

温州みかん果汁中のヘスペリジンの挙動に関する研究—I

温州みかん果実及び果汁の収穫時期によるヘスペリジン含量の変化

森 大蔵・岩本 喜伴

Studies on the Behavior of Hesperidin Content in Mandarin Orange Juice—I

Changes in Hesperidin Content in Mandarin Orange Juice and Fruits in Accordance with the Harvesting Time

Daizo Mori and Yoshitomo Iwamoto

Hesperidin in the mandarin orange was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with a UV detector (285nm). μ Bondapak C-18 was packed in a stainless steel column (3.9 \times 300mm). The mobil phase was water-acetonitrile (80 : 20 v/v).

The following results were obtained.

In general, no significant difference was found of the hesperidin content in mandarin orange juice among the harvesting times, but the hesperidin content in Nakate mandarin orange juice was smaller than that in Wase and Futsuu mandarin orange juices.

The hesperidin content of each tissue in Wase mandarin orange was 6.9 to 15.0 mg% in juice in juice sacs, 121.9 to 533.7 mg% in epidermal cells of juice sacs, 334.4 to 752.6 mg% in segment walls and 1446.0 to 4705.2 mg% in albedo, respectively.

The hesperidin content of each tissue decreased during the period of the harvest.

従来、ヘスペリジンはみかん缶詰の白濁原因物質として広く知られ¹⁻²⁾、その防止法として、メチルセルロース³⁻⁵⁾、ヘスペリジン分解酵素⁶⁻⁷⁾、 β -サイクロデキストリン⁸⁾の添加等が用いられ効果をあげている。

一方、近年の果汁工業の発展はめざましく、みかん果汁の生産も飛躍的に増加している。その果汁を缶或いはビン詰めにした場合、時によっては白色結晶物が生じて沈殿することがあり、それがヘスペリジンに由来することが知られている⁹⁻¹⁰⁾。

しかし、果汁中のヘスペリジン含量についてはあまり報告されていない。そこで本報では、温州みかんの品種、収穫時期及び果実の部位別にヘスペリジン含量を測定したので報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

原料は和歌山県産温州みかんで、品種は早生種：宮川早生温州（樹令約20年）、中生種：向山温州（樹令約25年）、普通種：林温州（樹令約50年）を用い、10月1日、13日、26日、11月9日、30日、12月7日、16日に各品種とも同一樹より5個宛採取し、3個はリーマーで搾汁し、一般成分及

び果汁中のヘスペリジン含量を測定した。

早生種では残りの2個を剥皮して果汁，さのう膜，じょうのう膜及びアルベドに分け，各部位のヘスペリジン含量を測定した。

2. 分析方法

2-1) 一般成分

一般成分はJ A S分析法に準じて測定した。

2-2) 果汁中のヘスペリジン含量

果汁中のヘスペリジンの定量は，リーマーで搾汁した果汁を80 mesh のフルイでろ過して直ちに0.45 μ のフィルターでろ過し，James F. Fisherの方法¹⁾に従って高速液体クロマトグラフ法（H P L C法）で測定した。

2-3) 果実の各部位のヘスペリジン含量

果汁はさのうより注射器で果汁を抜きだし，0.45 μ のフィルターでろ過，砂のう膜，じょうのう膜，アルベドは20倍量のN/10 NaOHを入れホモジナイズ，一夜放置してヘスペリジンを抽出，1 NのH₂SO₄でpH9.0にし，0.45 μ のフィルターでろ過してH P L C法で各部位のヘスペリジン含量を測定した。

結果と考察

1. ヘスペリジン測定法の検討

1-1) H P L C法によるヘスペリジンの定量法

表1にH P L C法の測定条件を示した。表1の条件で，ヘスペリジンとその分解生成物であるヘ

Table 1 High performance liquid chromatographic method for the determination of hesperidin.

Apparatus	: Shimazu high performance liquid chromatograph Model LC-3A.
Detector	: Shimazu UV spectrophotometer Model SPD-2A. Wave-length 285nm.
Column	: Waters Associates 300 x 3.9mm i-d. reverse phase μ Bondapak C-18 column. (octadecyltrichlorosilane chemically bonded to 10 μ m porasil packing)
Column temperature	: Room temperature.
Mobil phase	: Water - acetonitrile.(80 : 20, v/v) Flow rate 1.5ml/min.
Integrator	: Shimazu chromatopac Model C-RIA

スペリジン-7-グルコサイドの混合物を測定したところ図1のように両者は完全に分離された。

オレンジジュースを0.45 μ のフィルターでろ過し，直接注入したクロマトグラムを図2に示す。保持時間10分程のところにヘスペリジンのピークが現れる。また，保持時間8分程のところにもピークが現れるが，これは，ナリンゲニルチノサイドであることが同定されている¹²⁾。

1-2) 回収率

温州みかん果汁にヘスペリジンを5，10，20mg%になるように添加し，本分析法に従って，その回収率を求めたところ表2の如く97~98%であった。

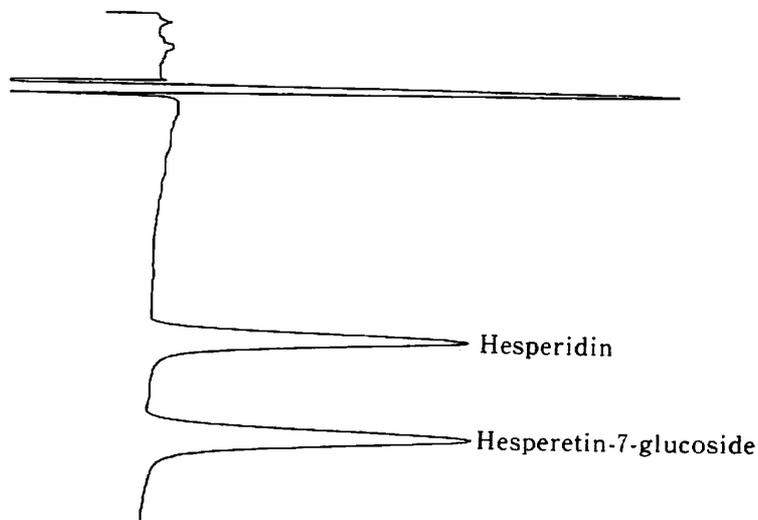


Fig.1 HPLC separation of hesperidin and hesperetin-7-glucoside

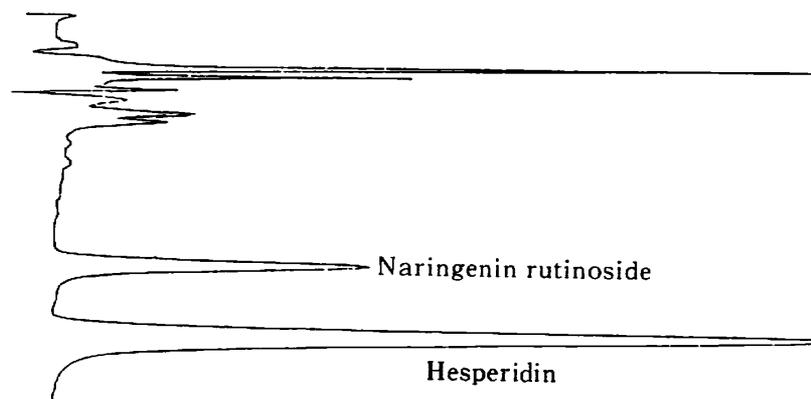


Fig.2 HPLC chromatogram of hesperidin in mandarin orange juice.

Table 2 Recovery of hesperidin added to mandarin orange juice.

Initial content of hesperidin in sample	Hesperidin added	Total hesperidin	Hesperidin recovered	Recovery
6.8 mg%	5 mg%	11.8 mg%	11.7 mg%	98.0 %
6.8	10	16.8	16.5	97.0
6.8	20	26.8	26.3	97.5

1-3) HPLC法とインドフェノール反応法との比較

従来、ヘスペリジンの定量法としてインドフェノール反応法¹³⁻¹⁴⁾が広く用いられているので同一サンプルで両者の比較を行った。その結果、表3の如くいずれの試料でもインドフェノール反応法で測定した値が2~2.5倍多く検出された。

この原因として、インドフェノール反応法では、フラバノン及びにその配糖体（ヘスペリジン、ヘスペレチン、ネオヘスペリジン、ナリンゲニン、ナリンギン、ポンシリン等）に陽性である¹⁴⁾のでHPLC法より高い値が出るものと考えられる。

Table 3 Determination of hesperidin in mandarin orange juice by different methods.

Sample	HPLC method	Indophenol reaction method
10% juice*	3.2 mg%	7.5 mg%
50% 〃**	8.2	19.9
50% 〃**	19.8	36.5
50% 〃**	9.9	25.0

* canned orange drink with 10% juice.

** canned orange drink with 50% juice.

2. 温州みかん果汁中の収穫時期によるヘスペリジン及び一般成分の変化

品種別の収穫時期によるリーマーで搾汁した果汁中のヘスペリジンと一般成分の変化を図3に示した。

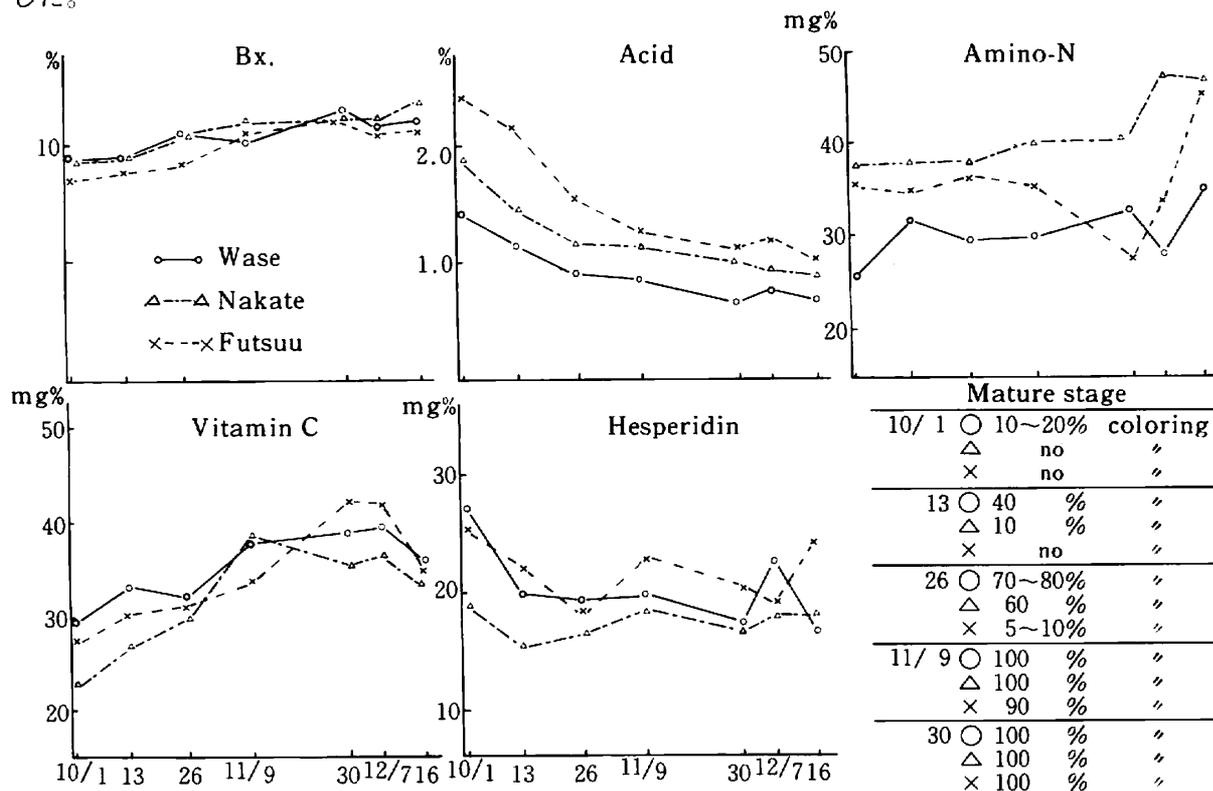


Fig.3 Changes in content of hesperidin, sugar(Bx), acid, amino-N and vitamin C in mandarin orange juice in accordance with harvesting time.

ヘスペリジン含量は収穫時期による変化はあまり認められなかった。品種間の差は、早生種が16.7~27.0mg%, 中生種が15.3~19.0mg%, 普通種が18.0~25.3mg%と中生種がやや低い値を示した。しかし、早生種と普通種の間には大差は認められず、従来、早生種にヘスペリジン含量が多いといわれていたがその傾向は認められなかった。

一般成分は、糖度及びビタミンCは収穫時期が遅くなるに従って増加し、酸度は減少した。アミノ態窒素は、12月に収穫したものがやや高い値を示した。

品種間による差では、糖度は収穫時期が早い時、普通種がやや少なかったが熟度が進むに従って差はなくなった。酸度は全期間通じて、普通種、中生種、早生種の順に多く、アミノ態窒素は、中

生種, 普通種, 早生種の順に多かった。

3. 温州みかん果実 (早生種) の部位別ヘスペリジン含量の収穫時期による変化

図4にみかん果実の各部位の名称を示した¹⁵⁾

このうち, 果汁, さのう膜, じょうのう膜, 及びアルベドについて早生種を用いて収穫時期別にヘスペリジン含量を測定した。

図5に収穫時期による各部位のヘスペリジン含量を示した。

果汁, さのう膜, じょうのう膜及びアルベドとも増減はあるが収穫時期が遅くなるほどヘスペリジン含量は減少の傾向を示した。

部位別のヘスペリジン含量は果汁中に 6.9~15.0mg%, さのう膜中に121.9~533.7mg%, じょうのう膜中に334.4~752.6mg%, アルベド中に1446.0~4705.2mg%であり, 果汁中の

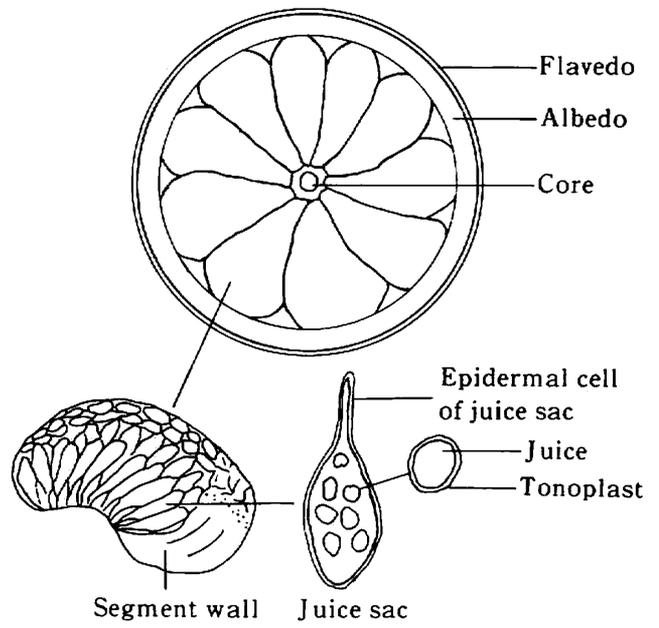


Fig.4 Terms of tissues in citrus fruit

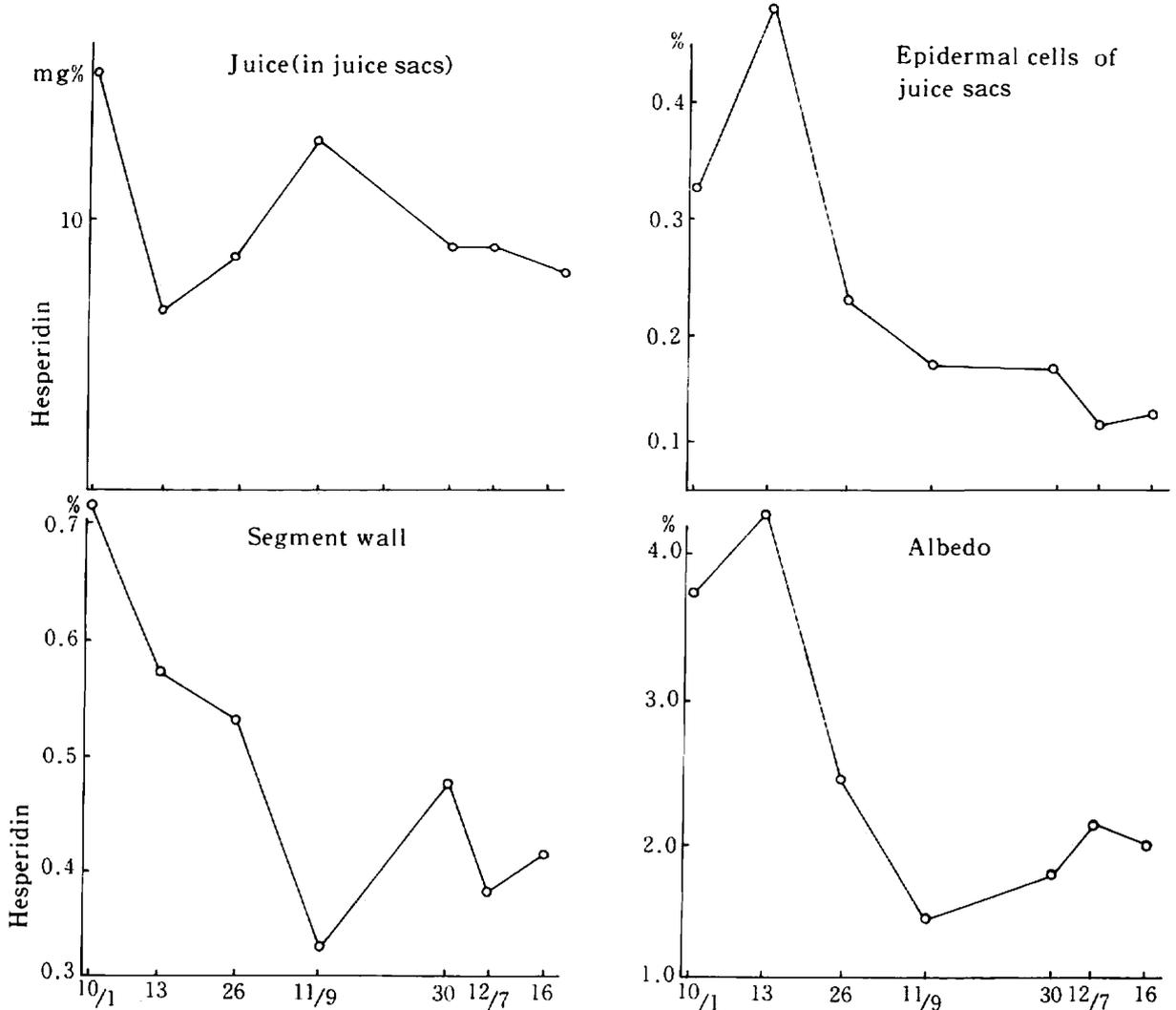


Fig.5 Changes in hesperidin in each tissue of Wase mandarin oranges in accordance with harvesting time.

ヘスペリジン含量に比べ、さのう膜で18~35倍、じょうのう膜で50倍、アルベドで200~300倍も多く含まれていることが認められた。

要 約

(1)HPLC法で温州みかん果汁中のヘスペリジンの定量法を検討した結果、十分応用出来ることを認めた。

(2)果汁中のヘスペリジン含量は収穫時期による差はあまり認められなかった。品種間による差は中生種でやや少ない傾向を示したが早生種と普通種では大差は認められなかった。

(3)みかん果実の部位別ヘスペリジン含量は、果汁中に6.9~15mg%と少なく、さのう膜中に121.9~533.7mg%, じょうのう膜中に334.4~752.6mg%, アルベド中に1446.0~4705.2mg%と多く含まれていることが明らかとなった。また、収穫時期が遅くなるに従って、各部位とも減少の傾向を示した。

終りに本実験を行なうに当たり、原料みかんを提供していただいた和歌山県経済連海南食品工場の野上款次氏、ヘスペリジン定量法について御指導頂いた田辺製薬㈱の福島正範氏に深謝致します。

文 献

- 1) 岩崎康男, 杉本達也: 糧食研究, 108, 293 (1935).
- 2) 志賀岩雄: 缶詰時報, 13 (12), 83 (1934).
- 3) 中林敏郎, 鷹野正, 本山敬三: 農技研誌, 7, 213 (1960).
- 4) 砂川満男, 井山満雄, 今井寛: 缶詰時報, 39 (10), 95 (1960).
- 5) 砂川満男, 井山満雄, 今井寛: 缶詰時報, 38 (12), 110 (1959).
- 6) 沢山善二郎, 下田吉夫, 奥正和, 松本熊市: 本誌, 7, 126 (1966).
- 7) 下田吉夫, 奥正和, 森大蔵, 沢山善二郎: 本誌, 8, 130 (1968).
- 8) 三崎勝, 紺野昭, 宮脇勝, 安松克治: 日食工誌, 29, 228 (1982).
- 9) Shimon Mizrahi and Zeki Berk: J. Sci. Fd. Agric., 21, 250 (1970).
- 10) Robert A. Baker and Joseph H. Bruemmer: Proc. Fla. State Hort. Soc., 85, 225 (1972).
- 11) James F. Fisher: J. Agric. Fd. Chem., 26 (6), 1459 (1978).
- 12) 福島正範: 未発表.
- 13) 村井好之助: 薬学雑誌, 78, 745 (1958).
- 14) 中林敏郎, 神谷真太郎: 農技研誌, 6, 149 (1959).
- 15) 高桑正義: 果汁協会報, No. 282, 11 (1981).