

貝類缶詰の緑変に関する研究—II

缶詰かきの緑色色素の分離と物理化学的性質 (2)

長 田 博 光

Studies on Greening of Canned Shellfishes—II

Isolation of Green Pigments of Canned Oysters and their Physico-Chemical Properties

Hiromitsu Osada

In the previous paper it was reported that the green pigments of canned oysters are separated into three components. Further investigation showed that they can be further separated by organic solvents into five components containing copper.

Results from the absorption spectra, thin layer chromatographies, solubility examination, infra-red spectra and micro analyses indicated that they are not chlorophyll a or copper chlorophyllin a, but they are similar to copper phaeophytin a or copper phaeophorbide a.

前報¹⁾において缶詰かきの緑色色素は三成分から成ることを報告したが、これらの色素は溶剤によってさらに分別できることを認めたので、その分別法とそれらの物理化学的性質について調べたので以下にその結果を報告する。

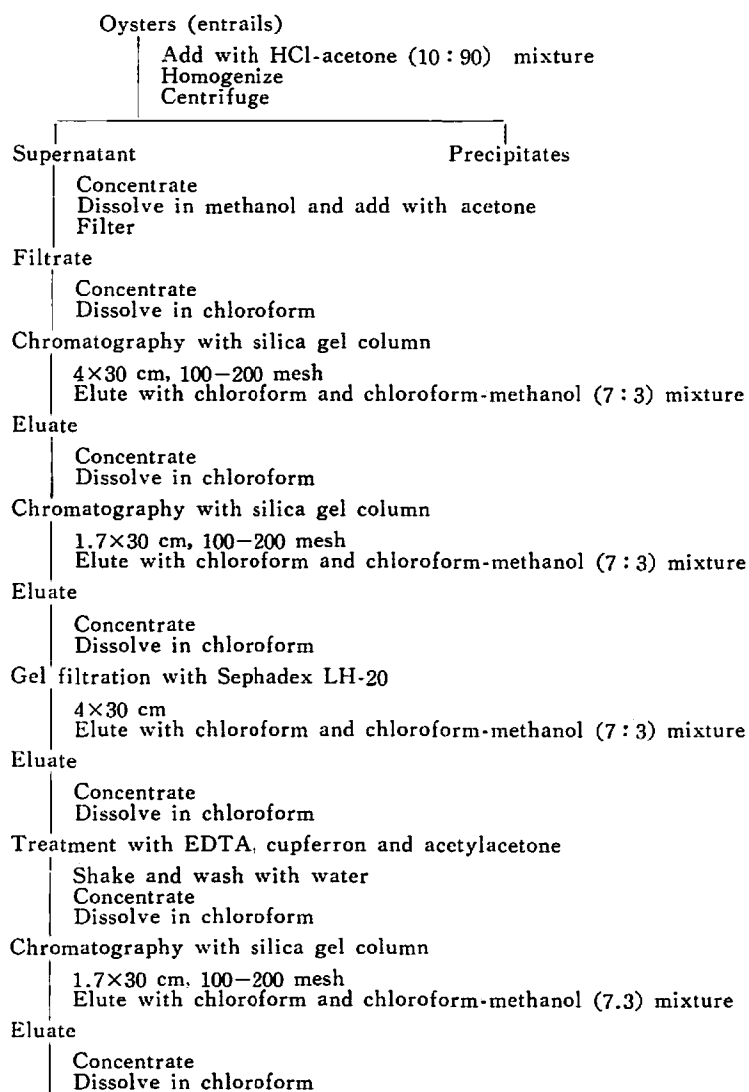
実 験 方 法

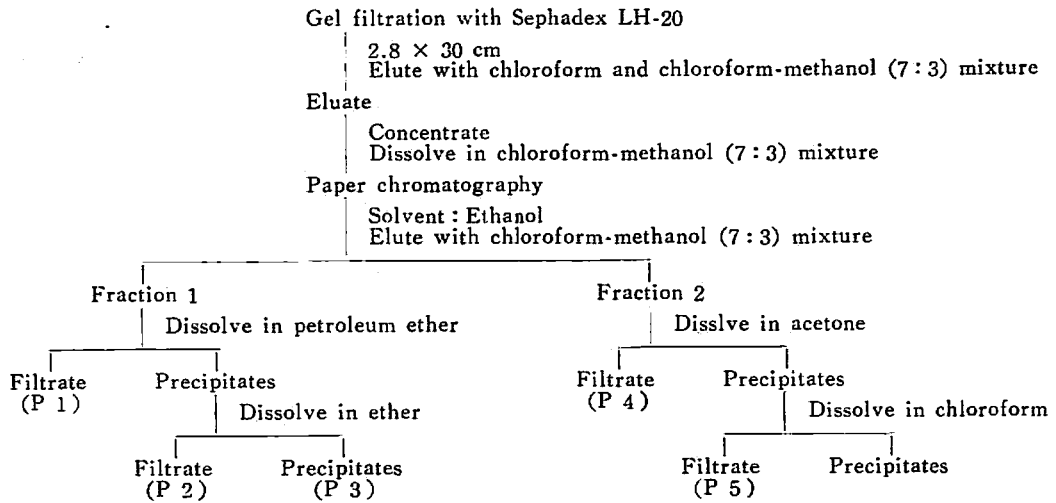
1. 緑色色素の分離

缶詰かきの緑色色素の分離精製法は、第1図に示したごとく缶詰かきの内臓部を塩酸—アセトン (10:90) 混液とともにホモジナイズし、遠心分離する。沈殿はさらに同液にて3回抽出し、抽出液を合わせて、60°Cにて減圧濃縮し、十分に塩酸を除去する。残渣は少量のメタノールに溶かした後、過剰のアセトンを加え、アセトン不溶物をろ別する。ろ液を60°Cにて減圧濃縮し、残渣はクロロホルムに溶かし、4×30cmのシリカゲルカラムにかけ、クロロホルムおよびクロロホルム—メタノール (7:3) 混液にて溶出し、油脂および褐色色素を除去する。この操作を2回くり返し行なった後、緑色部をさらに1.7×30cmのシリカゲルカラムにかけ、同様にクロロホルムおよびクロロホルム—メタノール (7:3) 混液にて溶出し、褐色色素をほぼ完全に除去する。緑色部は60°Cにて減圧濃縮した後、クロロホルムに溶かし、4×30cmのセファデックス LII-20 カラムを用いて、クロロホルムおよびクロロホルム—メタノール (7:3) 混液を溶出剤としてゲルろ過を行ない、

緑色部を精製する。さらに不純物として混在している金属を除去するために、緑色部をクロロホルムに溶かし、EDTAおよびクペロンの水溶液、アセチルアセトンを加え、振盪し、3回水洗した後、クロロホルム層を60°Cにて減圧濃縮し、残渣をクロロホルムに溶かし、1.7×30cmのシリカゲルカラムおよび2.8×30cmのセファデックスL H-20カラムを用いて同様に精製した後、エタノールを展開剤として、緑色部を帯状につけ、ペーパークロマトグラフィーを行ない、上昇する区と原点にとどまる区の二つに分別する（それぞれフラクション1およびフラクション2と略称）。フラクション1は石油エーテル、エーテルおよびアセトンにて分別し、フラクション2はアセトンおよびクロロホルムにて分別した。

Fig. 1 Procedure for purificating the green pigments of canned oysters





2. 分析方法

(1) 吸収スペクトル

緑色色素をクロロホルムに溶かし、日立-パーキンエルマ 139 分光光度計にて測定した。

(2) 薄層クロマトグラフィー

和光ゲル B10 を用い、エタノール、クロロホルム、ブタノール、メタノール、アセトン、ピリジン、クロロホルム：エタノール (1:9)、クロロホルム：メタノール (7:3)、メタノール：水 (1:1) および塩酸：メタノール (1:99) の 10 種類の溶媒を展開剤として薄層クロマトグラフィーを行なった。

(3) 溶剤に対する溶解性

緑色色素の水、クロロホルム、メタノール、エタノール、アセトン、石油エーテル、エーテル、ベンゼンおよびブタノールに対する溶解性について調べた。

(4) 赤外線吸収スペクトル

緑色色素をクロロホルムに溶かし、島津自記赤外分光光度計 AR-275 II S 形にて測定した。

(5) 元素分析

粉末として得られた緑色色素 3, 4 および 5 について元素分析を行なった。

結果と考察

1. 緑色色素の分離

缶詰かきの緑色色素は第 1 図に示したごとく 5 成分に分けられる (それぞれ P 1, P 2, P 3, P 4 および P 5 と略称)。P 1 および P 2 は青緑色、油状、P 3 および P 4 は青緑色、粉末、P 5 は暗緑色、粉末であり、ほぼ 1:2:8:2:3 の割合で得られ、P 3 が缶詰かきの緑色色素の主成分と考えられる。

2. 吸収スペクトルならびに吸収極大

缶詰かきの5つの緑色色素の吸収スペクトルならびに吸収極大は第2図および第1表に示したごとくP1は410, 605, 650 μ に、P2およびP3は415, 605, 655 μ に、P4は420, 560, 610, 660 μ に、P5は420, 600, 660 μ に吸収極大を持っていることを認めた。

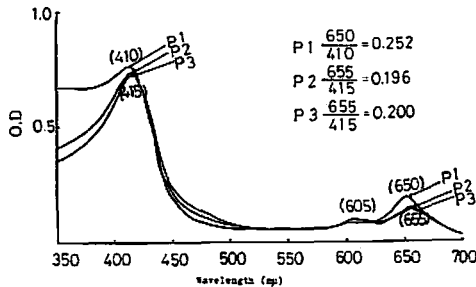


Fig. 2 Absorption spectra of the green pigments (P1,2,3) of canned cysters
Solvent : Chloroform

3. 薄層クロマトグラフィー

缶詰かきの5つの緑色色素の薄層クロマトグラフィーの結果は第2表に示したごとくP1とP2とはいずれの展開剤でも同一のRf値を示した。P3はブタノール、クロロホルム：エタノール(1:9)を展開剤とした場合のRf値が前二者と異なるが、他の展開剤では同一のRf値を示した。P4はメタノールを展開剤とした場合を除きP3とはほぼ同一のRf値を示した。P5は前四者と著しく異なったRf値を示した。

4. 溶剤に対する溶解性

缶詰かきの5つの緑色色素の溶剤に対する溶解性は第3表に示したごとく、いずれも水に不溶性であり、クロロホルムには可溶性である。アセトン

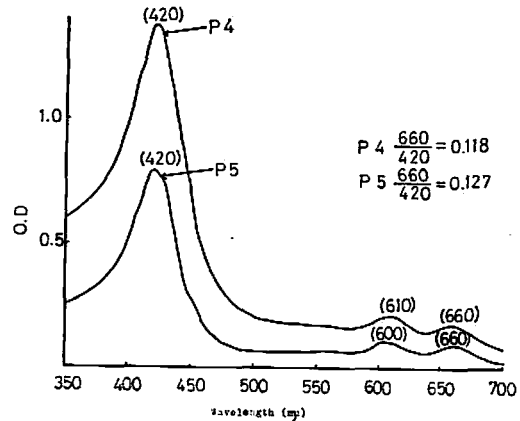


Fig. 3 Absorption spectra of the green pigments (P4,5) of canned oysters
Solvent : Chloroform

Table 1 Maximum wave length of the green pigments of canned oysters

Green pigment	λ max. (m μ)
P 1	410, 605, 650.
P 2	415, 605, 655.
P 3	415, 605, 655.
P 4	420, 560, 610, 660.
P 5	420, 600, 660.

Table 2 Rf values in thin layer chromatography of the green pigments of canned oysters

	Green pigment				
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Ethanol	0.92	0.92	0.92 tailing	0	0
Chloroform	0	0	0	0	0
Butanol	0.88	0.88	tailing	tailing	0
Methanol	0.87	0.87	0 0.87	0 0	0
Acetone	1.00	1.00	1.00	1.00 0	0
Pyridine	0.95	0.95	0.95	0.95 0	0
Chloroform : Ethanol (1 : 9)	0.84	0.84	0 tailing	0 tailing	0
Chloroform : Methanol(7 : 3)	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Methanol : Water (1 : 1)	0	0	0	0	0
HCl : Methanol (1 : 99)	0.89	0.89	0 0.89	0 0.89	0

にはP 1, P 2, P 3およびP 4は可溶性であり, P 5はわずかに可溶性である。メタノールにはP 1, P 2およびP 3は可溶性であり, P 4およびP 5は不溶性である。エタノールおよびブタノールにはP 1, P 2およびP 3は可溶性であり, P 4はわずかに可溶性, P 5は不溶性である。石油エーテルにはP 1は可溶性であるが, 他はいずれも不溶性である。エーテルにはP 1およびP 2は可溶性であり, 他は不溶性である。またベンゼンにはP 5を除いて他はいずれも可溶性である。

Table 3 Solubilities of the green pigments of canned oysters

	Green pigments				
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Water	-	-	-	-	-
Chloroform	++	++	++	++	÷+
Methanol	++	++	++	-	-
Ethanol	++	++	++	±	-
Acetone	++	++	÷+	++	±
Petroleum ether	++	-	-	-	-
Ether	++	++	-	-	-
Benzene	++	++	÷+	++	-
Butanol	++	++	++	±	-

++ soluble + fairly soluble
± slightly soluble - insoluble

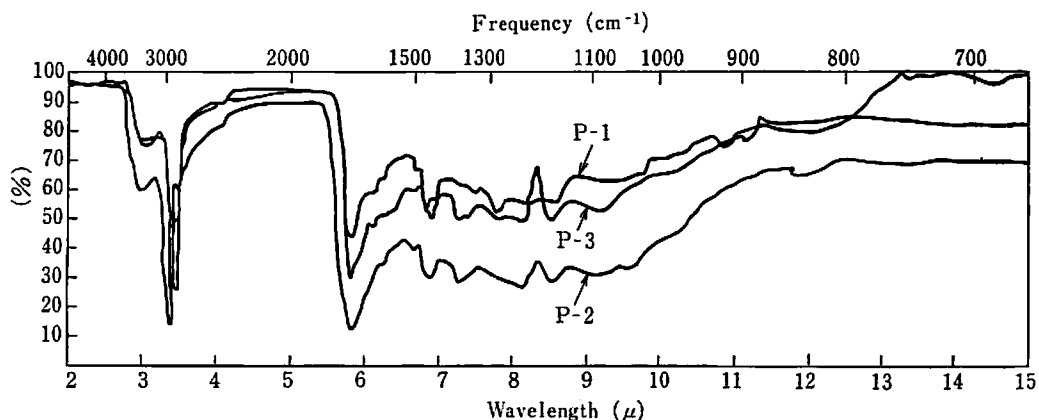


Fig. 4 Infrared spectra of the green pigments (P 1, 2, 3) of canned oysters
Solvent : Chloroform.

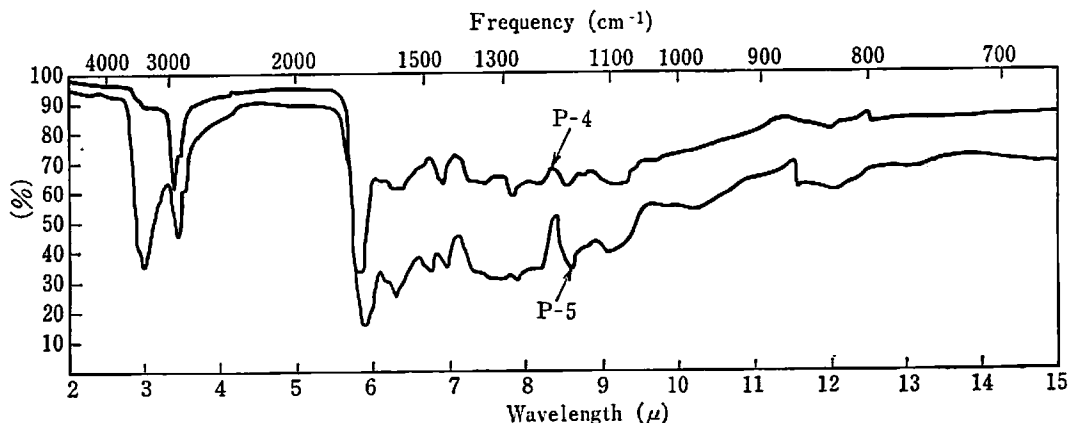


Fig. 5 Infrared spectra of the green pigments (P4.5) of canned oysters. Solvent : Chloroform

5. 赤外線吸収スペクトル

缶詰かきの5つの緑色色素の赤外線吸収スペクトルは第4, 5図に示したごとく, いずれも3.0, 3.4, 5.8, 6.8~7.0, 7.3, 8.3, 8.5~8.6 および 9.1~9.2 μ に吸収を持っていることが認められた。

6. 元素分析

缶詰かきの5つの緑色色素のうちP3, P4 およびP5の元素分析の結果は第4表に示したごとく, いずれも銅を含有しており, これらの元素分析の結果よりP3の実験式は $C_{52}H_{64}N_4O_{12}Cu$, P4の実験式は $C_{38}H_{37}N_4O_8Cu$, P5の実験式は $C_{37}H_{39}N_4O_9Cu$ であり, P3は銅フェオフィチンに, P4およびP5は銅フェオホルバイドに類似している。

以上の実験結果より缶詰かきの緑色色素は5つに分別できるが, そのうちP1とP2はほぼ同一色素であり, P4とP5も同一色素であろうと考えられるので, 三成分より構成され, それらのはかきが餌料として摂取した植物プランクトンのクロロフィルに由来するものであり, クロロフィルの誘導体であろうと推定する。

Table 4 Micro elemental analysis values of green pigments (P3,4,5) of canned oysters (%)

	Green pigments		
	P 3	P 4	P 5
H	6.55	5.36	5.00
	6.51	5.34	5.09
C	63.66	64.78	63.03
	63.43	64.62	62.93
N	5.75	8.16	7.50
	5.71	7.88	7.60
Cu	2.47	5.66	4.41
Fe	0	0	0
Mg	trace	trace	trace
Zn	trace	trace	trace

要 約

缶詰かきの緑色色素をシリカゲルカラムクロマトグラフィー, セファデックス LH-20によるゲルろ過, キレート剤およびペーパークロマトグラフィーにより精製し, 石油エーテル, エーテル, アセトンおよびクロロホルムにて分別した結果5成分に分けられた。これらの色素の可視および赤外線吸収スペクトル, 薄層クロマトグラフィーの *R_f* 値, 溶剤に対する溶解性ならびに構成元素について調べた結果, 緑色色素1と2はほぼ同一の色素であり, 緑色色素4と5も同一であると考えられるので, 缶詰かきの緑色色素は三成分より成り, それらはクロロフィルの誘導体であろうと考えられる。

文 献

- 1) 長田博光, 大塚滋, 志賀岩雄: 日本食品工業誌, 16, 197 (1967)