

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07877

研究課題名(和文) シナアブラギリに含まれる有用成分と利用方法の開発

研究課題名(英文) Utilization of oil and antioxidants from Tung tree

研究代表者

鈴木 利貞 (Suzuki, Toshisada)

香川大学・農学部・准教授

研究者番号：80346634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：シナアブラギリ油脂から合成したBDFは、減圧蒸留と部分水素添加反応によって、動粘度とヨウ素値を下げることは可能だが、実用化にはより少量の触媒で水素添加反応が可能な条件の検討が必要である。

シナアブラギリ搾油カスの抽出物を各種クロマトグラフィーにより分離・精製した結果、isoamericanol Aなどのカテコール構造を有する7種類のリグナン・ネオリグナン類を単離・同定した。これらは種子の内果皮に特異的に含まれていた。Isoamericanol Aは、BDFの酸化を抑制したことから、シナアブラギリ内果皮から得られるカテコール型リグナン・ネオリグナン類は、酸化防止剤としての利用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

香川県をはじめとした四国の林業は原木価格の長期にわたる低迷により、放棄森林の増加が問題となっている。これにより適切に管理されていなければ発生しないはずの土壌流出、森林倒伏、獣害などが発生する危険性が高まり、環境問題の点からも大きな問題となっている。放置された森林の代わりシナアブラギリを栽培し、これから得られる油脂をBDF燃料や木材塗料として利用すれば、地域林業への大きな発展が期待され、地域環境の整備にも貢献できる。また、搾油カスに含まれる抗酸化物質は油脂の酸化防止剤への利用を検討した。これらの研究成果は、植物資源を利用した四国中山間地域の経済的発展に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The BDF synthesized from tung oil indicated a high iodine value and high kinematic viscosity. The iodine value and kinematic viscosity were reduced by vacuum distillation and partial hydrogenation reaction. It is necessary to study the conditions under which the hydrogenation reaction can be performed with a smaller amount of catalyst.

The methanol soluble fraction obtained from the defatted seed residue of tung tree was separated with some column chromatographies, and seven kinds of catechol-type lignan and neolignans were isolated and identified. The catechol-type lignan and neolignans were specifically presented in endocarp of seeds of tung tree. The isoamericanol A inhibited the oxidation of oil and BDF. These results indicated that the catechol-type lignan and neolignans obtained from the endocarp of tung tree would be applicable for stabilizers in BDF.

研究分野：バイオマス化学

キーワード：オオアブラギリ 桐油 抗酸化活性 リグナン ネオリグナン カテコール BDF

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、石油の枯渇と大気汚染に対する懸念から BDF の利用が注目されている。BDF は無毒性であり、カーボンニュートラル、再生可能エネルギーに位置づけられ、ドイツ、フランスなどの EU 諸国やアメリカでは、ナタネ、ダイズ、ヒマワリ等の未使用の食用油を用いた BDF の生産が急増している。中国、インド、東南アジア地域では、このような食用油からの BDF の生産はコストが高いこと、食料と競合することなどから、非食用のジャトロファ (トウダイグサ科) を用いた BDF の生産が注目されている。同様に、日本でも油脂植物の供給はほぼ輸入頼っているため、未使用の食用油からの BDF の生産は難しく、使用済みの廃油から BDF を生産し利用する取り組みが各地で行われているが、供給量が限られ、品質が安定しない問題点も指摘されている。また、ジャトロファは耐寒性が低いため、日本での栽培は困難である。

しかし、シナアブラギリは、日本でも栽培可能な木本性油脂植物である。この植物は、中国原産のトウダイグサ科落葉低木であり、江戸時代以降に日本に導入された。その種子中に約 40% の油脂を生産するが、毒性があるため食用とはならず、共役脂肪酸である  $\omega$ -7 及び  $\omega$ -9 エレオステアリン酸が約 80% 占める。空気に触れると酸化して固まる乾性油で、昔には和紙にしみ込ませて油紙とし、和傘や提灯、雨合羽などに使用するために栽培されていたが、現在では日本での油脂生産はほとんど行われていない。そのため、シナアブラギリに含まれる化学成分についての研究は少なく、特に、抗酸化物質や毒性成分についての研究はほとんどない。

一般的に、油脂は空気中で非常に酸化しやすいことから、油糧植物は抗酸化物質を大量に生合成し、油脂の自動酸化を防御している。例えば、ダイズやナタネでは、抗酸化物質であるトコフェロール類を多く含んでいる。ゴマ油は比較的酸化に強いことが知られているが、ゴマ種子にはセサミンやセサミノールなどの抗酸化物質が含まれている。シナアブラギリ油脂も酸化安定性が比較的高いことから、高活性な抗酸化物質を含んでいることが十分に予想されるが、これまでにシナアブラギリに含まれている抗酸化物質について報告はされていなかった。

### 2. 研究の目的

シナアブラギリは日本でも栽培可能な木本性油脂植物であるが、その入手はかなり限定されていたことから、その化学成分や利用についての研究はほとんど行われていなかった。本研究は、シナアブラギリ油脂から合成した BDF の物性分析を行った。次に、シナアブラギリ油脂を家庭廃油とブレンドして合成した BDF、減圧蒸留した BDF、部分水素添加処理した BDF を調製し、物性分析を行った。また、搾油カスに含まれる抗酸化性物質を明らかにし、酸化防止剤としての利用方法の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) シナアブラギリ油脂からの BDF 合成

##### シナアブラギリ油脂 BDF の成分分析

シナアブラギリ種子は、日本植物燃料研究会の田中正晴氏より提供して頂き、香川県さぬき市の中山間地で採取した。種子を袋に詰め木槌で叩き、外果皮を取り除いて乾燥させた。搾油はサン精機の搾油機 (KT23-160) で行った。外果皮を取り除いた状態で、収率は約 50% であった。

油脂のメチルエステル化は、メタノールとアルカリ触媒を使用したエステル交換反応により行った。油脂 100 mL にメタノール 30 mL、水酸化カリウム 0.3 g を加え、60 のウォーターバス中で約 1.5 時間攪拌し、反応液は脂肪酸メチルエステル (FAME) とグリセリンに分離した。FAME を分液し、水で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。脂肪酸組成は GC-MS (QP2010 SE) (カラム InertCap 225) で測定した。ヨウ素価・酸価は滴定、密度は精密密度計 (DMA500) で測定した。動粘度は、粘度計と密度計の測定値から算出した。

##### シナアブラギリ油脂と廃食油からのブレンド BDF の合成

シナアブラギリ油脂と廃食油を各種割合で混合後、エステル交換反応を行いブレンド BDF を合成した。使用した廃食用油は香川大学農学部生協食堂で使用された尾家産業株式会社のサンラザ印キャノーラ油を用いた。これをろ過し、不純物を除いて使用した。

##### シナアブラギリ BDF の減圧蒸留

シナアブラギリ油脂由来 BDF は高真空ポンプ (池本理工工業株式会社、OIL ROTARY VACUUM PUMP MODEL SW-50) を用いて減圧蒸留を行った。真空度は 600 Pa であった。シナアブラギリ油脂由来 BDF は 148 で本留が留出し、169 まで温度計の温度が上昇した。

##### シナアブラギリ BDF の部分水素付加反応

BDF 3 mL をヘキサン 10 mL で溶かし、パラジウム炭素 12 mg を加え、各温度のウォーターバスに入れて水素ガス雰囲気下で 1 時間攪拌した。その後、パラジウム炭素をろ過で取り除き、減圧濃縮をした。

#### (2) 搾油カスの成分分析

##### 抗酸化物質の単離・同定

シナブラギリ種子の脱脂残渣を各種溶媒で抽出後、二層分配を行い、酢酸エチル抽出物有機層画分・水層画分とメタノール抽出物有機層画分・水層画分を得た。この4画分について抗酸化活性試験（DPPH ラジカル消去法と Folin-Ciocalteu 法）を行った結果、メタノール有機層画分に高い抗酸化活性が認められた。この画分をシリカゲル中圧カラムクロマトグラフィー、シリカゲル TLC、逆相 HPLC によって分離・精製した。単離した化合物は 600MHz NMR 及び LC-MS で構造決定した。また、単離した化合物についても同様に抗酸化活性試験を行った。

#### 抗酸化物質の定量実験

単離・同定した抗酸化物質について HPLC による定量方法を確立し、種子、植物体、殻などに含まれる含有量を測定した。

#### BDF 酸化抑制試験

市販 BDF に isoamericanol A を 5  $\mu\text{mol/L}$  の濃度で添加した。これを 100 で 5 日間加熱し、加熱 BDF の酸化、けん化値、ヨウ素値の経時変化を測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) シナブラギリ油脂からの BDF 合成

##### シナブラギリ油脂 BDF の成分分析

シナブラギリ油脂から合成した BDF のヨウ素値は 153 であり、JIS 規格の 120 以下よりも大幅に高い値であった。また、シナブラギリ BDF の動粘度は 7.09 であり、これも JIS 規格の 5.0 以下よりも高い値であった。このことからシナブラギリ油脂からの BDF の合成には、他の油脂との混合や多不飽和脂肪酸の除去などが必要である。

##### シナブラギリ油脂と廃食用油からのブレンド BDF の合成

シナブラギリ油脂と廃食用油の割合が、0:10、3:7、5:5、7:3、10:0 のブレンド BDF を合成した。酸価、密度はどの割合でも JIS 基準値を下回った。ヨウ素価はシナブラギリ油脂 30% 以下と廃食用油 70% 以上の BDF で 118 となり下回った（図 1）。しかし、動粘度は廃食用油 100% BDF が 4.92  $\text{mm}^2/\text{s}$  と元々高いため、廃食用油と混合しても JIS 基準値を下回ることが出来なかった（図 2）。

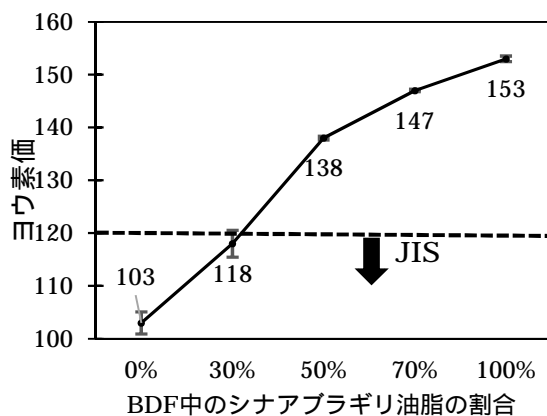


図 1. 各ブレンド比での BDF のヨウ素価

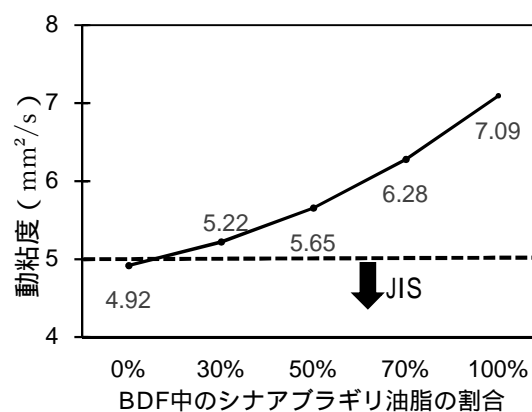


図 2. 各ブレンド比での BDF の動粘度

#### シナブラギリ BDF の減圧蒸留

BDF の減圧蒸留により、オリーブ油由来 BDF の動粘度は 4.69  $\text{mm}^2/\text{s}$  から 4.52  $\text{mm}^2/\text{s}$  に低下した。また、シナブラギリ種子油脂由来 BDF の動粘度は 13.4  $\text{mm}^2/\text{s}$  から 8.09  $\text{mm}^2/\text{s}$  へ低下した。このことから、シナブラギリ種子油脂由来 BDF にはオリーブ油由来 BDF よりも高分子重合物が多く含まれ、これが減圧蒸留により除去されたことにより、動粘度が低下したと予想される。

#### シナブラギリ BDF の部分水素付加反応

減圧蒸留したシナブラギリ種子油脂由来 BDF の水素添加反応ではヨウ素価が 155.3 から 91.3 へ低下した。この水素添加したシナブラギリ種子油脂由来 BDF の脂肪酸組成は、炭素鎖の二重結合数 0 の脂肪酸メチルエステルが 39.6 %、二重結合数 1 の脂肪酸メチルエステルが 35.5 %、二重結合数 2 の脂肪酸メチルエステルが 24.9 %であった。

このことから、シナブラギリ種子油脂由来 BDF は、減圧蒸留と水素添加反応を行うことにより動粘度とヨウ素価を下げることは可能だが、実用化にはより少量の触媒で水素添加反応が可能な条件の検討などが必要である。

(2) 搾油カスの成分分析

抗酸化物質の単離・同定

シナアブラギリ搾油カスのメタノール有機層画分から、3,4-dihydroxybenzaldehyde、及びカテコール核を有するリグナン・ネオリグナンの3,3'-bisdemethylpinoresinol、isoamericanol A、americanol A、isoamericanin A、americanin A、9'-O-methylisoamericanol A、9'-acethylamericanol A の合計 8 つの化合物をシナアブラギリから新たに単離・同定した。上記の 8 つの化合物すべてに抗酸化活性が認められた。特に 3,4-dihydroxybenzaldehyde と isoamericanol A は、ポジティブコントロールの没食子酸、trolox を上回る高い活性を示した。

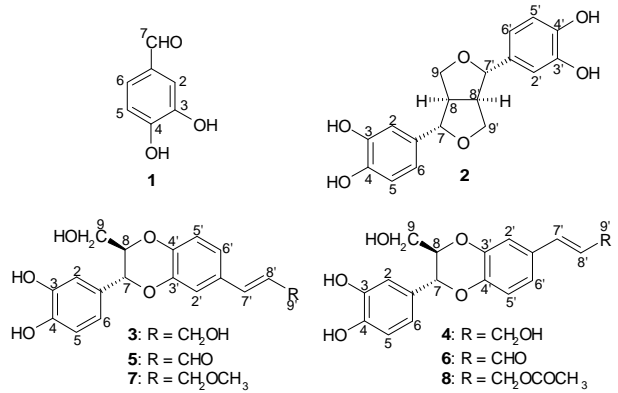


図 3. 単離同定した抗酸化物質

抗酸化物質の定量実験

シナアブラギリ種子を外果皮、内果皮、胚乳に分離し、カテコール型リグナン・ネオリグナン類の定量分析を行った結果、内果皮において 3, 3' - bisdemethylpinoresinol が 38.1 μg/g、isoamericanol A が 528 μg/g、americanol A が 180 μg/g 含まれていた。一方、外果皮及び胚乳には全く含まれていなかった。また、木材、樹皮、葉についても分析を行ったが、カテコール型リグナン・ネオリグナンは検出されなかった。このことから、シナアブラギリに含まれるカテコール型リグナン・ネオリグナンは、種子の内果皮に特異的に存在し、胚乳に含まれる油脂の酸化・重合を保護していることが予想される。

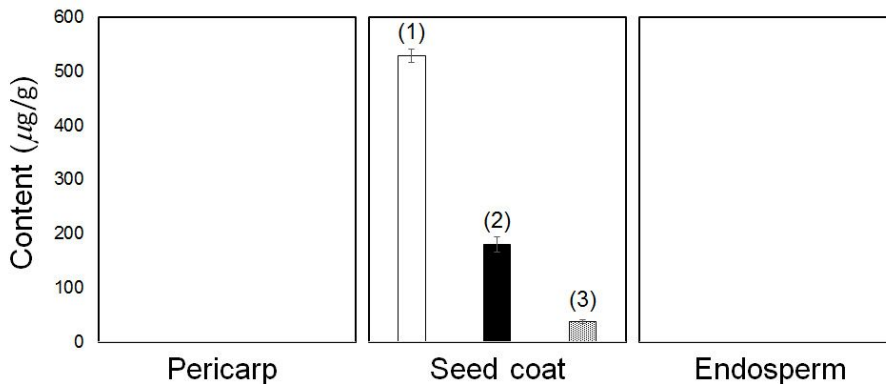


図 4. カテコール型リグナン・ネオリグナン類の定量分析

(1) Isoamericanol A, (2) americanol A, (3) 3, 3' - bisdemethylpinoresinol

BDF 酸化抑制試験

Isoamericanol を酸化防止剤として用いた BDF の酸化抑制試験では、無添加の BDF の酸化が 2.74 であったのに対し、isoamericanol A 添加 BDF の酸化は 2.40 であり、BDF の酸化を抑制する効果が認められた。このことから、シナアブラギリ搾油カスから得られる isoamericanol A は、BDF の酸化防止剤としての利用が期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ayako Katagi, Li Sui, Kazuyo Kamitori, Toshisada Suzuki, Takeshi Katayama, Youyi Dong, Toshitaka Nakagawa, Koichi Yube, Akram Hossain, Fuminori Yamaguchi and Masaaki Tokuda	4. 巻 14
2. 論文標題 Monopolar Spindle Induced by Isoamericanol A Suppresses Human Breast Cancer Cell (MCF-7) Growth	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Asian Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3923/ajcb.2019.1.6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toshisada Suzuki, Tesuaki Kato, Ayako Katagi, Takeshi Katayama	4. 巻 13 (2)
2. 論文標題 Antioxidative catechol lignans/neolignans isolated from defatted seed of Tung tree	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of the Forest Biomass Utilization Society	6. 最初と最後の頁 47-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katagi, A., Sui, L., kamitori, K., Suzuki, T., Katayama, T., Hossain, A., Noguchi, C., Dong, Y., Yamaguchi, F. and Tokuda, M.	4. 巻 12 (12)
2. 論文標題 High anticancer properties of defatted Jatropha curcus seed residue and its active compound, isoamericanol A.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Natural Product communications	6. 最初と最後の頁 1881-1884
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Katayama, T., Suzuki, T., Kato, T., Katagi, A.
2. 発表標題 Antioxidative catechol-type compounds isolated from deoiled kernel of Vernicia fordii.
3. 学会等名 Baltic Conference Series 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 チヨレウインスキー樹、鈴木利貞、片山健至
2. 発表標題 シナアブラギリに含まれる抗酸化物質の化学合成
3. 学会等名 日本木材学会中国・四国支部第31回研究発表会要旨集
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki, T., Onishi, Y., Katagi, A., Katayam, T.
2. 発表標題 Catechol-type lignan and neolignans are specifically present in the endocarp of Tung tree
3. 学会等名 1st International lignin symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 チヨレウインスキー樹、鈴木利貞、片山健至
2. 発表標題 シナアブラギリに含まれる抗酸化物質の化学合成
3. 学会等名 第70回日本木材学会大会研究発表プログラム集
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Suzuki, T., Kato, T., Matsuyama, M., Fukagawa, Y., Katayama, T.
2. 発表標題 Biodiesel production from Tung oil, and isolation and identification of antioxidant compounds from defatted seeds
3. 学会等名 The 7th Joint Symposium CMU and KU
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukagawa, Y., Suzuki, T., Katayama, T.
2. 発表標題 Elucidation of the chemical composition of Tung tree ( <i>Vernicia fordii</i> ) to clarify the potential for medicinal use.
3. 学会等名 The 7th Joint Symposium CMU and KU
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsuyama, M., Suzuki, T., Fukada, K., Katayama, T.
2. 発表標題 Physical and chemical properties of bio diesel fuel from Tung oil.
3. 学会等名 The 7th Joint Symposium CMU and KU
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木利貞、松山 恵、加藤哲明、片木絢子、片山健至
2. 発表標題 シニアブラギリ種子油のバイオディーゼル燃料利用と抗酸化活性成分の探索
3. 学会等名 樹木抽出成分討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松山 恵、鈴木利貞、深田和宏、片山健至
2. 発表標題 シニアブラギリ油脂から合成したバイオディーゼル燃料の物理的・化学的性質
3. 学会等名 日本木材学会中国・四国支部第30 回研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katagi, A., Sui, L., Kamitori, K., Suzuki, T., Katayama, T., Dong, Y., Nakagawa, T., Yube, K., Hossain, A., Yamaguchi, F., Tokuda, M.
2. 発表標題 High anticancer properties of defatted <i>Jatropha curcas</i> seed residue and its active compound, isoamericanol A.
3. 学会等名 The 61st International Convention of the Society of Wood Science and Technology and Japan Wood Research Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Suzuki, T., Kato, T., Katagi, A., Katayama, T.
2. 発表標題 Antioxidative catechol lignans/neolignans isolated from defatted kernel of Tung tree.
3. 学会等名 The 61st International Convention of the Society of Wood Science and Technology and Japan Wood Research Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西由真、鈴木利貞、片山健至
2. 発表標題 シニアブラギリに含まれるカテコール型リグナン・ネオリグナン類の存在部位と定量分析
3. 学会等名 第69回日本木材学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katagi, A., Suzuki, T., Katayama, T., Sui, L., Kamitori, K., Hossain, A., Dong, Y., Yamaguchi, F., Tokuda, M.
2. 発表標題 Isoamericanol A suppresses human breast cancer cell (MCF-7) growth by disrupting regular spindle formation at mitotic metaphase
3. 学会等名 第68回日本木材学会大会
4. 発表年 2018年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携 研究者	片山 健至  (Katayama Takeshi)  (00152687)	香川大学・農学部・教授    (16201)	