

博士学位論文

ベニバナ *Carthamus tinctorius* L.由来色素  
カルサミンの分子組成と発色に関する研究

令和3年 3月

東京工芸大学大学院工学研究科

工業化学専攻

佐々木 麻衣子

目次	…1
論文業績	…3
<b>第1章</b> 序論	
1.1. 色の科学	…5
1.2. ベニバナ	…7
1.3. 化粧品「笹紅」の伝統的精製法	…9
1.4. ベニバナ由来赤色色素カルサミン(Carthamin)の研究	…11
1.5. 本研究の目的	…13
<b>第2章</b> カルサミンカリウム塩の $^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ 帰属	
2.1. $^1\text{H-NMR}$ の帰属	…15
2.1.1. カルサミンカリウム塩試料の経年安定性	…15
2.1.2. カルサミンカリウム塩混入不純物と帰属範囲の確定	…17
2.1.3. カルサミンカリウム塩由来のシグナル	…19
2.2. $^{13}\text{C-NMR}$ シグナルの帰属	…21
2.3. まとめ	…23
<b>第3章</b> 伝統的精製法の化学的解釈	
3.1. 伝統的精製法の概要と実験室での再現	…27
3.2. アルカリ成分アカザ灰の分析	…29
3.3. 酸成分「烏梅液」の分析	…31
3.4. 紅餅の化学分析	
3.4.1. 蛍光 X 線による元素分析	…31
3.4.2. 固体 NMR	…32
3.4.3. 有機溶媒抽出試料の分析	…33
3.5. 精製物の性状と分析結果	
3.5.1. 形状	…36
3.5.2. 溶解性	…36
3.5.3. 原子吸光分析	…36
3.5.4. 質量分析	…37
3.5.5. NMR スペクトル	…39
3.6. まとめ	…40

第4章	実験室的精製法の検証	
4.1.	水酸化ナトリウムアルカリ液使用精製物	…42
4.2.	$^1\text{H}$ -および $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル	…43
4.3.	NanoESI-MS 質量分析	…44
4.4.	原子吸光分析	…45
4.5.	まとめ	…45
第5章	緑色様光沢機構の解析と分子構造	
5.1.	金属様光沢と発色機構の解析	
5.1.1.	紅色素膜（カルサミンカリウム塩色素膜）の色調観察	…48
5.1.2.	紅色素膜の反射スペクトル	…49
5.1.3.	偏光観察	…51
5.1.4.	金属様光沢の発色機構	…52
5.2.	紅緑色金属様光沢とカルサミン分子構造関連性	…52
5.2.1.	緑色反射と色素の吸収の関係	…52
5.2.2.	赤外反射・ラマン散乱スペクトルによる分子構造と緑色反射の 相関の検討	…53
5.3.	紅色素膜の偏光度の評価	…55
5.4.	まとめ	…58
第6章	総括	…60
参考文献		…63
謝辞		…67

## 論文業績

### 博士論文基調論文

1. Hitoshi Yajima, Maiko Sasaki, Keiko Takahashi, Masato Oshima, Kazuyuki Hiraoka, Morio Yashiro, Katsumi Yamada, Influence of Photo-illumination on Greenish Metallic Luster of Safflower Red Pigment Film, *Bull. Soc. Photogr. Imag. Jpn.*, **28**, 18-22 (2018).
2. 矢島仁, 佐々木麻衣子, 高橋圭子, 平岡一幸, 大嶋正人, 山田勝実 伝統的手法で抽出されたベニバナ色素膜の緑色金属光沢について—光学的手法による検討—, 日本写真学会誌, **81**, 65-69 (2018).
3. Maiko Sasaki, Keiko Takahashi, Complete assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals of carthamin potassium salt; traditional Japanese cosmetics, extracted and purified from *Carthamus tinctorius* L., *Chemistry Letters* 投稿中
4. 佐々木麻衣子, 大嶋正人, 高橋圭子, 平岡一幸, 山田勝実, 矢島仁, ベニバナ生花を原料とする口紅「笹色紅」の伝統的な製法とその改良 東京工芸大学工学部紀要 **41(1)**, 86-89 (2018).
5. 佐々木麻衣子, 高橋圭子, 化粧紅高品質ベニバナ由来赤色色素の核磁気共鳴装置による分析 東京工芸大学紀要 **44(1)**, 52-55 (2020).

### その他の論文

1. 佐々木麻衣子, 矢島仁, 東吉彦, フィルム作品「紅」における特別なフィルターワークとその色彩効果, 日本色彩学会誌, **43(3)**, 24-27 (2019).
2. 柿 拓馬, 森井 達也, 佐々木 麻衣子, 大嶋 正人, 高橋 圭子, 平岡 一幸, 八代 盛夫, 矢島 仁, 山田 勝実, 金属元素を含まない材料から生じる金属光沢の光学特性, 東京工芸大学工学部紀要, **43(1)**, 6-9 (2020).
3. 佐々木 麻衣子 , 高橋 圭子, 高分解能核磁気共鳴法による映像フィルムの定性定量分

析 東京工芸大学紀要,43(1), 35-39 (2020).

4. Keiko Takahashi, Maiko Sasaki, Hiroshi Hayakawa, Hitoshi Yajima, and Yoshiki Oda,  
Composition of the white precipitate formed on the surface of damaged triacetyl cellulose-  
based motion picture films, *Scientific Reports* 2020/1/15 公開.
5. 短編記録映画「紅」, 佐々木麻衣子, 矢島仁, 東京工芸大学芸術学部映像学科 卒業制  
作作品, (2016)

## 第1章 序論

### 1.1. 色の科学

世界は色であふれている。進化により視覚を獲得し、識色機能を有した人類にとって、色は科学的にも文化的にも重要な因子であった。ヒトの網膜には桿体細胞と錐体細胞がある。色を認識するのは3種の錐体細胞（色センサー）である。565 nm, 535 nm, 420 nm を極大として光を吸収する。それぞれ赤錐体、緑錐体、青錐体と呼ばれる。この錐体細胞で感じたそれぞれの信号の強さを脳で処理し、色として感じている。つまり、さまざまな色を、赤、青、緑の3色の組み合わせとして感じている<sup>1</sup>。

錐体の機構は動物により異なり、霊長類以外の哺乳類は2原色（2錐体）であることが多い。鳥類は、ヒトが持つ3種類の他に、紫外線感受性錐体細胞を有するため、ヒトより多くの色を見ていることになる。「色」はまさにヒト特有の世界なのである。ヒトが見ている物体の色は、その物体が反射している光の色である。たとえば緑の葉は、太陽や電球などの白色光を受けて、緑色光のみを反射し、それ以外の光は物体が吸収する。反射光を目が緑色として認識する。

光が科学者の心をつかんだのは紀元前のアリストテレスやユークリッドにまでさかのぼるが、「色」との関連は1666年の光の分散をプリズム実験によって発見したニュートンに端を発する。さらに先述した、「色を感じるのは視細胞が赤・緑・青を感じることによる」という「光の三原色論」が1801年にヤングによって発表された。1810年、ゲーテは「色彩論/*Zur Farbenlehre*」で古代ギリシャから18世紀後半までの色彩論の歴史と色彩に関する基礎理論を展開し、ニュートンの光線の進路や角度で色を理解する色彩論を批判した。当時はニュートン批判論理の的誤りもあり、一般に受け入れられなかった。しかし、現代では、ゲーテの色彩論は、心理学の考え方に近く、色彩心理学や知覚心理学研究分野の先がけだと考えられるようになっている。すなわち、色の科学研究は物理学から始まってきた<sup>2,3</sup>。

「物質は分子からなる」この仮説を1811年アボガドロが発表した。分子の科学=化学の

始まりである。よってゲーテの色彩論執筆の際は分子構造で色を論ずることなど全く考えも及ばなかったであろう。

波動と粒子の二面性を有する光の色は波長により色調が決まり、散乱、反射、吸収(透過)、発光、光電子の放出などの現象が様々な色彩を生み出す。分子の科学である化学分野では、短い波長の電磁波( $\gamma$ -線)から紫外線、ヒトの識色範囲である可視光線、赤外線、はてはマイクロ波、ラジオ波まで広い領域にわたる電磁波を用いた分光分析があり、目的成分との相互作用によって得られる電磁波の信号の強さから定量を、固有の波長の値から定性を行う日常的品質分析手段となっている。それぞれの電磁波波長領域で特徴ある分析法が展開して、分子の性質や機能性評価や分子の形の確定に寄与している<sup>4</sup>。分離分析の定番であるクロマトグラフィーは、植物葉緑成分の分離から始まった。固定層と移動相を用いるすべての手法がギリシャ語の色;chroma に起源をもつことは興味深い。化学の他分野においても「色」は研究者の興味をひきつけてきた。色を示す物体は化学物質である。ゆえに天然物化学においては様々な色が分離精製され、分子構造解析と呈色あるいは発光機構が研究されてきた。人工的にも多くの色素が合成されている<sup>2,5</sup>。

日常的に使用される人工的色素、すなわち市販の塗料には、溶剤、色材(顔料、染料)や樹脂(支持体)などが含まれている。塗布後乾くと、溶剤は蒸発してなくなるが、他は基板に残る。残った物質で色材以外は基本的に色を持たないため、塗膜の色調は色材の色で決まる。透過色(反射色)では、様々な波長の光を含んだ白色光から色材が特定の波長の光を吸収して、残った光が透過(反射)したものとなる。したがって、透過でも反射でも、色材の吸収する光は、私たちの目には見えなくなるか、かなり弱くなって見える。緑葉が太陽光を反射して緑と認識されることと同様である。日常生活の中で、塗料が乾く前と後で少し色調が異なることがある。前述のゲーテの色彩論には、ある種の色材が高純度で塗布されると、液体状態とは全く異なる色調を示し、金属的光沢が現れると記述されている<sup>2,3</sup>。

様々な学問分野において、様々な目的で対象となっている「色」であるが、色を前面に提

示している学術団体等を列挙すると、国内では日本色彩学会、色材協会、照明学会、日本流行色協会、国際色彩学会、繊維学会の内部組織の染色委員会、国外では英国染料染色学会 (Society of Dyers and Colourists: SDC)、アメリカ繊維化学技術・染色技術協会 (American Association of Textile Chemists and Colourists: AATCC) などである。SDC と AATCC では定期的に「カラーインデックス (Colour Index)」を発行し、工業的に製造・販売されている合成染料および顔料について、種属、色相、化学構造をもとに C. I. Generic Name と、C. I. Number を付与してデータベース化されている<sup>6,7)</sup>。

芸術学においても、視覚芸術（絵画、彫刻、写真、工芸、アニメーション）、舞台芸術（ダンス、演劇、映画）での色の重要性は周知されており、建築学においても建造物や照明の色は重要である。人への色の影響を研究する色彩心理学という分野もある。色は色調・色相のみならず、光沢の有無も重要な因子である。このように、文化と日常に関わっている「色」であるが、統一的な学問とはなっていない。

## 1.2. ベニバナ

人類はいつから色を使うようになったのであろうか。世界的にはいろいろな古代文明で様々な染色の遺跡が報告されている。日本でも縄文時代にすでに赤漆塗りの飾櫛が出土している。他にも赤や黒に彩色された遺物が出土している。黄色や茶色も使われていたと考えられている。この時代にすでに草木から色を発見し、実用化していたとされている<sup>8)</sup>。

ベニバナ(*Carthamus tinctorius* L.)はエチオピアからエジプト付近が原産地とされている<sup>9)</sup>。現在では種子から製造される食用油「サフラワーオイル」原料としての認知度が高い。しかし、エジプト古代王朝のミイラにはこの花が添えられていた。末期王朝のサッカラの遺跡からはベニバナと精製された口紅が発掘されている。地中海やエジプトを通り世界へ広まった。シルクロードの交流が盛んになるにつれ、紀元前2世紀頃には北方の遊牧民族の匈奴



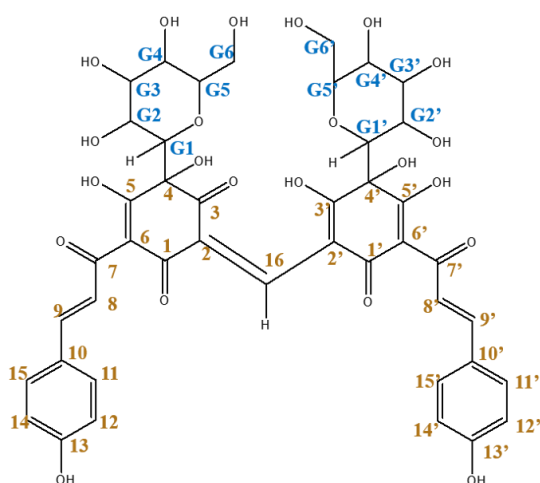


Fig. 1.1. Molecular structure of carthamin.

へ伝わり甘肅省付近で栽培されていた。後漢の時代（2-3世紀頃）には中国本土でも栽培され、日本には薬として3世紀頃伝来した。呉より伝来したので古くの名は「くれのあい（呉藍）」であり、これが「くれない（紅）」に転じたともいわれている。正倉院文書にもベニバナを示すおびただし「紅」の文字が記

されている。古くから薬として重用され、日本薬局方にも「コウカ」として収載されている。「すえつむはな（末摘花）」とも呼ばれる。日本の古典文学源氏物語にもこの巻がある。しかし、ベニバナの価値はその色、特に赤、（くれない）にある<sup>10, 11, 12</sup>。

ベニバナ花弁は黄色と赤色色素を含み、白色のキノカルコンから代謝により黄色色素となり、最終的には赤色色素carthamin（カルサミン; Fig. 1.1）となる。Carthaminが唯一の赤色色素であり、色素全体の1%にも満たない。希少な天然赤色色素は、中国でも紀元前2世紀から高貴な女性の化粧料として用いられた。日本でもベニバナ由来赤色色素を盃に塗布し、乾燥させ頬紅や口紅、隈取などの化粧紅として使用された (Fig. 1.2)。厚く塗り重ねると緑色光沢が表れる紅は「笹紅」あるいは「笹色紅」と呼ばれ、高品質の証であった。江戸時代の浮世絵でも見ることができる<sup>13</sup>。

ベニバナ栽培は連作と過湿を嫌うといわれており、草丈が高く倒れやすく、栽培は容易ではない。高さは1 m。花期は6-7月で、枝先に頭状花をつける。花ははじめ鮮やかな黄色で、オレンジを経て徐々に赤くなる<sup>9</sup>。平安時代に千葉県長南町



Fig. 1.2. A sake cup coated with red pigment from safflower petals<sup>14</sup>.

で盛んに栽培された。江戸時代中期以降は現在の山形県最上地方や埼玉県桶川市、上尾市周辺で盛んに栽培された。明治時代以降は中国産ベニバナが盛んに輸入され、化学合成アニリン染料が普及して、色素としての需要が減少し、色素原料としてのベニバナ生産は急速に衰退した。現在では自然色素として再注目され紅花染めや観光用などに栽培されている。山形県ではベニバナが県花になっており、同県河北町には「紅花資料館」がある。また、千葉県長南町も紅花を町花に指定している。

### 1.3. 化粧品「笹紅」の伝統的精製法

著者は短編文化記録映画「紅」（べに）で、伝統的な口紅（笹色紅）の精製法のあらましを解説した<sup>14</sup>。日本各地に染料、化粧品としてベニバナ花卉から赤色染料の伝統的精製法が存在する。ここでは著者が映画製作で取材した山形県に伝わる方法について述べる。山形県では主に色素を採る目的でベニバナ栽培が行われており、国内最大のベニバナ生産県である。例年7月初旬から中旬にかけて開花する。適期に花から摘み取った開花した花から摘み取った花卉部分を水洗後、湿潤環境で発酵させ、臼で突き潰し、だんご状に成型する。この過程で、摘み取った時は黄色が主だった花卉の色は赤く変わる。これを筵の上で強く押し潰し、余剰の水分を除去させ、天日乾燥させ、「紅餅」とする。紅餅は保存と運搬に耐える。諸外国では花卉をそのまま乾燥させカルサミン抽出精製の原料としている。日本ではこれを乱花(*dried safflower petals*)と呼んで区別している。2018年産「紅餅」の出荷量は山形県全体で259 kgでしかない。我々は紅餅を発酵茶にならって *fermented safflower petals* と英語で定義した<sup>15, 16, 17</sup>。伝統的手法では、紅餅を冷水で浸潤させ洗浄する。洗浄液は黄色である。紅餅から水分を絞り除去したのち、アカザ属シロザ(*Chenopodium album* L.)を燃やして得たアカザ灰を十分に懸濁させて上澄として得た灰汁を用いて紅餅から色素を抽出する。稲藁灰を用いる地方もある。この抽出液に植物カラムシからとったアオソ繊維（維管束部分）を浸漬する。象牙色のアオソ織

維は紅色となる。風乾後、再度灰汁を滴下して紅色素を抽出し、抽出液を、烏梅（うばい:完熟した梅 (Prunus mume Siebold) の果実に煤をまぶし、燻蒸加熱の後に直射日光で乾燥させたもの）を

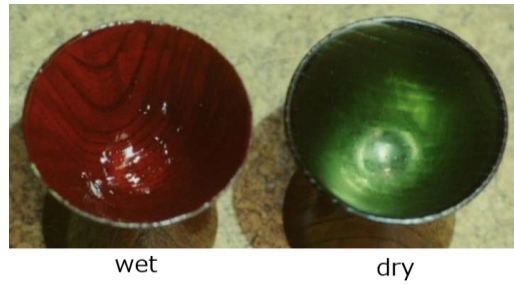


Fig. 1.3. Coated Beni, wet (left; red) and dry (right; green metallic luster)<sup>14</sup>

水につけて得た梅酢を加える。中和反応である。適切な中和点は、職人の舌で決める。「液を舐めて」決めるのである。梅酢添加に従い、紅色素が溶液中に凝集する。放置後、凝集沈殿した色素を目の細かい羽二重絹布で濾過し、布上に残った泥状の色素を磁器や漆塗りの板上に塗布する。塗布直後は紅色であるが、乾燥させると表面に綠色光沢を有する (Fig. 1.3)。この緑が高品質のあ

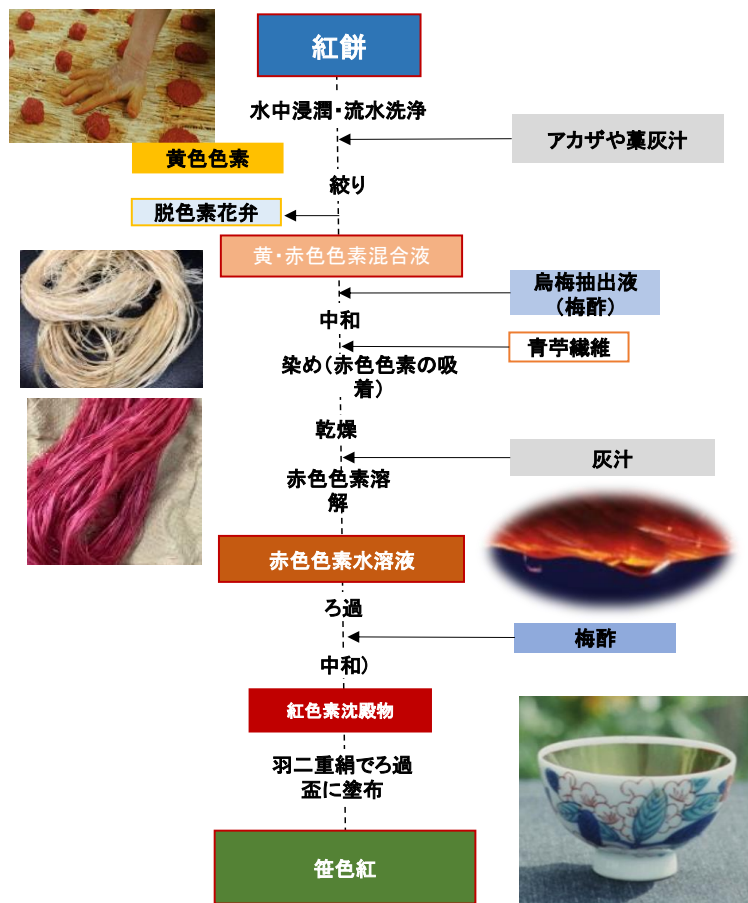


Fig.1.4. Typical Japanese traditional purified method for cosmetic red Beni with green metallic luster, photos were referred from “Beni”<sup>14</sup>

かしとされてきた. 工程の概略を Fig. 1.4 に示した.

#### 1.4. ベニバナ由来赤色色素カルサミン(Carthamin)の研究

貴重であるがゆえに carthamin の研究は古くから行われ, 1846 年に最初の報告がされている<sup>18</sup>. 多くの有機化学研究者がこれに続いたが結晶化に至らず, 非常に不安定で分子式も決定されず, 「要するに難問」として保留されるにとどまった. 日本では 1906 年, 龜高德平が化学的研究に着手し<sup>19, 20</sup>, 黒田チカが 1930 年日本化学會誌で報告している<sup>21</sup>. のちに分子構造を提示したが, 正しい分子構造は 1979 年の小野寺らの報告まで待つことになる<sup>22, 23</sup>. Carthamin は 2 つのグルコースを有する C グリコシド構造であった. 分子構造決定には質量分析(MS), 核磁気共鳴装置(NMR)の進展が大いに寄与している. EI-MS の測定を試みているが, カルサミンイオンピーク(910)は観測できていない. FD-MS において m/e 518 を観測している. Fig. 1.6. に示した化合物 **6** の脱水アグリコンと推測している. さらに, カルサミンカリウム塩は溶液中ではケト-エノール互変異性のため対称的構造をしていることも指摘している. しかし, カリウム塩の位置は確定しておらず, NMR シグナルの帰属も報告されていない. 分子構造が決定すると, 2018 年に全合成が<sup>24, 25</sup>, 2020 年には一部酵素反応を取り入れた生合成-有機合成ハイブリッド合成も報告された<sup>26</sup>. これらの合成により carthamin の有機化学骨格構造は確定された.

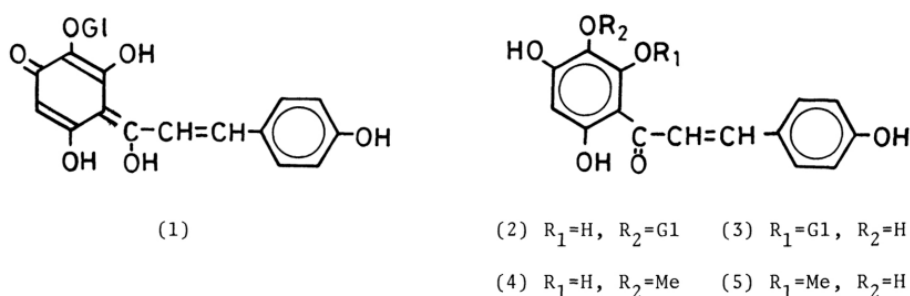


Fig. 1.5. Old structure of carthamin (1), (2) and (3)<sup>21</sup> referred from Onodera's report<sup>22</sup>.

分析化学的にも天然物構造決定の定石法を基にして、誘導體化や様々な処理による純結晶形成の試みや、カラムクロマトグラフィーによる分離やNMRの帰属が試みられた<sup>27,28,29</sup>.

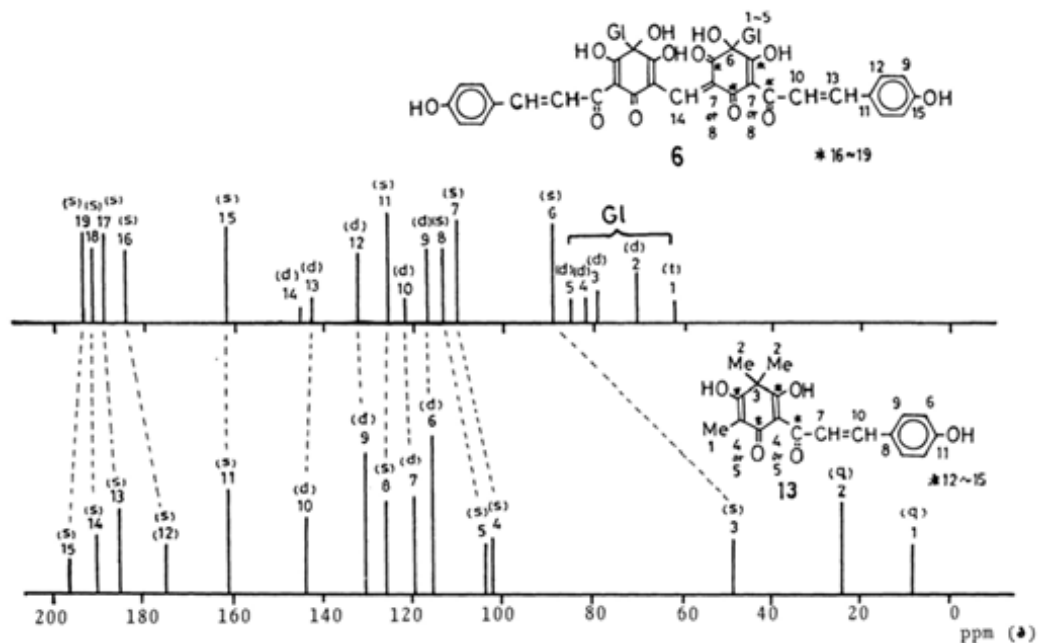


Fig. 1.6. <sup>13</sup>C-NMR spectra carthamin (K salt) and **13** in DMSO-*d*<sub>6</sub>. The letters q, t, d, and s show the quartet, triplet, doublet, and singlet in the off resonance <sup>1</sup>H-decoupling spectra, respectively<sup>22</sup>.

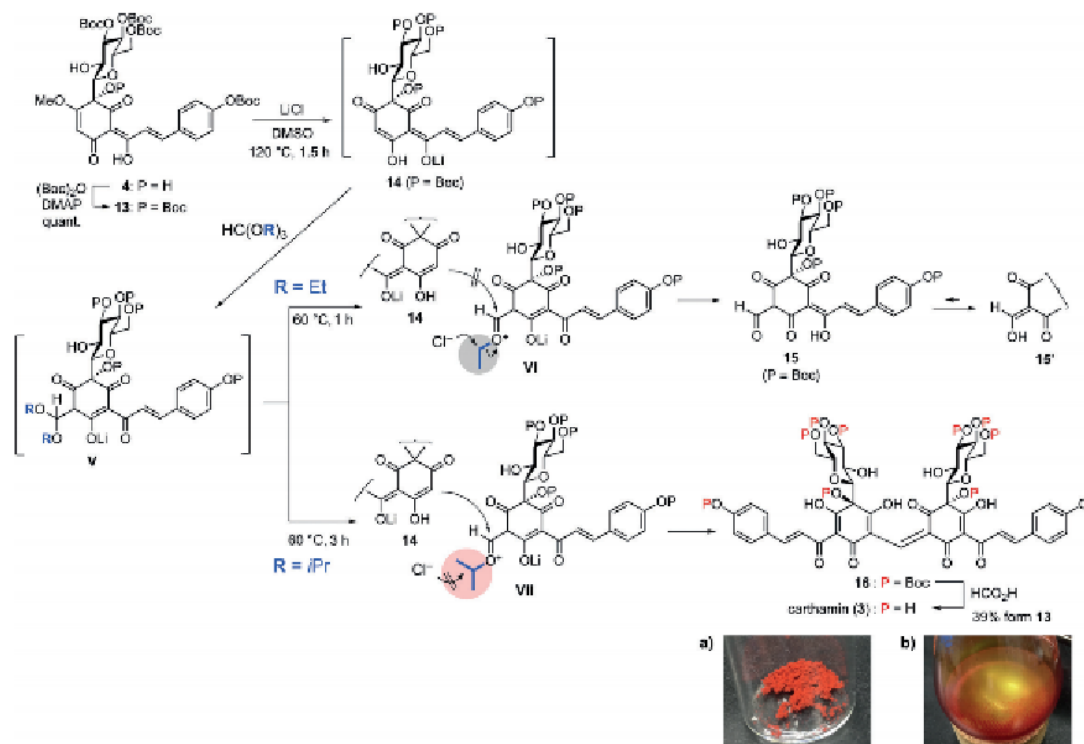


Fig.1.7. Synthesis of carthamin; Boc=*tert*-butoxycarbonyl.<sup>25</sup>

NMRによる定量的分析の報告もある<sup>30</sup>。しかし、全合成にはNMR帰属と質量分析が必須であるにもかかわらず、<sup>1</sup>Hおよび<sup>13</sup>C-NMRの全帰属は化合物の不安定さと測定の難しさのために記載されていない。100年以上前の「要するに難問」が解決されていないままである。また、合成カルサミンは、光沢は有しているが明らかに緑色ではない<sup>25</sup>。

## 1.5. 本研究の目的

色はヒト特有の世界である。色調・色相・光沢を科学的に検証するには、分子の構造式を知るだけでは不十分である。色は波長により色調が決まり、散乱、反射、吸収(透過)、発光、光電子の放出などの現象が様々な色彩を生み出す。著者は2014年短編記録映画「紅」を制作し発表した。その際に、長い歴史と伝統を有し、精製法も伝えられ、江戸時代には化粧紅として商品化されているにもかかわらず、「紅色」に関する化学的証拠が確定していないことを奇異であると考えた。さらに「笹紅色」の学術的報告が全くないことも理解できなかった。19世紀から化学的研究が始まり、数度の訂正をへて1979年に紅の有機骨格化学構造式が決定し、赤色でありながら緑色光沢を有しているベニバナ由来赤色色素カルサミンは「色」の総合的科学研究として最もふさわしい対象物質であると確信を持つに至った。全合成も達成されてもなお、質量分析、NMRスペクトルの完全シグナル帰属は報告されていないのが「色」としての総合的科学研究が完了していない証拠でもある。微量に含まれている不純物が緑色光沢の原因ではないかという通説もあった。これは科学ではない。

本研究では緑色光沢を有する天然由来赤色色素カルサミンの色の発色機構も含めて科学的に「色」を科学的に明らかにする事を目的として研究を進めた。具体的には原子吸光、蛍光X線などによる無機元素分析、錯体や塩などの無機元素も含めた検出が可能な新手法であるNanoESI質量分析などを用いて色の化学構造を確定すること、有機化合物の構造証拠として必須の核磁気共鳴スペクトルの観測とシグナルの完全帰属、伝統的精製法の条件の数値化と使用成分の化学分析を液体、固体両NMR手法を駆使して伝統的精製法の完全化学

的翻訳の確定と既報の実験条件との精査による矛盾を解明すること, さらに化学的に精製した紅を用いて, 緑色光沢発生機構を明らかにすることを目的としている.

## 第2章 カルサミンカリウム塩の $^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ 帰属

カルサミンの  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  スペクトルはすでに報告され、一部のシグナルは帰属されているが、全帰属は達成されていない<sup>22, 25, 27-30</sup>。不安定で高度な条件設定が必要であると報告されてきた<sup>25</sup>。NMR スペクトルシグナル帰属は有機化合物を分子レベルで議論するために必須の情報である。本章では伝統的精製法をもとに実験室で精製真空乾燥処理を加えたカルサミンカリウム塩の  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$  スペクトルシグナル全帰属について述べる。

精製法や純度、質量分析、元素分析等、カルサミンカリウム塩の詳細な証拠については、3章で詳述する。

### 2.1. $^1\text{H-NMR}$ の帰属

#### 2.1.1. カルサミンカリウム塩試料の経年安定性

カルサミンカリウム塩を  $\text{DMSO-}d_6$  中 2018 年 11 月 16 日および、2020 年 3 月 17 日に測定した  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルを Fig. 2.1a および Fig. 2.1b にそれぞれ示す。保存は遮光下、室温である。特殊な保存容器は使用していない。586 日を経て、10 ppm 付近のブロードなシグナルがシャープになったこと以外はシグナルシフト値、積分値ともに変化はない。ピリジン- $d_5$  溶媒試料でも経時スペクトルパターン変化は全く観測されなかった。乾燥が不十分で、ピリジン試料と共に密封性の高い容器に保存した  $\text{DMSO-}d_6$  中におけるカルサミンカリウム塩経年変化の報告があるが<sup>31</sup>、この結果は含水量にカルサミン安定性が依存していることを示唆している。カルサミンはピリジンとも塩を作成する。カルサミンカリウム塩からピリジン塩への変化がスペクトル変化に反映した可能性がある。



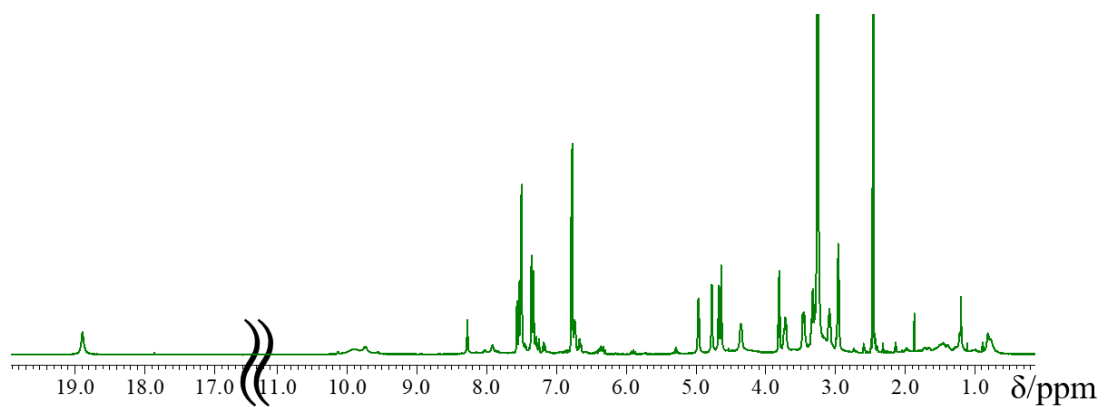


Fig. 2.1a. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of carthamin potassium salt in DMSO-*d*<sub>6</sub>.

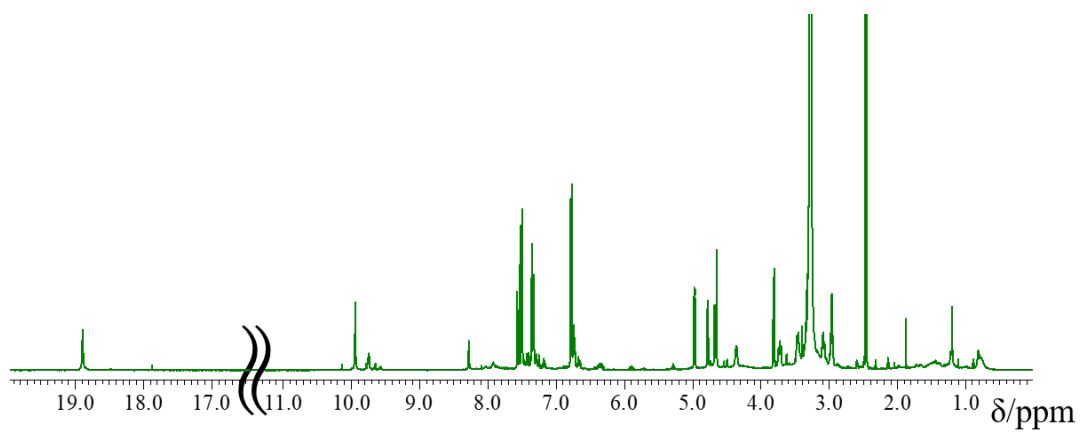


Fig. 2.1b. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of carthamin potassium salt in DMSO-*d*<sub>6</sub> after 16 months.

### 2.1.2. カルサミンカリウム塩混入不純物と帰属範囲の確定

カルサミンカリウム塩精製中間原料である紅餅を十分に真空乾燥後、粉碎して DMSO- $d_6$  で浸出した試料液の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルを Fig. 2.2 に示す。精製乾燥カルサミンカリウム塩のスペクトル(Fig.2.1)と比較すると、DMSO 由来メチル基シグナル(2.49 ppm)より高磁場に多くのプロトンシグナルが観測された。これらのシグナルはメタノール、エタノール、水、アセトン抽出 NMR スペクトルでも観測された。カルサミンカリウム塩  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルにおける高磁場シグナルはこれら抽出成分シグナルの主成分の一部（3章 Fig. 3.7-3.11）に対応している。2.49 ppm よりも高磁場シグナルはカルサミン以外の色素あるいは化合物由来であると考えられる。

拡散係数の違いによりシグナル分離される three dimensional Diffusion Ordered NMR Spectroscopy (DOSY) スペクトルによってカルサミンシグナル観測範囲が確定した(Fig.2.3)。高磁場シグナルは、2.97 ppm 以上のシグナルと同拡散定数ラインには観測されていない。さらにパラフィルムの DMSO- $d_6$  中のスペクトルも示す(Fig. 2.4)。シャープな 1.20 ppm のシグナルは試料調製中に混入したパラフィルム由来シグナルである。以上の結果から、カルサミンカリウム塩のシグナルは 2.97~18.89 ppm に観測されるシグナルである。

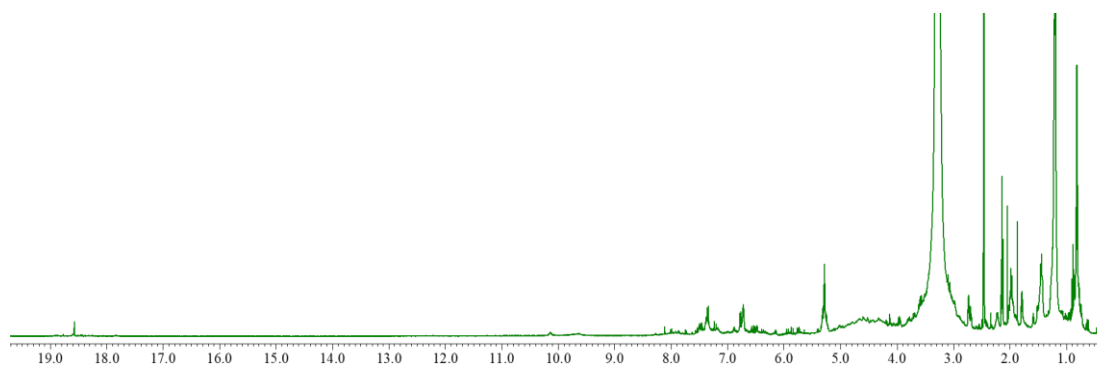


Fig. 2.2.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of fermented safflower petals extracted with DMSO- $d_6$ .

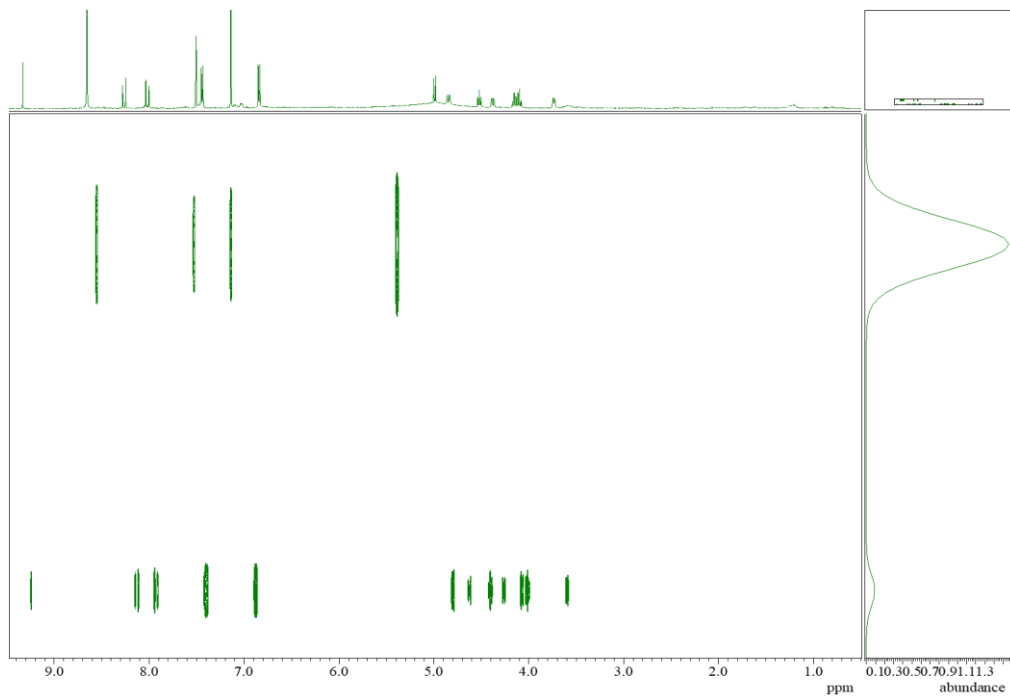


Fig. 2.3. DOSY spectrum of carthamin potassium salt in pyridine- $d_5$ .

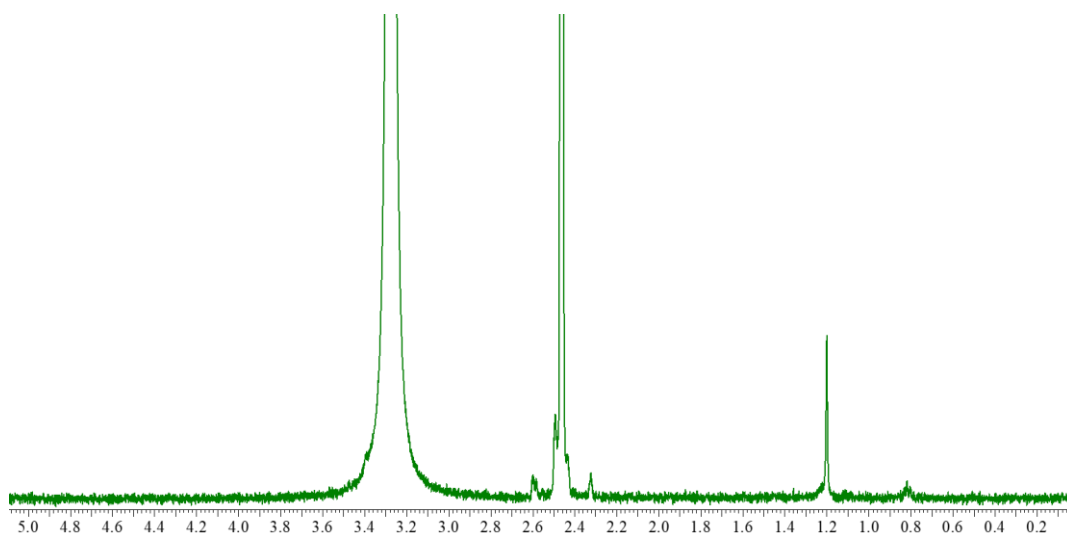


Fig. 2.4.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of parafilm in DMSO- $d_6$ .

### 2.1.3. カルサミンカリウム塩由来のシグナル

カルサミン由来成分のシグナルは高磁場側から、2.97, 3.09, 3.33, 3.46, 3.72, 3.81, 4.36, 4.64, 4.67, 4.77, 4.97, 6.87, 7.34, 7.51, 7.55, 8.28, 9.90 と 18.89 ppm に観測された。重水を添加すると、4.36, 4.64, 4.67, 4.77, 4.97, 9.90, 18.89 ppm のシグナルが消失した(Fig. 2.5)。これは OH 基由来のシグナルと帰属した。消失したすべてのシグナルは同じ積分値を有する。18.89 ppm のシグナルは同じベニバナ由来の黄色色素サフロミン A の桂皮酸近辺の水酸基とカルボニル基の水素結合によると報告されている<sup>32</sup>。同様の構造部 5, 5'エノール基 OH と帰属した。サフロミン A ではカルボニル基とエノール基間で互変異性が生じているが、カルサミンでは起こっていない。およそ 2 から 4 結合のより長い範囲にわたる異種核相関を検出する Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy (HMBC)でも確認した。フェノール基由来 OH がブロードに観測されると報告されていることより、9.79 ppm シグナルを 13, 13'OH と帰属した。積分値をとると、8.28 ppm のシグナルを 1 と基準化すると、他はすべて 2 あるいは 4 となる。カルサミン構造の 16 位のみが 1 プロトンで他は擬対称性を有している。二重結合のシフト領域に位置しているので 8.28 ppm のシグナルを 16 位と帰属した。

二次元 COrrrelation SpectroscopY(COSY)スペクトル(Fig. 2.6)の相関を追跡し、グルコース由来の G1, G2, G3, G4, G5, G6 由来プロトンを帰属した。COSY は通常隣接した炭素に結合した

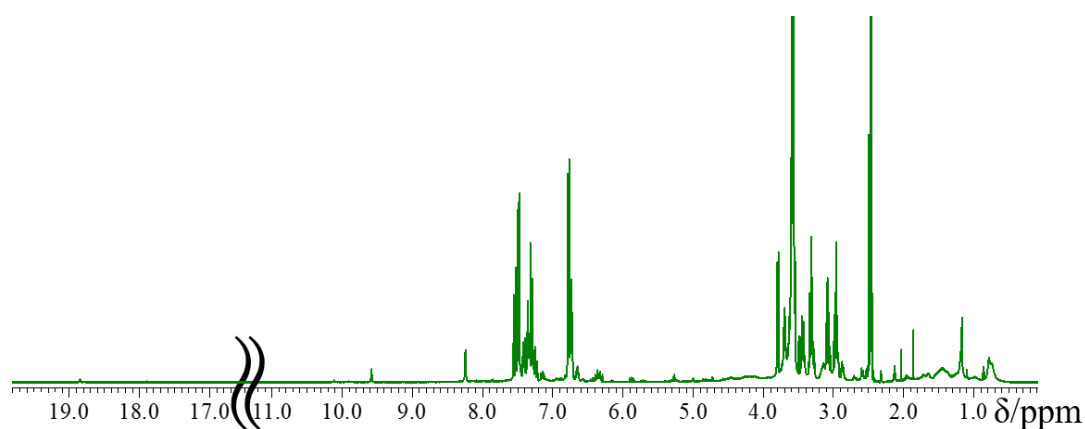


Fig. 2.5. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of carthamin potassium salt in DMSO-*d*<sub>6</sub> with D<sub>2</sub>O.

プロトン間で相関が観測されるが、酸素-炭素間でも相関が観測される<sup>33</sup>。G2OH, G3OH, G6OH, 4OH を帰属した。次に積分値も考慮して、6.77, 7.50 ppm が、それぞれ 12, 14 あるいは 11, 15, 7.34, 7.55 ppm が 8 あるいは 9 位プロトンと帰属できた。しかし、いずれがいずれかは

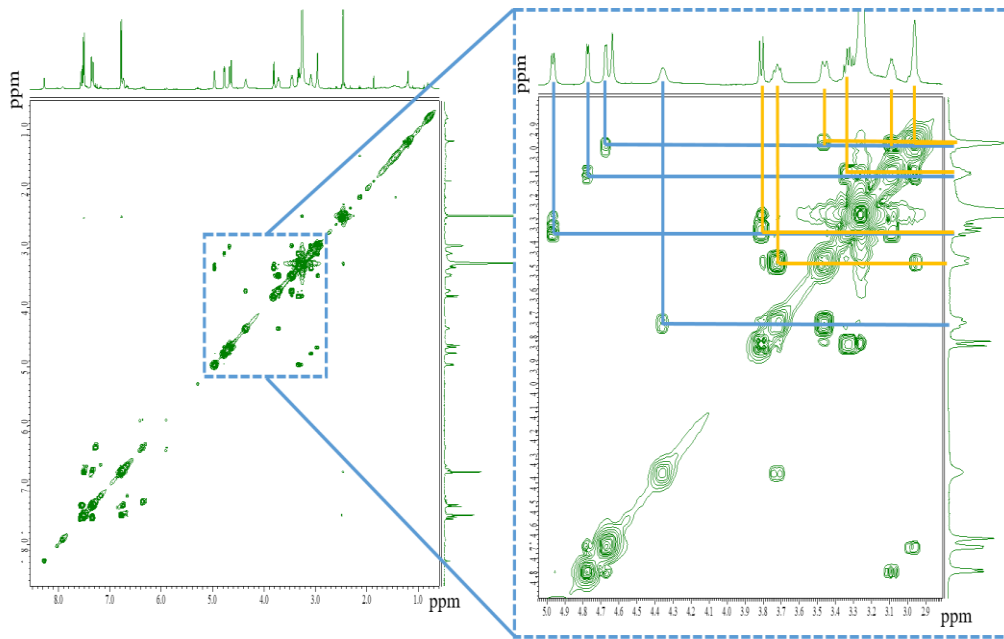


Fig. 2.6. COSY spectra of carthamin potassium salt in DMSO-*d*<sub>6</sub>.

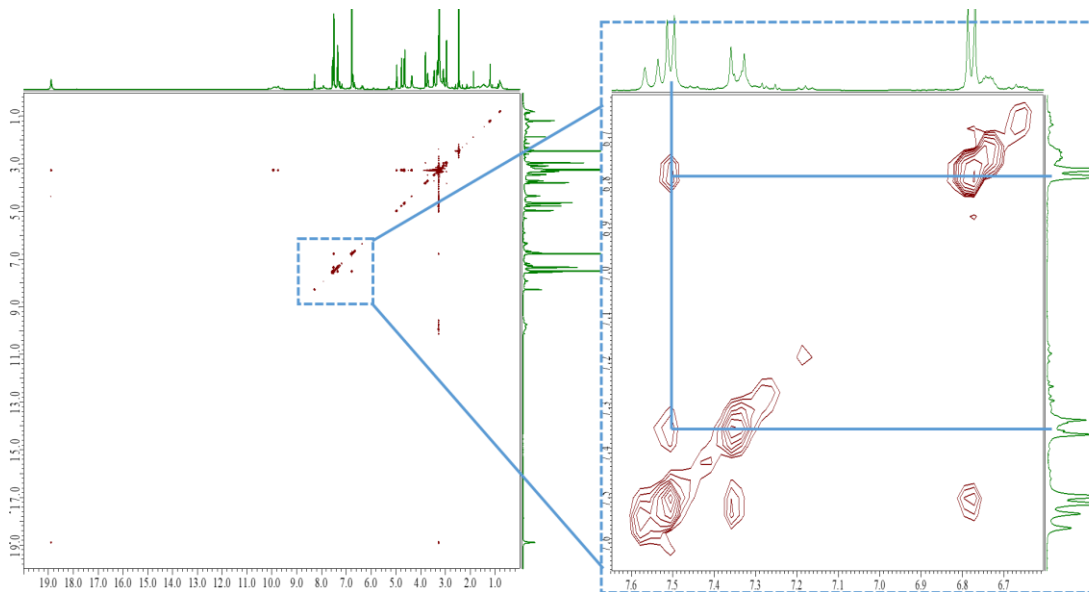


Fig. 2.7. NOESY spectra of carthamin potassium salt in DMSO-*d*<sub>6</sub>.

決定できなかった。フリーのカルサミン構造 (Fig. 1.1)によると 3'OH の 1 プロトンが観測されるはずである。他の OH 基はすべて 2 基ずつ存在している。3'OH が観測されていないのは 3'OH 基が解離しカリウム塩となっていることを示唆しているのかもしれない。

0.4 nm 以内の空間位置に存在するプロトン間の相関を観測するのが Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトルである (Fig. 2.7)。7.34 と 7.51 ppm 間に相関が観察された。桂皮酸構造部分は回転せず 10 位のみ回転できる。3 次元 MOPAC で近接の可能性を検討したところ、7.34 ppm が 8 位、7.51 ppm が 11 あるいは 15 位と示唆される。

## 2.2. $^{13}\text{C}$ -NMR シグナルの帰属

Fig. 2.8 に精製乾燥カルサミンカリウム塩の  $\text{DMSO-}d_6$  を溶媒とした  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルを示す。 $^1\text{H}$ -NMR シグナル帰属試料と同一試料である。40.0 ppm の溶媒  $\text{DMSO-}d_6$  由来シグナル以外に、高磁場側から 61.4, 70.0, 70.1, 78.9, 80.9, 84.7, 88.5, 109.5, 112.1, 116.3, 121.0, 127.0, 131.0, 141.1, 160.2, 182.9, 187.5, 190.6, 192.2 ppm に全 23 のシグナルが観測された。

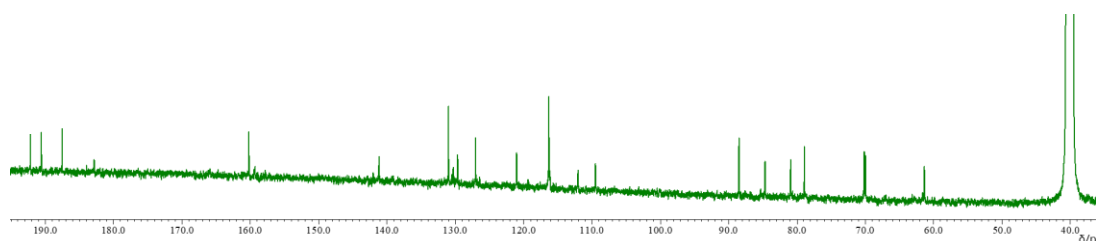


Fig. 2.8.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of carthamin potassium salt in  $\text{DMSO-}d_6$ .

Heteronuclear Multiple Quantum Correlation (HMQC) は  $^{13}\text{C}$  照射で  $^1\text{H}$  観測しスピン結合している C-H 対の相関が観測できる。61.4, 70.0, 70.1, 78.9, 80.9, 84.7, 116.3, 121.0, 131.0, 141.1 ppm のシグナルがそれぞれ対応するプロトンシグナルとの相関が観測され、8, 8', 9, 9', 11, 11', 12, 12', 14, 14', 15, 15', G1, G1', G2, G2', G3, G3', G4, G4', G5, G5', G6, G6' シグナルと帰属された。8.28 ppm プロトンと相関が観測された 142.9 ppm を 16 位 C シグナルと帰属した (Fig. 2.9)。

$^{13}\text{C}$ -NMR 測定は感度を優先するために、 $^1\text{H}$  とのカップリングを抑えるデカップリング法パルス系列を使って測定した。相関は観測されたが、16 位炭素はプロトンを有しているのに関わらず、強度が著しく弱い。3 次元構造などの原因があるのかもしれない。

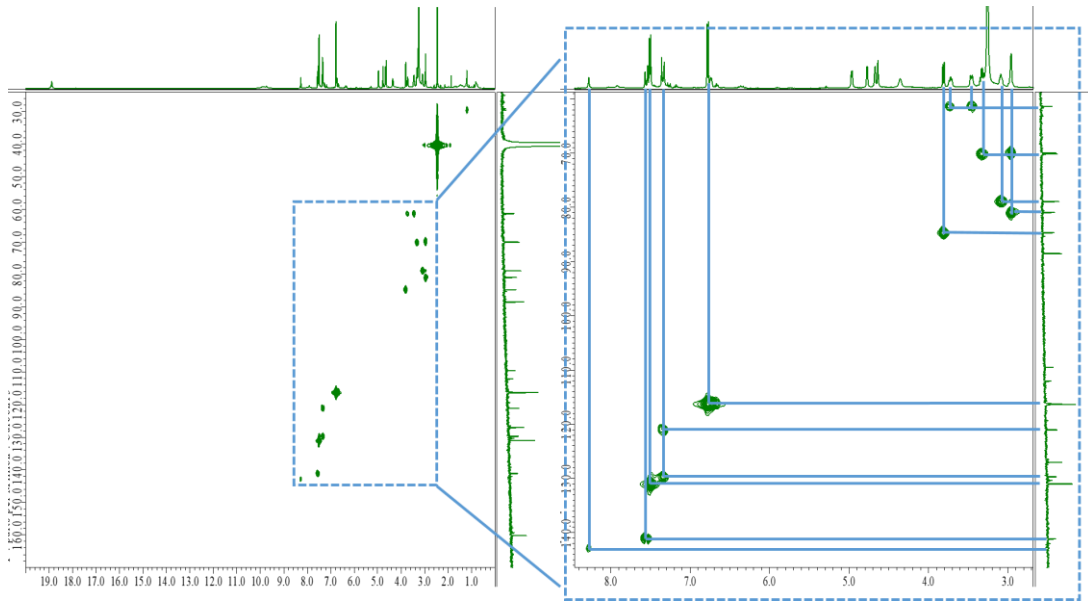


Fig. 2.9. HMQC spectra of carthamin potassium salt in  $\text{DMSO-}d_6$ .

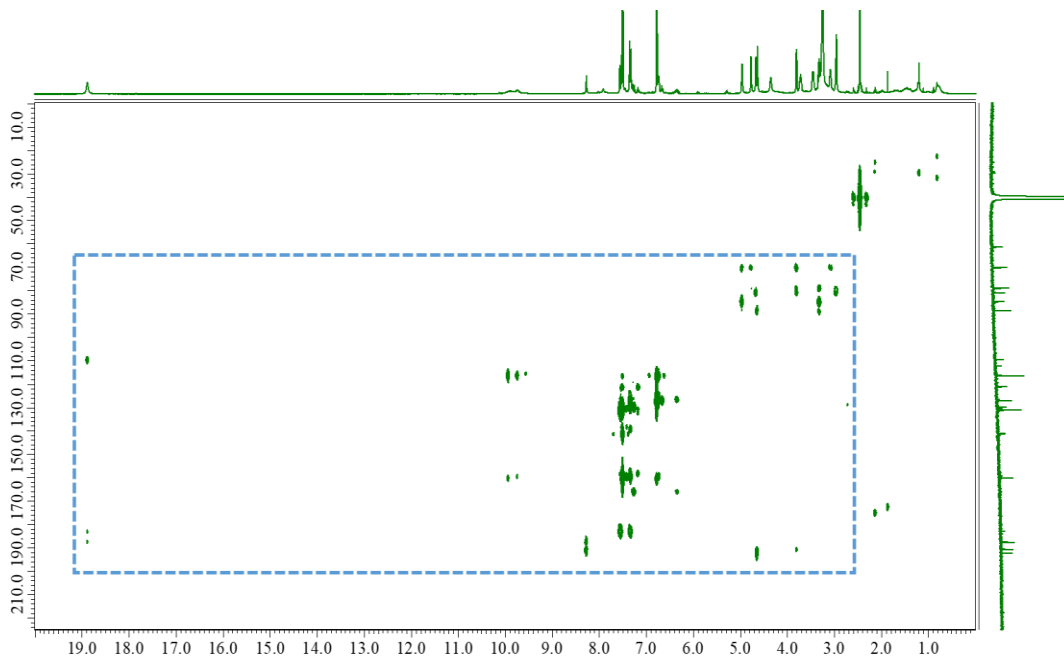


Fig. 2.10. HMBC spectrum of carthamin potassium salt in  $\text{DMSO-}d_6$ .

プロトンが結合していない炭素, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 13 は官能基に対応するシフト値範囲に加え, HMBC の結果を総合し, 最も矛盾のない帰属に至った. さらに, 本論文で示した スペクトルパターン(Fig. 2.10)は 3'に帰属したシグナルを除いて既法<sup>25</sup> サポートリングデータ(Fig. 2.11)と同じであったことを追記しておく.

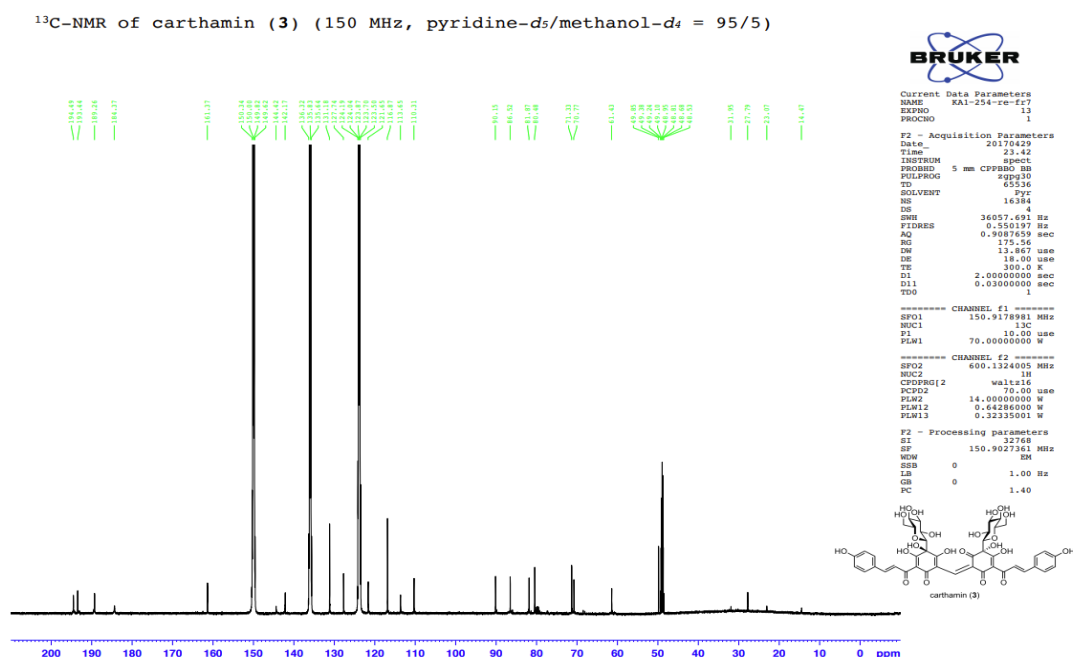


Fig. 2.11. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of total synthesis of carthamin in pyridine-*d*<sub>5</sub>/methanol-*d*<sub>4</sub>=95/5<sup>25</sup>.

### 2.3. まとめ

安定な精製乾燥カルサミンカリウム塩のプロトン, カーボン全帰属を達成した(Fig. 2.12, 2.13). <sup>1</sup>H-NMR で 3'OH のプロトンシグナルが観測されず, 3'位がカリウム塩となっている事が判明した. さらに著しい低磁場シフト 5, 5'OH プロトンが 7, 7'カルボニル酸素と水素結合をしている事も判明した. サフロミン A では互変異性が HMBC より証明されているが<sup>32</sup>, カルサミンカリウム塩では観測されず互変異性体は存在していない. 5, 5'OH は通常 1 シグナルであるいはブロードで観測されることの多いピリジン溶媒試料でも明確に観測された. 他の OH 基がブロードに観測されたことと対照的である. さらに重水添加の際, 他の水酸基



より重水素交換が起こりにくかった。この事実も 5, 5'-OH-7, 7'-カルボニル酸素との水素結合が溶液中では強力であることを示唆している。カルサミン赤色および緑色光沢発現に影響しているのかもしれない。

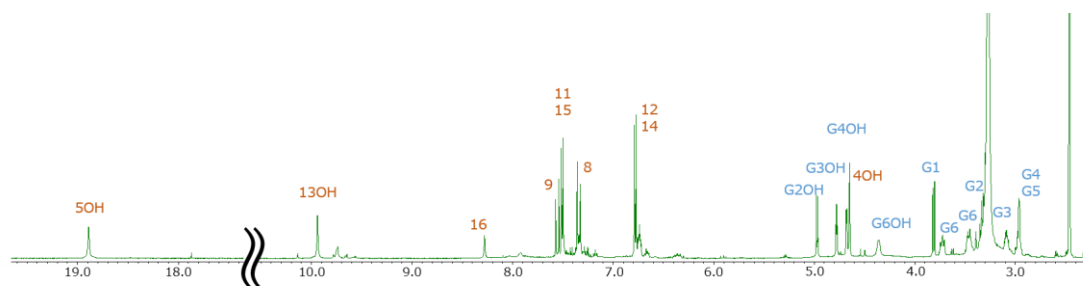


Fig. 2.12.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of carthamin potassium salt in  $\text{DMSO-}d_6$ .

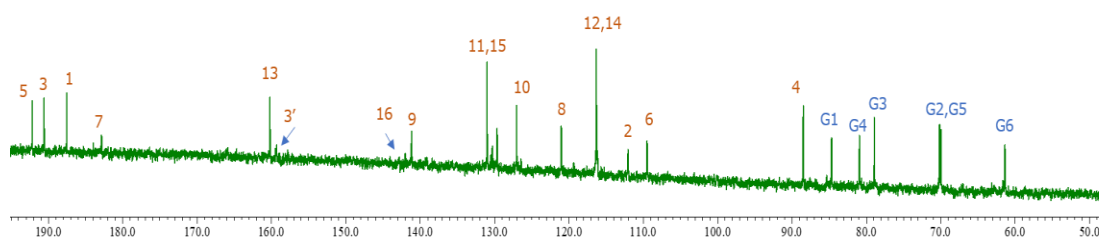


Fig. 2.13. Complete assignment of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of carthamin potassium salt in  $\text{DMSO-}d_6$

## 【実験項】

### 試薬および原材料

紅餅は山形県産ベニバナ花卉発酵加工品で紅花生産組合連合会から購入した。アカザ灰は、神奈川県厚木市内の荒地に成長したアカザ属シロザ(*Chenopodium album* L.)の地上部のみを刈り取り、通風の良い日陰で乾燥させたのち、素焼きの植木鉢の中で送風しながら燃焼させたて灰白色スポンジ状の硬質灰を得たのち、乳鉢で砕き粉末状にした。アカザ灰 40.0 g に 90~95°C のイオン交換水 2500 ml を加え、濾過してアルカリ性灰汁を調整した。烏梅(うばい)は、国選定文化財保存技術「烏梅製造」保持者である奈良県月ヶ瀬村の中西喜

久氏製造したものを購入した。烏梅 75 g をイオン交換水 500 ml 中, 10°C で 48 時間浸出させて作成した梅酢を酸性液として調整した。乾燥ラミー繊維, 青苧は山形県西村山郡大江町青苧復活夢見隊から購入した。風乾して恒量に達したことを確認した。染色前に適量のアカザ灰汁で揉みほぐしたのち, 烏梅酸液で中和, 水洗乾燥し, 洗浄して使用した。

### カルサミンカリウム塩

実験は通常の実験室用空調機のもと行った。100 g の乾燥紅餅を木綿の布袋に入れ, イオン交換水 1500 ml に浸し, 10°C で 48 時間暗所に静置後, 紅餅を揉みほぐし, 新たにイオン交換水 1500 ml を加え, 1 時間静置したのち水洗し, 絞った。同様の操作を全 4 回繰り返して黄色色素と花粉を除き, 湿潤状態で紅餅は 437 g を得た。あらかじめ調整した 25°C に冷却したアカザの灰汁(pH 12)を適量加えて揉み混ぜ, 10 分後, ナイロン製 200 メッシュの網で絞り, 赤色液を得た。この操作を数回繰り返し, 濃赤褐色溶液 1460 ml を得た(pH 10.4)。この溶液に風乾したアオソ繊維 167 g を浸漬し, 梅酢酸性溶液, 約 150ml を加え, 黄褐色となった染液(pH 6.4)にしばらく静置した。赤色に染色されたアオソ繊維を 76 倍希釈した梅酢で洗浄し, 余剰染色液を絞ったのち風乾した。染色アオソ繊維に新しい pH 12 のアカザ灰汁を少しずつ繰り返して繊維に滴下し, 赤色を抽出した。抽出液を東洋濾紙製 ADVANTEC No.1 および MILLEX AA Filter Unit 0.8  $\mu$ m Millipore Ltd.で濾過し, 濃橙色澄明色素液 453 ml を得た。梅酢酸性溶液(主成分クエン酸, リンゴ酸混合液; pH 2.6) 110 ml を加え, pH 6.3 に調整すると, 泥状の赤色沈殿物が生じた。さらに 15 分遠心分離(3500 r.p.m.)し, 泥状物を, 石英板に塗布し, 遮光下, 室温で風乾, 続いて 14 日間真空乾燥して緑色金属光沢を有する笹色紅 258 mg を得た。薄層クロマトグラフィー (TLC) は 1 スポットで, Rf 値 0.42 であった。なお展開溶媒はブタノール, 酢酸, 水 4:1:5 の上清液を用いた。質量分析値 (NanoESI 法) m/z 実測値 (Found.) 987.1343 で, C<sub>43</sub>H<sub>41</sub>O<sub>22</sub>K<sub>2</sub> の理論値 (Calcd.) である 987.9698 と一致した。無機元素分析によるとカリウム (K) は 10.1 % w/w, ナトリウム (Na) は 0.038 % w/w であった。

### 測定機器

NMR は JEOL JNM-ECZ500R (日本電子(株)製) を用いた。標準的には 5 mg の試料を直径 5 mm の NMR 試料管に入れ, 0.75 ml の重ジメチルスルホキシド (DMSO- $d_6$ : 関東化学(株)製) に溶解した。完全溶解は確認した。30 °Cにて積算回数は  $^1\text{H}$  で 64 回,  $^{13}\text{C}$  で 40000 回である。 $^{13}\text{C}$  ではパルス角を 45 度とし, 緩和時間を 8 秒とした。COSY, NOESY, HMQC, HMBC, DOSY はほぼ標準的条件下で測定した。質量分析はサーモフィッシャーサイエンティフィック社製でイオン化した NanoESI 法を用いた。K, Na の原子吸光分析は日立ハイテクノロジー製 Z-2300 型原子吸光分析装置を用いた。

### 第3章 伝統的精製法の化学的解釈

本章では緒言3節で言及した山形県伝承の伝統手法を化学的に分析し、アルカリ、酸の中和反応と考えられている精製方法の数値化と、紅餅、灰汁、梅酢の化学分析を行い、実験室での再現性良い精製を、カラムクロマトグラフィー手法を避けて行った結果を生成物の同定結果とともに示す。

#### 3.1. 伝統的精製法の概要と実験室での再現

1章3節で述べたが、著者は短編文化記録映画「紅」(べに)で、伝統的な口紅(笹色紅)の精製法のあらましを解説した<sup>14,17</sup>。天然素材は購入あるいは、寄贈されたものを前処理せ

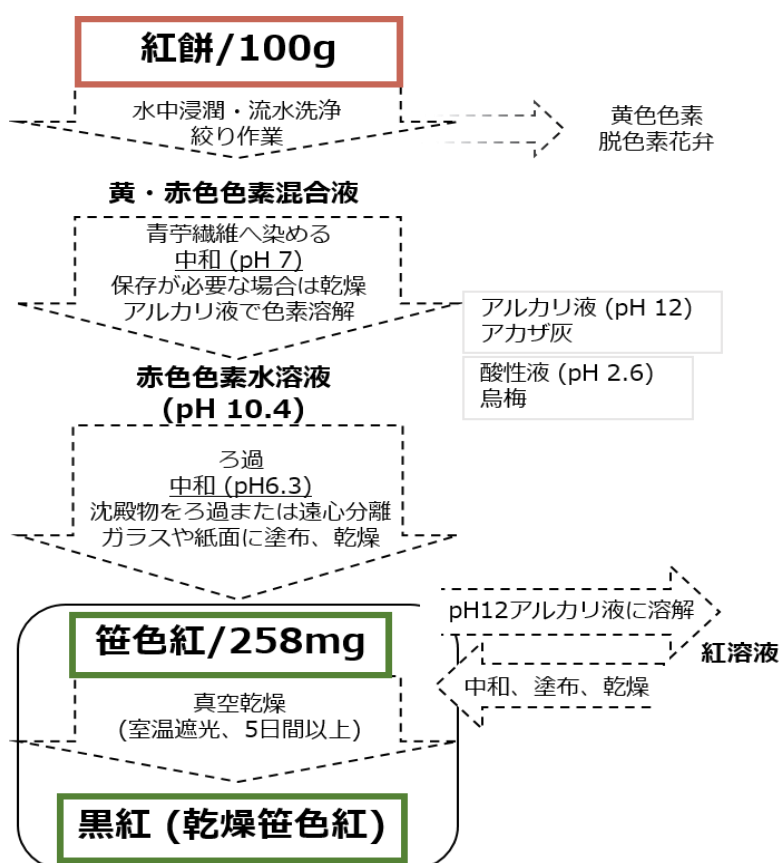


Fig. 3.1. Transformation from the typical Japanese traditional purification method to chemical experimental method in laboratory.

ずに、そのまま使用した。科学的研究見地からは、真空乾燥や花卉の微細化などの前処理が望ましいが、再現性良く緑色光沢を有する紅を得ることに重点をおいた。カルサミン以外の不純物混入の可能性のある過程にはフィルターろ過などの過程を、精製後は真空乾燥等の処理を加えた。なお、加熱は忌避し、遮光も特殊な化学実験用品がなくても実行できる方法、通常

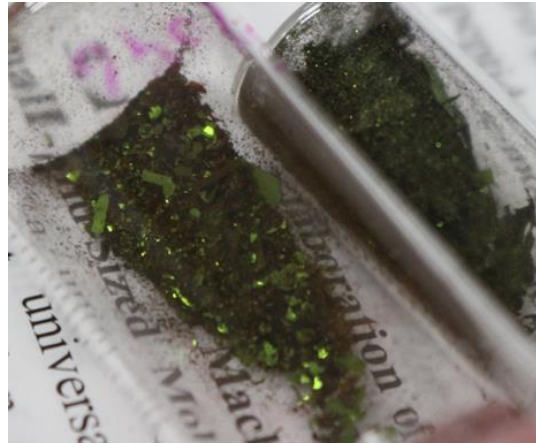


Fig. 3.2. Purified carthamin after drying *in vacuo*.

の実験室用空調機のもと行った。紅餅 100 g を木綿の布袋に入れ、10°Cで 48 時間静置後、イオン交換水 1500 ml による静置と絞り操作を 4 回繰り返す、約 3 重量倍のイオン交換水を含んだ湿潤紅餅は 437 g を得た。アカザの灰汁(pH 12)添加後、ナイロン製 200 メッシュの網で絞る操作を繰り返す、pH 10.4 の濃赤褐色溶液 1460 ml を得た。この溶液にアオソ（青苧）繊維 167 g を pH 6.4 の烏梅酸性溶液を添加し pH 6.4 で黄褐色となった染色液に浸漬し、しばらく置くとアオソ繊維は赤色に染色された。希釈梅酢洗浄、絞り、風乾染色処理をしたアオソ繊維に少量のアカザ灰汁滴下、絞りを繰り返す、色素が抽出できた。濾過操作を加え、濃橙色澄明色素液 453 ml が得られた。梅酢酸性溶液 110 ml を加えると、色調が濃橙色からワインレッドに変わった。澄明液が懸濁し、さらに pH 6.3 では、目視でも細かな紅色の粒子が確認できた。静置後、15 分遠心分離(3500 r.p.m.)処理により、より固化した泥状物を、石英板に塗り伸ばし、遮光下で風乾させると笹色の光沢のある固体が収量 0.26 g で得られた。伝統的口紅と同等品質の紅色素が得られた。生成物はアルカリ溶液に可溶で、澄明であるが、pH 6.3 では懸濁液となる。pH 7.0 の水には溶解しない。

遮光下、25°Cで2週間真空乾燥をした結果、光沢は残っているが、やや黒みを帯びた色調になった(Fig. 3.2)。真空乾燥に処した伝統的紅は処理をしていないものに比べて、色調の変化が少なく、少なくとも2年間の安定性を現時点で確認している。また、TLCでは既報と同様の1スポットが確認された(Fig. 3.3)。

また、厚木キャンパス内敷地で栽培したベニバナ 100 輪(25.9 g)の花弁から 4.50 g の紅餅を得た。この結果から、1 g の伝統的紅を得るためには 8000 輪以上の生花が必要であることが分かった。

以上、伝統的精製方法を pH, 遠心分離, フィルター処理を含めて実験室でカラムクロマトグラフィー処理なしで江戸時代に流通していた緑色光沢を有する紅, 赤色色素を得ることができた。盃に塗布されている紅は表面のみ緑色光沢であるが、本方法で作成した赤色色素は微粉末にしても緑色光沢が観察された。真空乾燥処理がベニバナ由来赤色色素の安定性増加に有効であることが判明した。生成物の同定については5節で詳述する。

### 3.2. アルカリ成分アカザ灰の分析

山形県ではアカザ灰を用いるが稲藁灰を用いる地方もある。稲藁灰は白色で塊状であるアカザ灰と異なり、黒色微粉末で灰汁を得るのに工夫が必要であった。アカザ灰および稲藁灰とそれぞれのイオン交換水懸濁液上清液除去乾燥処理物を、アカザ灰では周期表で B

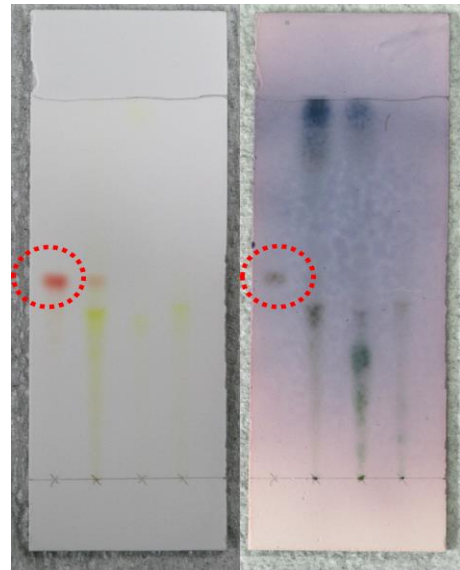


Fig. 3.3. The results of TLC; purified carthamin (a), extract of fermented safflower petals (b) and safflower petals by DMSO (c), safflower yellow (d), by sight (left) and detected with anis aldehyde reagent.

Table 3.1. X-ray fluorescence analysis of ash produced from akaza before (A) and after (B) water extraction. (w/w%)

Element/run	Result/w/w%	
	(A)	(B)
<b>F</b>	Not detected	0.300
<b>Na<sub>2</sub>O</b>	0.006	0.040
<b>MgO</b>	5.000	17.000
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0.040	0.200
<b>SiO<sub>2</sub></b>	0.300	0.700
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	5.000	15.000
<b>SO<sub>3</sub></b>	2.000	0.200
<b>Cl</b>	2.000	0.040
<b>K<sub>2</sub>O</b>	59.000	3.000
<b>CaO</b>	21.000	55.000
<b>MnO</b>	0.040	0.100
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0.090	0.200
<b>CuO</b>	0.020	0.030
<b>ZnO</b>	0.100	0.300
<b>Rb<sub>2</sub>O</b>	0.050	Not detected
<b>SrO</b>	0.080	0.200

Table 3.2. X-ray fluorescence analysis of ash produced from rice straw before (A) and after (B) water extraction. (w/w%)

Element/run	Result/w/w%	
	(A)	(B)
<b>Na<sub>2</sub>O</b>	0.3	0.1
<b>MgO</b>	0.9	0.8
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0.05	0.04
<b>SiO<sub>2</sub></b>	84	91
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	2	0.8
<b>SO<sub>3</sub></b>	0.3	0.07
<b>Cl</b>	0.7	0.09
<b>K<sub>2</sub>O</b>	11	6
<b>CaO</b>	1	1
<b>MnO</b>	0.2	0.2
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0.1	0.1
<b>ZnO</b>	0.04	0.04
<b>Rb<sub>2</sub>O</b>	0.004	0.002
<b>SrO</b>	0.004	0.005

からU, 稲藁灰ではFからUまでの原子番号範囲で蛍光X線分析を行った結果を示す。(Table 3.1, 3.2). 表では処理前後ともにほとんど検出されなかった元素は記載を省略した. 処理前後で減少している元素が水中に溶け出したアルカリ成分である. 溶けだしていない元素酸化物は, 全体量の減少に伴い含有%が増加する. アカザの灰, 稲藁灰いずれもカリウムの含量が著しく減少した. ナトリウムはむしろ増加している. 伝統的精製法で使用されていた灰汁のアルカリ成分元素はカリウムであり, ナトリウムではないことを数値で明示することができた. これまで, 実験室での精製は炭酸ナトリウム水溶液を用いていた<sup>19, 20, 21, 27-30</sup>. カリウムは用いられていない.

### 3.3. 酸成分「烏梅液」の分析

重水抽出烏梅液（梅酢）およびリンゴ酸とクエン酸の重水中における  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルを示す(Fig. 3.4). 172 から 188 ppm に 3 シグナル, 73, 67, 43, 38 ppm にシグナルが観測され, クエン酸, リンゴ酸のシグナルシフト値と一致している.  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルでも同シフト値にシグナルが観測されたが, 烏梅含有水の完全除去は伝統的精製法と齟齬が生じる可能性もあり, リンゴ酸とクエン酸の定量には至らなかった. リンゴ酸とクエン酸以外にも微少なシグナルが 60 から 80, 90 ppm に観測された. この領域には糖由来シグナルが観測される. 烏梅含有糖成分が抽出されているのかもしれない. しかし, カルボン酸由来シグナル領域はクエン酸とリンゴ酸と同シフト値シグナルのみであり, 酸成分はリンゴ酸とクエン酸の混合物であることが明示された. クエン酸, リンゴ酸ともに 2 価の弱酸で, 赤色色素沈殿析出 pH 6.3 に導くには最適である.

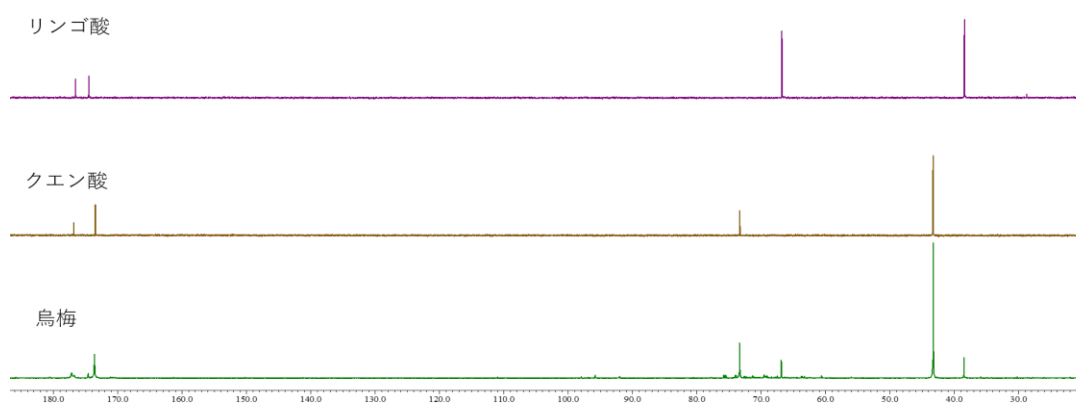


Fig. 3.4.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of malic acid (top), citric acid (middle) in  $\text{D}_2\text{O}$ , and Ubai extract in  $\text{D}_2\text{O}$  (bottom) at  $30^\circ\text{C}$ .

### 3.4. 紅餅の化学分析

#### 3.4.1. 蛍光 X 線による元素分析

蛍光 X 線分析(Table. 3.3)法は炭素の分析はできない. 原子番号の高い元素で検出されなかった元素は表では除外している. Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn および Sr の 13 種



類の元素が検出された。生体存在元素で特別な傾向はない。カリウムが最も多く、ナトリウムは検出されなかった。

### 3.4.2. 固体 NMR

微粉碎紅餅の固体 NMR(Fig. 3.5)では、糖質炭素由来シグナル範囲、50 から 100 ppm に大部分のシグナルが観測された。また、二重結合やカルボニルなどの 4 級炭素観測範囲にもシグナルが存在する。カルサミンのカルボニルあるいは芳香族、二重結合由来のシグナルの存在を否定はできないが、ベニバナは多くの色素を含んでおり、そのほとんどが無色のキノカルコンからの代謝で合成される黄色色素で、カルサミンは 1 % に満たない。色素が含まれていることに間違いはないが、花卉細胞壁糖質が主要成分である。30 ppm 付近の鋭いシグナルは、帰属には至らなかった。花卉発酵物の NMR 測定報告がこれまでにないので、比較議論することができなかった。

Table. 3.3. X-ray fluorescence analysis of fermented safflower petals. (w/w%)

Element	w/w%
F	Not detected
Na	Not detected
Mg	0.08
Al	0.008
Si	0.03
P	0.09
S	0.1
Cl	0.1
K	0.6
Ca	0.5
Mn	0.003
Fe	0.01
Cu	0.002
Zn	0.003
Sr	0.0006

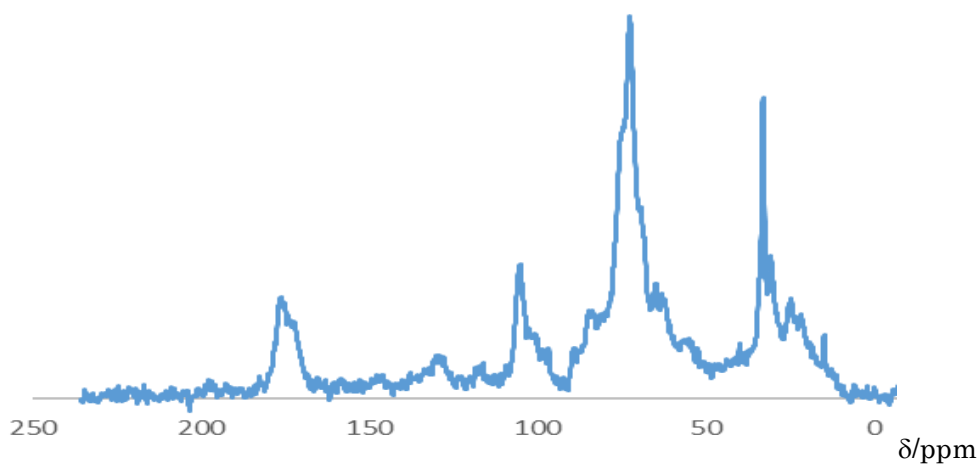


Fig.3.5. CP-MS NMR spectra of fermented safflower petals.

### 3.4.3. 有機溶媒抽出試料の分析

乾燥粉碎紅餅を重溶媒に浸漬し，超音波，遠心処理で得た抽出液は明らかに色調が異なる (Fig. 3.6). 比較として

精製乾燥カルサミンカリウム塩 (最左)，市販されているベニバナ原料化粧

紅 (小町紅；伊勢半;左から 2 番目) を示した. 紅餅含有色素の溶解性を反映

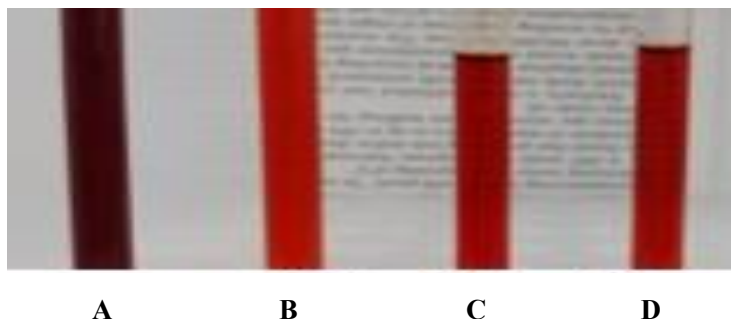


Fig. 3.6. Purified carthamin (A), Komachi-beni: commercially available (B) in DMSO, and extract from the fermented safflower petals with pyridine (C) and DMSO (D).

していると考えられる. 抽出条件は超音波 5 分で十分であり，これ以上長くても色調や色の濃度に変化はなかった. また，超音波処理後 2 週間静置したのち超音波処理を再度行ったが，乾燥粉碎紅餅を重溶媒に浸漬し，超音波，遠心処理で得た抽出液は明らかに色調が異なる (Fig. 3.6). 比較として精製乾燥カルサミンカリウム塩 (最左)，市販されているベニバナ原料化粧紅 (小町紅，伊勢半製; Fig. 3.6C) を示した. 紅餅含有色素の溶解性を反映していると考えられる. 抽出条件は超音波 5 分で十分であり，これ以上長くても色調や色の濃度に変化はなかった. また，超音波処理後 2 週間静置したのち超音波処理を再度行ったが，これも目視では変化が見られなかった. 伝統的精製法では冷水にて洗浄して黄色色素を除去とされている. 水抽出液の黄色は矛盾がない.

次に DMSO，ピリジン，メタノール，アセトン，水を重溶媒とした  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルをそれぞれ示す (Fig. 3.7, Fig. 3.8, Fig. 3.9, Fig. 3.10, Fig. 3.11). 濃度によって積算回数を調整したので定量的に比較することはできない. 目視で赤色であった DMSO，ピリジン抽出液はカルサミンに特徴的な 16 位シグナルが，はっきりと確認できた.

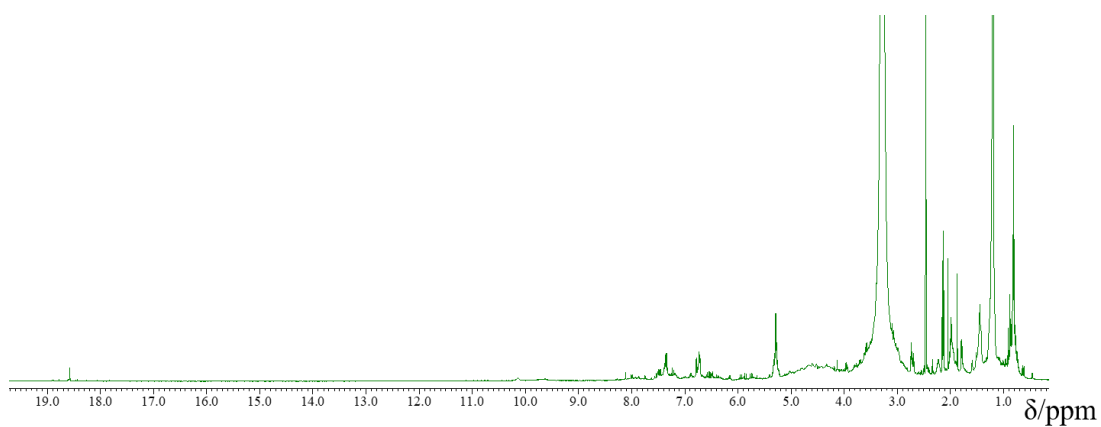


Fig. 3.7. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of fermented safflower petals extracted with DMSO-*d*<sub>6</sub>.

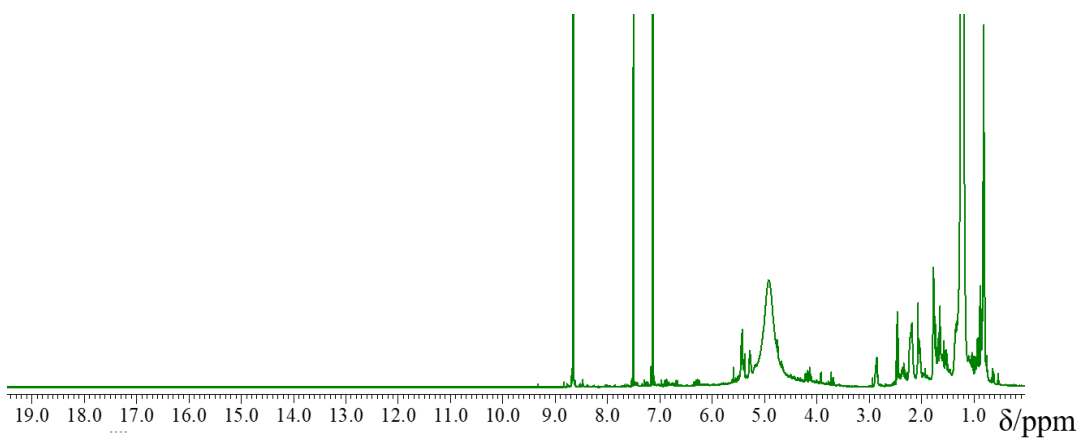


Fig. 3.8. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of fermented safflower petals extracted with pyridine-*d*<sub>5</sub>.

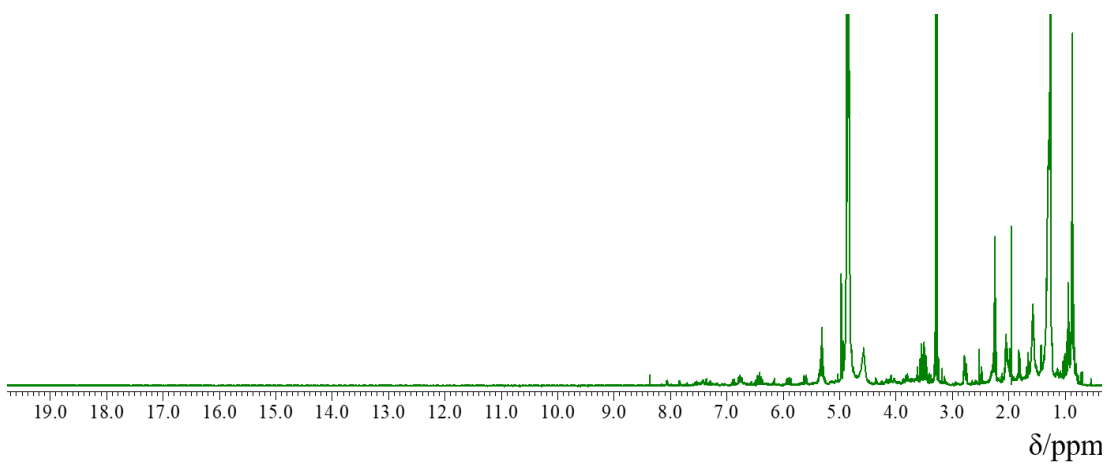


Fig. 3.9. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of fermented safflower petals extracted with methanol-*d*<sub>4</sub>.

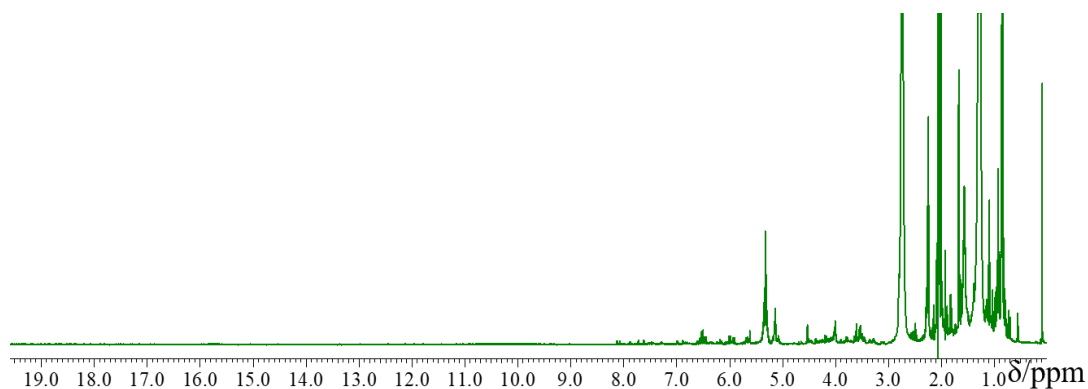


Fig. 3.10.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of fermented safflower petals extracted with acetone- $d_6$ .

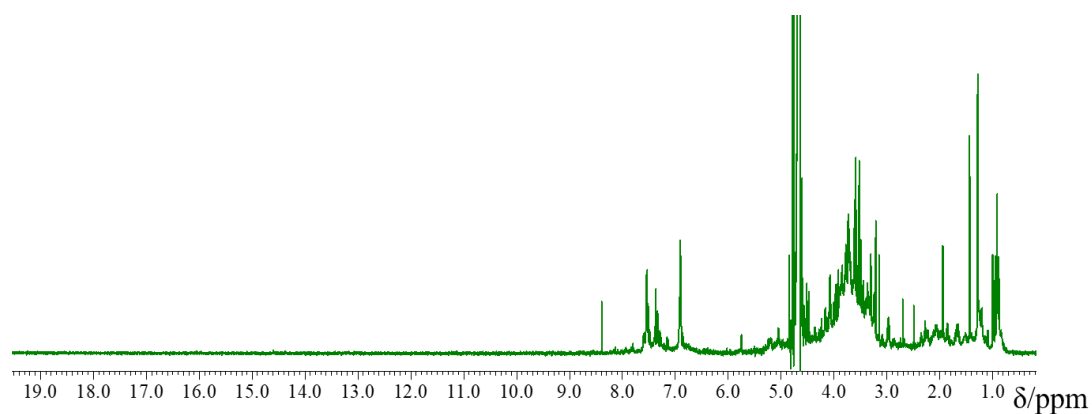


Fig. 3.11.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of fermented safflower petals extracted with  $\text{D}_2\text{O}$ .

18.89, 10 ppm 付近にはカルサミンカリウム塩の 5, 5'OH および 13, 13'OH 由来シグナルが観測されている。しかし, 5, 5'OH および 13, 13'OH 由来の 5, 5'OH シグナルよりやや高磁場, 18.6 ppm に大きな積分比を有するシグナルが観測されている。糖のシグナル範囲もブロードであり, サフロミン A, B などの黄色色素配糖体<sup>32</sup>などの, 種々の糖分子構造シグナルが重複観測されているのであろう。黄色色素サフロミンは水溶性であるが, DMSO にも可溶である。全色素中カルサミンは希少である。矛盾はない。重水でも, カルサミンカリウム塩と帰属されるシグナルが観測された。地方によっては梅酢を加えた水で洗浄する方法が伝承されている<sup>11</sup>。カルサミンカリウム塩は酸性水には溶解しない。これはカルサミン溶出を防ぐ役割である。既報ではアセトンやメタノールでカルサミンをカラムクロマトグラフィー

で分離している<sup>27, 28</sup>. しかし, メタノール, アセトンではカルサミン由来成分は全く観測されなかった. むしろ低磁場の不純物のシグナルが観測された.

### 3.5. 精製物の性状と分析結果

#### 3.5.1. 形状

固体の精製色素は緑色光沢を有し, 細粉碎しても目視で赤色は観察されなかった(Fig 3.2). しかし, 可溶媒溶液は赤色, まさに紅であった. 中性水には溶けないが, 水につけた筆で湿らせると, 紅色が観察された(Fig 3.12).

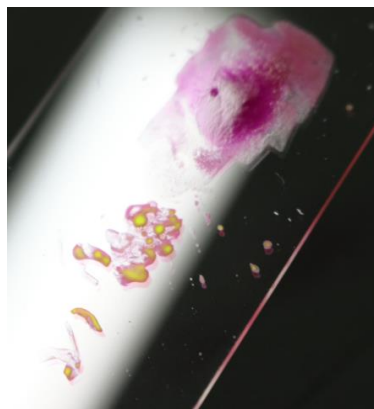


Fig. 3.12. Wet carthamin with water.

#### 3.5.2. 溶解性

DMSO, ピリジン, DMF, アルカリ水 (pH8 以上) に可溶であり, pH10 以上では易溶である. アセトン, メタノールには不溶であり, 緑色光沢粉体が無色透明溶液に舞っている状態となる. 空気中の水分が混入により, 液色がやや淡赤色を帯びる. 乾燥状態に溶解性は依存していることを示唆している. 染色アオソ繊維の溶媒滲出試験の結果と矛盾はない.

#### 3.5.3. 原子吸光分析

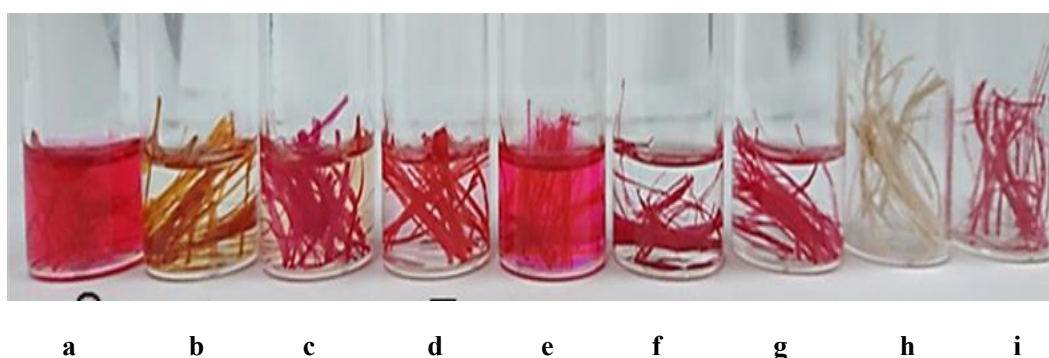


Fig. 3.13. Extraction from the dyed fiber by DMSO (a), DMF (b), neutral water (c), methanol (d), pyridine (e), chloroform (f), acetone (g), natural fiber (h) and dyed fiber without solution (i).

Table. 3.4. Elemental analysis of purified carthamin taking by atomic absorption spectrometry.

Element/run	Result/w/w%			
	1	2	3	average
<b>K</b>	9.71	10.4	9.89	10.1
<b>Na</b>	0.036	0.040	0.037	0.038

カリウムとナトリウムの定量の結果、平均値で10.1%のカリウムが含有されていた(Table. 3.4). カルサミンの分子量は910であり、カリウムの原子量は39である. 2章でプロトンシグナルが検出されなかった3'OH位が3'OKと1カリウム塩となっていると仮定すると、そのカリウム重量%は5%程度である. さらにもう1原子のカリウムが存在している可能性もある. しかし、原子吸光分析の感度ではこの程度の差異は誤差範囲であり、主成分がカルサミン1分子と2個のカリウムが存在していると確定はできなかった. しかし、カリウムが存在し、ナトリウムは存在していないことが明らかとなった.

### 3.5.4. 質量分析

MALDI-TOFMS 法では種々条件をかえて測定をしたが、カルサミン分子量910あるいはそのナトリウム、カリウム付加ピークは検出することができなかった(Fig. 3.14). ESI-MS 法での報告はある. 通常の ESI-MS では930 および950 付近に強いピークが観測され、カルサ

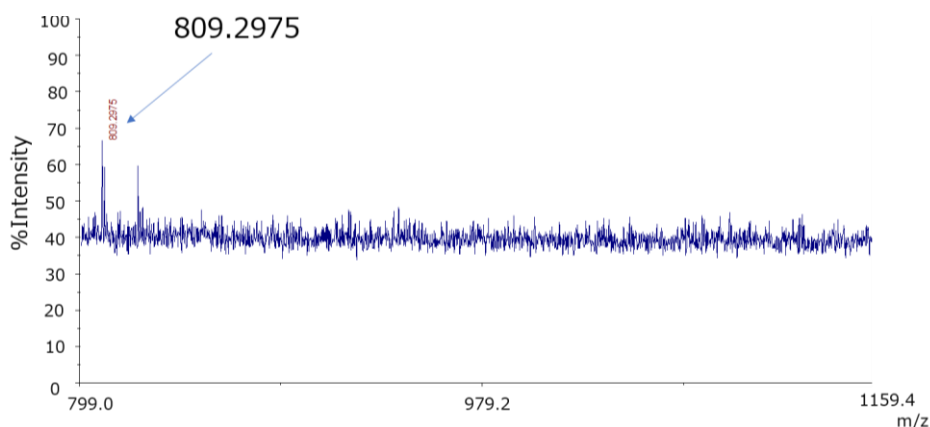


Fig. 3.14. MALDI-TOFMS spectrum of carthamin potassium salt.

ミン+Na, カルサミン+K のピークが観測された(Fig. 3.15). 通常, 質量分析ではガラス器具中に含まれる Na, K がまとまったピークが観測される.NanoESI-MS を示す(Fig. 3.16). 本イオン化法は金属錯体や塩もそのままイオン化できる. ナトリウム塩か, 化合物自体がカリウム塩なのか確定できない.NanoESI-MS 法の結果高分子量領域を拡大すると, 971, 987, 1009,

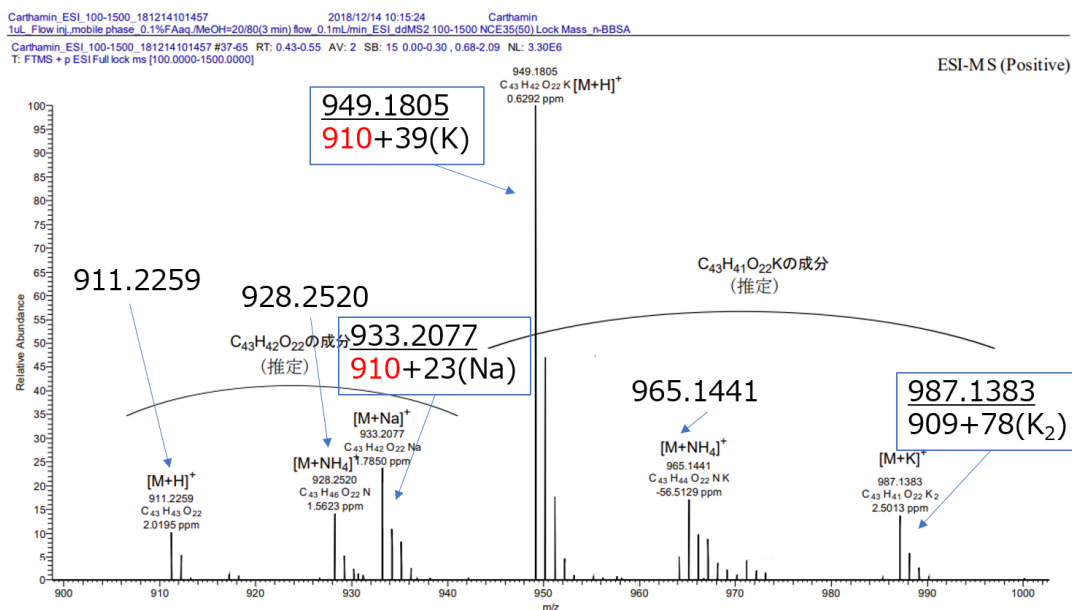


Fig. 3.15. ESI-MS spectrum of carthamin potassium salt.

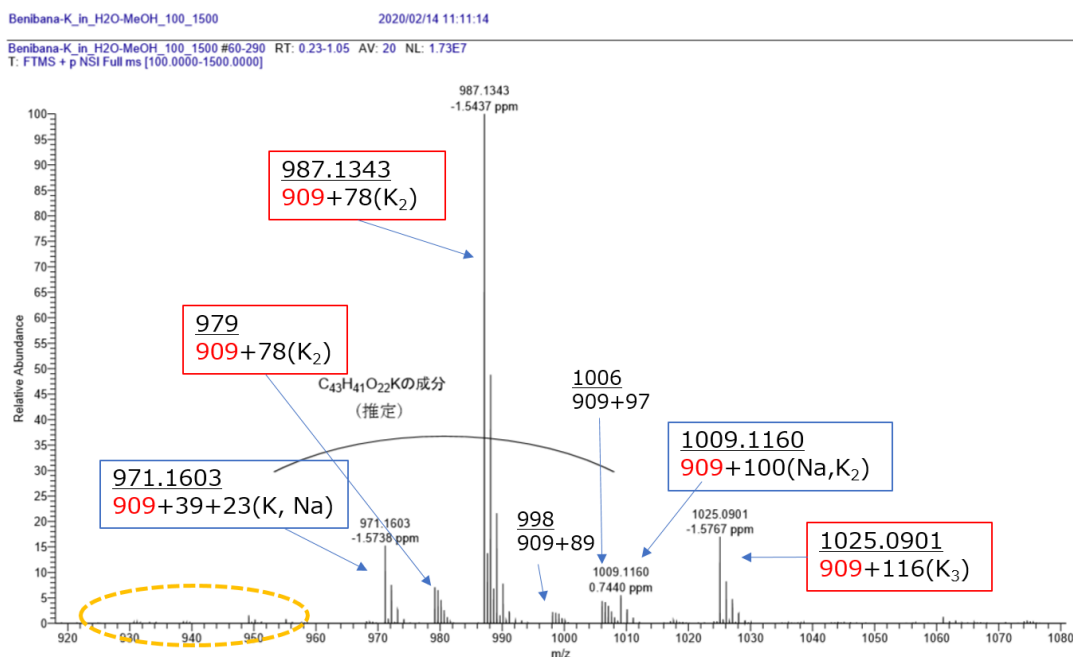


Fig. 3.16. NanoESI-MS spectrum of carthamin potassium salt.

1025 のピークが観測され, 909+39+23, 909+39+39, 909+23+39+39, 909+39+39+39 に対応する. 分子型カルサミンは分子量 910 であるので, 塩が存在していなければ, 933, 949 のピークが観測されるはずであるが, いずれも観測されなかった. 伝統的精製を元に本研究で精製した赤色素カルサミン誘導体はカリウム塩であることが明らかとなった. さらにもう一つのカリウムが錯体のような形で複合体を作っている可能性も否定できない. この結果は  $^1\text{H}$ -NMR で 3'OH の H が観測されず, 3'O-K<sup>+</sup>となっているとした 2 章の仮説とも, 原子吸光分析結果とも矛盾しない.

### 3.5.5. NMR スペクトル

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR はともに再現性良く第 2 章 Fig. 2.1 および Fig. 2.8 と同様のスペクトルが得られた. 固体 NMR スペクトルでは, 0 から 200 ppm の広い範囲にブロードなシグナルが観測された(Fig. 3.17). 低磁場側から, グルコース, 環状二重結合, 二重結合, 芳香族, アルコールおよびカルボニル基に対応するシグナルが観測された. 光沢固体形状から結晶構造が期待されたが, 結晶性はないことが示唆された.

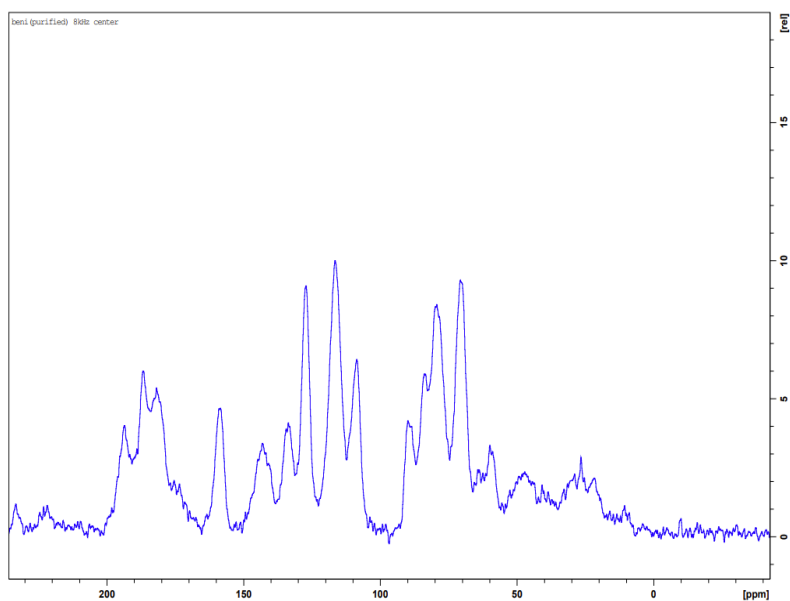


Fig. 3.17. CP-MS NMR spectra of purified carthamin purified by modified traditional method; instrument; Bruker AVANCE III, contact time: 2 ms, rotational speed: 8 KHz, reptation time: 5 s.



### 3.6. まとめ

伝統的手法と材料および精製物を詳細に化学分析し、伝統的方法を化学的実験室方法に化学翻訳した。カラムクロマトグラフィー操作なしに、再現性の良い方法を確立した。前章の NMR の仮説と NanoESI-MS により、伝統的手法で精製された「笹紅」、カルサミンはカルサミンカリウム塩であることが判明した。塩となっている部位は3'位である。市販されているベニバナ由来化粧紅もカルサミンカリウム塩であろう。光により、緑色＝笹色は消失するが、不安定性は長期常温真空乾燥によって忌避できることがわかった。有機溶媒中での保存性も合わせると、水がカルサミンの安定性に関係している。さらに、紅餅抽出実験の結果は、予洗などの作業工程付加により精製収率向上の余地があることを示唆している。2章で5-OHと7カルボニル間の水素結合を発見したが、カルサミン水素結合は比較的強く赤色発色のための長い共鳴構造の維持に寄与しているのかもしれない。

#### 【実験項】

##### 試薬および原材料

紅餅、アカザ灰、烏梅、青苧は2章と同様のものを使用した。稲藁灰もアカザ灰と同様に提供を受けたものを処理し、アカザ灰汁と同様にして作成した。重溶媒は関東化学株式会社製を用いた。

##### カルサミンカリウム塩

2章と同様に精製したものをを用いた。

##### 紅餅の抽出

紅餅を遮光室温下、2週間真空乾燥後、乳鉢で微粉化した。約40mgの微粉化紅餅をマイクロ遠沈管に入れ、0.75mlの重ジメチルスルホキシド、重ピリジン、重エタノール、重メタノール、重アセトン、重水をそれぞれ加え、超音波で5分間処理し遠心分離とデカンテーション

ンで固形物を除き NMR 試料管に移した。抽出条件の検討のため、超音波処理と分離までの時間を変えた試料を作成した。

## 紅餅作成

厚木市飯山東京工芸大学キャンパス内でベニバナを栽培した。黄色にやや赤みの差した時期にベニバナ生花 100 輪を摘んだ。25.9 g の新鮮花卉に、希釈酸性溶液（梅酢 3 滴/イオン交換水 100 ml）を加え、攪拌し、黄色素を抽出した。乾燥を避けて、冷暗所で 50 時間静置した。静置後、花卉の色が赤みが強くなってきたことを確認し、やや粘りがでる程度まで石臼で突き潰した。さらに 8 時間冷暗所に静置したのち、手で団子状に丸めてプラスチック製の網の上に置き、揃えた手指で押しつぶし、成形した。これをドラフトに置き、常温、相対湿度 52% 下、60 時間強制通風乾燥をし、4.50 g の紅餅を得た。

## 測定機器

NMR は JEOL JNM-ECZ500R (日本電子(株)製) を用い、2 章と基本的には同様に測定した。固体 NMR は Bruker AVANCE III を用い、CPMAS で、contact time 2 ms, rotational speed, 8 KHz, reptation time, 5 s で精製カルサミンカリウム塩は NaCl を混ぜて測定した。質量分析はサーモフィッシャーサイエンティフィック社製でイオン化した NanoESI 法, ESI 法, TOF-MS 法を用いた。K, Na の原子吸光分析は日立ハイテクノロジーズ製 Z-2300 型原子吸光分析装置を用いた。蛍光 X 線分析は試料を加圧成型したのち、理学電機工業製 X 線分析装置 ZSX PrimusII にて管球 Rh 測定雰囲気真空中、測定面  $\phi 30$  mm, アカザ灰は測定範囲 5B~92U (C 除く)、稲藁灰と紅餅は 7F~92U で、分光結晶 LiF はシンチレーションカウンターを検出器に、LiF, Ge, PET RX25, RX40, RX61 はガスフロー比例計数管を検出器として測定した。

## 第4章 実験室的精製法の検証

前章では伝統的手法の詳細な化学分析と紅がカルサミン 3' O カリウム塩であることを証明した。市販されているベニバナ由来化粧紅もカルサミンカリウム塩と思われる。これまでの実験室での精製ではアルカリ性液に炭酸ナトリウムを、酸性液にクエン酸を使用して、カリウムを用いた例はない<sup>27-30, 33</sup>。本章ではアカザ灰を同 pH の NaOH アルカリ溶液にかえて精製を行った。得られた紅の NMR, NanoESI-MS, 原子吸光分析の結果について言及する。

### 4.1. 水酸化ナトリウムアルカリ液使用精製物

Fig. 3.1 のアカザ灰汁の代わりに NaOH 溶液(pH 12)を用い、それ以外の処理は全く同様に扱った。赤色沈殿を遠心処理で得た。赤色泥状物を塗布し、風乾すると表面は緑色を示した。直ぐに微赤橙色粉末状となり、光沢は観察されなかった。DMSO に溶解すると赤色であったが、色調がやや異なっていた(Fig. 4.1)。

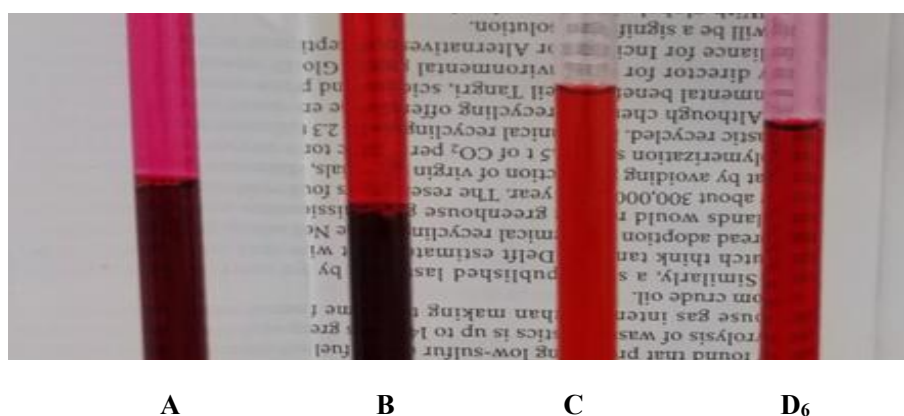


Fig. 4.1. Visual observation of purified carthamin taking by traditional method indicating in section 3, using NaOH solution as an alkaline solution instead of Akaza ash solution: conc. solution (B) and dilute solution (C) in DMSO-*d*<sub>6</sub>; purified carthamin K salt (A) and Komachi Beni, commercialization of product (D).

## 4.2. $^1\text{H}$ -および $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル

水酸化ナトリウムを用いて精製したカルサミンの  $\text{DMSO-}d_6$  における  $^1\text{H}$ -NMR および  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルをそれぞれ示した(Fig. 4.2, 4.3). スペクトルパターン概観は精製カルサミンカリウム塩のスペクトル(Fig. 2.1, 2.8)と同様であるが, 詳細に確認すると, 精製カルサミンカリウム塩では観測されなかった積分比が小さいシグナル群が観測された. 5, 5'OH, 13, 13'OH, 11, 11', 12, 12', 14, 14', 15, 15', 8, 8', 9, 9' の芳香族及び二重結合由来のシグナルも, そのシグナル群の存在でより複雑に観測され, 分裂なのか, 新たなシグナルの存在なのか判別しにくい. 糖由来のシグナルもブロードなシグナルが観測されているが, いくつかの種類シグナルが重複している可能性がある. 紅餅  $\text{DMSO}$  抽出液の NMR (Fig. 3.7) でも, 同じシフト領域にブロードではあるが多くのシグナルが観測されている. すなわち, 異なる環境のグルコースが存在していることを示唆している.

デカップリングしている  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルのシグナルパターンの違いは顕著である. 精製カルサミンカリウム塩では 23 シグナルしか観測されなかったのに対し, 水酸化ナトリウムで処理した生成物は 60 ppm より高磁場の範囲で 49 シグナルが観測されている.  $\text{DMSO}$  のメチル基より高磁場でも多くのシグナルが観測された. 複雑すぎて帰属には至らなかったが, やや構造の異なる誘導体が混じっている可能性がある.

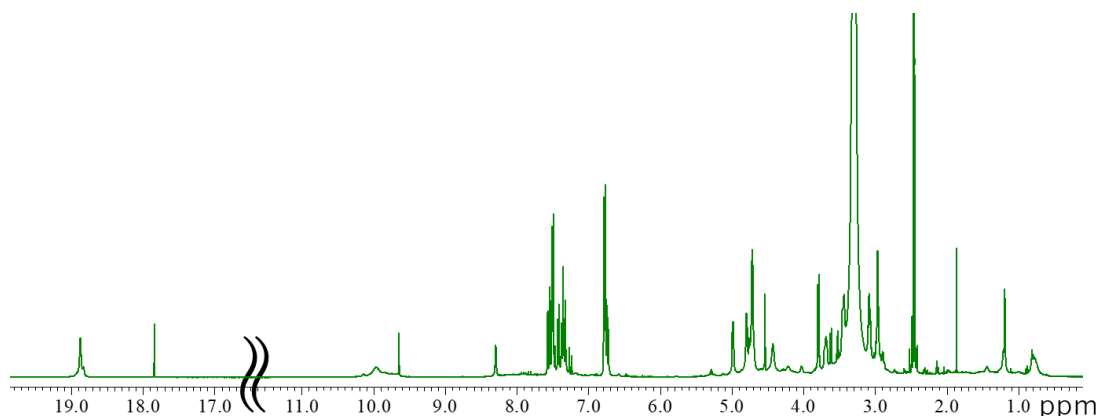


Fig. 4.2.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of purified carthamin under treatment with NaOH solution instead of Akaza solution in  $\text{DMSO-}d_6$ .

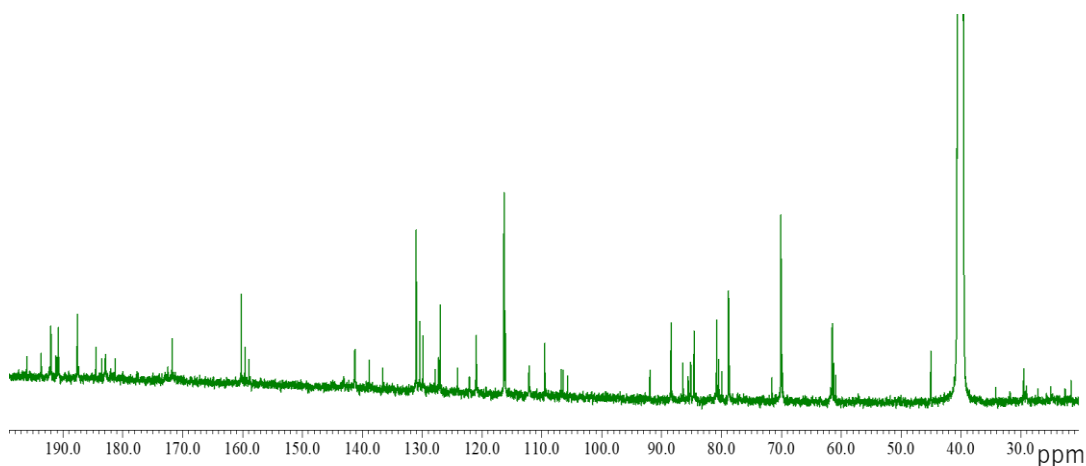


Fig. 4.3.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of purified carthamin under treatment with NaOH solution instead of Akaza solution in  $\text{DMSO-}d_6$ .

### 4.3. NanoESI-MS 質量分析

最大強度ピークは 955, 909+23+23 であった(Fig. 4.4). 971, 909+23+39 のピークも検出された. 水酸化ナトリウムを用いても, 「紅」は塩として存在している. 伝統的手法でカリウム塩としたときのようにナトリウムが 3 原子あるいはナトリウム 2 原子にカリウム 1 原子の

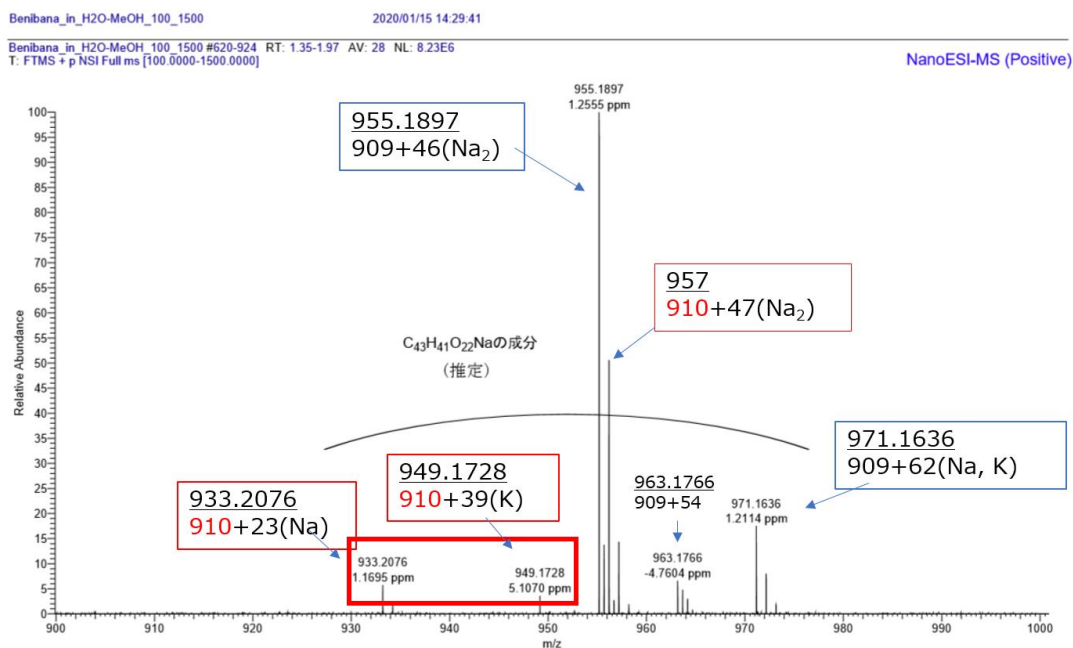


Fig. 4.4. NanoESI-MS spectrum of purified carthamin under treatment with NaOH solution instead of Akaza solution.

ピークは観測できなかった。興味深いことに、アカザ灰処理では観測されなかった、分子型カルサミン由来のピーク、 $933=910+23$ ,  $949=910+39$ ,  $957=910+23+23$  が観測された。957 のピークに相当する化合物はどのようにナトリウム原子が相互作用しているのか現段階では不明である。いずれにせよ、全てが塩あるいは一部錯体の状態で検出されたカリウム精製カルサミンと異なり、分子型カルサミンが存在し、カルサミンはナトリウムよりもカリウムと塩を作りやすいことが判明した。カリウムは紅餅に存在しているので(Table 3.3), 紅餅あるいは乱花を原材料とする限り、カリウム塩が存在している理由ではないかと考えられる。

#### 4.4. 原子吸光分析

ナトリウム処理のカルサミン原子吸光分析の結果ナトリウムは 6.3%程度でカリウムも 1.2%ほどしか存在せず(Table 4.5), 合計してもカリウム処理カルサミン(Table 3.4)と比較して少ない結果となった。

Table 4.5. Elements analysis of purified carthamin taking by the treatment with NaOH solution instead of Akaza solution.

Element/run	Result/w/w%		
	1	2	average
<b>K</b>	1.23	1.24	1.23
<b>Na</b>	6.32	6.30	6.31

#### 4.5. まとめ

カリウム塩の安定性を証明するため、アカザ灰を同 pH の NaOH アルカリ溶液にかえて精製を行った。得られた紅の NMR, NanoESI-MS, 原子吸光分析の結果, 紅は精製したが, 緑色光沢はすぐに消失し, 乾燥とともに粉末化してしまい, 明らかに色調も異なっていた。NMR における複数のシグナルは複数の状態のカルサミン分子存在を裏付ける結果となった。ナトリウム処理では, 不純物の存在が示された。NanoESI-MS の結果, 分子型カルサミンの存

在が確認された。アカザ灰汁処理精製で示唆されたカリウム 2 原子錯体と同様のナトリウム 2 原子錯体は検出されなかった。また、試薬でカリウムは全く使用していないのに、1%以上のカリウムの存在が確かめられた。カリウムは紅餅に存在しているので、紅餅あるいは乱花を原材料とする限り、カリウム塩が存在している理由ではないかと考えられる。これが安定性と緑色光沢発現に関係していることは確かである。これまでの実験法では炭酸ナトリウムをアルカリ溶液として使用していた<sup>27-30, 33</sup>。また、全合成カルサミンは当然分子型である<sup>25</sup>。これがまさにカルサミン MS スペクトルの測定が難しかった理由ではないか、NMR シグナル帰属が完成しなかった原因ではないかと考えられる。無機元素分析と金属錯体もそのままイオン化できる測定法によりカリウム塩カルサミンの質量分析結果が得られた。カルサミンの化学的不安定の理由も脱塩処理やナトリウム処理のためであると思われる。紅の安定性は無機元素カリウムが鍵であることを、化学的に示すことができた。

## 【実験項】

### 試薬および原材料

紅餅、烏梅、青苧は 2 章と同様のものを使用した。重溶媒は関東化学株式会社製を用いた。

### カルサミンの精製

アカザ灰汁を 0.01M 水酸化ナトリウム液(pH 12)に変えた以外は、第 2 章と同様に行った。乾燥紅餅を木綿の布袋に入れ、イオン交換水に浸し、10°C で 48 時間暗所に静置後、紅餅を揉みほぐし、新たにイオン交換水を加え、1 時間静置したのち水洗し、絞った。同様の操作を全 4 回繰り返して黄色色素と花粉を除いた。あらかじめ調整した 25°C に冷却した水酸化ナトリウム液(pH 12)を適量加えて揉み混ぜ、10 分後、ナイロン製 200 メッシュの網で絞り、赤色液を得た。この操作を数回繰り返し、濃赤褐色溶液を得た(pH 10.4)。この溶液に風乾したアオソ繊維を浸漬し、梅酢酸性溶液を加え、黄褐色となった染液(pH 6.4)にしばらく静置した。赤色に染色されたアオソ繊維を 76 倍希釈した梅酢で洗浄し、余剰染色液を絞ったのち

風乾した。染色アオソ繊維に新しい pH 12 の水酸化ナトリウム液を少しずつ繰り返し繊維に滴下し、赤色を抽出した。抽出液を東洋濾紙製 ADVANTEC No.1 および MILLEX AA Filter Unit 0.8  $\mu$ m Millipore Ltd. で濾過し、梅酢酸性溶液(pH 2.6)を加え、pH 6.3 に調整すると、泥状の赤色沈殿物が生じた。さらに 15 分遠心分離(3500 r.p.m.)し、泥状物を、石英板に塗布し、遮光下、室温で風乾した。粉末状となり、そのまま真空乾燥ができないので、サンプル瓶に移して 14 日間真空乾燥して赤橙色粉末状固形物を得た。薄層クロマトグラフィー (TLC) は 1 スポットで、Rf 値 0.42 であった。なお展開溶媒はブタノール、酢酸、水 4:1:5 の上清液を用いた。無機元素分析によるとカリウム (K) は 1.23 % w/w, ナトリウム (Na) は 6.31 % w/w であった。

#### **測定機器**

NMR は JEOL JNM-ECZ500R (日本電子(株)製) を用い、2, 3 章と基本的には同様に測定した。サーモフィッシャーサイエンティフィック社製でイオン化した NanoESI 法を用いた。K, Na の原子吸光分析は日立ハイテクノロジーズ製 Z-2300 型原子吸光分析装置を用いた。



## 第5章 緑色様光沢機構の解析と分子構造

ベニバナ由来赤色素カルサミンは、カリウム塩であっても分子型であっても、液状あるいは繊維等に染み込ませた状態では赤色調である。ところが、固体乾燥膜状態では緑色の金属様光沢を示す。低濃度のカルサミン溶液の透過スペクトルは、緑色光波長に対応する 550 nm に吸収極大を有し、この波長光を強く吸収する<sup>34</sup>。本章では、紅色素表面の色調観察、反射スペクトル測定と偏光フィルターを使用した偏光観察を行い、金属様光沢の発色機構解析した結果について論ずる<sup>35</sup>。さらに、固体膜表面での分析が可能な FT-IR およびラマン散乱分光法での比較検討からカルサミンカリウム塩分子構造と固体膜緑色金属様光沢との相関性について論ずる<sup>36</sup>。さらに、偏光度の変化について検討し、カルサミンの赤色、緑色金属様光沢の特異性について指摘する。なお、本章で扱う紅色素は、前章までに論じたカルサミンカリウム塩と同様の方法で作成した色素をイオン交換水で懸濁し塗布して使用した。この章では紅色素と表現した。

### 5.1. 金属様光沢と発色機構の解析

#### 5.1.1. 紅色素膜（カルサミンカリウム塩色素膜）の色調観察

ミラー状金属板を下地として、黒色の基盤に紅色素液を滴下（膜厚 2.5  $\mu\text{m}$ :1）、毎分 1000 回転でスピコート（膜厚 0.05  $\mu\text{m}$ :2）、毎分 3000 回転でスピコート（膜厚 0.03  $\mu\text{m}$ :3）、無色透明のスライドガラス基盤に滴下（膜厚 2.4  $\mu\text{m}$ :4）、毎分 1000 回転でスピコート（膜厚 2

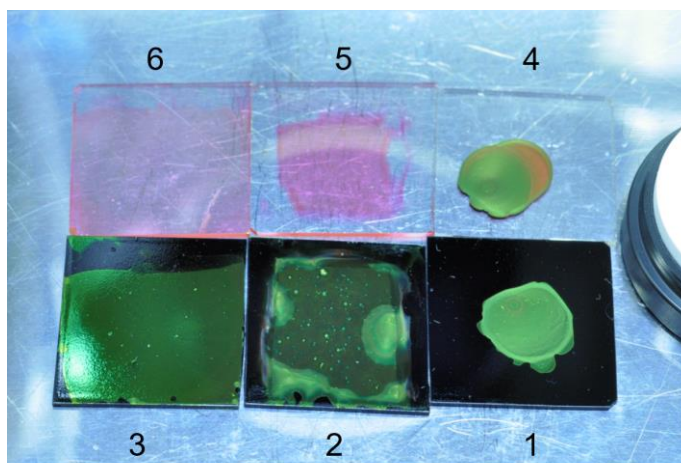


Fig. 5.1. Optical image of the safflower red pigment films immobilized on the black base (1-3) and the slide glass (4-6). Film thickness: 2.5  $\mu\text{m}$  for 1, 0.05  $\mu\text{m}$  for 2, 0.03  $\mu\text{m}$  for 3, 2.4  $\mu\text{m}$  for 4, 0.2  $\mu\text{m}$  for 5, 0.1  $\mu\text{m}$  for 6<sup>35</sup>.

$\mu\text{m} : 5$ ), 毎分 3000 回転でスピコート (膜厚  $0.1 \mu\text{m} : 6$ ) して得られた紅色素膜の白色光源下における写真画像を示す. 黒色基盤上では膜厚に関係なく緑色光沢が観察された. ガラス基盤上では滴下した厚膜は緑色光沢が観察されたが, スピコートした薄膜では赤色に観察された. 色素膜がおよそ  $1 \mu\text{m}$  以下の膜厚では下地からの反射により色素膜の吸収による赤色色素が観察されたと考えられる(Fig.5.1).

### 5.1.2. 紅色素膜の反射スペクトル

Fig.5.1 の膜 1 から膜 6 それぞれに, 色素膜表面法線から角度を  $15^\circ$  離して白色光を入射および反射させて拡散反射スペクトルを測定した(Fig.5.2). 色素膜厚や基盤が異なっても,  $550 \text{ nm}$  付近に極大を有する反射スペクトルが得られた.  $550 \text{ nm}$  の極大波長は緑色光に対応する. 目視で赤色に観察された薄膜ガラス基盤固定化膜(Fig.5.1, 5, 6)にも  $550 \text{ nm}$  を極大とする反射が観測された. すなわち, 目視で赤色に見える場合でも緑色反射光が含まれていることが明らかになった. さらに, 滴下膜 1 以外の, 無色透明ガラス基盤上における  $600 \text{ nm}$  以上の反射光の低下は, 色素膜透過光の下地ガラスに対する反射によるものと考えられる. 紅色素成分であるカルサミン分子構造から水溶液での蛍光発光は  $600 \text{ nm}$  以上であると推測される. 純物質の固体膜では蛍光は発生しない. したがって, ここで観測された  $600 \text{ nm}$  以

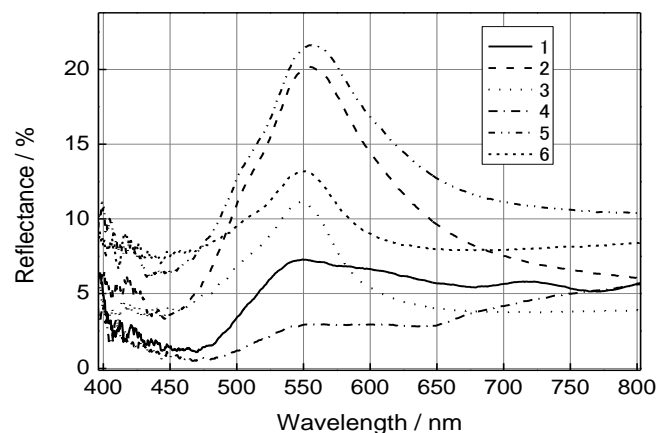


Fig. 5.2. Specular reflection spectra of the safflower red pigment films immobilized on the black base and the slide glass. Incident angle and reflected angle were  $15^\circ$  and  $15^\circ$  for surface normal, respectively<sup>35</sup>.

上の反射成分は下地からの反射,あるいは散乱成分と考えられる. 黒色基盤,無色透明ガラス基盤いずれでも,紅色素厚膜では反射率の値が非常に低い. 色素膜表面の凹凸による光散乱が生じていると考えられる. 反射率の屈折率依存性や,劣化緑色光沢の最表層を注意深く除去による光沢再生から,この反射光は色素膜最表層で生じていると考えられる<sup>3</sup>.

スライドガラス上に固定化した紅色素膜(Fig.5.1, 5)の色素膜表面法線から光入射角を15度に固定して反射検出角度を1度ずつ変えて測定すると,検出角度のわずかな増加が急激な反射率減衰を誘導した. どの色素膜でも反射角から5度異なると反射は検出できない. すなわち,紅色素膜表面の凹凸による拡散反射成分は少ないことが示された.

Fig. 5.3 に紅色素膜 3(Fig.5.1)の色素膜表面法線からの入射角度と検出角度を等しくして角度を変化させた結果を示す. 550 nm 付近に観測される反射極大波長は15度から60度までの広い角度範囲でほとんど変化しない. この結果は,紅色素膜の正反射色調(金属様光沢)は角度非依存性であることを示している. 以上の結果より,紅色素膜緑色反射はブラッグの式に従うような多層構造による構造色ではないことが明らかとなった. また,角度増加

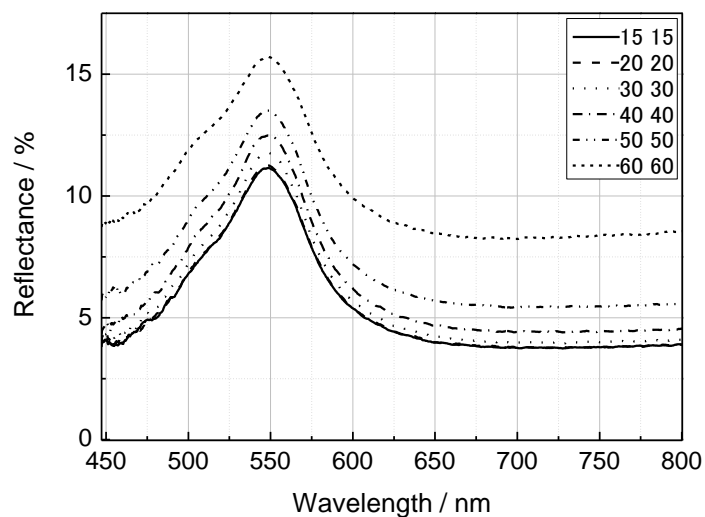


Fig. 5.3. Specular reflection spectra of the safflower red pigment film immobilized on the black base<sup>35</sup>.

に従う反射率増大は、色素膜表面法線からの角度増加により光が膜内に入り込み、吸収・透過成分光減少と、表面反射光成分増加を反映している。

### 5.1.3. 偏光観察

Fig5.4 に無偏光であるフラッドランプ白色光に対して入射、反射  $45^\circ$  の正反射時に円偏光フィルターと直線偏光フィルターを通して観察した場合の露出固定化の写真画像を示した。膜の配置は Fig.5.1 と同様である。フィルター回転により  $45^\circ$  正反射による基盤表面の直線偏光が遮断されているため、色調が少し変化している。この結果は、緑色反射がコガネムシ外皮の金属光沢のような多層構造や円偏光を反射するキラルネマチック微細構造から生じてはいないことを示唆している。さらに、直線偏光フィルターのみを通した際の観察結果から、紅膜緑色反射は誘電物体膜などの表面により生じる偏光反射とは異なり、偏光成分の少ない金属反射のような性質を有していることが判明した。

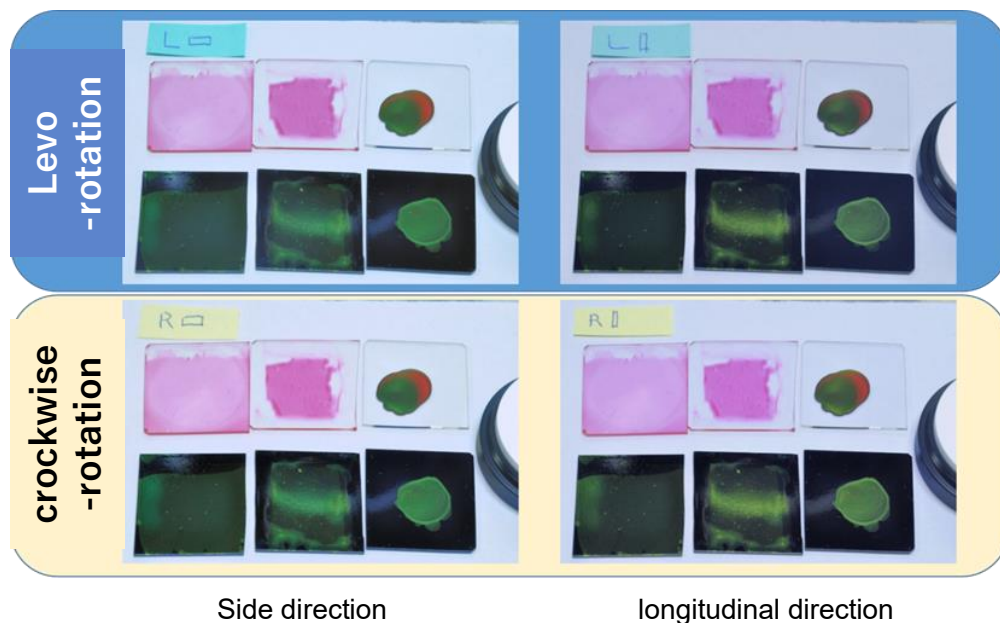


Fig.5.4. Circular polarized optical images of the safflower red pigment films immobilized on the black base and the slide glass<sup>35</sup>.

#### 5.1.4. 金属様光沢の発色機構

紅色素膜の 550 nm に現れる緑色金属様光沢には正反射の極大波長角度依存性は現れなかった。すなわち、紅色素膜の緑色は玉虫色ではないことが明らかとなった。さらに、反射光全体に対する拡散反射成分が極めて少なく、偏光成分もあまり含まれていないことも明らかとなった。これらの結果は、紅色素膜緑色反射光が、層状構造などの構造色に起因するものではなく、金属様反射であることを示唆している。緑色金属様光沢は、無色透明ガラス基盤上よりも、黒色基盤上で鮮明に観察された。これは無色透明ガラス基盤では 600 nm より長波長の反射光が現れるが、黒色基盤では 550 nm の反射だけが観測しやすいことによると考えられる。無色透明ガラス基盤上で観測された成分は色素膜を通過して白色下地基盤に反射した成分が、再度色素膜を通過し観測された透過成分であると考えられる。色素厚膜や無反射の黒色下地上では透過光が吸収されるため、弱くなり、膜の最表面での反射が強くと現れたとの解釈で矛盾なく説明することができる。

## 5.2. 紅緑色金属様光沢とカルサミン分子構造関連性

前節で、紅色素膜の 550 nm に現れる緑色金属様光沢は玉虫色ではなく、構造色でもなく、偏光成分も少ない金属様反射であることを明らかにした。しかし、緑色反射を示している化合物は 2, 3, 4 章で明らかにしたように、分子量 948 の有機塩である。配糖体でもある。分子構造と緑色金属様反射の相関性について論じる。

### 5.2.1. 緑色反射と色素の吸収の関係

紅色素膜へ 139 分間、白色光照射すると、緑色金属様反射の完全に消失が目視で確認された。紅色素膜の反射スペクトル(Fig.5.5)の白色光照射の効果と比較すると、緑色光に相当する波長 550 nm 付近の反射が光照射後ほぼ消失している。目視では紅色素膜の透過色は、紅からオレンジ色に変化した。Fig.5.6 に紅色素膜の光照射前後の透過スペクトルを示した。

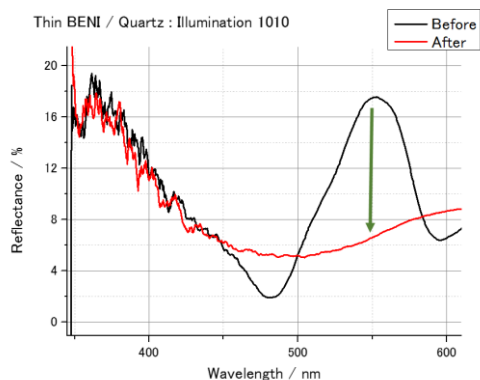


Fig. 5.5. Specular reflectance spectra of the safflower red pigment film (thickness: 80 nm) before and after the photo-illumination<sup>35</sup>.

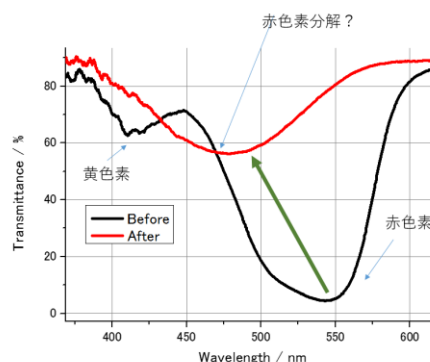


Fig. 5.6. Transmittance spectra of the safflower red pigment film (thickness: 80 nm) before and after the photo-illumination<sup>35</sup>.

照射前明確であった 550 nm 付近に極大を有する吸収は、光照射により減衰し、極大波長も 480 nm 付近に移動した。また、照射前に観測された 410 nm 付近を極大とするカルサミンの黄色吸収バンドも光照射により消失した。これらのことから、白色光照射により、紅色素カルサミンが分解して、他の構造へと変化した可能性がある。すなわち、紅色素膜の緑色光を吸収する化学結合が減少し、緑色反射も弱まったものと考えられる。分解生成物として、いくつかの構造が提案されている<sup>37</sup>。

### 5.2.2. 赤外反射・ラマン散乱スペクトルによる分子構造と緑色反射の相関の検討

光と物質の相互作用により反射、屈折、吸収などのほかに散乱と呼ばれる現象が起こる。入射した光と同じ波長の光が散乱されるレイリー散乱の他に、分子振動によって入射光とは異なる波長、ラマン散乱が現れる。ラマン散乱光はレイリー散乱よりも非常に微弱な光であるが、分子レベルの構造を解析できる<sup>38</sup>。前述した通り、紅色素緑色金属様反射は光照射によって消失する。白色光源光照射前後の FTIR スペクトルとラマン散乱スペクトルを Fig.5.7 と Fig.5.8 にそれぞれ示した。カルサミンは 1, 1', 3, 7, 7'位にカルボニル基を有している (Fig.1.1)。1515, 1585, 1624 cm<sup>-1</sup> のカルボニル基由来シグナルの減少が観測され、どのカ

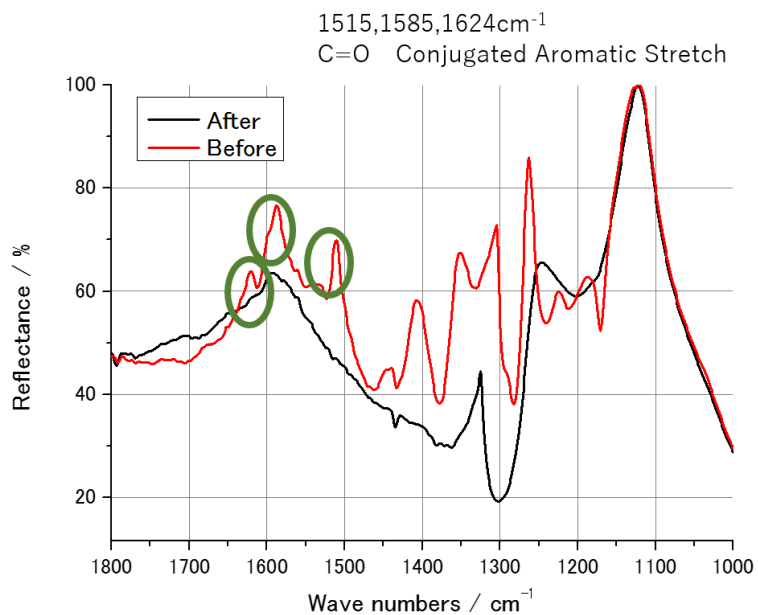


Fig. 5.7. IR spectra of the safflower red pigment film (thickness: 80 nm) before and after the photo-illumination<sup>36</sup>.

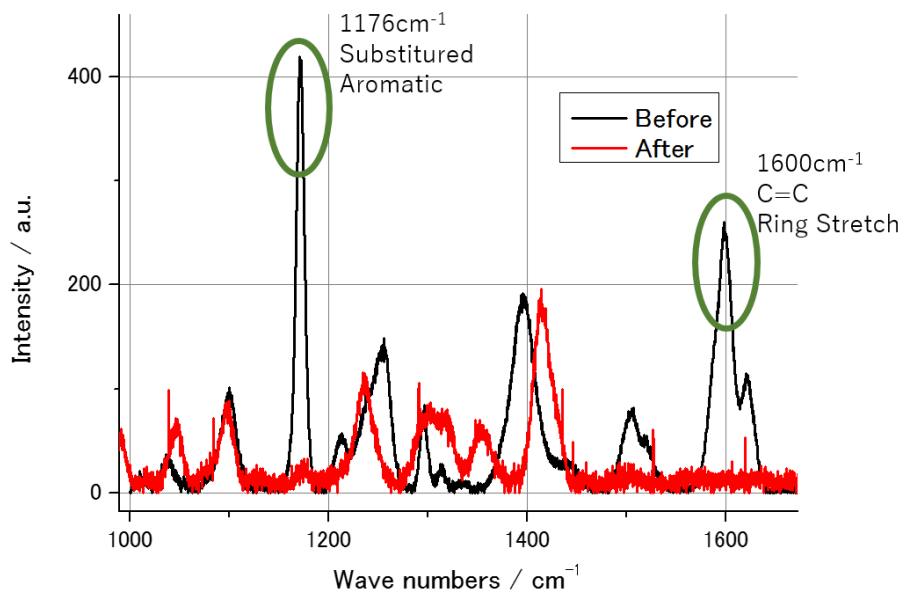


Fig. 5.8. Raman spectra of the safflower red pigment film (thickness: 80 nm) before and after the photo-illumination<sup>36</sup>.

ルボニルが特定には至らなかったが、光照射による、カルボニル基減少が起こっている。さらに、ラマン散乱スペクトルでは、1176, 1600  $\text{cm}^{-1}$  の置換芳香族、および二重結合由来の吸収ピークが著しく減少しており、2, 16, 8, 9, 8', 9'位間に存在する炭素二重結合による共役が短くなっていることが判明した<sup>39,40</sup>。

これらの結果は、紅色素膜の緑色金属様光沢の機構が前節, 5.2.1 の仮説「紅緑色光沢構造色起源の否定」を支持するものである。透過スペクトルからも明らかである、紅色素膜は550 nm 付近の光を吸収する化学結合を有している。この吸収と緑色反射の減少が連動していることは、緑色反射は紅色素の吸収を起源としているもの考えられる。以上の考察には興味深い現象が含まれている。それは、吸収する光波長と反射光波長が同じであるという事実である。塗装膜は吸収した光は透過もしくは反射して来ない、という一般的な現象に相反する現象がカルサミン膜では起こっていることである。

### 5.3 紅色素膜の偏光度の評価

前節において、(1) 紅色素膜が吸収する光と反射する光の波長（エネルギー）が同じであること、(2) その現象は一般の塗装膜とは異なることを指摘した。日常に視点を転ずれば、金属鏡の反射は誰もが経験していることである。適切な白色光の照明の下であれば、鏡に映る自分の顔色はその瞬間の自分の様子を再現している。顔で反射した色が鏡で反射し視覚で認識される。このとき、自分の顔色（波長）と映っている色（波長）が同じでなければ、鏡の意味をなさない。すなわち、金属の場合、金属結合間に存在する自由電子の振動と入射光の振動の共鳴後、即時に再放射が起こり、波長と位相が変化しない反射光を取り出すことができる。一方、ガラスや水などの誘電体でも、入射光と再放射光の波長が同じになる現象がある。これは金属の反射と機構が異なり、レイリー散乱として知られている。私たちが普通目にする光は、太陽や光源を直接見ない限り、ほとんどがレイリー散乱と言われている。金属の反射と誘電体の反射を比較すると、偏光反射特性が大きく異なるといわれている。



紅色素膜の緑色金属様反射機構解明のさらなるアプローチとして、偏光反射に着目し、いくつかの材料と紅色素膜の偏光反射特性を検討した。

Fig. 5.9 に真性半導体シリコンウエハーと紅色素膜の角度ごとの偏光反射の結果を全偏光, S 偏光, P 偏光をそれぞれ示した (フレネル反射率) . P 偏光に着目すると, シリコンウエハーでは角度を上げると反射率が減少し, 75° で反射率が 0% となる. すなわち, この角度付近で P 偏光を全く反射しない. これは無色の誘電体物質で観測される現象で, ブリュスターと言われている. ところが, 紅色素膜は開始時から偏光を含めた全体の反射率は小さく, 角度が増して S と P 偏光の差が次第に広がっていくが, シリコンと比べれば差は小さい. P 偏光の反射率が 0 になる角度は現れなかった. これらの偏光特性の違いをさらに詳しく評価するために, シリコンウエハーのほかに, ガラス基盤, アルミニウム鏡などの偏光反射率 (紅は 550 nm, 他は 600 nm) の角度依存性の値を元に, 5 種の物質の各角度における偏光度 (Degree of Polarization; DOP) を算出した. 偏光度の算出には以下の計算式を用いた.

$$DOP = (RS - RP) / (RS + RP) \times 100(\%) \dots \dots \text{偏光度の式}$$

ここで, DOP は偏光度, RS は S 偏光反射率, RP は P 偏光反射率を意味する.

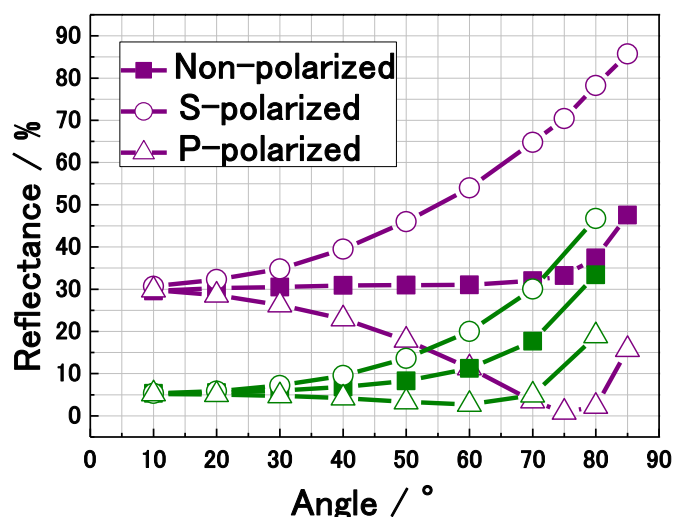


Fig. 5.9. Percentage of fresnel reflection of silicone wafer (purple line) and safflower red pigment film (green line).

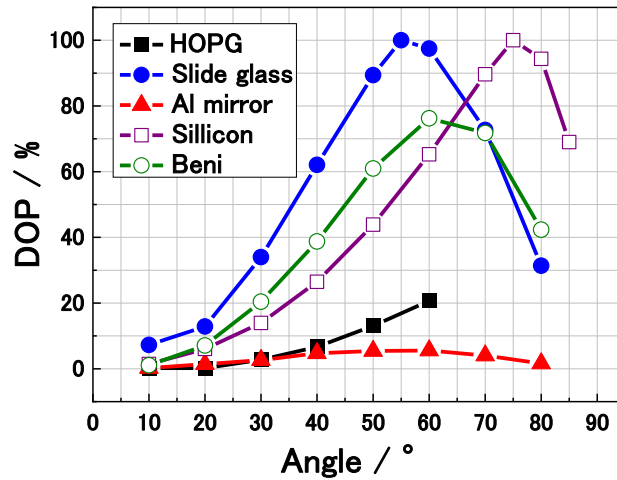


Fig. 5.10. Degree of polarization of Al standard reflector, HOPG, object glass, silicone wafer and safflower red pigment film.

算出した各角度の偏光度の値から光沢に関する2つの傾向が提示された(Fig. 5.10). 誘電体のスライドガラスおよび半金属 (電気伝導度が低い  $1.0 \times 10^{-3} \text{ Scm}^{-1}$ ) のシリコンウエハーでは、P 偏光の反射率が 0% になるブリュスター角が存 100% で大きく偏光した. 一方、金属の Al 反射板と半金属 (電気伝導度  $2.5 \times 10^4 \text{ Scm}^{-1}$ ) の HOPG では、偏光度は角度による変化が他の物質に比べて少なく、Al では最大でも数 %、HOPG では  $60^\circ$  でも 20% 以下であった. 紅色素膜の光沢は、これら 2 つの中間的な傾向といえる. すなわち、偏光度は最大 76% で、偏光度の角度依存性はあるが P 偏光の反射率が 0% にはならず、ガラスやシリコンウエハーとは異なる光沢であることが明らかである.

Al, シリコンウエハーおよびスライドガラスの偏光特性に関しての考察は過去の多くの研究に譲るとして、同じ炭素の共役系を有する HOPG と紅色素膜に関して考察する. 一般に、反射偏光特性は材料の配向に関係しているといわれている. HOPG の偏光度が小さいのは、試料反射表面に対して炭素共役結合平面 (002 面) が平行に配向しているため、遷移モーメントは平面的に存在し、この面に対して入射される電磁波に関してはどの方向にも結合電子が存在し、振動共鳴が可能なので、再放出できるため、反射が偏光しないものと考えられる. 本研究で対象としたカルサミンカリウム塩で形成された紅色素膜において、自由

キャリア（または自由電子）の存在を予測できるような電気伝導性は認められていない。たとえば、伝導機構では誘電体として分類される化合物でも、分散または消衰係数が存在する場合には、ブリュスター角が現れないことが知られている。色素膜内部のカルサミンにも炭素原子間の共役平面構造が存在し波長 550 nm の電磁波に共鳴し、再放出できるものと考えられる。しかしながら、基盤上への膜形成時に特段の配向処理は一切行っていない。そのため、自発的に膜表面方向に配向しているカルサミン（直線状分子）があまり多くないことが、遷移モーメントが一定にならず、偏光度の低い反射特性を誘起しているものと考えられる。

#### 5.4. まとめ

紅色素膜の波長 550 nm に現れる緑色金属様光沢は玉虫色ではなく、構造色でもなく、偏光成分も少ない金属様反射であることを物理的測定により明らかにした。紅色素膜への白光照射により、緑色光吸収の減衰と共に緑色金属様反射が消失することから、吸収と反射の強い相関性が存在しているものと考えられる。固体膜表面での分析が可能な FT-IR およびラマン散乱分光法で比較検討した結果、光照射によりカルボニル基の減少と炭素二重結合による共役の短縮が判明した。これらの緑色光吸収に関係した共役結合がまさに緑色反射の起源と結論付けられた。

分子構造全体と緑色金属様反射の分子レベルでの相関性については全解析には至らなかったが、この研究で、植物の代謝生合成有機化合物で配糖体でもあるカルサミンカリウム塩とその共役結合が固体膜で緑色金属様光沢を示す要因であることが判明した。

### 【実験項】

#### 紅色素

紅色素は第 2，3 章と同様の方法で本学実験室で紅餅から精製したものをを用いた。

## 測定

紅色素膜の反射光測定には、オーシャンオプティクス社製拡散透過・反射測定システム OP-TF/RF-GONIO-MN に光ファイバーでオーシャンオプティクス社製の DH-2000-BAL 重水素ハロゲン光源とオーシャンオプティクス社製の Flame 分光器を接続して用いた。

紅色素膜への光照射では、メタルハライドランプ（入射強度：30mW）を用いて湿潤状態で行った。

紅色素膜の反射光や透過光測定では、オーシャンオプティクス社製拡散透過・反射測定システム OP-TF/RF-GONIO-MN に光ファイバーでオーシャンオプティクス社製の DH-2000-BAL 重水素ハロゲン光源とオーシャンオプティクス社製の Flame 分光器を接続して用いた。フーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）は日本分光社製 FT/IR-4100 に反射測定装置 RF-81S を装着した状態で、250 回の繰り返し測定からデータを得た。ラマン分光測定は、日本分光社製小型レーザラマン分光光度計 NRS-5500 を用いて、露光時間、300 sec、積算回数、2、励起波長、784.68 nm、対物レンズ、MPLFLN 100 x の条件で行った。

紅色素膜の反射光測定には、オーシャンオプティクス社製拡散透過・反射測定システム OP-TF/RF-GONIO-MN に光ファイバーでオーシャンオプティクス社製の DH-2000-BAL 重水素ハロゲン光源とオーシャンオプティクス社製の Flame 分光器を接続して用いた。光路から見て、入射光と取り出すコリメートレンズの直後に偏光板、検出光を取り込むコリメートレンズの直前に検光子をそれぞれ導入して S および P 偏光の測定を行った(Fig. 5.11)。

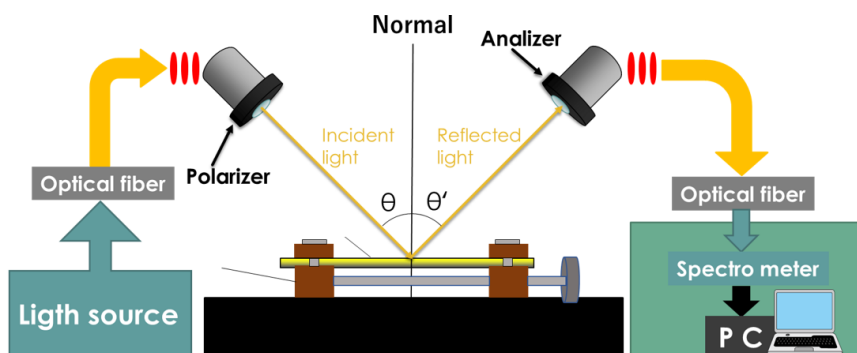


Fig. 5.11. Measurement system.

## 第6章 総括

色はヒト特有の世界である。日常では当たり前で必須のものになっているにもかかわらず、「色に関する科学」はいろいろな分野でそれぞれの文化をもって非統一的な経験や世界を作り出してきた。「色」を科学するには化学だけでは足りない。物理だけでも足りない。むしろ有機化学だけでも足りない。著者は2014年短編映画「紅」を制作し発表した<sup>14</sup>。その際に、紅の精製の必要性から、化学実験や分析に触れ、人の視覚と撮影機器覚との違いに触れ<sup>41</sup>、必要に迫られて科学と接触を持つようになった。江戸時代には化粧紅として商品化されており、伝統的精製法が日本各地に、世界各国に時空を超えて存在しているのにもかかわらず、「紅色」に関する化学的証拠が確定していないこと、「笹紅色=緑色光沢」の学術的報告が全くないことも理解できなかった。ベニバナ由来赤色色素カルサミンは「色」の総合的科学研究として最もふさわしい対象物質であると確信を持つに至った。

本研究では緑色光沢を有する天然由来赤色色素カルサミンの色の発色機構も含めて科学的に「色」を科学的に明らかにする事を目的として研究を進めた。

第1章では、序論として、色に関する科学について、本論の対象物質であるカルサミン含有植物ベニバナについて、江戸時代は金と同価値であった紅の精製法について、カルサミンの化学的研究について概説し、本研究の目的を明言した。

第2章では、現代の化学では分子構造や運動性までを語る必須機器である核磁気共鳴法によるカルサミンのプロトンおよびカーボンシグナルの特定と完全帰属に関して述べた。帰属にあたり、測定条件の探査と COSY, HMQC, HMBC, NOESY, DOSY などのさまざまな二次元パルスシーケンスを利用している。ここで用いた試料は伝統的手法を実験室で化学的に改良したもので、真空乾燥処理により年単位で安定である。<sup>1</sup>H-NMR で 3'OH が観測されず、3'位がカリウム塩となっている事を示した。さらに著しい低磁場シフト 5, 5'OH プロトンが 7, 7'カルボニル酸素と水素結合をしている事も判明した。5, 5'OH は通常 1 シグナルであるいはブロードで観測されることの多いピリジン溶媒試料でも明確に観測され、重水

素交換が起こりにくいことから 5, 5'-OH-7, 7'-カルボニル酸素との水素結合が溶液中では強力であることが示唆された。

第3章では、伝統的手法と材料および精製物を詳細に化学分析し、伝統的方法を化学的実験室方法に化学翻訳した。カラムクロマトグラフィー操作なしに、再現性の良い方法を確立した。前章の NMR の仮説と原子吸光、蛍光 X 線などによる無機元素分析、錯体や塩などの無機元素も含めた検出が可能な新手法である NanoESI 質量分析を用いて、伝統的手法で精製された「笹紅」はカルサミンカリウム塩であることを確実とした。塩となっている部位は3'位である。市販されているベニバナ由来化粧紅もカルサミンカリウム塩であろう。光により、緑色＝笹色は消失するが、不安定性は長期常温真空乾燥によって忌避できることがわかった。有機溶媒中での保存性も合わせると、水がカルサミンの安定性に関係している。さらに、紅餅抽出実験の結果は、予洗などの作業工程付加により精製収率向上の余地があることも示唆している。

第4章では実験室で研究者が使用してきた酸ナトリウムの効果を実証するため、水酸化ナトリウムを灰汁の代わりに使って精製を行った。紅は精製したが、緑色光沢はすぐに消失し、乾燥とともに粉末化してしまい、明らかに色調も異なっていた。NMR, NanoESI-MS, の結果、分子型カルサミンの存在が確認された。ナトリウム塩も存在していた。カリウム塩も存在していた。要するに、純度が低かった。アカザ灰汁処理精製で示唆されたカリウム2原子錯体と同様のナトリウム2原子錯体は検出されなかった。カリウムは紅餅に存在しているので、紅餅あるいは乱花を原材料とする限り、カリウム塩が存在している理由ではないかと考えられた。これが安定性と緑色光沢発現に関係していることは確かである。これがまさにカルサミン MS スペクトルの測定が難しく、NMR シグナル帰属が完成しなかった原因ではないかと提言ができた。無機元素分析と新イオン化質量分析によりカリウム塩カルサミンの証明ができた。紅の安定性は無機元素カリウムが鍵であることを、化学的に示すことができた。

第5章では紅色素膜の波長 550 nm に現れる緑色金属様光沢は玉虫色ではなく、構造色でもなく、偏光成分も少ない金属様反射であることを物理的測定により明らかにした。吸収と反射の強い相関性が存在しているものと考えられた。FT-IR およびラマン散乱分光法で比較検討した結果、光照射によりカルボニル基の減少と炭素二重結合による共役の短縮が判明した。これらの緑色光吸収に関係した共役結合がまさに緑色反射の起源と結論付けられた。分子構造全体と緑色金属様反射の分子レベルでの相関性については全解析には至らなかったが、この研究で、植物の代謝生合成有機化合物で配糖体でもあるカルサミンカリウム塩とその共役結合が固体膜で緑色金属様光沢を示す要因であることが判明した。

「色」を科学するのは難しい。この研究における対象はたった一つの化合物、赤色色素カルサミンであった。その有機化学構造も決定していた。しかし、化粧品「笹紅」、絹、綿を染色する「紅」それぞれの分野で伝統的に伝えられていた文化と科学は結び付いていなかった。科学には境界領域という言葉がある。カルサミンに関しては包括領域科学であった。天然物化学では水酸基は注目されにくい。水酸基まで帰属したことにより、カルサミンカリウム塩の構造が決定し、水素結合を指摘することができた。無機分析を取り入れたことによりカリウムに注目することができた。生体の 96%は酸素、水素、炭素、窒素からなる。しかし、4%にも満たないいわゆる微量元素がなくては、酵素をはじめとする有機化合物の構造や機能が有効でないことは既知のことである。天然由来の「色」も同様であろう。

ゲーテによる色彩論が出版されたのは 1810 年であった。アボガドロの分子説が 1811 年であることは非常に興味深い。この研究によって、有機化学、無機化学、物理学の分野を包括してベニバナ由来赤色色素の構造と性質を明らかにすることができた。今後、分子計算や、単分子結晶解析などにより、分子レベルでの発色機構解明が進展する可能性がある。研究がより先端的、局所的になってきている今、総合的、包括的領域の科学の必要性を指摘して、この論文の総括としたい。

## 参考文献

1. 橋本修志, 視細胞「脳科学辞典」<https://bsd.neuroinf.jp/wiki/視細胞> (2019).
2. 金子隆芳, 色彩の科学, 岩波新書 (1988).
3. Goethe(原著), 菊池栄一訳, 色彩論-色彩学の歴史, 岩波文庫 (1997).
4. 山口 健太郎, 分子構造解析 (化学の指針シリーズ), 裳華房 (2008).
5. 野副重男 編, 天然物化学, 南江堂 改訂第6版 (2002).
6. The Society of Dyers and Colourists and the American Association of Textile Chemists and Colorists (Ed.), Colour index 3rd ed, (1971)
7. 有機合成化学協会カラーケミカル事典編集委員会編. カラーケミカル事典, シーエムシー出版 (1988).
8. 尾関清子, 増補版 縄文の衣, 雄山閣 (2020).
9. P. F. Knowles, Safflower-Production, Processing and Utilization, *Economic Botany*, **9**, 273-299 (1955).
10. 吉岡幸雄, 日本の色辞典, 紫紅社 (2000).
11. 竹内淳子, 紅花, 法政大学出版局 (2004).
12. 和の色を愛でる会, 暮らしの中にある日本の伝統色, 大和書房 (2014).
13. 佐山半七丸ほか, 都風俗化粧伝, 文化十年(1813), 東洋文庫版 (1982).
14. 佐々木麻衣子, 矢島仁監督短編記録映画「紅」(2016)
15. 佐々木麻衣子, 高橋圭子, 化粧紅高品質ベニバナ由来赤色色素の核磁気共鳴装置による分析 東京工芸大学紀要 **44(1)**, 52-55 (2020)
16. Maiko Sasaki, Keiko Takahashi, Complete assignment of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR signals of carthamin potassium salt; traditional Japanese cosmetics, extracted and purified from *Carthamus tinctorius* L. *Chem. Lett.*, submitted.
17. 佐々木麻衣子, 大嶋正人, 高橋圭子, 平岡一幸, 山田勝実, 矢島仁, ベニバナ生花を原料



- とする口紅「笹色紅」の伝統的な製法とその改良 東京工芸大学紀要 **41(1)**, 86-89 (2018).
18. A. Schlieper, *Ann.*, **58**, 369 (1846).
  19. 龜高德平, 紅の研究 (豫報) 東京化學會誌 **27(11)**, 1202-1217 (1906).
  20. Tokuhei Kametaka, Arthur George Perkin, *J. Chem. Soc. Transact.*, **97**, 1415-1427 (1910).
  21. 黒田チカ, 紅花の色素カーサミン(第一報) 日本化學會誌, **51**, 237-255 (1930).
  22. Heitaro Obara, Jun-ichi Onodera, The structure of carthamin, *Chem. Lett.*, **8**, 201-204 (1979).
  23. Yoshiyuki Takahashi, Nobutoshi Miyasaka, Sshigeo Tasaka, Iwao Miura, Shiro Urano, Mitsuo Ikura, Kunio Hikichi, Constitution of two coloring matters in the flower petals of *Carthamus tinctorius* L., *Tetrahedron Lett.*, **23**, 5163-5166 (1982).
  24. Taiki Hayashi, Ken Ohmori, Keisuke Suzuki, Synthetic Study on Carthamin. 2. Stereoselective Approach to C-Glycosyl Quinochalcone via Desymmetrization, *Org. Lett.*, **19**, 866-869 (2017).
  25. Kohei Azami, Taiki Hayashi, Takenori Kusumi, Ken Ohmori, Keisuke Suzuki, Total synthesis of carthamin, a traditional natural red pigment, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **58**, 5321-5326 (2019).
  26. Yuka Abe, Takuo Sohtome, Shingo Sato, Biomimetic synthesis of carthamin, a red pigment in safflower petals, *via* oxidative decarboxylation, *J. Heterocyclic. Chem.*, 1-6 (2020).
  27. Jun-Beom Kim, Man-Ho Cho, Tae-Ryong Hahn, Young-Sook Paik, Efficient Purification and Chemical Structure Identification of Carthamin from *Carthamus tinctorius*. *Agr. Chem. & Biotech.*, **39**, 501-505 (1996).
  28. Jun-Bum Kim and Yong-Sook Paik, Stability of Carthamin from *Carthamus tinctorius* in Aqueous Solution: pH and Temperature Effects. *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 643-646 (1997).
  29. Kohei Kazuma, Takashi Takahashi, Katsura Sato, Hisatomo Takeuchi, Takeshi Matsumoto, Toshikatsu Okuno, Quinochalcones and Flavonoids from Fresh Florets in Different Cultivars of *Carthamus tinctorius* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64(8)**, 1588-1599 (2000).
  30. Takamitsu Yoshida, Kazuyoshi Terasaka, Setsuko Kato, Fan Bai, Naoki Sugimoto, Hiroshi

- Akiyama, Takeshi Yamazaki, Hajime Mizukami, Quantitative Determination of Carthamin in Carthamus Red by <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.*, **61**(12), 1264-1268 (2013).
31. 佐藤泰輔, 伝統的手法を基盤とした精製紅花赤色色素の分子構造解析と化学的特性に関する研究, 東京工芸大学工学研究科修士論文 (2020).
32. Zi-Ming Feng, Jun He, Jian-Shuang Jiang, Zhong Chen, Ya-Nan Yang, Pei-Cheng Zhang, NMR Solution Structure Study of the Representative Component Hydroxysafflower Yellow A and Other Quinochalcone C-Glycosides from *Carthamus tinctorius*, *J. Nat. Prod.*, **76** 270-274, (2013).
33. Keiko Takahashi, Kentarou Hamamura, Yoshiyuki Sei, Unique nuclear magnetic resonance behavior of  $\gamma$ -cyclodextrin in organic solvents, *J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem.*, **93** 97-106 (2019).
33. Dieter Sicker, Klaus-Peter Zeller, Hans-Ullrich Siehl, Stefan Berger, Natural Products: Isolation, Structure Elucidation, History, Wiley-VCH (2019).
34. 柿 拓馬, 森井 達也, 佐々木 麻衣子, 大嶋 正人, 高橋 圭子, 平岡 一幸, 八代 盛夫, 矢島 仁, 山田 勝実, 金属元素を含まない材料から生じる金属光沢の光学特性, 東京工芸大学工学部紀要, **43**(1),6-9 (2020).
35. 矢島仁, 佐々木麻衣子, 高橋圭子, 平岡一幸, 大嶋正人, 山田勝実 伝統的手法で抽出されたベニバナ色素膜の緑色金属光沢について—光学的手法による検討—, 日本写真学会誌, **81**, 65-69 (2018).
36. Hitoshi Yajima, Maiko Sasaki, Keiko Takahashi, Masato Oshima, Kazuyuki Hiraoka, Morio Yashiro, Katsumi Yamada, Influence of Photo-illumination on Greenish Metallic Luster of Safflower Red Pigment Film, *Bull. Soc. Photogr. Imag. Jpn.*, **28**, 18-22 (2018) .
37. Richard Laursen, Chika Mouri, Decomposition and analysis of Carthamin in safflower-dyed textiles, *e-PS*, **10**, 35-37 (2013).
38. 浜口宏夫 著, 平川暁子 編, ラマン分光法 日本分光学会測定法シリーズ 17, 学会出版セ

ンター (1988).

39. Catherine M. Schmidt, Karen A. Trentelman, 1064 nm Dispersive Raman micro-spectroscopy for the in-situ full paper identification of organic red colorants e-PS, **6**, 10-21 (2009).

40. Anna Cesaratto<sup>1</sup>, Yan-Bing Luo, Henry D. Smith II, Marco Leona<sup>1</sup>, A timeline for the introduction of synthetic dyestuffs in Japan during the late Edo and Meiji periods, *Herit. Sci.*, **6:22** (2018)  
<https://doi.org/10.1186/s40494-018-0187-0>.

41. 佐々木麻衣子, 矢島仁, 東吉彦, フィルム作品「紅」における特別なフィルターワークとその色彩効果, 日本色彩学会誌, **43(3)**, 24-27 (2019).

## 謝辞

本研究は科研費 20K01108 の助成を受けたものです。

本研究を進めるにあたり多くの方々からご支援いただきました。心から感謝いたします。

本研究を進めるにあたり、指導教員の高橋圭子教授には終始熱心なご指導をいただきました。心から感謝申し上げます。

予備審査および最終審査で貴重なご助言をいただきました大嶋 正人教授、山田 勝美教授、平岡 一幸教授、群馬大学 山延 健教授、東海大学 稲津 敏行教授に感謝申し上げます。

また、多くの測定を引き受けて下さった株式会社東レリサーチセンター様、二次元 NMR 測定のご助言をいただきました株式会社 JEOL RESONANCE 様に深く感謝申し上げます。

本論文執筆のきっかけとなりました東京工芸大学芸術学部映像学科 矢島仁准教授に心より御礼申し上げます。

最後に、ご協力いただきました、東京工芸大学工学部 生体分子機能研究室および卒業生の皆様方に御礼申し上げます。