

# Effect of sucrose on growth and isoflavone production in mung bean seedlings

## スクロースが緑豆 (*Vigna radiata* L.) モヤシの形態と イソフラボン量に与える影響の評価

MAI MORIMOTO

森本麻衣

Wakayama Prefectural Kouyou Senior High School, 127 Ota, Wakayama, Wakayama 640-8323, Japan

和歌山県立向陽高等学校 (〒640-8323 和歌山県和歌山市太田127番地)

### Abstract

Isoflavones contained in many Fabaceae plants are known to have certain health benefit, and as such, to identify the best growth condition to maximize the concentration of isoflavones in Fabaceae crops may contribute to development of value-added agriculture. This experiment evaluated how sucrose concentration in growth medium would influence isoflavone concentration in mung bean sprouts. Mungbean seeds were planted in agar medium containing 1.0% - 7.0% sucrose. After four days, fresh weight and stem length of mung bean sprouts were determined, and the isoflavone concentration was measured with a high performance liquid chromatography. The results indicate that fresh weight, stem length and moisture content decreased with increasing sucrose concentration, while isoflavone concentration did not vary significantly.

**Key words:** Mung bean, Sucrose, Isoflavone

### 要旨

近年、機能性物質を多く含む高付加価値な農産物が注目されており、効率的な栽培技術の開発が求められている。マメ科植物に多く含まれるイソフラボンは病気の予防効果があり、様々な分野での応用が期待されている。しかし、イソフラボン生成の最適条件は未だに明らかにされていない。そこで本研究では、緑豆モヤシを実験試料とし、栽培時に添加したスクロースがモヤシの形態や、イソフラボン生成に与える影響を調べた。

発芽した緑豆種子を1, 3, 5, 7%のスクロースを含む寒天培地で栽培した。4日後、栽培した緑豆モヤシの生体重や各部位の長さなど形状を計測した。また、高速液体クロマトグラフィーを用いて緑豆モヤシに含まれるイソフラボンの定量評価を行った。

スクロース濃度が高くなるほど生体重や含水率が減少し、茎の長さが短くなることが示された。その一方、イソフラボン量は全ての条件で変化が見られなかった。

**重要語句:** 緑豆モヤシ、スクロース、イソフラボン

### 背景

農産物の形状や含まれる成分は、農産物が育った環境に応じて大きく変化することが予想される。そこで本研究では、生育が簡単で短時間で栽培可能な緑豆モヤシを対象物とし、異なる条件下で栽培した場合に、その形状や成分の一種であるイソフラボン量に違いが現れるかどうかを調べることにした。

### 方法

#### (1) 栽培方法

通常、植物培養では、成長に必要な基本成分として培地へのスクロースが添加される。そこで本実験では、栽培環境の違いとして培地に添加するスクロース濃度を調整することとした。使用する緑豆種子は60mg～90mgのものとし、選別した緑豆種子の洗浄を行った。70%エタノールに5分間浸した後、95%エタノールに1分間浸し、蒸留水に1分間浸す作業を2回繰り返した。この処理を施した緑豆種子を0.8% (g/g) の寒天培地で2日間栽培し発芽させた。その後、発芽した緑豆種子をスクロース濃度に変化をつけた寒天培地に移し、4日間栽培した。スクロース濃度は、1.0%、3.0%、5.0%、7.0%とし、水酸化カリウムを用いてpHを6.0に調節した。

#### (2) 形態の計測方法

形態の計測には電子天秤と画像解析ソフトウェア WinROOF (v6.1.1, 三谷商事) を使用した。

栽培した緑豆モヤシの根が切れないように注意して培地から取り出し、側根数を数えた。また、緑豆モヤシを地上部と根の2つに分け、それぞれの生体重を計測した。その後、シュートと根の形態をスキャナーを用いて画像として取得し、WinROOFを用いて長さを計測した。さらに、地上部と根を70℃の乾燥機 (DO-300FPA, AS ONE) に72時間入れ水分を蒸発させた後、電子天秤 (AUW220D, 島津製作所) を使って乾物重量を測定した。

内容に関する連絡先:

近藤直 (京都大学農学研究科地域環境科学専攻生物生産工学講座)  
kondonao@kais.kyoto-u.ac.jp

Correspondence Researcher:

Kondo, N. (kondonao@kais.kyoto-u.ac.jp)  
Graduate School of Agriculture, Kyoto University

(3) イソフラボンの抽出方法

凍結乾燥機 (FDU-1200, 東京理化) を用いて凍結乾燥させておいた緑豆モヤシを乳鉢で粉末状にすりつぶした。これに1Mの塩酸を含む80%エタノール溶液1mLを加え、80℃で2時間加熱して抽出した。その後、2分間振とうし、遠心分離機 (CN-2060, AS ONE) を用いて5000rpmで10分間遠心分離を行った。上清液を回収し、残った固定物に80%エタノールを0.5mLを加え、5000rpmで10分間遠心分離した。2回の抽出で得た上清液を真空デシゲータ中で揮発させた。

(4) 高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC と記す) の条件

本実験では、C<sub>18</sub> 逆相カラム (150mm×4.6mm:島津製作所) を備えた HPLC (島津製作所) を用いてイソフラボン量を計測した。移動相には1%酢酸水溶液 (溶液 A) とアセトニトリル (溶液 B) を用いて、時間とともに移動相の組成を変化させるグラジエント法を行った。測定開始から25分の間に溶液 B の割合を10%から20%に、その後25分から70分の間に20%から80%へ変化させた。検出波長は260nm、流速は0.8mL/minとした。次に、抽出したイソフラボンの定量を行った。抽出した固形物を移動相に溶解させ、ポアサイズ0.45μmのメンブレンフィルター (マイレクス HV, メルクミリポア) で濾過した後、計測を行った。この時、移動相は溶液 A:溶液 B=20:80とした。

(5) データ解析、サンプル数

それぞれのスクロース濃度の培地において、2回以上緑豆種子を栽培した。また、サンプル数は全て4本以上とした。

結果

Fig. 1 に示すように、培地中のスクロース濃度が高くなるほど生体重量は減少した。しかし、逆に乾物重量はスクロース濃度の増加に応じて増加した (Fig. 2)。また、地上部の長さはスクロース濃度が高くなるほど短くなり (Fig. 3)、含水率も低下した (Fig. 4)。また、イソフラボン量はスクロース濃度を変化させても変化は見られなかった (Fig. 5)。

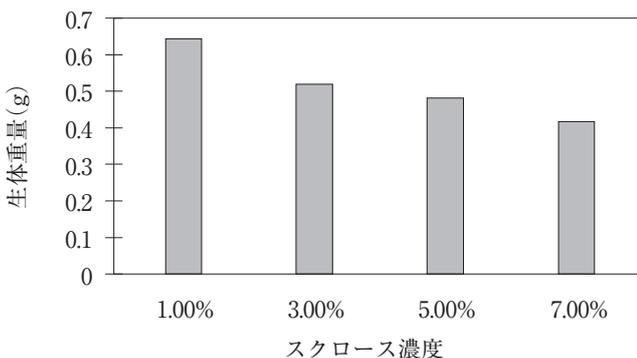


Fig.1 培地のスクロース濃度と個体の乾燥重量の関係。

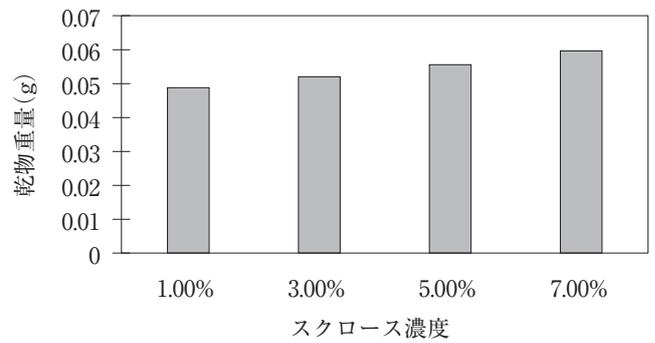


Fig.2 培地のスクロース濃度と乾物重量の関係。

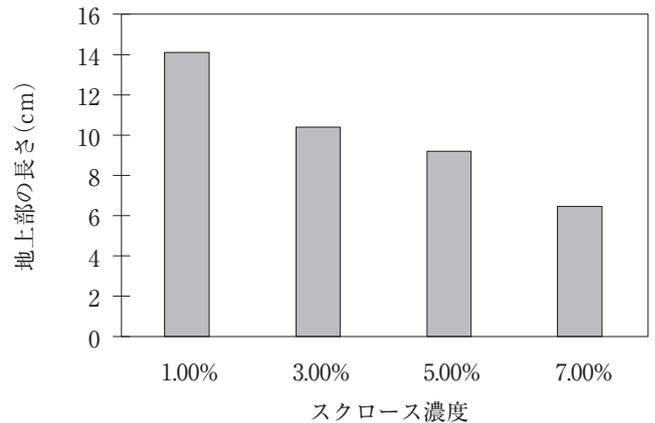


Fig.3 培地のスクロース濃度と地上部の茎の長さの関係。

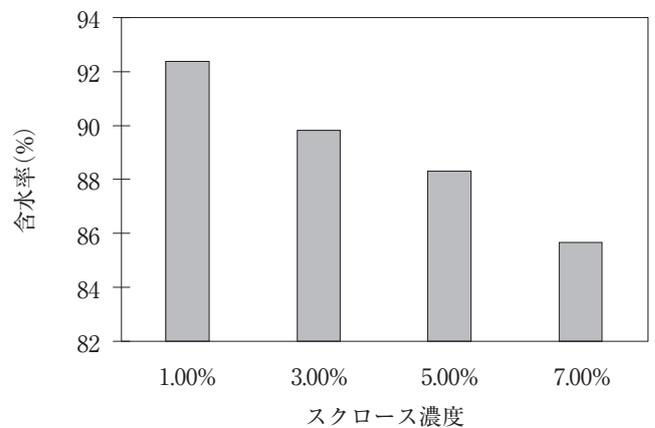


Fig.4 培地のスクロース濃度と含水率の関係。

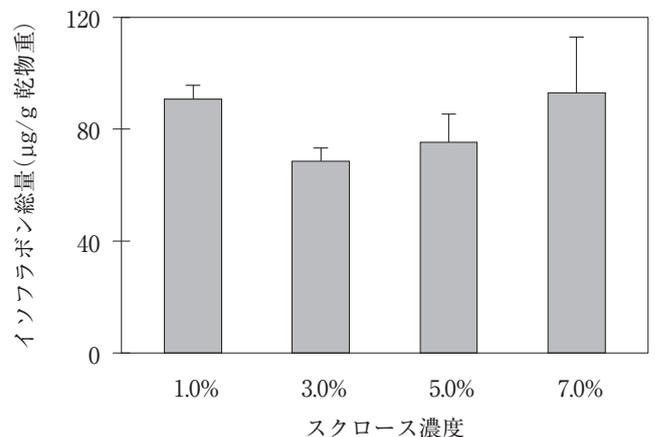


Fig.5 培地のスクロース濃度とイソフラボン総量の関係。

## 考察

スクロース濃度が高くなるほど生体重量が減少したのは、緑豆モヤシの含水率が下がったからであると考えられる。この緑豆モヤシの含水率が下がったのは浸透圧によるものであると推定される。それは、緑豆モヤシが水を吸収しようとする際、外部の浸透圧が根の浸透圧より高いため、水分の吸収を抑える働きが作用したからであろう。

また、培地のスクロース濃度の増加に伴い緑豆モヤシ乾物重量が増加する傾向も見られた。これは、根を良く洗ってから乾燥させなかったための、コンタミの可能性が高い。

さらに、イソフラボン量に変化しなかったのはイソフラボンがスクロースを用いて合成される物質ではなかったことが考えられる。また、オランダビユの細胞培養を使った先行研究ではスクロース濃度に応じてイソフラボン量に変化した結果も報告されているが<sup>3</sup>、本研究では異なる結果となった。これは、使用された植物種や実験条件が異なるためと考えられる。

## 謝辞

この研究を進めるにあたり、様々なご指導をいただきました京都大学大学院農学研究科生物センシング工学研究室の皆様へ深く感謝いたします。

## 参考文献

1. 農林水産省. 人口減少社会における農村の活性化. 平成 26 年度食料・農業・農村白書. pp. 1-16. 農林水産省 (2015).
2. 総務省統計局. 平成 25 年生鮮食料品価格・販売動向調査報告. <<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001119895>> [accessed 02. Dec. 2015] (2014).
3. Shinde, A. N., N. Malpathak & D. P. Fulzele. Studied enhancement strategies for phytoestrogens production in shake flasks by suspension culture of *Psoralea corylifolia*, *Bioresource Technology* 100: 1833-1839. (2009).