柑橘のカロチノイドに関する研究

(第6報) 紅土橋温州の果皮の紅色カロチノイドグループについて

梅田 圭司*・田中 芳一*佐藤 貞臣**

Studies on Citrus Carotenoids

Part 6. On the redder carotenoid group contained in peel of
Citrus Unshiu var. Benidobashi

KEIJI UMEDA, YOSHIKAZU TANAKA and SADAOMI SATO

The unknown carotenoid group existing in amount of 20% or more and contributing to the bright red color of the Unshiu var. Benidobashi peel have been examined. The unknown carotenoid group occurred between the monol monoepoxid and diol on the TLC, was separated into three carotenoids of U1, U2 and U3 in order of non-polarity. All these carotenoids showed orange to pink color on the TLC and U1, U2 and U3 were present in the ratio of 60.0%, 28.8% and 11.2% respectively.

Every unknown carotenoids had one of hydroxy group in β -ionone ring and one of aldehyde group in chromophoric double bonds system. The properties of these unknown carotenoids were compared with unusual citrus carotenoids and ketonic carotenoids such as semi- β -carotenone, capsanthin, capsorubin, reticulataxanthin and citraurin. Investigations of spectral absorption maximum, shape of spectral absorption curve, NaBH_4 reduction on aldehyde group and changes of polarity with methylation resulted in that U1 was considered as citraurin or citraurin-like carotenoid, U2 was identical to the reticulataxanthin and U3 was the cis-form of U1.

(Received May, 31, 1971)

柑橘に含まれるカロチノイドの大部分は、 β -carotene に水酸基とかエポキシイドの入った構造を持つもので、これに α -carotene に水酸基の入った α -cryptoxanthin とか lutein が微量ながら混入している場合が多い¹⁾²⁾。

特殊なカロチノイドが多量に含まれている例は、特異な bright red を呈する Ruby Red Grapefruit に lycopene が 60% 以上³⁾、また Marsh Seedless Grapefruit に reticulataxanthin が約 10% 見出されている⁴⁾。

微量成分として特殊なカロチノイドが含まれている例はかなり多く、Valencia orange に capsanthin like carotenoid 0.3%⁵⁾、navel orange に reticulataxanthin 0.26%⁶⁾、tangerin に reticulataxanthin 2.7%⁷⁾⁸⁾ と微量の tangeraxanthin⁷⁾が、また含量は不明であるが Cilician orange の特異な紅色は citraurin による⁷⁾⁹⁾と報

告されている。このほかに柑橘類縁植物の *Murraya exotica* Linn. と *Triphasia trifolia* (Burm. f.) P. Wils の実に semi- β -carotenone と β -carotenone が見出されている¹⁰⁾。

以上のように柑橘に特殊なカロチノイドが含まれている例は多いが、われわれが紅土橋温州に見出したUグループ (unknown carotenoid group)²⁾のように、完熟期に全カロチノイドに対し 26% 以上も含まれる例は少ない。また、このUグループは、クレオパトラ: 16%、夏橙: 12%、トロビタ: 8%、マルチーズ: 5% とかなり多くの橘柑に量的に見出される¹¹⁾ほか、定量範囲外ながら温州ミカンの皮全部に微量含まれていることを認めている。ここでは紅土橋温州の果皮より抽出したUグループの化学分析を行ない、他の類似カロチノイドと比較し、

* 農林省食糧研究所

Food Research Institute, Ministry of Agriculture and Forestry. Kotoku, Tokyo.

** 現住所: 東海物産株式会社 横浜市戸塚区

Present address: Tokai Butsan Co. Ltd., Totsuka, Yokohama.

その化学構造を推定したので報告する。

試料および実験方法

1. 試料および U グループの分離

園芸試験場・興津支場で採取した紅土橋温州の果皮を試料とし、カロチノイドの抽出、けん化は常法¹⁾に従った。

カロチノイド混合物は magnesia-Hyflo Super Cel (1:1) のカラムに吸着させ、石油エーテル-アセトン (アセトン 2~5%) で溶出し U グループを分離した。溶出した U グループを集めて再び同一カラムで精製し、次いで TLC¹⁾ にかけて U 1, U 2, U 3 のカロチノイドを得た。

2. 異性化カロチノイドの判定

カロチノイドのシス型、トランス型の判定または2種のカロチノイドが異性体かどうかを判定するには、シスピークの測定と I_2 によるシスカロチノイド混合物を作る方法がある。一般にトランス型に対しシス型は 2~10 m μ 極大吸収が短波長側に移動し、かつ最長波長側にある極大吸収から (142 $\pm$ 2) m μ 短波長側にシスピークがみられる¹²⁾。

I_2 テストはカロチノイドのトランス型、シス型を問わずカロチノイドのヘキサン溶液に対し 1~2% の I_2 を加え、室内の屋光に 15~50 分間あてると、各種のシス型が一定の割合に混合して平衡に達する。シスカロチノイド混合物になるとトランス型でもシス型でも吸収曲線、極大吸収は一致する¹²⁾。ここでは、 I_2 テストを簡易化して、光度計で測定範囲にあるカロチノイドのヘキサン溶液に 0.001% の I_2 -ヘキサン溶液を 1~2% 加えて、20 W の蛍光灯から 30 cm の距離に 1 時間置いて反応させて判定した。

3. アリル型水酸基のメチル化

カロチノイドのアリル型水酸基 (secondary allylic alcohol group) は酸性メタノールでメチルエステルとなり、極性が弱くなる⁸⁾¹³⁾。そこでカロチノイドのエーテル溶液を減圧下で乾固し、メタノール 9 ml を加え、濃塩酸 1 ml を追加し、10 分間静置してメチル化を行なう。これに KOH-メタノールを中和量の2倍加え、それと同量の水を加えてエーテルで抽出した。エーテル溶液は水洗を繰返し、pH 7 にして乾固しヘキサン溶液として吸収曲線を、また TLC 上での極性の変化を調べた。

4. アルデヒドの還元

カロチノイドのケトン LiAlH_4 または NaBH_4 によって還元されて水酸基となり、極大吸収は短波長側に移動する⁸⁾¹³⁾¹⁴⁾。ここではカロチノイドのエーテル溶液を乾固して、95% エタノール適量 (~10 ml) に溶かし、 NaBH_4 の粉末を微量加え、5°C に 1 晩放置した。これをエーテルで抽出し、水洗して pH 7 とし、乾固してヘキサン溶液として吸収曲線を調べ、 NaBH_4 処理前後の極大吸収の移動よりケトンの存在を推定した。

結果および考察

1. U グループの性質

U グループは TLC 上で 3 カロチノイドに分れるが、極性の弱い方から U 1, U 2, U 3 とした。三者ともカラム、TLC 上でオレンジからピンク色を呈し、特に U₂ はピンク色が強く、いずれも他のカロチノイドグループの黄色とは区別がつく。量的な比率は、U 1: 60.0%, U 2: 28.8%, U 3: 11.2% であった。

Fig. 1. はこれら三者のヘキサン、ベンゼン、エタノール中での吸収曲線である。U 2 の吸収曲線は若干くずれており、単一カロチノイドの吸収曲線とは考えられな

Fig. 1. Absorption Spectrum of Unknown Carotenoids in Different Solvents

い。U1とU2と各溶剤中での吸収曲線の形はよく似ているが、いずれの場合も最大吸収はU2の方が13~15 m μ 長波長側にある。一般に非カルボニルカロチノイドは溶剤を変えても吸収曲線の形は変わらないが、カルボニルカロチノイドは形が変るもので、この点Uグループのカロチノイドにはケトンの存在が予測される。

Fig. 2. はUグループのアリル型水酸基のメチル化、カルボニルの NaBH₄ による還元を行ない、TLC 上での極性の変化をみたものである。

③は紅土橋温州の果皮のカロチノイドの分離状態である。

⑤は分離したUグループをそれぞれ塩酸性メタノールで反応させた結果である。U1, U2, U3 いずれも色調も TLC 上での極性も変わらず、また各種溶剤中での極大吸収も 1~2 m μ 短波長に移動するのみで、アリル型水酸基が存在していることを示している。つまり水酸基がついていてと考えられるイオン環は α 型ではなく β -イオン環である。

⑥はUグループを NaBH₄ で還元した結果である。三者とも極性が強くなり diol と同位置を占め、色調は黄色となり極大吸収がかなり短波長側に移動したことを示している。NaBH₄ 処理後の各カロチノイドの吸収曲線は、ヘキサン、ベンゼン中에서도よく似たシャープなカロチノイド特有の形を示す。U1 はヘキサン中で、極大吸収は 450, 425, (403) となり、NaBH₄ 処理前の極大吸収 478, 452, (432) に対し最大吸収が 26 m μ 短波長側に移動している。同様にヘキサン中で U2 の極大吸

収は NaBH₄ 処理によって 494, 465, (440) から 471, 443, 420 となり最大吸収は 22 m μ 移動し、また U3 は (475), 446, 427 から 446, 421, 393, 374 となり最大吸収は 25 m μ 短波長側に移動している。これらのことは、Uグループがいずれも chromophoric system 中にケトンを持つことを示している。chromophoric system 中のケトンといっても, echinenone (4-keto- β -carotene) とか, canthaxanthin (4,4'-diketo- β -carotene) のようにイオン環にあるケトンは、NaBH₄ 処理による極大吸収の移動は、ケトン1コにつき 7~8 m μ であるので¹⁴⁾、イオン環以外の chromophoric system にケトンが存在することになる。

④は NaBH₄ で処理したものを、さらに塩酸性メタノールでメチル化した結果である。U1, U2, U3 のいずれも極性が弱くなり monol とほぼ同じ位置を占めている。このことは2コの水酸基のうち1コが、つまりケトンより誘導された水酸基がメチル化されたことを示している。カロチノイドのアリル型水酸基の極性はメチルエステルになると約半分に低下することが報告されている¹⁵⁾。Uグループの TLC 上の R_f の変化をみると、メチル化前は 0.36, メチルエステルは 0.72 となっており、R_f から考えた極性も 1/2 に低下している。

Fig. 3. はUグループを NaBH₄ で還元し、さらにメチル化したもの (Fig. 2. ④参照) を、TLC で分離して、ヘキサン、ベンゼン中の吸収曲線を調べたものである。NaBH₄ で還元しただけのものと極大吸収を比較すると、1~3 m μ 短波長側にずれているが、ほとんど変わらないといえる。U3 はこの段階では単一カロチノイドになっていると考えられるが、最大吸収は U1 とほぼ一致している。また U3 の吸収曲線の形も U1 のシャープさを除いたような形で、よく似ている。そこで Fig. 1. で用いた U3 を再度 TLC にかけて、できるだけ他のカロチノイドの混入をさけた状態で U3 をとり、I₂ テストを行ない U1 と比較した。U3 の異性化カロチノイド混合物のヘキサン中での極大吸収は (470), 448, 428 であり、U1 の I₂ テストの結果は (474), 449, (432) とほぼ一致した。

以上の結果より、U1, U2, U3 に共通する点をあげてみる。

(1) カロチノイド構造の直鎖部分の chromophoric system にケトンを1コ

Abbreviation H: hydrocarbon, M: monol, MM: monol monoepoxide, U: unknown carotenoid, D: diol, DM: diol monoepoxide, DD: diyl diepoxide, P: Polyol

Fig. 2. Changes of Polarity on TLC Unknown carotenoids by Methylation and Reduction of Carbonyl

持つ。

(2) β -イオン環に水酸基を1コ持ち、つまり monol カロチノイドである。そのため、ケトンが還元されて水酸基になると、TLC 上で diol と同じ位置を占める。またケトンから誘導された水酸基がメチル化されると、monol と同程度まで極性が低下する。

(3) 前報²⁾で紅土橋温州のUグループの分析より、分子内にエポキシサイドを持っていない。

(4) カラムまたは TLC 上でオレンジ-ピンク色を呈する。

また、U 1, U 2, U 3 の相異点をみると次のようなものである。U 2 はすべての溶剤中で、また NaBH₄ による還元後も、それに次ぐメチル化後も、その極大吸収は U 1 よりもつねに 13~19 m μ 長波長側にある。カロチノイドでは chromophoric system 中の二重結合が1コ少なくなると極大吸収が短波長側に移動するが、その場合イオン環中の二重結合ならば移動距離は約 10 m μ ,

その他であれば 15~20 m μ である。U 2 は吸収曲線の形、TLC 上での極性の変化などすべて U 1 と一致しているの、単に直鎖構造中の共役二重結合が U 1 より1コ多い構造と考えられる。U 3 はシスピークははっきりしなかったが、おそらく U 1 の異性体と考えられる。

2. U グループと類似カロチノイドの比較

U と性質の似ているカロチノイドと比較検討するために、これまでに報告されているものより、柑橘の特殊カロチノイドである semi- β -carotenone¹⁰⁾, reticulataxanthin⁷⁾, citraurin⁷⁾⁹⁾, とトウガラシの capsanthin capsorubin¹⁸⁾, を選んだ。理由はいずれも極性の強さが monol および diol 附近にあり、エポキシサイドを持たず、吸着層上でピンク色を呈するかまたは果皮の bright red の原因となっているもので、しかも分子内にアリル型水酸基を持たず、かつケトンをも1コ以上持っていることによる。ただし reticulataxanthin と citraurin は原料が手に入らないので文献値と比較した。

Fig. 3. Absorption Spectrum of Reduced and Methylated Unknown carotenoids which were Separated as Main Fraction by TLC (ref. Fig. 2. d.)

Fig. 4. TLC of β -carotene oxidized Mixtures, Carotenoid Mixtures of Red Pepper, Carotenoid Mixtures of Citrus Unshiu Peel and Unknown carotenoids

Table 1. Comparison of Unknown Carotenoids with other carotenoids

Carotenoid	Absorption maximum (m μ)			Reduction by NaBH ₄		Isomerization by I ₂
	in benzene	in hexane	in ethanol	in benzene	in hexane	in hexane
U 1	(488), 465	478, 452, (432), 454,		461, 434, 413	450, 425, (403),	(474), 449, (432),
U 2	(507), 478, (453), 494,	465, (440), 470,		484, 455, 431,	471, 443, 420,	(486), 461, (443),
U 3	(475), 455, (443), (475),	446, 427, 444,		456, 430, 404, (380),	446, 421, 393, 374,	(470), 448, 428,
semi- β -carotenone I		498, 464, 438,			465, 436, 415,	
semi- β -carotenone II		(487), 458, (435),			465, 435, 417,	
capsanthin	(510), 482, (460),			482, 452, 421,		
capsorubin	521, 487, 459			480, 449, 425,		
reticulataxanthin*	(507), 478, (457), 495,	465,	470,	486, 456, 431,		
β -apo-2-carotenal*	(493), 468,	480, 455,		460, 433, (410),		

* Cure, A. L.,⁷⁾

Semi- β -carotenone は YOKOYAMA ら¹⁰⁾ の方法により、氷酢酸中で β -carotene をクロム硫酸で部分酸化して作った。Capsanthin と capsorubin は市販トウガラシより常法によって抽出、けん化して得た。

Fig. 4. は β -carotene の部分酸化物混合物、トウガラシのカロチノイド混合物と U グループの TLC であるが、比較のため普通温州ミカンの果皮のカロチノイド混合物と同時にかけみた。III と IV は TLC の位置から U グループとは異なるものと考えられる。しかし U グループのケトン性の性質などを比較するために、これらを含めて、I, II, III, IV を分離して、各種テストを行ない、reticulataxanthin, β -apo-2-carotenol の文献値とともに Table 1 に示した。citraurin は吸収曲線その他の対象とすべき文献値がないので β -apo-2-carotenol の文献値を引用した。Fig. 5. にこれらのカロチノイドの分子構造を示したが、これからもわかるように β -apo-carotenol の β -イオノン環の 3-C に水酸基の入ったものが citraurin である。カロチノイドで、そのイオノン環の 3-C の位置の水酸基の存在のみが異なるものは、お互に極性のみが異なる(水酸基のあるものが強い)のみで、他の光学的性質はまったく一致すると考えてよい。

semi- β -carotenone II は NaBH_4 処理後に極大吸収が semi- β -carotenone I と一致していることから I の cis 型と考えられる。ヘキサン中で U2 の極大吸収は semi- β -carotene とほぼ一致している。しかし NaBH_4 処理による最大吸収の移動は、U2 が $22\text{ m}\mu$ であるのに対し、semi- β -carotenone は $32\text{ m}\mu$ である。またベン

ゼン中での極大吸収が U2 よりも若干長波長側にある capsanthin も、 NaBH_4 処理による最大吸収の移動は $30\text{ m}\mu$ で、処理後の極大吸収は U2 よりも短波長側になるのでケトンの構造上の位置もかなり異なるものと考えられる。

これに対し reticulataxanthin のベンゼン、ヘキサン、エタノール中の極大吸収および NaBH_4 処理後のベンゼン中の極大吸収のすべてが U2 のそれと一致する。reticulataxanthin は Fig. 5 の構造からもわかるように(点線内は未確定) monol monoaldehyde carotenoid であり、カウンターカレントの分別では monol monoepoxide と diol の間に位置し⁸⁾、その極性も U グループと同程度である。また reticulataxanthin のベンゼン中での吸収曲線の形は⁸⁾、Fig. 1. の U2 の吸収曲線とまったく類似している。以上のことより U2 は $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ が tangerine の果皮に見出した reticulataxanthin と同一カロチノイドと考える。

U1 のベンゼン、ヘキサン中での極大吸収は β -apo-2-carotenol とほぼ一致するが、 $2\sim 3\text{ m}\mu$ 短波長側にある。しかし NaBH_4 処理後のベンゼン中の極大吸収は両者とも完全に一致している。 β -apo-2-carotenol は水酸基を持っていないので、極性は hydrocarbon と monol の中間に入るはずである。その点 β -apo-2-carotenol に水酸基の 1 を入った citraurin ならば、U1 の極性とほぼ一致するであろう。以上のことより U1 は citraurin またはその類似カロチノイドと推定される。Fig. 5. に示したように、U1 の構造は少なくとも β -イオノン環か

Fig. 5. Structure of Several Carotenoids which have Similar Properties to Unknown Carotenoids

ら点線の部分までは citraurin と一致しているものと考えられる。

要 約

紅土橋温州の果皮に 20% 以上に含まれ、その特異な紅色の原因と考えられる未知カロチノイドUグループについて調べた。Uグループは TLC 上で monol mono-epoxide と diol の間に位置し、極性の弱い方から U1, U2, U3 の3カロチノイドに分れる。これらのカロチノイドはいずれもオレンジ-ピンク色を呈し、U1: 60.0%, U2: 28.8%, U3: 11.2% の率で存在する。

Uグループはいずれも β -イオノン環に水酸基を1コ持ち、また chromophoric system にケトンをもつ。このようなUグループの性質に類似したカロチノイドとして semi- β -carotenone, capsanthin, capsorubin, reticulataxanthin, citrausin を選り比較した。その結果、極大吸収、吸収曲線の形、極性、共役二重結合の数、chromophoric system 中のケトンの性質より、U1 は citraurin または citraurin 類似カロチノイド、U2 は, reticulataxanthin, U3 は U1 のシス型の一種と推定した。

終りにこの試験に用いた試料を提供して下さった農林省園芸試験場、興津支場の西浦昌男氏、伊庭慶昭氏その他関係者に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 梅田圭司・川嶋浩二：食品工誌, 18, 147 (1971).
 - 2) 梅田圭司・川嶋浩二：食品工誌, 18, 155 (1971).
 - 3) CURL, A. L., and BAILEY, G. F.: *Food Res.*, 22, 63 (1957).
 - 4) YOKOYAMA, H., and WHITE, M. J.: *J. Agr. Food Chem.*, 15, 693 (1967).
 - 5) CURL, A. L., and BAILEY, G. F.: *J. Agr. Food Chem.*, 4, 156 (1956).
 - 6) CURL, A. L., and BAILEY, G. F.: *J. Food Sci.*, 26, 442 (1961).
 - 7) CURL, A. L.: *J. Food Sci.*, 27, 537 (1962).
 - 8) CURL, A. L., and BAILEY, G. F.: *J. Agr. Food Chem.*, 5, 605 (1957).
 - 9) ZECHMEISTER, L., and TUZSON, P.: Über das Polyen-Pigment der Orange, II, Mittail; Citraurin, (193), (Ber. 70. 1966).
 - 10) YOKOYAMA, H., and WHITE, M. J.: *Phytochemistry*, 7, 1031 (1968).
 - 11) 梅田圭司・小野恒夫：食品工誌, 18, 468 (1971).
 - 12) ZECHMEISTER, L.: Cis-Trans Isomeric Carotenoids, Vitamin A and Arylpolyenes. (Springer-Verlag), (1962).
 - 13) CURL, A. L.: *J. Agr. Food Chem.*, 10, 504 (1962).
 - 14) PETRACEK, F. J., and ZECHMEISTER, L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1427 (1956).
 - 15) KRINSKY, N. I.: *Anal. Biochem.*, 6, 293 (1963).
- (1971年5月31日受理)