

オオタチバナ果実 (*Citrus otachibana hort. ex Y. Tanaka*) の リモノイドの時期別変化

橋永文男・柳橋浩一・伊藤三郎

(青果保蔵学研究室)

昭和61年8月4日 受理

Seasonal Changes in Limonoids in Otachibana Fruit (*Citrus otachibana hort. ex Y. Tanaka*)

Fumio HASHINAGA, Koichi YANAGIHASHI and Saburo ITOO

(Laboratory of Postharvest Physiology and Preservation of Fruits and Vegetables)

緒 言

カンキツ果実の苦味成分はフラボノイド系とリモノイド系に大別される。前者にはナリンギン、ネオヘスペリジン、ポンシリン等があり、品種によりナリンギンを含むものと含まないものがある⁸⁾。後者は最も代表的なものにリモニンとノミリンがあり、大部分のカンキツ果実に含まれ、とくに種子やじょうのう膜に多い⁴⁾。

カンキツ果実のリモノイド含量には品種、成熟段階、部位により顕著な相違があることをすでに報告^{4,6)}した。しかし、鹿児島県の奨励品種に指定され、生産量が増加しているオオタチバナ果実のリモノイドについてはまだ不明である。オオタチバナはダイダイ区¹⁴⁾であるが、慣用的にブンタン類に入れられ⁷⁾、果面は平滑で黄色であり、短球形で600 g 位になる。加工用として利用する場合ナリンギンよりもリモノイドの苦味の方が重大な障害になる。そこで時期別に採取したオオタチバナ果実を部位別に分けてリモノイド含量を測定し、その消長を調べた。

材 料 と 方 法

1. 供試材料

実験に使用したオオタチバナ (*Citrus otachibana hort. ex Y. Tanaka*) は鹿児島県果樹試験場(垂水市)の8年生の2樹を指定し、1985年8月から5または6週間おきにM級果実を5個ずつ採取したのち、各樹ごとにリモノイドを測定して平均した。

2. リモノイドの測定

抽出法：5個の果実から4分の1または8分の1ずつを集め、各部位に分けたのち、果肉は40 g、じょうのう膜、アルベド、フラベドは10 g、種子を種皮と種核に分けてそれぞれ2 g ずつを採取した。果肉以外は

蒸留水30 ml を加えたのち、ブチルヒドロキシルエン (BHT) を10 mg ずつ添加し、ポリトロンで磨砕した³⁾。1N 塩酸で pH 3 に調整したのち5分間煮沸した。冷却後石油エーテル30 ml で3回脱脂したのち、0.05% BHT クロロホルム溶液30 ml でリモノイドを抽出し、さらに20 ml で2回再抽出した。減圧乾固後、2 ml のアセトニトリルに溶解し、-20℃に保存して薄層クロマトグラフィー用試料とした。

定量法：TLC プラスチックシート(シリカゲル60, 0.2 mm) を用い、標準試量にはナツミカンおよびブンタン種子から調製したリモニンとノミリンを使用した。リモノイド混合溶液(各1 mg/ml アセトニトリル)を5-50 μ l 塗布するとともに、抽出試液の果肉、アルベド、種皮は20 μ l、種核、フラベドは10 μ l、じょうのう膜は15 μ l を塗布した。クロロホルム-アセトン(9:1)で展開後、0.5% *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドのエタノール-硫酸溶液(9:1)を噴霧し、塩酸蒸気中で発色させた。定量には島津二波長クロマトスキャナー(CS-900型)を用いて透過光により700 nm を対照として550 nm の吸収を測定した。なおノミリン以外はすべてリモニンの検量線を用い、相対的な濃度で求めた。

結 果

1. 果実の形質

オオタチバナ果実は8月上旬にはすでに120 g 以上に達していて、以後10月まで急激に増加し(約400 g)、さらに2月の最終収穫日まで増え続け、平均果実重485 g を示した(Table 1)。部位別重量割合は8月では果皮が大部分(66%)を占めていた。9月以降はフラベド(14-18%)、じょうのう膜(6-10%)、種核(2.1-3.3%)は変化が少なかった。果肉は果実の肥大につれて増加したが、アルベド(32→21%)と種皮

Table 1. Characteristics of Otachibana fruit during maturation

Picking date	Average weight of fruit (g)	Component parts of fruit (g)						Percent of peel to fruit	Refractometer value (° Brix)
		Flavedo	Albedo	Segment membrane	Flesh	Seed coat	Kernel		
Aug. 5	125.7	28.2	54.1	13.0	22.6	5.4	2.4	65.5	—
Sep. 17	253.2	35.9	81.8	18.5	103.1	5.5	8.4	46.5	7.5
Oct. 29	394.6	64.3	117.3	22.3	174.9	5.7	10.1	46.0	7.7
Dec. 3	431.4	67.0	111.7	30.7	207.0	5.7	9.3	41.4	9.4
Jan. 7	470.9	83.5	97.2	42.8	231.4	6.1	9.9	38.4	9.7
Feb. 3	484.6	79.9	104.3	49.4	233.1	6.8	11.3	38.0	10.2

(2.2→1.3%)は減少して果皮率が47%から38%になった。

2. 果肉とじょうのう膜のリモノイド含量

果肉のリモノイド含量は Fig. 1 から分かるようにリモニン含量が最も高く、9月で70 ppm を示した。ついでノミリン、デオキシリモニンであり、これらは9月をピークとして減少したが、オバクノンは8月以後増加し、12月にピークを示した。じょうのう膜もリモニン含量が多く、成熟に伴う消長はあまり見られなかった。つぎにノミリン、デオキシリモニンが多く、これらは成熟につれて急減した。

3. 果皮のリモノイド含量

フラベドとアルベドに分けて測定した結果を Fig. 2 に示した。フラベドとアルベドはリモニン含量が他

のリモノイドに比べて最も高かったが、ノミリンとデオキシリモニンは8月から9月にかけて急減し、以後漸減した。これらのリモノイドは8月が最も高く、9月以後漸減し、両者とも同じ傾向を示した。

4. 種子のリモノイド含量

種子を種皮と種核に分けてリモノイドを測定した。Fig. 3 から明らかなようにオバクノン以外のリモノイドは他の部位に比べて多く、とくに種核に多くのリモノイドが含まれ、リモニンとノミリンは平行して12月まで急増し、リモニンは2,500 ppm に達し、以後漸減した。デオキシリモニンは8月から翌年の2月まで漸増した。種皮ではリモニン含量がとくに高く、ついでノミリン、デオキシリモニンであり、これらは時期別変化があまり認められなかった。

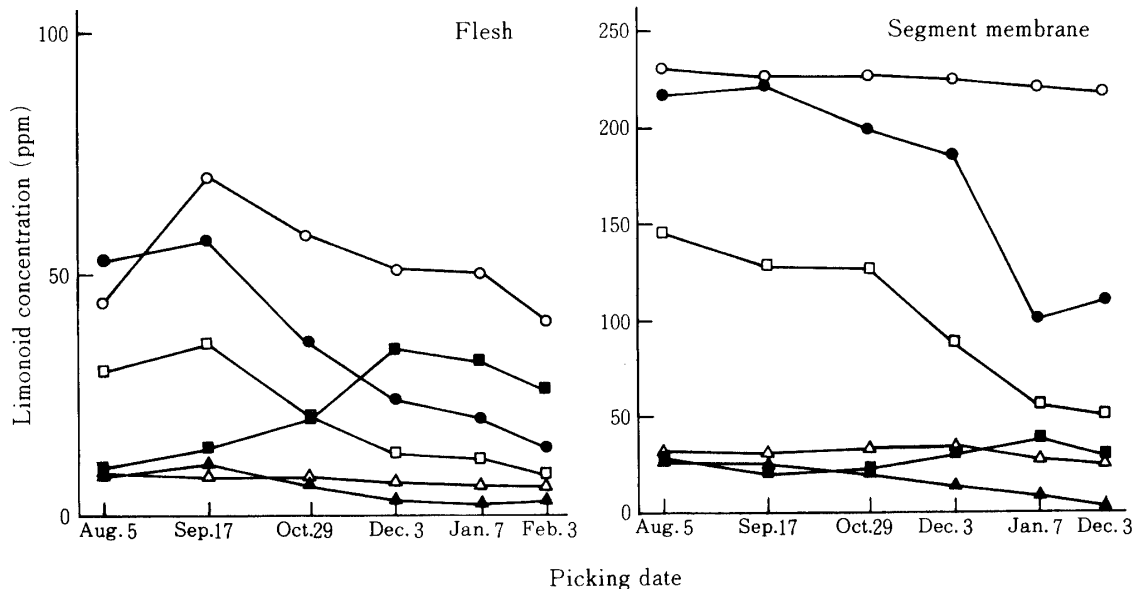


Fig. 1. Seasonal changes in limonoid concentrations in the flesh and segment membrane of Otachibana fruit.

○—○: Limonin, ●—●: Nomilin, □—□: Deoxylimonin, ■—■: Obacunone, △—△: Limonexic acid, ▲—▲: Deacetylnomilin.

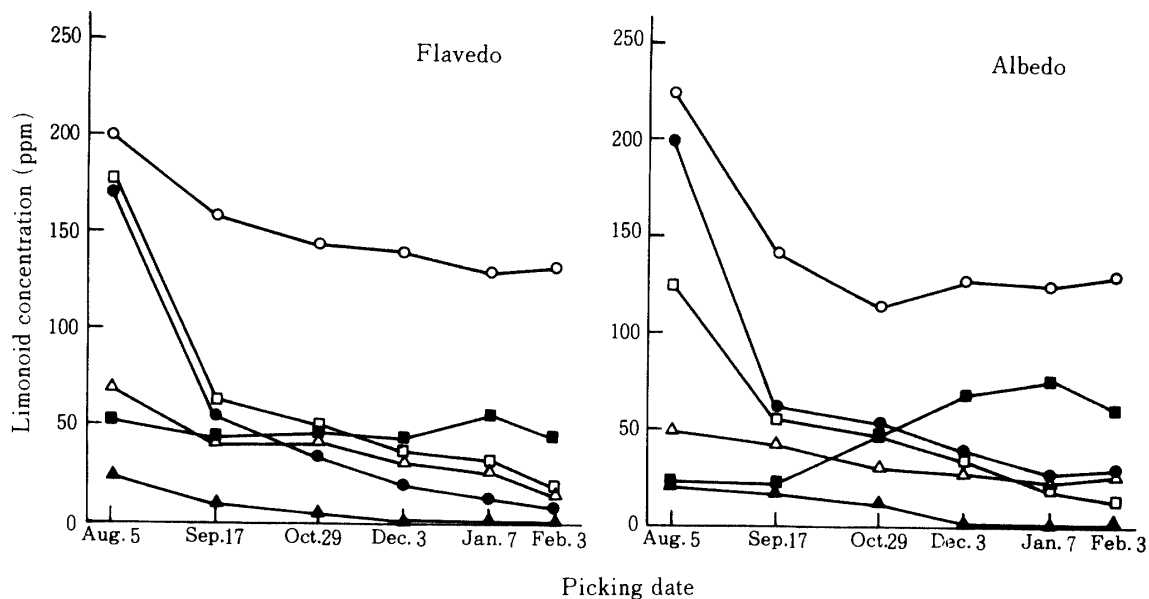


Fig. 2. Seasonal changes in limonoid concentrations in the flavedo and albedo of Otachibana seeds.

○—○: Limonin, ●—●: Nomilin, □—□: Deoxylimonin, ■—■: Obacunone, △—△: Limonexic acid, ▲—▲: Deacetylnomilin.

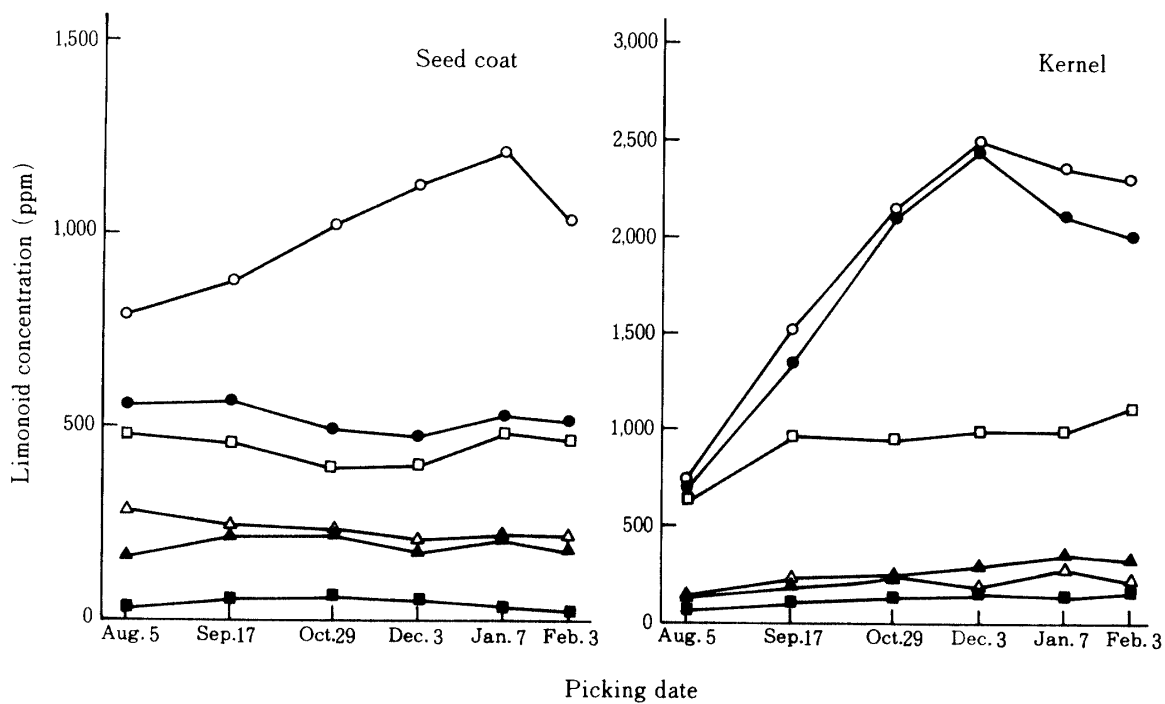


Fig. 3. Seasonal changes in limonoid concentrations in the seeds of Otachibana fruit.

○—○: Limonin, ●—●: Nomilin, □—□: Deoxylimonin, ■—■: Obacunone, △—△: Limonexic acid, ▲—▲: Deacetylnomilin.

5. 部位別リモノイド含量

部位別に全リモノイド濃度を合計し、その結果を Fig. 4 に示した。種核のリモノイドは8月から急増し、12月で6,700 ppm に達した。種皮では2,300 ppm から2,700 ppm に増加した。じょうのう膜、フラベド、アルベドでは成熟するにつれて漸減し、果肉では9月をピーク (216 ppm) にして減少し、2月で107 ppm になった。

6. 果実当たりのリモノイド含量

部位別濃度に果実の部位別重量 (Table 1) を掛け合わせて果実1個当たりのリモノイド含量を算出した (Fig. 5)。8月はアルベド、フラベド、種皮、じょうのう膜、種核、果肉の順に多くのリモノイドを含有していたが、10月まで種核と果肉のリモノイド含量が急増した。とくに種核のリモノイド含量は顕著であり、12月には種核、アルベド、果肉の順になった。

また果実当たりの部位別リモノイド含量の割合をみると、果実の肥大につれて、アルベド中のリモノイド含量の割合が減少するのに反比例して種核中のリモノイド割合が著しく増加した。

考 察

カンキツのリモノイド系苦味の測定にはリモニンのみを対象にしたものが多かったが、ノミリンもリモニンに劣らず重要な苦味成分として検出されるようになった^{2,4,6,11,12}。これらの測定には薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーが利用されるが、本実験では多数の試料を同時に測定できる TLC 法によった³。測定の対象とした6種のリモノイド以外に果皮に赤紫色のスポットが認められたが、リモノイド

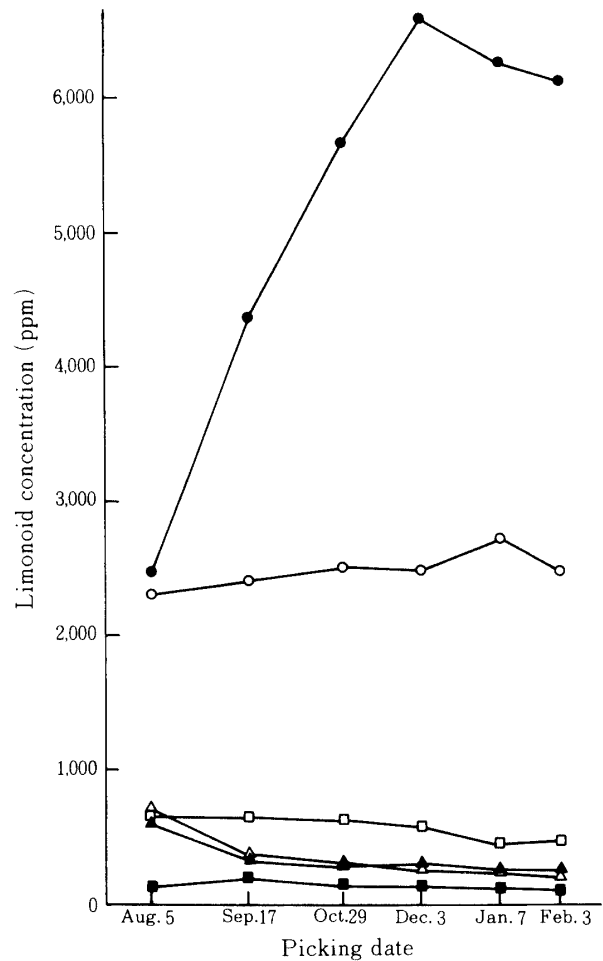


Fig. 4. Total limonoid concentrations in the component parts of Otachibana fruit.

●—●: Kernel, ○—○: Seed coat,
□—□: Segment membrane,
■—■: Flesh, △—△: Flavedo,
▲—▲: Albedo.

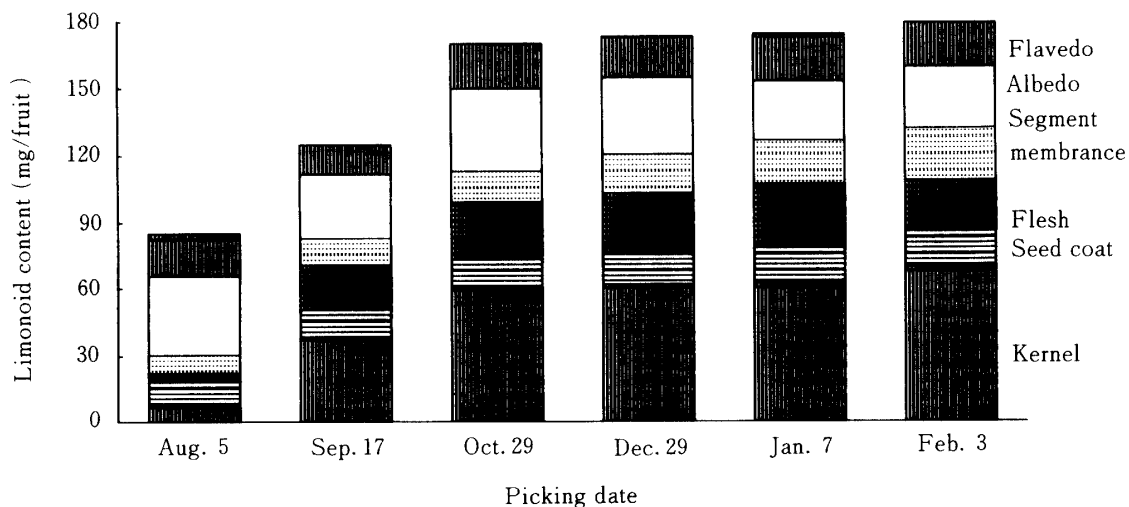


Fig. 5. Seasonal changes in limonoid content in the component parts of Otachibana fruit.

含量には加えなかった。なおこれはハッサク果皮に認められたものと同じ位置である⁵⁾。

オオタチバナ果実のリモノイド組成はすべての部位でリモニンが最も多く、これはノミリン含量の多いブンタンよりもハッサクやナツミカンに近い値^{5,6)}を示した。しかもハッサクの果肉のリモニンのピークは9月であることも一致している⁵⁾。果実のリモニン含量は他の果実に比べて多かったが、じょうのう膜のリモニン含量は少なく、アルベドやフラベドと同程度しか含まれてなく、他の果実のじょうのう膜⁴⁾よりも少ないことが分かった。ただオオタチバナの種子中のリモノイド含量は12月初めにピークを示していたが、その他のカンキツ種子のリモノイド含量のピーク時期はハッサク⁵⁾で11月、ブンタンとナツミカン⁶⁾で12月、ポンカン⁶⁾は12月以降、グレープフルーツ¹³⁾は1月、タンカン⁶⁾は2月以降であり、種子の充実とリモノイドの蓄積とが相関しているものと考えられる⁹⁾。また本実験では種子を種皮と種核に分けたが、さらに種皮の部分を外種皮と内種皮に分けたグレープフルーツ¹⁰⁾の実験では外種皮は内種皮に比べてかなり少ない結果が得られている。

じょうのう膜と種子では成熟するにつれて果実当たりのリモノイド含量が増加した。これはじょうのう膜のリモノイド濃度が果実の肥大に伴って減少したにもかかわらず、重量がそれ以上に増加したためである。果実当たりのリモノイドは12月に179 mgに達し、ブンタンとあまり変わらなかったが、これは種子のリモノイド濃度が高かったためであろう。ネーブルオレンジでは9月下旬にリモニンが最高値(47 mg/果実)に達しているが、これは種子へのリモニンの蓄積がないため早くなったのかもしれない¹⁾。Tanaka¹⁴⁾によるとダイダイ区であるオオタチバナは、ザボン区の本研究のリモノイド含量からもオオタチバナはブンタンよりもハッサクに近似した結果が得られ、果実内リモノイド成分からも系統的分類を裏付けるものであった。

要 約

オオタチバナ (*Citrus otachibana* hort. ex Y. Tanaka) 果実の苦味成分であるリモノイド含量を測定した。5または6週間ごとに果実を採取し、部位別に分けて、クロロホルムでリモノイドを抽出したのち、薄層クロマトグラフィーにより分離し、二波長クロマトスキャナーでリモノイドを定量した。

1. オオタチバナ果実の主要なリモノイドはすべての部位でリモニンであった。ただ種核においてはノミリンがリモニンよりわずかに少ない程度で平行して8月から12月まで増加した。

2. 部位別濃度は種核が最も高く、成熟につれて急増し、12月に最大になり新鮮重の0.67% (果実当たり179 mg) に達した。種皮のリモノイド濃度は0.25%で変わらず、その他の部位は成熟につれて減少し、0.1%以下であった。また果肉は100–200 ppmであった。

3. 各部位で最大のリモノイド濃度を示した時期はアルベド、フラベド、じょうのう膜が8月、果肉が9月、種核が12月、種皮が1月であった。

4. 果実当たりの全リモノイド含量はフラベド、アルベドでは成熟に伴う変化が少なかった。種皮ではわずかに増加し、果肉では果実の肥大に伴って増加したが、2月になると減少した。また種核ではとくに顕著な増加を示し、果実中のリモノイドの3分の1を占めた。

謝辞 オオタチバナ果実を提供いただいた鹿児島県果樹試験場に謝意を表す。

文 献

- 1) Casas, A. and Rodrigo, M. I. : Changes in the limonin monolactone content during development of Washington Navel oranges, *J. Sci. Food Agr.*, **32**, 252–256 (1981)
- 2) Hasegawa, S., Bennett, R. D. and Verdon, C. P. : Limonoids in citrus seeds : origin and relative concentration. *J. Agr. Food Chem.*, **28**, 922–925 (1980)
- 3) 橋永文男 : かんきつ類果実のリモノイドの測定法. 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編, 食品分析法. p. 777–784, 光琳, 東京 (1982)
- 4) Hashinaga, F. and Itoo, S. : Seasonal changes of limonoids in the component parts of several citrus fruits. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1981, **2**, 901–905 (1983)
- 5) 橋永文男・伊藤三郎 : ハッサク及びブンタン果実のリモノイドの時期別変化. 園学雑, **51**, 485–492 (1983)
- 6) 橋永文男・江島 宏・永浜秀人・伊藤三郎 : カンキツ類のリモノイドに関する研究. I. ポンカン, タンカン, 早生ウンシュウ, ナツダイダイ果実のリモノイド組成の時期別変化. 鹿大農学術報告, No. **27**, 171–180 (1977)
- 7) 岩政正男 : 柑橘の品種. p. 122–248, 静柑連, 静岡 (1976)
- 8) 神谷真太郎・江崎幸子 : 柑橘フラボノイド化学の最近の進歩. 日食工誌, **18**, 38–49 (1971)
- 9) McIntosh, C. A. and Mansell, R. L. : Distribution of limonin during the growth and development of leaves and branches of *Citrus paradisi*. *J. Agr. Food Chem.*, **31**, 319–325 (1983)

- 10) McIntosh, C. A., Mansell, R. L. and Louseff, R. L. : Distribution of limonin in the fruit tissues of nine grapefruit cultivars. *J. Agr. Food Chem.*, **30**, 689–692 (1982)
- 11) Rouseff, R. L. : Nomilin, a new bitterness component in grapefruit juice. *J. Agr. Food Chem.*, **30**, 504–508 (1982)
- 12) Rouseff, R. L. and Nagy, S. : Distribution of limonoids in citrus seeds. *Phytochemistry*, **21**, 85–90 (1982)
- 13) Scott, W. C. : Limonin in Florida citrus fruits. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, **83**, 270–277 (1970)
- 14) Tanaka, T. : Species problem in Citrus. p.152, Jap. Soc. Promotion Sci., (1954)

Summary

Limonoids, one of the citrus bitteresses, in Otachibana fruit (*Citrus otachibana* hort. ex Y. Tanaka) were determined. The fruits were picked at an interval of 5 or 6 weeks and divided into component parts. Limonoids were extracted with chloroform and analyzed with thin layer chromatography and with a chromatoscanner.

1. The major limonoid in all the parts of Otachibana fruits was limonin. Though the content of nomilin in the kernel (decoated seeds) was slightly lower than that of limonin, it increased rapidly from August to December as well as that of limonin.

2. The total limonoid concentration in the kernel increased sharply as the fruit matured, reaching its maximum level in December, counting 0.67% of the fresh weight (179 mg/fruit). Limonoid concentration in the seed coat was 0.25% of the fresh weight, without undergoing any change during the process of development. Limonoids in the other parts were less than 0.1% and limonoid in the flesh was 100–200 ppm during the fruit maturation.

3. The limonoid concentrations in albedo, flavedo and segment membrane reached the maximal levels in August. On the other hand, limonoid concentration in the flesh, kernel and seed coat reached the maximal levels in September, in December and in January, respectively.

4. The total limonoid contents of flavedo and albedo in Otachibana fruits showed little change during development. Limonoid contents in the seed coat and in the flesh increased during fruit growth and then decreased in February. Limonoid content in the kernel increased rapidly, showing one third of the total amount of limonoids.