オニオンエキスの製造工程における フラボノイドとラジカル消去活性の変動

竹中真紀子^{1*}, 永谷幸善², 小野裕嗣¹,
七山和子¹, 五十部誠一郎¹

¹ 独立行政法人農業・食品技術総合研究機構
食品総合研究所

² 井村屋シーズニング株式会社

Change in Flavonoids and Radical-scavenging Activity
during Processing of Onion Extract

Makiko Takenaka^{1*}, Yuki Yoshi Nagaya², Hiroshi Ono¹,
Kazuko Nanayama¹ and Seiichiro Isobe¹

¹ National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai,
Tsukuba, Ibaraki 305-8642

² Imuraya Seasoning, 88 Okuashidaguchi, Nishinanane,
Toyohashi, Aichi 441-3202

This study focused on the high radical-scavenging activity of onion extract (onion-flavor seasoning made from onion) and aimed to clarify its changing profile. Radical-scavenging activity, amount of major flavonoids, and browning degree during onion extract processing were measured. In heat processing of concentrated onion juice, radical-scavenging activity and browning degree significantly increased, and most flavonoids disappeared. The principal component of the radical-scavenging activity of onion extract was found to be melanoidin. The fractionation of onion extract using solid-phase extraction based on hydrophobic interaction showed that the fraction exhibiting higher hydrophobicity had higher radical-scavenging activity and browning degree.

(Received May 18, 2012; Accepted Jun. 28, 2012)

Keywords : onion extract, onion, flavonoid, radical-scavenging activity

キーワード : オニオンエキス, タマネギ, フラボノイド, ラジカル消去活性

オニオンエキスはタマネギの搾汁液を濃縮、加熱して得られる褐色を呈した液状食品で、主に工業的に生産され、加熱したタマネギの味や香りと同時にカラメル様の色を付与する調味料として様々な加工食品に利用されている。オニオンエキスの製造工程の加熱の程度によってタマネギの加熱風味の強さが異なり、これらのオニオンエキスは用途によって使い分けられている。現在、食品加工業界では、多種の野菜エキス（搾汁液の濃縮物）が加工食品に風味を

付与する調味料として用いられているが、オニオンエキスはそれらの中で最も需要が高く、多くの加工食品の調味のベースとなっている。

タマネギにはケルセチン配糖体を中心としたフラボノイドが豊富に含まれており、タマネギおよびその加工品を摂取することによるこれらの機能性成分の健康増進効果が期待されている¹⁾。タマネギを加熱すると色、味および香り等の特性が変化することはよく知られているが²⁾、著者らは、タマネギの茹で、炒めおよび揚げ加熱等の通常家庭で行うような加熱調理においては、タマネギ中のフラボノイドには顕著な変化は見られないことを確認している³⁾。工業的に生産されるオニオンエキスは、家庭の調理では達成が困難な過度な濃縮と閉鎖系での高温加熱操作を経て製造される。著者らは本研究に関する予備検討において、オニオンエキスの製造過程において原料タマネギが有していたフラボノイドやラジカル消去活性は、磨砕、殺菌のための短時間加熱および濃縮の過程においては大きく変動することはないが、特にロースト風味の強いオニオンエキス（図1の“オニオンエキスB”）の製造工程において、タマネギ搾汁濃縮液を加熱する過程でラジカル消去活性が著しく向上することを見出した。本研究では、その変動特性を明らかにするために、オニオンエキスの加熱工程の段階を追ってフラボノイド、褐変度およびラジカル消去活性の変動を追跡し、それらの関連について考察した。

1. 実験方法

(1) 試料

井村屋シーズニング株式会社関連の工場において製造された3ロット分のオニオンエキス製造工程のタマネギ搾汁濃縮液およびオニオンエキスB、ならびに加熱工程で経時的にサンプリングしたものを試料として用いた。オニオンエキスの製造工程の概要を図1に示した（各工程についての詳細な記述は避けた）。1ロットの製造には原料として約10kgのタマネギ（品種不明）が用いられた。

(2) 実験操作

i) 水分測定

各試料1g前後を精秤して純水約4mLを加えてよく混合したものを凍結乾燥し（乾燥温度20℃、最終圧力1Pa未満）、減少分を水分とみなした。

ii) フラボノイドの定量

各試料を純水で10倍希釈してこれをメタノールで5倍希釈し、元の試料から50倍希釈された80% (v/v) メタノール溶液とした。これらの各試料液をHPLC分析前処理用フィルター（孔径0.45 μm, コスモナイスフィルター, ナカライテスク）を通してHPLC分析に用いた。フラボノイドの定量は既報³⁾と同様に行った。

iii) DPPH ラジカル消去活性の測定

フラボノイドの定量に用いたのと同じ試料液を用いて、既報³⁾と同様に行った。

¹ 〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

² 〒441-3202 愛知県豊橋市西七根町奥足田口 88

* 連絡先 (Corresponding author), tknk1221@affrc.go.jp

図1 オニオンエキスの製造工程(概要)

* 加熱殺菌時間は規定温度到達後1分以内.

** 減圧濃縮および濃度調整は規定のBrix値になるまで.

iv) 褐変度の測定

フラボノイドの定量およびDPPHラジカル消去活性の測定に用いたのと同じ試験液を用いて、適宜希釈して500 nmにおける吸光度(光路長1 cm)を測定した. 得られた吸光度に元の試料からの希釈率を乗じて褐変度とした.

v) 遊離糖含有量の測定

オニオンエキス100 mgを純水で10 mLに定溶しこの水溶液0.1 mLを, メタノールおよび純水でコンディショニングした固相抽出カートリッジ(Oasis HLB 10 mg, Waters)に通して固相を純水3 mLで洗浄した. 固相を通過した液および洗浄液を合わせて純水で10 mLに定溶し, 中性糖全般の分析法であるフェノール硫酸法に供した. タマネギの主要な遊離糖はグルコース, フルクトースおよびスクロースであることから⁴⁾, グルコースを用いて検量線を作成し, 本法で得られた糖量を遊離糖含有量とした.

vi) 遊離アミノ酸含有量の測定

オニオンエキス100 mgを0.1 M HCl水溶液で10 mLに定溶しこの水溶液を試験液として, Pico tag アミノ酸分析法(Waters)で20種類のアミノ酸をそれぞれ定量し, これらを合わせて遊離アミノ酸含有量とした.

vii) タマネギ搾汁濃縮液の小スケールでの加熱試験

オニオンエキス製造における加熱工程(図1の「搾汁濃縮液」から「オニオンエキスB」までの工程)を模して, また実際のオニオンエキスB製造時よりも長く加熱することで褐変度およびラジカル消去活性がどのように変化するかを確認するため, 3ロットのタマネギ搾汁濃縮液(図1の「搾汁濃縮液」)それぞれ1.0 gをねじ蓋付きの耐熱ガラス容器に入れ, 100°Cに設定した恒温チャンバーで1-24時間加熱した. 加熱後, 室温まで放冷し, 純水で50 mLに定容化し, 上記の方法で褐変度およびラジカル消去活性を測定した.

viii) オニオンエキスBの分画

3ロットのオニオンエキスBそれぞれ1.0 gを純水9.0 g

と混合し, メタノールおよび純水でコンディショニングした固相抽出カートリッジ(Oasis HLB 1 g, Waters)に通した. 続いてカラムを純水(10 mL)で洗い, 次に20% (v/v) メタノール, 40% (v/v) メタノール, 60% (v/v) メタノール, 80% (v/v) メタノールを含む各水溶液および100% メタノール(いずれも20 mL)で順に固相吸着物を溶出させた. 遠心エバポレーターを用いて各画分の溶媒を留去した後, 凍結乾燥(乾燥温度20°C, 最終圧力1 Pa未満)にて乾固した. 各画分の乾固物を50% (v/v) メタノール10 mLに溶解し, 上記の方法で褐変度およびラジカル消去活性を測定した.

2. 実験結果および考察

タマネギ搾汁濃縮液の加熱工程におけるフラボノイド含有量の変動を図2に, ラジカル消去活性および褐変度の変動を図3に示した. オニオンエキスの原料であるタマネギの主な抗酸化成分としてはケルセチン配糖体を中心としたフラボノイドが知られているが⁵⁾, タマネギ搾汁濃縮液の加熱工程においてフラボノイド含有量は徐々に減少し, オニオンエキスBにはほとんど含まれていなかった(図2). 本試験のオニオンエキスの製造に用いられたタマネギ原料中のフラボノイド含有量は不明であるが, 別ロットのタマネギおよびオニオンエキス製造工程の各試料を用いた予備検討において, 原料タマネギから磨砕, 圧搾処理を経て「搾汁液」に移行するフラボノイド量は3割程度であり, 加熱殺菌および濃縮過程においてはほとんど変化がないことを確認している. また, この工程は閉鎖系で行われており, 予備検討においても水分の変化はないことを確認している. タマネギ搾汁濃縮液の加熱工程においてラジカル消去活性は徐々に上昇し, 同時に褐変度も上昇した(図3). タマネギ搾汁濃縮液のラジカル消去活性はほとんどケルセチン類に由来し, その後加熱が進むにつれて上昇するラジカル消去活性の活性本体は褐変物質であると考えられる. 溝井らは, タマネギ搾汁液を加熱すると遊離糖と遊離アミノ酸が減少し, 3-デオキシグルコソンのアミノカルボニル反応生成物が増加することから, タマネギの加熱によって生じる褐変物質はメラノイジンであると報告しており⁶⁾, これがオニオンエキスBのラジカル消去活性本体と考えられる. 本研究においても, タマネギ搾汁濃縮液からオニオンエキスBを製造する加熱工程において遊離糖および遊離アミノ酸が減少することが示唆された(図4). 様々な加工食品に含まれることが知られている褐変物質であるメラノイジンやその反応中間体は還元能やキレート作用に由来する抗酸化性を有するが⁷⁾, オニオンエキスの製造工程においても, タマネギに含まれていた糖やアミノ化合物が反応してメラノイジンを形成し, これが高いラジカル消去能を有していると考えられる. 類似の例として, 醤油やポテトチップスに含まれる褐変物質(メラノイジン)は抗酸化性を有していることが報告されている⁴⁾⁸⁾. また, タマネギ

図 2 オニオンエキス B の製造工程におけるフラボノイドの変動

■, Q; ▨, I4'G; □, Q4'G; ◻, Q3,4'G.

Q, ケルセチン; I4'G, イソラムネチン 4'-グルコシド; Q4'G, ケルセチン 4'-グルコシド; Q3,4'G, ケルセチン 3,4'-ジグルコシド. 加熱段階 1-10 の時間間隔は必ずしも等間隔でないが, 各ロットにおけるサンプリングのタイミングは同じ. 3 ロットの平均値. エラーバーは標準偏差を表す.

図 3 オニオンエキス B の製造工程におけるラジカル消去活性および褐変度の変動

●, ラジカル消去活性; ○, 褐変度.

項目 1-10 については図 2 の説明を参照. 3 ロットの平均値. エラーバーは標準偏差を表す.

搾汁濃縮液の加熱工程においては, ラジカル消去活性の上昇に比べ, 褐変度の上昇が大きかった (図 3). この理由として, タマネギ搾汁濃縮液の加熱においてラジカル消去活性を持たない褐変物質がメラノイジンと同時に生成した可能性が考えられる.

タマネギ搾汁濃縮液の小スケールでの加熱試験の結果を図 5 に示した. タマネギ搾汁濃縮液のラジカル消去活性および褐変度は加熱時間 8 時間まで上昇し, 以後減衰した. 10 時間以上加熱したものは一部が不溶化していた. 加熱時間 8-10 時間までは褐変物質の生成が進行し, それ以後はさらに成分間反応が進むとともに褐変物質が不溶化し, ラジカル消去活性および褐変度が減衰したと考えられる. ピークとなった時点のラジカル消去活性はオニオンエキス

B のそれとほぼ同じであったことから, オニオンエキス B は, タマネギ搾汁濃縮液の 100℃での加熱によって上昇し得るラジカル消去活性の範囲においてほぼ最高に達したものであると推察される.

疎水性相互作用を利用した固相抽出によるオニオンエキス B の分画で, 各画分の固形分の収量の合計はもとのオニオンエキス B の固形分の 99% (w/w) であった (図 6A). 各画分の分布を見ると, 最初の画分 (素通り+水洗い) に固形分の 84% (w/w) が溶出し, 残りのほとんどは 20, 40 および 60% (v/v) メタノールに溶出し, 80 および 100% (v/v) メタノールで溶出されたものは 1% (w/w) 程度であった (図 6A). 各画分に溶出された固形分の濃度を一定にして褐変度を比較すると, メタノール濃度 40% (v/v)

以上で溶出された画分の褐変度が高かった(図 6B)。また、各画分のラジカル消去活性はメタノール濃度 60% (v/v) をピークに各画分に分布しており、全画分の活性の合計は分画前の 94% であった(図 6C)。各画分に溶出された固

形分の濃度を一定にしてラジカル消去活性を比較すると、メタノール濃度が高い(溶解物の疎水性が高い)画分ほど活性が高い傾向が見られた(図 6D)。メラノイジンは幅広い分子量、褐変度を有する複合物質であり⁷⁾、岡田ら⁹⁾によってグルコースとグリシンで調製したモデルメラノイジンにおいては加熱時間とともに褐変度と分子量が増加すること、また竹村ら¹⁰⁾によって本みりんは貯蔵期間が長くなるほど着色度および抗酸化性が向上するとともにメラノイジンが高分子化することが報告されているように、オニオンエキスの製造工程においても加熱に伴いメラノイジンが高分子化し、褐変度およびラジカル消去活性が向上したと推察される。オニオンエキスの製造工程においては、タマネギ搾汁液の加熱殺菌工程以降にメラノイジンの生成が進行したと考えられ、特にタマネギの加熱風味が強いオニオンエキス B 製造の最終加熱工程において褐変度およびラジカル消去活性の顕著な向上が認められた。

3. 要 約

タマネギを原料とした風味付け調味料であるオニオンエキスが高いラジカル消去活性を有していることに着目し、その変動特性を明らかにするために、オニオンエキスの製造工程におけるラジカル消去活性の変動、主要なフラボノイドの含有量および褐変度の変動を追跡した。製造工程のうち、タマネギ搾汁濃縮液を加熱する段階でラジカル消去活性および褐変度が上昇し、遊離糖および遊離アミノ酸の一部ならびに多くのフラボノイドは消失した。オニオンエキスのラジカル消去活性本体はメラノイジンであると考えられ、疎水性相互作用による固相抽出を用いたオニオンエキスの分画において、疎水性の高い画分がより高い褐変度およびラジカル消去活性を有する傾向が見られた。

図 4 オニオンエキス B の製造工程における遊離糖および遊離アミノ酸の変動

「加熱段階 6」は図 2 および 3 の横軸の加熱段階「6」と同じサンプルを示す。3 ロットの平均値。エラーバーは標準偏差を表す。

図 5 タマネギ搾汁濃縮液の小スケールでの加熱中のラジカル消去活性および褐変度の変動

●, ラジカル消去活性; ○, 褐変度.

3 ロットの平均値。エラーバーは標準偏差を表す。

図 6 オニオンエキス B の分画後の各画分の収量、褐変度およびラジカル消去活性

A, 収量 (乾物重); B, 一定濃度 (固形分 1mg/mL) における褐変度; C, 各溶出画分のラジカル消去活性 (オニオンエキス 1g 由来); D, 固形分 1mg あたりのラジカル消去活性。3 ロットの平均値。エラーバーは標準偏差を表す。

本研究は科研費 MEXT/JSPS (19700585) の助成を受けたものである。

文 献

- Hollman, P. C. H. and Katan, M. B., Dietary flavonoids : intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, **37**, 937-942 (1999).
- 玉木雅子, 鶴飼光子, 長時間炒めたタマネギの味, 香り, 遊離糖, 色の変化, 日本家政学会誌, **54**, 69-76 (2003).
- Takenaka, M., Nanayama, K., Ohnuki, I., Udagawa, M., Sanada, E. and Isobe, S., Cooking loss of major onion antioxidants and the comparison of onion soups prepared in different ways. *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 405-409 (2004).
- 三好隆行, 石原克之, 中村和哉, 古賀秀徳, ポテトチップス中の抗酸化成分について, 日本調理科学会誌, **39**, 277-282 (2006).
- Tsushida, T. and Suzuki, M., Content of flavonol glucosides and some properties of Enzymes metabolizing the glucosides in onion (Flavonoid in Fruits and Vegetables, Part II). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **43**, 642-649 (1996).
- 溝井雅子, 澤山 茂, 川端昌子, 本間清一, 玉葱の加熱による褐変, 日本栄養・食糧学会誌, **45**, 441-445 (1992).
- 加藤博通, 木村 進, 中林敏郎, 非酵素的褐変現象の化学, 「食品の変色とその化学」, 光琳書院, pp.223-284 (1967).
- 成瀬宇平, 廣田才之, 食品中の褐変物質の脂質に対する抗酸化性, 栄養学雑誌, **53**, 71-81 (1995).
- 岡田憲幸, 太田輝夫, 海老根英雄, メラノイジンの調製および分画過程における高分子化について, 日本農芸化学会誌, **56**, 93-100 (1982).
- 竹村朋実, 渡辺清香, 田中万祐子, 進藤 齊, 小泉武夫, 高橋康次郎, 本みりんの貯蔵と抗酸化性について, 日本醸造協会誌, **106**, 547-555 (2011).

(平成 24 年 5 月 18 日受付, 平成 24 年 6 月 28 日受理)