

Title: *Eucalyptus saligna* の葉に含まれるフェノール性成分の分析

Analysis of phenolics in *Eucalyptus saligna* leaves

Author: 稲垣怜那・植木悠貴・寺田珠実・井上広喜・鴨田重裕・鮫島正浩

Reina INAGAKI, Yuki UEKI, Tamami TERADA, Hiroki INOUE, Shigehiro

KAMODA, Masahiro SAMEJIMA,

#### Additional information(追加情報)：

この論文は以下のように出版されましたが、その後、以下のように修正した点があります。

東京大学農学部演習林報告 134 号、2016 年 2 月、105-114 頁

#### 書誌情報の修正

修正 1 105 頁 誤：東京大学農学部演習林報告, 134, 105-114 (2015)

正：東京大学農学部演習林報告, 134, 105-114 (2016)

修正 2 107、109、111、113 頁

誤：Bull. Univ. of Tokyo For, 134, 105-114(2015)

正：Bull. Univ. of Tokyo For, 134, 105-114(2016)

著者名が英文小文字になっていた箇所をスモールキャピタルに修正

修正 1 113 頁

## *Eucalyptus saligna* の葉に含まれる フェノール性成分の分析

稲垣怜那<sup>\*1</sup>・植木悠貴<sup>\*1</sup>・寺田珠実<sup>\*1</sup>・井上広喜<sup>\*2</sup>・鴨田重裕<sup>\*2</sup>・鮫島正浩<sup>\*1</sup>

### Analysis of phenolics in *Eucalyptus saligna* leaves

Reina INAGAKI<sup>\*1</sup>, Yuki UEKI<sup>\*1</sup>, Tamami TERADA<sup>\*1</sup>, Hiroki INOUE<sup>\*2</sup>,  
Shigehiro KAMODA<sup>\*2</sup> and Masahiro SAMEJIMA<sup>\*1</sup>

#### 1. 緒言

ユーカリは、フトモモ科に属する早生の常緑広葉樹で、現在 700 種ほどが同定されている。数多く存在するユーカリの種のうち、*Eucalyptus saligna* という種はシドニー近郊を原産とし、オーストラリア南東の沿岸部に自生する高木樹種である。本種は高比重・高強度で知られ、現在オーストラリアを中心に、建材やパネル材など多目的に利用されている<sup>1)</sup>。これを東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林樹芸研究所において育成したところ、1 年間で 2～3 m 伸長したという特徴があり、今後は日本国内において材としての利用が検討されると考えられる。この *E. saligna* には産地によって個別に系統番号が与えられており、同種内に複数の系統が存在するが、系統による性質の違いの有無に関する報告はまだない。

ユーカリはとくに、抽出成分を多く含む樹木であることはよく知られている。なかでもフェノール性成分に関しては、これまでにさまざまな種で研究が行われており、没食子酸やエラグ酸をはじめとし、フラバノール（カテキン類）やルチン・ケルセチンなどのフラボノール類、ナリンゲニンなどのフラバノンの存在について報告がある<sup>2,4)</sup>。このうち、多くのユーカリ属樹木の主成分として報告されている没食子酸類は、抗酸化剤や医薬品の原料として産業的に重要であり、今後の利用が期待される化合物である。我々も以前から、ユーカリの持つフェノール性成分に関する研究に取り組んできており、*E. piperita* や *E. robusta* などの複数種のユーカリにおいて樹皮、心材、辺材、葉における総フェノール量をそれぞれ比較したところ、葉においてとくに高い含有率を示すことがわかっている<sup>5)</sup>。

本研究では、日本国内での生育が良好な *E. saligna* に関して、産地の異なる 3 系統の個体の葉に含まれるフェノール性成分の分析を行い、葉の資源としての利用の可能性を探ることを目的とした。系統間でフェノール性成分の組成を比較し、同じ *E. saligna* という種内での、系統による特性の有無を確かめた。さらに、他種のユーカリの葉とも組成を比較し、*E. saligna* の成分組成の特徴を調べた。

\*1 東京大学大学院農学生命科学研究科生物材料科学専攻

Department of Biomaterial Sciences, Graduate school of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

\*2 東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林樹芸研究所

Arboricultural Research Institute, The University of Tokyo Forests, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

## 2. 実験

### 2.1 実験材料および試薬

樹芸研究所で育成されていた系統番号 20835, 20675, 20483 の 3 系統の *E. saligna* (*Es*) の苗木 (2013 年 7 月頃播種, 樹高約 30 cm) を用い, 2014 年 5 ~ 9 月にかけて実験を行った。また, 標品として没食子酸, 没食子酸メチル, (+) - カテキン (以上, 東京化成工業株式会社製), エラグ酸 (Sigma-Aldrich 社製), ケンフェロール, ケルセチン, クロロゲン酸 (以上, 和光純薬工業株式会社製) を用いた。

### 2.2 比色定量によるフェノール性成分分析

3 系統の *Es* の苗木の, 地面から 10 ~ 30 cm の高さの葉を十数枚ずつ採取し生重量を測定した。その後 1 枚ずつ並べて写真をと (図 - 1), それぞれの長径, 面積, 地面からの高さを, 画像処理ソフトウェア Image J を用いて解析した。これらの葉の生重量 100 mg に対して 3 mL の 80% メタノールを加え, 浸漬した。

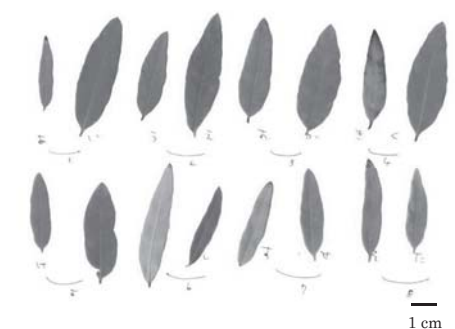


図 - 1. 比色分析に用いた *Es* の葉 (20835 系統)

Fig. 1. Leaves from *Es* used for colorimetric assay. (20835 line)

浸漬 3 日目の抽出液を吸引ろ過して得たサンプルを, 検量線内に収まるように水で 50 倍に希釈し, そこから 500  $\mu$ L 取り出して Folin-Denis 法<sup>6)</sup>により総フェノール量を定量した。すなわち, 500  $\mu$ L の Folin-Denis 試薬 (タンゲステン酸ナトリウム 25 g, リンモリブデン酸 5 g, リン酸 12.5 mL, 水 188 mL を混合して 2 時間煮沸後, 水を加えて 1000 mL に調製したもの) を添加し, 3 分後に 10% 炭酸ナトリウムを 500  $\mu$ L 加え, 50 分後に 11000 g で 10 分間遠心を行い上澄みを取って 700 nm の吸光度 (分光光度計 UV-240 島津) を測定した。検量線は, ユーカリの主成分と考えられ, 加水分解型タンニンの基本骨格をなす没食子酸を用いて作成した。

さらに, 同様に浸漬 3 日目の抽出液から得たサンプルを, DMACA 法<sup>7)</sup>に基づいて分析し, フラバノールの定量を行った。すなわち, DMACA (*p*-dimethyl-aminocinnamaldehyde) 10 mg に対し 1.2 M 塩酸 0.8 mL, メタノール 9.2 mL を混ぜた試薬を作製し, 抽出液 25  $\mu$ L に対し DMACA 試薬を 1 mL 加え, 10 分後に 638 nm の吸光度を測定した。検量線は, フラバノール類の代表的化合物である (+) - カテキンを用いて作成した。

## 2.3 HPLCによるフェノール性成分分析

先行研究<sup>2-4)</sup>を参考に、*Es*の葉の抽出液から検出される化合物を予測し、標品を用いてHPLCによる分析条件を検討し、表-1で示した条件①-③で同じ抽出液を3回分析することにした。各条件において、目的の化合物を定め、条件①では没食子酸、フラバノール、およびそれらの配糖体、条件②では没食子酸、没食子酸メチル、およびそれらの配糖体、クロロゲン酸、条件③ではケルセチンおよびケンフェロール（フラボノール）、エラグ酸の検出と定量をそれぞれ行った。

表-1. HPLCに用いた3つの分析条件  
Table 1. Three conditions used for HPLC analysis.

	Eluent composition (water with 0.005%TFA* : MeOH)	Observable compounds	Detection of wavelength (UV)
condition ①	80 : 20	Gallic acid, Flavanols, their glycosides	280 nm
condition ②	62 : 38	Gallic acid, Methyl gallate, their glycosides, Chlorogenic acid	280 nm
condition ③	30 : 70	Flavonols, Ellagic acid	365 nm

\*: TFA, trifluoroacetic acid

3系統の*Es*の葉を約400 mgずつ採取し、液体窒素を用いてすりつぶした。これを、2.2と同様の抽出効率となるよう、生重量100 mgあたり3 mLの80%メタノールを加えて浸漬した。浸漬3日目に抽出液を吸引ろ過してサンプルを得て、そこから150  $\mu$ Lとり、11000 gで10分間遠心した。上澄みをC18プレカラムに通し、検出器をUVとする高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に1  $\mu$ Lインジェクトし、分析を行った。

また、配糖体の存在を確認するため、抽出液を塩酸濃度0.48 M下100℃で2時間加水分解を行った。これを条件①および②で分析し、没食子酸類の配糖体の加水分解のようすを観察した。さらに、これとは別に塩酸濃度0.06 M下100℃で30分間加水分解を行った。これを条件③で分析し、フラボノール類の配糖体の存在を確認した。また、各条件下における主要なピークに関して、標品との保持時間ならびにUVスペクトルの比較により、化合物の同定と定量を行った。HPLCのその他条件は、以下のとおりである。

機種：AS-2057 Plus (JASCO 社)

カラム：CAPCELL PAK C18 MGII 150 mm  $\times$   $\phi$  4.6 mm (資生堂)

流速：0.5 mL/min

## 3. 結果と考察

### 3.1 比色定量によるフェノール性成分分析

#### 3.1.1 *Es*の系統間比較

比色定量により得た、*Es*の系統番号20835, 20675, 20483の葉1枚ごとの乾重量当たりの総フェノール量(%)およびフラバノール量(%)と、各サンプルの採取時の地面からの高さ(cm),

長径 (cm)、面積 (cm<sup>2</sup>) との関連性を調べたところ、20483 のみ明らかな傾向がみられたため (図-2)、これに関して相関係数 (CORREL 関数) を Excel により算出した (表-2)。表-2 は絶対値の大きさが大きいほど強い相関を示している。3 系統のうちとくに系統番号 20483 の総フェノール量およびフラバノール量は、地面からの高さとの強い負の相関関係を示しており、さらに、長径と面積という、葉の大きさに関連する値とも有意な正の相関関係があることがわかった。すなわち、20483 においては地面に近い位置のものほど、また、葉の大きさが大きいものほど総フェノールおよびフラバノール量が多い傾向があった。一方、系統番号 20835 と 20675 に関しては、それぞれ高さやや負の相関関係があるようにみられるが、20483 ほど強い相関関係はなく、長径や面積とはほとんど相関関係がみられなかった。これらの結果から、同じ *E. saligna* という種内でも、系統によって、フェノール性成分が蓄積または生産されるしくみに違いがあることが示唆された。

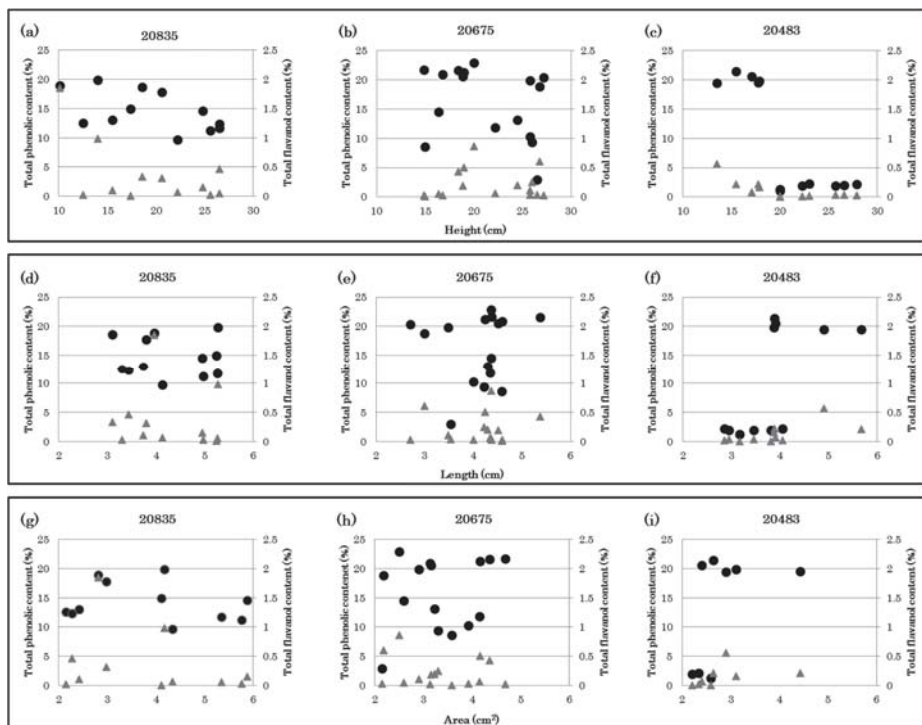


図-2. 比色定量による、葉1枚当たりの総フェノール量とフラバノール量

Fig. 2. Total phenolic and flavanol content in an *Es* leaf, determined by colorimetric assay.

(a), (b), (c): 葉の地面からの高さとの相関図

(d), (e), (f): 葉の長径との相関図

(g), (h), (i): 葉の面積との相関図

各系統3個体から、葉12-16枚ずつを無作為に採取した。

凡例: フェノール (●), フラバノール (▲)

表－2. 各系統の葉に含まれる総フェノール量およびフラバノール量と、高さ・長径・面積との関係

Table 2. The correlation value between total phenolic or flavanol content and height, length, area of leaves from each line.

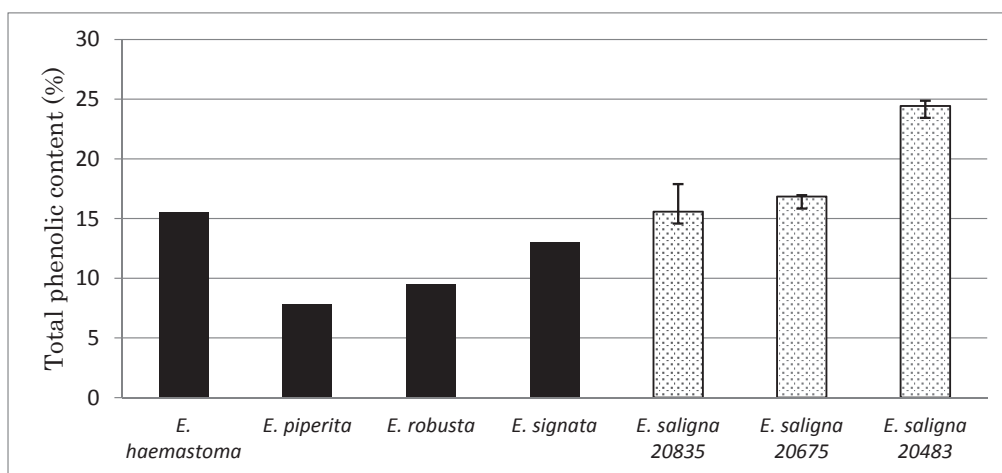
			Line		
			20835	20675	20483
Correlation value	Height	Phenolics	-0.077	-0.428	-0.808
		Flavanol	-0.404	-0.212	-0.712
	Length	Phenolics	-0.089	-0.175	0.670
		Flavanol	-0.149	-0.157	0.648
	Area	Phenolics	-0.148	-0.194	0.698
		Flavanol	-0.295	-0.258	0.520

絶対値が大きいほど相関が強いことを表す（最大値 1.000）。

相関係数は、各系統 12-16 枚の葉から算出。

### 3.1.2 ほかのユーカリとの比較

*Es* の葉に含まれる総フェノール量を、これまでに報告されている *Es* 以外の 4 種のユーカリ (*E. haemastoma*, *E. piperita*, *E. robusta*, *E. signata*) の葉に含まれる総フェノール量<sup>5)</sup>と比較を行った (図－3)。*Es* は 3 系統いずれの葉においても、ほかの 4 種のユーカリの葉のうちで最も含有量の多い *E. haemastoma* と同程度か、あるいはそれよりも多くフェノール性成分を含有していることがわかった。また、*Es* の 3 系統間のなかでは 20483 の総フェノール量突出して多い結果となった。ユーカリは、とくに抽出成分量の多い樹木として知られているが、一般的に樹木の二次代謝成分の全体に占める割合が数%程度である、といわれていることと合わせて考えても、乾重量当たり 20483 系統で約 25%，ほかの系統でも 15%以上の総フェノール量を示した *E. saligna* は、フェノール性成分をとくに多く含む種であるといえる。



図－3. ユーカリ葉の総フェノール量（乾重量当たり）

Fig. 3. Total phenolic content of eucalyptus leaves (dry weight basis).

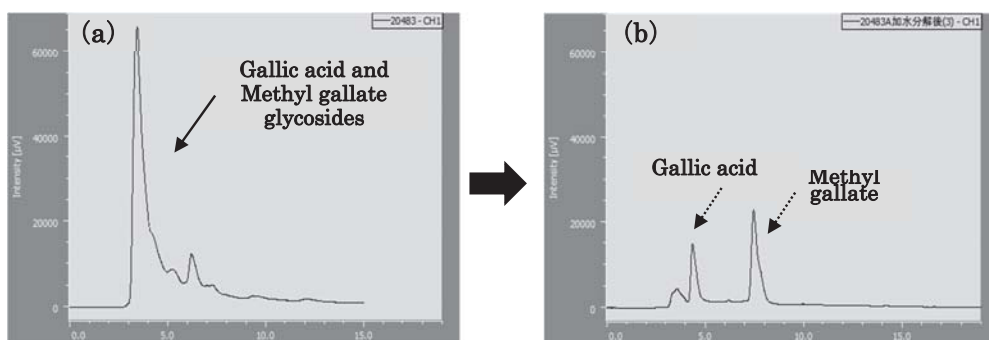
エラーバーは標準誤差を表す (n=2)

### 3.2 HPLCによるフェノール性成分分析

#### 3.2.1 葉の加水分解前後における分析

秋元らの研究により、*E. robusta* の葉に含まれるフェノール性成分は没食子酸とその配糖体の存在が主であることがわかっている<sup>5)</sup>。そこで、*Es* の葉にも、没食子酸やその他フェノール性化合物の配糖体が多量に存在すると推定し、加水分解を行った前後でクロマトグラムの比較を行った。

3 系統の葉から得られたサンプルと、その加水分解物を条件①－③で分析した。それらの加水分解の前後でクロマトグラムを比較し、ピークの大きさやピーク数の変化を観察した。いずれの系統番号においても、主要なピークの保持時間はほぼ同じであったため、図－4 に代表として、20483 の各条件②下における加水分解前後の比較を示した。①－③の全ての条件下で、加水分解後のクロマトグラムにおけるピーク数の減少が確認でき、没食子酸と没食子酸メチルのピークに集約されていた。加水分解前に見られた没食子酸以外の主要なピークの UV スペクトルを観察したところ、ほとんどのピークの UV スペクトルは標品の没食子酸あるいはフラバノールの UV スペクトルと酷似していた。全て同定することはできなかったが、これらの化合物は没食子酸やフラバノールの配糖体と推測された。



図－4. *Es* 葉の 80% MeOH 抽出液の HPLC クロマトグラム (分析条件②, 20483 系統)

(a): 加水分解前, (b): 加水分解後

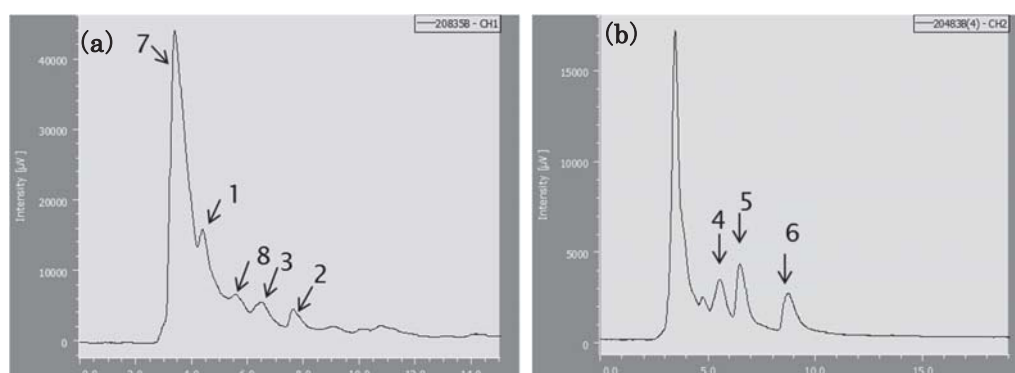
Fig. 4. HPLC chromatograms of 80% MeOH extract of *Es* leaf before (a) and after (b) acid hydrolysis (determined for the *Es* line 20483 under HPLC conditions #2)

#### 3.2.2 葉に含まれるフェノール性成分の定量

観察された主要なピークに番号を与え (図－5), 標品との保持時間および UV スペクトルの比較によって、各ピークに対応する化合物を同定した。さらに、同定した化合物の定量値を表－3 に示した。3 系統全てにおいて、没食子酸と没食子酸メチルおよびその配糖体、エラグ酸、フラボノールとしてケルセチン、ケンフェロール、フラバノールおよびその配糖体、クロロゲン酸という多様なフェノール性成分の存在が確認できた。なかでも没食子酸、没食子酸メチル、およびそれらの配糖体類が総フェノール量の 80～95% を占めており、*Es* の葉に含まれる主なフェノール性成分は没食子酸類であることがわかった。このうち、エラグ酸は没食子酸の二量体のような構造をとっているが、これは水にもメタノールにも非常に溶けにくく、標品の溶解が十分にできなかった。このため、エラグ酸の定量結果は不正確であり、*Es* の葉は今回示した定量値よ



りも多くエラグ酸を含有している可能性がある。エラグ酸の定量法については今後検討が必要である。



図－5. *Es* 葉 80% MeOH 抽出液の HPLC クロマトグラム

(a): 加水分解前 (分析条件②, 20835 系統) (b): 加水分解後 (分析条件③, 20483 系統)

Fig. 5. HPLC chromatograms of 80% MeOH extract of *Es* leaf before (a) and after (b) acid hydrolysis. (a): The *Es* line 20835, determined by HPLC conditions #2, and (b): the *Es* line 20483, determined by the HPLC conditions #3.

ピーク: 1 – 没食子酸; 2 – 没食子酸メチル; 3 – クロロゲン酸; 4 – エラグ酸; 5 – ケルセチン; 6 – ケンフェロール; 7 および 8 – 没食子酸配糖体または没食子酸メチル配糖体

表－3. HPLC 分析による, *Es* 葉 80% MeOH 抽出液中のフェノール性化合物の量 (mg/g)

Table 3. The amount of phenolic compounds in 80% MeOH extract of *Es* leaf determined by HPLC (mg/g).

Peak No. <sup>a)</sup>	Detected compound <sup>b)</sup>	Line		
		20835	20675	20483
1	Gallic acid	35.30	20.96	36.85
2	Methyl gallate	1.46	1.02	1.58
3	Chlorogenic acid	17.46	6.01	36.21
4	Ellagic acid	0.21	0.58	3.54
5	Quercetin	0.33	0.43	1.82
6	Kaempferol	0.25	0.25	0.76
7,8	Glycosides of peak No.1 and No.2 (totaling)	84.56	125.66	155.77
Flavanol		2.69	1.47	1.60
Total phenolics		142.27	156.37	238.11

値は, 各系統 2 サンプルの平均値を示す (乾重量当たり)。

a) 図－5 のピーク番号に準ずる。

b) 各化合物の構造は図－6 を参照。

検出した化合物の構造の例を図－6 に示した。このうち, 主成分として検出した没食子酸類は, すい臓がん細胞のアポトーシスを誘導するという報告がある<sup>11)</sup> ほか, 緒言でも述べたとおり, 抗酸化剤や医薬品の原料として産業的に重要な化合物である。没食子酸の生産方法に関しては現在さまざまな手法が検討されているところである。今回, 多量の没食子酸類を含むことが明らかになった *Es* の葉は, 今後, 没食子酸生産の原料として利用されることが期待される。さらに, フラバノール (カテキン類) は生活習慣病予防と肝臓保護効果があると考えられている<sup>8)</sup>。また,

ケルセチン、ケンフェロールというフラボノール類は骨粗しょう症予防や抗がん作用があるといわれており<sup>9)</sup>、イチョウ (*Ginkgo biloba*) の葉に多量に含まれていることはよく知られている。海外ではすでにイチョウ葉エキスなどが健康補助のために積極的に利用されている。今回、*Es* から検出することのできたフラボノールの量は、そのイチョウと同程度かそれ以上の量であり<sup>10)</sup>、*Es* の葉もイチョウと同様の利用が期待できる。

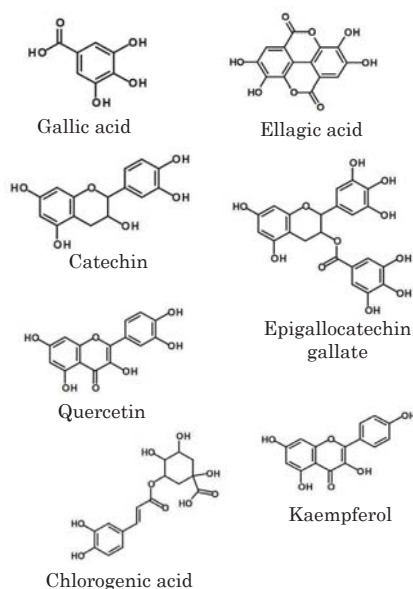


図- 6. 表- 3 において検出したフェノール性化合物の構造  
Fig. 6. Chemical structures of phenolic compounds listed in Table 3.

また、今回 *Es* はまだ日本での育成の試験段階であったため、大きく成長した樹の葉が十分量手に入らず、幼苗の葉のみで分析を行った。本研究において幼苗の葉には非常に多様かつ多量のフェノール性成分が含まれることが判明したことから、*Es* が通常、材やパルプとして利用される大きさにまで成長した時に生産・蓄積されるフェノール性成分に興味をもたれる。今後、成長の進んだ *E. saligna* の葉についての分析を行うことが重要であると考ええる。

#### 4. 結論

比色分析と HPLC による分析結果から、*Es* はその葉においてフェノール性成分を多く含む種であることがわかった。さらに、総フェノール量の 80 ~ 95% を没食子酸、没食子酸メチル、およびそれらの配糖体類が占めることが判明した。3 系統間ではとくに、20483 系統の葉において総フェノール量が多く、葉が地面から低い位置にあるほど、また、葉の大きさが大きいほど総フェノールが多いという特徴があった。これらの結果から、同じ *E. saligna* という種内で、系統によってフェノール性成分の生産や蓄積のしくみに違いがあることが示唆された。また、有用な成分を多数検出することができ、*Es* の葉を資源として利用できる期待が高まった。

## 要旨

早生樹 *Eucalyptus saligna* の葉を材料に用い、80%メタノールによる抽出で得られたフェノール性成分に関して、比色分析ならびに HPLC を用いて定量的に解析した。*E. saligna* という種では、産地ごとに個別の系統番号が与えられており、そのうち 20835, 20675, 20483 の 3 系統において葉 1 枚ごとの成分量の比較を行ったところ、20483 系統にのみ葉の面積が大きいほど、また、地面に近い位置のものほど総フェノール量が多いという傾向があり、同種内で系統によってフェノール性成分の生産や蓄積の仕組みに違いがみられることがわかった。*E. saligna* は 20483 系統で乾重量あたり約 25%, ほかの 2 系統でも 15%以上と多量のフェノール性成分を含有しており、いずれも没食子酸類およびその配糖体が主成分であった。そのほかカテキン類、フラボノール、クロロゲン酸など多様な成分の存在も確認できた。これらの成分は全て有用な利用が期待できるものであり、*E. saligna* の葉を資源として利用できる可能性が示唆された。

キーワード：*Eucalyptus saligna*・葉・フェノール性成分・比色分析・HPLC

## 参考文献

- World Agroforestry Centre (2015 年 2 月 10 日参照) Agroforestry Database,  
<http://www.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=812>.
- HOU, A. J., LIU, Y. Z., YANG, H., LIN, Z. W., SUN, H. D. (2000) Hydrolyzable tannins and related polyphenols from *Eucalyptus globulus*. J. Asian Nat. Prod. Res. 2 (3) : 205-212.
- AMAKURA, Y., YOSHIMURA, M., SUGIMOTO, N., YAMAZAKI, T., YOSHIDA, T. (2009) Marker constituents of the natural antioxidant Eucalyptus leaf extract for the evaluation of food additives. Biosci. Biotech. Bioch. 73 (5) : 1060-1065.
- CONDE, E., E. CADAHÍA and M. C., GARCÍA-VALLEJO. (1997) Low molecular weight polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globules* and *E. rudis*. Phytochem. Analysis 8 (4) : 186-193.
- 秋元真也・石野貴久・寺田珠実・鮫島正浩・鴨田重裕 (2012) ユーカリのフェノール性成分とフェニルアラニンアンモニリアーゼの遺伝子解析. 東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林演習林報告 127: 35-44.
- FOLIN, O., BOSTON, M. (1912) A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. J. Biol. Chem. 22: 305-308.
- ARNOUS, A., MAKRI, D., KEFALAS, P. (2002) Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. J. Food Compos. Anal. 15 (6) : 655-665.
- IMAI, K., NAKACHI, K. (1995) Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. Brit. Med. J. 310 (6981) : 693-696.
- BOOTS, A. W., HAENEN, G. R. M. M., BAST, A (2008) Health effects of quercetin. From antioxidant to nutraceutical. Eur. J. Pharmacol. 585 (2-3) : 325-337.
- KOBUS, J., FLACZYK, E., SIGER, A., NOGALA-KALUCKA, M., KORCZAK, J., PEGG, R. B. (2009) Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of Ginkgo leaves. Eur. J. Lipid. Sci. Tech. 111 (11) : 1150-1160.
- LIU, Z., LI, D., YU, L. NIU, F. (2012) Gallic acid as a cancer-selective agent induces apoptosis in pancreatic cancer cells. Chemotherapy 58 (3) : 185-194.

(2015 年 7 月 3 日受付)

(2015 年 9 月 16 日受理)

### Summary

We investigated 80% methanol-soluble leaf extracts (predominantly phenolics) from fast-growing *Eucalyptus saligna* (*Es*) by colorimetric assay and HPLC. We used leaf samples from three different lines (20835, 20675 and 20483) of the same *Es*, which have grown in different areas. The phenolic content in *Es* 20483 leaves was clearly correlated to the leaf height from the ground and the leaf area, although other *Es* lines were not. These results suggest that the same *Es* trees have different ways of producing or accumulating phenolics, depending on the growing environment. The leaves of *Es* 20483 line had approximately 25% phenolics, and those of the other lines had at least 15% phenolics based on dry weight. In all of the *Es* lines, gallic acid and their glycosides were the major phenolic compounds. In addition, they had a wide variety of compounds, such as flavanol, flavonol and chlorogenic acid. All of these phenolic compounds detected by HPLC are expected to be used as supplements and other uses, and thus the leaves of *Es* will be utilized as new biomass resources with high value.

**Key words:** *Eucalyptus saligna*, leaves, phenolics, colorimetric assay, HPLC