Hesperetin 7-glucoside の調製を目的とした ヘスペリジンの加水分解

稲葉伸也*†・綾野 茂**・尾崎嘉彦***・丸山和之*†・三宅正起**†

Effective Hydrolysis of Hesperidin to Prepare Hesperetin 7-glucoside

Nobuya INABA*†, Shigeru AYANO**†, Yoshihiko OZAKI***,
Kazuyuki MARUYAMA*† and Masaki MIYAKE**†

* *Wakayama Agricultural and Biological Research Institute, 396-1,
Tsukatsuki, Momoyama-cho, Naga-gun, Wakayama 649-61*

† *Present : Wakayama Agricultural Processing Research Corporation, 398,
Tsukatsuki, Momoyama-cho, Naga-gun, Wakayama 649-61*

** *Present : Wakayama Nogyo Food Industry Co., Ltd., 1294,
Hikata-Shinhama, Kainan-shi, Wakayama 642*

*** *Present : Industrial Technology Center of Wakayama Prefecture, 60,
Ogura, Wakayama-shi, Wakayama 649-62*

An efficient method of hydrolyzing hesperidin to prepare hesperetin 7-glucoside (Hesperetin monoglucoside; HMG) was established. Hesperidin was first converted from its flavanone form to the chalcone form under alkaline conditions, and then hydrolyzed with HCl in the presence of a water-soluble solvent such as isopropyl alcohol (IPA), *n*-propyl alcohol, ethyl alcohol (EtOH) and methyl alcohol. When the reaction mixture containing optimal concentrations of 6% hesperidin, 20% IPA and 1.5 N HCl was heated for 15 min in a boiling water bath, the maximum amount of HMG were accumulated. HMG can be precipitated and efficiently recovered by dilution and evaporation to lower the IPA concentration. The solubility of crude HMG against distilled water, hot water and EtOH was 42.5, 12.5 and 40.7 times higher than that of reagent grade hesperidin, respectively.

(Received Apr. 1, 1996)

ヘスペリジンはウンシュウミカンの主要なフラボノイド成分であり、強い血圧降下作用¹⁾、抗アレルギー作用²⁾、抗ウイルス作用³⁾のあることが報告されている。また、食品添加物として認可されており、ビタミンP、抗酸化剤などとして利用されている⁴⁾。しかしながら、ヘスペリジンは他の多くのフラボノイド成分と同様、水に対する溶解度が低いことから、その用途開発は限定され

ている。そのため、国内では主要な回収源であるウンシュウミカンおよびその搾汁粕からも全く回収されていない。

このような状況下で、近年、糖転移によるフラボノイド成分の溶解性向上を目指した研究^{5)~7)}が行われている。一方、ヘスペリジナーゼ (EC 3.2.1.40) は、ヘスペリジンの糖鎖を L-ラムノースと D-グルコースの結合部

* 株式会社和歌山アグリバイオ研究センター (〒649-61 和歌山県那賀郡桃山町調月 396-1)

† 現在、社団法人和歌山県農産物加工研究所 (〒649-61 和歌山県那賀郡桃山町調月 398)

** 現在、和歌山ノーキョー食品工業株式会社 (〒642 和歌山県海南市日方新浜 1294)

*** 現在、和歌山県工業技術センター (〒649-62 和歌山県和歌山市小倉 60)

位で加水分解し、ヘスペレチンモノグルコシド (Hesperetin monoglucoside; Hesperetin 7-glucoside; 以下 HMG と略す) を生成し、以前からミカン缶詰シラップの白濁防止剤として用いられている⁹⁾。この反応は HMG の水に対する溶解性がヘスペリジンに比べて高いことに着目した方法である。これまで、HMG の工業的な製造方法に関する報告は見当たらない。そこで、著者らはヘスペリジンの新規用途開発を目的として、HMG の効率的な製造方法の確立を試みたので報告する。

実 験 方 法

1. 供試材料

ヘスペリジンは、和歌山県農協連合会桃山食品工場搾汁ラインで排出された温州ミカン搾汁粕から、既報の方法⁹⁾に従って抽出、回収して用いた。

2. 供試試薬

標品調製用試薬として、和光純薬工業製ヘスペリジン、東京化成工業製ヘスペレチンおよび田辺製薬製ヘスペリジナーゼを用いた。また、イソプロピルアルコール (IPA)、*n*-プロピルアルコール (NPA)、エチルアルコール (EtOH)、メチルアルコール (MeOH)、ブチルアルコール (BuOH)、エチレングリコール (EG)、ジエチレングリコール (DEG) およびジメチルスルホキシド (DMSO) はいずれも片山化学工業製試薬を用いた。

3. 標品の調製

ヘスペリジンおよびヘスペレチンは分取 HPLC によって単一ピークにまで精製した。HMG は、増川らの方法¹⁰⁾に従って、ヘスペリジナーゼによりヘスペリジンを酵素的に加水分解し、さらに分取 HPLC によって単一ピークにまで精製した。

分取 HPLC は東ソー製高圧グラジエントシステム (送液ポンプ; CCPD) を用いた。分離カラムは東ソー製逆相カラム TSKgel ODS-PREP (ϕ 20.0 mm $\times$ 250 mm) を用い、カラム温度を 50°C とした。溶出は 3.0 ml/min の流速で行い、水-アセトニトリル (80:20) で開始し、80 分後に (40:60) となるよう直線濃度勾配をかけ、その後 20 分間 (40:60) 一定とした。検出は東ソー製分光検出器 UV-8011 を用い、285 nm における紫外吸収を測定した。ヘスペリジン、HMG、ヘスペレチンの保持時間はそれぞれ 51.7 分、56.7 分、84.3 分であった。

4. ヘスペリジン酸加水分解処理

ヘスペリジンは 1 N 水酸化ナトリウム溶液 (ヘスペリジン 1 g に対して 3.33 ml) に溶解し、各種有機溶媒 20

ml と蒸留水で 80 ml に調整した。このヘスペリジン溶解液を冷却管付 100 ml 容三角フラスコに移し、沸騰水浴中で 4 分間予備加熱した。加水分解は、沸騰水浴中で最終 0.5~2.0 N となるように塩酸溶液 20 ml を滴下して反応を開始し (30 秒間攪拌)、氷水中で冷却して反応を停止した (1 分間攪拌)。反応停止後、2 N 水酸化ナトリウム溶液で反応液を中和し、蒸留水で 200~800 ml 定容とした。1~40 時間静置後、遠心分離 (8 000 rpm, 5 分間) により沈澱画分と上澄画分に分離した。沈澱画分は 20 倍量の蒸留水で洗浄した後、60°C で乾燥させて、粗 HMG を得た。

5. ヘスペリジン加水分解物の分析

ヘスペリジン加水分解物の分析方法は以下のとおり設定した。すなわち、ヘスペリジン、HMG およびヘスペレチンの各成分 0~50 mg を含有する試料を 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 5 ml に溶解させ、蒸留水で 100 ml 定容とした後、直ちに 0.45 μ m フィルターを用いて濾過し、濾液を速やかに HPLC にて定量した。

装置は東ソー製低圧グラジエントシステム (送液ポンプ; CCPD) を用いた。分離カラムは東ソー製逆相カラム TSKgel ODS-PREP (ϕ 4.6 mm $\times$ 250 mm) を用い、カラム温度を 50°C とした。移動相には水-アセトニトリル混合溶液を用い、(80:20) で開始し、25 分後に (45:55) になるように直線濃度勾配をかけ、流速 1.0 ml/min で溶出した。ヘスペリジン、HMG およびヘスペレチンの保持時間はそれぞれ 9.1 分、10.4 分、18.3 分であった。検出は東ソー製分光検出器 UV-8011 を用い、波長は 285 nm とした。各成分含量は標品から作成した検量線より求めた。

実 験 結 果

1. ヘスペリジン加水分解条件の検討

(1) アルカリ (カルコン化) 処理の影響

アルカリ条件下でヘスペリジンをフラバノン型からカルコン型に変化させるカルコン化処理条件について検討した。すなわち、カルコン化処理区はヘスペリジン 6 g を予め水酸化ナトリウム溶液で溶解させ、また未処理区はヘスペリジン 6 g を蒸留水に懸濁させた後、それぞれ沸騰水中で酸濃度が 1.5 N となるように塩酸を加えて加水分解を行った (いずれも全量 100 ml)。反応中のヘスペリジン、HMG、ヘスペレチンの経時的な濃度変化を Fig. 1 に示した。

未処理区では、ヘスペリジンの減少はわずかであり、300 分間の反応後でも 66.9% 残存していた。したがっ

て、ヘスペレチンの生成も少なく、HMG は検出されなかった。一方、カルコン化処理区では、ヘスペリジンは反応開始直後から急激に減少し、反応 180 分後の残存率は 30.5% であった。ヘスペレチンはヘスペリジンの減少に呼応して増加し、反応 180 分後では未処理区の 4.2 倍量となった。一方、HMG の蓄積は認められたものの、未

Fig. 1 Effect of chalconization on hydrolysis of hesperidin

Chalconized :

—■—, Hesperidin ; —●—, Hesperetin 7-glucoside ; —▲—, Hesperetin.

Not chalconized :

---□---, Hesperidin ; ---○---, Hesperetin 7-glucoside ; ---△---, Hesperetin.

処理区との顕著な差はなかった。両試験区とも反応直後からヘスペリジンの不溶化が認められ、特に未処理区では顕著であった。

(2) 有機溶媒添加の影響

加水分解反応時におけるヘスペリジンの溶解度の向上を目途として、有機溶媒添加の影響について検討した。ヘスペリジン 3 g (3% 区) あるいは 6 g (6% 区) を水酸化ナトリウム溶液に溶解し、有機溶媒を各 20 ml 添加した。反応は最終濃度 1.5 N となるよう塩酸を加え (全量 100 ml), 沸騰水浴中で 30 分間行った。対照として有機溶媒無添加区を設けた。結果は Table 1 に示した。

ヘスペリジンの初発濃度にかかわらず有機溶媒無添加区では反応直後に不溶化が認められ、3% 区および 6% 区の分解率はそれぞれ 66.3%, 42.2% であった。一方、有機溶媒を添加した場合、3% 区ではいずれも 95% 以上の分解率を示した。6% 区では、EG および DMSO 添加区において反応開始直後に不溶化が認められ、分解率はそれぞれ 66.0%, 79.2% に止まった。しかし、IPA, NPA, EtOH および MeOH 添加区では 97% 以上の高い分解率を示し、なかでも IPA あるいは NPA 添加区では反応中の不溶化は全く認められなかった。

(3) 塩酸濃度の影響

加水分解反応に及ぼす塩酸濃度の影響について検討した。ヘスペリジン 6 g を水酸化ナトリウム溶液に溶解し、IPA 20 ml を添加した後、最終濃度 0.5, 1.0, 1.5 あ

Table 1 Effect of the presence of solvents on hydrolysis of hesperidin

Solvents	Initial hesperidin ; 3%				Initial hesperidin ; 6%			
	Hydrolysis (%)	Concentration (mg/100 ml)			Hydrolysis (%)	Concentration (mg/100 ml)		
		Hesperidin	HMG*	Hesperetin		Hesperidin	HMG*	Hesperetin
IPA	99.3	21.3	301	1 020	99.3	39.6	1 120	1 750
NPA	99.5	14.2	221	1 100	99.4	32.6	778	1 990
EtOH	99.3	19.8	307	1 030	98.6	84.3	951	1 830
MeOH	99.4	16.7	239	1 060	97.7	135	979	1 750
BuOH	99.7	10.2	201	1 150	91.7	481	561	1 990
EG	95.9	120	67.6	1 160	66.0	1 980	362	1 420
DG	98.7	38.6	44.2	1 180	92.0	465	362	1 940
DMSO	99.1	26.4	98.2	1 200	79.2	1 210	502	1 540
Not added	66.3	984	153	669	42.2	3 370	354	869

* Hesperetin 7-glucoside.

Hesperidin was dissolved in NaOH solution and each solvent, prior to hydrolysis with 1.5 N HCl for 30 min in a boiling water bath. The concentration of each solvent in the reaction mixture was 20% (v/v). IPA, isopropyl alcohol; NPA, *n*-propyl alcohol; EtOH, ethyl alcohol; MeOH, methyl alcohol; BuOH, *n*-butyl alcohol; EG, ethylene glycol; DG, diethylene glycol; DMSO, dimethyl sulfoxide.

るいは 2.0 N となるように塩酸を加え (全量 100 ml), 沸騰水浴中で 30 分間反応を行った。結果は Table 2 に示した。

塩酸濃度 1.5 N 以上で 30 分間にヘスペリジンの 99% 以上は分解した。塩酸濃度 1.0 N における HMG 生成量も高かったが, 1.0 N 以下では反応開始直後におけるヘスペリジンの不溶化が認められ, 未分解ヘスペリジンの残存率が高くなった。

(4) 反応時間の影響

ヘスペリジン 6 g を水酸化ナトリウム溶液に溶解し,

Fig. 2 Time course of hydrolysis of hesperidin in the presence of 20% (v/v) IPA

Initial hesperidin concentration was 5.83%. Hesperidin was dissolved in NaOH and IPA solution, prior to hydrolysis with 1.5 N HCl in a boiling water bath.
—■—, Hesperidin ; —●—, Hesperetin 7-glucoside ; —▲—, Hesperetin.

IPA 20 ml を添加した後, 最終濃度 1.5 N となるように塩酸を加え (全量 100 ml), 沸騰水浴中で 60 分間加熱し, ヘスペリジンの分解に及ぼす反応時間の影響を検討した。反応生成物の経時的な濃度変化を Fig. 2 に示した。ヘスペリジンは速やかに分解され, 生成する HMG の濃度ピークが反応開始後 9~15 分間にあることが示された。反応時間の経過に伴って HMG 濃度は減少し, 60 分後にはほとんどがヘスペレチンにまで分解が進んだ。

(5) 基質濃度および溶媒添加量の影響

ヘスペリジン 6 g (6% 区) あるいは 12 g (12% 区) をそれぞれ水酸化ナトリウム溶液に溶解し, IPA を 10, 20 あるいは 40 ml 添加した。反応は最終濃度 1.5 N となるように塩酸を加え (全量 100 ml), 沸騰水浴中で 15 分間行った。反応後の生成物含有量を Table 3 に示した。6% 区では IPA 10% 添加区で, 12% 区では IPA 10% および 20% 添加区で反応直後にヘスペリジンの不溶化が認められ, ヘスペリジン分解率は低かった。一方, 6% 区-IPA 20% 添加区および 6% 区-IPA 40% 添加区では分解率が高く, 反応生成物に占める HMG の比率も高かった。

以上の結果, 加水分解条件としてヘスペリジン 6% を含む反応液中の IPA 濃度を 20%, 塩酸濃度を 1.5 N に調整し, 沸騰水浴中で 15 分間加熱する反応系を設定し, 次の実験を行った。

2. HMG 回収条件の検討

(1) 加水量の影響

反応終了後, pH 5.0 に調整し, 蒸留水を加え全量を 200 ml (2 倍希釈, IPA ; 10%), 250 ml (2.5 倍希釈, IPA ; 8%), 400 ml (4 倍希釈, IPA ; 5%) および 800 ml (8 倍

Table 2 Effect of HCl concentration on hydrolysis of hesperidin

HCl (N)	Hydrolysis (%)	Concentration (mg/100 ml)		
		Hesperidin	HMG*	Hesperetin
0.5	21.4	4 580	734	140
1.0	76.8	1 350	1 960	766
1.5	99.3	39.6	1 120	1 750
2.0	99.6	25.9	403	2 190

* Hesperetin 7-glucoside.

Initial concentration of hesperidin in reaction mixtures was 5 830 mg/100 ml.

Hesperidin was dissolved in NaOH and IPA solution, prior to hydrolysis with 0.5-2.0 N HCl for 30 min in a boiling water bath.

希釈, IPA ; 2.5%) にそれぞれ定容した。この状態で 1, 20 および 40 時間静置し, 沈澱画分の反応生成物含有量を測定した。その結果を Table 4 に示した。

1 時間後における沈澱量は 2.5 倍希釈区が最も多く 20 および 40 時間後では 2 倍希釈区と 2.5 倍希釈区が多かった。なお, 2.5 倍希釈区において, 静置時間 1 時間と 20 時間, 40 時間の沈澱量を比較したとき, それぞれ約 5%, 9% の増加に止まり, 大差のないことが示された。また, 2 および 2.5 倍希釈区は 20 時間以後の沈澱量が少ないのに対して, 希釈率の高い試験区では 20 時間以後においても徐々に沈澱を析出し続けることが示された。

(2) 上澄画分の濃縮度の影響

前項の実験で良好な結果の得られた 2.5 倍希釈-1 時間静置区の上澄画分 (ヘスペリジン ; 222 mg/250 ml, HMG ; 533 mg/250 ml, ヘスペレチン ; 96.8 mg/250

ml) を 200 ml (1.25 倍), 150 ml (1.67 倍), 100 ml (2.5 倍) および 50 ml (5 倍) まで減圧濃縮した。その後, 濃縮液を 0, 20 および 40 時間それぞれ静置し, 二次沈澱を回収した。その結果を Table 5 に示した。二次沈澱の析出に対する濃縮の効果は 1.25 倍濃縮でも顕著であり, さらに濃縮倍率を上げることによって二次沈澱の回収量は増大した。静置による回収量の増加は 5 倍濃縮区ではほとんど認められなかったが, 他の試験区ではいずれも 20 時間後までは析出量が多くなり, 1.25 倍濃縮区で最も増大した。ただ, 20 時間以降の析出量はほとんど変化しなかった。なお, 二次沈澱中の HMG 比率はいずれも 65% 前後であった。

3. ヘスペリジン加水分解物の溶解性

得られたヘスペリジン加水分解物の蒸留水, 熱水および EtOH に対する溶解性について, 市販試薬のヘスペリ

Table 3 Effect of initial hesperidin and IPA concentrations on hydrolysis of hesperidin

Initial hesperidin (%)	IPA (%)	Hydrolysis (%)	Concentration (mg/100 ml)		
			Hesperidin	HMG*	Hesperetin
6	10	62.3	2 200	1 330	705
6	20	89.6	604	2 140	1 000
6	40	87.8	711	2 260	954
12	10	29.8	8 180	1 410	568
12	20	52.0	5 600	2 660	1 010
12	40	83.4	1 930	4 290	1 840

* Hesperetin 7-glucoside.

Hesperidin was dissolved in NaOH and IPA solution, prior to hydrolysis with 1.5 N HCl for 15 min in a boiling water bath.

Table 4 Effect of dilution with water on recovery of hesperidin-hydrolyzate

Dilution (-fold)	Content in precipitate (mg)								
	After 1 h			After 20 h			After 40 h		
	Hesperidin	HMG*	Hesperetin	Hesperidin	HMG*	Hesperetin	Hesperidin	HMG*	Hesperetin
2.0	306	1 480	889	372	1 750	969	374	1 800	971
2.5	363	1 630	923	368	1 720	966	370	1 780	969
4.0	205	1 420	884	268	1 600	949	281	1 710	954
8.0	116	1 090	815	140	1 280	901	153	1 400	930

* Hesperetin 7-glucoside.

Initial concentration of hesperidin in the reaction mixture was 5 830 mg/100 ml.

Hesperidin was dissolved in NaOH and IPA solution, prior to hydrolysis with 1.5 N HCl for 15 min in a boiling water bath.

The reaction mixture (100 ml) was filled up to 200-800 ml with distilled water and then the precipitate was separated after 1, 20, or 40 h.

Table 5 Effect of evaporation of supernatant fraction after crystallization on recovery of hesperetin 7-glucoside

Degree of concentration (-fold)	Recovery (%)			HMG ratio (%)*		
	0 h	20 h	40 h	0 h	20 h	40 h
1.00	—	13.8	16.8	—	62.9	58.9
1.25	29.7	47.5	49.0	64.0	66.4	66.9
1.67	43.6	57.4	59.3	63.1	65.7	65.7
2.50	57.8	68.7	70.0	63.8	66.1	65.9
5.00	81.6	84.3	84.9	64.6	64.8	64.7

* Ratio of hesperetin 7-glucoside in the total flavonoids recovered.

Initial concentration of hesperidin was 5 830 mg/100 ml of the reaction mixture.

Hesperidin was dissolved in NaOH solution and IPA, prior to hydrolysis with 1.5 N HCl for 15 min in a boiling water bath.

The reaction mixture (100 ml) was filled up to 250 ml with distilled water and then the supernatant (Hesperidin, 88.8 mg/100 ml ; Hesperetin 7-glucoside, 213 mg/100 ml ; Hesperetin, 38.7 mg/100 ml) was concentrated 1.0 to 5.0-fold *in vacuo* at 50°C after 1 h.

Table 6 Comparison of solubility of reagent grade hesperidin and crude HMG

Solvent	Reagent grade	Crude HMG ¹⁾			
	hesperidin (mg/100 ml)	Hesperidin (mg/100 ml)	HMG* (mg/100 ml)	Hesperetin (mg/100 ml)	Total (mg/100 ml)
Water	0.68	7.78	19.1	2.02	28.9
Hot water	22.6	54.1	222	6.46	283
Ethyl alcohol	14.8	55.4	268	280	603

* Hesperetin 7-glucoside.

¹⁾ Crude HMG was composed of 8.84% hesperidin, 58.0% HMG, 28.2% hesperetin and 4.96% others.

One gram of crude HMG was suspended in 100 ml of each solvent.

The suspension was then filtrated with a membrane filter (0.45 μ m) prior to HPLC analysis.

ジンを対照に用いて比較した。各試料 1.0 g をそれぞれ溶媒 100 ml に定容とし、遠心分離後フィルター濾過 (0.45 μ m) を行い、濾液の溶解成分を測定した。その結果を Table 6 に示した。ヘスペリジン加水分解物の蒸留水、熱水および EtOH に対する溶解濃度はそれぞれ 28.9 mg/100 ml, 283 mg/100 ml, 603 mg/100 ml を示し、それぞれ試薬ヘスペリジンの 42.5 倍, 12.5 倍および 40.7 倍であった。また、蒸留水に対するヘスペリジンの溶解濃度はヘスペリジン試薬単独では 0.68 mg/100 ml であったのに対して、ヘスペリジン加水分解物では 7.78 mg/100 ml を示した。

考 察

ヘスペリジンの水に対する溶解度は 1 mg/100 ml 以下と低く、熱水中では 20 mg/100 ml 程度に高まるものの、懸濁状態での酸加水分解反応は非効率的であり、中間体である HMG の蓄積は認められなかった。そこで、ヘスペリジンのアルカリ溶液中での高い溶解性¹¹⁾ を利用して、ヘスペリジンを予めアルカリ条件下でカルコン化する実験系を設定した。すなわち、ヘスペリジンの酸加水分解反応は反応液中にヘスペリジンが溶解した状態にあることが必要条件であると考えた。しかし、本実験

系では加水分解効率の改善が認められたものの、反応中におけるヘスペリジンの不溶化が観察され、HMG は効率的に生成しなかった。

このように一旦可溶化したヘスペリジンも酸性下および高温下においては不溶化が促進される¹²⁾ため、効率的な酸加水分解を行うには、ヘスペリジンを溶解状態に維持して反応を進行させることが重要であると推察された。難水溶性フラボノイド成分の一つであるルチンに対して、MeOH や DMSO などの水溶性有機溶媒の添加が効果的であることが示されている¹³⁾。本報告では、ヘスペリジンを予めカルコン化した状態で水溶性有機溶媒を共存させる反応系を設計した。このとき、酸濃度が低い場合には反応直後にヘスペリジンの不溶化が認められたので、塩酸の滴下操作は可能な限り迅速に行うことが重要であると思われる。

Table 1 の結果から明らかなように、反応液中のヘスペリジンを溶解状態で維持することによって、ヘスペリジンの酸加水分解反応が効率よく進行し、高い収率で HMG が得られることが示された。また、加水分解中に反応液を攪拌することによる反応系への影響は見られなかった(データ未公表)。ただし、反応開始時および反応停止時の攪拌は不可欠であり、特にスケールアップした場合には重要な因子となるものと推測される。

反応生成物の回収に当たっては、水溶性有機溶媒の存在が負の効果を示すことから、添加した溶媒の濃度を低下させることが有効であると推察された。最も簡易かつ実用的な方法として反応液への加水分解を検討した。その結果、反応液は加水と同時に大量の沈澱を生じ、2.5 倍希釈 (IPA ; 8%) が最も有効であった。それ以上の希釈は上澄部に残存する反応生成物の絶対量が增大するため、効果的ではなかった。また、加水後の pH が 7 以下では、沈澱の析出量は差なかったが、乾燥工程における分解の進行を考慮した場合、析出段階で pH 5~7 に調整しておくことが必要であると思われた。さらに、未析出画分を減圧濃縮することによっても、反応生成物の回収効率を高めることができた。特に、低い濃縮倍率でも回収率は著しく向上した。このことは反応液中に残存する溶媒濃度の低下に起因するものと推定された。

得られたヘスペリジン加水分解物は、蒸留水、熱水および EtOH に対する溶解濃度が大幅に上昇し、今後の利用範囲が拡大するものと期待される。また、ヘスペリジン加水分解物に含まれるヘスペリジンの溶解性が試薬ヘスペリジン単独の場合と比較して顕著に高くなることが示された。このようなヘスペリジンの溶解特性の変化は

興味深く、そのメカニズムを解明することは新しい用途開発への手がかりとなろう。

要 約

HMG の効率的生成プロセスとして、あらかじめヘスペリジンをアルカリ条件下でカルコン化し、IPA, NPA, EtOH や MeOH などの水溶性有機溶媒の存在下で酸加水分解する反応系を確立した。すなわち、ヘスペリジン 6% を含む反応液中の IPA 濃度を 20%, 塩酸濃度を 1.5 N に調整し、沸騰水浴中で 15 分間加熱することによって最も効率よく HMG が生成、蓄積された。反応生成物の回収法としては、加水および減圧濃縮によって IPA 濃度を低下させることが効果的であった。また、ヘスペリジン加水分解物の蒸留水、熱水および EtOH に対する溶解濃度は、それぞれ試薬ヘスペリジンの 42.5 倍、12.5 倍および 40.7 倍であった。

文 献

- 1) 町田浩一・上田條二・佐藤継男・大沢啓助・安藤隆一朗・久道周次: 東北薬科大学研究年報, **32**, 135 (1985).
- 2) 松田英秋・矢野真紀・久保道徳・飯沼宗和・大山雅義・水野瑞夫: 薬誌, **111**, 193 (1991).
- 3) MUCSI, I. and PRAGAI, B.M.: *Experientia*, **41**, 6 (1985).
- 4) 吉積智司・伊藤 汎・太田明一・田村 力編: 新食品開発用素材便覧, 初版 (光琳, 東京) p. 451 (1991).
- 5) SUZUKI, Y. and SUZUKI, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 181 (1991).
- 6) KOMETANI, T., TERADA, Y., NISHIMURA, T. and OKADA, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 517 (1994).
- 7) KOMETANI, T., TERADA, Y., NISHIMURA, T. and OKADA, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1990 (1994).
- 8) 小崎道雄監修: 酵素利用ハンドブック, 初版 (地人書館, 東京), p. 367 (1980).
- 9) 稲葉伸也・三宅正起・綾野 茂・尾崎嘉彦・前田久夫・伊福 靖: 日食工誌, **40**, 833 (1993).
- 10) 増川健二・小松広由・藤村紀夫・福山 司・福島正範・石川 勉: 日食工誌, **32**, 864 (1985).
- 11) HENDRICKSON, R. and KESTERSON, J.W.: *Fla. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* **684**, 3 (1964).
- 12) 三宅正起・綾野 茂・前田久夫・伊福 靖: 日食工誌, **37**, 631 (1990).
- 13) 安田俊隆・篠山浩文: 日食科工誌, **42**, 1012 (1995).

(平成 8 年 4 月 1 日受理)