

天然色素の単離とその性質および応用に関する研究

The Study of the Isolation, the Characterization and the Utilization of the Natural Pigments

赤池照子, 佐藤 雅, 片山倫子, 片柳 薫, 卜部澄子

柳澤美文, 山口 功, 安藤紀子, 山本良子

天然色素に関する研究は、今回で最終回の報告となり、各研究者の研究成果が期待される場所である。そして当初の目標にどれだけ近づくことができたかが主な論点となろう。

赤池、佐藤らによる鉈物性顔料の経時変化の研究では、緑青、群青、油煙が最も安定しており、漆喰に塗布すればその効果が最大であることが判明した。また環境条件としては $20 \pm 2^\circ\text{C}$ で、湿度 $65 \pm 2\% \text{R.H.}$ が最適であることが解った。

山本は、その後の研究でも古代糸や古代布からの染料の抽出を試みたが、それらはプルプリンかアリザリンに帰属されるものであった。

卜部、柳澤らはチューリップ花卉に含まれているチュリパニンを抽出し、精製した後に、数種の布地に、各種の化学的条件による染色堅牢性を検討した。アグリコンはアクリルおよびタンパク繊維と濃色に染着し、洗濯、汗堅牢度は優良であるが、耐光性が劣っていることが解った。またデルフィニジンとシアニジンの混合物であるハイビスカス色素のカルシウム塩またはアルミニウム塩によるレーキ化に成功した。

片山、片柳らの紅花色素およびそれに関連する合成染料の蛍光特性の研究と山口、安藤らのクロロフィルに関する研究は本誌第12集で取り上げられているので、それを参照されたい。

天然色素は従来から染色に利用されてきたが、実用化されているものは数に限りがある。この理由は各種堅牢度が劣ることに外ならない。そ

れは色素分子の自らが持つ性質であるので、その改良による利用には困難さが立ちはだかる。植物が持つ色素類は細胞膜により、あるものは色素顆粒としてマイクロカプセル化されており、安定化されて存在している。そのマイクロカプセル化を人工的に試みても実用染色とはならない。紡糸では天然色素で染色した後に、後処理をしてから適当な有機化合物のポリマーでコーティングしなければならなくなるが、これも実用的ではない。次に考えられることは色素分子の不安定要因を有機合成化学的に取り除いたり、新しい媒染法の開発があるが、今回までの研究では、そこまでの進展は望めなかった。

各研究で共通していることは天然色素の酸化分解による脱色の防止のための手段の模索と分解過程で示す物性の変化の追求であった。しかし、山口、安藤らの天然クロロフィルの研究では、有機合成のための出発原料としてはその不安定性のために用いることができず、試薬である銅クロロフィル三ナトリウム塩に切り変えねばならなかったことだけがその内容を異にする。そこでも色素の酸化分解ということが研究遂行に当たり大きな障壁となっていることには変わりがない。有機合成化学的な解決法を用いたとしても、天然色素の由来の色調が保持されるという保証はなく、試行錯誤を、繰り返すことになる。それらの諸問題の解決には、今後の一層の研究が必要である。

天然色素の単離と精製および 誘導体の合成

山口 功 安藤 紀子

クロロフィルaの単離はすでに吉浦ら¹⁾によってなされている。そして従来から、それを強酸で処理するとマグネシウムとフィチル基が外れたフェオフォルビドaが生じ、弱酸で処理するとマグネシウムだけが外れたフェオフィチンが得られる。それらを熱アルカリで処理するとクロリンeが得られることが解っている。しかし、それらの化合物から新しい物質が合成された例は数少ない。筆者らはまずクロロフィルaの単離・精製を行ない、分光学的なデータを得、また酸化分解度の再測定を行なった。そしてクロロフィルaを合成出発原料とすることの困難さから、それを銅クロロフィル三ナトリウム塩に変え、その誘導体合成を試みたのでここに報告する。

実験および結果

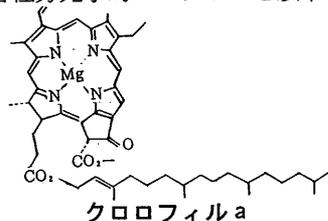
各種スペクトルの測定に使用した機器は日立製100-60型分光光度計、日立製U-3200型分光光度計、日本分光製IRA-1型赤外分光光度計、日立製R-40型90MHzNMR装置、日立製R-90H型FT-NMR装置などである。

粗クロロフィルは日本葉緑素(株)製で、コンフリーから得たペースト状物を用いた。銅クロロフィル三ナトリウム塩、6-アミノペニシリン酸はアルドリッチ社製を用いた。またその他一連の実験で用いた溶媒は市販の一級標準のものである。

1. クロロフィルaの精製

クロロフィルaの精製方法は本法第10集で述べた通りである。その方法に従って得た試薬(吸光度比428/660nm=1.29エチルエーテル溶

媒)の各種分光学的スペクトルを以下に示す。



a. 可視部吸収スペクトル

クロロフィルaの可視部吸収スペクトルには428nmの青色部と660nmの赤色部吸収極大を持っている。それぞれの透過光は前者は黄色、後者は青緑色である。428nmはポリフィリン骨格の環状共役を示しており Soret Band といわれているものである²⁾。660nmはBand I と称し、クロロフィルの主な色の吸収である。また500~620nmに小さな吸収極大があるが、それらのピークをBand IV, III, IIと呼んでおり、Band Iも含めて、それらの吸収極大の増減と波長の左右移動はポリフィリン骨格の置換基に由来しており、クロロフィルaでは図1に示した通りであった。

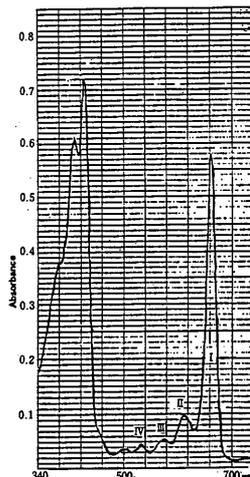


図1 クロロフィルaの可視部吸収スペクトラム
 $\lambda_{\max}(\text{diethyl ether})(\epsilon \text{ mM})$: 662(95.6), 616(17.2), 578(10.7), 535(8.2), 500(7.2), 428(123.6), 408.8(96.7), 380sh(60.9)nm,
 文献値³⁾ $\lambda_{\max}(\text{diethyl ether})(\epsilon \text{ mM})$: 662(91.2), 615(13.8), 578(7.6), 533.5(3.7), 430(121), 410(76.1)nm。

b. 赤外線吸収スペクトル

赤外線吸収スペクトルは図2に示す。主な各ピークは次のように帰属させた。

- 3050 cm^{-1} : 架橋メチレン(=CH- ; νCH)。
- 2960, 1460, 1380 cm^{-1} : -CH₃。
- 2920, 2840, 1460, 740 cm^{-1} : -CH₂-。
- 1730, 1270, 1120 cm^{-1} : -CO-O-
(エステル)。

- 1160(sh) cm^{-1} : R-CO-OCH₃(エステル)。
- 1700(sh), 1070 cm^{-1} : 五員環不飽和ケトン。
- 1690(sh) cm^{-1} : 三置換二重結合。
- 1650(sh), 1420(sh), 910(sh) cm^{-1} :
末端ビニル基。
- 1600, 1580, 1540 cm^{-1} : ピロール環の
 $\nu\text{C}=\text{C}$, $\nu\text{C}=\text{N}$ 。

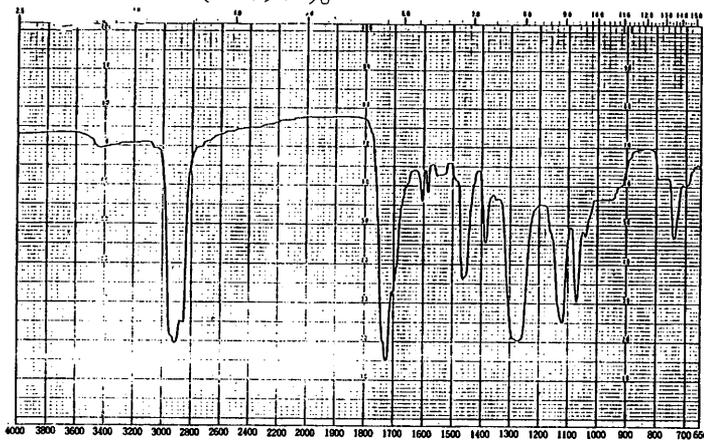


図2 クロロフィルaのIRスペクトラム (neat).

文献値⁴⁾は 2900, 2850, 1740, 1700, 1670, 1610, 1560, 1520, 1480, 1460, 1390, 1360, 1290, 1210, 1190, 1150, 1040, 920, 820, 790, 760, 730 cm^{-1} で、筆者らの精製試料のスペクトルでは、1210, 1190 cm^{-1} に関しては他の比較的大きな吸収に隠れており、検索できなかった。

c. 核磁気共鳴スペクトル

本誌第9集で示したクロロフィルaのNMR-スペクトルピークのケミカルシフト値は、シリコンチューブの可塑剤の混入により、スペクトル解析の一部が欠けていたが、今回狭雑物のない試料によるスペクトラムが得られたので報告する(図3)。

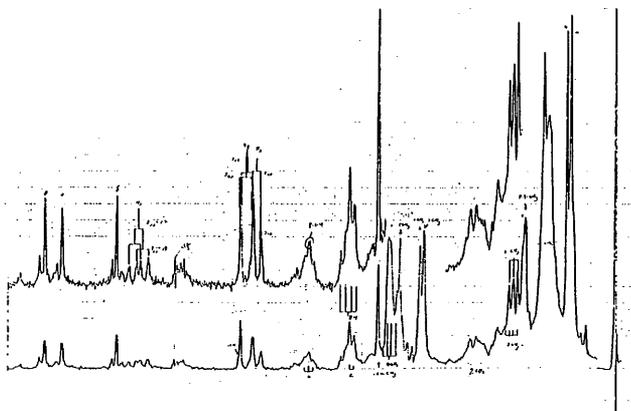


図3 クロロフィルのNMRスペクトラム (90MHz, CDCl₃/CD₃OD, TMS std.)

δ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$; TMS標準, 5 mm ϕ): 9.40, 9.11, 8.20(β , α , δ -H), 5.88, 6.04, 7.84(H_A , H_B , H_X ; ABX), 6.13(s)(10-H), 5.00(t)(p-2-H), 4.27(d)(p-1 H_2), 3.95(m), 4.34(q)(7,8-H), 3.66(q), 1.63(t)(4- CH_2 - CH_3), 3.84(s)(10a- CH_3), 3.17, 3.11, 3.49(s)(1,3,5- CH_3), 1.67(q)(8- CH_3), 1.45(s)(p-3- CH_3), 2.0~2.5(7- $\text{CH}_2 \times 2$), 0.71~0.79(s)(p-7,11,15- CH_3)ppm.
 文献値⁵⁾は δ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): 9.50, 9.23, 8.25(β , α , δ -H), 5.97, 6.13, 7.92(H_A , H_B , H_X ; ABX), 6.20(s)(10-H), 4.30(d)(p-1 H_2), 4.14(m), 4.27(q)(7,8-H), 3.28(s) 3.25(s), 3.60(s)(1,3,5- CH_3), 1.78(q)(8- CH_3), 5.10(t)(p-2-H), 1.52(s)(p-3- CH_3), 2.0~2.5(7- $\text{CH}_2 \times 2$), 0.71~0.75(s)(p-7,11,15- CH_3)ppmで、ほぼ筆者らのケミカルシフトは文献値と一致しており、可視光線、赤外線吸収スペクトルおよびNMRスペクトルデータから、クロロフィルaが単離できたものと考えている。

2. クロロフィルaの経時変化

本誌第9集で示した方法と同様に、精製したクロロフィルaの適量をジエチルエーテルに溶かし、厚さ1cmの紫外線測定用のセルに入れ、一定時間毎に駒込ピペットで空気を送り込んで、クロロフィルaの可視部吸収スペクトルの各ピークの吸光度変化を調べた。その結果を表1に示す。

表1のデータからは428nmのSoret Bandの吸収極大値はあまり変化がなく、むしろ660nmのBand Iの吸収極大値が徐々に減少している。またBand II, III, IVの増減についての変化は認められなかった。このことは主にBand Iに由来する青緑色が退色していくことを示している。これはポルフィリンの中心にあるマグネシウムのキレートに基づく色調に由来していると考えられるので、ポルフィリン骨格の一部が酸化されることにより、マグネシウム

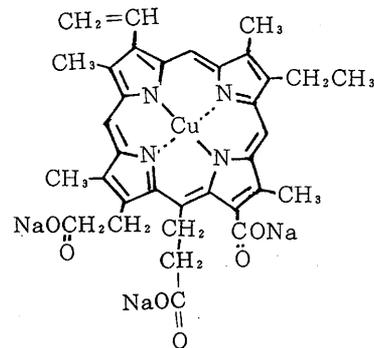
表1 428nmと660nmの吸光度比の経時変化

時間	428/660nm比
0分後	1.02
1分後	1.04
2分後	1.06
3分後	1.09
4分後	1.11
2日後	1.13

が遊離して行くものと思われる。

3. 銅クロロフィルリン三ナトリウム塩誘導体の合成の試み

上述のようにクロロフィルaを加水分解し、再びマグネシウムを挿入しての合成原料を得る試みは、クロロフィルaが不安定なために断念せざるを得なかった。そこで市販試薬の中から比較的安定な銅クロロフィルリン三ナトリウム塩を合成出発原料に用いる方法を採用した。



銅クロロフィルリン三ナトリウム塩

a. 試薬の評定

合成原料である銅クロロフィルリン三ナトリウム塩の分光学的な各吸収スペクトルは次の通りである。

(1) 可視・紫外線吸収スペクトル

銅クロロフィルリン三ナトリウム塩の特徴のあ

る吸収極大は、赤色部吸収として630nmに青緑 共役ビニル基に基づく吸収極大が230 nmに存在している(図4)。色を呈す。Soret Bandは404nmに示される。

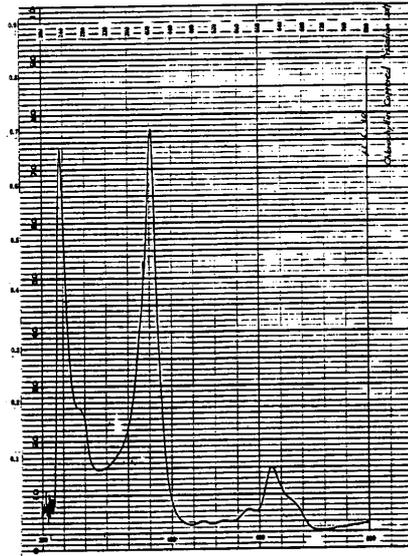


図4 銅クロロフィリン三ナトリウム塩の可視・紫外線吸収スペクトラム (Water)

(2) 赤外線吸収スペクトル

銅クロロフィリン三ナトリウム塩の赤外線吸収スペクトルには1570と1560 cm^{-1} および1405 (sh) cm^{-1} にカルボキシレートに基づく吸収が認められ、

1640, 1400, 1000 cm^{-1} にある吸収ピークから末端ビニル基の存在を表明することはかなり困難である。

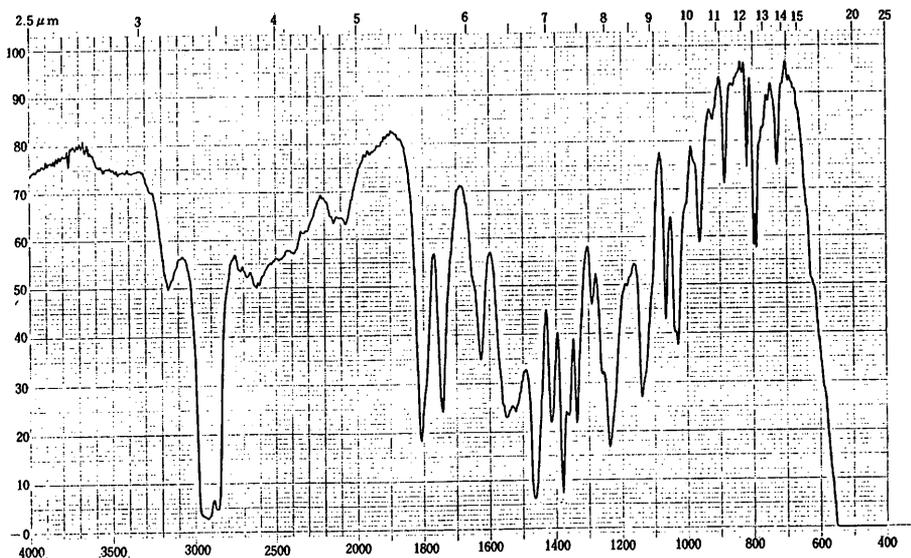


図5 銅クロロフィリン三ナトリウム塩のIRスペクトラム (Nujol Mull)

それに1105と1120 cm^{-1} には硫酸イオンに基づくと思われる吸収があり、これは銅クロロフィリン合成の際の硫酸銅の混入とも考えられる。またピロール環のC=Cの存在もカルボキシレート吸収と重なってしまっており明瞭でない。

(3) 核磁気共鳴スペクトル

試料をアピセルカラム (30×0.94cm) でn-ブタノール：ピリジン：水=2：1：1(v/v)で精製したものを測定試料とした。溶出試料ではナトリウムの一部が取れ、水素と置き変わっていることが判明した。また末端ビニル基と架

橋メチレンの存在は反磁性である Cu^{2+} の影響でケミカルシフトは高磁場側にシフトしているようである。

1. 28, 1. 52, 3. 55ppm($\text{H}_A, \text{H}_B, \text{H}_X, \text{ABX}$)
 0. 84(s), 0. 65(s)($\beta, \alpha\text{-H}$)
 3. 49(q), 1. 49(t) : $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
 4. 45(t) : $7-\text{CH}_2-(\alpha)$
 3. 33(t) : $7-\text{CH}_2-(\beta)$
 3. 08(s) : $\gamma-\text{CH}_2-$
 11. 53(s) : $-\text{CO}_2\text{H}$
 0. 9~1. 0 : $-\text{CH}_3 \times 4$

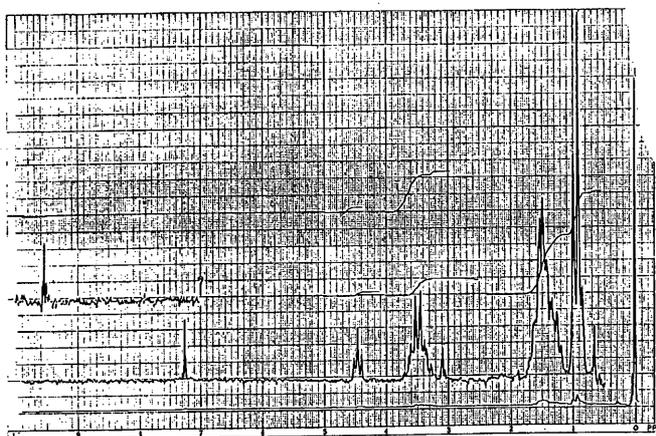


図6 銅クロロフィリンナトリウム塩のNMRスペクトラム (CDCl_3 , TMS std.)

b. 銅クロロフィリン三ナトリウム誘導体の合成

目的とする化合物の合成に先立ち、筆者らは酢酸ナトリウムとアニリンとの縮合反応を試みた。

(1) アセトアニリドの合成

100ml用三角フラスコにアセトニトリル50mlを入れ、そこへ酢酸ナトリウム0.41g(5mM)とアニリン0.47g(5mM)を入れ、常温でよく攪拌しながら濃硫酸2~3滴加えた後、1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)1.54g(7.5mM)を加えて約4時間攪拌を続けた。攪拌終了後、ろ過し、ろ液をロータリーエバポレーターで減圧除去した残渣に、ジエチルエーテル50mlを加えた。ジエチルエーテル可溶物のみを

ろ過により得、再びロータリーエバポレーターでジエチルエーテルを減圧除去した。この様にして得た残渣にn-ヘキサン50mlを加えて加温し、可溶物のみを熱時ろ過により得た。n-ヘキサンを再びロータリーエバポレーターで減圧除去して白色綿状結晶約0.1gを得た。(収率14.8%)。このものの赤外線吸収スペクトラムを標準データと比較した結果、よく一致しており、目的物であるアセトアニリドであることが解った。

i.r.(nujol mull) : 3290, 1660, 1560, 1545, 1500, 1490, 1320, 1260, 760 cm^{-1} , 文献値⁶⁾
 (nujol mull) : 3293. 7, 1663. 7, 1556. 9, 1500. 5, 1323. 6, 1264. 3, 755. 0 cm^{-1}

(2) 6-アミノペニシリン酸メチルエステルの合成

6-アミノペニシリン酸 1 g (4.6mM) をメタノール 40ml に入れ、濃塩酸 0.5ml を加えて、約 4 時間加熱還流させた。反応終了後、炭酸ナトリウム 2 g を加えて中和後、ろ過した。ろ液を冷蔵庫に一晩貯蔵し、再びろ過してから、ろ液をロータリーエバポレーターで減圧除去して 6-アミノペニシリン酸メチルエステル 0.8 g (収率 75.5%) を得た。

i.r.(nujol mull) : 1740, 1600, 1280, 1220, 1175, 1130, 1020, 970, 900 cm^{-1} 。

n.m.r.(DMSO- d_6) : 3.6(s), 3.5(d), (CH_3OCO -) 3.1, 1.48(d), 1.09(s) (CH_3 - $\times 2$) ppm。

(3) 銅クロロフィリン三ナトリウム塩と 6-アミノペニシリン酸メチルエステルとの縮合反応

100ml 用三角フラスコにアセトニトリル 50ml を入れそこへ銅クロロフィリン三ナトリウム塩 0.72 g (1.0mM) と 6-アミノペニシリン酸メチルエステル 0.65 g (2.8mM) を加え、常温でよく攪拌しながら濃硫酸 2~3 滴を加えた後、直ちに DCC 1.03 g (5.0mM) を加えて一晩攪拌を続けた。攪拌終了後、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧除去後、塩化メチレン 50ml に残渣を溶かし、塩化メチレン可溶物だけをろ過して得た。ろ液を再びロータリーエバポレーターで減圧除去した後、また塩化メチレン 30ml を加え、可溶物のみをろ過し、ろ液中に得た。ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧除去し、青緑色のペースト状物約 0.3 g を得た。反応生成物は TLC (アビセル SF : フナコシ薬品(株)製) により、 n -ブタノール : 酢酸 : 水 = 2 : 1 : 1 で展開してみると RF = 0.97 に 1 スポット を得た。

i.r.(nujol mull) : 3240, 1635, 1540, 1315 cm^{-1} に $-\text{CO}-\text{NH}-$ の吸収, 1720, 1250, 1095 cm^{-1} にメチルエステルの吸収を得た。

n.m.r.(CDCl_3) : 5.50(t) ppm に $-\text{NHCO}-$ のピークを得た。また 11.52 ppm に $-\text{COOH}$ に基

づくシグナル, 3.60(s) ppm に $-\text{OCOCH}_3$ に由来するピークが存在する。

3. 考 察

上記の方法を用いて、メチル化していない 6-アミノペニシリン酸や 7-アミノセファロsporin 酸に関しても反応が行なわれ、目的とする化合物が得られることが判明したので現在それを行なっている。また各化合物の元素分析は依頼中であるので、後日 6-アミノペニシリン酸メチルエステルが銅クロロフィリンに何モル縮合したかが判明する。その際に収率なども計算が可能となる。またこれらの化合物の生理活性試験を外部へ依頼しなければならない。創傷治癒効果が本当にあるのか期待されるところである。

4. 参考文献

- 1) 吉浦昌彦, 入山啓治 : 蛋白質・核酸・酵素, 24(4), 60(1976)
- 2) K. M. Smith ed. : *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 1975, pp.19~27
- 3) R. M. C. Dawson et al. ed. : *Data for Biochemical Research*, 2nd Edn., The Clarendon Press, Oxford, 1969, p. 318
- 4) J. G. Grasselli and W. M. Ritchey ed. : *Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds*, 2nd Edn, vol III, CRC Press. Inc., Ohio, 1975, p. 45
- 5) 1)と同じ, p. 414 および p. 464
- 6) C. J. Pouchert ed. : *The Aldrich Library of FT-IR Spectra*, Edn I, vol 2, Aldrich chemical Co. Inc., Wisconsin, 1985, p. 356

紅花色素の蛍光特性について

片山 倫子 片柳 薫

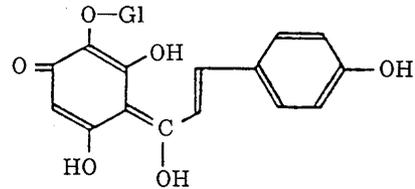
1. 緒 言

紅花は古くから東洋や西洋で絹や綿の紅色染色に用いられ最も重要な色素の一つであったが、染色堅牢度の秀れた赤色染料の合成が可能になってからは紅花の利用が減少した。しかしながら現代においても西洋茜や紫根等の他の草木染め用染料と共に手工芸品等の染色に根強く用いられている。

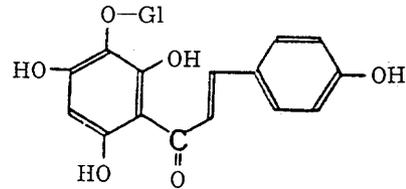
紅花はキク科植物ベニバナ(*Carthamus tinctorius*)の花を乾燥したものである。ベニバナは開花初期には黄色で次第に赤色化する。乾燥した花卉の中には大量の黄色色素(水溶性サフロール黄 Safflor yellow)と少量(0.3~0.6%)の赤色色素(カルタミン Carthamin)が含まれている¹⁾が、紅花染色というのは赤色色素であるカルタミンによる染色をさしている。

カルタミンについては亀高德平, A.G.Perkinにより1910年に初めて純粋の結晶が確認され、アルカリ処理によりパラオキシベンザルデヒドとパラクマール酸を得たが、カルタミンが非常に不安定なため分子式を決定することが出来ず $C_{16}H_{14}O_7$ 又は $C_{28}H_{24}O_{12}$ の二式を提案した²⁾。黒田チカは1930年に泥状紅(生紅)を冷希塩酸で処理することにより容易に黄色針状結晶を得たが、この結晶が168°Cで赤変し、230°Cで分解し、非常に変化しやすく空气中に放置した場合にも赤変することを見出した。さらに黄色結晶をピリジンで再結晶すると赤色緑蛍光を有する普通のカルタミンになり、両者を分析したところこの赤結晶と黄結晶とが異性体であろうと推定し、後者をイソカルタミンと命名した。さらに両者を熱希リン酸によって1分子のグルコースを分離させカルタミジンとイソカルタミジンになることを明らかにした³⁾。1図、2図はそれぞれ

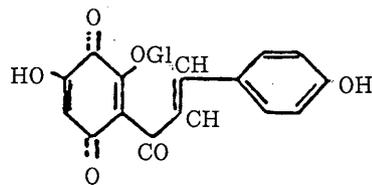
黒田らの提案したカルタミン、イソカルタミンの構造式である。さらに T. R. Seshadri, R. S. Thakur はカルタミンの構造式として6-glucosidoxy-4:4'-dihydroxy-2:5-guinochalkone (3図)を提案し、さらに紅花の黄色色素がカルタミンの黄色結晶に一致し、6-glucosidoxy-2:4:4':5-tetrahydroxy chalkone (4図)であることを見出したことから、紅花の主成分である黄色色素がカルタミンで、これが酸化されて赤色のキノン色素カルタモンになると報告している⁴⁾。(1~4図中のGlはグルコース残基を表わす。)



1図 黒田によるカルタミン



2図 黒田によるイソカルタミン

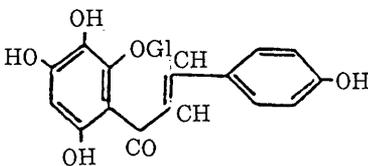


3図 Seshadri らによる赤色色素カルタモン

また花卉から色素を抽出する方法としては花卉を水洗し水溶性の黄色色素を除去した後に灰汁、炭酸カリウム又はソーダ灰等で赤色色素を抽出し布で濾過し、濾液にクエン酸又は酢酸を加えて中和する従来からの方法と、セルロースパウダーによる精製法がある。

これらの方法で得られた赤色色素は水に不溶、弱アルカリに易溶で橙褐色になるが放置すると分解し、強アルカリ又は煮沸により分解し、腐敗しやすい。酸性浴から絹、木綿に対して直染性があることが知られている。黄色色素についても水に良く溶け酸性浴から絹に対しては直染性をもつが木綿に対する染着性はないことが知られている。

またこれらの色素の吸収スペクトルについては赤色色素については黒田チカ³⁾の報告に見られ、黄色色素については盛玲子⁵⁾の報告に見られるが、それぞれの蛍光特性については、黒田チカ³⁾が赤色色素について蛍光を有ることが明記されているものの蛍光スペクトル等に関する記載はなく、又、他の文献等でもカルタミンの蛍光特性については明らかにされていない。そこで本研究ではこれらの情報をもとに、紅花の花卉から黄色色素および赤色色素を抽出し、それぞれの吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルを測定し、紅花色素の蛍光特性を検討することを目的とした。



4図 Sehadri らによる黄色色素カルタミン

2. 実験方法

2・1 色素の抽出方法

市販の乾燥紅花を用い次の3方法により色素を抽出した。

- ①紅花を充填したクロマト管による方法
- ②紅花とセルロースパウダーおよびガラス玉を充填したクロマト管による方法
- ③セルロースパウダーによる精製法

①法では紅花5gを乳鉢で細かくすりつぶし、あらかじめガラスウールをつめておいたクロマト管に充填し、その上部にもガラスウールをつめる。クロマト管の上部にはローラーポンプにより蒸留水(170ml)を定速で注入し、クロマト管の下部にはフラクションコレクターを設置し紅花抽出液を一定量ずつ採取した。同じクロマト管に再度蒸留水を注入して2回目の抽出をおこない一定量ずつ抽出液を採取した後に、クロマト管から紅花を取り出し、紅花を1日風乾した後に、再びクロマト管に充填し、管の上部にローラーポンプにより170mlの炭酸カリウム1%水溶液を定速で注入しフラクションコレクターにより一定量ずつ抽出液を採取した。

②法では紅花3gを乳鉢で細かくすりつぶしセルロースパウダーおよびガラス玉を各々3gずつ加え混合したのち、ガラスウールをつめたクロマト管の中に紅花の混合物を入れ、その上部にガラスウールを充填し、100mlの蒸留水を注入後1時間放置し、フラクションコレクターにより抽出液を一定量ずつ採取した。同様に水抽出の2回目を行なった後に、すぐに炭酸カリウム1%水溶液を100ml注入する方法を2回くりかえし、アルカリ抽出をおこなった。

③法では紅花50gを水1ℓに加えよくもんで水を含ませ1時間浸漬し、ポリエステル白布に浸漬液をとり濾過した。濾過液は黄色色素が含まれる。脱水した紅花をボールに入れ水1ℓを加えた後にソーダ灰40gを加えよくもみ全体に茶褐色になったら1時間放置した。再びポリエステル白布で濾過し濾過液を集め、あらかじめ

約20mlの蒸留水とセルロースパウダー5gとを泥状に混ぜたものをこの濾過液に加えかきまぜ、赤色に染ったセルロースパウダーをポリエステル製濾過布で集めた。ビーカーに赤色に染ったセルロースパウダーと紅花溶解剤を加え赤色色素を抽出した。

2・2 色素水溶液の吸収スペクトル測定法

抽出した色素水溶液を希釈し島津製作所製自動記分光光度計(UV-200)により200~600nmの吸収スペクトルを測定した。

2・3 色素水溶液の蛍光スペクトル測定法

抽出した色素水溶液を希釈し日立蛍光分光光度計(MPF-4)により蛍光スペクトルおよび励起スペクトルを測定した。

2・4 セロファンおよび白布の染色方法

あらかじめ水で濡らしたセロファン、木綿白布、絹白布を色素抽出液に1時間浸漬して染色をおこなった。

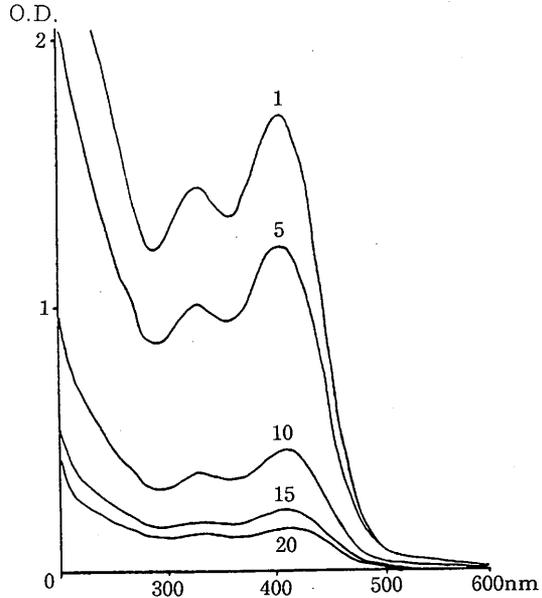
3. 実験結果および考察

3・1 色素抽出法①による抽出液の吸収スペクトル変化

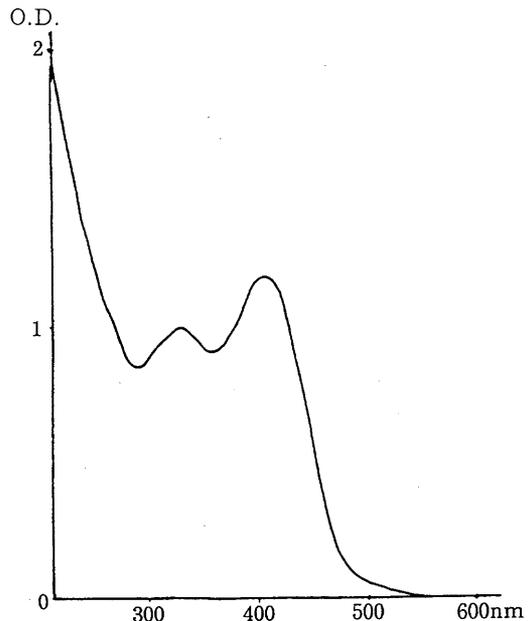
水抽出1回目の抽出液を200倍希釈し吸収スペクトルを測定したところ5図の結果を得た。図中の1は1本目、5は5本目、10は10本目、15は15本目、20は20本目の採取液を表わしている。1本目の抽出液は濃い黄色で、406nmおよび328nmに極大吸収を有する吸双スペクトルであったが、抽出量が増大するにつれて徐々に黄色が薄くなり吸光度が著しく減少していった。

水抽出2回目になると406nmにおける吸光度が1/100程度まで減少した。

アルカリ抽出では、徐々に500nm付近の吸収が増す傾向は見られたが、極大吸収を示すまでには至らなかった。



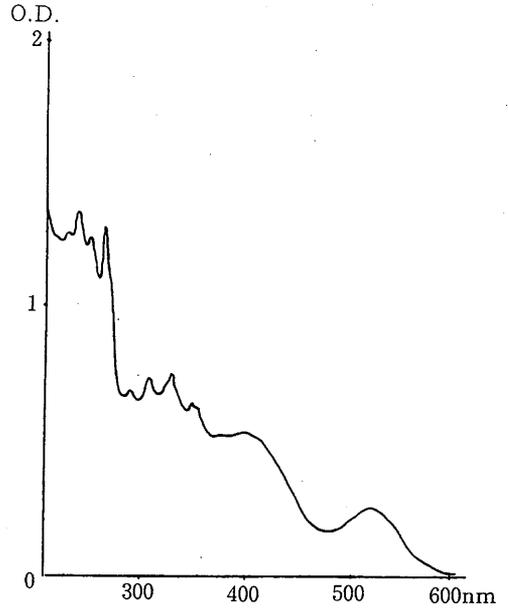
5図 ①法による水抽出液の吸収スペクトル変化 (200倍希釈測定)



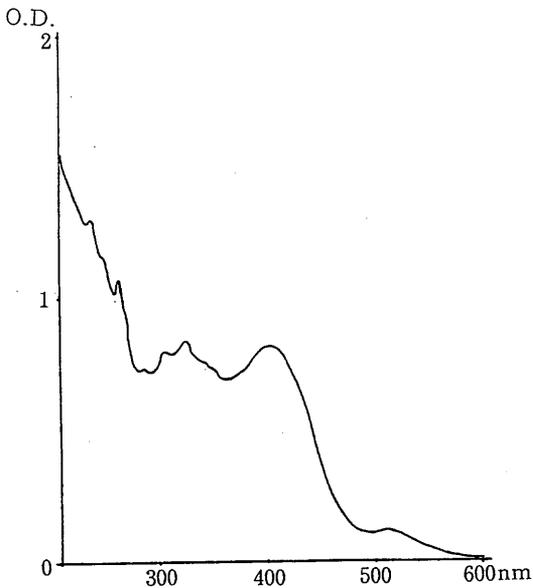
6図 ②法による水抽出液の吸収スペクトル (100倍希釈測定)

3・2 色素抽出法②による抽出液の吸収スペクトル変化

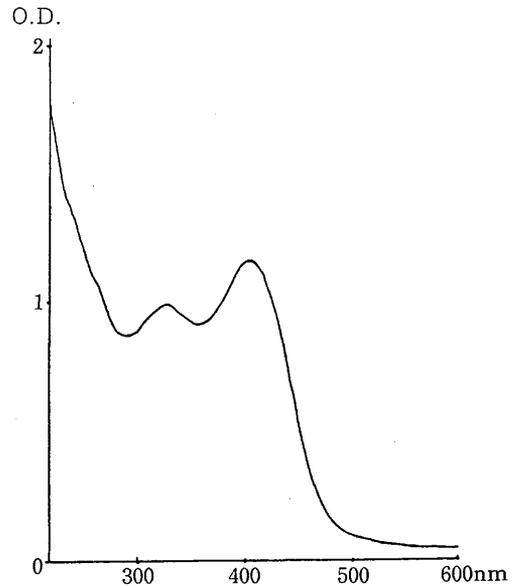
水抽出1回目で得られた抽出液を100倍希釈後に測定した吸収スペクトルを6図に示した。水抽出を続けていると、7図（水抽出2回目の1本目抽出液を4倍希釈測定）および8図（水抽出2回目の9本目を希釈せず測定）に示したように406nm付近の極大吸収波長における吸光度が減少しわずかながら赤色の吸収帯である515nm付近の吸収が増大して来た。またクロマト管に充填してあった白いセルロースパウダーが赤色に染まって来た。つづいてアルカリ抽出をおこなったが、赤色色素が大量に出現する現象はみられなかった。



8図 ②法による水抽出液（2回目）の吸収スペクトル
（9本目の採取液を希釈せずに測定）



7図 ②法による水抽出液（2回目）の吸収スペクトル
（1本目の採取液を4倍希釈後測定）



9図 ③法による黄色色素水溶液の吸収スペクトル
（50倍希釈測定）

3・3 色素抽出法③により抽出された黄色色素について

③法によって抽出された黄色色素水溶液の吸収スペクトルを9図に示したが、この水溶液は比較的安定で、 $3 \pm 2^\circ\text{C}$ で7日間冷蔵した後に再度測定した吸収スペクトルも9図と全く同じであった。後述するがこの点は赤色色素とは全く異なる点であった。

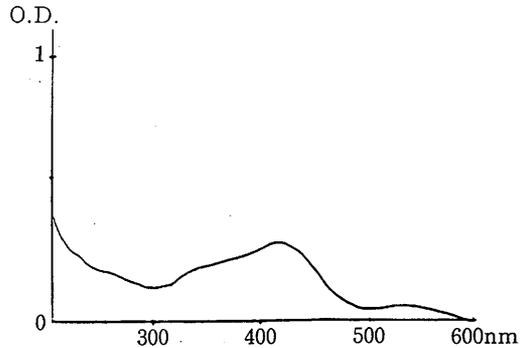
またこの黄色色素水溶液によって染色したセロファンフィルムの吸収スペクトルを10図に示した。

黄色色素の蛍光特性をしらべるために9図でみられた極大吸収波長である267nm, 328nm, 406nmを励起光とする蛍光スペクトルを調べたところ11図に示したように得られた蛍光は単一ではなく波形や強度、波長域が異なったものであった。そこで励起光の波長間隔を2nmにして263~271nm, 324~332nm, 402~410nmについて蛍光スペクトルを測定したところ、12図に示したように励起光の波長域を狭く限定すれば蛍光スペクトルの波形が一致することがわかった。さらに黄色色素の極大蛍光波長が350nm, 488nm, 492nm, 500nmであったので、これらの蛍光に関与する励起光をしらべたところ、13図の各スペクトルが得られた。

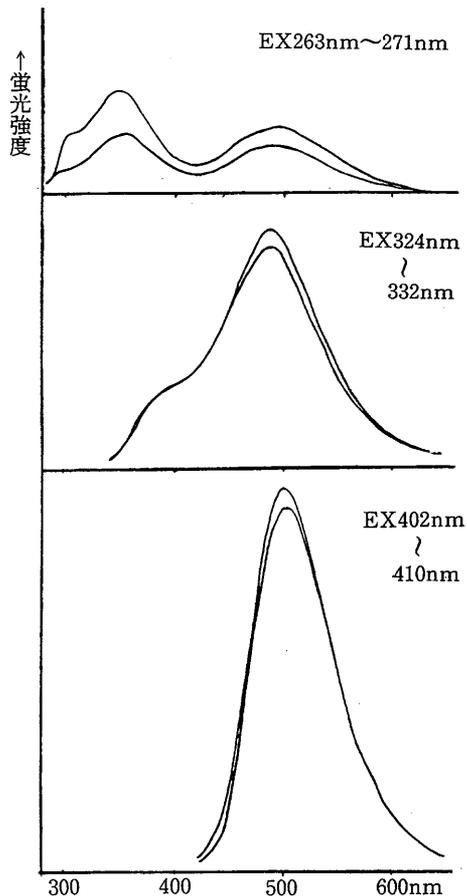
3・4 色素抽出法③により抽出された赤色色素について

③法で抽出された赤色色素については14~20図の結果が得られた。

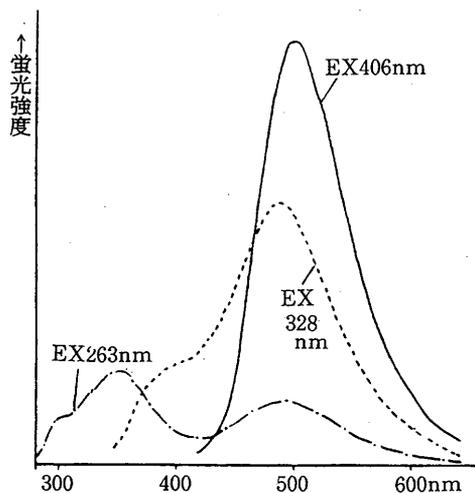
赤色色素水溶液の吸収スペクトルは520nmに大きな極大吸収を持つもので、14図に実線で示した。この赤色色素はセルロースパウダーに吸着している時には比較的安定でそのまま保存が可能であるが、水に溶かした後は不安定で赤色から黄色へと変色した。14図の点線は実線の水溶液を $3 \pm 2^\circ\text{C}$ で7日間冷蔵後に再度測定した吸収スペクトルであるが、520nmの吸収が激減し400nm付近に極大吸収帯が出現し、赤色から黄色への変化を示している。



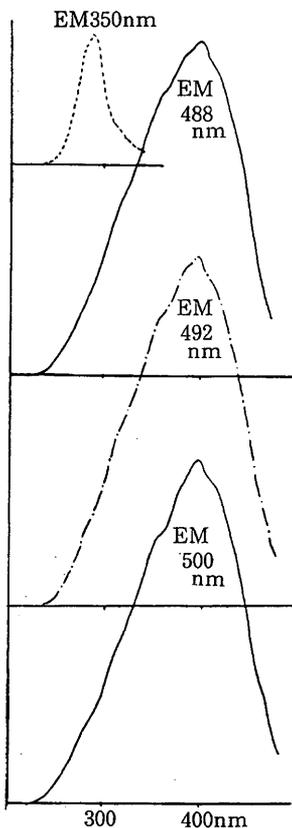
10図 黄色色素水溶液で染色したセロファンフィルムの吸収スペクトル



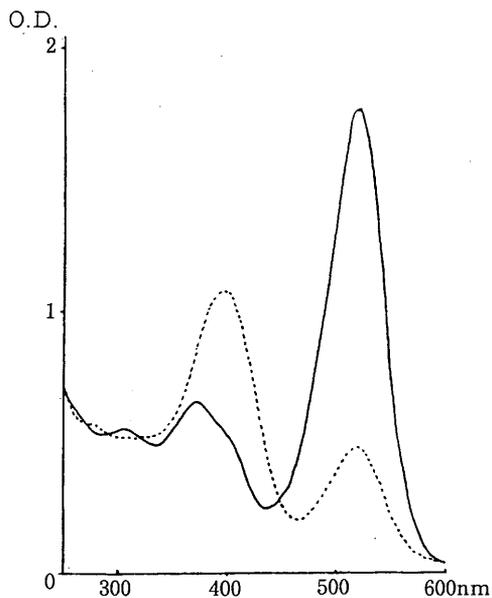
12図 ③法による黄色色素水溶液の263~271nm, 324~332nm, 402~410nmを励起光とする蛍光スペクトル



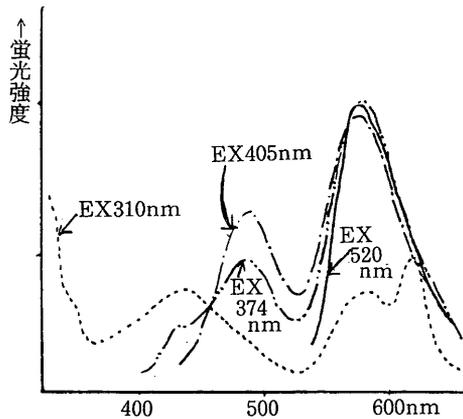
11図 ③法により抽出された黄色色素の
蛍光スペクトル



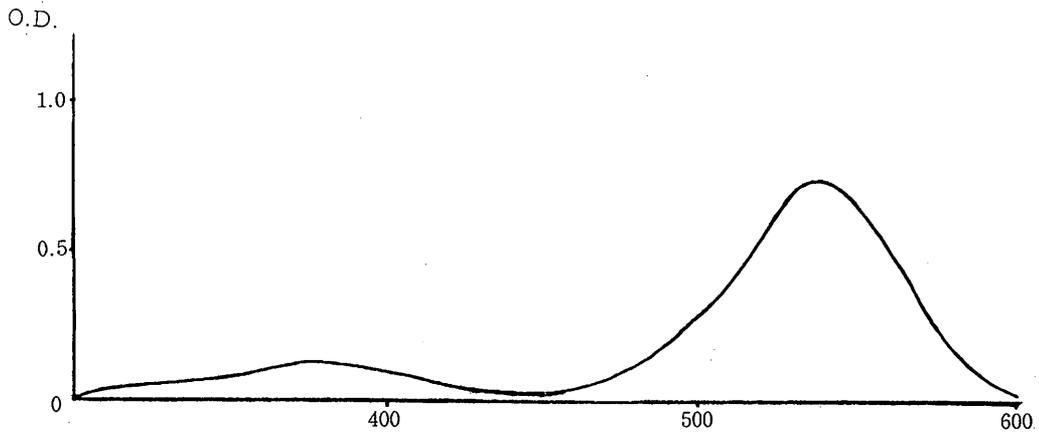
13図 ③法による黄色色素水溶液の
励起スペクトル



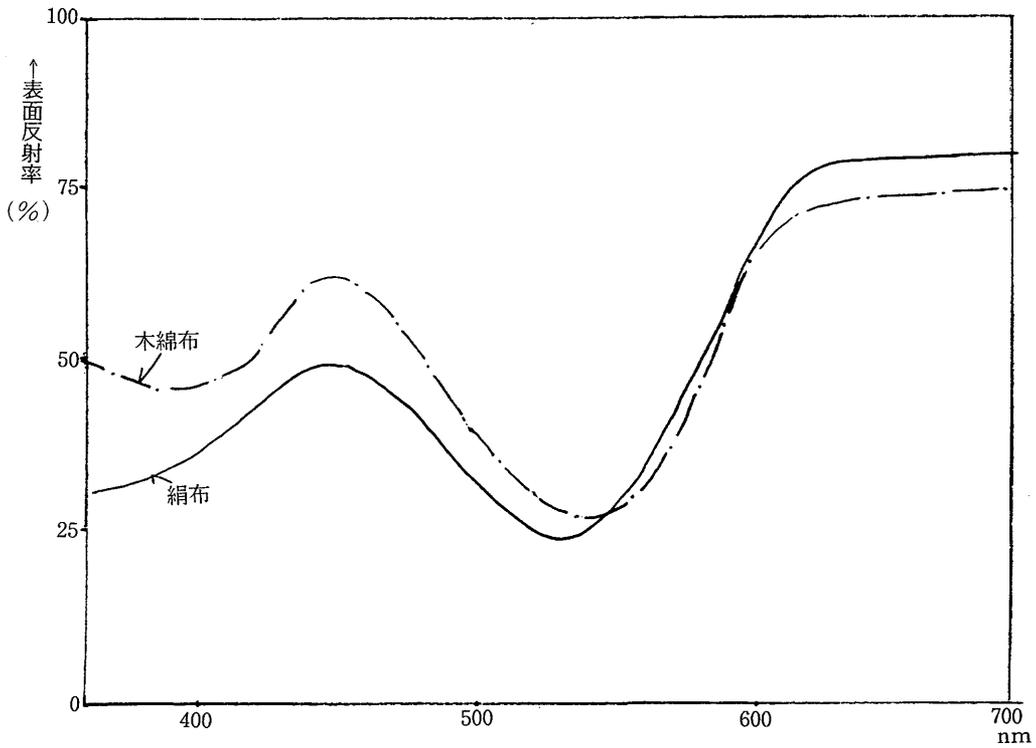
14図 赤色色素水溶液の吸収スペクトル
——水溶液調製直後に測定
.....7日間冷蔵(3 ± 2°C)後に測定



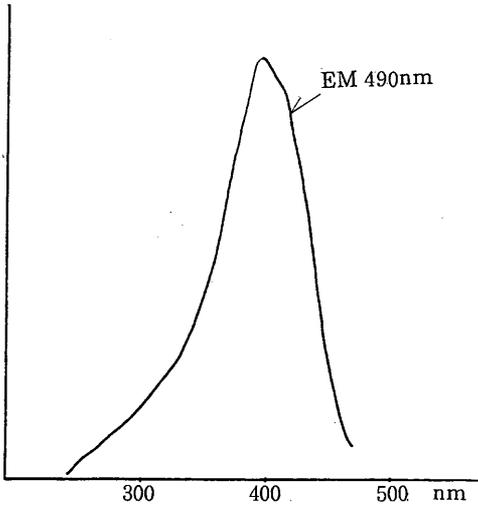
17図 赤色色素水溶液の蛍光スペクトル



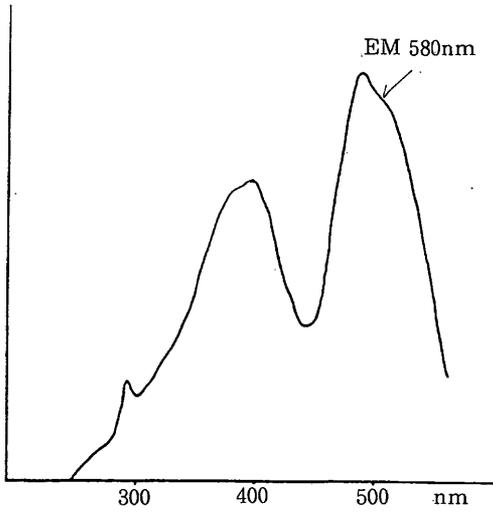
15図 赤色色素水溶液で染色したセロファン
フィルムの吸収スペクトル



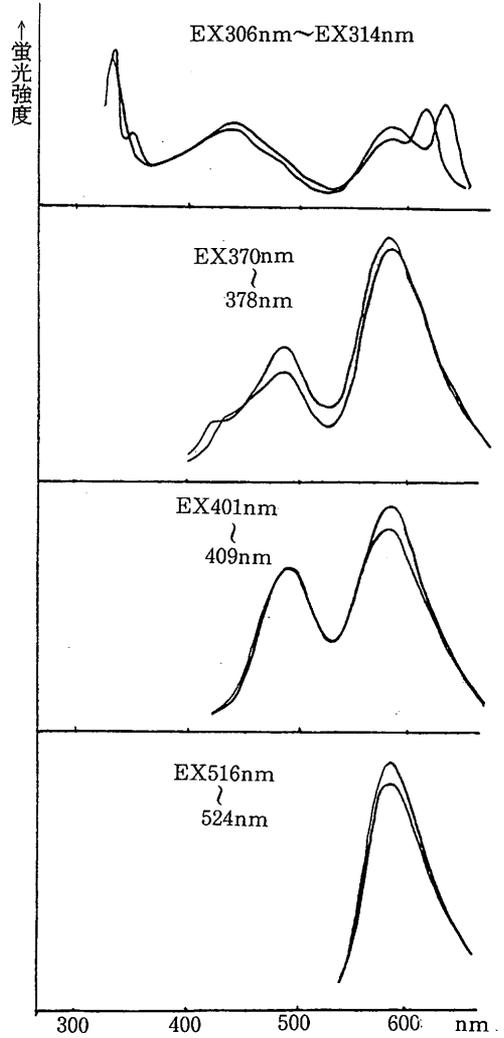
16図 赤色色素水溶液で染色した綿布・絹布の
反射スペクトル



18図 赤色色素水溶液の励起スペクトル
(EM 490nm)



19図 赤色色素水溶液の励起スペクトル
(EM 580nm)



20図 赤色色素水溶液の蛍光スペクトル

赤色色素水溶液でセロファンを染色したところ、紅花独特の赤色で染まった。この吸収スペクトルが15図に示したものである。また、白色の木綿布および絹布をこの赤色色素水溶液で染色したところこれ等も赤色に染まった。16図にその反射スペクトルを示した。

赤色色素水溶液の蛍光特性についてしらべたところ17図の蛍光スペクトルが得られた。これは14図に示された赤色色素水溶液の極大吸双波長である310nm, 374nm, 405nm, 502nmを励起光として水溶液に照射し得られた蛍光スペクトルであるが、この結果は前述の黄色色素の場合と同様で、励起光の波長を変化させると異なった蛍光が出現することを意味している。そこで490nmに極大蛍光波長を生じた蛍光および580nmに極大蛍光波長を生じた蛍光に関与する励起光について励起スペクトルを測定したところ18図, 19図に示した結果が得られ、各々の蛍光に関わっている励起光の波長分布が複雑であることが判明したことから、励起光の波長を少しずつ変えて蛍光スペクトルをとる方法によって赤色色素の蛍光特性をしらべたところ、306~314nm, 370~378nm, 401~409nm, 516~524nmの励起光ではそれぞれほぼ単一の波形の蛍光スペクトルが得られた。

この結果は前述の黄色色素の場合と同様であったが、日常生活の中で汎用されている衣料用蛍光増白剤や前報⁶⁾で報告したローダミン6G

の蛍光が、励起波長を変えても単一の強い蛍光スペクトルしか得られないことと比較すると非常に不思議な現象に思われたが、花の中にある色素が種々の波長の光に励起されて、種々の蛍光を発生し、可視光域全体をおおう形で蛍光が出され、虫や人間をひきつけているのではないかと推定される。

本研究は東京家政大学生生活科学研究所昭和61年度プロジェクト研究によって行なったものである。実験に協力していただいた今井幸子氏に感謝する。

引用文献

- 1) Salvétat, *Ann. Chem. Phys.*, 25, 337(III), (1849)
- 2) 亀高德平, A. G. Perkin, *J. Chem. Soc.*, 97, 1414 (1910)
- 3) 黒田チカ, 日化, 51, 237 (1930)
- 4) T. R. Seshadri, *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc.*, 72, 77 (1956)
T. R. Seshadri, R. S. Thakun, *Current Sci., India*, 29, 57 (1960)
- 5) 盛 玲子, 家政誌, 26, 1598 (1975)
- 6) 片山倫子, 片柳 薫, 東京家政大学生生活科学研究所研究報告, 10, 40 (1987)