

# 天然および合成有機化合物の成分または色素の 分析に関する基礎的研究

## Basic Studies on Analyses of Natural and Synthetic Pigments and Compounds

赤池 照子・佐藤 雅, 宇高 京子, 卜部 澄子・松山 しのぶ,  
山口 功, 山本 良子

赤池, 山本らは, 上記のプロジェクト研究のテーマの中で, 天然色素の基礎的研究を分担した。これまで古代裂地の天然色素の分析を種々の方法で試みてきたが, いずれの場合も, 試料である古代裂地の非破壊の制約を受け, 十分な成果を得ることができなかった。そこで, 今回は反射・透過・蛍光分光スペクトル分析法を用いて, 試料の持っている色素を分子レベルで構造解析を行っている。すなわち日立社製U-6500型顕微分光光度計を用いて, 試料の微小領域の反射・透過・蛍光スペクトルを測定して得られたスペクトラムを標準スペクトラムと比較することにより, 試料に用いられた染料である色素の化学構造を解析しようとするものである。そこで今年度は, 実際の測定方法の確立のための予備実験を行っている。

宇高は, 胡麻(ゴマ)の13S-グロブリンに着目して, 胡麻のタンパク質を抽出, 分離, 分画, 精製中である。このタンパク質は, 大豆貯蔵タンパク質の一種である11S-グロブリンと, そのサブユニット構造がよく類似しており, 今後, 両者の構造や性質を比較検討して, 実験材料の貯蔵中に生成する各種有機化合物に対する13S-グロブリンの作用を生化学的に追究していくつもりである。

卜部らは, チューリップの花弁が持つアントシアニン系の色素であるデルフィニジンの紫外線による分解機構を経時的に解析し, 最終的

には, これらの色素の安定化を図ることを期待している。今回ここに発表される研究は, これとは別途に行った上記の各色素のレーキ化による安定化についてである。

山口は, アロエベラの葉肉中のゲル中に含まれている各主成分をn-ヘキサン, ベンゼン, クロロホルムおよびアセトンで抽出し, 抽出液の一部を日本電子社製DX-30型GC-MS装置に注入し, 測定された多数のマスマスペクトラムを解析することにより, 各種成分の化学構造を解析している。本年度中に, n-ヘキサンとアセトン抽出液から, 既知物質ではあるがアロエベラ中の成分としては初めての20数個の物質の化学構造が明らかにされた。今後, さらに新物質の検索を目指して研究を続ける所存である。

上記の四つの研究は, それぞれ異なった分野の研究ではあるが, 基礎的な方面に観点を絞り, その展開を期しているが, 例えば, 赤池, 山本の研究では, 古代染色布地の再現と修復, 古代染色技法の解明, 宇高には, 穀類の新しい貯蔵法の確立, 卜部らはアントシアニン系色素の工業的利用, 山口は, 新物質の発見と合成による新しい生理作用物質の提供など, 今後の発展が望まれる。(山口記)。

フラボノイド系色素の単離とその性質  
および応用に関する研究  
— 花卉色素のレーキ化 —

ト部 澄子 松山 しのぶ

緒 言

近年の天然指向をうけて、花卉色素の利用としてレーキ化実験を試みた。レーキとは、染色レーキともよばれるもので、水溶性の染料を適当な沈殿剤で沈殿固着し、水に不溶性の着色物をつくり出したものを、すべてレーキとよんでいる。例えば、黄色染料のオーラミンを水中でタンニン酸と吐酒石を反応させてつくったオーラミンレーキは、黄色の印刷インキとして使われ、メチルバイオレットに、りんタングステン酸を反応させてつくった沈殿は紫色で、インキや塗料、絵の具に用いられているような例が一般的である<sup>1)</sup>。

本実験は水溶性の花色素（アントシアニン）を、いくつかの沈殿剤でレーキ化する可能性を

しらべ、レーキ化が可能であれば、化粧品などへの利用を想定した。花色素で、古くから化粧品や食品の着色料などに利用されているものには、紅花色素のカルタミンがあるが、その他の花の色素を利用する例は見られない。

化粧品には昔から着色剤として、色々な染料、顔料が使われているが、化粧品は直接人間の皮膚に接触するので、公衆衛生上の見地から法的に規制があり、品目、規格、試験法、使用基準が定められている。染色レーキは54品目程あって、化粧品製造技術は進歩を続けている<sup>2)3)</sup>。

タール系合成色素は、色が鮮やかで着色力も大きく、肌への伸びが良好で、光、熱への安定性も良いので、天然色素でこれに対抗できるものが現在では見つかっていないので、化粧品への配合は困難であると思われる。しかし、タール系色素の発癌性が危惧されて、近年その規制が急に厳しくなり、天然色素の使用が相対的に実用化の圏内に入ってきている。また天然色素および無機顔料については、安全な色素であるというデータを提示すれば、企業の責任において配合が許可されている現状である。

表1 試料

名 称		品種名	花卉の色	入 手 先
ハイビスカス ( <i>Hibiscus Sabdariffa</i> L.)	萼の乾燥物	(栽培) (アオイ科)	濃赤紫色	中国紡織品進出口公司 (川鉄商事KK提供)(1991年4月)
カーネーション ( <i>Dianthus Caryophyllus</i> )	生花卉	コーラル (ナデシコ科)	真紅	市販品(1992年5月購入)
チューリップ ( <i>Tulipa Gesneriana</i> L.)	生花卉	タンパーメイト (ユリ科)	濃橙赤色	富山県砺波市花卉球根農協で 1991年5月 採取
オニゲシ ( <i>Papaver Orientale</i> L.)	生花卉	(野生) (けし科)	濃真紅	トルコ国チェシメ地方で採取 (1991年5月)
オニゲシ ( <i>Papaver Orientale</i> L.)	乾燥花卉	(野生) (けし科)	濃真紅	トルコ国イスタンブール市内 薬草店で購入(1991年5月) (当地でGelingikと称す)

実験方法

1. 試料

表1に試料の内容を示した。生花卉は冷凍乾燥機（OFD-2FS型、丘サイエンス）で凍結乾燥後粉末化して、冷蔵庫内に保管し、順次実験に使用した。

1-1. 色素の精製

乾燥花卉からの色素の単離精製は、図示の通りに行った。レーキ化の色素は予備実験の結果配糖体で行うことが良い条件であることが判ったので、色素は配糖体の形で用いた。下記はその精製法である。

色素の精製

乾燥花卉粉末を混合液（蒸留水45:酢酸5:エタノール50）で色素抽出

↓

ろ過

↓

ろ液をロータリーエバポレーターで乾固

↓

少量の蒸留水で溶解

↓

アンバーライトカラム流下  
（水溶性アントシアニン吸着）

↓

洗浄

↓

混合液で吸着アントシアニン溶解流出

↓

流出アントシアニン（配糖体）溶液乾固

↓

少量の蒸留水で溶解

↓

凍結

↓

凍結乾燥機で乾燥

↓

粉末化回収

↓

冷蔵庫内保存

1-2. 色素成分の同定

レーキ化の理論値は、色素当量と沈殿剤当量が同濃度、同量でレーキが生成されるので、色素の分子量をたしかめる為に、アグリコン本体と配位されている糖の同定を行う必要があり、次のように成分の同定を行った。

(1) ハイビスカス、カーネーション、オニゲシ、タンパーメイトの抽出アントシアニン配糖体を少量の水と20% HClで溶解し、直火で3分間Boilし、（加水分解）冷却後、イソアミルアルコールを加えて20時間10℃の環境におく。

(図1)

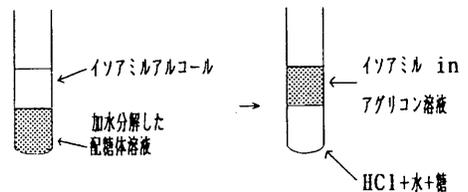


図1 アグリコンと糖の分離方法

(2) 展開溶媒による同定

1) アグリコン同定用展開溶媒

① Forestal…酢酸：塩酸：水

30 : 3 : 10

② FAW…80%ぎ酸：塩酸：水

5 : 2 : 3

2) 糖同定用

① n-ブチルアルコール：ピリジン：水

6 : 3 : 1

② n-ブチルアルコール：酢酸：水

4 : 1 : 2

③ 酢酸エチル：ピリジン：水

2 : 1 : 2

④ イソプロピルアルコール：ピリジン：酢酸：水

8 : 8 : 1 : 4

3) (1) で分離したアグリコン部溶液をキャピラリーでセルロース吸着剤薄層プレートにスポットし、(2) 1) の①、②の展開溶媒に浸漬、Rf値を求める。

4) (1) で分離した糖部溶液をキャピラリーで薄

層プレートにスポットし、(2)2)の①~④の展開溶媒に浸漬、Rf値を求める。

1-3. 同定結果

・ハイビスカス

色素：デルフィニジン+シアニジン

糖：キシロース、ガラクトース

・コーラル

色素：ペラルゴニジン

糖：ガラクトース(?)

・オニゲシ

色素：ペラルゴニジン+シアニジン

糖：ガラクトース

タンパーメイト

色素：ペラルゴニジン+シアニジン

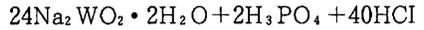
糖：グリコース+ラムノース

以上の結果が得られたが、糖部に更に有機酸等の結合が考えられるものがあり、正確な分子量の算出は困難であったため、ハイビスカス分

子量600、コーラル、オニゲシ、タンパーメイトを概算500として、計算し沈殿剤の濃度を決めた。さらに、アントシアニン本体の色相が赤色系であれば、赤色レーキが得られるとの仮定で実験を進めた。天然アントシアニンの本体の色相を図2に示した。

1-4. 沈殿剤の調整

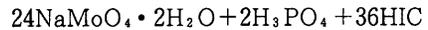
1) りんタングステン酸



タングステン酸ナトリウム	17.17g	} 8N
りん酸	0.29ml	
塩酸	7.7ml	
蒸留水	171.7ml	

タングステン酸ナトリウムに水171.7mlを加え、80°Cに昇温し、よくかきまぜる。この液中に所定量のりん酸および塩酸をかきまぜながら加え冷却する。冷却後全量を200mlとして、8Nの溶液を調整した。

2) りんモリブデン酸



モリブデン酸ナトリウム	12.59g	} 12N
りん酸	0.29ml	
塩酸	6.95ml	
蒸留水	125.9 ml	

モリブデン酸ナトリウムに水125.9mlを加えて80°Cに昇温し、よくかきまぜる。この液中に所定量のりん酸、塩酸を加えてよくかきまぜる。冷却後全量を200mlとして、12Nの溶液を調整した。

3) 塩化カルシウム : 11.099g / l = 1N

4) 硫酸アルミニウムカリウム

$$: 258.39\text{g} / l = 1\text{N}$$

2. 色素と沈殿剤の混合方法

色素溶液は、各pHによって変色するので、pHの変化で生成レーキに色相の差が出るか否かの結果を確かめるために次のように色素溶液と沈殿剤の混合方法をかえて実験を試みた。

1) 色素の規定度 : N/40~5N (7区)

沈殿剤の規定度 : N/10に一定

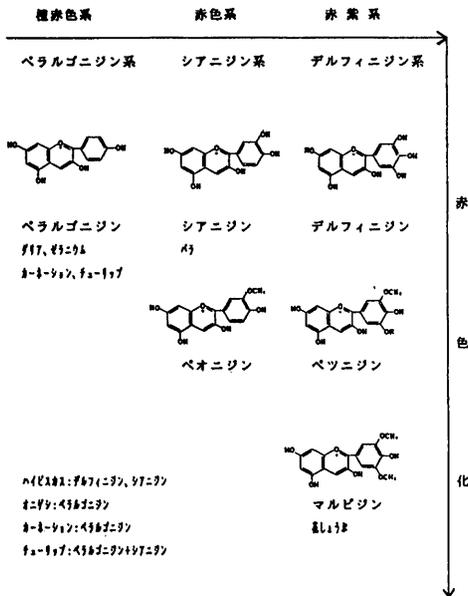


図2 アントシアニン色素の色相

- pH調整：1.0～5.0(5区)
- 2) 沈殿剤の規定度：N/40～5N(5区)  
 色素の規定度：N/10に一定  
 pH調整：1.0～5.0(5区)
- 3) 1), 2) の場合に色素溶液pHを調整して沈殿剤溶液を加える, 沈殿剤溶液のpHを調整してから色素液に加える方法を行う。
- 4) 沈殿剤溶液と色素溶液を混合し, 直ちにpH1.0～5.0(5区)に調整

なお, pH調整剤には塩酸, 酢酸, アンモニア水を用い, 上記65区の条件で色素と沈殿剤の各溶液を混合する際は, 色素と沈殿剤の同規定と考えられる混合比を理論値とし, これを中心に前後 3区づつを標準として試験区を定めた。混合後の液は24～48時間冷蔵庫内(10℃前後)に静置した。

### 3. レーキ化の確認

色素溶液と沈殿剤溶液を, 小ビーカーに入れよくかきまぜて冷蔵庫内に置いた試料液を, 硝子棒につけてろ紙上に一滴ずつスポットする。その後ろ紙を自然乾燥し, 次のようにレーキ生成状態を判定する。

- 硝子棒でスポットしたものが, そのまま滲まず止まっている…レーキ化良好
- スポットしたものが, 周囲にしみ出ている…レーキ化不良

### 4. レーキ生成量の測定

- 1) 桐山ロート用ろ紙の絶乾量をはかる。
- 2) 絶乾量のおかつろ紙を使って沈殿したレーキを桐山ロートでろ過収集する。
- 3) ろ過後ろ紙上のレーキは, 蒸留水でろ液の色がなくなるまで洗浄する。
- 4) ろ紙ごと乾燥, 秤量する。
- 5) 4) で得た重量から1)のろ紙絶乾量を差し引き生成レーキの正味重量を求めた。

### 5. レーキ電子顕微鏡写真

レーキ化された生成物を, 日立S-450形走査電子顕微鏡により写真撮影を行った。

### 結果と考察

#### 1. 色素と沈殿剤溶液の混合方法

図3.4に示すように色素溶液と沈殿剤溶液を混合する場合には, 沈殿剤溶液のpHを調整後, 色素液と混合するとレーキの生成が僅かに多いことが判った。

なお, 色素と沈殿剤溶液は混合後10℃前後の環境にそのまま静置する場合は, 2～3日の間では静置期間が長い程, 沈殿レーキの生成は多かった。

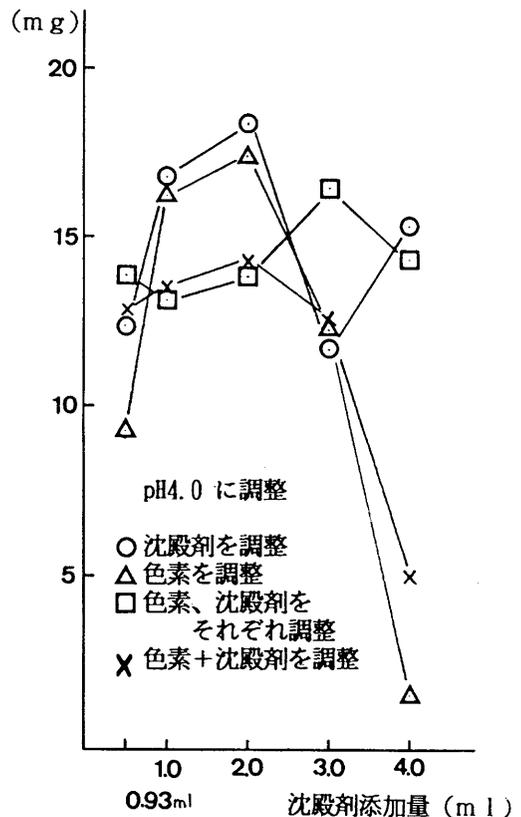


図3 色素、沈殿剤の混合方法によるレーキ生成状態 (pH4.0の場合)

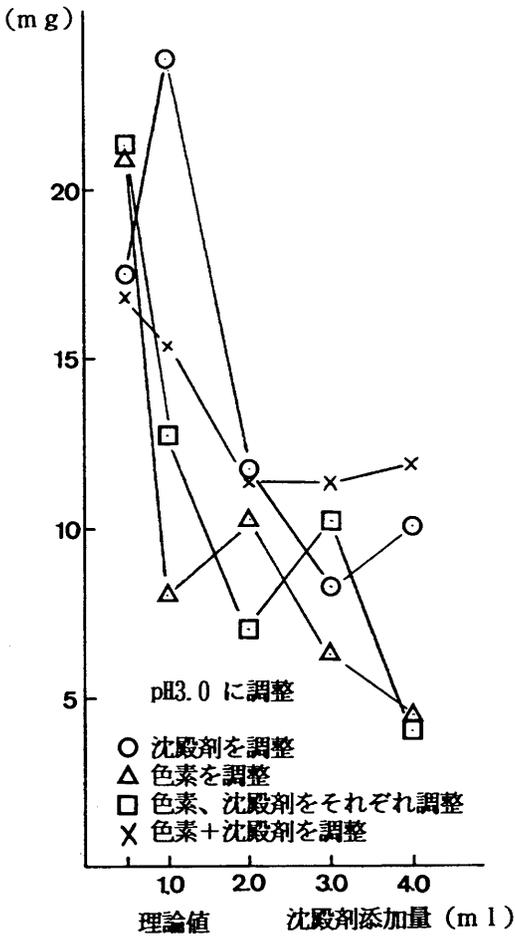


図4 色素、沈殿剤の混合方法によるレーキ生成状態 (pH 3.0 の場合)

2. レーキの生成は、色素溶液と沈殿剤溶液の混合比 (理論値) 附近ではほぼ多い生成量が見られたが、生成量の多いpHは、沈殿剤の種類によって異なった。

3. レーキ生成量

レーキ生成量の例を表 2 に示した。実験操作上の若干のミスも考えられ、また花卉色素の当量は概算であったために、レーキ生成量は計算値通ではなかったがほぼ理論値に近いところが

生成量が多かった。

4. 生成レーキの色相

表 3 にレーキの色相を示した。ペラルゴニジン色素本体に持つものはpHに関係なく赤味を帯びる色相のレーキを生成するが、いずれも色相は彩度が低く、くすむ中間色を示している。今回の実験では、沈殿剤がりんタングステン酸の場合は焦げ茶色系 (pH強酸性)、りんモリブデン酸では、色素が同じでも青色系のレーキとなり、pHは酸性であった。デルフィニジンを主成分に持つ色素の場合は酸性でも青～紫色系のレーキを生成した。

表 2 レーキ生成量 (例)

色素 (花卉)	沈殿剤	生成量 (mg)	pH
タンパーメイト	塩カルシウム	69.0	7.0
"	"	21.5	6.5
コーラル	"	36.1	5.3
"	"	26.2	5.7

\*・タンパーメイト色素本体

: ペラルゴニジン+シアニジン

・コーラル色素本体: ペラルゴニジン

・色素溶液濃度 5 規定, 沈殿剤溶液濃度 4 規定

4. 電子顕微鏡写真

写真 1. はレーキ化前の色素粉末で、なめらかな表面が見られる。レーキ化すると写真 2, 3 のように表面は岩状に凸凹状態を呈している。

ま と め

1. ハイビスカス (デルフィニジン+シアニジン配糖体) の色素からは、沈殿剤にりんタングステン酸を用いた場合に、明度、彩度の低い青色系の濃オレンジ味のレーキが生成された。

色素と沈殿剤は、同当量分混合の理論値近くで多くのレーキが得られ、pHが低い程レーキの採取量は多く色相は赤味を帯びた。

2. りんモリブデン酸, 硫酸アルミニウム, 炭酸カルシウムの場合は、レーキ生成物が少なく、炭酸カルシウムの場合は、特に不良であった。

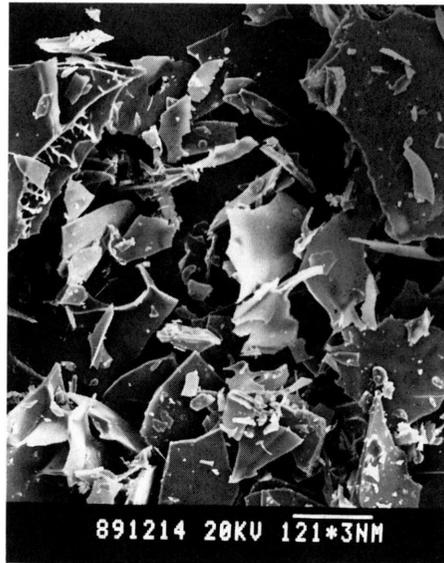


写真1 ハイビスカス配糖体 ×120



写真2 タンナーメイト  
塩化カルシウム ×1000

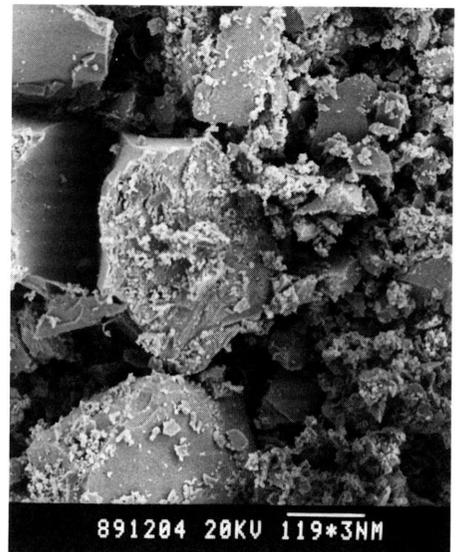


写真3 ハイビスカス  
りんタングステン酸 ×1200

3. コーラル（ペラルゴニジン配糖体）の場合  
は、沈殿剤はりんモリブデン酸と塩化カルシウムがレーキを生成しやすいことが判った。
4. オニゲシ（ペラルゴニジン+シアニジン配糖体）色素の場合は、沈殿剤はりんタングステン酸とりんモリブデン酸が適したが、レーキは色素成分のシアニジン配糖体の存在が原因と考えられるが、紫色系の色相であった。
5. タンパーメイト（ペラルゴニジン+シアニジン配糖体）色素の場合は、塩化カルシウムが適していたが、色素本体にシアニジンを持つために生成レーキの色は赤色ではなく紫色系であった。
6. 色素本体がpHで色相が変化するという性能をもつが、生成されたレーキの色も、色素本体の性能と同じ傾向であった。
7. 今後の課題として、生成レーキが赤色になる条件を追求すること、pHの違いによるレーキ生成量の変化を掴むことが必要と考えられ、されに生成レーキの光、熱、酸、アルカリに対する耐性の検討が必要と考えられた。

## 参 考 文 献

- 1) 中原勝儼, 色の科学, 培風館(1989) p115,116
- 2) 湯浅正治, 岡村みどり, 色材協会誌, Vol 50 [7] (1977) p32~37
- 3) 日本顔料協会編, 改定新版 顔料便覧, 誠文堂新光社 (1988) p250~253
- 4) 林 孝三, 増訂 植物色素-実験研究への手引き-, 養賢堂 (1988) p163

表3 生成レーキの色相

色 素	沈 殿 剤	レ ー キ 生成のpH	レ ー キ の 色 相		
			マンセル記号	主波長(nm)	色
ハイビスカス配糖体	硫酸アルミニウムカリウム	5.0	7.5PB・4.5/4.0	562(補)	藤色(中色)
コーラル	りんタングステン酸	1.0	9.25R・1.71/4.70	609	濃赤えんじ色
	塩化カルシウム	3.0	2.24YR・2.94/4.72	594	濃茶系赤色
オニゲシ	りんタングステン酸	1.6	9.14RP・2.29/3.16	498(補)	焦げ茶色
	りんモリブデン酸	2.2-3.8	5.43RP・2.08/1.42	502(補)	濃紺
タンパーメイト	塩化カルシウム	7.0	6.59P・3.63/2.47	559(補)	くすんだ藤色
	"	6.5	7.30P・4.23/1.71	558(補)	灰色味淡藤色
コーラル	"	5.3	0.77R・3.31/5.04	492.5(補)	パステル調小豆色
	"	5.7	9.55RP・3.21/3.60	493(補)	濃青味小豆色