

合成多孔性樹脂の園芸生産物への利用 : I. ポリフェノール成分の吸着と回収

著者	松尾 友明, 高津 友子, 伊藤 三郎
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	33
ページ	21-28
別言語のタイトル	Application of High Porous Polymer to Horticultural Products : I. Adsorption and Elution of Polyphenolic Compounds
URL	http://hdl.handle.net/10232/1889

合成多孔性樹脂の園芸生産物への利用

I. ポリフェノール成分の吸着と回収

松尾友明・高津友子・伊藤三郎

(青果保蔵学研究室)

昭和57年8月10日 受理

Application of High Porous Polymer to Horticultural Products

I. Adsorption and Elution of Polyphenolic Compounds

Tomoaki MATSUO, Tomoko TAKATSU and Saburo ITOO

(Laboratory of Postharvest Physiology and
Preservation of Fruits and Vegetables)

緒 言

園芸生産物に含まれるポリフェノールは低分子のものから一般にタンニンと呼ばれている高分子のものまで多種類にわたっている^{8,24)}。そして、それらの中で食品や飲料品の苦味、渋味、濁り、あるいは褐変を含む変色の原因となっているものが少なくない¹⁷⁾。一方、ルチンやマルチフロリンのようなある種のフラボノイドが明瞭な薬理作用を示す²⁰⁾ ことから、ポリフェノール含量の高いカキ、茶、グァバの葉が何がしかの薬効を持つ健康食品として知られているので、それらのフラボノイド系有効成分の単離も興味ある問題である。

以上のような背景から、種々のポリフェノールを水溶液から吸着・除去したり、特定のポリフェノール化合物を精製する技術の開発は産業的に大きな意義を持つものと考えられる。とくに、フェノール性水酸基を数多く有する高分子ポリフェノールは、従来使用されている極性の強い吸着剤（シリカゲル、ポリアマイド、ポリビニルピロリドンなど）に極めて強くか、あるいは不可逆的に吸着し、その溶出が困難となり、精製や再生ができない場合も生じた。

本研究では、表面極性の小さい合成多孔性吸着剤（スチレン-ジビニルベンゼン共重合体）を用いて園芸生産物に含まれるポリフェノールの吸着・除去、溶出・回収に関する応用的実験を試みた。

材料および方法

合成多孔性吸着剤としては三菱化成工業製のダイヤ

イオン HP 樹脂を使用した (HP-20, 約100メッシュ)。この樹脂はスチレン-ジビニルベンゼン (Fig. 1) から成り、非常に大きな表面積と多孔度を有している (HP-20; 比表面積 720 m²/g 樹脂, 細孔容積 1.1 ml/g 樹脂, 最頻度半径 100~1,300 Å)。そして、その表面の性質が非極性であるため、水溶液中で一般に有機化合物分子内の疎水基、あるいは疎水部分と疎水結合により吸着すると考えられている。

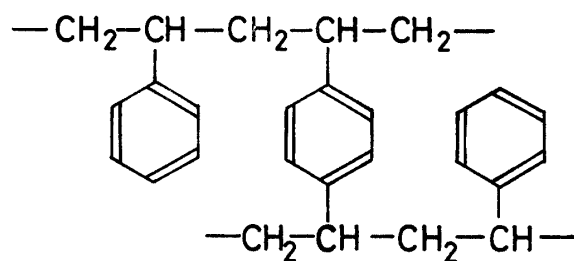


Fig. 1. Chemical structure of high porous polymer.

市販の樹脂は使用前にアセトンとエタノールで洗浄した。ろ過により有機溶媒を十分除去した後、50%エタノール中に分散させてカラムに充填した。適当な長さに充填後、脱気した蒸留水をカラム容量の10倍量流して50%エタノールと置換した。吸着・溶出実験はすべてカラム法を用いた。カラムに充填した樹脂量は試料乾物重の約50から100倍量 (w/w) としたが、既知試料の場合には約200から500倍量の樹脂を用いた。

食品産業での応用を考慮して、試料溶液は人為的な pH の調節は行わず、また、ほとんどの場合、吸着物質の溶出はエタノールを使用した濃度段階法により行っ

た。カラム内での気泡の発生を防ぐため、各溶出溶媒はあらかじめ減圧脱気したものを使用した。

HP 樹脂に対する各種有機化合物の吸着性を調べた。

炭水化物としてはショ糖（和光純薬）とペクチン（和光純薬）を用い、回収率はフェノール-硫酸法²⁾により定量して求めた。アミノ酸としてはグリシン（和光純薬）とリジン（和光純薬）を用い、定量はニンヒドリン法¹⁹⁾により行った。塩基としてはアデニンとキサンチン（興仁化学）を用い、262 nm の吸光度を測定して回収率を求めた。ビタミン C (L-アスコルビン酸、和光純薬) は2,4-ジニトロフェニルヒドラジン比色法¹⁰⁾で定量した。有機酸としてリンゴ酸（和光純薬）とピルビン酸（和光純薬）を用い、定量には0.01 N 水酸化ナトリウムによる滴定法を行った。ポリフェノールは没食子酸(シグマ)、(+)-カテキン(シグマ)、タンニン酸(片山化学)、ナリンギン(Fluka AG)を標準物質として使用した。回収率は Folin-Ciocalteu 法⁴⁾により定量して計算した。

ブドウジュースは市販のブドウ果汁（アヲハタ製、100%濃縮還元果汁、昭和55年3月22日製造）を用いた。使用前に16,000×gで10分間遠心分離して濁りを除いた。リンゴジュースとしては、市販のびん入り

100%リンゴジュース（青森県農村工業農業協同組合連合会製、昭和55年1月26日製造）を使用した。

ビワの幼果は鹿児島県垂水果樹試験場産の品種「茂木」を用いた（平均果実重約1.8g、昭和54年3月19日採取、冷凍保蔵した）。

結 果

園芸生産物に含まれている代表的な有機成分の HP 樹脂に対する吸着性を調べた結果を Table 1 に示した。この表から明らかなように、極性の強い基である、水酸基、アミノ基、カルボキシル基などを多く持つ有機成分は全くこの樹脂に結合しなかった（糖、アミノ酸、有機酸、L-アスコルビン酸、塩基など）。しかしながら、(+)-カテキン、タンニン酸、ナリンギンは効率良く吸着された。そして、(+)-カテキンは10%と20%エタノールにより、タンニン酸は40%と50%エタノールにより、また、ナリンギンは30%と40%エタノールにより95%から100%の回収率で溶出された。カンキツの苦味成分の1つであるナリンギンはフラボノイド配糖体で数多くの水酸基を有しているにもかかわらず HP 樹脂に100%吸着するのは注目値する。同じポリフェノールでも1つのベンゼン環にフェノー

Table 1. Adsorption of several organic constituents to HP column and elution with an ethanol-water system as eluate

Organic Constituents		Recovery (% of original amount)								Total
		Concent. of ethanol in each eluate (%)								
		2	5	10	20	30	40	50	80	
Carbohydrate	pectin	90.6	8.9	—	—	—	—	—	—	99.5
	sucrose	95.2	0	—	—	—	—	—	—	95.2
Amino acid	glycine	99.6	0	—	—	—	—	—	—	99.6
	lysine	99.0	0.2	0.2	—	—	—	—	—	99.4
Bases	adenine	100.6	3.5	1.4	1.0	0	0	—	—	106.5
	xanthine	103.2	8.6	6.5	0	0	0	—	—	118.3
Vitamin	L-ascorbic acid	96.7	1.1	0	—	—	—	—	—	97.8
Polyphenols	gallic acid	92.0	0.6	0.4	1.7	—	—	—	—	94.7
	(+)-catechin	0.6	2.6	68.6	23.0	4.6	0	0.6	1.0	101.0
	tannic acid	8.7	2.1	0.9	2.2	8.2	44.9	31.7	0.7	99.4
	naringin	0	0	0	1.0	50.8	51.8	1.5	1.0	106.1
Organic acids	malic acid	93.3	1.4	1.0	1.0	0.7	0.7	0.7	0.7	99.5
	pyruvic acid	93.1	1.5	1.1	1.1	0.7	0.7	0.7	0.7	99.6

Each constituent (about 4 mg) in 5 ml of dist. water or 2% ethanol was applied to HP column (ϕ 0.8 cm \times 12 cm, 9 cm³), then eluted stepwise with an ethanol-water system (from 2% to 80%, v/v, the effluent volume was 90 cm³) at 30 ml/hr of flow rate. Sugars, amino acids, bases, L-ascorbic acid, polyphenols and organic acids were determined by phenol-sulphuric acid method, ninhydrin method, measuring optical density at 262 nm, hydrazine method, Folin-Ciocalteu method and titration with 0.01 N sodium hydroxide, respectively.

ル性水酸基3個とカルボキシル基1個を有する没食子酸はほとんどの樹脂に吸着されなかった。

Fig. 2 は既知の没食子酸, (+)-カテキンとタンニン酸の等量混合液を HP カラムにより分画したものである。エタノールを溶出液とすると, この樹脂に吸着した没食子酸は5%で, (+)-カテキンは20%で, タンニン酸は40%で溶出され, おおの的分画できることが明らかとなった。一方, イソプロピルアルコールを溶出液とすると, 3者ともにより低濃度で溶出することがわかった。そして, 没食子酸と(+)-カテキンは分離せず同一の分画に溶出された。他の溶出溶媒を検討したところ, メタノールはエタノールと, アセトンはいソプロピルアルコールと似た溶出パターンを示した。

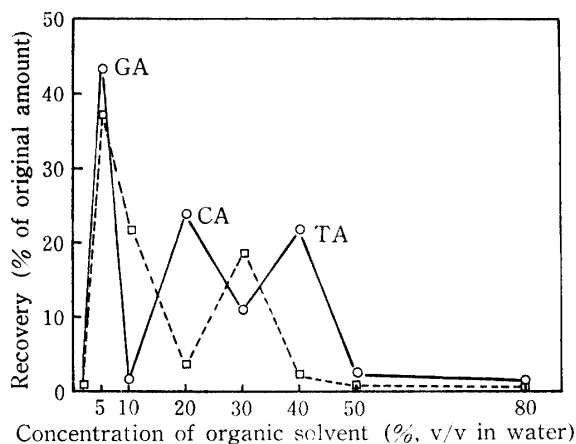


Fig. 2. Adsorption of some standard polyphenols to HP column and elution with aqueous organic solvents.

Gallic acid, (+)-catechin and tannic acid were used as the standard polyphenols and their eluting patterns were examined. Four mg of each polyphenol in 5 ml of dist. water were applied to the HP column (column size; ϕ 0.8 cm \times 12 cm, gel volume; 9 cm³). The condition of column chromatography was as in the followings; gel, Diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Ind., about 100 mesh), each effluent volume, 90 cm³, flow rate, 30 ml/hr. The elution was performed stepwise by using ethanol-water or isopropanol-water system. The recovery of polyphenols was calculated by the determination of polyphenols in each effluent by Folin-Ciocalteu assay. \circ — \circ ; using ethanol-water system, \square --- \square ; isopropanol-water system (from 5% to 80%, v/v). GA: gallic acid, CA: (+)-catechin, TA: tannic acid.

緑茶と紅茶の葉の熱水抽出物に含まれるポリフェノール様成分を HP カラムにより分画したクロマトグラムを Fig. 3 に示した。両者のカラム通過液は原液の渋味を全く感じず, Folin-Ciocalteu 法による定量の結果とともに両抽出液に含まれるポリフェノール様成分の大部分のものが HP 樹脂に吸着することがわかった。また, 主要成分の溶出エタノール濃度が異なっており, その成分に若干違いがあることが示唆された (20%と30%)。

市販のブドウジュースを HP カラムに通して各種成分の吸着性を調べた結果が Fig. 4 である。この図から明らかなように, アントシアニンとポリフェノール様成分の大部分のものが HP 樹脂に吸着した。逆に, 遊離の糖は全く吸着されなかった。アントシアニンは20%から40%エタノールにより溶出され, この色素を容易に回収できることがわかった。

Fig. 5 は Fig. 4 のカラム通過液 (B) と元のブドウジュースの5倍希釈液 (A) の可視光吸収を調べたものである。Fig. 4 の結果と一致して, カラム通過液

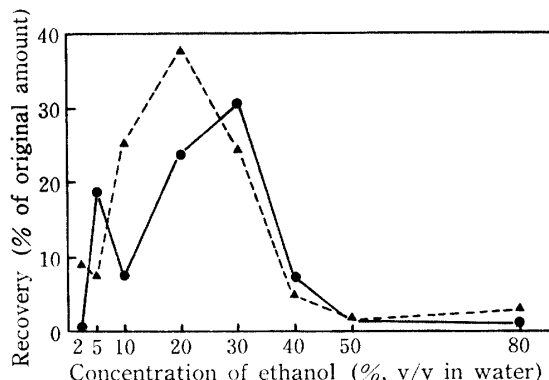


Fig. 3. Adsorption of polyphenol-like substances in green tea and black tea extract to HP column and elution with aqueous ethanol system.

Both extracts were prepared in the following manner; commercial black tea and green tea (5 g) in 80 ml of dist. water were boiled for 10 min, then the turbid extract was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min and the supernatant was diluted to 10 fold volumes with dist. water. Five ml of both extracts were applied to HP column (ϕ 0.8 cm \times 12 cm, 9 cm³). Polyphenol-like substances were determined by Folin-Ciocalteu method. Other conditions for column chromatography were the same as shown in Fig. 2.

\bullet — \bullet ; polyphenol-like substances in black tea extract,
 \blacktriangle --- \blacktriangle ; in green tea extract.

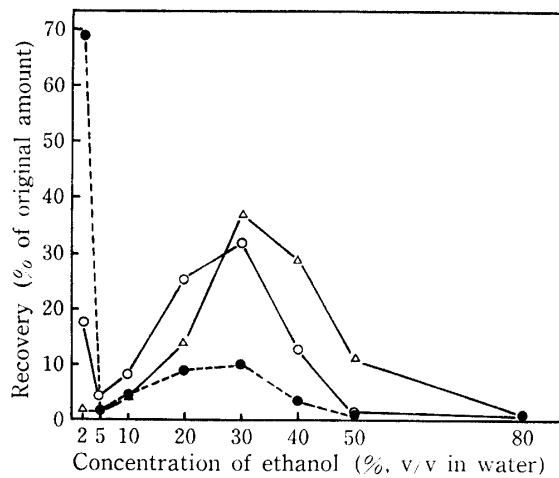


Fig. 4. HP column chromatography of some organic constituents in a commercial grape juice.

A commercial grape juice (Aohata Co.) was centrifuged at 16,000 g for 10 min to remove turbidity. The supernatant (100 ml) was applied to HP column (ϕ 1.6 cm, 40 cm³). Each effluent volume was 200 ml and the flow rate was 40 ml/hr. The elution was carried out stepwise with an ethanol-water system (to 5% from 80%, v/v). Concentrations of polyphenols, total sugars and anthocyanins in each effluent were determined by Folin-Ciocalteu method, phenol-sulphuric acid method and measuring the optical density at 520 nm, respectively. ●---●; total sugars, ○—○; polyphenols, △—△; anthocyanin.

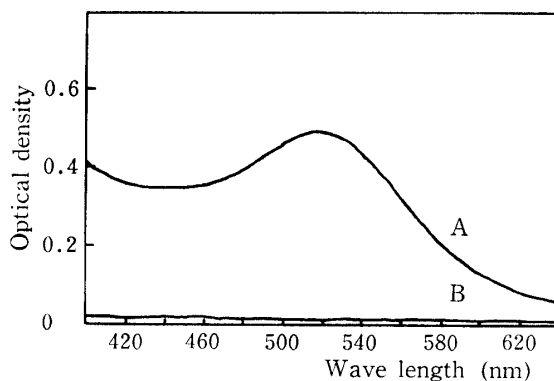


Fig. 5. Comparison of visible spectra of a commercial grape juice and the water-effluent from HP column.

Both solutions were diluted to 5 fold volumes before measurement of O. D. . A; original grape juice, b; the water effluent from HP column

(B) では約 520 nm の吸収極大が消失しほとんど無色になっていることが明らかである。

市販のリンゴジュースを HP カラムで処理したところ Fig. 6 の結果が得られた。L-アスコルビン酸と大部分の糖は全く吸着されず、カラムを素通りした。ブドウジュースの場合と異なりポリフェノールの約 3 分の 1 量は吸着せず素通りした。加えて、この通過液にはリンゴ特有の香りが全くなく、その香気成分が HP 樹脂に吸着されたことは興味深い。さらに、その香気成分は 20%, 30% エタノールにより大部分回収できることも明らかとなった。

近年、縮合型タンニンがプロアントシアニジンであることが認められつつあるが^{5,8,16)}、その分布の広さと食品科学上の問題に関連していることからその研究方法の早急な開発が待ち望まれている。

ビワの幼果に含まれているプロアントシアニジンの精製にこの HP 樹脂を使用した (Fig. 7)。ブタノール可溶区に含まれるプロアントシアニジンのすべてのものがこのカラムに吸着し、水洗後、15% から 50% エタノール液によりほぼ 100% 溶出できた。各溶出分画に含まれるプロアントシアニジン TLC で比較したのが Fig. 8 に示したクロマトグラムである。塩酸-パニ

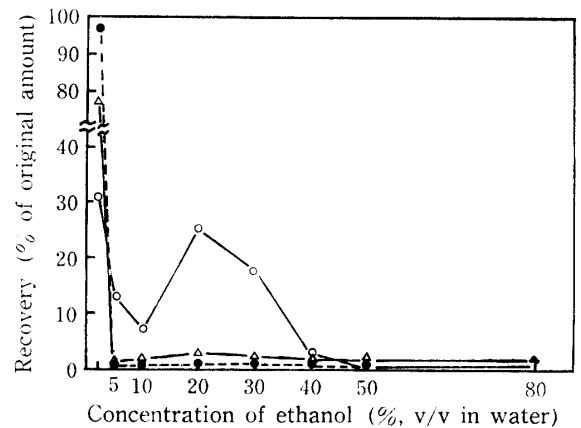


Fig. 6. HP column chromatography of some organic constituents in a commercial apple juice.

A commercial apple juice (Aomori Pref. Coop.) was centrifuged at 16,000 g for 10 min to remove turbidity. The supernatant (5 ml) was applied to HP column (ϕ 1.2 cm, 9 cm³). Each effluent volume was 90 ml and the flow rate was 30 ml/hr. Concentrations of sugars, polyphenols and L-ascorbic acid were determined by phenol-sulphuric acid method, Folin-Ciocalteu method and hydrazine method, respectively. △—△; sugars, ●---●; L-ascorbic acid, ○—○; polyphenols.

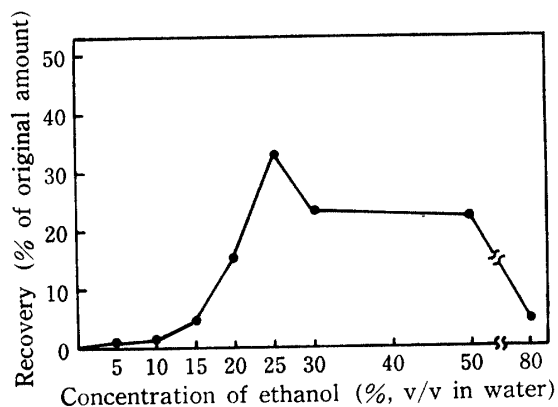


Fig. 7. Fractionation of proanthocyanidins extracted from young loquat fruit by HP column chromatography.

Crude proanthocyanidins were extracted with n-butanol from about 1 kg of young loquat fruit (cv. 'Mogi', average fruit weight; 1.8 g, harvested on March 19th) after removing lipids and pigments with petroleum ether. The butanol in the combined extract was removed by evaporation at 37°C and then the gum-like substance was dissolved into 400 ml of dist. water. The aqueous solution was applied to HP column (ϕ 4.5 cm, 500 cm³). The effluent volume was 1.5 l and the flow rate was 200 ml/hr. Proanthocyanidins were determined by HCl-BuOH test (measuring O.D. at 550 nm).

リン試薬に陽性のスポットが20%と25%エタノール溶出液では、主要なものが2個、それ以外に3個が検出された。30%、50%エタノール溶出分画では順にスポットの数が減少し、逆に、原点に残る物質の発色が強くなり、この展開溶媒では移動しない、より分子量の大きい成分が多く溶出されたことが明らかとなった。

考 察

ポリフェノールの精製や除去には、従来比較的極性の強いシリカゲル^{7,15)}、ポリアミド^{7,9,12,14,15)}、ポリビニルピロリドン (PVP)^{1,6,18)}などが良く使われてきたが、他の極性化合物との分離が不十分なことや、特に分子量の大きいポリフェノールに対しては極端な回収率の低下や、逆に吸着能の減少などが生じる場合もあり適当なものではなかった。

一方、近年、各種の有機化合物の精製・分析に非極性の充填剤 (ODS やシラン処理したシリカゲルなど)の使用が有効であることが報告されており^{3,6,21,23,25)}、それらの使用を検討した報文が増加している。その利点は、回収率の高いこと、吸着能が高いこと、UV 吸

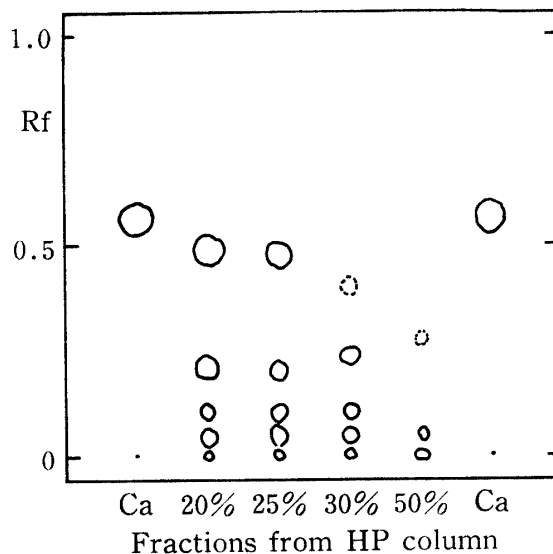


Fig. 8. Silica gel-TLC of loquat-polyphenols in fractions eluted from HP column.

Each fraction was obtained from HP column chromatography of crude proanthocyanidins in loquat young fruit, as shown in Fig. 7. The gel and thickness of TLC plates were 60 GF₂₄₅ (Merck Co.) and 0.2 mm. The solvent system; CHCl₃-EtOAc-AcOH = 2 : 4 : 1, v/v. The detection of polyphenols on TLC plates; spraying with HCl-vanilline reagent. Ca; (+)-catechin, 20%; polyphenols eluted with 20% ethanol from HP column, 25% to 50%; polyphenols eluted with 25% to 50% ethanol.

収がなく安価な水-メタノールの溶出系が使えることなどがあげられる。

本研究の結果から、スチレン-ジニルベンゼンを骨格とした合成多孔性樹脂は水溶液から効果的に大部分のポリフェノールを除去できることが明らかとなった (Fig. 3, Fig. 4, Fig. 6)。これらのことは、食品科学上大きな問題となっている苦味や渋味・褐変を含む変色・沈殿や濁りを引き起こすポリフェノールを液状食品より簡単に除去できる方法の1つを見出したことを示すものである。

前田ら (1979) は夏柑果汁中のナリンギンの除去に HP 樹脂を適用して、PVP や Nylon-66 より好成果であることを発表し、その利点として吸着能・再生効果の高いことに加えてナリンギン以外の果汁成分に影響の少ない点をあげている¹³⁾。

本実験でも果汁の有用成分であるビタミン C, 糖, 有機酸などが大部分吸着されずカラムを素通りすることが明らかとなった。このことはこの HP 樹脂を用

いたカラムの有用性を示すものであろう。しかし、このカラムを通過させたリンゴジュースはその特有の香りを全く消失していた。果汁製品の品質改善に HP 樹脂を利用する際に、今後、検討すべき問題であろう。逆に、この事実は果汁中の香気成分の精製と濃縮に HP 樹脂を利用できる可能性を示唆し注目すべき知見でもある。HP 樹脂を使ってパイナップル果汁から香料を分取する方法はすでに特許となっている²²⁾。

ポリフェノール化合物の中には生理活性や食用色素としての利用の可能性を持つものが少なくなく、それらの有用成分の精製や分離にこの HP 樹脂を用いたクロマトグラフィーが有効であることも本実験から示唆された。Table 1 から明らかなように、この方法により遊離の糖・アミノ酸・有機酸・塩基などからポリフェノールを迅速に分離でき、さらに、それらの中で大まかなグループに分取できることもわかった。著者らはすでにスモモ(カラリ種)からアントシアニン色素を簡便に分取して、その食用色素としての可能性を検討した¹¹⁾。また、カキ渋のタンニン成分の精製も現在検討中である。

要 約

表面極性の小さい合成多孔性吸着剤(ダイヤイオン HP-20, 三菱化成工業製)を用いて園芸生産物に含まれるポリフェノールの吸着・溶出に関する応用的実験を試みた。吸着性はカラム法により調べ、吸着物はエタノール-水系の濃度段階法により溶出した。

1. モデル実験の結果、極性の大きい物質(糖・アミノ酸・有機酸・塩基・L-アスコルビン酸)は全くこの樹脂に吸着されなかった。

2. 既知のポリフェノールについて、(+)-カテキン・タンニン酸・ナリンギンは吸着されたが、没食子酸は吸着されなかった。吸着したポリフェノールは10%から50%のエタノールにより95%から100%回収された。

3. 緑茶と紅茶の葉の熱水抽出物に含まれるポリフェノール様成分は大部分がこのカラムに吸着され、除去できた。

4. 市販のブドウジュースをこのカラムに通したところ、アントシアニン色素と大部分のポリフェノールは除去された。遊離の糖は全く吸着されなかった。吸着された色素は20%から40%のエタノールにより大部分が回収された。

5. このカラムにより市販のリンゴジュースを処理すると、L-アスコルビン酸は素通りしたが大半のポリ

フェノールは吸着された。リンゴ特有の香気成分もこの樹脂に吸着され、20%と30%のエタノールにより回収された。

6. ビワ幼果に含まれるプロアントシアニジンのほとんどのものがこの樹脂に吸着された。そして、20%から50%エタノールにより溶出されたが、アルコール濃度の増加とともに、溶出されてくるプロアントシアニジンの重合度も大きくなっていることが TLC 分析で明らかとなった。

これらの結果から HP 樹脂が水溶液中から効果的にポリフェノールを除去できることが明らかとなり、また、ポリフェノール系の有用成分の精製・分離に HP 樹脂を用いたクロマトグラフィーが有効であることがわかった。

謝辞 本研究において使用した HP 樹脂は三菱化成工業株式会社総合研究所より御提供いただいた。また、研究費の一部を同社の奨学寄附金によったことを記し謝意を表します。

文 献

- 1) Andersen, R. A. and Sowers, J. A.: Optimum conditions for bonding of plant phenols to insoluble polyvinylpyrrolidone. *Phytochemistry*, **7**, 293-301 (1968)
- 2) Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, K., Reber, P. and Smith, E.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956)
- 3) Fisher, J. F. and Wheaton, T. A.: A high-pressure liquid chromatographic method for the resolution and quantitation of naringin and naringenin rutinoside in grapefruit juice. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 898-899 (1976)
- 4) Folin, O. and Ciocalteu, V.: On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. Biol. Chem.*, **73**, 627-650 (1938)
- 5) Foo, L. Y. and Porter, L. J.: The structure of tannins of some edible fruits. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 711-716 (1981)
- 6) Gray, J. C.: Absorption of polyphenols by polyvinylpyrrolidone and polystyrene resins. *Phytochemistry*, **17**, 495-497 (1978)
- 7) Harborne, J. B.: Chromatography of phenolic compounds. in Heftmann, E. (ed.), *Chromatography*, p. 759-780, Van Nostrand Reinhold Co., New York (1975)
- 8) Haslam, E.: Vegetable tannins. in Swain, T., Harborne, J. B. and Van Sumere, C. G. (eds.), *Biochemistry of plant phenolics*, p. 475-523, Plenum Press, N. Y. and London (1979)
- 9) Hörhammer, L.: Polyamide chromatography of flavonoids and anthraquinones. in Pridham, J. B. (ed.), *Methods in polyphenol chemistry*, p. 89-95, Pergamon Press, Oxford (1964)
- 10) 伊藤三郎・沢井喜代美: ヒドラジン法によるビタミン

- C定量の時間短縮法について. 興津園試年報(果・加), **5**, 60-62 (1969)
- 11) 伊藤三郎・松尾友明・野口法子・児玉勝子: 亜熱帯果実の品質に関する研究 III. スモモ, 花螺李(カラリ)のアントシアニン色素. 鹿大農学術報告, No. **32**, 35-42 (1982)
- 12) Kreuzaler, F. and Hahlbrock, K.: Flavonoid glycosides from illuminated cell suspension cultures of *Petroselinum hortense*. *Phytochemistry*, **12**, 1149-1152 (1973)
- 13) 前田久夫, 高橋保男, 伊福 靖: Polyvinylpyrrolidone, Nylon-66 および High porous polymer による夏柑果汁中のナリンギンの吸着について. 日食工誌, **26**, 1-5 (1979)
- 14) Markham, K. R. and Mabry, T. J.: The identification of twenty-three 5-deoxy and ten 5-hydroxy flavonoids from *Baptisia leontii*. *Phytochemistry*, **7**, 791-801 (1968)
- 15) Markham, K. R.: Isolation techniques for flavonoids. in Harborne, J. B., Mabry, T. J. and Mabry, H. (eds.), *The flavonoids*, p. 1-44, Chapman and Hall, London (1975)
- 16) Matsuo, T. and Itoo, S.: Comparative studies of condensed tannins from several young fruits. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **50**, 262-269 (1981)
- 17) 中林敏郎: タンニン. 中林敏郎・木村 進・加藤博通共著, 食品の変色とその化学, p. 64-115, 光琳書院, 東京 (1966)
- 18) 中林敏郎: 果実および野菜類のタンニン成分(第10報)不溶性ポリビニールピロリドン(ポリクラールAT)によるポリフェノールの吸着. 日食工誌, **19**, 84-90 (1972)
- 19) Rosen, H.: A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.*, **67**, 10-15 (1957)
- 20) 齊藤 保: 漢薬におけるフラボノイドの研究. 柴田承二編, 生物活性天然物質, p. 425-431, 医歯薬出版, 東京 (1978)
- 21) 斎藤俊英・東国 茂・村上幸夫・萩原一芳: 高分子吸着剤による合成有機物質の吸着. 水処理技術, **19**, 825-832 (1978)
- 22) 曾田産業: 特許公開, 昭和 48-34234
- 23) 東洋精糖: 特許公開, 昭和 51-23300
- 24) Van Buren, J.: Fruit phenolics. in Hulme, A. C. (ed.), *The biochemistry of fruits and their product*. vol. II, pp. 269-304, Academic Press Inc., N. Y. and London (1971)
- 25) Wilkinson, M., Sweeney, J. G. and Iacobucci, G. A.: High-pressure liquid chromatography of anthocyanidins. *J. Chromatogr.*, **132**, 349-351 (1977)

Summary

Adsorption of polyphenols in horticultural products by polystyrene-divinylbenzene resin (Diaion HP-20, Mitsubishi Chem. Ind.) was examined. All the adsorption tests of various organic constituents were examined on the column packed with HP-20 resin, and a stepwise elution from the column was carried out by an ethanol-water system.

1. In the model experiment in which known organic compounds were used, such highly polar compounds as carbohydrates, amino acids, organic acids, bases and L-ascorbic acid were not adsorbed at all to this column in an aqueous solution.

2. Among the known polyphenols used, (+)-catechin, tannic acid and naringin in an aqueous solution were well adsorbed to this column, while gallic acid, a polar polyphenol, were not. The adsorbed polyphenols were eluted from this column by 10% to 50% of ethanol-water, with the recovery percentage of 95% to 100%.

3. Polyphenol-like substances in the hot water-extracts of green tea and black tea were removed almost completely by the HP-20 packed column.

4. When a grape juice was passed through the column, the initial fresh color was lost completely with the removal of most of the polyphenols. The adsorbed pigments were recovered in the effluent of 20% to 40% ethanol-water.

5. No unique aroma of an apple juice was detected in the effluent from HP resin column, although all of the L-ascorbic acids were detected. Since most of the apple aroma was eluted by 20% and 30% ethanol-water. The column was considered to be effective for the concentration and isolation of some fruit aroma.

6. All the proanthocyanidins from young loquat fruit were adsorbed to this column, and TLC analysis revealed that proanthocyanidins with higher polymerization degrees were to be eluted as the ethanol concentration in the effluents increased.

These findings clearly demonstrate that the HP column is highly effective for removing polyphenols in an aqueous solution. A remarkable result may be expected if HP column chromatography is used for the purpose of separating useful and valuable polyphenols from the horticultural products.