

Nヒドロキシイミド誘導体を利用したモノグリセリド検出の試み

教科・領域教育専攻

自然系コース(理科)

指導教員 胸組 虎胤

成光 純哉

1. はじめに

中学校教育における理科の生物分野では、酵素の役割が重要な内容として取り上げられている。消化酵素という名称で扱われ、具体的名称としてアミラーゼ、ペプシン、トリプシン、リパーゼと紹介されている。

表 1. 中学校で学ぶ消化酵素 [1]

消化酵素	反応物と生成物	消化液
アミラーゼ	デンプンやグリコーゲン → マルトース、デキストリン	唾液、膵液
ペプシン	タンパク質 → ポリペプチド	胃液
トリプシン	タンパク質 → ペプチド	膵液
リパーゼ	脂肪 → 脂肪酸と モノグリセリド	唾液、膵液、 胃液

消化酵素の働きを調べる実験として教科書に掲載されているほとんどがアミラーゼに関するものである。アミラーゼの働きを調べる実験としては唾液とヨウ素液とベネジクト液が用いられている。唾液は口内から採取したものを使用する。ヨウ素液はデンプンを、ベネジクト液はデンプンから分解された還元糖をそれぞれ検出する。大がかりな器具を必要とせず簡単に観察・実験を行うことができる。[2] また、尿検査試験

紙であるウロペーパーを使用することでペプシンやトリプシンによるタンパク質の分解の有無を調べることができる。[3] しかし、リパーゼによる脂肪の分解は検出方法が確立されていないため、リパーゼという単語の暗記にとどまってしまう、他の消化酵素と比べ経験的に学ぶことができないのが現状である。

先行研究でα-アミノオキシカルボン酸の合成時に中間体であるNヒドロキシイミド誘導体(NHPID)がメタノールにより開環反応をすることが確認された。他のフタルイミド誘導体では知られていない反応であり、アルコール性ヒドロキシ基の検出に有用である。また、NHPIDの一つであるN-フタロイル-2-アミノオキシ-プロピオン酸メチルとメタノールの混合による開環反応について、吸収波長が295 nm付近から275 nm付近に変化することが確認されている。

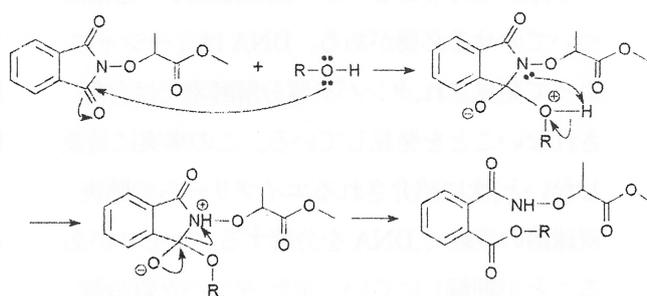


図 1. N-フタロイル-2-アミノオキシ-プロピオン酸メチルのアルコールによる開環の反応機構

脂肪の分解によって生成されるモノグリセリドは2つのアルコール性ヒドロキシ基を有している。NHPID がリパーゼによる脂肪の分解で生成したモノグリセリドの検出試薬として使用できた場合、モノグリセリドの定性・定量の方法が確立されることで観察・実験を通じ経験的に学ぶことができる。以上のことを目指し実験を行った。

2. 実験方法

溶媒としてクロロホルムを使用した。エチレングリコールとモノアセチンはクロロホルムと混合せず分離してしまうため、エチレングリコールとモノアセチンを使用する実験ではTHFを溶媒とした。使用したNHPIDを図2と図3に示した。

セル内に一定量の溶媒と対象アルコールを入れ、NHPIDを加えスクリーキャップを締め攪拌した。混合した瞬間に反応が始まるため素早くセルホルダーに装着し測定を行った。

日本分光製 紫外可視近赤外分光光度計「Jasco V-730 BIO」を使用し、室温約25度で測定した。ベースライン測定は使用する溶媒にて行った。混合溶液の測定はセル内で混合したときを0分とした。

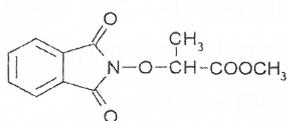


図2. *N*-フタロイル-2-アミノオキシ

プロピオン酸メチル (以下メチル誘導体)

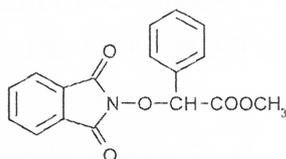


図3. *N*-フタロイル-2-アミノオキシ

-2-フェニル酢酸メチル (以下フェニル誘導体)

3. 結果と考察

① メチル誘導体とエチレングリコール

295 nm 付近の *N*-メチルの吸光度が減少し、*N*-メチルが反応したことが確認できた。しかし、開環生成物の吸収波長のシフトは確認することができなかった。

② メチル誘導体とモノグリセリド

①と同様、295 nm 付近の *N*-メチルの吸光度が減少し、開環生成物の吸収波長のシフトは確認することができなかった。

③ フェニル誘導体とメタノール

反応開始から 295 nm 付近の *N*-フェニルの吸収波長が見られず、275 nm 付近の吸光度は増大していることが確認できた。近赤外域のヒドロキシ基の吸光度減少からメタノールによる開環反応で 275 nm が増大したと考えられる。

④ フェニル誘導体とモノグリセリド

反応開始から 293 nm 付近吸収波長が低波長側にシフトしており、吸光度は増大した。モノグリセリドにより開環反応で増大したと考えられる。

4. 参考文献

- [1] 旺文社：「生物事典」
- [2] 胸組虎胤：「化学と教育」, 51 巻, 4 号, p238
- [3] Toratane Munegumi et al. : 「Hydrolysis of Egg White Protein Using Proteinase Cleaning Materials」, The Chemical Educator, 2015, 20, p276-279