シンビジウムの花色についての研究 (第1報)

花被中のアントシアニンについて

杉山 晃・木下昌子*・加古舜治・大野 始・榊原孝平

(名古屋大学農学部)

Studies on the Flower Color of *Cymbidium*

I. Properties of Anthocyanins in the Flowers

Akira SUGIYAMA, Masako KINOSHITA, Shunji KAKO,

Hajime OHNO and Kohei SAKAKIBARA

Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya

Summary

Two anthocyanins have been isolated from various species and hybrids of *Cymbidium* by the authors.

To characterize these anthocyanins, an attempt has been made in which the properties of acid hydrolysates and absorption spectra of pigments in brown red flowers of *Cymbidium Sazanami* var. *Haruno-umi* were examined.

Two pigments (U and L) were chromatographically and paperelectrophoretically separated and isolated from the 1% MeOH-HCl extracts of petals and sepals. L, one of them, was identified as cyanidin 3-glucoside (chrysanthemin) and the other as a derivative of it.

No cinnamic acid was identified which could correspond with the properties of their coincident absorption maximum of acyl peak, ($\lambda_{\max}=300\sim340$ nm).

Due to the ratio of $E_{440}/E_{\max}$ it was demonstrated that the two pigments were chrysanthemin derivatives, and by the enzymic analysis, that their sugar residues were composed of glucose only.

In conclusion, L is cyanidin 3-glucoside (chrysanthemin), and U must be cyanidin 3-diglucoside.

A new calculation method for anthocyanin content has been compared with the usual method.

In the former the extracts with NaCl saturated water were used to draw a calculation curve, while in the latter ones extracts with 1% MeOH-HCl were used.

The new method was suitable for calculation of anthocyanin content, because extraction was easier and of higher quality than for the usual one. Further, by using the new method flower colors may be corresponded with the spectra of their extracts.

緒 言

小型シンビジウムは洋ランの中では栽培が容易で、商品としても比較的大衆性をもっている。また品種としての特性(色、草姿など)もバラエティーに富んでいるといえる。しかし、その花色は栽培条件、とくに温度条件の影響を受けやすく、鮮明な花色の確保に関する研究が十分なされているとはいえない。それは、一つには花色

についての基礎的調査の不足にもあると考えられる。

著者らは、現在小型シンビジウムの発育と開花に関する一連の調査をすすめている。その結果、栽培条件、とくに温度条件が花色発現に影響を及ぼすことを知った。しかし、花色発現に主要な役割を果たしているアントシアニン色素についての資料は、これまでのところ皆無に等しい。そこで、花色発現に関するアントシアニン色素の種類および構成を知る必要があった。それを知ることが、今後の花色変異の研究のための基礎的資料となり得るも

1975年7月8日 受理

* 現愛知県西尾市役所公害課

Fig. 1. Extraction, separation and refinement of anthocyanins in petals and sepals of *Cymbidium Sazanami* var. *Haru-no-umi*.

Fig. 2. Extraction of (genuine) anthocyanins in petals of *Cymbidium Sazanami* var. *Haru-no-umi*.

のであると考えられるし、また分子レベルでの花色の遺伝的研究にも貢献し得るであろうと考えられるからである。

一方、近年アントシアニン色素の研究について、新しい方法が確立されつつあるように見える(2, 3, 7, 8, 11, 15, 16, 17, 18, 19)。

また後藤ら(1975)は、コンメリニンの研究から、アントシアニン色素を無鉱酸的に抽出する際、濃厚な塩(たとえば飽和食塩水)の溶液中では色素は安定した形で抽出され、かつその溶液の色は花弁自体のそれと近似して

いるので、花色研究に対して本抽出法が有効であることを示唆した。

そこで、本実験では、シンビジウムの花被片中のアントシアニンの基本的性質を明確にすることと合わせて、後藤ら(1975)の方法が、従来のメタノール性塩酸による実験法と比較して、どの程度の有効性を有するかを調べた。

材料と方法

材料 花茎が 15cm 前後になった小型シンビジウム *Cymbidium Sazanami* var. *Haru-no-umi* を温室からファイトロンの低温室(9~13℃)に移し、開花させた。その花被片(がく片、花弁およびしん弁)を以下の実験に供した。

抽出と分類 ① アントシアニン(クロライド)についてアントシアニンの抽出・分離と精製は第1図に示した。

② アントシアニン(ジェヌインタイプ*)について、中性条件でアントシアニンを抽出し、その吸収スペクトルを測定し、またその抽出液を定量試験に供した。色素抽出の手順は第2図に示した。

アントシアニンの定性実験法と結果

① アントシアニンのペーパークロマトグラフィー(PPC) 分離精製した(第1図)アントシアニン(UとL)のPPCを、溶媒を変えて行なった。またUとLの混合溶液から、通常の方法で塩酸加水分解によってアグリコン(イソamilアルコール画分)を得、これについても同時にPPCを行なった(第1表)。

同定標品としては、黒ダイズ(9)より得たクリサンテミン(Chr)とシアニジン(CD)、ペニタデ実生(14)より得たイデイン(cyanidin 3-galactoside, CD 3-Gal)を用いた。展開条件は第1表に示した。

なお、クリサンテミンとイデインは、ペーパークロマトグラフィーでは十分な分離をしない。そこで、Suganoら(1960)の方法を改良して、沝紙電気洗動法で、それら両色素の分別を行なった(第1表)。

② 糖残基の薄層クロマトグラフィー(TLC)

* 著者ら(1974a, 1974c)や著名(未発表)の経験によれば、本報のシンビジウムのアントシアニンのように中性条件において、可視部に単純な吸収を示すものについては、アントシアニン色素溶出のできる限界まで濃度を高めた極性の大きい有機溶媒(アルコール、アセトンなど)により比較的安定して抽出でき、その色素の色は、intactの色とほぼ一致し、その諸性質はTakedaら(1965)のジェヌインアントシアニンとよく合っている。そこで本報では、シンビジウムのアントシアニンの、中性条件下での存在形態をジェヌインアントシアニンとして類別した。

Table 1. R_f values* of anthocyanins (U and L separated and refined by the procedures presented in Fig. 1) in petals and sepals of *Cymbidium* (Sazanami var. Haru-no-umi).

Pigment***	Solvent used**			
	1% HCl	BAW	BuH	AAH
U	.16	.40	.51	.74
L	.07	.33	.42	.60
Aglycone of U & L	.14	.56	.78	.40
Chr****	.07	.33	.43	.60
CD*****	.14	.56	.78	.40
CD3-Gal*****	.08	.33	.42	.62

* Toyo No. 50 filter paper, ascending.

** 1% HCl, conc. HCl: Water (3:97, by vol. BAW, *n*-BuOH: Acetic Acid: Water (4:1:5, by vol., upper layer), BuH, *n*-BuOH: conc. HCl: Water (7:2:5, by vol., upper layer), AAH, Acetic Acid: conc. HCl: Water (5:1:5, by vol.).

*** Clearly discriminated between the glucoside and the galactoside of cyanidin by the following paper electrophoresis (Toyo No. 51 filter paper, 1.3% borax solution, pH 6.0, 4 mA/cm, 600 V, 45 min., a modification of Sugano et al (1960)); Distance of migration toward the cathode: U and L, 3.4 cm, Chr, 3.4 cm, and CD3-Gal, 1.0 cm.

**** Chrysanthemin (cyanidin 3-glucoside).

***** Cyanidin. ***** Cyanidin 3-galactoside.

Table 2. Thin layer chromatography* of sugars liberated from U and L fraction by hydrolysis with dil. HCl.

Sugar liberated	Solvent used**			Oxidase***
	BAW	Pyr	Acetn	
From U	100	99	100	+
L	100	99	100	+
β -D-glucose	100	99	100	+
Galactose	99	99	100	-

* Cellulose SPOTFILM®, shown as R_G , alkaline silver nitrate solution sprayed for visualization.

** Pyr, Pyridine: Ethyl Acetate: Acetic Acid: Water (5:5:1:3, by vol.). Acetn, Acetone: MeOH: Water (2:2:1, by vol.).

*** +, oxidized by glucose oxidase (in 1/10 M phosphate buffer at pH=6.5 at 25°C for 8 hrs.), -, not oxidized.

Table 3. Spectral properties* of anthocyanin chlorides in petals and sepals of *Cymbidium*.

Fraction	$\lambda_{max}(nm)$	$\frac{E_{u.v.max}}{E_{max}}(\%)$	$\frac{E_{440}}{E_{max}}(\%)$	$\Delta\lambda(nm)**$
U	280, 527	63	23.8	19
L	280, 528	67	23.6	20

* In 0.01% methanolic HCl.

** Shifts with $AlCl_3$ when added.

分離精製した2種類のアントシアニン (U, L) を、それぞれ 20% 塩酸中で数分間煮沸し、冷却後エーテルとイソアミルアルコールで泳淨し、さらに水画分を凍結乾燥し、残渣を TLC で調べた。

グルコースとガラクトースの判別は、グルコースオキシデースによる反応を利用した。U, Lそれぞれから遊離された糖はともにオキシデースにより酸化され、薄層上に認められなかった。以上の結果を第2表に示した。

③ 吸収スペクトルの測定 U の 0.01% MeOH-HCl 中での吸収スペクトルを測定した (第3表, 第3図)。

U ($\lambda_{max}=280, 527\text{ nm}$, $\Delta\lambda=19\text{ nm}$), L ($\lambda_{max}=280, 528\text{ nm}$, $\Delta\lambda=20\text{ nm}$) は、ともにシアニジン配糖体であり、300~340 nm に特異的吸収を示さないことから、桂皮酸類を結合していないことがわかる。さらに、アントシアニン核の3位に糖残渣を有するものと、3, 5両位に有するものととの分光学的類別法(5)に従えば、U ($E_{440}/E_{max}=23.8\%$, $E_{u.v.max}/E_{max}=63\%$), L ($E_{440}/E_{max}=23.6\%$, $E_{u.v.max}/E_{max}=67\%$) ともにシアニン核の3の位置にのみ糖結合を有するものであることがわかる。

④ 塩酸によるアントシアニンの部分加水分解 U, L両画分を10% 塩酸で部分加水分解し (65°Cの湯浴上), その分解産物を一定の時間ごとに少量ずつとり、PPCを行なった (第4図, 第5図, 第6図, 第7図)。

U画分については (第4図, 第5図), その最終産物 (120 分後) から、シアニジン配糖体であることがわかる。またその中間生成物 (10~90分後) のクロマトグラムから、部分加水分解によってクリサンテミンを生ずるものであることがわかる。さらにUの10分後までに見られるクロマトグラムの変化から、Uはクリサンテミン (cyanidin 3-glucoside) に何らかの分子がもう1分子結合しているものであることが考えられる。一方、紫外部にアシルピーク (acyl peak, $\lambda_{max}=300\sim350\text{ nm}$) を示さない (第3図) ことから、この分子は桂皮酸類ではないと考えられる。とすれば、この分子は糖 (グルコースオキシデースに対する反応からはグルコース) であると考えるを得ない。

L画分については (第6図, 第7図), 同様の検討から、クリサンテミンであると考えられる。

⑤ アントシアニン構成の調査 原種 (species) ならびに交配種 (hybrids) について (第4表), 花卉 (petal) 中のアントシアニンを1% MeOH-HCl で抽出し、その粗抽出液を、濃度の高いものはそのまま、低い

Fig. 3. Absorption spectra of anthocyanins in a petal of *Cymbidium Sazanami* var. *Haru-no-umi*.

(———): U fraction in 0.01% MeOH·HCl, $\lambda_{\max}=527$ nm.

(— · —): L fraction in 0.01% MeOH·HCl, $\lambda_{\max}=528$ nm.

(-----): Genuine anthocyanin in NaCl saturated water, $\lambda_{\max}=535$ nm.

Fig. 4. Paper chromatogram of hydrolysates of anthocyanin (U) with dil. HCl.

(Toyo No. 50 filter paper, AAH, ascending).

Chr: Chrysanthemin (cyanidin 3-gulcoside).

CD: Cyanidin.

CD 3-Gal: Cyanidin 3-galactoside.

Fig. 5. Paper Chromatogram of hydrolysates of anthocyanin (U) with dil. HCl.

(Toyo No. 50 filter paper, BuH, ascending).

Chr: Chrysanthemin (cyanidin 3-gulcoside).

CD: Cyanidin.

CD 3-Gal: Cyanidin 3-galactoside.

ものは減圧濃縮したものについて PPC で色素構成を調べた。その結果は第5表に示した。なお、ここで、各品種ごとにかく片 (sepal), 花卉 (petal), 唇弁 (lip) とともに、アントシアニン構成は、クロマトグラムのうえて同一であることをあらかじめ確認しておいた。またUと

Lの相対的量比は、スポットの濃さと大きさにより判断した。その結果、これらの一群のシンビジウムの主要アントシアニン、すべてUとLであることがわかる (第5表)。なお、いくつかの交配種に、極く少量のスポットが1ないし2種類認められたが、それらはその色調か

Table 4. Species and hybrids of *Cymbidium* used for survey of anthocyanins composition.

Species constituting hybrid	Species*			Hybrid*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>insigne</i>	Species			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>i'ansonii</i>				—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>lowianum</i>				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>eburneum</i>				+	—	—	+	+	+	+	+	+	+
<i>parisiisanderæ</i>				—	+	+	—	+	+	—	—	+	—
<i>pumilum</i>			Species	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
<i>erythrostylum</i>				+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>cooperi</i>				—	+	—	+	+	—	—	—	+	—
<i>grandiflorum</i>				—	—	—	—	+	—	+	—	—	—
<i>tracyanum</i>				+	—	—	+	+	—	+	—	—	—
<i>ensifolium</i>		Species		—	—	—	—	—	—	—	—	—	

* 1. *insigne* var. *Sanderæ*, 2. *ensifolium*, 3. *pumilum*, 4. *Lancelot* var. *Yagoto*, 5. *Cathy sue* var. *Dark Red*, 6. *Minneken* var. *Kobai*, 7. *Pipeta* var. No. 4, 8. *Sensation* var. *Purple Queen*, 9. *Ippo* var. 13-B, 10. *Fascination* var. *Red Knight*, 11. *Louis Sander* var. *Flammea*, 12. *Rosarita* var. *Red River*, 13. *Sazanami* var. *Harunoumi*. (By Ogawa et al, 1969, Sander, 1946, and Sander et al, 1961)

Note: +, species involved in the origin of hybrid, -, not involved.

Fig. 6. Paper chromatogram of hydrolysates of anthocyanin (L) with dil. HCl. (Toyo No. 50 filter paper, AAH, ascending). Chr: Chrysanthemin (cyanidin 3-glucoside). CD: Cyanidin. CD 3-Gal: Cyanidin 3-galactoside.

らシアニジン配糖体と推察される。

アントシアニンの定量法の検討

① アントシアニン (クロライド) 新鮮花弁 (petal) を 1% MeOH-HCl に一夜浸漬し、その抽出液を吸引濾過し、濾液を減圧濃縮し、エーテル、酢酸エチルで洗浄し、有機溶媒を減圧下で除去した。これを 0.01% MeOH-HCl で定容して各種濃度に調整し、それぞれの溶液の吸光度 (O.D.) を測定 ($\lambda_{\max}=528$ nm による) して定量曲線を描いた。その結果を第 8 図に示した。

この結果から、相対濃度と O.D. は良好な直線性を示していることがわかる。すなわち、濃縮あるいは希釈により、濃度を調整して測定に供すれば、O.D. は Lam-

Fig. 7. Chromatogram of hydrolysates of anthocyanin with dil. HCl. (Toyo No. 50 filter paper, BuH, ascending). Chr: Chrysanthemin (cyanidin 3-glucoside). CD: Cyanidin. CD 3-Gal: Cyanidin 3-galactoside.

bert-Beer の法則に従い、この方法が相対濃度の定量に十分有効であるものと考えられる。

② アントシアニン (ジェヌイタイプ) 第 2 図に示した手順で抽出したアントシアニン溶液の一部を取りその吸収スペクトルを測定し (第 3 図)。残りの溶液に飽和食塩水を溶媒とし加えて、MeOH-HCl の場合の最高濃度にはほぼ等しい O.D. を示すように調整した溶液を定量用原液とした。この原液を同様の溶媒で各種濃度に調整し、その最大吸収波長 ($\lambda_{\max}=535$ nm) が変化しないことを確認したうえで、その O.D. を測定した (第 8 図)。その結果から、この方法によるアントシアニンの相対濃度の定量は MeOH-HCl の場合と同様に良好

Table 5. Anthocyanins in petals of species and hybrids of *Cymbidium*.

Species or hybrid*	The ratio** of contents (U/L)	Unknown (minor pigments, cyanidin glycosides?)	
		I ($R_f^{**}=0.18$)	II ($R_f^{**}=0.20$)
Species			
1.	1/3	—	—
2.	1/1	—	—
3.	1/2	—	—
Hybrid			
4.	1/1	—	—
5.	1/1	±	—
6.	1/2	—	—
7.	1/1	—	—
8.	1/1	+	±
9.	1/1	+	±
10.	1/1	+	+
11.	1/3	+	—
12.	1/3	+	±
13.	1/1	—	—

* The number of species or hybrids is shown in Table 4.

** Relative concentration on paper chromatogram (No. 50 filter paper, BAW).

Fig. 8. Calculation curves of anthocyanin pigments in a petal of *Cymbidium*.(○): Extracts with NaCl saturated water, optical density being measured at $\lambda_{\max}=535$ nm.(●): Extracts with 1% MeOH-HCl, measured at $\lambda_{\max}=528$ nm.

な直線性を示した。

また同時に、同一の植物の花弁について、その色の濃い部分と、薄い部分についての反射スペクトルを測定した (Shimadzu multipurpose recording spectrophoto-

Fig. 9. Spectrophotometric curves of a fresh petal containing anthocyanins of *Cymbidium Sazanami* var. *Haru-no-umi*.(—): The dark-colored area in the petal, $\lambda_{\min}$ (wave length at minimum transmittance) = 535 nm.(---): The light-colored area. $\lambda_{\min}=535$ nm.

meter MPS-50). その結果を第9図に示した. この反射スペクトルは、飽和食塩水で抽出した溶液の吸収スペクトルに対応し、この方法での抽出が色素の存在形態を変化させることがないことを示している。

考 察

これまで、シンビジウムの花色と花色素についての研究は少なく、Arditti ら(1971)も、アントシアニンの詳細な性質を明らかにしていない. そこで、本実験では、シンビジウムのアントシアニンの基本的特性を、クロマトグラフィーと吸収スペクトルによって明らかにしようとした。

ペーパークロマトグラフィーにより、2種類のアントシアニン (UとL) が分離された. そのうち、Lはクリサンテミンと一致し、またシアニジン3-ガラクトサイドと類似した行動を示している(第1表). これは、アントシアニンのグルコサイドとガラクトサイドをクロマトグラフィーで十分分離できない(5, 14)ということに起因しているものと考えられる。

Sugano ら(1960)は、グルコサイドとガラクトサイドの分離に、沝紙電気泳動法が有効であることを示した. しかし、氏らの採用した pH 11 では pH が高すぎて、本

実験では色素が不安定になることがわかったので、pH=6.0 として行なった。その結果(第1表)。グルコサイドとガラクトサイドは明確に分離され、Lはシアニジン3-グルコサイド、すなわちクリサンテミンと一致した。

一方、Uはクリサンテミンと、クロマトグラム上では明らかに異なるが、電気泳動法ではLとの区別は困難であった。しかし、アグリコンはU、Lともにシアニジンと考えられる。

吸収スペクトル特性(第3表、第3図)から、U、Lはともにシアニジン核の3位にのみ糖を有する配糖体であると考えられる(5)。また、糖はグルコースのみによって構成されている(第2表)。

さらに、両色素の塩酸部分加水分解物のクロマトグラム(第4図、第5図、第6図、第7図)から、Lはクリサンテミンであり、Uはこの操作によりクリサンテミンを生成することから、クリサンテミンのグルコースが、グルコ二糖となったものと考えられる。

これまでのところ、吸収スペクトル特性からすれば、糖の結合位置はアントシアニン核の3位のみであり、また、桂皮酸類特有の紫外吸収がなく、さらには糖のTLCからグルコースのみが検出され、かつ塩酸部分加水分解物のパターン(U→Chr→CD)などから、Uはシアニジンの3位に二糖類の結合したもの、すなわち、シアニジン3-ジグルコサイド(cyanidin 3-diglucoside)と考えるのが妥当である。

しかし、この二糖類がどのような結合様式を有するかは今後の詳細な検討を必要とするものである。

ともあれ、後述するように、他の多くのシンビジウムの変種もほぼ同様の色素パターンを有していることがわかった。

以上のことから、サザナミ“ハルノウミ”*Sazanami* var. *Haru-no-umi*の花被片に含まれるアントシアニンは、クリサンテミン(cyanidin 3-glucoside)と、その糖部分の変化したものであると考えられる。

さらに、スルガラン *C. ensifolium* も含めて、13種のシンビジウムについて行なった色素の分布調査では、いずれにも二種類のアントシアニン(U、L)が確認された(第4表、第5表)。また数種のものについては、さらにU、L以外の色素が少量見出されたが、それらも、そのクロマトグラム上の色調、紫外線照射(蛍光検査灯L型)下での蛍光などからシアニジン配糖体(おそらくクリサンテミンの桂皮酸エステルか、シアニン系統のものと思われる)とすれば、Hayashiら(6)のスルガランのアントシアニンがデルフィニジン配糖体(delphinidin-dihexoside)であるとする報告には疑問の余地がある。

また前記13種以外にも多くの交配種を調べた(未発表)が、これまでの結果では本実験の結果と同様の傾向を示している。これは多くの交配親となっている *C. insigne* についても同様である。このように見てくると、育種上、通常の交配では新しい色素の出現は多くを望めないということもできよう。しかし、いくつかの交配種で少量認められるU、L以外の色素を集積することができれば、新しい色素型の品種の実現も不可能ではないことになるかもしれない。また、これらの色素が、どの交配の段階で出現するのかについても今後の検討により明らかにされるべきであろうし、さらにキンリョウヘン *C. pumilum* を、その交配親に持たないものだけにこれらの色素の出現があるように考えられる(第5表)ので、この点の遺伝的分析がまたれる。

シンビジウムの中でも花色の濃い品種、例えばセンセーション *C. Sensation* とか、あるいは褐色味の強い品種などでは、クロマトグラム上で、原点に多量の水不溶性で茶褐色のスポットが認められる。このことから、実際のシンビジウムの花色の変異は、アントシアニン含量の相違によるものと、アントシアニン以外の色素(フラボン、フラボノール、カロチノイドあるいはクロロフィルの変成物など)によるものだが、それぞれ独立にあるいは相互に影響し合っているものと考えられる。したがって、今後の育種において花色の濃いものを育成しようとするれば、一方ではアントシアニンと同時に、前記のアントシアニン以外の色素を集積する方向が考えられるし、また他方ではアントシアニンのみを集積する方向が考えられる。

さて、アントシアニンによる花色の変異を調査する場合、アントシアニンの定量は、前章で述べたMeOH-HClによるのが常法とされてきた。しかし、この方法では、アントシアニンの抽出が完全には行なわれないことが多く、したがって試料中のアントシアニン含量の少ないときには正確さに欠けたり、多量の試料を必要としたり、また濃縮などの操作を余計に必要としたりする。また一方、試料を磨砕することにより、抽出性の欠点を除き得るとしても、この場合には、アルコール可溶の色素の混在が多くなり、定量にはよい影響を及ぼさない。したがって、これらの混在色素を何らかの方法で除去するにしても、多数の試料を同時にとり扱うような場合には、従来の方法はきわめて繁雑である。そこで、これらの欠点が除かれ、操作が簡易になるならば、それは研究上有用な方法となるであろう。

これらの点に関して後藤ら(1973)は、従来のMeOH-HCl抽出法ではなく、濃厚な食塩水で色素抽出を行なう

ことによって、実際の花色に近い色を示す抽出液で色素定量を行なうことができることを示唆した。この方法では、抽出から定量までの手順が簡略であり、その吸収スペクトルが花色のそれに近似するため、花色研究に有利であると考えられる。また、Takedaら(1965)、著者ら(1974 a, 1974 c)の方法を定量に応用するには、安定性の点で充分とは言えず、また、著者ら(1974 b)が示しているように、有機溶媒の含有率の変化は、その色素の吸収スペクトルの性質（吸光度、最大吸収波長）に大きく影響することを考えると、後藤ら(1975)の方法の応用性が期待される。そこで本実験でシンビジウムに関してその応用性を検討したが、5,000 rpm (3000 G)の遠沈では、溶液のにごりが除かれず、吸光度測定により影響を与えなかったため、著者らの経験から、セライトを混入したところ、測定にとって十分な透明度を得ることができた。また、セライトの混入の方法以外にも、 10^4 G、15分間以上の遠沈によって同様に十分な透明度を得ることができることも確認した。この改良法によりシンビジウムの場合について調べた結果、i) 1回の抽出でほぼ完全に色素抽出ができ、ii) 遠沈(10^4 G、15分間)だけでも、またセライト混入法でも十分透明な色素溶液が得られ、従来の方法よりも簡便であり、iii) 抽出溶液と花色の両吸収スペクトルが近似し、直接色の比較ができる、といえる。したがって、本改良法は、色素の定量性、簡便さという点で、花色研究に有効な方法といえる。

しかし、この場合、アントシアニンのスペクトル特性が類似したものであることが必要であろうと考えられる。

摘 要

シンビジウムのアントシアニンの性質を調べ、13種の原種および交配種の色素構成を調査した。

また、アントシアニンの研究方法に関して、その定量方法を検討した。

1. シンビジウム(*Cymbidium Sazanami* var. *Haruno-umi*)を用いて、その花被中のアントシアニンの特性を調べ、2種類のアントシアニン(UとL)を確認した。Lはクリサンテミン(cyanidin 3-glucoside)で、Uはクリサンテミンの糖残基の異なるものである。そして、その糖残基はグルコースのみから構成されていると考えられるので、cyanidin 3-diglucosideである可能性が高い。

2. 13種のシンビジウム(3種は原種、10種は交配種)について、アントシアニンの構成を調べた。

原種は3種ともUとLの両色素のみを含み、交配種もすべてにわたってUとLの色素を含み、量的に見て、それら両色素が主要なものであった。また、10種の交配種

のうちのいくつかのものには、UとL以外のシアニジン配糖体が少量認められた。

3. 従来のMeOH-HClで抽出してアントシアニンを定量する方法と、飽和食塩水で抽出してアントシアニンを定量する方法とを比較した。

その結果、定量性に関しては、従来のMeOH-HCl法と、飽和食塩水法ともにより結果を得た。また後者は、色素抽出のしやすさ、手順の簡便さにおいて前者よりすぐれており、さらに抽出液と花弁色のスペクトルがほぼ一致する点でも、飽和食塩水による方法はすぐれているものと考えられる。

謝 辞 本実験に際して、色素抽出方法などの点で示唆をいただいた、名古屋大学農学部食品有機化学研究室教授、後藤俊夫氏、ならびに同研究室大学院生星野力氏に感謝の意を表します。

引用文献

1. ARDITTI, J., D. C. JEFFREY and B. FLICK. 1971. Post pollination phenomena in orchid flowers. III. Effects and interactions of auxin, kinetin, or gibberellin. *New Phytol.* 70: 1125-1141.
2. ASEN, S. and L. JURD. 1967. The constitution of a crystalline, blue cornflower pigment. *Phytochem.* 6: 577-584.
3. BAYER, E. 1958. Über den blauen Farbstoff der Kornblume. I. Natürliche und synthetische Anthocyan-Metallokomplexe. *Chem. Ber.* 91: 1115-1122.
4. 後藤俊夫・星野力・大羽昌利・岡田邦輔. 1975. アントシアニンの構造—その問題点. 第11回植物化学シンポジウム講演要旨: 1~9.
5. HARBORNE, J. B. 1967. In "Comparative biochemistry of the flavonoids". Academic Press, London and New York: 6-29.
6. HAYASHI, K. and Y. ABE. 1953. Studien über Anthocyane, XXXIII. Papier-chromatographische Übersicht der Anthocyane in Pflanzenreich, I. 資源科学研究所(い)報. 3: 1-8.
7. HAYASHI, K. and K. TAKEDA. 1970. Further purification and component analysis of comelinin showing the presence of magnesium in this blue complex molecule. *Studies on anthocyanins, LXII. Proc. Japan Acad.* 46: 535-540.
8. HAYASHI, K., Y. ABE and S. MITSUI. 1958. Blue anthocyanin from the flowers of *Commelina*, the crystallization and some properties thereof. *Studies on anthocyanins XXX. Bot. Mag. Tokyo* 34: 373-378.
9. 真部孝明・久保進・児玉雅信・別所康守. 1965. 桃赤果肉変色防止に関する研究(第3報)黒豆外皮から単離したアントシアニン系色素について. *食品工誌* 12: 213-220.

10. 小川慶明・河野新一郎・五所野尾優・高木作一・長野正紘・三浦二郎・渡辺尚一・渡辺正好. 1969. 総合種苗ガイド5. 洋ラン編, ガーデンライフ別冊. 誠文堂新光社. 136—157.
11. SAITO, N., K. HIRATA, (MISS) R. HATTA and K. HAYASHI. 1964. Isolation and crystallization of genuine red anthocyanins. Proc. Japan Acad. 40 : 516—521.
12. SANDER, D. F. 1946. In "Sander's List of orchid hybrids". Sanders (St. Albans) Ltd. : 50—67.
13. ———, —. —. and MRS. W. J. WREFORD. 1961. In "Sander's one-table list of orchid hybrids". David Sander's Orchids Ltd. Selsfield, East Grinstead, Sussex, England. 1 : 310—380.
14. SUGANO, N. and K. HAYASHI. 1960. Anthocyanin of the seedlings of a *Polygonum*. Studies on anthocyanins, XXXII. Bot. Mag. Tokyo 73 : 231—233.
15. 杉山 晃. 1974 a. 紫キャベツの葉のアントシアニンについて (第1報) 抽出と二・三の性質について. 園芸学会昭和49年度春季大会研究発表要旨. 342—343.
16. SUGIYAMA, A. and T. TAKANO. 1974 b. Isolation and absorption spectra of anthocyanin complexes from purple flower of *Cineraria*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 43 : 139—149.
17. 杉山 晃・高野泰吉. 1974 c. 紫キャベツの葉のアントシアニンについて. (第2報) 精製と分光学的性質. 園芸学会昭和49年度春季大会研究発表要旨. 344—345.
18. TAKEDA, K. and K. HAYASHI. 1965. Crystallization and some properties of the genuine anthocyanin inherent to the deep violet color of pansy. Studies on anthocyanins, XLVIII. Proc. Japan Acad. 41 : 449—454.
19. YOSHITAMA, K. and K. HAYASHI. 1974. Concerning the structure of cinerarin, a blue anthocyanin from garden cineraria. Bot. Mag. Tokyo 87 : 33—40.