[農化 第 42 卷, 第 4 号, p. 185~189, 1968]

ワサビの揮発性成分に関する研究 (第 1 報)

合成辛子油のガスクロマトグラフィー

小島 操, 赤堀幸男, 市川 勇
(静岡薬科大学)

昭和 42 年 7 月 15 日 受 理

Studies on the Volatile Components of *Wasabia japonica* Part I. Gas-liquid Chromatographic Studies on Synthetic Isothiocyanates

By Misao KOJIMA, Yukio AKAHORI and Isamu ICHIKAWA
Shizuoka College of Pharmacy

Twenty synthetic isothiocyanates involving *n*-alkyl, *iso*-alkyl, *sec*-alkyl, alkenyl, aromatic and other isothiocyanates were analysed by gas-liquid chromatography using 10% SE-30/C-22 column and 2.5% DEGS/C-22 column. When SE-30 column was employed, logarithmic retention times in minutes versus carbon numbers in each of *n*-, *iso*-, *sec*-, alkenyl and aromatic class isothiocyanates were individually plotted on the straight lines. These straight lines were parallel. When DEGS column was employed, these straight lines were also parallel except aromatic class.

In isothiocyanates possessing equal carbon numbers, retention times were slowest in aromatic class, next were *n*-, alkenyl, *iso*- and *sec*- class isothiocyanates in the order when SE-30 column was employed.

This tendency was also as same as that of boiling point. When DEGS column was employed, retention times of alkenyl class were slower than *n*-alkyl class, but aromatic, *iso*-alkyl and *sec*-alkyl classes were as same as in SE-30 column.

(Received July 15, 1967)

緒 言

辛子油 (Isothiocyanates, RNCS) はアブラナ科植物に広く分布している。これらはアグリコンであり、植物体中には元来、辛子油配糖体の形で存在し、酵素、ミロシナーゼにより加水分解されて、はじめて生成される。

辛子油の定量法には硝酸銀法⁽¹⁾、分光光度法⁽²⁾などがあり、分離確認法にはチオ尿素誘導体のペーパークロマトグラフィー (PPC) による方法⁽³⁾が広く用いられている。しかしこれらは天然物中の辛子油の分離同定には充分な方法とはいえない。

近時、高感度ガスクロマトグラフィー (GC) が急速に発達し、天然物の組成を微量成分にまで分離定量することが可能になった。

辛子油の GC による研究には、Kjaer ら⁽⁴⁾および Jart⁽⁵⁾の基礎的研究以外に天然物への応用例が 2, 3^(6,7) がある。

Jart⁽⁵⁾ は熱伝導検出器装着の GC 装置を用い、合成辛子油の保持時間 (Rt) の対数におよぼす温度の影響を検討し、一連の $\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{NCS}$ 型化合物については、 $\log \text{Rt}$ vs. n の直線性が種々の温度で成立することを認めている。しかし他の系の辛子油についての検討は行なわれていない。

ワサビ辛味の主成分はアリル辛子油⁽⁸⁾であり、第 2 級ブチル辛子油の混在⁽⁹⁾も認められているが、くわしい研究はなされていない。

そこで著者らはワサビ揮発性成分の研究に先だち、アルキル系 (*n*-, *iso*- および *sec*- 系), アルケニル系, 芳香族系およびその他の合計 19 種の合成辛子油を用いて、高感度 GC に関する基礎的研究を行なった。

材料および方法

辛子油 : Table I に示す 19 種を用いた。No. 1~7

の 7 種は *n*-アルキル系, No. 8~10 の 3 種は *iso*-アルキル系, No. 11~13 の 3 種は *sec*-アルキル系, No. 15, 16 はアルケニル系, No. 17~19 の 3 種は芳香族系および No. 14 はその他の辛子油である.

No. 1, 2, 9, 15, 17 および 18 の 6 種は市販品 (東京化成) を再蒸留後使用した. No. 3~8, 10, 14 および 19 の 9 種は対応する第一アミンより, Mumm らの方法⁽¹⁰⁾ に準じて合成した. No. 11~13 の 3 種は Marvel らの方法⁽¹¹⁾ に準じ, 対応するメチル-アルキルケトンより第一アミンを合成し, これらより前記の方法⁽¹⁰⁾ で合成した. また No. 16 は Kjaer らの方法⁽¹²⁾ に準じて臭化アリルより 3-ブテニルアミンを合成し, これより前記の方法⁽¹⁰⁾ で合成した.

高感度 GC による分析条件: 装置は島津製 GC-IB 型に水素炎イオン化検出器, HFD-I 型を装着したものを使用した. カラムは U 型, 0.4 (i. d.) × 75 cm, 無極性

固定相としてメチルシリコン (SE-30) を, 極性固定相としてジエチレングリコールサクシネート (DEGS) の 2 種を用い, これらより得られた結果を比較対照して確実性を期した. すなわち担体は酸処理した C-22 を使用し, 10% SE-30 および 2.5% DEGS カラムを作製して測定に供した. 10% SE-30/C-22 (80~100 メッシュ) の場合, カラム恒温槽温度 (CB) は 102°C および 124°C, キャリアーガス (N₂) の流速はそれぞれ 20.0 ml/min および 39.5 ml/min とし, 2.5% DEGS/C-22 (60~80 メッシュ) の場合, CB は 57°C および 102°C, N₂ の流速はそれぞれ 48 ml/min および 20.0 ml/min とした. ただし DEGS, CB 57°C の場合, No. 18 および 19 は Rt が長い場合省略した.

辛子油液はマイクロシリンジを用いて, 約 0.1% エーテル溶液 1 μl を注入し, Rt よりフェニル辛子油を基準 (1.00) とした相対保持時間 (RRt) を算出した.

Table I. Properties of Isothiocyanates

Sample No.	Classes	Isothiocyanates	Formula	bp (°C)		n_D^{20}		$\gamma_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ (mμ)
				Found	Lit.	Found	Lit.	
1	<i>n</i> -alkyl	Methyl	CH ₃ NCS	119	119*	1.5195	1.52576 (n_D^{20})*	242
2		Ethyl	CH ₃ CH ₂ NCS	130~2	132*	1.5110	1.5142 (n_D^{18})*	245~6
3		Propyl	CH ₃ (CH ₂) ₂ NCS	154.5	153*	1.5051	1.5085 (n_D^{19})*	245~6
4		Butyl	CH ₃ (CH ₂) ₃ NCS	170	168*	1.4994	1.5010 (n_D^{20}) ⁽¹⁹⁾	245~6
5		Amyl	CH ₃ (CH ₂) ₄ NCS	190	191*	1.4949	—	245
6		Hexyl	CH ₃ (CH ₂) ₅ NCS	210	210*	1.4940	—	245
7		Octyl	CH ₃ (CH ₂) ₇ NCS	215~6	—	1.4884	—	245~6
8	<i>iso</i> -alkyl	Propyl	(CH ₃) ₂ CHNCS	136	137~7.5*	1.5018	1.4934 (n_D^{20}) ⁽¹⁹⁾	247
9		Butyl	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ NCS	162	162*	1.4932	1.5005 (n_D^{18})*	247~8
10		Amyl	(CH ₃) ₂ CH(CH ₂) ₂ NCS	184	183~4*	1.4940	—	245
11	<i>sec</i> -alkyl	Butyl	CH ₃ CH ₂ CH(CH ₃)NCS	155.5~6	159.5*	1.4949	—	246~7
12		Heptyl	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH(CH ₃)NCS	218~9	—	1.4876	—	246~7
13		Octyl	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH(CH ₃)NCS	229	232~2.5*	1.4869	—	232, 246
14	extra	2-Ethyl- <i>n</i> -hexyl	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH(CH ₂ CH ₃) ·CH ₂ NCS	227	—	1.4860	—	245
15	alkenyl	Allyl	CH ₂ :CHCH ₂ NCS	150	150.1*	1.5314	1.5300*	247
16		3-Butenyl	CH ₂ :CHCH ₂ CH ₂ NCS	171~2	174*	1.5165	1.5182 ⁽²⁰⁾	227~30
17	aromatic	Phenyl	C ₆ H ₅ NCS	221~2	222*	1.6508	1.64918 ($n_D^{28.4}$)*	220
18		Benzyl	C ₆ H ₅ CH ₂ NCS	240~2	243*	1.5990	1.6049 (n_D^{15})*	234~6
19		β-Phenyl-ethyl	C ₆ H ₅ CH ₂ CH ₂ NCS	247.5	247.5*	1.5565	—	246

* Numerical values were quoted from Beilsteins Handbuch der organischen Chemie.

Table II. Elementary Analysis of Some Isothiocyanates

Sample No.	Isothiocyanates	Formula	Analysis (%)							
			Calcd.				Found			
			C	H	N	S	C	H	N	S
7	<i>n</i> -Octyl	C ₉ H ₁₇ NS	63.13	10.00	8.18	18.69	63.22	9.94	8.01	18.54
12	<i>sec</i> -Heptyl	C ₈ H ₁₅ NS	61.09	9.62	8.91	20.38	60.91	9.20	8.62	—
14	2Ethyl- <i>n</i> -hexyl	C ₉ H ₁₇ NS	63.13	10.00	8.18	18.69	63.26	9.73	7.78	18.66

実験結果および考察

(1) 辛子油の性質

使用した辛子油 19 種の沸点 (未補正), 屈折率および紫外吸収極大値を Table I に示した.

n-オクチル辛子油 (No. 7), *sec*-ヘプテル辛子油 (No. 12) および 2-エチル-*n*-ヘキシル辛子油 (No. 14) の沸点は文献記載がないので元素分析を行ない, その結果を Table II に示した.

アリル辛子油 (No. 15) の紫外吸収については Kre-mann ら⁽¹³⁾が, *n*-ブチル辛子油については Schmid ら⁽¹⁴⁾が報告しており, Pestemer ら⁽¹⁵⁾は辛子油の特異的な吸収は主として NCS 群によるもので, 残部の非共役結合には影響されないと述べている. 本結果はこれを裏づけているものである.

(2) 辛子油のガスクロマトグラフィー

使用した合成辛子油の GC 分析結果のうち, RRt を Table III に, $\log Rt$ vs. *n* (RNCS 中の炭素数) を Fig. 1 および 2 に示した.

SE-30, CB 102°C および DEGS 57°C の場合, メチル辛子油の Rt は 1.9 分および 2.1 分, エチル辛子油 2.7 分および 2.4 分, *n*-プロピル辛子油 4.1 分および 3.4 分となり, これらを混合したものについて分析しても分離

はよいが, SE-30, CB 124°C および DEGS, CB 102°C の場合, 前記 3 種の辛子油はそれぞれ 0.7 分, 0.9 分, 1.2 分および 1.2 分, 1.2 分, 1.5 分となり, 分離困難となった. したがって天然物揮発性成分の GC 分析を行なう場合, 種々の CB 条件下で行なう方がよいと思われる.

各辛子油の $\log Rt$ vs. *n* (Fig. 1) は SE-30 の場合, *n*-, *iso*- および *sec*-アルキル系辛子油はそれぞれ直線上にプロットされる. これらの直線関係は脂肪酸エステル⁽¹⁶⁻¹⁸⁾の場合と同様の傾向であり, しかも各直線はほぼ平行となった. ただし一般に認められているように, *n* の小さいもの (No. 1 および 2) は Rt が早く, 直線より僅かにはずれる傾向を示す. アルケニル系辛子油は 2 種であるから直線性は不明であるが, 2 点を結ぶ線はアルキル系の平行線と平行となった. アルケニル系辛子油は天然物中重要なものと思われるので, この種の一連の化合物については改めて検討する予定である. 芳香族系中, フェニル辛子油は芳香核の影響のためか, 特異的であるが, 他の 2 点を結ぶ線も同様に平行になった. その他の系 (2-エチル-*n*-ヘキシル辛子油) は 1 種類のみであったので, この関係は不明である.

各系の Rt は *n* が同数のものでは, 芳香族系, *n*-系, アルケニル系, *iso*-系, *sec*-系の順に早くなり, 沸点到大

体比例するようである.

Jart⁽⁶⁾ はカラムに Silicone elastomer (無極性)/Celite を使い, $\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_n$ NCS 系の一連の辛子油について GC 分析を行ない, これらの $\log Rt$ vs. *n* が各温度において直線性を示すことを認めているが, その他の辛子油については $\log Rt$ vs. *T* の直線性を認めたのみで, 各系の $\log Rt$ vs. *n* (RNCS 中の炭素数) については考察していない. 本実験で各系辛子油の $\log Rt$ vs. *n* の直線性および平行関係を明らかにした.

また DEGS (Fig. 2) の場合も $\log Rt$ vs. *n* は各系

Table III. Gas-liquid Chromatographic Data of Isothiocyanates

Sample No.	Isothiocyanates	Relative retention time			
		10% SE-30/C-22		2.5% DEGS/C-22	
		CB 102°C, N ₂ 20 ml/min	CB 124°C, N ₂ 39.5 ml/min	CB 57°C, N ₂ 48 ml/min	CB 102°C, N ₂ 20 ml/min
1	Methyl	0.08	0.12	0.06	0.15
2	Ethyl	0.11	0.16	0.07	0.15
3	<i>n</i> -Propyl	0.17	0.21	0.10	0.19
4	<i>n</i> -Butyl	0.30	0.35	0.19	0.28
5	<i>n</i> -Amyl	0.55	0.54	0.42	0.45
6	<i>n</i> -Hexyl	0.97	0.91	0.87	0.81
7	<i>n</i> -Octyl	3.33	2.87	4.36	2.42
8	<i>iso</i> -Propyl	0.12	0.18	0.06	0.15
9	<i>iso</i> -Butyl	0.23	0.28	0.14	0.24
10	<i>iso</i> -Amyl	0.42	0.44	0.31	0.36
11	<i>sec</i> -Butyl	0.21	0.25	0.13	0.21
12	<i>sec</i> -Heptyl	1.27	1.03	0.96	0.81
13	<i>sec</i> -Octyl	2.42	1.79	2.31	1.53
14	2-Ethyl- <i>n</i> -hexyl	2.20	1.47	2.52	1.56
15	Allyl	0.15	0.21	0.12	0.23
16	3-Butenyl	0.28	0.32	0.28	0.38
17	Phenyl	1.00	1.00	1.00	1.00
18	Benzyl	2.77	2.05	—	4.58
19	β -Phenylethyl	5.00	3.50	—	9.22

Relative retention time was based on phenyl isothiocyanate (1.00).

Fig. 1. Effect of Carbon Numbers in Isothiocyanates on Retention of Isothiocyanates. (I)

Column : 10% SE-30/C-22

A : Column bath temp. 102°C,
Carrier (N₂) flow 20 ml/min

B : Column bath temp. 124°C,
Carrier (N₂) flow 39.5 ml/min

Number in Fig. : Sample No.

—△— n-Alkyl   —○— Alkenyl
—□— iso-Alkyl   —●— Aromatic
—×— sec-Alkyl   ⊙ Extra

ともにはほぼ直線上にプロットされる。しかしこの場合も n の小さいものは直線上よりはずれる傾向にある。また各系の直線は芳香族系を除き、ほぼ平行となった。各系の R_t は n が同数のものでは、芳香族系、アルケニル系、 n -系、 iso -系、 sec -系の順に早くなり、SE-30 の場合の n -系とアルケニル系の直線が逆転した。

この結果は Jart⁽⁶⁾が Tritolyl phosphate(極性)/Celite を用いた場合と同様の傾向である。

要 約

合成辛子油 19 種を n -アルキル系、 iso -アルキル系、 sec -アルキル系、アルケニル系、芳香族系およびその他の 6 系に分ち、これらの GC 分析を行なった。カラムには 10% SE-30 (無極性)/C-22 と 2.5% DEGS (極性)/

Fig. 2. Effect of Carbon Numbers in Isothiocyanates on Retention of Isothiocyanates. (II)

Column : 2.5% DEGS/C-22

A : Column bath temp. 57°C,
Carrier (N₂) flow 48 ml/min

B : Column bath temp. 102°C,
Carrier (N₂) flow 20 ml/min

Number in Fig. : Sample No.

—△— n-Alkyl   —○— Alkenyl
—□— iso-Alkyl   —●— Aromatic
—×— sec-Alkyl   ⊙ Extra

C-22 の 2 種を用いた。

SE-30 カラムの場合、 $\log R_t$ vs. n (RNCS 中の炭素数) は n -系、 iso -系および sec -系辛子油はいずれも直線にプロットされ、各系の直線には平行関係があった。アルケニル系および芳香族系辛子油にも直線性があり、しかも前と平行関係があるようである。

DEGS カラムの場合も芳香族系辛子油を除き、他の 4 系は前者と同様、直線性および平行関係があった。また同一炭素数の辛子油では、 R_t は SE-30 の場合、芳香族系、 n -系、アルケニル系、 iso -系、 sec -系の順に早くなり、沸点順になったが、DEGS の場合、 n -系とアルケニル系辛子油は逆転し、 R_t はアルケニル系より n -系の方が早くなった。

本研究は昭和 42 年 10 月、日本農芸化学会中部支部秋

季大会において発表した。なお、元素分析および紫外吸収スペクトル測定を担当された本学元素分析室の成田九州男氏はじめ元素分析室および分光分析室の諸氏に深く感謝する。

-
- (1) 第 7 改正日本薬局方第二部・注・解説, 広川書店, 1961, p. 96.
  - (2) 長島善次, 中川致之: 農化, **31**, 416 (1957).
  - (3) A. Kjaer and K. Rubinstein: *Acta Chem. Scand.*, **7**, 528 (1953).
  - (4) A. Kjaer and A. Jart: *ibid.*, **11**, 1423 (1957).
  - (5) A. Jart: *ibid.*, **15**, 1223 (1961).
  - (6) D. A. M. Mackay and E. J. Hewitt: *Food Res.*, **24**, 253 (1959).
  - (7) E. P. Lichtenstein, D. G. Morgan and C. H. Mueller: *J. Agr. Food Chem.*, **12**, 158 (1964).
  - (8) 長井長義: 薬誌, **12**, 753 (1892).
  - (9) 長島善次: 農化, **28**, 119 (1954).
  - (10) O. Mumm and H. Richter: *Chem. Ber.*, **73**, 843 (1940).
  - (11) C. S. Marvel and W. A. Noyes: *J. Am. Chem. Soc.*, **42**, 2276 (1920).
  - (12) A. Kjaer, K. Rubinstein and K. A. Jensen: *Acta Chem. Scand.*, **7**, 518 (1953).
  - (13) R. Kremann and R. Riebl: *Z. phys. Chem.*, **A 165**, 372 (1933).
  - (14) H. Schmid and P. Karrer: *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1017 (1948).
  - (15) M. Pestemer and B. Litschauer: *Monatsh.*, **65**, 239 (1935).
  - (16) A. T. James: *J. Chromatog.*, **2**, 552 (1959).
  - (17) T. K. Miwa, K. L. Mikolajczak, F. R. Earle and I. A. Wolf: *Anal. Chem.*, **32**, 1739 (1960).
  - (18) R. G. Ackman: *J. Am. Oil. Chemists' Soc.*, **40**, 558 (1963).
  - (19) E. Schmidt, F. Zaller, F. Moosmüller and E. Kammerl: *Ann.*, **585**, 230 (1954).
  - (20) M. G. Ettlinger and J. F. Hodgkins: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 1831 (1955).
-