

ホッコクアカエビの色素に関する研究

I. 色素の同定と含量

佃 信 夫

Studies on the Pigment of a Deep Sea Prawn, *Pandalus borealis* KRÖYER

I. Identification and Concentration of Pigments

NOBUO TSUKUDA

Abstract

1. Chromatographic separation of the pigments of *Pandalus borealis* was carried out as described by GOODWIN and SRISUKH (1949) and three fractions were obtained, namely, astaxanthin, astacene and a substance considered to be β -carotene. Most of pigment was esterified astaxanthin; the amount of astacene formed from astaxanthin after death was quantitatively scarce; and the concentration of β -carotene-like pigment seems to be low.

2. Concentration of astaxanthin was measured by using the value of $E_{1\text{cm}}^{1\%} (478\text{m}\mu) = 2.200$ for pure astaxanthin in acetone.

Usually more than 90% of the pigment was contained in exoskeletons, but the pigment concentration was observed to have a wide variation, such as 6.6 to 16.0mg%, between individuals. In the muscle, astaxanthin was quantitatively scarce, being observed only in the epidermis.

I. 緒 言

KUHN and SÖRENSEN (1938) によつて甲殻類にみられる赤色はアスタキサンチンによるものであることが証明され、それまで赤色の本体とされていたアスタシンは死後における酸化生成物であろうと推定された。その後、BLIGH and DYER (1959), BAALSRUD (1956) は着色したタラの筋肉から色素を分離し、その大部分がアスタキサンチンであることを明らかにし、また金光・青江 (1958a) はサケ肉の色素を分離検索した結果、アスタキサンチンのみであつたことを報告している。

以上のようにアスタキサンチンは水産動物中に広く含有される色素であり、ホッコクアカエビについても、赤色の本体はアスタキサンチンと思われるが、他の色素との混在の程度や含量については明らかでない。また、漁獲直後のホッコクアカエビは鮮明な緋赤色を呈しているが鮮度の低下とともに褪色が著るしく、黒変の現われる以前に褪色が始まり、オレンジ赤色から黄色がかつたバラ色へと変色し、とくに水温の高い時期には揚網直後においてもすでに一部に

褪色が認められ、商品価値をはなはだしく低下させている。

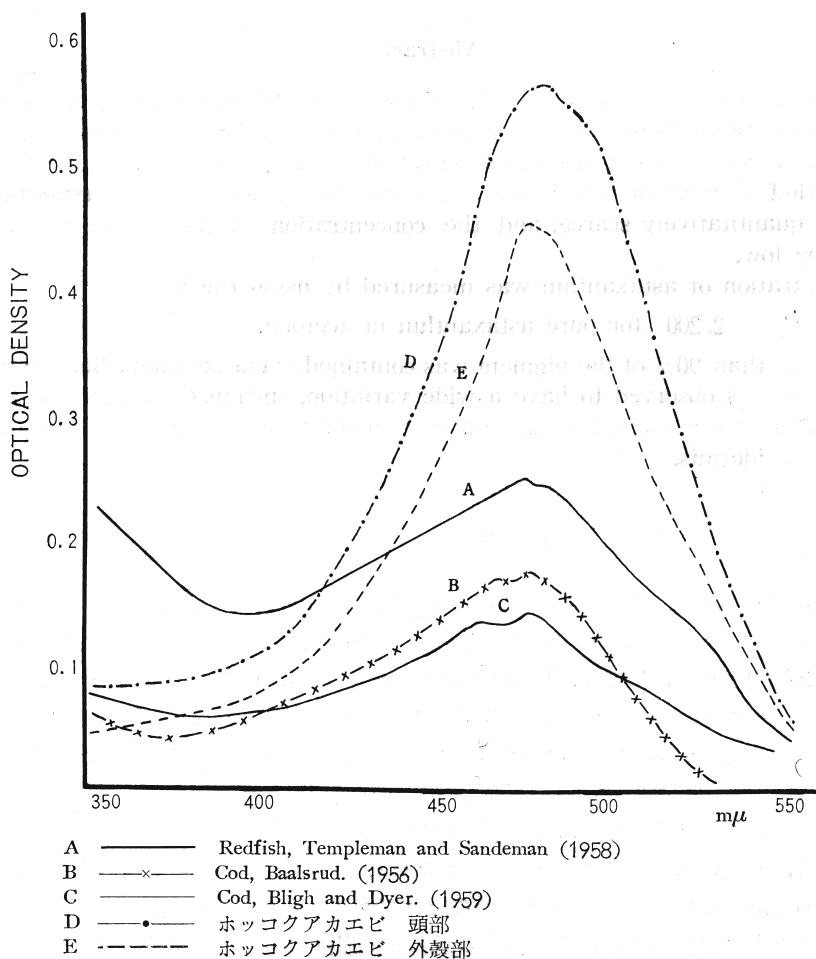
この褪色の原因や機構を明らかにし、さらには褪色防止のための基礎的資料を得る目的でこの研究を実施した。

Ⅱ. 実験の材料と方法および結果

1. 色素の分離と同定

漁獲後5～10時間を経過した新鮮なホッコクアカエビを入手し、直ちに頭部および甲殻部を分離して無水硫酸ナトリウムで磨細し、アセトンを加え攪拌し、色素がほとんど抽出されなくなるまで繰返す。この色素抽出液を減圧濃縮し、最後に再び無水硫酸ナトリウムで脱水して濾過する。得られた色素濃縮液をアセトンで稀釈した液の吸光曲線を測定し、第1図に示す結果を得た。

第1図の結果から色素のアセトン溶液中における吸収極大値は476m μ に認められ、その他の吸収は認められなかつた。金光・青江(1958a)、GOODWIN・SRISUKH(1949)によれば、アスタキサンチンのアセトン溶液中における吸収極大値は475～477m μ であり、この実験の結果と



第1図 ホッコクアカエビの色素のアセトン溶液中における吸光曲線

一致する。したがって、ホッコクアカエビにおいても赤色の本体はアスタキサンチンによるものと思われる。

2. 色素のクロマトグラフによる分別

上記の結果をさらに精査する目的で抽出色素のクロマトグラフ分別を実施した。すなわち、新鮮なホッコクアカエビ約1kgを入手し、その外殻を分離して(1)の実験と同様に色素をアセトンで抽出し、減圧濃縮して溶剤を完全に溜去した後、色素を石油エーテル (B. P40 ~ 50°C) に移行させる。この色素液の少量を採取し、90%メタノールを加えて分配試験を行なつたところ、色素のほとんどは石油エーテル層に存在し、メタノール層には移行しない。この事実は、金光・青江 (1958a), BLIGH・DYER (1959), GOODWIN・SRISUKH (1949) 等の所見と異なり、ホッコクアカエビの赤色素は遊離型ではなく、エステル型として存在するのではないかと考えられる。

分配試験を行なつた残り全部の色素についてさらにクロマトグラフ分別を実施した。方法はGOODWIN・SRISUKH (1949) の方法に準じ、メタノール中に懸濁して後、室温で風乾したブロックマンのアルミナを吸着柱に充たし、色素の石油エーテル溶液を滴下せしめた。この操作により色素の大部分はカラムの先端部につよく吸着された。つぎに2%アセトン石油エーテル溶液で展開すると、カラムは徐々に2層に分離し、微量の淡黄色液を流出した(これをF1とする)。ついで、2%氷醋酸・95%エタノールで展開を続けると、濃厚な緋赤色液(主吸着部)が流出した(F2)。最後に2.5%水酸化カリウム・95%エタノールで展開すると、淡紫赤色液を流出し、全色素の流出は完了した(F3)。

このようにして得られたるフラクションについて分配試験および吸光曲線を測定した結果、F1は450~454、および475~480m μ に吸収極大値を有し、90%メタノールに溶解せず、石油エーテル・90%メタノールで分配試験を行なうと完全に石油エーテル層に移行する(epiphasic)。これらの事実からF1は β -カロチンではないかと思われるが、微量のためこれ以上の検索は不可能であつた。

F2は鮮明な濃緋赤色を呈し、色素のほとんど大部分を占め、ホッコクアカエビの赤色素の本体と見なされる部分である。この吸収極大値は石油エーテル中468 \pm 2m μ であり、他に吸収は認められない。よつてF2はアスタキサンチンであることを確認した。さらにF2をメタノール・ベンゼンから再結晶を行なつて純化した試料について、各種溶剤中における吸収極大値を測定したところ第1表に示すような結果を得た。

この結果によれば、著者の得た測定値は文献値とほぼ合致するが、やや短波長(2~3m μ)

第1表 ホッコクアカエビ色素の各種溶剤中における
吸収極大値(主吸着部)

溶 剤	ホッコク アカエビ (F 2)	アスタキ サンチン * I	アスタキ サンチン * II	エステル結合 アスタキサン チン * II	アスタシン * I
n-ヘキサ ン	—	471	470	467~8	477~8
石油エー テル	468	470~1	470	—	476~7
アセトン	475	477	475	—	483
ベンゼン	485	488	—	—	494~5
ピリジン	—	492	490~1	488	497

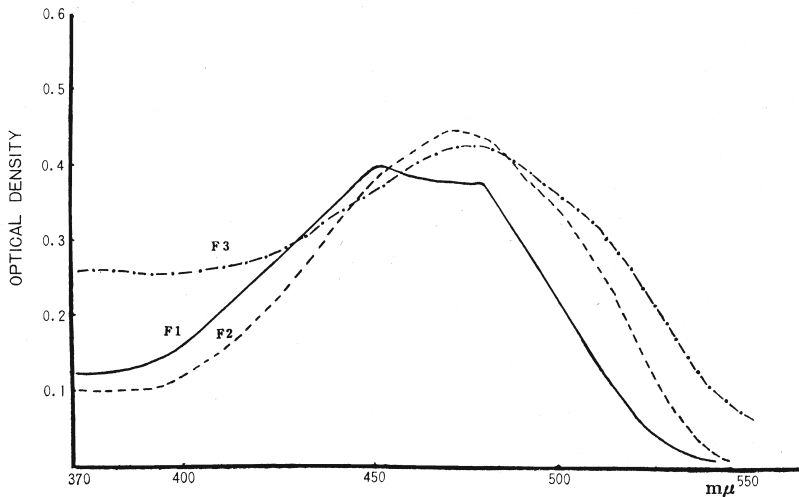
* I 金光・青江 (1958a)

* II Goodwin and Srisukh (1949)

側にずれているようである。また、石油エーテル・90%メタノールで分配試験を実施すると、色素のほとんどは石油エーテル層にあり、遊離アスタキサンチンの特性である hypohasic は認められなかつた。以上の結果からホッコクアカエビの色素の大部分はエステル結合アスタキサンチンと考えられる。

F3の溜分は吸収極大値を475m μ に有する単一のバンドを示し、分配試験によれば、メタノール層に移行することからアスタシンに相当する。すなわち、F3の色素は遊離のアスタシンと考えて差支えないであろう。しかし、既往の研究によれば、アスタシンは海産生物の生体中には存在せず、生物の死後アスタキサンチンから生ずるといわれる。よつて、この実験におけるF3の色素は何等かの過程においてアスタキサンチンの一部が酸化して生成したものと考えられる。

以上のクロマトグラフ分別の結果についてとりまとめたのが第2図と第2表である。



第2図 クロマトグラフ分別により得られたる成分の石油エーテル溶液中における吸光曲線

第2表 色素のクロマトグラフ分別結果

区 分	色 調 (石油エーテル)	吸収極大値 (石油エーテル)	分配試験 (90%メタノール)	同 定
F. 1	淡 黄	450 ~ 454 475 ~ 480	石油エーテル	β -カロチン?
F. 2	濃 緋 赤	468	石油エーテル	アスタキサンチン
F. 3	桃 赤	475	メタノール	アスタシン

3. アスタキサンチンの含量について

ホッコクアカエビの色素のクロマトグラフ分別の結果、色素の大部分がアスタキサンチンであり、混在する他の色素は極微量にすぎなかつた。また、2次的に生成されると考えられるアスタシンについても、新鮮な試料について酸化を極力さけつつ操作すれば、抽出色素のほとんどはアスタキサンチンからなると考えられるので、アスタキサンチンの吸収極大値を利用する全色素量の測定が可能である。金光・青江(1958a)によれば、結晶アスタキサンチンのアセトン溶液中における吸収極大値は477m μ であり、その波長における吸光系数 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ は2.200であつたと報告している。よつて、 $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2.200$ の数値からホッコクアカエビの色素含量を測定した。

定量方法

新鮮な試料を入手し、頭部、脚、尾部、触角を含む殻部と筋肉部分に分ち、無水硫酸ナトリウムで磨細し、アセトンを加えて色素の抽出されなくなるまで6~7回抽出を繰返す。これら抽出液全量をNo.3ガラスフィルターで濾過し、濾液を濃縮または稀釈して一定量とする。この色素溶液について直ちに吸光度を測定し $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2.200$ の数値からアスタキサンチンの含量を算出した。

上記の方法によるホッコクアカエビのアスタキサンチンの含量を第3表に示した。

第3表 個体別アスタキサンチン含量

体 重	外 殻 部	筋 肉 部 (含 表 皮)	アスタキサンチン 外 殻 部	アスタキサンチン 筋 肉 部
16.9 g	9.0 g	7.9 g	13.4 mg%	0.86 mg%
18.5	10.7	7.8	10.1	0.82
14.6	7.6	6.9	16.0	1.16
11.1	6.0	5.1	12.1	1.45
13.8	8.0	5.8	10.2	1.02
18.3	10.3	8.6	6.7	0.69
12.5	7.0	5.5	8.5	1.12
15.6	9.4	6.2	7.6	1.77

第3表の結果から、色素含量は体重の大小には関係なく、相当な個体差が認められ、変動巾は外殻の部分で6.7~16 mg%，筋肉部分では0.69~1.77 mg% となっている。

Ⅲ. 考 察

1. 色素の本体について

ホッコクアカエビの色素を抽出し、クロマトグラフ分別をこころみた結果、カラムは3層に分別された。その各々を溶出し吸光曲線を測定したところ、アセトン溶液中で450~454 mμと475~480 mμに吸収極大値を有する淡黄色々素 (F1) と、468 mμに吸収極大値を有する濃緋赤色々素 (F2) および475 mμに吸収極大値を有する桃赤色々素 (F3) の3フラクションを得た。これらの3色素について吸光曲線を測定し、また、分配試験を行なった結果、F1については、β-カロチンではないかと考えられたが、微量なためそれ以上の同定はできなかつた。したがって、β-カロチンあるいはその類似物質が生体中に常在するものであるかどうかは不明である。

F2は主吸着部であり、吸収極大値は468 mμでアスタキサンチンとほぼ一致する。また、分配試験の結果はepiphasicであり、これまでの文献によると、アスタキサンチンの多くは、遊離型として存在するようであるが、ホッコクアカエビでは特異的にエステル結合アスタキサンチンを含有するものと思われた。この点をさらに確認する目的で、ズワイガニの甲殻色素を抽出して分配試験を行なったところ、ズワイガニの色素はメタノール層に移行した。さらに吸光曲線の測定結果から、ホッコクアカエビの色素は、ズワイガニの色素よりも1~2 mμ短波長側に

吸収極大値がずれているようであつた。これらの点は KUHN・SÖRENSEN (1938) の指摘するエステル結合アスタキサンチンの所見と一致する、また、鹼化処理により F2 区分は 90% メタノールに溶解する。以上の結果からホッコクアカエビの色素の大部分は、おそらくエステル結合アスタキサンチンであろうと考えた。

F3 は吸収極大値を 475m μ に持ち、アスタシンと考えられる。しかしながら、アスタシンは前述のように、動物の死後アスタキサンチンから変化生成されるものとすれば、ここに得られた色素も、死後に生成されたか、あるいは、操作中に酸化生成されたかのいずれかと考えられる。金光・青江 (1958a) はイセエビやサケ類の赤色素を分析した結果、アスタシンは存在せず、アスタキサンチンのモノ、シス異性体であろうとのべているが、この実験の F3 については吸収極大値がアスタキサンチンより約 5m μ 長波長側にずれ、アスタシンとはほぼ一致した値を示すので、アスタシンと考えられる。

いずれにしても、ホッコクアカエビの色素は大部分がエステル結合アスタキサンチンであろう。

2. アスタキサンチンの含量について

第 3 表に示すように色素の大部分は外殻部に存在している。筋肉部には表皮にのみ存在して肉質中にほとんど認められない、また、外殻部の色素含量には大巾な個体差がみられるので、時期別、漁場別、個体の大小等による差は不明である。しかし、サケ筋肉中における含量 (金光・青江, 1958b), すなわち、ベニザケでは 2.5~3.8mg%, シロザケでは 0.70~0.84mg% と比較すると、ホッコクアカエビ外殻中のアスタキサンチンの含量はいちじるしく高濃度のものと考えられる。

IV. 要 約

1. ホッコクアカエビの色素を抽出し、クロマトグラフ分別を実施した結果、生体中の色素の大部分がエステル結合アスタキサンチンであることを認めた。なお、このほかに微量の β -カロチンと思われる色素と、少量のアスタシンを検出したが、これらの色素が生体中に常在するものかどうかは不明であり、とくにアスタシンは死後に生成されたものと考えられた。

2. アスタキサンチンの含量を測定した結果、ホッコクアカエビの外殻部に色素の大部分が存在するが、個体差が大きく 6.6~16mg% の範囲にあつた。また、筋肉部の色素は表皮にのみ存在し、その含量も 0.69~1.77mg% であり、外殻部に比していちじるしく少量であつた。

文 献

- BAALSRUD, K. (1956). Astaxanthin in the Muscle of Cod. *Nature*, 178: 1182~1183.
- BLIGH, E. G. and DYER, W. J. (1959). Orange-red Flesh in Cod and Haddock. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 16: 449~452.
- GOODWIN, T. W. and SRISUKH, S. (1949). Some Observations on Astaxanthin Distribution in Marine Crustacea. *Biochem. J.*, 45: 268~270.
- 金光 庸俊・青江 弘 (1958a). サケ・マス類のカロチノイド系色素の研究—I 筋肉色素の同定. 日水会誌, 24 (3): 209~215.
- (1958b), サケ・マス類のカロチノイド系色素の研究—II 筋肉色素の定量,

日水会誌, 24 (6~7) 555~558.

KUHN, R. and SÖRENSEN, N. A. (1938). *Z. angew. chem* 51, 465.

TEMPLEMAN, W. and SANDEMAN, E. J. (1958). Red Flesh in Redfish, *Sebastes marinus* (L.) *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 15: 695~700.