

## 資料

## 市販ホウレンソウ中のシュウ酸、硝酸含量の酵素法による測定

竜口 和恵\*

## 〈要 旨〉

1997年春から2001年春にかけて、北九州市内で販売されているホウレンソウについて、そのシュウ酸含量、硝酸含量を酵素法により測定した。シュウ酸含量は生ホウレンソウ100g中に約600~1000mg含まれるという従来から報告されてきた値よりも低く、100g中約200~600mgであった。硝酸含量は生ホウレンソウ100g中約80~800mgと一番含量の低い試料と高い試料との間に10倍の差があった。ホウレンソウを葉部と葉柄部とに分けて測定すると、ほとんどの試料について葉にはシュウ酸が多く、逆に葉柄部には硝酸が多く含まれていた。重量の5倍の水で2.5分間ゆでるとシュウ酸含量は40~80%、硝酸含量は30~80%の減少が認められ、残存量はシュウ酸よりも硝酸で大きい傾向にあった。栽培時期や産地の違いによるホウレンソウのシュウ酸含量、硝酸含量に一定の傾向は認められなかった。

キーワード：ホウレンソウ、シュウ酸含量、硝酸含量、酵素法、葉と葉柄

ホウレンソウは緑黄色野菜の代表的存在として生産量も多いが、カルシウムと結合して不溶性の塩を作り、カルシウムの吸収を妨げるシュウ酸を多く含むことでも知られている。一方、近年の育種・栽培技術の進歩はめざましく、冬から春までの野菜であったホウレンソウが季節に対応した品種の開発・採用や栽培適地の選択により、年間をとおして供給されるようになった<sup>1)</sup>。また低シュウ酸含量品種の開発も盛んにおこなわれている<sup>2)</sup>。このような供給側の変化により従来、ホウレンソウ100g中に600~1000mgも含まれる<sup>3)~5)</sup>とされていたシュウ酸含量にも変化が起こっているのではないかと考え、市販ホウレンソウ中のシュウ酸含量を測定することとした。それと同時にメトヘモグロビン血症の一因と考えられている硝酸<sup>6)</sup>含量も測定した。

## 実験方法

## 1. 試料

試料のホウレンソウは1997年春から2001年春にかけて、北九州市内のスーパーマーケットで購入した。購入後、ホウレンソウは直ちに洗浄し、水きり後、シュウ酸、硝酸測定を「生」と「ゆで」試料でおこなった。

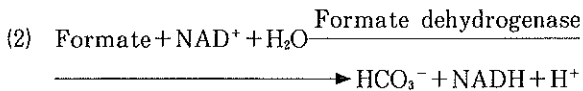
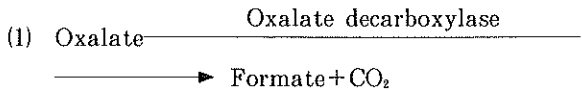
1 試料には70g前後を用いた。「ゆで」試料としては試料採取量の5倍の蒸留水で2.5分間ゆで、ステンレス製のザル上で放冷したものを用いた。「生」、「ゆで」試料とも、それぞれに2倍量の蒸留水を加えて日本精機製作所製のエクセルオートホモジナイザーで3分間ホモジナイズした。ホモジナイズ試料は酸でpH2.5に調整後、ときどき攪拌しながら50°Cで15分インキュベートし、酸の抽出をおこなった。さらに水酸化ナトリウムでpH5に調整後、定容とした。これをろ過し、最初のろ液数mlを捨てた後のろ液を測定に用いた。

## 2. シュウ酸、硝酸の測定

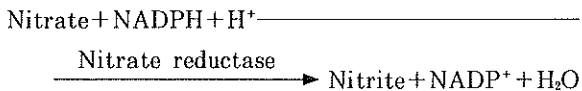
シュウ酸、硝酸はベーリンガー・マンハイム社製の食品分析用酵素測定キット「Fキット シュウ酸」、「Fキット 硝酸」用いて測定し、試料中の濃度を求めた。それぞれの測定原理は以下のとおりである。

シュウ酸 (Oxalate) : (2)式で生成したNADH量を340nmの吸光度の増加で定量する。

\* 西南女学院大学保健福祉学部 栄養学科 教授



硝酸 (Nitrate) : 硝酸と反応したNADPHの量を340 nmの吸光度の減少で定量する。



結果

1. シュウ酸含量

ホウレンソウ各試料中のシュウ酸含量を生試料100g

中の含量に換算して表1に示した。シュウ酸含量は多いものではホウレンソウ生100g中で600mgを超えていたが、少ないものでは100g中200mg程度であり、栽培地や栽培時期により、かなり変動していた。平均含有量は430mgであった。これらの値は、ホウレンソウ100g中に600~1000mgものシュウ酸を含むという従来から報告されている値<sup>3)~5), 7)~10)</sup>よりも全体として低くなっていた。しかし、比較対照に小松菜のシュウ酸含量を測定したところ、小松菜は生試料の100g中3mgとほとんどシュウ酸を含まないことが分かった。品種改良が進んできたとはいえ、やはりホウレンソウにはシュウ酸が多いことに変わりはない。

2. 硝酸含量

ホウレンソウ中の硝酸含量を生試料100g中の含量に換算して表2に示した。硝酸含量はシュウ酸含量よ

表1 ホウレンソウ100g中のシュウ酸含量

Table 1 Content of Oxalate in 100g of Raw Spinach

試料	シュウ酸含量 (mg)	試料	シュウ酸含量 (mg)
北海道 I産地99年夏	360	佐賀 K産地99年春	620
下関 Y産地97年春	400	佐賀 K産地99年秋	610
下関 Y産地97年夏	570	熊本 F産地99年春	580
下関 Y産地01年夏	520	熊本 F産地01年春	580
下関 H産地98年秋	380	熊本 O産地97年春	460
下関 A産地サラダ用99年秋	220	熊本 O産地97年夏	420
下関 A産地サラダ用00年冬	290	熊本 O産地97年秋	510
北九州 K K V 97年夏	400	熊本 O産地98年春	280
北九州 K K V 97年秋	330	熊本 O産地99年夏	380
北九州 K K V 98年春	210	大分 S産地97年春	550
参考データ		ホウレンソウ平均 Average of spinach	430
小松菜98年春 Komatsuna Brassica campestris (rapifera group)	3		

表2 ホウレンソウ100g中の硝酸含量

Table 2 Content of Nitrate in 100g of Raw Spinach

試料	硝酸含量 (mg)	試料	硝酸含量 (mg)
北海道 I産地99年夏	230	佐賀 K産地99年春	330
下関 Y産地97年春	-	佐賀 K産地99年秋	240
下関 Y産地97年夏	590	熊本 F産地99年春	360
下関 Y産地01年夏	330	熊本 F産地01年春	230
下関 H産地98年秋	260	熊本 O産地97年春	-
下関 A産地サラダ用99年秋	810	熊本 O産地97年夏	370
下関 A産地サラダ用00年冬	270	熊本 O産地98年秋	78
北九州 K K V 97年夏	380	熊本 O産地99年春	260
北九州 K K V 98年秋	260	熊本 O産地99年夏	360
北九州 K K V 99年春	370	大分 S産地97年春	-
参考データ		ホウレンソウ平均 Average of spinach	340
小松菜98年春 Komatsuna Brassica campestris (rapifera group)	320		

りさらに試料による変動が大きく、多いものでは2000年1月、A産サラダ用が100g中800mgとなっていたが、少ないものは98年11月のO産の100g中78mgと、多いものの1/10以下であった。平均含有量は340mgであった。一番、数値が高かったA産サラダ用ホウレンソウは水耕栽培されていた。時期が異なる同じ産地の水耕栽培のサラダ用ホウレンソウの硝酸含量は100g中270mgで、平均値より低い値であった。

～80%の減少が認められた。残存量はシュウ酸よりも硝酸で大きい傾向にあった(図3)。しかし、ゆでる水の量がホウレンソウの3倍以下と少ない場合や、ゆで時間が2分以下と短い場合はシュウ酸の残存量も多くなるので注意が必要である(図4)。

### 3. 部位別のシュウ酸、硝酸含量、および「ゆで」による残存量

ホウレンソウを葉部と葉柄部(図1)とに分けてシュウ酸、硝酸含量を調べてみると、シュウ酸は葉部に多く、逆に硝酸は葉柄部に多かった(図2)。この傾向はほとんどの試料に共通していた。また、葉柄部より葉部の方がこれらの酸の合計値が高い傾向が認められた。試料ホウレンソウを5倍量の熱湯で2.5分間ゆでるとシュウ酸含量は40～80%減少し、硝酸含量は30

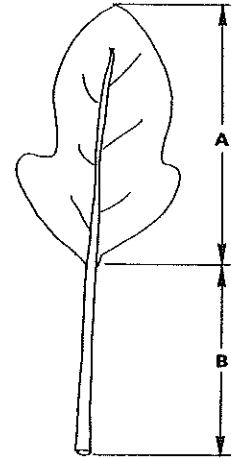
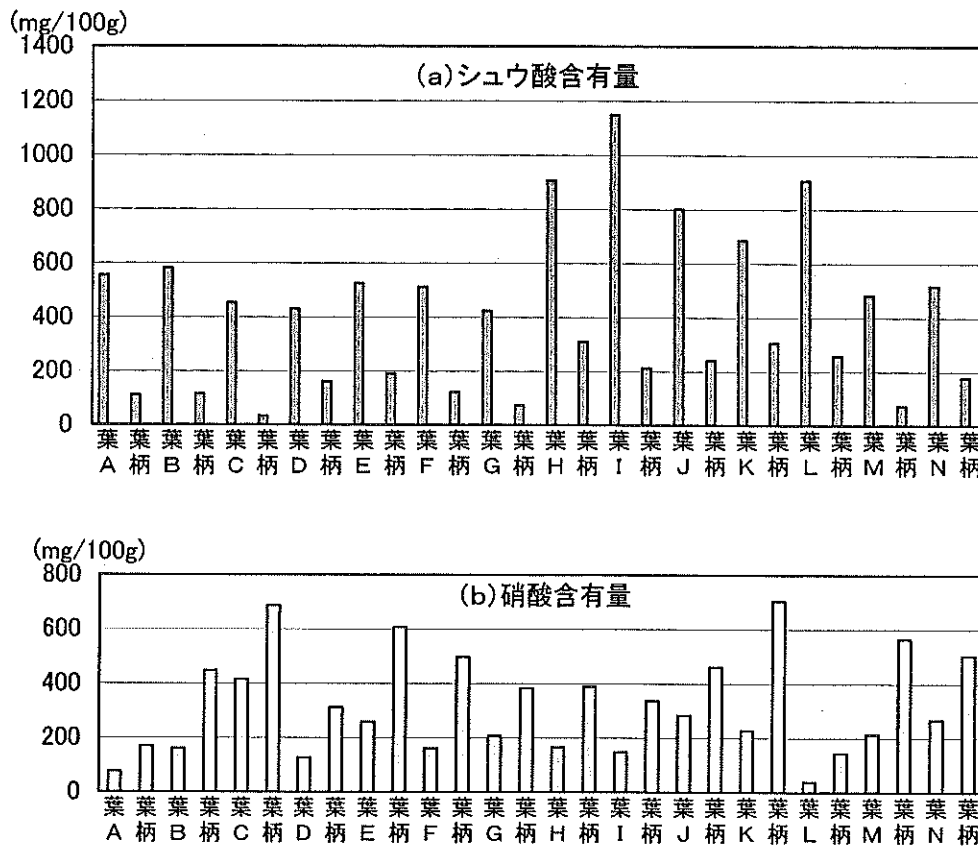


図1 ホウレンソウの部位 A:葉部、B:葉柄部  
Fig.1 Parts of Spinach A:blade portion, B:stalk portion



A:北海道I産地99年夏、B:下関H産地98年秋、C:下関A産地サラダ用99年秋、D:下関A産地サラダ用00年冬、E:北九州KKV97年夏、F:北九州KKV97年秋、G:北九州KKV98年春、H:佐賀K産地99年春、I:佐賀K産地99年秋、J:熊本F産地99年春、K:熊本O産地97年夏、L:熊本O産地97年秋、M:熊本O産地98年春、N:熊本O産地99年夏

図2 ホウレンソウの部位別シュウ酸、硝酸含量(mg/100g)  
Fig.2 Contents of Oxalate and Nitrate in Blade or Stalk Portion of Spinach  
(a)Oxalate, (b)Nitrate

市販ホウレンソウ中のシュウ酸、硝酸含量の酵素法による測定

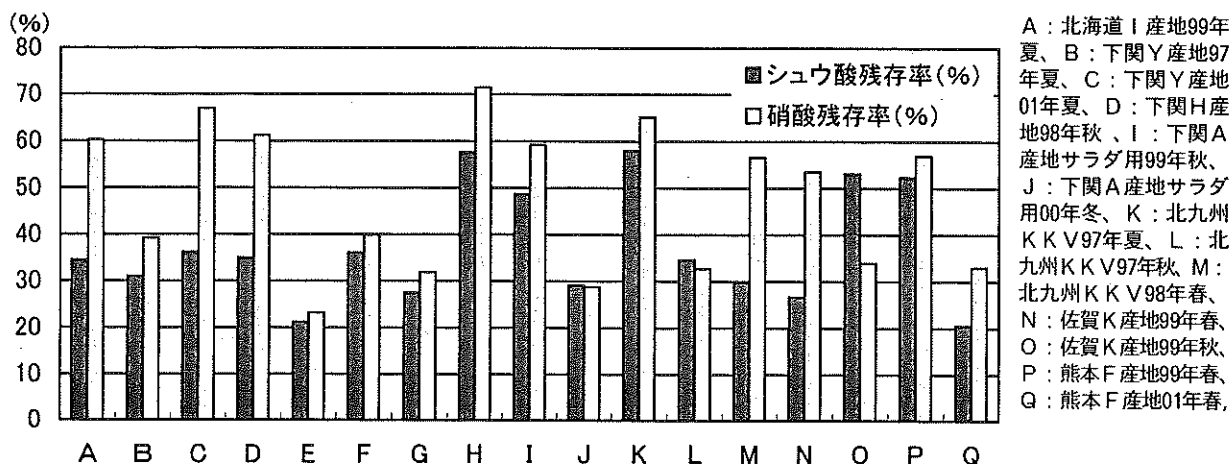


図3 「ゆで」操作によるシュウ酸、硝酸の残存率 (%)  
Fig.3 Residual Ratio of Oxalate and Nitrate by Boiling

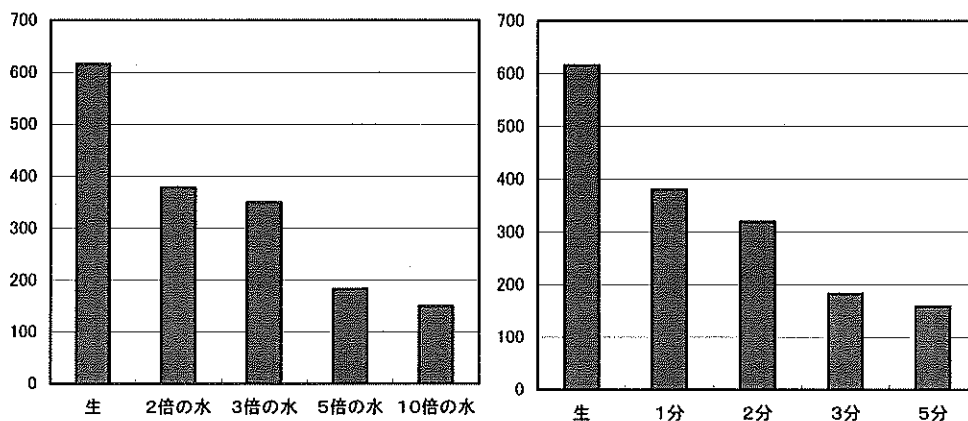


図4 「ゆで」操作におけるゆで水の量、およびゆで時間の変化によるシュウ酸残存量  
(a) ホウレンソウの2~10倍量の水を沸騰させ2.5分間ゆでた場合のシュウ酸残存量(mg/100g)  
(b) ホウレンソウの5倍量の水で1~5分ゆでた場合のシュウ酸残存量(mg/100g)

Fig.4 The Effects of Time and Water Volume of Boiling on the Residual Amount of Oxalate in Spinach  
(a) Residual amount of oxalate for 2.5 min boiling, with two to ten times water of spinach weight  
(b) Residual amount of oxalate for 1 to 5min boiling with five times water of spinach weight

4. ホウレンソウの時季別栽培品種

ホウレンソウの栽培はどこの産地も雨よけハウス内でおこなわれている。北九州市内で販売されているホウレンソウの産地は市内、下関市、熊本県O産地が主で、そのほか表1, 2に掲げた産地も散見された。このうち北九州市と熊本県O産地については栽培品種や栽培条件などを尋ねたので、一覧表としてまとめた(表3)。北九州市には、市と市内2農協で構成する北九州市農産振興協会が生産者との間で契約を結び、市内産の野菜を安定して供給することを目的とした北九

州市契約野菜(KKV)がある。KKVにはホウレンソウをはじめとして9種の野菜があり、減農薬を心がけて作られている。北九州市卸売市場のホウレンソウ取扱高・約1,300万トンのうちの370万トン(27%)が市内産ホウレンソウで、その80%以上がKKVのホウレンソウである。産地としてのまとまりや周年供給を考えて表3のような品種の奨励がおこなわれている。一方、熊本県O産地は阿蘇高原に存在し、高冷地である特徴を生かして春から初冬にかけて出荷され、なかでも他産地が栽培に適さなくなる夏場の出荷を中心と

している。熊本県O産地では土壤中の窒素、カリウムが多くなるとシュウ酸や硝酸の含量が高くなるとされていることから、毎回、ハウス毎に土壌分析をおこな

て最小限の有機質肥料を与えているとのことである。このように両産地とも、近年の健康志向などを反映した野菜作りをおこなっていた。

表3 ホウレンソウの時季別栽培品種

Table 3 Breed Variety of Spinach in Each Season

北九州市\*

播種期間 (月)	主な品種名	生育日数 (日)	作型名	収穫期間 (月)
1~4	ベガサス	60~90	春だし	4~6
5~7	ブラボー***	40~55	夏だし	6~8
7~8	アトラス	30~55	秋だし	9~10
9~12	バンドラ	60~120	冬だし	10~3

熊本県小国地方\*\*

3~6	アクティブ	60~80	夏だし	5~8月中旬
6~8	アトランタ	45~55	秋だし	8月中旬~10月
9~10	アトランタ	60~70	冬だし	11~12

\*北九州市ではKKV（北九州市契約野菜の略号）としての出荷が主体である。KKVとは北九州市農産振興協会（市と市内2農協で構成）と生産者との間で契約を結び、市内産の野菜を安定して供給できるように栽培しているもので、ホウレンソウをはじめ9種がある。減農薬を心がけて作られている。

\*\*熊本県小国地方では高冷地の特徴を生かして春から12月に出荷しているが、とくに夏場に重点を置いている。

\*\*\*ブラボーのみ「中原採種場」製、残りの品種は全て「サカタのタネ」製である。

考察

ホウレンソウは緑黄色野菜の代表的存在でありながら、カルシウムの吸収を妨げ、多量に摂取した場合には腎臓結石の原因となるなどの有害作用を持つシュウ酸<sup>7)</sup>を多く含む。健康上の重要課題であるホウレンソウのシュウ酸含量については、低シュウ酸品種の開発や栽培条件によるシュウ酸変動など、多くの報告がなされている<sup>2)-5), 7)-12)</sup>。また、窒素は葉もの生産において最重要肥料であるが、土壤中の硝酸態窒素が多すぎると、これが作物に移行し、硝酸含量の高い野菜となる。硝酸態窒素は井戸水の汚染による乳幼児のメトヘモグロビン血症による死亡例<sup>6), 12), 13)</sup>の報告もあり、さらに硝酸塩は還元されて亜硝酸塩となると第2級アミンと反応して発がん性のニトロソアミンを生成することでも知られ<sup>6), 15)</sup>、過剰摂取を避けたい物質である。これらのことを踏まえて、市販されているホウレンソウについてシュウ酸含量、硝酸含量の実態を知りたいと考え測定した。

シュウ酸や硝酸含量の測定は古くはカルシウム沈殿法<sup>3), 4)</sup>や滴定法<sup>16)</sup>、近年は高速液体クロマトグラフが用いられることが多いが<sup>5), 11), 12), 17)</sup>、装置がない場合や時間的制約がある場合には適さない。一方、多くの物質が混在する食品においては複雑な処理を施すことなく目的物質に特異的な酵素を用いて測定する酵素法は測定条件さえ揃えれば極めて正確に目的物質を測定できる優れた方法である。今回はベーリンガー・マンハイム社製の食品分析用酵素測定キット「Fキット シュウ酸」、「Fキット 硝酸」用いてホウレンソウ中のシュウ酸、硝酸を測定した。

その結果、ホウレンソウ中のシュウ酸は、100g中に600~1000mg、多いものでは1000mgを超えるものもあるという従来の報告に比べてかなり低く、200~600mgであった。灌水量が多くなる夏場のものの方がシュウ酸、硝酸ともに少ない傾向にあると報告されている<sup>18)</sup>が、今回のデータでは数が十分ではないので確かではないが、その傾向は認められなかった。

世界的に硝酸態窒素による地下水の汚染が問題となっている。WHOが提唱する国際水質基準では11.3mg N

／L以下とされており、日本の環境基準では「硝酸態窒素および亜硝酸態窒素」が10mg／L以下となっている。またEUでは野菜や栽培法などによって基準値が異なるが、ホウレンソウでは2000～3000mg／kg以上の硝酸態窒素を含む野菜は出荷停止などの規制をする規制が設けられている。この値を参考に日本の野菜の硝酸態窒素の値を見ると、多くの野菜で硝酸態窒素が多いことが問題視されている<sup>16)~18)</sup>。

今回、一番硝酸含量が高かった99年秋の水耕栽培A産サラダ用ホウレンソウの100g中810mgを硝酸態窒素に換算すると1800mg／kgとなりEUの基準による汚染野菜には該当しないものかなり高い値であった。このサラダホウレンソウは比較的低い硝酸含量であった2000年冬のA産サラダ用ホウレンソウ(100g中270mg)と同一品種である。KKVや熊本O産地のホウレンソウの硝酸含量の平均値はそれぞれ100g中336mgと267mgで、硝酸態窒素に換算すると、75mg／kgと59mg／kgとなり、硝酸態窒素が低いとされる有機栽培の野菜に匹敵する値であった<sup>19)</sup>。野菜の硝酸濃度は土壤中の窒素含量、すなわち、家畜の糞尿や窒素肥料の多寡に影響を受ける<sup>19),20)</sup>。つまり、必要以上の余分な肥料を用いない環境に配慮した栽培をおこなうことにより硝酸態窒素は減らすことができるので、これからの野菜の栽培にはこのような環境にも配慮した観点が必要とされる。最も高い値であった水耕栽培の試料では培地の硝酸態窒素濃度が直接、この濃度に反映したのかは不明であるが、水耕栽培の培地は土壌よりもより直接的に作物に影響を与えやすいと考えられるので、培地の硝酸態窒素濃度とホウレンソウの硝酸含量との関係について詳細な検討が必要と思われる。

## 謝辞

資料の提供を頂いた北九州市役所経済局農林計画課・宮本氏、北九州地域農業改良普及センター・川原氏、JA阿蘇小国郷指導課・川津氏に深謝いたします。また、実験に協力頂いた元西南女学院短期大学教育補助職員・原武幸子さんに感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 香川彰：高品質ホウレンソウの栽培生理。P P 1-6, いしずえ, 東京, 1997
- 2) 農水省野菜・茶業試験場野菜育種部：ホウレンソウの低シュウ酸品種と萎ちょう病抵抗性品種の作出, 「周年栽培をめぐる諸問題」研究会報告, 2000
- 3) 刀祢茂弘、内山義雄：栽培条件がホウレンソウの硝酸含量に及ぼす影響(第1報) 品種、ジベレリン処理、栽培密度、生育日数、土壤水分の影響。山口県農試研報。41: 32-39, 1989
- 4) 刀祢茂弘、内山義雄：栽培条件がホウレンソウの硝酸含量に及ぼす影響(第2報) 土壌および施肥の影響。山口県農試研報。41: 40-45, 1989
- 5) 吉田企世子：野菜の栽培方法と成分。日本食生活誌。17: 15-22, 1996
- 6) 岡部昭二：野菜および食品中の硝酸塩をめぐって。化学と生物。15: 352-359, 1977
- 7) 香川彰：高品質ホウレンソウの栽培生理。P P 74-84, いしずえ, 東京, 1997
- 8) 香川彰：ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(1)シュウ酸含量に及ぼす生態条件の影響について。岐阜女子大紀要。16: 25-32, 1987
- 9) 渡辺幸雄, 米山昌美, 嶋田典司：ホウレンソウの糖、ビタミンCおよびシュウ酸含量に及ぼす水ストレス処理の影響。土肥雑。58: 427-432, 1987
- 10) 香川彰：ホウレンソウの低シュウ酸含量品種育成に関する研究(2)シュウ酸含量に及ぼす生栽培条件の影響について。岐阜女子大紀要。17: 1-6, 1988
- 11) 小林保, 山元義久, 吉川年彦, 永井耕介, 時枝茂行：ホウレンソウの夏季生産に関する研究(第2報) 異なる土壤水分条件がホウレンソウの生育、収量、並びに品質に及ぼす影響。近畿中国農研。87: 12-15, 1994
- 12) 太田和子, 香川彰：ホウレンソウのシュウ酸含量に及ぼす窒素肥料の影響。園学雑。65: 327-332, 1996
- 13) 中村巖男：飲み水の硝酸塩汚染 メトヘモグロビン血症とその周辺。聖マリアンナ医科大学雑誌。18: 413-421, 1990
- 14) 田中淳子, 堀米仁志, 今井博則：井戸水が原因で高度のメトヘモグロビン血症を呈した1新生児例。小児科臨床。49: 1661-1665, 1996
- 15) Eichholzer, M., Gutzwiller, F.: Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk: A review of the epidemiologic evidence. Nutrition Reviews, 56: 95-105, 1998
- 16) 平宏和, 平春枝：野菜の硝酸態窒素を含む全窒素および硝酸態窒素含量。食総研報。34: 44-53, 1979
- 17) 孫尚穆, 米山忠克：野菜の硝酸 作物体の硝酸の

市販ホウレンソウ中のシュウ酸、硝酸含量の酵素法による測定

- 生理、集積、人の摂取. 農業および園芸. 71 : 1179-1182, 1996
- 18) 健康な野菜づくりのための土づくり研究会 : 硝酸態窒素の測定 野菜の健康度をチェックする.  
<http://www.ecoclub.co.jp/Yasai/seminar/seminar.htm>, 2000
- 19) 黒沢和雄 : 作物地帯別にみた地下水と野菜における硝酸態窒素の分析. 日本農村医学会雑誌. 32 : 728-729, 1983
- 20) 浅沼信治, 鈴木彰, 黒沢和雄 : 化学肥料の地下水汚染に関する調査. 日本農村医学会雑誌. 33 : 173-182, 1984

## Measurement of the Contents of Oxalate and Nitrate in Commercially Available Spinach by Enzymatic Analysis

Kazue Tatsuguchi

### <Abstract>

I measured the contents of oxalate and nitrate by enzymatic analysis in spinach sold in the Kitakyushu area from spring in 1997 to spring in 2001. Although it was previously reported that about 600 to 1000mg of oxalate was included in 100g of raw spinach, the results in the present study indicated that the content (200 to 600mg in 100g spinach) was lower than those reported previously. As for nitrate, about 80 to 800mg of nitrate was included in 100g of raw spinach. Thus, there was ten times the difference between the samples having the lowest and the highest contents. When measuring spinach by separating it into the blade and stalk portions, in most samples, I found that the blade portion included more oxalate, while the stalk portion included more nitrate. When spinach was boiled for 2.5 minutes with five times as much water as the spinach weight, the residual contents of oxalate was decreased by 40-80%, and that of nitrate was decreased by 30-80%. The residual amounts of nitrate tended to be larger than oxalate. In the differences of contents of oxalate and nitrate in spinach, no particular patterns specific to the period of cultivation and the area of production were observed.

Key words: spinach, content of oxalate, content of nitrate, enzymatic analysis, blade and stalk