スイカ果肉の色調とカロチノイド色素について¹

渡辺 慶一・斎藤 忠雄

日本大学短期大学部 252 藤沢市亀井野

広田 才之・高橋文次郎

日本大学農獣医学部 252 藤沢市亀井野

Carotenoid Pigments in Red, Orange and Yellow Fleshed Fruits of Watermelon (*Citullus vulgaris*) Cultivars

Keiichi WATANABE and Tadao SAITO

Junior College, Nihon University, Fujisawa, Kanagawa 252

Saishi HIROTA and Bunjiro TAKAHASHI

College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon
University, Fujisawa, Kanagawa 252

Summary

The composition of carotenoids in three different flesh colored watermelon cultivars was studied. The carotenoids were separated by column and thin layer chromatography and identified by order absorption affinities on the column and by their absorption spectra. The contents and kinds of carotenoids were as follows ;

1. The red fleshed watermelon cultivar 'Asahiyamato' contained about 35-50 $\mu\text{g/g}$ lycopene as the major pigment ; a small amount of xanthophylls and a slight amount of phytofluene, β -carotene, ρ -carotene and γ -carotene were present.

2. The major pigment in orange fleshed watermelon cultivar 'Kaho' was β -carotene (14 $\mu\text{g/g}$) ; phytofluene, ρ -carotene, γ -carotene, xanthophylls and lycopene were also present in small amounts.

3. In the yellow fleshed watermelon cultivar 'Ogon,' the main components was β -carotene (0.5 $\mu\text{g/g}$) and xanthophylls (2 $\mu\text{g/g}$) ; phytofluene and lycopene were detected in trace amounts.

緒 言

トマト果実のカロチノイド生成に関しては、これまで分離系及び変異種系などの典型的な遺伝子型をもつ系統種を用い、交配後代に含まれるカロチノイド組成の形質遺伝について種々の報告がなされてきた(2, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 14)。

スイカ果肉の色調とカロチノイド組成については、Tomes ら(15)、渋谷・木下(10)及び倉田・中条(3)によって報告されている。しかし、スイカのカロチノイド色素の形質遺伝については未だ説明されていない(9, 11)。

本研究はスイカの赤色系、橙色系及び黄色系の各系統

種を用いて、果肉の色調発現に関与するカロチノイド色素の形質遺伝を追求しようとするものである。

本報告では、まずスイカの系統別品種の果肉の色調とカロチノイド組成及び含有量について比較検討したので報告する。

材料及び方法

1. 材 料 供試品種は、赤色系として「旭大和」、橙色系として「嘉宝」、黄色系として「黄金」を用いた。

2. 分析方法

1) カラムクロマトグラフィー

カロチノイドの定量分析は Mackinney と Jenkins (4) がトマトの分析に用いた方法を採用した。概略は第1図に示すとおりである。すなわち、果肉 20~30 g にアセトン約 200 ml を加えてホモジナイズして抽出し、

¹ 1986年3月12日 受理

本報告の一部は昭和54年度、55年度園芸学会春季大会において発表した。

Fig. 1. Extraction and separation procedures for watermelon carotenoids.

ブフナーロートで吸引ろ過した。完全に残渣が無色になるまで2～3回抽出ろ過を繰り返した。次に分液ロートに石油エーテル約150 ml をとり、これに抽出液を少量ずつ注ぎ色素を石油エーテルに移行させ、蒸留水100～200 ml を数回注ぎアセトン十分に除去した。さらに、三角フラスコに色素液をとり、無水硫酸ナトリウム20～30 g を入れて脱水(約30分放置)し、ロータリーエバポレーターで40℃以下に保ち、減圧乾固したものを少量の石油エーテルに溶かし試料液とした。

カラムクロマトグラフィーは酸化マグネシウム、ハイフロ・スーパーセルカラム(MgO:SiO₂=1:2.5)で分画した。各分画は石油エーテル、2～10%アセトン石油エーテル、メタノール、ベンゼンなどを用いて順次溶出した。溶出された各溶液は自記分光光度計(島津UV-240)で各々のカロチノイドの吸収曲線を調べ、それぞれのもつ特有の極大波長を照合して同定した。標準品としてはα-カロチン(シグマ社製)、β-カロチン(メルク社製)及びトマトから抽出し結晶化したリコピンを用い、カラムクロマトグラフィーを行いカロチノイド同定のため標準品として用いた。

Table 1. The value of absorption coefficients used for calculation.

(in petroleum ether)		
Carotenoids	Absorption coefficient (l/g. cm)	Wave length (nm)
Phytofluene	140	347
β-carotene	250	450
ζ-carotene	200	400
γ-carotene	270	460
Lycopene	300	473
Xanthophylls	250	440

$$C(\mu\text{g/g}) = \frac{A}{K} \times \frac{\text{Vol. (l)}}{\text{Wt. (g)}} \times (D) \times 10^6$$

C : Concentration in fresh fruit.

A : Optical density at appropriate wave length.

K : Absorption coefficient.

D : Dilutions made for absorbance determination.

Vol.: Solvent volume dissolved.

Wt.: Weight of fresh fruit.

カロチノイド含有量は第1表に示す吸光係数を用いてスイカ果肉中のμg/g(新鮮重)として算出した(1, 16)。

なお、本報告では炭化水素系のカロチノイド(カロチン類)に重点をおいて分析し、酸化型カロチノイド(キ

サントフィル類)は一括して定量した。

2) 薄層クロマトグラフィー

カロチノイド同定のため薄層クロマトグラフィーも併用した。標準 α -カロチン、 β -カロチン及びトマトから抽出し結晶化したリコピンを標準としてギーゼルゲル60 F (メルク社製) のプレートを用い、*n*-ヘキサン、メタノール、アセトン (98:1:1 v/v) で展開した。また、赤色トマトを対照としてスイカ各系統品種の薄層クロマトグラフィーも行った。

結 果

1. 各系統品種からの抽出色素液の紫外部及び可視部吸収スペクトルの測定

各系統品種の果肉から抽出した粗製カロチノイド色素を石油エーテルに溶かし、紫外部及び可視部吸収スペクトルを測定した結果、赤色系の‘旭大和’の極大吸収は471~475 nm 付近に、橙色系の‘嘉宝’は、449~452 nm 付近に、黄色系の‘黄金’は 445~450 nm 付近に主吸収を示した。

2. カラムクロマトグラフィーによる分画

標準カロチノイド、スイカ各系統品種のカロチノイドの吸着帯を第2図に示した。

赤色系、橙色系からは6種類、黄色系からは2~4種類の吸着帯が得られた。これらのうち、Fr. No. 1は紫外線照射 (3,650 Å) による蛍光により確認され、Fr. No. 2から Fr. No. 6 までは吸着帯の色調の差異により識別することができた。

3. 各分画の展開溶出

カロチノイドの展開溶媒を第2表に示した。Fr. No. 1は石油エーテル、Fr. No. 2は2%アセトン石油エーテル、Fr. No. 3は5%アセトン石油エーテル、Fr. No. 4は10%アセトン石油エーテルで順次溶出して分取した。

Fr. No. 5 はアセトン石油エーテルの混合による展開剤では溶離されず、ベンゼンを用いて溶出し分取した。Fr. No. 6はメタノールを用い、ベンゼン注入に先立って一括して溶出し分取した。

Fig. 2. Zones of carotenoids on column chromatograms from three watermelon cultivars. (See Table 2 for identification each fraction)

4. 紫外部及び可視部吸収スペクトルの測定結果

個々のカロチノイドの吸収スペクトルをみると、普通3個の吸収極大をもつ固有の吸収曲線を示している。石油エーテル中で Fr. No. 1は366, 347及び330 nm にピークを有し、Fr. No. 2は479, 450及び425 nm に、Fr. No. 3は425, 400及び379 nm に、Fr. No. 4は489, 460及び434 nm に、Fr. No. 5は501, 473及び443 nm にピークを示した。Fr. No. 6は481, 440及び430 nm 付近に強いピークをもち、さらに470, 460, 402及び380 nm などに弱いピークがみられ、各系統一様ではないが数種の混合物であることが認められた。

これらは、これまでの報告(1, 4, 16)と比較照合すれば Fr. No. 1はフィトフルエン、Fr. No. 2は β -カロチン、Fr. No. 3は ζ -カロチン、Fr. No. 4は γ -カロチン、Fr. No. 5はリコピン、Fr. No. 6はキサントフィル類と推定された。

5. 薄層クロマトグラフィーによる分析結果

標準カロチノイド及び赤色トマトと比較したスイカの各系統の薄層クロマトグラフィーの結果を第3図に示した。炭化水素カロチノイドの Rf 値はリコピン0.85、 γ -カロチン0.91及び β -カロチン0.96 とかなりその値は接近した。各スポットを石油エーテルに溶かし、UV 及び

Table 2. Fractions of watermelon carotenoids by column chromatography.

Fr. No.	Zone color	Solvent	Absorption maxima in petroleum ether (nm)			Carotenoid (identified)
1	Colorless	Crude p. e.	366	347	330	Phytofluene
2	Orange	2% acetone-p. e.	479	450	425	β -carotene
3	Dull-yellow	5% acetone-p. e.	425	400	379	ζ -carotene
4	Pinkish	10% acetone-p. e.	489	460	434	γ -carotene
5	Red	Benzene	501	473	443	Lycopene
6	Yellowish	Methyl alcohol	465	440	380	Xanthophylls

p. e. ; petroleum ether

Fig. 3. Thin-layer chromatogram of tomato, watermelons and authentic carotenoids.

1. Red fleshed tomato.
2. Red fleshed watermelon.
3. Orange fleshed watermelon.
4. Yellow fleshed watermelon.
5. Authentic carotenoids.
 - a-d. Xanthophylls
 - e. Lycopene
 - f. γ -carotene
 - g. β -carotene
 - h. Phytofluene (fluorescence)
 - i. α -carotene

可視スペクトルを測定した結果、赤色系及び橙色系スイカはリコピン、 β -カロチン及び γ -カロチンを、また黄色系スイカは β -カロチンを含有していた。酸化型のキサントフィル類は Rf 0.05~0.21 にはぼ 4 ブロックに検出された。

6. 各系統品種のカロチノイド含量

各系統品種のカロチノイド含量を第 4 図に示した。

赤色系の‘旭大和’ではフィトフルエン、 β -カロチン、 ζ -カロチン、 γ -カロチン、リコピン及びキサントフィ

ル類が認められ、大部分がリコピンでその含有量は 35~50 $\mu\text{g/g}$ であった。橙色系の‘嘉宝’ではフィトフルエン、 β -カロチン、 ζ -カロチン、 γ -カロチン、リコピン及びキサントフィル類が検出されたが、 β -カロチンの占める割合が多かった。黄色系の‘黄金’では、微量の β -カロチン、キサントフィル類及び痕跡程度のフィトフルエン、リコピンが検出された。

考 察

スイカの果肉色の発現に関する色素はカロチノイドであることが知られている(3, 10, 15)。現在、赤色種や黄色種が栽培されているが、このほか橙色種や白色種があり、これらの系統間の交配後代のカロチノイドの量的な推移を調べた報告は見当たらない。そこで本報告では、系統間のカロチノイド含有量の遺伝的な関係を検討するために、まず各系統の果肉の色調とカロチノイド組成について調査した結果、各系統間のカロチノイド含量に極めて明確な量的及び質的な差異が認められた。

赤色系の‘旭大和’の果肉からフィトフルエン、 β -カロチン、 ζ -カロチン、 γ -カロチン、リコピン及びキサントフィル類が認められたが、大部分がリコピンで占められている。したがって、果肉の色調発現にはリコピンが大きく関与しているものと思われる。一般に、無色の炭化水素フィトエンからカロチノイドを生成する代謝経路は、フィトエンからの脱水素を繰り返すカロチン類の生成過程及び脱水素の完了したカロチンの段階的酸化による各種キサントフィル類の生成過程に大別される(18)。フィトエンはフィトフルエン、 ζ -カロチン、ノイロスポレン、さらに完全な共役二重結合をもつリコピンにまで段階的に脱水素される。渋谷・木下(10)の結果では前駆体のフィトフルエンを分析していない。各系統間の色調とカロチノイド生成を比較検討する場合、リコピンの前駆体も把握する必要があると思われる。本報告における赤色系スイカでは総カロチノイド含量も多く、また前駆体のフィトフルエンも多いことから、リコピン生合成系が活発でその結果リコピンが多量に蓄積され、赤色を呈するものと思われる。

次に橙色系の‘嘉宝’では、渋谷・木下(10)はキサント

Fig. 4. Carotenoid content of watermelon cultivars.

フィル類、カロチン類、リコピン等の共存において橙色が発現するものと推測しているが炭化水素系のカロチンは、カロチン類として分析しており β -カロチンのみの定量は行われていない。本実験ではフィトフルエン、 β -カロチン、 ρ -カロチン、 γ -カロチン、リコピン及びキサントフィル類が検出され、 β -カロチンの占める割合が多かった。橙色系ニンジンでは β -カロチンの含量が多いことが報告(17)されている。橙色系スイカの場合リコピン前駆体のフィトフルエンも多く、果肉の色調発現には β -カロチンの影響が最も大きい、少量のリコピンも含有しており、リコピン生成系と β -カロチン生成系の関係からリコピンの影響もかなりあるものと考えられる。

黄色系の‘黄金’では総カロチノイド含量は少なく、リコピンはほとんど含有しない。また、前駆体のフィトフルエンも痕跡程度である。このことは全般にカロチノイドの合成能が弱く、リコピン生成系よりも β -カロチン生成系の活性の方が強くリコピンがほとんど蓄積されない。その結果、微量の β -カロチンやキサントフィル類によって黄色を呈するものと思われる。

これまでの研究から、トマト果実のカロチノイド組成は系統によって著しい特徴が認められている。Red strain はリコピンを多く含有し、Yellow strain は概して色素含量が少なく、わずかの β -カロチンを含有する。また、Beta orange strain は多量の β -カロチンを含有することが知られている。さらに、 β -カロチンの生成は、リコピン生成系のなかの中間物質ノイロスポレンからの β -カロチンへの変換が推定されている(2, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 14)。

本報告においても、トマトの赤色系、橙色系、黄色系と同じように、スイカのカロチノイド色素の生成量及びその種類は系統的に異なっていることが認められる。特に、橙色系の‘嘉宝’ではリコピン生成系のほかに、 β -カロチン生成系が活発に作動しているものと考えられ、多量の β -カロチンを生ずるが、なお少量のリコピンを含有しており、橙色の発現にはリコピン、 β -カロチン両者が密接に関係していることが示唆される。したがって、今後はスイカの赤色系、橙色系、黄色系の各系統間の交配後代における果肉のカロチノイド組成について検討し、スイカのカロチノイド色素の遺伝関係を明らかにする必要があると思われる。

摘 要

スイカ各系統品種の果肉のカロチノイド組成をカラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーにより測定した結果、赤色系、橙色系、黄色系の各系統のカロチノイドは生成量及びその種類に相異があり、以下のよう

な結果を得た。

1. 赤色系の‘旭大和’は主要な色素としてリコピンを 35~50 $\mu\text{g/g}$ 含有していた。そのほか少量のキサントフィル類、フィトフルエン、 β -カロチン、 ζ -カロチン及び γ -カロチンが検出された。

2. 橙色系の‘嘉宝’では、 β -カロチンが主要色素で、そのほかフィトフルエン、 ζ -カロチン、 γ -カロチン、キサントフィル類及びリコピンが検出された。

3. 黄色系の‘黄金’では、 β -カロチン及びキサントフィル類が主要な構成色素であった。また、痕跡程度のフィトフルエン及びリコピンが検出された。

謝 辞 本報告を作成するに当たり御教示を賜った食品総合研究所黒木柁吉研究室長並びにカリフォルニア大学名誉教授 Dr. M. Yamaguchi に感謝の意を表します。

引用文献

1. DAVIES, B. H. 1976. Carotenoids. p. 38-165. In: T. W. Goodwin. (ed.) Chemistry and biochemistry of plant pigment. vol. 2. Academic Press. New York.
2. JENKINS, J. A. and G. MACKINNEY. 1955. Carotenoids of the apricot tomato and its hybrids with yellow and tangerine. Genetics 40: 715-720.
3. 倉田久男・中条利明. 1967. スイカ果肉中の色素含量について. 園芸要旨. 昭42: 421.
4. MACKINNEY, G. and J. A. JENKINS. 1949. Inheritance of carotenoid differences in Lycopersicon esculentum strains. Genetics 35: 284-291.
5. MACKINNEY, G. and J. A. JENKINS. 1952. Carotenoid differences in tomatoes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 38: 48-52.
6. MACKINNEY, G., C. M. RICK and J. A. JENKINS. 1954. Carotenoid differences in Lycopersicon: Hybrids of an unusual race of L. pimpinellifolium. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 40: 695-699.
7. MACKINNEY, G., C. M. RICK and J. A. JENKINS. 1956. The phytoene content of tomatoes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 42: 404-408.
8. PORTER, J. W. and D. G. ANDERSON. 1962. The biosynthesis of carotenes. Arch. Biochem. Biophys. 97: 520-528.
9. PORTES, D. R. 1937. Inheritance of certain fruit and seed characters in watermelons. Hilgardia 10: 489-509.
10. 渋谷 茂・木下恵介. 1963. スイカの品種差によるカロチノイドおよびビタミンCについて. 農及園. 44: 697-698.
11. 高島彌一. 1930. 西瓜主要形質と其の遺伝現象の

- 大體. 農及園. 5 : 915—920, 1067—1073, 1196—1201.
12. TOMES, M. L., F. W. QUACKENBUSH and T. E. KARAL. 1956. Action of gene B in biosynthesis of carotenes in the tomato. Bot. Gaz. 117 : 248—253.
13. TOMES, M. L., F. W. QUACKENBUSH, J. O. E. NELSON and B. NORTH. 1953. The inheritance of carotenoids pigment systems in the tomato. Genetics 38 : 117—126.
14. TOMES, M. L., F. W. QUACKENBUSH and T. E. KARAL. 1958. Synthesis of β -carotene in the tomato fruit. Bot. Gaz. 119 : 250—253.
15. TOMES, M. L., K. W. JOHNSON and M. HESS. 1963. The carotene pigment content of certain red fleshed watermelons. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 82 : 460—464.
16. TOMES, M. L. 1963. Temperature inhibition of carotene synthesis in tomato. Bot. Gaz. 124 : 180—185.
17. YAMAGUCHI, M. and T. SUGIYAMA. 1960. The carotenoid contents of the kintoki and koku-bu varieties of carrots grown in Japan. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 29 : 310—312.
18. 吉田精一・南川隆雄. 1978. 高等植物の二次代謝. p. 83—90. 東京大学出版会. 東京.