シクロデキストリン添加および無添加イヨカン缶詰 シラップ中の白濁物質†

児玉雅信*・門家重治*

White Precipitates Found in Syrup of Canned Iyo Orange
(*Citrus iyo* hort. ex Tanaka) Segments with and
without Addition of Cyclodextrin
(Utilization and Processing of Middle or Late Ripening
Variety Citrus Fruits Part XVI)

Masanobu KODAMA* and Shigeharu MON'YA*

* Industrial Research Center of Ehime Prefecture, 487-2,
Kumekubota-cho, Matsuyama-shi, Ehime-ken 790

When cyclodextrin (CD) was used as a bitterness masking agent to improve limonoids bitterness of canned Iyo orange segments, remarkable white cloud and precipitates were recognized in the syrup of canned fruits during storage. On the basis of solubility, shape of crystallines and spectrometric features, and of comparing with authentic samples and model inclusion compounds, the substances of the precipitates were elucidated.

The precipitate obtained from usual canned Iyo orange segments prepared without CD addition was identified to be hesperidin by infrared and ultraviolet absorption spectrometry.

The precipitate obtained from β -CD added group was presumed to be β -CD inclusion compound containing components of Iyo orange juice sac membrane, fatty acids and sterols. The precipitate obtained from Dextyarl K-100 (mainly α -CD) added group was presumably α -CD inclusion compound including a fatty acid fraction of Iyo orange juice sac membrane.

When the segment containing this crystalline inclusion compound was chewed in the mouth, it gives very rough feeling on tongue and gritty to the teeth.

(Received May 2, 1990)

紺野ら¹⁾²⁾ はリモノイド等に基づく柑橘類加工品の苦味をやわらげて食味の改善を図るために、 β -シクロデキストリン (β -CD と略す) の添加が有効であることを報告している。著者らは前報³⁾ でイヨカンシラップ漬缶詰に β -CD を添加すると、食味は改善されるものの、 β -CD 添加量の多い区で、貯蔵期間中にシラップの透明度が著しく低下する現象を観察した。温州ミカンシラップ漬缶詰における白濁はヘスペリジン主成分とする

ものであり、その防止法も確立されている。 β -CD を添加したイヨカンシラップ漬缶詰の白濁の程度は対照 (無添加) 区よりもはるかに強く、又、 β -CD 添加量の多い区において一層著しい傾向が認められた。同様の現象は α -CD を主成分とするデキシーパール K-100 を添加した缶詰にも認められ、この場合には析出した結晶が大きく、砂をかむようなざらつきがあり、著しく食感を害した。対照区の白濁物質も含めて、これらの白濁物

† 中晩生かんきつの利用加工に関する研究 (第 16 報)

* 愛媛県工業技術センター (〒790 松山市久米窪田町 487-2)

質について検討した結果、対照区の白濁物質はヘスペリジンを主体とするものであり、CD 類を添加した缶詰の白濁物質は、CD 類とイヨカン砂じょう膜成分との包接化合物であると結論された。これらの結果について報告する。

実験方法

1. 実験材料および方法

(1) β -CD: 日本食品化工(株)の Celdex N (β -CD として 98% 以上)を用いた。

(2) デキシーパール K-100 (K-100 と略す): 塩水港精糖(株)製のもので、成分規格、 α -CD 60 $\pm$ 3%, β -CD 30%, γ -CD 10% (塩水港精糖(株)資料)のものをを用いた。

(3) α -CD: 東京化成工業(株)製のものをを用いた。

(4) 粗 β -sitosterol: 東京化成工業(株)製の β -sitosterol 含有率 57% のものをを用いた。

(5) イヨカンシラップ漬缶詰の調製: 前報³⁾と同様に処理して得た果肉糖度 8° Brix のものをを用い、果肉量 295 g, 注液量 160 g, 糖度 16° Brix, 内容総量 455 g を目標に、4 号缶詰を調製した。 β -CD 添加量は内容総量に対して、0, 0.2, 0.3 および 0.4%, K-100 は 0.8 % とした。製品は室温に 13 か月間静置貯蔵した。

(6) シラップの透明度: 透視度計を用い、直径 3 mm の黒点が見えなくなる時点の液面の高さを mm で表わした。

(7) 缶詰シラップ中の白濁物質の分離と精製

i) 対照区と β -CD 添加区の白濁物質: シラップを 2 重にしたガーゼでこし分けて粗大なパルプ質を除き、10 000 $\times$ g で遠心分離して沈殿を得た。沈殿は、その量の数倍量の冷水で 2 回洗浄、遠心分離を繰り返した。以下、Fig. 1 に示したとおり処理した。ただし、 β -CD の白濁物質の場合は 60°C 加熱処理は省略した。各沈殿物をこし分け、冷水で洗浄し真空乾燥した。

ii) K-100 添加区の白濁物質: シラップを遠心分離して得た白色沈殿を冷水で 2 回洗浄、遠心分離した後、熱水から再結晶した。

(8) α -CD, β -CD および K-100 とイヨカン砂じょうのクロロホルム抽出物との包接化合物の調製

i) イヨカン砂じょうクロロホルム抽出物: じょうのう膜を酸・アルカリ処理して除いた果肉約 1 kg を、等量のクロロホルムに浸漬して一夜放置した。クロロホルム液をガーゼでこし分け、砂じょう部は更に等量のクロロホルムで洗浄した。クロロホルム液を No. 2 のろ紙

Fig. 1 Fractionation of white precipitates found in syrup of canned lyo orange segments

でこし分け、約 4 ml に濃縮した。

ii) 包接化合物の調製: β -CD 2% 水溶液、 α -CD および K-100 の 10% 水溶液各々 100 ml を約 60°C に加熱、攪拌しながら、前記クロロホルム抽出物を滴加した。各 CD 液は次第に白濁し、結晶が認められるようになった。攪拌を続けながら 70°C 程度に加熱して大部分のクロロホルムを除去後、更にロータリーエバポレーターで減圧下に 45°C でクロロホルムを除去し、冷蔵庫内に放置した。白色結晶を遠心分離して集め、水洗後、 β -CD 包接化合物の場合には 80% エタノールから、K-100 と α -CD の場合には熱水又は 80% エタノールから再結晶した。クロロホルムも α -CD, β -CD と一時的に包接化合物を形成するが、加熱して減圧下でクロロホルムを除くと白濁は消失し、包接化合物は生成しなかった。

(9) α -CD, β -CD および K-100 と大豆油ケン化物の酸性区分との包接化合物の調製: 大豆油を常法⁹⁾にしたがってケン化後エーテル抽出して不ケン化物を除き、塩酸酸性として析出した酸性区分 1 g にエタノール 2 ml を加え、 α -CD および K-100 の 10% 水溶液各々 100 ml, β -CD 2% 水溶液 500 ml にそれぞれ滴加し、その後 (8) の ii) の場合と同様に処理してそれぞれの包接化合物を得た。

(10) β -CD と粗 β -sitosterol との包接化合物の調製： β -CD の 2% 水溶液 100 ml を約 60°C に加熱，攪拌しながら，粗 β -sitosterol 200 mg を約 5 ml のエタノールに加熱溶解したものを滴加した。数日間室温に放置して生成した白色結晶を遠心分離して集め，80% 冷エタノールで洗浄後，同エタノールから再結晶して微小三日月状の白色結晶を得た。

(11) ヘスペリジンの定量：沈殿物をピリジンで抽出して濃縮後，その一定量を薄層クロマトグラフィにより分別⁶⁾，ヘスペリジンに相当するスポットをかきとり，Davis 法により比色定量した。

(12) 赤外吸収スペクトルの測定：赤外分光光度計は日立 260-10 型を用い，KBr 錠剤法で試料を調製して測定した。

結果および考察

1. イヨカン缶詰シラップ透明度の経時変化

Fig. 2 にイヨカン缶詰シラップの貯蔵中における透明度の変化を示した。 β -CD の添加量が 0.2% と少ない場合，シラップの透明度は，貯蔵 6 か月の時点で対照（無添加）区よりも高く保たれたが，1 年以上経過した時点では β -CD 添加区の方が透明度が低くなった。 β -CD 添加量が 0.3% の場合は白濁の進行が早く，貯蔵 1 か月目では対照区と同程度の透明度であったが，その後貯蔵期間の経過と共に強い白濁を示すようになった。 β -CD，0.4% 添加区では 1 週間後で既に対照区の約 1/2 の透明度しか示さなかった。

K-100 の 0.8% 添加区では 0.4% β -CD 添加区よりも更に早く，強く白濁した。

Fig. 2 Changes in transparency of syrup of canned Iyo orange segments during storage

Control ●, β -CD (○: 0.2%, △: 0.3%, □: 0.4%) K-100 ▲: 0.8%

2. 対照区に生じた白濁物質

対照区の沈殿を希水酸化ナトリウム液に溶解 (Fig. 1) するとフラボノイド特有の黄色を呈し，不溶物 (A) を遠心分離で除去したのち，中和，加熱して冷所に保存すると微黄白色の針状結晶 (B) が得られた。このものの赤外吸収スペクトルを Fig. 3 の (1) に示した。温州ミカン缶詰の白濁物質 (2) および標品のヘスペリジン (3) と細部まで一致した。又水溶液の紫外吸収スペクトルも 325~330 nm 付近にショルダーがあり， $\lambda_{\max}$ は 282 nm で，標品の吸収と完全に一致した。これらのことから，対照区の白濁物質はヘスペリジンを主成分とするものと確認した。

3. β -CD 添加区の白濁物質

β -CD 添加区の白濁物質を遠心分離して集め，水洗して乾燥しただけのものと，Fig. 1 の方法で精製 (Fig. 1 の (B) 又は (C) 段階) したのち，80% 熱エタノールから再結晶したものについて，赤外吸収スペクトルを測定した結果を Fig. 4 に示した。未精製の (1) は 1750 cm^{-1} 付近にカルボキシル基に由来すると思われる吸収を示したが，エタノールから再結晶した微小三日月状の (2) ではこの吸収が消失した。(2) の吸収スペクトルは，標品の β -CD (3) と比べて，1465 cm^{-1} 付近と 2850~2900 cm^{-1} 付近の吸収帯がやや幅広くなっている

Fig. 3 IR spectra of precipitates in canned Iyo orange segments, canned Satsuma mandarin and authentic hesperidin

- (1) Precipitate of canned Iyo orange segments
- (2) Precipitate of canned Satsuma mandarin
- (3) Authentic hesperidin

Fig. 4 IR spectra of β -CD inclusion compound precipitated in syrup of canned lyo orange segments

- (1) β -CD inclusion compound appeared firstly.
- (2) Recrystallized (1) from hot 80% ethanol.
- (3) Authentic β -CD

ほかはほとんど差がなかった。しかし、水に対する溶解度は標品の β -CD が約 2% であるのに対して、白濁物質は約 0.1% であった。また、このものは 2 規定の塩酸で加水分解するとブドウ糖と脂溶性物質を生じ、NMR スペクトルを β -CD のそれと比較すると明らかに差が認められた。これらのことから、白濁物質は β -CD とイヨカン果肉成分との包接化合物と推定された。

他方、イヨカン果汁をセライトでろ過した透明果汁に、 β -CD を 1% 添加して 1 年以上室温に放置しても、白濁物質は生成しなかった。また、 β -CD の 2% 水溶液にクエン酸を 1% になるように添加し、数日間攪拌を続けても包接化合物の沈殿は得られなかった。なお、缶詰用に調製した果肉中には、果皮精油は痕跡程度しか存在しない。したがって、沈殿物はクエン酸、ペクチン、精油類との包接化合物の可能性は薄く、イヨカン砂じょうが存在するときのみ白濁が強く生じることから、 β -CD 分子の空洞内に脂肪酸類⁶⁾ その他、砂じょう膜中の成分が入り込んだ包接化合物と推定された。

4. β -CD とイヨカン砂じょうクロロホルム抽出物との包接化合物

Fig. 5 の (1) にイヨカン砂じょうのクロロホルム抽出物と β -CD との包接化合物の赤外吸収スペクトルを示した。図のように、これは Fig. 4 の (1) と吸収帯の波数が細部まで一致した。また、80% 熱エタノールから

Fig. 5 IR spectra of β -CD inclusion compound involving chloroform extract of lyo orange juice sac

- (1) β -CD inclusion compound firstly precipitated
- (2) Recrystallized (1) from hot 80% ethanol

再結晶したものは微小な三日月状の結晶であり、赤外吸収 (Fig. 5 の (2)) も Fig. 4 の (2) と吸収帯が一致した。水に対する溶解度も Fig. 4 のものと同様であった。これらのことから、 β -CD 添加イヨカン缶詰に生成した白濁物質は、イヨカン砂じょう膜の脂溶性成分が β -CD と包接化合物を形成したものと考えられた。

β -CD は大豆油ケン化物の酸性区分とも包接化合物を形成し、水又は 80% 熱エタノールから再結晶すると、菱形板状の大型白色結晶が得られる。しかし、水に対する溶解度は Fig. 5 の (1) の物質に比べると約 2 倍高い。したがって、 β -CD と脂肪酸との包接化合物は、イヨカン缶詰の沈殿としては回収されにくいものと思われる。なお、この結晶も Fig. 4 の (2) と全く同じ赤外吸収スペクトルを示した。

5. β -CD と粗 β -sitosterol との包接化合物

このものは 4. のイヨカン砂じょうクロロホルム抽出物との包接化合物と同じ三日月状の結晶であり、水およびエタノールに対する溶解性もよく似たものであった。赤外吸収スペクトルは Fig. 4 の (2) および Fig. 5 の (2) と全く同じであった。

6. K-100 添加イヨカン缶詰の白濁物質

K-100 を 0.8% 添加したイヨカン缶詰に生じた白濁物質を、熱水から再結晶した六角板状結晶の赤外吸収スペクトルを Fig. 6 の (1) に示した。1450 cm^{-1} と 2850 $\sim$ 2900 cm^{-1} の吸収帯がやや幅広くなっていることと

Fig. 6 IR spectra of K-100 inclusion compound, α -CD inclusion compound involving acidic fraction obtained by saponification of soybean oil and authentic α -CD

- (1) K-100 inclusion compound precipitated in syrup of canned Iyo orange segments
- (2) K-100 inclusion compound involving chloroform extract of Iyo orange juice sac
- (3) α -CD inclusion compound involving acidic fraction obtained by saponification of soybean oil
- (4) Authentic α -CD

1700 cm^{-1} の吸収以外は α -CD (4) の赤外吸収とほとんど差は認められなかった。イヨカン砂じょうのクロロホルム抽出物と K-100 から調製した物質を熱水から 2 回再結晶したもの (2) は、上記 Fig. 6 の (1) と全く同じ吸収パターンを示し、結晶形も六角板状であった。両者において、 1700 cm^{-1} の吸収から脂肪酸の存在が推定された。K-100 の主成分は α -CD であり、脂肪酸と α -CD との包接化合物が推定された。この沈殿物の生成した缶詰の果肉は、口に入れた時、結晶が舌にざらつき、砂をかんだときのような感触で、食感が著しく損われたものとなっていた。

大豆油ケン化物の酸区分と α -CD とから調製した包接化合物の赤外吸収 (Fig. 6 の (3)) を測定したところ、上記 Fig. 6 の (1) (2) と細部まで一致し、熱水に対する溶解度、結晶形もよく似ていた。以上のことから、K-100 添加イヨカン缶詰の白濁物質はイヨカン砂じょう膜成分、主として脂肪酸区分と α -CD との包接化合物であると推定された。

7. イヨカンシラップ漬缶詰の白濁物質の性質

Table 1 にイヨカン缶詰に生じた白濁物質の特性をまとめて示した。対照区の白濁物質はヘスベリジンが主成分であり、アルカリ溶解残分は水洗後でも微黄色を呈し、カロチノイド系色素を持つことから、これは砂じょう膜の断片と判断された。

β -CD 添加区に生じた白濁物質は、 β -CD と砂じょう膜中の脂肪酸類、ステロール類とが包接したものと考えられる。その他の成分として 1.5% 弱のヘスベリジンが含まれていたが、これは再結晶することで容易に除去できることから包接化されたものではないと考えられた。

NORDBY ら⁷⁾ は柑橘の品種別に砂じょう膜成分を検討しており、その中で脂肪酸類、ステロール類の存在を確認している。ゲスト化合物としてはホスホリピド、長鎖の炭化水素、ステロール配糖体⁸⁾ の可能性も残されているが、これらについてはシクロデキストリンを加水分解するなどして取り除いた後に検討するのがよいと思われる。

K-100 を添加したイヨカン缶詰中に生じた白濁物質は主成分が直鎖の脂肪酸を包接した α -CD と推定され、他の混合物としてはヘスベリジンが約 2%、遊離アミノ酸が約 0.3% 含まれていた。ヘスベリジンは再結晶で除去できたが、アミノ酸は数回再結晶を繰り返してもほぼ同じ濃度に保たれており除去できなかった。

今回の β -CD の包接化合物ではゲスト化合物がカルボキシル基を持つものでも、赤外吸収スペクトルで 1700 cm^{-1} の吸収が認められないのに反し、 α -CD のそれでは吸収が認められる。この違いはホスト CD の内部空洞のサイズの差による、ゲスト化合物との立体配位の違いによるものと考えられる。

α および β -CD を添加してイヨカン果肉シラップ漬缶詰の苦味を改善しようと試みたが両者ともシラップの白濁や、結晶の析出による食感の劣化等のトラブルが発生し、実用化は困難であると判断された。

要 約

シクロデキストリン類添加による、イヨカンシラップ漬缶詰の食味改善試験中に、貯蔵期間の延長とともに、そのシラップが強く白濁する現象を見出した。対照区を含めた各区の白濁物質の組成について検討した結果は次のとおりである。

1. シクロデキストリンを添加しない通常のイヨカンシラップ漬缶詰に生成した白濁物質は赤外および紫外吸収スペクトルにより、ヘスベリジンが主成分をなすもの

Table 1 Characteristics of white precipitates obtained from syrup of canned Iyo orange segments

Source		Control group	β -CD added group	K-100 added group
Solubility	in warm 0.2 N NaOH	readily soluble	fairly soluble	readily soluble
	in hot water	sparingly soluble	sparingly soluble	considerably soluble
Hesperidin contents		more than 70%	less than 1.5%	less than 2%
Other components		pulp of juice sac membrane (pulp)	amino acids; about 0.3% pulp	amino acids; about 0.3% pulp
Microscopic observation (Size)		needle shaped cryst. (20~45 μ m)	minute horn shaped cryst. (4~5.5 μ m)	hexagonal plate shaped cryst. (15~45 μ m)
Ppt. recovery per #4 can (Net 455 g)		5~10 mg	50~200 mg	150~200 mg
Conclusive remark		mainly hesperidin	β -CD inclusion compd. with components of juice sac membrane contg. fatty acids and sterols	mainly α -CD inclusion compd. with fatty acids of juice sac membrane

と確認された。

2. β -シクロデキストリン添加イヨカン缶詰に生成した白濁物質は、微小三日月状の結晶形、赤外吸収スペクトル等および溶解度の比較試験の結果などから、イヨカン砂じょう膜中の、主として脂肪酸類とステロール類が β -シクロデキストリンに包接されたものと推定された。

3. α -シクロデキストリンを主成分とするデキシーパール K-100 を添加したイヨカン缶詰に生成した白濁物質は、水およびアルコールに対する溶解度、結晶形(六角板状)および赤外吸収スペクトルからみて、脂肪酸を包接した α -シクロデキストリンであると判断された。この結晶は缶詰イヨカンのシラップ中だけでなく、果肉中にも生成し、口に入れるとざらつき、砂をかむような嫌な食感を与えた。

4. α および β -シクロデキストリン添加によるイヨカン缶詰の苦味改善の試みは、シラップの白濁や結晶の析出による食感の劣化などのため、実用化は困難と判断された。

文 献

- 1) KONNO, A., MIYAWAKI, M., MISAKI, M., and YASUMATSU, K.: *J. Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2341 (1981).
- 2) KONNO, A., MISAKI, M., TADA, J., WADA, T., and YASUMATSU, K.: *J. Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2203 (1982).
- 3) 児玉雅信・松本恭郎・門家重治・別所康守: 愛媛工技研究報告, **23**, 49 (1985).
- 4) 油脂化学便覧, 第3版, 日本油脂化学協会編, 丸善(株), p. 357 (1958).
- 5) 別所康守・児玉雅信・松本恭郎・久保 進: 愛媛工試報告, **16**, 54 (1978).
- 6) SCHLENK, H., SAND, D.M.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **83**, 2312 (1961).
- 7) NORDBY, H.E. and NAGY, S.: *Phytochemistry*, **8**, 2027 (1969).
- 8) NORDBY, H.E. and NAGY, S.: *Phytochemistry*, **13**, 443 (1974).

(平成2年5月2日受理)