

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18725

研究課題名(和文)揮発特性および酸化特性を利用した国産針葉樹葉油の高付加価値化

研究課題名(英文)Utilization of volatility and oxidation properties for the high added-value of domestic needle oils

研究代表者

楠本 倫久 (KUSUMOTO, Norihisa)

国立研究開発法人森林総合研究所・森林資源化学研究領域・特別研究員(PD)

研究者番号：80537168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、品質劣化に関わる特性を利用して葉油を高付加価値化し、未利用森林資源の新たな利用法を検討することである。そのために、(1)揮発特性および酸化特性を利用した葉油処理方法の検討、(2)処理葉油が示す生物活性の評価、(3)高反応性成分に着目した新たな針葉樹原料の探索の3点を中心に研究を行った。

その結果、利用上の問題点とされていた環境要因による成分変化の一端が明らかとなり、温和な加熱処理により抗菌性が向上すること、紫外線照射処理により一部のp-メンタジエン骨格成分が選択的に変化すること、トドマツ樹皮が -フェランドレン抽出原料として有用であること等を主要な成果として得た。

研究成果の概要(英文)：The applications of needle essential oils are limited due to the easy degradation by ambient factors such as heat, UV rays and air; however, these factors can be regarded as valuable properties. The aim of this study is to discover high added-value of domestic needle oils by utilizing volatility and oxidation properties. In this study, following topics: 1) effective treatments by utilizing volatility and oxidation properties; 2) biological activities of treated oils; 3) usable forest materials containing high-reactive components, were investigated. The needle oils of *Pinus thunbergii*, *Cryptomeria japonica* and *Thujopsis dolabrata* var. *hondae* were used for the mild heat and UV-A treatments. The major achievements were as follows: 1) mild heat treatments enhanced antifungal activities of essential oils; 2) some p-menthadiene components selectively changed by UV-A irradiation; 3) *Abies sachalinensis* bark was found as a usable material for extracting -phellandrene-rich essential oil.

研究分野：森林化学

キーワード：針葉樹 精油 テルペン 加熱処理 抗菌活性 紫外線照射 p-メンタジエン -フェランドレン

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 日本の森林と針葉樹葉油の蓄積

放置された我が国の人工林には、膨大な量の未利用資源が蓄積されており、特に枝葉などは整備の行き届いた人工林においても伐採後に林地残材として放置されている。

針葉樹の枝葉からは高い収率で精油が得られ、その抽出率は樹種によって様々である。古くから精油利用が研究されているスギ葉を例に挙げると、精油の抽出率は乾重あたり約  $30\text{mL/kg}^{1)}$  と多量である。2012年度の国の推計では、未利用間伐材が約 800 万トン存在するとあり、スギの葉に限定しても約 1000 万リットルの葉油が蓄積されていることが推計され、その大半が未利用の現状がある。

### (2) 葉油の揮発特性と酸化特性

葉油は、低沸点の物から高沸点の物まで様々なテルペン類の混合物であり、構成成分や割合も樹種や採取時期等によって大きく異なる。また、沸点も 100 前後から 300 以上の物まで幅広く含まれ、揮発特性を一概に評価することは難しい。同様に、葉油には光、紫外線、温度等によって自動酸化する成分と抗酸化能を有する成分とが同時に含まれており、個々の成分の化学的性質が複合的に葉油全体の酸化特性を発現している。

葉油の揮発特性と酸化特性は、一般的に品質劣化の原因とされ利用上の障害となっているが、これらの特性を利用した機能性の向上について検討した研究例は過去に無い。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、品質劣化に関わる特性を利用して精油(特に葉油)を高付加価値化し、未利用森林資源の新規有効利用法を検討することである。主な内容は、(1)揮発特性および酸化特性を利用した葉油処理方法の検討、(2)処理葉油が示す生物活性の評価、(3)高反応性成分に着目した新たな針葉樹原料の探索の3点である。

## 3. 研究の方法

### (1)加熱および紫外線照射処理

下記に示した2種類の処理方法を用いて、スギ、クロマツ、ヒバ葉油の促進劣化実験を行った。一定時間毎に試料を採集し、GC-MSによる定性分析およびGC-FIDによる定量分析を行い、経時的な成分変化を明らかにした。

#### 温和な加熱処理

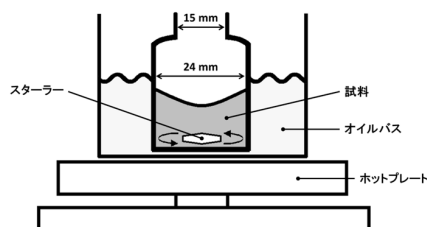


図1 加熱処理の方法

図1に示した方法を用いて、各種葉油原液および一部の標品に対し 50 ~ 90 の温和な温度域で加熱処理を行った。処理試験は、葉油がタール様へと変性しスターラーが回転しなくなるまで行った。また、タール様へと変性した一部の葉油を用いてPy-GC分析を行い、酸化重合等による各種構成成分の挙動について明らかにした。

#### 紫外線照射処理

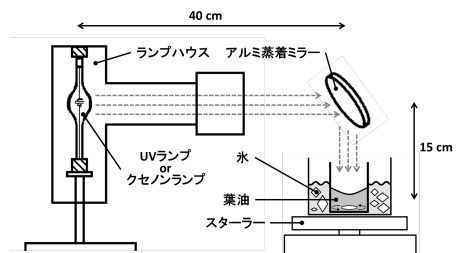


図2 紫外線照射処理の方法

図2に示した方法を用いて、各種葉油原液および一部の標品に対して紫外線照射処理を行った。揮発による試料の減少を極力抑えるため、処理は氷冷下で行った。変色や粘性の変化に留意しつつ、最長で 24 時間の照射処理を行った。

### (2)処理葉油の抗菌性評価

既往の表面塗布法<sup>2)</sup>に基づき、白色腐朽菌1種(カワラタケ)、褐色腐朽菌2種(オオウズラタケ、キチリメンタケ)に対する処理葉油の菌糸成長阻害活性試験を行った。PDA培地表面に  $50\mu\text{g}/\text{cm}^2$  となるよう試料を塗布し、処理した各葉油の活性を処理前のものと比較することで抗菌性を評価した。

### (3)高反応性成分に着目した原料探索

加熱処理および紫外線照射処理試験の結果、短時間で消失し特徴的な酸化物へと変化したp-メンタジエン骨格を有する諸成分の内、近年空気浄化剤としての有用性が報告されている-フェランドレンを多く含む森林資源の探索を行った。対象はトドマツ3個体とし、各部位(葉、球果、新梢、枝材、枝樹皮、内外樹皮、心辺材)より得られたヘキサン抽出物中の-フェランドレン含有量をGC分析により定量的に明らかにした。

## 4. 研究成果

### (1)加熱および紫外線照射処理

スギ、クロマツ、ヒバ葉油を温和な加熱処理(50 )に供した結果、モノテルペン炭化水素類を多く含むクロマツ葉油では酸化重合等による構成成分の減少が進行したものの、スギおよびヒバ葉油では含酸素モノテルペン類や揮発性の低い成分を主体とした組成へと徐々にシフトさせることに成功した。今回用いた3種類の葉油では、著しく減少した

成分の多くが炭化水素類であり、主な含酸素モノテルペン類や含酸素セスキテルペン類は加熱処理によって変化することなく葉油中に残存していた。熱に対して不安定な構造を有する一部の炭化水素類は精油の抽出段階で既に変化している可能性が高く、再現性の高い加熱処理方法の確立には精油の抽出時間等も含めたより詳細な検討が必要と考える。続けて、長時間の加熱処理によりタール様へと変性したクロマツ葉油を Py-GC 分析に供した結果、主な熱分解物として  $\alpha$ -フェランドレンおよび  $p$ -シメンを検出した。この結果から、8 割以上の構成成分が酸化重合等により消失したタール様のクロマツ葉油であっても、上記の 2 成分はその化学構造を維持したまま劣化葉油中に存在している可能性が強く示唆された。

同様に、3 種類の葉油に対して紫外線照射 (UV-A) 処理を行った結果、一部のモノテルペン炭化水素類およびセスキテルペン炭化水素類が著しく減少し、特徴的な酸化物へと変化した。特に、 $p$ -メンタジエン構造を有するモノテルペン類の消失速度と反応生成物は特徴的であり、 $p$ -シメンへの脱水素化とその過程における反応挙動を詳細に検討する上で、極めて有益な知見を得た (図 3)。 $p$ -メンタジエン構造を有する数種類の標品に対して同処理を行った結果、単一の酸化物へと変化するものや多様な含酸素類へと変化するものなど、二重結合部位の違いによって反応生成物に明確な違いが確認された。

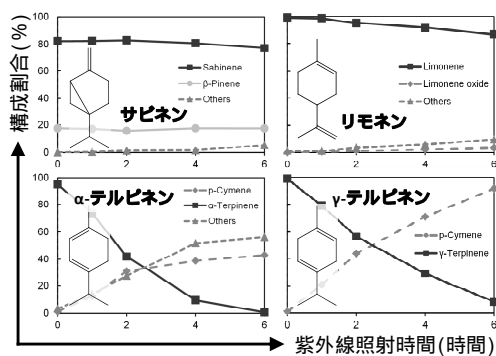


図 3 紫外線照射処理による反応性の違い (上段：低反応性、下段：高反応性)

(2) 処理葉油の抗菌性評価

各種条件下で加熱処理を行った 3 種類の葉油を用いて木材腐朽菌 3 種に対する菌糸成長阻害活性を検討した結果、各葉油には最も高い抗菌性を示す状態が存在し、各葉油に共通した結果として、モノテルペン炭化水素の割合が減少した葉油に高い活性が認められた (図 4)。処理葉油における抗菌活性の程度は、腐朽菌の種類と関係なく同一の傾向を示し、一定の加熱処理を行った葉油が最も高い抗菌活性を示した。一方で、高温もしくは長時間の加熱処理を行った葉油では抗菌活性が著しく減少したことから、活性原因成分が熱

により消失した可能性が強く示唆された。また、スギ葉油に含まれる 2 種類の主要構成成分 (カウレン、エレモール) の抗菌活性を調べた結果、含酸素セスキテルペンのエレモールを主な活性成分として特定した。

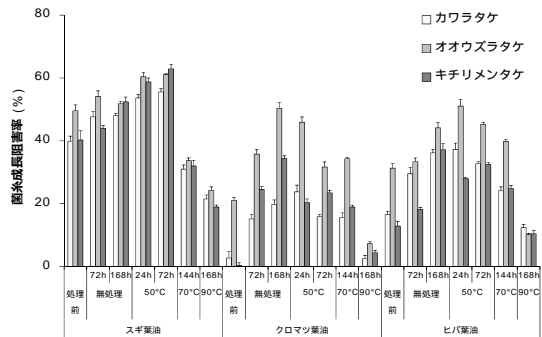


図 4 加熱処理による葉油の抗菌活性の変化

(3) 高反応性成分に着目した原料探索

紫外線照射試験の結果を受け、 $p$ -メンタジエン構造のモノテルペン炭化水素類を多く含む未利用針葉樹資源の探索を行った。対象は近年伐採が進むトドマツの各部位 (葉、球果、新梢、枝材、枝樹皮、内外樹皮、心辺材) とし、目的成分は空気質浄化能等の有用性が報告されている  $\alpha$ -フェランドレン<sup>3)</sup>とした。トドマツ 3 個体の各部位より得られたヘキサン抽出物を GC 分析に供した結果、新梢、枝樹皮、外樹皮の 3 部位に  $\alpha$ -フェランドレンが多く含まれることが明らかとなり、特に枝樹皮および外樹皮では乾重あたり平均 1.0% 前後と高い含有量が認められた。この結果から、トドマツ樹皮が  $\alpha$ -フェランドレンを多く含む特徴的な精油を得るための抽出原料として有用である可能性が示された。

本研究の結果から、精油の利用上これまで問題視されていた環境要因による成分変化の一端が明らかとなり、温和な加熱処理により抗菌性が向上すること、紫外線照射処理により一部の  $p$ -メンタジエン骨格成分が選択的に変化する事、トドマツ樹皮が  $\alpha$ -フェランドレン抽出原料として有用であることなどを主な研究成果として得た。

今後は、低コストかつ再現性のある処理方法の確立、特徴的な成分組成を有する精油の調製、効果の持続性評価などを検討することで、精油の付加価値向上に向けたより具体的な研究展開が可能と考える。

< 引用文献 >

- 1) Yatagai M and Sato T, Terpenes of Leaf Oils from Conifers, Biochem. Syst. Ecol. 14, 1986, 469-478
- 2) Kusumoto N (以下省略 4 名), Antifungal Abietane-Type Diterpenes from the Cones of Taxodium distichum Rich, J. Chem. Ecol. 36, 2010, 1381-1386
- 3) 大平辰朗, 樹木精油成分による空気質の改善, 木材学会誌, 61 巻, 2015, 226-231

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

芦谷竜矢、楠本倫久、生物におけるにおい 節足動物・微生物とにおい成分の関係、  
におい・かおり環境学会誌、査読有、  
Vol.47、No.1、2016、pp.10-16、  
[http://jglobal.jst.go.jp/detail/?from=API&JGLOBAL\\_ID=201602215209192245](http://jglobal.jst.go.jp/detail/?from=API&JGLOBAL_ID=201602215209192245)

Norihisa Kusumoto and Sakae Shibutani,  
Evaporation of volatiles from  
essential oils of Japanese conifers  
enhances antifungal activity, Journal  
of Essential Oil Research, 査読有,  
Vol.27, No.5, 2015, pp.380-394,  
DOI: 10.1080/10412905.2015.1045993

[学会発表](計2件)

大平辰朗、楠本倫久、橋田光、松井直之、  
牧野礼、トドマツ樹皮の抽出成分(1) *n*  
hexane 抽出物等の特性について、第  
67 回日本木材学会大会、2017 年 3 月 17  
日~3 月 19 日、アクロス福岡(福岡県福  
岡市)

橋田光、楠本倫久、松井直之、牧野礼、  
大平辰朗、トドマツ樹皮の抽出成分(2)  
不揮発性成分について、第 67 回日本木  
材学会大会、2017 年 3 月 17 日~3 月 19  
日、アクロス福岡(福岡県福岡市)

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

楠本 倫久 (KUSUMOTO, Norihisa)

国立研究開発法人森林総合研究所・森林資  
源化学研究領域・特別研究員 (PD)

研究者番号：8 0 5 3 7 1 6 8