

琉球大学学術リポジトリ

[報文] サヤインゲン種子抽出物の抗酸化活性

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 和田, 浩二, 高良, 健作, 玉村, 隆子, 屋, 宏典, 仲宗根, 洋子, 江川, 宜伸, WADA, Koji, TAKARA, Kensaku, TAMAMURA, Takako, OKU, Hirosuke, NAKASONE, Yoko, EGAWA, Yoshinobu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016586

サヤインゲン種子抽出物の抗酸化活性

和田 浩二*・高良 健作*・玉村 隆子*
屋 宏典*・仲宗根 洋子*・江川 宜伸**

*琉球大学農学部, **国際農林水産業研究センター沖縄支所

Antioxidant Activity of Kidney Bean Extracts.

Koji WADA*, Kensaku TAKARA*, Takako TAMAMURA*,
Hirosuke OKU*, Yoko NAKASONE* and Yoshinobu EGAWA**

**Faculty of Agriculture, University of The Ryukyus,
Senbaru-1, Nishihara, Okinawa 903-0213, Japan*

***Okinawa Subtropical Station, Japan International Research Center for
Agriculture Sciences (JIRCAS),
Ishigaki, Okinawa 907-0002, Japan*

緒 言

生育適温を越える高温は、作物に高温障害を引き起こし低生産性の因子の一つとなることから、熱帯・亜熱帯地域においては耐暑性作物の開発が望まれている。高温障害発生のメカニズムを明らかにしようと生理学的・遺伝学的な研究¹⁾は行われているものの、種子の有する成分と耐暑性とのかかわりに関しての報告はほとんど見当たらない。種子は一つの生命体であり、種の保存のため、将来の発芽や成長にかかわる貯蔵物質を酸化的障害から保護するための防御物質を含んでいることが推測される。

本研究では、国際農林水産業研究センター沖縄支所でスクリーニングし育成された、耐暑性に極めて優れたサヤインゲン品種である「ハイブシ」種子抽出物の抗酸化活性を測定するとともに、異なる品種のサヤインゲン種子抽出物の持つ抗酸化能との比較を行った。

実験方法

1. 試料および栽培法

1998年の各時期におけるサヤインゲンの収量は耐暑性品種であるハイブシと一般的な市販品種であるケンタッキーワンダーを用いて比較した。サヤインゲンは防虫ネットを張ったパイプハウスにおいて、キュウリネット仕立てで畝幅1 m、株間25cmとし1品種あたり5 m² (20株)栽培した。一方、抗酸化活性測定用品種としては収穫されたハイブシ、ケンタッキーワンダー、ライトグリーン、および種実用インゲンマメとして市販の金時を用いた。なお、標準物質として α -トコフェロールおよびブチルヒドロキシアニソール (BHA) を用いた。

2. 抗酸化活性測定用試料の調製および活性測定

抗酸化活性測定用抽出物の調製は各種子試料5 gをミキサーで粉碎したのち、50mlのメタノールで一晩抽出することにより行った。得られた抽出液の一部を採取、乾固し収量を求めた後、エタノール：水 (5 : 1) 溶液で1 mg/mlに

*沖縄県中頭郡西原町千原1

**沖縄県石垣市字真栄里川良原1091-1

表1. 各期（1998年）におけるサヤインゲンの収穫量（20個体あたり）と良莠率

播莢日 収穫期間 品種名	2月27日 4月14日～5月12日		4月10日 5月26日～6月25日		5月13日 6月25日～8月3日	
	合計	良莠率	合計	良莠率	合計	良莠率
ハイブシ	9535		5521		2333	
	1215	70	1029	63	537	10
ケンタッキーワンダー	8720		1129		0	
	776	45	206	28	0	

上段：新鮮重（g） 下段：莢数
 良莠率（%）：良莠数・合計莠数⁻¹・100

濃度を調製したものを活性測定用試料とした。抗酸化活性の測定法はOsawaら²⁾のロダゲル鉄法を一部改変して行った。すなわち、10ml容褐色瓶に試料200 μl（抽出物0.2mgを含む）、エタノール（99.5%）0.23ml、50mMリン酸緩衝液（pH7.0）0.8ml、蒸留水0.37mlおよび2.5%リノール酸エタノール溶液0.4mlを加えた反応液を調製し、40℃に保温した。この反応液を経時的に100 μl採取し、75%エタノール溶液4.7ml、30%チオシアン酸アンモニウム溶液0.1mlおよび20mM塩化第一鉄3.5%塩酸溶液0.1mlを加えた後、3分後の500nmの吸光度を測定した。一方、標準物質であるα-トコフェロールおよびBHAもそれぞれ0.2mg含まれるように調製した。なお、リノール酸は東京化成（生化学用）、他は市販特級試薬を使用した。

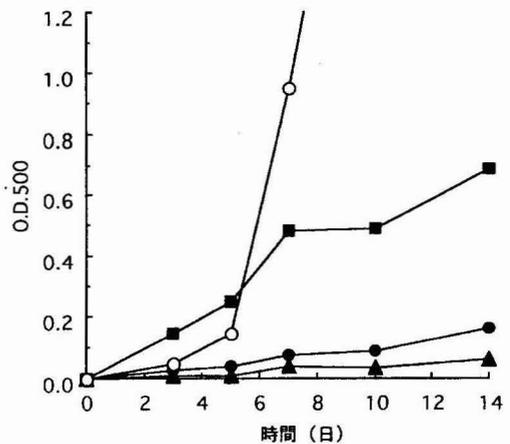


図1. ロダゲル鉄法によるハイブシ種子抽出物の抗酸化活性の評価
 ○, コントロール；●, ハイブシ；
 ■, α-トコフェロール；▲, BHA

結果および考察

1. 各期におけるサヤインゲンの収量

インゲンマメは、若莢を野菜として利用するサヤインゲン用と、煮豆、アンなどに加工される乾燥種実用に分類される。サヤインゲンはインゲンマメの若莢であるが、乾燥豆を食べる種実用インゲンとは品種が異なり、その形から代表的なものとしてドジョウインゲン、丸莢インゲン、平莢インゲンに大別されている³⁾。本研究で栽培されたケンタッキーワンダーはドジョウインゲンであり、ハイブシは莢の形から丸莢と平莢インゲンの中間的なものと考えられた。

表1に各期におけるハイブシおよびケンタッキーワンダーの収穫量と良莠率を示した。両品種とも5月中旬までの栽培では十分収穫できたが、それ以降の夏季高温条件下では収量が減少した。特にケンタッキーワンダーにおいては6月22日以降、着花はするものの、その後ほとんどの花器が落下してしまい若莢は収穫できなかった。この原因の一つに、サヤインゲンの花粉は高温により、主に花粉四分子期以降に顕著な障害を受けることが報告されている⁴⁾。一方、ハイブシは夏季高温条件下でも良莠率は低下したものの収穫は可能であり、ケンタッキーワンダーに

比べて強い耐暑性を示した。

2. ハイブシ種子抽出物の抗酸化性

ハイブシが強い耐暑性を示したことは、次世代への生命の継承に大きく寄与している種子にも何らかの防御機能が備わっていることが予想された。そこで、生体防御系の一つである抗酸化化的機能に関して検討した。図1にハイブシのメタノール抽出物の抗酸化性をロダン鉄法により経時的に測定した結果を示した。ロダン鉄法は脂質の過酸化によって生成する過酸化脂質を測定するものである⁵⁾。すなわち、過酸化脂質により酸化された3価鉄がチオシアン酸アンモニウムと反応して生成した赤色のロダン鉄(Fe(SCN)₃)を比色定量する方法であり、500 nmの吸光度の値が高くなるにつれ系の酸化が進んでいることを意味する。図1からハイブシのメタノール抽出物は、合成抗酸化剤であるBHAには若干劣るものの、代表的な天然抗酸化剤である α -トコフェロールよりも強い抗酸化活性を有することが示された。一方、ハイブシに含まれるトコフェロールの抗酸化活性への寄与を明らかにするために、高速液体クロマトグラフィー法を用いてその含量を測定した結果、種子100gあたり3.7mgと低く、トコフェロールのみによる活性とは考えられなかった。このことは、Tsudaら⁶⁾の種々の種実用のインゲンマメのもつ抗酸化活性とトコフェロール含量の関係の報告と同様であった。

3. サヤインゲン種子抽出物の抗酸化性の比較

種実用インゲンマメは、形、大きさ、色などの相違により多くの種類が存在する⁷⁾。サヤインゲン種子に関しても同様であることから、3種類のサヤインゲン種子および種実用インゲンマメ(金時)のメタノール抽出物の抗酸化性をロダン鉄法により比較し、結果を図2に示した。各種子の種皮はハイブシでは黒色、ケンタッキーワンダーでは茶色、ライトグリーンでは白色、金時では赤色を呈していた。図2から明らかなように3種類のサヤインゲンの中ではハイブシが強い抗酸化活性を示し、それは α -トコフェ

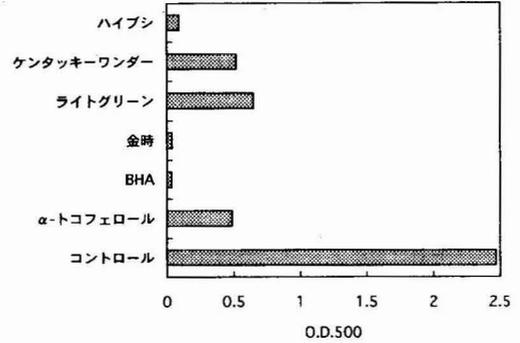


図2. サヤインゲンおよびインゲン種子抽出物の抗酸化性の比較(ロダン鉄法, 10日目)

ロールよりはるかに強いものであった。Tsudaら^{6, 8)}は白色種皮、赤色種皮および黒色種皮をもつ3種類の種実用インゲンマメについて種皮と胚乳部に分け抗酸化性を比較した結果、活性は種皮部について認められ、赤色および黒色のものが強い抗酸化性を示したことを報告している。図2に示したようにサヤインゲン種子についても同様であり、またその抗酸化性は種実用インゲンマメである金時に類似していることから、種子の生物機能を維持するために酸化的ストレスに対して種皮の色素が防御機能を果たしていることが推定された。一方、インゲンマメだけでなく米種子でも品種により酸化ストレスに対する防御効果が異なることが報告されている⁹⁻¹¹⁾。すなわち、長期保存や γ 線照射という酸化的障害を与えたインディカ種とジャポニカ種の発芽試験を行った結果、野生種のインディカ種が高い発芽率を示し、さらに籾がらに存在する成分が高い抗酸化防御効果を有することが観測されている。また、同じインディカ種に属していても黒米が最も保存・貯蔵性に優れ、赤米、白米の順で酸化的なストレスに対して抵抗性を有することが報告されている¹¹⁾。国際農林水産業研究センター沖縄支所でスクリーニング育成されたサヤインゲン「ハイブシ」は黒色の種皮を有する野生種に近い品種であり、そのメタノール抽出物が高い抗酸化性を示したことから、ハイブシが酸化ストレスに対する高い

防御効果機能を有していることが示唆された。

本研究は生研機構基礎研究推進事業の援助により行いました。

要 約

国際農林水産業研究センター沖縄支所でスクリーニングし育成された、耐暑性に極めて優れたサヤインゲン品種である「ハイブシ」種子抽出物の抗酸化活性を測定するとともに、異なる品種のサヤインゲン（ケンタッキーワンダー、ライトグリーン）およびインゲン（金時）種子抽出物の持つ抗酸化能との比較を行った。

各期における収量および良莠率をハイブシおよびケンタッキーワンダーで比較した結果、ハイブシが強い耐暑性を有することが明らかとなった。次に、ハイブシ種子のメタノール抽出物の抗酸化性をロダン鉄法により測定した結果、 α -トコフェロールよりかなり強い活性を示した。また、3種類のサヤインゲン種子抽出物の中ではハイブシの抗酸化活性が最も高く、インゲン種子抽出物の抗酸化活性の結果もあわせて種皮の色素が大きな役割を果たしていることと推定された。これらのことから、ハイブシ種子が酸化ストレスに対して高い防御機能を有していることが示唆された。

文 献

- 1) Monterroso, V.A. and Wien, H.C. Flower and pod abscission due to heat stress in beans.: *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, **115**, 631-634 (1990).
- 2) Osawa, T and Namiki, M. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of eucalyptus leaves.: *Agric. Biol. Chem.*, **456**, 735-739 (1981).
- 3) 相馬暁：野菜学入門（三一書房，東京），p.75 (1996).
- 4) Suzuki, K., Takeda, H., Matsuura, S., Yuo, S. and Egawa, Y. Morphological study on injury of pollen of snap bean by heat stress.: *Proc. Int. Symp. "World Food Security"*, Kyoto, Japan, 203-206 (1999).
- 5) 川岸舜朗：生物化学実験法，食品中の生体機能調節物質研究法（学会出版センター，東京），p.14(1996).
- 6) Tsuda, T., Makino, Y., Kato, H., Osawa, T. and Kawakishi, S. Screening for Antioxidative activity of edible pulses.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1606-1608 (1993).
- 7) 前田和美：マメと人間—その一万年の歴史（古今書房，東京），p.108 (1987).
- 8) 津田孝範 豆類に含まれる抗酸化成分とその利用：FFIジャーナル，No.163, 30-38 (1995).
- 9) Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization.: *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 732-737 (1988).
- 10) Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, a C-glycosyl flavonoid.: *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 316-319 (1989).
- 11) 大澤俊彦 植物の持つ抗酸化的防御機構と抗酸化成分の検索：FFIジャーナル，No.163, 19-29 (1995).