ウメ種子に含まれる青酸配糖体の消長

大坪孝之・池田富喜夫

東京農業大学農学部 156 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

Seasonal Changes of Cyanogenic Glycosides in Mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) Seeds

Takayuki Ohtsubo and Fukio Ikeda

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya, Tokyo 156

Summary

Seasonal Changes in the content of cyanogenic glycosides, amygdalin and prunasin, in seeds of mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) 'Gessekai', 'Bungo' and 'Baigo' were investigated.

1. Total cyanogenic glycosides increased throughout the seed development. In the early stages, the ovule contained relatively high amounts of prunasin which disappeared at the onset of Stage II of fruits development. Concurrently, amygdalin appeared and continued to increase until fruit harvest. Amygdalin attained a maximum of $47 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ of embryo on a fresh weight basis at maturity, whereas prunasin in the endosperm tissue attained a maximum of $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

2. Mume fruits exhibited a double-sigmoidal growth pattern. The first slow growth period coincided with the period of decrease in prunasin content in endosperm along with rapid amygdalin increase in the embryo.

3. Cyanogenic glycoside content varied among the cultivars evaluated, 'Bungo' and 'Gessekai' had the highest and lowest cyanogenic glycoside content, respectively. The reverse can be observed with flowering period. 'Gessekai' is an early flowering type than 'Bungo'.

緒 言

ウメ (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) の果実にはアミグダリン (以下 Am と略す) とプルナシン (以下 Pr と略す) といった青酸配糖体が含まれていて、これらが加水分解されると猛毒性のシアン化水素 (HCN) が生成する (村上, 1982)。そのため、青梅を食べると青酸中毒の恐れがあるといわれる。とくに種子 (仁ともいう) には多量に含まれ、昔から和歌山など古い産地では仁に相当するさねについて「梅は食べてもさねくうな」などといわれてきた。しかし、青梅の加工食品製造が最近多様化してきて、梅肉エキス、梅酒、烏梅などの製品が市販され、若い種子も果肉とともに加工原料に取り込まれる場面が多くなってきた。

青酸配糖体に関する研究は、忌地物質 (Patrick,

1955), 加工原料 (亀岡・北側, 1976; 辻沢ら, 1986 a, 1986 b), 発育生理 (Mizutani ら, 1991) の面から行われており、その含有量についてはほぼ明らかになっている。また、その含有量はウメ樹の部位によって異なり、葉や果肉に少なく、根や種子に多いなど器官特異性が知られている (Mizutani ら, 1979)。しかしながら、最も高濃度で危険視される種子では、どの組織に、どのような種類の青酸配糖体が多いかなど、組織レベルでの細部の解析はこれまでほとんどなされていない。

今回、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって、2, 3 のウメ品種の種子発育についての青酸配糖体の動態を分析調査し、検討したので報告する。

材料及び方法

1. 供試材料

東京農業大学農学部に栽植されている約 30 年生の「月世界」、梅郷」と、約 40 年生の「豊後」の 3 品種の果

1993 年 1 月 11 日 受理。本報告の一部は平成 4 年度園芸学会秋季大会において発表した。

実を用いた。‘月世界’はほぼ2月中旬に開花し、6月下旬に収穫する、着果期間120日程度を必要とする普通ウメであるが、一方、‘豊後’は3月中旬に開花し6月中旬に収穫する、着果期間90日程度を必要とするアンズの血をひいたウメといわれている。‘梅郷’は両者の中間程度の着果期間をもつ。

第1実験(1991年度)では、幼果から完熟果までを毎週10~20果採取し、のちクーラーパックの上に並べて果実の計測を行った。調査後カッターナイフで果実から核を取り出し、中の種子を細切りして2.5gを分析用の試料とした。

第2実験(1992年度)では、発育ステージごとに6回サンプリングし、種子を胚と胚乳に分けて分析用の試料を作成した。

分析は試料を -20°C に冷却した乳鉢に入れ、50mlのメタノールとともにすりつぶし、ミリポアフィルター(0.5 μm)でろ過したろ液をHPLC用の注入液とした。

2. HPLC測定条件

この溶液をHPLC(島津製作所, LC-6A)に5 μl 注入し、下記の条件で紫外線検出器(SPP-6A)により定量を行った。

第1実験 カラム: Zorbax-ODS (Du Pont Co.)
カラム温度: 50°C
移動相: 20%アセトニトリル
流速: $0.6\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

測定波長: 215 nm

第2実験 カラム: CN-1251-N(センシュウ科学製)
カラム温度: 室温
移動相: 0.5%リン酸水溶液
流速: $0.6\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$
測定波長: 215 nm

Am および Pr 標準溶液は Amygdalin (Aldrich, C. Co.) と Prunasin (Sigma, C. Co.) をそれぞれメタノールに溶解して、 $400\text{ mg} \cdot \text{liter}^{-1}$ の標準液とし、これを移動相用の溶液で適宜希釈して用いた。

結 果

1. 果実と種子の発育

第1表に品種ごとの果重と種子重の季節的推移を示した。果重は典型的な2重S字曲線(中川, 1978)を示し、5月中旬から下旬にかけて増大の緩慢となる時期がみられた(第1図)。また、収穫時でも増大途上にあり、ウメの収穫は一般の果樹に比較すると未熟状態で行うことが多い。一方、種子の重さは5月初旬までは急速に増大するが、弾力性のある軟らかい段階から硬い段階に硬度を増した(第1図)。

外殻である核は種子よりやや早く形状が整い、いわゆる硬核期にはいり、種子が完全に硬くなる時期に硬核終了となった(第2図)。したがって、生長曲線で重量のやや緩慢となる時期は、硬核期のうちで種子が形を整えたのちの硬くなっていく期間にはほぼ一致していた。

Table 1. Seasonal changes in fruit and seed weights of three mume cultivars.

Cultivar	April				May				June	
	19	26	3	10	17	24	31	7	14	21
Gessekai										
Length (mm)	20.01	24.74	28.59	30.82	32.90	33.92	35.32	36.23	36.72	38.03
Breadth (mm)	14.44	19.35	23.29	26.50	28.92	29.76	31.48	33.04	33.71	35.59
fruit weight (g)	2.43	5.41	9.07	12.79	16.56	17.98	21.40	24.30	25.59	32.62
seed weight (g)	0.19	0.41	0.52	0.54	0.54	0.54	0.58	0.59	0.47	0.51
Bungo										
Length	16.60	24.48	27.09	29.03	30.96	31.93	34.36	36.23	40.19	41.14
Breadth	11.03	19.56	23.93	26.85	29.87	30.37	32.78	35.53	38.15	40.70
fruit weight	1.34	5.90	9.46	13.00	17.30	18.27	23.23	29.10	37.08	42.56
seed weight	0.09	0.35	0.58	0.55	0.59	0.59	0.64	0.60	0.63	0.59
Baigo										
fruit weight	0.90	3.50	5.18	10.05	10.37	10.80	24.44	29.30	34.00	38.00
seed weight	—	—	—	0.45	0.46	0.48	0.53	0.53	0.53	0.53

果実発育過程における核と種子の成熟と収穫期との関係は品種間でかなり異なり、開花の早い‘月世界’では硬核終了、種子硬化期と収穫開始期のあいだが15日前後あったのに対して、開花の遅い‘豊後’では5日程度で収穫できた(第2図)。

Fig. 1. Seasonal changes in fruit, seed, embryo and endosperm weights in 'Bungo' mume.

Fig. 2. Comparisons of harvesting (H) and ripening (coloring) periods with stone hardening stage (S) and seed maturation stage (D) between two mume cultivars. Upper: Gessekai, an early flowering cultivar. Lower: Bungo, a late flowering cultivar.

種子は種皮と胚と胚乳からなる。胚発育が急速に生じる5月初旬からの新鮮重の推移を第1図に示した。胚重は果重と同様に収穫時まで増加した。一方、胚乳は5月初旬に種子重の大部分を占めていたが、収穫時には消化されてほとんど存在しなかった。

種子の中で、胚重と胚乳重が同等となるのは、‘豊後’では5月21日であったのに対して、‘梅郷’では5月17日であり、早咲き性の品種が早期に達した(第2表)。

2. 青酸配糖体の消長

第1実験では種子を丸ごとすりつぶして、AmとPrの含有量を測定した(第3表)。種子の青酸配糖体は5月中旬頃までは変わらないが、それ以降急激に増えつづけ、4月中旬には種子新鮮重1 kgあたり10 g程度の含有を示したのに対して、収穫期の6月中旬では、‘豊後’で約47 g、‘月世界’で約34 gに達した。青酸配糖体のうちAmは5月初旬までほとんど検知されず、その後5月下旬までに急速に増え、6月になるとやや緩慢となる特徴を示した。一方、Prは5月初旬までは青酸配糖体の大部分を占めていたが、5月下旬からはほとんど認められなくなった(第3図)。

種子のAmとPrとの含量が同等となるのは、‘豊後’では5月19日、早咲き品種の‘月世界’では5月15日であった(第3表)。これは果実肥大がやや緩慢となる時期にほぼ相当した。

第2実験として胚と胚乳に分けて、それぞれのAmとPrを分析した結果を第4表に示した。その結果、胚にはAmのみでPrはほとんどなく、一方、胚乳にはPrのみで、Amはほとんど含まれていないことが明らかとなった。

さらに、5月初旬には胚では新鮮重1 kg当たり1~5 g程度のAmが含まれていたが、6月下旬の収穫期には45 g程度に含有量が増大した。一方、胚乳は5月に10 g程度のPrを含有していたが、6月にはいと3~6 g程度に含有量が減少した。

Table 2. Seasonal changes in embryo and endosperm weights of mume seeds.

Cultivar	tissue	May				June			
		5	16	23	30	19	25		
Baigo	Embryo	68 (15.8) ^z	191 (43.9)	355 (80.9)	434 (83.8)	437 (88.1)	483 (92.2)		
	Endosperm	363 (84.2)	244 (56.1)	84 (19.1)	84 (16.2)	59 (11.9)	41 (7.8)		
Bungo	Embryo	16 (3.4)	64 (12.3)	354 (64.2)	543 (85.5)	611 (89.9)	621 (96.1)		
	Endosperm	415 (96.6)	458 (87.7)	197 (35.8)	92 (14.5)	69 (10.1)	25 (3.9)		

^z Values in parenthesis are relative percentage of embryo and endosperm.

6月の胚乳組織は消化乾化してきわめて微量となるので、完熟した種子にはPrはほとんど含まれていないことがわかった。種子の中での胚重割合が増大するパターンと、胚のAm含有量が増大するパターンとは高い相関を示した(第4図)。

種子あるいは胚におけるAmの含有率を新鮮重当たりで求めると、'豊後'が1991年の成績では最高4.7%、1992年の成績では最高4.6%となり、最も多く、つい

で1992年度に最高3.4%を示した'梅郷'であり、さらに1991年度に3.4%の'月世界'の順位であった。種子の硬化終了期から収穫期に近い品種ほど含有率が高いものであった。

考 察

1. 青酸配糖体含有量

従来言われてきたように、ウメの種子には多量の青

Fig. 3. Seasonal changes in amygdalin and prunasin in seeds, and fruit weight in 'Bungo' mume.

Fig. 4. Seasonal changes in embryo amygdalin (Am), endosperm prunasin (Pr), and embryo growth rates in 'Bungo' mume seeds.

Table 3. Seasonal changes in amygdalin (Am) and prunasin (Pr) contents in mume seeds.

Cultivar		Sampling dates									
		April				May			June		
		19	26	3	10	17	24	31	7	14	21
g · kg ⁻¹ fresh weight											
Gessekai	Am	0.0	0.1	0.2	1.0	8.4	20.7	33.9	33.4	32.7	33.9
	Pr	9.0	7.3	8.0	7.9	5.2	1.7	0.8	0.3	0.5	0.4
	Total	9.0	7.4	8.2	8.9	13.6	22.4	34.7	33.7	33.2	34.3
Bungo	Am	0.3	0.3	0.3	0.8	4.8	27.8	39.1	42.2	45.4	46.7
	Pr	8.4	9.9	9.1	9.3	11.0	2.3	2.0	1.2	0.8	0.2
	Total	8.7	10.2	9.4	10.1	15.8	30.1	41.1	43.4	46.2	46.9

Table 4. Seasonal changes in amygdalin (Am) and prunasin (Pr) contents in mume embryo and endosperm.

Cultivar Tissue		Sampling dates							
				May			June		
			8	16	23	30	19	25	
g · kg ⁻¹ fresh weight									
Baigo	Embryo	Am	5.4	6.1	25.7	24.5	27.2	31.8	
		Pr	0.7	0.7	1.3	1.9	3.8	4.4	
	Endosperm	Am	—	—	—	—	—	2.7	
		Pr	9.2	11.2	7.6	8.9	3.9	6.3	
Bungo	Embryo	Am	1.0	4.4	19.0	28.4	28.8	45.4	
		Pr	0.4	0.5	0.9	1.2	2.9	3.3	
	Endosperm	Am	—	—	—	—	1.2	0.9	
		Pr	8.5	9.9	13.9	14.7	3.3	4.1	

酸配糖体が含まれていた。種子は植物体の中で最も高濃度の青酸配糖体を有する器官であって、本研究では‘豊後’の種子で最高 4.7% を記録した。この数値は玉瀬ら (1986) や Mizutani ら (1979) の最高測定値 (それぞれ 1.0%, 0.99%) に比較してかなり高いように思われる。供試材料の違い、分析機器と測定条件の違いや測定法の違いが大きく関係しているものと思われる。著者らはいくつかの HPLC のカラムを検討する必要があった。従来青酸配糖体の測定法としては、①ガスクロマトグラフィー (Mizutani ら, 1979) や②細管式等速電気泳動法 (児島ら, 1982) や③HPLC (亀岡・北側, 1976; 北田ら, 1986; 辻沢ら, 1986 a; 玉瀬ら, 1986) などがとられている。第 2 実験に供試した HPLC のカラムは、第 5 図のサンプルのように共存物質を明確に分離するのに、これまでに使用したカラムのうちで最も適していた。

青酸配糖体は種子が凍結を受けると容易に青酸を発生する。茶珍ら (1982) は凍結をうけたのち 5℃ 24 時間後までに、1 個の種子から約 0.05 mg の青酸が発生することを実験的に認めているが、これは最少致死量 5 mg (日本薬局方) からすると小さい値のように思われる。しかし、著者らが得た分析値の青酸配糖体が全量加水分解をうけて、HCN を発生したと仮定すると、‘豊後’の成熟した種子 1 個から Am 含有率が最大の場合 1.6 mg 程度の青酸が発生することになる。種子の若いうちはこの値は小さいので問題は少ないと

思われるが、青梅の成熟種子では高濃度の青酸の発生が予想できるので、利用上特に注意を払う必要がある。

杏仁は 2~3% の Am を含み、しかも HCN を 0.09~0.11% (v/w) を含んでいるといわれ (日本薬局方, 1976)、漢方薬の鎮咳去痰用として利用されている。ウメの Am はアミグダラーゼやプルナーゼ酵素で分解され、青酸とともに生成するベンズアルデヒドの酸化で最終産物としての安息香酸を生成する (永山, 1983; 垣内, 1991)。青梅加工では、安息香酸による天然の防腐効果が期待できるのでウメの効用をこの面からも強調できる。

2. 青酸配糖体の組織特異性

ウメの種子には青酸配糖体として Am と Pr が存在し、種子の発育初期には Pr が主体で、後期には Am がほとんどであることを明らかにした。胚乳の Pr 含有率が激減し、胚の Am 含有率が激増する時期はウメ果実の 2 重 S 字曲線を示す発育パターンのうち、肥大が緩慢となる時期に相当した。

Mizutani ら (1979, 1991) はいくつかの *Prunus* 種を調べ、Am がすべて後期の種子のみに認められることを明らかにしている。そして、Pr から Am への転換が種子の発育中に起こるのではないかと推論している。しかし、胚の Am の絶対量からして胚乳の Pr の Am への転換と考えるには無理があるのではないかという疑問もあり、この点については今後検討してみたい。

3. 品種間差異

胚の Am の含有率は明らかに品種間で異なった。供試品種では‘豊後’が最も高く、ついで‘梅郷’、‘月世界’の順位となった。この順位は開花性とは逆の順序となっていて、遅咲きの品種ほど胚の Am 含有率が高い。土方 (1984) は開花の早晩から、ウメを 5 グループに分類しているが、‘豊後’は第 4 グループに‘梅郷’は第 2 グループに類別していて、2 月中旬に早咲き開花する小ウメ品種を第 1 グループにあげている。また、川上 (1951) はウメ品種の成立にアンズとの交雑が関与しているとして、ウメを純粋梅、杏性梅、中間型、梅性杏、純粋杏に分類した。そして、‘豊後’は梅性杏としている。この分類では‘月世界’や‘梅郷’は杏性梅に相当すると思われる。

今回の実験では供試品種が少ないので、アンズの品種、さらには小ウメ品種を含めた多くの品種を用いて、開花性との関係をさらに検討したい。

Fig. 5. A typical HPLC tracing of amygdalin (Am) and prunasin (Pr) obtained from a mume embryo extract.

摘 要

ウメの品種‘月世界’、‘豊後’、‘梅郷’を用いて、種子の青酸配糖体をHPLCにより分析し、つぎのような結果を得た。

1. 種子の青酸配糖体の含有量は果実の収穫時までに経時的に増大した。その際、種子の発育初期にはプルナシンが多く、アミグダリンはほとんどないが、収穫期にはその大部分はアミグダリンであった。アミグダリンの最高の含有率は収穫時の種子で得られ、新鮮重の約4.7%であった。プルナシンは5月中旬にみられ、約1%であった。種子の成熟時には、プルナシン含有組織の胚乳は消化された。

2. 胚乳のプルナシン含有率が激減し、胚のアミグダリン含有率が激増する時期は、ウメ果実の2重S字曲線を示す発育パターンのうち、肥大緩慢となる期間に相当した。

3. 品種のうち、青酸配糖体の生成能力の高い品種は‘豊後’であり、ついで‘梅郷’、‘月世界’の順位であった。この順位は開花の早晩とは逆の順位であり、遅咲性品種ほどアミグダリンの含有率が高かった。

謝 辞 本研究におけるHPLCカラムの選択にあたって、本学三木太平教授に貴重なご助言を戴いた。ここに記して深謝の意を表する。

引用文献

- 土方 智. 1984. ウメ品種生態と栽培. p. 29-45. 農業技術体系. 果樹編 6. 農文協. 東京.
- 垣内典夫. 1991. 各種の機能特性—ウメ. p. 111-113. 伊藤三郎編著, 果実の科学. 朝倉書店. 東京.
- 亀岡 弘・北側忠次. 1976. 梅の果実の成分について. 農化. 50: 389-397.
- 川上 繁. 1951. 梅と杏の系統的分類と二, 三の形質について. 園学要旨. 昭 26 春: 28.
- 北田善三・玉瀬喜久雄・佐々木美智子・山添 胖. 1986. 梅加工品中のシアンの測定. 奈良衛生研究報. 21: 98-101.
- 児嶋佐世子・八木孝夫・奥田拓男. 1982. 細管式等速電気泳動法によるウメ果実及び製品中のシアニオン分析. 生薬学雑誌. 36: 196-201.
- Mizutani, F., M. Yamada, A. Sugiura and T. Tomana. 1979. The distribution of prunasin and amygdalin in *Prunus* species. Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ. 113: 53-65.
- Mizutani, F., R. Hirota and K. Kadoya. 1986. Cyanide metabolism involved in the ethylene biosynthesis in ripening peach, Japanese apricot and loquat fruits. Coll. Agr. Ehime Univ. 31: 247-256.
- Mizutani, F., R. Hirota, S. Amano, A. Hino and K. Kadoya. 1991. Changes in cyanogenic glycoside contents and β -cyanoalanine synthase activity in flesh and seeds of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) during development. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 59: 863-867.
- 村上孝夫. 1982. 天然物の構造と化学. p. 52-53. 廣川書店. 東京.
- 永山敏廣. 1983. 果実及び果実加工品中の安息香酸. 食衛誌. 24: 416-422.
- 中川昌一. 1978. 果樹園芸学原論. p. 242-248. 養賢堂. 東京.
- 日本公定書協会編. 1976. 日本薬局方解説書. 廣川書店. 東京.
- Patrick, Z. A. 1955. The peach replant problem in Ontario. II. Toxic substances from microbial decomposition products of peach root residues. Can. J. Bot. 34: 461-485.
- 玉瀬喜久雄・北田善三・佐々木美智子・山添 胖. 1986. 梅肉中の青酸配糖体の定量. 奈良衛生研究所報. 21: 95-97.
- 辻沢 広・山東英幸・橋爪 崇・横山 剛. 1986 a. 梅の成分に関する研究. 第1報. 高速液体クロマトグラフィーによる梅中のアミグダリン, 安息香酸の同時分析について. 和歌山衛生公害研年報. 32: 57-60.
- 辻沢 広・山下善樹・山東英幸・橋爪 崇・前川 匠・有本光良・塩地隆英・横山 剛. 1986 b. 梅の成分に関する研究. 第2報. 梅のアミグダリン, 安息香酸およびシアン含有量について. 和歌山衛生公害研年報. 32: 61-64.
- 茶珍和雄・上田悦範・岩田 隆. 1982. 青ウメの青酸発生に及ぼす冷蔵, 冷凍及び数種化学物質処理の影響. 園学要旨. 昭 57 秋: 454-455.