

ペーパークロマトグラフィーおよびカラムクロマトグラフィーによる玉葱褐変色素の分離

玉木 雅子 鵜飼 光子

Separation of Browning Pigment of Heated Onion by Paper Chromatography and Column Chromatography

Masako TAMAKI and Mitsuko UKAI

(目 的)

玉葱は、長時間炒めることにより香ばしいフレーバーを生じると共に好ましい飴色に褐変する。これらは他の野菜にはみられない玉葱独特の調理特性である。筆者らはこれまでに、玉葱の褐変反応に伴う還元性物質や3-デオキシグルコソンの増加を明らかにし、この反応が非酵素的で、糖の分解や糖とアミノ酸の反応を中心とした反応であると考えてきた¹⁾。しかし、セファデックスG50およびセファデックスG25を用いたゲル濾過クロマトグラフィーに対する性質から、玉葱の褐変色素は他の食品の褐変色素やモデルメラノイジンに比べて低分子であると判断できたので、玉葱の褐変反応が、モデル的なアミノ-カルボニル反応とは異なった機構を有すると考えられた²⁾³⁾。

玉葱には外皮部分だけではなく、可食部にもポリフェノール成分であるフラボノイド類が含まれる⁴⁾⁵⁾⁶⁾。通常、食品中のポリフェノールは酵素的褐変の原因物質となることが多いが、廃糖蜜の褐変物質からフラボノイドと炭水化物の複合体が確認されている⁷⁾ことや、焙煎コーヒーの褐色色素がクロロゲン酸と蔗糖の熱反応により形成される⁸⁾ように、玉葱中のフラボノイドが加熱褐変に何らかの影響を与えている可能性もあると考えた。

今回は、加熱して褐変した玉葱の色素に、生玉葱と同様のフラボノイド類が検出できるかどうか、また、フラボノイド類の性質を利用した方法で加熱玉葱の褐変物質が分離可能であるか

どうかを確認するために、ペーパークロマトグラフィー⁹⁾および津志田らの方法⁹⁾を参考にしたカラムクロマトグラフィーを試みた。

(方 法)

1. 試料の調製

常法¹⁾により調製した玉葱ジュース（生および150℃で2時間加熱し褐変させたもの）に、4倍量(vol)のメタノールを加え、抽出した。これを濾過し、エヴァポレーター（40℃）でメタノールを蒸発させてから凍結乾燥した。凍結乾燥試料に蒸留水2mlを加えて溶解し、実験に用いた。

2. ペーパークロマトグラフィー

上記の試料をペーパークロマトグラフィー用東洋濾紙に30~50回スポットし、以下の展開溶液で展開した。①酢酸：水=15：85 (vol/vol)，②ブタノール：酢酸：水=6：1：2 (v/v/v)，③水飽和フェノール（水：フェノール=3：7を分留ロートに入れ、アンモニアを5滴加えて攪拌し、一晩放置後に分液した）

展開後、UV照射によりスポットを検出した。

3. カラムクロマトグラフィー

トヨパールHW40Cを充填したオープンカラム（10mmφ×300mm）を0.1%の蟻酸を含む30%メタノールで平衡化し、試料1.5mlを吸着させた後、同様液を4.2ml流した。次いで0.1%蟻酸を含む40~100%のメタノール溶液を、メタノール濃度

表1 玉葱色素のペーパークロマトグラフィー

	生	加熱
①AW	0.01 (Y), 0.09 (Y) 0.19 (Y), 0.53 (B) 0.67 (Bl-W), 0.92 (Bl)	0.05 (Y), 0.21 (O) 0.38 (Bl), 0.46 (B) 0.72 (Bl-W)
②BAW	0.13 (Y), 0.20 (B) 0.33 (Blue)	0.11 (B), 0.25 (B) 0.39 (Y), 0.71 (W)
③WP	0.33 (Y), 0.39 (B) 0.55 (P) *	0.62 (W), 0.57 (B) *

数字はRf値を、() は色を示す; Y (黄), B (茶), Bl (青), Bl-W (青-白), W (白)
O (橙), P (桃) * : 蛍光を示さず 展開溶媒: ①AW-酢酸:水=15:85 (v/v)
②BAW-ブタノール:酢酸:水=6:1:2 (v/v/v), ③WP-水飽和フェノール
検出には紫外線ランプを用いた。

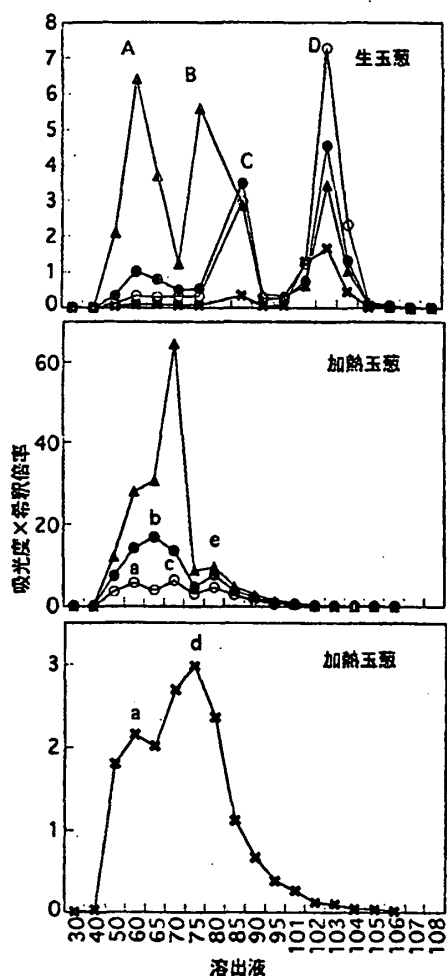


図1 トヨパールTMHW 40カラムクロマトグラフィーを用いた玉葱フラボノイドの分離
検出波長▲280nm ●320nm ○360nm ×400nm

が低濃度のものから順に、4.2mlずつ(100%溶液は20ml以上)流し、吸着した試料を溶出させた。溶出液は4.2mlずつ試験管に採取し、4波長(280, 320, 360, 400nm)の吸光度を測定した。

(結果と考察)

1. ペーパークロマトグラフィー

3種類の展開液によるペーパークロマトグラフィーの結果を表1に示した。玉葱ジュースの色素は、生、加熱とも酢酸-水の展開液で最も分離されやすく、生では6成分、加熱では5成分に分離できた。ただし、展開後に得られたスポットは、幅を持ったものも多く特に加熱試料ではスポットがはっきりしなかった。

2. カラムクロマトグラフィー

結果を図1に示した。4波長で検出を行った結果、生玉葱は4成分に分離することができた。実際はカラム上にピンク色が4成分、黄色が3成分の合計7成分を認めることができた。津志田ら⁹⁾は、同様のカラムを用い、溶出液のメタノール濃度をグラジェント法で上昇させる手法とHPLCを組み合わせて、生玉葱抽出液を9成分に分離し、これらがケルセチン配糖体、ケンフェロール配糖体、イソラムネチン配糖体及びケルセチンであることを同定している。今回のクロマトグラフィーではメタノール濃度を断続的に上昇させており、

また、ポンプを用いずに重力のみで溶出を行ったために溶出条件が安定せず、分離が不十分であったと思われる。クロマト条件の改善により、更に複数の成分に分離できると考える。

加熱玉葱の場合も5成分に分離されたが、ピーク位置は生の場合と異なった。生玉葱中のフラボノイド類およびその配糖体が、加熱により変化したと考える。加熱玉葱では、可視部である波長400nmによる検出で2つのピークを得ることができた。これまでのセファデックスを使用したゲル濾過クロマトグラフィーでは褐変色素を2成分以上に分離することができなかったが、津志田らの用いたクロマト条件により、より明確な色素の分離が可能であることが示唆された。加熱玉葱から分離されるこの色素が、フラボノイドの構造を持つか否かについては検討の必要があるが、色素の分離は、玉葱の褐変反応の機構を知る上で、重要な知見と考える。

玉葱に含有されるフラボノイドおよびその配糖体が、褐変反応においてどのような機能を持つのか、また、加熱玉葱の褐変色素の分離が可能であれば、分離されたそれぞれの色素が、反応の過程においてどのような関連性をもつのか等につい

て、今後検討していきたい。

(文 献)

- 1) 溝井雅子 澤山茂 川端晶子 本間清一：栄食誌 45, 5, 441~447 (1993)
- 2) 溝井雅子 鷓飼光子 本間清一：日食工誌 43, 12, 1293-1298 (1996)
- 3) 玉木雅子 鷓飼光子 本間清一：第43回日本食品科学工学会大会要旨集 (1996)
- 4) Brandwein, B. J.: J. Food Sci., 30, 680 (1965)
- 5) Panisset, B. and Tissut, M.: *Physiol. Veg.*, 21, 49 (1983)
- 6) 津志田籐二郎 鈴木雅博：日食工誌 42, 2, 100 (1995)
- 7) George, C. F., James, E. W. and George, A. M.: *J. Nutr.*, 106, 1447 (1976)
- 8) 中林敏郎ほか：日食工誌 22, 507, 545, 549, (1975); 24, 124, 479, (1977); 27, 108, (1980); 31, 421 (1984); 34, 211 (1987)
- 9) 中林敏郎 「食品の変色とその化学」光琳東京 11 (1967)