赤紫肉色ジャガイモのアントシアニンの 抗酸化活性と食品化学的特性

石井現相*・森 元幸**†・梅村芳樹**

Antioxidative Activity and Food Chemical Properties of Anthocyanins from the Colored Tuber Flesh of Potatoes

Gensho ISHII*, Motoyuki MORI**
and Yoshiki UMEMURA**

* Hokkaido National Agricultural Experiment
Station, Toyohira-ku, Sapporo-shi 062

** Hokkaido National Agricultural Experiment
Station, Shimoshimamatsu, Eniwa-shi 061-13

This study was pursued to elucidate the food chemical properties of anthocyanins in the colored tuber flesh of 5 varieties. Freeze-dried anthocyanins were prepared and dissolved into a buffer solution by the following procedures. Anthocyanins were extracted from the sliced tubers with methanol containing 1% TFA. After removal of lipid, the crude liquid was washed and purified by a Diaion HP-20 resin. The anthocyanin fraction was eluted from the resin by adding methanol to the column, followed by condensation and lyophilization. Heat treatment faded the anthocyanin color and its degree was more intense in purple pigmented varieties than in red ones. Radiation of light also weakened the pigment intensity, and its effect was slightly mild to purple colored varieties compared to red ones. Addition of ferrous ion decomposed the anthocyanin pigments, but its effect differed among the varieties tested. Influence of pH on the color depended on the acidity in a buffer solution, namely, the lower pH, the more intensity. Antioxidative activity was assayed by a ferric thiocyanate method. The extract of anthocyanins showed more effective antioxidative activity than that of α -tocopherol against the oxidation of linoleic

acid in a potassium phosphate buffer (pH 7.0), and exhibited a strong activity as the same as BHA and BHT. (Received Dec. 5, 1994)

ジャガイモのアントシアニンなど未利用遺伝形質を育種操作により改良して有用物質の含量を高め、カラフルなサラダやポテトチップス (Fig. 1) など新規の食品、着色用食品添加物や染料として利用するためには、原料素材の食品化学的特性を明確にしておくことが不可欠である。ここでは赤紫色アントシアニン含有の交配育種素材¹⁾及びこれより育成された着色数品種・系統の塊茎からアントシアニンを抽出し、その抗酸化性、耐熱性、耐光性、耐鉄イオン性および発色の pH 依存性を調べた。

実験方法

1. 色素の抽出及び凍結乾燥試料調製法

北海道農業試験場ばれいしょ育種研究室が 1993 年に島松圃場で栽培した赤色 3 系統 (WB 902205-1, W 872209-5, WB 902241-6) 及び紫色 2 系統 (W 872210-13, SH 571) を供した。色素は各系統について約 500 g の塊茎を水洗後、3 mm 幅に輪切りし、2 l 容の三角フラスコに入れ、650~750 ml の 1% (v/v) トリフルオロ酢酸含有メタノール (以下 MeOH) を加えて室温で一晩浸漬、抽出した。この抽出液について前報¹⁾と同様に 40℃ 以下で減圧濃縮後、エーテル処理を行った。脱脂した粗色素液はダイアイオン HP-20 樹脂に吸着、モリッシュ反応が陰性になるまで脱塩水で洗浄、次いで色素を MeOH で溶出させ、ロータリー・エバポレーターにより 40℃ 以下で減圧濃縮後、脱塩水で希釈した。さらにこれを Sep-PakC₁₈ カートリッジに吸着させ、MeOH で溶出、減圧濃縮後、凍結乾燥してアントシアニン乾燥色素として以下の実験に供した。

2. 耐熱性

乾燥色素を 12 ml 容ネジ蓋付きガラス試験管に入れ、1 mg/ml 濃度になるように 0.1 M の McIlvaine buffer (pH 3.0) 10 ml を添加、超音波処理で色素を溶解させた。これを密栓して 90℃ 2 時間、湯浴中に置いた。加熱前後の色素溶液の可視部最大吸光波長における吸光度変化から色素残存率を計算した。

3. 耐光性

前記と同一に調製した 10 ml の色素溶液を蓋付きガラ

* 農林水産省北海道農業試験場品質生理研究室 (〒062 札幌市豊平区羊ヶ丘 1 番地)

**† 現長崎県総合農林試験場愛野馬鈴薯支場 (〒854-03 長崎県南高来郡愛野町乙 2777)

** 農林水産省北海道農業試験場ばれいしょ育種研究室 (〒061-13 恵庭市下島松 829)

A

B

Fig. 1 Trail products for a salad (A) and potato chips (B : left, diploids with carotenoids ; right, diploid with anthocyanins)

スシャーレ (φ4 cm×深さ1 cm) に入れ, 光源 (UV 殺菌灯 15 W ナショナル製 GL-15 型) から 20 cm の距離に並べて室温に 6 時間放置した. 光照射前後の色素溶液の吸光度変化から色素残存率を計算した.

4. 二価鉄イオン耐性

10 ml の色素溶液 (0.5 mg/ml) に対して塩化第一鉄を 210 ppm の Fe^{2+} になるように 12 ml 容ネジ蓋付きガラス試験管に入れ, 密栓して室温 19~22°C 暗黒下に 1 日静置した. 二価鉄の添加前と添加 1 日後の吸光度から色素残存率を計算した.

5. 発色の pH 依存性

色素を溶解させる緩衝液の pH を 0.1 M の McIlvaine buffer 及び塩酸で 3 段階 (pH 1.0, 3.0, 5.0) に調整した色素溶液 (0.5 mg/ml) について, その吸光度を比較測定した.

6. 抗酸化試験

ロダン鉄法²⁾⁻⁴⁾により測定した. すなわち, 2 ml の 2.8% (w/v) リノール酸含有 99.5% エタノール (以下

EtOH) をガラス試験管 (φ16 mm×110 mm) に入れ, 4 ml の 50 mM リン酸塩緩衝液 (pH 7.0), 2 mg の乾燥色素を含む 2 ml の EtOH 及び 2 ml の蒸留水を加えて密栓し, 40°C 暗黒下に 1 週間静置した. 抗酸化活性の検定は何も加えなかったもの (EtOH) を対照として, 色素と同重量の *dl*- α -トコフェロール, BHT 及び BHA を添加した区の吸光度 (500 nm) を比較測定することにより行った. 結果は対照の吸光度を 100 とする % で表示した.

実験結果及び考察

1. 耐熱性・耐光性

色素の耐熱性は pH 3.0 の緩衝液中で 90°C 2 時間加熱した結果, 加熱前の吸光度を 100 とし, 赤色 3 系統の色素残存率 74~76% が紫色 2 系統の 64~67% よりも高かった (Table 1). この結果は別の実験⁵⁾からも同じ傾向を得ている. 色素の耐光性は紫色 2 系統の色素残存率が 97% と 94% で, 赤色 3 系統の 86~92% より若干,

Table 1 Effect of heat treatment on the stability of anthocyanin solutions

Variety	Pigment color	$\lambda_{\max}$ in pH 3.0 (nm)	Holding at 90°C for 2 hrs		A/B* (%)
			Before (B)	After (A)	
W 872213-13	purple	532	1.010	0.673	67
SH 571	purple	532	0.850	0.542	64
WB 902205-1	red	518	2.190	1.671	76
W 872209-5	red	512	0.623	0.461	74
WB 902241-6	red	511	1.565	1.188	76

The concentration of each anthocyanin solution was adjusted to 1.0 mg of pigment per one ml of 0.1 M McIlvaine buffer (pH3.0).

* Values show the ratio of absorbance after treatment to that before it.

Table 2 Effect of radiation of light on the stability of anthocyanin solutions

Variety	Pigment color	$\lambda_{\max}$ in pH 3.0 (nm)	Light radiation for 6 hrs		A/B* (%)
			Before (B)	After (A)	
W 872210-13	purple	532	0.915	0.889	97
SH 571	purple	532	0.879	0.828	94
WB 902205-1	red	518	2.047	1.881	92
W 872209-5	red	512	0.578	0.498	86
WB 902241-6	red	511	1.972	1.765	90

Legend is the same as shown in Table 1.

* Values show the ratio of absorbance after treatment to that before it.

勝った (Table 2).

2. 二価鉄イオン耐性・発色の pH 依存性

二価鉄イオンの色素への影響は赤色系統 WB902241-6 で色素残存率が 98% で最も高く、同じ赤色系統の W 872209-5 でのそれが 71% で最低であった (Table 3). その他の系統の色素残存率の差はなかった. pH が 0.05% (w/v) 色素濃度 (吸光度) に及ぼす影響はアントシアニン一般に認められているように pH 3.0 における吸光度値を 100 とすると、いずれの系統も pH 1.0 で 262~484 と高く、pH 5.0 では 20~45 と低かった (Table 4).

3. 抗酸化性

赤及び紫色アントシアニンの抗酸化活性は pH 7.0 のリン酸緩衝液中でいずれも *dl*- α -tocopherol よりも強く、BHA と BHT に匹敵する能力を示した (Fig. 2). 近年、ジャガイモと同じ *Solanum* 属のナスに含まれるアントシアニンのナスニン⁶⁾、ブドウ果実⁷⁾⁸⁾ や豆⁹⁾ のアントシアニンに抗酸化活性が認められており、それらの抗

酸化力がアントシアニン分子内の B 環のフェノール性水酸基の数やその位置、*p*-クマル酸残基あるいは糖残基によると考察されている. また生物に有害な活性酸素種のヒドロキシルラジカル ($\cdot$ OH) に対するスカベンジャーとしてナスニンなどアントシアニンが酸性よりも中性領域でより有効であることを極微弱発光法で測定した報告¹⁰⁾¹¹⁾ がある. ここでのアントシアニンは単離・精製した単一化合物でなく、アントシアニンの混合物であるが、抗酸化性が認められたことから、今後、抗酸化機構の解明、動物や人体内で実際に抗酸化力が発揮されるか否か検証する必要がある.

要 約

着色ジャガイモ塊茎から抽出したアントシアニン色素について以下の食品化学的特性を色素溶液で測定した.

耐熱性は赤色系統が紫色系統よりも高かった. 一方、耐光性は紫色系統が若干、赤色系統より勝った.

二価鉄イオン耐性は系統により異なるが、同イオン添

Table 3 Effect of ferrous ion Fe (II) on the stability of anthocyanin solutions

Variety	Pigment color	$\lambda_{\max}$ in pH 3.0 (nm) (before addition)	Fe (II) addition for 1 day		A/B* (%)
			Before (B)	After Absorbance (A)	
W 872210-13	purple	532	0.555	0.480	86
SH 571	purple	532	0.365	0.316	87
WB 902205-1	red	518	1.201	1.096	91
W 872209-5	red	512	0.404	0.287	71
WB 902241-6	red	511	0.929	0.915	98

The concentration of each anthocyanin solution was adjusted to 0.5 mg of pigment per one ml of 0.1 M McIlvaine buffer (pH3.0).

* Values show the ratio of absorbance after 210 ppm Fe (II) addition to that before it.

Table 4 Effect of pH on the color intensity of anthocyanin solutions

Variety	Wavelength (nm)	Absorbance (Relative values to that of pH 3.0)		
		pH 1.0	pH 3.0	pH 5.0
W 872210-13	532	1.049(262)	0.401(100)	0.180(45)
SH 571	532	1.567(484)	0.324(100)	0.103(32)
WB 902205-1	518	3.972(358)	1.108(100)	0.224(20)
W 872209-5	512	1.064(384)	0.277(100)	0.091(33)
WB 902241-6	511	3.613(429)	0.843(100)	0.177(21)

The concentration of each anthocyanin solution was as the same as shown in Table 3. The pH 1.0 of 0.1 M McIlvaine buffer solution was adjusted with addition of HCl.

Fig. 2 Antioxidative activity of anthocyanins extracted from the colored tuber flesh

Note :

Control (99.5% ethanol), W872210-13 (variety with purple flesh), SH571 (variety with purple flesh), WB 902205-1 (variety with red flesh), W 872209-5 (variety with red flesh), WB 902241-6 (variety with red flesh).

加はいずれも退色させた。pHの発色への影響は低pHで発色が高く、高pHで低いが、その程度は系統に依った。

リノール酸からの過酸化生成に対する抑制力をロダシメチル法で測定した結果、抗酸化力はα-トコフェロールよりも強く、BHAやBHTに匹敵する能力が認められた。

本研究は農水省農林水産技術会議事務局の大型別枠研究「新需要創出計画」の一環として実施しました (BRP 94-IV-A-3)。関係各位に深謝します。

文 献

- 1) 石井現相・森 元幸・梅村芳樹・瀧川重信・田原哲士：食科工，(投稿中)
- 2) INATANI, R., NAKATANI, N. and FUWA, H. : *Agric. Biol. Chem.*, **47** (3), 521 (1983).
- 3) OSAWA, T. and NAMIKI, M. : *Agric. Biol. Chem.*, **45** (3), 753 (1981).
- 4) 満田久輝・安本教傳・岩見公和：栄食誌，**19** (3), 210 (1966).
- 5) 森 元幸・米田 勉・梅村芳樹：育種学雑誌，**40** (別1)，482 (1990).
- 6) IGARASHI, K., YOSHIDA, T. and SUZUKI, E. : 日食工誌，**40**, 138 (1993).
- 7) IGARASHI, K., TAKANASHI, K., MAKINO, M. and YASUI, T. : 日食工誌，**36**, 852 (1989).
- 8) TAMURA, T. and YAMAGAMI, A. : *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1612 (1994).
- 9) TSUDA, T., OSHIMA, K., KAWAKISHI, S. and OSAWA, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 248 (1994).
- 10) YOSHIKI, Y., OKUBO, K., ONUMA, M. and IGARASHI, K. : *Phytochemistry*, **39**, 225 (1995).
- 11) YOSHIKI, Y., OKUBO, K. and IGARASHI, K. : *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*, **10**, 335 (1995).

(平成6年12月5日受理)