

食用マメ種皮に含まれる色素の食品機能性に関する研究

吉田 久美・亀田 清・近藤 忠雄*

(椋山女学園大学生活科学部, 名古屋大学化学測定機器センター*)

1. はじめに

我々が古くから食用にしてきた野菜や果実, ナス, 赤キャベツ, イチゴやブドウなどの色素はアントシアニンである¹⁾。アントシアニンは, 赤から紫色, 青色にいたる美しい花の色素でもあり²⁾, 色の鮮やかさと多彩さにおいては, これに勝る天然色素はない。近年, アントシアニンは, 肝毒性, 発ガン性が懸念される合成タール系着色料に代わる安全な天然食品着色料として, 大きな期待が寄せられ, その利用も増加している。さらにアントシアニンがポリフェノール構造を有することから,

着色料として以外の機能, 即ち, 様々な生体調節機能が期待され, 最近になって抗酸化性³⁾やコレステロール低下作用⁴⁾のあることが報告され始め, さらには抗癌作用があるとの報告例もある。

しかし, アントシアニンは不安定な物質で, 溶液の液性により種々の分子構造をとる (図1)⁵⁾。強酸性溶液中ではフラビリウム型で, 赤色を呈し極めて安定であるが, 弱酸性から中性では, 一旦アンヒドロ型となり紫色を示すが, 速やかに水合が起り, 無色のプソイド塩基となる。この不安定な色素が, なぜ弱酸性から中性の植物中で安定なのかは極めて興味深い問題で, 最近, これらの

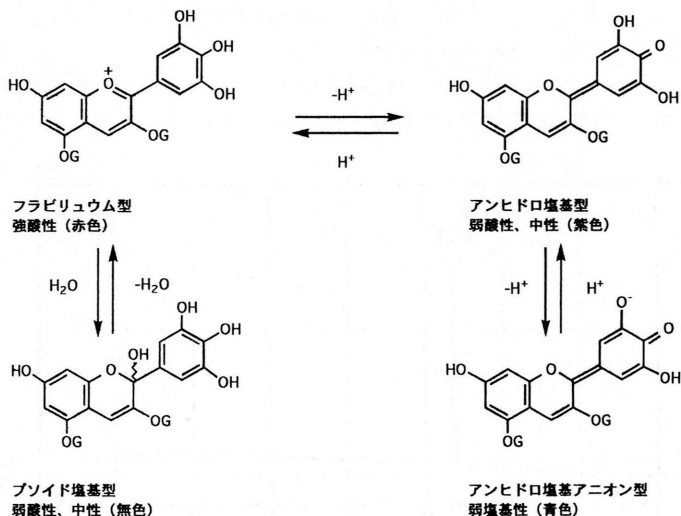


図1 液性によるアントシアニンの構造変化

説に共通した安定化の基本原理解が我々により解明され、芳香環の疎水相相互作用による面体面の分子会合形成による発色団への水和阻害であることが明らかにされた⁶⁾。しかし、純粋な色素を大量に得ることが困難なため、個々の発色に関してはまだ不明な点が多く、実際のところ、基礎科学的な研究はまだ途上にある。さらに、調理や食品加工の条件で容易に分解退色するため、アントシアニンの機能性を食品化学的に解明し、色素の幅広い利用を目指す場合も解決すべき困難な問題が山積している。

ところで、食用マメ類のクロマメ（黒ダイズ）、キントキマメ、アズキなどの種皮の赤色や黒色も、野菜や果実と同じ植物色素のアントシアニンによる。クロマメを色良く煮くのに古釘を使ったり、アズキやササゲの色を飯の着色に用いる赤飯でも明らかなように、その色素は古くから食用とされ、日本の伝統的な食生活に欠かせないものである。マメ科植物は700属2万種にも及び、その中の80種程度が食用に供される。しかし、これまでのマメ成分の研究は、栄養成分や毒成分が中心で色素成分に関する研究例が少ない上、提出された構造にも多くの疑問がもたれた。そこで本研究では、

食用マメ種皮に含まれる色素を純粋に単離し、その構造を明らかにすると同時に、新規な機能性（抗酸化性、抗癌性など）をも合わせ持つ高機能食用着色料を開発するための基礎的知見を得ることを目的として、国内外産のマメを入手して、アントシアニンの構造及び、含有量の調査研究ならびにそれらの抗酸化性について調べた。

2. ダイズ属マメ種皮色素の単離と構造

ダイズ属のマメのうち、種皮が黒色に着色したクロダイズ (*Glycine soja*) 種皮色素については、1936年に黒田らがシアニジン 3-グルコシドと報告し⁷⁾、1969年には吉倉らが丹波産のクロダイズに微量色素としてデルフィニジン 3-グルコシドが含まれると報告した⁸⁾。これらの報告では、色素は塩酸-メタノール溶液で抽出されており、シソ色素⁹⁾、ツクウサ色素¹⁰⁾の例のようにマロニル基の分解が起こり真の色素を得ていない可能性があった。そこで今回、クロダイズ種皮色素を我々の温和な条件で抽出単離し、機器分析による構造確認を行った。

クロダイズは北海道産光黒大豆を用いた。マメを浸水し、柔らかくなったマメの種皮を取り、

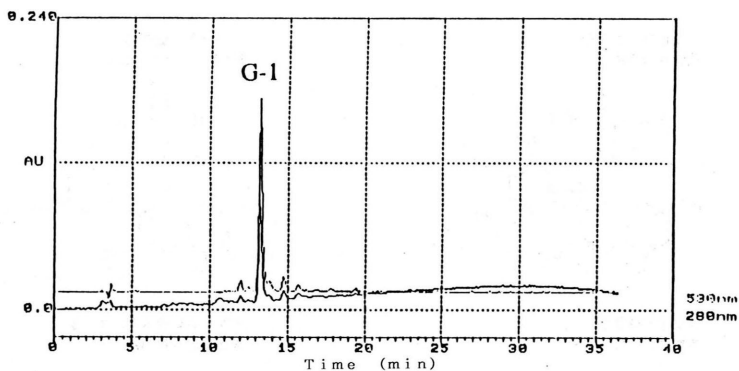


図2 黒ダイズ種皮抽出液のHPLCクロマトグラム

3%のトリフルオロ酢酸 (TFA) を含む50%アセトニトリル水溶液を加えて抽出した。抽出液をHPLCで分析した。分析の結果、図2に示すように、クロダイズ種皮には色素は1種類しか含まれず、フラボン等の他成分がほとんど抽出されないこと、また、色素のピークのスペクトルから芳香族有機酸を含まない、構造の単純なアントシアニンであることが分かった。

次に、クロダイズ色素の単離、精製を行った。乾燥したクロダイズ 300g を浸水し、柔らかくなったマメから種皮を取り、同様の条件で抽出した。この抽出液をまずアンバーライト XAD-7 カラムクロマトグラフィー、次いで中圧分取 ODS カラムクロマトグラフィーで精製した。さらに常法によりカウンターアニオンをリン酸塩から TFA 塩に置換した後、減圧下濃縮乾固し、クロダイズ色素の TFA 塩を赤色粉末として 185mg 得た (図3)。

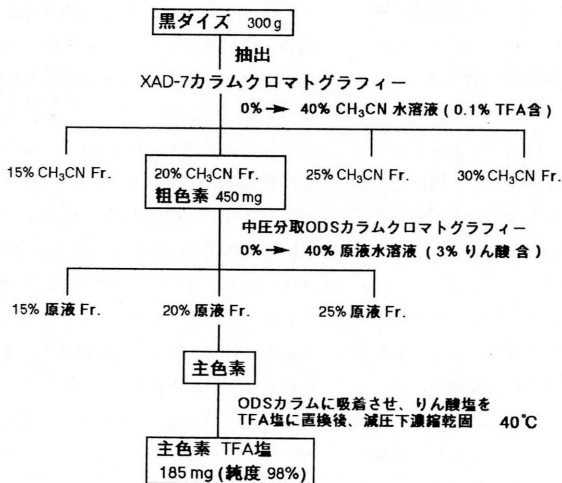
クロダイズ色素の構造は機器分析により明らか

にした。FABMS より、クロダイズ色素の分子量を 449 と決定した。TFA を含む重メタノール中で測定した ^1H NMR の結果、母核はシアニジンとわかり、芳香族領域には母核以外に由来するシグナルは観測されなかったことから、電子スペクトルから予想されたように芳香族有機酸を含まないことも確認できた。さらに、六炭糖が 1 個結合することが分かり、デカップリング実験より β -グルコシドと決定した。糖の結合位置は -30°C で NOE 実験を行い、母核の 3 位と決定した。

以上の結果より、クロダイズ種皮色素の構造はシアニジン 3- β -グルコシドと同定でき、黒田らの報告⁷⁾通り、色素にマロニル基などの脱離し易い基は含まないことが確かめられた (図4)。

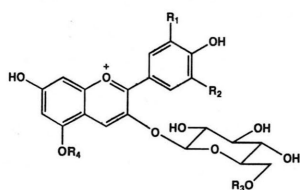
3. インゲン属マメ種皮色素の単離と構造

インゲンマメ属 (*Phaseolus*) は種類が多彩で、食用としてはキントキマメ、トラマメ、ウズラマメ (*Phaseolus vulgaris*)、ベニバナインゲン



原液 = $\text{CH}_3\text{COOH} : \text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} = 20 : 25 : 55$

図3 黒ダイズ種皮色素の単離精製法



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
黒ダイズ	OH	H	H	H
大正金時	H	H	H	H
ベニバナインゲン	OH	OH	H	H
サルタニ	OCH ₃	H	H	H
	OCH ₃	H	α -L-Rham	H
ブラックタートル	OH	OH	H	H
	OCH ₃	OH	H	β -D-Glc
	OCH ₃	OH	H	H
	OCH ₃	OCH ₃	H	β -D-Glc
	OCH ₃	OCH ₃	H	H
アズキ	OH	H	H	β -D-Glc

図4 食用マメ種皮に含まれるアントシアニンの構造

(*Phaseolus coccineus*) など、多くの品種が知られている。インゲン属のマメのうち、キントキマメ種皮色素については、1971年吉倉らによりペラルゴニン 3- β -グルコシド、シアニン 3- β -グルコシド、ペラルゴニン 3, 5-ジグルコシド、シアニン 3, 5-ジグルコシドの4種類が含まれると報告されている¹¹⁾。しかし、先述のように抽出中の色素の分解が懸念されたので、同様の方法で単離構造決定を試みた。

マメは北海道産大正金時豆を用い、クロダイズの場合と同様に処理して得た種皮を3%のTFAを含む50%アセトニトリル水溶液で抽出しHPLCで分析した。キントキマメには色素が4種類含まれていたが、そのうちまず、主色素を単離した。先と同様の手法で分取クロマトグラフィーを進め、主色素を43mg得た。色素の構造は、FA BMSと¹H NMRによる分析の結果、ペラルゴ

ニン 3- β -グルコシドと決定した(図4)。

同様にして、これまで色素単離の報告のない、ベニバナインゲン (*Phaseolus coccineus*)、サルタニ (*Phaseolus lunatus*)、ブラックタートル (*Phaseolus vulgaris*) について、それぞれ色素を単離した。ベニバナインゲンはインゲンマメ属のマメの中では大きな紫色の豆果をつけ、日本に導入された当時は花を觀賞するためのものであったが、冷涼地で結実がよいため、現在では食用として東北地方や北海道で栽培されている。サルタニはライマメの一品種で、主にミャンマーで生産されマメの形は偏平で楕円型、種皮の色は赤色である。種子に青酸配糖体を含むため製餡材料としてのみ使用が許され輸入されている。餡の増量にはインゲンマメやサルタニなど多数のマメが使われているが、製餡時のクセのなさからサルタニが最も適しているようである。ブラックタートルは名のとおり黒色の北米産のマメで、スープ等に用いられる。

これらのマメから同様に色素を抽出して、単離精製し構造研究を行った(図4)。ベニバナインゲン300gからは、色素が28mg得られ、デルフィニン 3- β -グルコシドと決定した。サルタニには2種類の色素が含まれ、10kgのマメより色素S-1とS-2をそれぞれ7.9mg, 14.5mg得た。いずれも色素の母核はペオニンで各種の¹H NMR測定の結果、S-1はペオニン 3- β -グルコシド、S-2はペオニン 3- β -ルチノシドと決定した。ブラックタートルには、5種類もの色素(B-1~B-5)が含まれ、1kgのマメからそれら全てを単離した結果、デルフィニン 3- β -グルコシド、パチュニン、パチュニン 3- β -グルコシド、マルビン、およびマルビジン 3- β -グルコシドと決定した。

これらのマメ種皮色素は、ほとんどがアントシアニン母核に糖が1~2個結合した単純なもの

で、粗抽出液には色素以外の成分はほとんど混入していなかった。

4. アズキ種皮色素の単離と構造

ササゲ属 (*Vigna*) にはササゲ (*Vigna sinensis*)、アズキ (*Vigna angularis*)、タケアズキ (*Vigna umbellata*) などが含まれる。アズキはダイズと同様、古くからアジア地方で多く栽培され、日本では赤飯や餡の材料として欠かせない。アズキの色素について1934年に黒田らは、単離は非常に困難で、アントシアニン系の赤色色素、タンニン系の褐色色素の組み合わせによるものと報告したが構造は不明であった¹²⁾。その後、1966年に笹沼らは、赤黒色のアズキから微量ながらも色素を単離し、デルフィニジン3-グルコシドと報告した¹³⁾が、ごく微量の色素をペーパークロマトグラフィーなどの手法で同定しており、構造にも疑問が持たれた。これらの報告から、アズキの種皮色素は他のマメに比べ、非常に抽出されにくく、また、その含有量も微量であると推定された。そこで赤飯や餡の独特の色、アズキ色が本当にアズキ種皮のアントシアニンのみで説明できるのか、という疑問も生じる。これらの食品への着色機構

を解明するためにもアズキ色素の本体の解明が必須であるので、アズキ種皮色素の単離方法を検討し、構造決定を試みた。

アズキは北海道産普通小豆を用いた。まず、ダイズ属やインゲン属のマメと同じ抽出方法で成分が抽出されるかどうかを調べたところ、色素は全く含まれず紫外部に吸収を持つ成分が大量に抽出された。そこで、50gのアズキを同様に処理し得られた抽出液を減圧下濃縮乾固し、得られた褐色の残渣に0.5% TFA 水溶液を加えて超音波処理を行い、遠心分離したところ赤茶色の上清を得た。これをHPLCで分析したところ、微量ながらも色素が検出でき (図5)、沈澱には色素は全く含まれなかった。この方法によりはじめて、温和な条件でアズキからアントシアニンを抽出することが出来るようになった。

つぎに、北海道産普通小豆 5kg から、色素の単離を行った。水に浸し柔らかくしたマメから種皮を取り、液体窒素で凍結後ミキサーで粉碎し、3% TFA 含有50%アセトニトリル水溶液で抽出した。得られた赤茶色の抽出液を減圧下濃縮乾固して、0.5% TFA 水溶液を加え超音波処理を行った後、遠心分離し色素を含む上清を得た。得ら

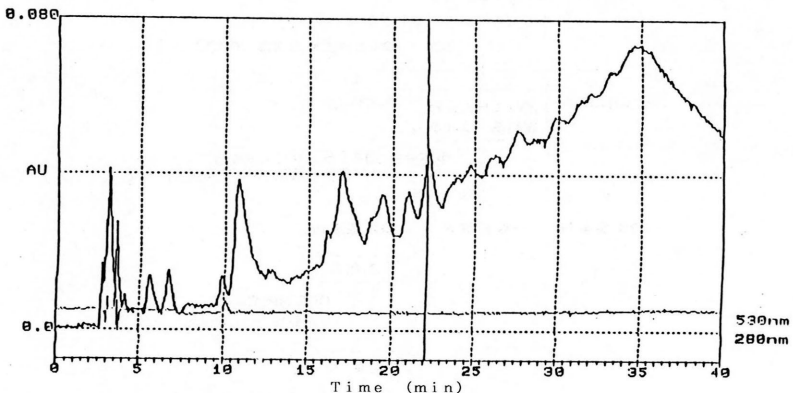


図5 アズキ種皮抽出液のHPLCクロマトグラム

れた上清を常法によりカラムクロマトグラフィーを用いて精製し、粗色素 80mg を得た。得られた粗色素をさらに数回の逆相カラムクロマトグラフィーにより精製し、主色素を 0.5mg 得た (図 6)。

アズキ色素の構造も同様に機器分析より明らかにした。FABMS より分子量を 611 と決定でき、これは、シアニンと分子量およびフラグメントイオンのパターンが全く同じであった。 ^1H NMR スペクトルもシアニンのそれと完全に一致したことから、アズキのアントシアニンは従来報告されていたデルフィニジン 3-グルコシドとは異なり、シアニンであることが初めて明らかになった。

5. 各種マメ種皮色素の同定と含有量

代表的な食用マメ種皮に含まれるアントシアニンの構造を明らかにした結果、マメ種皮色素はいずれも単純な構造でアシル基を全く含まなかった。実際にはマメは、同一の属でも多数の品種が知られ、特定の地方でのみ栽培されるものもある。マメ種皮色素を機能性着色料として食品に応用する場合、その分布、含有量、構造、抽出効率などについて多数の個体を分析する必要があると考え、一般的に市場で食用として手に入る国産マメ類の他、日本に加工用として輸入され、普段はあまり

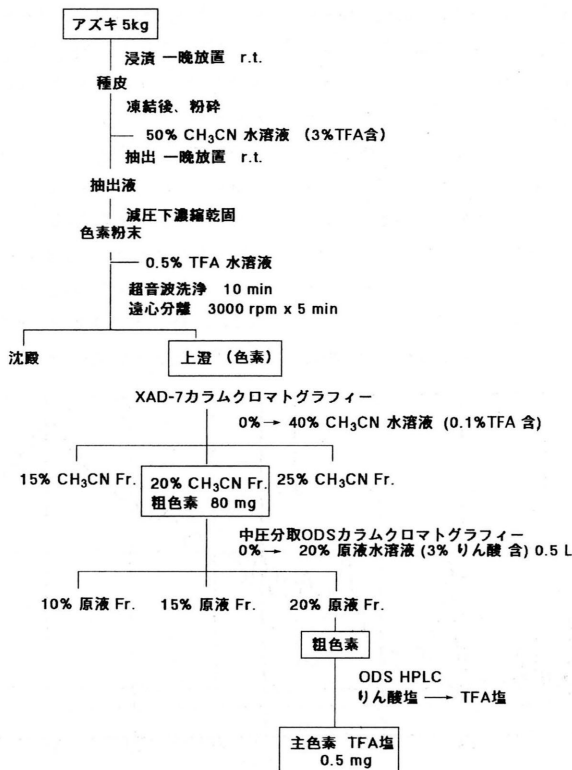


図 6 アズキ種皮色素の単離精製法

見かけることがない、外国産のマメ、およびサヤで食する種苗用のマメ種皮のアントシアニン成分について分析した。

ダイズ属は産地の異なるものを含め5種、インゲンマメ属は11種、ササゲ属は9種、フジマメ属の1種の計26種のマメ種皮を収集して調査した。分析はHPLCで行い、先に単離構造解析した各マメ種皮色素を標準サンプルとして用いて、定性分析および定量分析を行った。結果は乾燥種皮1gあたりの色素含有量として算出し、表1に示した。

マメ種皮に含まれる色素成分は、まずマロニル基を含まないことを確認した上で、乾燥マメを1%塩酸含有メタノール溶液で抽出し、Develo-sil ODS-5カラム(4.6mmφ×250mm)を用いて、溶媒に3%のリン酸を含む20%A液水溶液(A液:酢酸-アセトニトリル-水=20:25:55)を用いて分析した。

ダイズ属(*Glycine*)のマメはいずれも主色素はシアニジン3-グルコシドで、丹波産のクロダイズおよび、ダイズの原種といわれているツルマメは、微量色素としてデルフィニジン3-グルコシドを含んでいた。クロダイズの色素含有量はかなり高く、乾燥種皮あたり2%程度であった。

インゲンマメ属(*Phaseolus*)は種類も多く、その色も変化に富んでいる。色素の構造は単純であったが、母核は様々であった。金時マメはペラルゴニンとシアニジン、ウズラマメはペラルゴニン、シアニジン、デルフィニジンのグルコシド、ブラックタートルは前述のように3種の母核(デルフィニジン、ペチュニジン、マルビジン)が混在し、菜豆はほとんどがデルフィニジン、サルタニはペオニン、ペニバナインゲンはデルフィニジンとシアニジンをアントシアニン母核として含有していた。糖の結合位置はほとんどが3位で、わずかに3, 5-ジグルコシドや3-ルチノ

シドが含まれていた。色素含有量は、最も多いブラックタートルの乾燥種皮あたり約4%もの高濃度から、ウズラマメやスモールレッドなど色の薄いマメの0.1~0.3%程度まで様々であった。さらに、ペニバナインゲンで明らかなように、産地によって色素の種類や含有量にも差の認められることも分かった。

ササゲ属は、大きくササゲ(*Vigna sinensis*)、アズキ(*Vigna angularis*)、タケアズキ(*Vigna umbellata*)に分けられる。本研究により、含有される色素も種別により明確な区別のあることが分かった。即ち、ササゲでは、黒色のブラックペルンを除く全てのマメでシアニジン3-グルコシドが主色素であったのに対し、アズキでは例外なくシアニンだけが含まれることが明らかになった。さらに、タケアズキは1例ではあるが、これもデルフィニジン3-グルコシドと含有色素は異なっていた。赤色のササゲ属マメ種皮のアントシアニン含有量はダイズ属、インゲン属と比較して極めて低く、乾燥種皮あたり0.0003~0.02%の低量であった。ササゲとアズキを比べると、若干ササゲの方がアントシアニンが抽出されやすく、日本産と中国産のアズキを比較すると、中国産の方が色素が多く含まれることも分かった。赤飯にササゲを用いるのは、腹が裂けないとの理由ばかりでなく着色の点からも優れていることが明らかになった。また、中国産のアズキの餡の着色が日本産のものより良い理由も、分析の結果明らかになった。黒色のジュウロクササゲは乾燥種皮あたり色素含有量が約2%と、ササゲ属のなかでは格段に多かった。

以上の分析結果より、種皮の色が濃いほど色素の含有量が高く、特に黒色のものは乾燥種皮あたり数%ものアントシアニンを含むことがわかった。一方、ササゲ属のマメは、他のマメに比べアントシアニン含有量が極めて低いことも分かった。

表1 マメ種皮に含まれるアントシアニンとその含量

和 名	学 名	産 地	色 素	含有量 (mg/g dry skin)
ダイズ属				
クロダイズ	<i>Glycine max</i>	北海道	Cy 3-glc	15.3
クロダイズ	<i>Glycine max</i>	丹波産	Cy 3-glc	15.6
			Dp 3-glc	1.3
クロダイズ	<i>Glycine max</i>	上磯	Cy 3-glc	20.4
ツルマメ	<i>Glycine soja</i>		Cy 3-glc	11.4
			Dp 3-glc	1.3
鞍掛枝豆	<i>Glycine max</i>		Cy 3-glc	4.1
インゲン属				
大正金時	<i>Phaseolus vulgaris</i>	北海道	Pg 3-glc	3.6
			Cy 3-glc	0.3
ウズラマメ	<i>Phaseolus vulgaris</i>	北海道	Pg 3-glc	0.2
			Cy 3-glc	0.1
			Dp 3-glc	0.2
ブラックタートル	<i>Phaseolus vulgaris</i>	北米	Dp 3-glc	29.9
			Pt 3-glc	4.9
			Pt 3,5-diglc	1.5
			Mv 3-glc	4.0
			Mv 3,5-diglc	0.4
スモールレッド	<i>Phaseolus vulgaris</i>		Pg 3-glc	0.3
アルプス菜豆	<i>Phaseolus vulgaris</i>		Pg 3-glc	1.3
			Cy 3-glc	3.0
			Dp 3-glc	0.8
山城黒三度菜豆	<i>Phaseolus vulgaris</i>		Dp 3-glc	3.4
黄英菜豆	<i>Phaseolus vulgaris</i>		Dp 3-glc	3.3
サルタニ	<i>Phaseolus lunatus</i>		Pn 3-glc	0.3
			Pn 3-rut	0.5
ベニバナインゲン	<i>Phaseolus coccineus</i>	北海道	Cy 3-glc	0.5
			Dp 3-glc	2.2
大黒芸豆	<i>Phaseolus coccineus</i>	北朝鮮	Pg 3-glc	0.1
			Cy 3-glc	0.1
			Dp 3-glc	0.8
大黒花芸豆	<i>Phaseolus coccineus</i>	中国	Cy 3-glc	0.5
			Dp 3-glc	0.1
ササゲ属				
備中ササゲ	<i>Vigna sinensis</i>		Cy 3-glc	0.02
ササゲ	<i>Vigna sinensis</i>	タイ	Cy 3-glc	0.01
ブラックペルン	<i>Vigna sinensis</i>	タイ	Pg 3-glc	1.2
			Cy 3-glc	1.5
			Dp 3-glc	1.3
アカササゲ	<i>Vigna vexillata</i>		Cy 3-glc	0.07
十六ササゲ	<i>Vigna sesquipedalis</i>		Cy 3-glc	20.8
			Dp 3-glc	5.2
アズキ	<i>Vigna angularis</i>	北海道	Cy 3, 5-diglc	0.0003
アズキ	<i>Vigna angularis</i>	中国東北	Cy 3, 5-diglc	0.01
アズキ	<i>Vigna angularis</i>	中国天津	Cy 3, 5-diglc	0.01
赤タケアズキ	<i>Vigna umbellata</i>	中国	Dp 3-glc	0.02
フジマメ属				
赤花フジマメ	<i>Lablab purpureus</i>		Pg 3-glc	0.01
			Dp 3-glc	0.03

Pg: ベラルゴニン, Cy: シアニン, Pn: ペオニン, Dp: デルフィニン

Pt: ベチュニン, Mv: マルビン

glc: グルコシド, diglc: ジグルコシド, rut: ルチノシド

6. マメ種皮アントシアニンの抗酸化性

アントシアニンはポリフェノール構造を有することから、フラボン等と同様に抗酸化性が期待できる。しかし、これまで純粋な色素の単離が困難であったため、ほとんど研究例がなかった³⁾。今回、マメから単離した単純なアントシアニンを用いて、抗酸化性と構造の関係を調べた。用いた色素は全て3-グルコシドで、B環上の水酸基の数の異なるペラルゴニン、シアニジン、デルフィニジン3-グルコシドとした。各色素をpHを3、5、または7に調整した緩衝液中にリノール酸と同時に溶解し(4×10^{-6} M)、37°Cで暗所に保存しロダン鉄法で酸化の進行を測定した。ポジティブコントロールとしてトコフェロールと比較した。pH3において、アントシアニンは抗酸化性を示すことが分かり、なかでもシアニジン3-グルコシドはトコフェロールよりも強い抗酸化能を有することが分かった(図7)。弱酸性、中性では何れもコントロールより酸化が進んだが、色素濃度を上げるなどしてさらに検討したいと考えている。また、このような希薄溶液ではアントシアニンは強酸性以外ではほとんど退色しブソイド塩基になっている。今後、真の抗酸化性を示す化学種の特定制も含め研究を進める必要があると考える。

7. まとめ

アントシアニンを高機能性食用着色料として利用するための基礎食品化学的研究を、マメ種皮色素を対象に行った。従来あまり研究例のないマメ種皮に含まれる色素成分の精査を行い、多数のアントシアニンを単離構造決定した。なかでも、単離が非常に困難とされていたアズキのアントシアニンを精製することができ、従来の報告とことなりシアニンであることを初めて明らかにした。これらの結果をもとに26種類の品種や産地の異なるマメに含まれる色素とその含有量をHPLCで分析した。マメは他の植物と比べ色素以外の成分の含有量が低く、材料を選べば抽出効率も高いことから、食用色素の供給源としても有望であると同時に、種皮色素は、ケモタキソノミーの観点からも極めて有用であることが明らかになった。さらに、単離した純粋なアントシアニンの抗酸化性を調べたところ、酸性溶液中ではかなり高い抗酸化能を示すことが明らかになった。今後、さらに効果の高いアントシアニンの探索、ならびに他の食品機能の調査および構造と機能性との関係を定量的に解明していけば、アントシアニンを高機能性食用着色料として幅広く利用することができると考える。

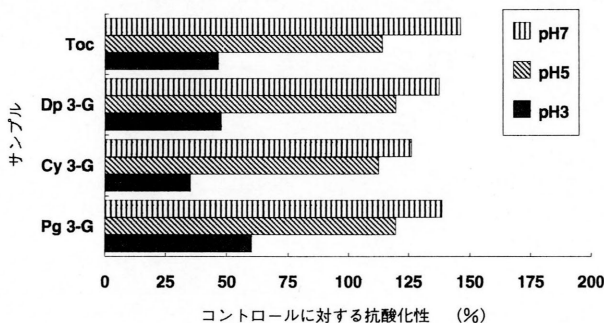


図7 マメ種皮に含まれるアントシアニンの抗酸化性

終わりに、本研究の遂行にあたりご援助賜りました浦上食品・食文化振興財団に心から感謝致します。

文 献

- 1) G. Mazza and E. Miniati, Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1993; P. Markakis, Anthocyanins as Food Colors, Academic Press, New York, 1982.
- 2) D. Strack & V. Wray in *The Flavonoids, Advances in Research since 1988*, J. B. Harborne ed., Chapman and Hall, London, 1994, p. 1; R. Brouillard & O. Dangles, O. *ibid.* p. 565; T. Goto and T. Kondo, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 30, 17 (1991); 林孝三, 増訂植物色素, 林孝三編, 養賢堂, 1988; J. B. Harborne and R. J. Grayer, in *The Flavonoids, Advances in Research since 1980*; J. B. Harborne ed., Chapman and Hall, London, 1988, p. 1
- 3) T. Tsuda, T. Ohshima, S. Kawakishi and T. Osawa, *J. Agric. Food Chem.*, 42, 248 (1994); H. Tamura and A. Yamagami, *ibid.* 42, 1612 (1994).
- 4) K. Igarashi, S. Abe and J. Satoh, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 171 (1990).
- 5) R. Brouillard and J. E. Dubois: *J. Amer. Chem. Soc.*, 99, 1359 (1977); R. Brouillard and B. Delaporte: *ibid.*, 99, 8461 (1977).
- 6) 後藤俊夫, 近藤忠雄, 化学と生物, 22, 827(1984); T. Goto, *Prog. Chem. Nat. Prod.*, 52, 113 (1987).
- 7) C. Kuroda and M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 11, 272 (1936)
- 8) K. Yoshikura and Y. Hamaguchi, 栄養と食糧, 22, 367 (1969).
- 9) T. Kondo, H. Tamura, K. Yoshida and T. Goto, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 797 (1989)
- 10) T. Goto, T. Kondo, H. Tamura and S. Takase, *Tetrahedron Lett.*, 24, 4863 (1983)
- 11) K. Yoshikura and Y. Hamaguchi, 栄養と食糧, 24, 275 (1971)
- 12) C. Kuroda and M. Wada, *Proc. Imp. Acad.*, 10, 472 (1934)
- 13) S. Sasanuma, K. Takada and K. Hayashi, *Bot. Mag. Tokyo*, 79, 807 (1966)

Studies on anthocyanins of edible legumes

Kumi Yoshida, Kiyoshi Kameda and Tadao Kondo*

(School of Life Studies, Sugiyama Jogakuen University
and Chemical Instrument Center, Nagoya University*)

Legumes are cultivated world wide and very important food crops. Some of their seed coats are colored and the pigment from red to black are mostly due to anthocyanins. Recently safe food colorants have been desired instead of synthetic azo dyes which possesses crucial toxicity. Anthocyanins are the most suitable one for the purpose because the color of edible plants, fruits and vegetables, are mostly anthocyanins. Furthermore, antioxidant activity and other biological activities can be expected with anthocyanins. Thus, we isolated the anthocyanins from various coloured legumes and measured their antioxidant activities.

The structures and the contents of anthocyanins from 26 kinds of edible legumes' peel were elucidated. In scarlet bean (*Phaseolus coccineus*) delphinidin 3-glucoside was determined. In sultanipya bean (*Phaseolus lunatus*) peonidin 3-glucoside and peonidin 3-rutinoside were isolated. In black turtle bean (*Phaseolus vulgaris*) delphinidin 3-glucoside, petunin, petunidin 3-glucoside, malvin and malvidin 3-glucoside, were determined. We also succeeded in isolation and structural determination of the anthocyanin from adzuki bean (*Vigna angularis*) as cyanin for the first time.

Antioxidant activities of legume anthocyanins were measured using Rodan-ferric method. In acidic solutions cyanidin 3-glucoside showed a strong antioxidant activity. But in weakly acidic and neutral conditions anthocyanins are suddenly decolorised and have no activities.

In conclusion legumes would be an efficient source of anthocyanins for food colorants endowing with multi-functions such as antioxidant activities and other functions such as anti carcinogenic, and immunostimulating effect.