

α-Chaconine の分離と定量について

坂 田 由 紀 子*
太 田 馨*

On the Separation and Determination of α-Chaconine.

Yukiko Sakata, Kaoru Ohta

α-Chaconine は1954年 R. Kuhn⁽¹⁾らによって南米の野生ジャガイモ *Solanum chacoense* より発見されたステロイド系アルカロイドである。このアルカロイドの同族体として α-Solanine があり、第1表に示すように両者は構成糖を異にしている物質である。

第1表

α-Solanine	: Solanidine + Galactose + Glucose + Rhamnose
α-Chaconine	: Solanidine + Glucose + Rhamnose + Rhamnose

これらのアルカロイドは一般に *Solanum* 属に含まれ、特に *Solanum tuberosum*. L (ジャガイモ) に多量含まれている事はよく知られている。R. Kuhn らは α-Chaconine を単離し、その構造式を決定したものであるが、その定量法については検討していない。α-Solanine の定量法に関しては多数の報告があるので、L. C. Baker⁽²⁾らの方法に準じ α-Chaconine の比色定量法について検討した。又同時に P・P・C⁽³⁾、TLC⁽⁴⁾、カラムクロマトグラフィー⁽⁵⁾によって α-Chaconine を分離し、各々の分離能について比較検討を行った。

又これらの結果を基礎とし、ジャガイモの調理の際 α-Chaconine が調味料によって受ける変化についても検討したので併せて報告する。

I. 実 験

I. I α-Chaconine の分離

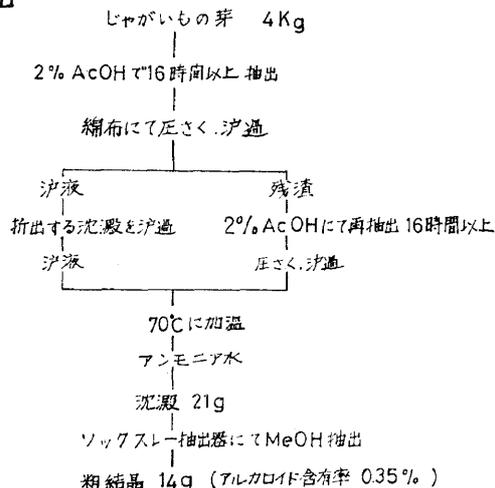
I. I. I 抽出

A) 実験材料

市販の北海道産のダンシャク約50kgを砂の敷いた木箱で発芽させ、その芽約4kgを採取して第2表の如く処理し、粗アルカロイド14gを得、収量は0.35%となった。

第2表 ジャガイモのアルカロイド

抽出



I. I. II クロマトグラフィーによる分離

上記で得た粗アルカロイドにつき P・P・C⁽³⁾、TLC⁽⁴⁾、カラムクロマトグラフィー⁽⁵⁾などにて分離を行い、それぞれの分離能を比較した。

A) P・P・Cによる分離

第3表のような展開条件にて P・P・C を行った。結果は第4表のようである。

第3表

アルカロイドの PPC

試料液	1% AcOH-EtOH の0.1%液
溶 媒	酢酸エチル : AcOH : 水 = 3 : 1 : 3 の上層に15%の85% EtOHを加えたもの。
濾 紙	東洋濾紙一次元用
展開距離	25cm
展開温度	30℃
展開時間	6時間
発色剤	0.05Nヨード, ヨー化カリ

表 4

	Rf 値 ⁽³⁾	Rf 値
α -Solanine	0.23	0.23
α -Chaconine	0.39	0.38
Solanidine	0.98	0.98

P・P・Cによればアルカロイドは3個検出された。⁽³⁾
KuhnらはアルカロイドのP・P・Cの発色剤としてリンモリブデン酸を使用した⁽³⁾が、著者らはヨード液を使用した。P・P・Cの分離ではスポットが不鮮明であり紫外線照射によってもスポットが現出しない。

α -Chaconine をとり出すには幅の広い濾紙に試料を展開し濾紙の一端のみに試薬を噴霧し未発色の Rf 値該当部分を切りとり抽出する方法が考えられるが、他のアルカロイドと混じる可能性がある。又P・P・Cに於ては極く微量しか扱えない欠点がある。

B) TLCによる分離⁽⁴⁾

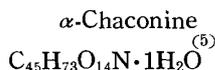
第5表の如くTLCを行った。TLCによっても第6表の通り3コのスポットを検出した。TLCはP・P・Cに比較するとスポットが鮮明であり、薄層の厚みを変化させる事でP・P・Cより大量に分離出来るが、紫外線照射にてスポットが現出しないので、試料の展開を終わってから未発色部をけずり取り、適当な溶媒例

表 7 Alkaloid の Al₂O₃ による Chromatography

Fraction	cc	Alkaloid mg	TLC Rf
試料流下液	2000	195	0.9 α -Solanidine
1~11	240		
16~35	500	847	0.6 α -Chaconine
36~42	170	196	0.6,0.3mix α -Chaconine α -Solanine
43~65	520	595	0.3 α -Solanine

(1 Fraction 20cc)

Sample 2g n-BuOH 飽和液
クロマト管 35×500mm
充填剤 Merck Al₂O₃
展開液 n-BuOH 水飽和液



Ber C62.13 H 8.69 N 1.60

Gef C 62.39 H 8.65 N 1.78

カラムクロマトグラフィーによれば大量のアルカロイドを分離出来るが分離能は前者に比して劣る。しかしP・P・C, TLCと併用すれば良好な結果を得る事が出来ると考えられる。

えば酢酸、硫酸などで抽出し、精製を行なえばよいが、他のアルカロイドと混じる可能性がある。

表 5

Alkaloid の TLC

試料液 1% AcOH-EtOH の 0.1% 液
薄層層 Merck Silica Gel G
溶媒 AcOH : 95% EtOH
ガラス板 20×20 cm
薄層の厚さ 0.3 mm
展開距離 12 cm
発色剤 0.1N ヨード, ヨー化カリ液
展開温度 20°C

表 6

	Rf ⁽⁴⁾ 値	Rf値
α -Solanine	0.22	0.21
α -Chaconine	0.54	0.54
Solanidine	0.62~0.67	0.69

C) カラムクロマトグラフィーによる分離⁽³⁾

活性アルミナによるカラムクロマトグラフィーを行った。展開条件は第7表の通りである。得た α -Chaconine の結晶についてピリジンにて再結晶を行ない元素分析を行った。

I. II α -Chaconine の比色定量

Bakerらによれば α -Solanine は硫酸、ホルマリンによる Marquis の反応によって発色し吸収極大は 575m μ にあるとされている。 α -Chaconine は構造的に α -Solanine に酷似しており、 α -Solanine の比色定量に準じて比色定量が可能であると考えられるので検討を行った。

I・II・I 硫酸・ホルマリンの濃度

A) 硫酸の濃度

検液は α -Chaconine の 25mg% の 1% 硫酸液とし α -Solanine の発色に準じて検討した。すなわち検液に濃硫酸 5 CC を滴加し水冷しつつ、1%ホルマリン 2.5CC を加えて発色せしめるものである。硫酸の濃度を決定するにあたっては、濃硫酸 3~7 CC までを検液に加え島津製作所 SV50 にて吸収極大を示す 575m μ の吸収を測定した。結果は第1図の通りであった。滴加する濃硫酸は被検液中では 10N, 14N, 18N, 22N, 25N となり、18N の濃度つまり 5 CC の滴加量の発色度が一番高くなった。

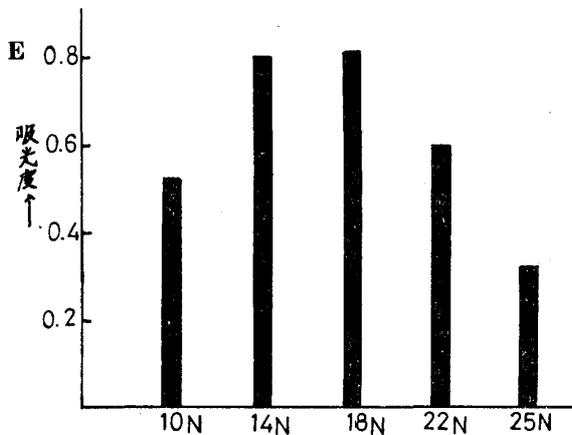


図1 濃硫酸の添加量による発色度 (25mg%)

B) ホルマリンの濃度

前記と同様の検液に、濃硫酸 5 CC を滴加し 0.5, 1, 2, 3% のホルマリンを 2.5CC 加えてその発色度を検討した。結果は第2図のようになりホルマリンの濃度は低い方が発色度は高くなるのがわかった。

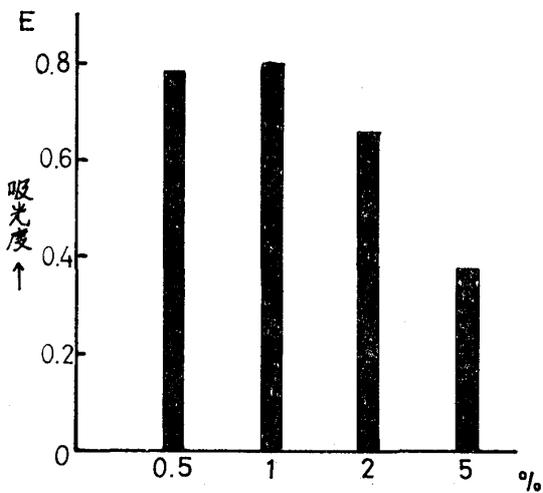


図2 ホルマリン濃度による発色度 (25mg%)

I・II・II 冷却温度, 反応時間

marquis 反応に於ては硫酸を加える時の発熱によつ

て発色度に大きな影響があると考えられ、硫酸及びホルマリンの添加時の発熱による発色度の影響を検討した。又 marquis 反応に於ては試薬を加えたあと一時に発色せず経時的に発色度が高くなるが、放置する際の時間、温度も発色度を大きく左右するので試薬を滴加する際の冷却温度、試薬滴加後の放置温度の発色度に対する影響について経時的に測定した。結果は第3図、第4図のようになった。

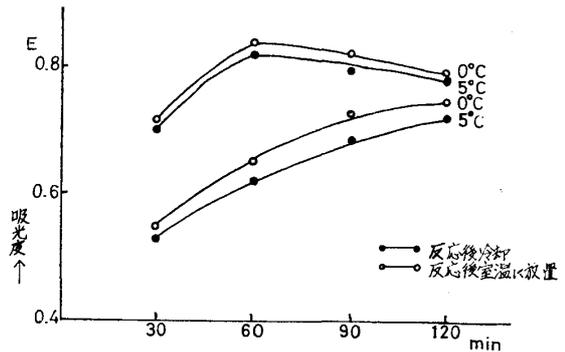


図3 反応時の冷却温度による発色度 (25mg%)

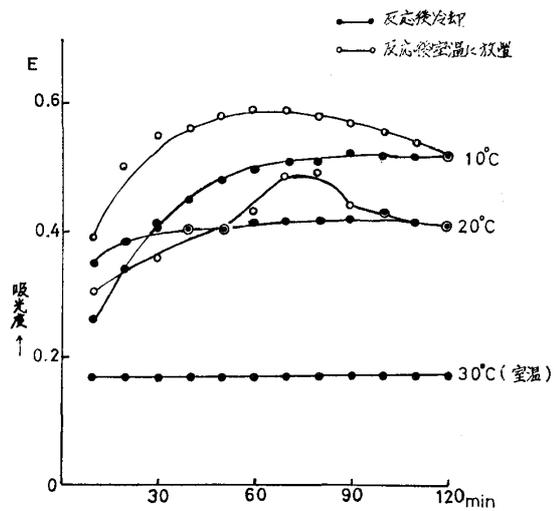


図4 反応時の冷却温度による発色度 (25mg%)

I・III α -Chaconine の標準曲線

α -Chaconine を 5, 10, 20, 40mg% の 1% 硫酸液としその 2.5CC を水冷しつつ 36N 硫酸 5 CC を振とうして滴加し 1 分後、1%ホルマリン 2.5CC を加え発色させ 60分室温 32°C にて放置、島津自記分光々度計にて測定し 400m μ と 575m μ に二つの吸収カーブを得たが吸収極大は 575m μ であった。第5図 575m μ に於ける各濃度の標準曲線は第6図のようである。

以上の結果から α -Chaconine の marquis 反応による吸収極大は 575m μ であり、これは α -Solanine の marquis 反応による吸収極大と一致し比色定量法も同様にこなえる事が判明した。

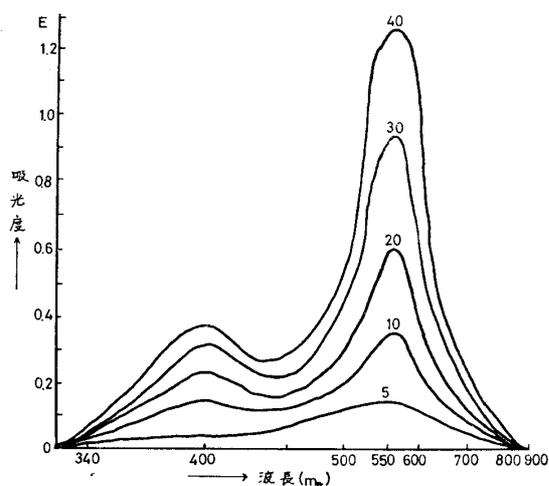


図5 α -Chaconine 吸収曲線

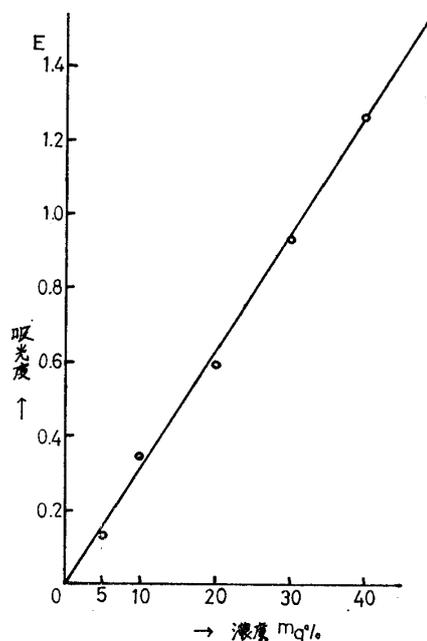


図6 α -Chaconine 標準曲線

I・IV 調味料による α -Chaconine の消長について。
前記の α -Chaconine の定量法に基き、ジャガイモを調理する際の α -Chaconine の消長について検討した。

I・IV・I 加熱による α -Chaconine の変化

A) 実験材料

市販の九月採取の広島産ダンシャク 1 kg を皮つきのまま処理して実験に供した。すなわちジャガイモをざっと水洗し水約 2 l を沸とうさせた中に投入し、5, 10, 20, 30 分間沸とう持続させ時間経過後ジャガイモをとり出し冷水に投入して冷却し、ミキサーで 1 分間 5% 酢酸を加えて細碎し前記の如くアルカロイドを抽出し検液とした。対照は生のジャガイモとした。

B) カラムクロマトグラフィー

調整した試料は前記の如く n-ブタノールに溶解しカラムクロマトグラフィーを行った。すなわちメルクの活性アルミナ 250 g を直径 35 mm のカラムに長さ 300 mm に充填し試料液を流し、n-ブタノールの水飽和溶液にて展開した。流水液はフラクシヨソコレクターにて 5 CC 毎に分割した。5 CC 毎の流下液は減圧濃縮して溶媒を飛ばし 1% 硫酸 3 CC を加えてアルカロイドを溶解し、2.5 CC を取って検液とした。検液は前記の marquis 反応にて発色させ 575 m μ の吸光度を測定し比色定量を行った。尚同時に TLC による同定も行った。フラクシヨソ毎に発色させ吸光度法にてクロマトグラムを作製した。

クロマトグラムより α -Chaconine の消長を図に示すと第 8 図のようになった。

ジャガイモを茹でる場合 α -Chaconine は生から 30 分ゆで上げる間に、(30 分で丸のジャガイモが食べ頃にゆで上る) 89% 破壊される事がわかった。

I・IV・II 調味料による α -Chaconine の変化

調理を行なう際、一般に加熱によって食品の成分は大きな影響を受けるが、調理の際に加えられる各種の調味料によっても影響があると考えられる。そこでジャガイモを調理する際の α -Chaconine の調味料による影響を検討した。

A) 実験材料

前記の水煮と同じジャガイモを使用した。

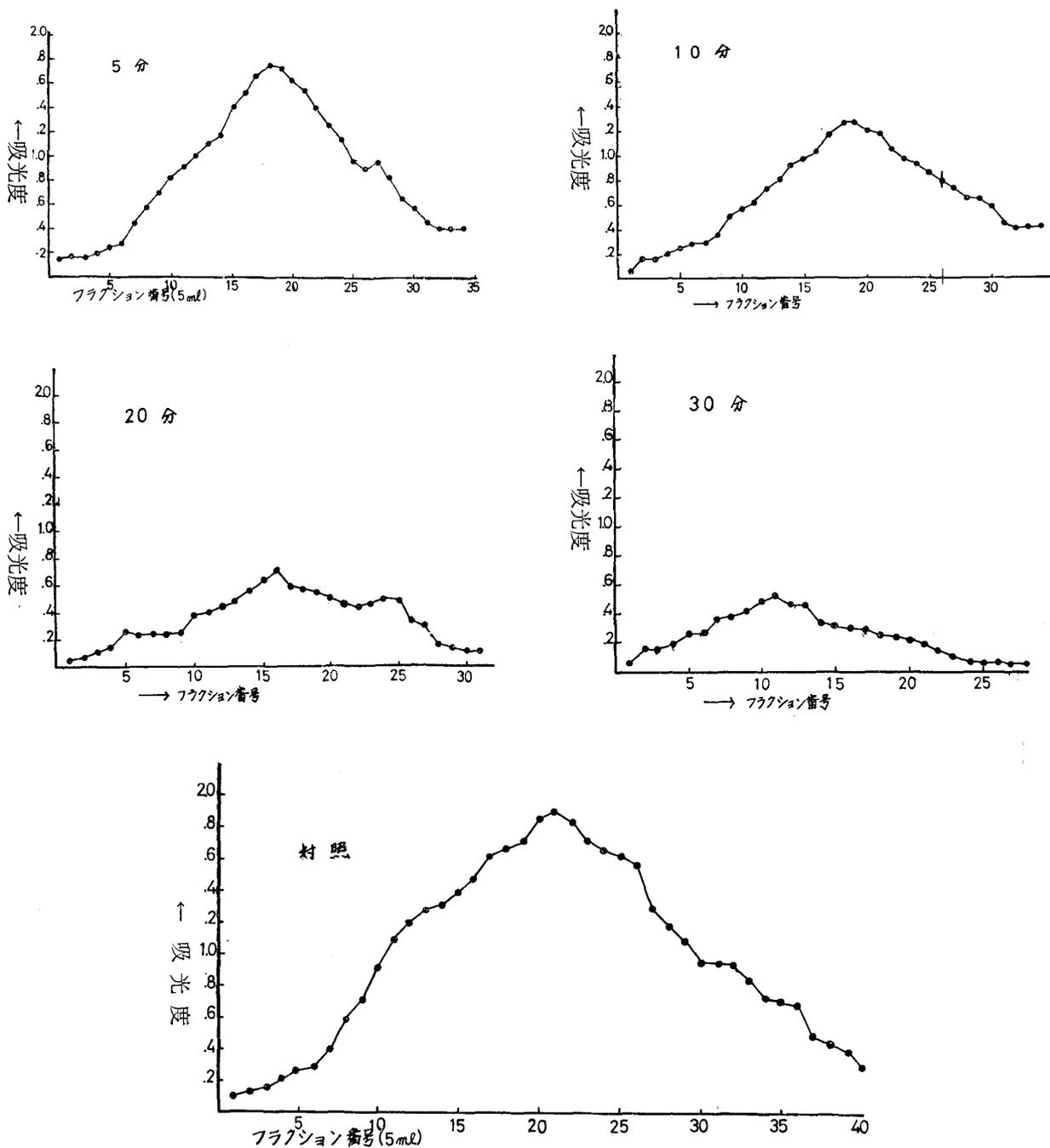
ジャガイモはさっと水洗し丸ごと皮つきのままふつとうした調味料液に 5 分間投入し、時間経過後直ちにとり出して冷水に投入して冷却し、アルカロイドの抽出を行った。

調味料液については普通調理に用いられる濃度を基準とし、1% 重ソウ、5% 砂糖、食酢とした。加熱時間は一律に 5 分間とし前記と同様に処理しアルカロイドを抽出した。

B) カラムクロマトグラフィー

試料液は α -Chaconine を分離し定量すべく前記と同様カラムクロマトグラフィーを行ない、前記と同様処理して比色定量を行ない、吸光度法によりクロマトグラフを作成した。

調味料によって α -Chaconine は水煮の場合より多少影響を受けて減少するが最も調味料の影響のない食酢でも対照の水煮より 20% の減少がみられる位で大きな差はみられなかった。



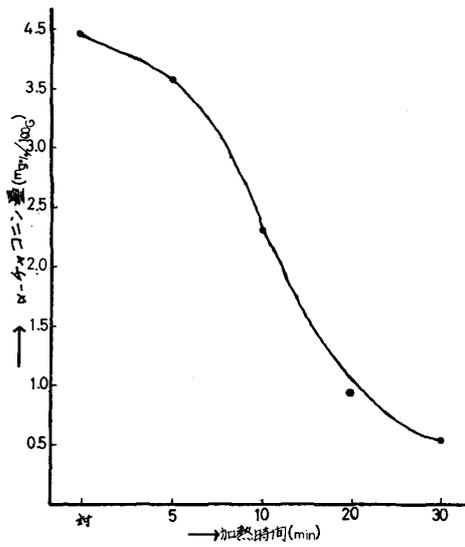
第7図 加熱時間による α -Chaconine の消長 (水煮)

II. まとめ

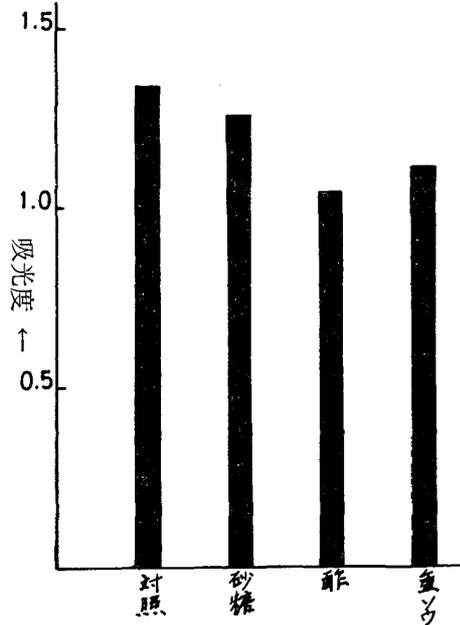
1) α -Chaconine をジャガイモより抽出し P・P・C, TLC, カラムクロマトグラフィーを用いて他のアルカロイドを分離すべく分離能について検討したが, カラムクロマトグラフィーと TLC の併用が有効である事がわかった。

2) α -Chaconine を単離し, α -Solanine に準じて α -Chaconine の比色法について検討し, 比色法を確立した。

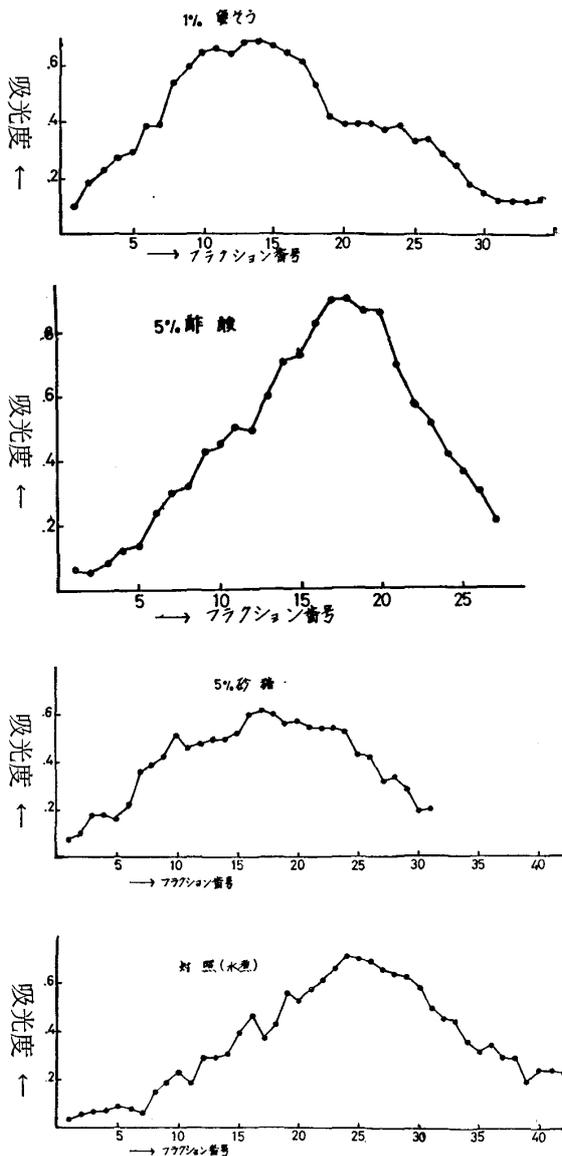
3) α -Chaconine は硫酸・ホルマリンによって発色し $400m\mu$, $575m\mu$ に吸収を持ち吸収極大は α -Solanine と同様 $575m\mu$ であった。これは α -Solanine と構造の非常に酷似している事に由来するものと考えられる。



第8図 加熱時間による α-Chaconine の消長



第10図 調味料による α-Chaconine の消長



第9図 調味料による α-Chaconine の消長

4) ジャガイモを加熱する際の α-Chaconine の消長を検討した結果、生のジャガイモから30分加熱（食べ頃のゆで上り）で約89%の α-Chaconine が破壊される事がわかった。

5) 重ソウ、酢、砂糖など調味料による α-Chaconine の消長を検討したが、調味料による顕著な差はみられなかったが、水煮の場合より α-Chaconine が減少する事がわかった。

この報告の概要は昭和42年10月および昭和46年5月日本家政学会で講演した。

文 献

- 1) R. Kuhn u. I. Löw, *Z. Angew. Chem.* **66**, 639 (1954)
- 2) L. C. Baker u. L.H. Lampitt, *J. Sci. Food Agric.*, **6**, 197 (1955)
- 3) R. Kuhn u. Löw, *Chem. Ber.*, **88**, 1492 (1955)
- 4) R. Paquin u. M. Lepage, *J. Chromatog.* **12**, 57 (1963)
- 5) R. Kuhn u. Löw, *Ann. Acad. Scient. Fennicae*, **A.11**, 488 (1955)