

# 青ネギ由来のサポニンによる発芽抑制効果

## Sprout inhibition with Japanese green onion saponins

### Abstract

In recent years, the effects of herbicides on living organisms have become serious problems. Previous studies have shown that saponins derived from Quinoa have a sprout inhibitory effect. Based on this, we hypothesized that saponins contained in the roots of Japanese green onions, which are waste material, would also indicate sprout inhibition. Saponins were extracted from the roots with ethanol. Sprout experiments showed that germination was inhibited by up to 92.3%.

### 1. はじめに

今日では除草剤による環境破壊や生物への影響が問題視されている。そもそもサポニンとは植物などに広く含まれている配糖体の一種のことだ。先行研究より、キヌア由来のサポニンではキク科で38%、イネ科で34%、アブラナ科で71%発芽率が低下することが分かっている(2019 片山)。このことから廃材である青ネギの根に含まれるサポニンでも発芽抑制を示すと考えた。

### 2. 研究方法及び結果

実験としては以下の3つ (1)サポニンの抽出、(2)薄層クロマトグラフィー、(3)発芽実験を行った。

#### (1)サポニンの抽出

##### 目的

青ネギの根からサポニンを抽出する。

##### 方法

水による抽出方法とエタノールによる抽出方法の2つを行った。

##### <水抽出>

1. 青ネギの根を次亜塩素酸水(150ppm)と蒸留水で洗浄
2. 自然乾燥させる
3. 得た乾燥サンプルをコーヒーミルで粉砕
4. 蒸留水を加えて一晩置く
5. 濾過を行う
6. 濾液を乾燥させる

##### <エタノール抽出>

1. 青ネギの根を次亜塩素酸水(150ppm)と蒸留水で洗浄
2. 自然乾燥させる
3. 得た乾燥サンプルをコーヒーミルで粉砕した
4. 99.5vol%エタノールを添加して一晩置く
5. 濾過を行い濾液を乾燥させる
6. 乾燥させて得た固形物に熱を加えた。



図1 水抽出で得たサポニン



図2 エタノール抽出で得たサポニン

## 結果

根 1g(乾燥重量)から抽出されたサポニンは、水抽出が 19.8 mg、エタノール抽出が 31.6 mgであった。

## (2) 薄層クロマトグラフィー

### 目的

薄層クロマトグラフィーでサポニンの存在を確認する。

### 方法

1. 薄層クロマトグラフィー用のボックスに展開液(クロロホルム：メタノール：水=6：3：0.5)を入れ、蓋をして30分間飽和させる。
2. TLCプレート(TLCアルミニウムプレート シリカゲル 60F<sub>254</sub>、メルク社)の下から1cmと上から5mmのところを鉛筆で線を引く。
3. 自然乾燥させたサンプル(青ネギの葉、根、水抽出、エタノール抽出)を30 µg/µlになるように80%エタノールで調整し、等間隔につけた印の上にそれぞれ3 µl(90 µg)スポットする。
4. ドライヤーを用いてスポットしたサンプルを完全に乾燥させた後、展開液の入ったボックスに垂直になるように立てる。
5. プレートの上から5mmの線まで展開液が上がったら取り出してドライヤーを用いて、乾燥させる。
6. UV照射(254 nm)でスポットを確認後、ドラフト内で呈色試薬(p-アニスアルデヒド試薬：p-アニスアルデヒド 5.3ml、エタノール 100ml、硫酸 1ml Ehrlich's 試薬：p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 0.8g、メタノール 40ml、塩酸 40ml)をそれぞれプレートに万遍なくスプレーし、160°Cのホットプレートでカラースポットが出現するまで約5分間加熱した。

## 結果

UV照射を行うと、吸収スポットからパターンが分かり(図3)、p-アニスアルデヒド試薬で発色させるとUV吸収スポットが検出されない部分のスポットを確認することができた(図4)。また、Ehrlich's 試薬はスピロスタノール型サポニンとフロスタノール型サポニンの内、フロスタノール型サポニンのみを発色させるため、図4と図5を比較することによってサポニンの型を判別することができた。図3より、青ネギの根にはサポニンが含まれていることが分かる。また、図4と図5より、青ネギの根にはフロスタノール型サポニンとスピロスタノール型サポニンの両方が含まれていることが分かる。

## 薄層クロマトグラフィーの結果

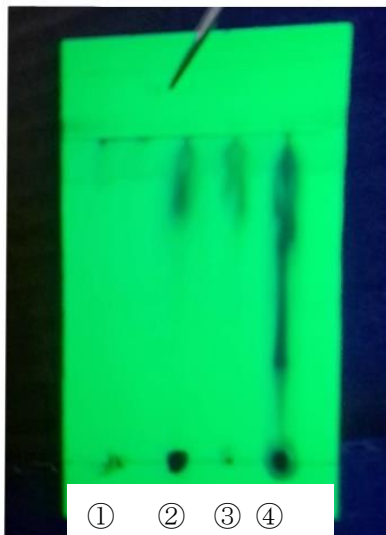


図3 UV照射(254nm)

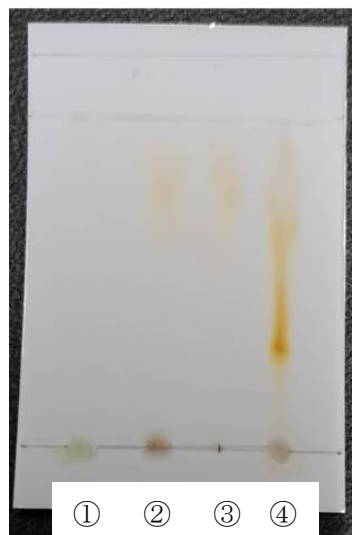


図4 p-アニスアルデヒド



図5 エーリッヒ

①葉 ②根 ③水抽出 ④エタノール抽出

### (3)発芽実験

目的

(2)で作製した抽出物に発芽抑制効果があるかどうか調べる

方法

アブラナ科であるカイワレダイコンの種子を用いて発芽試験を行った(図6)。

タッパーの中にサポニン蒸留水で所定の濃度にした溶液と溶液で湿らせたスポンジを入れ、スポンジの上に種子を30粒のせた。19℃で暗所のインキュベーター内で栽培した。

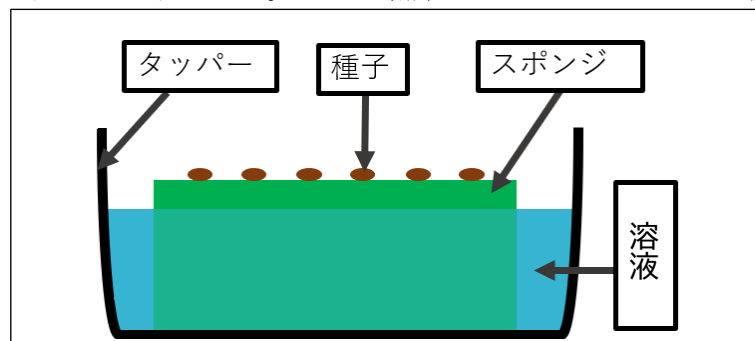


図6 発芽試験の模式図

水抽出とエタノール抽出で得たサポニンをそれぞれ蒸留水で調整し、発芽抑制率を調べた。濃度は0 mg/ml、100 mg/ml、500 mg/ml、800 mg/mlとした。各抽出法と濃度につき3回行った。

発芽抑制率 = 発芽しなかった種子 / 種子の総数(90粒) で求めた。

結果

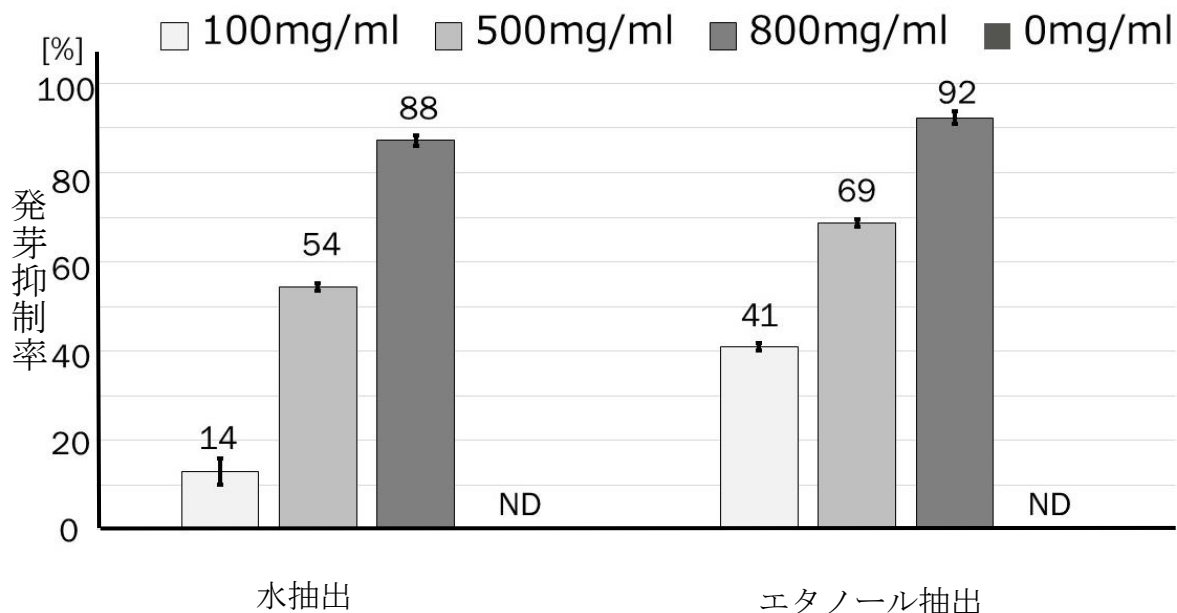


図7 発芽抑制率のグラフ

※エラーバーは標準誤差

発芽しなかった種子において、種をまいてから12日後にも発芽率の測定を行ったが発芽したものはなかった。また、成長したカイワレダイコンに溶液を散布しても成長に影響は見られなかった(図7)。

### 3. 考察

水抽出とエタノール抽出において、100 mg/ml、500 mg/ml、800 mg/ml で発芽抑制が見られたが、サポニンの抽出量と発芽抑制率の2つの観点からではエタノール抽出の方が発芽抑制に優れていると考えられる。また、成長したカイワレダイコンに溶液を散布しても影響はなかったことと、12日間観察を行っても発芽したものはないことから、選択性除草剤としての使用できると考えられる。

### 4. 今後の課題

本研究ではカイワレダイコンの種子のみで実験を行ったため、他のアブラナ科の種子や違う科の種類でも発芽試験を行うことが今後の課題である。また、野菜種子で行ったため、実用化を目指すには雑草種子での発芽試験も必要である。ネギに含まれるサポニンはフロスタノール型サポニンとスピロスタノール型サポニンであり、どちらの型のサポニンが発芽を抑制したのかを明らかにする実験を行うことができなかった。そのため、今後の展望としては、逆相クロマトグラフィーでそれぞれのサポニンを取り出し、発芽実験を行うことが必要である。

### 5. 参考文献

- 手島祥貴「抗菌活性を有する Allium 属植物サポニンの探索」山口大学. 2010 年  
伊藤真一・手島祥貴「ネギ由来のサポニンを有効成分とする抗菌活性剤」山口大学. 2012 年  
片山賢哉「植物由来のサポニンが除草剤使用を減らす!？」京都府立桂高校. 2019 年  
<https://sh.higo.ed.jp/kumanou/wysiwyg/file/download/1/1241> 最終閲覧 2022.12.15  
望月恵美子・山本敬男「薄層クロマトグラフィー(TLC)による Allium 属植物中のサポニンの分析」山梨衛公研年報 第44号 14~17頁. 2000年