

## キャベツに含まれるクロロフィル a、b とカロテノイドの定量

– LabSolutions™ UV-Vis の評価機能の活用 –

植物や野菜の色味は鮮度や品質を示す指標の 1 つとなります。この色味はクロロフィルやカロテノイド、フラボノイド、ベタレインという 4 種類の色素によって発現しますが、これら色素の含有量を評価する方法として、紫外可視分光光度計はよく利用されます。

本稿では、キャベツに含まれるクロロフィル a、b とカロテノイドの含有量を紫外可視分光法により測定した結果を報告します。加えて、当社紫外可視分光光度計の標準ソフトウェアである LabSolutions UV-Vis のスペクトル評価機能を活用して、複雑な計算式を用いた含有量の算出工程を効率的に進める方法をご紹介します。

Y. Tange

### ■ クロロフィルとカロテノイド

クロロフィルは a、b、c、d、f の 5 種類が知られており、a および b は野菜の葉や茎など緑色組織に多く含まれています。またクロロフィルは栄養状態や光環境、除草剤使用有無により含有量が異なるため、野菜を管理するための重要な指標となります。特に a と b の割合 (a/b 比) は光合成の効率を示す指標となり、強光環境で育った野菜の a/b 比は高くなることが知られています<sup>1)</sup>。

カロテノイドの種類は極めて多く、代表的なものとしては人参のβ-カロテンやトマトのリコピンなどが有名です。カロテノイドには抗酸化作用があり、特に収穫後の野菜においては、カロテノイドが活性酸素の発生防止や酸化力を抑える効果を発揮し、野菜が傷むことを防ぐことが知られています。このカロテノイドを評価することにより、野菜の鮮度管理を行うことができます。また、摂取した人へのアンチエイジング効果も期待されており、栄養学の観点からもその含有量は重要です。

### ■ 前処理

光環境の異なる試料として、キャベツの 1 番外の葉 (外葉) と 3 枚目の葉 (内葉) からそれぞれ 3 ケ所ずつ (上部、中部、下部) 0.1 g を切り出しました。切り出した葉片を液体窒素と乳鉢で凍結粉碎し、20 ml の 80% アセトン (アセトン: 超純水=8:2) に加えて、3 分間振とうすることで脂溶性物質を抽出しました。測定にはこの上澄み液を用いました。試料の外観を図 1 に示します。

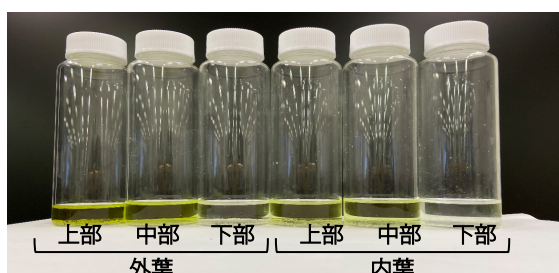


図 1 キャベツ抽出液

### ■ クロロフィルとカロテノイドの定量

クロロフィルやカロテノイドの定量には、様々な式が活用されています。今回は 80% アセトン抽出液の測定の中でもクロロフィルとカロテノイドを同時に算出できる Lichtenthaler & Welburn によって提案された以下の方法<sup>2)</sup>を用いて定量を行いました。また測定条件は表 1 に示します。

クロロフィル a ;

$$Chl a = 12.21A_{663} - 2.81A_{645} \quad (1)$$

クロロフィル b ;

$$Chl b = 20.13A_{645} - 5.03A_{663} \quad (2)$$

カロテノイド ;

$$\begin{aligned} Carotenoids &= \frac{1000A_{470} - 3.27[Chl a] - 104[Chl b]}{227} \\ &= 4.405A_{470} - 9.182A_{645} + 2.129A_{663} \quad (3) \end{aligned}$$

Chl a, b : 抽出液中のクロロフィル a、b 濃度 [μg/ml]

Carotenoids : 抽出液中のカロテノイド濃度 [μg/ml]

A<sub>x</sub> : x nm における吸光度値

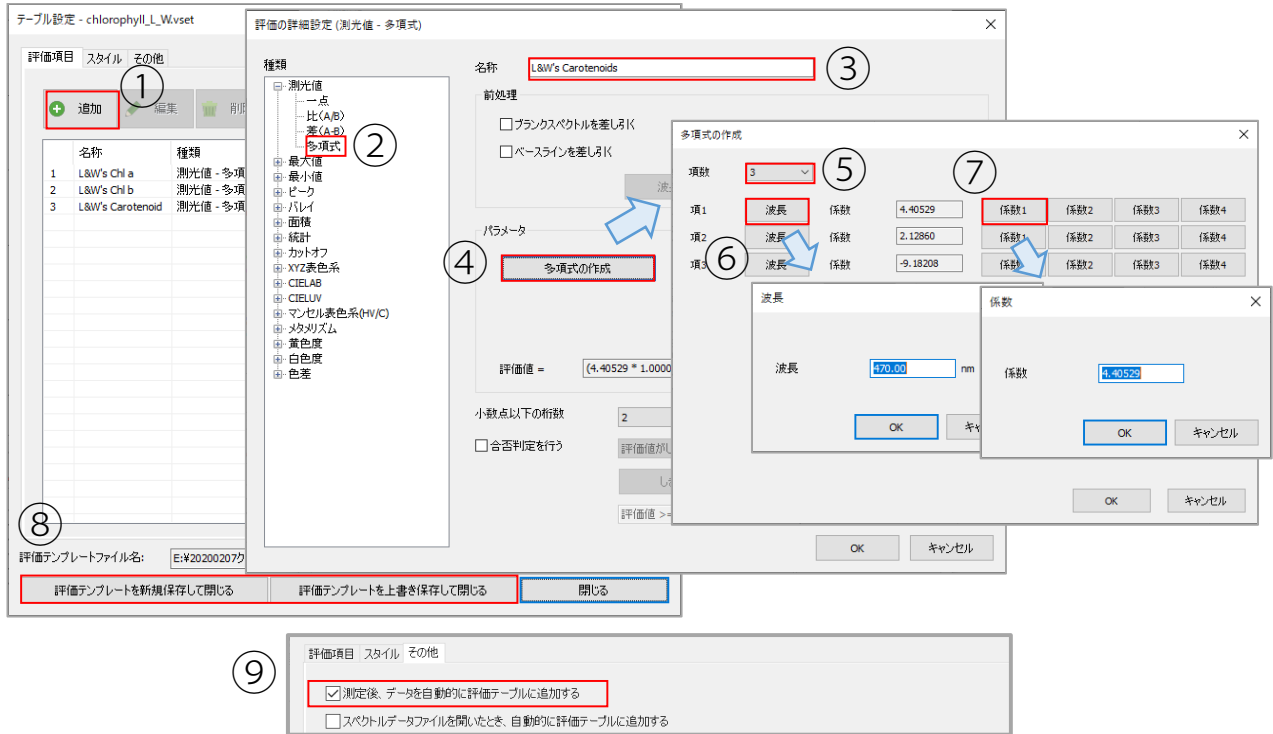
表 1 測定条件

装置	: 紫外可視分光光度計 UV-1900i
測光値の種類	: 吸光度
測定波長範囲	: 400~700 nm
スキャン速度	: 高速
データ間隔	: 0.1 nm
光源切替波長	: 340 nm
スリット幅	: 1 nm

スペクトル評価機能における評価テーブルの多項式の設定方法の代表例として、カロテノイドの定量（上記の式(3)）における設定手順を図2に示します。

「多項式（下図②）」では、最大で十項の多項式を作成できます（下図⑤）。また、一度設定した評価テーブルはテンプレートとして保存することができるため（下図⑧）、同じ評価を繰り返し実施する場合には便利かつ効率的です。

さらに、テーブル設定の「その他」タブにある「測定後、データを自動的に評価テーブルに追加する」にチェックを入れておくと（下図⑨）、スペクトル測定後すぐに評価結果がテーブルに反映されます。取得済のスペクトルデータを後から評価テーブルに追加することもできますので、前回の測定データと比較しながら評価することも可能です。



- ① テーブル設定の「追加」をクリック
- ② 「測光値-多項式」を選択
- ③ 評価項目の名称を入力
- ④ パラメータを設定するために「多項式の作成」をクリック
- ⑤ 項数のプルダウン（1～10）から項数を設定
- ⑥ 各項の「波長」をクリックして波長を入力
- ⑦ 各項の「係数1」をクリックして係数を入力
- ⑧ 各ウィンドウで「OK」し、評価テンプレートを保存

図2 評価テーブルにおける多項式の設定手順（①～⑧）と評価テーブルへの結果の自動反映設定（⑨）

		L&W's Chl a	L&W's Chl b	L&W's Carotenoids
	サンプル名	評価値	評価値	評価値
1	キャベツ外_上	2.57	0.53	0.85
2	キャベツ外_中	1.37	0.44	0.40
3	キャベツ外_下	0.15	0.06	0.05
4	キャベツ内_上	0.87	0.24	0.26
5	キャベツ内_中	0.78	0.20	0.21
6	キャベツ内_下	0.09	0.07	0.03
7	80%アセトン	0.00	0.00	0.00

図3 評価結果の表示画面

## ■ 結果

評価テーブルで表示される評価結果を図3に示します。クロロフィル a、b 含有量はともに外葉の上部で最も高く、内葉の下部で最も低くなりました。クロロフィル a/b 比は外葉の上部では約 4.9、内葉の下部で約 1.3 となり、先述した光環境に則した結果となりました。またカロテノイドの含有量については、強光環境である外葉上部では高く、内葉下部では低い傾向が見られました。

## ■ まとめ

LabSolutions UV-Vis のスペクトル評価機能を活用して、吸光度からクロロフィル a、b とカロテノイドの含有量を算出し、光環境に則した結果が得られました。

スペクトル測定終了と同時に結果を確認できる上、換算式をテンプレートとして保存できるので、作業効率の向上にも役立ちます。

<参考文献>

- 1) 園池、光合成と光環境応答、蛋白質・核酸・酵素 Vol.53 No.9 (2008)
- 2) Lichtenthaler & Welburn, Biochem. Soc. Trans. 11: 591-592 (1983)

LabSolutions は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所**

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年7月

島津コールセンター ☎ 0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。