

金属イオンや糖類を用いたアントシアニンの安定化

—塩基性における変色時間からの検討—

愛媛県立松山南高等学校 色素班

宮岡愛奈 橋岡香 小田村莉見

指導教諭 兵頭英樹

1. はじめに

自然界には多くの美しい色素が存在する。その中で、私たちはアントシアニンという色素に注目した。アントシアニンは、花や果実などに広く分布する代表的な植物色素であり、アントシアニンという色素の本体に、糖、有機酸、金属などが結合したものの総称である(図1)。中川ら(2006)は、アントシアニンは、酸性・中性・塩基性で少しずつ分子構造が変わる。そのために分子が吸収する光の波長が変わるため、色素液の色が変化すること、pH変化で、つまり、OHの付き方によって色が変わる。赤色、紫色、青色以外の緑色や黄色にも変化すること、塩基性では色素が不安定なことなどを報告している(図2)。

そこで、私たちは、ムラサキキャベツに含まれる色素が、なぜ、緑色や黄色になるのか、また、どのようにすれば色素が安定になるのかを明らかにしたいと考え、本研究を行うことにした。

2. 方法

(1) アントシアニンの抽出

ムラサキキャベツを蒸留水に入れ、加熱しながら色素液を抽出することが一般的であるが、なるべく濃い色を抽出するために、今回私たちは細かく切ったムラサキキャベツを凍結保存し、解凍した際に細胞壁が破れることを利用することとし、5gの凍結ムラサキキャベツを100mLの蒸留水の中に入れて色素液を得た。

(2) 各pHにおけるアントシアニンの発色

pH=1から13の水溶液5mLに、(1)の色素液をそれぞれ1mLずつ加えて、発色を調べた。

(3) 塩基性におけるアントシアニンの色調変化

pH=1~3では色素は安定なので、先行研究で色素が不安定なpH=11、12、13の水溶液5mLに、(1)の色素液を1mLずつ加えて、経時時間と色調変化について調べ、吸光度計を用いて測定した。

(4) 金属イオンによるアントシアニンの安定化

(1)の色素液30mLに、0.01mol/LのMgCl₂aq、FeCl₃aq、AlK(SO₄)₃aq(ミョウバン水溶液)をそれぞれ20mLずつ加え、金属イオンを含む色素液を調製した。これをpH=11、12、13の水溶液5mLに1mLずつ加え、経時時間と色調変化について調べた。また、pH=13における経時時間と色調変化について吸光度計を用いて測定した。

(5) 糖によるアントシアニンの安定化

(1)の色素液30mLに、単糖類であるC₆H₁₂O₆(ガラクトース)、C₆H₁₂O₆(グルコース)、またその異性体のC₆H₁₂O₆(myo-イノシトール)(図3)を0.1mol/Lの濃度でそれぞれ6mLずつ加え、糖を含む色素液を調製した。これをpH=11、12、13の水溶液5mLに1mLずつ加え、経時時間と色調変化について調べ、吸光度計を用いて測定した。

3. 結果と考察

(1) 各pHにおけるアントシアニンの発色

凍結ムラサキキャベツの色素液をpH=1~13の溶液に加えると、赤色、桃色、紫色、青色と鮮やかに変化した。また、強塩基性の領域では、いったん緑色になった後、黄色に変化した(図4、表1)。

さらにpH=11~13について吸光度計を用いて測定したところ、

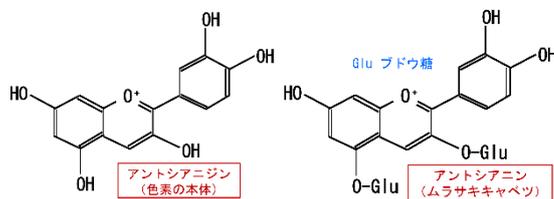


図1 アントシアニンの構造

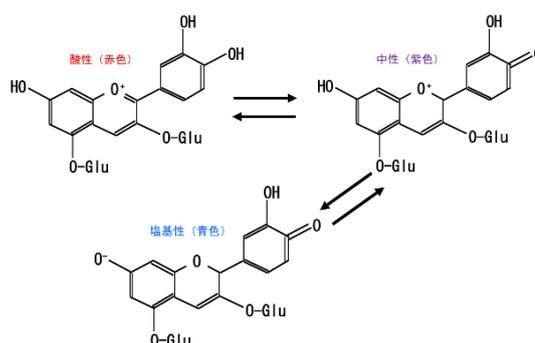


図2 pHによる構造変化

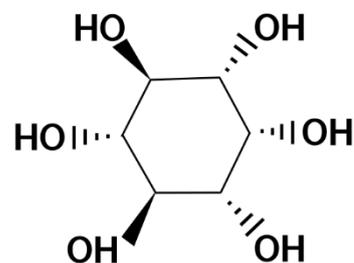


図3 myo-イノシトールの構造



図4 pHによる色変化
上段pH=1~6
中下段pH=7~13

600nm付近で吸光度が最大となった(図5)。

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構のデータベースで調べてみると、植物体内でアントシアニンが形成される途中物質に図6のフラボノールがあり、この色素は酸性・中性では無色であるが、塩基性では黄色に変色すると書かれていた。そこで、私たちは、アントシアニン以外に含まれる色素Xはフラボノールであると考えた。

次に、アントシアニンの安定性を調べるために、pH=12、13 でいったん黄緑色、黄色になったものに、pH=1の塩酸を加え、色が戻るか調べた。すると、pH=1の塩酸を数滴加えたところで、紫色に戻る事が分かった。

また、短時間であればアントシアニンの色は可逆反応することが分かった。

(2) 塩基性下の経過時間と色調変化

そこでさらに、pH=11、12、13の溶液の経過時間と吸光度の変化の関係を吸光度計を用いて測定した。その結果、次のような結果が得られた。pH=11では青緑色、pH=13では黄緑色という結果が得られ、30分間での色調変化はほとんど無かった。また、pH=13では、30分で黄緑色から黄色に変化したという結果が得られ、pH=13における吸収最大波長である614nmの吸光度が時間とともに11.2%も減少したことが分かった(図7)。

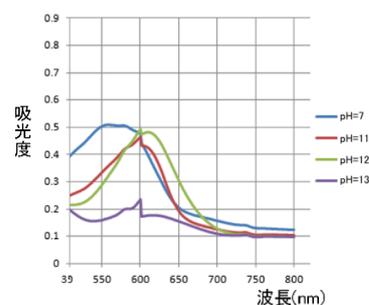


図5 吸光度の測定

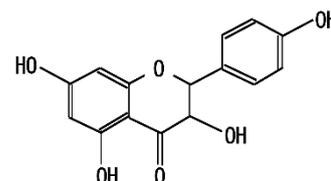


図6 フラボノール

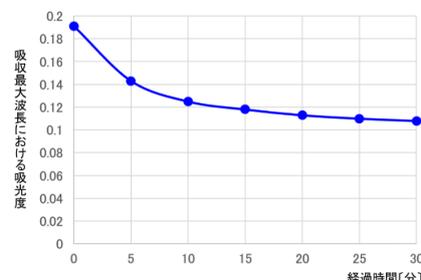


図7 pH=13における吸収最大波長614nmの吸光度と経過時間との関係

表1 ムラサキキャベツ色素液のpHによる色変化

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
色	赤	薄い赤	桃	紫	紫	紫	紫	紫	紫	青	青緑	黄緑	黄

表2 色素Xが存在すると仮定した塩基性領域での青緑、黄緑、黄に関する考察

pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
アントシアニン	赤	薄い赤	ピンク	紫	紫	紫	紫	紫	紫	青	青	薄い青	無
色素X	無	無	無	無	無	無	無	無	無	無	薄い黄	黄	黄
アントシアニンと色素Xが合わさった色	赤	薄い赤	ピンク	紫	紫	紫	紫	紫	紫	青	青緑	黄緑	黄

(2) 金属イオンによる色素の安定化

pH=11、12でいったん青緑色、黄緑色になったものを放置すると、それぞれ54秒後、32秒後に黄色に変色すること、さらに長期間放置するとその黄色もなくなり、無色になることが分かった。私たちは、塩基性が強いほど、アントシアニンの青色が無色に変化する速度が速く、また、黄色のフラボノールも長期間で無色に変化するのではないかと考えた。

そこで、先行研究をもとに、金属イオンによる色素の安定化について調べることにした。30mLのムラサキキャベツ色素

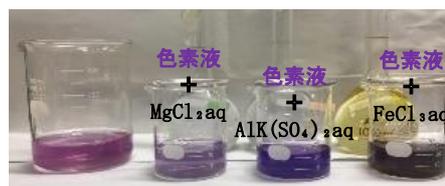


図8 左からムラサキキャベツ液、MgCl₂、FeCl₃、AlK(SO₄)₃をそれぞれ加えた液

液に 0.01mol/L の $MgCl_2$ aq、 $FeCl_3$ aq、 $AlK(SO_4)_2$ aq を 20mL 加えると、もとの紫色と異なり、それぞれ、薄い紫色、青紫色、濃い紫色に変色した (図 8)。

これらの金属イオンを加えた色素液を pH=11、12、13 の溶液に加え、色の変化を長期間調べた (図 9)。その結果、次のような結果が得られた。金属イオンを加えずに放置した場合、無色に変化したが、金属イオンを加えることで黄色が長期間保たれることが分かった (表 3)。中でも、 Fe^{3+} は 2 週間以上経過しても黄色が保持されており、錯イオンとなって素を守るはたらきが強いと考えた。

さらに、pH=13 における、経過時間と色調変化について、吸光度計を用いて測定した。その結果、次のような結果が得られた。pH=13 における吸収最大波長である 614nm の吸光度は、金属イオンを加えることで、経過時間による吸光度の減少を抑える効果があることが分かった。その効果は、 $Al^{3+} > Fe^{3+} > Mg^{2+}$ の順番であった (図 10)。

私たちは、この結果から、なぜ金属イオンを用いると色素が安定したのかを考えた。 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} は、配位数が 6 の正八面体の錯イオンを形成している。そこで、アントシアニンと錯イオンを形成し、安定化したのではないかと考えた (図 11)。

表 3 金属イオンを加えた色素液の pH による色変化

pH	$MgCl_2$	$FeCl_3$	$AlK(SO_4)_2$
11	2日 (緑→無)	3日 (黄緑→薄い黄)	3週間以上 (青)
12	3日 (黄緑→無)	1週間以上 (黄)	4日 (黄緑→無)
13	1週間以上 (無)	2週間以上 (黄)	4日 (黄→無)



図 9 $MgCl_2$ 、 $FeCl_3$ 、 $AlK(SO_4)_2$ を加えた色素液の 1 週間後の様子

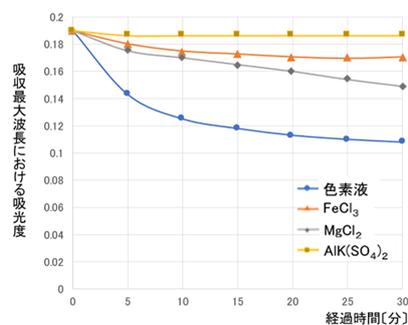


図 10 金属イオン添加時の 614nm の吸収スペクトルと経過時間との関係 (pH=13)

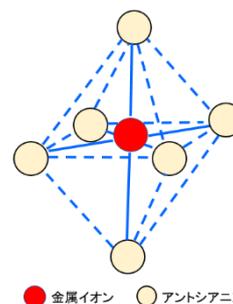


図 11 正八面体の分子構造

(3) 糖によるアントシアニンの安定化

次に、糖によるアントシアニンの安定化について調べることにした。ムラサキキャベツ色素液に 0.1 mol/L の $C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース)、 $C_6H_{12}O_6$ (グルコース) また、その異性体の $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール) を 6mL ずつ加えた。金属イオンの時とは異なり、加えた際の色の变化は見られなかった。これらの糖を加えた色素液を、pH=11、12、13 の溶液に加え、色の変化を長期間調べた。その結果、次のような結果が得られた (図 12、表 4)。

1 日目では、pH=11 で紫色、pH=12 で青色、pH=13 で黄緑色のきれいな発色が見られた。さらに、2 日目では、pH=11 で桃色、pH=12 で青色、pH=13 で黄色ときれいな発色が見られていた。さらに 7 日後には pH=11 で桃色、pH=12 でも桃色、pH=13 で黄色となっていた。金属イオンを添加した場合よりきれいな発色が続き、1~4 日目までは特によく発色が見られた。糖を加えずに放置した場合、無色に変化したが、糖を加えることで濃い色が長期間保たれることが分かった。1 日目から強い発色であり、途中で pH=11、12 は酸性の時と同じ発色である、赤色や桃色となったまま色が保たれていた。

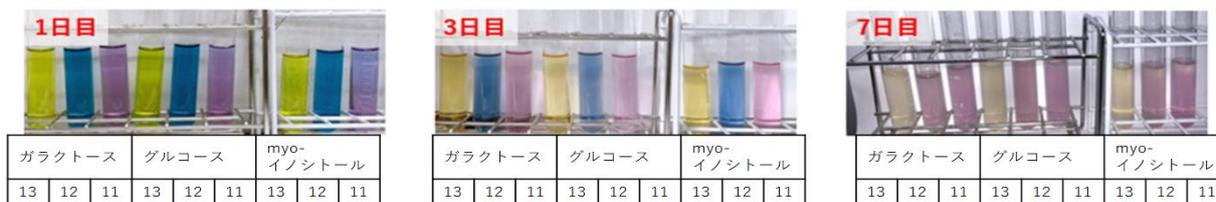


図 12 $C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース)、 $C_6H_{12}O_6$ (グルコース) $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール) を加えた色素液の様子 (左から順に 1 日目、3 日目、7 日目)

さらに、pH=11、12、13 における、経過時間と色調変化について、吸光度計を用いて測定した。その結果、次のような結果が得られた。pH=11、12、13 吸収最大波長である614nmの吸収スペクトルは、糖を加えることで、経過時間による吸光度の減少を抑える効果があることが分かった(図13)。

その効果は、 $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール) > $C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース) > $C_6H_{12}O_6$ (グルコース) の順番であった。私たちは、この結果から、なぜ糖を加えることで色素が安定したのかを考えた。アントシアニンの元であるアントシアニンジンという色素には、糖が含まれている。また、アントシアニンは、OHの付き方によって色が変わることが分かっている。 $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール) は糖の異性体であり、他の糖である、 $C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース)、 $C_6H_{12}O_6$ (グルコース) に比べてOHの数が多い(図3)。そのため、分子構造の安定がしやすくなったのではないかと考えた。

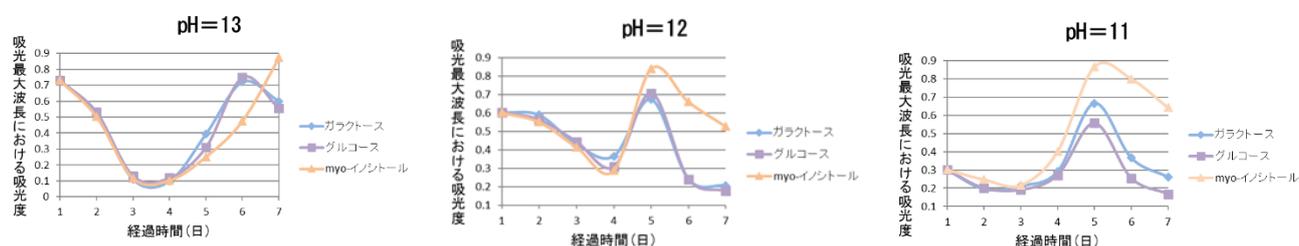


図13 $C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース)、 $C_6H_{12}O_6$ (グルコース) $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール) 添加時の614nmの吸収スペクトルと経過時間との関係(左から順に pH=11、12、13)

表4 ガラクトース、グルコース、myo-イノシトールを加えた色素液の変化

加えた糖類	pH	色変化		
		1日目	3日目	7日目
ガラクトース	13	黄色	黄色	薄い黄色
	12	青色	青色	薄い紫色
	11	紫色	紫色	薄い紫色
グルコース	13	黄色	黄色	薄い黄色
	12	青色	青色	薄い紫色
	11	紫色	紫色	薄い紫色
myo-イノシトール	13	黄色	黄色	薄い黄色
	12	青色	青色	薄い紫色
	11	紫色	紫色	薄い紫色

4. 研究のまとめ

本研究で分かったことは、主に次の3つである。

- (1) ムラサキキャベツ色素液が、塩基性でアントシアニンの分子構造上、発色しないはずの青緑色、緑色、黄緑色、黄色へと変色したのは、アントシアニン以外に含まれるフラボノールの色が混合され発色したと考えた。
- (2) 塩基性下で、ムラサキキャベツ色素液に金属イオン(MgCl₂aq、FeCl₃aq、AlK(SO₄)₂aq)を加えると、吸光度の減少が少なくなったことから、金属イオンはアントシアニンと錯体をつくることで色の退色を抑え、安定化させる効果があり、その効果は、Al³⁺>Fe³⁺>Mg²⁺の順であることが分かった。
- (3) 塩基性下で、ムラサキキャベツ色素液に糖類($C_6H_{12}O_6$ (ガラクトース)、 $C_6H_{12}O_6$ (グルコース)、 $C_6H_{12}O_6$ (myo-イノシトール))を加えると、金属イオンを加えた時に比べて、より色素を安定させる効果があり、その効果は、myo-イノシトール>ガラクトース>グルコースの順であることが分かった。

5. 今後の課題

今後は、アントシアニンが含まれる食材のアレルギーに対する効果について調べるために、糖類を用いて安定化させたアントシアニンの機能性について研究を深めていこうと考えている。現在、愛媛大学大学院農学研究科の石田萌子先生の御指導を受け、ジニトロフェニル等を用いてアントシアニンのアレルギーに対する効果を調べる研究を計画している。

6. 参考文献および参照したサイト

- 中川裕子・一柳考志・小西徹也・松郷誠一(2006)「生理活性植物因子アントシアニンの色と構造」J. Jpn. Soc. Colour Mater., 79 [3], 113-119
- 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 <http://www.naro.affrc.go.jp/index.html>