



・研究員
・大塚 しおり

2017 年 東京海洋大学海洋科学部
食品生産科学科 卒業
2017 年 農業・食品産業技術総合研究機構
北海道農業研究センター（現職）

ソバ貯蔵中の品質劣化に関わる成分や遺伝子等の解明

1. 研究の背景と目的

ソバは和食を象徴する食品の 1 つであり、古くから親しまれている。ソバの美味しさ・品質は重要であり、収穫したてのソバは品質が良く新ソバとして重宝されている。しかしながら、新ソバと呼ばれる時期は収穫後わずか 3 か月程度である。さらに、ソバは関東以南では二期作する地域もあるが、北海道では年に 1 回しか栽培できず、通年流通させるために北海道産ソバは収穫後、翌年の収穫物ができるまでの約 1 年間貯蔵される。貯蔵中に品質が損なわれていくため、「北海道産ソバ」のブランド力を維持・高めるためには貯蔵中の品質保持が課題となっている。貯蔵中の品質劣化抑制のために冷蔵貯蔵されるものの、冷蔵貯蔵でも徐々に品質は劣化してしまう（1, 2）。また、出荷時等に常温に晒されることにより、さらに品質劣化は進行する。加えて冷蔵貯蔵では費用や環境への負担が大きい。ため、貯蔵時の品質保持技術に依存しない、品質劣化しにくい品種開発が望まれる。しかしながら、貯蔵中に含量が変化している成分や発現が変動している遺伝子に関する報告は少なく、品質劣化のメカニズムが明らかになっていない。そのため、本研究は品質劣化しにくいソバ品種開発の基盤として、貯蔵中に変化している成分や遺伝子を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

2.1. サンプルと貯蔵方法

ソバは穀類では唯一機能性成分のルチン含有する。そのため、高ルチン育種が進めら

れているが、ルチンは褐変成分として知られているカテキンやプロアントシアニジンと同じフラボノイドの一種であるため、高ルチン系統の褐変のしやすさが懸念される。そのため、本研究では高ルチン系統「HR-8」を用いた。また、貯蔵方法は、ソバの殻を剥き、抜き実の状態で 30℃の暗所で 4 か月間貯蔵した。貯蔵前後のサンプルについて、下記の分析を実施した。

2.2. 色彩値測定

抜き実の状態で、色彩計カラーリーダー CR13（コニカミノルタ）を用いて 5 点平均で測定し、L*a*b*表色系で表した。L*は明度の値であり、a*と b*は色相と彩度に関わる値である (3)。a*は数値が高いほど赤色が強く、低いほど緑色が強いことを表し、b*は数値が高いほど黄色が強く、低いほど青色が強いことを表している。ソバは緑色が好まれるため、a*が重要な指標である。

2.3. 成分変動解析

メタボローム解析により、貯蔵前後の水溶性・イオン性の代謝物質の変化を網羅的に調べた。分析はヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社（HMT）に委託した。試料は抜き実をソバ粉にした後、さらに内部標準物質を含んだメタノール溶液を添加し、冷却化で粉碎した。粉碎後、Milli-Q 水を加えて攪拌し、遠心分離をした。上清を限外ろ過チューブによりろ過した。ろ液を乾燥させ、再び Milli-Q 水に溶解して測定に供試した。測定は、キャピラリー電気泳動ー飛行時間型質量分析計 CE-TOFMS のカチオンモード、アニオンモードで実施し、貯蔵前後のサンプル間でピーク面積値を比較した。なお、HMT 代謝物質ライブラリに登録された物質を対象として解析を実施した。

2.4. 遺伝子発現量解析

RNA-seq により、貯蔵前後の遺伝子の発現量の変動を網羅的に調べた。トータル RNA の抽出は抜き実を液体窒素中で乳鉢と乳棒で粉碎後、Maxwell RSC Plant RNA Kit (Promega) がとともに、Maxwell RSC Instrument を使用して抽出した。RNA シーケンスはゲノムリード株式会社に委託した。TruSeq stranded mRNA Library kit を使用して NGS 配列の RNA ライブラリを構築し、NovaSeq6000 (Illumina) を使用してシーケンスを実行した。シーケンス結果は FASTQ ファイルで出力した。得られた結果を fastp でアダプターを除去し、自殖性ソバ系統の cDNA をリファレンス配列としてインデックスを作成し、bowtie2 を用いた rsem によりマッピングした。発現変動遺伝子は iDEP を用いて調べた。発現量の変化が大きかった遺伝子について blast を用いて相同性検索をした。

3. 結果および考察

3.1. 貯蔵による色の変化

貯蔵前後でL*やb*は変化が見られなかったものの、貯蔵後のa*の上昇傾向が見られた (p=0.06) (表1)。また、CIE1976年推奨の色差式

$$\text{色差}\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

表1 貯蔵前後の色彩値		
	貯蔵前	貯蔵後
L*	55.1	55.4
a*	2.7	5.0
b*	22.0	21.4

により計算した色差 ΔE は2.40であった。表2に示したJISによる色許容差の分類(3)に基づくと ΔE 2.40は2級と3級の間であることから、本研究の貯蔵後のソバは、品質劣化していないソバと並べた時に、ほとんどの人が色差を認識可能なレベルで色に変化していたことが分かる。これらのことから、貯蔵による色の劣化が確認された。

一方で、丸山ら(4)の研究では、暗所に10℃で3か月間貯蔵した際に、a*が有意に上昇した系統があったのに対し、本研究ではa*は上昇傾向はあったものの有意な差は確認されなかった。前述した通り、高ルチン系統の褐変のしやすさを懸念していたが、本研究結果より、ルチン含量の褐変への影響は小さいと推察される。ただし、ルチン含量と褐変の関係を明確に示すためには、今後同一条件で他品種との比較検討が必要である。

表2 JISによる色許容差の分類

色差の大きさ	名称	摘要
~0.2	測色不能領域	
0.3	識別色差	同一物体の測色再現精度
0.6	1級 (厳格色差)	各種の誤差要因を考えた場合の実用的な許容差の限界
1.2	2級 (実用色差a)	並べて判定した場合に、ほとんどの人が容易に色差を認めることができる
2.5	3級 (実用色差b)	離間して判定した場合に、ほぼ同一と認めることができる
5.0	4級	経時比較した場合に、ほぼ同一と認めることができる。
10.0	5級	マーキングペン (JIS S 6037) の規格
20.0	6級	色名レベルの色の管理

3.2. 貯蔵による成分の変化

貯蔵前後のソバのメタボローム解析の結果、284個の物質が検出され、その内96個が貯蔵により減少し、188個が貯蔵により増加した。好ましくない香りとして知られている「Butyric acid」と「Isovaleric acid」は貯蔵前は検出値以下だったが、貯蔵後には検出された(図1)。また、風味の向上に寄与すると考えられている「2-Phenylethylamin」は貯蔵前は検出されたが、貯蔵後は検出値以下だった。さらに、旨味成分である「AMP」や「GMP」も貯蔵により減少した。これらの成分が貯蔵による食味低下に寄与していると

推察される。今後、貯蔵してもこれらの成分が変化しない品種開発が求められる。

一方で、甘味成分である「Alanine」や「Serine」、旨味成分である「Aspartic acid」は貯蔵により増加した（図3）。これらの結果は貯蔵により食味が向上することも示唆される。しかしながら、貯蔵により食味が低下することから、味が濃くなることによりソバの食味は低下するのか、すなわちソバはあっさりとした味が好まれるのか、それとも前述した食味低下に寄与する成分の効果が大きいのか検討が必要である。

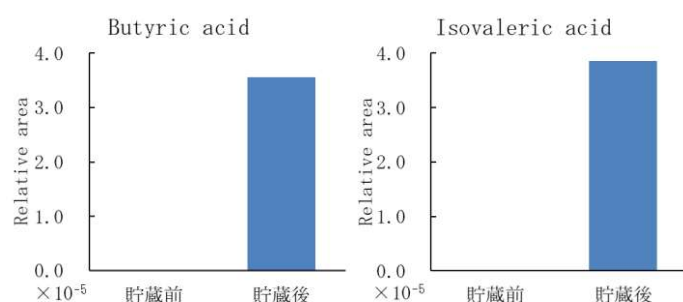


図1 貯蔵による「Butyric acid」と「Isovaleric acid」のピーク面積値の変化

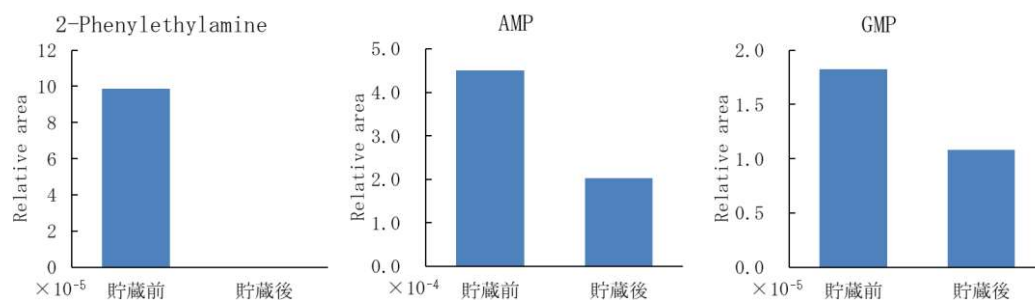


図2 貯蔵による「2-Phenylethyamin」、「AMP」、「GMP」のピーク面積値の変化

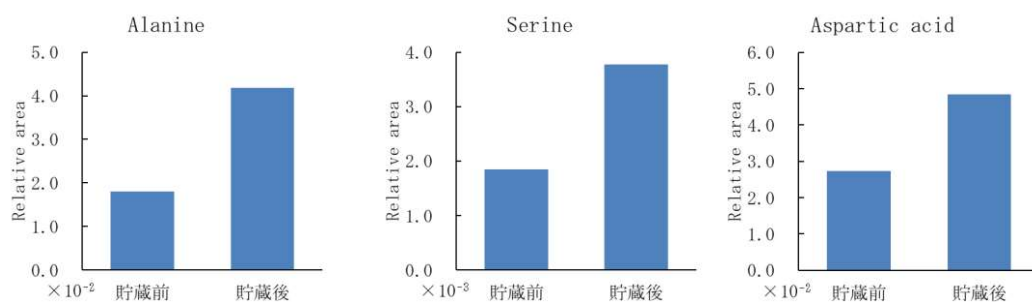


図3 貯蔵による「Alanine」、「Serine」、「Aspartic acid」のピーク面積値の変化

3.3. 貯蔵による遺伝子発現の変化

貯蔵前後の RNA-seq の結果、貯蔵後に発現が増加した遺伝子が 232 個、減少した遺伝子が 67 個であった。表 3、表 4 に発現が増加した遺伝子と減少した遺伝子をそれぞれ上位 10 個を示した。発現量が増加した遺伝子はリボソームタンパク質やシトクローム c オキシダーゼと相同性が高いものがあつた。また、succinate（コハク酸）は旨味成分としても知られており、succinate dehydrogenase により旨味の減少が示唆される。発現量が減少した遺伝子にはヒストンタンパク質と相同性が高いものが多かった。今後、これらのタンパク質が品質に関わるかを調査する。また、発現量に変化のあつた遺伝子について上位 10 個以降も相同性検索をして品質に関わる遺伝子を調査する予定である。

表3 貯蔵により発現量が増加した遺伝子

遺伝子	相同性が高いタンパク質
FESPL4_R1.1_CHR5.G077240.1	NADH dehydrogenase subunit 6
FESPL4_R1.1_CHR5.G187670.1	ribosomal protein S4
FESPL4_R1.1_CHR4.G057270.1	pathogeneis-related protein 10
FESPL4_SC1614.1.G000030.1	ribosomal protein S7
FESPL4_R1.1_CHR8.G234260.1	glucan endo-1,3-beta-glucosidase
FESPL4_SC1046.1.G000050.1	succinate dehydrogenase subunit 3
FESPL4_SC0692.1.G000070.1	putative cytochrome-c oxidase
FESPL4_SC0748.1.G000030.1	putative cytochrome-c oxidase
FESPL4_R1.1_CHR4.G040730.1	hypothetical protein
FESPL4_SC0656.1.G000080.1	hypothetical protein

表4 貯蔵により発現量が減少した遺伝子

遺伝子	相同性が高いタンパク質
FESPL4_R1.1_CHR3.G271360.1	cytochrome P450
FESPL4_R1.1_CHR7.G224150.1	cystein proteinase inhibitor 1
FESPL4_R1.1_CHR7.G244580.1	germin-like protein subfamily 1 member 15
FESPL4_R1.1_CHR1.G273180.1	Histone superfamily protein
FESPL4_R1.1_CHR6.G007210.1	peamaclein
FESPL4_R1.1_CHR2.G235030.1	Histone H3.2
FESPL4_R1.1_CHR6.G218390.1	germinal center kinase 1
FESPL4_R1.1_CHR1.G273120.1	Histone H2A
FESPL4_R1.1_CHR8.G237370.1	Histone H2A
FESPL4_R1.1_CHR6.G052200.1	Histone H3

4. まとめ及び展望

本研究では、ソバの抜き実を 30℃で 4 か月間貯蔵することにより、貯蔵による品質劣化を調べた。貯蔵により色が悪くなることや、香りや味の成分に変化が見られた。また、多

くの遺伝子の発現量が変化した。

今後、複数の品種・系統で冷蔵や常温による貯蔵試験を実施し、本研究で確認された成分や遺伝子の変化を調べることにより、貯蔵による品質劣化に関わる成分や遺伝子を特定したいと考えている。さらに、明らかになった成分や遺伝子を制御することにより、品質劣化しにくいソバの品種開発を目指す。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援いただきました公益財団法人サッポロ生物科学振興財団に深く感謝いたします。

6. 参考文献

1. 和田陽介, 中川友里, 見延敏幸, 栗野遥, 天谷美都希, 久保義人. 早期収穫ソバの乾燥・調製および保持技術. 2010; (福井県農業試験場).
2. 遠山良, 関沢憲夫, 村井一男, 石谷孝佑. 玄そばの包装貯蔵中における品質変化について. 日本食品工業学会誌 1982; 29 (8), 501-506
3. 三木かおり, 高橋泰. カラーストーンの測色: 人間の色知覚と機械測色の比較. 宝石学会誌 2004; 24 (宝石学会 (日本)), 3-12.
4. 丸山秀幸, 矢ヶ崎和弘 岡, 吉田清志. ソバ丸抜きとそば粉の緑色保持のための保存方法. 北陸作物学会報 2017; 52 (北陸作物・育種学会), 35-37.