ナスアントシアニンの熱安定性

石井智恵美*・鈴木敦子*

倉田元子*・表 美守*

Thermal Stability of Anthocyanins from Eggplant, *Solanum melongena* L.Chiemi ISHII*, Atsuko SUZUKI*,
Motoko KURATA* and Yoshimori OMOTE** Jissen Women's University, 4-1-1,
Osakaue Hino-shi, Tokyo 191

The thermal degradation of anthocyanins, in a pigment solution extracted from the lyophilized powder of eggplant peel with 0.1 % hydrochloric acid-methanol and in the powder itself, was examined. The anthocyanin retention with time was measured at 50°C and 60°C in the former sample, and at 100°C and 120°C in the latter sample. The kinetic data (k , $\Delta G^\ddagger$, E_a , $\Delta H^\ddagger$, and $\Delta S^\ddagger$) on anthocyanin degradation were obtained. The thermal decomposition of total anthocyanins including nasunin in 0.1% hydrochloric acid-methanol solution seemed to proceed as a first order reaction. The reaction was reproducible. The scattering light in a laboratory did not considerably influence upon the rate of nasunin degradation. In case of the lyophilized powder, the reaction seemed not to be a first order one. There was little difference between the decomposition rates of total anthocyanins heated at 100°C and at 120°C for 60 min, however, the great increase in the rate of nasunin at 120°C was observed. (Received May. 22, 1990)

アントシアニン色素の安定性については、赤ワインの色を美しく保つことを目的とした研究を始め、人工着色料の代替品としての天然着色料の開発、色素が植物細胞中では安定に存在することに対する興味などによって、すでに多くの報告がなされている。抽出・単離されたアントシアニンは環境（温度、光、酸素、pH）^{1)~5)}の変化に鋭敏である。特に、pHが変化した場合のアントシアニンの色調の変化及び構造の変化は、すでによく解明さ

れている^{2)~5)}。

著者らはアントシアニン試料を比較的安定に得る方法として植物果皮（ナス）の凍結乾燥粉末およびその粉末からのメタノール性塩酸による抽出液を用いて、植物色素の安定性を基礎的に検討する再現性の良い実験方法を設定する研究⁶⁾⁷⁾を進めて来た。本報では一定温度におけるナスの粗アントシアニンの褪色を速度論的データを用いて調査するとともに、混在するナスの主要色素ナスニン (Delphinidin-3-[4-(*p*-coumaroyl)-L-rhamnosyl-(1→6) glucoside]-5-glucoside)⁸⁾を TLC (薄層クロマトグラフィー) で分離し、その安定性についても合わせて検討した。

1. 実験

(1) 方法

試料は市販のナス (*Solanum melongena* L.) を購入し、果皮のみを凍結真空乾燥 (共和真空技術株式会社製凍結真空乾燥機 RL-7 MB) して粉末とし、100 メッシュのふるいにかけて均一にしたものおよびこの粉末より 0.1% 塩酸-メタノール液で抽出した粗色素液を用いた。

凍結真空乾燥粉末の場合は、粉末 0.05 g を秤量ビンにとり 100°C, 120°C で 120 分まで加熱した後、直ちに水冷し 0.1% 塩酸-メタノール液で色素を抽出し吸光度 (540 nm) を測定し、総アントシアニンとして示した。さらに TLC (アビセル SF, ブタノール:酢酸:水 = 4:1:5) で分離したナスニン画分をデンスitomーター (島津二波長クロマトスキャナー, スリット幅 0.46 mm, 高さ 5.2 mm, スキャンスピード 80 mm/min) により測定し、ナスニンの残存率として表した。

アントシアニン抽出液の場合は、抽出液 10 ml をメスフラスコに入れ 50°C, 60°C で 240 分まで加温した後水冷し、暗所にて 20 分間放置して室温にもどし、蒸発した容量を補正して吸光度を測定した。さらに前述と同様に TLC, デンスitomーターにより、ナスニンの残存率を求めた。

(2) 速度論的解析法

対象とするアントシアニンの定量は吸光度により行い、アントシアニンの熱分解は一次反応^{9)~13)}に従うものと仮定した。熱分解の反応速度 k , 活性化自由エネルギー $\Delta G^\ddagger$, 活性化エネルギー E_a , 活性化エンタルピー $\Delta H^\ddagger$ および活性化エントロピー $\Delta S^\ddagger$ を常法¹⁴⁾に従って求めた。

* 実践女子大学家政学部 (〒191 東京都日野市大坂上 4-1-1)

2. 実験結果及び考察

(1) 0.1% 塩酸メタノール抽出液中のアントシアニンの熱安定性

ナスの凍結真空乾燥粉末より 0.1% 塩酸-メタノール液で抽出した粗色素液を用いて総アントシアニンの熱安定性を検討した (Table 1). 温度はメタノールの沸点以下の 50℃ と 60℃ を設定した.

その結果, E_a は 19.5 (暗), 20.8 kcal/mol (明), $\Delta H^\ddagger$ は 18.9 (暗), 20.2 kcal/mol (明), $\Delta S^\ddagger$ は -22.8 (暗), -19.2 cal/mol·K (明) であった. また反応速度の温度依存性 Q_{10} は 2.49 (暗), 2.61 (明) であった. 暗所と明所の比較を行ったのは実験条件を設定するうえで厳密に光を遮断する必要の有無を検討するためであったが, 両者の解析値の差は僅かであり, 室内の散乱光程度では総アントシアニンの熱分解にそれほど大きな影響を与えないと推測された.

そこで Table 1 に示したと同じ試料を用い, TLC とデンストメーターによりナスニンの残存率を測定し, 熱安定性を検討した (Table 2). この場合も 240 分までの各時間ごとの k ($\times 10^{-5}$) の値はほぼ一定 (詳細は省く) であったので一次反応と考えて検討を進めた.

その結果, E_a は 21.5 (暗), 21.7 kcal/mol (明), $\Delta H^\ddagger$ は 20.8 (暗), 21.2 kcal/mol (明), $\Delta S^\ddagger$ は -16.4 (暗), -15.2 cal/mol·K (明) であった. Q_{10} は暗所が 2.71, 明所が 2.74 であり, 温度が 10℃ 上昇した場合の反応速度の加速の度合いは総アントシアニン

として検討した場合より若干大きくなっていた. 暗所と明所の比較においては, 解析値にはほとんど差がなく, ナスニンは光の影響を受けにくいと考えられる.

ナスニンの他にデルフィニジンのように配糖体でないアグリコンをも含む混合系としての総アントシアニンの残存率からもとめた解析値とナスニンのみの残存率からもとめた解析値を比較することは難しいが, 総アントシアニンの場合の活性化エントロピー $\Delta S^\ddagger$ は -22.8 cal/mol·K, TLC で分離したナスニンの場合は -16.4 cal/mol·K であることから, 遷移状態で規則性を増す度合いはナスニンとして検討した場合の方が小さい. これはナスニンの配糖体部分が基底状態で既に規則的に配列しているため, 遷移状態で規則性を増す程度が少ないことを暗示している. このことは, 近年論じられているアントシアニンの構造 (分子内スタッキング)^{2) 15)~19)} と安定性に関連して興味深い.

(2) ナス凍結乾燥粉末中のアントシアニンの熱安定性

ナスアントシアニンの熱安定性を凍結乾燥粉末で測定した結果と反応速度定数を Table 3 に示した. その結果, この反応は一次反応とは考えにくい, k の比較のみ行った. また 120℃ 加熱では, 60 分を過ぎると著しく褐変した. 水分の極端に少ない状態での加熱において, 総アントシアニンの分解速度は 30 分, 60 分加熱で 100℃, 120℃ 間に差はなかった. またナスニンの分解速度についても同様であり, 短時間の加熱においては熱媒体としての水分が少ないため, 多少の温度差は影響し

Table 1 Thermal stability of anthocyanins*1 in 0.1% HCl-methanol

Heating time (min)		30	60	90	120	180	240
Anthocyanin retention*2 in the dark*3	50℃	98.2	96.7	94.8	92.8	90.1	86.7
	60℃	96.0	91.4	87.5	83.5	75.6	67.5
Anthocyanin retention*2 in the light*4	50℃	98.2	96.3	93.8	92.6	88.3	84.7
	60℃	95.3	90.7	85.3	82.1	72.4	63.5
Dark	k (50℃)	$1.01 \times 10^{-5}/s \cdot mol$					
	$\Delta G^\ddagger$ (50℃)	26.5 kcal/mol					
	E_a	19.5 kcal/mol					
Light	k (50℃)	$1.10 \times 10^{-5}/s \cdot mol$					
	$\Delta G^\ddagger$ (50℃)	26.4 kcal/mol					
	E_a	20.8 kcal/mol					

*1: extracted from the lyophilized powder of eggplant peel

*2: expressed as a percentage estimated by comparing the absorbance at zero heating time to that after given heating time

*3: The light was shut off with aluminum foil.

*4: under the scattering light in the room

Table 2 Thermal stability of nasunin*¹ in 0.1% HCl-methanol

Heating time (min)		60	120	180	240
Nasunin retention* ² in the dark* ³	50°C	93.0	88.4	83.1	80.0
	60°C	82.9	70.5	60.2	54.0
Nasunin retention* ² in the light* ⁴	50°C	93.4	87.1	83.1	79.5
	60°C	82.6	69.9	59.5	52.8
Dark		k (50°C) 1.75×10^{-5} /s.mol k (60°C) 4.75×10^{-5} /s.mol $\Delta G^\ddagger$ (50°C) 26.1 kcal/mol $\Delta G^\ddagger$ (60°C) 26.3 kcal/mol E_a 21.5 kcal/mol $\Delta H^\ddagger$ 20.8 kcal/mol $\Delta S^\ddagger$ -16.4 cal/mol · K			
Light		k (50°C) 1.78×10^{-5} /s.mol k (60°C) 4.88×10^{-5} /s.mol $\Delta G^\ddagger$ (50°C) 26.1 kcal/mol $\Delta G^\ddagger$ (60°C) 26.3 kcal/mol E_a 21.7 kcal/mol $\Delta H^\ddagger$ 21.2 kcal/mol $\Delta S^\ddagger$ -15.2 cal/mol · K			

*¹: detected by TLC-densitometry. Condition; shown in Fig. 1*²: expressed as a percentage estimated by comparing the absorbance at zero heating time to that after given heating time*³: The light was shut off with aluminum foil.*⁴: under the scattering light in the room

Table 3 Thermal stability of anthocyanins in lyophilized powder of eggplant peel

Heating time (min)		30	60	120
Anthocyanin retention* ¹ k	100°C	98.0 1.12×10^{-5}	90.8 2.68×10^{-5}	88.0 1.77×10^{-5}
Nasunin retention* ² k	100°C	97.8 1.23×10^{-5}	92.6 2.13×10^{-5}	89.1 1.60×10^{-5}
Anthocyanin retention* ¹ k	120°C	97.9 1.18×10^{-5}	89.8 2.99×10^{-5}	76.6 3.70×10^{-5}
Nasunin retention* ² k	120°C	97.3 1.52×10^{-5}	90.4 2.80×10^{-5}	31.3 1.61×10^{-4}

*¹: expressed as a percentage estimated by comparing the absorbance at the zero heating time to that after given heating time*²: expressed as a percentage estimated by the relative amount of nasunin at the zero heating time to that after given heating time by TLC-densitometry

ないのではないかと考えられる。一方、加熱時間が 120 分になると、120°C の場合は総アントシアニンでは、分解の反応速度 (3.70×10^{-5}) が 100°C の場合 (1.77×10^{-5}) の 2.09 倍、ナスニン (120°C: 1.61×10^{-4} , 100°C: 1.60×10^{-5}) では 10.06 倍となった。そこで TLC, デンシトメーターによる検討 (Fig. 1) を行うと、100°C, 120 分の加熱によって新たなバンドの出現はなく、単にナスニンのピークが減少しただけであった。これに対して 120°C 加熱では分解産物と思われる新たなバンド (Rf: 0.14) を得た。これはナスニンより *p*-クマール酸とラムノースが加水分解によってとれたデルフィニジン-3,

5-ジグルコシド²⁰⁾ではないかと思われる。ナスニン同様に赤色をしているのでナスニン残存率が著しく低下したにもかかわらず総アントシアニン残存率はそれほど低下しなかったと推定される。100°C 加熱の場合は、*p*-クマール酸やラムノースが解離するような過激な反応は起こらず、加熱による水の pH の上昇²¹⁾に従って穏やかな水和が起こり、無色の物質 (シュードベース) となったのではないかとと思われる²²⁾。しかしながら、凍結真空乾燥粉末を用いる方法では、熱媒体としての水分の多少が重要であると考えられ、試験開始時の試料の水分含有率やその経時的な変化の正確なデータなしには反応を論

Fig. 1 Comparison of anthocyanins by TLC*¹-densitometry*² in lyophilized powder of eggplant peel heated under given condition

*¹: *n*-butanol: acetic acid: water (4:1:5)
Avicel SF (Funakoshi)

*²: Dual-wavelength TLC scanner CS-900
(Shimadzu)
Slit; Height 5.2 mm, Width 0.46 mm

ずることは難しい。

3. 要 約

アントシアニン色素の熱安定性を明らかにするため、ナス果皮の凍結真空乾燥粉末およびこの粉末より0.1%塩酸-メタノールで抽出した粗色素液を用いて検討した。色素抽出液のアントシアニンの熱分解は50℃と60℃で、また凍結乾燥粉末のそれは100℃、120℃で行い、経時的なアントシアニンの残存率を測定した。得られた結果はアントシアニンの分解の速度論的データ(k , $4\Delta G^\ddagger$, E_a , $\Delta H^\ddagger$, $\Delta S^\ddagger$)を用いて示した。

1) 0.1% 塩酸-メタノール液中の総アントシアニンの褪色は、熱安定性を検討する上で変化が明確であり再現性も良い。特にナスニンは光の影響を受けにくかった。

2) 凍結真空乾燥粉末を用いた場合は、100℃、120℃加熱とも60分までは総アントシアニン残存率、反応速度とも大きな変化が見られなかった。加熱時間が120分

になると、120℃加熱において速やかなナスニンの分解が観察された。

文 献

- 1) VANBUREN, J.P., HRAZDINA, G. and ROBINSON, W.B.: *J. Food Sci.*, **39**, 325 (1974).
- 2) BROUILLARD, R.: *Phytochemistry*, **22**, 1311 (1983).
- 3) HAVLÍKOVÁ, L. and MÍKOVÁ, K.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **181**, 427 (1985).
- 4) HAVLÍKOVÁ, L. and MÍKOVÁ, K.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **184**, 289 (1987).
- 5) 津久井亜紀夫: 家政誌, **39**, 209 (1988).
- 6) 石井智恵美・奥村江理子・鈴木敦子・倉田元子・萩 恭子・表 美守: 実践女子大家政紀要, **25**, 65 (1988).
- 7) 石井智恵美・萩 恭子・馬場やよひ・表 美守: 実践女子大家政紀要, **26**, 61 (1989).
- 8) WATANABE, S., SAKAMURA, S. and OBATA, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 420 (1966).
- 9) LUKTON, A., CHICHESTER, C.O. and MACHINNEY, G.: *Food Technol.*, **10**, 427 (1956).
- 10) TINSLEY, J.J. and BOCKIAN, A.H.: *Food Res.*, **25**, 161 (1960).
- 11) TANCHEV, S.S.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **150**, 28 (1972).
- 12) JONTSCHewa, N. and TANTSCHew, S.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **150**, 31 (1972).
- 13) TANCHEV, S.S. and JONTSCHewa, N.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **153**, 37 (1973).
- 14) 表 美守: 有機反応機作 (講談社, 東京), p. 17 (1971).
- 15) HOSHINO, T., MATSUMOTO, U. and GOTO, T.: *Tetrahedron Lett.*, **21**, 1751 (1980).
- 16) HOSHINO, T., MATSUMOTO, U., GOTO, T. and HARADA, N.: *Tetrahedron Lett.*, **23**, 433 (1982).
- 17) 後藤俊夫: 化学, **41**, 559 (1986).
- 18) GOTO, T., TAMURA, H. and KONDO, T.: *Tetrahedron Lett.*, **28**, 5907 (1987).
- 19) 後藤俊夫・近藤忠雄: 有機合成化学, **46**, 426 (1988).
- 20) HARBORNE, J.B.: *Chromatographic Reviews Vol. 1*, ed. LEDERER, M. (Elsevier, Amsterdam), p. 214 (1959).
- 21) 実験化学便覧編集委員会: 実験化学便覧 (共立出版, 東京), p. 446 (1975).
- 22) 後藤俊夫・近藤忠雄: 化学と生物, **22**, 827 (1984).

(平成2年5月22日受理)