

L-スコルバミン酸の酸化とアセチル化によって生成したアセチル化赤色々素の退色機構

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
巻/号	52
掲載ページ	p. 16-26
発行年月	1995年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Discoloration Mechanism of the Acetylated Red Pigment Produced by the Oxidation and Acetylation of L-Scorbamic Acid

Hidetoshi SAKURAI¹, Hajime TAGUCHI¹, Hitomi KUMAGAI¹, Kenji ISHII¹ and Jan POKORNÝ²

¹ Lab. Food Chemistry, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., 34-1, Shimouma 3-chome, Setagaya-ku, Tokyo 154

² Lab. Food Chemistry, Faculty of Food and Biochemical Technology, Prague University of Chemical Technology, Technická Street 5, CZ-166 28 Prague 6, Czech Republic

(Accepted Dec. 8, 1994)

Abstract: The acetylated red pigment (AcDDA) was obtained by the oxidation and acetylation of L-scorbamic acid (SCA) which be an intermediate amino-reductone in the browning reaction of dehydro-L-ascorbic acid (DAsA) with amino compound. This chemical structure of AcDDA was identified as 2'-deoxy-5', 6'-di-O-acetyl-dehydro-L-ascorbylimino-2-deoxy-5, 6-di-O-acetyl-L-ascorbic acid by elemental analysis, UV, IR and NMR spectroscopy. And, it was revealed that it had the same structure with that of AcNDA produced by the reaction of 5, 6-di-O-acetyl-dehydro-L-ascorbic acid (AcDAsA) with α -amino acid.

AcDDA was considerably stable in pH 6 solution, but it was readily decolorized in pH 2 solution to give 5, 6-di-O-acetyl-L-scorbamic acid (AcSCA) and AcDAsA as hydrolysis products. In pH 12 solution, AcDDA gave a substance which was estimated as 2'-hydroxy-5', 6'-di-O-acetyl-dehydro-L-ascorbylamino-2-deoxy-5, 6-di-O-acetyl-L-ascorbic acid monosodium salt (AcHADA · Na). By reduction with hydrogen in pH 6 solution, AcDDA changed to 2, 2'-amino-di-2 (2')-deoxy-5 (5'), 6 (6')-tetra-O-acetyl-L-ascorbic acid (AcADDA). Discoloration mechanism of AcDDA at various pH were also discussed.

Key words: Discoloration mechanisms, Red pigment, Acetylation, L-Scorbamic acid, Dehydro-L-ascorbic acid, Amino compound

L-スコルバミン酸の酸化とアセチル化によって 生成したアセチル化赤色々素の退色機構

桜井 英 敏¹・田 口 肇¹・熊谷 日 登 美¹
石 井 謙 二²・ジャン ポコルニール²

¹ 日本大学農獣医学部 食品化学研究室

² プラハ化学工科大学 食品化学研究室

(1994年12月8日受理)

食品中にデヒドロ-L-アスコルビン酸 (DAsA) とアミノ化合物が共存すると、褐変の初期段階において、しばしば紅変現象が観察される^{1,2)}。この現象について、倉田ら^{3,4)}はアミノ酸系で、桜井らは^{5,6)}ペプチド系で、そして並木ら^{7,8)}はタンパク質およびアミン系で研究し、各系での反応機構は異なるが同一構造の赤色々素、すなわち 2'-デオキシ-デヒドロ-L-アスコルビルイミノ-2-

デオキシ-L-アスコルビン酸モノアンモニウム塩 (DDA) を形成すると報告している。

著者らは DAsA 誘導体とグリシンから各種赤色々素誘導体を調製し、その安定性を比較した^{9,10)}。その結果、これら赤色々素の中で、5, 6-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビン酸 (AcDAsA) とグリシンから調製した AcDAsA-グリシン色素は、比較的安定であった。し

かし、強酸性、強塩基性および還元等の条件下では直ちに退色した。

そこで本報告では、新たな方法で純度の高い多量の AcDAsA-グリーン色素を調製し、この退色機構の解明を行った。すなわち、L-アスコルビン酸 (SCA) から DDA を調製し、これをアセチル化して得られた 2'-デオキシ-5', 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビルイミノ-2-デオキシ-5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcDDA) を用い、各 pH, 還元および酸化処理における赤色々原体構造の変化を調べた。

材料および方法

1. 実験材料

(1) デヒドロ-L-アスコルビン酸 (DAsA)

DAsA は既報¹⁾のごとく、L-アスコルビン酸 (AsA) をアセトン中で酸化銀で酸化し、得られたシラップをアセトン中で還流、結晶化させた。

(2) L-アスコルビン酸 (SCA), 2'-アミノ-2-デオキシ-L-アスコルビン酸 (ADA)

SCA の結晶は、倉田ら²⁾の方法で DAsA より 2-(フェニルヒドラゾノ)-DAsA を調製し、その水素分解により得た。

(3) 2'-デオキシ-デヒドロ-L-アスコルビルイミノ-2-デオキシ-L-アスコルビン酸モノアンモニウム塩 (DDA)

DDA は、倉田ら²⁾の方法により SCA から調製した。

(4) 2, 2'-アミノ-ジ-2 (2')-デオキシ-L-アスコルビン酸 (ADDA)

ADDA は、倉田ら²⁾の方法により DDA を AsA で還元して調製した。

(5) 5, 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビン酸 (AcDAsA)

AcDAsA は既報³⁾のごとく、5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcAsA) を酸化銀で酸化して調製した。

(6) 5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcSCA), 2'-アミノ-2-デオキシ-5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcADA)

AcSCA は倉田ら²⁾の方法に準じて AcDAsA より 2-(フェニルヒドラゾノ)-AcDAsA を調製し、その水素化分解により得た。

(7) 2, 2'-アミノ-ジ-2 (2')-デオキシ-5 (5'), 6 (6')-テトラ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcADDA) (還元型 AcDDA)

AcADDA は倉田ら²⁾の方法に準じて AcDAsA-グリーン色素を AsA で還元して調製した。

2. SCA から調製した DDA のアセチル化

SCA から調製した DDA 10 g に無水酢酸 8 ml およびピリジン 2 ml を加え、時々攪拌しながら一昼夜冷所に放置した。次に、この赤色溶液を 1 l の水水中に加え、500 ml の酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層は、無水硫酸ナトリウムで脱水、濃縮後、5 ml のアセトンに溶解し、セファデックス LH-20 カラム (5.0 cm × 40 cm) でメタノールを溶媒としてゲルろ過を繰り返した。溶出液の各フラクション (5 ml) は、TLC で確認しつつ赤色区分を分離し、濃縮後、300 ml のエーテルを加え、赤色粉末沈殿物とした。この沈殿物は、エーテルに浸しながらろ過し、真空乾燥して密栓保存した。収率 55%。

3. 構造分析

(1) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

アビセルプレート (フナコシ薬品) を用い、展開剤として酢酸エチル:ピリジン:水 (10:4:3)、またはイソアミルアルコール:アセトン:水 (5:6:5) を使用した。発色剤としてニンヒドリン、アンモニヤ性硝酸銀、インドフェノール、グリシンおよび DAsA 溶液を噴霧した。

(2) 赤外吸収スペクトル (IR)

検体 1 mg と KBr 200 mg を混合し、錠剤成型後、島津 IR-440 で記録した。

(3) 核磁気共鳴スペクトル (NMR)

NMR は、日本電子 JNM-PMX 60SI (60 MHz) の ¹H-NMR を用い、内部標準法により測定した。標準物質は重水 (D₂O) に 2, 2'-ジメチル-2-シラペンタン-5-スルホン酸ナトリウム (DSS) を用いた。

(4) 紫外および可視部吸収スペクトル (UV-VIS)

島津製自動分光光度計 MPS-5000 を用いて記録した。

(5) 元素分析

元素分析は、理化学研究所で Pregl の微量分析法で測定した。

4. 色調分析

(1) 食品添加物溶液の調製

添加物溶液には、甘味として 1% のグルコース、ショ糖およびアラニン各溶液、酸味として 1% クエン酸溶液 (pH 2.45)、塩味として 1% 塩化ナトリウム溶液および旨味として 100 mg% グルタミン酸ナトリウム溶液を用いた。また、還元剤として 100 mg% AsA および酸化剤として 100 mg% DAsA 各溶液を用いた。

(2) pH の調整

pH 2, 6 および 12 溶液は 0.01 N HCl および 0.01 N NaOH で調製した。また、これら pH 液の中和は 0.1 N HCl および 0.1 N NaOH で調整した。

(3) 水素ガス通気 (水素付加処理)

各 pH の色素溶液にパラジウム黒 (小島化学薬品製) を触媒として水素ガスを通気し, 接触還元した。

(4) 酸素ガス通気 (脱水素処理)

各 pH の色素溶液にパラジウム黒を触媒として水素ガスを通気し, 接触酸化した。

(5) 加水分解で生じた AcSCA の酸化処理

AcSCA を含む各 pH 溶液を中和し, 酸素ガスを通気した。

(6) 赤色度の測定

赤色色素の退色状態は, 510 nm における吸光度の変化から観察した。そして, 0 時間吸光度に対する測定時点の吸光度の百分率を色素の残存率として表した。また, 色素液の吸収スペクトルの変化を 200~600 nm にわたり測定した。

(7) 色差計による測定

日本電色工業 ND-101 型色差計を用いて, Hunter 色差法の L, a, b 値を測定した。

結果および考察

1. アセチル化赤色色素 (AcDDA) の構造

得られた赤色粉末は, 吸湿性で, 水, メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチルおよびクロロホルムに可溶, エーテル, ベンゼン, n-ヘキサン, 四塩化炭素およびリグロインに不溶であった。

(1) TLC 分析

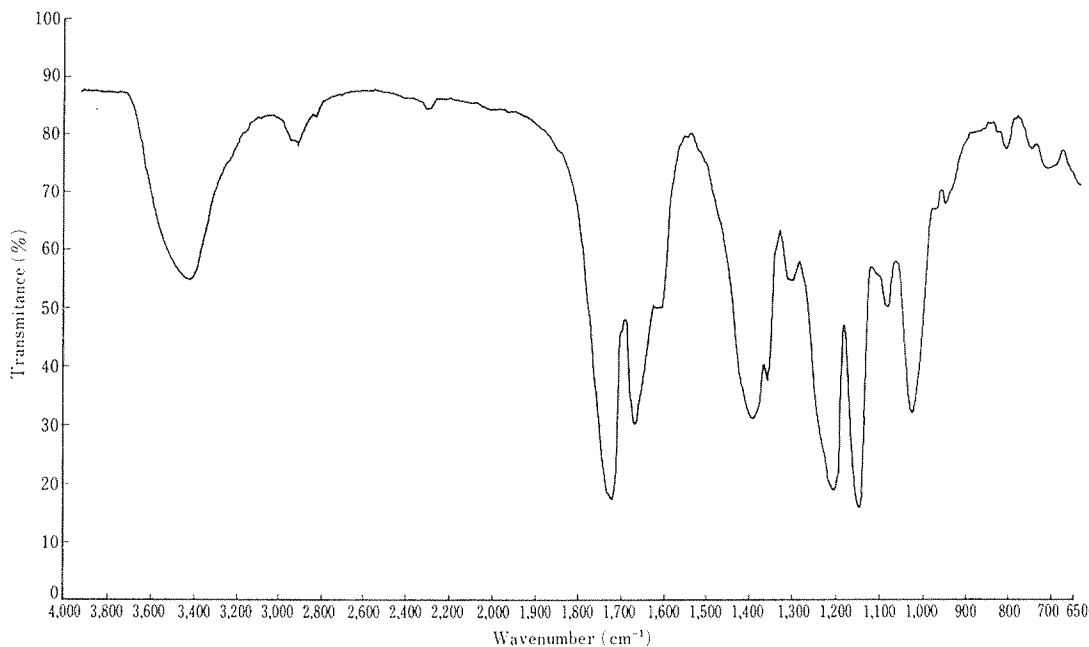


Fig. 2 IR spectrum of the acetylated red pigment (AcDDA).

TLC で展開すると, Fig. 1 に示したごとく, Rf 0.85 [I] および 0.68 [II] に赤色の単一のスポット(c)をそれぞれ認めた。また, これらの Rf 値は DDA (a)と異なり, AcDAsA とグリシンの反応により得た AcDAsA-グリシン色素¹⁰⁾(b)と一致した。

(2) IR 分析

IR で測定すると (Fig. 2), $\nu_{\text{max}}^{\text{OH}}$ cm^{-1} : 3450 (OH,

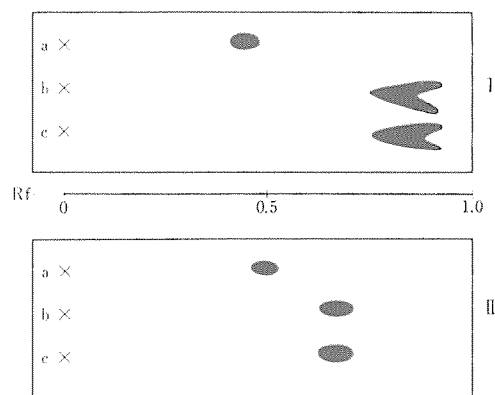


Fig. 1 TLC of the acetylated red pigment (AcDDA).

I : AcOH-pyridine-H₂O (10 : 4 : 3)

II : iso-AmOH : Me₂CO : H₂O (5 : 6 : 5)

a : DDA · NH₄, b : AcDDA from the AcDAsA-glycine reaction, c : acetylated red pigment (AcDDA)

NH), 2960 (CH), 1750 (γ -ラクトンおよびアセチル基のC=O), 1680 (C=C), 1630 (C=N), 1220 (C-O), 1100 (C-C), 1160 (C-O) および $\delta_{\text{max}}^{\text{IR}} \text{ cm}^{-1}$: 1405 (CH), 1370 (アセチル基のCH), 1040 (CH) に伸縮振動および変角振動の吸収を認めた。

(3) $^1\text{H-NMR}$ 分析

Fig. 3 は, 試料の $^1\text{H-NMR}$ の結果である。各シグナルは, 低磁場側から δ : 5.59 (2H, *m*, $\text{ca.} J=0.5 \text{ Hz}$, $>\text{CH}-\text{CH}(\text{H}_A)-\text{CH}_2$), 5.11 (2H, *d*, $J=1.7 \text{ Hz}$, $>\text{CH}-\text{CH}(\text{H}_B)-\text{CH}_2$), 4.60 (HOD), 4.48 (4H, *d*, $J=5.7 \text{ Hz}$, $>\text{CH}-\text{CH}(\text{H}_X)-\text{CH}_2$), 2.14 (6H, *s*, 炭素5および6位の CH_3CO), 2.02 (6H, *s*, 炭素5'および6'位の CH_3CO) に認められた。

コンパスによる化学シフトの測定値は上記の通りで, アセチル基については2個の鋭いピークとなり不等価であった。この結果は, AcAsA の炭素5, 6位のアセチル基プロトンがほとんど等価でシグナルも重なり, 1個のシングレットを示している¹³⁾ことから2量体が考えられた。さらに, 2量体の炭素5, 6位と5', 6'位に結合するアセチル基がオキソラン環に対して等価な磁気的環境になく, 化学シフトに差を生じた事が観測され, 構造Aが提示された。また, 炭素4(4'), 5(5')および6(6')位の2つの AB_2X 型プロトンについては, AcAsA¹³⁾と同様に積分強度と磁気的環境並びにカップリングの様相

から, 高磁場側から6(6'), 4(4')および5(5')のプロトンと帰属され, $\text{AsA}^{13)}$, $\text{SCA}^{14)}$ および $\text{DDA}^{15)}$ の AB_2X 型スペクトルパターンとは著しく異なっていた。この理由としては, AcDDA に結合した4個のアセチル基のC=Oが AB_2X 型のプロトンを低磁場側にシフトさせたためと推察された。

(4) UV-VIS 分析

5 mg% アセチル化赤色々素 (AcDDA) 水溶液の吸収スペクトルは, 紫外線から可視部にかけて, 245, 385 および 510 nm に3つの吸収極大を示した。そして, この吸収スペクトルが DDA および AcDDA-グリシン色素⁹⁾と一致したことから, これらの3つの極大吸収は, 赤色々原体構造骨格のC=C, C=N および赤色発色団 (γ -ラクトン環を持つC=N) に由来していると推考された。

(5) 元素分析

検体の分析値は C:48.87%, H:4.31%, N:2.88% であることから $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_{14}$ の分子式 (計算値は C:48.97%, H:4.20%, N:2.80%) が推定された。すなわち, DDA の炭素5, 6, 5' および 6' 位の水酸基がアセチル化され, さらに NH_4^+ が脱離した構造と一致した。

以上の分析結果から, 本物質の構造は 2'-デオキシ-5', 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビルイミノ-

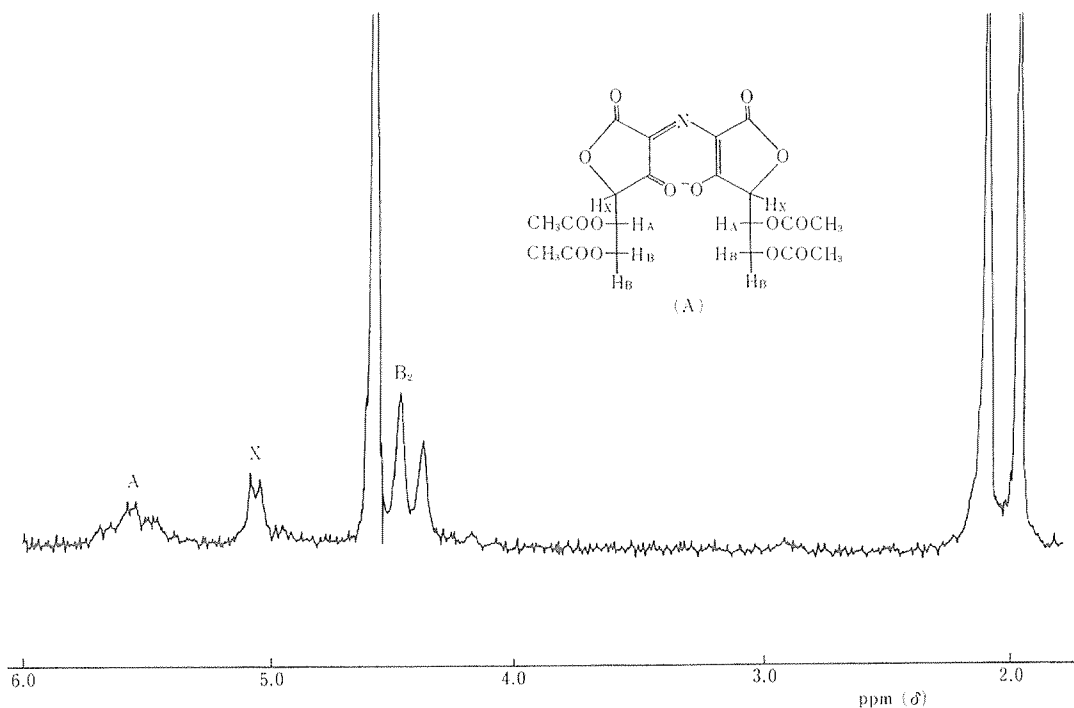


Fig. 3 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of the acetylated red pigment (AcDDA) (in D_2O).

2-デオキシ-5, 6-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcDDA) であると同定した。なお, 本アセチル化赤色色素 (AcDDA) の調製法は AcDAsA とアミノ酸から調製する AcDAsA-アミノ酸赤色色素¹⁰⁾ (AcDDA) と比べ, 収率・純度も良く, 操作も簡単であった。

2. 食品添加物によるアセチル化赤色色素の退色

AcDDA をジュースまたはドリンク剤に添加すると, その赤色は容易に退色する。そこで, 主たる含有成分を用い, AcDDA の退色速度を経時的に調べた。Fig. 4 は, 100 ml の各添加物溶液に 2 mg の AcDDA を添加し, その溶液の色調変化を測定した結果である。AcDDA の退色速度は, クエン酸溶液中で最も早く, 赤色の残存率は 8 時間で 16.1% (L: 92.2, a: 18.3, b: 1.2), 24 時間中で 2.2% (L: 97.1, a: 8.0, b: 0.5) に減少した。次に退色が早かったのは, AsA 溶液中で, 8 時間後の残存率 75.2% (L: 85.3, a: 32.5, b: 2.0), そして 4 日後には 3.1% (L: 98.0, a: 1.5, b: 0.3) に減少した。次いで DAsA 溶液がこれに続き, 8 時間までは 91.7% (L: 79.0, a: 38.3, b: 3.0) 残存していたが, 5 日目まで完全に退色した。以下グルコース溶液で 6 日, ショ糖溶液中で 11 日で退色した。なおグルタミン酸ナトリウム, 食塩, アラニン各溶液およびコントロールは 14 日後も赤色色素は安定であり, その残存率はそれぞれ 48.2 (L: 84.2, a: 15.6, b: 2.0), 59.3 (L: 85.4, a: 24.0, b: 1.0), 64.1 (L: 84.2, a:

25.3, b: 1.0) および 65.0 (L: 84.5, a: 28.7, b: 2.0) % であった。

以上の結果から, AcDDA 赤色色素を退色させた原因は pH の影響および AsA の還元力によるものと思われる。また, 酸化剤として用いた DAsA は, 2, 3-ジケトグルコン酸, または 3-ヒドロキシ-2-ピロン等に分解したため, 溶液は pH 低下および還元力を生じ, 赤色色素を退色させたと考えられた。5 日後にグルコース溶液中で退色が著しかったが, その理由はよく分からない。グルコースの還元力が関係していたのかもしれない。

3. 強酸性, 中性および強塩基性におけるアセチル化赤色色素の還元, 酸化および分解

(1) pH の中和と酸素ガス通気による赤色復元

赤色復元の現象をスペクトルの変化から観察した。AcDDA の赤色度は, pH 6 で最も安定である⁹⁾。しかし, pH 2 では当初 245, 384 および 510 nm に認められた 3 つの極大吸収も時間の経過とともに 384 および 510 nm が消失し, 赤色溶液は退色した。24 時間後, 完全に無色となった溶液 (247 nm にのみ吸収) を pH 6.87 に中和したが, 溶液の色調に何ら変化を認めなかった。しかし, 酸素を通気すると溶液は若干赤色を復元し, 同時に 384 および 510 nm の吸収も復元した。この赤色復元の理由は, 強酸性下で AcDDA が加水分解して生じた AcSCA が酸素により酸化され, また AcDDA を形成したためと考えられた。これに対し, pH 12 の AcDDA

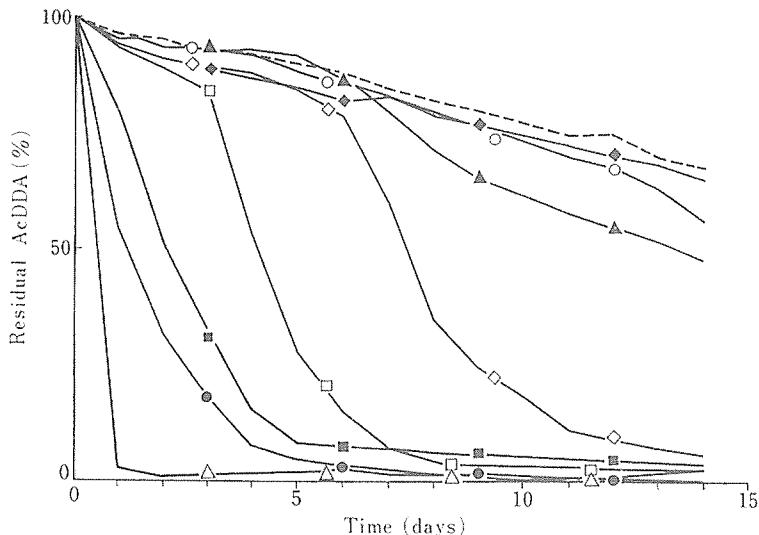


Fig. 4 Changes in the red color intensity (at 510 nm) of the acetylated red pigment (AcDDA) in various seasoning solutions.

---- control, -△- 1% citric acid, -○- 1% NaCl, -◇- 1% sucrose, -□- 1% glucose, -▲- 100 mg% Na glutamate, -●- 100 mg% AsA, -◆- 100 mg% alanine, -■- 100 mg% DAsA

溶液は、数分で退色し、250 nm の吸収のみを示した。この溶液を pH 6.88 に中和すると、赤色が一部還元すると同時に、245, 385 および 510 nm に吸収を認めた。しかし、pH 12 で24時間放置した溶液は、中和・酸素ガス通気処理しても、248 nm に極大吸収を示したのみで赤色は還元しなかった。

以上の結果は、AcDDA 赤色色素が、強酸性で徐々に AcDAsA と AcSCA に加水分解して退色するが、強アルカリ性下では、色原体構造を保持して退色していることを暗示させた。

(2) 水素ガス通気と酸素ガス通気による還元型アセチル化赤色色素およびアセチル化赤色色素の形成

Fig. 5, 6 および 7 は、2 mg の AcDDA を 100 ml の pH 2, 6 および 12 溶液に溶解し、2 時間放置後、水素ガス通気および酸素ガス通気したときの吸収スペクトルである。まず pH 2 においては、溶液の赤色 (513 nm の吸収) は水素ガス通気により退色し、酸素ガス通気により還元した。次に pH 6 においては、溶液の深赤色 (513 nm の吸収) は、pH 2 と同様に水素ガス通気により退色し、酸素ガス通気により還元した。これに対し pH 12 においては、溶液の赤色は完全に退色しており、水素ガス通気、次に酸素ガス通気しても赤色は還元しなかった。しかし、pH を中和して酸素ガス通気すると、溶液は赤色を還元した。

これらの現象は、AcDDA が各 pH において、水素接

触還元により水素を得て、還元型 AcDDA を形成し、この還元型 AcDDA は、酸素接触酸化により脱水素され、AcDDA を形成することが示唆された。ただし、pH 12 の場合は、OH⁻ イオンが強いために AcDDA の赤色発色団であるイミノ基がアミノ基になり、さらに Na が結合したために安定化し、赤色の還元を阻害したと推定された。

(3) 生成物の検索

Fig. 8 は、上記の各試料を凍結乾燥し、TLC で展開した結果である。pH 2 の溶液からは、AcDDA (Rf 0.72) とそのアセチル化赤色色素が加水分解した AcDAsA (Rf 0.90) および AcSCA (Rf 0.65) が検出された (I)。また、水素ガス通気により、赤色々原体構造骨格のイミノ基がアミノ基に変化した無色の還元型の AcDDA、すなわち AcADDA (Rf 0.25) が生成した (II)。さらに、酸素ガス通気により AcADDA が酸化され赤色を呈し、AcDDA (Rf 0.72) が還元した (III)。pH 6 の溶液からは AcDDA (IV)、AcADDA (V) および AcDDA (VI) が検出された。pH 12 の溶液からは AcDDA に水と Na が結合したと思われる物質 (AcHADA·Na) (Rf 0.23) が認められた (VII)。また水素ガス通気により AcADDA (VIII) が生成した。しかし、酸素ガス通気では、pH 2 および pH 6 とは異なり AcDDA を形成せず、VII と同じ AcHADA·Na (Rf 0.23) を生成した (IX)。なお、TLC 上でアンモニヤ性

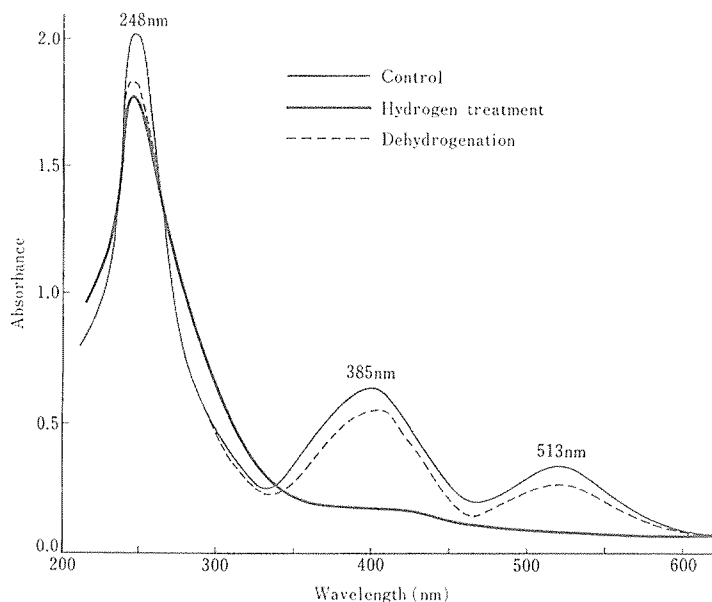


Fig. 5 Changes in UV and visible spectra of the acetylated red pigment (AcDDA) by hydrogen treatment and dehydrogenation at pH 2.

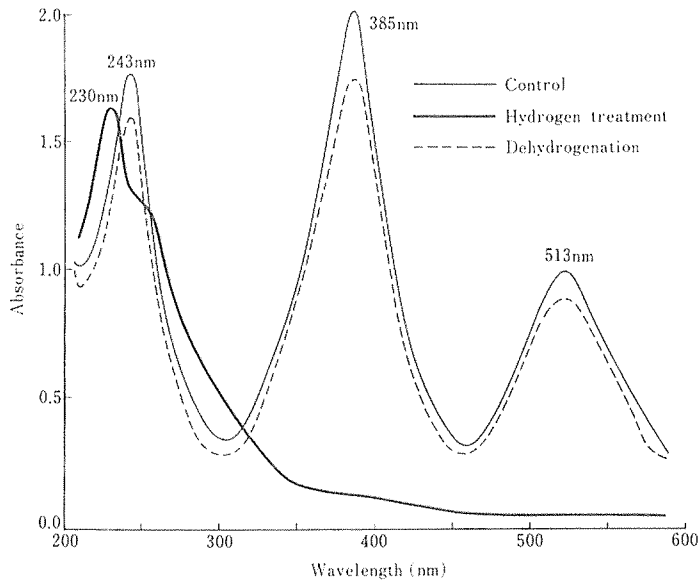


Fig. 6 Changes in UV and visible spectra of the acetylated red pigment (AcDDA) by hydrogen treatment and dehydrogenation at pH 6.

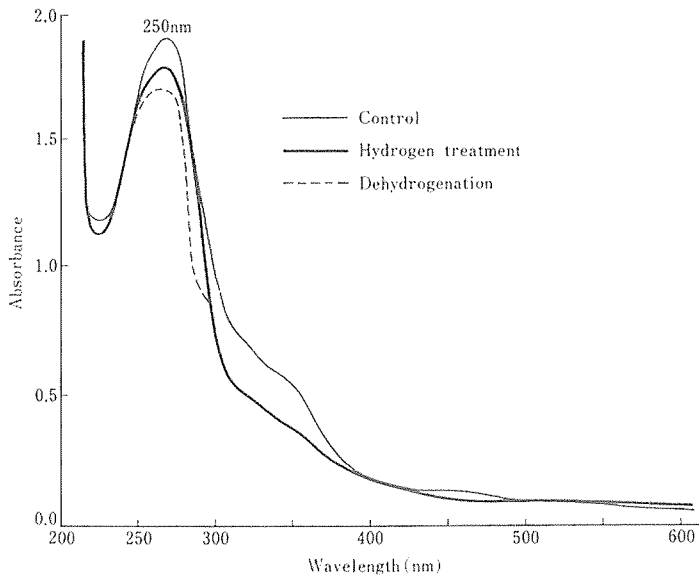


Fig. 7 Changes in UV and visible spectra of the acetylated red pigment (AcDDA) by hydrogen treatment and dehydrogenation at pH 12.

硝酸銀より、AcDAsA および AcSCA は褐色、還元型 AcDDA (AcADDA) は白色および AcHADA・Na は灰色に呈色した。また、ニンヒドリンにより、AcDAsA

は橙黄色、AcSCA はピンク色に発色し、インドフェノールで AcADDA が白色、DAsA で AcSCA がピンク色およびグリシンで AcDAsA がピンク色を呈した。

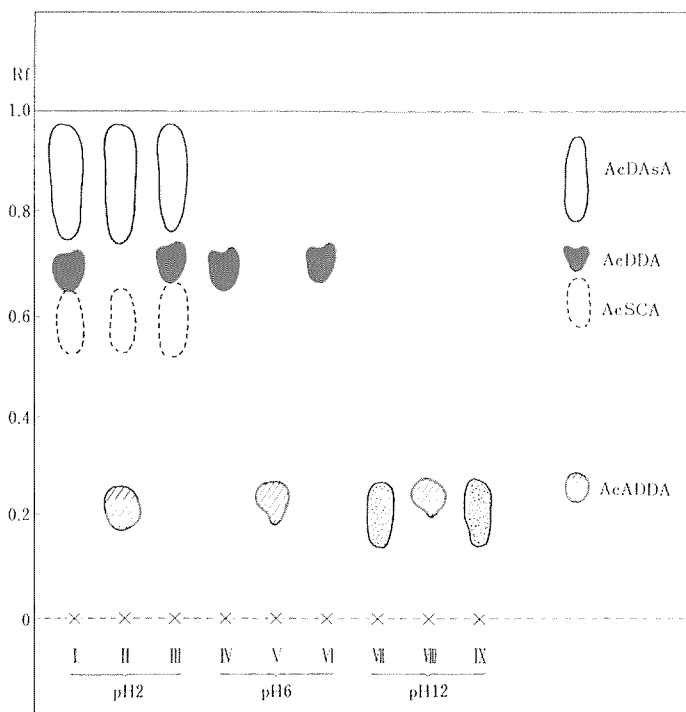


Fig. 8 TLC of the acetylated red pigment (AcDDA) treated with hydrogen or dehydrogenation.
 Developing solvent ; iso-AmOH : Me₂CO : H₂O (5 : 6 : 5)
 Solutions of ammoniacal AgNO₃, ninhydrin, DAsA, glycine and 2, 6-dichlorophenol indophenol were used for detection.

以上の事実から、AcDDA 赤色々素の退色には、酸による色原体構造の加水分解、水素還元およびアルカリによるイミノ基の形成が深く関与していることが判明した。

4. 還元型アセチル赤色々素の各 pH における安定性
 還元型 AcDDA (AcADDA) は、各 pH 溶液中で AcDDA を水素接触還元すると生じることが証明された

(Fig. 8)。しかし、その構造の安定性については不明である。そこで、各 pH 溶液に 5 mg% AcADDA (無色) を添加し、経時的にその残存率を AcDDA (赤色) として求めた。また、比較のために ADDA (無色) も DDA (赤色) として測定した (Table 1)。

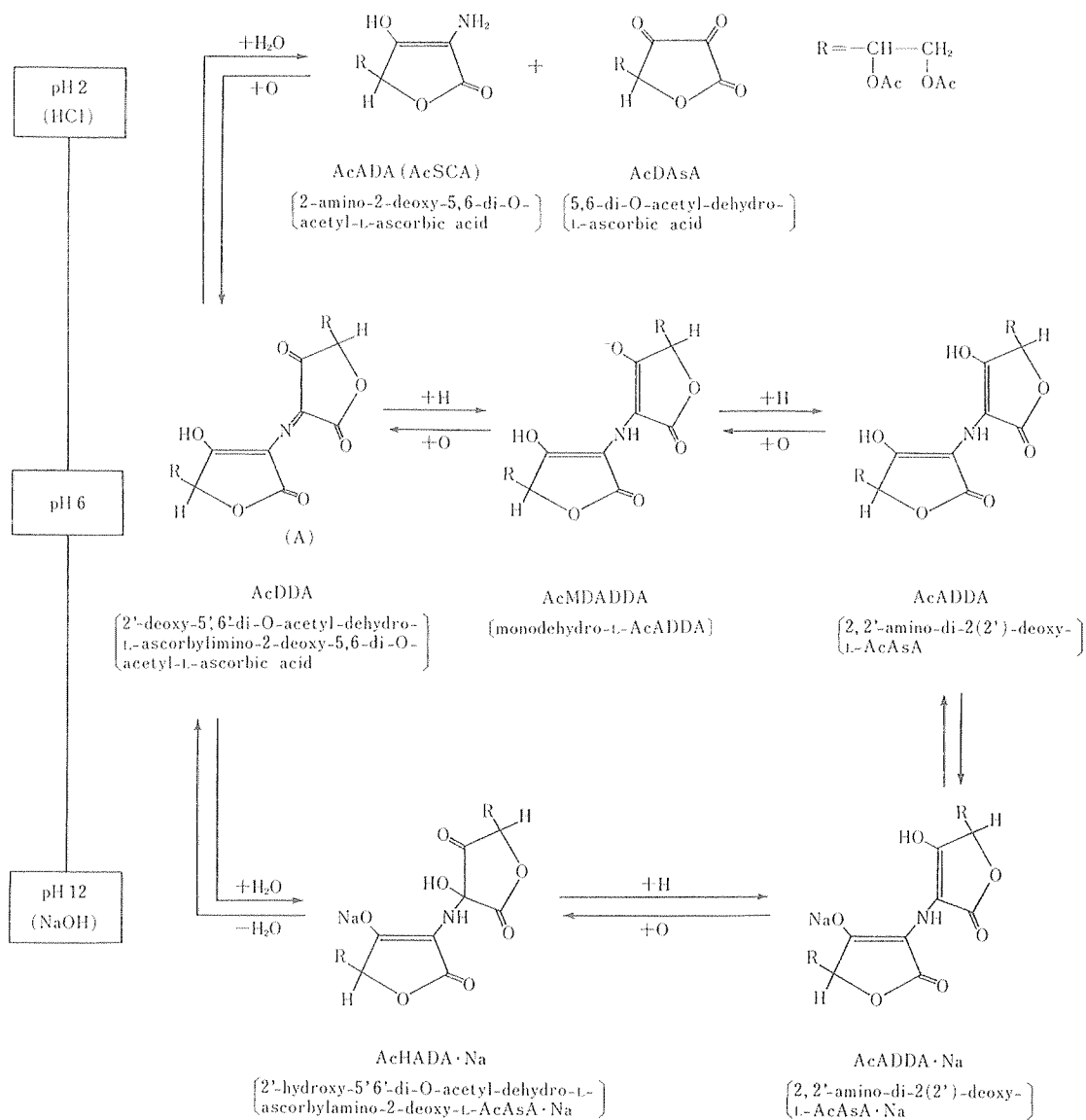
ADDA および AcADDA とも pH 2 では極めて不安定であり、24時間で分解した。ADDA は、pH 12 で最も

Table 1 Changes in the red color intensity (at 510 nm) of DDA or the acetylated red pigment (AcDDA) produced by the neutralization and dehydrogenation of ADDA or AcADDA in various pH solutions

ADDA					
pH \ hr	0	1	3	6	24
2	0.471 (100.0)	0.414 (87.9)	0.270 (57.3)	0.100 (21.2)	0.030 (6.3)
6	0.593 (100.0)	0.600 (100.1)	0.496 (83.6)	0.250 (42.2)	0.024 (4.1)
12	0.575 (100.0)	0.570 (99.1)	0.504 (87.7)	0.364 (63.3)	0.260 (45.2)

AcADDA

hr \ pH	0	1	3	6	24
2	0.711 (100.0)	0.699 (98.3)	0.702 (98.7)	0.465 (65.4)	0.032 (4.5)
6	0.906 (100.0)	0.915 (101.0)	0.900 (99.4)	0.660 (72.8)	0.525 (57.4)
12	0.654 (100.0)	0.650 (99.4)	0.645 (98.6)	0.590 (90.2)	0.486 (74.3)



Scheme 1 Possible discoloration mechanism of AcDDA at various pH.

安定であり、24時間後も45.2%が残存していた。しかし、pH 6 では不安定で24時間後にはほとんど赤色を復元しなかった。一方、AcADDA も pH 12 で最も安定であり、24時間後も510 nmの吸光度の減少は26%程度であった。また pH 6 でも比較的安定であり、赤色の吸光度の減少は6時間後で27%、24時間後でも43%で、ADDA よりも著しく安定であった。

従って、DDA および AcDDA の水素付加により退色した ADDA および AcADDA は、酸性下では不安定で分解し、アルカリ性下では安定で色原体構造を保持していることが分かった。またその色原体構造の安定性は、アシル化することにより高まることも明らかとなった。さらに、ADDA および AcADDA の構造骨格保持を DDA および AcDDA⁹⁾ と比べてみると、ADDA および AcADDA は、pH 2 で DDA および AcDDA よりも安定であるが、pH 6 では逆に不安定であることも分かった。

5. アセチル赤色色素の退色機構

前述した結果を総括すると、アセチル化赤色色素 (AcDDA) の退色機構は、Scheme 1 に示したように推定された。すなわち、AcDDA は、強酸性溶液中では極めて不安定であり、短時間で AcSCA と AcDAsA に加水分解し退色する。しかし、この溶液を中和し、酸素ガスを通気すると、水素イオンの影響が弱まり、含有 AcSCA がデヒドロ AcSCA に酸化されるので、これが他の AcSCA と反応して AcDDA を形成し、赤色が復元する。この退色・復元機構は、中性領域でも同様に起こるが、もともと AcDDA が安定であるために、この速度は著しく遅い。これに対し、アルカリ側では、AcDDA は直ちに退色する。しかしこの退色は pH 2 とは異なり、未同定であるが色原体構造、すなわち AcHADA・Na を保持していると思われる。TLC 分析により確認されたこの物質の構造は、水素付加処理をすると AcADDA・Na を形成し、脱水素処理により前者の物質に戻ることで、さらに溶液を中和すると赤色が復元することから推定された。一方、AcDDA は、還元剤または水素接触還元によっても退色する。この機構は、可逆的でラジカルの AcMDADDA (Scheme 1 参照) を経て AcADDA を生じるが、アルカリ側では Na 型を形成するために著しく安定であった。

以上は、AcDDA の退色機構について述べたが、これらの機構は DDA の退色機構と類似すると考えられた。

要 約

デヒドロ-L-アスコルビン酸 (DAsA) とアミノ化合物との複変反応の中間アミノ-レダクトンであるL-スコ

ルバミン酸 (SCA) の酸化とアセチル化によってアセチル化赤色色素 (AcDDA) を調製した。この AcDDA の化学構造は、元素分析、UV、IR および NMR スペクトルにより 2'-デオキシ-5', 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビレイミノ-2-デオキシ-5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸と同定した。そして、その構造は、5, 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビン酸 (AcDAsA) と α -アミノ酸との反応で生成する AcDDA と同じであることが証明された。

AcDDA は、pH 6 溶液中で比較的安定であった。しかし、pH 2 溶液中では、5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcSCA) と AcDAsA に加水分解されるために直ちに退色した。pH 12 溶液中で AcDDA は 2'-ヒドロキシ-5', 6'-ジ-O-アセチル-デヒドロ-L-アスコルビレイミノ-2-デオキシ-5, 6'-ジ-O-アセチル-L-アスコルビン酸モノナトリウム塩 (AcHADA・Na) と思われる物質を与えた。pH 6 溶液中で水素還元した AcDDA は、2, 2'-アミノ-ジ-2, (2')-デオキシ-5 (5'), 6 (6')-テトラ-O-アセチル-L-アスコルビン酸 (AcADDA) に変化した。以上の結果から、各 pH における AcDDA の退色機構を検討した。

文 献

- 1 RANGANNA, S. and SETTY, L., 1968: Nonenzymatic discoloration in dried cabbage. Ascorbic acid-amino acid interactions. *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 529-533.
- 2 中村俊郎, 柴田明良, 1967: アスコルビン酸による乾燥食品の紅変, 日食工, **14**, 11-14.
- 3 KURATA, T., FUJIMAKI, M. and SAKURAI, Y., 1973: Red pigment produced by the reaction of dehydro-L-ascorbic acid with α -amino acid. *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 1471-1477.
- 4 KURATA, T., FUJIMAKI, M. and SAKURAI, Y., 1973: Red pigment produced by the oxidation of L-scorbamic acid. *J. Agr. Food. Chem.*, **21**, 676-680.
- 5 桜井英敏, 伊藤定一郎, 石井謙二, 1988: デヒドロアスコルビン酸とグリシルジペプチドとの反応で生成するニンヒドリン陽性物質の構造とニンヒドリン反応機構, 本誌, **45**, 59-70.
- 6 石井謙二, 桜井英敏, 1990: L-アスコルビン酸とその酸化分解, 栄養学雑誌, **48**, 149-156.
- 7 HAYASHI, T., TERAOKA, A., UEDA, S. and NAMIKI, M., 1985: Red pigment formation by the reaction of oxidized ascorbic acid and protein in a food model system of low moisture content. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3139-3144.
- 8 YANO, M., HAYASHI, T. and NAMIKI, M., 1976:

- On the formation of free radical products by the reaction of dehydroascorbic acid with amines. *Agr. Biol. Chem.*, **40**, 1209-1215.
- 9 石井謙二, 桜井英敏, 小野豊樹, 1971: 5, 6-ジアセチルデヒドロ-L-アスコルビン酸とグリシンとの反応による生成色素の安定性. *栄養と食糧*, **24**, 350-354.
 - 10 桜井英敏, 石井謙二, 1976: デヒドロアスコルビン酸誘導体とグリシンとの反応による生成色素の安定性. *本誌*, **34**, 130-139.
 - 11 石井謙二, 桜井英敏, 小野豊樹, 1968: 酸化銀を酸化剤としたエタノールおよびアセトン中でのデヒドロ-L-アスコルビン酸の調製. *日食工誌*, **15**, 473-475.
 - 12 KURATA, T., IMAI, T. and ARAKAWA, N., 1986: The structure of red pigment having murexide type chromophore. *Dev. Food. Sci. The 3rd International Symposium on the Maillard Reaction.*, **13**, 67-75.
 - 13 河内敬朝, 中村恵三, 叶多謙蔵, 大場琢磨, 1970: デヒドロアスコルビン酸とピロールの呈色反応. (VI) ジアセチルデヒドロアスコルビン酸の二量体と5, 6-ジアセチルアスコルビン酸の核磁気共鳴スペクトルとそのシュミレーションによる構造解析. *ビタミン*, **41**, 287-291.
 - 14 大木道則, 岩村 秀, 西田利昭, 1965: NMRスペクトル演習 (南江堂, 東京), 25-30, 88, 142.