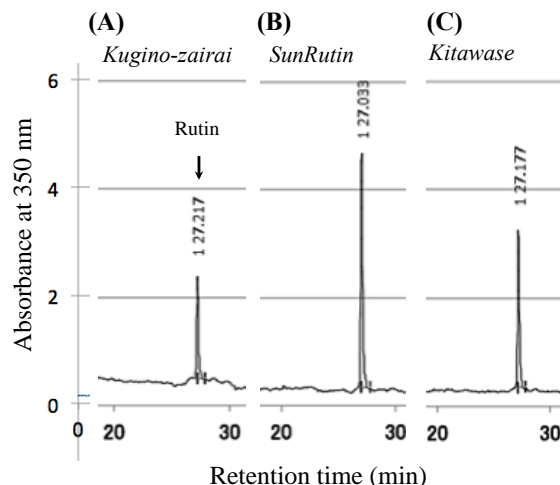


Figure 1. HPLC chromatograms of rutin in native *Kugino-zairai* (A), *SunRutin* (B), and *Kitawase* buckwheat cultivars (C). The figure represents data from three independent repetitions. In parallel, authentic rutin standard was analyzed for calibration curve.

ルチン標準物質の検量線より定量を行なった結果、在来ソバ粉乾燥重量1 gあたり0.181 mgが含まれており、サンルチンの0.419 mg、北海道産キタワセソバの0.294 mgと比較しても低値であった (Table 2)。

Table 2. Amount of rutin in native *Kugino-zairai*, *SunRutin*, and *Kitawase* buckwheat cultivars

Buckwheat	Rutin (mg per g of dried powder)
<i>Kugino-zairai</i>	0.181±0.012 ^a
<i>SunRutin</i>	0.419±0.013 ^b
<i>Kitawase</i>	0.294±0.014 ^c

Data shown represent mean ± S.D. from three analyses in HPLC. Values not sharing a common superscript letter are considered significantly different at $P < 0.05$, using the Scheffé's multiple comparison and ANOVA. CAE; chlorogenic acid equivalent, RE; rutin equivalent.

これまでに8種類の主要な日本産品種、7種類のヨーロッパ産品種、5種の中国産と7種のネパール産の在来種の計27品種・系統のソバ中のルチンの分析が報告されており、乾燥重量1 gあたり0.126 mgから0.359 mgの含量が認められている[8]。また、熊本県で1996年および1997年に栽培された久木野在来のソバのルチン含量は12.8および14.6 mg/100g DWと報告されており、それぞれ乾燥重量1 g当たり0.128および0.146 mgに相当する[9]。我々の結果もまた、この測定値に近いものであった。ソバ種子中のルチン含量は品種や地域などの生育環境によってはその含量に大きな差異が生じること[14, 15]、とくに暗所下よりも明所下で発芽時に高ルチン含量となること[16]、登熟期間中の温度が高いと

有利であること[9]も報告されている。サンルチンはルチンを従来品種の3倍以上含有する機能性に優れたソバ品種として開発されたものであり[8]、各地で栽培実証試験が行われている[17]。本研究では、久木野在来種ソバはサンルチンの約43.2%程度のルチンを含有していることを認めた。言うまでもなく、作物中の成分分析結果の比較をより正確に行うためには、同一環境下でソバを栽培する必要がある、さらに栽培環境に対する機能性成分の変動やフラボノイド等の種別の含量の変動などを詳細に検証する必要がある。

3) 抗酸化力の測定

筆者らの既報に従って[11]、化成品ラジカル種の1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)ラジカルに対する消去活性を求めた。このとき、troloxを標準抗酸化剤の陽性対照として使用し、試料の抗酸化力をTEAC値(trolox equivalent antioxidant capacity、trolox相当の抗酸化力の換算値)として算出した。その結果、同1gあたり1.04 μmolのtrolox相当の値が得られ、有意差はつくものの他の2種とともに0.942-1.22 μmol TE/gの範囲で近似した活性を示した(Table 3)。これまでにメタノールを含む様々な溶媒を用いたソバ抽出物のDPPHラジカル消去活性と収率ならびにポリフェノール含量との間における関連性が提唱されているものの[18]、我々の結果もまたこれを支持するものであった。

Table 3. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of native *Kugino-zairai*, *SunRutin*, and *Kitawase* buckwheat cultivars

Buckwheat	TEAC (μmol TE per g of dried powder)
<i>Kugino-zairai</i>	1.04±0.02 ^a
<i>SunRutin</i>	0.942±0.015 ^b
<i>Kitawase</i>	1.22±0.05 ^c

Data shown represent mean ± S.D. from four experiments. Values not sharing a common superscript letter are considered significantly different at $P < 0.05$, using the Scheffé's multiple comparison and ANOVA. DPPH radical scavenging assay was performed to obtain TEAC values with trolox as the standard sample.

以上より、久木野在来のソバ粉はルチン高含量でないものの、既存のソバ粉と同等にポリフェノールやフラボノイドが含まれており、抗酸化力を発揮することを認めた。これまでに、低密度リポタンパク質の過酸化抑制効果や[3]、フェントン反応におけるルチンの抗酸化機能などが報告されている[4]。一方で、ソバの抗酸化活性測定においてルチンはそれほど抗酸化活性に寄与していないという報告例もあり[16]、我々の結果もまたこれを支持するものであった。本研究ではルチン

以外のフラボノイド成分やポリフェノール類に由来する抗酸化成分について分析できておらず、ルチンのアグリコンであるケルセチンなども抗酸化成分として重要な役割を担っている可能性がある。

3. 展望

本研究では、熊本地震からの創造的復興に向けたブランド創成の一環として、2017年度産の熊本県阿蘇地域南阿蘇村での特産ソバ(久木野在来ソバ)粉中の成分分析と機能性分析を行ない、在来種のソバ粉はルチン含量で低値を示したものの、ポリフェノールやフラボノイド含量と抗酸化力については、サンルチンソバ粉と北海道産キタワセソバ粉と近似していることを明らかにした。今後、同一環境下で栽培されたソバを用いて、栽培環境に対するルチン等の機能性成分の変動やフラボノイド等の種別の含量の変動などを詳細に検証する必要がある。今回、在来ソバ粉を用いた地域の特色ある商品開発として熊本県に提案された『南阿蘇のあか牛と南阿蘇そばのヘルシーハンバーガープロジェクト』を具現化する上でも、本研究結果が科学的エビデンスの提供と、地域ならびに産官学連携事業として復興に貢献できるものと期待する。

4. 引用文献

- [1] 「復興応援 キリン絆プロジェクト」熊本支援キリン株式会社ニュースリリース、http://www.kirin.co.jp/company/news/2017/1010_03.hzml (2018.2.4 アクセス)
- [2] キリン「郷土の食材開発モデル事業」に支援金助成、<http://fv1.jp/52518/> (2018.2.4 アクセス)
- [3] P. Jiang, *et al.*, *Food Res. Int.*, **40**, 356-364 (2007)
- [4] S. Cailet, *et al.*, *Food Chem.*, **1000**, 542-552 (2007)
- [5] 農林水産省 平成28年産そばの作付面積及び収穫量、http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/tokutei_sakumotu/h28/soba/index.html (2018.1.30 アクセス)
- [6] H27～H28 熊本県農業動向年報, 100、https://www.pref.kumamoto.jp/kiji_20205.html (2018.1.30 アクセス)
- [7] 南阿蘇村地域農業再生協議会、2011年度「産地づくり対策取り組みの優良事例・現地取材報告」、http://www.komenet.jp/jukyuu_chousei/pdf/kumamoto_minami-aso.pdf (2018.1.30 アクセス)
- [8] M. Minami, *et al.*, *The Proc. 8th ISB*, 367-370 (2001)

- [9] 森下敏和ら、*日作紀*, **71**, 192-197 (2002)
- [10] 岡久修己、*食品中の健康機能性成分の分析マニュアル：ソバ粉のルチン*, 1-5 (2010)
- [11] S. Sugahara, *et al.*, *J Food Sci.*, **80**, C2420-C2429 (2015)
- [12] T. Nishimura, *et al.*, *Food Sci. Technol Res.*, **22**, 395-402 (2016)
- [13] L. Liu, *et al.*, *J. Sep. Sci.* **34**, 1834-1844 (2011)
- [14] 玉春恵美子ら、*北陸作物学会報*, **40**, 90-92 (2004)
- [15] C.Z. Bai, *et al.*, *Genet. Mol. Res.* **14**, 19040-19048 (2015)
- [16] D. Zielinska, *et al.*, *Polish J. Food Nutr. Sci.* **60**, 315-321 (2010)
- [17] 畠中洗ら、*北陸作物学会報*, **50**, 64-66 (2015)
- [18] T. Sun and C.-T. Ho, *et al.*, *Food Chem.* **90**, 743-749 (2005)

5. 業績

【論文発表】

【学会等発表】

該当なし

6. 謝辞

本研究は主として熊本県の「郷土の食材開発モデル事業」に選定された南阿蘇村環境保全農業推進協議会による「南阿蘇のあか牛と南阿蘇そばのヘルシーハンバーガープロジェクト」の資金援助、ならびに一部で東海大学総合研究機構プロジェクト研究、総合農学研究所プロジェクト研究、および先進生命科学研究プロジェクト研究の資金援助により実施されています。