

広葉樹葉肉部のフェノール性芳香核 の季節変動

田中治郎⁽¹⁾・櫻井孝一⁽²⁾・宮崎 信⁽³⁾

Jiro TANAKA, Koichi SAKURAI and Makoto MIYAZAKI: Seasonal Variations
of Phenolic Nuclei in Mesophyll of Broad-Leaved Tree

要 旨: メタノール抽出すみアメリカスズカケノキ葉肉部についてニトロベンゼン酸化を行ない、生成 *p*-ハイドロオキシベンズアルデヒド、バニリン、シリングアルデヒドの季節変化を検討した結果、葉肉部でも成長成熟にともないグアヤシル核、シリング核が増加することを認めた。そのほか72% 硫酸非加水分解部量、メトキシル基量、窒素量の季節変動も求めた。

1. は し が き

BLAND⁽¹⁾、中野ら⁽²⁾は樹木葉部にもリグニンが存在し、広葉樹葉部リグニンは広葉樹材リグニン同様ニトロベンゼン酸化でバニリン、シリングアルデヒドを生成することを認め、さらにこれら芳香族アルデヒドを指標として葉柄、葉脉、葉肉各部リグニンを比較している。

他方、タケの茎秆⁽³⁾、アカマツ、クロマツ、ポプラの材⁽⁴⁾は成長するにしたがいリグニン含量およびリグニンのメトキシル基量を増し、そのメトキシル基量増加の主な原因がグアヤシル核、シリング核の含有比の増大であること⁽⁵⁾が報告されている。

この成長にともなうリグニン組成の変化がリグニン一般にみられるものであれば、葉部で存在の認められるリグニンも、木部リグニンと同じ傾向を示すものと予想される。そこで、本実験では広葉樹葉部リグニンについて、主として核構造構成の変動を調べる目的で、スズカケノキ葉肉部について、ニトロベンゼン酸化を行ない、*p*-ハイドロオキシベンズアルデヒド (H)、バニリン (V)、シリングアルデヒド (S) 生成量の季節変化を検討した。

また同時に、葉肉部から調製した72% 硫酸非加水分解部の炭素、水素、窒素、メトキシル基分析の結果をとりまとめた。

2. 実 験

2.1 試料調製

林業試験場本場構内に生育する“アメリカスズカケノキ” (*Platanus occidentalis* L.) 1本を供試木に選り、これより新葉を生ずる4月から落葉する12月に至る間、表1に示した日時に、生葉約50gを採取し試料とした。採取葉はただちにメタノールに浸漬、室温で十分抽出した。抽出残部は乾燥後葉脉を除き

1974年1月16日受理

(1) (2) (3) 林産化学部

表1. 試料採取時期

試料番号	採 葉		備 考
	月 日	時刻 (p. m.)	
1	4-21	2.30~3.00	晴
2	5-24	3.00~4.00	晴
3	6-29	3.30~4.00	薄 曇
4	7-31	3.30	薄 曇
5	8- 3	3.30	晴
6	9- 2	2.30	晴 後 曇
7	9- 9	3.30	晴ときどき曇
8	9-10	2.30	晴
9	9-29	2.15	晴
10	10-26	2.15	晴
11	12-13		落 葉

試料：アメリカスズカケノキ葉部。

から乳鉢で粉碎，48メッシュ（表1 No. 1については20メッシュ）のふるいで篩別，これを通して部分を葉肉として集めた。

2.2 ニトロベンゼン酸化

葉肉約230mgを8%水酸化ナトリウム水溶液5ml，ニトロベンゼン0.25mlとともに内容約12mlのステンレス製チューブに封入，水を入れた500mlのオートクレーブにつめ，180℃，2時間振盪しながら加熱分解した。冷後，生成物をクロロホルムで洗浄，残ったアルカリ液にSO₂ガスをふきこみ酸性とし，沈殿を口過水洗，口液，洗液を合わせて（約70ml）さらにクロロホルムで抽出後，残液に20%（V/V）硫酸溶液10mlを加え，N₂気流でSO₂を駆逐，生成したアルデヒドをクロロホルムに転溶

した。水洗後クロロホルムを減圧下30~40℃で留去，残渣を乾燥後エタノールに溶かし，正確に2mlとし定量試料とした。

2.3 生成アルデヒド類の定量

上記エタノール液の60~200μlをシリカゲル薄層（50×200mm）上，*n*-ヘキサノン酢酸エチル（1:1 V/V）で2段展開し，紫外線下の蛍光，および2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩水溶液噴霧による発色を併用し，H，V，Sの展開位置を決め，その部分を削りとり，それぞれエタノール抽出した。抽出液に1%水酸化ナトリウム水溶液0.05ml，水1.5mlを加え，全容をエタノールで10mlに調整，H（335mμ），V（350mμ），S（370mμ）の吸光度を測定，検量線からおおのの量を求めた。

薄層上HとVの分離困難な場合は，両者一括して削り取り，アルカリ性エタノール液について2点法⁷⁾を適用し，335mμと350mμの両吸光度を測定，次式に従ってそれぞれの吸光度を算出した。

$$\begin{aligned} X & \cdots 335 \text{ m}\mu \text{ の実測値,} & Y & \cdots 350 \text{ m}\mu \text{ の実測値} \\ x_1 & \cdots \text{H の } 335 \text{ m}\mu \text{ の吸光度,} & y_1 & \cdots \text{H の } 350 \text{ m}\mu \text{ の吸光度} \\ x_2 & \cdots \text{V の } 335 \text{ m}\mu \text{ の吸光度,} & y_2 & \cdots \text{V の } 350 \text{ m}\mu \text{ の吸光度} \end{aligned}$$

$$X = x_1 + x_2, \quad Y = y_1 + y_2$$

また標品から $h = x_1/y_1 = 1.85$, $v = x_2/y_2 = 0.73$ を得た。したがって，

$$x_1 = \frac{h(X - vY)}{h - v} = \frac{1.85(X - 0.73Y)}{1.12}$$

また $x_2 = X - x_1$

ゆえに

$$y_2 = \frac{x_2}{v} = \frac{X - vY}{v} = \frac{X - x_1}{0.73}$$

2.4 72%硫酸加水分解

メタノール抽出済み葉肉500mgをとり，72%硫酸7.5mlを加え，よく混和した後，20℃で2時間放置する。これを純水280mlで希釈し，還流冷却器をつけて4時間沸騰させる。冷後，不溶解物をガラ

スフィルター G4 で吸引口過, 熱純水で洗浄し, 105°C で乾燥秤量した。

2.5 元素分析および原子団の定量

炭素, 水素については PREGL 法, 窒素については DUMAS 法, メトキシル基については ZEISEL 法の微量分析を行なった。

3. 結果と考察

葉肉部のリグニン含量を求めるため 72% 硫酸で加水分解し, その非加水分解部を定量したところ, 表 2 の 72% 硫酸非加水分解部として示したように, 落葉 (No. 11) を除き全期間を通じて 50% を越し, 材のリグニン含量 20~30% よりはるかに高い値であった。

この非加水分解部のメトキシル基含量は 2~3% と, リグニン試料の 15% 前後とくらべるとかなり低く, また, 炭水素分析の結果から求めた H/C 比は約 1.5 でリグニン試料 (約 1.1)²⁾ のそれよりもやや水素含量が多い。さらにこの部分には, リグニンには本来含有しない窒素が 2~4% とかなりの量存在し, リグニンを含んでいると考えられるものの, その他の物質の混在が推測された。そこで, ここでは通常のように硫酸リグニンとする代わりに, 72% 硫酸非加水分解部と称することにした。

この非加水分解部収量の季節変動は表 2 に示したとおり, 未熟の方がやや多くなっているようであるが, 全期間を通じてほとんど変わりなく, 一方, そのメトキシル基含量は生育後期の方がやや高くなっている傾向がみられた。

つぎに, 葉肉部のニトロベンゼン酸化で生成する *p*-ハイドロオキシベンズアルデヒド (H), バニリン (V), シリガアルデヒド (S) 量の季節変動を図 1 に示した。

H は全期間を通じて S, V より小さく, ほとんど収量に変化なく, V は逐次増加をつづけ, S は No. 1 から No. 2 へと一時減少するが, それ以後は V と同様増加する。この傾向は幼葉時期に H が V, S より多く H, V, S の収量に極大値が存在した葉部メタノール抽出物のニトロベンゼン酸化の場合と異なっている (図 2⁸⁾ 参照)。なお, S の生育初期の一時減少は, 葉肉重量の増加率の方が S の増加率より上ま

表 2. 72% 硫酸非加水分解部分析値

試料番号	収率対乾葉肉 (%)	分析値対 72% 硫酸非加水分解部				
		炭 素 (%)	水 素 (%)	H/C	メトキシル基 (%)	窒 素 (%)
1	62.48	52.03	6.38	1.47	2.96	3.16
2	57.94	54.92	6.62	1.45	1.26	3.88
3	53.47	55.24	6.42	1.39	2.30	3.07
4	52.51	54.98	6.24	1.36	3.12	3.35
5	50.89	54.11	6.27	1.39	2.62	3.39
6	52.77	54.82	6.64	1.45	2.70	3.49
7	50.49	49.65	6.49	1.57	2.99	2.62
8	52.48	55.16	6.22	1.35	3.53	2.13
9	51.14	55.55	6.13	1.32	2.40	3.58
10	50.32	54.53	6.34	1.39	3.57	2.81
11	39.74	54.79	6.17	1.35	2.71	2.44

試料: アメリカスズカケノキ葉部。

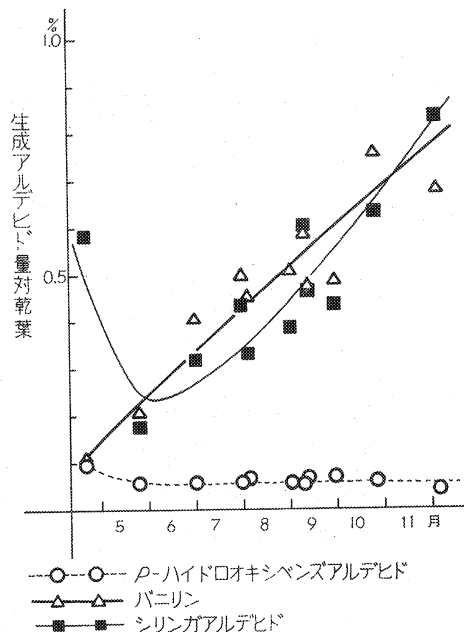


図 1. アメリカスズカケノキ葉肉部の採葉時期とニトロベンゼン酸化アルデヒド生成量

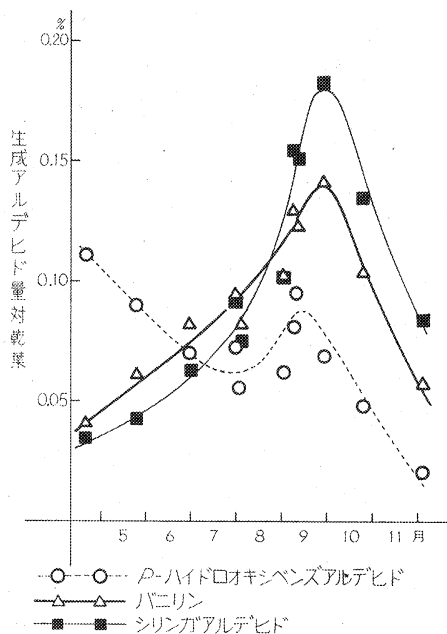


図 2. アメリカスズカケノキ葉部メタノール抽出物の採葉時期とニトロベンゼン酸化アルデヒド生成量

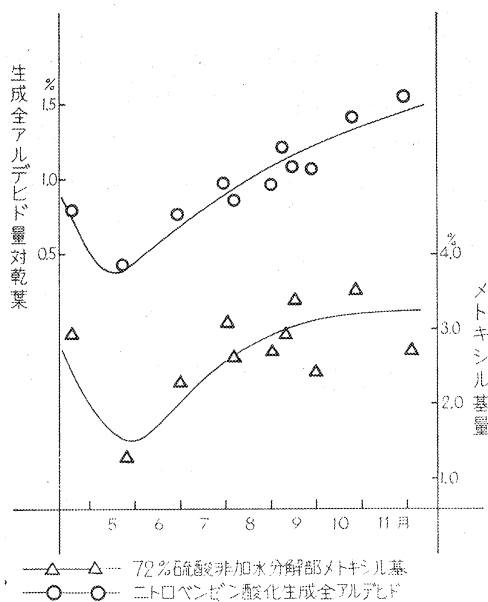


図 3. 72%硫酸非加水分解部メトキシル基量と葉肉ニトロベンゼン酸化生成全アルデヒド量の季節変動

わたため、見かけ上減少したものと考えられる。

No. 2以降についてV, Sの関係をみると、初めVがSより多かったが、Sの増加率の方がVの増加率よりやや高く、SがしだいにVに接近、Vより多くなる傾向があり、葉肉部でも成熟にともないS核比率の増加が認められた。

ここで72%硫酸非加水分解部のメトキシル基量と、H, V, Sを合計した全アルデヒド量の季節変動を比較すると、図3のようにNo. 1で特に高い値を示すという点を含め、両者の間にはかなり似た傾向がみられる。これは葉肉部72%硫酸非加水分解部のメトキシル基の増加も、木部リグニンと同様グアヤシル核、シリングル核の含有比率の増加によることを示すものといえよう。

No. 1は生育初期であるにもかかわらず、SがVより多い。その原因として、この時期にS型

化合物がより多く生産されたことがあげられるが、これは成長にともないS核を増加するという一般的傾向からはずれている。また、少ないS型化合物が、リグニン形成時により多く重合したことも考えられる

が、S 型化合物より活性の高い H 型、G 型化合物の重合がこれに比べて少ないことは説明しにくい。このようにみると、出葉当初の葉肉部に S 核の多い事実は、この時期の生理機構の一端をあらわすものであろうが、その詳細は今の段階では不明である。

文 献

- 1) BLAND, D. E.: Colorimetric and chemical identification of lignins in different parts of *Eucalyptus boirryoides* and their relation of lignification. *Holzforschung*, 20, 1, 12~16, (1966)
- 2) 八浜義和・上代 昌: リグニンの化学, 日本評論社, 342~345, (昭21, 1946)
- 3) 樋口隆昌・川村一次・森本市郎・神田 健: 筍におけるリグニン生成について (第2報) メトキシル基の増大現象とリグニン, *日林誌*, 36, 4, 101~106, (1954)
- 4) 川村一次・樋口隆昌: 木材幼組織のリグニン (第1報) ニセアカシアのリグニン, *木材誌*, 8, 4, 148~153, (1962)
- 5) 右田伸彦: リグニンの研究 (第9報) 各種試料における硫酸リグニンA及びBの収量 (2), *東大演習林報告*, 35, 139~145, (1947)
- 6) 中野準三・高塚千代子・谷口芳子・右田伸彦: 広葉樹の葉部リグニンの芳香核構造について, *木材誌*, 13, 1, 28~29, (1967)
- 7) 大久保正道・中島浩二・吉原卓二: 紫外線吸収スペクトルによるペントザンの定量, 多点法について (I), *繊維誌*, 14, 12, 914~919, (1958)
- 8) TANAKA, J. and M. MIYAZAKI: Seasonal variation in relative amount of phenolic aromatic structures in leaves of broad-leaved trees. *Mokuzai Gakkaishi*, 18, 10, 513~516 (1972)

Seasonal Variations of Phenolic Nuclei in Mesophyll of Broad-Leaved Tree

JIRO TANAKA⁽¹⁾, KOICHI SAKURAI⁽²⁾ and MAKOTO MIYAZAKI⁽³⁾

Summary

Mesophyll of *Platanus occidentalis* collected monthly were oxidized with nitrobenzene, and yields of *p*-hydroxybenzaldehyde, vanillin and syringaldehyde were determined.

From changes of vanillin- and syringaldehyde-yield, it was recognized that contents of guaiacyl- and syringyl-nuclei were increasing with growth of leaves.