報 文

植物油脂中のクロロフィルの研究 (第 1 報)

なたね脱酸油中のクロロフィル類とそれらの脱色性

鈴木 清次^{*1}・西 岡 鑑^{*2}・薄木理一郎^{*3}^{*1} 東洋製油株式会社 (千葉市新港 230)^{*2} 味の素株式会社 (横浜市鶴見区大黒町 7-41)^{*3} 東北大学農学部 (仙台市堤通雨宮町 1-1)

Studies on Chlorophylls Contained in Vegetable Oils. I.

Chlorophyll Composition of Alkali-refined Rapeseed Oil and
Behavior of Chlorophyll during BleachingKiyoji SUZUKI^{*1}, Akira NISHIOKA^{*2}, and Riichiro USUKI^{*3}^{*1} Toyo Oil Mills Co. Inc. (230, Shinminato, Chiba)^{*2} Ajinomoto Co. Inc. (7-41, Daikoku-cho, Tsurumi-ku, Yokohama)^{*3} Faculty of Agriculture, Tohoku University (1-1, Tsutsumidori-Amamiyamachi Sendai)

The composition and content of green pigments in alkali-refined rapeseed oil before and after bleaching were investigated.

Pheophytins a and b were detected as major pigments, but chlorophylls a and b could hardly be found, when alkali-refined oil was fractionated by alumina column chromatography. The photofluorometric quantification of the same oil indicated essentially the same results.

Bleaching tests of these four authentic pigments with activated clay as an adsorbent indicated the adsorption of each pigment to decrease in the following order: Chl a > Phy a > Chl b > Phy b. However, in experiments using an active carbon, no distinct difference in the adsorbed quantity of each pigments could be observed. The behavior of these pigments during the bleaching of rapeseed oil was analyzed photofluorometrically.

1 緒 言

植物種子より採取した油脂のなかには、緑色色素であるクロロフィル (Chl) や Chl からマグネシウムがとれて生成したフェオフィチン (Phy) が含有されている。これらのクロロフィル類は強い光増感酸化能を有し、油脂の光による酸化を促進することが知られている^{1)~3)}。従ってこれらは油脂の精製工程で除去されなければならない。しかし、油脂の中に含まれる緑色色素に関してはまだ明らかでない点が多い。すなわち、クロロフィル類には、Chl, Phy とともに a 型と b 型とが存在することが知られているが^{4)~8)} それらの比率が明らかでない。また、それぞれの色素の脱色性の差違についてもこれまで検討された例を見ない。さらに、Chl から Phy への変化がどの過程で起こるのか興味を持たれるがこれらについてもいまだ未検討である。

本報告では、これらの疑問点を解明する一端として、食用油脂としてよく使用されかつクロロフィル含量が高いなたね脱酸油について、アルミナカラムクロマトグラフィーでこれら色素の分画分離を行った。さらに、同時蛍光定量法⁹⁾によりそれぞれの存在比率を求めた。

また、それぞれの色素を活性白土あるいは活性炭を使用して脱色した時の脱色性の差異について調べた。

2 実 験

2.1 試 薬

Chl a 及び Chl b は米国シグマ社の試薬を使用した。

Phy a 及び Phy b は Chl a または b をアセトン溶液中で窒素気流下シュウ酸で処理⁹⁾して調製した。これらの可視部スペクトルを文献値^{4), 10)}と比較し、変化が完結していることを確認した。

2.2 試 料

活性白土は水沢化学製（タイプN）を使用し、活性炭は北越炭素（株）製（タイプF）を用いた。

なたね脱酸油は通常の食用油脂製造工程（圧搾・抽出法の原油を脱ガム、脱酸）より得た。

2.3 方 法

2.3.1 アルミナゲルカラムクロマトグラフィーによる色素の分画分離

内径 17 mm, 高さ 70 mm のガラス製カラムに活性アルミナゲル（和光 300 mesh）20 g を石油エーテルと共に充てんし、これになたね脱酸油 2 g を石油エーテル 10 ml に溶解したものをのせ、石油エーテル 40 ml と 2% アセトン-石油エーテル 100 ml を流下させた。次いで、5% アセトン-石油エーテル 200 ml で溶出を行い溶出液を 10 ml ずつ分画取りし、各区分の可視部スペクトルを測定し、標品のスペクトルと比較した。

2.3.2 クロロフィル類の定量

可視部スペクトル法は基準油脂分析法¹¹⁾に従った。また、同時蛍光定量法は薄木らの方法⁹⁾に従った。

2.3.3 脱色試験

色素を含有するなたね脱酸油に所定量の吸着剤を加え、80℃で 30 min 真空下（30 mmHg）にてかくはんし、濾紙を用いて自然濾過を行い脱色油を得た。

3 実験結果及び考察

3.1 なたね脱酸油の中のクロロフィル類

食用油脂の製造工程で得られたなたね脱酸油中のクロロフィル類を可視部スペクトル法と同時蛍光定量法により測定した結果を Table-1 に示した。

同表の 3 つのなたね脱酸油の中のクロロフィル類の含量について、従来から用いられてきた可視部スペクトル法の値と同時蛍光分析法との値とを比較すると、後者の方が 2.2~2.6 倍高い。

この理由は、可視部スペクトル法がアメリカ油化学協会法を参考にして Chl a のみが測定されるために提案

されたものであり、Phy a の吸収極大は Chl a のそのの近く（Chl a + 5 nm）にあるものの、分子吸光係数は Phy が Chl のおおよそ 60%¹²⁾であるため、Phy 含量が多ければ多い程可視部スペクトル法による Chl a の値は真の値より小さくなり、その結果同時蛍光定量法の結果との差異が大きくなったと考えられた。同時蛍光定量法で求めたクロロフィル類は全体の中の 97% を Phy (a+b) が占め、Chl は a 型がわずかに認められたにすぎなかった。また、Phy の中で a と b の比は 3.9 : 1 ~ 4.4 : 1 で a 型が多かった。

3.2 シリカゲルカラムクロマトグラフィーによるなたね脱酸油からクロロフィル類の分画分離

2.3.1 の方法に従ってなたね脱酸油（可視部スペクトル法で 20.2 ppm の Chl を含む）をアルミナゲルを充てんしたカラムにて処理して、その中に含まれるクロロフィル類を分画分離した。その結果、670 nm 近辺に吸収を示す色素は 3 つの区分に分かれた（Fig.-1）。

この分画分離において、充てん剤としてアルミナゲルのほかシリカゲルも試みたがアルミナに比べ分離が悪

Fig.-1 Fractionation of green pigments in rapeseed oil by activated alumina column chromatography.

Table-1 Chlorophyll and pheophytin content of alkali refined rapeseed oil.

	IV	SV	Color (1in cell)	Chloro phylls* ¹	Chlorophylls* ²					
					Phy a	Phy b	Chl a	Chl b	Total	Phy a Phy b
Rapeseedoil A	115.3	191	Y 40 R 4.2 B 0.4	12.4	25.3	5.8	0.86	0	31.96 (2.6)* ³	4.4
B	115.6	191	Y 40 R 4.3 B 0.4	13.8	26.6	6.8	0.84	0	34.24 (2.5)	3.9
C	115.0	191	Y 40 R 4.4 B 0.4	16.1	27.9	6.5	1.2	0	35.6 (2.2)	4.3

*¹ Spectrophotometric method

*² Fluorometric method

*³ Fluorometric method/Spectrophotometric method

かった。また、カラムに吸着したクロロフィル類を溶出するための溶剤としては5%のアセトンを含む石油エーテルが良く、これよりアセトン濃度が低いと色素の分離が起こりにくく、また濃すぎると各色素の分離が悪いことを知った。

次に、分画分離された3つのグループを Phy a 及び b 並びに Chl a 及び b の標品の可視部スペクトルと比較して下記の結論を得た。

1) **Fig.-1** に示した色素-I (吸収極大 668 nm) は Phy a 標品の可視部スペクトルと完全に一致し Phy a と同定された。

2) 色素-II (吸収極大 655 nm) の可視部スペクトルは Phy b 標品のそれと完全に一致し Phy b と同定された。

3) このほか、660 nm に吸収極大を示す少量の色素-III が存在したが、カロテノイドと重なって溶出され、このため Chl a と推定されたが標品による同定はできなかった。

4) アルミナカラム処理でのクロロフィル類の回収率は約 80% であった。

5) Phy の量が非常に多い結果は、**Table-1** の同時蛍光定量法の結果を裏付けている。

3.3 なたね脱酸油の酢酸共存下での加熱

3.1 に記した様に、なたね脱酸油の中のクロロフィル類はその 97% 前後が Phy で Chl はほとんど含まれていない。この事実をなたね脱酸油を酢酸酸性下で加熱処理することにより、スペクトルがどう変化するかによって検討した。すなわち、脱色油に添加した Chl は酢酸酸性下で加熱すると、**Fig.-2** に示すように Phy に変わっていった。

なたね脱酸油を同じように酢酸酸性下で加熱したが、その吸収極大は 670 nm にとどまったままで変化は認められなかった。Jahansson⁸⁾ らは Phy 含量の目安として Q Value を提唱したが、なたね脱酸油の酢酸酸性下での加熱前後の Q Value は **Fig.-2** に示すように変化

Fig.-2 Visible absorption spectral change of authentic Chl b by acetic acid treatment.

がなかった。これらの結果からもなたね脱酸油は Chl をほとんど含んでいないと言えた。

3.4 脱色に伴う吸収極大位置の変化と各色素の脱色性

3.4.1 脱色に伴う吸収極大位置の変化

脱酸油は通常活性白土により脱色されるが、**Fig.-3** に示すように活性白土の添加量に比例して可視部スペクトルの吸収極大位置が変化した。

Fig.-3 Spectral change of rapeseed oil in bleaching with activated clay.

ところが、活性炭で脱色するとこの位置はその添加量にかかわらず 670 nm にとどまり一定であった。

これらの現象に関して栗田¹³⁾は「活性白土での脱色では油の中の Phy a が変化するため短波長側への移行が起こり、活性炭では Phy a の変化が起こらないため位置の変化が認められない」と推定した。しかし、このシフトは、(1) **Fig.-5** に示すように通常の脱色条件下では Phy a が変化してその吸収極大位置が変化することはない。(2) **Fig.-4** に示すように既に脱酸油を処理してクロロフィル類を吸着している廃白土層に再度脱酸油を通した場合、廃白土層の吸着余力が小さくなるにつれて通過油の吸収極大位置は次第に 670 nm に近づくこと

Fig.-4 Amount of adsorbed pigments and absorption maximum of oils bleached with waste activated clay.

Table-2 Variation in chlorophyll composition through bleaching with activated clay or activated carbon.

	Amount of adsorbent	Chlorophylls*1	Chlorophylls*2				
			Phy a	Phy b	Phy a	Phy b	Total
Activated clay	0%	12.4 ppm (760)	ppm 25.3	ppm 5.8	ppm 0.86	ppm 0	ppm 31.96
	0.5	4.0 (668)	8.90	4.00	0.17	0	31.96
	1.0	0.37 (669)	0.59	0.51	0.12	0	1.22
	1.5	0.29 (660)	0.30	0.16	0.05	0	0.51
Activated carbon	0%	16.4 (670)	36.07	6.96	1.60	0.53	45.16
	0.25	3.31 (670)	7.06	0.46	—	—	7.52
	0.50	1.22 (670)	2.56	0.12	—	—	2.72
	1.0	0.54 (670)	1.32	0.05	—	—	1.37

*1 Spectrophotometric method

*2 Fluorometric method

から、われわれは次のような推察を行った。

すなわち、なたね脱酸油中に存在する Phy a と b とは吸着剤に対する脱色性が異なり、活性白土に対しては Phy a が b より吸着されやすいため、その脱色油は次第に Phy b の吸収極大位置 (657 nm) に近づく。一方、活性炭では a と b との間でそれ程差がなく、脱色した油の吸収極大位置は a の位置 (670 nm) にそのままとどまると推定した。

これを確かめる目的で、なたね脱酸油を活性白土や活性炭で脱色しそれぞれの脱色油のクロフィル類の組成を可視部スペクトル法及び同時蛍光定量法でそれぞれ測定しその結果を **Table-2** に示した。

活性白土による脱色では **Table-2** に示されたように Phy a に比べ b の方が吸着され難い。従って脱色が進むにつれて脱色油の Phy a/b 比は脱酸油より低下していく。このため、脱色油の吸収極大位置は短波長側へシフト (Phy a→b) していった。

一方、活性炭による脱色では Phy b の方が Phy a よりやや吸着されやすい結果が示されたが、もともと Phy a の含量が圧倒的に高いため、脱色油の吸収極大位置に変化をきたさなかったと推測される。

3.4.2 標品クロフィル類の脱色性

Chl 及び Phy の活性白土と活性炭に対する脱色性をそれぞれの標品を使用して調べた結果を **Fig.-5** に示した。

活性白土を使用した脱色では、(1) 脱色性の良い順序は Chl a > Phy a > Chl b > Phy b で、3.4.1 の結果を

Fig.-5 Bleaching tests of four authentic green pigments and shift of absorption maximum. **Fig.-6** Adsorption isotherms of each green pigment.

裏付けていた。(2) Chl 及び Phy とも b 型に比べ a 型の方が脱色性が良い。活性白土への吸着量は **Fig.-6** に示すように a 型の方が 5~10 倍大きく、色素濃度が高い程この差異が著しい。このような脱色性の順序は 4 色素の極性の順序 (Phy a > Phy b > Chl a > Chl b) とは一致せず、b 型が悪いことから porphyrin 骨格の 3 位にアルデヒド基があることが何らかの意味をもっていることが推定されるが詳しいことは不明である。(3) Phy a を単独で脱色した場合の吸収極大位置は **Table-3** に示すように脱色前後で変化が認められなかった。Phy a と Phy b の混合物を脱色すると、油中に残存する色素

Table-3 Shift of absorption maximum during bleaching with activated clay.

Pigments	Before bleaching	After bleaching				
		1.0%	1.5%	2.0%	2.2%	3.0%
Phy a	20 ppm	0.18	0.085	0.036	—	—
	670 nm	670	670	670	—	—
Phy a + Phy b	Phy a 20 ppm Phy b 4 ppm	0.25	0.11	—	0.041	0.011
	670 nm	663	663	—	660	655~660

Fig.-7 Amount of green pigment adsorbed on activated carbon or activated clay.

の吸収極大位置は Phy b のそれに次第に近づいた。これらも 3・4・1 の推論を裏付けた。

活性炭での脱色では、(1) 脱色性の良い順序は Chl a $\geq$ Chl b $\geq$ Phy a > Phy b だが (2) Fig.-7 から明らかなように、それぞれの間には活性白土で認められたような大きな差異はなかった。

4 結 語

なたね脱酸油の中のクロロフィル類をアルミナゲルカラムクロマトグラフィーによる分画分離や同時蛍光定量法で調べたが、その大部分は Phy として存在しており、Chl はほとんど認められなかった。Chl から Phy への変化が種子の中で既に進んでしまっているのか、油脂の搾油精製段階で起こるのか興味もたれ今後検討を行いたいと考えている。

また、それぞれの色素の脱色性を比較した結果、a 型に比べ b 型の方が脱色されにくく、従って b 型の比率が高い油脂は難脱色性とみなされるが、このような比率がどの程度変化するかロットの異なるなたね油について調査を重ねたい。

本研究を行うにあたり、終始御指導、御べんたつをいただきました東洋製油 (株) 日野哲雄社長に深謝の意を表します。

(昭和 60 年 3 月 26 日受理)

文 献

- 1) H.A. Rawls, P.J. Van Santen, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **47**, 121 (1970)
- 2) A.H. Clements, R.H. Van Den Eugh, D.J. Frost, K. Hoogenhaut, J.R. Nooi, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 325 (1973)
- 3) R. Usuki, Y. Endo, T. Kaneda, *Agric. Biol. Chem.*, **48** (4), 991 (1984)
- 4) H. Niewiadomski, I. Bratkowska, E. Mossakoweka, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 731 (1965)
- 5) J.A.G. Box, H.A. Boekenogen, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **69**, 724 (1967)
- 6) J.K. Daun, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 15 (1982)
- 7) R. Usuki, T. Suzuki, Y. Endo, T. Kaneda, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 785 (1984)
- 8) S.A. Johansson, L.A. Appelquist, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **86**, 304 (1984)
- 9) 薄木理一郎, 鈴木俊久, 金田尚志, *油化学*, **32**, 321
- 10) Kirl-Othmer, "Encyclopedia of Chemical Technology", Vol. 3, p. 871 (1960)
- 11) 日本油化学協会編, "基準油脂分析試験法"
- 12) Smith, J.H.C., A. Benitez, "Modern Methods of Plant Analysis", IV, p. 142
- 13) 栗田 清, *油化学*, **5**, 347 (1956)

◎天然ガスをガソリンに直接転換

(ニューヨーク UNS) モービル・オイル・コーポレーションは、モービルが開発した プロセスを使い、商業規模で天然ガスをガソリンに転換する世界最初のプラントが、ニュージーランドのモトウスイで今週、生産を開始したとの声明を発表した。

モービルの研究所が開発した沸石 ZSM 3 触媒を使った 12 億ドルのプラントは、一日当たりガソリン 1 万 4 500 バレルを生産するよう設計されている。同プラントは、1986 年初めにフル生産に達すると、ニュージーランドのガソリン需要の 1/3 を供給する。

プラントはニュージーランドの巨大なマウイ・ガス田から取り入れ、メタノールに転換し、次いで高品質のガソリンに転換する。

モービルが開発した沸石触媒は世界中で広く石油精製、石油化学加工に使用されているが、天然ガスからガソリンを生産するのに商業規模が用いられるのはこれが初めてである。