

野菜類の脂質成分に関する研究 (第20報)

—ネギの脂質について—

北村光雄

はじめに

ネギはユリ科の1, 2年生草本で, 原産地はシベリアのアルタイまたは中国西部ではないかといわれている。アジア諸国では古くから栽培され, わが国でも古くから全国的に栽培されている野菜である。品種を大別すると緑色部の多い葉ネギと, 白色部の多い根深ネギ(1本ネギ)となる。いずれも特有の風味が好まれるが, 多量の糖分(5~7%)と刺激成分の硫化アリル化合物によるものである。カルシウム, 鉄, ビタミンCなどは葉ネギに多く含まれる。ネギの化学的成分で, 木原¹⁾は炭水化物についてグルコース, フラクトース, ショ糖, スコロドースおよびマンナン, フラバンなどの存在を証明, あるいは推定している。また水野²⁾はペーパークロマトグラフィーにより多数の単糖類, 少糖類, 多糖類の存在を証明している。ネギ類の抗酸化物質として内藤³⁾はスルフィド類をあげている。

著者は根深ネギ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

試料は正月用として出荷された根深ネギで, 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⁴⁾と同様クロロホルム・メタノール混液(2:1 V/V)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⁵⁾の方法により, 中性脂質, 糖脂質, リン脂質に分けた。また脂質の同定および定量は既報⁵⁾に準じておこなった。

実験結果と考察

1. 脂質の含量

根深ネギの茎葉部2 kgからクロロホルム・メタノール混液で脂質を抽出し, 5.6 g (0.3%)の黒緑色総脂質を得た。

2. 総脂質の脂肪酸組成

総脂質にC₁₇酸を内部標準物質として添加し, 常法によりメチルエステル化物をつくり, ガスクロマトグラフィー(GLC)で分析した。その結果は表1のとおりである。

表1 総脂質の脂肪酸組成

炭素数	Rt	%
12:0	1.7	+
14:0	2.3	0.1
16:0	3.9	17.9
16:1	4.8	0.4
17:0	5.2	0.3
18:0	7.0	0.4
18:1	7.9	2.9
18:2	9.7	42.8
18:3	12.8	34.9

カラム: DEGS 15%, 180°C, Rt: retention time

総脂質中の脂肪酸はリノール酸, リノレン酸, パルミチン酸が主成分で, その他6種の少量の脂肪酸からなっている。

3. 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2のとおりである。

表2 ケイ酸のCMCによる総脂質の分画

区分	収量 (%)	状態
中性脂質	39.5	黒緑色半固体
糖脂質	35.7	黒色半固体
リン脂質	24.2	暗褐色半固体

糖脂質, リン脂質の含量が中性脂質に対し, 植物種子油に比べてかなり高いのが特徴である。

4. 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)

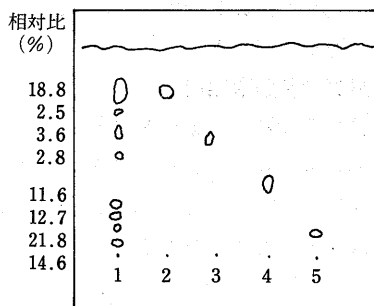


図1 中性脂質区分の薄層クロマトグラム

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

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 (ヌジオール), 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 (β -シトステロール) を用い, TLC でそれぞれ同定した。各成分の量的な関係をつぎのように求めた。脂質を展開した薄層プレートに硫酸-重クロム酸

試薬を噴霧したのち, 加熱炭化し, デンシトメーターによりそのスポットの濃度 (相対比) を求めると図1のようである。トリグリセリドは少なく, 炭化水素, ステロール, その他脂質が多く含まれる。

(2) 不ケン化物および脂肪酸の分離

中性脂質2.0gを20mlのエーテルに溶解し, メタノール性の N-KOH 30mlを加えて, 2時間湯浴上で加熱ケン化する。ケン化したのち常法により不ケン化物と脂肪酸に分けた。その収量は表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	収量 (%)	状態
不ケン化物	48.0	濃赤色固体
脂肪酸	36.3	黒色固体

(3) 不ケン化物

この不ケン化物には炭化水素, 高級アルコール, ステロールなどが含まれるので, これを単離する目的でアルミナによる CMC をおこない, 表4に示すように10のフラクションに分けた。

表4 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	70	9.7
2	"	100	17.1
3	P + A (99:1)	"	5.1
4	" (98:2)	"	14.6
5	" (95:5)	"	23.0
6	" (90:10)	"	21.1
7	" (80:20)	"	5.2
8	" (60:40)	"	1.4
9	" (20:80)	"	0.4
10	メタノール	"	2.4

*アルミナ30g, 試料0.95g, P:石油エーテル, A:アセトン

(i)フラクション1:この区分は炭化水素であることを認めた。GLCにより18種類の炭化水

素を検出した。その結果は表5のとおりで、相当する炭素数は市販(東京化成)の標準物質のリテンションタイムより求めた。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が生ずる。これをアセトンより再三再結晶したものは融点38~40℃を示し、この結晶の赤外線吸収スペクトルは図2のとおりで炭化水素である。GLCで分析するとC₂₃~C₃₁の炭化水素であった。

表5 フラクション1のGLC*

No.	Rt	組成 (%)	相当炭素数
1	2.2	1.8	
2	3.0	11.3	C ₁₄
3	4.3	3.0	
4	7.3	2.1	C ₁₈
5	10.7	8.9	C ₂₀
6	13.6	6.8	
7	15.2	1.0	
8	15.7	8.7	C ₂₃
9	17.3	1.7	
10	18.4	9.4	C ₂₅
11	18.9	6.7	
12	20.7	4.5	
13	21.4	12.4	C ₂₇
14	21.8	7.0	
15	23.3	2.4	
16	23.6	2.7	
17	24.2	3.2	C ₂₉
18	24.5	2.8	

* カラム SE 30 3%, 140→260°/5℃

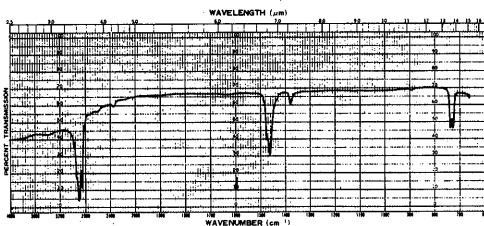


図2 炭化水素の赤外線吸収スペクトル

(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を生ず

る。これをアセトンより再三再結晶したものは融点76~77℃を示し、この結晶の赤外線吸収スペクトルは図3のとおりで、1725cm⁻¹に吸収をもつ鎖状カルボニル化合物のようである。この物質はGLC分析によりこの区分に50%以上含まれ、その他はフラクション1と同様の炭化水素であった。

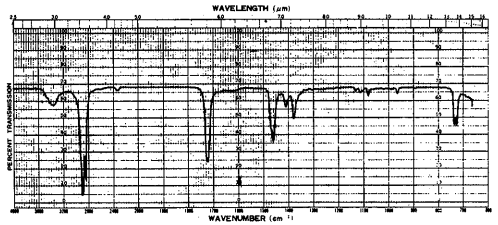


図3 赤外線吸収スペクトル

(iii)フラクション3: この区分も TLC および GLC 分析によりフラクション2と同様の鎖状カルボニル化合物が大部分を占める。

(iv)フラクション4: この区分はアセトンより白色の沈殿を生ずる。これをアセトンで再結晶し、融点68~70℃の結晶を得た。この結晶はリーベルマン反応陰性で、赤外線吸収スペクトルは図4を示し、高級アルコールであることを認めた。この結晶をアセチル化し、GLC分析によりC₂₂~C₂₈の高級アルコールであった。

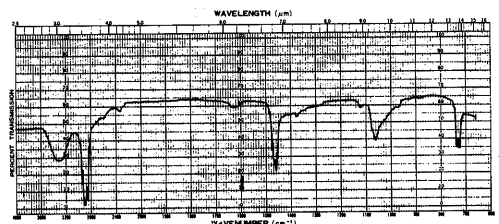


図4 高級アルコールの赤外線吸収スペクトル

(v)フラクション5: この区分からの結晶は融点78~80℃を示し、リーベルマン反応陰性である。この結晶のアセチル化物はGLC分析によりC₂₄~C₃₀の高級アルコールを検出した。

(vi)フラクション6：この区分もアセトンを用いて再結晶すると、白色の柱状結晶を得た。この結晶は融点132~134℃、リーベルマン反応は陽性で、赤外線吸収スペクトルは図5に示すとおりで、ステロールであることを認めた。この結晶をピリジンに溶解し、TMS化してGLCで分析した結果は表6のとおりである。

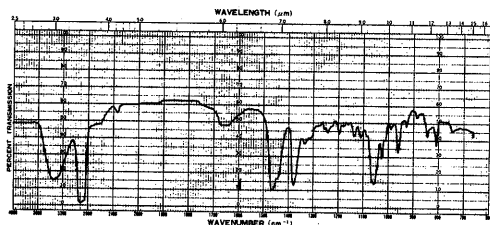


図5 ステロールの赤外線吸収スペクトル

表6 ステロール区分のGLC*

ステロール	Rt	組成 (%)
ブラシカステロール	5.1	0.1
未同定ステロール	6.5	2.1
カンベステロール	8.5	7.7
スチグマステロール	10.7	7.0
β-シトステロール	13.0	82.7

*カラム SE 30, 260℃, Sample TMS化物

(vii)フラクション7~10：これらの区分は赤褐色粘ちような物質で、TLCのRf値は小さく、GLC分析からも高沸点物であった。

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-重クロム酸試薬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度(相対比)を求めると図6のようである。

(4) 脂肪酸

中性脂質区分の混合脂肪酸は5%塩化水素を含むメタノールよりメチル化し、GLC分析をおこなった。脂肪酸組成はガスクロマトグラフにクロマトパック CR-IA型(島津)を連動させて求め、その結果は表7のとおりである。

表7 中性脂質区分の脂肪酸組成*

炭素数	Rt	%
12 : 0	1.6	0.5
14 : 0	2.5	2.0
16 : 0	4.1	18.0
16 : 1	5.0	1.2
18 : 0	7.0	1.3
18 : 1	8.0	3.8
18 : 2	10.0	43.9
18 : 3	13.2	28.3

*カラム DEGS 15%, 190℃

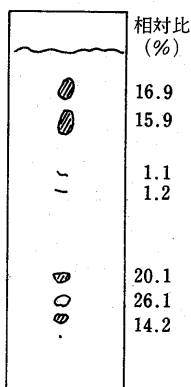


図6 不ケン化物の薄層クロマトグラム

展開溶媒：石油エーテル/エーテル/酢酸 (70 : 30 : 1)

発色：硫酸-重クロム酸試薬

5. 糖脂質区分の検索

(1) 糖脂質の TLC

この区分の TLC は図7のとおりである。スポット1はジガラクトシルジグリセリド(DGD)、スポット5はトリガラクトシルジグリセリド(TGD)であると推定される。

(2) 糖脂質の分離と確認

糖脂質区分には未だ多くの不純物が含まれるので、DGDおよびTGDを単離する目的で、製造的 TLCをおこなった。分離した相当するDGDおよびTGDの赤外線吸収スペクトルは図8のとおりで、1750cm⁻¹にエステルカルボ

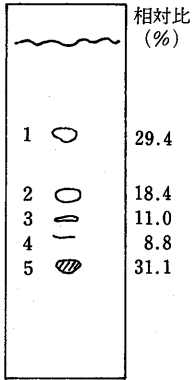


図7 糖脂質区分の薄層クロマトグラム
 展開溶媒：クロロホルム/メタノール/水 (65:25:4)
 発色： α -ナフトール試薬

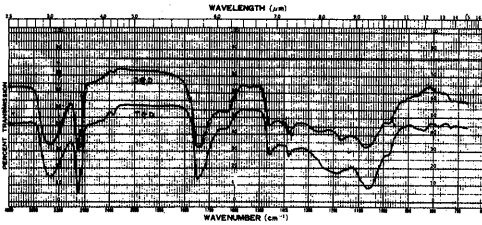


図8 糖脂質の赤外線吸収スペクトル

ニルの吸収, 1070cm^{-1} に糖のOHの吸収があり, 文献値⁶⁾に一致する。これら糖脂質にそれぞれ5%塩酸を含むメタノールを加えて煮沸分解し, 脂肪酸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8のとおりである。水溶性部分のTMS化物はガラクトースおよびその他糖類のピークに一致するものは得られなかった。

表8 糖脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	スポット 1	スポット 5
16:0	2.3	18.5
18:0	—	—
18:1	—	0.7
18:2	6.3	44.6
18:3	81.0	32.8

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9のとおりである。スポットの呈色は表9のとおりである。さらに二次元のTLCを示すと図10のとおりで, スポット1と3はそれぞれ2つのスポットに分かれた。以上のことから図9のスポット1はホスファチジルエタノールアミン (PE) と未知のリン脂質混合物, スポット3はホスファチジルコリン (PC) と未知のリン脂質混合物, スポット5はリゾホスファチジルエタノールアミン (LPE), スポット6はリゾホスファチジルコリン (LPC) と推定される。

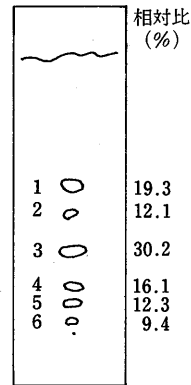


図9 リン脂質の薄層クロマトグラム

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

表9 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	B	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

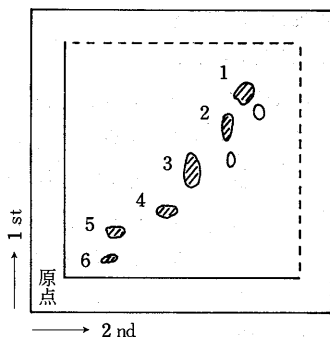


図10 リン脂質の二次元薄層クロマトグラム

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

(2) リン脂質の脂肪酸組成

リン脂質区分から TLC で分離精製した PC および PE をそれぞれ三フッ化ホウ素法によりメチル化した。分析の結果は表10のとおりである。

表10 リン脂質の脂肪酸組成 (%)

炭素数	PC	PE
16：0	21.8	30.2
16：1	0.9	—
18：0	—	0.4
18：1	3.8	2.6
18：2	51.7	57.1
18：3	18.8	8.1

要 約

1. 根深ネギの茎葉部にクロロホルム・メタノール混液 (2：1 V/V) を加えてミキシ

グし、脂質を抽出した。その総脂質の収量は0.3%である。

2. 総脂質中の脂肪酸組成は約42%のリノール酸、約35%のリノレン酸、約18%のパルミチン酸が主成分で、その他少量の脂肪酸からなっている。

3. 総脂質はケイ酸の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39.5%、35.7%、24.2%である。

4. 中性脂質区分には不ケン化物48.0%含まれ、炭化水素、高級アルコール、ステロイド、カロチノイドおよびカルボニル化合物からなる。脂肪酸は36.3%含まれ、主としてリノール酸、リノレン酸、パルミチン酸よりなる。

5. 糖脂質区分を検索し、ジガラクトシルグリセリドおよびトリガラクトシルグリセリドに似かよった成分を検出したが、確認できなかった。

6. 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のほか6種類のリン脂質が含まれることを見出した。

参考文献

- 1) 木原芳次郎：農化，5，416(1921)
- 2) 水野卓，金兵忠雄：農化，29，665(1955)
- 3) 内藤茂三，山口直彦，横尾良夫：日食工誌，28，291(1981)
- 4) 北村光雄：本誌，第18集(1974)
- 5) 北村光雄：本誌，第22集(1978)
- 6) 伊藤精亮，岡田周三，藤野安彦：農化，48，431(1974)