

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 6 月 2 4 日現在

機関番号：3 4 3 1 6

研究種目：若手研究

研究期間：2019 ~ 2023

課題番号：1 9 K 1 5 7 9 8

研究課題名（和文）高付加価値化を目指した紫黒米アントシアニンの一括分析法と栽培指針の確立

研究課題名（英文）Establishment of cultivation guidelines and a method for bulk quantitative analysis of anthocyanin in black rice in order to give a new added value to the products

研究代表者

山本 涼平（Yamamoto, Ryohei）

龍谷大学・農学部・実験助手

研究者番号：7 0 7 6 7 5 4 0

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：2018年から2021年に栽培した紫黒米40品種のアントシアニンを定量したところ、ほとんどの品種で2-4倍の年次間差が生じたが、その中で“紫黒苑”など、安定して高いアントシアニン含量を有する品種が確認された。一方で人工気象室でのポット栽培では、30度の高温下でアントシアニン含量が大きく低下するなど室温の影響が表れたが、水田では気温との関連は認められなかった。したがって、水田における紫黒米の色素発現は、日中の気温よりもむしろ水温や地温など他の要因が強く影響していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、2018年から2021年に栽培した紫黒米40品種のアントシアニン量を定量し、年次間差異などをまとめるとともに、人工気象室内でのポット試験において施肥や光条件との関連性を考察したものである。これまでに、国内で栽培されている紫黒米のアントシアニン量を多品種かつ複数年にわたって網羅的に解析した例はなく、本研究成果は、紫黒米の安定生産のための品種選択や栽培指針の設定を行う上での一助となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The anthocyanin content of 40 cultivars of black rice cultivated from 2018 to 2021 was quantified, and annual differences of 2-4 times were observed in most of the varieties. Among them, some varieties, such as “Shikokuken”, were found to have consistently high anthocyanin content. On the other hand, no relevance to temperature was observed in the paddy fields, even though anthocyanin content decreased significantly at room temperature of 30 °C when grown in an artificial climate chamber, indicating the effects of high temperatures. Therefore, the anthocyanin content of black rice in paddy fields was considered to be more strongly affected by other factors such as water and ground temperature rather than that of outside.

研究分野：農芸化学

キーワード：紫黒米 アントシアニン プロファイリング 環境条件

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

国内の米の消費量減少や貿易のグローバル化の流れの中で、機能性などの点で付加価値を高めた品種の生産が日本農業の生き残りに必要であるとの考えから、近年は稲などの穀類において赤や紫などの色素成分を含む品種の見直しが盛んに進められている。紫黒米は玄米の糠層にアントシアニンを含む濃紫色の米であるが、このアントシアニンの色素発現は、同じ品種であっても気候や肥料条件などの環境要因によって大きく変動することが知られていた。アントシアニンは紫黒米の発色のもとになっている成分であり、その増減は見た目を大きく左右し商品価値に影響する。したがって、この問題は生産者を悩ませる一つの原因にもなっており、紫黒米においてアントシアニンを安定して生産させるための栽培指針が強く望まれている。しかしながら、有色農作物の色素に関する研究は機能性の観点から多面的に行われているものの、色素発現と環境要因という観点での研究事例は一部の果樹や野菜を除き非常に少ない。我々も、国内の代表的な紫黒米である“朝紫”などにおいて、アントシアニン含量が栽培年度によって2～4倍ほど異なることを確認していたが、この知見だけでは栽培条件との詳細な関連性は不明であり、その解明が必要であった。

2. 研究の目的

本研究計画の目的は大きく分けて次の二点である。(1) 気温や光などの環境条件が色素発現(アントシアニン)に及ぼす影響を明らかにし、紫黒米の安定した生産を進めるための栽培指針を作成する。(2) 紫黒米のアントシアニンの組成を明確にするための分析条件を設定し、成分プロファイリングを行う。

3. 研究の方法

(1) 紫黒米 40 品種のアントシアニン定量

i) 供試試料

紫黒米は 2018 年度から 2021 年度に龍谷大学附属農場(滋賀県大津市)の水田において無肥料条件下で栽培したものを使用した。なお 2018 年度の紫黒米は研究期間前年度に収穫・保存したものを使用した。また、2010 年度から 2012 年度に県立広島大学附属農場(広島県庄原市)の水田において同様に栽培・保存された“朝紫”および“武蔵野紫”を比較対象として供試した。

ii) 試料の調整とアントシアニンの定量

玄米を 100 粒ずつ取り分けフードミルまたは乳鉢ですりつぶして粉末にし、分析に供するまで 4℃で冷蔵保存した。粉末試料の抽出は 5 mL のファルコンチューブに 0.1 g の粉末試料と 4 mL (4 倍量) の抽出溶液(1%塩酸メタノール)を加えて 10 分間超音波に当てた後、暗所で一晩静置抽出した。抽出は 2 回繰り返し、15,000 rpm で遠心した上澄を 0.22 μm のシリンジフィルターでろ過し分析サンプルとした。アントシアニン含有量は、塩酸メタノール法を用いて行い、玄米 1 g あたりのシアニジン 3-グルコシド相当量として算出した。また詳細な組成分析は HPLC によって行った。

(2) 人口気象室におけるポット栽培試験

i) 供試試料

2015 年度に県立広島大学附属農場(広島県庄原市)の水田において栽培・保存された“朝紫”を供試した。

ii) 栽培と試験区

1/5000 a ワグナーポットに肥料分を含まない土壌(びわこ 1 号)を充填し、“朝紫”を化成肥料の基肥のみで栽培した。栽培は人口気象室内で行い、屋外での対照区を含めた以下の 8 通りの試験区を設けた。

- ・強光下 20℃ (12 時間照射) および 25℃ (16 時間照射):(HID : 約 15,000 LUX)
- ・通常光下 20℃ (12 時間照射) および 25℃ (12 時間照射):(LED : 約 6,000 LUX)
- ・通常光下 20℃ (12 時間照射: 非照射時 30℃):(LED : 約 6,000 LUX)
- ・通常光下 30℃ (12 時間照射: 非照射時 20℃):(LED : 約 6,000 LUX)
- ・赤色 LED 下 20℃ (12 時間照射)
- ・対象区(野外: 太陽光下)

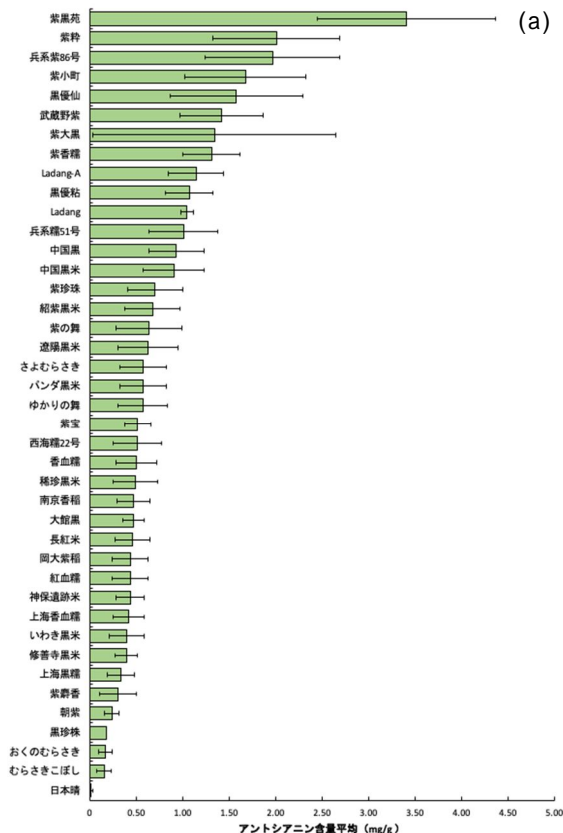
iii) 試料の調整とアントシアニンの定量

玄米は 200 粒ずつ取り分けフードミルで粉末にし、分析に供するまで冷蔵保存した。25 mL の三角フラスコに 1.0 g の粉末試料と 10 mL の抽出溶液を入れ、暗所で一晩スターラーを用いて攪拌抽出した。抽出液は 0.45 μm のシリンジフィルターでろ過し分析サンプルとした。アントシアニン含有量(TAC)は、pH differential 法をもとにした AOAC 2005.02¹⁾

および沖ら²⁾の方法を一部改変して行い、(1)と同様にシアニジン 3-グルコシド相当量として算出した。

4. 研究成果

(1) 紫黒米 40 品種のアントシアニン定量



2018 年～2021 年の 4 年分の紫黒米 40 品種のアントシアニンの定量を行ったところ、その平均値は品種によって 10 倍以上異なった。紫黒米で代表的な“朝紫”は冷涼な地域で栽培されるのに対して、紫黒苑、紫粋、兵系 86 号など比較的温暖な地域で開発された品種は、年次間差はあるものの特に高い含有量を示した(図 1. a)。

また、栽培した 4 年間における全品種のアントシアニン含量について、年度別にその平均値を算出すると、これまでに知られていたように約 3～4 倍の年次間差が認められた(図 1. b)。特に 2020 年は猛暑日が続き、出穂期の平均気温が他の年より特に高かったことから、気温との関連性が予想された。

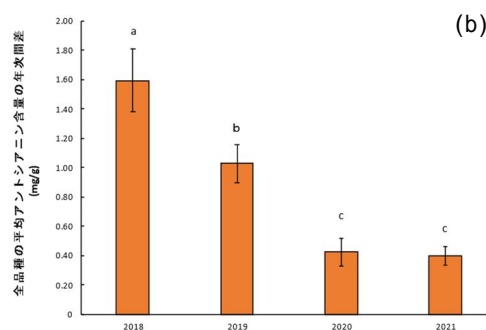


図 1. 紫黒米の品種別アントシアニン含量 (a) および全品種の平均アントシアニン含量の年次間差 (b)

しかしながら、それぞれの品種を個別に見た場合、出穂期の平均気温と逆相関してアントシアニン含量が低下した品種も確認されたが、“紫黒苑”など、平均気温の低かった 2019 年よりも気温の高い 2020 年の方が含有量の高い品種も多く、栽培した 4 年間の中では気温との関連性は認められなかった(気象庁における大津市の気象データと比較)。一方で、年次を追うごとに全体的なアントシアニン含量が低下していた。アントシアニンの生成には窒素施肥が不可欠であり³⁾ 気温との関連が見られなかったことから、無肥料条件下での栽培を続けたことによる窒素欠乏の影響も考えられたが、この点は検証が必要である。

その他の要因として、龍谷大学附属農場の水田では間断灌漑で栽培しており、かけ流し灌漑処理を行う場合と比べて地温が上昇しやすい。したがって、水田栽培におけるアントシアニンの増減については出穂期の気温よりむしろ、地温(水温)の影響を大きく受けると考えられた。この点を検証するために、常時かけ流し灌漑の県立広島大学附属農場(広島県庄原市)において栽培された“朝紫”および“武蔵野紫”の 2 品種(玄米を保存していたもの)について 3 年分を同様に定量し比較したところ、出穂期の平均気温は大津市と大きく変わらないにもかかわらず、1.30 mg/g と間断灌漑の場合よりも高い値を示した(図 2)。

また“武蔵野紫”では約 4 倍と有意に含有量が高値であった。これらの結果は、アントシアニンの発現が地温の影響を強く受けることを裏付けるが、栽培地域や栽培年度の違いによる影響も考慮する必要があり、今後は条件を揃えた追試が必要である。

なお、アントシアニン組成の詳細な分析に関して条件設定を行い、HPLC による解析を進めたが、コロナ禍の影響で研究環境が大きく変わり本研究期間内に終わることができなかった。シアニジン 3-グルコシドおよびペオニジン 3-グルコシドがアントシアニン含量の 90%以上を占める

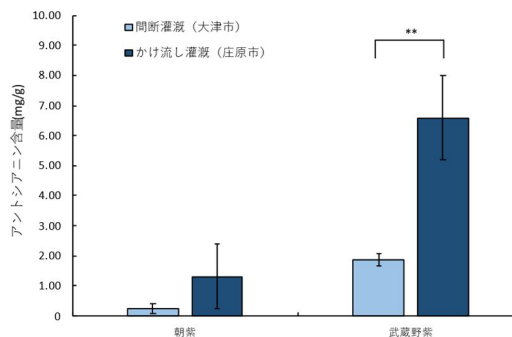


図 2. 栽培方法の違い(間断灌漑およびかけ流し灌水)におけるアントシアニン含量の比較

品種が多い中で、これらの比率の年次間変動や、また組成の大きく異なる品種など、現段階で新たな知見は認められていない。

(2) 人工気象室におけるポット栽培試験

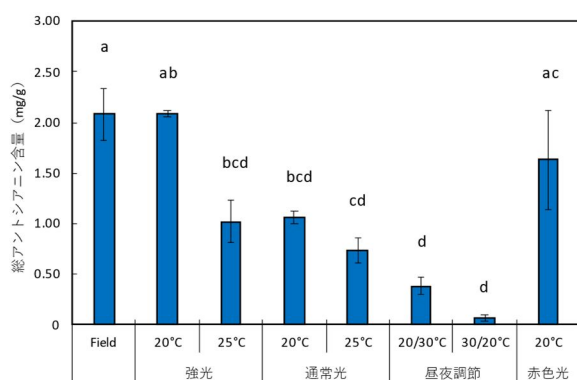


図3. 人工光下におけるアントシアニン含量の比較

“朝紫”を 1/5000 a ワグナーポットを用いて人工気象室内で栽培し、玄米のアントシアニン含量を定量したところ、アントシアニン含量は栽培条件により 0.07~2.09 mg/g と 20 倍以上の差が認められた(図3)。特に、同じ光条件下においても室内温度 20 と 25 を比較すると、その含有量は 25 で大きく低下した。さらに、照射時の温度を 30 にした場合(昼夜調節区)では玄米の発色は極めて弱く茶色を呈し、アントシアニン含量も極めて低値であった。これらのことから、栽培温度(室温)は、高温になるほどアントシアニンの発現に大きく影響していることが示唆された。この結果は水田で栽培した場合と矛盾するが、水温や土中温度

が一定に保たれる人工気象室栽培とは異なり、水田での栽培が(1)で述べた水温や地中温度など他の要因が気温よりもより強く影響することを示唆する。なお、光量・光質の点においては、強光区(20)および赤色 LED 区におけるアントシアニン含量は野外での栽培と同程度であり、また通常光でも 20 の場合には比較的高かった。これらのことから、人工気象室栽培に限って評価すると、アントシアニンの生成には光量よりもむしろ光質や気温が影響していると考えられた。

(3) まとめ

本試験の結果、猛暑の影響を強く受け地中温度が上がりやすい間断灌漑条件においても、“紫黒苑”などの品種は安定して高いアントシアニン含量が得られることを見出した。また、“朝紫”のような冷涼な地域で栽培されるような品種でも、かけ流し灌水処理などで地温や水温を下げることによって、アントシアニン含量の低下を抑えられる可能性が考えられる。コロナ禍の影響を受け、アントシアニン組成による詳細な品種選別を行うには至らなかったが、本研究成果が、紫黒米の安定生産のための品種選択や栽培指針の設定を行う上での一助となることが期待される。

(4) 引用文献

- 1) AOAC Official Method 2005, 02 pH Differential Method First Action 2005.
- 2) Oki et al., BUNSEKI KAGAKU, 60, 819-824, 2011.
- 3) 猪谷富雄ほか, 食と農の総合研究 研究プロジェクト研究成果報告書 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 猪谷富雄、妹尾拓司、山本涼平
2. 発表標題 わが国の紫黒米品種のアントシアニン含量の変異と有色米の活用事例
3. 学会等名 日本育種学会2021年秋季大会（第140回講演会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------