

マルブッシュカン果実(Citrus medica L.)の成熟に伴うリモノイド含有量の変化

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
著者名	蔡,護華 Kharel,G.P. 橋永,文男
発行元	園藝學會
巻/号	62巻1号
掲載ページ	p. 215-220
発行年月	1993年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



マルブッシュカン果実 (*Citrus medica* L.) の成熟に伴う リモノイド含有量の変化

蔡 護華・ガンガ プラサド カレル・橋永文男

鹿児島大学農学部 890 鹿児島市郡元

Changes in the Limonoid Content during Development of Citron Fruit (*Citrus medica* L.)

Huhua Cai, Ganga Prasad Kharel and Fumio Hashinaga

Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890

Summary

Limonoid compounds are bitter principals in the citrus fruit. The changes of limonoid in the component parts, seed, flesh, segment membrane, albedo and flavedo, of the citron fruit (*Citrus medica* L.), obtained from Azuma town, Kagoshima Prefecture, during the development from November to February were investigated. Limonoids were extracted with ethylacetate and analyzed with high performance liquid chromatography.

1. Different from many other citrus fruits, such as 'Wase satsuma mandarin', 'Natsudaidai' etc., nomilin was a major limonoid in all the parts of citron fruit except seed, in which the content of nomilin was next to that of limonin.

2. The total limonoid concentration in the seed was highest, ranging from 3,270 to 1,600 ppm, followed by segment membrane (350→310 ppm), albedo (250→150 ppm), flavedo (225→150 ppm) and flesh (45→30 ppm) from November to February.

3. In mature citron fruits, total limonoid content reached the maximal levels in November, and then decreased rapidly in December and then increased slightly in February.

4. During the maturation of the citron fruit from December to February, the total limonoid concentration in all parts except the albedo increased rapidly, followed by a rapid decrease in the over ripe stage. Limonoid concentrations continuously increased during maturation in the albedo and in the flesh from 4 to 15 ppm and from 55 to 170 ppm, respectively.

緒 言

マルブッシュカンはインド北東部の原産であり、ヨーロッパに古くから導入されていたカンキツである。中国では、紀元前数世紀に栽培されていた。日本では導入は古いといわれているが、耐寒力が弱いため、生産量が少ない。現在、鹿児島県出水郡東町と奄美諸島の沖永良部島、知名町でつくられているが、中国より琉球を経て伝わったものと考えられる。果実は黄色紡錘形で、1個350g位あり、芳香性の少酸カンキツである(木村・谷中, 1990)。

マルブッシュカン果実の果皮は極めて厚く(果皮率約77%)、果肉は果汁が少ないため生食されていない。

西欧では果皮が糖果として珍重されているため、イタリア、フランスなどで生産されている。日本では漬物、マルブッシュカン・ワインとして利用されているが、苦味やあくがあるため、加工処理工程において脱苦味を必要とする。

一方、バレンシアオレンジ中の苦味成分については最初Higby(1938)によって報告されたが、のちにリモニンであることが確認された。リモニン以外にカンキツ果汁のフレーバーに関連する苦味物質をKefford(1959)はリモノイドと命名した。このトリテルペノイドの一種である(Eskin, 1979)リモノイドはすべてのカンキツ果実に存在し、品種によっては搾汁することにより強い苦味を生ずるものがある。通常、果汁中でのリモニンやノミリンの閾値はナリンギンの約

1/50 であり、極めて低濃度で苦味を呈する。そのためカンキツ加工産業においては品質劣化要因の一つとして重大な問題となっている。特に、ネーブルオレンジ、ハッサク等はリモノイドの苦味のため果汁としての利用は困難である (Guadagni ら, 1973; 橋永ら, 1977, 1990)。

最近、ある種のリモノイドには、腫瘍形成の抑制効果が見出され (Lam ら, 1989; Miller ら, 1989), さらに昆虫に対する摂食阻害作用についても報告されており (Alford・Bentley, 1986; Bentley ら, 1990; Serit ら, 1991), 忌避剤として応用される可能性も持っている。現在、カンキツ果皮などの主要な用途としては家畜用の飼料や発酵原料, ジャムやマーマレード, 精油, 医薬品などがあるが, さらにリモノイドの重要な回収源となる可能性も大きい。

そこで、温暖な地方で生産され、漬物として利用されているマルブッシュカン果実の苦味の原因を明らかにするため、著者らは、マルブッシュカンの異なる採取時期における熟度別及び部位別のリモノイド含量を分析し、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

本研究用マルブッシュカン果実は鹿児島県東町産であり、1990年11月27日、12月18日および1991年2月9日に採取し、未熟 (IM)、適熟 (M)、過熟 (OR) にわけて分析した。また、各部位のリモノイド含量を調べるため、果実を種子、じょうのう膜、果肉、アルベド (中果皮)、フラベド (外果皮) の各部位にわけて使用した。11月採取果は適熟のみで、果肉は40g、じょうのう膜、アルベド、フラベドはそれぞれ10g、種子は2.0gを採取した。12月採取果は、未熟、適熟、過熟のいずれも果肉、じょうのう膜、アルベド、フラベド、種子をそれぞれ10、5.0、5.0、5.0、1.0gずつ用い、2月採取果は、未熟、適熟の2種類を採取し、12月の果実と同様に処理した。

リモノイドは、試料と水20mlを100mlのピーカーに入れて磨砕したのち、pHを3にし、酢酸エチルで2回抽出した。抽出液をエバポレーターで減圧乾固後アセトニトリルで2mlに定容した。その後、試料を高速液体クロマトグラフ、島津製 LC-6A (ODS カラム 4.6×250mm, カラム温度を40℃) を使用し、アセトニトリル濃度を30%から60%に上げながら溶離し (0.8 ml・min⁻¹, 60分), 210nmの吸光度で定量した。

結 果

1. リモノイドの定量法の検討

標準物質として使用したリモノイドのクロマトグラフィと適熟マルブッシュカン種子 (11月27日採取果) の中性リモノイドのクロマトグラフィを第1図に示した。図に示した条件では、各リモノイドの溶出順序はデオキシリモニン (DOL), イチャンギン (I), デアセチルノミリン (DAN), リモニン (L), ノミリン (N), オバクノン (O) の順であった。特に、リモニン、ノミリンは高い値を示した。ここで用いた適熟果実は完全着色し、種子は充実したものである。

2. 部位別のリモノイド

1) 果肉のリモノイド含量: 果肉のリモノイド濃度の採取時期における変化を第2図に示した。ノミリン含量が最も高く、その次は、リモニンで、比較的高い値を示した。次いでデアセチルノミリン、デオキシリモニンの順であった。

2) じょうのう膜のリモノイド含量: 第3図から明らかのように、果肉と同様に、じょうのう膜でもノミリンは最も多く、11月採取果のじょうのう膜のノミリン含量は170ppmの最高値に達した。まとめてみると、採取の時期によって、各リモノイドの含量は相当異なっていた。時期別にみると、12月、2月の採取果実も11月とほぼ同様な傾向を示したが、2月では、12月よりリモノイドの含量はわずかに増加した。

3) フラベドとアルベドのリモノイド含量: 本研究では、果皮をフラベドとアルベドにわけて、これらのリモノイドの測定結果を第4図と第5図に示した。図より明らかのように、各リモノイドの含量はノミリン、リモニン、デオキシリモニン、デアセチルノミリン、イチャンギン、オバクノンの順に少なくなった。そのうち、特にノミリン、リモニンが高い値を示した。11月採取適熟果実のノミリン含量は110ppmに達した。採取時期の異なる適熟果の各リモノイドを比べてみると、11月採取果実が一番多く、その後急に減少し、2月になると、少し増加した。

4) 種子のリモノイド含量: 種子中のリモノイドの測定結果を第6図に示した。図より、種子中のリモノイドの割合は他の部分とやや異なって、最も高い濃度を示したのはリモニンであった。次いで、ノミリン、デアセチルノミリン等の順に少なくなった。また、リモニン、ノミリンの量をあわせると、第1表に示したように、総リモノイド濃度の約90%を占めていた。

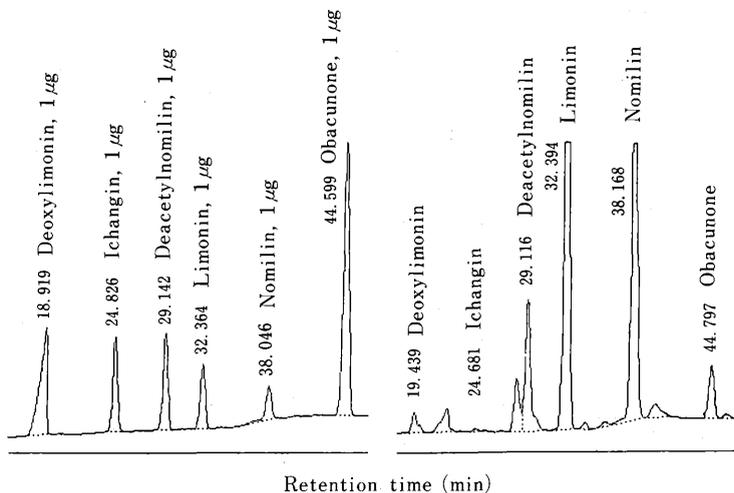


Fig. 1. HPLC tracings of neutral limonoid standards (left) and those obtained from mature citron seeds (right). Analytical conditions: Nucleosil 7C₁₈ reverse phase chromatography column (4.6 × 250 mm); solvent, 30 to 60% acetonitrile (60 min); flow rate 0.8 ml · min⁻¹; wavelength, 210 nm.

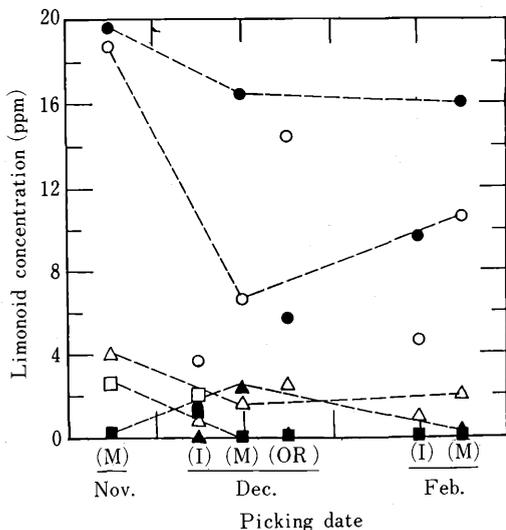


Fig. 2. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations in the flesh of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits. □, Deoxylimonin; ■, Ichangin; △, Deacetylnomilin; ○, Limonin; ●, Nomilin; ▲, Obacunone.

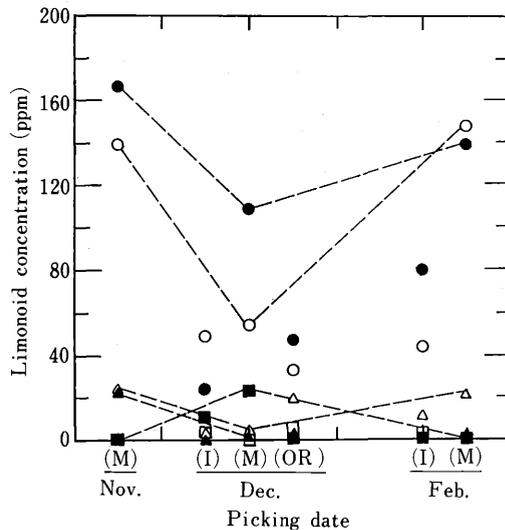


Fig. 3. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations in the segment membrane of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits. □, Deoxylimonin; ■, Ichangin; △, Deacetylnomilin; ○, Limonin; ●, Nomilin; ▲, Obacunone.

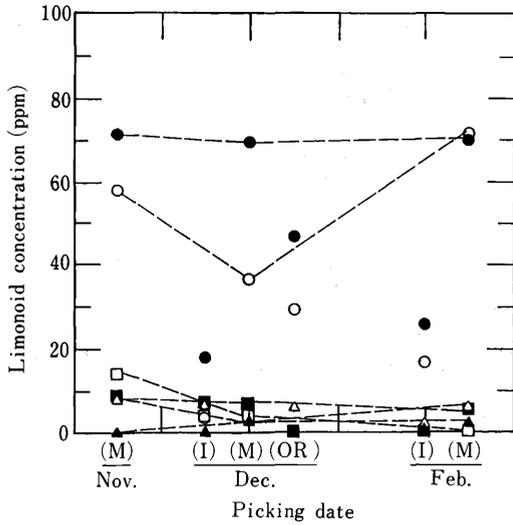


Fig. 4. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations in the flavedo of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits.
□, Deoxylimonin; ■, Ichangin; △, Deacetylnomilin; ○, Limonin; ●, Nomilin; ▲, Obacunone.

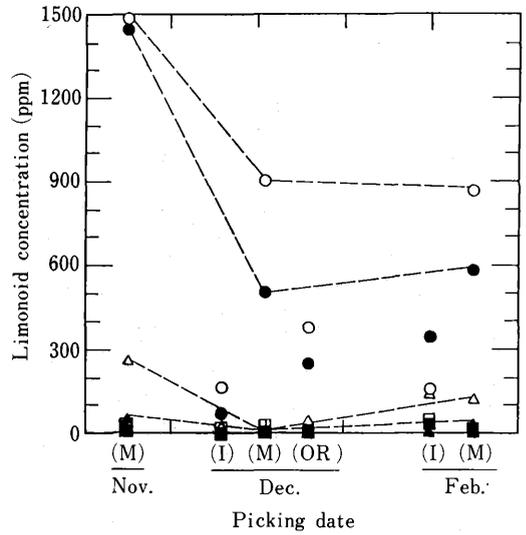


Fig. 6. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations in the seed of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits.
□, Deoxylimonin; ■, Ichangin; △, Deacetylnomilin; ○, Limonin; ●, Nomilin; ▲, Obacunone.

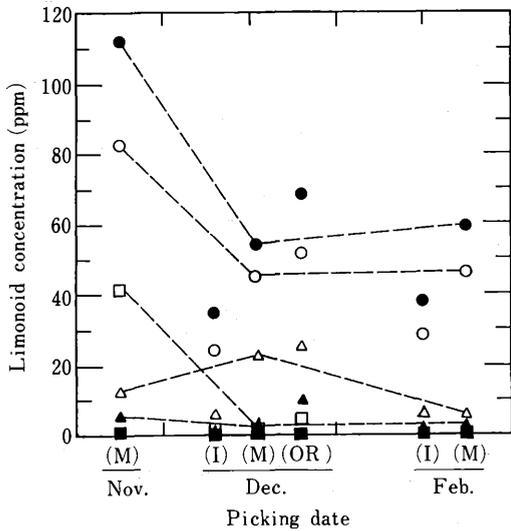


Fig. 5. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations in the albedo of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits.
□, Deoxylimonin; ■, Ichangin; △, Deacetylnomilin; ○, Limonin; ●, Nomilin; ▲, Obacunone.

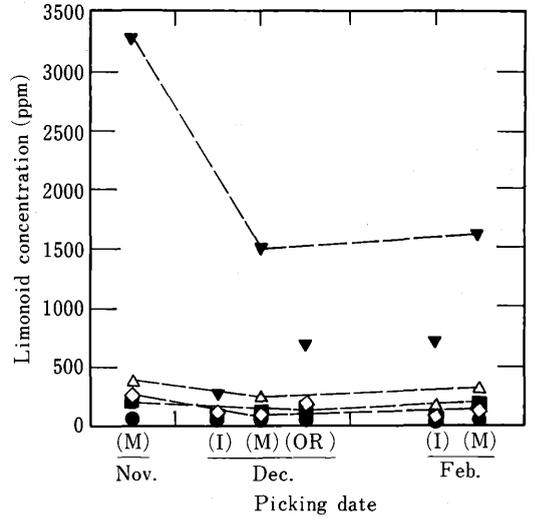


Fig. 7. Seasonal Changes (---) in limonoid concentrations of mature (M) citron fruit. I and OR represent immature and over-ripe fruits.
●, Flesh; △, Segment membrane; ■, Flavedo; ◇, Albedo; ▼, Seed.

Table 1. Limonoid concentration in mature citron seed in November.

Limonoids	Concentration (ppm)	Relative concentration (%)
Limonin	1,490	45.5
Nomilin	1,450	44.3
Deacetylnomilin	263	8.0
Obacunone	37	1.1
Deoxylimonin	29	0.9
Ichangin	6	0.2
Total limonoid	3,275	100

11月、12月および2月の3時期の適熟果実中の種子部分のリモノイドを比べると、果肉、果皮と同じように、11月が最も多かったが、12月は少なくなり、2月になると、再び増加することがわかった。

3. 熟度別のリモノイド

マルブッシュカン果実のリモノイドの熟度別変化については、著者らは12月採取果を未熟、適熟および過熟の3種類、2月採取果を未熟と適熟の2種類にわけて採取した。それらのリモノイド含量をそれぞれ第2~6図に示し、それらをまとめた第7図から明らかかなように、未熟から適熟の成熟過程において、果肉、じょうのう膜、フラベドおよび種子中のリモノイド含量が増加した。その後、過熟に至る過程では減少したが、しかし、第5図に示した12月採取果のアルベドだけは未熟から過熟のすべての成熟過程で各リモノイド濃度が増大する傾向を示した。

以上述べたように、部位別のリモノイド含量の順序は熟度、採取時期の違いにもかかわらず、果肉、フラベド、アルベド、じょうのう膜、種子の順に多くなることが第7図より明らかになった。

考 察

マルブッシュカンは中晩生カンキツのハッサクヤブントン等のように、主要な苦味物質はナリンギンとリモノイドの両方であるが、本報告ではリモノイドについてのみ調べた。種子を除くすべての部位においてノミリン含量がリモニンより多かった。ノミリンとリモニンが主成分であることは著者ら(橋永ら, 1977, 1983, 1987, 1990)のカンキツ果実のリモノイドに関する報告と一致している。特に、ブントンの果肉、アルベドとじょうのう膜のリモノイドはノミリンが最も多く含まれている結果を報告している(橋永ら, 1983)。

リモノイドの測定は高速液体クロマトグラフィーを利用したが、同時に、各試料を薄層クロマトグラフィーによって確認した。測定対象とした上述の6種のリモノイド以外に果皮またはじょうのう膜に赤紫色あるいはピンク色のスポットが認められたが、ピンク色はリモノイドから除外され、他の赤紫色のリモノイドもリモノイドの総含量には加えなかった。

リモノイドにはリモニン系のリモニン、イチャンギンとオバクノン系のノミリン、ノミリン酸、オバクノン酸などが苦味を呈するといわれている(Hasegawa, 1989; Rouseff, 1982)。マルブッシュカン果実のうち、リモニンとノミリンの割合は極めて高いため、他のカンキツ(橋永ら, 1983)と同様に、マルブッシュカンもリモニン、ノミリンに依存する苦味が主なものと考えられる。

マルブッシュカン果実の各部分のリモノイドの分布結果より、果肉のリモノイドの合計量は11月で45 ppmあり、しかも、このうちのノミリン含量が20 ppmを占めているので、果汁としての使用し難い現状と一致している。アルベドのリモノイド濃度は最高300 ppmにものぼり、このうちの約9割は苦味を有するリモニンとノミリンであった。これらのうちノミリンは果汁においてリモニンの約2倍の強さの苦味を有している(橋永ら, 1977)。したがって、マルブッシュカン果皮の主な苦味源としてはノミリンであると推察される。

マルブッシュカン果実のすべての部位で成熟につれて、リモノイド含量が増加した。これは果実の肥大が伴っているため、果実重の増大以上にリモノイド濃度が増えたことを示している(Casas・Rodrigo, 1981; Scott, 1970)。また、アルベド以外の部位では、適熟から過熟までの間にリモノイド濃度が減少したことについては、リモノイドの分解とともに、一部のリモノイドはリモノイドグルコไซด์に変化したものと思われる。

摘 要

マルブッシュカン果実(鹿児島県東町産)を11月、12月と2月に別々に採取し、部位別、熟度別にわけて、酢酸エチルでリモノイドを抽出したのち、高速液体クロマトグラフィーを用いてリモノイド含量を測定した。

1. 他の多くのカンキツ果実、例えば、早生ウンシュウミカン、ナツダイダイなどと異なって、マルブッシュカンの主要なリモノイドは種子以外のすべての部

位でノミリンであった。ただ種子ではノミリンはリモニンの次に多かった。

2. 部位別のリモノイド濃度は種子が最も高く (11月, 3,270 ppm), 次いでじょうのう膜, アルベド, フラベド, 果肉 (11月, 45 ppm) の順に少なくなった。

3. すべての部位で最大のリモノイド濃度を示した時期はいずれも 11月の採果であった。適熟果を採取時期で比較すると, 11月に最も多く, 以後減少し, 2月になるとわずかに増加した。

4. アルベド以外のすべての部位では, 未熟から適熟まではリモノイド濃度が急増したが, 適熟を過ぎると, 大きく減少した。特に, 12月の種子では顕著であった。これに反して, 果肉のリモニンおよびアルベドのリモノイドの濃度は未熟から過熟までの全過程で増加した。

謝 辞 マルブッシュカン果実を提供して頂いた鹿児島県東町に深く謝意を表する。

引用文献

- Alford, A. R. and M. D. Bentley. 1986. Citrus limonoids as potential antifeedants for the spruce budworm (Lepidoptera : tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 79 : 35-38.
- Bentley, M. D., M. S. Rajab., M. J. Mendal and A. R. Alford. 1990. Limonoids model insect antifeedants. *J. Agric. Food Chem.* 38 : 1400-1403.
- Casas, A. and M. I. Rodrigo. 1981. Changes in the limonin monolactone content during development of Washington navel oranges. *J. Sci. Food Agric.* 32 : 252-256.
- Eskin, N. A. M. 1979. 植物性食品の色素・香味・組織—その化学と生化学— (川村信一郎訳). p. 78-91. 医歯薬出版株式会社. 東京.
- Guadagni, D. L., V. P. Maier and J. C. Turnbaugh. 1973. Effect of some citrus juice constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness. *J. Sci. Food Agric.* 24 : 1277-1288.
- Hasegawa, S. 1989. Biochemistry and biological removal of limonoid bitterness in citrus juice. p. 84-96. In : J. J. Jen (ed.). *Quality factors of fruits and vegetables chemistry and technology.* Maple Press, York, PA.
- 橋永文男・江島 宏・永浜秀人・伊藤三郎. 1977. 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.* 27 : 171-180.
- 橋永文男・伊藤三郎. 1983. 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.
- Hashinaga, F. and S. Ito. 1983. Seasonal changes of limonoids in the component parts of several citrus fruits. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 2 : 901-905.
- 橋永文男・柳橋浩一・伊藤三郎. 1987. 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. *鹿大農学術報告.* 37 : 65-70.
- 橋永文男・ザレブ ハーマン・長谷川 信. 1990. ユズ種子中のリモノイド. *日食工誌.* 9 : 380-382.
- Higby, R. H. 1938. The bitter constituents of Navel and Valencia oranges. *J. Amer. Chem. Soc.* 60 : 3013-3018.
- Kefford, J. F. 1959. The chemical constituents of citrus fruits. *Adv. Food Res.* 9 : 285-372.
- 木村勝太郎・谷中登希男. 1990. 香酸柑橘Ⅱ. p. 97-99. 原田印刷出版. 徳島.
- Lam, L. K. T., Y. Li and S. Hasegawa. 1989. Effect of citrus limonoids on glutathione S-transferase activity in mice. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 878-880.
- Miller, E. G., R. Flanous, F. Rivera-Hidalgo, W. H. Binnie, S. Hasegawa and L. K. T. Lam. 1989. The effect of citrus limonoids on hamster buccal pouch carcinogenesis. *Carcinogenesis* 10 : 1535-1537.
- Rouseff, R. L. 1982. Nomilin, a new bitter component in grapefruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 30 : 504-507.
- Scott, W. C. 1970. Limonin in Florida citrus fruits. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 83 : 270-277.
- Serit, M., M. Ishida, M. Kim, T. Yamamoto and S. Takahasi. 1991. Antifeedants from *Citrus natsudaidai* Hayata against Termite *Reticulitermes speratus* Kolbe. *Agric. Biol. Chem.* 55 : 2381-2385.