

ホウレンソウ葉表面に付着する白色顆粒

堀江秀樹

農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所 514-2392 三重県津市安濃町草生 360

White Powder Attached to the Leaves of Spinach

Hideki Horie

National Institute of Vegetable and Tea Science, National Agriculture and Food Organization, 360 Kusawa, Ano, Tsu, Mie 514-2392

Abstract

Powdery white and ball-like structures are often observed on spinach leaves and are often mistaken for foreign hazardous matters by consumers. We observed and analyzed these powders. The diameter of the powder grains was about 0.1–0.2 mm, and they were attached on projections from the surface of the leaves. The powders were not solved in water, but were destroyed by chloroform/methanol. Depressed areas were observed on the ball-like shapes when dipped in ammonium sulfate solution. The water concentration was determined to be about 90%. It is considered that the white powder is composed of a lipophilic semipermeable membrane that wraps around aqueous solution. The aqueous extract of the powders contained oxalic acid, citric acid and malic acid, and a very slight amount of amino acids and free sugars.

Key Words : ball-like powder, capillary electrophoresis, foreign matters, nitrate reduction, organic acids

キーワード : 異物, キャピラリー電気泳動, 球状顆粒, 硝酸還元, 有機酸

緒言

ホウレンソウの栽培時に、葉の表面に球状の白色顆粒が付着する現象はごく一般的に観察される。近年、消費者の食の安全へのこだわりや、生産現場に対する理解の不足から、このようにごく一般的に観察される白色顆粒についても、砂粒、昆虫の卵、農薬などとの誤解によるクレームがなされる場合がある。特に最近、寒締めや縮みホウレンソウと呼ばれる、寒さにさらして葉身に皺の多いホウレンソウが販売されるようになったが、こういったホウレンソウの場合、皺の部分に付着した白色顆粒は調製作業時に容易には除去できない。残留した顆粒について、消費者が異物としてクレームする可能性がさらに増加する懸念がある。

このような消費サイドからのクレームに対して、これまで白色顆粒はシュウ酸カリウムの結晶ではないかと説明されてきた。ところが、シュウ酸カリウムは水溶性が高いため、灌水や雨水、朝露などで容易に溶解、流失すると考えられ、葉表面に蓄積することは説明しがたい。また一方で、化学物質の結晶あるいは結晶の集合体として球状構造を有するとすれば極めて珍しいと思われ、その生成要因については非常に興味深い。そこで白色顆粒について、消費者の安心感を獲得し、球状構造の要因を探るため解析を試みた。

材料および方法

1. ホウレンソウの栽培条件

白色顆粒の採取に供したホウレンソウは、2005年および2006年の11月から12月に三重県津市の野菜茶業研究所内雨よけハウス内に播種した。栽培した品種は在来種‘日本’、西洋種‘キングオブデンマーク’、交配種‘次郎丸’、‘まほろば’、‘オーライ’、‘パレード’、‘朝霧’およびサラダ用品種‘ディンプル’であった。これらの品種は、農薬散布せずに土耕栽培し、翌年の2月から3月にかけて、顆粒の発生状況を観察した。葉を刷毛でこすることにより顆粒を採取し、本報では、草丈で30 cmを越えた‘オーライ’から採取した顆粒についての結果を主に示した。

2. 顆粒の観察

白色顆粒を40°Cに設定した通風乾燥機に2日間入れ、処理前後の重量から、重量の減少率を求めた。葉の表面および白色顆粒の観察には、7～90倍の倍率可変の実体顕微鏡を用いた。顆粒を水、70%飽和濃度の硫酸アンモニウム水溶液、クロロフォルム/メタノール(1:1, V/V)液に浸せきして形状の変化を実体顕微鏡で観察した。なお、クロロフォルム/メタノールに浸せきした場合には、液中での顆粒の動きが激しく写真撮影が困難であったため、有機溶媒を室温で気化させてから撮影したものを示した。

3. 顆粒成分の分析

顆粒成分の分析には、キャピラリー電気泳動法を用いた。

2007年4月13日 受付. 2007年6月25日 受理.

E-mail: horie@affrc.go.jp

顆粒を乳鉢中で破碎し、顆粒重の19倍量の水を加え希釈して抽出した液を、小型遠心機で遠心して上澄みを分析用試料とした。比較のため白色顆粒を採取したハウレンソウ(品種‘パレード’)の葉身も試料として用いた。葉身試料の調製は前報(堀江ら, 2005)同様に行った。キャピラリー電気泳動の分離条件は、Sogaら(1999)の方法を基に、改変した。すなわち、アジレント社製キャピラリー電気泳動装置3D-CEを用い、キャピラリー管は内径0.05 mm、長さ100 cmとし、電気泳動液は20 mM 2,6-ピリジンジカルボン酸、0.5 mM 臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウムの水溶液をpH 12.0に調製したものをを用いた。試料は5秒間加圧注入し、印加電圧-30 kVで電気泳動し、270 nmの間接吸光度法で検出した。キャピラリー管温度は25°Cに設定した。泳動時間の再現性を高めるため、各分析の間には、0.1 M 塩酸、0.1 M 水酸化ナトリウムをそれぞれ5分流してキャピラリー管を洗浄した後、電気泳動液を5分間流して、

キャピラリー管内を平衡化した。

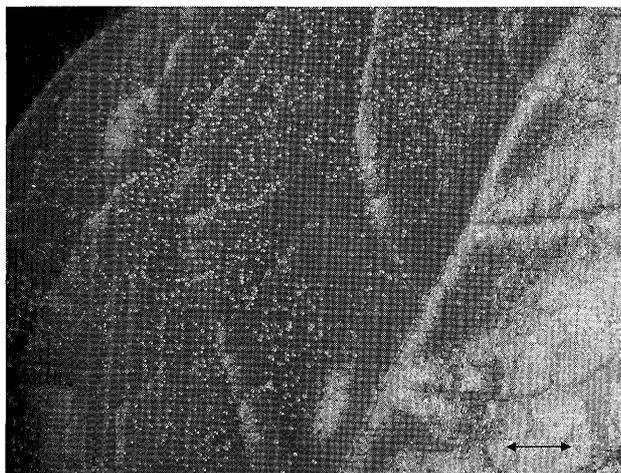
結果および考察

1. 白色顆粒の観察

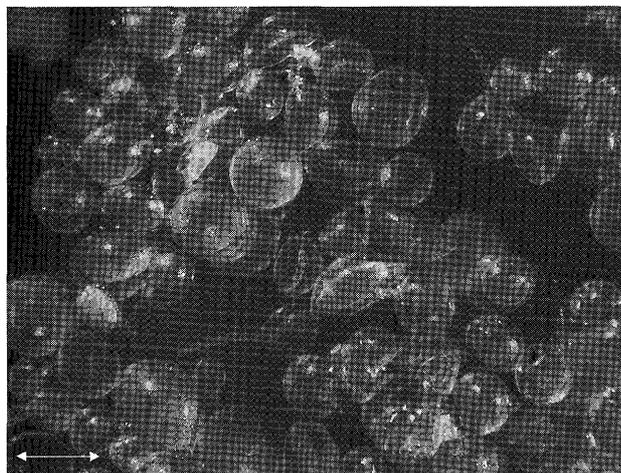
ハウレンソウ葉の表面の拡大写真を第1図に示す。白色の顆粒が多数付着しているのが観察された。雨よけハウスで土耕栽培したすべての品種において、病害虫の発生の有無に関わりなく顆粒は観察され、品種間での発生状況の差違は肉眼観察では認められなかった。また、白色顆粒は葉の表、裏両側に観察され、内葉(特に裏側)においてその密度が高かった。

実体顕微鏡での観察の結果、顆粒は直径0.1~0.2 mm程度の球状をしており、葉の表面からの突起物を介して葉に連結しているものも観察された(第2図)。

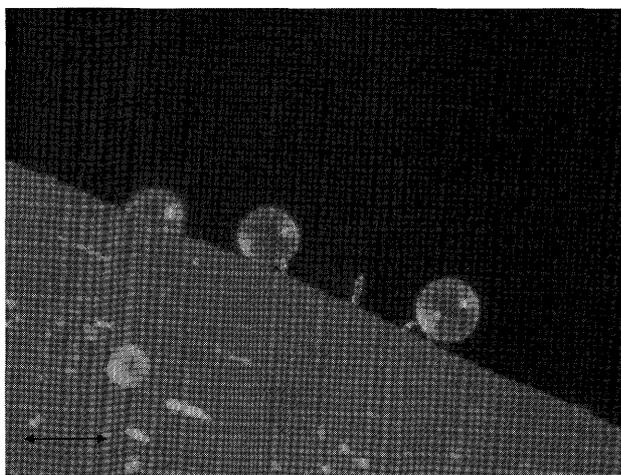
顆粒は水に浸しても溶解せず、球状の構造が維持された。シュウ酸カリウムであれば水溶性が高いため、容易に水に



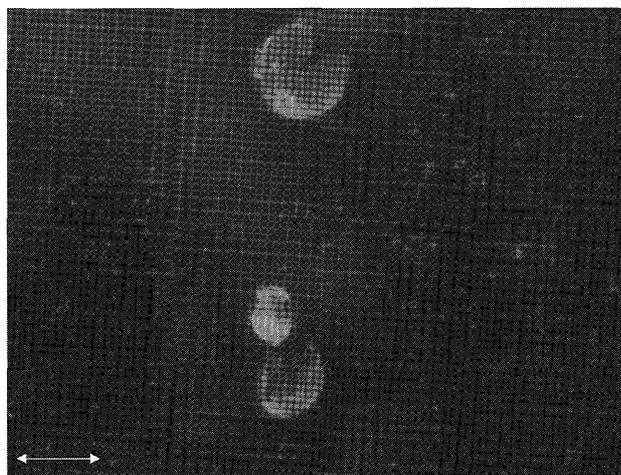
第1図 ハウレンソウ‘オーライ’の葉(表側)の実体顕微鏡写真(矢印2 mm)



第3図 白色顆粒を70%飽和濃度の硫酸アンモニウム溶液に浸せきしたものの実体顕微鏡写真(矢印0.2 mm, ‘オーライ’より採取)



第2図 ハウレンソウ葉表面に付着する白色顆粒の実体顕微鏡写真(矢印0.2 mm, ‘オーライ’)



第4図 白色顆粒をクロロホルム/メタノール(1:1 (V/V))に浸せきしたものの実体顕微鏡写真(矢印0.2 mm, ‘オーライ’より採取)

第1表 白色顆粒及び顆粒を採取した葉身に含まれる主要成分

	硝酸イオン	シュウ酸	クエン酸	リンゴ酸	リン酸イオン	Asp	Glu	Gln	果糖	ブドウ糖	ショ糖
白色顆粒	38	866	382	288	ND	ND	ND	22	ND	ND	ND
葉身	164	450	98	203	273	28	55	61	283	822	1510

単位：生重 100 g 当たりの mg, 品種：パレード

Asp：アスパラギン酸, Glu：グルタミン酸, Gln：グルタミン, ND：10 mg・100 g⁻¹FW 以下

溶解するものと考えられ、本顆粒は従来推測されてきたシュウ酸カリウムの結晶ではないと結論できる。一方で70%飽和濃度の硫酸アンモニウム溶液に浸せきすると、元の球状から変形してくぼみが観察された(第3図)。また、クロロフォルム/メタノール(1:1, V/V)に浸せきすると、袋が破れて穴のあいたようなものが観察され、一方で液が濁った(第4図)。顆粒の表面構造は、脂溶性の高い成分で構成されており、クロロフォルム/メタノールに溶解したものと推定される。

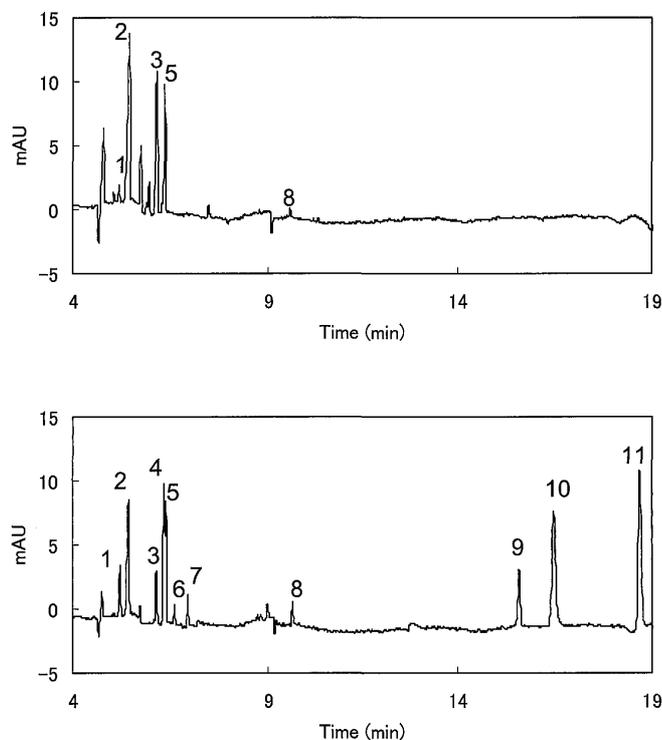
2. 顆粒の化学的性質

‘オーライ’の白色顆粒を40°Cの乾燥条件で2日放置したところ、88.2±0.2% (n=3)の重量減少が観察された。温度を120°Cに設定した場合や乾燥時間を3日に設定した場合でも、同様に90%程度の重量減少が観察された。設定温度を40°Cと比較的低温としても重量が減少していることから、本顆粒は40°Cでも昇華する物質を主成分とするか、あるいは含まれていた水分が蒸発したものと考えられる。ただし、本顆粒は40°C近い気温になる夏季に栽培したハウレンソウにも観察されるので、昇華しやすい物質が蓄積するとは考えがたい。

重量の減少が、90%程度含まれていた水の蒸発によるものと仮定すると、先に示した顕微鏡観察の結果は次のように解釈できる。すなわち、本顆粒は脂溶性の半透膜に水溶液が充たされて球状をしている。そして、脂溶性膜に包まれるため本顆粒は水には溶けないが、膜はクロロフォルム/メタノールによって破壊される(第4図)。また、硫酸アンモニウム溶液中では、浸透圧の関係で水を失って球がくぼんだ(第3図)ものと解釈可能である。

顆粒内には水溶液が含まれるとすれば、溶液中の成分について興味を持たれる。そこで、顆粒を水抽出して含有成分を調べた。乳鉢、乳棒を用いて力を加えれば、顆粒は簡単に破壊でき、液体を抽出した。キャピラリー電気泳動法によって分析したフェログラムを、顆粒を採取した葉身のものと比較した(第5図, 第1表)。本法では、硝酸や有機酸、アミノ酸、遊離糖が一斉に分離できるのが特徴である。その結果、顆粒には、シュウ酸、リンゴ酸、クエン酸が主に含まれ、通常葉身に含まれるアスパラギン酸、グルタミン酸などのアミノ酸あるいは、果糖、ブドウ糖、ショ糖などの遊離糖は含まなかった。さらに、顆粒中には無機アニオンである硝酸イオン、リン酸イオンは葉身と比べて著しく少ない量しか含まなかった。

白色顆粒には糖やアミノ酸が含まれないことから、生命



第5図 白色顆粒(上)およびハウレンソウ(‘パレード’)葉身(下)の水抽出液をキャピラリー電気泳動法で分析したときのフェログラム

希釈倍率はともに20倍

1: 硝酸イオン, 2: シュウ酸, 3: クエン酸, 4: リン酸イオン, 5: リンゴ酸, 6: アスパラギン酸, 7: グルタミン酸, 8: グルタミン, 9: 果糖, 10: ブドウ糖, 11: ショ糖

活動を盛んに行っている組織とは考えがたい。田中(2003)によれば、ハウレンソウは硝酸を還元する過程で生成する水酸イオンの中和をシュウ酸などの有機酸が担うとされる。白色顆粒の生理機能としては、このようにして硝酸還元に伴い蓄積した有機酸を、顆粒内に閉じこめる形で排出しているのではないかと考えられるが、解明にはさらなる検討を要する。

摘 要

ハウレンソウの葉の表面に白色で球状の顆粒が頻りに観察される。異物ではないかとの消費者の疑問に答えるため、解析を行った。本顆粒の直径は0.1~0.2 mm程度であり、葉の表面から出た突起に接続していた。白色顆粒は水には溶けず、クロロフォルム/メタノールで破壊された。硫酸アンモニウム溶液中で球にくぼみが観察された。水分は約90%含まれていた。このことから、本顆粒は、脂溶性の半

透膜中に水溶液が閉じこめられたものと推定できる。本顆粒の水抽出液を分析した結果、遊離糖は含まれず、シュウ酸、クエン酸、リンゴ酸を含んでいた。

引用文献

堀江秀樹・木矢博之・伊藤秀和・一法師克成・東 敬子.
2005. キャピラリー電気泳動法によるホウレンソウ中の硝酸イオンおよび主要有機酸の同時分析. 園学研.

4: 95-98.

Soga, T. and G. A. Ross. 1999. Simultaneous determination of inorganic anions, organic acids, amino acids and carbohydrates by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A.* 837: 231-239.

田中福代. 2003. ホウレンソウ中のシュウ酸. 季刊肥料. 95: 81-85.