ノート

[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi*
Vol. 61, No. 1, pp. 45~47, 1987]

イネ (*Oryza sativa* L.) 葉ワックスの組成

内山武夫, 藤田秀明, 奥山 薫

(新潟大学農学部農芸化学科)

昭和 61 年 6 月 11 日 受理

Constitution of Rice (*Oryza sativa* L.)
Leaf Wax

Takeo UCHIYAMA, Hideaki FUJITA and

Kaoru OKUYAMA

Department of Agricultural Chemistry,

Faculty of Agriculture, Niigata

University, 2-8050 Ikarashi, Niigata 950-21

The leaf wax of rice (*Oryza sativa* L.) was examined by thin layer, gas-liquid chromatography and mass spectrometry. The wax yield was 0.4 mg per gram fresh weight of leaves. The wax contained alkane (6.2%), alkyl ester (27.8%), alkyl aldehyde (30.8%) and alcohol (20.4%). Aldehyde was identified as 1-triacontanal, 1-dotriacontanal and 1-tetracontanal, and alcohol, as 1-triacontanol by GC-MS. The acid portion of the alkyl ester was composed of a series of even-number carbon-chains from 20 to 24, and the alcohol portion from 20 to 26. Alkane was straight chain and ranged from 27 to 31 with odd-number carbon-lengths predominating.

(Received June 11, 1986)

高等植物葉の最外層はクチクラ層とさらにその上部に種々の形状をしたワックスの沈着が認められる⁽¹⁾。植物におけるこれら層の役割の一つは、葉表面の撥水性を高め病原菌の付着やその後の生育に影響することによって間接的に侵入を阻止する物理的防壁と考えられている^(2,3)。しかし、ワックスおよびクチクラ層中に含まれるある種の成分が病原菌胞子の発芽に影響することも報告されている⁽⁴⁾。

われわれは植物葉ワックスの一般的な構成成分であるアルカン、アルコールおよびエステル等を発芽床としたとき植物病原菌分生胞子の発芽や付着器形成がどのよう

に影響されるかを調べた。その結果、アルコールを発芽床としたとき、いもち病菌胞子の付着器形成が促進されることを認めた⁽⁵⁾。さらに、イネおよびキャベツ葉 (*Brassica olerace*) ワックス⁽⁶⁾についても調べたところ、両ワックス共に発芽率には何ら影響はないが、付着器の形成が前者のワックスで促進された⁽⁷⁾。そこで、イネ葉ワックスの示すこの種の効果が、そのなかに含まれるアルコール成分に基づくものか否かを知るため、その構成成分と量比について検討した結果を報告する。

イネ品種は本学附属農場で栽培したコシヒカリを用い、分けつ期 (草丈 33~35 cm) のイネ葉を使用した。ワックスは葉をクロロホルム中に 20~30 秒間浸漬し、手で軽く振盪しながら抽出した。この溶液を無水硫酸ソーダで脱水後、クロロホルムを除き淡黄色の粗ワックスを得た。

ワックスの分画はベンゼン/*n*-ヘキサン (1/1) を展開溶媒として、キーゼルゲル G-60 (メルク社製) による薄層クロマトグラフィー (TLC) によった⁽⁸⁾。ガスクロマトグラフィー (GLC) による分析は、水素炎イオン化検出器付 JLC-20 型 (日本電子) を用い、前報⁽⁸⁾と同様の方法で行った。ガスクロマト質量分析 (GC-MS) には M 60 型 (日立) を用い、データ処理は 002 B 8 DK システム (日立) によった。分析条件はイオン化電圧 20 eV、イオン化室温度 170~180°C、イオン加速電圧は 3.2 kV で行った。なお GC-MS 分析の際のキャリアーガスはヘリウムを用いた (30 ml/min)。

イネ葉ワックスの収量はクロロホルムを抽出溶媒としたとき、葉生重 1 g 当り粗ワックスとして平均 0.4 mg であった。粗ワックス中に混入しているであろう非ワックス部分をワックス部分と分けるため、クロロホルムを展開溶媒としたカラムクロマトグラフィー (キーゼルゲル G-60) を行った。このようにして精製されたワックスの構成成分を TLC により調べたところ、主として 4 成分より成り、*R_f* 値の高いものからアルカン、アルキルエステル、アルキルケトンおよびアルコールと推定された⁽⁸⁾。これら構成成分の化学的性質ならびに同族体比を知るため、GC-MS および GLC 分析を行った。

その結果、アルカン画分と推定される各成分はそれぞれ *m/z* 57 (C₄) を基準ピークとして、*m/z* 14 (CH₂) 質量単位の間隔を示す特徴あるフラグメントイオンのパターンと分子イオンピーク (M⁺) より直鎖のアルカンであることを確認した。エステル画分は、前報⁽⁸⁾同様ア

ルコール性芳香カリ液でケン化後, 酸部分とアルコール部分に分けて酸部分はジアゾメタンのエーテル溶液中でメチル化後, またアルコール部分はそのまま分析を行った。酸部分の各成分は m/z 74 を基準ピークとし, 分子イオンピーク (M^+) とその他 $m/z: M^+-31, M^+-43$ および m/z 143 の直鎖脂肪酸のメチルエステルに特有なフラグメントイオンより, いずれも直鎖脂肪酸と確認した。一方, アルコールに相当する成分には M^+ は認められず, フラグメントイオンとして $m/z: M^+-18$ を最高質量部とし, その他 m/z 97 を基準ピークとした直鎖アルカンと同様の特徴的なスペクトルからアルコールと同定した。TLC による R_f 値よりアルキルケトンと推定された画分は GC-MS 分析の結果, m/z 82 を基準ピークとした直鎖アルカン特有のスペクトルパターンとその他, M^+-18, M^+-46 のフラグメントイオンが特徴的であった。このスペクトルは直鎖のアルデヒドに類似⁽⁹⁾した。そこで, 標準物質として 1-ヘキサコサノールから第3ブチルクロマイトによる酸化法⁽¹⁰⁾で 1-ヘキサコサノールを合成した。その方法は三酸化クロム 8 mg を 0.08 ml の第3ブタノールに溶解, これにベンゼン 1 ml を加えた。この溶液に 1-ヘキサコサノール 5 mg を含んだベンゼン溶液 1 ml を加え 37°C で反応させた。生成物の確認は TLC で経時的に調べ, アルデヒドの生成が十分認められたとき酢酸水を加えて反応を止め, 分液漏斗でベンゼン層を分け取り脱水後ベンゼンを除きベンゼン/ヘキサン (1/1) を展開溶媒とした調整用 TLC で分画, 精製を行った。収量は 36% で純度は GLC の結果から 90% 以上であった。この 1-ヘキサコサノールのマススペクトルをイネ葉のそれと比較したところ, M^+ を異にするのみで類似のスペクトルを示すことから直鎖のアルデヒド画分と確認した。アルコール画分も GC-MS 分析の結果, エステルを構成するアルコールと同様の典型的な直鎖アルコールのマススペクトルを示した。

以上の結果 (Table I) より, イネ葉ワックスの主たる構成成分はアルカン, エステル, アルデヒドおよびアルコールより成ることが明らかとなった。しかし, その構成成分の量は, オオムギ葉ワックス⁽⁶⁾やユーカリ葉ワックス⁽¹¹⁾のようにある成分がその大半を占めるということとはなかった。

Table II に, イネ葉ワックスを構成している各成分の同族体組成を GLC で分析した結果を示した。各成分とも直鎖の飽和化合物より成り, アルカンは C_{27}, C_{29}, C_{31}

Table I. Composition of Rice Leaf Wax

Components	Total wax (%)
Alkanes	6.2
Esters	27.8
Aldehydes	30.8
Alcohols	20.4
Recovery	86.2

The wax was fractionated by TLC on Kieselgel G-60 using benzene : *n*-hexane (1:1) as solvent. Four prominent bands were located with iodine vapor, scrapped from the plates and eluted with chloroform.

Table II. Homologue Contents (%) of the Components of Rice Leaf Wax

Carbon No.	Alkanes	Alcohols	Aldehydes	Esters	
				Acids	Alcohols
16	5				
17	*				
18	4				
19	*				
20	2			34	3.5
21	*				
22	*			57	26.8
23	2				
24	*			9	64.6
25	4				
26	*				5.1
27	15				
28	4				
29	34				
30	3	100	44		
31	18				
32	*		41.5		
33	4				
34			14.5		
35					

*: Contents of the homologue of alkanes was below 6% in total.

を主成分とし, アルコールは C_{30} のみであった。アルデヒドは C_{30}, C_{32} が主成分で, ほぼ同量含まれていた。エステルを構成しているアルコールは C_{22}, C_{24} , 酸は C_{20}, C_{22} を主成分としていた。イネ葉ワックスもアルカンが奇数個の炭素数を有するものを主成分とするのに対し, 他の成分の同族体はすべて偶数個の炭素数を有しており, 他の植物葉ワックスとの違いは認められなかった。この点は, ワックスという疎水性二次代謝産物の生合成経路の面から興味深い。

終りに、イネ葉を提供下さいました本学附属農場の諸氏に厚く御礼申し上げます。また、本研究の一部は昭和59年度文部省科学研究費の助成をいただいたもので、ここに謝意を表します。

- (1) P. J. Holloway : "Ecology of Leaf Surface Microorganisms," ed. by T. F. Preece and C. H. Dickinson, Academic Press, New York, 1971, p. 39.
- (2) S. Akai : *Shokubutsu Byogai Kenkyu*, 8, 5 (1973).
- (3) T. Uchiyama and N. Ogasawara : *Agric. Biol. Chem.*, 41, 1401 (1977).
- (4) J. P. Blakeman and A. Szejnberg : *Physiol. Plant Pathol.*, 3, 269 (1973).
- (5) T. Uchiyama, N. Ogasawara, Y. Nanba and H. Ito : *Agric. Biol. Chem.*, 43, 383 (1979).
- (6) S. J. Purdy and E. V. Truter : *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 158, 553 (1963).
- (7) 内山武夫, 藤田秀明, 奥山 薫, 小笠原長宏 : 日植病報 (大会講演要旨), 48, 343 (1982).
- (8) 内山武夫, 小笠原長宏, 小林宗雄, 天野幸治 : 農化, 50, 351 (1976).
- (9) M. G. Kolor : "Biochemical Application of Mass Spectrometry," ed. by G. R. Waller, Wiley-Interscience, 1972, p. 711.
- (10) T. Suga, K. Kihara and T. Matsuura : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 38, 893 (1965).
- (11) D. H. S. Horn, Z. H. Kranz and J. A. Lambertson : *Aust. J. Chem.*, 17, 464 (1964).