

# 野菜類の脂質成分に関する研究 (第13報)

—キョウナの脂質について—

北村 光雄

## はじめに

キョウナは日本在来のもので、京都で作りだされたといわれている。葉はギザギザで細長く、根元から群生している。分けつが盛んで直径が40cm、1株3~4kgに達することもある。寒さに強く、栽培が容易で、冬期野菜の乏しいときに収穫されるので、広く栽培されている。京都・大阪・滋賀などで生産されるが、関東でも栽培され、埼玉・東京・千葉が生産地である。新鮮で柔かいものは浅漬として賞用され、また鍋物料理の青味として用いられる。

キョウナの一般成分は、水分92.0%、タンパク質2.5%、脂質0.4%、糖質2.3%、繊維1.4%、灰分1.4%である。また無機質のカルシウム140mg%、鉄2.7mg%、カロチン2,500I.U.、ビタミンC70mg%が含まれる。無機質、ビタミンの給源として貴重な野菜である。

著者は先にタマネギ、タケノコ、ダイコン、ハクサイなどの野菜の脂質、とくに可食部について研究を進めてきた。今回はキョウナの脂質について報告する。

## 実験方法

### 1. 脂質の抽出

試料は埼玉産のキョウナで、品川区荏原町の八百屋で求めたものである。脂質の抽出方法は前報<sup>1)</sup>と同様にクロロホルム・メタノール混液(2:1)を用い、総脂質を得た。

### 2. カラムクロマトグラフィー

前報と同様総脂質のケイ酸カラムクロマトグラフィーを行なった。26×300mmのケイ酸カラム(wakogel Q-50, 100g)に総脂質(4.8g)を負荷し、1000mlずつのクロロホルム、アセトン、メタノールで順次溶出し、溶出順に中性脂質、糖脂質、リン脂質に分別した。

### 3. 脂質の同定および定量

薄層クロマトグラフィー(TLC)、ガスクロマトグラフィー(GLC)、ペーパークロマトグラフィー(PPC)は既報<sup>2)</sup>に準じて行なった。またクロロフィルおよびカロチノイドの定量は前報と同様に行なった。

## 4. 糖・リン脂質の標品

モノガラクトシルジグリセリド(MGD)、ジガラクトシルジグリセリド(DGD)およびトリガラクトシルジグリセリド(TGD)は、伊藤ら<sup>3)</sup>の方法により調製したものをを用いた。またホスファチジルコリン、ホスファチジエタノールアミンは市販品(東京化成)を用い、さらにTLCで精製して標品とした。

## 実験結果と考察

### 1. 脂質の含量

キョウナ 2.0kg からクロロホルム・メタノール混液(2:1)で脂質を抽出し、9.5g(0.5%)の総脂質を得た。

### 2. クロロフィルおよびカロチノイドの定量

総脂質中のクロロフィルおよびカロチノイドの含有量を測定した結果は表1のとおりである。

表1 総脂質中の色素含量

| 色 素     | 含量(mg%) |
|---------|---------|
| 総クロロフィル | 230     |
| β-カロチン  | 10.1    |
| キサントフィル | 43.3    |

クロロフィルの含有量はコマツナの約1/8であるが、カロチンの含有量はあまり差がなかった。

### 3. 総脂質のケイ酸カラムクロマトグラフィーによる分画

総脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィーにより分画した結果は表2のとおりである。

表2 ケイ酸カラムクロマトグラフィーによる分画

| 区 分   | 収量(%) | 状 態    |
|-------|-------|--------|
| 中性脂質  | 32.9  | 黒褐色半固体 |
| 糖 脂 質 | 27.8  | 黒色半固体  |
| リン脂質  | 39.2  | 淡褐色半固体 |

ハクサイ、コマツナなどと同様、糖脂質およびリン脂質が多い。

### 4. 中性脂質区分の検索

(1) 中性脂質区分のTLC

中性脂質区分の薄層クロマトグラムは図1のとおりである。標準物質としてマジオール（炭化水素）、精製大豆油（トリグリセリド）、オレイン酸（遊離脂肪酸）、β-シトステロール（ステロール）を用い、薄層クロマト上でそれを同定した。このほか2、3のスポットが検出された。

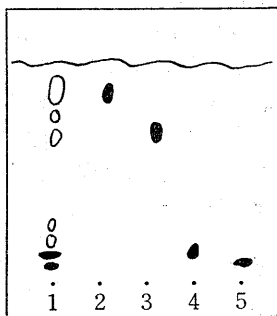


図1 中性脂質区分の薄層クロマトグラム  
展開溶媒：石油エーテル/エーテル/酢酸  
(70:30:1)

発色：50%硫酸

- 1：中性脂質区分
- 2：炭化水素
- 3：トリグリセリド
- 4：脂肪酸
- 5：ステロール

(2) 不ケン化物および脂肪酸の分離

中性脂質にメタノール性 N-水酸化カリウム溶液を加え、湯浴中で1時間加熱ケン化した。ケン化後常法により不ケン化物と脂肪酸に分けた。その結果は表3のとおりである。

表3 不ケン化物・脂肪酸の収量

| 区分    | 収量(%) | 状態    |
|-------|-------|-------|
| 不ケン化物 | 58.8  | 黄赤色固体 |
| 脂肪酸   | 38.6  | 黒色固体  |

(3) 不ケン化物

不ケン化物は TLC の分析により炭化水素、カロチノイド色素、ステリンなどを含有することが推定されるので、相互の分離を目的として、アルミナカラムクロマトグラフィーを行ない、表4のように8フラクションに分離した。これらのフラクションの薄層クロマトグラムは図2のとおりである。

フラクション(1)はアセトンより再結晶すると白色の結晶が得られ、この区分の薄層クロマトグラムから炭化水素であることが同定された。さらにこの結晶のGLCによりその組成を求めると、表5のとおりである。主として C<sub>29</sub>, C<sub>27</sub>, C<sub>31</sub> の炭化水素で、前報のコマツナの場合と似

た傾向である。なおC<sub>29</sub>, C<sub>27</sub>, C<sub>31</sub>の標準物質として、リ

表4 不ケン化物のアルミナカラムクロマトグラフィ

| フラクションNo. | 溶出溶媒                 | 収量(%) | 状態     |
|-----------|----------------------|-------|--------|
| 1         | 石油エーテル               | 8.9   | 無色固体   |
| 2         | 石油エーテル + アセトン (0.5%) | 7.7   | 濃赤色半固体 |
| 3         | " (2%)               | 0.2   | 赤色半固体  |
| 4         | " (5%)               | 1.4   | "      |
| 5         | " (10%)              | 25.5  | "      |
| 6         | " (20%)              | 21.2  | 赤褐色半固体 |
| 7         | " (40%)              | 11.5  | "      |
| 8         | アセトン                 | 0.7   | "      |

カラム：18×150mm (アルミナ20g), 試料：0.38g, 溶出量各々100ml

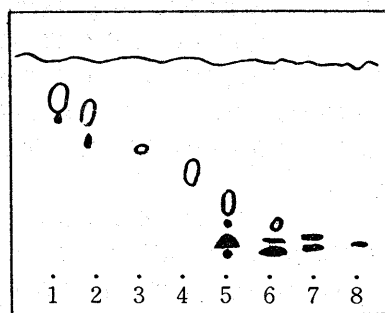


図2 不ケン化物各フラクションの薄層クロマトグラム

展開溶媒：石油エーテル/エーテル/酢酸 (70:30:1)

発色：50%硫酸

1~8：各フラクション

表5 結晶炭化水素の組成

| 炭素数 | Rt   | (%)  |
|-----|------|------|
| 17  | 2.0  | +    |
| 18  | 2.7  | +    |
| 19  | 3.6  | +    |
| 20  | 4.6  | 0.4  |
| 21  | 5.8  | 0.6  |
| 22  | 7.0  | 0.9  |
| 23  | 8.3  | 1.6  |
| 24  | 9.7  | 2.2  |
| 25  | 11.7 | 3.5  |
| 26  | 12.3 | 1.9  |
| 27  | 13.6 | 8.8  |
| 28  | 15.0 | 2.1  |
| 29  | 16.2 | 65.7 |
| 30  | 17.5 | 1.0  |
| 31  | 19.0 | 9.3  |
| 32  | 20.8 | +    |

カラム：SE-30 (1.5%) 3m, 180°→  
260°C 5°C/min昇温  
キャリアガス：N<sub>2</sub>40ml/min  
Rt=保持時間

ソゴの果皮・ヒエのロウ物質から分離精製したものを  
用いて同定した。

フラクションは(2)その色調および TLC の Rf 値より  
β-カロチンである。また GLC により少量の炭化水素 (1)  
と同様の) を含むことが確認された。フラクション(3)お  
よび(4)は TLC によりキサントフィルが含まれ、フラク  
ション(5)には高級アルコールが含まれることを認めた。  
フラクション(5)の GLC によりその組成を求めると表 6  
のとおりである。高級アルコールの種類はコマツナの場合  
とよく似ている。

表 6 高級アルコールの組成

| 炭素数 | Rt   | (%)  |
|-----|------|------|
| 22  | 2.0  | 13.6 |
| 23  | 2.8  | +    |
| 24  | 3.2  | 8.1  |
| 25  | 4.5  | +    |
| 26  | 5.0  | 23.5 |
| ?   | 6.0  | 12.9 |
| ?   | 7.3  | 18.8 |
| 28  | 8.0  | 12.6 |
| ?   | 9.4  | 6.6  |
| 31  | 12.4 | 3.8  |

カラム: SE-30 (1.5%) 3m, 260°C  
恒温  
キャリアガス: N<sub>2</sub> 40ml/min  
Rt: 保持時間, 試料: アセテート

フラクション(6)は TLC によりステロールであることを  
確認したので、この区分を常法によりアセチル化し、  
GLC により分析した結果は表 7 のとおりである。ステロ  
ールの種類および含有量もコマツナと同様のパターンを  
示す。

表 7 ステリンの組成

| ステリン     | Rt   | (%)  |
|----------|------|------|
| ブラシカステリン | 6.2  | 4.0  |
| カンペステリン  | 8.2  | 3.2  |
| スチグマステリン | 10.3 | 14.2 |
| β-シトステリン | 12.5 | 78.6 |

カラム: SE-30 (1.5%) 3m, 260°C恒温  
キャリアガス: N<sub>2</sub> 40ml/min  
Rt: 保持時間, 試料: アセテート

フラクション(7)は TLC より高級アルコールとステロ  
ールの混合物で、フラクション(8)はクロロフィルの分解  
物と考えられる。

(4) 脂肪酸

中性脂質の混合脂肪酸は常法によりメチル化し、GLC  
を行なった。そのクロマトグラムは図 3 に示すとおり  
で、半値幅法によりその組成を求めると表 8 のようにな

る。リノレン酸は約50%含まれ、野菜類の生活細胞に共  
通する特徴である。

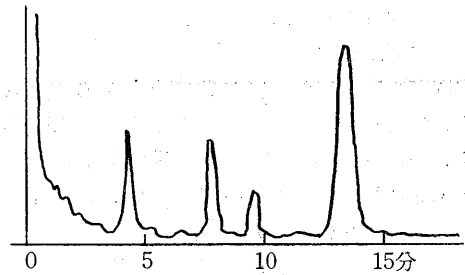


図 3 脂肪酸メチルのガスクロマトグラム  
カラム: DEGS (15%) 3m, 190°C 恒温  
キャリアガス: N<sub>2</sub>, 40ml/min

表 8 中性脂質の脂肪酸組成

| 炭素数  | Rt   | (%)  |
|------|------|------|
| 12:0 | 2.0  | +    |
| 12:1 | 2.2  | +    |
| 14:0 | 2.5  | 1.3  |
| 14:1 | 2.8  | 1.1  |
| 15:0 | 3.2  | 0.8  |
| ?    | 3.6  | +    |
| 16:0 | 4.0  | 17.0 |
| 16:1 | 4.7  | 1.6  |
| 17:0 | 5.3  | 1.6  |
| 18:0 | 6.6  | 3.0  |
| 18:1 | 7.7  | 14.9 |
| 18:2 | 9.7  | 7.3  |
| 19:0 | 11.2 | 0.6  |
| 18:3 | 12.8 | 50.8 |

Rt: 保持時間

5. 糖脂質区分の検索

(1) 糖脂質の TLC

薄層クロマトグラムは図 4 のとおりで、スポットは 6  
つである。同時に展開した標品のモノガラクトシルジグ

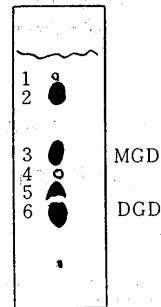


図 4 糖脂質の薄層クロマトグラム  
展開溶媒: クロロホルム/メタノール/水  
(65:25:4)  
発色: α-ナフトール試薬

リセリド (MGD) のRf値にスポット3が、そしてジガラクトシルジグリセリド(DGD)のRf値にはスポット6が一致した。またトリガラクトシルジグリセリド (TGD) のRf値に一致するスポットはなかった。

(2) TLCによる分離

それぞれの糖脂質の含有量は、製造的 TLC によって分離し、2, 7-ジクロロフルオレセイン試薬を噴霧して検出し、そのバンドをかきとり、溶媒で抽出して、その重量から求めた。その結果は表9のとおりである。

表9 糖脂質のTLC分離

| 区分 | 収量(%) | 成分  |
|----|-------|-----|
| 1  | 2.5   | MGD |
| 2  | 17.9  |     |
| 3  | 24.5  |     |
| 4  | 2.9   |     |
| 5  | 14.5  | DGD |
| 6  | 37.6  |     |

(3) 糖脂質の塩酸分解

上記の MGD を 2mg とり、5%塩酸を含むメタノール溶液 1 ml を加えて混合し、37°C、24時間放置して加水分解した。反応後石油エーテルを加えて抽出し、これを濃縮し、さらにメタノール性の N-水酸化ナトリウム溶

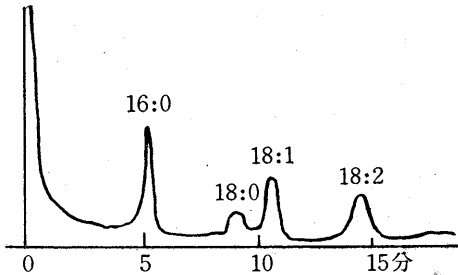


図5 MGD脂肪酸メチルのガスクロマトグラム  
カラム: DEGS (15%) 3m, 190°C恒温  
キャリアガス: N<sub>2</sub> 40ml/min

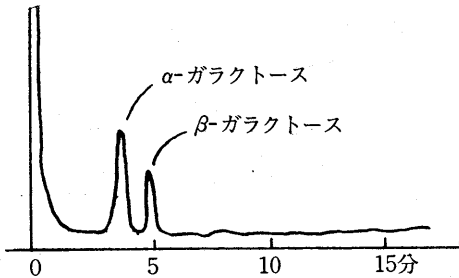


図6 MGDガラクトースTMS化物のガスクロマトグラム  
カラム: SE-30 (1.5%) 3m, 180°C恒温  
キャリアガス: N<sub>2</sub>, 40ml/min

液を加えてケン化した。ケン化物を除去したのち、塩酸性とし脂肪酸を遊離させ、これを常法によりメチル化してGLCの試料とした。また塩酸分解後石油エーテルを加えてエステル部分を除いたメタノールを含む水層部は、イオン交換樹脂を通して脱塩し、濃縮乾燥してTMS化を行ない、GLCの試料とした。脂肪酸メチルおよび糖のTMS化物のガスクロマトグラムは図5、6のとおりである。

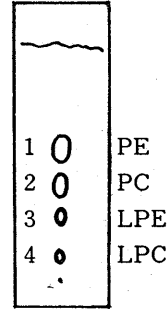


図7 リン脂質の薄層クロマトグラム  
展開溶媒: クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)  
発色: モリブデンブルー試薬

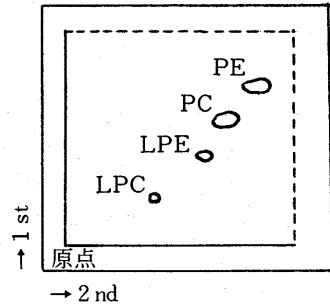


図8 リン脂質の二次元薄層クロマトグラム  
展開溶媒  
1st クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)  
2nd クロロホルム/アセトン/メタノール/酢酸/水 (10:4:2:2:1)  
発色: モリブデンブルー試薬

表10 リン脂質の薄層クロマトグラムの呈色

| 試薬       | スポットNo. |   |   |   |
|----------|---------|---|---|---|
|          | 1       | 2 | 3 | 4 |
| 硫酸       | V       | B | B | B |
| モリブデンブルー | +       | + | + | + |
| ドラーゲンドルフ | -       | + | - | + |
| ニンヒドリン   | +       | - | + | - |
| α-ナフトール  | +       | + | - | + |

V: 紫色 B: 褐色

6. リン脂質区分の検索

(1) リン脂質の TLC

リン脂質の薄層クロマトグラムは図7のとおりで、スポットは4つである。同時に展開した標品のホスファチジルエタノールアミンのRf値にスポット1が、ホスファチジルコリンのRf値にスポット2が一致した。その各スポットの呈色は表10のとおりである。

つぎに伊藤ら<sup>4)</sup>による二次元 TLC を行なった。そのクロマトグラムは図8のとおりである。

(2) リンの定量

リン脂質区分のリン含有量は2.4%で、この区分のリン脂質を計算(ホスファチジルコリンとして)すると61.9%となり、総脂質中24.2%になる。また糖脂質区分のリン含有量は1.65%で(カラムクロマトグラフィーの分離が不十分なためリン脂質を含む)、この区分のリン脂質を上の場合と同様に計算すると42.6%となり、総脂質中11.8%となる。両者を合わせて36.0%がリン脂質である。

(3) リン脂質の分離定量

個々のリン脂質の定量は、薄層プレート(20×20cm)の原点に試料を線状に付着せしめ、これを展開する。ついで2,7-ジクロロフルオレセイン試薬を噴霧し、紫外線下で分離したバンドを検出し、これをかきとり、溶媒で抽出した収量からおおよその含有量を求めた。その結果は表11のとおりである。しかし分離したバンドは必ずしも純粋ではない。

表11 リン脂質分離帯の収量

| 区 分 | 収量(%) |
|-----|-------|
| PE  | 45.1  |
| PC  | 38.7  |
| LPE | 11.3  |
| LPC | 4.9   |

(4) リン脂質の脂肪酸組成

上記の分離したリン脂質をそれぞれケン化して脂肪酸をとり、メチル化してガスクロマトグラフにかけて分析した結果は表12のとおりである。中性脂質の場合と異な

り、パルミチン酸含有量が多い。

表12 リン脂質の脂肪酸組成(%)

| 炭 素 数 | PE   | PC   | LPE  | LPC  |
|-------|------|------|------|------|
| 14:0  | +    | -    | +    | +    |
| 14:1  | +    | +    | +    | +    |
| 16:0  | 54.4 | 40.5 | 53.0 | 49.7 |
| 16:1  | +    | +    | +    | +    |
| 18:0  | 5.3  | 4.0  | 3.3  | 4.0  |
| 18:1  | 17.4 | 14.7 | 5.4  | 13.6 |
| 18:2  | 6.6  | 13.9 | 18.6 | 9.1  |
| 18:3  | 16.3 | 26.9 | 19.8 | 23.7 |

要 約

1. 生のキョウナにクロロホルム・メタノール混液(2:1)を加えてミキシングし、脂質を抽出した。0.5%の総脂質を得た。
2. 総脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィーにより、中性脂質、糖脂質、リン脂質に分けた。その収量はそれぞれ32.9%、27.8%、39.2%であった。
3. 中性脂質を検索し、不ケン化物は58.8%含まれ、ステロール、高級アルコール、炭化水素およびカロチノイド色素からなる。脂肪酸は38.6%含まれ、リノレン酸が約50%で、パルミチン酸約16%、オレイン酸約15%、リノール酸約7%であった。
4. 糖脂質区分を検索し、モノガラクトシルジグリセリドおよびジガラクトシルジグリセリドを確認した。
5. リン脂質区分を検索し、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリンを確認し、リゾホスファチジルエタノールアミンおよびリゾホスファチジルコリンを推定した。

参 考 文 献

- 1) 北村光雄: 本誌, 第15集 (1974)
- 2) 北村光雄: 本誌, 第11集 (1967)
- 3) 伊藤精亮, 岡田周三, 藤野安彦: 農化, 48, (8), 431~436 (1974)
- 4) 伊藤精亮, 藤野安彦: 農化, 48, (5), 319~323 (1974)