

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05771

研究課題名(和文)なぜ樹皮タンニンは汚染空気の酸化作用を低減できるのか？ - ポリマーの利点を探る -

研究課題名(英文) Nitrogen dioxide removal activity of tannin polymers from barks

研究代表者

牧野 礼 (Makino, Rei)

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：50353850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：樹皮タンニンが、気相で特徴的に持つ抗酸化機構の解明を目的とし、強い酸化作用を持つ大気汚染物質である二酸化窒素を用いて、タンニンの化学特性と除去能の関係を検討した。また、蒸煮爆砕処理を用いて、タンニンの化学構造の変化と除去能の関係を検討した。その結果、タンニンの構成単位によらず、分子量増加が除去能を増加させることが明らかになり、蒸煮爆砕処理は除去能の向上に効果的であることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンニンとその代表的な構成単位である単量体のカテキンは、多くの有用機能で同等の活性を示し、重合物であるタンニンの機能の優位性は明らかではないことが多い。本研究は、樹皮に多く含有するタンニンが、気相で特徴的に持つ新たな有用機能について、重合物である化学特性と機能との関係を明らかにした。また、蒸煮爆砕処理を用いて、特殊な触媒や有機溶剤を用いることなく、水のみで重合物であるタンニンの化学変換を行い、二酸化窒素除去能を向上させることができた。本成果は、樹皮の高付加価値利用への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the antioxidative activity of condensed tannins from barks in vapor phase. We evaluated the antioxidative activity in vapor phase by nitrogen dioxide (NO₂) removal activity, an air pollutant with strong oxidative properties. The relationship between structural changes in tannins by steam-explosion treatment and NO₂ removal activity was investigated. As a result, the NO₂ removal activity of tannin polymers increased by steam-explosion treatment regardless of their unit structures. It was found that steam-explosion treatment is the effective method to improve the NO₂ removal activity of tannins.

研究分野：木質科学

キーワード：タンニン 二酸化窒素 樹皮 抗酸化能

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

樹皮には、多種多様の抽出成分が含まれ、それらは多くの抗酸化能等の特徴的な有用機能を持つことが知られている。国内外の造林木では、樹皮に縮合型タンニンの含有率が高い樹種が多く、樹皮の諸特性にはタンニンの存在も影響すると考えられた。縮合型タンニンは、赤ワインの有効成分と同じポリフェノール成分の重合体であり、高い抗酸化能を持つことが分かっている。天然物の抗酸化能研究は、人の体内での活性酸素やフリーラジカル消去に高い活性があることから、主に溶液中での活性試験により行われており、タンニンも溶液中で高い抗酸化能が認められている。一方、気相での抗酸化能は、精油等の揮発性成分に関しては報告があるが、タンニンについては、ほとんど明らかにされていない。

代表者は、これまでに強い酸化作用を持つ二酸化窒素ガスを用いて、タンニンが気相抗酸化能を持つこと及び溶液中とは異なる抗酸化特性であることを明らかにした。溶液中では、タンニンの代表的な構成単位の一つである単量体のカテキンと重合体であるタンニンの抗酸化能に大きな差はなく、また、構成単位の異なるタンニンポリマー同士の比較では、部分化学構造の影響は認められないことが分かっている。しかし、気相では、高分子であるタンニンの抗酸化能が強く、また、部分化学構造による影響も明確で、溶液中とは異なるメカニズムで抗酸化能が発現していることが推定された。

2. 研究の目的

本研究では、樹皮タンニンの気相に対する新たな有用機能を明らかにすることを目的に、強い酸化作用を持つ二酸化窒素を用いてタンニンの気相抗酸化メカニズムの解明を行う。タンニンは蒸煮処理により化学構造変化が起きることから、二酸化窒素除去能との関係を検討し、構造-活性相関を明らかにする。

3. 研究の方法

樹皮 70%アセトン抽出物の調製: 無処理及び蒸煮爆砕処理の樹皮を 70%アセトンで抽出し、抽出液の溶媒を留去後、凍結乾燥し、70%アセトン抽出物 (CE) を得た。

熱水抽出物の調製: 無処理の樹皮を 100 の熱水で 3 時間抽出後、凍結乾燥し、熱水抽出物を得た。

蒸煮爆砕処理: スギ及びエゾノキヌヤナギ樹皮粉 200g を用い、処理温度 180、200、処理時間 10 分の条件で蒸煮爆砕処理を行った。処理後の樹皮は、ろ過後、凍結乾燥した。

タンニンの精製: 70%アセトン抽出物及び熱水抽出物を水に溶解させ、*n*-ヘキサン及び酢酸エチルで逐次抽出した。酢酸エチル抽出物を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーに供し、エタノールで溶出後、50%アセトンで溶出しタンニンオリゴマーを得た。水層は、Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーに供し、50%メタノールで溶出後、50%アセトンで溶出し、タンニンポリマーを得た (図 1、2)。タンニンオリゴマー及びポリマーは ¹³C-NMR、熱分解 GC/MS、GPC により化学的性状を分析した。

二酸化窒素反応物の調製: タンニンをシャーレに入れ、100ppm の二酸化窒素 10L に 16 時間暴露した。反応物は ¹³C-NMR、熱分解 GC/MS、HPLC により分析した。

二酸化窒素除去試験: タンニンをメタノールに溶解し、ガラス管内のキムワイプに一定量を含浸させた後、室温で溶媒を留去させた。その後、10ppm の二酸化窒素を試料入りガラス管に通過させ、通過後の二酸化窒素濃度を検知管 (ガステック、No. 9L) により測定し、二酸化窒素除去能を算出した。

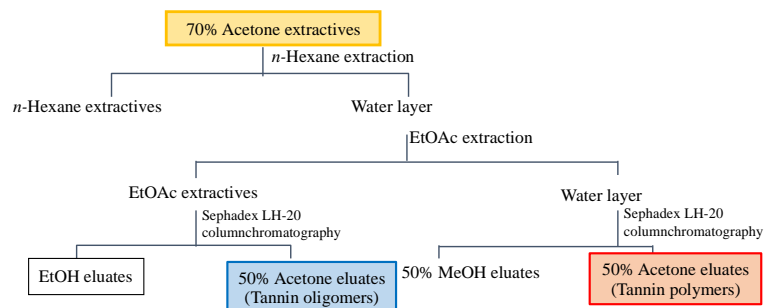


図 1 タンニンの精製

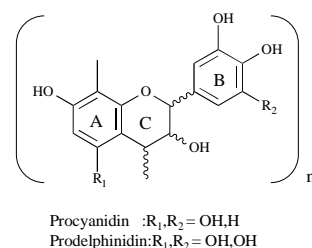


図 2 タンニンの化学構造

4. 研究成果

国産及び外国産樹木のスギ、ヤナギ、アカシア樹皮から抽出・精製した樹皮タンニン及び低分子フラバノール化合物と二酸化窒素との反応物を NMR、熱分解 GC/MS、HPLC により分析した結果、タ

ンニンと二酸化窒素の反応物由来のピークは検出されなかった。本実験条件では、B 環芳香核のフェノール性水酸基による抗酸化能によるところが大きいと考えられた。

スギ及びヤナギ樹皮を 180、200 の処理温度で蒸煮爆砕した結果、処理樹皮から抽出・精製したタンニンの二酸化窒素除去能は増加した（図 3、4）。タンニンの構成単位が procyanidin 型のスギタンニンでは、蒸煮爆砕処理により、タンニンオリゴマー及びポリマー共に二酸化窒素除去能は高くなった。一方、procyanidin 及び prodelphinidin 型のヤナギタンニンでは、ポリマーの二酸化窒素除去能は高くなったが、オリゴマーではほとんど変化はなかった。重合度は、両樹種でオリゴマー・ポリマー共に蒸煮爆砕処理により分子量は増加した。処理温度は、ポリマーでは 180 以上が適しており、スギオリゴマーでは 200 が適していた。粗抽出物及び低分子量ポリフェノール画分では、蒸煮爆砕処理による効果はほとんどなく、タンニン以外の二酸化窒素除去能を持つ化合物を含有する可能性は低いことが考えられた。

ポリマーの結果から、分子量が大きいことが除去能に有利であると考えられた。また、本分画法では、オリゴマーは、主に 3-4 量体のタンニン構成であったことから、オリゴマーの除去能の違いは、分子量の影響より化学構造変化によるものと推定された。タンニンは、蒸煮処理によりピラン環やフラボノイド間結合の開裂と再結合等が起こり、重合度と立体構造が変化することから、重合度と共にタンニンの立体構造を含む構成単位の化学的性状も除去能の増減に関わる一因の可能性が考えられた。

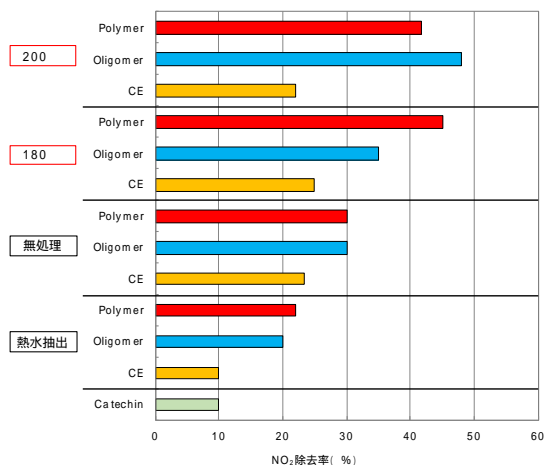


図 3 蒸煮爆砕処理スギ樹皮 70%アセトン抽出物及びタンニンの二酸化窒素除去能

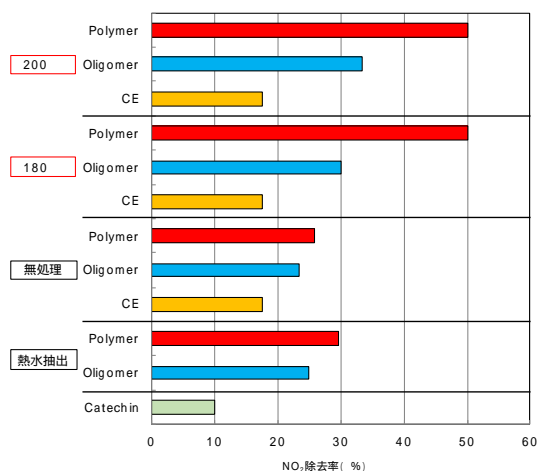


図 4 蒸煮爆砕処理ヤナギ樹皮 70%アセトン抽出物及びタンニンの二酸化窒素除去能

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 牧野礼、橋田光、松井直之、大平辰朗 |
| 2. 発表標題 蒸煮爆砕処理したヤナギ樹皮タンニンの二酸化窒素除去能 |
| 3. 学会等名 第70回日本木材学会大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 牧野礼、橋田光、松井直之、大平辰朗 |
| 2. 発表標題 蒸煮爆砕処理したスギ樹皮タンニンの二酸化窒素除去能 |
| 3. 学会等名 第69回日本木材学会 |
| 4. 発表年 2019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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|