

ホウレンソウに含まれるアスコルビン酸の定量方法の確立

愛媛県松山南高校 理数科3年ビタミンC班

河瀬 茉結 黒田 耕生 澤原 仁愛 富田 晃宏 指導教諭 目見田 拓

1 研究の目的

伊藤ら(2019)によって、異なる光条件下で培養したシアノバクテリアに含まれるAsAの定量結果から、AsA生合成に光が関与していることが示唆された。そこで、先行研究の結果を野菜に応用し、栄養価を高めた野菜の栽培を行おうと考えた。AsAの定量には伊藤ら(2019)と同様にヨウ素滴定を用いようとしたところ以下の問題点が見つかった。

<問題点>

①抽出液に細胞片が漂っている(図1)

→吸光度を上手く測定できない

②溶液に色がついている(図2)

→滴定の終点判断が困難



図1. ホウレンソウ抽出液

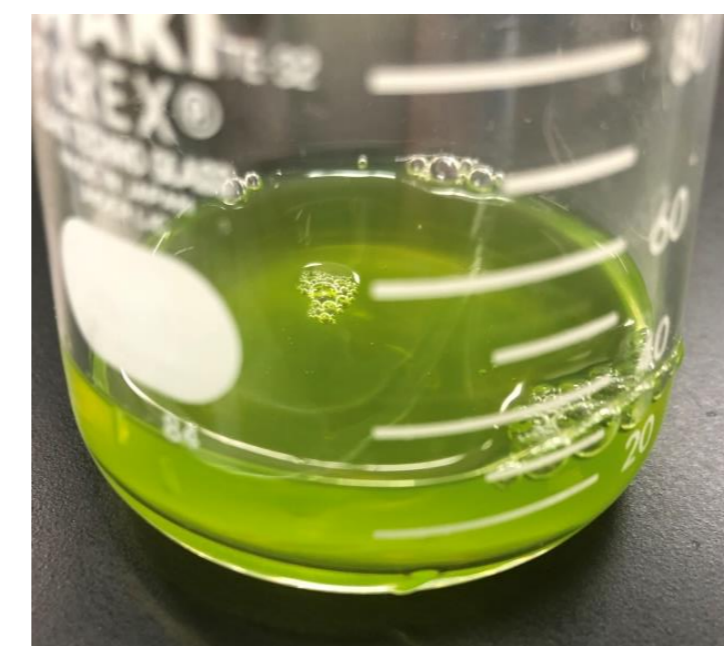


図2. 遠心分離後のホウレンソウ抽出液

ホウレンソウの抽出液に含まれるAsAの定量方法の確立を目指す!

2 実験方法の検討

2-1 研究対象の検討

<研究に最適な野菜の条件>

- ・AsAの含有量が多い
⇒ 成分の抽出、定量が容易
- ・栽培が容易である
⇒ 安定した供給が可能

2-2 定量方法の検討

<AsAの抽出及び定量>

10%NaCl水溶液を加えて、ホウレンソウを破碎した後(図4)、ろ過して(図5、図6)AsAを抽出する。その後、抽出したAsA溶液にビュレットで500 μ Lずつヨウ素溶液を滴下し、分光光度計を用いて反応前後の極大吸収波長を測定することでホウレンソウから抽出されたAsAを定量する。

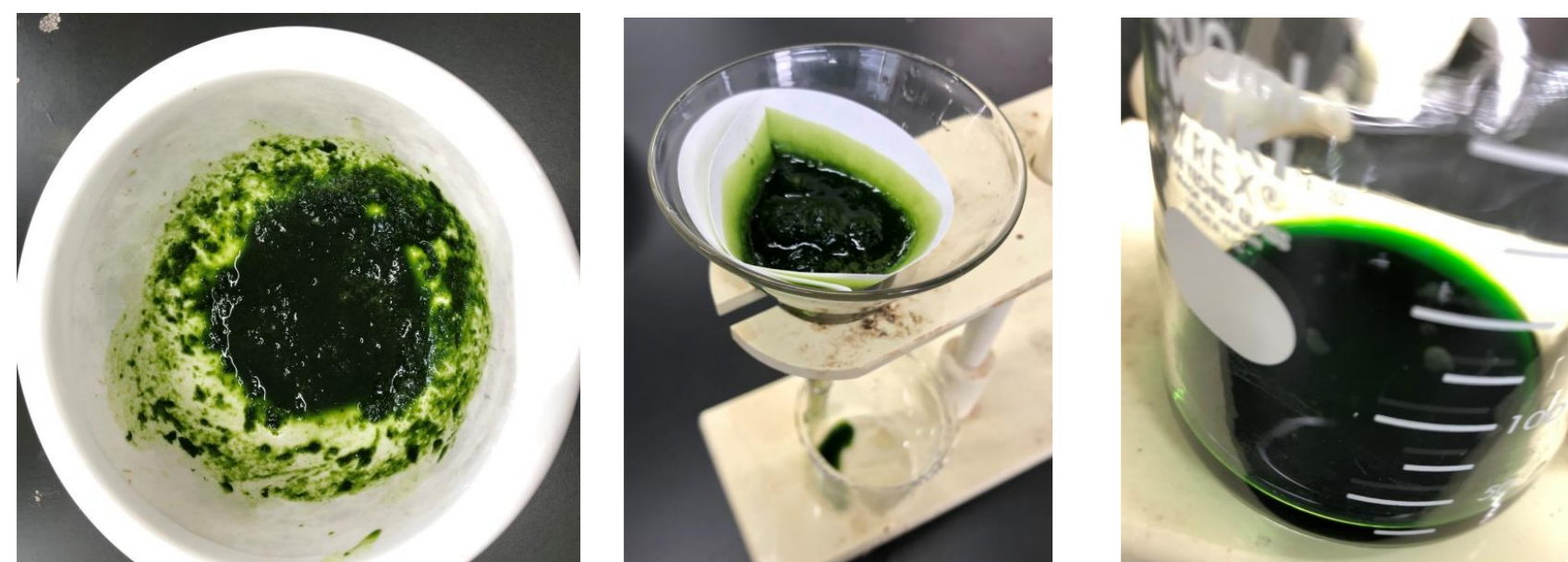


図4(左). 破碎後のホウレンソウ
図5(中央). ろ過の様子
図6(右). ろ過後のホウレンソウ抽出液

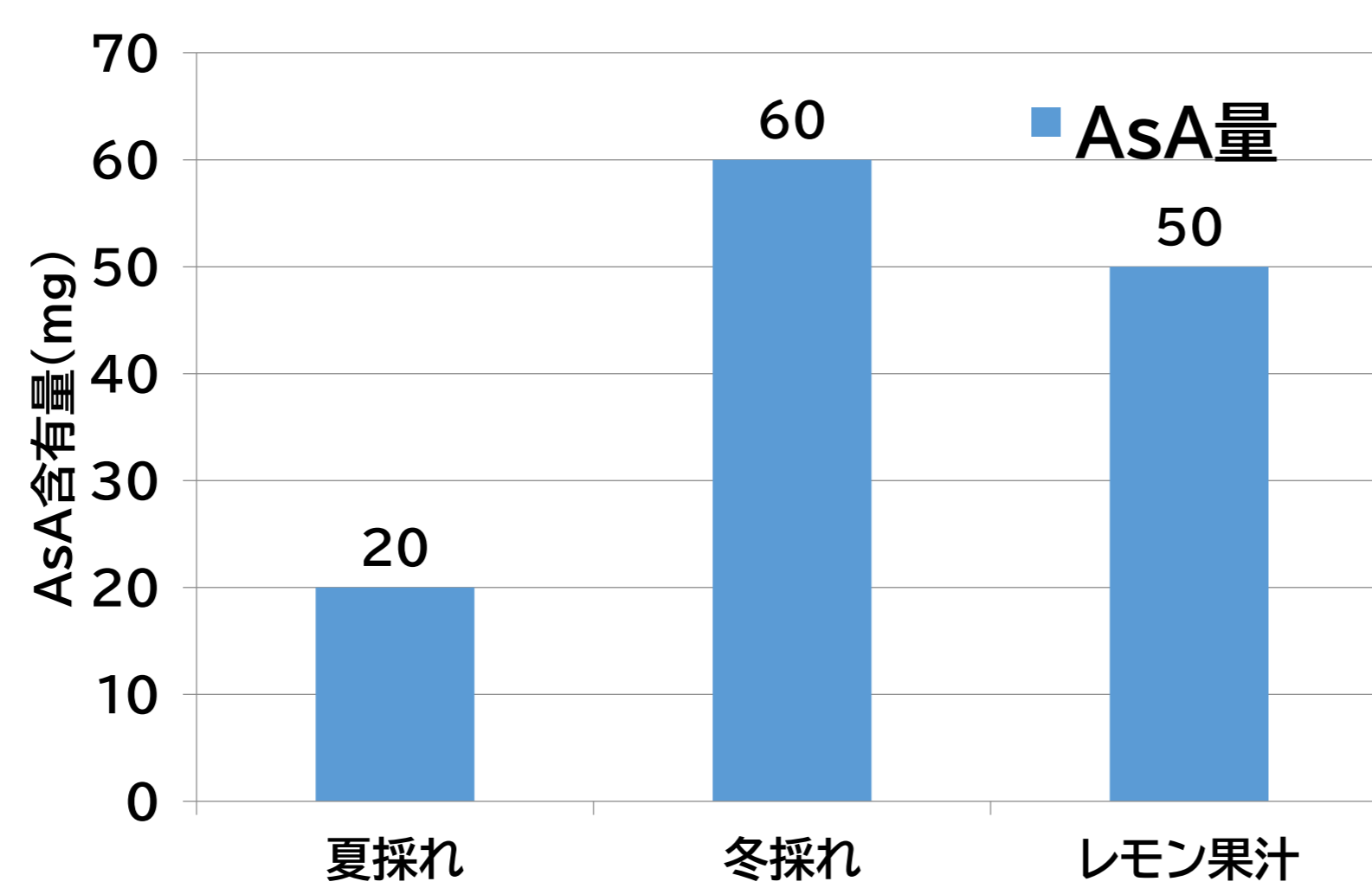


図3. ホウレンソウ100gとレモン100g中の果汁に含まれるAsAの比較

<問題点>

①細胞片の浮遊

抽出液に細胞片が漂っており、吸光度を上手く測定することができない

⇒ **抽出液を遠心分離し、細胞片を取り除く**

②滴定の終点判断

すでに溶液に色が付いているため、目視によるヨウ素デンプン反応の終点判断が難しい。

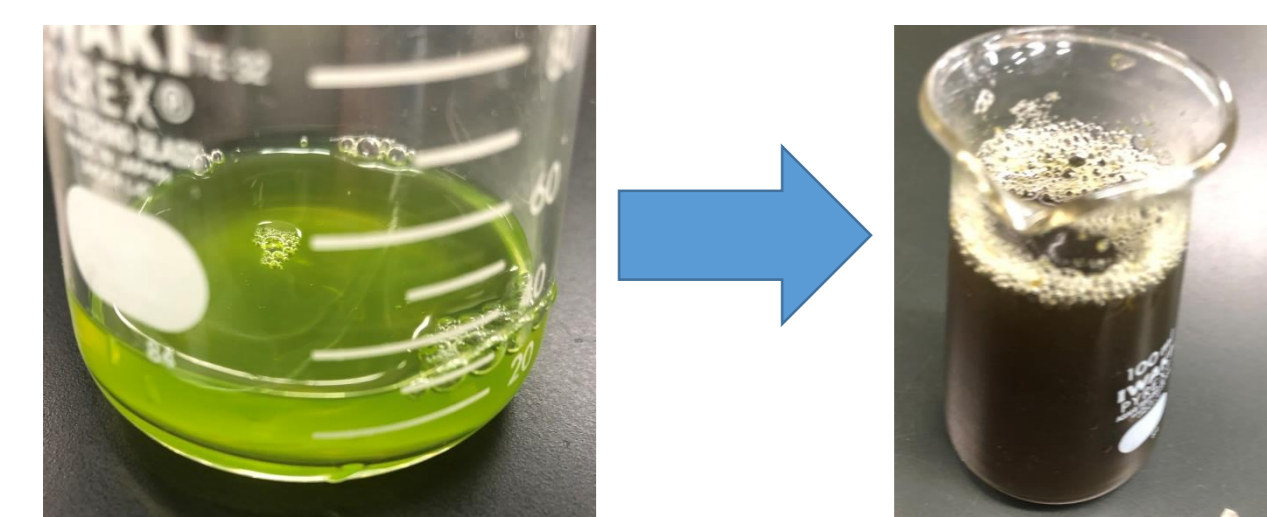


図7. ヨウ素溶液滴下前のAsA溶液



図8. ヨウ素溶液過剰滴下後のAsA溶液

⇒ **反応後の色の変化に注目**

反応前後の極大吸収波長を測定し、終点の色を定量化!

③滴定方法の確立

ビュレットでは滴定に時間がかかり、ヨウ素が光で分解され、正しい滴定を行うことができなかった。

⇒ **マイクロピペットによって滴定にかかる時間を短縮**

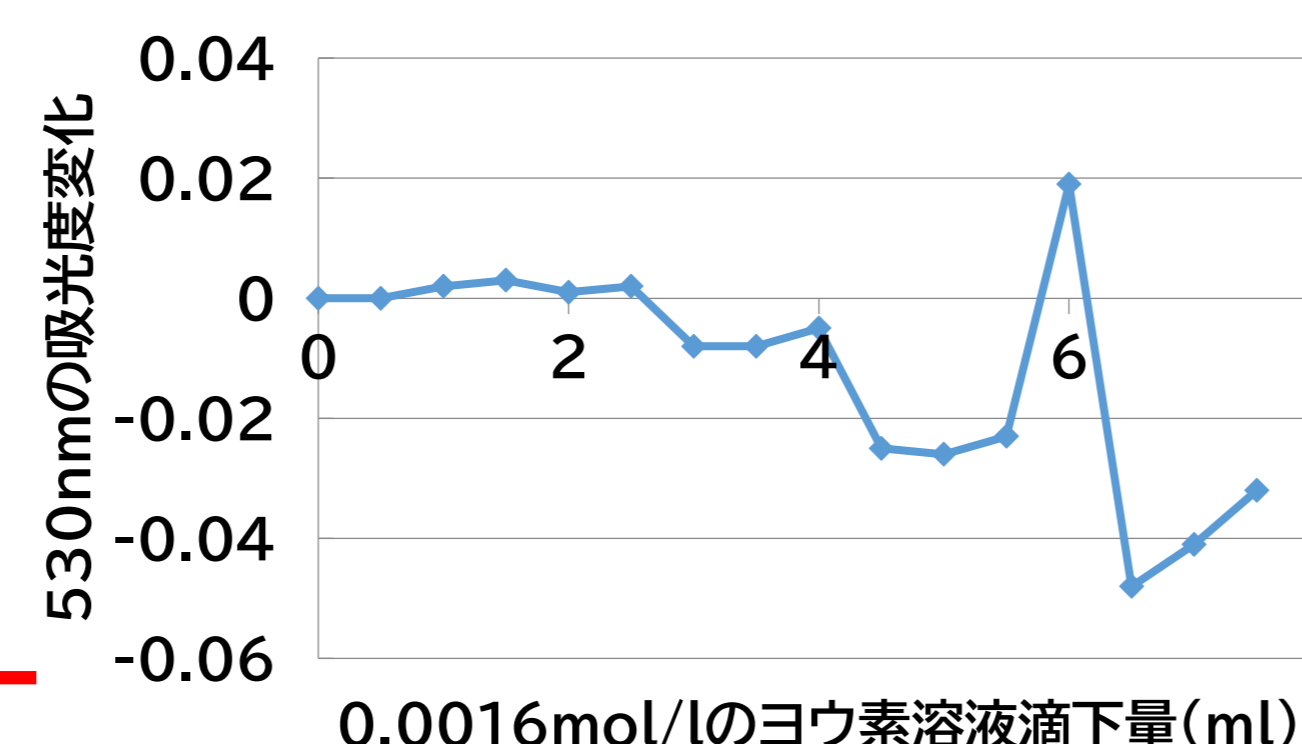


図9. ビュレットを用いた滴定の結果

3 結果

3-1 細胞片の除去



細胞片除去

図10(左から1). 遠心分離前のホウレンソウ抽出液

図11(左から2). 遠心分離の様子

図12(左から3). 遠心分離後のホウレンソウ抽出液

図13(左から4). 遠心分離後のホウレンソウ抽出液の上澄み

遠心分離により、**細胞片を取り除くことができた**

3-2 ヨウ素滴定時の終点判断基準の確立

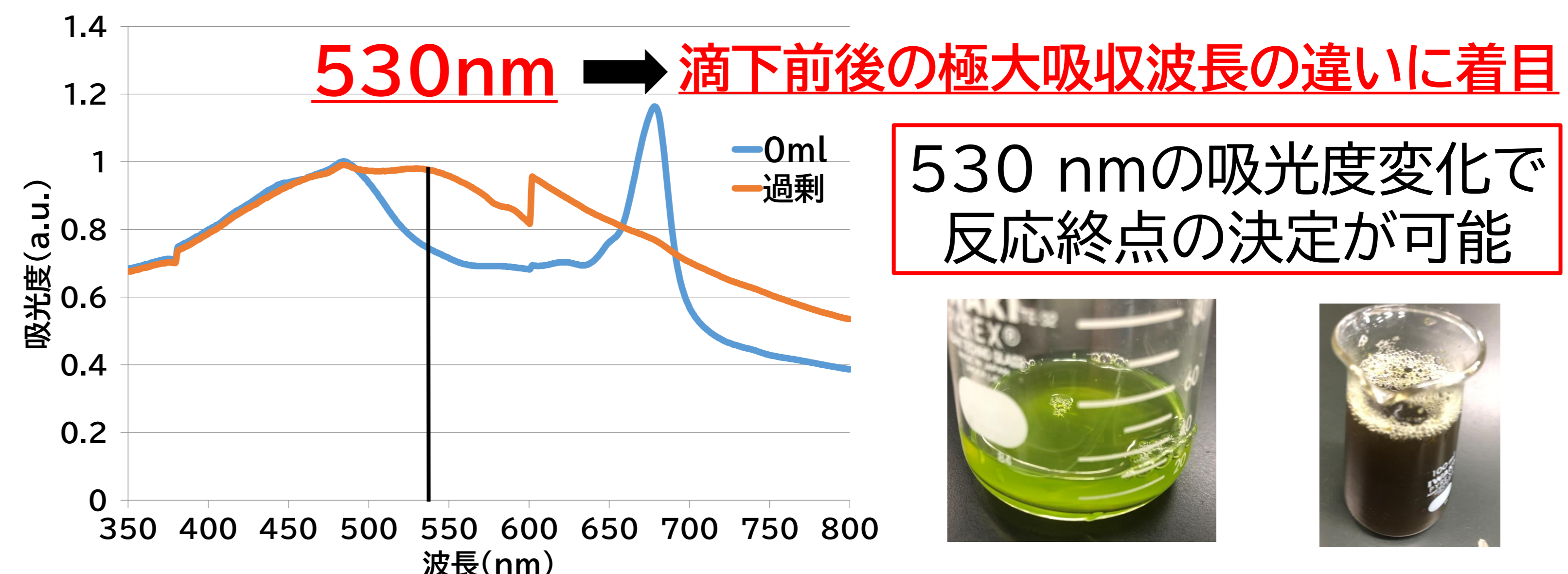


図14. ヨウ素溶液滴下前後の吸光度変化



図15. ヨウ素溶液滴下前



図16. ヨウ素溶液過剰滴下後

3-3 ヨウ素溶液滴下方法

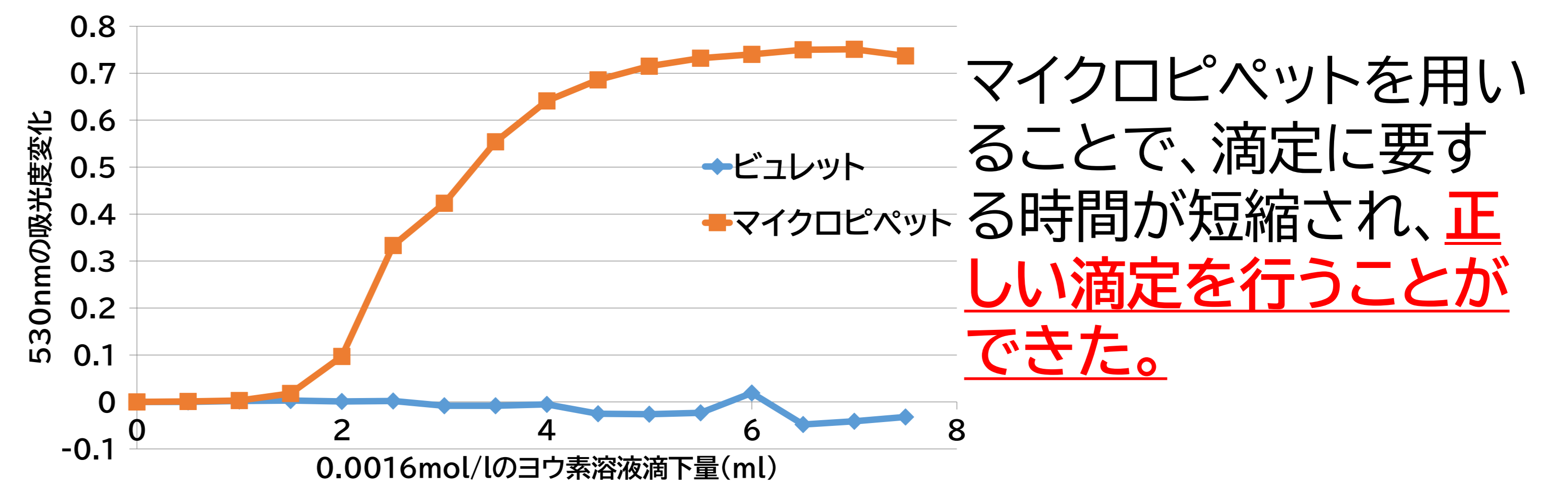


図17. ビュレット、マイクロピペットを用いたヨウ素滴定におけるヨウ素溶液滴下量と530nmの吸光度変化の比較

3-4 予備実験

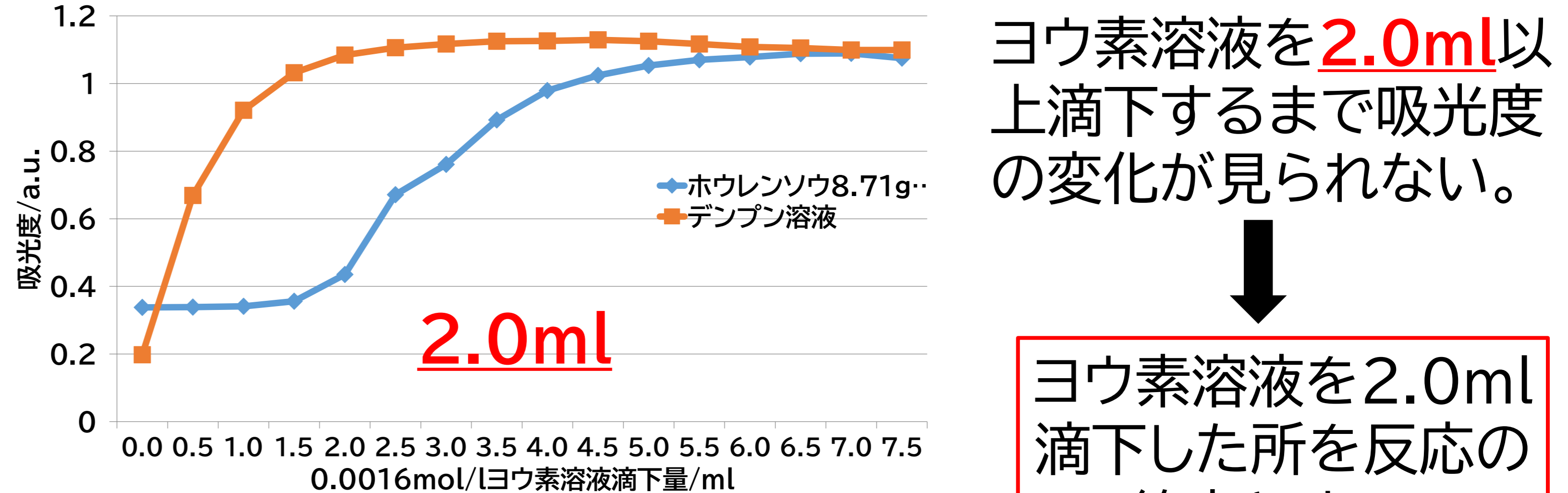


図18. ヨウ素溶液の滴下量と530nmの吸光度の変化

4 考察

- ・ヨウ素溶液滴下後のほうれん草抽出液では530nmに極大吸収波長が認められたため、この波長をヨウ素デンプン反応による青色の波長と定め、終点の判断基準とする。
- ・図18で、ホウレンソウ抽出液の吸光度変化が緩やかになったのは、**抗酸化物質が含まれている**ためであると考えられる。
⇒ **AsAは抽出できている**

5 今後の展望と課題

- ・今研究で確立したAsAの定量法を用いて、野菜の持つAsA量を増加させるための光条件の検討を進めていきたい。ホウレンソウなどの高等植物においても先行研究¹⁾と同様に、光の強度とその照射時間を変化させることでAsA含有量が変わると考えている。

6 謝辞

本研究に御助言をいただきました愛媛大学プロテオサイエンスセンターの杉浦美羽先生、愛媛大学大学院の島本直拓さんと山形果穂さんに厚く御礼申し上げます。

7 参考文献

1. 愛媛県立松山南高等学校SSビタミンC班(2019)「異なる光条件下におけるシアノバクテリアに含まれるアスコルビン酸量に関する研究」
2. 文部科学省「日本食品標準成分表2015年版(七訂)追補2018年」