

研究資料

黄花ツバキ属植物の花弁のカロテノイド成分

谷川奈津・山溝千尋・大宮あけみ

(平成 22 年 7 月 2 日受付 平成 22 年 9 月 7 日受理)

Carotenoid Components in Petals of Yellow Flower *Camellia* Species

Natsu TANIKAWA, Chihiro YAMAMIZO and Akemi OHMIYA

Summary

Carotenoid components of seven yellow flower *Camellia* species were analyzed by HPLC. Carotenoid contents of these flower petals ranged from 0.8 to 11.3 μg lutein equivalent $\cdot \text{g}^{-1}$ FW. Violaxanthin, (9Z)-violaxanthin, luteoxanthin, antheraxanthin, β -cryptoxanthin, and β -carotene were identified as carotenoid components and these compositions were similar among all of the examined yellow flower *Camellia* species. These carotenoids were accumulated as esterified forms in the petals.

Key Words: *Camellia*, yellow flower, carotenoid

緒 言

ツバキには黄色花色を有する園芸品種がなく、黄花品種作出を目指して、濃黄色花色を有するツバキ属植物、キンカチャ (*Camellia chrysantha*, 金花茶) を交配親に用いた種間交雑が行われている。しかし、雑種第一代では濃黄色のものが出現せず、また雑種第一代が不稔となって交配を重ねることが難しいという問題もあり、鮮やかな濃黄色花色品種の作出には至っていない。

著者らは、キンカチャの花の発色機構は独特であり、フラボノイドのケルセチン誘導体とアルミニウムによる錯体の形成が、その濃黄色花色の発色に大きく関与することを報告した (Tanikawa ら, 2008)。一方、多くの植物において、濃黄色花色はカロテノイド色素によって発色している。キンカチャ花弁でも、カロテノイドを蓄積する細胞内小器官であるクロモプラスト粒子が観察され、含有量は多くないもののカロテノイドの蓄積が報告されている (Miyajima ら, 1985; Scogin, 1986; 吉川, 1992; 西本ら, 2004)。

キンカチャ以外にも、黄色花色を有するツバキ属植物は、中国南部からベトナム北部を中心に約 50 種が分布していることが報告されており (箱田, 2006)、近年交配材料として利用されるようになってきている。これら黄花ツバキ属植物の花の色素組成に関する研究は進んでいない。これらの中に、花弁に多量のカロテノイドを蓄積するツバキ属植物が存在すれば、黄花品種の育種素材として大変有望なものと考えられる。本研究では、キンカチャをはじめ 7 種の黄花ツバキ属植物における花弁のカロテノイド含有量、カロテノイド成分およびその存在形態について調査を行った。

材料および方法

1. 植物材料

花き研究所内のハウスで栽培している *C. chrysantha* の 2 系統 (花き研究所保存番号 564 および 566)、*C. chrysantha* var. *phaeopubisperma* (防城金花茶)、*C. cucphuongensis* (クックホンエンシス)、*C. fusuiensis* (扶綏金花茶)、*C. impressinervis* (凹脈金花茶)、*C. ptilosperma* (毛籽金花茶)、*C. quephongensis* (クエホンエンシス) より、充分に開花した花を採集した (Fig. 1)。

2. カロテノイド成分の抽出

液体窒素で凍結した 1 花分の花弁を、シェイクマスター BMS-12 ((株) バイオメディカルサイエンス) で粉碎し、これにアセトンを加えて色素を抽出した。ジエチルエーテルを加えてよく攪拌し、上層のエーテル層を回収した。これに蒸留水を加えて 2 回洗浄を行った。得られた抽出液を等分し、一方を濃縮乾固した (けん化処理なし)。他方の抽出液には、液量の半分量の 5% KOH-MeOH を加え、暗所で 2 時間静置した。これにジエチルエーテルおよび蒸留水を加え、よく攪拌後、上層のエーテル層を回収し、中性になるまで蒸留水で洗浄した後、濃縮乾固した (けん化処理有り)。これらを MeOH で溶解し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析に供試した。

3. カロテノイド成分の分析

HPLC 分析は、フォトダイオードアレイ検出器 (X-LC™ 3110MD, 日本分光 (株)) 付き HPLC システムを用いて行った。カラムは YMC Carotenoid (内径 4.6 mm, 長さ 100 mm, 粒子径 3 μ m; (株) ワイエムシイ) を使用し、35°C、流速 1.0 mL \cdot min⁻¹ で、溶媒 A (MeOH/(CH₃)₃COCH₃/H₂O = 95:1:4) 100% を 0~5 分間、次に溶媒 A に対し、33 分間かけて溶媒 B (MeOH/(CH₃)₃COCH₃/H₂O = 25:71:4) が 0~100% になるよう直線的に濃度勾配をかけた後、溶媒 B100% を 2 分間流す条件で、200~750 nm の範囲の吸収スペクトルを検出した。それぞれの試料について、1 花ごとにけん化処理をしない抽出液とけん化処理をした抽出液について分析を行った。カロテノイド含有量は、けん化処理を行った抽出液について 450 nm の光波長で検出した HPLC クロマトグラムにおけるピーク面積の合計から、花弁 1 g あたりに含まれるルテイン等量として算出した。カロテノイド成分は、検出されたピークのリテンションタイムと吸収スペクトルを、標品ならびにキクで同定されているカロテノイド化合物 (Kishimoto ら, 2004) のものと比較することで同定し、ピーク面積にもとづいて組成比を求めた。

結果および考察

7 種の黄花ツバキ属植物の花弁に含まれる総カロテノイド含有量は、ルテイン等量で 0.8~11.3 μ g \cdot g⁻¹ FW であった (Table 1)。淡黄色花色のトルコギキョウ花弁のカロテノイド含有量が、16 nmol \cdot g⁻¹ FW (9 μ g \cdot g⁻¹ FW に相当) であると報告されている (Nakayama ら、



Fig. 1. Yellow flower *Camellia* species used in this study.

(a) *C. chrysantha* (No. 564), (b) *C. chrysantha* (No. 566), (c) *C. chrysantha* var. *phaeopubisperma*, (d) *C. cucphuongensis*, (e) *C. fusuiensis*, (f) *C. impressinervis*, (g) *C. ptilosperma*, (h) *C. quephongensis*.

Table 1. Carotenoid contents and compositions in petals of yellow flower *Camellia* species. Values of carotenoid contents are expressed as lutein equivalent. Percentages of carotenoid compositions were obtained based on the peak area detected by absorbance of 450 nm wavelength light in HPLC analysis. 2, Violaxanthin; 3, luteoxanthin; 4, (9Z)-violaxanthin; 7, antheraxanthin; 8, β -cryptoxanthin; 9, β -carotene. 1, 5 and 6 were not identified.

	Number of tested flower	Carotenoid content ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW)	Carotenoid composition (%)									
			1 ^y	2	3	4	5	6	7	8	9	Others
<i>C. chrysantha</i> (No. 564)	n=3	0.8 \pm 0.4 ^z	4.4	12.2	15.5	19.9	10.9	3.4	13.7	4.7	1.8	13.5
<i>C. chrysantha</i> (No. 566)	n=2	11.3	7.0	21.8	8.7	27.7	9.9	2.4	9.5	1.9	1.2	9.9
<i>C. chrysantha</i> var. <i>phaeopubisperma</i>	n=4	2.4 \pm 0.4	4.3	9.1	12.3	23.4	12.7	4.2	14.4	4.1	3.2	12.3
<i>C. cucphuongensis</i>	n=5	1.6 \pm 0.3	5.1	4.5	8.2	23.0	18.4	— ^x	23.3	2.0	4.3	11.2
<i>C. fusuiensis</i>	n=3	3.9 \pm 0.5	8.7	14.4	4.5	29.3	12.8	1.7	14.7	1.9	3.2	8.8
<i>C. impressinervis</i>	n=2	2.1	4.7	18.7	10.9	26.6	9.7	8.3	5.8	1.3	4.0	10.0
<i>C. pilosperma</i>	n=3	3.8 \pm 0.6	7.7	16.6	7.2	25.0	14.5	—	14.4	2.2	2.2	10.2
<i>C. quephongensis</i>	n=3	7.4 \pm 1.2	3.9	11.5	6.4	29.1	16.7	1.2	15.0	2.3	5.4	8.5

^x — : not detected or trace.

^y Numbers correspond to peak numbers in Figure 2.

^z The data are indicated with SE values which were calculated when three or more samples were analyzed.

2006). 今回分析を行った黄花ツバキ属植物の花弁のカロテノイド含有量は、これと比較して同程度以下であり、濃黄色花色の発色に十分なカロテノイド濃度を有するものはなかった。

花や果実では多くの場合、カロテノイドは脂肪酸によってエステル化されてクロモプラスト内に蓄積される (Minguez-Mosquera and Hornezo-Méndez, 1994; Camara ら, 1995). 花弁のカロテノイド蓄積量が著しく少ないトマトの白花変異体 (*white-flower*; *wf*) では、水酸基を β -カロテンの β 環に付与する酵素 (β -カロテン水酸化酵素) の遺伝子のうち、花弁特異的に発現する遺伝子に変異している (Galpaz ら, 2006). そのためにエステル化が可能なキサントフィル類を生合成できないことが、*wf* 変異体の花弁にカロテノイドを多く蓄積できない原因の一つと推察されている (Galpaz ら, 2006). 本研究で供試した黄花ツバキ属植物では、カロテノイド抽出液のけん化処理によって HPLC のクロマトグラムが変化したことから、カロテノイドをエステル化した状態で蓄積していることが示された (Fig. 2). 従ってエステル化は、黄花ツバキ属植物の花におけるカロテノイドの蓄積量を制限する要因ではないと考えられる。

けん化処理を行った抽出液を HPLC で分析した結果、いずれの種においても同様のクロマトグラムが得られた。代表的なクロマトグラムを Figure 2b に示す。検出されたピークのうち、6 つのピークについては HPLC 上のリテンションタイムと吸収スペクトルをもとに、violaxanthin, luteoxanthin, (9Z)-violaxanthin,

antheraxanthin, β -cryptoxanthin, β -carotene と同定した。これらは全て、両端に β 環を持つ β 、 β -カロテン誘導体であった。各カロテノイド成分の組成比を Table 1 に示す。黄花ツバキ属植物では、花弁で生成されるカロテノイド組成において種間で違いが小さく、(9Z)-violaxanthin をはじめとするキサントフィル系カロテノイドを主要成分として蓄積する傾向が認められた。

摘 要

黄花ツバキ属植物 7 種について、花弁のカロテノイド成分の HPLC 分析を行った。これらの花弁におけるカロテノイド含有量は少なく、ルテイン等量で 0.8 ~ 11.3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW であった。いずれの種も同様なカロテノイド成分を蓄積しており、violaxanthin, luteoxanthin, (9Z)-violaxanthin, antheraxanthin, β -cryptoxanthin, β -carotene が同定された。カロテノイドはエステル化された状態で花弁に蓄積していた。

引用文献

- Camara, B., P. Hugueney, F. Bouvier, M. Kuntz and R. Moneger. 1995. Biochemistry and molecular biology of chromoplast development. *Int. Rev. Cytol.* 163: 175-247.
- Galpaz, N., G. Ronen, Z. Khalfa, D. Zamir and J. Hirschberg. 2006. A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato *white-flower* locus. *Plant*

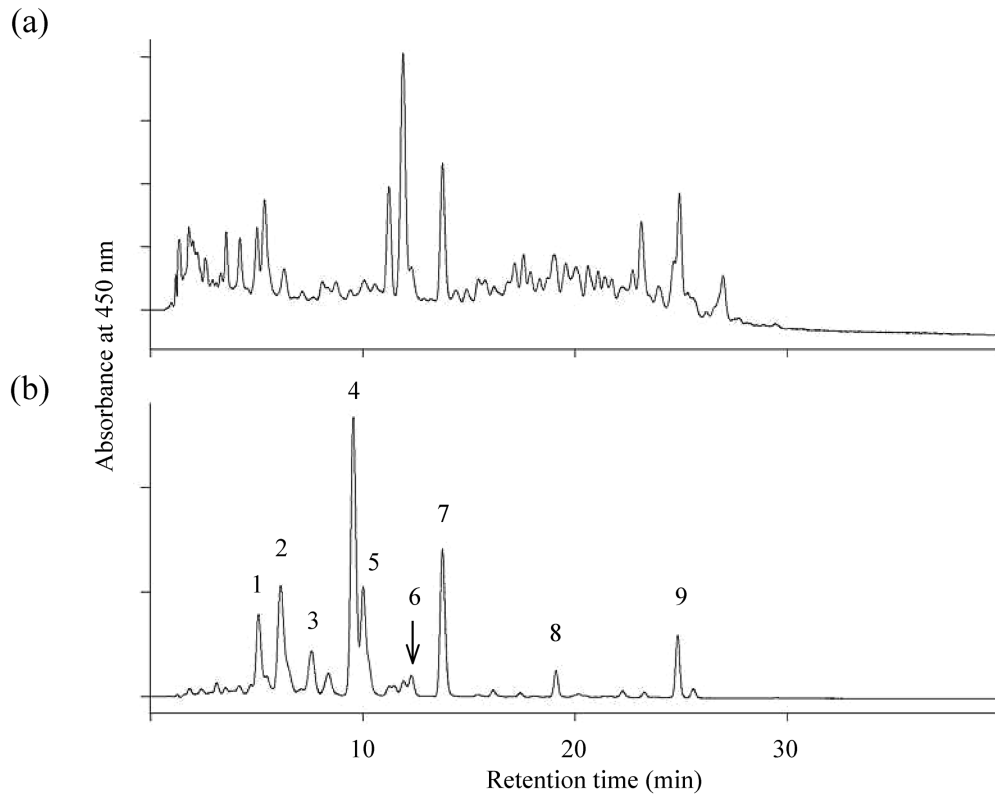


Fig. 2. HPLC chromatograms of non-saponified (a) and saponified (b) carotenoid extracts from *C. fusiensis*. 2, Violaxanthin; 3, luteoxanthin; 4, (9Z)-violaxanthin; 7, antheraxanthin; 8, β -cryptoxanthin; 9, β -carotene. The peaks of 1, 5 and 6 were not identified.

Cell 18: 1947-1960.

箱田直紀. 2006. 黄花ツバキの系譜と育種の現状. 恵泉女学園大学園芸文化研究所報告 3: 43-69.

Kishimoto, S., T. Maoka, M. Nakayama and A. Ohmiya. 2004. Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura). *Phytochemistry* 65: 2781-2787.

M í nquez-Mosquera, M. I. and D. Hornezo-M é ndez. 1994. Changes in carotenoid esterification during the fruit ripening of *Capsicum annum* cv. *Bola*. *J. Agric. Food. Chem.* 42: 640-644.

Miyajima, I., S. Uemoto, Y. Sakata, K. Arisumi and K. Toki. 1985. Yellow pigment of *Camellia chrysantha* flowers. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 29: 257-266.

Nakayama, M., M. Miyasaka, T. Maoka, M. Yagi and N. Fukuta. 2006. A carotenoid-derived yellow *Eustoma* screened under blue and ultraviolet lights. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 161-165.

西本慎一・橋本文雄・清水圭一・坂田祐介. 2004. キンカチャ × ヤブツバキ種間雑種の花弁. 園学雑. 73: 189-191.

Scogin, R. 1986. Floral pigments of the yellow *Camellia*, *Camellia chrysantha* (Theaceae). *Aliso* 11: 387-392.

Tanikawa, N., T. Kashiwabara, A. Hokura, T. Abe, M. Shibata and M.

Nakayama. 2008. A peculiar yellow flower coloration of camellia using aluminum-flavonoid interaction. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 77: 402-407.

吉川和男. 1992. キンカチャの雑種第一代. 西武舞鶴植物研究所報告. 7: 7-24.