

貝類缶詰の緑変に関する研究—VI

缶詰あさり並びに煮熟したあわび内臓の緑色色素について

長 田 博 光

Studies on Greening of Canned Shellfishes—VI

On the Green Pigments of Canned Short-Necked Clams and the Boiled Entrails of Abalones

Hiromitsu Osada

It is well known that the brown entrails of fresh short-necked clams turn green during heat sterilization and during storage the green pigments exude into the mantle and also that the brown entrails of fresh abalones turn green during boiling as in case of canned oysters.

For the purpose of investigating whether the green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones are the same pigments as those of canned oysters or not, the physico-chemical properties of those green pigments were compared with those of canned oysters. The experimental method was the same as in case of canned oysters.

The green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones were separated into five components as in case of canned oysters. Judging from the experimental results obtained by physico-chemical reactions, absorption spectral analysis, thin layer chromatography, solubility test and infra-red spectral analysis, it is considered that those green pigments are chlorophyll a derivatives as in case of canned oysters. Molecular weights of those green pigments estimated from the gell-filtration patterns are approximately from 620 to 900.

生鮮時正常な色彩をしているあさりを缶詰にした場合季節によって、缶詰かきと同様に内臓部が緑変し、貯蔵中にその緑色色素が外套膜に侵出し、貝全体が緑変することがあり、グリーン・フィード¹⁾と称して古くから問題になっている。また、あわびの内臓を煮熟あるいは缶詰にした場合も緑変することが知られている。しかしそれらの原因ならびに緑色色素についてはほとんど研究されていない。

本報ではこれらの緑色色素がどのようなものであるかを知るために、それぞれの緑色色素を抽出分別し、その物理化学的性質を調べたので以下にその結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

1-1 缶詰あさり . 有明海にて採取したあさを充分水洗し, 95~100°Cにて8分間煮熟して, むき身を取り, 水洗したのち, C-エナメル塗装の7号缶に200g詰め, 3%の食塩水100gを注入し, 真空巻締後, 121°Cにて90分間加熱殺菌し, 急冷して缶詰とし, 実験に供した.

2-2 あわび内臓 : 兵庫県明石魚市場にて購入したあわびより内臓を集め, 三角フラスコに入れ, 3%の食塩水を加え, 綿栓したのち, 121°Cにて60分間煮熟し, 実験に供した.

2. 緑色色素の分離精製

缶詰あさりおよび煮熟したあわび内臓の緑色色素の分離精製は缶詰かきの緑色色素の分離精製法³⁾に従って行なった. 即ち, 試料に塩酸-アセトン(10:90)混液を加え, ホモジナイズし, 遠心分離する. 残渣は更に同液にて三回くり返し抽出し, 抽出液を合わせて60°Cにて減圧濃縮し, 濃縮物を少量のメタノールに溶かしたのち, 過剰のアセトンを加え, アセトン不溶物を汙別し, 汙液を60°Cにて減圧濃縮し, 濃縮物をクロロホルムに溶かし, 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)を溶出剤とし, 色素を溶出し, 緑色部を集め, その緑色部を60°Cにて減圧濃縮し, 濃縮物をクロロホルムに溶かし, セファデックス LH-20にてクロロホルム-メタノール(7:3)を溶出剤としてゲル汙過を行ない, 緑色部を集める. しかし, この場合, シリカゲル処理後緑色であった溶液は大部分が褐色に変色する. そこで, この褐色溶液にアオサの緑色色素の抽出法³⁾に従って銅を添加し, 再度緑色とし, 色素を固定したのち, 過剰の銅および混入している他の金属をEDTA, クペロンおよびアセチルアセトンにて除去し, 再度, シリカゲル, セファデックス LH-20にて精製し, エタノールを展開剤としてペーパークロマトグラフィー(帯状につける)を行ない, 緑色色素を上昇区と原点にとどまる区に二分し, 前者は更に石油エーテル, エーテルおよびアセトンにて, 後者はアセトンとクロロホルムにて分別した.

3. 分 析 方 法

3-1 物理化学的反應

それぞれの緑色色素についてニンヒドリン反応, グメリン反応, ホウヒット反応および螢光の有無について調べた.

3-2 吸収スペクトル

それぞれの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350~700m μ における吸光度を測定した.

3-3 薄層クロマトグラフィー

それぞれの緑色色素について, 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.

3-4 溶剤に対する溶解性

それぞれの緑色色素の水、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。

3-5 分子量の推定

それぞれの緑色色素約 10mg を 2ml のクロロホルム-メタノール (9 : 1) 溶液に溶かし、1.5×40cm のセファデックス LH-20 カラムにかけ、クロロホルム-メタノール (9 : 1) 溶液を溶出剤としてゲル透過を行ない、660m μ における吸光度を測定し、その溶出位置より分子量を推定した。

3-6 赤外線吸収スペクトル

それぞれ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。

結果と考察

1. 緑色色素の分離

缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素は缶詰かきの緑色色素と同様にいずれも五成分に分けられ (それぞれ P1, P2, P3, P4, および 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, 粉末として得られた。

2. 物理化学的反応

缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の物理化学的反応は第 1 表に示したごとく, いずれの反応も陰性であった。このことより, これらの緑色色素は胆汁色素でも, 銅-アミノ酸等のアミノ酸を含んだキレート化合物でないことは明らかである。なお蛍光がいずれも陰性であることは, 緑色色素の含有している金属がすべて銅と置換しているためと考える。

3. 吸収スペクトル並びに吸収極大

缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の吸収スペクトル並びに吸収極大は第 1, 2 図および第 2 表に示したごとく, 缶詰あさりの P1 は 420, 510, 610, 670m μ に, P2 は 420, 560,

Table 1 Physico-chemical reactions of the green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones

	Green pigments of canned short-necked clams					Green pigment of the boiled entrails of abalones				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
Gmelin reaction	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fouchet reaction	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Reaction of ninhydrin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fluorescence	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— negative

610, 660m μ に, P 3 は 420, 610, 660m μ に, P 4 は 420, 560, 615m μ に, また P 5 は 425, 560, 615m μ に吸収極大を持っており P1, P 2 および P 3 は佝舘かきの緑色色素の吸収スペクトルに類似しているが, P 4 と P 5 は両者ともに 660~670m μ における吸収極大が消失しており, 前三者とやや異なった吸収スペクトルを示した.

煮熟したあわび内臓の P 1 は 415, 560, 605, 660m μ に, P 2, P 3, P 4 および P 5 は 415, 560, 605, 665 m μ に吸収極大を持っており, いずれも佝舘かきの緑色色素の吸収スペクトルに類似していることが認められた.

4. 薄層クロマトグラフィー

佝舘あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の薄層クロマトグラフィーの Rf 値は第 3 表に示したごとく, 両者ともに P1, P 2, P 3 および P 4 はいずれの展開剤でもほぼ同一の Rf 値を示したが P 5 は前四者と著しく異なった Rf 値を示した. なおこれらこの緑色色素の Rf 値は展開剤によって 0 または約 0.9 のいずれかであることが認められた.

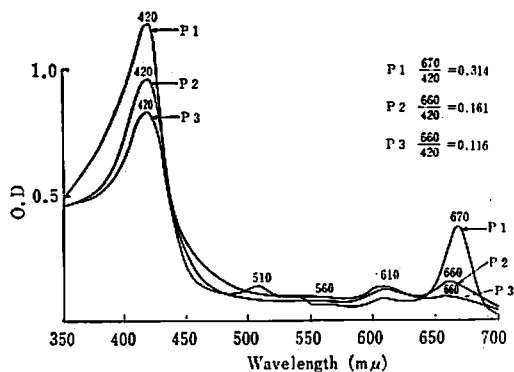


Fig. 1 Absorption spectra of the green pigments (P1, 2, 3) of canned short-necked clams
Solvent: Chloroform

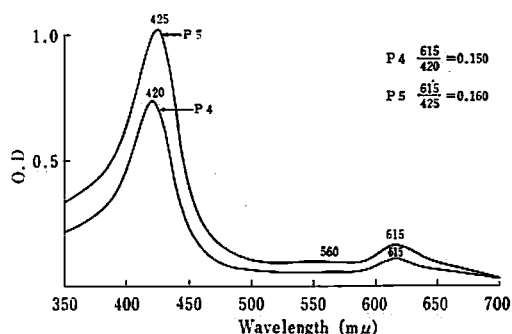


Fig. 2 Absorption spectra of the green pigments (P4, 5) of canned short-necked clams
Solvent: Chloroform.

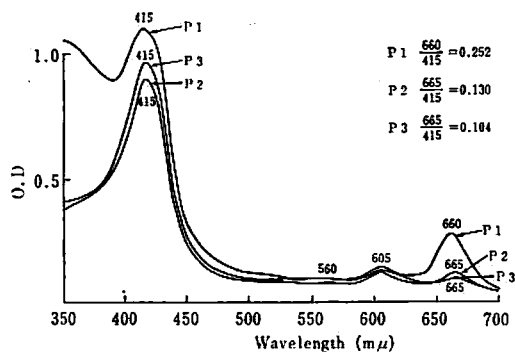


Fig. 3 Absorption spectra of the green pigments (P1, 2, 3) of the entrails of abalones
Solvent: Chloroform.

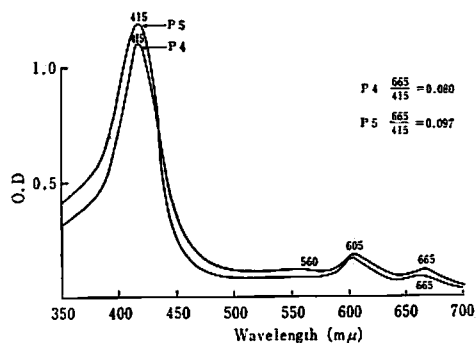


Fig. 4 Absorption spectra of the green pigments (P4, 5) of the entrails of abalones
Solvent: Chloroform

Table 2 Maximam wave length of the green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones

	λ max. (m μ)							
	Green pigments of canned short-necked clams				Green pigments of the boiled entrails of abalones			
P 1	420,	510,	610,	670	415,	560,	605,	660
P 2	420,	560,	610,	660	415,	560,	605,	665
P 3	420,		610,	660	415,	560,	605,	665
P 4	420,	560,	615,		415,	560,	605,	665
P 5	425,	560,	615,		415,	560,	605,	665

Table 3 Rf values in thin layer chromatography of the green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones

	Green pigments of canned short-necked clams					Green pigments of the boiled entrails of abalones				
	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5
Ethanol	0.90	0.90	0.90	0 tailing	0	0.90	0.90	0.90	0 0.90	0.90
Chloroform	tailing	tailing	tailing	tailing	0	0	0	0	0	0
Butanol	1.00	1.00	1.00	0 tailing	0	tailing	tailing	tailing	tailing	0
Methanol	0.90	0.90	0.90	0 tailing	0	0.85	0.85	0.85	0.85	0 tailing
Acetone	1.00	1.00	1.00	1.00	0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Pyridine	0.82	0.82	0 0.82	0 0.82	0	1.00	1.00	1.00	1.00	0
Chloroform: Ethanol (1:9)	0.74	0.88	0.88	0 tailing	0	0.85	0.85	0.85	0.85	0
Chloroform: Methanol (7:3)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Methanol: Water (1:1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HCl: Methanol (1:99)	0 0.88	0 0.88	0 0.88	0 0.88	0 0.88	0.85 tailing	0.85 tailing	0	0	0

5. 溶剤に対する溶解性

缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の溶剤に対する溶解性は第4表に示したごとく、いづれも水に不溶性であり、クロロホルムには可溶性である。アセトンには両者ともP5を除いて全て可溶性である。石油エーテルには両者ともP1を除いて全て不溶性である。エーテルには両者ともP1とP2は可溶性であるが、他は全て不溶性である。メタノールには缶詰あさはP1、P2およびP3は可溶性、P4はやや可溶性であり、P5は不溶性である。一方、煮熟したあわび内臓はP1とP2は可溶性、P3とP4はやや可溶性であるが、P5は不溶性である。エタノールには両者ともP1、P2およびP3は可溶性、P4はやや可溶性であるが、P5は不溶性である。ベンゼンには缶詰あさはP5を除いて全て可溶性である。一方煮熟したあわび内臓の緑色色素は全て可溶性である。ブタノールには缶詰あさはP1、P2およびP3は可溶性、P4はやや可溶性で

あるが、P 5 は不溶性である。一方煮熟したあわび内臓の緑色色素は P 5 を除いて全て可溶性である。

Table 4 Solubilities of the green pigments of canned short-necked clams and the boiled entrails of abalones

	Green pigments of canned short-necked clams					Green pigments of the boiled entrails of abalones				
	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

6. 分子量の推定

伍詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の分子量は第5, 6図に示したゲル濾過の結果より、いずれもほぼ同一の分子量であり、約 620~900 と推定した。

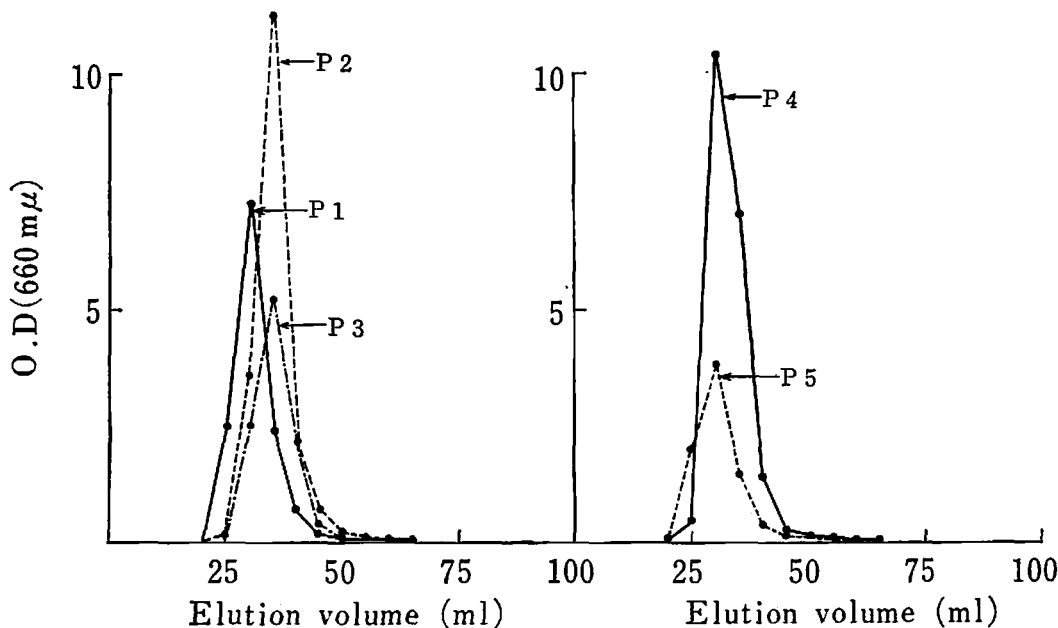


Fig. 5 Chromatograms of the green pigments of canned short-necked clams in a column of Sephadex LH-20 Solvent: Chloroform: Methanol (9:1)

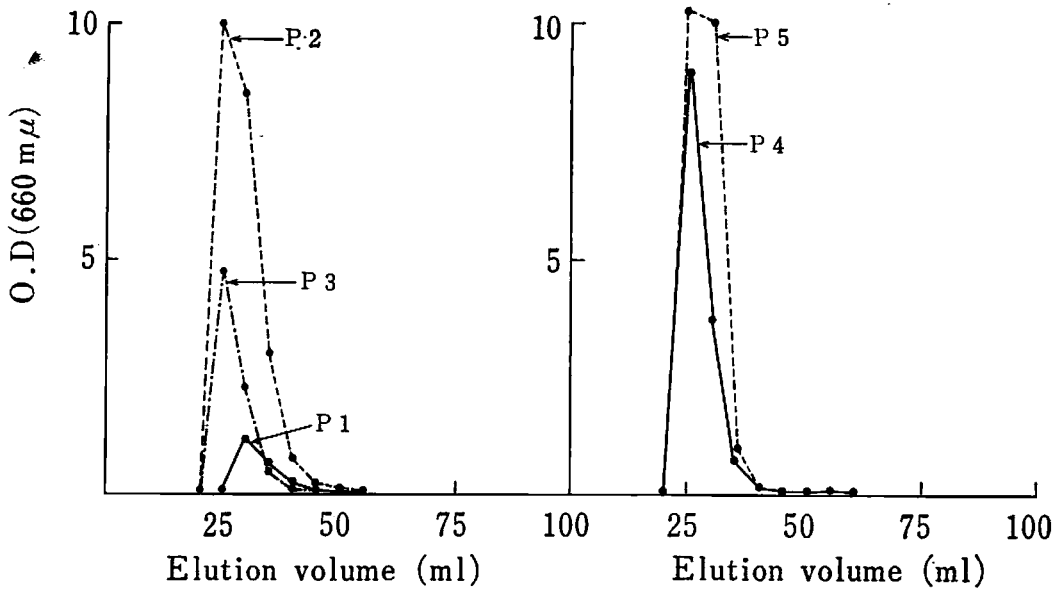


Fig. 6 Chromatograms of the green pigments of the boiled entrails of abalones in a column of Sephadex LH-20 Solvent : Chloroform : Methanol (9 : 1)

7. 赤外線吸収スペクトル

缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素の赤外線吸収スペクトルは第7～10図に示したごとく、いずれもほぼ同一の吸収スペクトルを持っており、2.9, 3.5, 5.8～5.9, 6.1～6.3, 6.9, 7.3, 7.8～8.1, 8.5～8.6 および 9.1 μ に吸収が認められた。

以上の結果のごとく、缶詰あさりと煮熟したあわび内臓の緑色色素はほぼ同一のものであり、これらの緑色色素の薄層クロマトグラフィーの Rf 値、溶解性および赤外線吸収スペクトルが缶詰かきの緑色色素のそれらとよく類似していることより、クロロフィルに由来するものであらうと考える。即ち、缶詰あさりの緑変はあさがりか餌料として摂取したプランクトン中のクロロフィル a に

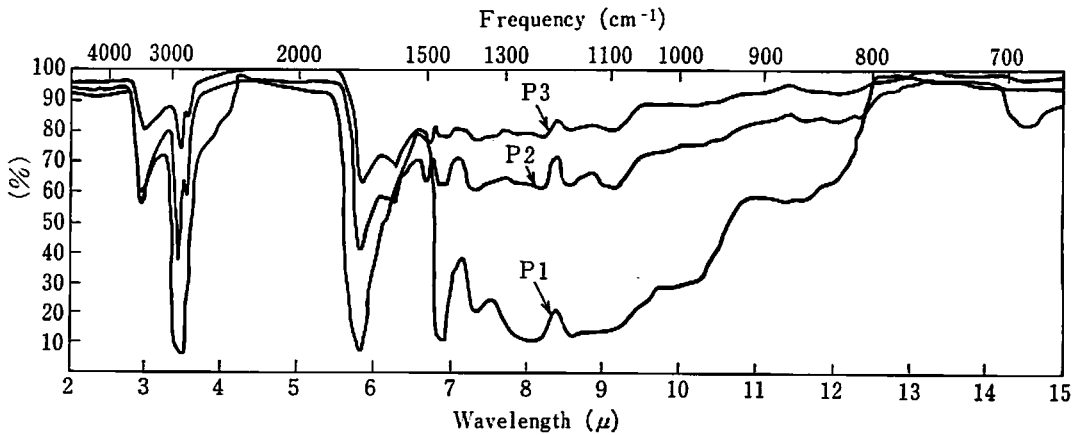


Fig. 7 Infrared spectra of the green pigments (P1, 2, 3) of canned short-necked clams Solvent : Chloroform

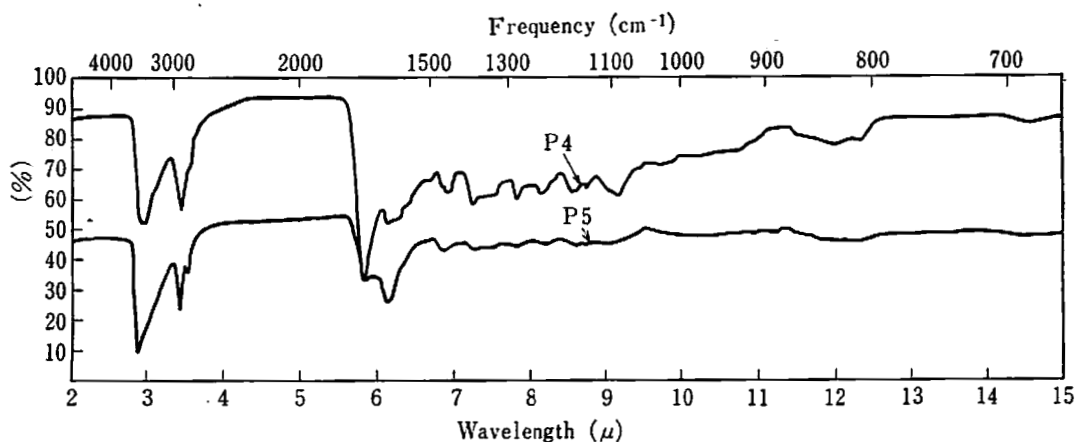


Fig. 8 Infrared spectra of the green pigments (P4, 5) of canned short-necked clams
Solvent : Chloroform

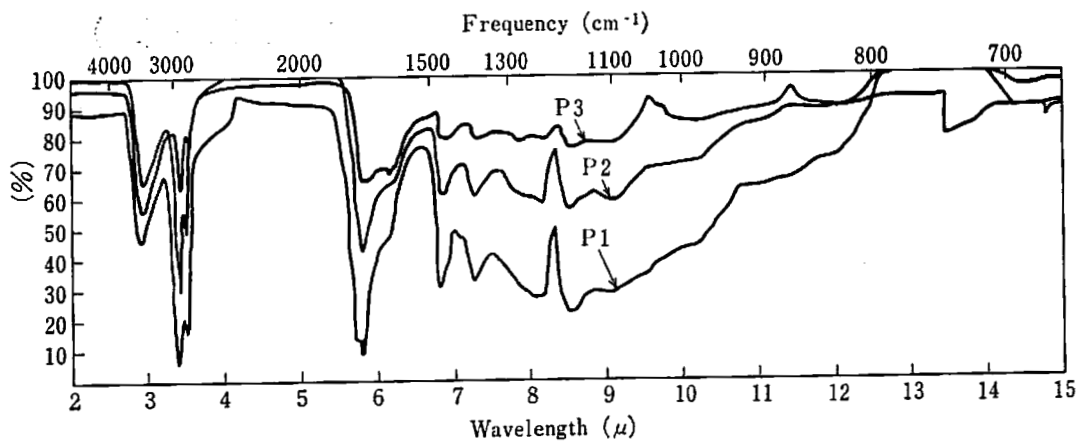


Fig. 9 Infrared spectra of the green pigments (P1, 2, 3) of the boiled entrails of abalones
Solvent : Chloroform

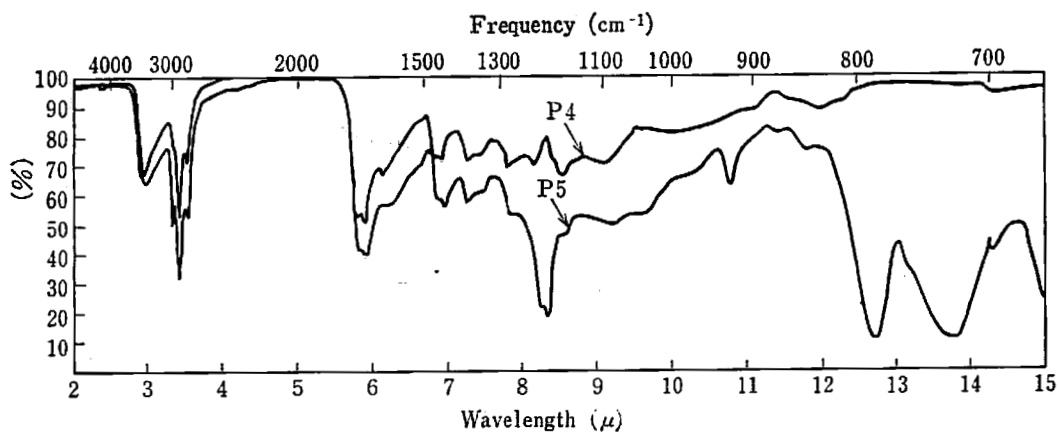


Fig. 10 Infrared spectra of the green pigments (P4, 5) of the boiled entrails of abalones
Solvent : Chloroform

よるものであり、銅の含有量が多い場合はマグネシウムと置換して安定な銅フェオフィチンあるいは銅フェオホルバイドとなり、長期間緑色は保たれるが、銅の含有量が少ない場合は大部分がクロロフィルaとして存在しているため、一度発現した緑変も貯蔵中にマグネシウムが遊離し、フェオフィチン、フェオホルバイドに変わるので黄褐色に変色するものとする。一方煮熟したあわび内臓の緑変はあわびが餌料として摂取した海藻中のクロロフィルaに由来し、あわびの内臓に銅が多く含まれている場合生鮮時あるいは加熱中に銅フェオフィチンや銅フェオホルバイド等のクロロフィル誘導体を生成することにより発現するものとする。

要 約

缶詰あさり並びに煮熟したあわび内臓の緑変が何に由来するかを知るために、両者の緑色色素を缶詰かき並びにアオサの緑色色素の抽出法にしたがって分離精製した結果、両者ともに缶詰かきと同様に五つの緑色色素に分別できた。これらの緑色色素の物理化学的性質は缶詰かきの緑色色素のそれとよく類似していることが認められた。

文 献

- 1) 谷川英一, 元広輝重, 秋場稔: 缶詰製造学 (恒星閣) p520 (1969).
- 2) 長田博光, 大塚滋: 食品工誌, 17, 237 (1970).
- 3) 長田博光: 食品工誌, 17, 292 (1970).