

貝類缶詰の緑変に関する研究—IV

アオサ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—IV

Comparison Between the Physico-Chemical Property of the Green Pigments of Aosa (*Ulva Conglobata*) and that of Canned Oysters

Hiromitsu Osada

For the purpose of investigating whether the green pigments of canned oysters are chlorophyll a derivatives or not, the physico-chemical property of the green pigments of Aosa was compared with that of canned oysters by extraction with hydrochloric acid-acetone mixture and addition of copper, followed by the purification method adopted in the case of canned oysters.

Judging from the similarity between them with the exception of micro elemental analysis values, it is considered that the green pigments are chlorophyll a derivatives.

缶詰かきの緑色色素はその物理化学的性質¹⁾からクロロフィル a に比較的よく類似していることが認められた。しかし、缶詰かきの緑色色素はクロロフィル a とは異なり、金属として銅を含んでいるのでクロロフィル a そのものではなく、クロロフィル a の誘導体であろうと推定された。

本報では缶詰かきの緑色色素がクロロフィル a の誘導体であるかどうかを知る一つの方法として、アオサの緑色色素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。

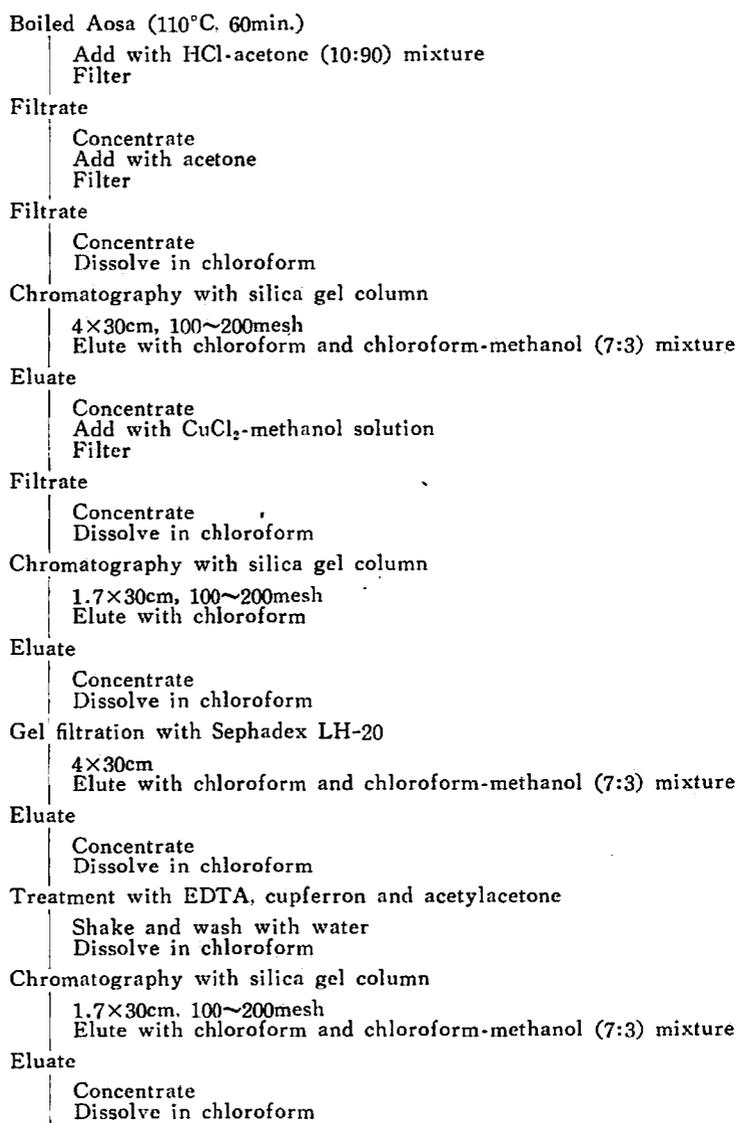
実 験 方 法

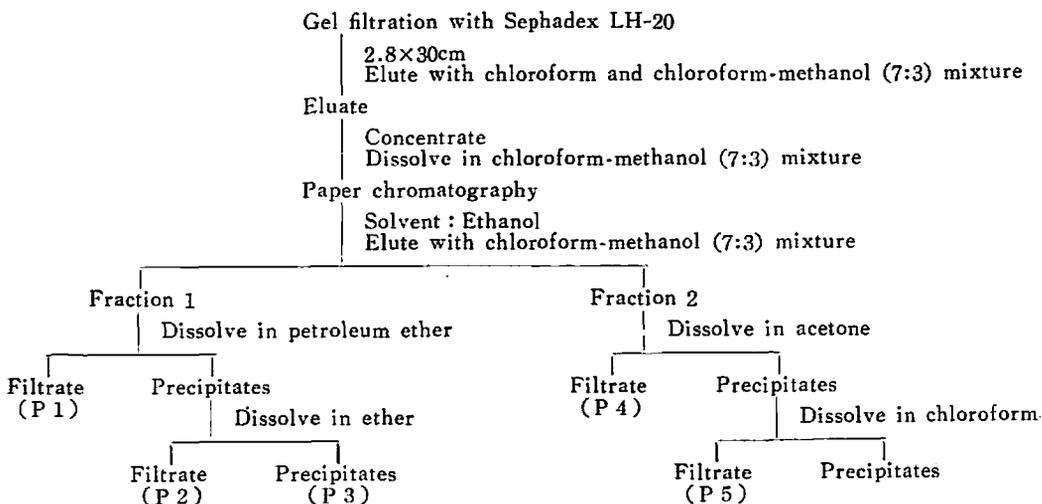
1. アオサの緑色色素の分離¹⁾

アオサの緑色色素の分離精製は第 1 図に示したごとく生アオサを 110°C にて 60 分間蒸煮した後、塩酸-アセトン (10:90) 混液にて残渣が白色になるまで抽出し、抽出液を合わせて 60°C にて減圧濃縮し、アセトンを加えてアセトン不溶物をろ別し、ろ液を 60°C にて減圧濃縮し、十分に塩酸を除去する。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、溶出液を 60°C にて減圧濃縮する。この濃縮液は緑褐色を呈し、缶詰かきのように鮮明な緑色を呈さない。そこで次のごとく銅を添加処理

した。すなわち濃縮液に CuCl_2 -メタノール溶液を加え約 10分間振盪した後ろ過する。ろ液を 60°C にて減圧濃縮し、残渣をクロロホルムに溶かし、 $1.7\times 30\text{cm}$ のシリカゲルカラムにかけ、クロロホルムにて溶出し、溶出液を 60°C にて減圧濃縮した後、残渣をクロロホルムに溶かし、 $4\times 30\text{cm}$ のセファデックス LH-20 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) 混液を溶出剤としてゲルろ過を行ない褐色部を除去する。以下缶詰かきの緑色色素の精製と同様にクペロン、EDTA およびアセチルアセトンにて不純として混在している金属を除去し、シリカゲル、セファデックス LH-20 およびペーパークロマトグラフィーにて精製し、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。

Fig. 1 Procedure for purificating the green pigments of boiled Aosa





2. 分析 方法

2-1 吸収スペクトル

アオサの緑色色素をクロロホルムに溶かし、350m μ から 700m μ の吸光度を日立-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) 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。

2-3 溶剤に対する溶解性

アオサの緑色色素の水、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、ベンゼンおよびブタノ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

アオサ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

アオサの5つの緑色色素のうち粉末として得られたP 3, P 4, P 5の3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

アオサの緑色色素を塩酸-アセトンにて抽出するとシリカゲルカラムにかけた場合緑褐色に変化

する。このことはクロロフィルのマグネシウムが分離し、フェオフィチンになったためと考える。そこで第1図に示したごとくその褐色物に CuCl_2 -メタノール溶液を加え、銅塩とし精製すると缶詰かきと同様に5つの緑色色素を得ることができた(それぞれP1, P2, P3, P4, P5と略称)。

2. 吸収スペクトル

アオサの緑色色素の吸収スペクトルは第2, 3図に示したごとくP1, P2およびP3はほぼ同一の吸収スペクトルを持っており、P4とP5は同一の吸収スペクトルを持っている。それぞれの極大吸収値は第1表に示したごとくP1は420, 510, 560, 660 μ に、P2は420, 560, 610, 660 μ に、P3は420, 610, 660 μ に、P4とP5は425, 560, 610, 660 μ に極大吸収を持っていることが認められた。これらの色素のうちP1, P2およびP3の極大吸収は缶詰かきのそれらに比べてやや長波長側に移動しているが、P4とP5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

アオサ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, P2およびP3はいずれの展開剤でもほぼ同一のRf値を示したが、P4は前三者とやや異なり、P5は著しく異なった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値といずれもほぼ同一であることが認められた。

4. 溶剤に対する溶解性

アオサ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、他はすべて可溶性である。メタノールにはP1, P2およびP3は可溶性、P4はわずかに可溶性、P5は不溶

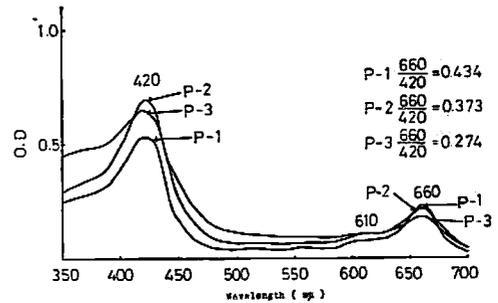


Fig. 2 Absorption spectra of the green pigments (P1,2,3) of Aosa
Solvent: Chloroform

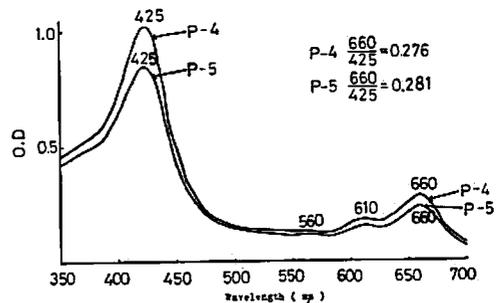


Fig. 3 Absorption spectra of the green pigments (P4, 5) of Aosa
Solvent: Chloroform

Table 1 Comparison with maximum wave length of the green pigments of Aosa and canned oysters

Green pigment	λ max. (m μ)	
	Aosa	Canned oysters
P 1	420, 510, 560, 660	410, 605, 650
P 2	420, 560, 610, 660	415, 605, 655
P 3	420, 610, 660	415, 605, 655
P 4	425, 560, 610, 660	420, 560, 610, 660
P 5	425, 560, 610, 660	420, 600, 660

性である。エタノールにはP 1, P 2およびP 3は可溶性, P 4とP 5は不溶性である。石油エーテルにはP 1が可溶性であるほか他はすべて不溶性である。エーテルにはP 1とP 2は可溶性であるが他はすべて不溶性である。ベンゼンにはP 1, P 2およびP 3は可溶性, P 4はやや可溶性, P 5は不溶性である。ブタノールにはP 1, P 2およびP 3は可溶性, P 4は不溶性, P 5はわずかに可溶性である。これらの緑色素の溶剤に対する溶解性は缶詰かきの緑色素のそれといずれも非常によく類似していることが認められた。

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

	Green pigments of Aosa					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	0.94	0.94	0.94 tailing	0	0	0.92	0.92	0.92 tailing	0	0
Chloroform	0	0	0 tailing	0	0	0	0	0	0	0
Butanol	0.88	tailing	0	0 tailing	0	0.88	0.88	tailing	tailing	0
Methanol	0.87	0.87	0.87	0 0.87	0	0.87	0.87	0.87	0	0
Acetone	1.00	1.00	1.00	1.00	0	1.00	1.00	1.00	1.00 0	0
Pyridine	0.95	0.95	0.95	0 0.95	0	0.95	0.95	0.95	0.95 0	0
Chloroform : Ethanol (1:9)	0.84	0.84	0.84	0.84 tailing	0	0.84	0.84	0 tailing	0 tailing	0
Chloroform : Methanol (7:3)	0.95	1.00	1.00	1.00	1.00	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)	0.89	0.89	0.89	0 0.89	0	0.89	0.89	0.89	0 0.89	0 0.89

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

	Green pigments of Aosa					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	++	++	++	++	±	++	++	++	++	±
Petroleum ether	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-
Ether	++	++	-	-	-	++	++	-	-	-
Benzene	++	++	++	±	-	++	++	++	++	-
Butanol	++	++	++	-	±	++	++	++	±	-

++ soluble + fairly soluble ± slightly soluble - insoluble

5. 赤外線吸収スペクトル

アオサの緑色色素の赤外線吸収スペクトルは第4～8図に示したごとくいずれも缶詰かきの緑色色素のそれらと全く同一であることが認められた。

6. 元素分析

アオサの緑色色素のうち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 $C_{48}H_{54}N_4O_{14}Cu$, P4の実験式は $C_{56}H_{64}N_4O_{14}Cu$, P5の実験式は $C_{60}H_{67}N_4O_{22}Cu$ であり, P4は缶詰かきのP3とやや類似しているが, 他はいずれも類似していないことが認められた。

以上の実験結果よりアオサを塩酸-アセトン混液で処理すると緑色の色素を得ることができないが銅を添加すると缶詰かきと同様に5つの緑色色素を得ることができ, それらの物理化学的性質は

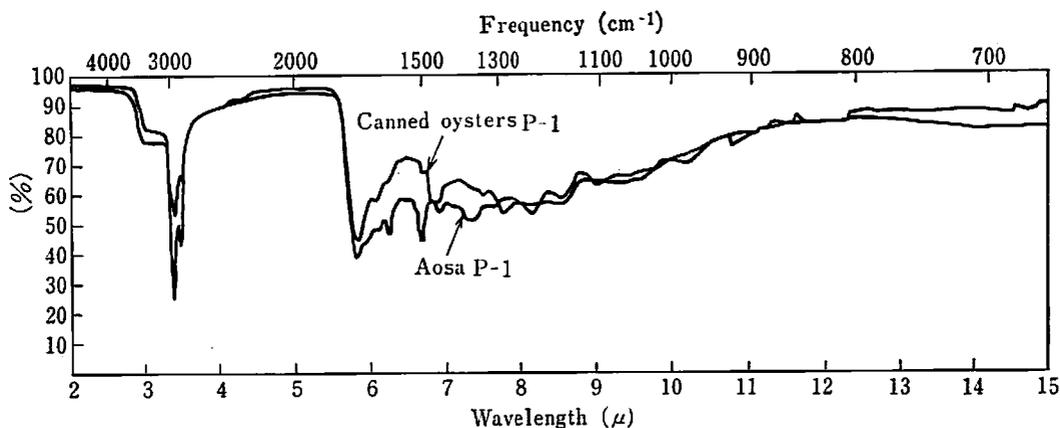


Fig. 4 Infrared spectra of the green pigment (P1) of Aosa and canned oysters
Solvent: Chloroform

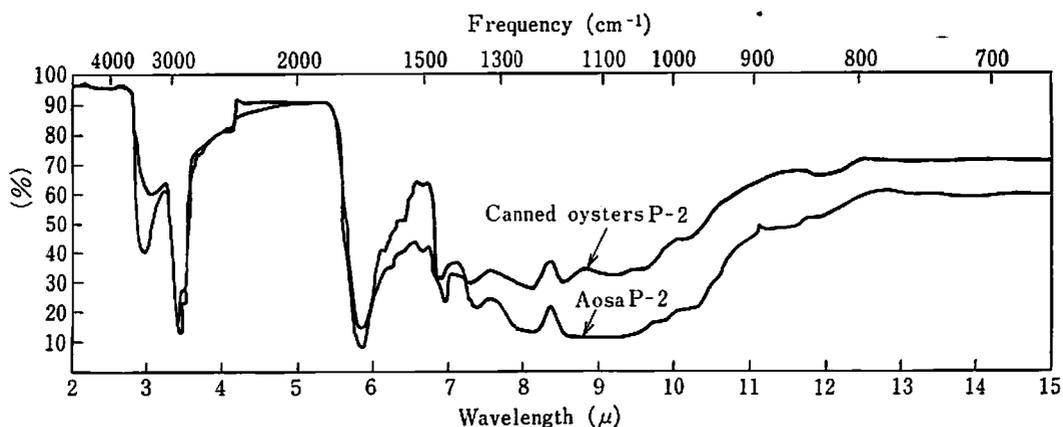


Fig. 5 Infrared spectra of the green pigment (P2) of Aosa and canned oysters
Solvent: Chloroform

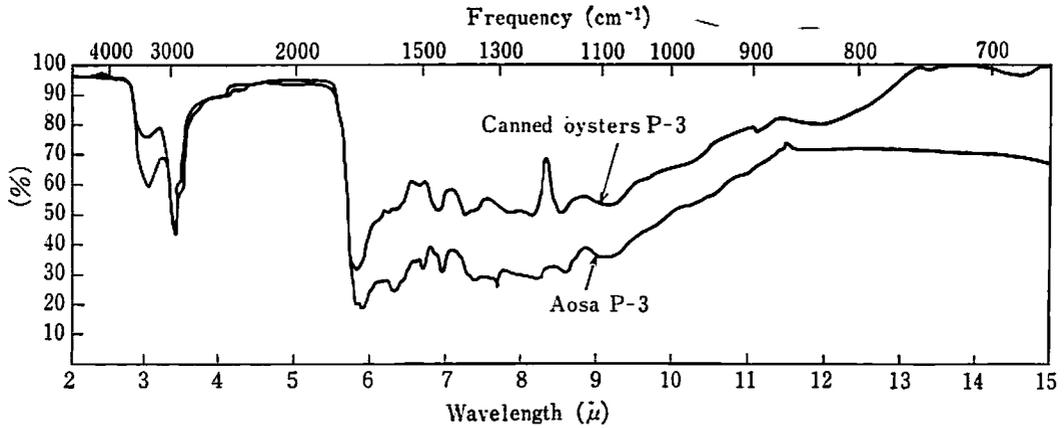


Fig. 6 Infrared spectra of the green pigment (P3) of Aosa and canned oysters
Solvent : Chloroform

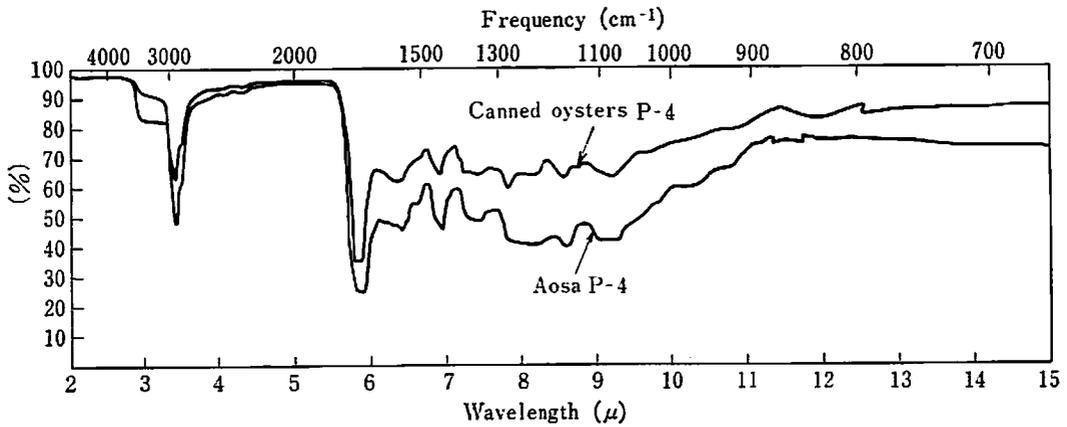


Fig. 7 Infrared spectra of the green pigment (P4) of Aosa and canned oysters
Solvent : Chloroform

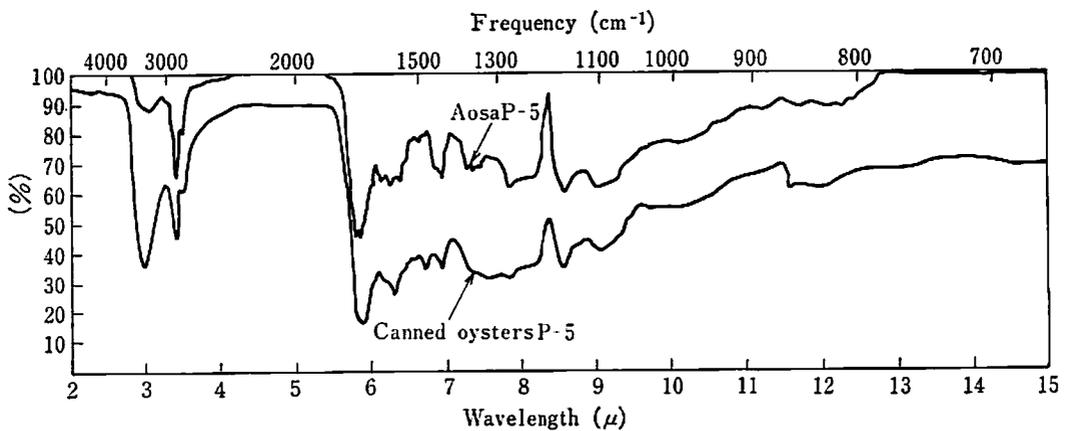


Fig. 8 Infrared spectra of the green pigment (P5) of Aosa and canned oysters
Solvent : Chloroform

缶詰かきの緑色色素のそれと非常によく類似していることが認められた。このことより缶詰かきの緑色色素は、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銅を含んだクロロフィルの誘導体であり、かきの体内においてあるいは缶詰製造中に一部変化したものであろうと考える。

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

	Green pigments of Aosa			Green pigments of canned oysters		
	P 3	P 4	P 5	P 3	P 4	P 5
H	5.73	5.99	5.32	6.56	5.35	5.04
C	60.18	62.91	56.73	63.56	64.70	62.98
N	5.84	5.23	4.43	5.73	8.02	7.55
Cu	2.03	3.13	3.00	2.47	5.66	4.41
Fe	0	0	0	0	0	0
Mg	trace	trace	trace	trace	trace	trace
Zn	trace	trace	trace	trace	trace	trace

要 約

缶詰かきの緑色色素がクロロフィルaの誘導体であるかどうかを知るためにアオサの緑色色素を塩酸-アセトン混液にて抽出し、銅を添加した後缶詰かきの緑色色素と同様に精製分別した結果、缶詰かきと同様に5つの成分に分けることができた。それら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結果元素分析値を除いてはいずれも非常によく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: 日本食品工業誌, 16, 197 (1969)