

バレンシアレモンに含まれる蛍光物質を探る

宮城県仙台第三高等学校

参考文献より腐敗したミカンに紫外線を照射すると蛍光を発することがわかっている。そこで私達は他の柑橘類の一種であるバレンシアレモンでも腐敗によって蛍光が変化するのか疑問に持ち研究を始めた。2週間放置したものとしてないもので蛍光物質を抽出して分析したところ、腐敗によって蛍光物質が変化することを確認した。また、2週間放置したバレンシアレモンの抽出物に含まれている赤色を示す蛍光物質を確認した。赤色の蛍光を示す物質としてクロロフィル類があげられるが、文献調査の結果クロロフィルではない可能性が高いと考えた。実験2ではその仮説を確かめるため、クロロフィル特有の性質を利用して仮説の検証を行った。これらの実験の結果私達は今回新たに確認した蛍光物質はクロロフィル以外の新種の蛍光物質の可能性が高いと考えた。

1 背景

参考文献¹⁾より腐敗したミカンに紫外線を照射すると蛍光を発することがわかっている。これは、ミカンの果皮内部に蛍光物質が含まれていることと、腐敗が進むに連れ、内在する蛍光物質が露出するためだと考えられている。この現象を応用して、柑橘類の出荷前に腐敗を検知する自動選果機を作ることができ、これによって柑橘類の品質が保証される。また、柑橘類には蛍光物質の一種であるポリメトキシフラボン類のノビレチンやタンゲレチンが含まれている。これらの物質はがん治療に対して効果があるという報告²⁾もある。そのため、柑橘類の果皮に含まれる蛍光物質を調べることは、食品的にも医学的にも有意義である。



図1 腐敗したみかん 図2 蛍光しているみかん

文献を調べていく中で、いまだ検証されていない柑橘類が多数あることを確認した。そこで今回は未検証の柑橘類の一種であるバレンシアレモンに含まれる蛍光物質の特性を明らかにすることを目標として実験を行った。今回実験に使用したバレンシアレモンは宮城県産の柑橘類であり、キンカンとマンダリンの交配種だといわれている。

予備実験として放置したバレンシアレモンに紫外線ライト(周波数 365 nm)を照射したところ蛍光を確認することができた。(図3)によってバレンシアレモンの果皮には蛍光物質が含まれていると考えられる。



図3 バレンシアレモンに紫外線を照射した様子

実験1では食品の品質管理に应用するため、時間経過によって内在する蛍光物質がどのように変化するのか調べた。

実験2ではどのような蛍光物質がバレンシアレモンの果皮に含まれているのか特定を行った。

2 材料と方法

実験1ではバレンシアレモンに含まれている蛍光物質を抽出するため以下の参考文献¹⁾の操作を行った。

大竹農園から収穫されたバレンシアレモン1kg分の果皮を実験に使用した。まずはじめに、バレンシアレモン1kg分の果皮をフードプロセッサーで細かく砕き、ヘキサン300mlに一日浸して油溶成分を抽出した。ロータリーエバポレーターで減圧濃縮を行ったのち、夾雑物である糖分、脂質、カロテノイド類を分離するため水200ml、メタノール20mlでそれぞれ液液分配を行った。このようにして比較的純度の高い蛍光物質を含んでいると考えられるメタノール層を得ることができた。

この操作を二週間室温で放置したバレンシアレモンと、放置していないものからそれぞれ抽出作業を行った。

実験1では、得られたメタノール層に含まれる蛍光物質を確認、比較するため展開溶媒を酢酸エチル:ヘキサン=6:4として薄層クロマトグラフィー(以下TLC)を行った。

実験2では実験1の操作で得られたメタノール層に含まれる物質を特定するため、筑波大学小林正美様のお力をお借りして、分光光度計とHPLCを用いて分析を行った。

紫外可視分光光度計は JASCO V-560で測定、HPLCは移動相は調べる物質をヘキサン、2-プロパノール、メタノールを体積比(100/1/0.4,v/v/v)で溶出し、クロロフォルムを流したカラム(YMC-Pak SIL, 250 × 4.6 mm i.d)に流して測定した。

3 結果考察

・実験1

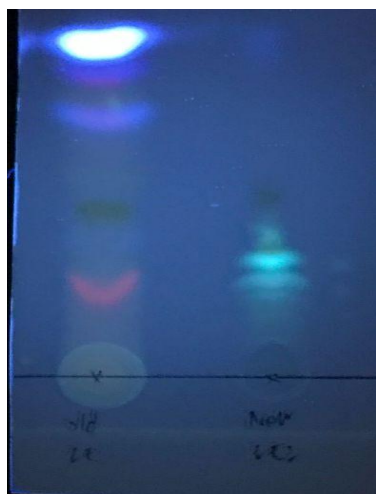


図4 TLCの写真

図4はTLCを行ったのち、TLCプレートに紫外線を真上から照射したものを撮影した様子である。下から上に展開前線は進んでいる。左側が二週間放置したもの、右側が放置してないものである。

この結果から腐敗によって蛍光物質が変化していると考えられる。特に青色の蛍光を示す蛍光物質の変化が著しいことを把握した。

また二週間放置したもののTLCに含まれている赤い蛍光物質は文献を調べた結果、未確認の蛍光物質(以下Flu.Rと呼称する)の可能性が高いと考えた。以下その理由について述べる。

柑橘類の果皮に含まれる蛍光物質としてポリメトキシフラボン類、クマリン類、クロロフィル類があげられる。それぞれの物質は、青、緑、赤の蛍光を発する。赤色を示す蛍光物質としてクロロフィルが考えられるが、参考文献³⁾より柑橘類において果皮のクロロフィルの量が成熟期に著しく減少することが挙げられていることと、今回抽出に用いたヘキサンはクロロフィルに対しての溶解度が極端に小さいことが参考文献⁴⁾で述べられていることが挙げられる。これらの理由より、クロロフィルによる蛍光が著しく高くなる可能性は低いと考えた。

・実験2

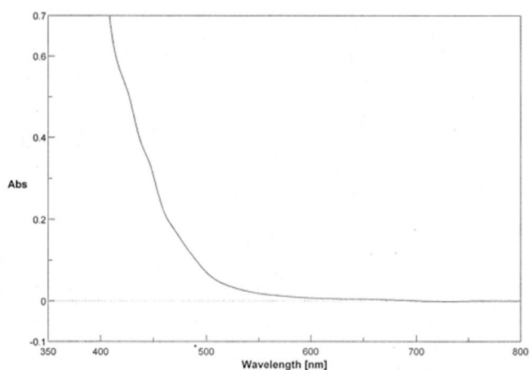


図5 吸光度のデータ

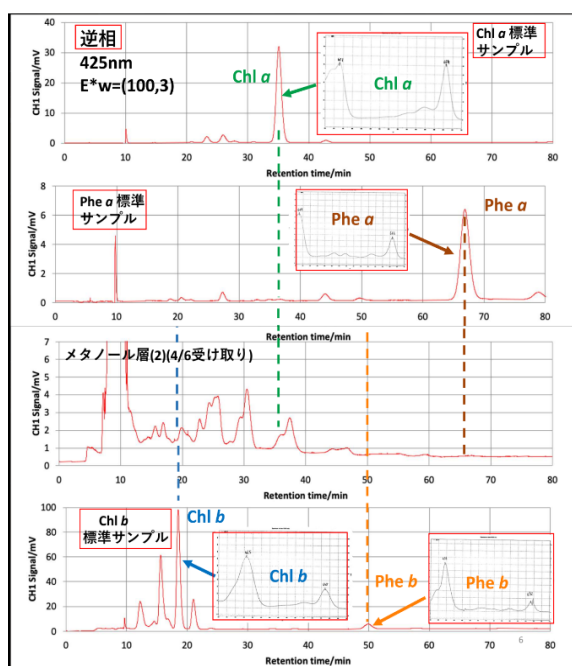


図6 逆相HPLCのデータ

図5は分光光度計のグラフ、図4はHPLCデータである。実験2で得られたFlu.Rがクロロフィルであると仮定すると、クロロフィル特有の吸収ピークである645,663nmでの吸光度が高くなるはずである。図5の吸光度のグラフにピークは観察されないため、Flu.Rはクロロフィルではない可能性が高まった。

また図6の分析より、HPLCではクロロフィル類の量は検出限界以下であった。これらのことからFlu.RはChlではなく新種の蛍光物質である可能性が一段と高くなった。

5.まとめ

今回私達の研究ではバレンシアレモンに含まれる蛍光物質の蛍光特徴を把握したことで、Chl以外の新種の蛍光物質が含まれている可能性が高いことを把握した。

6.参考文献

- 1)小川雄一.蛍光画像を用いた柑橘系果実の腐敗果検出.2011
- 2)十一元晴.カンキツ類の化学成分とがん予防物質に関する研究.2004
- 3)近藤直.Monitoring Of Fluorescence Characteristics Of Satsuma Mandarin During Maturation Period.2009
- 4)渡辺正.クロロフィル類の精密分析.1989