

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06172

研究課題名（和文）冬も凍らずしなやかなアカマツ針葉の細胞壁多糖成分を用いた新規素材開発

研究課題名（英文）Development of new materials using cell wall polysaccharide components of *Pinus densiflora* leaves that do not freeze even in winter

研究代表者

下川 知子（Shimokawa, Tomoko）

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：60353728

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：アカマツ針葉が冬季でもしなやかさを保つ性質に対するヘミセルロース成分の関与について知見を得るとともに、将来的なアカマツ針葉ヘミセルロース（AHC）の、とくに食分野での利用に向けた複合化物の物性変化を明らかにすることを試みた。AHCを添加することで凍結阻害が観察され、ゲルの硬さに温度変化が認められた。AHCを寒天やこし餡に加えることでより柔らかな物性に変わることが示された。アカマツ針葉の構成糖成分には季節変動が認められ、AHCが針葉のしなやかさや耐凍性に何らかの関与をなし、季節によってその性質を変えている可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

木質資源由来の多糖類であるヘミセルロースは、セルロースに比べて利用に対する取り組みが遅れている。これは、ヘミセルロースの構造の複雑さや入手の困難さ、知見の少なさが一因と考えられる。身近な森林資源であるアカマツ針葉には食経験があることから、アカマツ針葉より得られるヘミセルロース資源の付加価値利用は、将来的な食品分野を含む広範な展開が期待できる。また、アカマツへの関心を高めることは、生活環境の変化により荒れているアカマツ林への注目を促し、アカマツ林の環境整備促進への一助となり得る。さらに、その他樹木の葉の有効利用への展開が期待できる。

研究成果の概要（英文）：*Pinus densiflora* leaves have long been used in wild herbal teas. Therefore, the properties of its hemicellulose (AHC) were investigated for future use as food materials. Freezing inhibition was observed in the AHC suspensions, and changes in gel hardness due to temperature were observed. As a result of characterization of physical properties of the composite mixed with agar and red bean paste, the addition of AHC decreased the breaking strength of the agar gel and made the gel softer. By adding AHC to bean paste, the stress to give 50% of distortion rates decreased compared from that of the paste without AHC. The analysis of the constituent sugar ratio of AHC showed that the percentage of acidic sugars tended to increase in the winter samples than in the summer samples in all the AHCs prepared from three sites. These results suggest that AHC could contribute to the flexibility and frost resistance of *P. densiflora* leaves, and may change their properties depending on the seasons.

研究分野：木質科学関連

キーワード：アカマツ 針葉 ヘミセルロース

1. 研究開始当初の背景

木質資源由来の多糖類であるヘミセルロースは、セルロースに比べて利用に対する取り組みが遅れている。これは、ヘミセルロースの構造の複雑さや入手の困難さ、知見の少なさが一因と考えられる。身近な森林資源であるアカマツ針葉には食経験があることから、アカマツ針葉より得られるヘミセルロース資源は、将来的な食品分野を含む広範な産業において高付加価値利用を期待できる。また、アカマツへの関心を高めることは生活環境の変化により荒れているアカマツ林への注目を促し、アカマツ林の環境整備促進への一助となり得る。さらに、アカマツ針葉で得られた研究成果はその他の樹木の葉の有効利用への展開が期待できる。

2. 研究の目的

本研究課題は、アカマツ針葉ヘミセルロース (AHC) の特性を、とくに低温影響に着目して検討を行い、応用展開を図ることを目的とした。先行研究により、アカマツ針葉由来のヘミセルロースから自立したフィルムを得られることが明らかとなっており、可食性フィルムへの展開が期待された (①)。AHC はキシラン成分のほかにもマンナン成分を含むほか、酸性糖の含有率が高く、AHC の造膜性にこれら構成糖成分の特性が関与しているのではないかと考えられた。多くの増粘性多糖類は酸性糖やイオン性の置換基を有していることから、AHC の高い増粘性、ゲル化能が予想された。また、アカマツは厳冬期においてもその針葉のしなやかさを失わず、低温環境への耐候性を有しており、その性質の一端に針葉の特徴的なヘミセルロースが関与しているのではないかと考えた。未利用木質資源由来のヘミセルロースのうち、アカマツ針葉には野草茶などとしての食経験があることから、AHC は食利用へ展開する可能性を有し、食品の品質保持や物性改良などへの応用が期待できる。そのため、基礎的な毒性試験を実施して安全性を確認するとともに、寒天などの素材との複合ゲルの物性評価を試みた。さらに、天然素材である AHC の構成糖組成が季節や場所によってどの程度変化するかを分析することによって、AHC の原料であるアカマツ針葉の特徴を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

アカマツ針葉は、市販の野草茶用乾燥粉末を使用したほか、針葉ヘミセルロースを構成する糖成分の季節変化を調べるために、国内 3 か所 (盛岡市、つくば市、京都市) に植栽されているアカマツ針葉を採取した。採取時期は夏季 (8 月) および冬季 (1 月) であり、はかま部分を取り除いてから室温もしくは 40°C による乾燥処理を行った。乾燥後、ミルサー (岩谷産業株式会社) および粉砕機 (フリッチュ P-14 1mm 篩、フリッチュ・ジャパン株式会社) で粉砕した。

針葉粉末からのヘミセルロースは、既報 (①) のとおりに調製した。まず、乾燥粉末を熱水で処理し、得られた残渣から亜塩素酸ナトリウムと酢酸を使用した脱リグニン処理によってホロセルロースを得た。次に、ホロセルロースを 10% 水酸化ナトリウムで浸漬し、遠心処理によって不溶物と分離した。得られたアルカリ上清を中和後、80% エタノール懸濁液として多糖成分を沈殿させた。遠心処理によって得られた沈殿は、少量のイオン交換水に再懸濁し、凍結乾燥で水分を除去して AHC 粗画分とした。

AHC の水懸濁液の凍結試験は、1.5 mL 容量のポリプロピレン製マイクロテストチューブへ、2% の懸濁液 1 mL を添加して実施した。同じ濃度に調製したグルコース (Glc)、スクロース (Suc)、純水 (MilliQ 水) とともに、ステンレス試験管立てに並べたテストチューブを、-7°C に調温した気相式小型フリーザー内に 6 時間静置し、凍結の有無を確認した。各サンプル群に対して一度に 5 個を試験し、3 回の繰り返しからなる 15 回の結果から凍結率を算出した。

寒天及び加糖小豆こし餡は市販品を購入し、複合化物の物性変化は、温度コントローラーを装備したクリープメーター (RHEONER II、株式会社山電) により測定した。寒天との複合化では 1.5% (w/w) の粉末寒天溶液に、0.5% (w/w) の AHC を添加した。複合化した寒天液は、熱処理による溶解後、冷却固化させた。餡へは市販品 (固形含量 34%) に対して 0.5% (w/w) の AHC を添加し、均一となるように攪拌を行った。いずれの場合も直径 4 cm、高さ 15 mm のステンレス製シャーレを用いて、シャーレの縁からこぼれないだけの寒天液と、摺り切り量の餡を加えて実験に供した。一部はゲル化後に凍結させ、その後室温に戻し、再度 10°C に冷却してから寒天ゲル及びこし餡の物性を測定した。物性の測定には、接触面直径 5 mm のプランジャーを使用した。

AHC に含まれる構成糖は、5% 塩酸メタノール溶液で加水分解後にトリメチルシリルメチルエステル化処理を行い、DB-1 カラムを装備したガスクロマトグラフィーによって分析した。

AHC の安全性確認のため、「労働安全衛生法第 57 条の 4 第 1 項の規定に基づき厚生労働大臣の定める基準」を参考とした微生物を用いる復帰突然変異試験 (Ames 試験) をボゾリサーチセンターで実施した。

4. 研究成果

(1) AHC の低温に対する性質

野草茶として利用されているアカマツ針葉の乾燥粉末から得られたヘミセルロース成分は、既報の研究により、特にその水溶性画分にキシランや酸性糖の含まれることが明らかとなっている。カバノキから調製されたキシラン製剤から、同様に調製した水溶性キシランと同じ濃度（10%（w/v））のゲルを作製したところ、凍結後に再度常温まで温度を戻したゲルの保形性に差が生じた。すなわち、AHC から調製したゲルの方が凍結融解後もその形状を維持する傾向が認められた。このことから、AHC の凍結耐性への関与が示唆された。2%（w/v）の AHC 水懸濁液を作製して凍結試験を実施した結果を図 1 に示す。試験を行った条件において、純水とスクロース溶液は全てが凍結したが、AHC 水懸濁液の凍結率は 67%であり、AHC を添加することで凍結し難くなる性質が示された。

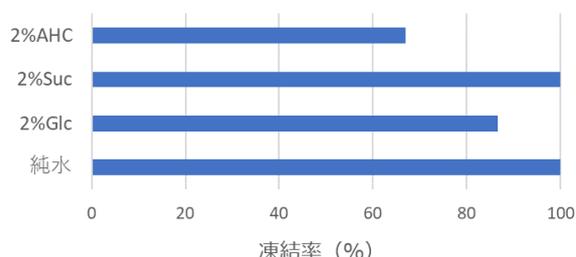


図 1. 2%での凍結試験（-7°C 6h、n=15）

く、凍結による構造変化の影響は低いと考えられた。次に、ゲルのかたさを調べるため 5%の試料を調製し、消費者庁「えん下困難者用食品の規格」に沿ったテクスチャー測定により、かたさ応力を測定した。AHC 粗画分は、10°C の冷却でカバノキ水溶性キシランやアラビアガムよりもゲルの硬さ上昇が示された。食品素材への添加による物性変化の可能性が示されたことから、AHC の基本的な安全性試験（Ames 試験）を実施した。試験を実施した 5000 µg/プレートまでの範囲で代謝活性化の有無にかかわらず、試験で使用した 5 菌株のいずれにおいても生育阻害、陰性対照値の 2 倍以上となる復帰変異コロニー数の増加、用量依存性は認められなかったことから、試験条件下における AHC の微生物に対する遺伝子突然変異誘発能は陰性と判定した。

(2) AHC 複合物の性質

AHC 添加による素材の物性変化を、寒天と小豆加糖こし餡を用いて検討した。AHC を加えることで寒天の破断強度は減少し、より柔らかく破断するゲルとなることが示された。凍結により寒天ゲルの強度は低下したが、今回の実験条件では AHC 添加による凍結後の破断強度の明確な変化は確認されなかった。こし餡に対しては、AHC を混合することで 50%の歪率を与える応力が未添加時の 59%となり、より柔らかく、造形性に優れた餡になることが示された（図 2）。



図 2. AHC を添加したこし餡（左）

(3) アカマツ針葉ヘミセルロース構成糖成分の季節変動特性

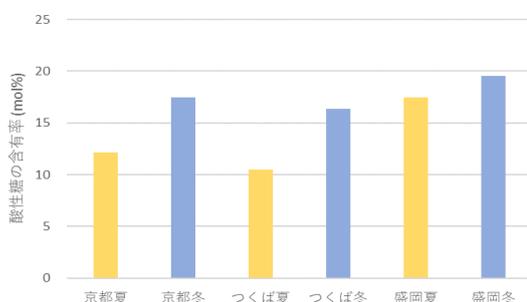


図 3. AHC に含まれる酸性糖含有率の季節変化

夏季（8月）および冬季（1月）に、京都市、つくば市、盛岡市から採取したアカマツ針葉から調製した AHC の構成糖分析では、AHC に含まれる酸性糖（グルクロン酸、ガラクトロン酸、4-O-メチルグルクロン酸）の構成比が、3 地点ともに夏よりも冬に増加している傾向を認めた（図 3）。このことから、ヘミセルロースの構成糖比率に季節変動の有ることが示され、AHC は針葉のしなやかさや耐凍性に何らかの関与をなし、季節によってその性質を変えている可能性が示唆された。

以上の結果から、AHC は Ames 試験による安全性に問題はなく、寒天や餡などの食品素材と複合化することで、その物性を変化させる可能性が示された。しかし、その特性を十分に引き出す混合条件については、さらなる検討が必要であった。アカマツ針葉に含まれる糖成分の季節変動特性の解析からは、ヘミセルロース成分が季節によって変化し、針葉の耐凍性に何らかの影響を与える可能性が示唆された。AHC の特徴の一つが酸性糖の存在と考えられ、冬季の針葉にお

いてより多くの酸性糖が含まれたことから、アカマツ針葉の特徴を活かすには、冬季に採取された針葉の利用がより望ましいと思われた。AHCは汎用の増粘多糖類より単価が高くなると想定されるため、アカマツ由来である特徴を活かした使用方法など、さらに特徴を明確にして差別化を進めることが重要と思われる。

<引用文献>

①T. Shimokwa et al., J Wood Sci (2015) 61:53-59

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 下川知子
2. 発表標題 アカマツ針葉ヘミセルロース構成糖成分の季節変動特性と複合化物の物性変化
3. 学会等名 日本木材学会
4. 発表年 2023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
---------	---------