午 夢 の 緑 変 反 応 (第 3 報)

The Greening Reaction of "Gobô" (*Arctium Lappa* L.) (Part 3)

緑変反応に対する温度とクロロゲン酸対アミノ酸モル比の影響

Effects of temperature and mole ratios of chlorogenic acid to
an amino acid on the greening reaction

(昭和 38 年 11 月 7 日 受 理)

間 野 義 克
(Yoshikatsu Mano)

When heated at 50°C~138°C, the rates of the greening reactions of Menzel solutions (pH 9.1) containing chlorogenic acid with its mole ratios 1:1, 1:2, 2:1 to phenylalanine or leucine depend on the kind of amino acid, the mole ratios and the reaction temperature.

The changed colors of solutions heated were estimated by Xenon automatic fluorescent colorimeter, and specialized by dominant wavelength in the CIE system and by three attributes of color in the Munsell system.

緒 論

前報¹⁾において160°Cに維持した大豆白絞油による天婦羅モデル試験を行ない、天婦羅試料が緑変反応を示すための必要条件を追究し、タネ試料がクロロゲン酸を含み、コロモ汁液が塩基性でタネ試料成分と反応後にもなお塩基性を維持するほど十分量の塩基が存在するときはタネとコロモの接触部が、100°C以上の高温でも緑変反応が生じることを明らかにした。しかし、前報においては油温が160°Cの場合についてのみ実験を行ない、通常为天婦羅揚げに用いられる170~180°Cの油温についての実験を行なわなかった。揚げ油温度が高くなれば天婦羅試料内部温度も上昇し、従って緑変反応も異なる結果を示すことが考えられる。

本実験においては、緑変反応に及ぼす温度の影響を究明すると共に、共存するアミノ酸の影響を知るために、クロロゲン酸とフェニルアラニン或いはロイシンなどのアミノ酸のモル比を1:1, 1:2, 2:1に調製した pH9.1のMenzel緩衝液を用い、これらの溶液を50~138°Cに加熱したときの反応液の色の変化を、キセノン自動蛍光測色計(東洋理化学工業K K XAU-F型)により測色した。試験液の色彩は加熱温度が上昇するに従い黄緑→緑黄→黄→赤黄へと色相が変化すると共に、明度も減じて138°C以上に加熱するときは反応液は完全に緑変反応を

示さなくなる。この色彩の変化にはフェニルアラニン、ロイシンなどのアミノ酸の種類、クロロゲン酸対アミノ酸のモル比もまた影響することを知ったので報告する。

実 験 の 部

(1) 試 料

ロイシン(試薬特級)、フェニルアラニン(味の素KK)、クロロゲン酸(コーヒー豆より分離, M. P. 204.4~206.5°C, および201°C), ただしM. P. 204.4~206.5°Cのクロロゲン酸は50~127°C試験液調製に用い、M. P. 201°C, クロロゲン酸は137°C試験液調製に用いた。

(2) 試験液の調製

(a) Menzel緩衝液 (0.1M NaHCO₃-0.05M Na₂CO₃) pH9.1 (硝子電極pHメーターにて測定)

(b) クロロゲン酸10⁻³モルを含む Menzel 緩衝溶液

(c) フェニルアラニン10⁻³モルを含む Menzel 緩衝溶液

(d) ロイシン10⁻³モルを含む Menzel 緩衝溶液

以上4種の溶液より次の6種の試験液 20ml 宛を調製する。すなわち、アミノ酸溶液, Menzel 緩衝液, クロロゲン酸溶液の順にメスピペットを用い一定量を試験管に秤取し、各試験液のクロロゲン酸, アミノ酸の含有量を表-1に示すモル数になる如くした。

表—1 試験液の組成

試験液No.	1	2	3	4	5	6
試験液中成分						
クロロゲン酸	10 ⁻⁴ モル	10 ⁻⁴ モル	10 ⁻⁴ モル	10 ⁻⁴ モル	2×10 ⁻⁴ モル	2×10 ⁻⁴ モル
フェニルアラニン	10 ⁻⁴ モル		2×10 ⁻⁴ モル		10 ⁻⁴ モル	
ロイシン		10 ⁻⁴ モル		2×10 ⁻⁴ モル		10 ⁻⁴ モル

(3) 実験操作

試験液は調製後、直ちに所要の温度で加熱反応を行なった。

50°C反応：あらかじめ50°Cに維持した恒温槽に試験管を浸し、開口のまま1時間加熱反応させた。

105 ~138°C反応：あらかじめ100°C近くに加熱した高圧釜中に懸垂して熱水に浸漬せぬ如くした缶に、試験管を開口のまま入れ、高圧釜を密封後、所要の温度の5°C近くまで10~15分間に上昇せしめ、その後注意して所要の温度とし、所要の温度に2分間維持した後、徐々に減圧して常圧になれば直ちに試験管を取り出し、1時間

開口のまま室温に放置した後、試験液No. 1より No. 6まで順次にキセノン自動蛍光測色計により測色を行なった。すなわち、キセノンランプの全光が液層10mmを透過する光を MgOの白板に反射せしめた反射光について測色した。対照液として Menzel 緩衝液を用いた。測色値はCIE 表色系の3色刺激値 X, Y, Z, 3色係数の x, y として求め、 x, y から CIE色度図により主波長を得た²⁾。またCIE 表色系を変換してマンセル表色系の色の3属性、即ち、色相、明度、彩度を求め²⁾、それぞれの加熱温度、放置時間における試験液の色彩を比較検討して緑変反応の変化を推定した。

結果および考察

結果は図—1、表—2に示す。表—2は、それぞれの加熱温度、放置時間における各試験液の色彩を、マンセル表色系による色相(Hue), 明度(Value), 彩度(Chroma)の色の3属性で表し、H V/c として示した。

(1) 緑変反応に及ぼす放置時間の影響と測色値

図1 加熱温度、放置時間による試験液の色の主波長の変移

表—2 各試験液の色相, 明度, 彩度

試験液 No.	モル 比	加熱温度 放置時間		50°C		105°C		117°C		127°C		138°C	
				1 hr.	24hrs.	1 hr.	24hrs.	1 hr.	24hrs.	1 hr.	24hrs.	1 hr.	※ 24hrs.
1	C : P * 1 : 1			3.9GY [×] 6.6/6.3	7.8GY 5.0/8.9	2.1GY 5.7/5.6	5.0GY 4.3/8.8	1GY 5.4/5.3	2.5GY 4.4/7.0	8.7Y [×] 5.0/8.6	8.2Y 4.0/5.9	1.5Y 5.0/2.6	2.4Y 3.9/4.4
2	C : L ** 1 : 1			6.0GY 6.3/6.8	7.6GY 4.9/6.8	5.2GY 5.4/6.0	5.7GY 4.1/8.6	10Y 5.2/7.7	5.8GY 4.4/6.8	9.6Y 4.8/6.8	1GY 4.0/4.8	3.7YR [×] 4.3/2.2	5.8Y 3.5/4.6
3	C : P 1 : 2			3.5GY 6.7/5.7	5.8GY 5.5/7.4	2.1GY 5.8/6.8	1.7GY 4.5/7.8	10Y 5.5/6.4	1.7GY 4.4/7.5	0.5GY 5.1/7.3	0.3GY 4.1/6.0	4.0Y 5.4/4.2	3.6Y 4.4/5.0
4	C : L 1 : 2			5.1GY 6.4/5.3	8.8GY 5.0/7.6	5.2GY 5.0/4.3	6.1GY 4.2/9.3	1.3GY 5.0/5.3	5.9GY 3.8/6.5	9.4Y 4.8/4.0	4.4GY 3.6/4.2	9.4YR 4.8/2.9	4.5Y 3.7/6.1
5	C : P 2 : 1			6.0GY 6.4/7.5	8.0GY 5.0/9.1	2.9GY 6.0/5.2	5.1GY 4.6/8.4	0.6GY 5.6/7.0	4.5GY 4.4/7.9	10Y 5.3/6.0	8.5Y 2.8/4.7	2.5Y 4.9/5.5	
6	C : L 2 : 1			5.8GY 6.6/6.8	7.6GY 5.2/8.0	2GY 5.7/5.6	4.8GY 4.3/8.7	9.0Y 5.1/9.2	1.9GY 3.5/3.9	7.6Y 5.2/6.3	1.9GY 3.5/3.9	1.9Y 4.8/5.7	

* C : P クロロゲン酸：フェニルアラニン

** C : L クロロゲン酸：ロイシン

※138°C 24hrs. の色相, 明度, 彩度は液濃度 $1/2$ に稀釈したときの値

× GY(黄緑), Y(黄), YR(黄赤)

高圧釜から取り出した直後の試験液は, 空気に接して酸化され, 急激な色彩変化を生じる。色彩の変化は30分後には緩やかとなるが, その後も長時間に亘り変化を継続している。図—1に示す如く, 24時間放置試験液の色の主波長は1時間放置試験液のそれに比較して若干短波長にずれ, 表—2に示す如く, 色相は緑色を強め, 明度は減じるが, 彩度は増す傾向を示し, 24時間放置の間に試験液は緑変反応を強める。加熱温度の上昇に従い1時間放置試験液の色の主波長は相対的に長波長の側にずれるので, 各加熱温度の24時間放置試験液の緑変反応の強さも減少する傾向がある。しかし, この傾向は共存するアミノ酸の種類, クロロゲン酸とアミノ酸のモル比などによっても影響されると考えられる。

上述の如く, 放置時間の変動に伴い色彩も変化するから, 同時に測色を行なうことができない本実験においては, 厳密に言えば試験液No. 1とNo. 6の測色値には測色に要する約1時間の放置時間のずれに伴う色彩変化の結果が影響するものと考えられる。しかし, 同一試験液の測定を3回宛くりかえした測色値はほぼ一定であるから, 本実験においては測色による放置1時間のずれによる影響は無視しようと考えた。図—1, 表—2における放置時間は試験液No. 1の測色を開始するまでの放置時間である。

(2) 緑変反応に及ぼす加熱温度の影響

i) 加熱温度50°C, 105°C, 117°Cの場合

加熱温度50°C, 1時間放置試験液を基準にすると, 105°C, 117°Cと加熱温度が高まるに従って, 1時間放置の各試験液の色の主波長は560m μ 台から570m μ 台へと図—1に示す如く長波長にずれ, 表—2に示す如く, 色相も緑を減じ黄色を強め緑変反応は弱くなる。117°C加熱1時間放置の試験液No. 2, No. 3, No. 6の色相は黄となり緑変反応を示さない。しかし, 50~117°Cの加熱の場合, 24時間放置後の試験液の色の主波長は1時間放置試験液の色の主波長より短波長にずれ, いずれも560m μ 台となり, 各試験液はすべて緑変反応を示す。

ii) 加熱温度127°C, 138°Cの場合

加熱温度127°C, 1時間放置試験液の色の主波長は, 117°Cのそれよりいっそう長波長にずれ, 表—2に示す如く, 試験液No. 3を除き試験液の色の色相は黄となる。24時間放置後の試験液においても, 主波長が短波長へずれるのは, No. 2, No. 4, No. 6であり, No. 1, No. 3, No. 5は主波長のずれが生じないか, 或いは長波長への若干のずれが生じる。従って, 表—2に示す如く, 試験液No. 2, No. 4, No. 6の色相には緑があり, 緑変反応が認められるが, No. 1, No. 5では最早緑変は認められない。

加熱温度138°C, 1時間放置試験液では色の主波長は580m μ 台となり, 色相も赤黄を示し, 緑変反応は全く認められない。24時間放置試験液の色彩は濃褐色となり, $1/2$ に濃度を稀釈して始めて測色可能となった。No. 5,

No. 6 は $\frac{1}{2}$ に濃度を希釈しても測色不可能であった。

(3) 緑変反応に及ぼすアミノ酸の影響

(i) クロロゲン酸対アミノ酸モル比が1:1の場合

加熱温度 50~105°Cにおいては1時間放置試験液の場合に、ロイシン区がフェニルアラニン区より強い緑変反応を示すが、24時間放置中にフェニルアラニン区の緑変反応は強くなるのに対して、ロイシン区の緑変反応はそれほど進まず、両アミノ酸区の緑変反応強度は殆んど変わらない。

しかし、117°Cにおいては1時間放置試験液の緑変反応は、加熱温度105°Cのそれに比較し著しく弱化し、弱化の程度はフェニルアラニン区においてことに著しい。従って、加熱温度127°Cの場合、24時間放置試験液はロイシン区では弱い緑変を示すがフェニルアラニン区は示さない。

(ii) クロロゲン酸対アミノ酸モル比が1:2の場合

加熱温度127°C、1時間放置試験液を除き、50~127°Cのすべての試験液において、ロイシン区はフェニルアラニン区より遙かに強い緑変反応を示す。

(iii) クロロゲン酸対アミノ酸モル比が2:1の場合

加熱温度 50~117°C の場合、i) ii) と異なり、放置時間1および24時間のすべての試験液において、フェニルアラニン区の緑変反応がロイシン区のそれより強く、ことに117°C、24時間放置試験液において差が著しい。しかし、127°C加熱の場合にはロイシン区は緑変反応をわずかに示すが、フェニルアラニン区は示さない。

iv) クロロゲン酸に対するモル比を異にする同一アミノ酸を含む各試験液の緑変反応比較

加熱温度 50~117°C において、フェニルアラニン区では、クロロゲン酸対アミノ酸モル比が、1:1、2:1の各試験液の色の主波長、色相が図—1、表—2に示す如くほぼ等しく、1:2のモル比の試験液より緑変反応が強い。

同一加熱温度において、ロイシン区では1:1、1:2のモル比の各試験液の色の主波長、色相はほぼ等しく、2:1モル比の試験液より緑変反応が強い。

要 約

(1) クロロゲン酸に対するフェニルアラニン或いはロ

イシンのモル比が 10^{-4} モル： 10^{-4} モル； 10^{-4} モル： 2×10^{-4} モル； 2×10^{-4} モル： 10^{-4} モルになる如く 両成分を含む6通りのMenzel緩衝溶液20mlを、50°Cで1時間、105°C、117°C、127°C、138°C、の各温度では2分間加熱反応せしめ、1時間放置、24時間放置した各試験液の色をキセノン自動蛍光測色計を使用して測色し、その色の主波長並びにマンセル表色系の色相、明度、彩度として表し、各試験液の緑変反応の変化を追究した。

(2) 加熱温度50~117°C の範囲では、各試験液は緑変反応を生じるが、緑変反応は加熱温度の上昇と共に弱化し、127°Cにおいては緑変反応はロイシン区においてのみ生じ、フェニルアラニン区では生じない。138°Cでは各試験液はいずれも赤褐色となり緑変反応を示さない。

(3) 加熱温度50~117°Cの範囲では、放置時間による各試験液の緑変反応を比較すると、24時間放置の場合が1時間放置のものより著しく強い。

(4) クロロゲン酸対アミノ酸のモル比が1:1のとき、加熱温度 50~127°C において、フェニルアラニン区、ロイシン区の緑変反応はほぼ等しく、わずかにロイシン区が強い。1:2のとき、ロイシン区が著しく強い。2:1の時、フェニルアラニン区が強いが、127°Cではロイシン区のみ緑変反応を示す。

(5) クロロゲン酸に対するモル比が異なる同種アミノ酸の各溶液の緑変反応を比較すると、加熱温度50~117°Cにおいて、モル比1:1、2:1のフェニルアラニン区の緑変反応はほぼ等しく、かつ1:2の場合より緑変反応が強い。モル比1:1、1:2のロイシン区の緑変反応はほぼ等しく、2:1の場合より緑変反応が強い。

本実験の測色については本学色染化学研究室赤土正美助教授の御援助を頂いた。記して厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) 間野義克、時岡照美、川尻澄江、福原令子：栄養と食糧、17, 80(1964)
 - 2) 赤土正美：染色加工学概論(繊維研究社)、70~102(1963)
- 日本工業標準調査会：色の三属性による表示方法 JIS Z 8721-1958

(和洋女子大学)