



Title	高圧口紙電気泳動法による水溶性タール色素の分析に関する研究
Author(s)	寺島, 敏雄
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29278
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

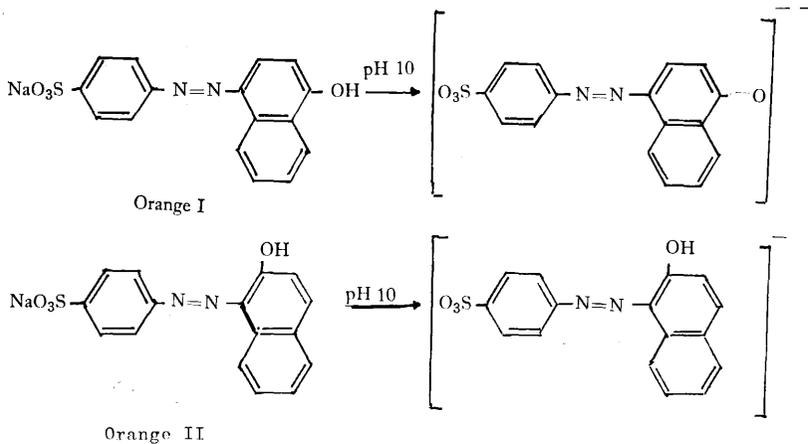
氏名・(本籍)	寺 島 敏 雄 てら しま とし お
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 1043 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 11 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	高圧口紙電気泳動法による水溶性タール色素の分析に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 川崎近太郎 (副査) 教 授 犬伏 康夫 教 授 青木 大 教 授 榊井雅一郎

論 文 内 容 の 要 旨

I. 水溶性タール色素の化学構造と泳動との関係

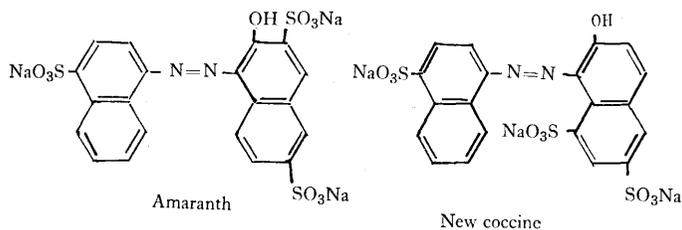
著者は高圧口紙電気泳動法を色素の同定および色素に付随する副色素の検出に応用する目的で本研究を行ない、まず水溶性タール色素72種について、電解液に5N酢酸、0.1N水酸化ナトリウムおよびpH 10のホウ酸塩緩衝液を用いて電圧50V/cm、泳動時間30分の条件で本法を実施した。その際電解液に10%の割合にプロピレングリコールをまぜることにより、鮮明な泳像と比較的再現性のある泳動値を得た。またその泳動結果から、色素の化学構造と泳動との間には密接な関係があることを知った。その主要点はつぎのとおりである。

1. -OH基の位置と泳動との関係



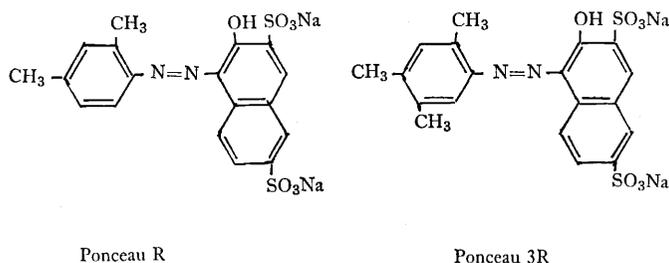
たとえば Orange I と Orange II のカップリング成分としての 1-naphthol と 2-naphthol の相違はアルカリ性における 1-naphthol のイオン化として現われるが、2-naphthol の $-OH$ 基は分子内水素結合のためイオン化しにくいので、両者の泳動値の相違はアルカリ性電解液（たとえば pH10 のホウ酸塩緩衝液）で顕著に認められ、Orange I の泳動値は Orange II のおよそ 2 倍となり、同時に Orange I はだいたい色から赤色に変色する。このような現象は前記の色素に限らず、1-naphthol をカップルした多くの色素、または phenol 性 $-OH$ 基を持った色素にも見られる。

2. $-SO_3H$ 基の数および位置と泳動との関係



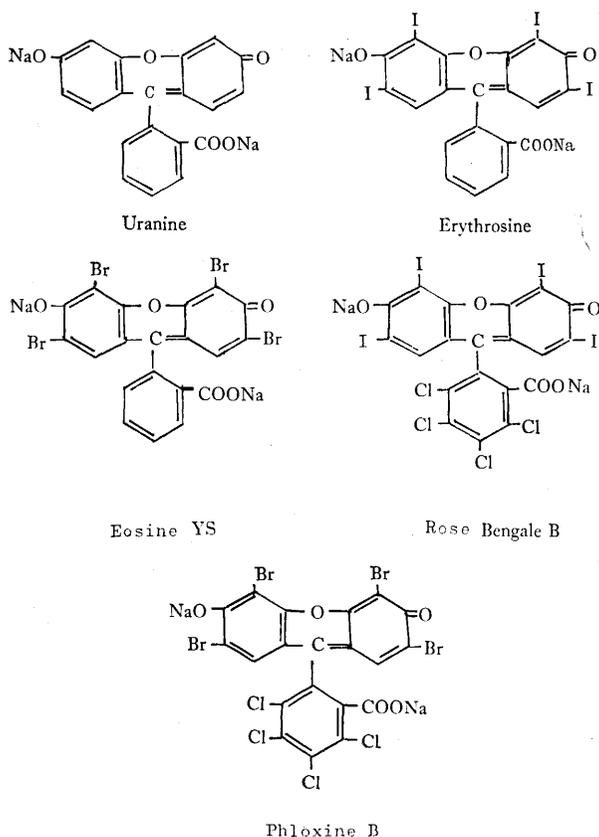
$-SO_3H$ 基の数の増加は当然アニオンの電荷が増すので、泳動値を大にするが、数が同一の場合でも位置の相違により泳動値に大きな差を生ずる場合がある。たとえば Amaranth と New Coccine はそのカップリング成分として 2-naphthol-3, 6-disulfonic acid (R acid) と、2-naphthol-6, 8-disulfonic acid (G acid) の相違があるが、その泳動値は New Coccine の方が大であって、 $-SO_3H$ 基の位置は $-OH$ 基に隣り合って存在するよりも離れて存在する方が泳動値を大にするものと考えられる。このような例は Amaranth と New Coccine の場合に限らず、R acid と G acid をカップリング成分とする種々の色素に例外なく見られる。

3. $-CH_3$ 基と泳動との関係



$-CH_3$ 基は electron releasing group としての特性を示して泳動値を低下させるものと考えられ、 $-CH_3$ 基の数に相違のある Ponceau R と Ponceau 3R は口紙クロマトグラフィーでは分離が困難であるが、本法により始めて完全な分離が可能となる。

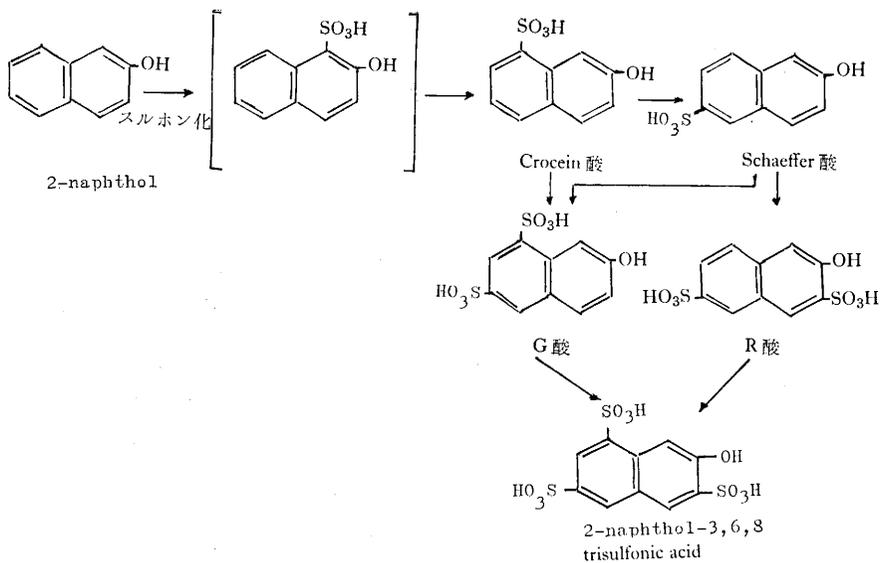
4. ハロゲンと泳動との関係



ハロゲンの種類，数および位置が泳動におよぼす影響は水溶性の Fluorescein (Uranine) に種々のハロゲンを導入した Xanthene 系色素に顕著に認められる。すなわちハロゲンの種類および数が単に分子量の増加として泳動値を減少させる以外に，ハロゲンの位置が $-\text{COOH}$ 基に隣り合った場合は，いわゆるオルト効果として $-\text{COOH}$ 基の解離度を増大させるので逆に泳動値を大にする。すなわち Uranine の tetraiodo-置換体である Erythrosine, tetrabromo-置換体である Eosine YS は共に Uranine より泳動値を減じ，しかも分子量の大きな I 置換体の Erythrosine が最小であるが，Tetrachlorofluorescein の tetraiodo-置換体である Rose Bengale B と tetrabromo-置換体である Phloxine B は Cl のオルト効果のため泳動値が増大してきて， $\text{Phloxine B} > \text{Rose Bengale B} > \text{Eosine YS} > \text{Erythrosine}$ の順となる。

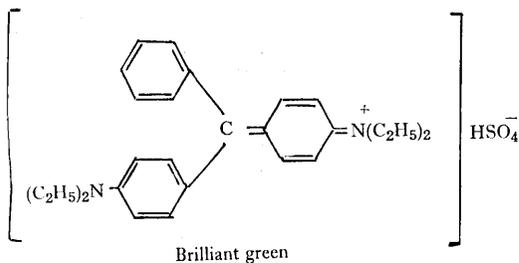
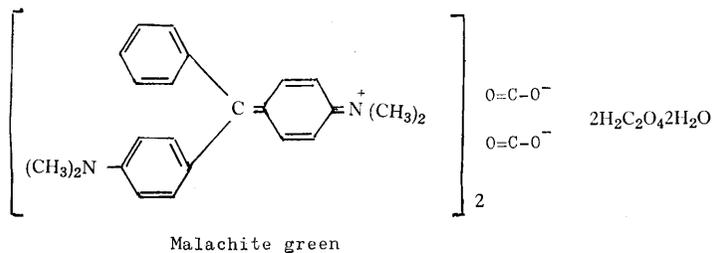
II. 高圧口紙電気泳動法を応用した副色素，副生物の分離

1. Orange I に付随する副色素 ($-\text{OH}$ 基の位置と泳動との関係の応用)

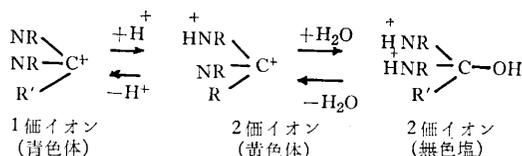


重要な色素中間体である R 酸, G 酸, Schaeffer 酸を製造するには前記のとおり 2-naphthol のスルホン化によるが, この際種々の異性体の副生は避けられない。著者はさきに $-\text{SO}_3\text{H}$ 基の位置の相違が泳動値に影響を与えることを明らかにしたので, 従来分離が困難とされる R 酸と G 酸を始めとし, 数種のナフトールスルホン酸類につき, 口紙電気泳動による分離を試みた。その結果 $-\text{SO}_3\text{H}$ 基の位置の異性体も適当な pH 緩衝液を電解液とすることにより容易かつ完全に分離できることがわかった。そこで市販の R 酸, G 酸, Schaeffer 酸につき pH 10 のホウ酸塩緩衝液を電解液として 75 V/cm, 10分泳動させ, 夾雑するナフトールスルホン酸類を分離後, 各分別帯を直ちに湿ったまま切り取り抽出し比蛍光定量することにより, 主成分および副生物の分離定量を行なった。

4. Malachite Green と Brilliant Green の相違点 (alkyl 基と泳動との関係の応用)



Malachite Green と Brilliant Green は構造の極めて類似した塩基性色素で、単に dimethylamino 基と diethylamino 基の相違があるだけであるが、5 N 酢酸を電解液として常法どおり口紙電気泳動すると、両者には明らかな相違が認められる。すなわち Malachite Green は -3.5 cm, Brilliant Green は -3.1 cm の泳動値を得るが、Brilliant Green の場合に限り、泳動後口紙を風乾するか、温めて溶媒を揮散させると -5.6 cm の個所に次第に青緑色の色素帯が現われ、あたかも 2 種の色素の混合物のような現象を呈する。しかもこの 2 帯の色素帯から抽出して得られる色素は何れも Brilliant Green そのものであることが明らかとなったので、前記の現象は Brilliant Green が酸の作用を受けて、つぎのように protolysis および hydrolysis を生じたためと考えられる。



しかも 5N 酢酸を電解液として本法を行なった場合 Brilliant Green にのみこの現象が見られ、Malachite Green に見られないのは、dimethylamino 基と diethylamino 基の塩基性の強弱によるものであることを明らかにした。

III. 本法と口紙クロマトグラフィーを併用した色素の系統的分離法と加工食品中の色素検査への応用

高圧口紙電気泳動法によって水溶性色素がその化学構造に応じた個有の泳動を示し、鮮明な泳像が得られることが分かったので、本法を食用色素の分離確認法に応用するため、主要国で許可された食用色素 36 種を試料として本法を実施し、公定試験法である口紙クロマトグラフィーの結果と比較検討した。その結果本法による分離状態は分配型口紙クロマトグラフィーとは異なり、非分配型口紙クロマトグラフィー（たとえば 25% アルコール : 5% アンモニア水 = 1 : 1）の展開像に似ていることを認めしたが、それよりテーリングが少なく、分離も良く、まさっていると思われたので、本法と口紙クロマトグラフィーを併用した食用色素の系統的分離法を提出した。

またこの分離法を加工食品中の色素の同定に応用して、市販の加工食品の色素の調査を行なった。

結 論

本研究の知見より本法の口紙クロマトグラフィーに比して利点と思われるところを結論的に述べるとつぎのとおりである。

(1) 水溶性タール色素の持つイオン解離基の特長が鋭敏に泳動の結果として現われ、しかも高圧口紙電気泳動法ではバンドの狭い鮮明な泳像が得られるので、構造の近似した色素間の分離には口紙クロマトグラフィーに比して、より鋭敏な分離能を示すことがしばしばある。たとえば Ponceau R と Ponceau 3R の分離、Orange II と 2-p-sulfophenylazo-1-naphthol の分離、R 酸と G 酸の分離などである。

(2) 色素のイオン解離状態がそのまま泳動の結果に示されるので、泳像から逆にその構造上の特長を類推することができる。たとえば Brilliant Green が酸性電解液で 2 種のイオンとしての泳動を示

すのは、電解液中で2種のイオンとして解離していることを示しているし、Violamine R が酸性電解液で原点に止るのも、base の monosulfonate であることを示している。その他塩基性色素が陰極に向って泳動し、また両性の性質を示す色素が酸性電解液で陰極に、アルカリ性電解液で陽極に向って泳動するのは、本法のロ紙クロマトグラフィーには見られない特長である。

(3) 本法がロ紙クロマトグラフィーに比して短時間で処理できる利点は、結果の判定に便利であるばかりでなく、短時間に分解あるいは変質しやすい物質の取扱いに好都合である。たとえばナフトールスルホン酸類の蛍光はアルカリ性で次第に減少するので、比蛍光定量を行なうには分離操作はできるだけ短時間に行なわねばならない。この点で本法は分離操作はきわめて短時間で完了するので最適である。

以上のように本法は多くの利点もあるので、試験法としても活用し得ると考える。

論文の審査結果の要旨

本研究は水溶性タール色素の微量確認法として高圧ロ紙電気泳動法の応用を研究し、従来使用されたロ紙クロマトグラフィーに比し利点のあることを確認した。色素の持つ $-OH$ 基、 $-SO_3H$ 基、 $-CH_3$ 基、ハロゲン基と泳動との関係を明らかにし、ロ紙クロマトグラフィーで分離不可能な副色素の分離ならびに定量法を案出した。市販色素オレンジ I, ピオラミン R, ナフトールスルホン酸類中に夾雑する副色素を明らかにし、ブリリアントグリーンの泳動像の解明を行なった。高圧ロ紙泳動法は短時間に処理でき鮮明な泳像の得られる点を利用し、ロ紙クロマトグラフィーと併用して食用色素の系統的分離法を考案し、加工食品中の色素の分離同定に適用できることを実証した。本研究は食用色素の分析法として重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。よって本研究者は薬学博士の学位を得る資格があると認める。