

カラマツ材中の遊離アミノ酸の季節変化

高橋 成直

信州大学農学部森林化学研究室

増田 秀樹

足立ベニア株式会社

関 亘

甲信測量株式会社

はじめに

前報¹⁾で、1970年5月初旬に伐倒した樹令63年のカラマツ材中の遊離アミノ酸についてその種類、含有量および相対的な割合などを報告した。今回はそれら遊離アミノ酸の季節変化を知ることを目的として1971年3月から1972年3月までの13ヶ月に亘って伐倒した計39本の試験木から得られた結果を報告する。

この実験を行なうに当ってご協力をいただいた信州大学農学部附属演習林ならびに木材利用学研究グループの皆様に対して深謝いたします。

I 実験材料と方法

§1 実験材料

実験に用いたカラマツ材は信州大学農学部附属手良沢山演習林内の17年生カラマツ人工植栽林分より、1971年3月から1972年3月までの13ヶ月に亘って毎月中旬に3本宛合計39本を伐倒したものである。

おのおのの供試木の上部（樹幹最上部2.5mを採取し、頂梢部1mを切断除去した残りの部分）、中部（樹高中央部、厚さ30cmの円板）および下部（樹幹最下部、厚さ30cmの円板）の3部分から材料を採取した。採取した各材料は直ちに剝皮し、心材部を除去した。残りの辺材部を細割し、55°~60°Cで乾燥したのちに木粉とした。

§2 実験方法

木粉100gを2l容三角フラスコに採り、純水700mlを加えて時々振盪しながら24時間室温で抽出を行ない、ろ過して冷水可溶分を採取した。残渣について同様の操作をもう一度繰返し、最後に純水500mlで洗浄した。得られたろ液、洗液を合わせて一旦煮沸したのち約50°Cで減圧乾固して分析試料とした。

おのおのの分析試料から1gを精確に秤取し、純水を加えて溶解したのちピクリン酸を加え除タンパクをした。溶液にAmberlite IR-120イオン交換樹脂を添加、攪拌したのち純水で数回洗浄した。洗浄後の樹脂は2N NH₄OHで処理をして吸着しているアミノ酸類を溶

出した。溶出液は約50°Cで減圧乾固し、得られた遊離アミノ酸混合物は N-TFA-アミノ酸-n-ブチルエステル誘導体^{2)~8)}としてガスクロマトグラフィーによって定量した。

定量には2本のカラム (カラムNo.1: 0.3×200cmガラスカラム, 0.325%エチレングリコールアジペート, Chromosorb GAW 80~100メッシュ。カラム No.2: 0.3×200cmガラスカラム, 1.5%OV-17, Chromosorb GHP 80~100メッシュ)を用い、市販標準アミノ酸から得られた検量線をもとにして試料中に含まれるアミノ酸を定量した。なお内部標準物質にはパルミチン酸メチルを用いた。測定に用いたガスクロマトグラフは日立063型 (高性能アンプ付)である。

また、ガスクロマトグラフィーで分離定量ができなかった6種類のアミノ酸の検出確認をする目的で各試料についてガスクロマトグラフィーと並行して二次元ペーパークロマトグラフィーを行なった。二次元ペーパークロマトグラフィーには東洋ろ紙No.51A (40×40cm)を使用し、展開溶媒はn-ブタノール・酢酸・水 (4:1:5) とフェノール・水 (4:1) としそれぞれ一次および二次展開溶媒として用いた。展開はクロマトキャビネット中で下降法によって行なった。また、呈色試薬には0.1%ニンヒドリン・エタノール溶液を用いた。

II 実験の結果と考察

この実験で用いた2本のカラムのN-TFA-アミノ酸-n-ブチルエステルに対する結果は Fig. 1およびFig. 2にその1例を示すとおりである。

すなわち、グルタミン酸とグルタミン、アスパラギン酸とアスパラギンおよびオルニチン

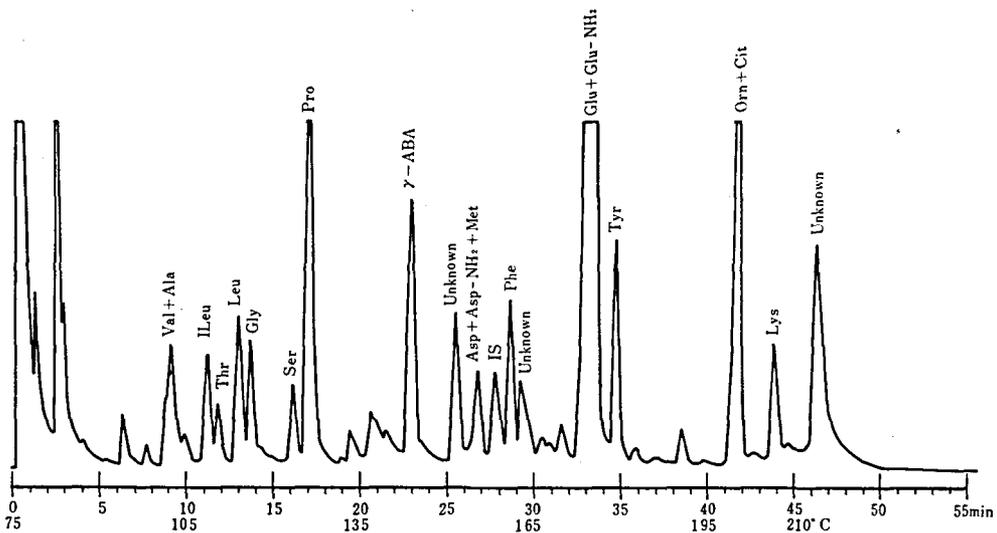


Fig.1 Gas chromatogram of the n-butyl-N-trifluoroacetyl derivatives of amino acids found in Karamatsu sapwood (Sample : lower part of stem in April 1971)
 Column : 0.3×200cm glass column packed with 0.325% poly-ethylenglycol adipate on 80~100mesh Chromosorb GAW Column temperature : initial, 75°;
 final, 210° Program rate : 3°/min N₂ Carrier flow : 60ml/min
 IS : palmitic acid methyl ester

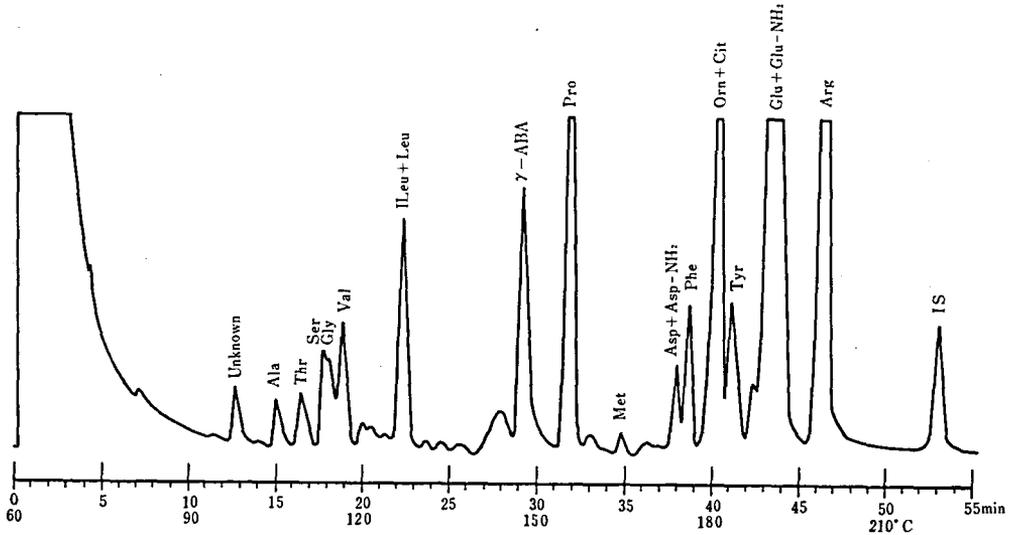


Fig.2 Gas chromatogram of the n-butyl-N-trifluoroacetyl derivatives of amino acids found in karamatsu sapwood (Sample : lower part of stem in April 1971)

Column : 0.3×200cm glass column packed with 1.5% silicon OV-17 on 80~100 mesh Chromosorb GHP Column temperature : initial, 60°; final, 210°

Program rate : 3°/min N₂ carrier flow : 70ml/min IS : palmitic acid methyl ester

とシトルリンのピークは全く重なってしまう。したがって、これらのアミノ酸が天然にそれぞれ遊離状態で存在していたとしてもこの方法では分離定量することができない。そこで本実験では（グルタミン酸+グルタミン）、（アスパラギン酸+アスパラギン）および（オルニチン+シトルリン）をそれぞれグルタミン酸、アスパラギン酸およびオルニチンとして定量しおのおのの含量として考えることにした。前記6種のアミノ酸の季節的変動は別に行なった二次元ペーパークロマトグラフィーの結果からおよその傾向を判断した。

その他のアミノ酸は2本のカラムを用いることによってそれぞれ良好な定量結果が得られた。

§3 遊離アミノ酸の季節変化

1 全遊離アミノ酸量の変化

全遊離アミノ酸量の季節変化を Fig. 3 に示した。

全遊離アミノ酸量は4月中旬、カラマツの新芽が開き始める頃急激に増加する。とくに樹幹下部においてその変化が著るしく、同じ部位の3月中旬の含有量の約3倍、同じ時期の上部および中部の約2倍近い値を示した。5月中旬には各部位とも急激に含有量が低下するが、とくにこの傾向は樹幹中部および下部において顕著である。6月中旬に僅かに含有量の増加がみられるがその後は再び低下し8月中旬迄含有量は少なく大きな変化はみられない。9月中旬になると再び含有量の急激な増加がみられ、樹幹上部においては11月中旬に、中部および下部においては翌年の1月中旬にピークに達しその後は3月中旬迄減少する傾向を示した。

実験期間を通じた全遊離アミノ酸量の季節変化を概括すると二つの大きなピークがあるこ

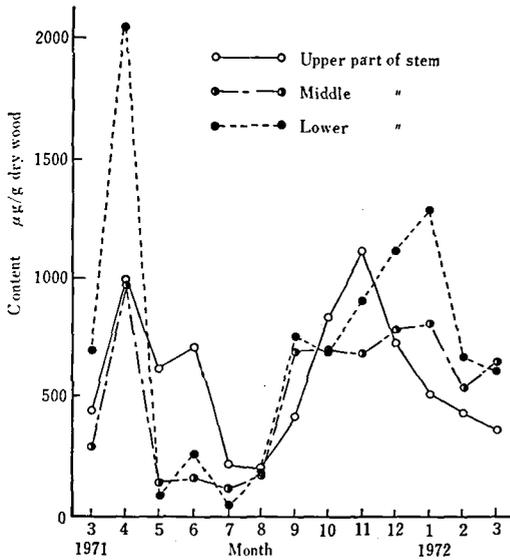


Fig. 3 Seasonal change of total free amino acid contents in Karamatsu sapwood

とが明らかである。すなわち、その一つは早春、カラマツの新芽が開き始める時期に相当し、他の一つは部位によって多少のずれがあるがカラマツの休眠期に相当する。したがって、カラマツの生育が旺盛な5月中旬から8月中旬にかけて樹幹内の遊離アミノ酸量は少ない。

以上の結果は Barnes⁹⁾ が loblolly pine の樹液について行なった実験の結果とよく一致している。

2 個々の遊離アミノ酸の変化

ガスクロマトグラフィーによって検出、定量されたそれぞれの遊離アミノ酸の季節変化を Fig. 4~Fig. 20 に示した。これらのアミノ酸の季節的な変動のパターンは同じではないが類似した傾向を示すものをそれぞれにまとめ

てみると次のようになる。

a. (Glu+Glu-NH₂) および Pro の変化

(グルタミン酸+グルタミン) の変化を Fig. 4 に、プロリンの変化を Fig. 5 に示した。

これらの図から明らかなように、(グルタミン酸+グルタミン) は4月中旬、休眠が破れカラマツの新芽が開き始める頃急激に含有量が増加する。そしてこの増加の程度は樹幹下部において最も著しく、中部、上部の順に増加の割合は減少する。樹幹の下部および中部は5月中旬には急激な含有量の低下を示すが上部は4月中旬に引続いて増大し5月中旬にピークに達する。その後樹幹の中部および下部は6月中旬に僅かに増加する傾向を示すが7月中旬には再び低下して翌年3月までほとんど変化を示さない。樹幹上部の含有量は5月中旬にピークに達した後7月中旬まで引続いて低下しそのまま9月中旬までほとんど変化しない。しかし10月中旬、カラマツの葉が黄変する時期に再び含有量が増加してピークが現われるが11月中旬には再び減少して翌年3月までほとんど変化を示さない。

このような変動のパターンと豊富な含有量ならびに Table. 1 に示したペーパークロマトグラフィーの結果などから判断して、グルタミン酸およびグルタミンは早春のカラマツ芽ぶき時期における代表的なアミノ酸であるということが明らかである。また Table. 1 の結果から、カラマツの生育開始期にはグルタミンは主に樹幹下部に比較的多く蓄積されているものと考えられる。

プロリンの含有量は4月中旬に樹幹の各部位で急激に増加し、5月中旬には急激に低下する。樹幹の中部および下部は5月中旬以降翌年3月中旬までほとんど変動がないが樹幹上部ではその後6月中旬、9月中旬および11月中旬に小さなピークが現われる。プロリンの変化は(グルタミン酸+グルタミン)のそれと全く同じではないが極めて類似しており早春のカ

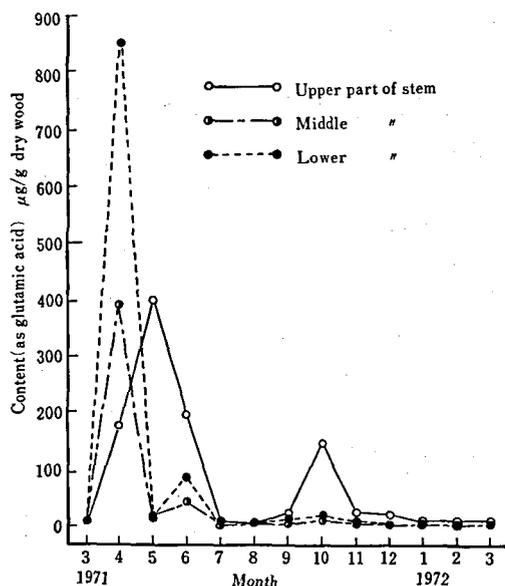


Fig. 4 Seasonal change of the combined content (glutamic acid+glutamine) determined by gas chromatography of *n*-butyl-*N*-trifluoroacetyl derivatives in Karamatsu sapwood

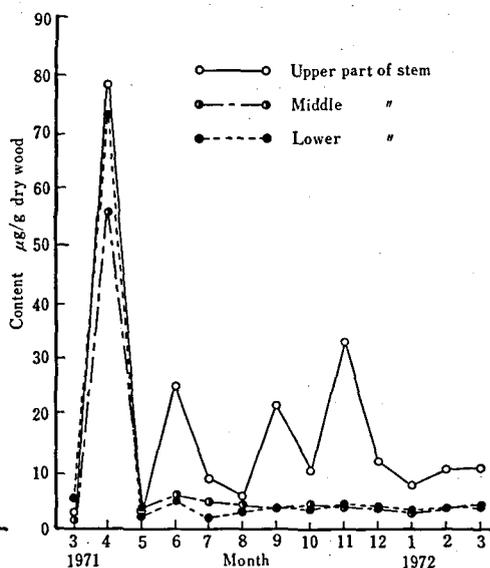


Fig. 5 Seasonal change of proline in Karamatsu sapwood

Table 1 Seasonal changes of six amino acids (glutamic acid, glutamine, aspartic acid, asparagine, ornithine and citrulline) by paper chromatography

Amino acid	Stem	Month												
		1971									1972			
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
Glu	Upper	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+
	Middle	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	Lower	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu-NH ₂	"	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	"	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asp	"	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asp-NH ₂	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Orn	"	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
	"	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	"	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Cit	"	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
	"	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	"	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

+.....Detected by paper chromatography

-.....Undetected by paper chromatography

Eluting solvent system, first, *n*-BuOH : AcOH : H₂O=4 : 1 : 5.
 secondary, phenol : H₂O=4 : 1. Developer, ninhydrin

ラマツ芽ぶき時期における代表的なアミノ酸の一つである。

b. Arg および (Orn+Cit) の変化

アルギニンおよび (オルニチン+シトルリン) の季節変化を Fig. 6 と Fig. 7 に示した。

アルギニンおよび (オルニチン+シトルリン) は9月中旬, カラマツの葉が黄変する以前から含有量が増加し始め落葉期から休眠期を通じて豊富に存在するアミノ酸である。休眠が破れる頃から急激に含有量が低下し, カラマツの生育旺盛な5月中旬から8月中旬にかけて含有量は最も少なくなる。グルタミン酸およびグルタミンが早春のカラマツ芽ぶき時期における代表的なアミノ酸であるのに対して, アルギニン, オルニチンおよびシトルリンはそれらの季節変動のパターンと豊富な含有量などから考えると秋期から休眠期を通じての代表的なアミノ酸であることが明らかである。アルギニンおよびシトルリンは分子当りの窒素含有率が他のアミノ酸などに比較して高率である。したがって, 上記の季節変動のパターンと豊富な含有量は冬期間の窒素の貯蔵方法がカラマツにおいても効率のよい形態で行なわれている事実を証拠づけるものである。また Fig. 6 と Fig. 7 とを対比してみると, 休眠期間中アルギニンの急激な増加或は減少がみられるがこれらの時期において対応する各部位の (オルニチン+シトルリン) 含量は逆に減少或は増加している。したがって, これらのアミノ酸は相互に密接な関連をもっているものと考えられる。さらに, Table 1 に示したオルニチンおよびシトルリンのペーパークロマトグラフィーの結果も合わせて考えると, カラマツの窒素代謝にもオルニチン回路が関与していることを予想できる。

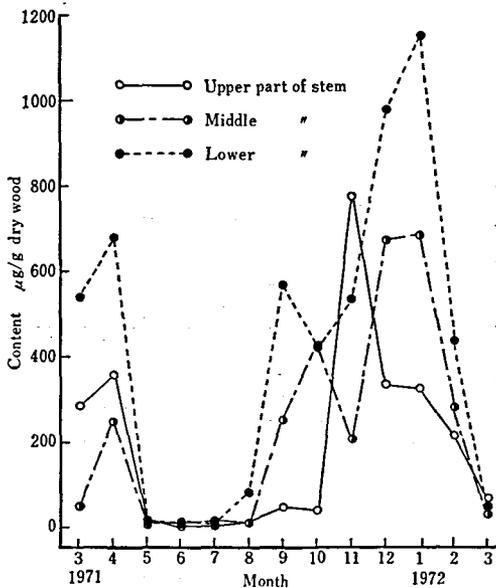


Fig. 6 Seasonal change of arginine in Karamatsu sapwood

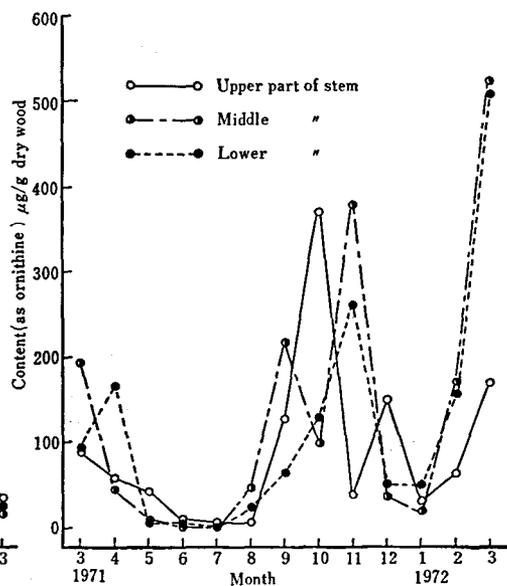


Fig. 7 Seasonal change of the combined content (ornithine+citrulline) determined by gas chromatography of n-butyl-N-trifluoroacetyl derivatives in Karamatsu sapwood

c. γ -ABA の変化

γ -アミノ酪酸の季節変化を Fig. 8 に示した。

γ -アミノ酪酸の含有量はカラマツの新芽が開き始める4月中旬に樹幹の各部位に亘って増加するが5月中旬一旦減少する。6月中旬には再び含有量が増加するがその割合はとくに樹幹上部で著しい。7月中旬、樹幹の上部と下部においては再び含有量が低下するが樹幹中部ではこのような傾向はみられない。 γ -アミノ酪酸は4月中旬のカラマツ芽ぶき時期から10月中旬のカラマツの葉が黄変する時期にかけて比較的多量に存在するが11月中旬の落葉期を境にしてそれ以後は翌年3月まで漸減する傾向を示した。

d. Lys, Ser, Phe, Thr, Gly, ILeu, Leu, Val, Met および (Asp+Asp-NH₂) の変化

リジン, セリン, フェニルアラニン, スレオニン, グリシン, イソロイシン, ロイシン, バリン, メチオニンおよび(アスパラギン酸+アスパラギン)の季節変化を Fig. 9~Fig. 18に示した。

これらのアミノ酸は a~c の項に示したアミノ酸に比較すると樹幹の各部位においていずれも含有量が少ない。

季節変動のパターンは樹幹中部における(アスパラギン酸+アスパラギン)の変化をのぞけば他はいずれも4月中旬に含有量の急激な増加を示す。この時期を境にして5月中旬には急激に含有量が低下して第1のピークが出現する。6月中旬、樹幹上部の試料は各アミノ酸とも再び急激な含有量の増加を示し、7月中旬には再び低下して第2のピークが出現する。樹幹の中部および下部の試料は6月中旬から7月中旬にかけてのこのような変動の傾向を上部ほど顕著に示さない。7月中旬から8月中旬にかけての変動は各部位ともあまり大きくはない。9月中旬から10月中旬(カラマツの葉の黄変期)になると含有量はまた増加の傾向を示し、その後休眠期間中徐々に減少して第3のピークが出現する。

なお、アスパラギンはペーパークロマトグラフィーによる検索の結果では、いずれの時期、いずれの部位においても検出することができなかったのがカラマツ辺材部に存在していたとしても極めて微量なものであると考えられる。

この項に分類された各アミノ酸の含有量が、カラマツの新らしい枝葉が形成され光合成機能が旺盛となった6月中旬にとくに樹幹上部において急激に増加すること、さらにグルタミン酸含有量は樹幹上部においてはそれより少し早い5月中旬に最高値を示すこと。などの結果を考慮すると、カラマツのアミノ酸代謝においてもグルタミン酸が重要な役割を演じていることが明らかである。

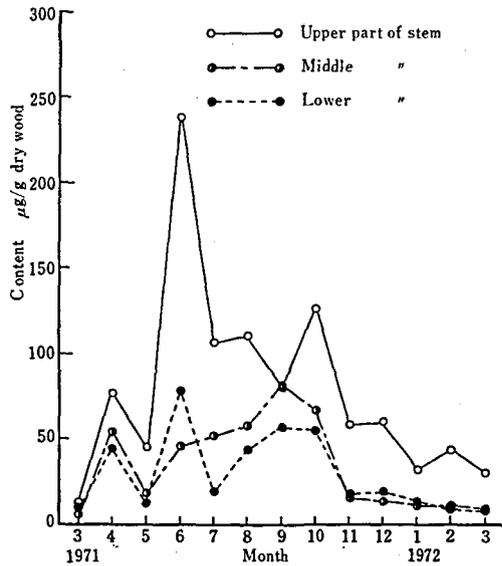


Fig. 8 Seasonal change of γ -aminobutyric acid in Karamatsu Sapwood

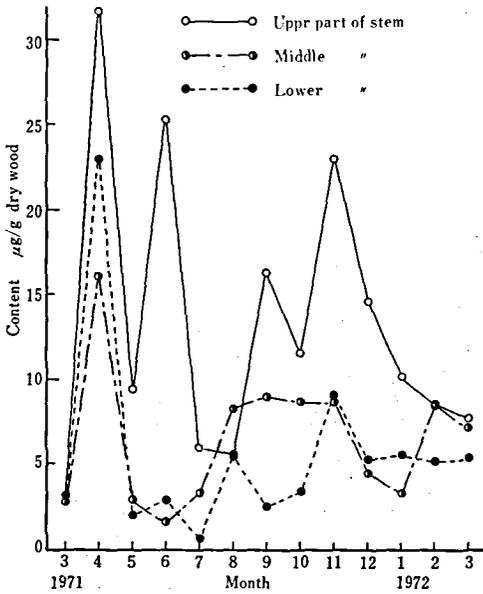


Fig. 9 Seasonal change of lysine in Karamatsu sapwood

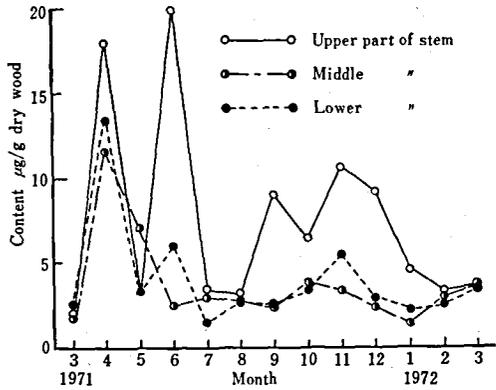


Fig. 10 Seasonal change of serine in Karamatsu sapwood

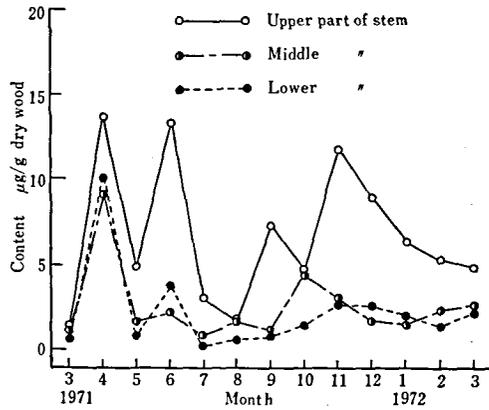


Fig. 12 Seasonal change of threonine in Karamatsu sapwood

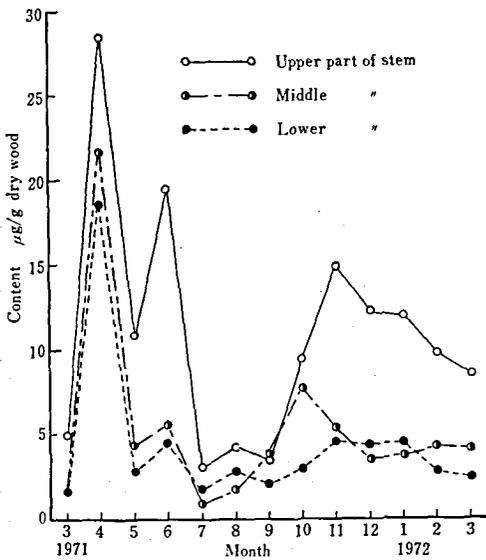


Fig. 11 Seasonal change of phenylalanine in Karamatsu sapwood

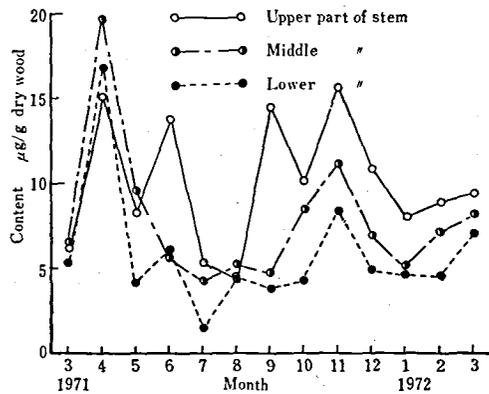


Fig. 13 Seasonal change of glycine in Karamatsu sapwood

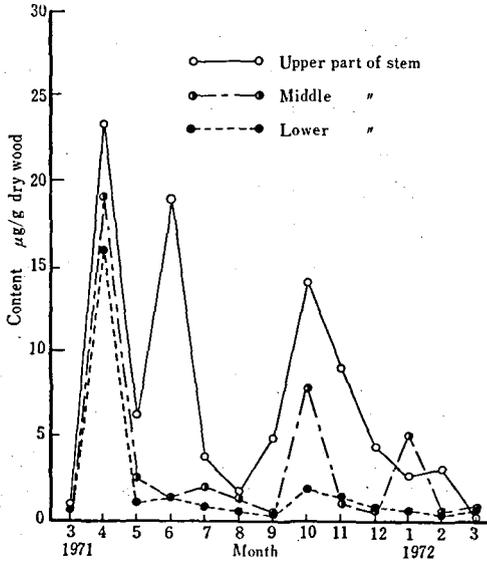


Fig. 14 Seasonal change of isoleucine in Karamatsu sapwood

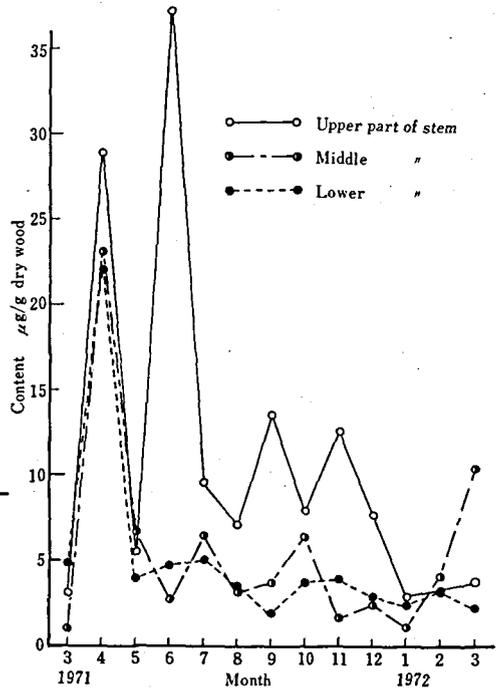


Fig. 15 Seasonal change of leucine in Karamatsu sapwood

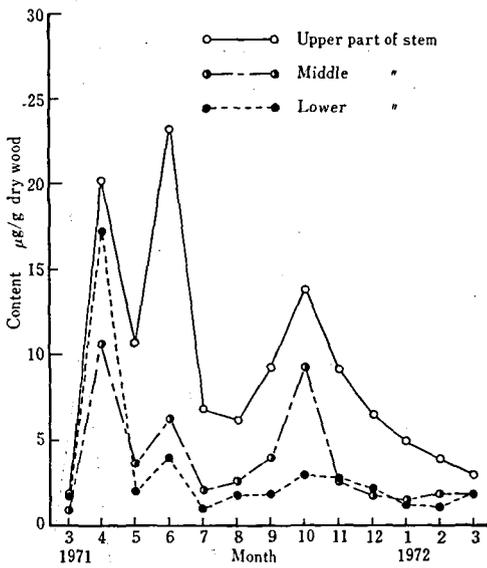


Fig. 16 Seasonal change of valine in Karamatsu sapwood

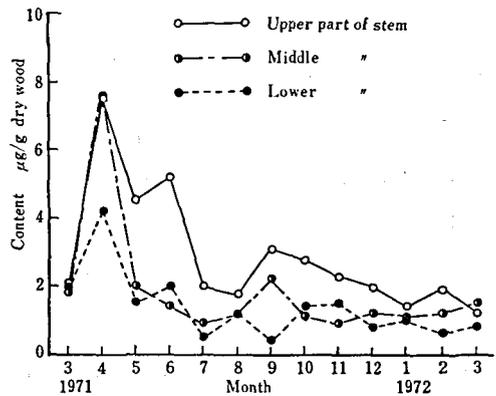


Fig. 17 Seasonal change of methionine in Karamatsu sapwood

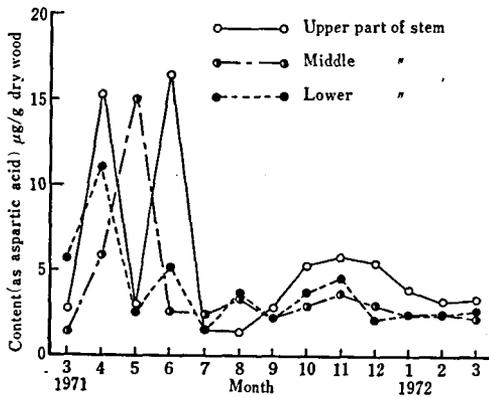


Fig. 18 Seasonal Change of the combined content (aspartic acid + asparagine) determined by gas chromatography of *n*-butyl-*N*-trifluoroacetyl derivatives in Karamatsu sapwood

e. Ala および Tyr の変化

アラニンおよびチロシンの変化をそれぞれ Fig. 19 と Fig. 20 に示した。

a~dの項に分類したそれぞれのアミノ酸は樹幹の各部位で季節的にあるパターンで変化した。アラニンおよびチロシンには明確な季節変動のパターンが認められない。

アラニン含有量は樹幹の中部および下部では6月中旬最高値を示し、7月中旬には急激に減少して測定期間中の最低値を示す。さらに樹幹の中部と下部の変動は類似しているが上部はそれらとは異なり前者が最低含有量を示す7月中旬に後者は最高値を示

している。

チロシン含有量は樹幹の上部では5月中旬と10月中旬の二時期に鋸歯状の大きなピークを示す。樹幹中部はそれらよりおくれ、休眠期間中の1月中旬に、樹幹下部はさらにおくれ、カラマツの新芽が開き始める4月中旬にそれぞれピークが現われる。この結果はチロシンが秋期から休眠期にかけて樹幹の上部から下部へ転流し、新しい枝葉が形成され始める頃に

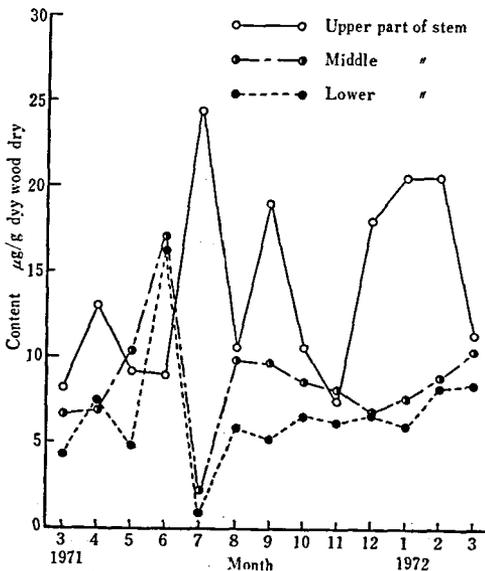


Fig. 19 Seasonal change of alanine in Karamatsu sapwood

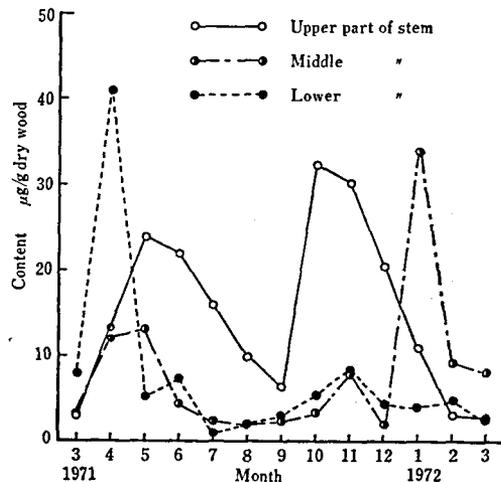


Fig. 20 Seasonal change of tyrosine in Karamatsu sapwood

は下部から上部へ転流されるのではないかと推定されるがいずれにしてもより詳細な実験を行なうことが必要である。

§4 遊離アミノ酸の相対量

全遊離アミノ酸量に対する各遊離アミノ酸量の比率を月別、樹幹部位別に Table 2 に示した。

この表から明らかなように、カラマツ辺材中に見出される遊離アミノ酸のうちで一生長周期を通じて支配的なアミノ酸は認められないが季節的にはそれぞれの季節で支配的なアミノ酸が認められる。すなわち、

(グルタミン酸+グルタミン) は4月中旬のカラマツ芽ぶき時期から新しい枝葉が形成され光合成機能が旺盛となる6月中旬にかけて相対的な割合が高い。とくに樹幹中部と下部における4月中旬の割合は高く、この時期における全遊離アミノ酸量の飛躍的増加の主要部分をこれらのアミノ酸が占めている。

γ -アミノ酪酸は4月中旬のカラマツ芽ぶき時期から10月中旬のカラマツ葉の黄変期にかけて相対的な割合が高いが、とくに多くのアミノ酸が測定期間を通じて最低の含有量を示す7月中旬と8月中旬に割合が高い。

アルギニンおよび(オルニチン+シトルリン)は8月中旬頃から相対的な割合が高まり始め、樹葉の黄変期~落葉期~休眠期を通じて圧倒的に豊富に存在するアミノ酸であることが明らかである。また、この期間中にアルギニンの相対的な割合が増加或は減少すればそれに対応する部位の(オルニチン+シトルリン)のそれは減少或は増加しており相互に密接な関係があることを示している。

この結果に基づいて、アルギニン+(オルニチン+シトルリン)の含量で測定期間中の相対的な割合をみると、8月中旬頃から樹幹下部より相対量が増し始め季節の進行に伴って順次中部、上部へとその増加が波及していく。11月中旬には樹幹の上部、中部および下部での相対的な割合はそれぞれ75.3%、87.7%および90.3%という値を示す。試料採取地では丁度この時期がカラマツの落葉が完了したときである。11月中旬以降翌年3月中旬迄相対的な割合はほとんど変化しないが休眠が破れる頃急激に低下する。したがって、Fig. 3 でみられる9月中旬から翌年の1月中旬にかけての全遊離アミノ酸量の飛躍的な増加の主要部分はアルギニンおよび(オルニチン+シトルリン)が占めていることが明らかである。

以上カラマツ辺材中に見出される遊離アミノ酸のうち、とくに豊富に存在するアミノ酸についてそれらの相対的な割合の変化を検討した。その結果

- (1) 休眠が破れカラマツが芽ぶき始める頃から生育期の前半にかけてみられる代表的なアミノ酸は(グルタミン酸+グルタミン)である。
- (2) 生育期後半の代表的なアミノ酸は γ -アミノ酪酸である。
- (3) 樹葉の黄変期~落葉期~休眠期を通じての代表的なアミノ酸はアルギニンおよび(オルニチン+シトルリン)であるといえる。

要 約

17年生のカラマツ辺材部に含まれる遊離アミノ酸の季節変化を1971年3月から1972年3月

Table 2 Ratios of individual amino acids to total free amino acid contents

(%)

Amino acid	Stem	Month												
		1971			1972						1973			
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
Val	Upper	0.5	2.1	1.7	3.3	3.1	3.0	2.2	1.7	0.8	0.9	1.0	0.9	0.8
	Middle	0.3	1.1	2.5	3.9	1.8	1.5	0.7	1.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.3
	Lower	0.2	0.9	2.5	1.6	1.9	1.0	0.3	0.4	0.3	0.2	0.1	0.2	0.3
Ala	"	1.9	1.3	1.5	1.3	11.0	5.2	4.6	1.3	0.7	2.5	4.1	4.8	3.2
		2.3	0.7	7.2	10.5	1.9	5.8	1.6	1.3	1.2	0.9	1.0	1.7	1.6
		0.6	0.4	5.9	6.3	1.7	3.2	0.7	1.0	0.7	0.6	0.5	1.2	1.4
ILeu	"	0.2	2.4	1.0	2.7	1.7	0.9	1.2	1.7	0.8	0.6	0.5	0.7	0.1
		0.3	2.0	1.7	0.9	1.7	0.8	0.1	1.1	0.2	0.1	0.6	0.1	0.1
		0.1	0.8	1.2	0.5	1.5	0.3	0.1	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
Leu	"	0.7	2.9	0.9	5.3	4.3	3.5	3.3	1.0	1.2	1.1	0.6	0.8	1.0
		0.3	2.4	4.6	1.7	5.6	1.8	0.6	0.9	0.2	0.3	0.1	0.8	1.6
		0.7	1.1	4.8	1.8	9.5	1.9	0.3	0.5	0.4	0.3	0.2	0.5	0.4
Thr	"	0.3	1.4	0.8	1.9	1.4	0.9	1.8	0.6	1.1	1.3	1.3	1.2	1.4
		0.4	0.9	1.2	1.4	0.8	1.0	0.2	0.6	0.5	0.2	0.2	0.4	0.4
		0.1	0.5	1.0	1.5	0.4	0.3	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.4
Gly	"	1.4	1.5	1.4	2.0	2.4	2.2	3.5	1.2	1.4	1.5	1.6	2.1	2.6
		2.2	2.0	6.6	3.5	3.7	3.1	0.8	1.2	1.7	0.9	0.6	1.4	1.3
		0.8	0.8	5.0	2.4	2.8	2.5	0.5	0.6	0.9	0.4	0.4	0.7	1.1
Ser	"	0.5	1.8	0.5	2.8	1.6	1.6	2.2	0.8	1.0	1.3	0.9	0.8	1.0
		0.6	1.2	4.9	1.5	2.6	1.7	0.4	0.6	0.5	0.3	0.2	0.6	0.6
		0.4	0.7	4.1	2.3	2.8	1.5	0.3	0.5	0.6	0.3	0.2	0.4	0.6
Pro	"	0.6	8.0	0.5	3.6	3.9	2.8	5.3	1.3	3.0	1.7	1.5	2.5	3.1
		0.5	5.8	2.5	3.4	4.2	2.4	0.6	0.6	0.6	0.5	0.4	0.7	0.7
		0.8	3.6	2.7	2.0	3.4	1.7	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0.5	0.6
γ-ABA	"	2.9	7.9	7.3	34.3	47.6	53.9	19.3	15.3	5.3	8.5	6.3	10.2	8.2
		2.0	5.6	12.4	28.0	44.7	34.2	13.3	9.7	2.2	1.7	1.4	2.0	1.4
		1.0	2.2	14.8	30.3	36.2	13.2	7.6	8.0	1.9	1.8	1.0	1.4	1.3
Phe	"	1.1	2.9	1.8	2.8	1.4	2.1	0.8	1.1	1.4	1.7	2.4	2.3	2.4
		0.7	2.2	3.0	3.5	0.8	1.0	0.6	1.1	0.8	0.5	0.5	0.8	0.7
		0.2	0.9	3.4	1.8	3.4	1.5	0.3	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4
Met	"	0.5	0.8	0.7	0.7	0.9	0.9	0.7	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3
		0.6	0.8	1.4	0.9	0.8	0.7	0.4	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2
		0.3	0.2	1.8	0.8	1.0	0.7	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
Tyr	"	0.7	1.4	3.9	3.2	7.4	5.1	1.6	3.9	2.8	2.9	2.3	0.8	0.9
		1.2	1.2	9.0	2.7	2.0	1.2	0.4	0.5	1.2	0.3	4.3	1.8	1.3
		1.1	2.1	6.5	3.0	1.9	1.2	0.4	0.9	0.9	0.4	0.3	0.7	0.5
Lys	"	0.8	3.2	1.6	3.6	2.7	2.8	3.9	1.4	2.1	2.0	2.0	2.0	2.2
		1.0	1.7	2.0	1.0	2.9	4.9	1.5	1.3	1.3	0.6	0.4	1.6	1.1
		0.5	1.1	2.5	1.1	1.3	3.0	0.3	0.5	1.0	0.5	0.4	0.8	0.9
(Asp+ Asp-NH ₂)	"	0.6	1.5	0.5	2.3	0.7	0.7	0.7	0.6	0.5	0.8	0.8	0.7	0.9
		0.5	0.6	10.3	1.6	2.1	1.9	0.4	0.4	0.5	0.4	0.3	0.5	0.3
		0.8	0.5	3.1	2.0	2.9	2.0	0.4	0.5	0.5	0.2	0.2	0.4	0.4
(Glu+ Glu-NH ₂)	"	1.1	18.2	65.1	28.3	5.1	3.3	5.7	17.9	2.4	3.4	2.0	2.7	3.1
		1.6	41.1	14.8	28.3	5.5	3.7	0.9	1.9	0.9	0.6	0.5	0.8	0.7
		0.6	42.3	21.8	34.8	3.6	3.7	2.1	3.2	0.8	0.4	0.4	0.5	0.7
(Orn+Cit)	"	20.0	6.0	7.2	1.3	2.3	2.4	30.8	44.7	3.6	21.3	6.7	15.2	48.5
		67.3	4.6	7.0	1.0	1.9	27.7	35.7	14.5	56.2	4.8	2.4	32.3	81.9
		13.0	8.2	7.4	2.2	1.0	13.4	8.7	18.9	29.3	4.8	4.1	24.0	81.9
Arg	"	66.2	36.7	3.6	0.6	2.5	8.7	12.4	5.2	71.7	48.2	65.7	51.9	20.3
		18.2	26.1	8.9	6.2	17.0	6.6	41.8	62.7	73.1	58.7	58.6	53.9	5.8
		78.8	33.7	11.5	5.6	24.7	48.9	77.3	63.4	61.0	89.0	91.1	67.9	8.9
Arg+ (Orn+Cit)	"	86.2	42.7	10.8	1.9	4.8	11.1	43.2	49.9	75.3	69.5	57.2	46.7	168.8
		85.5	30.7	15.9	7.2	18.9	34.3	77.5	77.2	287.7	92.3	89.2	86.2	28.7
		91.8	41.9	18.9	7.8	25.7	62.3	86.0	82.2	390.3	393.3	89.5	291.9	90.8

まで調べた。

実験の結果を要約するとつぎのとおりである。

1) この実験で検出された遊離アミノ酸は19種類であるが、そのうちでは(グルタミン酸+グルタミン)、(オルニチン+シトルリン)、アルギニンおよび γ -アミノ酪酸の含有量が他のものに比較してとくに多かった。

2) (グルタミン酸+グルタミン)は早春のカラマツ生育開始期にとくに多量であった。

3) γ -アミノ酪酸はカラマツの生育旺盛な時期に比較的少量に存在するアミノ酸であるが、とくに7月中旬から8月中旬にかけて相対的に高い割合を示した。

4) アルギニンおよび(オルニチン+シトルリン)はカラマツの落葉直前から休眠期にかけて多量に存在するアミノ酸である。そしてアルギニン含量の急激な増加或は減少に伴って(オルニチン+シトルリン)含量は減少或は増加する傾向を示すのでこれらのアミノ酸の間には相互に密接な関係があることが予想される。

5) 上記のアミノ酸をのぞく他の大部分のアミノ酸の季節変化はつぎに示す全遊離アミノ酸量のそれとほぼ同様の結果を示した。ただし樹幹上部では6月中旬にも含有量のピークが認められた。

6) 全遊離アミノ酸量は樹幹の各部位(上部、中部および下部)でほぼ同じ季節変化を示し、早春のカラマツ生育開始期と冬の休眠期にそれぞれ含有量のピークが現われる。生育開始期にみられる全遊離アミノ酸量の急激な増加は主にこの時期における(グルタミン酸+グルタミン)の急増によるものであり、休眠期にみられる全遊離アミノ酸量の急激な増加はこの時期におけるアルギニンおよび(オルニチン+シトルリン)の急増によるものである。

以上の結果から、カラマツのアミノ酸代謝機構にもすでに他の高等植物で認められているオルニチン回路が関与していることを予想することができる。

参 考 文 献

- 1) 高橋成直：カラマツ材中の遊離アミノ酸について，木材誌，18，1972
- 2) 崎山文夫：アミノ酸・ペプチドのガスクロマトグラフィー(1)，化学と生物，8，3，1970
- 3) 崎山文夫：アミノ酸・ペプチドのガスクロマトグラフィー(2)，化学と生物，8，4，1970
- 4) C.W. GEHRKE, R.W. ZUMWALT and L.L. WALL : Gas-Liquid Chromatography of Protein Amino Acids Separation Factors, J. Chromatog., 37, 1968
- 5) C. ZOMZELY, G. MARCO & E. EMERY : Gas Chromatography of the n-Butyl-N-Trifluoroacetyl Derivatives of Amino Acids, Anal. Chem., 34, 11, 1962
- 6) W.M. LAMKIN and C.W. GEHRKE : Quantitative Gas Chromatography of Amino Acids Preparation of n-Butyl-N-Trifluoroacetyl Esters, Anal. Chem., 37, 3, 1965
- 7) C.W. GEHRKE and F. SHAHROKHI : Chromatographic Separation of n-Butyl N-Trifluoroacetyl Esters of Amino Acids, Anal. Biochem., 15, 1966
- 8) 成田耕造，村上孝夫：“クロマトグラフィーの実際I”，広川書店，1969
- 9) R.L. BARNES : Glutamine Synthesis & Translocation in Pine, Plant Physiol., 37, 1962
- 10) D.J. DURZAN : Nitrogen Metabolism of Picea glauca. I, Canad. J. Botany, 46, 1968

Seasonal Changes of free amino acids in sapwood of Karamatsu
(*Larix leptolepis* GORDON)

By Shigenao TAKAHASHI

Laboratory of Forest Chemistry, Fac. Agric. Shinshu Univ.

Hideki MASUDA

Adachi Veneer Co., Iwate Prefecture

and Wataru SEKI

Koshin Sokuryo Co., Nagano Prefecture.

Summary

Seasonal changes of the free amino acids occurring in sapwood of Karamatsu were investigated. Thirty-nine sample trees were collected from 17-year-old Karamatsu stand, growing on Tera-Sawayama experimental forest of Shinshu university, at monthly intervals from March 1971 to March 1972.

Quantitative analyses of the amino acids were carried out by gas chromatography of *n*-butyl-*N*-trifluoroacetyl derivatives. As shown in Fig. 1 and Fig. 2, glutamic acid-glutamine, aspartic acid-asparagine and ornithine-citrulline pairs were eluted together, therefore, the combined contents of these pairs were determined as glutamic acid, aspartic acid and ornithine by above gas chromatography, respectively, and the amino acids were also checked qualitatively by two-dimensional paper chromatography (first, *n*-BuOH : AcOH : H₂O=4 : 1 : 5. secondary, phenol : H₂O=4 : 1).

The experimental results are summarized as follows :

1) Nineteen amino acids were confirmed by gas chromatography and paper chromatography in this experiment. It is noteworthy that both combined contents (glutamic acid+glutamine) and (ornithine+citrulline), arginine and γ -aminobutyric acid were found predominantly among the detected amino acids.

2) The combined content of glutamic acid and glutamine was shown to be predominant in the early spring.

3) γ -aminobutyric acid was relatively abundant throughout the growing season of Karamatsu tree, and especially, the ratios of γ -aminobutyric acid contents to total free amino acid contents were high from mid-July to mid-August.

4) Arginine and the combined content of ornithine and citrulline were predominant from immediately before defoliation to dormant period of Karamatsu tree. It was observed that the combined contents of ornithine and citrulline increased with decreasing arginine contents and decreased with increasing arginine contents with a few exceptions as shown in Fig. 6 and Fig. 7.

5) Seasonal changes in most of amino acids, except the above amino acids, were

found to be similar to those of total free amino acid contents as described below.

6) Total free amino acid contents in the sapwood indicated two seasonal peaks as shown in Fig. 3. One peak, occurring about mid-April, coincided with the time of growth initiation and the peak level was influenced remarkably by high level of the combined content of glutamic acid and glutamine at the same time. The second peak came in the dormant period (November-January) and the peak level was influenced remarkably by high level of arginine or the combined content of ornithine and citrulline in the same period.

It is suggested by the data above mentioned that the ornithine cycle, confirmed in several higher plants, may also play an important role in the amino acid metabolism of Karamatsu.