

# 野菜類の脂質成分に関する研究 (第17報)

— シュンギクの脂質について —

北村 光雄

## はじめに

シュンギクの化学成分について、石津<sup>1)</sup>は溶媒抽出により酪酸、イソ吉草酸などの有機酸の存在を明らかにしている。樫本<sup>2)</sup>はシュンギクの種子から油分を抽出し、その構成脂肪酸について報告している。Bohlmann<sup>3)</sup>は溶媒抽出によりアセチレン化合物や揮発性油の成分について報告している。また、亀岡ら<sup>4)</sup>はシュンギクを茎葉部と根部に分け、それぞれ水蒸気蒸留をおこない、水蒸気揮発性油をとり、その成分を検索し、香気物質を明らかにしている。

著者はシュンギクの茎葉部を溶媒抽出し、その脂質成分を調べたので報告する。

## 実験方法

### 1. 脂質の抽出

試料は神奈川県大和市下鶴間の農家で栽培されたもので、茎葉部 1.5kg を用いた。抽出の前処理として、プランチングをおこなった。80℃の湯に1分間つけ、ただちに冷水中に投入冷却したのち、引き揚げて水を切る。脂質の抽出方法は既報<sup>5)</sup>と同様、クロロホルム・メタノール混液 (2:1) を用いて抽出した。

### 2. 脂質の分画、同定および定量

脂質の分画は既報<sup>6)</sup>により中性脂質、糖脂質、リン脂質に分けた。脂質の同定および定量は既報<sup>6)</sup>に準じておこなった。

## 実験結果と考察

### 1. 脂質の含量

シュンギクの茎葉部 1.5kg からクロロホルム・メタノール混液で脂質を抽出し、6.1g (0.4%) の黒緑色総脂質を得た。

### 2. 総脂質のカラムクロマトグラフィー (CMC) による分画

総脂質をケイ酸の CMC により分画した結果は表1のとおりである。糖脂質、リン脂質の含有量が植物種子油に比べてかなり多い。

表1 ケイ酸のCMCによる総脂質の分画

区 分	収量 (%)	状 態
中性脂質	29.7	黒緑色半固体
糖脂質	42.6	黒色半固体
リン脂質	27.4	暗褐色半固体

### 3. 中性脂質区分の検索

(1) 中性脂質区分の薄層クロマトグラフィー (TLC)  
この区分の薄層クロマトグラムは図1のとおりである。標準物質として炭化水素 (ノナコサン)、トリグリセリド (精製大豆油)、遊離脂肪酸 (オレイン酸)、ステロール ( $\beta$ -シトステロール) を用い、TLC でそれぞれ同定した。

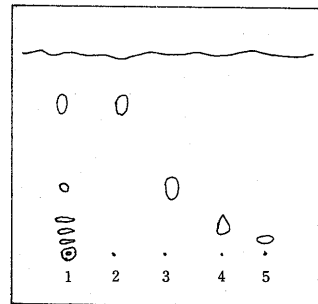


図1 中性脂質区分の薄層クロマトグラム

展開溶媒: 石油エーテル/エーテル / 酢酸 (70:30:1)

発色: 50%硫酸

試料: 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

試料0.1~0.2gを秤りとり、10mlのエーテルに溶かし、メタノール性のN-KOH溶液2mlを加えて混合し、24時間放置して冷ケン化した。ケン化後常法により不ケン化物と脂肪酸に分けた。その収量の平均値は表2のとおりである。

表2 不ケン化物および脂肪酸の収量

区 分	収量 (%)	状 態
不ケン化物	51.7	黄赤色固体
脂 肪 酸	31.6	黒色固体

(3) 不ケン化物

この不ケン化物にはTLCにより、炭化水素、高級アルコール、ステロールなどを含むことが推定された。そこで個々の成分の分離を目的として、アルミナによるCMCをおこない、表3に示すように7つのフラクションに分けた。これらのフラクションの薄層クロマトグラムは図2に示すとおりである。

表3 不ケン化物のアルミナCMC

No.	溶 出 溶 媒	溶出量 (ml)	収量 (%)
1	石油エーテル	50	13.9
2	P + A (99.6 : 0.4)	100	8.8
3	〃 (90 : 10)	〃	48.9
4	〃 (80 : 20)	〃	5.5
5	〃 (60 : 40)	〃	3.0
6	アセトン	〃	2.2
7	メタノール	〃	3.6

P : 石油エーテル A : アセトン

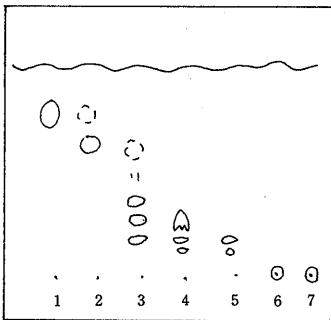


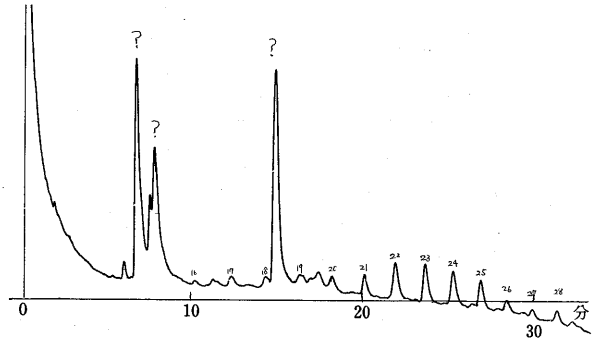
図2 不ケン化物各フラクションの薄層クロマトグラム

展開溶媒：石油エーテル / エーテル / 酢酸 (70 : 30 : 1)

発色：50%硫酸

1~7：フラクションNo.

(i) フラクション1：この区分はTLCにより炭化水素であることを認めた。ガスクロマトグラフィー(GLC)により、その炭化水素のクロマトグラムは図3のとおりである。大きなピークの物質は未同定で、小さなピークの上の数値は、その炭化水素の炭素数を示すものである。標準物質として市販(東京化成)の炭化水素C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub>とリンゴ果皮およびヒエのロウ物質から分離精製した炭化水素C<sub>27</sub>, C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub>を用いた。



SE-30, 3%, 100~260°/5°C

図3 フラクション1のガスクロマトグラム

また、この区分を温アセトンに溶解し、放冷すると白色の沈殿物を生ずる。アセトンより再結晶したものは融点70~73°Cを示し、ガスクロマト分析するとC<sub>24</sub>~C<sub>28</sub>を中心とする炭化水素であった。アセトンの母液からは未同定の炭化水素が得られた。

(ii) フラクション2：この区分にアセトンを加え、暖めて溶解し、放冷すると白色の沈殿物を生ずる。これをアセトンで再結晶して、融点74~75°Cの結晶を得た。この結晶はリーベルマン反応陰性で、図4の赤外線吸収スペクトルを示す。この結晶をアセチル化し、ガスクロ分析により、C<sub>22</sub>, C<sub>24</sub>, C<sub>26</sub>の高級アルコールの混合物であることを認めた。高級アルコールの標準物質としてヒエおよびコマヌカのロウ成分から分離精製したC<sub>24</sub>~C<sub>28</sub>の高級アルコールを用いた。また、アセトン沈殿物を除いた母液からリテンションタイムの大きい物質が検出されたが、これも未同定である。

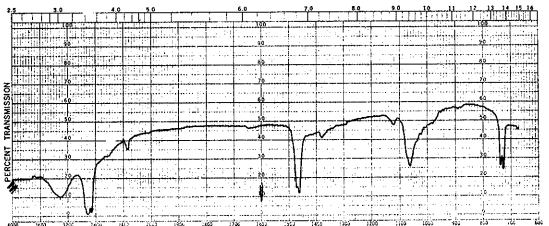


図4 結晶 (mp.74~75°C) の赤外線吸収スペクトル

(iii) フラクシオン3：この区分もアセトンを用いて再結晶を試みると、最初の結晶はフラクシオン2で得られたものと同一であったが、母液を濃縮して得られた結晶は融点140~143℃で、リーベルマン反応は陽性である。これらのことからこの結晶はステロールである。GLCによりステロール組成を求めると表4のとおりである。また、この結晶の母液からもステロールが検出された。

表4 ステロールの組成

ステロール	Rt	%
ブラシカステロール	5.3	3.0
カンベステロール	7.1	5.6
スチグマステロール	8.6	24.2
β-シトステロール	10.4	67.1

SE 30 3% 280℃, アセテート誘導体  
Rt : retention time

(iv) フラクシオン4：TLCにより脂肪酸が検出されたので、再ケン化して脂肪酸をとり除き、不ケン化物をアセトンにより再結晶すると、白色の融点140~142℃の結晶を得た。この結晶はリーベルマン反応は陽性で、GLCからフラクシオン3と同じステロールであった。この結晶の母液からも同様ステロールを検出した。

(v) フラクシオン6, 7：これらの区分は赤褐色粘りような物質で、GLCから高沸点物質であった。

以上が不ケン化物成分の検出であるが、各成分の量的な関係をつぎのように求めた。不ケン化物を展開した薄層プレートに、硫酸を噴霧したのち、加熱炭化し、デンシトメーターにより、そのスポットの濃淡度を求めると(相対比)、図5のようになる。

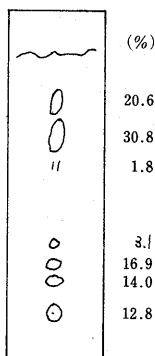


図5 不ケン化物各成分の相対比

展開溶媒：石油エーテル/エーテル  
酢酸 (70:30:1)  
発色：50%硫酸

#### (4) 脂肪酸

中性脂肪酸区分の混合脂肪酸は常法によりメチル化し、GLCによる分析をおこなった。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5のようになる。中性脂質にはリノレン酸、リノール酸を主とする脂肪酸からなる。

表5 中性脂質の脂肪酸組成

炭素数	Rt	%
14:0	2.2	+
16:0	3.5	13.5
16:1	4.1	1.8
18:0	6.0	1.8
18:1	6.9	4.8
18:2	8.5	36.6
18:3	11.1	41.5

DEGS 15% 190℃,  
Rt: retention time

#### 4. 糖脂質区分の検索

##### (1) 再ケイ酸 CMC

糖脂質区分には多数の不純物が含まれるので、精製の目的でさらにケイ酸のCMCを表6のようにおこなった。各フラクシオンの薄層クロマトグラムは図6のとおりである。同様に展開したプレートを、硫酸を噴霧して高温で加熱炭化するとまだ不純物のスポットがあらわれる。

表6 糖脂質区分の再CMC

No.	溶出溶媒	溶出量 (ml)	収量 (%)
1	クロロホルム	100	4.9
2	C+A (95:5)	200	13.1
3	〃 (80:20)	100	27.9
4	〃 (60:40)	〃	22.9
5	〃 (40:60)	〃	7.5
6	〃 (20:80)	〃	4.5
7	アセトン	〃	10.5
8	メタノール	〃	8.7

C:クロロホルム A:アセトン

##### (2) 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)

フラクシオン3・4と7・8は糖脂質がもっとも濃縮された区分であるが、さらにケイ酸のCMCおよびTLCを繰り返して、DGDとTGDを分離精製した。その赤外線吸収スペクトルは図7に示すとおりである。1750cm<sup>-1</sup>

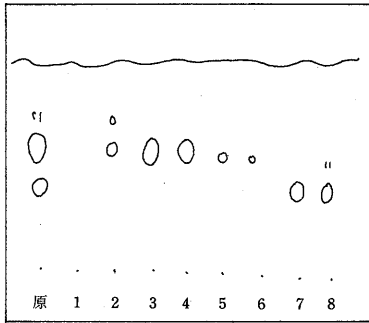


図6 糖脂質区分の薄層クロマトグラム

展開溶媒：クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)  
 発色： $\alpha$ -ナフトール試薬  
 原：原料  
 1~8：フラクションNo.

にエステルカルボニルの吸収,  $1070\text{cm}^{-1}$ に糖のOHの大きな吸収があり, 文献値<sup>7)</sup>に一致する。このDGDに5%塩酸を含むメタノールを加えて4時間煮沸分解し, 脂肪酸のメチルエステルと水溶性部分に分けた。水溶性部分はイオン交換樹脂カラムを通して脱塩し, さらにTMS化して, それぞれGLC分析をおこなった。脂肪酸の組成は表7のとおりである。また, 水溶性部分のTMS化合物はそれぞれガラクトースおよびその他分解産物を検出した。

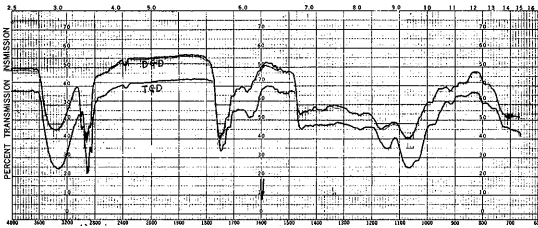


図7 糖脂質の赤外線吸収スペクトル

表7 糖脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	DGD	TGD
16:0	0.6	4.6
16:1	—	—
18:0	—	—
18:1	—	+
18:2	4.1	4.5
18:3	95.2	90.5

DEGS 15% 190°C

## 5. 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8に示すとおりである。スポットは6個である。さらに二次元のTLCを示すと図9のとおりである。その各スポットの呈色は表8のとおりである。

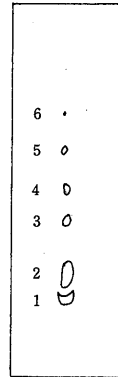


図8 リン脂質の薄層クロマトグラム

展開溶媒：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

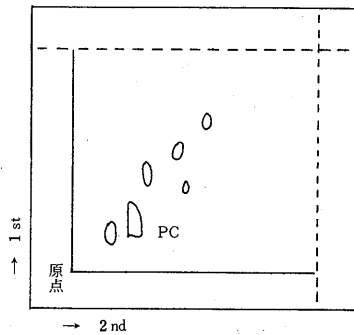


図9 リン脂質の二次元薄層クロマトグラム

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8 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	5	6
硫酸	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	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -ナフトール	-	-	-	-	-	-

B:褐色 V:紫色

以上の結果から図8のスポット No. 2はホスファチジルコリン (PC) で、その他のスポットは未同定である。

(2) リン脂質の赤外線吸収スペクトル

リン脂質区分をケイ酸の CMC および製造的 TLC を繰り返し、単一のスポットを与える PC を得た。その赤外線吸収スペクトルは図10に示すとおりである。1240 $\text{cm}^{-1}$  に P=O の吸収、1090 $\text{cm}^{-1}$ 、1060 $\text{cm}^{-1}$  に P-O-C の吸収、970 $\text{cm}^{-1}$  に POH の吸収があり、文献値<sup>8)</sup> に一致する。

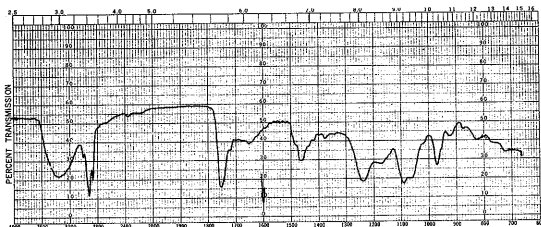


図10 ホスファチジルコリンの赤外線吸収スペクトル

(3) リン脂質の脂肪酸組成

PC 区分をさらにケイ酸の CMC や TLC で分離精製する。単離した PC を少量のクロロホルムに溶解し、メタノール性の0.4N-水酸化ナトリウム溶液を加えて混合し、室温で2時間放置してメチル化した。これを GLC の試料とした。GLC 分析の結果は表9のとおりである。

表9 リン脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	Rt	PC
16:0	3.5	24.7
16:1	4.2	+
18:0	6.0	0.8
18:1	6.8	3.3
18:2	8.4	50.5
18:3	11.0	20.7

DEGS 15% 190°C

Rt: retention time

要約

1. シュンギクの茎葉部をブランチングしたのち、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。その総脂質の収量は 0.4% である。

2. 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、糖脂質、リン脂質区分に分けた。その収量はそれぞれ29.7%, 42.6%, 27.4%である。

3. 中性脂質区分を検索し、不ケン化物は51.7%含まれ、炭化水素、高級アルコール、ステロールおよびカロチノイドからなる。脂肪酸は31.6%含まれ、主としてリノレン酸、リノール酸、パルミチン酸よりなる。

4. 糖脂質区分を検索し、ジガラクトシルジグリセリド、トリガラクトシルジグリセリドが含まれることを認めた。

5. リン脂質区分を検索し、ホスファチジルコリンのほかに、5種類のリン脂質が含まれることを見出した。

参考文献

- 1) 石津日出子; 武庫川女子大紀要, 13, 89 (1966)
- 2) 榎本竹治; 日本化学雑誌, 79, 873 (1958)
- 3) F. Bohlmann; Chem. Ber., 94, 3139(1961)
- 4) 亀岡弘ら; 農化, 49, 625(1975)
- 5) 北村光雄; 本誌, 第18集(1974)
- 6) 北村光雄; 本誌, 第22集(1978)
- 7) 伊藤精亮ら; 農化, 48, 431(1974)
- 8) “脂質の化学”, P94; “脂質研究法”, P92, 244