ブドウ果汁（キャンベル・アーリー）色素に 及ぼす有機酸の影響[†]

太 田 英 明*・ 箴 島 豊*

Effects of Organic Acids on Anthocyanin Pigment from Juice of Campbell Early Grapes*

HIDEAKI OHTA* and YUTAKA OSAJIMA*

Many organic acids as well as inorganic salts were found to enrich the color density at 520 nm of anthocyanin solution (pH 3.0) from juice of Campbell Early grapes and to stabilize the enriched color density for a long period (forty days).

(1) On saturated *n*-monocarboxylic acid (0.2 M), a linear relations existed between the number of carbon atoms (carboxylic acid) and the logarithmic value of $\Delta E_{520\text{nm}}$. Thus, it was proved that the hyperchromic effect enhanced with increasing the molecular weight.

(2) On the polycarboxylic acids tested, a linear relation was also obtained between the concentration of acids and $\Delta E_{520\text{nm}}$. Maleic acid showed the most hyperchromic effect.

(3) Many organic acids maintained the increasing of available pigment concentration during storage.

(4) The organic acids were classified into three groups by the effect on the pigment solution during storage as follows: (i) The first group such as maleic and *n*-valeric acids; the more hyperchromic effect and favorably maintaining the effect. (ii) The second group such as tartaric and citric acids; the smaller hyperchromic effect and retaining the effect. (iii) The last group such as malonic and oxalic acids; the hyperchromic effect close to the first group but decolorizing the pigment solution.

(Received Jun. 30, 1977)

前報¹⁾において、ブドウ色素液の色調に対する無機塩の影響を調査し、供試塩すべてに濃色化効果 ($E_{520\text{nm}}$ の増大) を認めた。また、この強められた効果が長時間 (40 日) 安定であることも確認した。本現象は天然アントシアニン色素を安定化するとともにその有効色素濃度を高めるものとして、なかんずく天然色素の食用色素としての利用に際し食品工業上注目すべき現象である。

著者らは、さらに応用の途を拓げる意味で、また、現象解明の基礎データを得る目的で、有機酸の添加効果について検討した。その結果、前報の無機塩の添加と同様に、多くの有機酸が濃色化効果を有するし、しかもその効果に定量性のあることを認めた。

また、貯蔵中の色素液色調に対する影響のし方によって、大きな濃色化効果を有しかつその効果の持続性に富む酸、強められた色調を安定に持続する酸および逆に脱色を促進する酸と供試有機酸を 3 つのグループに分類できることを見出した。本報では、これらの結果をまとめて報告する。

実験材料および方法

1. 実験材料

原果汁：大分県 果実連 築工場で 1975 年秋に製造された 1/5 濃縮ブドウ果汁 (キャンベル・アーリー) の凍結貯蔵品 (-30°C) を解凍後、10,000 rpm (0°C) で 20 分

[†] ブドウ果汁の品質に関する研究 (第 3 報)

Studies on Qualities of Grape Juice (Part 3)

* 九州大学農学部食品分析学教室 (福岡市東区箱崎)

Laboratory of Food Analysis, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka.

間遠心分離し、得られた上澄み液を原果汁として用いた。

2. 実験方法

色素含量の測定：前報¹⁾のように、色素含量は各試料を0.1% 塩酸-メタノール液で10倍希釈して、その E_{520nm} 値を実測し検量線と対照することによって malvidin-3, 5-diglucoside 含量として求めた。

アントシアニン色素液(原色素液)の調製：原果汁から塩基性酢酸鉛法²⁾によって調製した粗色素液を Dowex-50 W×4 H 型陽イオン交換樹脂に吸着させ、水ついでメタノール液で洗浄後、1% 塩酸-メタノール液によって溶出した。原色素液はこの溶液を減圧乾固し、20% メタノール液に溶解・希釈後、0.5 N 水酸化ナトリウムおよび1 N 塩酸で pH 3.0 に調節した。

吸収スペクトルおよび吸光度の測定：原色素液1部にナトリウム塩溶液(pH 3.0)1部を添加し、可視スペクトルを測定した。各試料溶液はスペクトル測定後室内に40日間放置し、その E_{520nm} の経時的変化を測定した。

3. 試薬および装置

試薬：すべて市販特級品を用いた。供試したナトリウム塩溶液は、酢酸ナトリウム-酢酸のように緩衝液を調製する方法ですべて pH 3.0 に調節した。

装置：吸収スペクトルの測定には、日立-124 型自記分光光度計を用いた。吸光度は、日立 Perkin-Elmer 139 型分光光度計によって測定した。pHの測定には、日立-堀場 F-7 型 pH メーターを使用した。

実験結果

1. 一塩基性飽和脂肪酸の添加効果

ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸および吉草酸についてその影響を調べた。酢酸(0.05~1.0M)添加による吸収スペクトル変化を Fig. 1 に示した。

図のように、酢酸濃度の増加に伴い 520 nm 付近の吸光度は増大し、1.0 M 濃度で無添加区の約2倍まで達した。前報の無機塩添加による吸収スペクトル変化と比較すると λ_{max} 520 nm の吸光度増加に伴う 450 nm および 580 nm 付近の吸光度の上昇は小さく、赤紫色のみを濃くした。このことは他の一塩基性脂肪酸についても同様であった。

一塩基性脂肪酸の添加効果を無添加区の E_{520nm} に対する増加分すなわち ΔE_{520nm} として添加脂肪酸濃度に対してプロットし Fig. 2 の結果を得た。

図から明らかなように、 ΔE_{520nm} と酸濃度との間に直線関係が成立した。直線の傾きはギ酸、酢酸、……吉草酸と炭素鎖が長くなるにつれて増大した。吉草酸では

Fig. 1. Hyperchromic effect of acetic acid on the crude anthocyanin solution (pH 3.0)

Pigment concn: $1.0 \times 10^{-4} M$ as malvidin-3, 5-diglucoside (Mv-3.5 DG)

Fig. 2. Relationship between the enrichment of absorbance at 520 nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) and the concentration of saturated fatty acids, monobasic

(1) Formic acid, (2) acetic acid, (3) propionic acid, (4) *n*-butyric acid, (5) *n*-valeric acid, pigment concn: $1.0 \times 10^{-4} M$ as Mv-3, 5 DG.

0.5 M 濃度以上で水層部と有機層部が分離して測定不可能であった。

添加飽和脂肪酸の炭素数と濃色化効果(ΔE_{520nm})との関係を明確にするため、0.2 M 濃度における ΔE を脂肪酸の炭素数に対してプロットし Fig. 3 を得た。図から明瞭のように炭素数と ΔE_{520nm} の対数値の間には良好な直線関係が成立した。

Fig. 3. Correlation between carbon number of saturated fatty acids, monobasic and ΔE_{520nm}
Concn of acids: 0.2 M.

Fig. 4. Relationship between the enrichment of absorbance at 520nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) and the concentration of carboxylic acids

(1) Glycolic acid, (2) lactic acid, (3) malonic acid, (4) malic acid, (5) citric acid, (6) tartaric acid, (7) succinic acid, (8) oxalic acid, (9) maleic acid, pigment concn: $1.0 \times 10^{-4} M$ as Mv-3,5 DG.

2. その他の有機酸の添加効果

二塩基性酸として、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、酒石酸、コハク酸およびマレイン酸、三塩基性酸としてクエン酸、その他乳酸およびグリコール酸について検討した結果を Fig. 4 にまとめた。

供試したすべての有機酸は、 E_{520nm} 値を増加させる濃色化効果を示し、 ΔE_{520nm} と有機酸濃度との間に良好な直線関係が成立した。とくにマレイン酸は最も大きな濃

Fig. 5. Stability of the enriched absorbance at 520 nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) during storage
Concn of monobasic fatty acids: 0.2 M, (0) control, (1) formic acid, (2) acetic acid, (3) propionic acid, (4) *n*-butyric acid, (5) *n*-valeric acid.

色化効果を有し、その効果は比較的低濃度 (0.05~0.2 M) でも他の有機酸の 2~3 倍の値を示した。一塩基性酸では乳酸の方がグリコール酸よりも効果が大きかった。二塩基性酸では 0.2 M 濃度で、効果の大きい方から、コハク酸、マロン酸、酒石酸、リンゴ酸の順であった。

3. 貯蔵中における吸光度変化

(1) 一塩基性飽和脂肪酸の影響

飽和脂肪酸 (0.2 M) 添加色素液の E_{520nm} の貯蔵に伴う経時変化を Fig. 5-A に、差吸光度 (ΔE_{520nm}) 変化を Fig. 5-B に示した。

Fig. 5-A のように、見かけの有効色素濃度は貯蔵に伴って減少し、とくに貯蔵 10 日目位まで顕著な減少を示したが、Fig. 5-B から明らかのようにその差吸光度は 40 日間にわたって全く減少せず、無添加の場合と同様に強められた赤紫色分 (ΔE_{520nm}) は無添加区中の有効色素による赤紫色に比べて極めて安定であった。また、差吸光度は炭素数の増加にしたがって増加の傾向を示した。

(2) その他の有機酸の効果

有機酸 0.2 M (シュウ酸については 1.0 M) での E_{520nm} の経時変化を要約し、Fig. 6 に示した。

図から明らかのように、マレイン酸添加によってもたらされた濃色化効果はきわめて安定であり、吉草酸の場合と同様 40 日間の貯蔵を通じて全く減少しなかった。また、多くの多塩基性酸 (リンゴ酸、酒石酸、クエン酸など)

Fig. 6. Stability of the enriched absorbance at 520 nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) during storage

Concn of acids except oxalic acid (0.1M): 0.2M, (0) control, (1) malonic acid, (2) oxalic acid, (3) malic acid, (4) citric acid, (5) tartaric acid (6) succinic acid, (7) maleic acid.

Fig. 7. Stability of the enriched absorbance at 520 nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) during storage

Concn of malonic acid: 0.1-1.0M.

および乳酸, グリコール酸も添加直後の吸光度を保持し, 赤紫色も安定であった。しかしながら, 供試したものの中で, シュウ酸ならびにマロン酸は貯蔵に伴って直線的に吸光度を低め, 色素液の赤紫色を脱色させる淡色化効果を示した。

マロン酸の貯蔵中の差吸光度変化を Fig. 7 に示した。

図のように, 添加直後は濃度の高いものほど ΔE_{520nm} 値すなわち濃色化効果は大きかった。しかしながら, 貯蔵40日目では逆に酸濃度が高いほど ΔE_{520nm} 値はより大きな負の値を示し, 酸の添加によって新たに有効化された色素のみならず, 無添加時に存在していた有効色素をも無効化脱色した。

考 察

ブドウ果汁色素液に対する有機酸の添加効果を原果汁と同じ pH 3.0 で検討した。

供試した有機酸の解離定数 (多塩基性酸では第1解離定数) は, シュウ酸 ($pK_1=1.27$) およびマレイン酸 ($pK_1=1.94$)³⁾ を除いて 3.0 より大きい。したがって大部分は塩 (プロトンを解離しナトリウムと塩を形成する) よりも酸 (プロトンを付加した形) の状態で存在していると考えられる。

まず, 分子量の大きさに着目して一塩基性飽和脂肪酸について検討した結果, 各脂肪酸とも濃色化効果を有し, 炭素数の増加にしたがってその効果は甚しく増大した。0.2M 濃度での炭素数と ΔE_{520nm} 値の対数値との間には直線関係が存在し, 分子量の大きなものほど濃色化効果が大きいことが判明した (Fig. 3)。

次いで, ブドウ中に存在する有機酸⁴⁾ (マロン酸・乳酸を除く) に注目し, その影響を調査した。その結果供試有機酸についてすべて濃色化効果を認めた。その効果は一塩基性酸では乳酸>グリコール酸となり, 上述同様分子量 (乳酸; 90.08, グリコール酸; 76.05) の順となった。しかしながら, 多塩基性酸では分子量からその効果を説明することができなかった。

水酸基の効果を検討したところ, 炭素数の同じ有機酸 (コハク酸, リンゴ酸, 酒石酸) では, わずかであるが水酸基を有しないコハク酸の効果が大きかった。

さらに貯蔵中の有機酸の効果を検討したところ, 色素液に対する影響の及ぼし方で次の3つのグループに大別できた。第1は, 濃色化効果が大きくかつその効果の持続性に富むグループ; マレイン酸, 古草酸など。第2は, 濃色化効果はあまり大きくないが, その効果を安定に持続するグループ; 酒石酸, クエン酸など多くの有機酸がこれに属する。第3は, 添加による濃色化効果は第1のグループに近いが, 貯蔵中に逆に退色を促進するグループ; シュウ酸, マロン酸である (Fig. 6)。

とくに, 第3のグループに属するシュウ酸は広く植物界に存在しており, その退色促進作用は興味ある問題であろう。また, マロン酸はフラビウム過塩素酸塩との

反応が知られているが^{5,6)}、天然アントシアニンとの反応の報告はない。なお、この退色を促進するグループに属するものとして、著者らは TCA 回路中のオキサロ酢酸もすでに認めている。

以上のように有機酸の色素液に対する効果は、一塩基性酸では分子量の大きさによるものであるが、多塩基性酸では分子構造によって大きく相違することが明らかとなった。

無機塩同様に一定 pH (3.0) 条件下で、多くの有機酸は濃色化効果を示し、その中には実用性に富むクエン酸、酒石酸、酢酸も含まれるが、実用性との関連は更に検討して行く予定である。

なお、一定 pH 条件下 (プロトン濃度一定) での有機酸 (塩) 添加に伴う溶媒の物理化学的性状変化については現在検討中である。

要 約

ブドウ果汁 (キャンベル・アーリー) の色素液 (pH 3.0) の赤紫色 (ΔE_{520nm}) に対する有機酸の効果を検討したところ、無機塩同様多くの有機酸が濃色化効果 (吸光度の増大) を有し、同時にその効果を長時間安定化することを発見した。

1) 一塩基性飽和脂肪酸の効果では、脂肪酸の炭素数と差吸光度 (ΔE_{520nm}) の対数値との間の直線関係の成立により、分子量の大きい脂肪酸の方がより大きな濃色化効果を有することが明らかになった。

2) ポリカルボン酸の効果でも、酸濃度と差吸光度 (ΔE_{520nm}) との間に直線関係が得られた。マレイン酸が最も大きな濃色化効果を示した。

3) 多くの有機酸は貯蔵中、有効色素濃度の増分 (ΔE_{520nm}) をよく保持した。

4) 有機酸は貯蔵中の色素液に対する影響のし方によって次の3つのグループに分類された。i) 濃色化効果が大きく、その効果の持続性に富むグループ; マレイン酸, *n*-吉草酸。ii) 濃色化効果は大きくないが、その効果の持続性に富むグループ; 酒石酸, クエン酸など。iii) 添加による濃色化効果は大きい、貯蔵中に退色を促進するグループ; シュウ酸, マロン酸。

終りに臨み、終始御指導を戴きました前九州大学芥田三郎教授に深く謝意を表します。

文 献

- 1) 太田英明・箴島 豊: 食品工誌, **25**, 73 (1978).
- 2) 太田英明・箴島 豊・沢村正義・中村 浩・芥田三郎: 食品工誌, **23**, 345 (1976).
- 3) DEAN, J.A.: *Lange's Handbook of Chemistry*, 11th ed. (McGraw-Hill Book Company), p. 5~15 (1973).
- 4) 森 健・村岡信雄・鄭 花雄: 食品工誌, **14**, 187 (1967).
- 5) WIZINGER, R. and LUTHINGER, A.: *Helv. Chem. Acta.*, **36**, 526 (1953).
- 6) BLACKBURN, M., SANKEY, G.B., ROBERTSON, A. and WHALLEY, W.B.: *J. Chem. Soc.*, 1573 (1957). (昭和52年6月30日受理)