

木質系資源の抽出成分利用化に関する研究(第1報)

— ヤクスギ土埋木抽出成分の定量とヘキサン抽出物の殺ダニ、抗菌活性 —

木材工業部 森出慎一

Utilization of the Extractives from Wooden Resources(I)

— Extractives from the bogwood of Yakusugi(a variety of *Cryptomeria japonica*) and the antimite activities and the antifungal activities of the hexane extractives —

Shin'ichi MORITA

ヤクスギ土埋木の抽出成分を定量し、ヘキサン抽出物の殺ダニ性と抗菌性を調べた。土埋木は造林木と比較して約2倍のヘキサン抽出物を含んでいた。ヘキサン抽出物を減圧蒸留して揮発性の高いものを除去した残渣部分(R)に、殺ダニ、抗菌両方の効果が認められた。Rをシリカゲルカラムで分画したフラクションを用いた試験結果から、生理活性を示す物質は複数あると考えられた。また殺ダニ活性を示すフラクションと、抗菌活性を示すフラクションとは、必ずしも一致しなかった。さらにRに含まれる成分として、sandaracopimaradien-18al, sandaracopimaradienol ならびに cryptomeridiol が同定された。

1. はじめに

県内の木質系未利用資源について、特にそれらに含まれる抽出成分の利用化を目的として研究を行っている。

今回はヤクスギ土埋木を取り上げ、ノコ屑からの抽出成分の利用化をはかるための基礎データとして、そのヘキサンおよびメタノール抽出物量を測定し、ヤクスギ人工造林木と比較・検討した。ヤクスギ材からの抽出成分についての報告は少ない¹⁾が、一般のスギと比較して抽出成分が多いとされている。²⁾

また土埋木は相当長期間にわたって腐朽や昆虫類の食害に耐えたものであり、特殊な生理活性を持つ抽出成分を含んでいる可能性がある。そこでヤクスギ土埋木のヘキサン抽出物について、ヤケヒョウダニおよび3種の不完全菌類に対する生理

活性を調べた。スギ材に含まれる成分の生理活性については、フェルギノールによるシイタケ菌の生育阻害が知られている³⁾。しかし心材から得られた成分の生理活性については、ほとんど報告例がない。

さらに生理活性物質を明らかにするための前段階として、ヘキサン抽出物の分画と分画物中の成分の検索を試みた。

なお本報告の一部は、第40回日本木材学会(1990年4月、つくば)において発表し、現在同学会誌に投稿中⁴⁾である。

2. 実験方法

2.1 ヤクスギ土埋木の抽出成分の定量

ヤクスギ(*Cryptomeria japonica* D. Don)土埋木のノコ屑は、株式会社コピオンから提供を受けたものである。造林木は、上屋久町の町有林から

1987年に伐採された、27~30年生のもの4本を用い、胸高付近の円盤から心材部分のみを取り、ウイレーミルで粉碎した。

これらはJIS標準ふるいで40~100メッシュにふるい分けた後、ソックスレーの抽出器を用いて、常法⁵⁾によりヘキサン、メタノールの順に逐次抽出し、それぞれの抽出物を定量した。

2.2 ヘキサン抽出物の調製

土埋木ノコクズをそのままソックスレー型大型脂肪抽出器でヘキサン抽出し、ロータリーエバポレータでヘキサンを除去した後、以下の実験に供した。

2.3 減圧蒸留によるヘキサン抽出物の分画

2.2で得られたヘキサン抽出物40.00gを減圧下(7mmHg)で加熱蒸留した。溜出温度85-110℃の範囲で溜分D1-D3を得た。回収量はそれぞれ0.98g, 0.91g, 6.19gであった。GC分析の結果、D1とD2はほぼ同じ組成と認められたので、D1, D3および蒸留残渣(以下Rと略す)を生理活性試験に供した。

2.4 蒸留残渣Rの分画

シリカゲル(Silica gel 60, 70-230mesh)200gを充填したカラム(4cmφ×カラムベッド高40cm)にRを5gのせ、ヘキサン、ヘキサン/ベンゼン混合溶媒、ベンゼン/エーテル混合溶媒、ベンゼン/酢酸エチル混合溶媒、酢酸エチルを用いて、順次溶出した。得られたフラクションの中から、比較的溶出量が多かったNo.1, 5, 11, 14, 16, 22, 25の7つを以下の生理活性試験に供した。各フラクションの溶出溶媒を表1に示す。

2.5 生理活性試験

2.5.1 殺ダニ性試験

供試したダニは、森林総合研究所生物活性物質研究室で飼育しているヤケヒョウダニ(*Dermatophagoides pteronyssinus*)である。直径13mmに切ったろ紙円盤の中央に、分画した抽出物を一定量添加し、直径10mmの穴の開いたスライドグラス

表1 生理活性試験供試フラクション

フラクションNo.	溶出溶媒
1	ヘキサン
5	ヘキサン：ベンゼン=7：3
11	ヘキサン：ベンゼン=5：5
14	ヘキサン：ベンゼン=3：7
16	ヘキサン：ベンゼン=1：9
22	ベンゼン：酢酸エチル=9：1
25	ベンゼン：酢酸エチル=7：3

様のアクリル板ではさんで風乾した。これにヤケヒョウダニを、成虫が10匹以上含まれるように添加し、スライドグラスをかぶせてクリップで固定した。これをKCI飽和デシケータ中25℃で培養し、動いているダニ成虫の割合の経時変化を観察した。

2.5.2 抗菌性試験

供試菌は、森林総合研究所で保存されている、*Penicillium italicum*, *Fusarium sporotorichoides*, *Aspergillus niger*の3種類の不完全菌類である。市販のPDA粉末(DIFCO製)からメーカー指定のとおり調製した培地に、所定の割合でヘキサン抽出物の分画フラクションを加え、55℃でじゅうぶん振り混ぜて抽出物を分散させた。内径53mmのシャーレに形成させた平面培地中央に菌を1白金耳接種し、25℃で4日間培養した。抽出物無添加の場合の菌の生長直径と比較して、抗菌性を評価した。

2.6 含有成分の分析

各分画フラクションについては、ガスクロマトグラフ(GC)により、その組成の違いを確認した。GCはHewlett Packard 5890 SERIES II, カラム：Carbowax20M,(0.2mmI.D.×25m), カラム温度：60-175℃(1分間保持後5℃/minで昇温), キャリヤガス：He(0.5ml/min)で分析した。またRに含まれる成分について、MSおよびNMRなどにより同定した。MSはJEOL D300, カラム：PEG-20M(0.2mmI.D.×25m), カラム温度：60-

175℃ (1分間保持後5℃/minで昇温), イオン化電圧70eVで分析した。NMRはJEOL GSX-400, 10%CDCl₃中でTMSを内部標準として加えて測定した。

3. 結果と考察

3.1 ヤクスギ材の抽出成分量

表2にヤクスギ土埋木と造林木の, 抽出成分の定量結果(試料の絶乾重量に対する重量%)を示した。造林木の数値は, 4本の心材の定量値の平均で示した。

表2 ヤクスギ材の抽出成分量 (単位: %)

	ヤクスギ土埋木	ヤクスギ造林木
n-ヘキサン抽出物	4.1	2.1
メタノール抽出物	5.6	4.2
合計	9.7	6.3

表2から, ヤクスギ土埋木には, 造林木と比較して多量の抽出成分が含まれていることがわかる。なかでもヘキサン抽出物の量が多いことは注目に値する。この理由としては, 生育年数がけた違いに大きいこと, 土埋木は数百年にわたり風雨や微生物などの攻撃にさらされてきたものであるので,

そのような攻撃に耐えられる抽出成分を多く含んだ部分が残ったこと, また地表に近い切株部分が多く, もともと抽出成分を多く含んでいる可能性があることなどが考えられる。造林木の抽出物量⁶⁾と比較すると多いことから, ヤクスギは品種としても抽出物を多く含むことが特徴といえる。

3.2 ヤクスギ土埋木のn-ヘキサン抽出成分

n-ヘキサン抽出物についてGCおよびGC-M S (ガスクロマトグラフ-質量分析計)による分析を行った。その結果n-ヘキサン抽出物の大部分は炭素数15のセスキテルペンであり, いくつかの炭素数20のジテルペンに属する物質群も含まれていることがわかった。その種類も, これまで報告されている一般のスギ材中のテルペン類と比べて多かった。

3.3 殺ダニ性試験

3.3.1 減圧蒸留画分の殺ダニ性

D1, D3およびRをろ紙あたりそれぞれ0.2および0.4mg添加したときのダニの生存率を観察した結果を図1に示す。

ヘキサンのみを添加したコントロールとの比較では, D1およびD3の生存率の推移は, コント

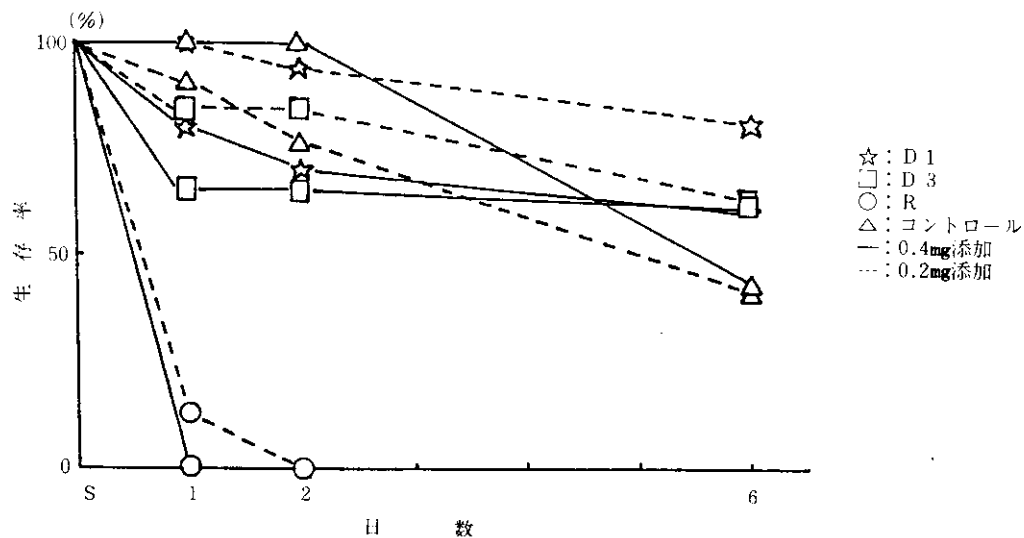


図1 ヤクスギ土埋木ヘキサン抽出物の殺ダニ活性

ロールとの差異が認められなかった。これに対してRを添加した場合には、1日経過した時点でダニの生存率は大きく低下し、Rに殺ダニ性を有する成分が含まれていることが示唆された。渡辺らの報告⁷⁾によると、通常のスギ精油は、あまり顕著な殺ダニ効果は示していないが、筆者らの研究⁸⁾では、ヤクスギ土埋木の精油には強い殺ダニ活性が認められた。今回得られたD1、D3とヤクスギ土埋木からの精油との成分組成を、GCのピークパターンで比較すると、減圧蒸留の条件が比較的温和であったために、D1、D3には精油成分

の中でも比較的沸点の低い成分のみが捕捉されていることがわかった。このことがD1、D3に殺ダニ効果が認められなかったことと関連しているものと考えられる。

3.3.2 Rの分画フラクションの殺ダニ性

Rに含まれる殺ダニ性成分を調べるために、シリカゲルカラムによってRを分画した各フラクションを、ろ紙に0.15および0.015mg/cm²の割合で添加した。このときの殺ダニ試験の結果について、図2、図3に示す。

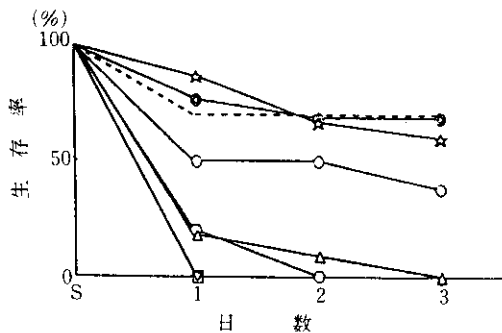


図2 Rからの分画物の殺ダニ活性 (0.15mg/cm²添加)
(○:No.1, ◎:No.5, ▽:No.11, ○:No.14, △:No.16, □:No.22, ☆:No.25, ……:コントロール)

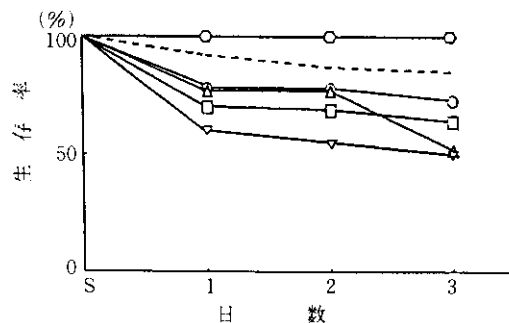


図3 Rからの分画物の殺ダニ活性 (0.015mg/cm²添加)
(符号は図2と同じ)

0.15mg/cm²添加した場合に強い殺ダニ活性を示したのは、No.11, 14, 16, 22であったが、添加量が0.015mg/cm²になると、No.14の活性はみられなくなった。GCのピークパターンを比較すると、各フラクションに含まれる成分はお互いに異なっていた。これらの結果から殺ダニ性を持つ成分は単一ではなく、ヘキサン抽出物の中では中程度の極性を持つものに多く含まれていると考えら

れる。

3.4 抗菌性試験

3.4.1 減圧蒸留画分の抗菌性

D1、D3およびRを培地1mlに対して0.1ないし1μlの割合で添加した場合の、各菌の生育のコントロールに対する割合を表3に示す。

表3の結果から、0.1μl添加においては、Rを添加したものは各菌の生育を65~75%程度に障害

表3 カビの生育阻害試験結果 (対照の生長直径に対する抽出物添加時の生長直径の割合 単位: %)

菌種	0.1μl 添加				1μl 添加			
	D1	D3	R	C	D1	D3	R	C
<i>Penicillium italicum</i>	88	95	65	100	65	70	48	100
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	94	87	66	100	81	58	34	100
<i>Aspergillus niger</i>	105	115	75	100	90	95	70	100

したが、D1, D3を添加したものは阻害効果はあまりみられなかった。1 μ l添加の場合には、Rによる生育阻害はさらに大きくなり、コントロールに対する生長率は34~70%に下がった。特に*Fusarium*に対する阻害効果が大きかった。またD1を添加した場合には*Penicillium*に、D3添加の場合にも*Penicillium*と*Fusarium*に対しては、生育阻害がみられた。

3.4.2 Rからの分画フラクションの抗菌性
3.4.1に示した結果から、Rに最も強い抗菌活性が認められたので、Rをシリカゲルカラムで分画したフラクションについて、同様に抗菌活性を調べた。分画物の中には常温で液状でないフラクションもあったので、培地に添加する場合には10%のアセトン溶液とし、培地1mlに各フラクションを1mgの割合で添加した。コントロールにはアセトンを加えた。培養結果を図4に示す。

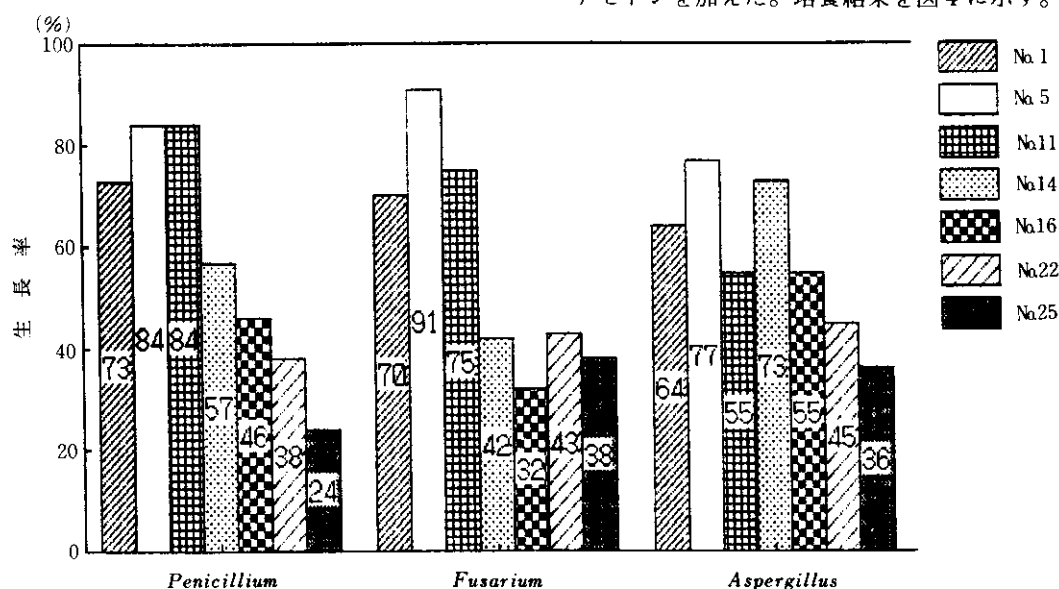


図4 Rからの分画フラクションの抗菌活性

図4から、菌の種類によって各フラクションの生育阻害効果は異なっており、*Penicillium*および*Fusarium*ではフラクション間の活性の差が大きいが、*Aspergillus*ではそれほど差はないことがわかった。このことは菌によって生理活性物質に対する反応が異なることを示すものと考えられる。またいずれの菌についても、ダニに対する活性とは異なり、ほぼ溶出溶媒の極性が大きくなるほど阻害効果も大きくなる傾向がみられた。

3.5 Rの含有成分の分析

以上の結果から、Rに殺ダニ性および抗菌性を持つ物質が相当数含まれていること、またそれらの物質はダニとカビとではその効果が異なること

が示唆されたので、Rに含まれる成分の検索を試みた。シリカゲルカラムにより分離したフラクションの中から、溶出溶媒ヘキサン：ベンゼン=7：3、同3：7、ベンゼン：酢酸エチル=5：5の画分について、分取TLCによる精製を行い、それぞれのフラクションから物質(I)、(II)、(III)を得た。各物質のMS、NMR等のスペクトルを測定し、標品文献値などとの比較により、(I)はsandaracopimaradien-18al (Isopimara-8(14), 15-dien-18al)⁹⁾、(II)はsandaracopimaradienol (Isopimara-8(14), 15dien-19ol)¹⁰⁾、(III)はcryptomeridiol¹¹⁾と、それぞれ同定した。

これらの物質はいずれもスギ材に含まれている

ことが知られている¹²⁾。各物質個々の生理活性能については今回は追求しなかった。今後の検討課題としたい。

4. おわりに

ヤクスギ材抽出成分の利用化をはかる目的で、人工造林木と土埋木に含まれている抽出成分の量を調べた。また土埋木ヘキサソ抽出物の、殺ダニ性並びに抗菌性を調べた。これらにより以下のような結果を得た。

1. ヤクスギ土埋木にはヤクスギ人工造林木と比較して多量の抽出成分が含まれていた。特にヘキサソ抽出物量は人工造林木の約2倍にあたる4.1%であった。
2. 土埋木ヘキサソ抽出物を減圧蒸留して揮発性の高いものを除去した残渣部分(R)に、殺ダニ、抗菌両方の効果が認められた。
3. Rをシリカゲルカラムで分画したフラクションを用いた試験結果から、生理活性を示す物質は多数あると考えられた。殺ダニ活性を示すフラクションと、抗菌活性を示すフラクションとは、必ずしも一致しなかった。
4. Rに含まれる成分の一部として、sandaracopimaradien-18al, sandaracopimaradienol ならびにcryptomeridiolが同定された。これらの物質と生理活性との関連については、今後の検討課題である。

なお本研究のうち生理活性に関する実験は、農林水産省森林総合研究所生物機能開発部生物活性物質研究室において、谷田貝光克室長の指導で行った。またMSおよびNMRスペクトルの測定は

同研究室の大平辰朗研究員のお世話になった。深く感謝したい。

参 考 文 献

- 1) 住本昌之ほか3名：木材学会誌, 10, 2, 81~83(1964)
- 2) 甲斐勇二, 大平辰朗：静岡大学農学部演習林報告, 10, 85~91(1986)
- 3) 中島健, 善本知孝, 福住俊郎：木材学会誌, 26, 10, 698~702(1980)
- 4) 森田慎一, 谷田貝光克, 大平辰朗：木材学会誌, “ヤクスギ土埋木ヘキサソ抽出物の殺ダニ, 抗菌活性” 投稿中
- 5) 日本木材学会編：木材科学実験書II 化学編, 中外産業調査会(1985) p.153~154
- 6) 例えば, 農林省林業試験場：木材工業ハンドブック, 丸善(1982) p.195など
- 7) 渡辺富士雄ほか4名：生薬学雑誌, 43, 2, 163~168(1989)
- 8) 谷田貝光克, 宮崎良文, 森田慎一：木材学会誌, “ヤクスギ土埋木成分およびその殺ダニ・植物生長制御活性” 投稿中
- 9) Grant, P.K., Huntrakul, C., Robertson, J. M. : Aust.J.Chem., 22, 1265~1270(1969)
- 10) Quon, H.H., Swan, E.P. : Can.J.Chem., 47, 4389(1969)
- 11) Sumimoto, M., Ito, H., Hirai, H., Wada, K. : Chemistry and Industry, 780(1963)
- 12) 中野準三, 樋口隆昌, 住本昌之, 石津敦：木材化学, ユニ出版(1983)p.264~275