クロロフィルおよびクロロフィル誘導体の光分解について†

石谷孝佑*・木村進*

Photodegradation of Chlorophylls and Their Derivatives†

TAKASUKE ISHITANI* and SUSUMU KIMURA*

Effects of monochromatic lights on the photolysis of chlorophylls and their derivatives were studied.

Chlorophyll a and b were significantly degraded by irradiation with the wave length under 300 nm of ultraviolet light, and at the same time were considerably degraded by visible light around their absorption maxima.

Pheophytin a and b were also significantly degraded by irradiation with the wave length under 300 nm of ultraviolet light, while in the visible region, their discolorations were not observed. Chlorophylline a and b were more susceptible to irradiation of light than chlorophylls, especially in the visible region.

The relative stability between chlorophyll a and b or pheophytin a and b to light varied with the solvent systems used.

(Received Jan. 20, 1977)

クロロフィルは植物界に広く分布し、野菜などの鮮度や加工食品の品質の尺度として用いられており、品質評価の指標として重要な役割をはたしているが、加工、貯蔵中に分解しやすく、特にお茶や海苔のような乾燥食品では、水分が6~8%以上になるとクロロフィルは不安定となり、さらに光の存在下では著しく不安定となる¹⁾。

光線による化学変化は、照射される光の波長によってその影響の程度が異なり、一般に紫外線が最も影響が大きいことはよく知られている。光に弱い色素を含んだ食品の包装においては、包装材料の光透過性が問題となる。このような観点から、著者らは、各波長の光に対するクロロフィルおよびクロロフィル誘導体の安定性について検討した。

実験方法

1. 試料の調製

(1) クロロフィル a, b の調製²⁾

クロロフィルは、ホーレンソウより80%アセトンで抽出し、石油エーテルに転溶し、水洗、脱水後、蔗糖カ

ラムクロマトにより分離した。このカラム操作を3回以上繰り返すことによって精製クロロフィル a, b を得た。

(2) フェオフィチン a, b の調製

精製クロロフィル a または b のエチルエーテル溶液に濃塩酸を2~3滴加え、フェオフィチンに変化させた後、過剰の塩酸を水洗除去し、脱水後石油エーテル溶液とし、蔗糖カラムクロマトにかけ、精製フェオフィチン a または b を得た。

(3) クロロフィリン a, b の調製

クロロフィル a または b を少量のベンゼンに溶解した後、14倍量のペンタンを加え、これにメタノール性水酸化カリウムを加え激しく振盪し、加水分解した。生成したクロロフィリンの黒色沈殿をろ集し、1/100 M リン酸緩衝液に溶解した。試料の pH は 10.5 である。

2. 光の照射

クロロフィル a, b, フェオフィチン a, b は、エチルエーテル、石油エーテルに溶解し、クロロフィリン a, b は、リン酸緩衝液に溶解して各波長の光の照射を行なった。なお、この時の試料濃度は3~7 mg/100 ml に調

† 天然色素の分解に関する研究 (第2報)

Studies on the degradation of natural pigments (Part 2)

* 農林省食品総合研究所 東京都江東区塩浜 1-4-12

National Food Research Institute, Ministry of Agriculture and Forestry. Shiohama, Kotō-ku, Tokyo.

Table 1. Wave width of irradiated monochromatic light

Cell number	Wave width	Cell number	Wave width
(1)	223-241	(8)	483-501
(2)	261-279	(9)	520-538
(3)	299-317	(10)	557-575
(4)	336-354	(11)	594-612
(5)	373-391	(12)	629-647
(6)	409-427	(13)	666-687
(7)	447-465	(14)	703-721

製した。光の照射は、前報³⁾と同様に日本分光製凹面格子回折照射分光器を用いて行ない、各セルの照射面は高さ 41 mm, 幅 10 mm, 波長幅は 18 nm, 封入試料量は 3.5 ml である。各セルに照射した光の波長は、表 1 に示すとおりで、各々の照射エネルギー量は前報と同様である。クロロフィルおよびクロロフィル誘導体の残存量の測定は、すべて短波長側の極大吸収値をもって行なった。

結 果

1. クロロフィル a, b の光分解

クロロフィルの溶液に各波長の光を照射すると、カロチノイド色素のリコピン、 β -カロチンと同様³⁾に著しい退色が見られた。図 1 は、クロロフィル a の分解過程における吸光曲線の変化を示したものである。430 nm と 660 nm の 2 つの極大吸収値は、光照射により同じ比率で減少していることを確認した。図 2 は、クロロフィル a のエチルエーテル溶液および石油エーテル溶液に各波長の光を同一エネルギー量 (100 ジュール) 照射した場

Fig. 1. Changes in spectrum of chlorophyll a during irradiation of monochromatic light

Fig. 2. Effects of 100 joule of monochromatic light irradiation on the degradation of chlorophyll a dissolved in ethyl ether (---○---) or petroleum ether (—●—)

Fig. 3. Effects of irradiation with monochromatic UV light on the degradation of chlorophyll a dissolved in ethyl ether (---○---) or petroleum ether (—●—)

(1) 223~241 nm (2) 261~279 nm
(3) 299~317 nm (4) 336~354 nm

合の色素の残存量を示したものである。紫外線によって著しく分解されると同時に、クロロフィル a の極大吸収波長附近でも、ある程度の分解が見られた。

図 3 は、223 nm~354 nm の紫外線をクロロフィル a の溶液に照射した場合の照射エネルギー量と色素の減少との関係を示したものである。光の波長が短いほど著しく減少し、溶媒は、石油エーテルのほうがエチルエー

Fig. 4. Effects of 100 joule of monochromatic light irradiation on the degradation of chlorophyll b dissolved in ethyl ether (---○---) or petroleum ether (—●—)

テルより色素の分解を促進した。

図4は、クロロフィルbのエチルエーテル溶液および石油エーテル溶液に、各波長の光を100ジュール照射した場合の色素の残存量を示したものである。クロロフィルaと同様に、紫外線によって著しく分解されると同時に、クロロフィルbの極大吸収波長(642nmと440nm)付近でもかなりの分解が見られた。両溶媒間で、分解の程度にかなりの差が見られ、特に石油エーテル溶

Fig. 5. Effects of 200 joule of monochromatic light irradiation on the degradation of pheophytin a dissolved in ethyl ether (---○---) or petroleum ether (—●—)

Fig. 6. Effects of 200 joule of monochromatic light irradiation on the degradation of pheophytin b dissolved in ethyl ether (---○---) or petroleum ether (—●—)

液では、光照射に対して非常に不安定であった。

図5, 図6は、フェオフィチンa, bをエチルエーテルに溶解し、各波長の光を200ジュール照射した場合の各色素の残存量を示したものである。フェオフィチンは、可視光線に対してクロロフィルよりはるかに安定であり、紫外線に対してもやや安定であった。フェオフィ

Fig. 7. Effects of UV light irradiation on the degradation of chlorophyll a and b dissolved in ethyl ether or petroleum ether

- Chlorophyll a } Cell (1)
- " } Cell (1)
- Chlorophyll a } Cell (2)
- " } Cell (2)
- ▲— Chlorophyll a } Cell (3)
- " } Cell (3)

Fig. 8. Effects of UV light irradiation on the degradation of pheophytin a and b dissolved in ethyl ether or petroleum ether

—●— Pheophytin a ...○... Pheophytin b Cell (1)
 ---■--- Pheophytin a ...□... Pheophytin b Cell (2)
 -▲- Pheophytin a -△- Pheophytin b Cell (3)

チンにおいても、石油エーテル溶液のほうが不安定であり、短波長の紫外線ほど分解が著しいことは同様であるが、分解がほとんど 350 nm 以下の紫外線で起こっているのが特徴的である。

図7、図8は、同一溶媒でクロロフィル a, b およびフェオフィチン a, b の光照射に対する安定性を比較するため、最も分解の著しい 223~317 nm の紫外線（セル(1)~(3)）における、照射エネルギー量に対する各色素の残存量を図示したものである。石油エーテル中では、ク

ロロフィル a より b のほうが不安定であり、エチルエーテル中では、b より a のほうが不安定であった。また、フェオフィチンもクロロフィルと同様に、石油エーテル中では b のほうが、エチルエーテル中では a のほうが不安定になる傾向が認められた。

図9は、クロロフィル a および b の水溶液に対する光照射の影響を見たものである。照射エネルギー量が 22.5 ジュールと、クロロフィルの場合の約4分の1であるが、かなりの分解が見られ、特に可視光線によっても相当分解を受けた。クロロフィル a より b のほうが、全波長にわたって光による分解が大きかった。

クロロフィルの光分解において、その吸光度は直線的に減少し、また、極大吸収波長のシフトも見られないことから、クロロフィルの光分解においては、フェオフィチンを経ないものと考えられる。MORRIS⁶⁾らは各種の溶媒中でのクロロフィルの光分解について検討し、かなり分解されるまで分解物中にマグネシウムが存在していることを報告している。

考 察

クロロフィルは、カロチノイド同様³⁾紫外線で著しい退色が見られたが、特に 300 nm 以下の紫外線の影響が著しく、同時に可視部の吸収極大波長附近の光線によってもかなりの分解が見られた。従って、クロロフィルを含んだ食品の場合、可視光線の影響も考慮に入れる必要があると考える。

クロロフィル a と b の安定性については多くの報告

Fig. 9. Effects of 22.5 joule of monochromatic light irradiation on the degradation of chlorophylline a (···○···) and b (—●—) dissolved in water (pH 10.5)

がある。お茶⁷⁾、凍結乾燥野菜⁸⁾の貯蔵中あるいはブロッコリ⁹⁾、サヤインゲン⁹⁾、ホーレンソウ¹⁰⁾、エンドウマメ¹¹⁾の加熱中、キュウリ漬物¹²⁾¹³⁾の製造中などにおけるクロロフィルの変化はすべて a のほうが不安定であることを示している。また、守ら¹⁴⁾は、純粋なクロロフィルを用い、10%アセトンを含む石油エーテル中で光を照射した場合にも b より a のほうが不安定であることを報告している。

BALLSCHMITER ら¹⁵⁾は、クロロフィルと水の相互作用について検討し、クロロフィルのカルボニル基と水分子とポルフィリン環のマグネシウムの間の相互作用について報告している。著者ら⁸⁾も、各種有機溶媒中でのクロロフィル a, b の分解について比較し、エチルエーテル、アセトン、ジオキサンなどの極性溶媒中でクロロフィル b が a より安定となる結果を得ている。一般的にクロロフィル b が a より安定なのは、クロロフィル b のアルデヒド基と水との相互作用によるものと考えられる。

クロロフィルは、水素イオンがあるとマグネシウムが水素イオンと置きかわりフェオフィチンになるが、乾燥野菜でも吸湿するとこの変化が起こりやすくなり、フェオフィチンが生成されて変色する。フェオフィチンは、クロロフィルに比較してかなり安定で、太陽光線でも 300 nm 以下の紫外線をほとんど含まない場合には比較的安定に残るものと考えられる。

守ら¹⁴⁾は、銅や鉄で置換したクロロフィリンはフェオフィチンより安定であることを報告しているが、置換していないクロロフィリンはクロロフィルよりも光線に対して不安定であった。

要 約

クロロフィルおよびクロロフィル誘導体の分解促進に関与する光の波長について検討した。

クロロフィル a, b は、300 nm 以下の紫外線で著しく分解が促進されると同時に、吸収極大波長附近の光線によってもかなり分解が促進された。フェオフィチン a,

b はクロロフィル a, b より安定で、300 nm 以下の紫外線によって分解が促進されたが可視光線ではほとんど分解が見られなかった。クロロフィリン a, b はクロロフィルより不安定であり、可視光線の影響を比較点強く受けた。

クロロフィル a と b, フェオフィチン a と b の相対的安定性は、溶媒によって異なる結果を得た。

文 献

- 1) 木村 進: 食品の変色とその化学, (光琳書院) 121 (1967).
- 2) 入山啓治: 蛋白質・核酸・酵素, **18**, 229 (1973).
- 3) 石谷孝佑・梅田圭司・木村 進: 食品工誌, **23**, 480 (1976).
- 4) JEN, J.J., MACKINNEY, G.: *Photochem. Photobiol.*, **11**, 297 (1970).
- 5) JEN, J.J., MACKINNEY, G.: *Photochem. Photobiol.*, **11**, 303 (1970).
- 6) MORRIS, M.M., PARK, Y., MACKINNEY, G.: *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 277 (1973).
- 7) 古谷弘三: ジャパンフードサイエンス, **12**, (3), 42 (1973).
- 8) 石谷孝佑: 未発表.
- 9) EHEART, M.S., GOTT, C.: *Food Technol.*, **19**, 185 (1965).
- 10) TAN, C.T., FRANCIS, F.J.: *J. Food Sci.*, 232 (1962).
- 11) BUCKLE, K.A., EDWARDS, R.A.: *J. Food Technol.*, **5**, 173 (1970).
- 12) JONES, I.D., WHITE, R.C., GIBBS, E.: *Food Technol.*, **17**, 96 (1962).
- 13) WHITE, R.C., JONES, I.D., GIBBS, E.: *J. Food Sci.*, **28**, 431 (1963).
- 14) 守 康則・縄田尚子・池田由美子・松本苗美: 栄養と食糧, **22**, 115 (1969).
- 15) BALLSCHMITER, K., KATZ, J.J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 2661 (1969).
- 16) VERNON, L.P., SEELY, G.R.: *The chlorophylls*, (Academic press).

(昭和52年1月20日受理)