

同一抽出液によるネギの遊離糖含量 及びピルビン酸生成量定量分析の可能性

小勝淑弘・若生忠幸¹⁾

Quantitative Analyses of Free Sugar Content and Pyruvic Acid Production Using One Extract of Japanese Bunching Onion (*Allium fistulosum* L.)

Yoshihiro KOKATSU and Tadayuki WAKO¹⁾

摘 要

ネギの育種や品種比較時に多量のサンプルを同時期に分析することが多いため、遊離糖含量及びピルビン酸生成量の同一抽出液を用いた簡易分析法及びその分析部位について検討した。遊離糖含量は酵素法、ピルビン酸生成量は吸光光度法により定量した。その結果、遊離糖含量は、サンプル加熱の有無による差がないことから、ピルビン酸生成量の測定と同一の抽出液で分析できることを明らかにした。また、遊離糖含量とピルビン酸生成量は、部位や葉位により差があることから、個体間差を調査する場合、同一の部位や葉位からサンプルを採取することを提案する。

キーワード：ネギ，遊離糖含量，ピルビン酸生成量，簡易分析

Summary

This study assessed the quantitative analyses of free sugar content and pyruvic acid production using one extract of Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) for simplified analysis, because many samples are frequently analyzed simultaneously within breeding or breed comparisons. The analyses were conducted using the enzymatic method and absorption photometry. The free sugar content did not differ between the unheated and heated samples. The experimental results indicate that it is possible to analyze both free sugar content and pyruvic acid production using the same extract. Different plant organs of Japanese bunching onions were analyzed using this method. The free sugar content and pyruvic acid production were found to vary among the plant organs. These results indicate that the analyses of their samples should be categorized according to specific plant organs.

Key words: Japanese bunching onion, free sugar content, pyruvic acid production, simplified analysis

緒 言

ネギ (*Allium fistulosum* L.) は外食・中食の業務用食材としての利用や加工原料としての需要が高まっており、2010 年度におけるネギ消費量に占める加工・業務用需要の割合は 62%、その内輸入の占める割合は 25% に達している (小林 2012)。2015 年産ネギの全国出荷量約

383,100 t (農林水産省 2016a) に対し、輸入量は約 56,800 t (農林水産省 2016b) と近年高い水準になっている。堀越 (2002) は、ネギの輸入増加の理由について、大きな価格変動が安定供給先を国外に求めるきっかけを作ったこと及び海上輸送網の整備が進んだことが背景にあると述べている。その一方で、神奈川県内の農業

¹⁾国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜花き研究部門

地域は大消費地である都市近郊に位置し、卸売市場出荷や契約出荷のほか、直売や観光農園等様々な販売形態があり、地産地消に基づいた農業振興を図るうえで、付加価値の高い野菜の生産や実需者ニーズに応えた出荷が求められている。ネギに求められる食味形質として、一般消費者は生ネギでは「香り」が強いもの、煮ネギでは「甘み」が強く「軟らかい」もの、焼ネギでは「甘み」が強いものが好まれ、外食産業では「辛み」が弱く、「甘み」が強いものが好まれる(宮城ら 2011b)。用途にあったネギを既存品種の中から選抜または育成する場合、成分分析のために多量のサンプルを同時期に測定することが多いため、より簡易に行う必要があると考えられる。糖度は簡便に測定できるため、甘みの評価に頻繁に利用される。しかし堀江(2006)は、果菜類の一部では糖度が甘さの指標として一定の機能を果たしているが、糖以外の成分を総体的に多く含む葉菜類については、糖度を官能的な甘さの指標にするには無理な場合もあり得るとし、宮城ら(2011a)はネギの官能評価と測定値の関係から、糖度よりも遊離糖や甘味度を甘みの指標とすることがより適切と述べている。遊離糖(ブドウ糖、ショ糖、果糖)含量の測定には高速液体クロマトグラフィー(HPLC)等による分析法が一般に用いられているが、近年、酵素電極を用いたバイオセンサーによる簡易測定技術が開発され、普及し始めている。そこで、本研究ではバイオセンサーを用い、サンプル調製法について検討した。また、ネギの辛みはピルビン酸生成量と相関が高く、Yooら(1995)は少量サンプルからのピルビン酸生成量の簡易測定法を報告しており、若生ら(2010)は、その手法を用いて辛みが少ないネギの選抜に利用している。もし、辛みと同一の抽出液で甘みが評価できれば、分析時における調製作業の省力化に繋がる。しかし、遊離糖含量をイチゴ果実の電子レンジ前処理水抽出法(Ogiwara 1999)で測定すると、加熱により酵素アリナーゼが失活してしまうため、辛みの指標となるピルビン酸が測定できなくなる。そこで、遊離糖含量分析時におけるサンプル加熱の必要性を検討した。また、一全体全てを供試すると、調製作業や粉碎機器の洗浄等に多くの労力が掛かることから、個体の一部で分析を行うためには、遊離糖含量及びピルビン酸生成量の

植物体における分布を把握する必要がある。そこで、本報では、食味成分として重要な甘みと辛みについて、より簡易に分析するために、遊離糖含量及びピルビン酸生成量の同一抽出液を用いた分析について検討を行うと共に、その分析部位及び葉位について検討を行ったので報告する。

材料及び方法

1. 遊離糖含量分析時における葉しょうサンプル加熱の必要性

ネギ品種‘ゆめわらべ’及び‘夏扇3号’(2014年5月14日定植,12月8日収穫,独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所ほ場にて栽培(三重県津市。以下、野茶研))を供試し、各品種5株を葉身3枚に調製後、葉しょうの茎盤部から2~6cm及び6~10cmの箇所を輪切りにし、さらに垂直中央で半分に切断して、加熱用と非加熱用のサンプルとした。蒸留水を10ml入れた50ml遠沈管に5g程度のサンプルを入れ、加熱サンプルのみ電子レンジで沸騰直前まで加熱した。その後全てのサンプルを多検体細胞破碎機(マルチピースショッカー,安井器械(株))で処理し、3000rpmで10分間遠心分離後、その上澄み液を凍結保存した。その後、多機能バイオセンサー(BF-5,王子計測機器(株))に供し、遊離糖含量を測定した(ブドウ糖及びショ糖は12月9日,果糖は12月11日測定)。

2. 遊離糖含量及びピルビン酸生成量の分布

(1) 葉身及び葉しょうの部位による分布

ネギ品種‘ゆめわらべ’及び‘夏扇3号’(2014年5月14日定植,11月21日収穫,野茶研にて栽培)を各品種3株供試した。葉身を3枚に調製後、外側から外葉,中葉,内葉とし、葉身の内葉と葉しょうをそれぞれ上部,中部,下部に分け、0.3g程度をマイクロチューブに採取した。全てのサンプルを多検体細胞破碎機(Tissue Lyser, QIAGEN)で処理し、14500rpmで10分間遠心分離後、その上澄み液を分析用サンプルとした。遊離糖含量の測定は多機能バイオセンサーで行った。ピルビン酸生成量は、Yooら(1995)の方法に従い、上澄み液に酸性の2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを加え、37℃で10分間反応させた後、水酸化ナトリウム溶液で中和し、吸光マイクロプレートリーダー

(Multiskan FC, Thermo Scientific)により414 nmの吸光度を測定した。本分析において、ビルビン酸の測定値からバックグラウンドを除かなかった。タマネギに関して、Yooら(1995)は、バックグラウンドの濃度は薄く、品種間で一貫しているため、多くのサンプルを扱う育種において省略できると述べている。ネギにおいてもバックグラウンド濃度は薄いことから、省略した。また、サンプル液量が少なかったため、葉身上部の遊離糖含量は分析できず、‘ゆめわらべ’の葉身中部は2株のみ分析した。

(2) 葉しょうの葉位による分布

ネギ品種‘夏扇3号’(2014年3月18日定植, 12月10日収穫, 野茶研にて栽培)を6株調査した。葉身3枚に調製後, 茎盤部から5~8 cmの葉しょうを輪切りにした後, 外側から1枚ずつ葉位別に分けた。外側か

表1 分析サンプルの加熱処理の有無が遊離糖含量分析値に及ぼす影響

品種 ^z	加熱	ブドウ糖 g/100gFW	ショ糖 g/100gFW	果糖 g/100gFW	総量 g/100gFW
ゆめわらべ	無	2.35 ± 0.27 ^x	1.72 ± 0.29	0.42 ± 0.12	4.48 ± 0.21
	有	2.65 ± 0.30	1.83 ± 0.29	0.54 ± 0.14	5.02 ± 0.24
	t検定 ^y	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
夏扇3号	無	2.59 ± 0.13	1.84 ± 0.33	0.52 ± 0.10	4.95 ± 0.42
	有	2.59 ± 0.22	1.84 ± 0.28	0.56 ± 0.12	4.99 ± 0.23
	t検定	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^z: 2014年5月14日定植, 12月8日収穫, 各品種5株を茎盤部から2-6cm, 6-10cmの箇所を輪切り後, 垂直中央で半分に切断。各試験区10サンプル調査。

^y: スチューデントのt検定(5%水準)により, n.s.は有意差なしを

^x: 平均±標準偏差

ら外葉, 中葉, 内葉とし, 内葉より内側をまとめて中心部とした。各サンプルを採取後, (1)と同様の手法で遊離糖含量及びビルビン酸生成量を測定した。

(3) ビルビン酸生成量の収穫時期による経時変化

ネギ品種‘ゆめわらべ’及び‘夏扇3号’(2014年3月18日に定植, 9月29日収穫, 10月8日収穫及び11月14日収穫, 野茶研にて栽培)を各収穫日それぞれ8株, 5株及び6株供試し, 葉身は中葉の中部を, 葉しょうは下部を採取後, (1)と同様の手法でビルビン酸生成量を測定した。また, 11月14日は葉身の採取及び分析を行わなかった。

結果

1. 遊離糖含量分析時における葉しょうサンプル加熱の必要性

‘ゆめわらべ’及び‘夏扇3号’共に, 分析用サンプルの加熱処理の有無による葉しょうの遊離糖含量(ブドウ糖, ショ糖, 果糖, 総量)に差は認められなかった(表1)。

2. 遊離糖含量及びビルビン酸生成量の分布

(1) 葉身及び葉しょうの部位による分布

遊離糖含量の分布は, 葉身では‘ゆめわらべ’のショ糖含量は中部が0.64 g/100 gFWと下部より多く, 果糖含量は反対に0.81 g/100 gFWと下部より少なかった(表2)。一方, 葉しょうでは‘ゆめわらべ’及び‘夏扇3号’共に下部のショ糖含量が1.46及び1.69 g/100 gFWと上部及び中部より多く, 下部の果糖含量が0.61及び0.64 g/100 gFWと上部及び中部より少なかった

表2 葉身及び葉しょうの遊離糖含量及びビルビン酸生成量の部位別分布

部位 ^z	ゆめわらべ					夏扇3号					
	ブドウ糖	ショ糖	果糖	総量	ビルビン酸	ブドウ糖	ショ糖	果糖	総量	ビルビン酸	
	g/100gFW	g/100gFW	g/100gFW	g/100gFW	μmol/L	g/100gFW	g/100gFW	g/100gFW	g/100gFW	μmol/L	
葉身	上	-	-	-	-	13.0	-	-	-	-	13.4
	中	2.24	0.64	0.81	3.69	15.3	2.18	0.70	0.99	3.88	12.2
	下	2.51	0.45	0.99	3.96	13.8	2.25	0.58	0.97	3.80	10.1
分散分析 ^y	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
葉しょう	上	2.57	0.51	b 1.02	a 4.11	11.4	2.81	0.73	c 1.18	a 4.72	19.7
	中	2.74	0.75	b 1.05	a 4.54	8.6	2.86	1.10	b 1.05	a 5.01	21.5
	下	2.40	1.46	a 0.61	b 4.48	10.3	2.46	1.69	a 0.64	b 4.78	24.2
分散分析	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	

^z: 2014年5月14日定植, 11月21日収穫, 各品種3株ずつ調査。サンプル液量が少なかったため, 遊離糖含量の分析は, 葉身上部は分析できず, ‘ゆめわらべ’葉身中部は2株のみ調査。

^y: 一元配置分散分析により, *は5%水準で, **は1%水準で有意差あり。

^x: Tukey-Kramer法により異なる文字間に5%水準で有意差あり。

(表 2) . ピルビン酸生成量は、部位による差が認められなかった(表 2) .

(2) 葉しょうの葉位による分布

葉しょうのブドウ糖含量は、外葉、中葉及び内葉が 2.68 ~ 2.95 g/100 gFW であったのに対して、中心部は 2.59 g/100 gFW と少なく、果糖含量は、外葉、中葉及び中心部が 0.60 ~ 0.79 g/100 gFW であったのに対して、内葉は 1.02 g/100 gFW と多かった(表 3) . また、ピルビン酸生成量は、外葉、中葉及び内葉が 9.27 ~ 11.42 $\mu\text{mol/L}$ であったのに対して、中心部は 17.30 $\mu\text{mol/L}$ と多かった(表 3) .

表 3 葉しょうの葉位別遊離糖含量及びピルビン酸生成量の分布

葉位 ^z	遊離糖				ピルビン酸 $\mu\text{mol/L}$
	ブドウ糖 g/100gFW	ショ糖 g/100gFW	果糖 g/100gFW	総量 g/100gFW	
外葉	2.68 ab ^y	1.53	0.73 b	4.94	9.27 b
中葉	2.95 a	1.59	0.79 b	5.33	8.81 b
内葉	2.90 a	1.45	1.02 a	5.37	11.42 b
中心部	2.59 b	1.78	0.60 b	4.96	17.30 a

^z: 2014年3月18日定植, 12月10日収穫の‘夏扇3号’を6株調査. 茎盤部から5 ~ 8cmの葉しょうを輪切りにした後, 葉位別に分けた.

^y: Tukey-Kramer法により同一列の異なる文字間に5%水準で有意差あり.

表 4 葉身及び葉しょうのピルビン酸生成量の経時変化

収穫日 ^z	ゆめわらべ		夏扇3号	
	葉身 $\mu\text{mol/L}$	葉しょう $\mu\text{mol/L}$	葉身 $\mu\text{mol/L}$	葉しょう $\mu\text{mol/L}$
9月29日	20.1	21.5 a ^y	18.6	22.2 a
10月8日	16.0	9.3 b	14.9	13.4 b
11月14日	-	10.1 b	-	16.7 b
分散分析 ^x	n.s.	**	*	**

^z: 2014年3月18日定植. 葉身は中葉の中部を, 葉しょうは下部を調査. 9月29日, 10月8日及び11月14日に収穫し, それぞれ8株, 5株及び6株調査した. 11月14日は葉しょうのみ調査した.

^y: Tukey-Kramer法により, 同一部位の同一列の異なる文字間に5%水準で有意差あり.

^x: 一元配置分散分析により, *は5%水準で, **は1%水準で有意差あり, n.s.は有意差なし.

(3) ピルビン酸生成量の収穫時期による経時変化

葉身では‘夏扇 3 号’の 9 月 29 日の生成量は 18.6 $\mu\text{mol/L}$ と 10 月 8 日より多く, 葉しょうでは‘ゆめわらべ’及び‘夏扇 3 号’の 9 月 29 日の生成量は 21.5 $\mu\text{mol/L}$ 及び 22.2 $\mu\text{mol/L}$ と, 10 月 8 日及び 11 月 14 日生成量より多かった(表 4) .

考 察

1. 遊離糖含量分析時における葉しょうサンプル加熱の必要性

辻・小宮山(1987)は, カキ果実破碎液において, 始めはショ糖含量がブドウ糖及び果糖と比較して最も高かったが, 時間の経過にともない急激に減少し, 10 ~ 20 分後ほとんど消失したと述べている. 本報におけるネギ葉しょう抽出液は, 加熱の有無に関わらず, 遊離糖含量の差はほとんど認められなかったことから, カキやイチゴに発生するインベルターゼによるショ糖の分解は, ネギではほとんどないと考えられる. そのため, ネギの簡易分析を行う上では, 加熱の必要はないが, 今後詳細にネギの生理活性について把握するために, ショ糖含量及びインベルターゼ活性の経時変化についての調査が期待される.

2. 遊離糖含量及びピルビン酸生成量の分布

橋本(1989)は, ダイコンを潰したときに生成する主要な辛み成分である 4-メチルチオ-3-ブテニルイソチオシアナートについて, 部位による含量を調査し, 水平方向では内側から外側にかけて多く, 鉛直方向では首部から尾部にかけて多いと報告している. 本報でも, 他の葉位と比べ, 葉しょう中心部はピルビン酸生成量に差が見られた. また, ピルビン酸生成量は, 複数日調査を行ったが, 9月29日収穫時が高い等, 栽培時期によりその量に差が認められた. 曾我ら(2014)の試験においても, 葉身と葉しょうの遊離糖含量及びピルビン酸生成量は栽培時期により差があり, 高温期のストレスによる呼吸量の増大や環境ストレスに対する抵抗性増強等に由来する可能性があるとして述べている. この他本報の遊離糖含量は, 葉身及び葉しょうの部位や葉位により差が認められた. そのため, 本手法でネギの成分の比較を行う場合, 同一部位を的確に採取するとともに, 同時期に収穫したサンプルで分析する必

要がある。また、分析する葉位を外葉または中葉とした場合、葉身が数枚残ることから、分析結果から個体選抜をして採種することも可能であると考えられる。

以上のとおり、本報では、ネギの甘みと辛みを同一の調製サンプルにより簡易に評価する手法並びに植物体における各成分の分布について検討を行った。これらの結果は、実需者のニーズにあった食味を、市販品種や地方在来品種から探索することや、新たな品種育成をする上での手法のひとつになると期待する。

(謝 辞)

本研究は、2014年度に独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構依頼研究制度により、野菜茶業研究所にて行った。研究遂行にあたり、当研究所の皆様にご協力ご助言をいただいた。また、本報を作成するにあたり、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門の伊藤秀和上級研究員には、御校閲の労をとっていただいた。ここに記して感謝の意を表する。

引用文献

橋本俊郎 .1989 .HPLC による大根の辛み成分の分析 .
茨城県工業技術センター研究報告 . 17:145-148.
堀江秀樹 .2006 . 野菜の品質評価の現状と展望 . 野菜
茶業研究集報 . 3:123-127 .
堀越孝良 .2002 . ねぎの生産と消費の動向 . 農林水産
政策研究所レビュー . 3:28-42
小林茂典 .2012 . 野菜の用途別需要の動向と対応課題 .

農林水産政策研究所レビュー . 48:2-3 .
宮城淳・家壽多正樹・日坂弘行・本居聡子・若生忠幸 .
2011a . ネギの官能評価と成分・物性測定値と
の関係 . 園学研 . 10(1):101-107 .
宮城淳・家壽多正樹・日坂弘行・本居聡子・若生忠幸 .
2011b . 消費者および外食産業を対象としたネ
ギの嗜好性調査 . 園学研 . 10(2):273-282 .
農林水産省 .2016a . 平成 27 年産指定野菜 (秋冬野菜
等) 及び指定野菜に準ずる野菜の作付面積、収
穫量及び出荷量 . P75 .
農林水産省 .2016b . 農林水産物輸出入概況 2015 年 (平
成 27 年) 確定値 . P48 .
Ogiwara, I. ,Ohtsuka, Y. , Yoneda, Y. , Sakurai, K. ,
Hakoda, N. and Shimura, I. . 1999 . Extraction
method by water followed by microwave heating
for analyzing sugars in strawberry fruits . J. Japan.
Soc. Hort. Sci. , 68(5):949-953
曾我綾香・鈴木美穂子・山崎弘・若生忠幸・吉田誠 .
2014 . コンパクトネギの品質評価 . 神奈川農技
セ報 . 159:1-9
辻政雄・小宮山美弘 . 1987 . カキ果実のインベルター
ゼ活性と糖組成の関係 . 日本食品工業学会誌 .
34(7): 425-431 .
若生忠幸・小島昭夫・山下謙一郎・塚崎光・小原隆由・
坂田好輝 . 2010 . 短葉性ネギ品種‘ふゆわらべ’
の育成とその特性 . 園学研 . 9(3):279-285 .
Yoo, K. S. , L. M. Pike and B. K. Hamilton . 1995 . A
simplified pyruvic acid analysis suitable for onion
breeding programs . HortScience . 30(6):1306 .