

## ジャガイモ中のグリコアルカロイドの 簡易迅速分析

浅野正博\*・後藤直子\*\*・一色賢司\*

### Simple and Rapid Analysis of Potato Glycoalkaloids

Masahiro ASANO\*, Naoko GOTO\*\*  
and Kenji ISSHIKI\*

\* National Food Research Institute, Kannondai  
2-1-1, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

\*\* The Japanese Canned Food Inspection Association,  
Kitanakadohri 2-15, Naka-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa 231

Glycoalkaloids (GAs), e.g.  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine, are found in potatoes. Sometimes, they cause food poisonings. We have developed easy and rapid method to detect GAs in potato using a high performance liquid chromatograph (HPLC). GAs were analysed under the following conditions ; column : Inertsil C<sub>8</sub> (250 mm×4.6 mm I.D.); mobile phase : 20 mM phosphate buffer+acetonitrile (67 : 33, 0.7 ml/min); wavelength to detect : 205 nm. GAs were extracted with methyl alcohol and analyzed with HPLC. This method was applied to edible and other parts of potato plant.  $\alpha$ -Chaconine was found in roots (2 520 mg/kg), leaves (489 mg/kg), periderm tubers (263 mg/kg) and stems (62 mg/kg).  $\alpha$ -Solanine was found in roots (1 400 mg/kg), leaves (152 mg/kg), periderm tubers (109 mg/kg) and stems (26 mg/kg). In cortex tubers,  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine were not found at the detection limit of 10 mg/kg. (Received June. 21, 1995)

ジャガイモ (*Solanum tuberosum* L.) にはグリコアルカロイド (GA,  $\alpha$ -ソラニンおよび $\alpha$ -チャコニン) が含まれている。GA は一度に多量に摂取されると有毒な作用を示し、食中毒が発生することもある。その中毒量は経口摂取で 0.2~0.4 g であると報告されている<sup>1)</sup>。新品

種の作出や栽培、加工あるいは消費におけるジャガイモの安全性確保のために、GA の分析法の簡易迅速化の必要性が高まっている。GA の分析法として酵素免疫法<sup>2)</sup>、ガスクロマトグラフィー<sup>3)4)</sup>、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)<sup>5)~9)</sup> などが検討され報告されている。いずれの分析法も複雑な操作や長い分析時間が必要であった。本研究では、より簡易で迅速な分析手法を確立することを目的として、HPLC によるジャガイモ中の $\alpha$ -ソラニンおよび $\alpha$ -チャコニンの分析手法について検討を行った。併せて、ジャガイモの可食部およびそれ以外の葉や茎などの部位毎の GA の分析を試みた。

### 実験方法

#### 1. 試料

ジャガイモは、つくば市産のものを購入し実験に供した。必要に応じ最長 30 日間窓際に放置し、表面が緑色化し発芽したものも実験に用いた。ジャガイモの各器官別の GA を測定するための試料は、農水省農業環境研究所より提供を受けた。

#### 2. 試薬および機器

$\alpha$ -ソラニン、 $\alpha$ -チャコニン : SIGMA 社製標準品。それぞれ 1 000 mg/l のメチルアルコール溶液を作製し適宜希釈して使用した。

メチルアルコール、エチルアルコール、アセトニトリル : 和光純薬製 HPLC 用。

その他の試薬 : 市販特級品を使用した。

HPLC ポンプ : 日本分光 880-PU

HPLC 検出器 : 日本分光 875-UV (検出波長 : 205 nm)

HPLC 用分析カラム : GL サイエンス製 UnisilQ NH<sub>2</sub> (5  $\mu$ m, 4.6×150 mm), InertsilC<sub>8</sub> (5  $\mu$ m, 4.6×250 mm)

#### 3. HPLC 分析条件の検討

これまでの報告<sup>5)~9)</sup>を参考にして予備実験を行い、最終的に Table 1 に示した 3 種類の条件を設定し比較検討を行った。HPLC への注入量は 20  $\mu$ l とし、カラム温度は室温として分析を行った。

#### 4. GA の抽出条件の検討

GA は、熱アルコール類には溶解するが水には難溶であることが知られている。また、これまでにジャガイモから GA を抽出する溶媒としては、希酢酸<sup>8)</sup>、メチルアルコール<sup>6)7)</sup>、メチルアルコール:クロロホルム混液<sup>9)</sup>などが使用されている。ここでは、希酢酸とメチルアル

\* 農林水産省食品総合研究所 (〒305 茨城県つくば市観音台 2-1-2)

\*\* (財)日本缶詰検査協会横浜検査所 (〒231 神奈川県横浜市中区北仲通 2-15)

Table 1 HPLC conditions for  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine

Column	Mobile phase (V/V)	Flow rate (ml/min)
A UnisilQ NH <sub>2</sub>	Ethyl alcohol+acetonitrile+5 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (3 : 2 : 1)	1.0
B UnisilQ NH <sub>2</sub>	Acetonitrile+20 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (75 : 25)	1.0
C Inertsil C <sub>8</sub>	20 mM phosphate buffer (pH 6.8)+acetonitrile (67 : 33)	0.7

コールを使用して検討を行った。抽出方法にも様々な報告<sup>5)~9)</sup>があるが、簡易迅速化を目的としてここではブレンダーカップを用いて抽出しろ紙でろ過する方法と、Fig. 1 に示した振とう器を用いて振とう抽出し遠心分離により上清を集める方法との比較検討を行った。

### 結果および考察

#### 1. HPLC 条件の検討

Table 1 の 3 条件のうち、A の条件は KOBAYASHI ら<sup>7)</sup>の方法を参考にしたものであり、A、B、C いずれの条件でも  $\alpha$ -ソラニンと  $\alpha$ -チャコニンとは分離され検出された。後述のメチルアルコールを用いたジャガイモの抽出物を注入したところ、A および B の条件では  $\alpha$ -ソラニンあるいは  $\alpha$ -チャコニンのピークに妨害ピークの重なりが認められた。C<sub>8</sub> カラムを使用した C の条件では、妨害ピークは見られなかった。C の条件での  $\alpha$ -ソラニンと  $\alpha$ -チャコニンの標準溶液およびジャガイモ抽出物のクロマトグラムを Fig. 2 および 3 に各々示した。Fig. 3 の実験に用いたジャガイモは、30 日間窓辺に置き緑化させたものである。C の条件でジャガイモの抽出液を分析し、 $\alpha$ -ソラニンあるいは  $\alpha$ -チャコニンと同じリテンションタイムを示すピークの紫外吸光スペクトルの測定を行った。いずれのピークの吸光スペクトルも  $\alpha$ -ソラニンあるいは  $\alpha$ -チャコニンの吸光スペクトルと同一であった。また、HPLC から溶出される各ピークの成分を分離し、CADLE らの方法<sup>10)</sup>ならびに FRIEDMAN と DAO の方法<sup>11)</sup>に従って薄層クロマトグラフィーを行った。各ピークに相当する画分からは、それぞれ  $\alpha$ -ソラニンあるいは  $\alpha$ -チャコニンに相当する単一スポットが検出された。

#### 2. ジャガイモからの抽出条件の検討

Table 2 に抽出条件およびその実験結果を示した。 $\alpha$ -ソラニンならびに  $\alpha$ -チャコニンともに 5% 酢酸あるいはメチルアルコールを使用することにより良好に抽出さ

#### Sample homogenized, 3.00 g

- add 30 ml of methyl alcohol
- shake for 5 min
- centrifuge at 3 000 rpm for 10 min
- filtrate with 5 A filter paper
- repeat the above procedure, two more times
- fill up to 100 ml with methyl alcohol
- take 30 ml of filtrate
- concentrate to dryness
- dissolve in 1.0 ml of 50% methyl alcohol
- filtrate with 0.45  $\mu$ m filter

#### HPLC

Fig. 1 Analytical procedure for glycoalkaloids in potato

れた。メチルアルコールの方が 5% 酢酸よりも抽出される GA の量が多かった。毎回 30 ml の抽出溶媒を用いた実験における抽出率は、2 回と 3 回とでは 3 回の方が高い抽出率を示した。3 回抽出と 4 回抽出を行ったところ、両者に差は認められず、メチルアルコールによる 3 回抽出が適していることが示された。抽出方法については、ブレンダーカップによる方法と振とうによる方法との抽出効率の間に相違は認められず、より簡易な振とうによる方法を採用することとした。以上の結果に基づき簡易迅速化を図ったジャガイモ中の GA の抽出方法を Fig. 1 に示した。

本法を用いてジャガイモ可食部に 50 mg/kg の GA を添加し回収試験を行ったところ、ソラニンならびにチャコニンともに 90% 以上の回収率が得られ、分析値の変動係数は 5% 未満 (n=6) であった。

#### 3. ジャガイモ中の GA の分析

ジャガイモ各部位の GA の分析を行ったところ、本法により各部の GA は良好に分析され Table 3 の結果が得られた。FRIEDMAN と LEVIN は器官別に GA の分析を

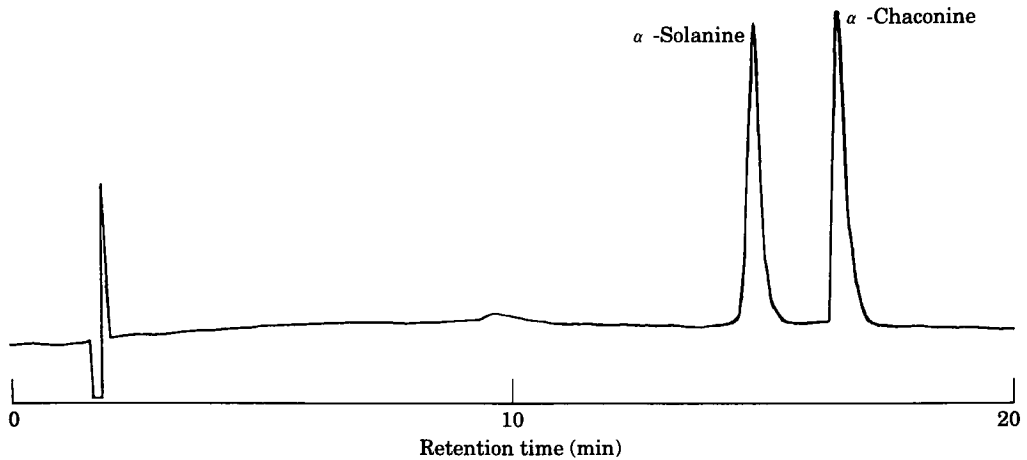


Fig. 2 Chromatogram of  $\alpha$ -Chaconine and  $\alpha$ -Solanine

The solution containing 50 mg/l each of  $\alpha$ -Chaconine and  $\alpha$ -Solanine was analyzed under the conditions of C in Table 1.

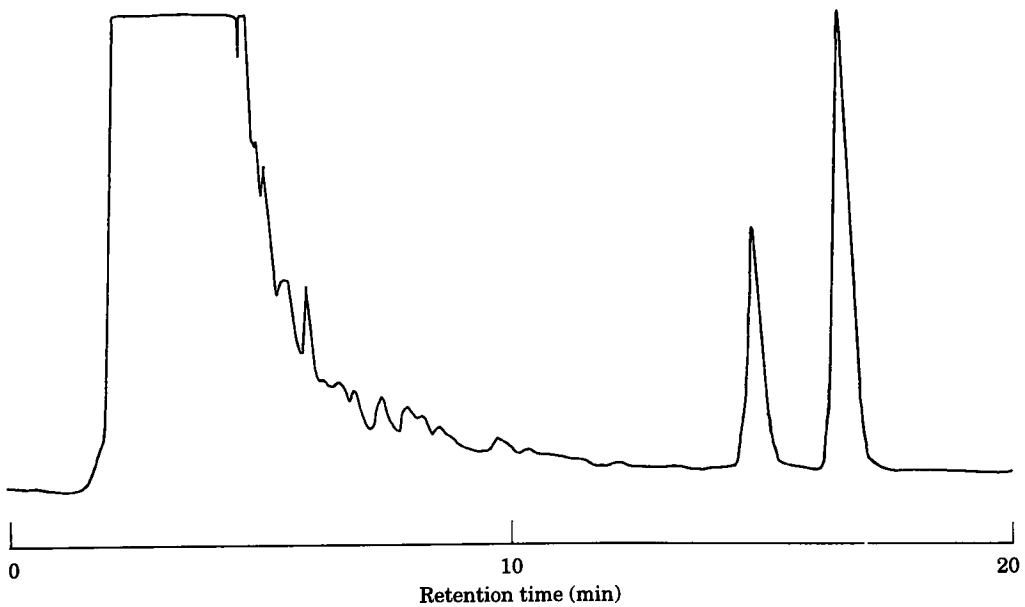


Fig. 3 Chromatogram of extract from potato tuber (periderm).

Extract was analyzed under the conditions of C in Table 1.

行い、塊茎、茎、葉、根の順に濃度が高かったと報告している<sup>9)</sup>。本実験では、塊茎髄質部、茎、塊茎皮層部、葉、根の順にGA濃度が高くなった。供試試料や部位の分け方もFRIEDMANとLEVINの報告とは異なるが、根や葉に

も多くのGAが含まれていることがFRIEDMANらと同様に確認された。可食部である塊茎の髄質部からは、 $\alpha$ -ソラニンも $\alpha$ -チャコニンも検出されなかった。検出限界は、10 mg/kgであった。

Table 2 Extraction of glycoalkaloids (GAs) from potatoes exposed to light

Extraction solvent	GA	Total amount of GA in extract (mg/kg)		
		two times	three times	four times
5% Acetic acid	$\alpha$ -Chaconine	860	900	910
	$\alpha$ -Solanine	600	630	630
Methyl alcohol	$\alpha$ -Chaconine	670	1 090	1 090
	$\alpha$ -Solanine	450	720	720

Potatoes had been exposed to sunlight for 30 days. They were homogenized and analyzed. At each time, 30 ml of methyl alcohol was used to extract GAs from potato homogenate. The amount of GA was calculated as a concentration at the fresh weight basis.

Table 3 Concentrations of glycoalkaloids (GAs) in each portion of potato plants

Sample	GA	Concentrations of GAs (mg/kg) <sup>a)</sup>				
		Leaves	Stems	Tuber (periderm)	Tuber (cortex)	Roots
A	$\alpha$ -Chaconine	404	50	388	ND <sup>b)</sup>	2 920
	$\alpha$ -Solanine	140	27	154	ND	1 610
B	$\alpha$ -Chaconine	577	74	138	ND	2 120
	$\alpha$ -Solanine	164	24	64	ND	1 190

<sup>a)</sup> Average, n=3, fresh weight basis

<sup>b)</sup> ND; not detected < 10 mg/kg

## 要 約

(1) ジャガイモに含まれる $\alpha$ -ソラニンならびに $\alpha$ -チャコニンの HPLC による簡易分析法の検討を行った。分析カラムとして Inertsil C<sub>8</sub>, 移動相として 20 mM リン酸緩衝液 (pH=6.8)+アセトニトリル (67:33) 混合溶液を使用し良好なクロマトグラムを得た。

(2) ジャガイモから $\alpha$ -ソラニンならびに $\alpha$ -チャコニンを抽出する方法の検討を行い, 抽出溶液にメチルアルコールを用いた簡易な方法を確立した。

(3) ジャガイモの各部位より GA の定量を試みたところ, 細根から最も高濃度の GA が検出され, 葉, 塊茎 (表層部), 茎からも GA が検出された。可食部である塊茎 (髄質部) からは, GA は検出されなかった。

本研究を行うにあたり, 実験にご協力をいただいたキリンビール安全性・分析評価センターの川崎正人部長補佐, ならびにジャガイモの部位別分析用試料を提供して

いただいた農水省農業環境研究所の佐藤光政科長に感謝の意を表します。本研究の概要は, 第 42 回日本食品科学工学会大会で発表した。

## 文 献

- 1) 藤原喜久雄・栗飯原景昭監修: 食品衛生ハンドブック, 南江堂, p. 186, (1992).
- 2) PLHALK, C. LESLIE. and SPORNS, P.: *J. Agric. Food. Chem.*, **40**, 2533 (1992).
- 3) GELDER, VAN, J.M.W.: *J. Chromatogr.*, **331**, 285 (1985).
- 4) LAWSON, R. D. and ALLEN, W.: *J. Agric. Food. Chem.*, **40**, 2186 (1992).
- 5) 梶原直子・二宮隆博・川井英雄・細貝祐太郎: 食衛誌, **25**, 256 (1984).
- 6) 机 信行・水野 進: 食工誌, **33**, 232 (1986).
- 7) KOBAYASHI, K., POWELL, D.A., TOYODA, M., and SAITO, Y.: *J. Chromatogr.*, **462**, 357 (1989).
- 8) 高木加代子・豊田正武・藤山由起・斉藤行生: 食衛誌, **31**, 67 (1990).

- 
- 9) FRIEDMAN, M. and LEVIN, E.C. : *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2157 (1992).  
10) FRIEDMAN, M. and DAO, L. : *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 419 (1992).
- 11) CADLE, D.A., STELZIG, K.L., HARPER, K.L. and YOUNG, R.J. : *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 1453 (1978).

(平成7年6月21日受理)

---