

タラノキ(*Aralia elata*)の駒木に含まれるポリフェノールの同定と定量法の考案

誌名	山形県畜産研究報告 = Animal husbandry research in Yamagata Prefecture
ISSN	13473816
著者	小林, 正人
巻/号	2号
掲載ページ	p. 18-20
発行年月	2006年3月

タラノキ (*Aralia elata*) の駒木に含まれるポリフェノールの同定と定量法の考案

小林正人

(現所属：庄内総合支庁産業経済部家畜保健衛生課)

要 約

「たらの芽」栽培後の駒木を鶏の飼料として有効利用する目的で、駒木に含まれるポリフェノールを検討した。薄層クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィーによって、Rf値、呈色、保持時間がプロトカテク酸及びカフェー酸と一致する成分が検出された。それぞれの成分マススペクトルは標準品と一致し、プロトカテク酸及びカフェー酸と同定された。ついで、ガスクロマトグラフィーによる定量法を考案し、栽培種と野生種のポリフェノール含量を比較した。以上の結果から、タラノキの駒木は、鶏の健康維持に対する効果が期待されるポリフェノールを含有することが確認された。

キーワード：プロトカテク酸、カフェー酸、タラノキ、駒木

緒 論

山菜「たらの芽」は、最上地方の特産物であるが、栽培後のこま木の残材は年間約1千トン発生することから、地域循環型資源としての有効利用が課題となっている。タラノキの残材は、多くはおがくず化して堆肥製造の助剤として利用されているが、エゾウコギのチップを鶏の飼料として利用した前例を参考にして、最上総合支庁の事業として、鶏の飼料として利用する企画が提案された。

一方、タラノキは新芽が食用とされるほか、東アジア諸国では古くから薬用植物とされ、根の樹皮は心筋梗塞、胃潰瘍、大腸炎、神経衰弱、リウマチ、糖尿病、ウイルス性肝炎、胃けいれんの民間薬として利用され^{2,16)}、薬効成分としてプロトカテク酸及びクロロゲン酸のポリフェノール、トリテルペノイドサポニン^{11,16)}、レクチン⁵⁾、癌細胞を殺すタンパク質aralin¹³⁾などが知られている。しかし、一般に薬用植物として利用されるのは樹皮であり、栽培種の本質部にどの程度の薬効成分が含まれるかは知られていない。

そこで、本研究では、栽培後のタラノキの駒木に含まれるポリフェノールの定性的検討と定量を行った。

材料および方法

タラノキの駒木は、真室川町の生産者がタラの芽を栽培した後の現物を入手し、おがくず製造機で粉碎し、風乾した。対照として、新庄市鳥越地内で野生種のタラノキを8月に採取した。野生種は、当該年に成長した枝（以下新梢）および2年

以上経過した木質部（以下木質部）に分けておがくず化した。

定性的検討は、試料をメタノールで抽出し、抽出液をろ過したのち減圧乾固し、残留物を硫酸酸性水に溶解して、Stas-Otto法⁸⁾で溶媒分配し、強酸性物質(A1)、弱酸性物質(A2)、及び中性物質(C)に分画した。A1分画はさらにクロロホルム可溶部と不溶部に分けた。

薄層クロマトグラフィーは、シリカゲルB-0 (ワコー純薬)を用い、展開溶媒としてクロロホルム・メタノール・酢酸(85:15:1)を用い、スポットは1%硫酸第1鉄で検出した。ガスクロマトグラフィーは、各分画をトリメチルシリル化剤(TMSI-H、ジーエルサイエンス)でTMS化し、GS-1(3mm×1m)及びGS-17(3mm×1m)(いずれもジーエルサイエンス)を装着したガスクロマトグラフ装置(日立G-3000)で昇温分析した。

質量分析は、DB-1、0.25mm×25mを装着したガスクロマトグラフ質量分析装置(島津QP5000)を用い、100℃で5分間保持したのち、320℃まで10℃/分で昇温した。マススペクトルは、内蔵されたデータベースとの比較及び標準物質のスペクトルデータと比較した。定量は、図1

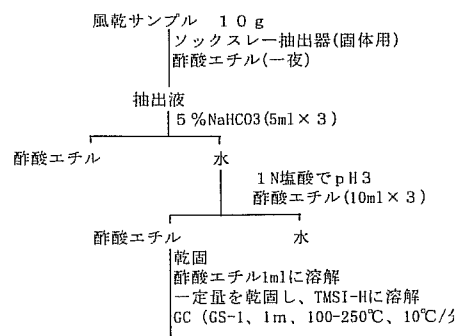


図1 ポリフェノールの定量法

に示す方法で、標準物質を用いて絶対検量線法で行った。標準物質として、プロトカテキ酸、カフェー酸、及びクロロゲン酸（いずれもワコー純薬）を用いた。

結 果

1 TLCによるポリフェノールの検出

タラノキ風乾物をメタノールで抽出し、TLCでポリフェノールを検出した結果、鉄陽性反応はA1分画（強酸性物質）に認められ、A2（弱酸性物質）及びC分画（中性物質）には認められなかった。鉄反応陽性スポットは、硫酸第一鉄に対して紫と青の呈色を示し、Rf値は近接していた（表1）。

表1 TLCによるポリフェノールの検出

スポットNo.	Rf	鉄反応	UV	推定物質名
1	0.47	青 (++)	*青吸収	カフェー酸
2	0.43	紫 (+++)	青吸収	プロトカテキ酸
3	0.10	灰 (+)	白	
4	0.05	灰 (++)	白	

*：相対的な呈色の強さ（+ < ++ < +++）

標準物質との比較により、この2種類のポリフェノールの呈色とRf値はプロトカテキ酸とカフェー酸に一致した。

2 GLCによるポリフェノールの検出

A1分画をTMS化し、GS-1およびGS-17で検出した。図2にGS-1によるガスクロマトグラム示し

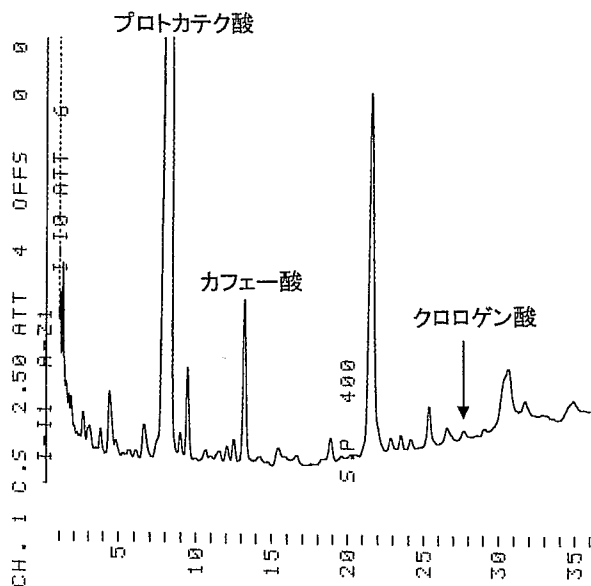


図2 A1分画TMSのガスクロマトグラム

た。プロトカテキ酸とカフェー酸の標準品と一致して主要なピークが検出され、クロロゲン酸に一致するピークはごく小さかった。

3 ポリフェノールの質量分析

A1分画のクロロホルム可溶部をTMS化し、質量分析を行った。トータルイオンクロマトグラムには複数のピークが検出された。プロトカテキ酸標準品の相対保持時間と一致したピーク1は、分子ピークが370 (M⁺) で、マススペクトルが内蔵されたデータのプロトカテキ酸TMSに一致したことからプロトカテキ酸と同定された。

ピーク2は、相対保持時間がカフェー酸と一致

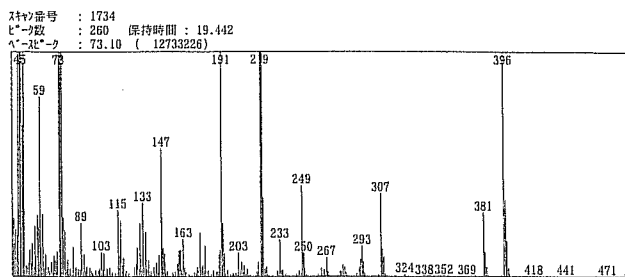


図3 ピーク2のマススペクトル

した。ピーク2のマススペクトルを図3に示したが、内蔵されたデータベースにはこれと一致する物質がなかったので、カフェー酸標準品のTMS化物の質量分析データを得、ピーク2と比較した（表2）。その結果、分子ピークおよびマススペ

表2 ポリフェノールのマススペクトルデータ

成分	主要ピーク	m/e
ピーク1	73 137 165 193 223 281 311 355 370	(M ⁺)
プロトカテキ酸TMS	73 137 165 193 223 281 311 355 370	(M ⁺)
ピーク2	73 133 147 191 219 249 293 307 381 396	(M ⁺)
カフェー酸TMS	73 133 147 191 219 249 293 307 381 396	(M ⁺)

クトルが標準品と完全に一致したことから、カフェー酸と同定した。質量分析に供した試料では、クロロゲン酸のピークは検出されなかった。

4 ポリフェノールの定量

タラノキの風乾物をソックスレー固体抽出器に入れ、酢酸エチルで一夜抽出し、溶媒分配によって強酸性物質を定量する方法を考案し、含有量を求めた。図4aに示すようにプロトカテキ酸は、

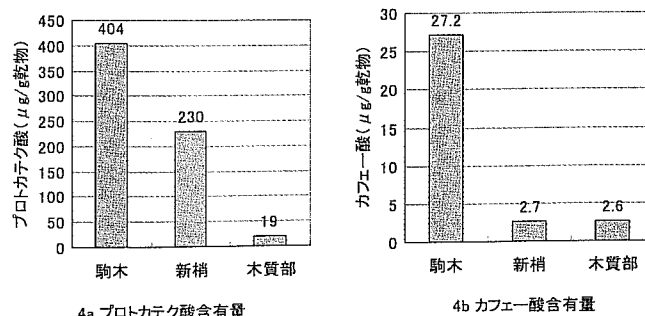


図4 プロトカテキ酸及びカフェー酸の含有量

栽培後の駒木で404 $\mu\text{g/g}$ 乾物であり、野生種の新梢の約2倍、2年以上の木質部の約20倍含有されていた。

カフェー酸 (図4b) は、栽培後の駒木で27.2 $\mu\text{g/g}$ 乾物であり、野生種の新梢及び2年以上の木質部の約10倍含有されていた。

考 察

タラノキの樹皮は、東アジアで薬用植物として利用され、薬効成分としてポリフェノール (プロトカテキン及びクロロゲン酸)、サポニン^{2,11,16)}、レクチン⁵⁾、アラリン¹³⁾などが含まれ、民間薬として心筋梗塞、胃潰瘍、腸炎、リウマチ、糖尿病、ウイルス性肝炎、胃痙攣、神経衰弱などに用いられている^{2,16)}。通常、薬用には樹皮が用いられるので、木質部の薬効成分含量は調べられていない。

そこで、今回、木質部のポリフェノールについて検討したところ、主要成分としてプロトカテキン酸とカフェー酸が同定され、またクロロゲン酸も少量検出された。タラノキからのカフェー酸の分離同定はこれまで報告されておらず、新知見と考えられた。カフェー酸は、クロロゲン酸 (カフェオイルキナ酸) の構成要素であるので、中間代謝産物として存在するものと考えられる。

プロトカテキン酸、カフェー酸、没食子酸、クロロゲン酸などのポリフェノールは、抗酸化作用および活性酸素除去作用を持つ^{1,10,15)}。プロトカテキン酸は、自然界ではシキミ、バイケイソウ、コーヒー、ハイビスカス、アキノノゲシに含まれ、活性酸素消去、抗炎症作用、皮膚ガン抑制作用、エンドトキシンによる肝障害の防御などの薬理作用が知られている^{6,7,12,14)}。また、カフェー酸は、遊離型として針葉樹皮、タデ科植物、タバコ、アキノノゲシに含まれ、アレルギー性皮膚炎によるかゆみと浮腫の改善効果、及び短波長紫外線照射による皮膚障害の保護作用が知られている^{3,8)}。

クロロゲン酸は、コーヒー豆に約2%含まれ、微量には植物界に広く分布しており、リンゴに含まれるクロロゲン酸は皮をむいて放置すると酸化酵素の作用で酸化されて褐色になる。また、サツマイモの黒ハン病およびその他の植物の病ハン部の褐変は、多くはクロロゲン酸によるものとされている⁴⁾。

自然界に存在するシキミ、バイケイソウ、タバコなどはいずれも強い有毒植物であり、薬用植物

としてポリフェノールを利用することはできないが、タラノキはプロトカテキン酸とカフェー酸を利用することが可能な数少ない植物であるので、有効活用を検討する価値があると考えられる。また、タラノキを飼料として用いることによる家畜の健康への関与も期待される。

参考文献

- 1 Bajpai M, Mishra A, Prakash D. *Int J Food Nutri.* 56(7):473-481. 2005.
- 2 Chung CK, Jung ME *Biol Pharm Bull* 26(10):1502-1504. 2003.
- 3 Hossen MA, Inoue T, Shinmei Y et al. *Biol Pharm Bull.* 29(1):64-66. 2006.
- 4 化学大辞典 化学大辞典編集委員会. 共立出版 1981.
- 5 Kajiya A, Koyama Y, Mita T et al. *Biosci Biotechnol Biochem.* 67(9):2051-2054. 2003.
- 6 Lin WL, Hsieh YJ, Chou FP et al. *Arch Toxicol.* 77(1):42-47. 2002.
- 7 Liu CL, Wang JM, Chu CY et al. *Food Chem Toxicol.* 40(5):635-641. 2002.
- 8 Neradil J, Veselska R, Slanina J. *Folia Biol.* 49(5)197-202. 2003.
- 9 最新裁判化学. 黒岩幸雄. 南江堂. 40-43. 1973.
- 10 Siquet C, Paiva-Martins F, Lima JL et al. *Free Radic Res.* 40(4):433-442. 2006.
- 11 Song SJ, Nakamura N, Ma CM et al. 48(6) 838-842. 2000.
- 12 Szumilo J. *Postepy Hig Med Dosw* 59:608-615. 2005.
- 13 Tomatsu M, Ohnishi-Kageyama M, Shibamoto N. *Cancer Lett.* 199(5):19-25. 2003.
- 14 Tseng TH, Hsu JD, Lo MH et al. *Cancer Lett.* 24;126(2):199-207.
- 15 Wang SY, Chang HN, Lin KT et al. *J Agric Food Chem.* 51(5):1506-1512. 2003.
- 16 Wang Z, Song S, Lu H. et al. *Clin. Chim. Acta* 336(1-2):65-72. 2003.