ダリア球根からのイヌリンの調製と アトロピンを含まないことの確認[†]

野口聡裕, 山本愛二郎[§]

甲子園大学大学院栄養学研究科

Preparation of Inulin from Dahlia Tubers and
Confirmation of Absence of Atropine
(Studies on Dahlia Tubers as a Food Source
for Inulin. Part II)

Toshihiro Noguchi and Aijiro Yamamoto[§]

Division of Food and Nutritional Science, Graduate
School of Nutrition, Koshien University 10-1,
Momijigaoka, Takarazuka 665-0006

Comparing the food composition of dahlia tubers with those of inulin-rich foods such as Jerusalem artichoke, chicory and edible burdock, we found that dahlia tubers were a good source of inulin, a soluble dietary fiber. We investigated the feasibility of using dahlia tubers which have been discarded because they lack buds as a food source for inulin. Dahlia inulin was extracted and purified as follows: after draining the first hot-water extracts from sliced tubers, the tubers were ground by electric mixer, boiled, and subjected to filtration. The filtrate was decolorized and deodorized using activated charcoal and then concentrated by boiling. Inulin was precipitated by addition of 4 volumes of ethanol and subsequently refined using 80% ethanol for food use. The average purities of inulin before and after refining were 83.2% (n=16) and 97.9% (n=8). We confirmed the absence of atropine in hot-water extracts of dahlia tubers using Dragendorff reagent and HPLC methods. Based on data obtained from addition and recovery of atropine to purified inulin, we concluded that dahlia tubers and the purified inulin obtained in this experiment were free from atropine.

(Received Oct. 4, 2005; Accepted Feb. 6, 2006)

ダリア (*Dahlia*, *Dahlia*) はキク科ダリア属でメキシコ地方原産, 花色・花形とも豊富で品種改良も進んでおり, 3万品種以上あるといわれている. 宝塚市上佐曽利地区ではダリア球根の生産が行われており, 国内流通数400万球の約1/3にあたる130~150万球を出荷している. しかし通常, 芽のついた10g以下の球根が取引され, 30g以上のものや芽のついてないものは廃棄されている. 球根には水溶性食物繊維イヌリンが含まれていることから, 地元ではこれら廃棄球根の有効利用が望まれている. イヌリンはチ

コリー, キクイモ, ゴボウなどにも多く含まれている分子量5000~6300の多糖類で, 末端に1個のブドウ糖を有する以外は果糖が32~35個直鎖状に結合した構造を持つフラクタンである¹⁾. イヌリンは基本的な腎機能の指標とされている糸球体ろ過量(GFR)測定の理想的な物質として使われている²⁾ほか, 種々の生理活性作用が報告されている^{3)~5)}. アメリカではDahlulinという商標でダリアイヌリンを含むダイエット製品や機能性サプリメントが販売されているが⁶⁾, 日本では精製ダリアイヌリンについての研究や利用は未だないようである. 一方, ダリア球根をゴボウと間違えて料理したきんぴらごぼうによる食中毒事件が過去1件(1967年)群馬県高崎市において発生している. 症状は極めて特殊で散瞳による視力障害, 手足のしびれ, 歩行困難, 口渇, 意識障害, うわごと, 幻覚, 奇妙な動作等を呈し, 視力障害は数日残存した. 動物実験により特殊な自律神経毒アトロピンを含有していたことが報告されている⁷⁾. ダリアイヌリンの毒性は諸外国では報告されていない. 本研究ではダリア球根の食材としての安全性を確認するために, ダリア球根およびイヌリン調製過程での添加アトロピンの挙動を調べた.

1. 実験方法

(1) 試料

ダリア球根は宝塚市佐曽利園芸組合より収穫直後の比較的小球根重量の大きなもの(32種類)を入手した. 栽培用品種であるキダチチョウセンアサガオ(*Angel's-trumpet*, *Datura suaveolens*)は, 市販の苗を入手し大学構内の畑で栽培した. アルコールは和光純薬製エタノール(純度99.5%)および日本アルコール販売製食品添加物用アルコール(純度95%)を使用した. 硫酸アトロピンなどの試薬類は和光純薬製の特級品を使用した.

(2) 方法

ダリア球根(品種:ピンクジェンヌ)の食品成分分析は日本食品分析センターに依頼した. ダリア球根(多品種混合)からのイヌリンの抽出・精製は山本らの方法によった(図1)⁸⁾. イヌリンの純度測定にはMegazyme社製オリゴフラクタン・フラクタン多糖類測定用キットを使用した⁹⁾.

呈色反応によるアルカロイド類の検出にはピクリン酸水飽和試薬およびドラーゲンドルフ試薬を用いた. アトロピン標準溶液は3%硫酸アトロピン水溶液を段階的に2倍希釈し, 各試薬500μLに対し種々の濃度のアトロピン水溶液200μLを混合し, 混濁もしくは沈殿を観察した.

アトロピン等の薄層クロマトグラフィー(TLC)による検出は衛生試験法を参考に行った¹⁰⁾. TLC法の諸条件:標準溶液は硫酸アトロピンおよびスコポラミン臭化水素酸塩をそれぞれアセトニトリル:水(1:1)混液で50μg/10μLに調製. 薄層板はシリカゲルGプレートを. 展開溶媒はメタノール:アンモニア水(200:3). 発色試薬(ドラー

[†] ダリア球根の食資源化に関する研究(第2報)(前報文献8)
〒665-0006 宝塚市紅葉が丘10-1

[§] 連絡先 (Corresponding author), TEL 0797-87-5111

ゲンドルフ試薬) は、塩基性硝酸ビスマス 0.85 g を水 40 mL と氷酢酸 10 mL の混液に溶解した A 液とヨウ化カリウム 8 g を水 10 mL に溶解した B 液とをそれぞれ使用直前に 5 mL ずつ混合し、さらに酢酸 20 mL および水 100 mL を加えて混和した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による検出法は、1995 改訂版 Shodex カラム総合データ集を参考に行った¹¹⁾。HPLC の分析条件：アトロピン溶液は、硫酸アトロピン 1 水和物をアセトニトリル：水 (1：1) 溶液で 5 mg/mL に調製。カラムは Shodex Asahipak ポリマー系逆相分配カラム ODP-40 4D (4.6 mmφ×150 mm)。移動相は 25 mM リン酸バッファー (pH 7)：アセトニトリル (6：4)。測定波長は 210 nm。流速は 0.5 mL/min。カラム温度は 30℃。注入量は 5 μL。

HPLC による回収実験：ダリア球根スライスに対して 1% (w/w) の硫酸アトロピンを添加し、イヌリンの抽出・精製法の各ステップで回収を行い、得られた Fraction ①～⑥についてアトロピンの検出を行った。

2. 実験結果および考察

(1) ダリア球根の一般食品分析値 (第 204081660-001 号)

ダリア球根 [可食部 100 g 中、水分：87.2 g、たんぱく質：0.7 g、脂質：0.3 g、灰分：0.6 g、炭水化物 11.2 g (うち食物繊維：6.0 g)、エネルギー：38 kcal、ナトリウム：4.2 mg] をキクイモ、ゴボウ、チコリーの五訂日本食品標準成分表値¹²⁾と比較すると、ダリア球根は炭水化物中に占める食物繊維が最も多かった。食物繊維量の多さはイヌリン抽出用原料としては有用である。

(2) ダリア球根から抽出したイヌリンの純度

和光純薬製イヌリンを標準物質としてダリアイヌリンの純度を測定したところ、ばらつきはあるものの 3 kg のダリア球根から抽出した図 1 の粗イヌリン Fraction ⑤の平均は $83.2 \pm 18.5\%$ (n=16)、精製イヌリン Fraction ⑥の平均は $97.9 \pm 23.4\%$ (n=8) であった。また、300 g のダリア球根から小規模に抽出したイヌリンの平均は $96.4 \pm 18.2\%$ (n=18) と大規模抽出の精製イヌリンの純度と同程度であった。なお、球根湿重量からの精製イヌリンの収率は剥

図 1 ダリア球根からのイヌリン抽出⁸⁾

図 2 ダリア球根抽出液の HPLC クロマトグラム
(左: 無添加, 右: アトロピン添加, 矢印: アトロピンのピーク)

皮試料で 5.4% であった。また、TLC では精製イヌリン中には遊離の糖は検出されなかった⁸⁾。

(3) アトロピン等アルカロイド類の呈色反応による検出
アトロピン標準液の検出を行ったところ、ピクリン酸水飽和試薬では 0.38%, ドラージェンドルフ試薬では 0.05% まで検出できた。ドラージェンドルフ試薬で天然物抽出試料を用いて検出を行う場合、試料にアトロピンがキダチショウセンアサガオと同程度 (35 ppm) 含有しているとすると、約 14 倍濃縮することによって検出できることになる。また、検出時の絶対量は試薬対試料を 1/10 (50 μ L : 20 μ L) にしても発色・混濁が検出できることからアトロピンの絶対量として 10 μ g で検出が可能である。

(4) 薄層クロマトグラフィー (TLC) による検出

TLC 法によるアトロピンの検出を行ったところ、キダチショウセンアサガオのクロロホルム抽出では標準のアトロピン (0.5% 液 10 μ L, 絶対量 50 μ g) の R_f 値 0.27, スコポラミンの 0.76 付近に橙色のスポットが検出された。一方、ダリア球根 (75 倍濃縮液 10 μ L) の抽出液からはアトロピンもスコポラミンも検出されなかった。また葉と花の抽出液 (75 倍濃縮液 10 μ L) から検出されなかった。

(5) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による検出

図 2 左側の HPLC チャートに示すようにダリア球根由来のピークがアトロピンのピーク付近に認められた。しかし、アトロピン溶液を混合し再度測定した結果、図 2 右側チャートに示すように矢印の分析時間 4.5 分付近にアトロピンのピークが検出された。このことによってダリア球根

から検出されたピークはアトロピン由来のものではないことが確認された。また、イヌリン精製の各ステップで得られた Fraction ①～⑥ の材料についても、アトロピンは検出されなかった。

(6) HPLC による添加・回収実験

ダリア球根スライスに硫酸アトロピンを 1% (w/w) 添加後、イヌリンの抽出を行った結果、添加アトロピンは図 1 の Fraction ① で 96.3%, Fraction ② で 2.6%, Fraction ③ で 1.0%, Fraction ④ で 0.1% 除去され、粗イヌリン (Fraction ⑤) および精製イヌリン (Fraction ⑥) にはアトロピンが残存していないことが判明した (図 3)。このことから、精製初期段階においてアトロピンは大部分除去され、精製ダリアイヌリンにはアトロピン残留の危険性はほとんどないと考えられる。群馬県における食中毒の原因について、日本医事新報では研究の継続が示唆されていたが、その報告はない。現在、福島県塙町、山形県川西町、秋田県雄和などの地域で地場産業的にダリア球根の食品への利用が進められているが、中毒事故の報告も聞かない。群馬県の例はダリアの種類、土壌、その他から考えてごく特殊なケースではないかと思われる。

3. 要 約

ダリア球根には水溶性食物繊維イヌリンが含まれていることから、廃棄球根の有効利用が望まれている。一方、ダリア球根による食中毒事件が 1967 年に 1 件だけ群馬県において発生し、動物実験により特殊な自律神経毒アトロピンを含有していたことが報告されている。本研究ではダリ

図 3 アトロピン添加回収実験の HPLC クロマトグラム

ア球根の食材としての安全性を確認するために、ダリア球根およびイヌリン調製過程での添加アトロピンの挙動を調べた。その結果、ダリア球根には水溶性食物繊維イヌリンが豊富である。使用した宝塚佐曽利地区産の 32 種のダリア球根や 10 種の花びらと葉にはアトロピンの含有は認められなかった。また、ダリア球根に添加されたアトロピンはイヌリンの精製初期段階において除去された。

以上の知見から精製ダリアイヌリンやダリアの球根の食品への利用は可能であろうと考察した。しかし宝塚以外の産地のものや生育環境の違うものについては確認していないので今後の検討課題としたい。

本研究の実施に際し、ダリア球根をご提供いただきました宝塚市上佐曽利園芸組合に深謝いたします。

文 献

- 1) 今堀和友, 山川民夫監修, 生化学辞典 (東京化学同人, 東京), p. 129 (1984).
- 2) 折田義正, 糸球体濾過値の測定法, 臨床検査, **36**, 567-569 (1992).
- 3) Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X. and Cummings, J.H., Selective stimulation of bifidobacteria in the human

colon by oligofructose and inulin., *Gastroenterology*, **108**, 975-982 (1995).

- 4) Andersson, H.B., Ellegard, L.H. and Bosaeus, I.G., Nondigestibility Characteristics of Inulin and Oligofructose in Humans., *J. Nutr.*, **129**, 1428S-1430S (1999).
- 5) Roberfroid, M.B., Concepts in Functional Foods: The Case of Inulin and Oligofructose., *J. Nutr.*, **129**, 1398S-1401S (1999).
- 6) Milner, J.A., Functional Foods and Health Promotion., *J. Nutr.*, **129**, 1395S-1397S (1999).
- 7) 松山達夫, 大山栄一, ダリア球根誤食による中毒, 日本医事新報, **2262**, 18-19 (1967).
- 8) 山本愛二郎, 池田亜由美, 稲垣幸枝, 佐々木真弓, 仲津美希, ダリア球根からのイヌリンの調製—宝塚の名物・名産づくりに参加して—, 甲子園大学紀要 栄養学部編, **31** (A), 9-16 (2003).
- 9) Megazyme, Fructan Assay Procedure, Megazyme International Ireland Ltd., pp. 1-11 (1997).
- 10) 日本薬学会編, 衛生試験法注釈 2000 (金原出版, 東京), p. 247, (2000).
- 11) Shodex. '95 改訂編 Shodex カラム総合データ集, pp. 94-95 (1995).
- 12) 科学技術庁資源調査会編, 五訂日本食品標準成分表, pp. 48, 84, 94 (2000).

(平成 17 年 10 月 4 日受付, 平成 18 年 2 月 6 日受理)