

桑の実のアントシアニン色素

牧 善輔・稲本英子

Anthocyanins of Mulberry

ZENSUKE MAKI and HIDEKO INAMOTO

The anthocyanin pigments of mulberry (*Morus alba* 'Rosô') were extracted with 0.1% methanolic HCl, and partially purified by adsorption on a Dowex 50W-X4 cation-exchange column, eluted from the washed resin with acidified methanol. The pigments were separated by paper chromatography with acetic acid-conc HCl-water (15:3:82) and n-butanol-acetic acid-water (4:1:5) as solvents.

The purified pigments were characterized by their Rf values, partial acid hydrolysis, identification of the aglycones and sugars after complete hydrolysis, and their spectral properties.

The major pigment was identified as cyanidin-3-glucoside. The minor pigments were pelargonidin-3-glucoside and petunidin-3-rutinoside.

緒 言

桑の葉は蚕児の飼料として欠くことの出来ないものであるが、その実は成熟すると紫黒色となり、食用に或は醸造用に供せられる。桑の実の色素については、Harbone¹⁾によりシアニジン-3-グルコシドであると報告されている。われわれの実験によると桑の実には3~4種類のアントシアニン色素が存在することが認められたので、イオン交換樹脂²⁾およびマスパーパークロマトグラフィによりこれらの色素を分離精製し、同定を試みたのでその結果を報告する。

実験および結果

1. 色素の分離

1) 試料の調製 600gの桑の実(京都工芸繊維大学嵯峨野農場で採集した魯桑の実)を0.1%塩酸を含むメタノールに約20時間浸漬し、濾過して深紅色の濾液を得た。ついで濾液にDowex 50W-X4 (H型)陽イオン交換樹脂 250gを加え、よく混合して色素を吸着させた後ガラスフィルターを用いて吸引濾過、樹脂はメタノールついで水で十分洗滌した後、色素を0.05%、1%、2%、3%の塩酸を含むメタノールで順次溶出して約8ℓの溶出液を得た。これを34~40°Cで約10mlになるまで

減圧濃縮し粗色素液とする。

2) マスパーパークロマトグラフィー 粗色素液を東洋濾紙 No. 514. 12枚に原点に帯状に塗布し、酢酸・塩酸・水 (15:3:82) を用いて上昇法により約12時間展開させると3つのバンドにわかれた。原点に近い方からI, II, IIIとする。Iは濃い赤色, IIは黄赤色, IIIは紫赤色をしている。この他にIよりも原点に近いところにごくうすい赤色のバンドがあるが、この色素については単離、同定出来なかった。バンドI, II, IIIを切り取りそれぞれ0.02%塩酸を含むメタノールに浸漬して色素を溶出し、減圧濃縮して再びNo. 514の濾紙に塗布、ブタノール・酢酸・水 (4:1:5) を用いて上昇法により展開、バンドI, II, IIIの主成分を切り取り先と同様に溶出、減圧濃縮したのち、苛性ソーダーを入れた真空デシケーター中で乾燥して、色素I, II, IIIとした。

2. 色素の同定

1) アグリコン 各色素5~10mgに6N塩酸5~10mlを加え、100°Cで40分間加水分解したのち、少量のイソアミルアルコールを加えてよく振り、アグリコンをイソアミルアルコール層に移し、これを東洋濾紙 No. 514 に帯状に塗布し、酢酸・塩酸・水 (15:3:82) で上昇法により展開、その主成分をとり少量の0.01%塩酸を含むメタノールで溶出し、パーパークロマトグラフィ

一および吸光度測定を試料とした。東洋濾紙 No. 50を用いてペーパークロマトグラフィーを行った結果を表 1 に示した。色素 I, II, III はいちごおよびペチュニアの花より得た既知の標品シアニジン, ペラルゴニジンおよびペチュニジンとよく一致した。

2) 糖 先の実験によりアグリコンを除いた液を Amberlite IR-120 のカラムに通し、流出液を濃縮してペーパークロマトグラフィーにより、n-ブタノール・ピリジン・水 (6 : 4 : 3) および酢酸エチル・ピリジン・水 (2 : 1 : 2) を溶媒として、既知の糖と同時に展開し糖の同定を行った結果、色素 I, II よりグルコースを、色素 III よりグルコースおよびラムノースを生じたことが判明した。

3) 糖の結合位置 Chandler⁴⁾の方法に準じ各色素それぞれ 5 mg を 1 ml のメタノールに溶かし、30%過酸化水素 0.2ml を加え 20 時間室温に放置した後、0.88N アンモニア 0.25 ml を加え 5 分間 100°C に加熱した後、少



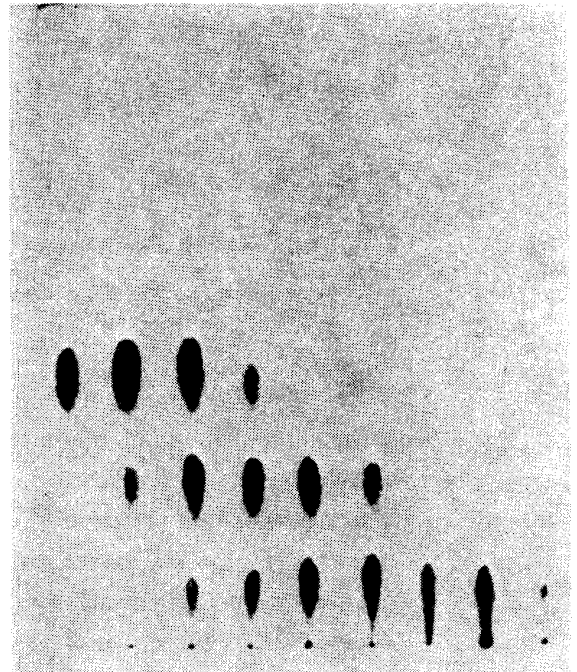
ラ	グ	試	ル
ム	ル	料	チ
ノ	コ		ノ
ー	ー		ー
ス	ス		ス

図 1 色素 III を過酸化水素により分解して生じた糖のペーパークロマトグラム

量にグルコースおよびラムノースがルチノースの形で結合していると考えられる。

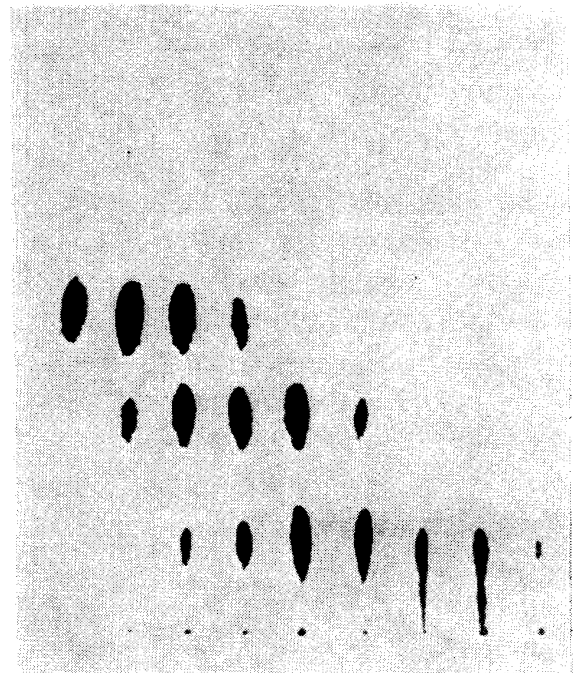
4) 部分加水分解 安部、林の方法⁵⁾に従い、少量の各色素に 6 N 塩酸を加え 70°C の湯煎上で加水分解し

量の活性炭を加えて色素を除き濾液を濃縮して前と同様の溶媒を用いてペーパークロマトグラフィーにより糖の同定を行った結果、色素 I, II ではグルコースを認めた。一方色素 III では図 1 に示した様に、ルチンより同様の方法で得たルチノースと同じ位置のスポットが認められ、グルコース、ラムノースは認められなかった。したがって色素 I, II はともにアグリコンの 3 の位置にグルコースが結合しており、色素 III は 3 の位置



(分) 0 5 30 60 90 120 40 60 アグリコン
(70°C) (100°C)

酢酸・塩酸・水 (15 : 3 : 82)



(分) 0 5 30 60 90 120 40 60 アグリコン
(70°C) (100°C)

酢酸・塩酸・水 (3 : 1 : 8)

図 2 色素 III の部分加水分解物のペーパークロマトグラム

て、一定時間毎にその少量をとり濾紙の一端にスポットして酢酸・塩酸・水 (15 : 3 : 82), (3 : 1 : 8) を溶媒としてペーパークロマトグラフィーを行ったが、色素 I, II ではそれぞれのアントシアニンとそれに対するア

グリコンのみが存在し、その中間と考えられるものはなかったが、色素Ⅲでは図2に示すようにアグリコンであるペチュニジンの他に Rf 0.23, 0.37 を示すペチュニジン-3-グルコシドシドが認められた。

5) 吸光度測定 Harborne の方法³⁾により、色素を1mgずつとり0.01%塩酸を含むメタノール 20 ml にとかし、吸光度を日立分光光度計により250m μ ~590m μ にわたって測定し、 λ_{max} , $E_{440m\mu}/E_{max}$ および5%塩化アルミニウム溶液を2滴加えたときの shift の状況を調べ表2に示した。先に得たアグリコンの溶液についても同様に λ_{max} および塩化アルミニウムによる shift を測定し表1に示した。

表1 アグリコンの R_f 値および可視部における吸収極大

	R _f		λ_{max} (m μ)	AlCl ₃ による shift
	蟻酸・塩酸・水 (5:2:3)	n-ブタノール・酢酸・水 (4:1:5)		
色素 I	0.24	0.70	537	+
色素 II	0.33	0.82	523	0
色素 III	0.21	0.52	540	+
シアニジン	0.22*	0.68*	535**	+**
ペラルゴニジン	0.33*	0.80*	520**	0**
ペチュニジン	0.20*	0.52*	543**	+**

* いちごおよびペチュニアの花より得た標品を用いた。
**Harborne³⁾による。

表2 アントシアニンの R_f 値および吸収極大

	R _f		λ_{max} (m μ)	E_{440}/E_{max} (as%)	AlCl ₃ による shift
	酢酸・塩酸・水 (15:3:82)	n-ブタノール・酢酸・水 (4:1:5)			
色素 I	0.24	0.34	530	21	+
色素 II	0.37	0.42	508	41	0
色素 III	0.42	0.35	535	23	+
シアニジン-3-グルコシド	0.24*	0.36*	525**	22**	+**
ペラルゴニジン-3-グルコシド	0.37*	0.44*	506**	38**	0**
ペチュニジン-3-ルチノシド	0.42**	0.35**	535**	22**	+**

* いちごより精製した標品を用いた⁶⁾
**Harborne による³⁾⁷⁾⁸⁾

6) ペーパークロマトグラフィーによる同定 各色素をペーパークロマトグラフィーにより同定した結果を表2に示した。色素Iはシアニジン-3-グルコシド、

色素IIはペラルゴニジン-3-グルコシド、色素IIIはペチュニジン-3-ルチノシドによく一致した。

以上1)~6)の結果より桑の実から分離した色素はシアニジン-3-グルコシド、ペラルゴニジン-3-グルコシドおよびペチュニジン-3-ルチノシドであることがわかった。

3. 各色素の量比

桑の実より得た粗色素液を東洋濾紙 No. 514 の原点に帯状に塗布し、酢酸・塩酸・水 (15:3:82) を用いて上昇法により展開し、各色素を0.01%塩酸を含むメタノールで抽出し、抽出液を一定量にして各色素の λ_{max} における吸光度を測定してその比を求めた結果、シアニジン-3-グルコシド 100 に対しペラルゴニジン-3-グルコシド13, ペチュニジン-3-ルチノシド 21 の割合であった。

要 約

1. 桑の実の色素を0.1%塩酸を含むメタノールで抽出後、イオン交換樹脂で処理し、マススペーパークロマトグラフィーにより3種の色素を単離した。

2. 得られた色素を加水分解して、ペーパークロマトグラフィーおよび吸収スペクトルより検討した結果、色素Iのアグリコンはシアニジンであり、色素IIはペラルゴニジン、色素IIIはペチュニジンであった。結合糖は色素I, IIではグルコース、色素IIIではグルコースおよびラムノースであった。

3. 糖の結合位置、吸収スペクトル、部分加水分解および過酸化水素による酸化分解によりいずれの色素も糖は3の位置に結合しており、色素IIIにおけるグルコースとラムノースはルチノースの形をとっていた。

4. 以上の結果に加えて各色素をペーパークロマトグラフィーにより同定したところ、色素Iはシアニジン-3-グルコシド、色素IIはペラルゴニジン-3-グルコシド、色素IIIはペチュニジン-3-ルチノシドであった。
(1972年7月27日受理)

文 献

1) Harbone, J. B.: Comparative Biochemistry of The Flavonoids, Academic Press Inc., p. 127 (1967).
2) Smith, R. M.: J. Food Sci., 30, 995 (1965).
3) Harbone, J. B.: Biochem. J., 70, 22 (1958).
4) Chandler, B. V. and Harper, K. A.: Aust. J. Chem., 14, 586 (1961).
5) Abe, Y. and Hayashi, K.: Botan. Mag. Tokyo,

- 69, 577 (1956).
6) 牧 善輔, 稲本英子: 家政学雑誌, **22**, 92(1971).
7) Harbone, J. B.: *J. Chromat.*, **1**, 473 (1958).
8) Harbone, J. B.: *Biochem. J.*, **74**, 262 (1960).