貝類缶詰の緑変に関する研究

(第3報) 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

Part III. Comparison between the physico-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 to that of canned ones. By extraction with hydrochloric acid-acetone mixture, followed by the purification method adopted in case of canned ones, the green pigments of raw ones were separated into five components as in 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. (Received Mar. 23, 1970)

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回抽出したのち、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、アセトンおよびクロロホルムにて分別した。

2. 分析方法

(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、350~700

m 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) 薄層クロマトグラフィー

和光ゲル B 10 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

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

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-275 IIS 型にて測定した。

(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 P 3, P

* 東洋食品工業短期大学 (兵庫県川西市南花屋敷 4-23)
Toyo Junior College of Food Technology. Kawanishi, Hyogo.

4, および P 5 の 3 つの色素について元素分析を行った。

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 P 1, P 2, P 3, P 4 および P 5 と略称)。P 1 と P 2 は青緑色, 油状, P 3 と P 4 は緑色, 粉末, P 5 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, P 1, P 2 および P 3 はほぼ同一の吸収スペクトルを示し, P 4 と P 5 もまた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

第 1 図 生かきの緑色色素 (P 1, 2, 3) の吸収スペクトル

溶媒: クロロホルム

第 2 図 生かきの緑色色素 (P 4, 5) の吸収スペクトル

溶媒: クロロホルム

第 1 表 生かきの緑色色素と缶詰かきの緑色色素の極大吸収値の比較

色 素	極 大 吸 収 値 (mμ)							
	生 か き				缶 詰 か き			
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	510	610 660
P 5	420			605	660	420	600	660

たごとく, P 1, P 2 および P 3 はいずれも 415, 510, 540, 610, 665 mμ に, P 4 は 420, 510, 605, 660 mμ に, P 5 は 420, 605, 660 mμ 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 P 1, P 2 および 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 および P 3 はいずれの展開剤でも全く同一の R_f 値を示したが, P 4 は前 3 者とほぼ類似しているが, エタノール, メタノールおよび塩酸-メタノール (1 : 99) を展開剤とした場合 2 つのスポットに分離した。P 5 は前 4 者と著しく異なった R_f 値を示した。これらの緑色色素の R_f 値は缶詰かきの緑色色素の R_f 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で, クロロホルムには可溶性である。アセトンには P 5 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, エタノールおよびブタノールには P 1, P 2, P 3 はいずれも可溶性であるが, P 4, P 5 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 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, P 2 は可溶性であり, P 3, P 4 はややあるいはわずかに可溶性であるが, P 5 は不溶性である。ベンゼンには P 1, P 2, P 3 は可溶性であり, P 4 はやや可溶性であるが, P 5 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。

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

第2表 生かきの緑色色素と缶詰かきの緑色色素の薄層クロマトグラフィーの Rf 値の比較

展 開 剤	生 か き 緑 色 色 素					缶 詰 か き 緑 色 色 素				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
エタノール	0.85	0.85	0.85	0.85	0	0.92	0.92	0.92	0	0
クロロホルム	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ブタノール	0.87	0.87	0.87	0.87	0	0.88	0.88	0	0	0
メタノール	0.87	0.87	0.87	0	0.87	0.87	0.87	0.87	0	0
アセトン	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0
ピリジン	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.95	0.95	0.95	0.95	0
クロロホルム:エタノール (1:9)	0.84	0.84	0.84	0.84	0	0.84	0.84	0	0	0
クロロホルム:メタノール (7:3)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
メタノール:水 (1:1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HCl:メタノール (1:99)	0.85	0.85	0.85	0.85	0	0.89	0.89	0.89	0.89	0

第3表 生かきの緑色色素と缶詰かきの緑色色素の溶剤に対する溶解性の比較

溶 剤	生 か き 緑 色 色 素					缶 詰 か き 緑 色 色 素				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
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	++	++	++	+	-	++	++	++	++	-
ブタノール	++	++	++	+	±	++	++	++	±	-

注: 可溶……++, やや可溶……+, わずかに可溶……±, 不溶……-

ごとくいずれも 3.0, 3.4, 5.8~5.9, 6.8~6.6, 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。

6. 元素分析

生かきの緑色色素のうち 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

第3図 生かきの緑色色素 (P1) と缶詰かきの緑色色素 (P1) の赤外線吸収スペクトルの比較

溶媒: クロロホルム

第4図 生かきの緑色色素 (P 2) と缶詰かきの緑色色素 (P 2)
の赤外線吸収スペクトルの比較

溶媒: クロロホルム

第5図 生かきの緑色色素 (P 3) と缶詰かきの緑色色素 (P 3)
の赤外線吸収スペクトルの比較

溶媒: クロロホルム

第6図 生かきの緑色色素 (P 4) と缶詰かきの緑色色素 (P 4)
の赤外線吸収スペクトルの比較

溶媒: クロロホルム

第7図 生きの緑色色素 (P 5) と缶詰かきの緑色色素 (P 5)
の赤外線吸収スペクトルの比較

溶媒: クロロホルム

第4表 生きの緑色色素と缶詰かきの緑色
色素の元素分析値の比較 (%)

	生きの緑色色素			缶詰かきの緑色色素		
	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	62.98
N	7.22	8.00	5.73	5.73	8.02	7.55
CuO	5.33	6.51	9.35	5.93	7.58	6.08

んでおり、これらの元素分析の結果より、P 3 の実験式は $C_{41}H_{46}N_4O_9Cu$ 、P 4 は $C_{39}H_{41}N_4O_8Cu$ 、P 5 は $C_{42}H_{47}N_4O_{14}Cu$ であり、3 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 (クロロフィル誘導体) に類似しているものと考えられる。またこれら3つの色素は缶詰かきの P 4、P 5 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のべている。この銅とのキレート化合物とは山田²⁾らがの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とのべた。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リ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を認めたが、生きの体内において、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。缶詰かきが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える。すなわち、生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ものとする。

要 約

生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にほぼ類似していることが認められた。またこれら生きの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，

(5)，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)。

(1970年3月23日受理)