



XAFS を用いた加熱野菜中 Ca 配位の解析 -クロロフィル退色抑制剤の作用機序解明を目指して-

勝野那嘉子¹, 右田悠乃², 末廣大樹³

1 岐阜大学応用生物科学部, 2 岐阜大学大学院自然科学技術研究科, 3 サンエイ糖化株式会社

キーワード：XAFS, 茹で野菜, カルシウム, クロロフィル

1. 測定実施日

2024年8月6日 BL5S1 (2シフト)

2024年11月26日 BL5S1 (2シフト)

2. 概要

近年、中食市場の拡大に伴い、調理済み野菜の需要が高まっている。緑色野菜は、栄養的観点以外にも彩を付与する素材として用いられている。この緑色野菜の色である緑色は、植物細胞中のクロロフィルによるものであり、熱に弱く調理加工後は容易に退色する。退色抑制効果を示す食品素材の一つにマルトビオン酸 Ca (MACa) がある。MACa 溶液で茹でる、または茹で調理後に MACa 溶液に漬け込むことで退色が抑えられることが経験的に知られている。しかしその作用機序は不明である。そこで本研究では、マグネシウムが脱離したクロロフィルにカルシウムイオンが配位し、色調が保たれると予想し、XAFS 測定により、カルシウムの配位状態を明らかにすることを目的とした。

MACa 溶液と蒸留水でブロッコリーを 5 分から 15 分間茹で、供試試料とした。また、ブロッコリーから脂溶性色素を ODS を用いて分離した色素エタノール溶液を試料とした。色素の定量は HPLC にて行った。Ca-K 吸収端の XAFS 測定から、MACa として添加したカルシウムの化学状態や配位状態の解析を行った。MACa 溶液中のカルシウムと酸素原子の配位数および結合距離は 6.6 および 2.46 Å であった。カルシウムと配位元素の結合距離からブロッコリー内部に浸透したカルシウムはクロロフィルのポルフィリン環の中心に直接配位結合していないことが明らかになった。Edge step 値から、MACa 溶液でブロッコリーを茹でると 10 分でブロッコリー内部のカルシウム濃度が最も高くなり、それより長くゆでるとカルシウム濃度が減少することが示唆された。茹で時に MACa を添加することで、ブロッコリー中のカルシウムの配位数が高くなることが明らかになった。

3. 背景と研究目的

緑色野菜の緑色の成分であるクロロフィルは熱や光に弱く、加熱加工や店頭での蛍光灯照射により容易に退色する。退色すると品質が悪くなり、食品廃棄につながるため、クロロフィルの退色抑制は賞味期限の延長と廃棄量削減のために重要な課題となっている。先行研究において、申請者らの研究グループは、MACa 添加すると茹で野菜の退色が抑えられることを明らかに

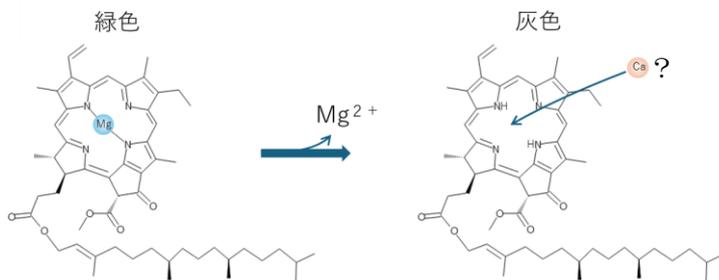


図1 クロロフィルの退色とマグネシウムの脱離

している。しかし、その作用機序は不明である。これまでの研究から 2 価の陽イオンのマルトビオン酸塩を添加すると退色が抑えられたことから、ブロッコリー加熱時にマグネシウムが脱離したポルフィリ

ン環の中心に二価の陽イオンが配位することで、クロロフィルの退色が抑えられると予想した。そこで、本研究では、XAFS測定を用いて、ブロッコリー中のカルシウムイオンの存在状態を明らかにすることを目的とした。

4. 実験内容

ブロッコリーから花蕾部分のみを切り出し、蒸留水またはMACa溶液で5分から15分間茹で、蒸留水で10回洗浄したものを試料とした。また、葉緑体以外の組織へのカルシウムの結合と比較するため、クロロフィルをほとんど含まない茎の中心部分を5mm角に切ったものを花蕾と同様に茹で、洗浄したものを試料とした。さらに細胞壁や有機酸などの水溶性成分と色素を分けるため、ODSを用いて分画し、色素の入ったエタノール溶液を得た。また、ポルフィリン環に亜鉛が配位結合しているものを比較として用いた。これらをポリエチレン製の袋に入れ、XAFS測定用の試料とした。Ca-K吸収端のXAFS測定はあいちSRのBL5S1で、蛍光法を用いて行った。

5. 結果および考察

初めにEdge step値から、花蕾内部のカルシウム濃度の比較したところ、蒸留水で茹でると茹でる前のものと変わらないが、MACa溶液で茹でると茹で時間10分で花蕾内部のカルシウム濃度が最も高くなった。このことは、MACa添加による緑色色素減少抑制効果が10分の茹でで最も高く得られることと一致していた。15分の茹でではEdge step値が減少に転じていた。これは茹で時間が長くなるに従い組織の軟化が生じるため、内部のカルシウムが流出したことによると考えられた。

次にMACa溶液のXAFS測定およびEXAFS領域の解析を行ったところ、MACa溶液中のカルシウムイオンは酸素原子と配位数および結合距離は6.6および2.46Åで配位していた。続いて、茹で花蕾サンプルの測定および解析を行った。図2はMACa溶液、茹で花蕾

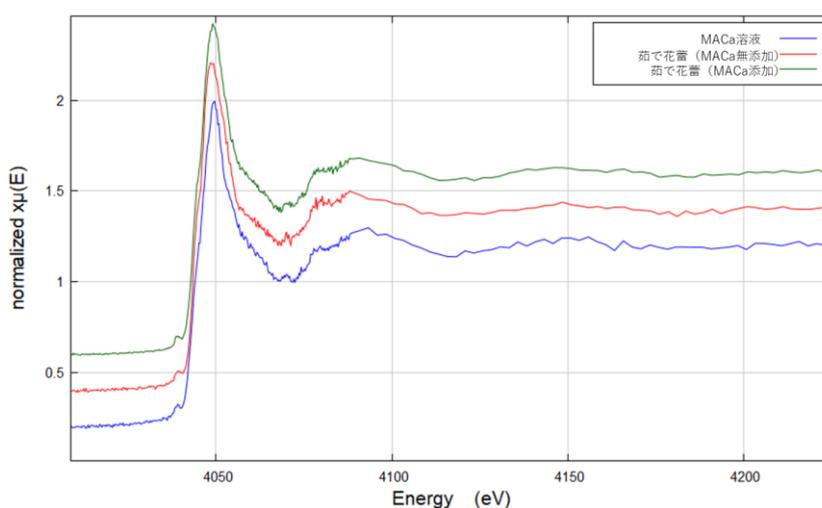


図2 MACa溶液および茹で花蕾（MACa添加ありとなし）のCa K-edge XAFSスペクトル

（MACa無添加）及び茹で花蕾（MACa添加）のXAFSスペクトルを比較したものである。どれもスペクトルはほぼ同じであった。EXAFS領域からCaの配位状態を解析した。クロロフィルのポルフィリン環にカルシウムが配位結合しているか確認するために、比較として亜鉛ポルフィリン溶液を用いた。この溶液のZn-K吸収端のXAFS測定を行い、Znのポルフィリン環中心にある窒素原子との配位結合の状態を解析した。Znはポルフィリン環の中心にある窒素と配位数3.6、結合距離2.05Åで配位結合していた。花蕾中のカルシウムと第一配位原子までの距離はどのサンプルも2.45Å程度であった。また、カルシウムは酸素原子と配位結合しやすく、窒素原子と酸素原子が同時に存在している場合は酸素原子と優先的に配位することが報告されている¹⁾。これらから、マグネシウムが脱離したポルフィリン環の中心部分にカルシウムが入り配位結合している可能性は低いと考えられた。

カルシウムは生体内で重要な役割を有していることから、植物細胞の中にも多く含まれている。ブロッ

ブロッコリーに元から含まれるカルシウムは Ca-O 配位数が約 3.8 であったが、MACa 溶液で茹でるとクロロフィルを殆ど含まない茎の中心部は Ca-O 配位数が 5.0 になり、クロロフィルを多く含む花蕾は Ca-O 配位数が 6.1 となった。しかし、植物組織内にはカルシウムと結合できるたんぱく質や有機酸、ペクチンなどが多く存在し、どれもカルボキシ基を有することから、どのような物質と結合しているかわからなかった。また、色素含有画分にもカルシウムが含まれており、クロロフィルやクロロフィル関連物質にはカルボキシ基があることから、そこにカルシウムが配位して色素を安定化している可能性も考えられた。

6. 今後の課題

今回の実験で、MACa 溶液を茹で液に用いることで、ブロッコリーの組織内部に Ca が浸透し、10 分間の茹でで、その効果が最大となることが明らかになった。カルシウムが直接ポルフィリン環の中心部に配位結合していないことはわかったが、他のどの部分に結合しているかは明らかにできなかった。カルシウムは生体に重要な元素であり、細胞のいろいろな箇所にカルシウムと親和性の高い箇所がある。今後はカルシウムと結合すると考えられる成分を単離し、個別に測定することを考えている。

7. 参考文献

1. Katharina M. Fromm: Coordination polymer networks with s-block metal ions, *Coordination Chemistry Reviews* **252** (2008) 856–885.