

## 奈良県産キハダ葉及び実のケルセチン含量

山崎 陽平<sup>\*1)</sup>, 西原 正和<sup>\*2)</sup>, 立本 行江<sup>\*3)</sup>Quercetin content in the leaves and fruits of *Phellodendron amurense*YAMAZAKI Yohei<sup>\*1)</sup>, NISHIHARA Masakazu<sup>\*2)</sup>, TATSUMOTO Yukie<sup>\*3)</sup>

持続可能な社会の構築及び県内産業振興のため、県内特産物の未利用部位の有効活用の検討を進めている。これまで、薬木キハダ葉によるニホンジカ革の染色方法を検討し、それらの利用の可能性が見出された<sup>1)</sup>。

本研究は、染色した製品への機能性付与を目的とし、キハダ葉及び実に含まれるケルセチンに着目し分析を行った。葉には平均で 8.7 mg/g (乾燥葉 1 g 当たりのケルセチン含量、以下「mg/g 乾燥重」と記す)、実には平均で 1.1 mg/g 乾燥重含まれていることが判明し、葉の含量は北海道で一般的に栽培されるタマネギ (可食部) の約 2.5 倍の量<sup>2-3)</sup>を示した。これにより、キハダ葉は染色した製品への紫外線防御効果や、食品などへの展開に期待できる素材であることが判明した。

## 1. 緒言

キハダ (*Phellodendron amurense* Ruprecht) は、ミカン科キハダ属の落葉高木(薬木)で内皮は生薬オウバクになり、胃腸薬等、生薬製剤に広く使用されている。

キハダの内皮以外が産業利用されている例は少なく、葉や実、心材など廃棄される未利用部位が存在する。

環境に優しい持続可能な社会の構築と、地域特産物を活用した県内産業振興のため、当センターではキハダの葉によるニホンジカ革染色に取り組み、その製品化に向けて検討を進めているところである。

今回、染色した製品への機能性付与を目的に、予備試験で確認したキハダの葉及び実に含まれるケルセチン<sup>4)</sup>に着目した。ケルセチンは紫外線防御物質<sup>5)</sup>として染色加工に効果が期待される物質である。

本報では、2021～2022年に県内で採取したキハダの葉及び実に含まれるケルセチン含量の分析結果を報告する。

## 2. 実験方法

## 2.1 試料

測定に使用した葉及び実を表 1 に示す。2021 年～2022 年に県内各地 (6 市村, 10 ヶ所) で採取したものである。採取後、-20℃で凍結し、凍結真空乾燥機 (日本真空技術株式会社製 DF2-01H 型) 及び東京理化学工業株式会社製 EYELA FDU-2100) で乾燥後、粉砕器 (輸入発売元株式会社東京ユニコム T-429) で粉砕し、500 μm のふるいを通過したものを検体とした。

表 1 試料一覧

検体 No	採取年月日	樹高 (m)	樹齢 (年)	胸高円周 (cm)
【21】奈良市 A-01	2021.6.8	10.5	30	43
【21】奈良市 B-01	2021.6.14	10.5	30	90
【21】奈良市 B-02	2021.6.14	12.3	28	70
【21】奈良市 B-03	2021.6.14	11.8	27	55
【21】奈良市 B-04	2021.6.14	12	27	55
【21】奈良市 B-05	2021.6.14	13.2	28	63
【21】奈良市 B-06	2021.6.14	12.8	26	56
【22】奈良市 B-07	2022.6.15	12	28	86
【22】奈良市 B-08	2022.6.16	11.5	28	50
【22】奈良市 B-09	2022.6.17	14	28	74
【22】奈良市 B-10	2022.6.18	12	28	97
【21】奈良市 C-01	2021.6.15	7.9	25	80
【21】奈良市 C-02	2021.6.15	8.8	27	75
【21】奈良市 C-03	2021.6.15	9.4	27	62
【21】桜井市 D-01	2021.7.9	15.3	55	110
【21】桜井市 D-02	2021.7.9	12.5	56	78
【21】桜井市 D-03	2021.7.9	24	57	84
【22】桜井市 D-04	2022.7.29	12	36	57
【22】桜井市 D-05**	2022.7.29	15	45	57
【22】桜井市 E-01**	2022.7.30	5	10	14
【21】御所市 F-01	2021.7.16	10	43	50
【21】御所市 F-02	2021.7.16	20	35	50
【21】御所市 F-03	2021.7.16	20	43	90
【22】御所市 F-04	2022.7.23	15.6	42	90
【22】御所市 F-05	2022.7.23	14.3	42	73

\*1) ローカルプロダクト科 (当時: 繊維・毛皮革・高分子グループ), \*2) 奈良県薬事研究センター,

\*3) メディカル技術支援科 (当時: バイオ・食品グループ)

【21】 宇陀市 G-01	2021.7.8	8	6	93
【21】 宇陀市 G-02	2021.7.8	5	3	50
【21】 山添村 H-01	2021.6.21	12.7	30	66
【21】 山添村 H-02	2021.6.21	16	30	50
【21】 山添村 H-03	2021.6.21	11.8	30	55
【21】 山添村 H-04	2021.6.21	11.6	31	63
【21】 山添村 H-05	2021.6.21	12.1	31	70
【21】 山添村 H-06	2021.6.21	11	31	61
【21】 山添村 H-07	2021.6.21	12.2	31	65
【22】 山添村 H-08**	2022.6.24	15	31	73
【22】 山添村 H-09	2022.6.24	13.5	31	75
【22】 山添村 H-10**	2022.6.24	14.8	31	74
【22】 山添村 I-01	2022.7.1	15	32	70
【22】 山添村 I-02	2022.7.1	16	32	63
【22】 山添村 I-03	2022.7.1	12	32	86
【22】 曾爾村 J-01	2021.7.2	12.8	30	133
平均値 ±SD		12.7 ±3.5	31 ±11	69 ±20

\*\* : 実を採取した地域

## 2.2 試薬

標準品は Alsachim 社製ケルセチン (純度: 99.30%), 富士フィルム和光純薬 (株) 製 ケルセチン二水和物試薬を用いた。その他の試薬は, 市販特級品または LC-MS 用を用いた。

## 2.3 分析方法

イチヨウの葉中のケルセチンをはじめとするフラボノール含量の測定方法である AOAC 法<sup>6)</sup>を準用し, 奈良県薬事研究センターで 2022 年採取キハダ葉及び実を分析した<sup>7)</sup>。

加水分解は, 試料 0.2 g にエタノール (99.5) /超純水/塩酸 (50:20:8) を正確に 15 mL 加え, 5 分間超音波抽出した後, 90 °C 水浴中で 1 時間加熱して行った。室温で冷却後, 10,000 rpm 10 min で遠心分離を行い, 孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターを通し, 試料溶液とした。分析条件を表 2 に示す。

表 2 分析条件 (奈良県薬事研究センター)

カラム	Inertsil ODS-3 (GL Sciences 社製) 粒子径:5 μm 内径:4.6 mm×長さ 150 mm
装置	(株) 日立製作所製 Chromaster
検出器	UV254 nm
移動相	メタノール/THF/20 mM リン酸緩衝液 (pH 3.0) (30:20:50)
流速	1 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	10 μL

奈良県薬事研究センターの分析方法をもとに, 奈良県産業振興総合センターで分析方法を改良し, 2021 年度採取キハダ葉の分析を行った。試料を 0.1 g にして同様の方法で加水分解した。分析条件<sup>8)</sup>を表 3 に示す。

表 3 分析条件 (奈良県産業振興総合センター)

カラム	Inertsil ODS-3 (GL Sciences 社製) 粒子径:5 μm 内径:4.6 mm×長さ 150 mm
装置	(株) 島津製作所 LC-MS2010EV
検出器	UV253 nm
移動相	水/アセトニトリル/リン酸 (700:300:1)
流速	1 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	10 μL

## 3. 結果及び考察

### 3.1 キハダの葉及び実のケルセチン含量

分析結果を図 1 に示す。

ケルセチン含量は, 葉は 1.4 mg/g 乾燥重~16.4 mg/g 乾燥重 (平均値 8.7 mg/g 乾燥重), 実とは 0.5 mg/g 乾燥重~1.5 mg/g 乾燥重 (平均値 1.1 mg/g 乾燥重) を示した。

ケルセチンはタマネギに多く含まれており, キハダ葉には北海道で一般的に栽培されるタマネギ (北もみじ 2000 の可食部 3.2 mg/g 乾燥重)<sup>2,3)</sup> の約 2.5 倍のケルセチンが含まれていることが判明した。キハダの個体差があるため, 地域により含量が低いものもあるが, 今回測定した検体のほとんどがタマネギのケルセチン含量以上を含有することが確認できた。

一方, 実とは地域にかかわらず葉よりも含量が少ないことがわかった。

この結果から, キハダの葉による染色は紫外線防止効果が他の天然染料よりも高まる可能性が示唆された。

これまでの報告で, セルロースやナイロンなどの繊維素材でのタマネギ外皮抽出液を用いた紫外線防御効果報告はあるが, 皮革素材のケルセチン吸着性や紫外線防御効果の検証はなく, 今後の重要な検討事項と考えている。

さらに, ケルセチンやケンフェロールといったフラボノール等の摂取が, 心血管疾患による死亡のリスクを低下させることが報告されており<sup>9,12)</sup>, キハダ葉は染色した製品への機能性付与だけでなく, 食品などの製品展開にも期待できる素材であることがわかった。

(含量平均値：葉 8.7 mg/g, 実 1.1 mg/g)

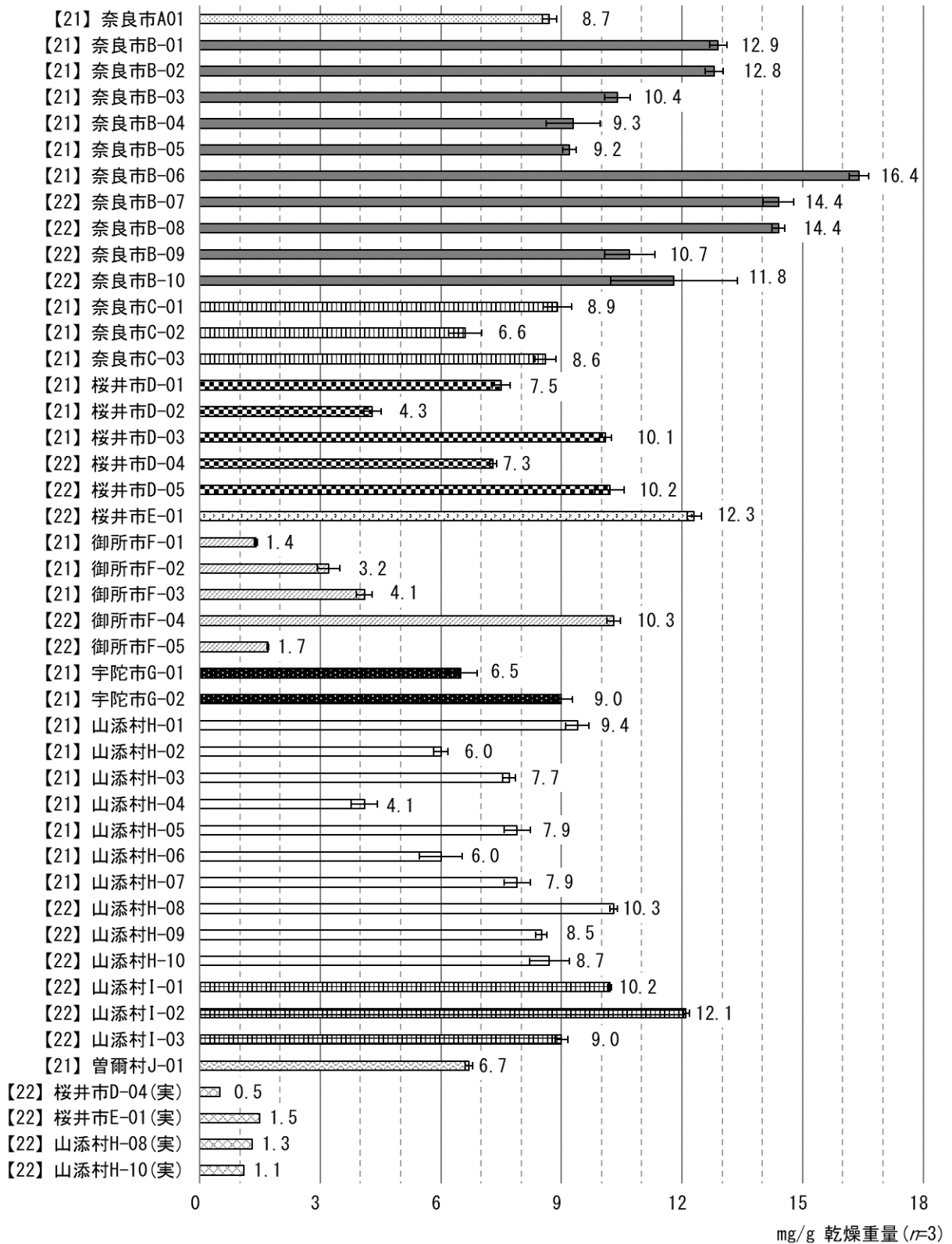


図 1 キハダ葉及び実のケルセチン含量

今回測定したキハダ葉のケルセチン含量と、樹高、樹齡、胸高円周の相関(表4)を確認したが、相関は見られなかった。

表4 樹高、樹齡、胸高円周とキハダ葉のケルセチン含量の相関

	樹高	樹齡	胸高円周
相関係数 (R <sup>2</sup> )	0.014	0.11	0.0041

### 3.2 キハダの葉のケルセチン含量(地域毎)

地域毎のキハダ葉のケルセチン含量分析結果(平均値)を図2に示す。10地域の平均値は8.6 mg/g 乾燥重で、最大値が桜井市Eの12.3 mg/g 乾燥重、最小値が御所市Fの4.1 mg/g 乾燥重であった。

この結果より、各地域とも平均値でタマネギ(可食部)中の含量を超えるケルセチンが確認でき、地域問わず活用出来る素材であると考えられる。

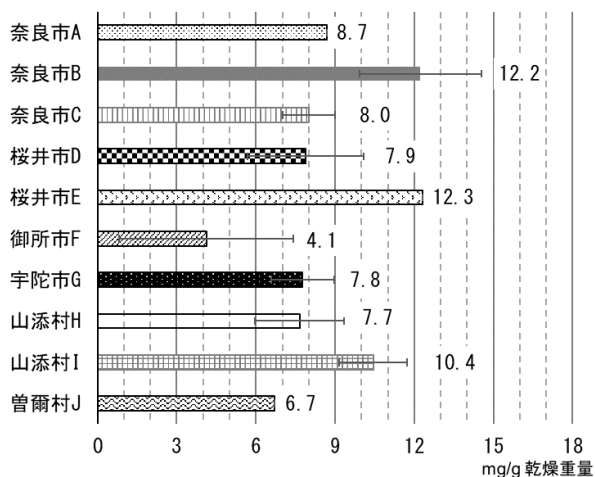


図2 キハダ葉のケルセチン含量(地域毎)

## 4. 結言

本研究での主な結果は次のとおりである。

- 1) 県内のキハダの葉のケルセチン含量は平均値で 8.7 mg/g 乾燥重であり、ケルセチン含量が高いタマネギよりも高濃度で含まれていることが判明した。一方、キハダの実のケルセチン含量は平均で 1.1 mg/g 乾燥重であり、葉よりも含量は少ないことがわかった。
- 2) 「キハダ葉のケルセチン含量」と「樹高」、「樹齡」、「胸高円周」との相関性は確認できなかった。
- 3) キハダ葉の地域別含量を比較したところ、各地域とも平均値でタマネギ(可食部)中の含量を超えるケルセチン含量を示し、地域問わず活用出来る素材と考えられた。

- 4) キハダ葉は染色した製品への紫外線防御効果だけでなく、食品などへの展開に期待できる素材である。

## 謝辞

本研究にあたり、キハダの伐採協力と検体提供をいただきました関係各位に深謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 山崎陽平, キハダによるニホンジカ革染色方法の検討(第一報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.49, 49-53, 2023
- 2) 室崇人, 嘉見大助, 杉山慶太, ケルセチン配糖体を高含有するタマネギ品種‘クエルゴールド’の育成, 園学研. (Hort. Res. (Japan)) 14 (3), p.305-311, 2015.
- 3) 国立研究開発法人 農業産業技術総合研究機構, 広報 NARO, No.7, p.7, 2018
- 4) 田中瞳, 北村雅史, 鈴木龍一郎, キハダ (*Phellodendron amurense* Ruprecht) の成分研究, 日本生薬学会第 68 回年会
- 5) 清枝希帆, 前川昌子, タマネギ外皮を用いた染色の紫外線防御効果, 日本家政学会誌, Vol.62, No.3, p.165-171, 2011
- 6) AOAC Official Methods of Analysis, 18th ed., 2010, AOAC International, Gaithersburg, MD, Method 2006.07.
- 7) 西原正和, 川西洋一, 田中尚, 日本薬学会第 143 回年会要旨集 27P1-pm1-061
- 8) 第 10 版 食品添加物公定書 (2024), 厚生労働省, 消費者庁
- 9) Knekt,P., Kumpulainen,J., Jarvinen,R., Rissanen,H., Heliövaara,M., Reunanen,A., Hakulinen,T., Aromaa, A. Am. J. Clin. Nutr., 76, p.560-568 (2002)
- 10) Arts, I.C., Hollman, P. C. Am. J. Clin. Nutr., 81, p.317S-325S (2005).
- 11) McCullough, M. L., Peterson, J.J., Patel, R., Jacques, P.F., Shah, R., Dwyer, J.T. Am. J. Clin. Nutr., 95, p.454-464 (2012).
- 12) Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Jacques, P. F., McCullough, M. L. Nutr. Rev., 70, p.491-508 (2012).