Bull. Mukogawa Women's Univ. Nat. Sci., **39**, 51－56(1991)
武庫川女子大紀要（自然科学）

カンキツ類のリモノイド代謝の季節的変動

村瀬　治子，森下　敏子，西尾　康三

（武庫川女子大学家政学部食物学科）

Seasonal Changes of Metabolite of Limonoid in the Citrus Fruits

Haruko Murase, Toshiko Morishita and Kozo Nishio

Department Food Sciences, Faculty of Home Economics, Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663, Japan

The existence of limonoid in citrus fruits and seasonal variations in its location in the plant parts were investigated by HPLC and microscopic examination. Banpeiyu (*Citrus grandis* Osbeck) had dark material that seemed to be limonoid in the stem cortex cells and the tegmen of the seeds. The amounts of limonin and nomilin in the stems reached their peaks at 2 months after the leaves, suggesting transfer of limonoid occurs from the leaves to the stems. The seasonal changes in the location of limonoid metabolites were similar in Banpeiyu, Kawachibankan, and Kawanonatsudaidai. The limonoid in the seeds seemed to be transfered, with fruit development, from the testa to cotyledon where it was stored.

緒　言

カンキツ類の苦み成分であるリモノイドは葉で生合成され，茎を通って果実に，さらに種子へと移動し，蓄積されると報告されている[1]. しかし，尾崎ら[2]により，種子中で独自の代謝がおこなわれているとの報告もある．さらに茎，葉中での苦み成分の存在状態，移行経路，代謝過程，および季節的変動についての詳細は明らかにされていない．

そこでリモノイドの各部位における存在を確認し，季節的な変動と蓄積について検討し，リモノイドの転流および代謝経路を知ることにより収穫以前に苦みの生成を防ぐことも可能であると考え，本研究を行った．

実験方法

1.　原材料

熊本県農業技術センター果樹研究所において4月，6月，9月，11月および翌年1月に採取されたバンペイユ（*Citrus grandis* Osbeck）と，同研究所において4月および6月に採取された河内バンカン，川野ナツダイダイ，マーコットの果実，茎，葉を用いた．

ユズ種子は本学の学寮で11月および12月に採取したものを用いた．

2.　試料の調製

1)　リモノイドの抽出

試料は各部位に分け，おのおの1gを乳鉢で摩砕し，重量の5倍量のメタノールを加えてリモノイドの抽出を行った．ろ液にクロロホルムを2ml加え，水10mlで3回洗浄を行なった．水層を除いた後，クロロホルム層を60°Cのウォーターバス上で乾固した．残渣に2mlの75％メタノールを加えて溶解したものを0.45μmのメンブランフィルターでろ過し，高速液体クロマトグラフ（HPLC）用試料とした．

2)　HPLCの測定条件[3]

装置は日本分光製，UVIDEC－100 Ⅲ，ポンプ部TWINCLEを用いた．カラムはナカライテスク社製，コスモシールパックドカラム5C18(I.D.4.6×150mm)を用いた．移動相は，メタノール／水＝75/25(V％)を用い，カラム温度35°C，感度0.08AUFS，流量0.2ml/min.，波長215nmで測定した．

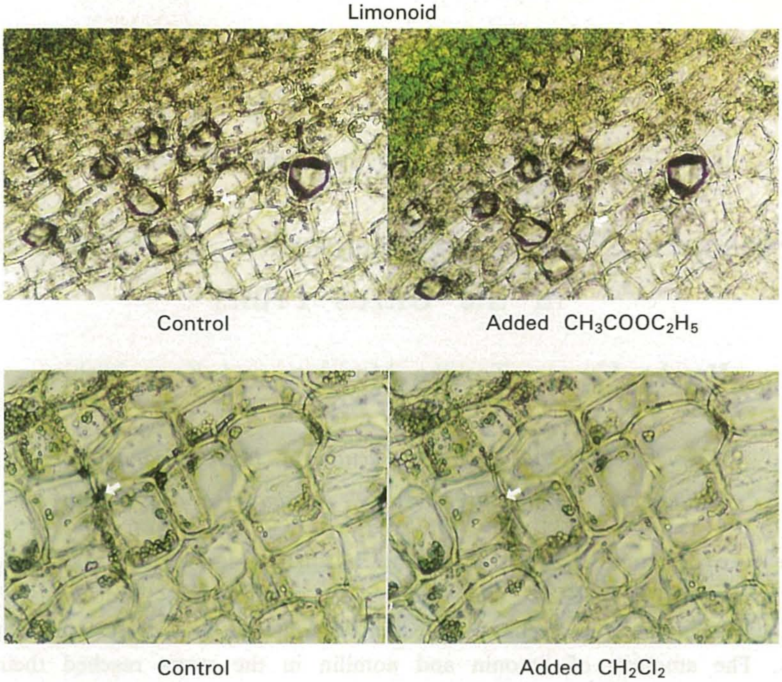

Fig. 1. Micrographs of longitudinal section of Banpeiyu stems

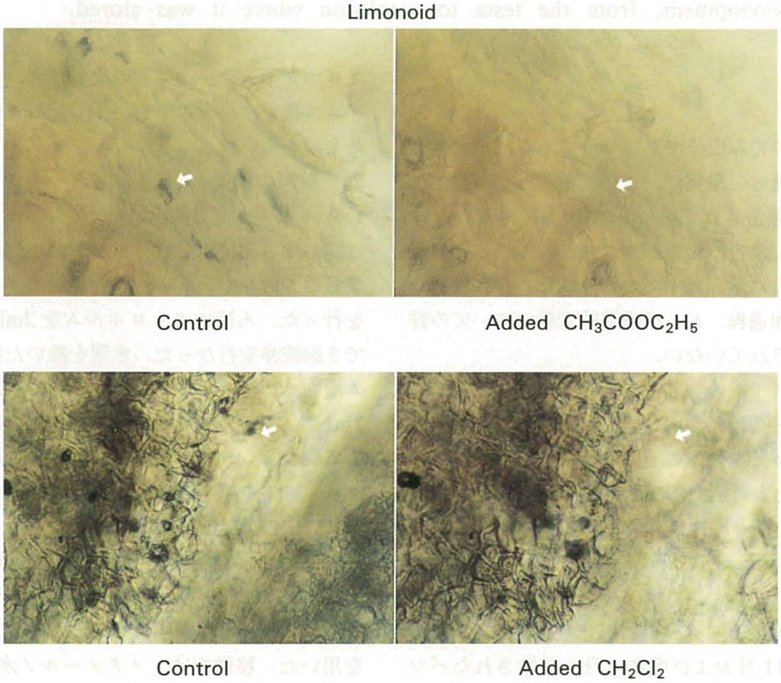

Fig. 2. Micrographs of cross section of Banpeiyu seeds

3) 顕微鏡観察

試料のバンペイユの茎および種子はフッカーミクロトームで厚さ約 24μ の切片を作成し，光学顕微鏡で組織の観察を行なった．

結果および考察

11 月採取のバンペイユ茎および種子の縦断面の検鏡を行った結果を Fig.1,2 に示した．茎では皮層周辺細胞に不定形の暗色の物質が認められたが，種子では内種皮の部分に不定形の物質が認められた．子葉および外種皮には認められなかった．これらの物質はいずれも Fig.1,2 に示したような酢酸エチル[4] および塩化メチレンに可溶であるためリモノイドと推定した．

次に季節毎の茎の各部位におけるリモノイド量の変化を測定した．バンペイユの茎をそれぞれ表皮，皮層および篩部の 3 つに分け，HPLC でリモノイドの測定を行なった結果を Fig.3 に示した．皮層に変動が最も多く 4 月から 6 月にかけて約 2.3 倍の増加がみられたが，6 月から 9 月にかけては減少し，以後再び増加した．次いで変動の多い篩部では 6 月から 9 月にかけて約 9 分の 1 に急減したが，以後大きな変動は見られなかった．表皮ではほとんど変動が見られなかった．

皮層および篩部において，リモノイドの季節的変動が見られ，表皮ではほとんど見られなかったことより，皮層，篩部においてリモノイドの移行が推定された．

また，篩部ではリモノエイト A 環ラクトンが顕著に認められた (Fig.4)．長谷川により，リモノイドはリモノエイト A 環ラクトンとして移動すると報告されていることより[5)6)]，リモノイドは篩部を移行することが示唆され，顕微鏡観察の結果と一致した．

さらにバンペイユの茎および葉中の各リモノイドの季節的変化を測定し，Fig.5 に示した．葉は 4 月までは前年度の 2 年目の葉を用い，6 月からは 1 年目の若葉を測定した．茎では 4 月にオバクノンとリモノエイト A 環ラクトンが検出されたが 6 月にはそれぞれ 57% と 75% に減少した．リモニンは 4 月から 6 月にかけて，またノミリンは 9 月から 11 月にかけて顕著な増加が認められ，リモノエイト A 環ラクトンとオバクノンの減少によりリモニンに代謝されたことが示唆された．葉では 4 月にオバクノンおよびリモニンが顕著に認められた．またノミリンは 6 月から 9 月にかけて 7% 増加したが，11 月にかけて急減した．ノミリンは葉より 2 ヵ月遅れて茎にピークを認めた．リモニンは葉では 4 月にピークが見られたが，茎では 6 月

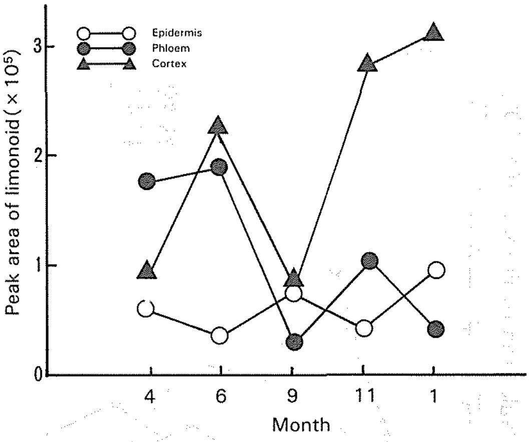

Fig. 3. Seasonal changes of limonoid in the parts of Banpeiyu stem

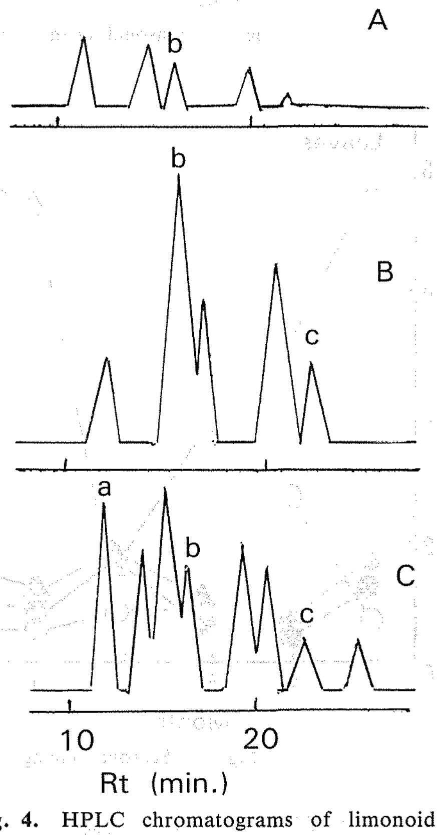

Fig. 4. HPLC chromatograms of limonoid extracted from Banpeiyu stem (June)
A: Epidermis B: Cortex C: Phloem
a: Limonoate A－ring lactone
b: Limonin c: Obacunone

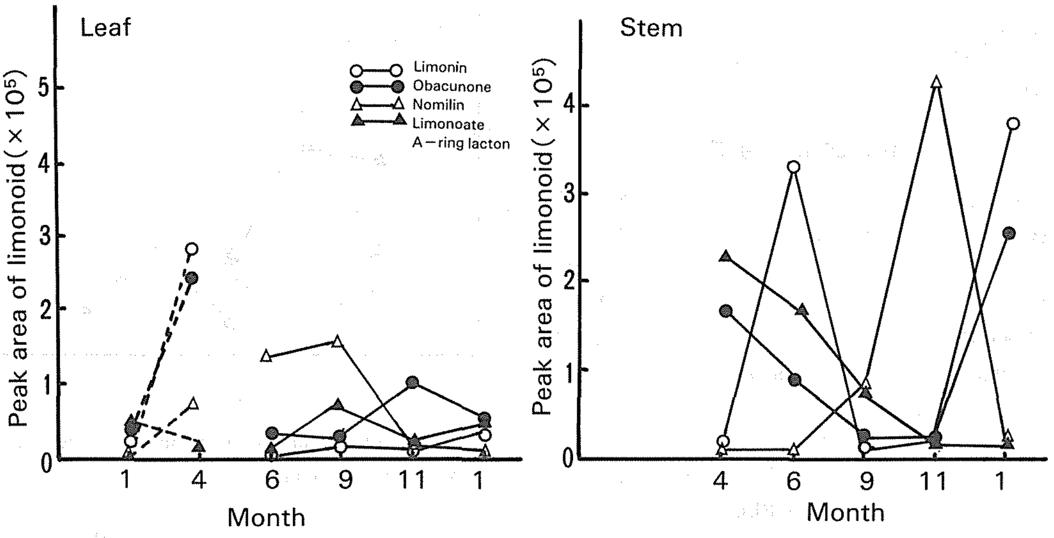

Fig. 5. Seasonal changes of limonoid extracted from Banpeiyu

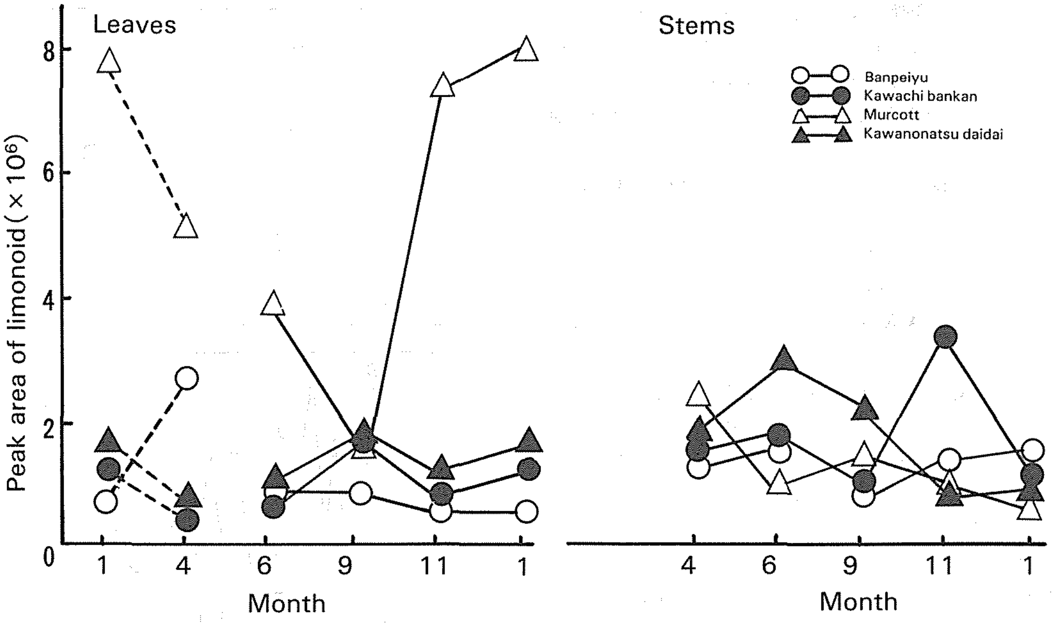

Fig. 6. Seasonal changes of limonoid in the various citrus

と1月にピークが認められ，ノミリンと同様に2ヵ月遅れにピークが示された．このことより，4月から6月にかけて葉から茎にリモノイドが転流したことが推定された．9月からバンペイユ果実の成育の初期段階であり，ノミリンが代謝して果実に蓄えられる準備期間であることが示唆された．また茎において4月から6月にかけてリモノエイトA環ラクトンが減少したことより，果実への移行が示唆された．

果実の種類によるリモノイドの季節的変動を検討するために，バンペイユ，河内バンカン，マーコット，川野ナツダイダイの四種類のカンキツについて季節的なリモノイド量の変化を測定し，Fig.6に示した．中

晩柑類であるバンペイユ，河内バンカン，および川野ナツダイダイは葉および茎で類似した季節的変動を示した．しかし，葉では，タンゴールの1種であるマーコットは4月で，他のカンキツの2から5倍のリモノイド量を有した．6月から9月にかけてリモノイドは減少傾向を示したのに対し，9月から11月にかけては顕著な増加を示した．さらに1月にも増加が認められ，これは次年度のリモノイドとして蓄積されると推定した．茎では中晩柑類の3種は4月から6月にかけて増加し，9月には減少傾向を示し，3種とも類似した変動を認めた．マーコットは4月から6月にかけて減少し，他の果実と逆の変動が見られた．マーコットの収穫は9月ごろであり，他の中晩柑類と収穫時期が異なることより，特に葉においてリモノイド量が少ない時期と果実の収穫時期が一致することを認めた．

茎中のリモノイドの減少より，果実への移行が推定されたため，バンペイユの果皮中のリモノイド量を時期を追って測定した結果をFig.7に示した．果皮におけるリモノイド量は6月の幼果で最も多く，成熟につれ減少し，1月では6月より78%の減少率を示し[7]，葉と同様に収穫時期と一致することを認めた．

果実中の移行経路にしたがい，種子中のリモノイドについて検討した結果をFig.8に示した．外種皮では9月から11月にかけてオバクノン，リモニン，ノミリンが急激に減少したのに対して，子葉では11月から1月にかけてリモニンが急激に増加した[8]．種皮と子葉のリモノイドの増減が相反し，リモニンが急増することより，種皮中のノミリン，オバクノンが子葉に移行し，代謝してリモニンとして蓄積されることが推定された[9]．蓄積したリモニンは，発芽時になんらかの影響を示すことが示唆された．

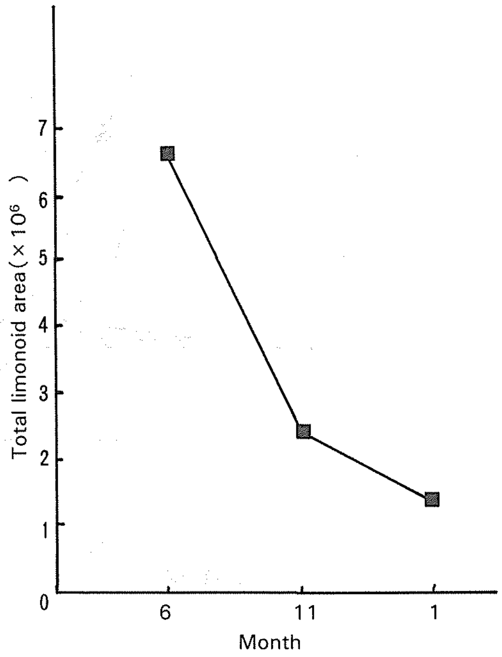

Fig. 7. Seasonal changes of total limonoid in the Banpeiyu peel

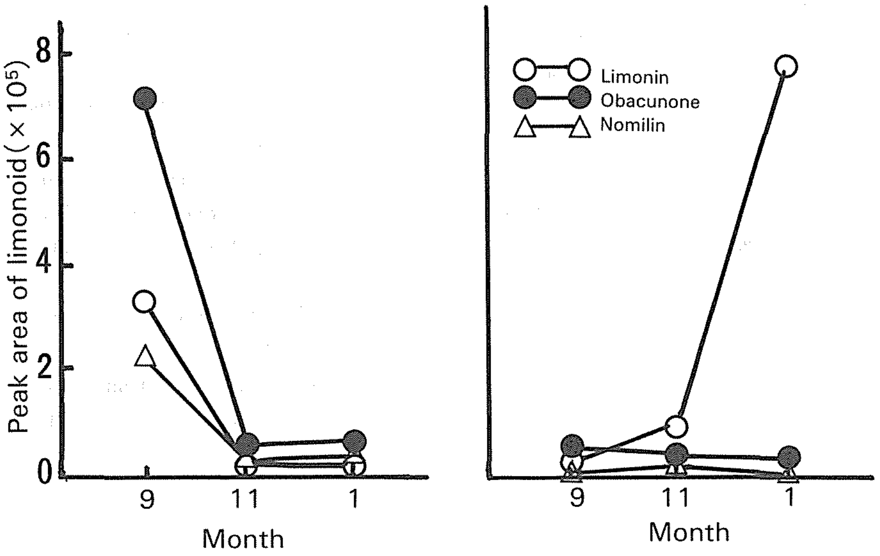

Fig. 8. Seasonal changes of limonoid in the parts of Banpeiyu seeds

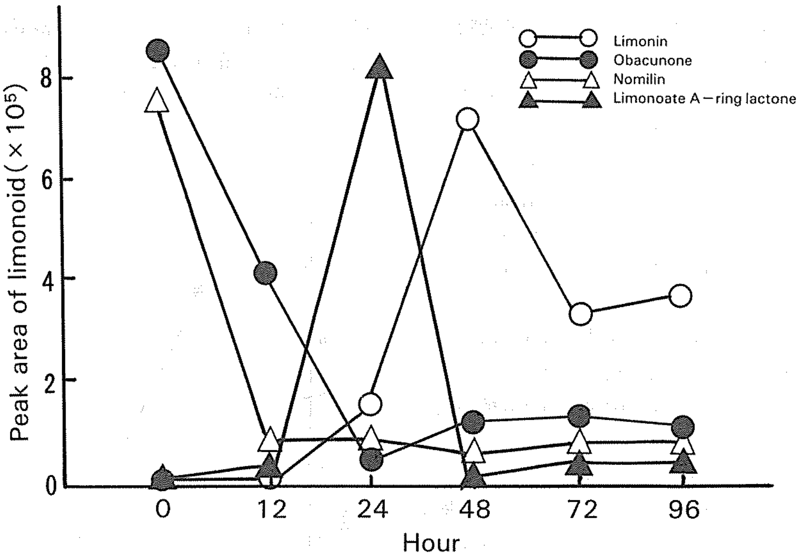

Fig. 9. Changes of limonoid in picked out seeds

ユズの種子を果実より摘出し，保存時間の経過によるリモノイド量の変化を測定した結果をFig.8に示した．ノミリン，オバクノンは摘出直後に多く，12時間から24時間でほぼ消失し，これに反してリモノエイトA環ラクトンは12時間後にはじめて検出され，24時間で約9倍，リモニンは24時間後にはじめて検出され，48時間で約8倍に増加した．また72時間後と96時間後ではほとんど変化は見られなかった．これより果実より摘出した種子中において短時間のうちにリモノイドの代謝が行なわれ，約72時間でノミリンからリモニンへの変化が進行したことが推定され，種子は果実から摘出された後も種子中でリモノイドの代謝が進行することが示唆された．種子摘出後のリモノイドの変化については更に検討中である．

以上のことより，苦みの代謝が植物の種の保存に大切な要因であることが推定された．

苦みを抑制するためには，リモニンを多く含有する種子や果皮が混入しないよう加工，調理を行なうことが肝要であると思われる．

文　献

1) 長谷川信，化学と生物，**21**，12，823－827 (1983)

2) 尾崎嘉彦，三宅正起，綾野茂，前田久夫，伊福靖，長谷川信，日本工業学会第38回大会講演要旨集，p.53，広島 (1991)

3) 森下敏子，陣内弘子，仲地久子，日食工誌，**32**，8，590，(1985)

4) 橋永文男，長谷川信，園学雑誌，**58**，別2，656－657 (1989)

5) S. Hasegawa, J. E. Hoagland, *Phytochemistry*, **16**, 469, (1977).

6) S. Hasegawa, R. D. Bennett and C. P. Verdon, *J. Agric Food Chem.*, **28**, 922, (1980)

7) 福原敬三，宮本等，日食工誌，**30**，11，642－649 (1983)

8) 橋永文男，伊藤三郎，*J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **51**, 4, 485－492 (1983)

9) S. Hasegawa, R. D. Bennett, C. P. Verdon, Citrus Res. conf. Pasadena California U.S.A.