

野菜類の脂質成分に関する研究 (第14報)

—カブの脂質について—

北村 光雄

はじめに

カブはヨーロッパの温暖地方の原産で、わが国ではダイコンとともに古くから(1200年ほど前)栽培されてきた野菜である。根部は多肉で、扁平、円錐形などをしており、色は一般に白色であるが、淡黄、紅、紫などのものである。カブの品種は非常に多く、そのおもなものは小カブ、天王寺カブ、近江カブ、聖護院カブ、長カブ、緋カブ、紫カブ、黄金カブなどである。生産量は年間約20万トンで、煮食あるいは漬物として用いられる。

カブの一般成分は、水分92.1%、タンパク質1.5%、脂質0.1%、糖質4.3%、繊維1.0%、灰分1.0%である。ビタミンCは20 mg%を含む。

カブの脂質に関する研究は、1967年にLepage¹⁾が2種類のカブの脂質について、中性脂質、極性脂質、ステロール、カロチノイドなどの検出と組成についてLipids (U. S. A.)に報告している。著者はこれまで国内産の10種に近い野菜の脂質成分について研究を進めてきたが、その研究の一環として、わが国でもっとも一般的な品種、金町小カブの脂質について報告する。

実験方法

1. 脂質の抽出

試料の品種は金町小カブで、品川区荏原町の八百屋で求めたものである。脂質の抽出方法は既報²⁾と同様にクロロホルム・メタノール混液(2:1)を用い、葉柄部と根部を別々に抽出し、それぞれ総脂質を得た。

2. 脂質の分離

総脂質はケイ酸カラムクロマトグラフィーにより中性脂質と極性脂質に分けた。すなわちシリカゲル(Mallinckrodt, 100 mesh) 120gをクロロホルムに懸濁し、これをフィルターの付いたガラス円筒に注入して40×150 mmのカラムをつくる。つぎに総脂質4gを少量のクロロ

ホルムに溶解したものをカラムに加えて吸着させ、ついで1000 mlずつクロロホルム、アセトン、メタノールで順次溶出する。溶出順に中性脂質、糖脂質、リン脂質に分別する。

3. 脂質の同定および定量

ペーパークロマトグラフィー(PPC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)およびガスクロマトグラフィー(GLC)は既報³⁾に準じて測定した。赤外吸収スペクトル分析は各脂質を臭化カリウムと混合加圧して錠剤とし、日本分光工業(株)製IR-E型で測定した。デンストメントリーによる定量法としては、島津二波長クロマトスキャナーCS900型を用い、糖脂質ではアンスロン試薬、リン脂質ではジッター試薬、硫酸で発色させ、それぞれの吸収のあるところで測定した。

4. 糖・リン脂質の標品

モノガラクトシルグリセリド(MGD)、ジガラクトシルグリセリド(DGD)およびトリガラクトシルグリセリド(TGD)は、前報と同様、伊藤ら⁴⁾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、ホスファチジルエタノールアミンは市販品(東京化成)を用い、さらにTLCで精製し標品とした。

実験結果と考察

1. 脂質の含量

カブの葉柄部と根部をそれぞれクロロホルム・メタノール混液(2:1)で脂質を抽出し、表1のとおり総脂質を得た。

表1 脂質の収量

	原料(kg)	総脂質(g)	収量(%)
葉柄部	0.80	4.26	0.5
根部	1.75	2.47	0.1

2. 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。

糖脂質およびリン脂質の含有量は、他の野菜と同様に多い。LePage¹⁾ は根部の極性脂質が61.5%と報告している。

表2 カラムクロマトグラフィーによる分画の収量

区 分	葉柄部(%)	根 部 (%)
中 性 脂 質	25.9	34.0
糖 脂 質	48.9	36.2
リ ン 脂 質	25.9	29.8

3. 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。

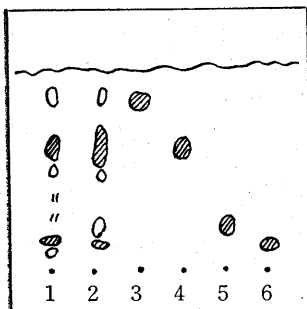


図1. 中性脂質の薄層クロマトグラム
展開溶媒：石油エーテル/エーテル/酢酸 (70:30:1)
発色：50%硫酸
1：葉柄部 2：根 部
3：炭化水素 4：トリグリセリド
5：脂肪酸 6：ステロール

標準物質として、スジオール (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ぞれ同定した。このほか

2, 3のスポットが検出された。
(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 不ケン化物および脂肪酸の収量

区 分	葉柄部(%)	根 部 (%)
不 ケ ン 化 物	59.4	60.2
脂 肪 酸	30.8	24.5

(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, ステロールなどを含有することが推定されるので、個々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に示すように6つのフラクシ

ョンに分けた。これらのフラクシンの薄層クロマトグラムは図2のとおりである。

表4 不ケン化物のカラムクロマトグラフィーの収量

フラクシオン No.	溶 出 溶 媒	葉柄部(%) *	根部(%)**
1	石油エーテル	15.9	12.8
2	石油エーテル+アセトン(0.4%)	7.0	33.1
3	" (10%)	36.6	44.0
4	" (20%)	38.1	7.7
5	" (50%)	1.7	0.9
6	アセトン	0.7	1.5

* アルミナ15g 試料0.7g

** アルミナ15g 試料0.6g

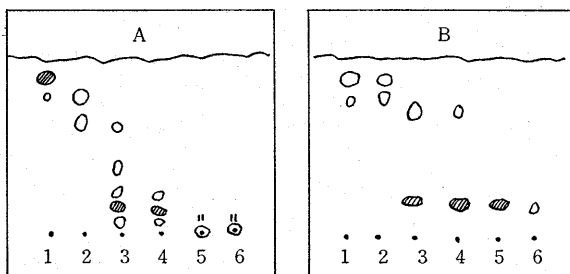


図2. 不ケン化物各フラクシンの薄層クロマトグラム
展開溶媒：石油エーテル/エーテル/酢酸 (70:30:1)
発色：50%硫酸
A：葉柄部 B：根 部
1~6：各フラクシオン

葉柄部のフラクシオン1は、アセトンより再結晶すると白色のmp65~67°C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 GLC 分析によりこの区分の炭化水素の組成を求めると、表5のとおりである。葉柄部ではC₂₀の炭化水

表5 炭化水素の組成

炭 素 数	葉柄部 (%)	根 部 (%)
20	+	+
21	+	+
22	2.8	9.3
23	3.1	11.4
24	3.0	12.3
25	8.0	11.7
26	3.3	10.9
27	11.6	9.9
28	3.3	7.1
29	52.0	10.2
30	2.0	8.9
31	10.7	8.3

素が約50%含まれるが、根部ではどの炭化水素も平均的な含量を示している。

葉柄部のフラクション2は、その色調およびTLCのRf値からカロチンである。根部のフラクション2は、高級の炭化水素であることが認められた。葉柄部のフラクション3, 4と根部のフラクション3, 4, 5にステロールが含まれ、アセチル化して表6の結果を得た。葉柄

表6 ステロールの組成

ステロール	葉柄部(%)	根部(%)
プラシカステロール	+	+
カンペステロール	3.7	+
スチグマステロール	13.7	30.8
β-シトステロール	82.6	69.1

部、根部ともにβ-シトステロールの含量が多い。またこの区分に鎖状の高級アルコールと考えられるものが、GLC分析やTLC分析によって認められた。

(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分析を行なった。そのクロマトグラムから半値幅法により脂肪酸の組成を求めると表7のようになる。根部には

表7 中性脂質の脂肪酸組成

炭素数	葉柄部(%)	根部(%)
14:0	13.5	+
16:0	18.4	17.8
16:1	+	+
18:0	+	+
18:1	23.5	11.4
18:2	8.2	12.8
18:3	36.4	58.0

リノレン酸が非常に多く、Lepageの報告に一致する。

5. 糖脂質区分の検索

(1) 糖脂質のTLC

糖脂質の薄層クロマトグラムは図3のとおりである。同時に展開した標品のモノガラクトシルジグリセド(MGD)のRf値にスポット3が、ジガラクトシルジグリセド(DGD)のRf値にスポット5が一致した。トリガラクトシルジグリセド(TGD)のRf値に一致するスポットはなかった。

別に糖脂質を展開した薄層プレートに50%硫酸を噴霧したのち、加熱炭化し、デンシトメトリーによりスポットの濃淡度を求めると(相対比)、葉柄部のMGDはおおよそ27%, DGDは19%, 根部のMGDは2%, DGD

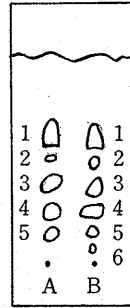


図3. 糖脂質の薄層

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

A: 葉柄部 B: 根部

は72%である。

(2) 糖脂質の分離

糖脂質区分は不純物を含むので、さらにケイ酸カラムクロマトグラフィーを行ない、精製した。その結果は表8および表9のとおりである。

表8 葉柄部糖脂質の再カラムクロマトグラフィー

フラクション No.	溶出溶媒	溶出量(ml)	収量(%)
1	クロロホルム	100	0.2
2	C+A (98:2)	100	1.6
3	" (95:5)	200	18.6
4	" (9:1)	100	12.9
5	" (8:2)	200	17.4
6	" (7:3)	"	13.6
7	" (6:4)	"	13.1
8	" (4:6)	"	16.6
9	" (2:8)	"	2.8
10	メタノール	"	3.3

マリンクロットシリカゲル50g, カラム26×170mm

C: クロロホルム, A: アセトン, 試料: 0.7g

表9 根部糖脂質の再カラムクロマトグラフィー

フラクション No.	溶出溶媒	溶出量(ml)	収量(%)
1	クロロホルム	200	0.2
2	C+A (9:1)	"	1.9
3	" (8:2)	"	14.4
4	" (7:3)	"	23.5
5	" (6:4)	"	9.9
6	" (4:6)	"	25.9
7	" (2:8)	"	15.5
8	アセトン	"	5.0
9	メタノール	"	3.6

マリンクロットシリカゲル50g, 試料: 1.0g

糖脂質は葉柄部ではフラクション3~7に、根部ではフラクション4~6に集中した。これらのフラクションから、アセトンより白色の沈殿が得られ、アセトンより再結してmp250~260°C, 200~210°Cおよび90~95°Cの結晶が得られた。この結晶は α -ナフトール試薬で紫色を呈し、その赤外吸収スペクトルは図4に示すとおりである。この結晶に5%塩酸を含むメタノールを加えて混

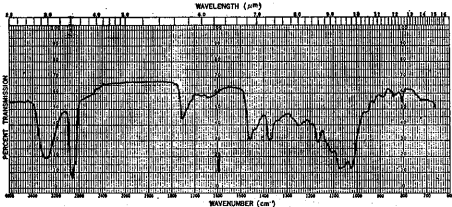


図4. mp250~260°C結晶の赤外吸収スペクトル

合し、37°Cで24時間放置することにより容易にメチル化される。その脂肪酸の組成は表10のとおりである。

表10 結晶物の脂肪酸組成

炭素数	250~260°	200~210°	90~95°
14:0	—	+	34.8
16:0	72.5	29.1	45.8
16:1	—	+	+
18:0	6.2	2.0	4.4
18:1	21.2	53.5	8.8
18:2	—	6.7	3.4
18:3	—	8.6	2.7

加水分解物のメタノール層から融点の高い前2者より白色の沈殿を生じ、アセトンより再結によりmp270~280°Cの結晶を得た。この結晶物の赤外吸収スペクトルを図5に示す。結晶を除いた加水分解物のメタノール層

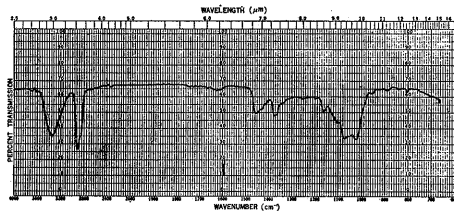


図5. 結晶分解物の赤外吸収スペクトル

からGLC分析によりガラクトースを検出した。

以上の結果から融点の高い結晶糖脂質は、ガラクトース、脂肪酸および高融点のアルコール3者の結合物と考えられる。

(3) 非結晶部分の糖脂質

上記の結晶糖脂質を除いた濾液について、それぞれ前報と同様の緩和な塩酸分解を行ない、脂肪酸メチルと糖脂質のTMS誘導体にした。糖脂質の脂肪酸の組成は表11

に示すとおりである。

表11 糖脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	葉柄部		根部 DGD
	MGD	DGD	
16:0	0.3	19.7	6.7
16:1	+	+	+
18:0	+	+	+
18:1	40.0	5.3	22.0
18:2	+	4.8	16.1
18:3	62.7	70.2	55.3

糖質のTMS誘導体はGLC分析によって、それぞれガラクトースを検出した。

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6のとおりで、葉

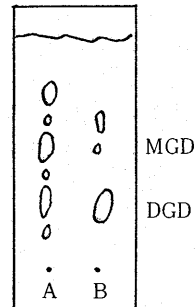


図6. リン脂質の薄層クロマトグラム
展開溶媒: クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)
発色: モリブデンブルー試薬
A: 葉柄部 B: 根部

柄部のスポットは5つ、根部のスポットは6つである。

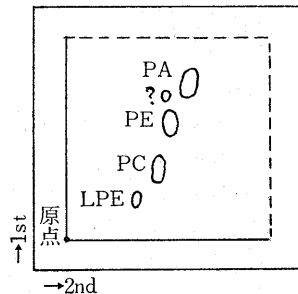


図7. 葉柄部リン脂質の二次元薄層クロマトグラム
展開溶媒: 1st クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)
2nd クロロホルム/アセトン/メタノール/酢酸/水 (10:4:2:2:1)
発色: モリブデンブルー試薬

さらに二次元の TLC を示すと図7, 図8のとおりである。その各スポットの呈色は表12のとおりである。

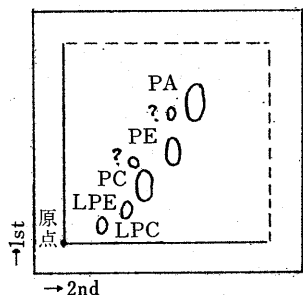


図8. 根部リン脂質の二次元薄層クロマトグラム
展開溶媒, 発色: 図7と同じ

表12 リン脂質の薄層クロマトグラムの呈色

試薬	葉柄部					根部					
	スポットNo.					スポットNo.					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6
硫 酸	B	B	V	B	V	B	B	V	B	B	B
モリブデンブルー	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ドラージェンドルフ	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
ニンヒドリン	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
α-ナフトール	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-

B: 褐色 V: 紫色

以上の結果から葉柄部のスポット1はホスファチジン酸, 2は未同定, 3はホスファチジルエタノールアミン, 4はホスファチジルコリン, 5はリゾホスファチジルエタノールアミンである。根部のスポット1はホスファチジン酸, 2は未同定, 3はホスファチジルエタノールアミン, 4はホスファチジルコリン, 5はリゾホスファチジルエタノールアミン, 6はリゾホスファチジルコリンである。

(2) リンの定量

リンを定量した結果は表13のとおりである。総脂質中

表13 リンの定量

区分	リン脂質区分のP (%)	総脂質中のP (%)
葉柄部	2.92	0.87
根部	4.62	1.16

のP%からリン脂質を計算(ホスファチジルコリンとして)すると, 葉柄部では29.9%, 根部では22.4%となる。

(3) リン脂質の脂肪酸組成

個々のリン脂質の脂肪酸組成を求めるのに, つぎの方法で行なった。まず, 薄層プレート(20×20cm)の原

点に試料を線状に付着せしめ, 乾燥後これを展開する。ついでモリブデンブルー試薬で発色検出し, 分離したバンドをかきとり, これに5%塩化水素を含むメタノールを加えて振とうかくはんする。37°Cで24時間放置してメチル化したのち, 少量のn-ヘキサンを加えて抽出し, これをGLC分析の試料とした。GLC分析の結果は表14および表15のとおりである。

表14 葉柄部リン脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	1	2	3	4	5*
16:0	23.5	29.5	39.5	18.1	49.3
16:1	3.0	1.4	15.8	0.4	1.1
18:0	1.7	1.7	0.4	0.8	0.9
18:1	5.7	1.4	0.3	2.7	0.8
18:2	11.5	8.3	4.1	14.6	9.9
18:3	54.5	57.7	39.8	63.4	37.9

* スポット No.

表15 根部リン脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	1	2	3	4	5	6*
16:0	33.7	30.0	27.2	29.3	43.6	27.3
16:1	0.2	0.2	0.7	0.3	0.2	0.6
18:0	1.0	0.8	2.5	1.2	1.1	0.8
18:1	19.5	17.5	16.3	18.5	10.3	14.5
18:2	11.0	13.1	13.5	11.5	10.2	12.5
18:3	34.6	38.4	39.8	39.2	34.6	44.3

* スポット No.

要 約

1. 生のカブを葉柄部と根部とに分け, それぞれクロロホルム・メタノール混液(2:1)を加えて, ミキサードでミキシングし, 脂質を抽出した。葉柄部から0.5%, 根部から0.1%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。その収量は葉柄部ではそれぞれ25.9%, 48.9%, 25.2%, 根部では34.0%, 36.2%, 29.8%であった。

3. 中性脂質を検索し, 不ケン化物は葉柄部に59.4%, 根部には60.2%を含み, それぞれ炭化水素, 高級アルコール, ステロール, カロチノイド色素からなる。脂肪酸は葉柄部に30.8%, 根部に24.5%を含み, 主としてリノレン酸, リノール酸, オレイン酸, パルミチン酸よりなる。

4. 糖脂質区分を検索し, 葉柄部, 根部からともに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の存在を認めた。

5. リン脂質区分を検索し、葉柄部、根部からともに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、ホスファチジン酸を認め、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) M. Lepage ; *Lipids* 2, (3) 244 (1967)
- 2) 北村光雄 ; 本誌, 第18集 (1974)
- 3) 北村光雄 ; 本誌, 第11集 (1967)
- 4) 伊藤精亮, 岡田周三, 藤野安彦 ; *農化* 48, (8) 431 (1974)