

アントシアニン系色素における呈色の経時変化

山 田 洋 一
篠 田 貴 章

宇都宮大学教育学部研究紀要

第66号 第2部 別刷

平成28年(2016)3月

A Study of the Color Variation of Anthocyanin Pigments
based on the Proton Concentration

YAMADA Yoichi, SHINODA Kisho

アントシアニン系色素における呈色の経時変化

A Study of the Color Variation of Anthocyanin Pigments based on the Proton Concentration

山田 洋一[†], 篠田 貴章[‡]
YAMADA Yoichi, SHINODA Kisho

概要 (Summary)

The color variation of anthocyanin pigments, such as the rubrobracin (from a red cabbage) based on the pH were studied. The pigments will be decomposed within a short time under basic condition, especially pH=13. Therefore, visible spectra were recorded every five second (31 times on each measurement) on a photodiode array spectrophotometer.

キーワード：小学校理科実験, アントシアニン, 色素, pH, アルカリ性

1. はじめに

一般の国立大学ミッション再定義（教員養成）では、多くの国立大学教員養成系学部の公約の一つに「理数教育の強化・充実をはかること」が宣言されている。その流れの中で、我々も現代的観点に立った理科教育用実験教材の見直しを行っている。本報では、水溶液の性質（小学校6年）で発展教材 [1-2] として紹介されることの多いムラサキキャベツなどのアントシアニン系色素の、アルカリ性下の呈色について、分光学的に詳細な検討を加えた結果を報告する。

ムラサキキャベツ（ルプロブラシン）、ブドウ果皮（マルビジン誘導体）、シソ（シソニン）、アカダイコン（ペラルゴニジン誘導体）、及びムラサキイモ（シアニジン誘導体）などはアントシアニン系色素に属し、一般に酸性水溶液では赤色、中性では紫色に呈色し、比較的安定である。それに対し、アルカリ性水溶液中では不安定であり、呈色に経時変化が見られることが多く [3-4]、リトマス試験紙のようにアルカリ性で青くなったまま、その色を保持できないので注意を要する。

アントシアニン系色素の一般式をFigure 1に示す。この色素は一般に配糖体の形で存在している。色素本体をアントシアニンといい、類縁体も含めて、約20種が知られている (Figure 2)。Figure 1で、アントシアニジンの3-位と5-位のOに結合した(糖)の部分は各種の単糖や二糖類を示す。アントシアニンの1-位の酸素は、いわゆるオキソニウム酸素になっていて、2-フェニルベンゾピリリウム構造（フラビリウム構造）をとるため、細胞液に溶存する

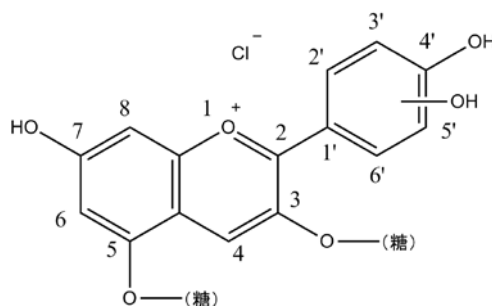


Figure 1. anthocyanin

[†] 宇都宮大学 教育学部 (連絡先: yamadayo@cc.utsunomiya-u.ac.jp 山田洋一)

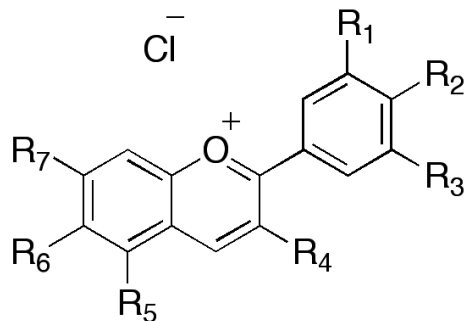
[‡] 栃木市立大平東小学校 (現在)

場合、この+に帯電したオキシニウム酸素によって強塩基性となっており、このタイプの色素は一般に酸性領域で安定である。

水溶液が中性になると、ベンゾピラン環及び2-位のフェノール部分の構造変化に伴い、色調が変化する。さらに塩基性下では、ヒドロキシ基のプロトン脱離により、一般に青味が強まるが、このときの構造の不安定さが指摘されている。

たとえば、花にみられるアントシアニジンの大部分は、ペラルゴニン、シアニン、デルフィニン (Figure 2) 及びそのメチルエーテル誘導体であり、上述のムラサキキャベツ、シソ、アカダイコン、ブドウ果皮、ムラサキイモと類似する。

ムラサキキャベツのルプロブラシンも色素本体 (アグリコン) はFigure 2 に示したシアニンであり、3-位にゲンチオビオース (6-O-β-D-グルコピラノシル-D-グルコース)、5-位にグルコースが結合した配糖体になっている (Figure 3)。



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Anthocyanidin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Aurantidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH
Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	H	OH
Delphinidin	OH	OH	OH	OH	OH	H	OH
Europinidin	OCH ₃	OH	OH	OH	OCH ₃	H	OH
Luteolinidin	OH	OH	H	H	OH	H	OH
Pelargonidin	H	OH	H	OH	OH	H	OH
Malvidin	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	OH	H	OH
Peonidin	OCH ₃	OH	H	OH	OH	H	OH
Petunidin	OH	OH	OCH ₃	OH	OH	H	OH
Rosinidin	OCH ₃	OH	H	OH	OH	H	OCH ₃

Figure 2. Structure of the anthocyanidin

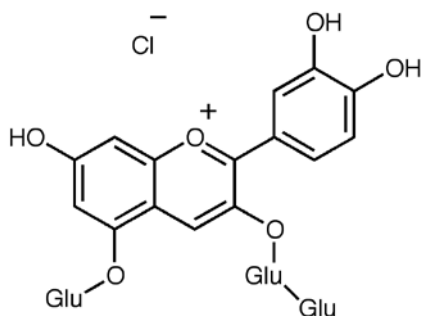


Figure3. Rubrobracin

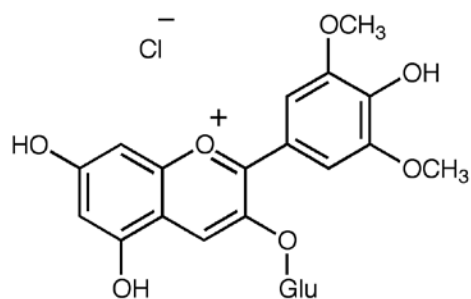


Figure4. Malvidin-3-glucoside

Figure 4は、ブドウ果皮のマルビジン-3-グルコシドであり、デルフィニジンのビス(メチルエーテル)体であるマルビジンの3-位にグルコースが結合した配糖体となっている。

2. 実験及び結果

アルカリ性水溶液中でのアントシアニン系色素の不安定さに起因する色の変化は早く、回折格子を駆動させて波長スキャンする普通の分光光度計では測定時間がかかりすぎる。そこで、今回の実験では、高速スキャンが可能なフォトダイオードアレイ形分光光度計 (SHIMADZU Multi Spec 1500) を用いた。光学系と電気系の概略構成図 [5] をFigure 5 に示す。

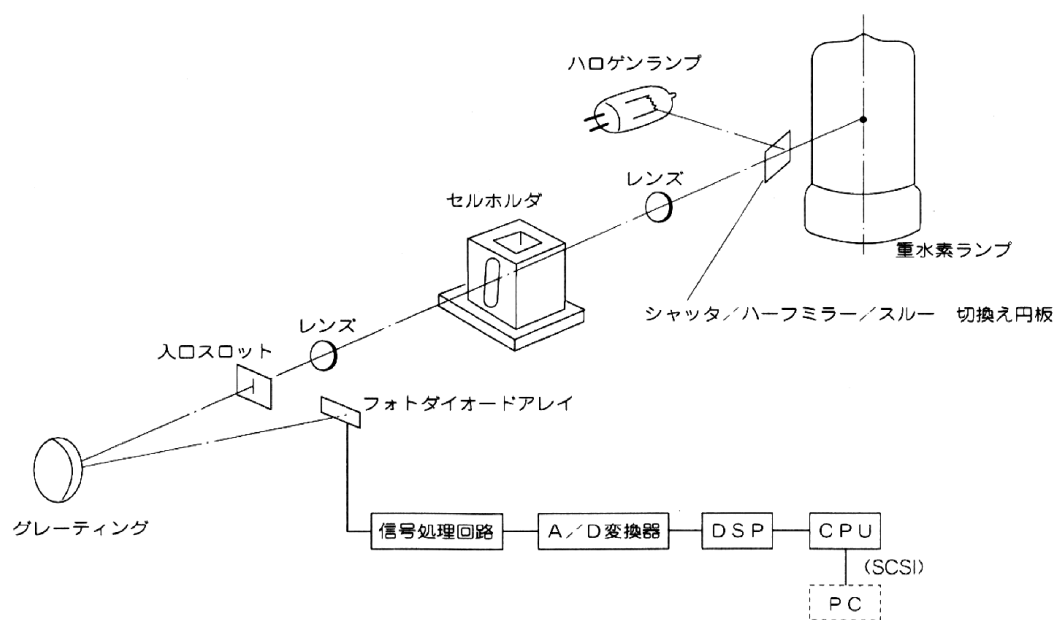


Figure5. The photodiode array spectrophotometer (SHIMADZU Multi Spec 1500) [5]

分光器内でグレーティングにより分光された光は、フォトダイオードアレイ上にスペクトル像を結ぶ。フォトダイオードアレイには、512個の受光素子が一列に並んでおり、190nm～800nm波長域の光を1素子あたり1.5 nm相当の幅で検出する。

各受光素子で得られた光電流は一定時間蓄積され、一定の周期で高速に読み取られる。この各素子の信号はA/D変換器によりデジタル信号に変換され、CPUを介してI/Fカード（SCSI）よりパーソナルコンピュータに送られる。

以上のような機構により、5秒毎に1回的高速繰り返し測定が可能となっている。

(i) 酸性・中性・アルカリ性下の紫キャベツ色素の紫外可視吸収スペクトル

教材として市販のムラサキキャベツ粉末（約0.0030g）を、0.1mol/L 塩酸（pH=1）10mL、pH=4, 7, 9のpHメーター校正用緩衝溶液（各10mLずつ）、0.1mol/L 水酸化ナトリウム水溶液（pH=13）10mLの5種類の水溶液にそれぞれ入れ、直ちに分光光度計用セルに移し、測定を開始した。測定に要する時間は3秒であった。それぞれ、吸収極大波長はTable 1 のとおりであった。

Table 1. Maximum wavelength of each solution

Entry No.	pH	λ max (nm)
1	1	526
2	4	538
3	7	570
4	9	570
5	13	620

Table 2. Maximum wavelength of each solution

Entry No.	pH	λ max (nm)
6	11	602
7	12	610
8	13	620

ここで、最後に測定したpH=13の水溶液ではFigure 6 に示すように早い色の変化が見られた。



Figure 6. pH=13 水溶液の色の変化

(ii) アルカリ性領域での水素イオン濃度の違いによる吸収スペクトルとその経時変化の比較

前節の実験結果から、特にアルカリ性下の紫キャベツの呈色に経時変化がみられたので、詳細に検討した。前節で用いたpH=13の水酸化ナトリウム水溶液、それを10倍希釈して得たpH=12の水溶液、さらにそれを10倍希釈して得たpH=11の水溶液の3種類について同様に測定を開始した。開始時を0秒とし、5秒おきに150秒まで(31回)繰り返し測定した。それぞれの吸収極大波長は、Table 2に示した。代表例として、pH=11の水溶液のスペクトルを重ね書きしたものと、吸収極大波長における吸光度の経時変化を、Figures 7-8に示す。

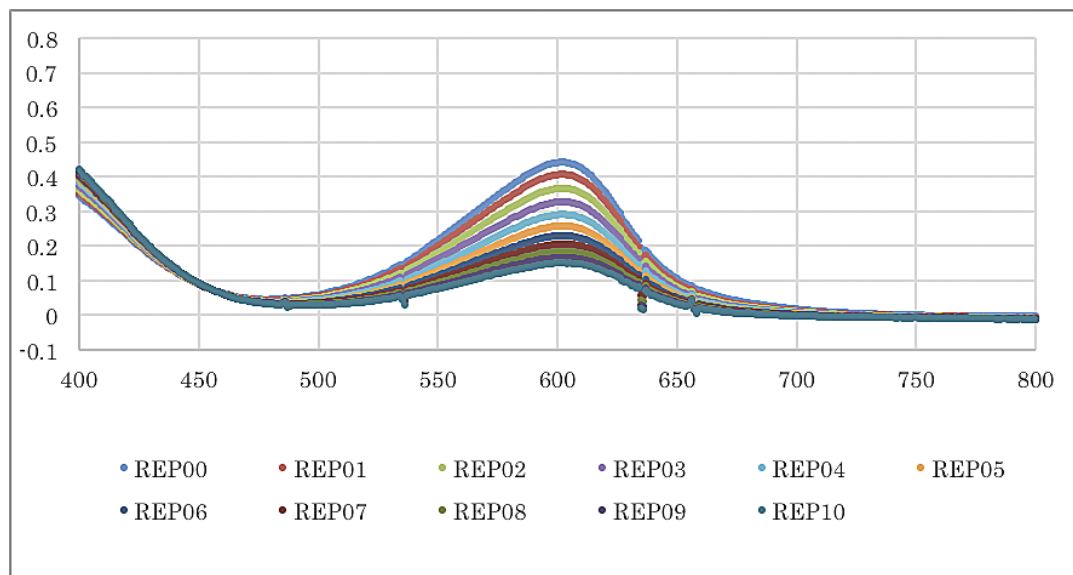


Figure 7. pH=11における紫キャベツの呈色の強度変化

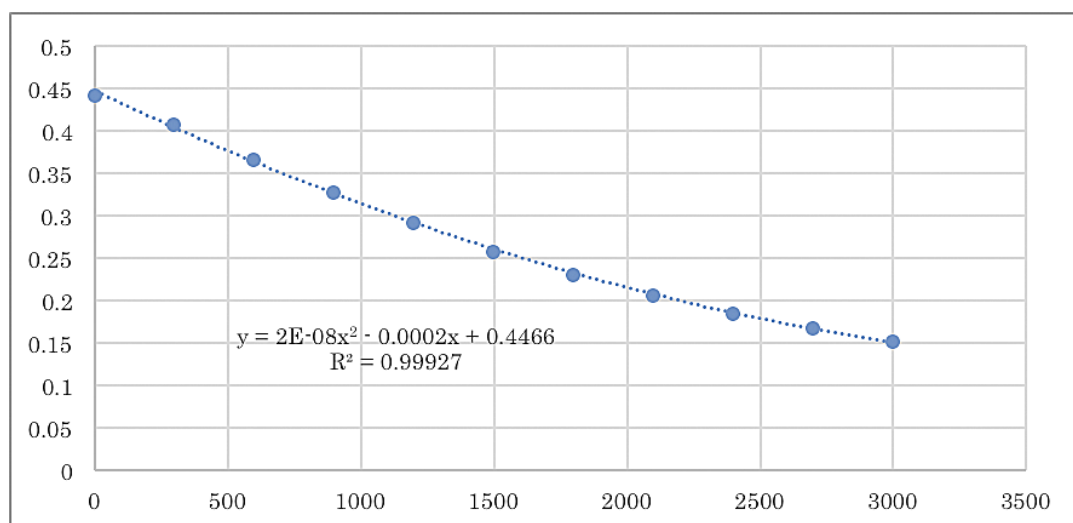


Figure 8. 602nmにおける紫キャベツの退色の速度

次に、同様にして作成したpH=12とpH=13の水溶液の吸収極大波長におけるムラサキキャベツの退色速度を重ね書きしたものを、Figure 9 に示す。

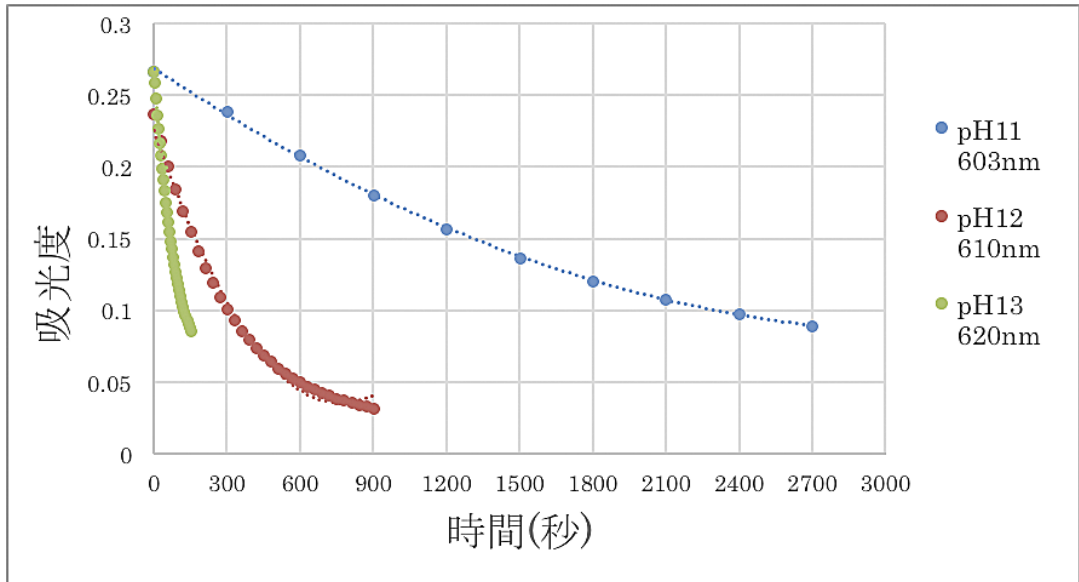


Figure9. pH=11, 12 and 13水溶液の紫キャベツの退色速度

Figure 9 から明らかなように、pHの上昇とともにグラフの降下速度が大きくなっている。これはムラサキキャベツ（青色）の退色の早さに相当するものであり、特にpH=13では他のものに比べて退色が速いことが見てとれる。

3. 考察

前述のように、アントシアニン系化合物はアルカリ性において構造が不安定になってしまうことが知られている [1]。水素イオン濃度指数pH=11, 12, 13の水溶液を用いて吸収スペクトルの高速繰り返し測定実験を行った。青色を呈する600~620nmの吸収極大の吸光度の減衰を見ると、pHの大きいサンプルほど退色速度が大きいことが分かる。すなわち水素イオン濃度の小さい塩基性溶液ほど、アントシアニン系化合物はプロトンを放出する傾向が大きく、酸素上の負電荷のために構造が不安定になることが分かる。もっとも早いpH=13のサンプルでは、30秒ほどで目視により青から黄緑に変色した。児童がこの領域の呈色の様子を観察する場合、混乱しないように注意を要する。pH=11の水溶液が最も濃い青色を示したので、紫キャベツのアルカリ性領域の色を提示するにはこのくらいが良いと考えられる。

次に、アントシアニン系色素の呈色及びその退色と水素イオン濃度 pHとの関係を、化学構造から検討する。

Figures 1-4 は酸性領域で安定なオキソニウム（フラビニウムカチオン）の塩化物の形で示した。中性からアルカリ性では、この部分の構造が変化する。第1の変化として、中性領域では、オキソニウム塩の加水分解によりプソイド塩基（2-ヒドロキシクロメン）となる。このものはベンゾピラン環と2-位のフェノール部分との共役系が絶たれるため、無色である。なお、Figure 10に示した

ように、黄色のカルコン形（ベンザルアセトフェノン）との互変異性体の関係にあるが、呈色は弱く、色素の色合いへの影響は小さい。

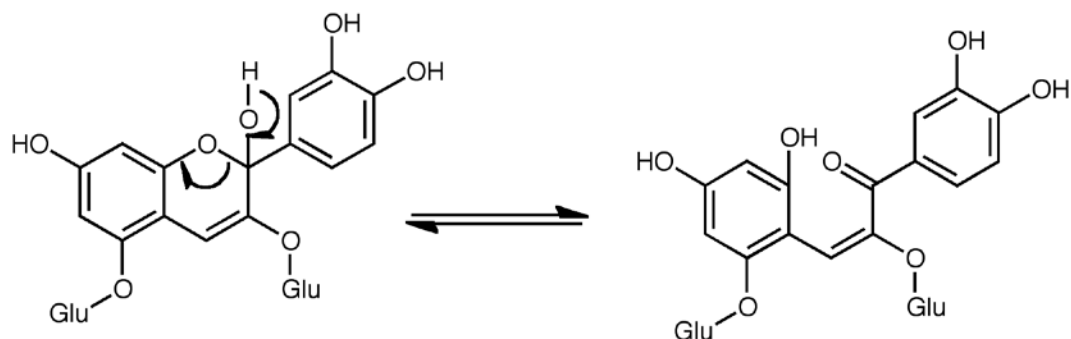


Figure10. Pseudobase (left) and chalcone form (right)

第2の変化は、2'-位フェノール環上の4'-位のプロトン脱離によるアンヒドロ塩基の生成である。このものは、共役系が分子を貫くことになり、吸収波長は長波長側にシフトする。このとき、補色として肉眼では紫色に見える（Figure 11）。また、プソイド塩基からの脱水による経路も考えられる。

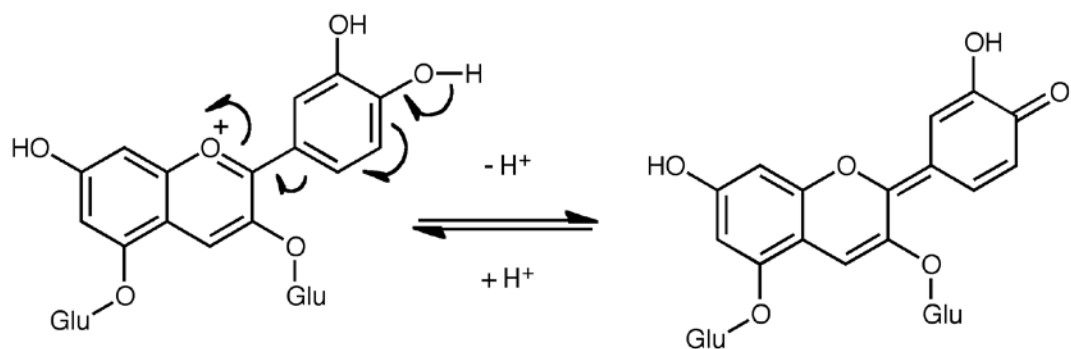


Figure 11. Anhydrobase form (right)

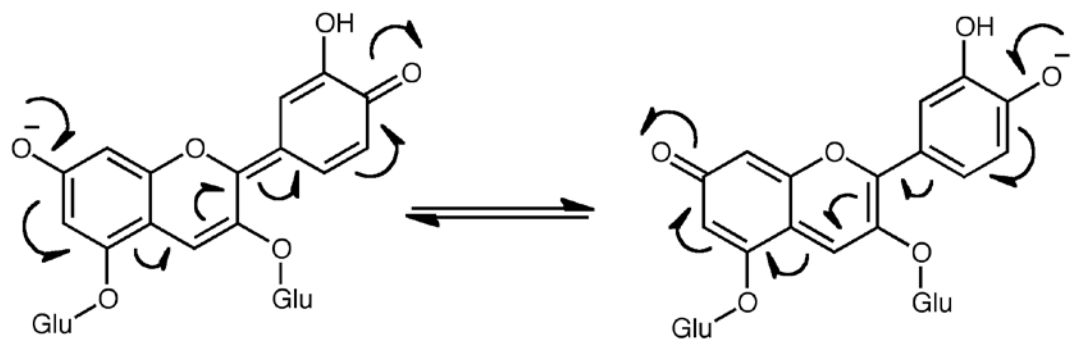


Figure12. Unstable anionic form (blue)

アルカリ性領域では、アンヒドロ塩基の5-位または7-位に残ったヒドロキシ基のプロトン脱離により、アンヒドロ塩基アニオンになる。(Figure 12左)。このアニオンは、Figure 12に示すように4'-位のキノイド構造との電荷移動(互変異性化)が可能なので、吸収波長はさらに長波長側にシフトし、青色を呈する。しかし、Figure 12の構造は負電荷を帯びているため不安定であり、分解が起こり、水溶液の色は変わりやすい(Figure 6)。一般に分解が進むと無色となり、フラボノイド等の共存する他の色素の色が見えてくることもある。

本研究は、平成26年度科学研究費補助金「基盤研究(C)」により経費支援を受けて実施した。

4. 参考文献

- [1] みんなと学ぶ 小学校理科 6年, p.139, 11学図 理科604 小学校理科用
平成22年 3月16日 検定済, 平成23年2月10日発行
- [2] たのしい理科 6年—2, p.31, 4大日本 理科603
平成22年 3月16日 検定済, 平成23年2月5日発行
- [3] 林孝三編「増訂 植物色素 実験・研究への手引き」, 養賢堂, 1991
- [4] Anthocyane関連のWebサイト
<http://www.airgreen.co.jp/black%20carrot/colorless.html> (2015.10.1 現在)
<http://www.anja-warnecke.de/lernfeld-10.html> (2015.10.1 現在)
<http://www.chemie.de/lexikon/Anthocyane.html> (2015.10.1 現在)
- [5] 島津制作所「取扱説明書 Multi Spec 1500」 据付・保守編, 1999

平成27年10月1日受理