

タマネギの鱗茎の表皮から抽出した ケルセチンの分離と精製

長 沢 千 達 (理科教育)
伊 藤 比呂美 (芳賀小学校)
萩 原 孝 (野沢小学校)

草木染に使われる植物色素の教材化の基礎資料として、タマネギから主成分色素のケルセチンを、簡単に分離・精製する方法について検討した。

- ① カラムクロマトグラフィーによる分離と精製：これは、ジャガイモでんぷんあるいはろ紙粉末とエタノールを用いたものである。
- ② 簡易電気泳動法による分離と精製：これは、長沢らの方法¹⁾で、ジャガイモでんぷんあるいはろ紙粉末と、乾電池015と製図用鉛筆芯(4B)を利用したものである。

得られた黄色色素は、市販試薬のケルセチンと同じものである。これらの方法は、小・中学生にも簡単にできるもので、クラブ活動にも活用できる。

〔キーワード〕 色素分離法, 植物色素, ケルセチン, たまねぎ, 化学教材

I はじめに

これまで当教室では、児童・生徒が興味・関心を示すものとして、文房具や植物の色素の教材化を検討してきた。それは、これらの色素の分離・精製とその性質の検討を行う過程を通して、いわゆる科学の方法を習得する素材となることを期待したものである。

今回は、家庭で見かけるタマネギの外皮を素材として取り上げ、それに含まれる色素の分離・精製と教材化を試みた。

II タマネギの成分色素ケルセチン (Quercetin)

タマネギ (*Allium cepa*) は明治時代にペルシャ (現在のイラン) から食用野菜として日本に入ってきたものである¹⁾。

日本で、タマネギ表面の乾いた膜質 (外皮) を染色に用いたのは、昭和初期のことといわれている²⁾。今日では、黄色を染める有用な染料植物の一つで、その色素は黄色のケルセチンである。

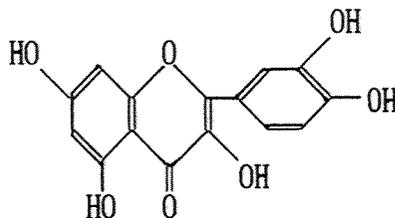
1 ケルセチンの性質

ケルセチン ($C_{15}H_{10}O_7$) はフェノール化合物

で、その構造からフラボノイド類に属する。フラボノイドの名はラテン語の黄色を意味する flavus からきており、この類の多くは黄色の色素で広く植物に分布している。

フェノール性化合物は、金属イオンによって、 Fe^{3+} : 暗緑色, Al^{3+} : 赤茶色, Cu^{2+} : 金茶色, Su^{2+} : 柑子色のような呈色反応をするので、黄色以外の染色にも利用される³⁾。

溶媒に対する溶解性は、水にはほとんど不溶だが熱水には微溶である。エーテルには難溶であるがアルコールには可溶で、70~80%エタノールで抽出できる^{4,5)}。酸性・中性の水溶液には難溶で、アルカリ性水溶液には溶けて黄色を示す。



ケルセチンの構造

2 色素試料液

タマネギを草木染めに使うときは、外皮を熱煎

する。即ち、水で20分間沸騰させて色素を抽出している^{3,6)}。

ケルセチンの教材化を試みた研究報告²⁾にも同様の方法が記されているが、加熱やろ過する必要があつて手間がかかる。

エタノール抽出は簡単でよいが、タマネギ外皮が全部浸るようなエタノール量では、濃い色素液が得られない。そこで、可溶性の溶媒である80%エタノールで抽出する方法を工夫した。

最初、500mlビーカーに試料外皮を大量に入れ、次はこのビーカーに重ねられるビーカー(300ml)を選び、水を入れて重しとして外皮を押しつぶすように重ね合わせる。

この二つのビーカーの隙間から、外皮が浸るだけの少量の80%エタノールを注いで、一昼夜放置する。これをろ過すると、濃いエタノール抽出液(試料色素)が得られる。

薄い試料液は黄色だが、常温で保存すると3~4日で赤褐色に変色する。抽出後すぐに湯煎濃縮(40℃)や減圧濃縮しても、徐々に赤褐色に変色する。これは褐変といわれる現象と思われる。これには酵素的なものと同非酵素的なものがあり、酵素的なものは抽出液中の他の成分が酵素によってキノン類に変化し、重合して褐色化するためといわれる⁷⁾。

Ⅲ ケルセチンの分離

タマネギの黄色色素ケルセチンを分離するために、カラムクロマトグラフィーと電気泳動法の二つの方法について試みた。いずれの方法でも黄色色素が得られる。

1 カラムクロマトグラフィーによる分離

カラムクロマトグラフィーは湿式法⁸⁾で、長沢の方法⁹⁾を参考にした。吸着剤としてジャガイモでんぷんを用いたが、比較のために、ろ紙粉末(A:100~200メッシュ、B:200~300メッシュ、C:300メッシュ以上の3種類、市販価格は各100g、¥1,400)についても試みた。展開溶媒は、初めに水を、次に80%エタノールを用いた。

分離のようすは、ジャガイモでんぷんカラムと水の組み合わせでは、最初に溶媒を水にして展開すると吸着剤に黄色色素が吸着され、茶色色素が溶出してくる。そのまま水で茶色色素を全部流出

させた後、溶媒を80%エタノールに切り替えて展開すると、カラム上部に吸着されていた黄色色素が溶出してくる。吸着剤がろ紙粉末A、B、Cのどれでも同じ展開をした。

溶媒では、エタノールの他に薄いアルカリ液なら0.1モルアンモニア水などでも分離する。しかし刺激臭や安全性、日常入手できることや価格などから、教材としてはジャガイモでんぷんと80%エタノールがよい。

2 簡易電気泳動法による分離

この装置や電源には著者らの簡易電気泳動法¹⁰⁾を用い、固定相などの条件は次の通りである。

- ① 固定相：ジャガイモでんぷん
or ろ紙粉末B(200~300メッシュ、東洋ろ紙)
- ② 溶媒：水
- ③ 電極：製図用鉛筆芯
(MITSUBISI Uni 4B 2×130mm)
- ④ 電源：乾電池015(写真フラッシュ用、22.5V)
×2~3 or 直流高圧電源(ATTO MINI-POWER)

固定相にジャガイモでんぷんを使うとき、電圧は60V程度が適当である。高電圧(90V以上)にして長時間(2時間以上)通電すると、電極付近のでんぷんが発熱でゲル状に変質(糊化)し、電流が通りにくくなる。ろ紙粉末ではこうした変化はみられず、長時間の展開が可能である。

泳動状態は、固定相がジャガイモでんぷんでもろ紙粉末でも、80%エタノールで抽出した試料色素液は同じような展開をする。移動は初めに茶色色素、次に黄色色素が+極側に移動するが、茶色は黄色よりもかなり速い。

通電後約90分で、二つの色素の重なりがなくなつて分離する。分離したときの黄色色素の移動距離はほんのわずかなので、原線に試料色素液を繰り返し滴下付着する多重展開法で、黄色色素を多く分離することができる。

この方法は、電圧や所要時間にもよるが、ろ紙粉末を固定相に用いるとよい。ジャガイモでんぷんでは長時間の泳動展開は無理である。

分離を確認した後、葉さじなどでその部分を削り取る。これに少量の80%エタノールを加えて吸着された色素を溶出させ、ろ過してでんぷんを除

くと黄色の色素が得られる。必要なら、同じようにして茶色色素も得られる。

IV 分離ケルセチンの検討

カラムクロマトグラフィーで分離溶出した色素と、電気泳動法で分離した色素を調べるために、市販の試薬ケルセチン（東京化成）を標準として比較検討した。

(1) 結晶形

得られた二つの色素液及び市販ケルセチンのエタノール液を、ホールスライドガラスに取って乾燥させ、顕微鏡で観察するといづれも同じ針状結晶が観察された。

(2) 融点測定及び混融試験

ケルセチンの融点は $316\sim 317^{\circ}\text{C}$ ¹¹⁾とされているが、MerckのIndexによれば、 $95\sim 97^{\circ}\text{C}$ で無水物となり、無水物は 314°C で分解するとある。

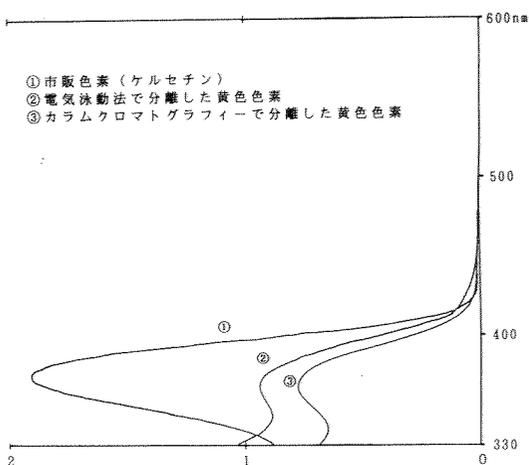
著者らの用いた教材用の融点測定温度計では、無水物になる温度も明確に確認できず、また温度定点の補正もしないので、およそ 310°C あたりで変色分解したと見なした。

このように融点か分解温度かの確認はできなかったが、三つの色素を組合わせた混融試験では、特に温度の降下は認められなかったことから、これらの色素は同じものと判断した。

(3) 可視吸収スペクトル

島津分光光度計（UV-240）を使って、三つのケルセチンの可視吸収スペクトルを測定した（図1）。

図1 ケルセチンの可視吸収スペクトル曲線



文献¹²⁾によれば、エタノール溶液の最大吸収波長は 375nm である。得られたケルセチンのスペクトルでは、 375nm ではないが標準とした市販ケルセチンと同じく 370nm であった。波形が 300 から 330nm で少し大きいのは、抽出後少し時間経過したために、褐変あるいは空気酸化によるものと思われるが、基本的には同じ形を示したといえる。

これら(1)~(3)の検討によって、得られた黄色色素はケルセチンであると判断した。なお、熱湯で抽出した色素試験液（外皮の煮汁）についても比較検討した。この色素液は

- ① 外皮 10g を 500ml ビーカーにとり、蒸留水 400ml ほど加えて約 30 分間煮立てる
- ② ただちに、ストッキングを $3\sim 4$ 枚重ねてろ過し、ろ液を取る
- ③ ろ液を、湯せん（ 90°C 前後）で約 20ml になるまで濃縮する

という手順で得たものであるが、結晶形も可視吸収スペクトルの最大吸収波長や波形も同じ形を示した。これらのことから、試料色素の抽出法による成分色素の違いはないことがわかる。

V 教材化の方向

これまで述べた方法で、ケルセチンを単一物質として分取することができる。また、実験操作は難しいものではなく、小・中学校のクラブ活動はもとより、家庭でもできるものである。特別な試薬も使わず、器具も自作できて方法も簡単であるから、実験教材として利用できると考える。

注意することは、色素液のエタノール抽出時はそれほどではないが、カラムクロマト法の分離では、カラム管が太いほど、また長いほど使用するエタノールの量が多くなりがちである。これは火や湯を使わなくても、自然放置で蒸発濃縮するが、それでも火気や引火には注意したい。

発展的には、ケルセチンの結晶形の観察やフェノール性物質の呈色反応なども試みることができる。色素量によっては、ハンカチ程度の染色もできるであろう。

VI おわりに

身近な野菜のタマネギは染色にも用いられるが、これだけでも子どもは興味を示すであろう。まし

て、タマネギを素材として、小・中学生でも黄色色素を分離することができ、得られた色素ケルセチンは純粋なものであるとは、驚くのではなからうか。

この研究は、伊藤がカラムクロマトグラフィーを中心に調べ、カラム剤や展開溶媒について多くの基礎試料を得た。萩原は色素抽出や泳動法の工夫の他、融点やスペクトル測定など、研究を発展させた。長沢は研究全体の企画討論と実験指導及び本論文の執筆を担当したものである。

〔参考引用文献〕

- 1) 牧野富太郎；「牧野 日本植物図鑑」, p.748, 北隆館, (1954)
- 2) 増井, 川辺；化学教育, Vol.34, No.2, p.64, (1986), 日本化学会
- 3) 山崎青樹；「草木染 染料植物図鑑」, p.150, 美術出版社, (1985)
- 4) 林 孝三編；「増訂 植物色素」, p.174, 養賢堂, (1991)
- 5) 日本化学会編；「化学便覧」基礎編Ⅱ（改訂2版）, p.184, 826, 丸善, (1975)
- 6) 大場キミ；「草木染野帳」, p.48, 求龍堂, (昭60)
- 7) 岩本, 光永；「生活科学からみた有機化学とその周辺」, p.60, 弘学出版, (1987)
- 8) 化学実験操作法便覧編集委員会；「化学実験操作法便覧」, p.352, 誠文堂新光社, (1964)
- 9) 長沢千達；日本理科教育学会研究紀要, Vol. 20, No.1, p.35, (1979), 日本理科教育学会
- 10) 長沢千達, 河野公寿, 萩原 孝；福島大学教育実践研究紀要, 第22号, p.35, (1992), 福島大学教育実践研究指導センター
- 11) 井上敏, 他；「理化学辞典 第3版」, p.408, 岩波書店, (1967)
- 12) 「The Merck Index, (Substance No.8044)」, 11th ed., p.1278, (1989)