

桑の多目的利用に関する研究

(2) 桑椹(実)色素の分析

押金 健吾・八木 武

信州大学繊維学部附属農場

桑椹の多用途に関する基礎的研究として、さきに⁵⁾(1983)栽培上有望品種と考えられるものの椹成分とくに糖、酸度、 P^H などの消長について報告した。

本報は前報に関連して桑椹成分の色素について分析並びに定量を行ない、桑椹実用化への資料とした。

桑椹色素の研究は山本⁸⁾(1934)による成熟椹の色素はシアニジン-3-グルコシドであるという報告がある。また牧、橋本⁴⁾(1972)が桑品種魯桑の椹に、シアニジン-3-グルコシド、ペラルゴニジン-3-グルコシド、ペテイニジン-3-ルチノシドの3種の色素の存在を報告した。さらに石倉¹⁾(1975)はカラヤマグワ系の椹色素はシアニジン-3-グルコシド、シアニジン-3-ルチノシドの2種であるという報告がある。

本研究は桑椹中に含まれる色素のクワ3系統による品種間差異並びに倍数体による差異について分析、定量を行なった概要である。

材 料 と 方 法

本実験に用いた材料は、信州大学繊維学部附属農場に栽植されているヤマグワ系(*Morus bombycis koidz.*)品種剣持、カラヤマグワ系(*M. alba* Linne)品種一の瀬およびログワ系(*M. lhou koidz.*)品種魯桑の2倍体3品種と、コルヒチン処理により育成した4倍体品種、No.405(ログワ系)およびNo.416(一の瀬の4倍体、カラヤマグワ系)の2系統、計5品種を用いた。これらの供試品種は樹令10~25年におよぶ立通し仕立てのものである。材料はいつでも自然交配によるもので、黒紫色を呈する完熟椹を用いた。なお実験操作の都合もあり完熟椹は -20°C で冷凍保存したものを使用した。

I 色素の分離、精製

供試各品種の桑椹 150 g を 0.1 % メタノールに 20 時間浸漬後、深紅色の滲液約 200 ml を得た。この滲液に陽イオン交換樹脂 DOWEX 50W-X4、100-200メッシュ (H型) 150ml を加え、よく混合し色素を吸着させた。後、吸引滲過を行ない、樹脂はメタノールついで水で十分に洗浄した後、1 % 塩酸を含むメタノールで色素を溶色させ、約 2 l の溶出液を得た。これを 20 ~ 40°C の減圧下で約 5 ml に濃縮、粗色素液とし、TLCを用いた色素同定の粗色料とした。この粗色素液 5 ml に約 200ml のエーテルを加え色素を沈澱させた。その上澄のエーテルを捨て約 5 ml の 0.1 % 塩酸を含むメタノールに溶解、滲過後、滲液を同様の方法でエーテルを用い色素を沈澱させ十分に洗浄後、真空デシケーター中で乾燥、赤紫色の微結晶を得た。この微結晶をアグリコン、糖の同定、UV スペクトル測定を試料とした。これを同様の方法で黒マメよりシアニジン-3-グルコシドの標準物質を得た。

1. アグリコンの分離

色素結晶 5 ~ 30 mg に 6 N 塩酸 5 ml を加え、直下火で 5 分間煮沸後、溶水で冷却し、水を加えて元の量の倍量 (約 10 ml) にした。少量 0.5 ~ 1.0 ml のイソアミルアルコールを加え良く振り、アグリコンをイソアミルアルコール層に移し試料とした。同様の方法でシソ、バラの色素微結晶からシアニジンの標準物質を得た。

2. 糖の分離

アグリコンを除いた上記の水溶液に Amberlite IRA-410(OH型) を加え中和させた後滲過し、滲液を 20 ~ 35°C の減圧下で約 0.5 ml まで濃縮し試料とした。

3. 糖の結合位置

Harbone³⁾(1958) の方法に準じ、粗色素液を東洋滲紙 No.50 の原点に帯状に塗布し、展開剤 HAC-Hcl (酢酸/塩酸/水=15:3:82) を用いて上昇法で展開、分離させた。分離したバンドを 0.01% 塩酸を含むメタノールで抽出し、吸光度測定を試料とした。

II 色素の定量

a. シアニジン-3-ルチノシド標準物質による吸光度測定

純品のシアニジン-3-ルチノシド 0.42 mg を秤量し、0.01% 塩酸を含むメタノール 10 ml に溶し吸光度を測定した。Lambert-Beer 測定法にもとづき吸光最大波長における ϵ (モル吸光度係数) を求めた。

b. 定量

各桑椹剣持 9.35 g、一の瀬 9.87 g、魯桑 9.52 g、No.416 9.47 g、No.405 9.42 g を 0.01% の塩酸を含むメタノール 50 ml に約 12 時間浸漬し色素を抽出させた。色素の完全な抽出をさせるため同様の操作を 4 回くり返し、250 ml の一定量として吸光度測定を行った。またさきにもとめたシアニジン-3-ルチノシドのモル吸光度係数を用い、モル濃度を求め色素を計算により定量した。

実 験 結 果

1. 色素の同定

粗色素をセルローズ薄層クロマト(フナコシ薬品「アピセル」)を用いHAC-HClで3つの成分に分離を行った結果、Rf値の小さい方から(0.25、0.40、0.59)色素Ⅰ、Ⅱ、Ⅲとした(表1.)。色素Ⅲは後述の極めて微量であったため本表からは除いたが紫外線下で蛍光を発した。供試5品種における色素の定性的差位は認められなかった。粗色素をTLCで標準試料と比較したところ、色素ⅠのRf値(0.25)はシアニジン-3-グルコシドに、色素ⅡのRf値(0.46)はシアニジン-3-ルチノシドのRf値と一致した。

表1 アントシアニンのRf値と吸収スペクトル

	R _f , AcOH-HCl*	λ _{max} (nm)	E ₄₄₀ /E _{max} (%)
PIGMENT I	0.25	528	23
PIGMENT II	0.40	528	27
CYANIDIN-3-GLUCOSIDE	0.25	530	23
CYANIDIN-3-RUTINOSIDE	0.40	530	27

* Acetic acid, Hydrochloric acid, Water
15:3:82

2. アグリコンおよび糖の同定

試料をTLC, AHW-1(酢酸/塩酸/水=30:3:10)で標準物質と比較した結果、クワ色素のアグリコンのRf値(0.48)はシアニジンのRf値と一致した(表2A)。

また、試料をTLCでn-ブタノール/酢酸/水=4:1:2のもと2つに分離を行い、標準物質と比較した結果、Rf値の小さい方(0.21)はグルコースに大きい方(0.41)はラムノースと一致した(表2B)

表2 色素におけるアグリコンおよび糖の同定

A アグリコンのRf値

	PIGMENT I, II	CYANIDIN
AHW-1*	0.48	0.48

* AHW-1 Acetic acid, Hydrochloric acid, Water
30:3:10

B 糖のRf 値

	PIGMENT I, II		GLUCOSE	RHAMNOSE	XYLULOSE
n-Butanol, Acetic acid, Water 4:1:2	0.21	0.41	0.21	0.41	0.25

3. 吸収スペクトルの測定

色素 I はシアニジン-3-グルコシドと吸収極大波長(528nm)と紫外部の吸収極大波長(280nm)がほぼ一致している。またE440/E_{max} (最大吸光度と440nmにおける吸光度の割合)が、色素 I とシアニジン-3-グルコシドとその値(23)と一致している(表1、図1)

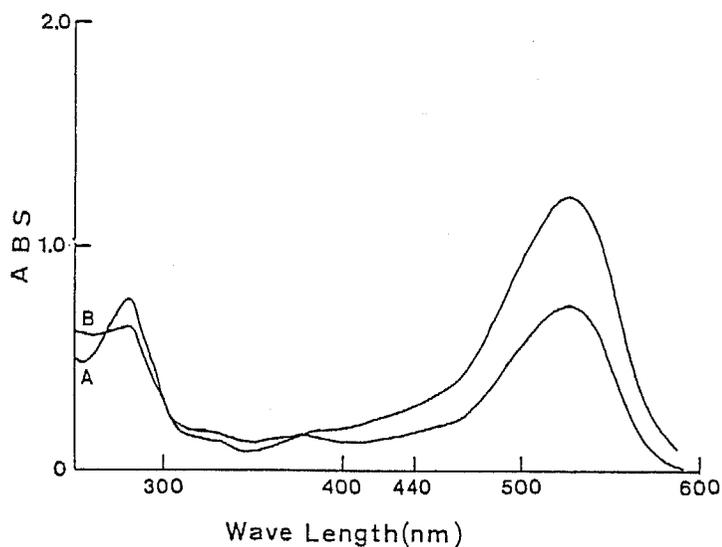


図1 色素 I の吸収スペクトル

A: シアニジン-3-グルコシド

B: 色素 I

同様にして色素 II はシアニジン-3-ルチノシドと可視部の最大吸光波長並びにE440/E_{max}の値が一致していることを認めた(表1 図2)。

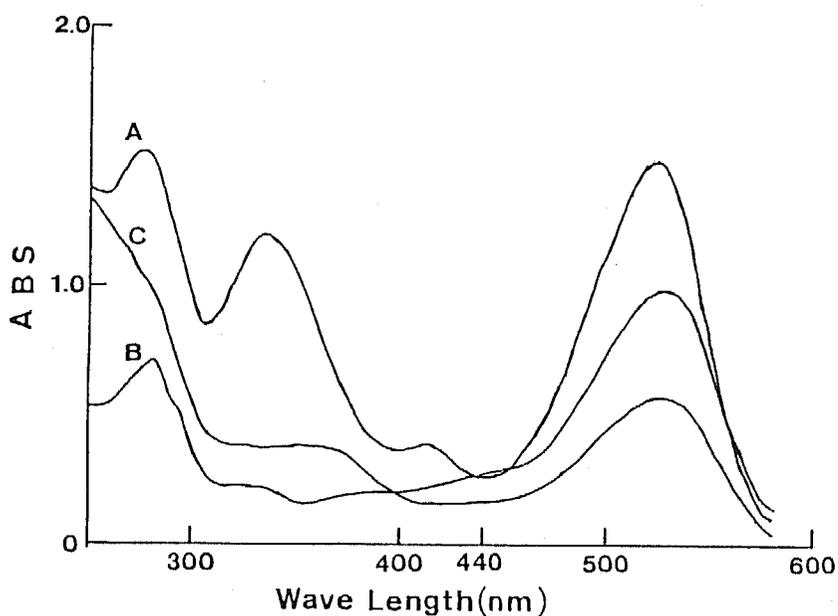


図 2 色素 II の吸収スペクトル

A: シアニジン-3.5-ディグルコシド

B: シアニジン-3-ルチノシド

C: 色素 II

4 色素の定量

各品種の桑椹色素を定量した結果、第 3 表の通り魯桑が最も多く、ついで剣持、No.405、一の瀬の順で、No.416が最低値を示した。

表 3 各品種における色素量比較

	KENMOCHI	ICHINOSE	ROSO	No.416	No.405
PIGMENT($\frac{\text{mol}}{\text{g}}$)	1.24×10^{-6}	1.80×10^{-7}	6.32×10^{-6}	1.68×10^{-7}	6.79×10^{-7}

考察および結論

各品種における桑椹色素の同定および定量吸収スペクトル測定などの結果から色素 I は粗色素の Rf 値、 λ_{max} 、E440/E_{max}の比率がシアニジン-3-グルコシドの標準物質と一致した。また色素 II は粗色素の Rf 値、 λ_{max} 、E440/E_{max}の比率がシアニジン-3-ルチノシド標準物質と一致している。

さらにアグリコンはその Rf 値からシアニジンに、結合している糖はともに Rf 値の一致からグル

コースおよびラムノースと同定した。

これらのことから色素Ⅰはシアニジン—3—グルコシド、色素Ⅱはシアニジン—3—ルチノシドと同定した。色素Ⅲは極めて微量のため同定できなかった。また桑椹色素の分析による山本⁸⁾(1934)、牧⁴⁾、稲本(1972)、石倉¹⁾(1975)らの試験と同様の結果を得たが、各系統間および倍数体との差異は認められなかった。なお各品種における色素の定量結果からその量的順位は魯桑、剣持、No.405、一の瀬、No.416となる傾向を示した。

本研究を行うに当り実験上の細部にわたってご指導を頂いた今は亡き本学繊維工業化学科故平川教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) ISHIKURA·N (1975) : Bot, Mag, Tokyo, 88, 41-45.
- 2) ————— (1976) : ————— 89, 251-257.
- 3) HARBONE·J·B (1958) : Biochem. J. 70, 22-28.
- 4) 牧 善輔・稲本英子(1972) : 京都府立大学術報告, 23. 1
- 5) 押金健吾・牧田行正(1983) : 信大繊維学部附属農場研究報告, 12. 14-26.
- 6) SOMERS·T·C (1966) : Nature, 209, 368.
- 7) 笹沼庄之助・武田幸作・林 孝三(1966) : Bot, Mag, Tokyo, 79, 807.
- 8) 山本喜久雄 (1934) : 農化誌, 10, 1046~1052.