

# にんにく製品中のアリイン, アリシン含量について

山本敬男 望月恵美子 堀江正一\*<sup>1</sup> 猪飼誉友\*<sup>2</sup>

## Content of Alliin and Allicin in Garlic Products

Takao YAMAMOTO Emiko MOCHIZUKI  
Masakazu HORIE and Yoshitomo IKAI

にんにくは古来より食用として、また医薬品として重用されてきた。古代エジプトでは、ピラミッド建設に従事した労働者に、体力増強の目的でにんにくが支給されたという話がある。にんにくの効用は、健胃、発汗、利尿、去痰作用が知られ、伝染性胃腸炎、赤痢、チフス、高血圧症に用いられてきた<sup>1)</sup>。近年では、動脈硬化、がん予防の観点から改めて見直されている。にんにくおよびにんにく製品中の生理活性成分としては、数種の含硫化合物が知られているが、強い抗菌活性を持つアリシンおよびその前駆物質であるアリインは、にんにくに特有な成分である。今日、にんにくを加工した製品は種々の製品が販売され、健康食品を代表するものとなっている。

我々は前報で、多波長同時検出器付き HPLC を用いたアリインおよびアリシンの同時分析法をにんにく使用の判別法として報告した<sup>2)</sup>。今回はその試験法を用いて、にんにくおよびにんにく製品中のアリインおよびアリシンの含有量を調査し、にんにく使用の確認を試みたので報告する。また、生にんにくからアリインの抽出および精製を試みたのであわせて報告する。

## 実験方法

### 1. 装置および器具

- (1) 高速液体クロマトグラフ：  
日本分光 (株) PU-980  
( MD-910 フォトダイオードアレイ 検出器付き )  
カラム：TSK-gel ODS-80TM (150 x 4.6 mm id, 東ソー)  
溶離液(A)：5mM ヘプタンスルホン酸含有 0.01M リン酸緩衝液 (pH 2.5)  
溶離液(B)：0.01M リン酸緩衝液 (pH 2.5) - アセトニトリル (1:1)

- 流量：1ml/min, カラム温度：40℃, 注入量：10  $\mu$ l
- (2) FAB マススペクトルメーター (FAB-MS)：  
日本電子 (株) JMS-AX505W FAB イオン源付き
- (3) NMR スペクトルメーター：日本電子 (株) JNM-A600
- (4) 分光光度計：(株) 日立製作所 U-3000
- (5) pH 計：堀場製作所 (株) COMPACT pH METER B-112
- (6) 小型粉砕器：(株) 白磁社 スリーペットカッター
- (7) スピードカッター：松下電器産業 (株) ナショナル MK-K73
- (8) ホモジナイザー：ヤマト科学 (株) Ultra-dispersor LK-21
- (9) 凍結乾燥機：東京理化機械 (株) FREEZE DRYER FD-5

### 2. 試料および試薬

- (1) 試料：にんにく、たまねぎ、らっきょう (*Allium chinense* G. don) および行者にんにく (*Allium victorialis* L.) は、生産農家より入手した。にんにく製品は、薬店、スーパーマーケット等小売店より入手した。
- (2) アリインは生にんにくから抽出精製後、NMR および FAB-MS を用いて確認した。
- (3) アリイン標準液：10mg/ml の水溶液を蒸留水で順次希釈し、10, 20, 50 および 100  $\mu$ g/ml とした。
- (4) アリナーゼ溶液：粗酵素溶液は 10g の生にんにくより調製し<sup>3)</sup>、使用時まで -20℃ で保存した。
- (5) イオン交換樹脂：Dowex 50W-X8 (200ml, 50 -100 mesh, H form, Dow Chem. Co.) を水、2N NaCl 水溶液および 3N 塩酸でそれぞれ 1L ずつ 2 回洗浄後、中性になるまで水で洗浄した。この樹脂をガラスカラム (300 x 40mm id) に充填し、さらに 5% 塩酸 2L で調整した。
- (6) アセトニトリル：HPLC 用 (和光純薬)
- (7) ヘプタンスルホン酸：Aldrich Chem Co, Inc.
- (8) その他の溶媒および試薬：試薬特級 (和光純薬) を使用した。

\* 1 埼玉県衛生研究所 \* 2 愛知県衛生研究所

(9) 水：蒸留後、脱イオンした水を使用した。

### 3. 試料溶液の調製

#### (1) ねぎ属植物

細切した試料1gを10mlのプラスチック製試験管に秤取し、5mlの水を加えて3分間ホモジナイズした。回転数5,000rpmで10分間遠心分離後、上清1mlをとり、0.01Mリン酸緩衝液(pH 2.5)を加えて10mlとした。また、酵素を失活させた試料の調製は、ねぎ属植物を15分間煮沸した後、上記と同様に操作して試料溶液とした。

#### (2) にんにく製品

錠剤は、抽出前に小型粉砕器を用いて粉末とした。試料0.1gを10mlのプラスチック製試験管にとり、5mlの水を加えて10分間超音波抽出を行った。回転数5,000rpmで10分間遠心分離後、上清を試料溶液とした。

### 4. 水分含量

衛生試験法注解<sup>4)</sup>に従って105℃で乾燥し、その乾燥減量を水分量とした。

### 5. アリインの抽出および精製

アリインは、芳村らの方法<sup>5)</sup>に準じて生にんにくより抽出した。6月に収穫したにんにく450gをスライスし、天日で乾燥後、スピードカッターを用いて粉末とした。粉末にんにくに80%メタノール1Lを加えて25℃で24時間攪拌抽出を行った。この操作を3回繰り返し、全抽出液を合わせ、200mlに減圧濃縮した。この濃縮液に、ジエチルエーテル400mlを加え、振とう静置後、水層を分取した。水層はエーテル臭が消失するまで攪拌した後、あらかじめ5%塩酸で調整したDowex 50 W-X8カラムに流速3ml/minで負荷した。次に、溶出液が中性を示すまでカラムを水で洗浄し、2Nアンモニア水を流速2ml/minでカラムに負荷して、pH3.0を示した画分を捕集した。溶出液は凍結乾燥後、70%エタノールに溶解して再結晶を繰り返した。

### 6. アリシン標準液の調製

アリイン溶液(160μg/ml)1mlに0.5mlのアリナーゼ酵素溶液を加え室温で5分間反応後、HPLCを用いてアリインピークの消失および、アリシンピークの出現を確認した。アリシン濃度はLawson<sup>6)</sup>らの方法を用いて定量し、この溶液を標準溶液(48μg/ml)とした。

## 結果および考察

### 1. アリインの抽出

磨砕したにんにくからの抽出に用いたメタノールの濃度は、食品中のアミノ酸分析の常法に従い80%とした。

精製は、アリイン分子中のアミノ基を考慮して、酸性に調整した陽イオン交換樹脂に保持させた後、2Nアンモニア水により脱離する方法を用いた。図1に、80%メタノール抽出液の分画パターンを示したが、アリイン等のアミノ酸のイオン交換カラムからの溶出は、ニンヒドリン反応およびpH計を用いて確認した。溶出液は25mlずつ分取したが、150mlを越える画分からpH値は徐々に下がり始め、200ml~372mlの間はpH3を示した。その後、pH値は372~374mlの間で急上昇し、375ml以後はアルカリ性を示した。pH3を示した画分はすべてニンヒドリン反応陽性であったため、この画分をあわせて凍結乾燥後、再結晶を2回行った。収量は、450gの生にんにくから約80mgであった。得られたアリインはNMR(1H-NMR, 13C-NMR)およびFAB-MSを用いて確認し、文献値<sup>7)</sup>と比較したところよく一致していた。

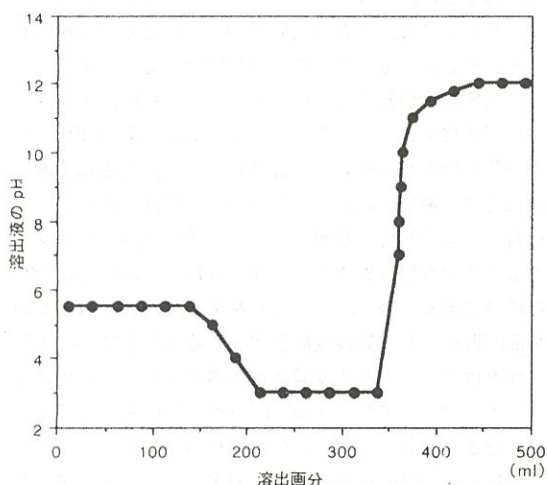


図1 イオン交換樹脂カラムからのにんにく抽出液の溶出

### 2. アリインおよびアリシンの同時分析

アリイン、アリシン同時分析法は、イオンペアー試薬およびグラジェント溶出を用い、さらに多波長検出器を定性確認に使用したHPLCによる分析法である。この分析法を、数種類のねぎ属植物およびそれらの加工製品に適用した結果を表1に示した。ただし、にんにく製品については、アリインあるいはアリシンが検出された製品のみを表に示した。

生にんにくのアリイン含量は酵素を失活させた後測定したが、その含量は2.8~9.1mg/gであった。また、酵素を失活させずに生にんにくをそのままホモジナイズすると、にんにく中のアリインはアリシンに変化するが、この様にして測定したにんにく中のアリシン含量は、



1.3～4.2mg/gとなり、この値はさきに測定したアリイン量から計算されるアリシン量とほぼ一致した。アリインあるいはアリシン含量の違いは、収穫時期や成育土壌、また熟成度によるものと考えられた。また、にんにくの産地や品種が異なっているにもかかわらず、HPLCのクロマトグラムパターンには際立った違いは見られず、いずれもよく類似していた。

たまねぎ、らっきょうは、その独特のにおいと辛味が食欲増進に働くと考えられ、広く利用されているねぎ属植物である。行者にんにくは、ねぎ属植物には珍しく長楕円形の葉をもち、若い葉と地下の鱗茎が古くから山菜として食されてきた。北方冷涼地帯では自生するとされ、ま

た、県南部では栽培化が試みられた。行者にんにくは、にんにくとよく似た臭いを有する点に特徴があり、代表的な臭いの成分としては、メチルアリルジスルフィド、ジアリルジスルフィド、メチルアリルトリスルフィドが報告されている<sup>9)</sup>。これら3種類の植物中に含まれる、アリインおよびアリシン含量を測定したところ、たまねぎからは、アリイン、アリシンいずれも検出されなかった。らっきょうからはアリインが、また行者にんにくからはアリイン、アリシン共僅かではあるが検出された。そこで、行者にんにく製品4製品(みそ漬け、たまり漬け、それぞれ1製品、清涼飲料水2製品)を試験したが、アリインおよびアリシンいずれも含まれていなかった。

表1 ねぎ属植物およびにんにく製品のアリインおよびアリシン含量

試 料	結 果		
	アリイン (mg/g)	アリシン (mg/g)	水分 (%)
ねぎ属植物 <sup>*1</sup>			
にんにく (山梨, ホワイト六片) <sup>*2</sup>	6.7	3.0	65.8
にんにく (山梨, 不明)	5.1	2.4	70.0
にんにく (青森, ホワイト六片)	3.6	1.6	65.5
にんにく (青森, ホワイト六片)	3.8	1.9	65.7
にんにく (福井, 福地ホワイト)	2.9	1.3	66.0
にんにく (福井, 福地ホワイト)	2.8	1.3	65.2
にんにく (香川, 上海早生)	9.1	4.2	65.6
にんにく (香川, 上海早生)	8.1	3.6	63.0
たまねぎ (山梨)	—	—	90.4
らっきょう (山梨)	<0.2	—	86.2
行者にんにく (山梨)	0.65	0.2	68.1
にんにく製品			
香辛料 (乾燥, スライス)	—	6.2	
香辛料 (乾燥, スライス)	—	9.6	
香辛料 (乾燥, スライス)	—	12.0	
香辛料 (乾燥, 顆粒)	—	4.2	
香辛料, 粉末	—	4.6	
香辛料, ピューレ	—	1.7	
香辛料, すりおろし	0.4	<0.2	
香辛料, すりおろし	0.3	—	
健康食品, FD <sup>*3</sup> 粉末	10.1	—	
健康食品, FD 糖衣錠	2.9	—	
健康食品, FD 錠剤	1.7	—	
健康食品, 錠剤	—	0.2	
健康食品, 錠剤	—	1.5	
健康食品, 錠剤 <sup>*4</sup>	<0.2	—	
健康食品, 錠剤 <sup>*4</sup>	0.58	—	
健康食品, 錠剤 <sup>*4</sup>	0.35	—	
健康食品, 粉末	0.41	—	

\* 1 収穫時期 1995年5月～7月。アリインは、アリナーゼを失活させた後、また、アリシンは、ホモジナイズ後測定。

\* 2 収穫地, 品種。 \* 3 凍結乾燥。 \* 4 「無臭」表示あり。 —: 検出せず。

これは、これらの製品に含まれる行者にんにくの量が少ないか、または、アリイン、アリシンが残らないような製造方法が選択されたものと考えられた。

にんにく香辛料は、12製品を試験した。乾燥品5製品を含む7製品にアリシンが検出された。これは生にんにくをスライスする過程で、アリインが酵素により分解したものと考えられた。また、製造処理工程でのスライスの厚さ、乾燥温度および乾燥時間によって、アリシンの含有量に違いが生じたものと考えられた。すりおろし2製品からは、0.3～0.4mg/gと微量のアリインが検出されたが、残りの4製品からはアリイン、アリシン共全く検出されなかった。

にんにく健康食品は35製品を試験したが、アリシンは2製品から検出されたのみであった。アリインは、痕跡程度に含有される製品も含め3種類の凍結乾燥製品、4種類の錠剤等の製品から検出された。アリインを含有する製品の中には、無臭表示の製品が3種類あった。これらの無臭製品は、アリシンに代表されるスルフィネート類またスルフィド類のような臭い成分を、何らかの方法で製品から取り除いたか、あるいは、にんにく中の臭い成分の生成に関係する酵素アリナーゼを、失活させたものと考えられた。残りのにんにく製品26製品からは、アリイン、アリシンいずれも検出されなかった。アリシンおよびその前駆体アリインは、にんにく、行者にんにくに特有な成分であり、アリシン、あるいはアリインが検出されれば、実際に前記植物が使用されていると考えられる。今回試験した製品のうち、アリイン、アリシンの含有量が定量された製品は8製品のみであったが、これらの製品については表示どおり、にんにくが使用されていることが確認された。しかし、アリイン、アリシンがいずれも検出されなかったその他の製品については、アリイン、アリシン以外の指標を用いる判別試験法を適用して、にんにく使用を立証する必要があると考えられた。

## ま と め

にんにくおよびにんにく製品の評価法の一つとして開発した、HPLCによるアリインおよびアリシンの同時分析法を用いて、にんにく製品中のアリイン、アリシンの含量を測定し、にんにく使用の確認を試みた。生にんにく、香辛料を比較対照として、薬店等から入手したにんにく製品等を試料とした。分析の結果、乾燥香辛料には主にアリシンが含有されていることが分かった。また、にんにく製品のうち、アリシンあるいはアリインの存在が確認された製品は9製品で、全検体数の約25%であった。さらに、生にんにくからアリインの抽出精製をし、その単離法も報告した。

本報告は平成7年度「産学官共同研究促進事業」認定研究（山梨県企画県民局）の一環として行った。

## 文 献

- 1) 北村四郎, 塚本洋一郎, 本島正夫: 本草図譜総合解説 990, 同朋舎出版, (1988)
- 2) 望月恵美子ら: 山梨衛公研年報, 38, 12~19 (1994)
- 3) 津野貞子: ビタミン, 14, 659~664 (1958)
- 4) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 1990, 255~256, 金原出版 (1990)
- 5) 芳村勝夫, 津野貞子, 村上不二雄: ビタミン, 14, 654~658 (1958)
- 6) L.D.Lawson, S.G.Wood, and B.C.Hughes: Planta Med., 57, 263 ~270 (1991)
- 7) S.J.Ziegler (1988) Diss. ETH Zurich No.8721.
- 8) K.Akashi, H.Nishimura, and J.Mizutani: Agr.Biol.Chem., 39, 1507 ~1508 (1975)