

## ホウレンソウに含まれるアスコルビン酸のホモジナイザーを用いた抽出法と試料の保存法

谷川元一, 福森茂樹

Methods of Extraction by Homozinaiizers and Storage of Ascorbic Acid in Spinach

Motokazu TANIGAWA, Shigeki HUKUMORI

一般的に、作物体からの成分抽出にはホモジナイザーが使用されており、操作の簡易化に貢献している。これに対し、作物体に含まれるアスコルビン酸の抽出にホモジナイザーを使用すると、処理中に空気を取り込んでアスコルビン酸の空気酸化を促進するので、用いてはならないとされている<sup>1)</sup>。このため、一般的には乳鉢による抽出が行われているが、この操作は非常に労力と時間を要するため、短時間に多数の試料を処理することができない。

また、試料の採取後、直ちに分析できない場合があり、その保存法についても検討が望まれている。

今回、これらの点を改善するため、ホウレンソウに含まれるアスコルビン酸のホモジナイザーによる抽出法と、試料の保存法について調査したので報告する。

### 材料および方法

奈良県農業試験場内の圃場で生産されたホウレンソウ (品種 'アクティブ', 収穫日: 1996年10月26日) を包丁で2 mm程度に刻んでよく混ぜ合わせ、この40 gを試料とした。

抽出は乳鉢 (内径10.5cm) とカッター式 (日本精機製DX-8, 刃の径37mm) およびジェネレーターシャフト式 (三田村工業製X-1020, シャフトの外径19mm) のホモジナイザーを用いた方法で行った。

乳鉢による抽出は、試料に5%メタリン酸溶液40mlを加えて5分間磨砕した。同溶液40mlで乳鉢を洗った後、全量を合わせた。

ホモジナイザーによる抽出は、試料を200 ml容量のトールビーカー (TOP製) に取り、5%メタリン酸溶液80mlを加えて1分間行った。ホモジナイザーの回転速度はカッター式が目盛り8, ジェネレー

ターシャフト式が80Vであった。

また、乳鉢および両ホモジナイザーによって得られた抽出液について、さらに攪拌機 (増田理科工業製HC-40) に取り付けた50ml容ガラス製ホモジナイザーを用いて、目盛り8の速度で1分間磨砕した。

次に、上記の方法で得た抽出液6 gを50ml容メスフラスコに取り、2%メタリン酸溶液で定容した。同溶液をNO2の濾紙で濾過した後、ディスク型メンブランフィルター (孔径: 0.45 μm) で濾過した。同濾液について高速液体クロマトグラフィー (以下、HPLCと記す) を用いて総および還元型アスコルビン酸含量について測定した。HPLCの条件は下記に示した。

保存方法は有姿と抽出液について調査した。有姿については、ホウレンソウをポリ袋 (厚さ: 0.04mm) に入れ、冷蔵 (10℃) および凍結 (-30℃) で保存した。抽出液については、ジェネレーターシャフト式ホモジナイザーで処理したものを6g取り、100 ml容試薬瓶 (TPX®広口) に入れて-30℃で凍結保存した。そして、有姿保存は7日後、抽出液保存は14日後に、前述の方法で総および還元型アスコルビン酸含量の測定をした。

### [HPLCの条件]

HPLC: 島津製作所製 LC-10分光光度計付き, 溶離液: 1%メタリン酸溶液, 流速: 毎分0.8 ml, カラム: ODS (ジーエルサイエンス製, 粒径6 μm, 内径4.6mm×長さ250mm), カラム温度: 40℃, 吸収波長: 242 μm, 溶出時間: 約4.4分。

### 結果と考察

総アスコルビン酸含量は、乳鉢の28.2mg/100gに対し、カッター式で32.5mg/100g, ジェネレーター

1) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編, 食品分析法. 光琳, 1984.

2) 平野稔彦・山下純隆・松本明芳, 1984. ホウレンソウの流通技術の確立に関する研究 第1報 貯蔵温度が鮮度維持に及ぼす影響. 福岡農試研報B-3: 61-64

第1表 抽出方法とアスコルビン酸 (ABA) 含量

Table 1. The amounts of ascorbic acid with different extraction methods.

処理方法	含量 (mg/100g)	
	総ABA	還元型ABA
1.抽出操作		
1) 乳鉢	28.2	23.6 ( 84) <sup>a)</sup>
2) カッター式	32.5	27.6 ( 84)
3) ジェネレーターシャフト式	29.9	23.8 ( 80)
2.抽出操作+磨砕操作 <sup>b)</sup>		
1) 乳鉢	26.2	22.1 ( 84)
2) カッター式	33.5	26.5 ( 79)
3) ジェネレーターシャフト式	30.9	23.6 ( 77)

調査は2反復で行い、変動係数は3%以下であった。

a) ( )内は総ABAに対する還元型ABAの割合を示した。単位は%。

b) ガラス製ホモジナイザーによる磨砕操作をさらに加えた。

シャフト式で29.9mg/100gで、両ホモジナイザーによる抽出が乳鉢よりもやや多く得られた(第1表)。また、還元型アスコルビン酸含量も、乳鉢の23.6mg/100gに対し、カッター式で27.6mg/100g、ジェネレーターシャフト式23.8mg/100gで、総アスコルビン酸と同じ傾向であった。F検定の結果では、両アスコルビン酸とも、カッター式と、乳鉢およびジェネレーターシャフト式の間には5%の有意で差が認められた。後述するガラス製ホモジナイザーによる磨砕処理によっても新たに両アスコルビン酸が抽出されないことから、抽出処理の前あるいは操作中に、両アスコルビン酸が分解した可能性がある。これについては今後の検討が必要である。

総アスコルビン酸に対する還元型アスコルビン酸の割合は、乳鉢で84%、カッター式で84%、ジェネレーターシャフト式で80%であった。この結果は、カッター式の抽出操作中に酸化される還元型アスコルビン酸の量は乳鉢の場合と同等であり、ジェネレーターシャフト式の場合は乳鉢よりやや多いことを示している。

乳鉢および両ホモジナイザーによる抽出液中には固形の残さが認められたので、さらにガラス製ホモジナイザーで磨砕した。しかし、抽出される総および還元型アスコルビン酸含量はあまり変化しなかった。これらの結果から、抽出操作は乳鉢およびホモジナイザーだけで十分であった。

ハウレンソウの保存試験結果を第2表に示した。有姿保存の10℃冷蔵では、総および還元型アスコ

第2表 保存方法とアスコルビン酸含量

Table 2. The amounts of ascorbic acid with different storage methods.

処理方法	含量 (mg/100g)	
	総ABA	還元型ABA
1.保存前	29.9	23.8 (80) <sup>a)</sup>
2.有姿保存		
1) 10℃冷蔵 7日間	22.3	12.0 (54)
2) -30℃凍結 7日間	14.3	9.9 (69)
2.抽出液		
-30℃凍結 14日間	30.0	23.6 (79)

a) 第1表のa)と同じ。

ルビン酸含量はそれぞれ22.3, 12.0mg/100gで、保存前よりも大幅に減少した。また、有姿保存の-30℃凍結ではさらに著しく減少し、それぞれ14.3, 9.9mg/100gになった。これに対し、-30℃の抽出液凍結保存では、両アスコルビン酸含量はほとんど低下しなかった。

ハウレンソウを有姿で冷蔵保存した場合、アスコルビン酸は保存1日後で急激に減少して収穫当日の3分の1になり、それ以降は徐々に低下していくことが報告されている<sup>2)</sup>。ところが今回の調査では、そのような急激に減少する結果は得られなかった。この原因は明らかでないが、今回の調査とは栽培や測定条件が異なるため、今後さらに検討する必要がある。

以上の結果から、ハウレンソウに含まれるアスコルビン酸の抽出には、カッター式ホモジナイザーを用いても乳鉢と同様の結果が得られることがわかった。ジェネレーターシャフト式ホモジナイザーの場合には、酸化型アスコルビン酸がやや増加するものの、用いることができると判断された。

また、試料の採取後直ちに分析できない場合は、5%メタリン酸を加えて均一化し凍結する方法が有効であることがわかった。同様に分析を中断する場合にも、同操作が終了した時点で凍結すれば可能であると考えられた。

今回、ハウレンソウに含まれるアスコルビン酸について抽出法および保存法を調査した。今後は、他の作物についても検討を進める必要がある。