

貝類缶詰の緑変に関する研究——Ⅲ

生かきと缶詰かきの緑色色素の物理化学的性質の比較

長 田 博 光

Studies on Greening of Canned Shellfishes——III Comparison Between the Physio-Chemical Property of the Green Pigments of Raw Oysters and that of Canned Ones

Hiromitsu Osada

Considering that raw oysters may contain the precursor or the same pigments found in canned ones, the physico-chemical property of the green pigments of raw oysters was compared with that of canned ones. By extraction with hydrochloric acid-acetone mixture, followed by the purification method adopted in the canned ones, the green pigments of raw ones were separated into five components as in the case of the former.

From the experimental results obtained by absorption spectral analysis, thin layer chromatography, solubility test, infra-red spectral analysis and micro elemental analysis, it is concluded that the above consideration is correct.

生かきの塩酸-アセトン抽出液が緑色を呈することより、生かきの中にすでに缶詰かきの緑色色素の前駆物質、あるいは同一の色素が潜在しているのではないかと推定された。

本報では、生かきの塩酸-アセトン抽出物を精製分別し、その物理化学的性質を調べ、缶詰かきの緑色色素のそれと比較し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

生かきの緑色色素の分離精製は生かきの内臓部を集め塩酸-アセトン(10:90)混液にて4回抽出した後、缶詰かきの緑色色素の精製法¹⁾にしたがって精製し、石油エーテル、エーテル・アセトン及びクロロホルムにて分別した。

2. 分析 方法

2-1 吸収スペクトル

生かきの緑色色素をクロロホルムに溶かし、350~700m μ における吸光度を日立-パーキンエルマ139分光光度計にて測定した。

2-2 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)及び塩酸-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。

2-3 溶剤に対する溶解性

生かきの緑色色素の水、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・ベンゼン及びブタールに対する溶解性について調べた。

2-4 赤外線吸収スペクトル

生かきの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-275II S形にて測定した。

2-5 元素分析

生かきの緑色色素のうち粉末として得られたP3、P4、及びP5の三つの色素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

生かきの緑色色素は5成分に分けられる(それぞれP1、P2、P3、P4及びP5と略称)。P1とP2は青緑色、油状、P3とP4は青緑色、粉末、P5は暗緑色、粉末であり、ほぼ1:1:5:5:3の割合で得られた。

2. 吸収スペクトル

生かきの緑色色素の吸収スペクトルは第1、2図に示したごとく、P1、P2及びP3はほぼ同一の吸収スペクトルを示し、P4とP5もまた

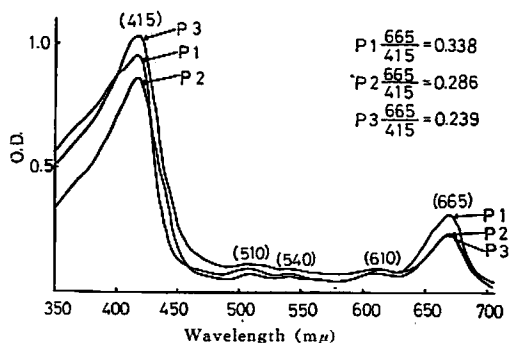


Fig. 1 Absorption spectra of the green pigments (P1,2,3) of raw oysters
Solvent: chloroform.

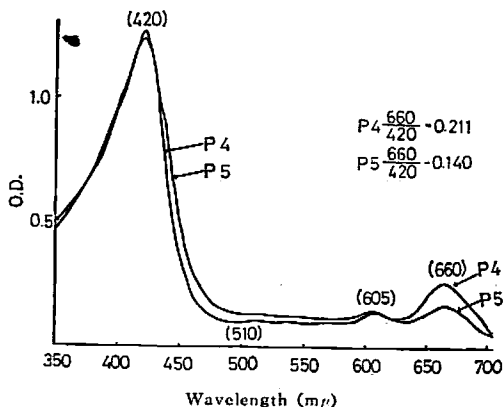


Fig. 2 Absorption spectra of the green pigments (P4,5) of raw oysters
Solvent: Chloroform

ほぼ同一の吸収スペクトルを示した。それぞれの極大吸収値は第1表に示したごとく、P 1, P 2 及び P 3 はいずれも 415, 510, 540, 610, 665m μ に、P 4 は 420, 510, 605, 660m μ に、P 5 は 420, 605, 660m μ に極大吸収を持っていることが認められた。これらの色素のう

Table 1 Comparison with maximam wave length of the green pigments of raw and canned oysters

Green pigment	λ max. (m μ)	
	Raw oysters	Canned oysters
P 1	415, 510, 540, 610, 665	410, 605, 650
P 2	415, 510, 540, 610, 665	415, 605, 655
P 3	415, 510, 540, 610, 665	415, 605, 655
P 4	420, 510, 605, 660	420, 560, 610, 660
P 5	420, 605, 660	420, 600, 660

ち P 1, P 2 及び P 3 は 缶詰かきのそれらに比べて極大吸収波長はやや長波長側に移動しているが、P 4 と P 5 は缶詰かきのそれらとほぼ類似していることが認められた。

3. 薄層クロマトグラフィー

生かき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、P 1, P 2 及び P 3 はいずれの展開剤でも全く同一の *Rf* 値を示したが、P 4 は前三者とほぼ類似しているが、エタノール、メタノール及び塩酸-メタノール (1:99) を展開剤とした場合二つのスポットに分離した。P 5 は前四者と著しく異なった *Rf* 値を示した。これらの緑色色素の *Rf* 値は缶詰かきの緑色色素の *Rf* 値といずれもほぼ一致していることが認められた。

4. 溶剤に対する溶解性

生かきの緑色色素の溶剤に対する溶解性の結果は第3表に示したごとく、いずれも水に不溶性

Table 2 Comparison with *Rf* values in thin layer chromatography of the green pigments of raw and canned oysters

	Green pigments of raw oysters					Green pigments of canned oysters				
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Ethanol	0.85	0.85	0.85	0.85	0	0.92	0.92	0.92 tailing	0	0
Chloroform	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Butanol	0.87	0.87	0.87	0.87	0	0.88	0.88	tailing	tailing	0
Methanol	0.87	0.87	0.87	0.87	0	0.87	0.87	0 0.87	0	0
Acetone	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00 0	1.00	1.00	1.00	1.00 0	0
Pyridine	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90 0	0.95	0.95	0.95	0.95 0	0
Chloroform : Ethanol (1:9)	0.84	0.84	0.84	0.84	0	0.84	0.84	0 tailing	0 tailing	0
Chloroform : Methanol (7:3)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00 0	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Methanol : Water (1:1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HCl : Methanol (1:99)	0.85	0.85	0.85	0.85 0	0 tailing	0.89	0.89	0 0.89	0 0.89	0

で、クロロホルムには可溶性である。アセトンにはP5がやや可溶性であるほか、他は全て可溶性である。メタノール、エタノール及びブタノールにはP1、P2、P3はいずれも可溶性であるが、P4、P5はややあるいはわずかに可溶性である。石油エーテルにはP1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P1、P2は可溶性であり、P3、P4はややあるいはわずかに可溶性であるが、P5は不溶性である。ベンゼンにはP1、P2、P3は可溶性であり、P4はやや可溶性であるが、P5は不溶性である。これらの緑色色素の溶剤に対する溶解性は缶詰かきの緑色色素のそれらといずれもよく類似していることが認められた。

Table 3 Comparison with solubilities of the green pigments of raw and canned oysters

	Green pigments of raw oysters					Green pigments of canned oysters				
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Water	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloroform	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Methanol	++	++	++	+	±	++	++	++	-	-
Ethanol	++	++	++	±	±	++	++	++	±	-
Acetone	++	++	++	++	+	++	++	++	++	±
Potroleum ether	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-
Ether	++	++	+	±	-	++	++	-	-	-
Benzene	++	++	++	+	-	++	++	++	++	-
Butanol	++	++	++	+	±	++	++	++	±	-

++ soluble + fairly soluble ± slightly soluble - insoluble

5. 赤外線吸収スペクトル

生かきの赤外線吸収スペクトルは第3～7図に示したごとくいずれも3.0、3.4、5.8～5.9、6.8～6.9、7.3、8.2及び8.5 μ に吸収を持っており、缶詰かきの緑色色素のそれらとほぼ同一であることが認められた。

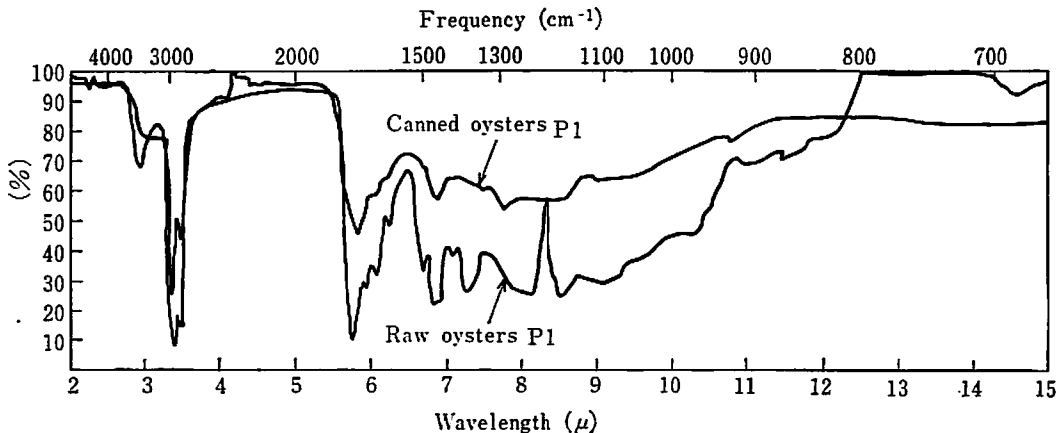


Fig. 3 Infrared spectra of the green pigment (P1) of raw and canned oysters
Solvent: Chloroform.

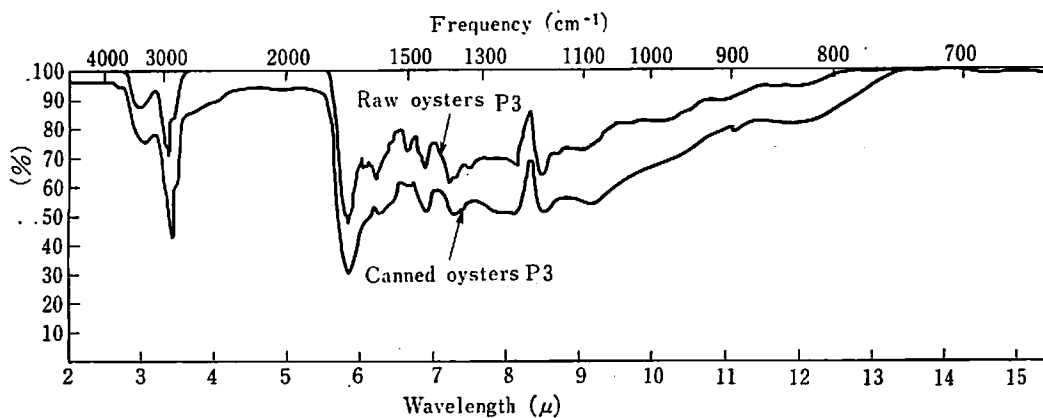


Fig. 5 Infrared spectra of the green pigment (P3) of raw and canned oysters
Solvent : Chloroform

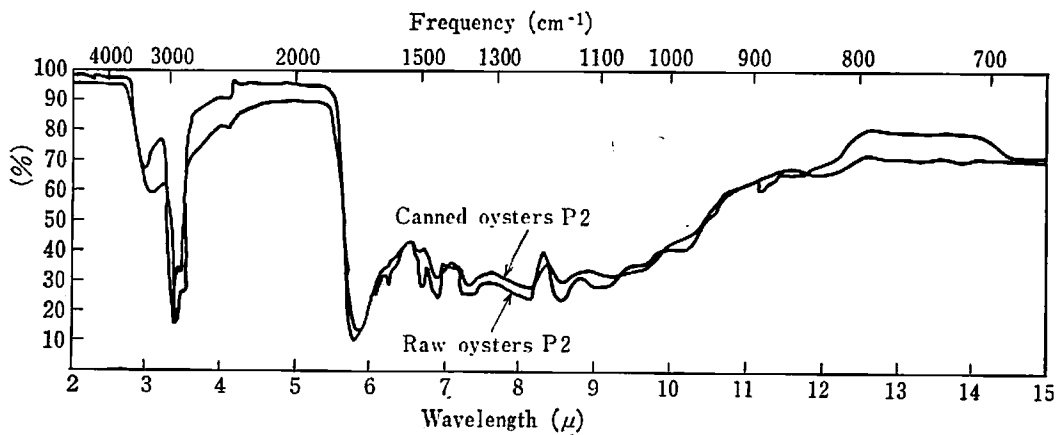


Fig. 4 Infrared spectra of the green pigment (P2) of raw and canned oysters
Solvent : Chloroform

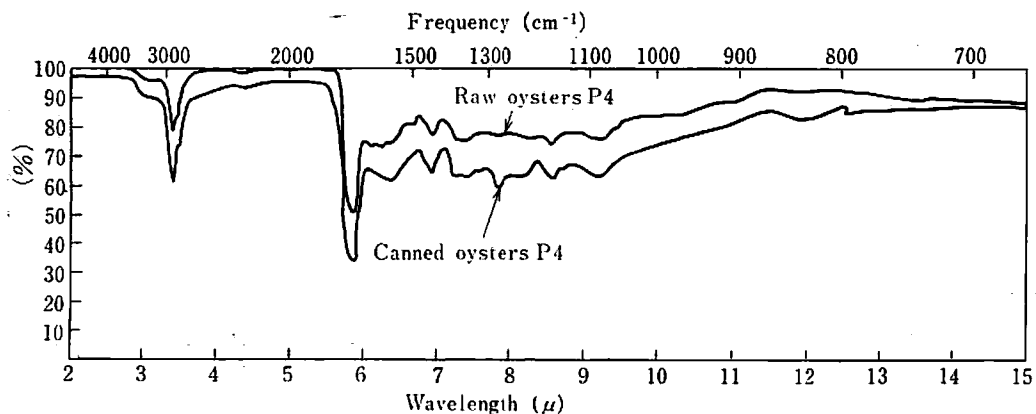


Fig. 6 Infrared spectra of the green pigment (P4) of raw and canned oysters
Solvent : Chloroform

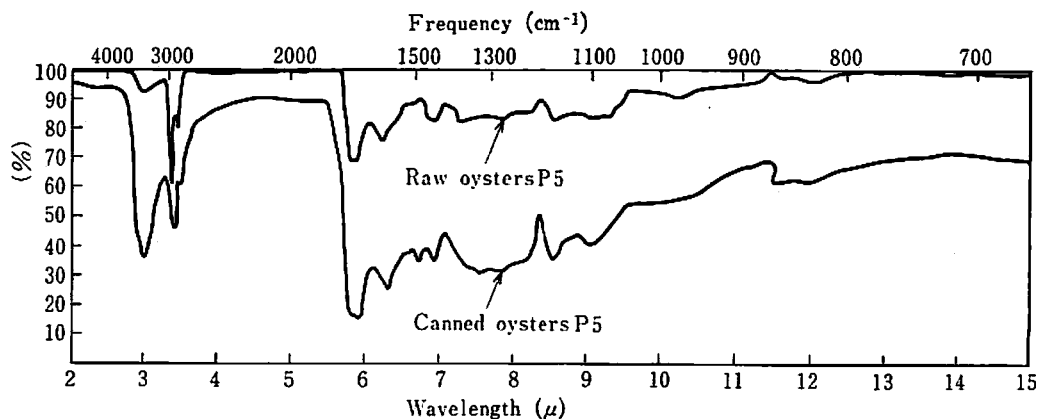


Fig. 7 Infrared spectra of the green pigment (P5) of raw and canned oysters
Solvent: Chloroform

6. 元素分析

生かきの緑色色素のうちP3, P4及びP5の元素分析の結果は第4表に示したごとく、いずれも銅を含んでおり、これらの元素分析の結果よりP3の実験式は $C_{41}H_{16}N_4O_9Cu$, P4は $C_{39}H_{14}N_4O_9Cu$, P5は $C_{42}H_{17}N_4O_{11}Cu$ であり、三者はほぼ同一の物質であり、これらは銅フェオホルバイド²⁾に類似しているものと考えられる。これら三つの色素は缶詰かきのP4, P5にほぼ類似している。

第1報¹⁾において著者らは缶詰かきの緑色色素はその物理化学的性質より銅とのキレート化合物とは明らかに異なり、クロロフィルともやや異なっていると述べている。この銅とのキレート化合物とは山田³⁾らが述べている銅アミノ酸、銅アミン錯塩のことであり、これらとは明らかに異なり、クロロフィルとは吸収スペクトルおよびその他の物理化学的性質より、よく類似

Table 4 Comparison with micro elemental analysis values of the green pigments (P3,4,5) of raw and canned oysters (%)

	Green pigments of raw oysters			Green pigments of canned oysters		
	P 3	P 4	P 5	P 3	P 4	P 5
H	5.93	5.89	4.80	6.56	5.35	5.04
C	63.88	65.97	51.99	63.56	64.70	62.68
N	7.22	8.00	5.73	5.53	8.02	7.55
Cu	1.01	3.84	1.78	2.47	5.66	4.41
Fe	0	0	0	0	0	0
Mg	trace	trace	trace	trace	trace	trace
Zn	0	0	0	trace	trace	trace

しているが、クロロフィルは加熱するとフェオフィチンとなりオリーブグリーンに変色するのが普通であるが、缶詰かきの緑変は加熱によって発現するものであって、クロロフィルそのものの性質とは全く相反する現象であるので、クロロフィルともやや異なるものと述べた。クロロフィルのマグネシウムは酸および熱によりきわめて容易にポルフィリン核よりはずれるが、銅と置換している場合は酸および熱に対して非常に安定である⁴⁾ことが知られている。実験結果より、生かきに缶詰かきの緑色色素とほぼ同一の色素が潜在していることが認められたが、生かきの体内において、色素の一部はすでに銅と結合した状態で存在しており、他の一部は缶詰製造時における加熱殺菌中に、かきの筋肉から遊離した銅と色素の前駆物質とが結合して緑色色素が形成されており、これらは蛋

白質と結合した状態、または細胞内に存在しているものとする。缶詰かきで緑変するのは加熱により色素が遊離することにより起こるものと考えられる。すなわち、生かきの内臓部は一般に茶褐色ないしは黒褐色であり、缶詰かきのように緑色を呈していない。また生かきにアセトンのみを加えてもアセトン層はあまり緑色にはならないが、塩酸を加えると容易にアセトン層は緑色になる。これは塩酸により色素と蛋白質との結合が切断されたためか、または細胞膜が破壊されたために色素が遊離し、アセトンに溶けやすくなったためであろうと考える。缶詰かきの場合アセトンのみでもかなりの色素が抽出できるが、これは加熱により色素と蛋白質との結合が一部切断されたり、細胞膜が一部破壊されたために色素が遊離しているためと考える。

要 約

生かきの中にすでに缶詰かきの緑色色素の前駆物質、あるいは同一の色素が潜在しているかどうかを知るために、生かきの塩酸-アセトン抽出物を缶詰かきの緑色色素の精製法に従って精製分別し、その物理化学的性質を調べた結果、生かきの緑色色素は缶詰かきの緑色色素と同様に5つの成分に分けられ、それらの物理化学的性質はいずれも缶詰かきの緑色色素のそれにほぼ類似していることが認められた。これら生かきの5つの緑色色素のうち3つの色素はほぼ同一のものであり、銅フェオホルバイド(クロロフィル誘導体)に類似していることが認められた。

文 献

- 1) 長田博光, 大塚滋, 志賀岩雄: 食品工誌, 16, 197 (1969).
- 2) 稲垣勲: 植物化学, p. 239, 医歯薬出版 (1968).
- 3) 山田敏郎, 河野正清, 江上不二夫: 生 化, 26, 462 (1954).
- 4) Vernon, L. P. and Seely, G. R.: The Chlorophylls (New York and London), p. 87 (1966).