

氏 名 (本 國 籍)	藤 田 かおり (長野県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 404 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物環境科学専攻
研究指導を受けた大学	信州大学
学 位 論 文 題 目	ダッタンソバにおける活性酸素消去能の変動要因の 解析
審 査 委 員 会	主査 信州大学 教授 井 上 直 人 副査 信州大学 助教授 濱 渦 康 範 副査 岐阜大学 教授 堀 内 孝 次 副査 静岡大学 教授 澤 田 均 副査 信州大学 教授 萩 原 素 之

論 文 の 内 容 の 要 旨

この研究の要旨は以下のとおりである。

ダッタンソバ(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)は高標高山岳地帯起源の植物であり、環境ストレスに対し強い防御機構を持つと考えられる。この作物はルチンなどのポリフェノール類を多く含むことから機能性食品として注目を集めており、その成分の変動要因の解明が望まれている。この研究では、ダッタンソバの果実を用いて、活性酸素消去能および一重項酸素寿命の変動要因を明らかにすることを試みている。活性酸素消去能の測定には吉城・大久保(1998)が開発した極微弱発光分析法(XYZ系極微弱発光分析法)を用い、一重項酸素の寿命測定には近赤外分光測光装置(C8232, 浜松ホトニクス社)を用いた。

1. ダッタンソバにおける活性酸素消去能および一重項酸素寿命の系統間差異

供試材料は世界より収集したネパール 13, 中国 9, ブータン 2, スロベニア 1 と比較系統の北陸 4 号の計 26 系統の果実である。活性酸素消去能(過酸化水素)は系統間において有意な差が見られたことから、遺伝的な差があることが明らかになった。さらに収集地の標高が高くなるにつれて活性酸素消去能が収斂する傾向が見られ、低標高地帯へ分布を拡大してゆく過程で消去能を獲得したと考えられた。一方一重項酸素寿命では有意な系統間差異はなかったが、標高が高いほど一重項酸素寿命は短く、遺

伝的に一重項酸素の発生を抑制する系統の存在が示された。

2. 活性酸素消去能および一重項酸素寿命と粉及び果皮の色調, 千粒重の関係

活性酸素消去能に関わる要因として, 色や重量と活性酸素消去能の関係について検討した。ダッタンソバ粉の活性酸素消去能は粉および果皮の色と相関があり, 特に粉の b^* との間に高い正の相関があった ($P < 0.001$) が千粒中との相関は見られなかった。活性酸素消去能の高い系統を簡易に選抜するためには粉の黄色い系統を選ぶことが有効であると考えられた。また一重項酸素寿命, すべての色相と相関があり ($P < 0.001$), 一重項酸素の抑制には色素が関わっていると考えられた。

3. ケモメトリクスによる活性酸素消去能および一重項酸素寿命の相乗作用の検出

HPLC を用いて, ダッタンソバのポリフェノール類を検出した。活性酸素消去及び一重項酸素寿命の系統間差異にかかわる化学物質を解明するために, 物質を説明変数, 積算フォトン数を目的変数とする重回帰分析 (変数増減法) を用いケモメトリクスによる分析をおこなったところ, 2 物質の相乗作用項を付加することで説明力が高まること (重回帰の決定係数 $= 0.4761$, $= 0.627$) が明らかになった。ダッタンソバの活性酸素消去能が最大になる最適な化学物質の配合比率が存在することが示された。

4. 普通ソバとダッタンソバ果実における活性酸素消去能の局在性

普通ソバにおいては果皮や種皮に多くの抗酸化物質が含まれるという報告があるが, 可食部にどのように活性酸素消去物質が分布しているかは不明である。この研究では実験 1) 同一圃場で栽培した普通ソバ 3 種とダッタンソバ 2 種を用い, 実験 2) 普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*) 1 系統, 自殖性の普通ソバ (*Fagopyrum esculentum* \times *F. homotropicum*) 1 系統, ダッタンソバ 3 系統, ダッタンソバの易脱稃性系統 2 系統, ダッタンソバ亜種 (*Fagopyrum tataricum potanini*) 1 系統の計 8 系統を用いた 2 つの実験から活性酸素消去能の種間差異を明らかにした。また果実切片を用いることで活性酸素消去能の局在性について比較検討を行なった。

普通ソバでは果皮・種皮部からの反応が高かったのに対し, ダッタンソバでは果実内部の方が高い傾向であった。またダッタンソバの活性酸素消去能は普通ソバの 3 ~ 6 倍であった。活性酸素消去反応の経時変化では, 普通ソバはすぐに反応が停滞したのに対し, ダッタンソバでは 20 分後にも胚芽を中心とした活発な反応が見られた。これらから普通ソバとダッタンソバでは活性酸素消去物質の存在する場所や量が大きく異なるだけでなく, 消去反応に関わる物質が異なることが示唆された。実験ではダッタンソバ亜種, ダッタンソバ, 易脱稃性の系統, 普通ソバの順で活性酸素消去能が高かった。食品加工で有用と考えられる易脱稃性の系統は他のダッタンソバと比較して活性酸素消去能が低かったが, 個体間変異も大きいことが示唆されたことから, 易脱稃性

形質を残したままで活性酸素消去能の高い品種の育成が可能であることが示唆された。

5. ダッタンソバ粉画分における活性酸素消去能の解析

粉食での消費を基本とするソバにおいては、挽き方による機能性の変異を知るとは重要である。以下①1.0~0.5, ②0.5~0.25, ③0.25~0.125, ④0.125~0.063, ⑤0.063mm 以下, の5つの分画に分け活性酸素消去能について検討した。活性酸素消去能は粒度の細かい分画ほど高くなった。ソバは中心部分が粉状であり石臼などで挽く場合中心部分である更科粉が細かい粒度となる。よってソバ種子の中心部(更科粉)がより活性酸素消去能が高いと考えられた。しかしルチン含有量は粒度の粗い分画ほど高く、活性酸素消去能とルチン含有量との間に強い負の相関 $r = -0.978$ ($P < 0.004$) が認められた。よって、ダッタンソバの活性酸素消去には他のポリフェノールの関与が考えられた。

この研究内容は、作物育種や食品加工の上で極めて意義があるものと認めた。

審 査 結 果 の 要 旨

ダッタンソバ(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)は高標高山岳地帯起源の植物であり、環境ストレスに対し強い防御機構を持つと考えられる。ダッタンソバはルチンなどのポリフェノール類を多く含むことから機能性食品としても注目を集めており、その要因解明が望まれている。しかしストレス防御機構や機能性を把握することは容易ではない。この研究では、広域適応性を持つダッタンソバの果実を用いて、活性酸素消去能について検討されている。活性酸素種としては、一重項酸素と過酸化水素をとりあげている。その結果 1.活性酸素消去能には有意な系統間差があること, 2.活性酸素消去物質間には相乗作用が存在すること, 3.活性酸素消去能と色素物質の関係性, 4.ソバ果実内の活性酸素消去能の局在性を可視化した。この研究は機能性に関する作物学、育種学、食品加工学的な領域分野における基礎研究として重要な成果を上げていると考えられ、博士を授与するに十分な内容をもった論文であると判断された。このような経過で、審査委員全員一致をもって合格と判断した。

主な業績については以下のとおりである。

今までに国際雑誌および国内雑誌に原著としてそれぞれ3報、2報ずつ*¹掲載されており、さらに現在2報の論文を投稿中である。また連名で執筆した論文は国内外の学会に精力的に参加し、学会発表を発表者として14回、連名発表を含め計41回行い、博士課程在籍中には国際学会で3回の発表*²を行った。

* 1)

1. Kaori FUJITA, Naoto INOUE, Zhongfa YANG, Shoji HAGIWARA and Motoyuki HAGIWARA「Varietal differences of antioxidant activity in Tartary buckwheat flour as evaluated by chemiluminescence」Fagopyrum 2003 Vol.20: 47-52
2. Kaori FUJITA, Naoto INOUE, Shoji HAGIWARA, Zhongfa YANG, Masakazu KATO and Motoyuki HAGIWARA「Relationship between antioxidant activity and flour and hull color in Tartary buckwheat」Fagopyrum 2004 Volume 21: 51-57
3. Kaori FUJITA, Naoto INOUE, Shoji HAGIWARA and Clayton Campbell「Distribution of antioxidant activity in fruit section of buckwheat species」International symposium on buckwheat and the dietary culture, p.16-21.(Xichang China), 2005
4. 藤田かおり, 井上直人, 秋山美展「XYZ 系極微弱発光分析法を用いたダツタンソバ粉の活性酸素消去能」北陸作物学会報 2003 年 第 38 号:69-72
5. 藤田かおり, 井上直人, 萩原昌司, 楊重法, 加藤昌和「ソバ種子における活性酸素消去部位の種間・種内変異」北陸作物学会報 2004 年 第 40 号:82-85

* 2)

1. Kaori FUJITA, Naoto INOUE and Shoji HAGIWARA 「Relationship between antioxidant activity of flour and seed color in Tartary buckwheat」The 9th International Symposium on Buckwheat, Prague Czech, August 18-22, 2004
2. Kaori FUJITA, Naoto INOUE and Shoji HAGIWARA 「Distribution of antioxidant activity in fruit section of common and Tartary buckwheats」The 9th International Symposium on Buckwheat, Prague Czech, August 18-22, 2004
3. Kaori FUJITA, Naoto INOUE, Shoji HAGIWARA and Clayton Campbell「Distribution of antioxidant activity in fruit section of buckwheat speacies」International symposium on buckwheat and the dietary culture, Xichang China, August 8-12, 2005