第7図 澱粉歩留との関係

甘藷の硬度とミキサーによる

で、小型磨砕機の場合も、一定の分析法の規格を定める迄には時日を要するであろう。然し乍らこの研究は実際工場の歩留り向上に資することも大なる筈で意義が深い。

3. 藷の硬度と澱粉歩留り

硬度を測定して歩留りを知るという着想は、関東東山農試小野田正利氏も持っておられたようであるが、筆者の場合前掲第6、7図の回歸直線及び相関々係を、品種

毎に調べてみると可なり密接な関係がある。但しこの種の関係には、当然大なる誤差が予想され、早堀藷、貯蔵藷を普通堀と混ぜて取り扱うのはよくないし、又品種によつて軟い割に澱粉の多いものもあり、その逆の場合もある。このように品種によつて、関係が異なるのも気になる点である。唯測定が如何にも簡単なので期待を寄せている。現在の処1品種宛4点の測定値しかないのでは、つきりしないが、将来誤差の範囲を見定めたいと思つてゐる。

要 約

(1) 澱粉乳の澱粉含量を知るために、目盛附遠心沈澱管を考案試作し、目盛に表われる澱粉(容量)と乾燥重量との関係を調べた処、よく一致する結果を得た。

(2) これを甘藷の澱粉含有量測定に応用する場合には、甘藷を細碎し澱粉乳をつくる迄の段階に、適確な機械装置及び操作法を考案しなければならぬ。

(3) ワーリングブレンダーについては、機械的誤差の起る原因が割合よく研究されているが、誤差を防ぐ救済手段の目当らぬものもあり、化学分析値と一定の換算関係がなく、藷の硬軟により、小型磨砕機とも離れた値を与える。甘藷澱粉の機械的定量は、今後小型磨砕機によるべきであろう。

(4) 甘藷の硬度と澱粉歩留りとの間には、比較的密接な関係があり、非常に簡易な甘藷の澱粉含有量推定法として期待を寄せている。

文 献

- 1) 前沢, 大久保: 本誌, 3, (3), 107 (1956).
- 2) 前沢, 大久保: *idid*, 1, (1), 16 (1953).

蜜柑罐詰白濁物質中のヘスペリジン定量上の

1, 2 の知見について

中 間 和 光*・小 池 章*・石 田 隆*

(KAZUMITSU NAKAMA) (AKIRA KOIKE) (TAKASHI ISHIDA)

われわれは静岡缶詰協会と連絡し蜜柑缶詰の白濁除去法を研究中であるが、その過程において白濁物質の解明、およびヘスペリジン定量法についても検討せねばならない段階に至り、1, 2の知見を得るに至つたので報告する。

* 静岡県柑橘試験場

1957年3月22日受理

白濁物質については浜口¹⁾ 高崎²⁾、志賀³⁾、岩崎、杉本⁴⁾等の研究があるが、必ずしも確定的なものではなく、志賀、岩崎、杉本はその生成に与える物質はヘスペリジンであるとされた。ところが、今迄の試験では、濁度とヘスペリジンの定量値は個々の場合をとつてみれば、必ずしも平行関係をとつてきていない。この原因としては白濁物質構成粒子の組成、大いさ等が影響

すると先ず常識的に考えられる。この粒子の組成とは主成分のヘスペリジンと、その他の無定形物質との比率をさすもので、この極端な場合には白濁物質中のヘスペリジンは量的に副であり、その濁度とヘスペリジン含量比率が個体により異つて、比例しない場合が考えられる。又白濁物質量が一定の場合には粒子の大きさが小さい程濁度は増し、ここに平行関係が生じない場合も考えられる。いずれにせよ白濁組成、成因上の問題については確かな定量法により測定された値を基礎にして白濁物質成因、性状を考え、また製造上の問題を解く必要がある。

ヘスペリジンの定量法としては、DAVIS 法⁹⁾、藤巻法¹⁰⁾等があるが、DAVIS 法は比色範囲が 0~150 mg/10 ml の範囲にあり、かなりの高濃度のヘスペリジンが存在しないと測定困難である。藤巻法は低濃度で測定可能であり、色調も長く安定であるので、白濁物質中のヘスペリジンの定量法としては、この方法を従来用いてきた。われわれはこの藤巻法と次に述べるポーラログラフによるヘスペリジンの定量を試みた。

実験の部

1. ポーラログラフによるヘスペリジンの定量

ヘスペリジンのポーラログラフについては、野村¹⁰⁾の報告がある。われわれはこれを追試した結果、若干の改良を加え、その分析には次の条件が必要であることを知った。

- A. 1. 試料溶液 $10^{-3}M$ ヘスペリジン溶液(5% アルコール性 0.004 N NaOH 溶液) 程度のもの
2. McILVIN 緩衝液 (pH=8.0) 2 ml
3. 2.5 N KCl 0.5 ml

以上を加えて全量を 5 ml とする。本液はアルカリ性であるので、ヘスペリジンの分解を起し易く、次の温度時間は厳守する必要がある。

B 溶存酸素の除去	10 分
C 測定温度	25°C
D Initial Voltage	-1.4V
Span Voltage	1.0V
Sensitivity	3 μ A

この場合、半波電位は -1.68 V で濃度、波高の関係は第 1 表、第 1, 2 図の通りである。

第 1 表 ヘスペリジンの濃度と波高

濃 度 (mol)	波 高 (m.m.)
2×10^{-4}	31.4
$4 \times "$	62.4
$6 \times "$	88.6
$8 \times "$	110.2
$10 \times "$	140.5

第 2 図 ヘスペリジンの波高と濃度との関係

これにより、われわれは純粋ヘスペリジンを用いたポーラログラフ法により定量し得る事を知った。この結果をもつて白濁中のヘスペリジンの定量を、1952, 1953 年度の白濁試験用に製造した小型 1 号缶を用い行つてみた。即ち藤巻氏法に準じて缶詰液汁 50 ml を濾紙上に集め、水、98% アルコール、エーテルで洗滌したものを 50% 熱アルコールに溶解し、50 ml とし、この液 25 ml を

第 1 図 ヘスペリジンのポーラログラフ

とり、ポーラログラフを試みたが、ヘスペリジンの半波電位附近には何等波形の変化を認めなかった。それで更に pH を種々変えてみたが、結果は依然同じであつた。そこで濾紙上に集めた沈澱に次の処理を加えてみた。

(i) 熱水抽出処理: 洗滌, 脱色した白濁物質を, 熱水で三角フラスコに流し込み, 30 ml とし, 沸騰した湯煎中で1時間抽出し直ちに濾過, 熱水で洗滌, 濾液と沈澱部に分けた。濾液は濃縮して 50% アルコール性 0.004 N NaOH 溶液 50 ml とした。濾紙上の沈澱も同様に 50% 熱アルコールで洗い込み, 0.004 N NaOH 溶液となる様 N/10 NaOH を加え 50 ml とした。この濾液部溶液中にはヘスペリジンがかなり純粋化されて溶存している筈である。

(ii) アルカリ処理: 脱色後の白濁物質を N/10 NaOH 20 ml を加えて良く溶解し, 蒸留水で洗滌後, 濾液を N/10 HCl で中和再沈澱する。アルカリ不溶解部と共に, 各 50 ml の 50% 熱アルコール性 0.004 N NaOH 溶液とした。

ヘスペリジンが溶存していると思われる, 熱水処理区濾液部, アルカリ処理区濾液部についてポーラログラフを行つてみたが, 波形の変化はいずれも認められなかった。

2. ヘスペリジン, 白濁物質の吸収曲線

以上の結果, 白濁物質中にヘスペリジンが含まれてい

第3図 白濁物質に各種処理を加えアルカリで発色させたものの透過率

る事に疑問が生じたので, 各処理別の濾液部, 沈澱部 (アルカリ無添加) より 10 ml ずつを取り蒸発乾涸して発色させてみた。その透過率曲線を第3図に示す。これによるとポーラログラフにヘスペリジンの波形が現われなくても, ヘスペリジンと甚だ相似た透過曲線を示す物質が存在する場合のある事になる。

次に市販のペクチン 15 mg に対して 25 ml の N/10 NaOH を入れ (ヘスペリジンの比色の場合よりアルカリ量が多く条件は苛酷である。) 発色させてみたが全然呈色しなかった。従つて白濁中に存在を予想されるペクチンは本呈色反応には何等関係が無い事が判つた。

3. ヘスペリジン, 白濁物質及びヘスペレチン, 白濁加水分解物のペーパークロマトグラフ

次に白濁及び白濁加水分解物のペーパークロマトグラフによる探索を行つてみた。ヘスペリジンのペーパークロマトグラフについては, 今迄 GAGE¹¹⁾, 大島, 中林¹²⁾ 野村¹³⁾の研究がある。われわれはこれらの方法を追試し, ヘスペリジンのクロマトグラフは, 濾紙がその成否を決定する因子である事に気付き, 種々試験の結果東洋濾紙 No. 3 が良

結果を得る事を知つた。尚展開剤にはブタノール: 醋酸: 水 = 4: 1: 1

のものを用い, 発色剤には塩化第2鉄溶液を使用した。この方法に従つて白濁物質およびヘスペリジン

(m. p. 251°C) をピリジンに溶解し, 展開したところ, 第4図に示す様にヘスペリジンの R_f と略同じ位置に白濁のスポットが見られた。

次いで, 純粋ヘスペリジンを服部¹⁴⁾の方法に従い, 10倍量の5% HCl を含むアルコールで15時間沸騰加水分解し,

第4図 白濁物質のペーパークロマト

第5図 白濁物質加水分解物のペーパークロマト

フラボン族色素は、紫外部に特有の吸収曲線を有するので、ヘスペレチンおよび白濁加水分解物の各 6 mg を 10 ml のアルコールに溶かし、吸収曲線を求めた (第6図)。

これによるとヘスペレチンと白濁加水分解物はその化学構造が相似たものであると予想出来る。

5. 白濁物質のポーラログラフ

以上 1, 2, 3, 4 の実験によりヘスペリジンおよび類似物質群が白濁物質中に含まれていると思われるに至った。従つて白濁中のヘスペリジンの波形がポーラログ

水を加えて得た結晶を、アルコール、醋酸、アセトンより順次再結晶をくり返し、ヘスペレチンを得た。白濁物質を同様な方法で加水分解し、水を加えて得た結晶を、アルコールで再結晶し結晶を得た。ヘスペレチン及び白濁加水分解物の各結晶をピリジンに溶解し、ブタノール：醋酸：水 = 4 : 1 : 1 で展開し、塩化第2鉄で発色させると大体同じ位置にスポットが見られる (第5図)。

4. ヘスペレチン、白濁加水分解物の紫外部吸収曲線

第6図 ヘスペレチン加水分解物の紫外部透過率

ラフに現われなかつたのは何等かの支障があつた為と思われるので、1955 年度製白濁試験用缶詰を用い、更にポーラログラフを行つてみたところ、今度は良好な波を得た。この様にポーラログラフによる白濁物質中のヘスペリジンの定量に際し、波が現われたり、現われなかつたりするのは何等かの因子が働くのではないかと予想し、白濁物質中にヘスペリジンを添加しその回収状況を比色法と並んで定量してみた。即ち藤巻法によつて、液汁 50 ml より白濁物質中のヘスペリジンを濾紙上を集め、それを 50% 熱アルコールに溶かし、その溶液にヘスペリジンを添加し、その回収状況を調べた。その結果は第2表の通りである。

比色法とポーラログラフ法の両者の間には測定値のかかりの差が認められるが、一般的にみてポーラログラフ法の値がやや高い値を示す。

尚表中添加量 0' は白濁物質中のヘスペリジンを濾紙上

第2表 白濁液汁中のヘスペリジンの回収率

ヘスペリジンの添加量 (50 ml 液汁中に添加した ヘスペリジン mg 数)	ポーラログラフ法			比 色 法		
	理論値	実験値	回収率	理論値	実験値	回収率
mg	mg	mg	%	mg	mg	%
0	3.30	3.30	100.0	2.95	2.95	100.0
1.0	4.30	4.44	103.3	3.95	3.36	85.1
2.5	5.80	6.66	114.8	4.45	4.55	102.2
5.0	8.80	9.03	102.6	—	—	—
0'	—	5.92	—	—	4.39	—

に集めて、直ちに 50% 熱アルコールに溶かしたもので、0' 及び添加区は一昼夜濾紙上に放置後溶解したものである。対応する 0, 0' を比較してみると放置したものは両測定値共著しく低くなつてゐる事が判る。これはその間に何

第7図 白濁物質 (Hesperidin) の不整波

等かの化学的、物理的変化が起つた事を考えさせるものである。そして放置したもののポーラログラフは定常電流の状態にならない(第7図)。

又同一条件で処理した白濁物質でも、ヘスペリジンの代表的波形を示すものもあれば、第7図の様な不整波形を示すものもあり、年次により、試料により同一でない。

従つてわれわれが、最初に白濁物質中のヘスペリジンの定量に失敗したのもこの様な事情によるものではないかと思われる。

考察および結論

1. 一般に有機化合物のポーラログラフは無機質のものに比べ、変曲点が不明確であるが、白濁物質中のヘスペリジンのポーラログラフは特にこの傾向が強い。中には略正常に近い波形を示すものもあるが、大半はそうで

はない。

2. 波形の変化は試料により、また定量中の操作等によつても生ずる様である。これらの原因によつて初めに白濁中のヘスペリジンの定量が出来なかつたものと思われる。

3. 一昼夜放置して波形の不整化したものは、ポーラログラフ、比色法の何れによる定量値も、そうでないものに比べ著しい低い値を示した。定量に際してはこの点に注意する必要が判つた。

4. この間に起つた変化は、ヘスペリジンの電位より予想して恐らくは酸化であろうと予想される。

5. 白濁生成因子として、種々のものが考えられるが、ポーラログラフに現われた波形より考えて、ヘスペリジンはその種々の誘導体と共に存在し白濁に与つていると予想される。

6. この問題は白濁の本質にも関係が深いと思われるので目下研究中である。

尚本研究は静岡県柑橘試験場業績第62号に報告した。また本研究費の一部は通産省中小企業輸出振興技術研究補助金によつた事を記し謝意を表する。

文 献

- 1) 浜口文二：罐詰時報，12，(6)，30 (1933)。
- 2) 高崎達之助：罐詰時報，12，(8)，34 (1933)。
- 3) 高崎達之助：罐詰時報，12，(11)，40 (1933)。
- 4) 池野：罐詰時報，12，(11)，36 (1933)。
- 5) 志賀岩雄：罐詰時報，13，(12)，93 (1934)。
- 6) 岩崎康男，杉本達也：罐詰時報，13，(12)，93 (1934)。
- 7) 岩崎，杉本：糧食研究，108，293 (1935)。
- 8) V. B. DAVIS: *Anal. Chem.*, 19, 476 (1947)。
- 9) 藤巻，小田切，藤本：罐詰協会研究年報，第2集，51 (1947)。
- 10) 野村：山口大学農学部学術報告別冊，夏蜜柑の化学的研究，26 (1955)。
- 11) GAGE, T. B: *Anal. Chem.*, 23, 1582 (1952)。
- 12) 大島，中林：農化，25，212 (1951)。
- 13) 服部：化学実験学第2部，天然物取扱法Ⅰ，28 (1937)。