

【要約】 屋久島に自生する杉（地杉）のカスケード的利用法の探索

Original Articles:

Multiple uses of Essential Oil and By-Products from Various Parts of the Yakushima Native Cedar (*Cryptomeria Japonica*)

Journal of Wood Chemistry and Technology

Toshinori Nakagawa, Qinchang Zhu, Hiroya Ishikawa, Koichiro Ohnuki, Kenichi Kakino, Naoya Horiuchi, Hiroaki Shinotsuka, Terumi Naito, Tsuyoshi Matsumoto, Noriko Minamisawa, Mitsuyoshi Yatagai & Kuniyoshi Shimizu

Abstract:

This article presents multiple potential uses of the Yakushima native cedar (*Cryptomeria japonica*), known in Japan as the Yaku-sugi tree. The Yaku-sugi was divided into four parts: leaves, branches with leaves, branches, and stems. We obtained the essential oil, hydrosol, distillation residue, and distillation wastewater from the trees. Essential oil and hydrosol were determined to be volatile organic compounds. All samples were screened for the following bioactivities: antioxidative, antibacterial, and anti-melanogenesis activities. Freeze-dried distillation residue was tested to assess whether it had a deodorizing effect. The main component of the leaf essential oil was found to be monoterpenes. In contrast, the stem essential oil mainly contained sesquiterpenes. In terms of bioactivities, the leaf essential oil showed antibacterial activity and the stem essential oil showed anti-melanogenesis activity. Distillation residue and wastewater showed many activities, including antioxidant, antibacterial, and anti-melanogenesis activities. Moreover, the residue had a deodorizing effect against ammonia.

§ § §

- 1) 地杉精油およびハイドロゾルの香気成分分析
- 2) 地杉精油、ハイドロゾル、蒸留残渣と蒸留廃液の生理活性

屋久島地杉の各部位から得られた精油、ハイドロゾル（アロマウォーター）の香気成分を分析した上で、精油、ハイドロゾル、および、それらを抽出した後の残渣（プレスチップ）と廃液（ディープウォーター）について、各種の機能性を試験した。

はじめに

屋久島は地理的・気候的要因から豊かな自然を有しており、世界自然遺産に登録されている。屋久島に自生する樹齢1000年以上のスギは屋久杉と呼ばれ、樹齢100年以内の若いスギは、地杉と定義される。屋久島の土壌は、栄養の少ない花崗岩が主体であるため、地杉は木目が詰まっており、樹脂分が多く腐りにくい特徴を持っているとされる。

地杉を木材として利用する際、葉や枝などの林地残材が、また、製材所でも辺材が排出され、それらの利用率は低い。林地残材等の利用法の一つとして、精油の応用が考えられる。精油（油相）の調製にともないハイドロゾル（水相）、蒸留残渣、蒸留廃液が得られる。通常は廃棄される副産物中

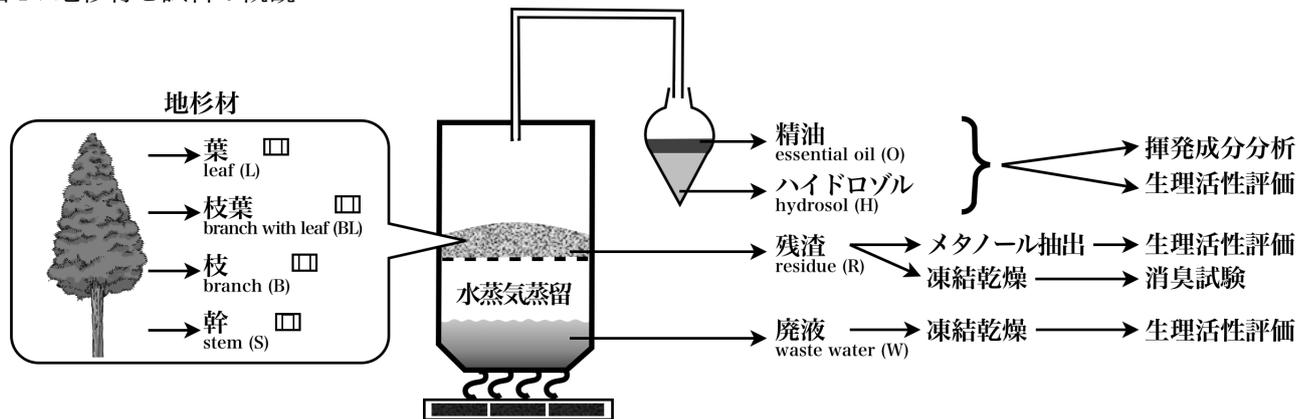
にも、多くの活性成分が残存し、有用な機能性を保持している可能性がある。地杉の精油およびその副産物を高付加価値的に利用することで、地域産業の活性化に寄与できると考えた。

材料および方法

1 材料

屋久島町麦生の地杉を4部位（葉、枝葉、枝、幹）に分割し、それぞれ6 kgを6 Lの水で2時間水蒸気蒸留した。得られた精油、ハイドロゾル、は揮発成分および生理活性試験に、蒸留残渣は凍結乾燥物を消臭試験、メタノール抽出物を生理活性試験に、蒸留廃液は凍結乾燥物を生理活性試験に用いた。

図1. 地杉材と試料の概観



2 揮発成分分析

精油はジエチルエーテルに溶解し、GC-MSに導入した。カラムはAgilent社製DB-5ms (30m-0.25mm-0.25 μ m)を用いた。分析条件は、60 $^{\circ}$ Cで5分間保持後、3 $^{\circ}$ C/minで300 $^{\circ}$ Cまで昇温、20分間保持とした。ハイドロゾルは、SPME (100 μ mPDMS)を用いて70 $^{\circ}$ Cで20分間捕集し、GC-MSに導入した。分析条件は、40 $^{\circ}$ Cから5 $^{\circ}$ C/minで300 $^{\circ}$ Cまで昇温、10分間保持とした。得られたデータは、マススペクトルデータベース (Wiley9th+NIST08 Mass Spectral Library) により解析し、Aroma officeソフト (Ver. 3.0, 西川計測株式会社製)により、各成分のRI値を算出して同定した。

3 生理活性評価

抗酸化活性は、ORAC法、DPPHラジカル消去活性、ABTSラジカル消去活性、SOD様活性について検討した。

メラニン生成抑制活性は、マウスB16メラノーマ細胞を用いて検討し、同時にMTT法による細胞生存率も測定した。

抗菌活性は、大腸菌(Escherichia coli)と黄色ブドウ球菌(Staphylococcus aureus)を用い、ソルビン酸をポジティブコントロールとして検討した。

4 消臭効果

各部位の蒸留残渣を凍結乾燥して試験に用いた。5Lのテドラーバッグ内に各部位残渣約5gを入れ、清浄空気ですみ込んだ後、悪臭を注入し、注入後の悪臭濃度を検知管 (株式会社ガステック製) で測定した。

§ § §

【揮発性成分分析】

表1. 主要な揮発性成分

原料 部位	葉	枝葉	枝	幹
精油	収量：2.2mL/kg α -ピネン 13.06% β -ピネン 8.19% ツヨブセン 8.82% カウレン 9.18% リモネン 5.05%	収量：0.3mL/kg α -ピネン 23.20% サビネン 17.12% ツヨブセン 9.61% リモネン 6.17%	収量：1.2mL/kg δ -カジネン 11.70% ツヨブセン 8.24% α -ユーデスマール 6.90% エレモール 6.39% α -ピネン 6.20% β -セドレン 6.12%	収量：1.2mL/kg β -セドレン 12.64% δ -カジネン 12.34% ツヨブセン 9.60% エレモール 7.31% α -ユーデスマール 6.72%
ハイドロゾル	テルピネン-4オール 36.97% 3-ヘキセン-1-オール 18.09% エレモール 4.98%	テルピネン-4オール 31.86% 3-ヘキサン-1-オール 16.07% ヘキサノール 9.24% オクテン-3-オール 5.67%	テルピネン-4オール 20.84% エレモール 11.12% α -テルピネオール 10.03% α -ユーデスマール 9.02% γ -ユーデスマール 7.89% カンファー 6.64%	エレモール 33.16% α -ユーデスマール 20.90% γ -ユーデスマール 14.77%

精油に含有する香気成分は、葉部でモノテルペン類が多く、枝部は葉部に比べてセスキテルペン類が増え、幹ではセスキテルペン類、セスキテルペンアルコール類が多くを占め、モノテルペン類は非常に少ない。全ての部位に共通して、ツヨブセンが約10%含まれている。これまで報告があった他のスギ材精油の主要構成成分と比べると、地杉

の精油は香気成分の構成や含量が異なることがわかった。

一方、ハイドロゾルは全ての部位においてモノテルペン類、セスキテルペン類の含量がわずかで、モノテルペンアルコール類、セスキテルペンアルコール類がほとんど。精油とはまったく異なる成分構成を持つことがわかった。

【総フェノール量】

表2. フォリン-チオカルト法による測定値 (mgGAE/mg※means±SD, n=3)

原料 部位	葉	枝葉	枝	幹
精油	0.5±0.0	0.7±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1
ハイドロゾル	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
残渣	90.6±3.3	97.7±2.9	48.0±10.9	70.6±1.4
廃液	46.0±3.5	46.7±2.8	27.4±1.7	107.1±4.7

※1mgあたりの没食子酸当量 GAE: Gallic Acid Equivalents
※n.d.: not detected

総フェノール量は、精油およびハイドロゾルでは検出できなかったが、残渣や廃液には多く含まれていた。特に幹の廃液は試料中最高値を示した。水溶性フェノール化合物の溶出が推測される。続いて

枝葉の残渣、葉の残渣が多い。スギの葉にはフラバン類とリグナン類、樹皮にはプロシアニジンの含有が報告されているが、幹には他の部位と違ったタイプのフェノール類の含有が考えられる。

【生理活性評価】

表3. 抗酸化活性 (means±SD, n=3)

試料	部位	ORAC※1 (mg TE/mg)	DPPH※2 TEAC(μg/μg)	ABTS※2 TEAC(μg/μg)	SOSA※3 (U/μg)
精油	葉	0.017±0.002	n.d	n.d	n.d
	枝葉	0.014±0.001	n.d	n.d	n.d
	枝	0.017±0.000	n.d	n.d	n.d
	幹	0.012±0.001	n.d	n.d	n.d
ハイドロゾル	葉	n.d	n.d	n.d	n.d
	枝葉	n.d	n.d	n.d	n.d
	枝	n.d	n.d	n.d	n.d
	幹	n.d	n.d	n.d	n.d
残渣	葉	0.131±0.035	0.32±0.01	0.16±0.01	0.8±0.2
	枝葉	0.268±0.023	0.25±0.00	0.11±0.01	0.4±0.0
	枝	0.700±0.022	0.09±0.00	0.09±0.00	0.3±0.0
	幹	0.341±0.029	0.09±0.00	0.11±0.01	1.1±0.1
廃液	葉	0.061±0.001	0.07±0.00	0.08±0.00	0.2±0.0
	枝葉	0.060±0.001	n.d	0.05±0.00	0.2±0.0
	枝	0.054±0.009	n,d	n.d	0.1±0.0
	幹	0.058±0.003	0.18±0.00	0.16±0.01	1.2±0.1

※1. サンプル1mgあたりのトロロックス当量 ORAC: oxygen radical absorbance capacity TE: trolox equivalents
※2. 抗酸化力測定物質 DPPH: ジフェニルピクリルヒドラジル ABTS: アジノビスベンゾチアゾリンスルホン酸
TEAC: trolox equivalents antioxidant capacity ※3. SOSA: 超酸化物質除去能 superoxide scavenging activity
※n.d.: not detected

抗酸化活性の試験は、ORAC測定、DPPHラジカル消去活性、ABTSラジカル消去活性、およびSOSA測定によって行なわれた。残渣はメタノール抽出した蒸留物、廃液は凍結乾燥した蒸留物を試料として用いた。

全ての評価法において、ハイドロゾルは活性を示さなかった。精油はORACでわずかに活性を示した

が、他の評価法では活性がなかった。一方、残渣のメタノール抽出物や廃液の凍結乾燥物は、一定程度の活性を示した。ORACでは残渣-枝が最も高く、次いで枝葉と幹。DPPH、ABTSでは残渣-葉が最も高く、次いで残渣-枝葉と廃液-幹。SOSAでは、廃液-幹と残渣-幹が高かった。

表4. 抗菌活性 (mg/mL n=3)

試料	部位	大腸菌・E.coli		黄色ブドウ球菌・S.aureus			
		MIC (μ g/mL)	MBC	MIC (μ g/mL)	MBC		
精油	葉	1400	n.d.	2000	2300		
	枝葉		2400			1100	1100
	枝幹		n.d.			n.d.	n.d.
ハイドロゾル	葉	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
	枝葉		n.d.			n.d.	n.d.
	枝		n.d.			n.d.	n.d.
	幹		n.d.			n.d.	n.d.
残渣	葉	n.d.	n.d.	800	1100		
	枝葉		n.d.	800	1100		
	枝		n.d.	500	800		
	幹		n.d.	200	200		
廃液	葉	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
	枝葉		n.d.	n.d.	n.d.		
	枝		n.d.	n.d.	n.d.		
	幹		n.d.	n.d.	n.d.		

※MIC: 最小発育阻止濃度 minimum inhibitory concentration MBC: 最小殺菌濃度 minimum bactericidal concentration n.d.: not detected

抗菌活性は、大腸菌と黄色ブドウ球菌について測定された。ソルビン酸をポジティブコントロールとし、葉、枝葉、枝、幹、それぞれの抽出物を溶解させたDMSOを37°Cで18時間震盪培養した後に測定。残渣はメタノール抽出した蒸留物、廃液は凍結乾燥物の蒸留物を用いた。

ソルビン酸の大腸菌と黄色ブドウ球菌に対するMICは、それぞれ250 μ gと225 μ gだった

精油では、大腸菌に対して枝葉が、黄色ブドウ球菌に対して葉と枝葉が活性を示した。残渣では黄色ブドウ球菌に対する強い活性が見られ、特に幹の活性が強い。ハイドロゾルと廃液では抗菌活性は認められなかった。

表5. メラニン生成抑制活性 (精油、残渣 means \pm SD, n=3)

試料	部位	320 μ g/mL			160 μ g/mL			80 μ g/mL		
		MC (%)	CV (%)	Type	MC (%)	CV (%)	Type	MC (%)	CV (%)	Type
精油	葉	52.4 \pm 1.4	77.3 \pm 6.0	B	61.5 \pm 1.5	79.8 \pm 4.0	B	73.7 \pm 5.3	92.3 \pm 9.0	B
	枝葉	58.1 \pm 1.9	72.1 \pm 0.1	C	67.6 \pm 2.0	82.4 \pm 3.6	C	80.8 \pm 2.8	102.3 \pm 3.8	B
	枝	52.4 \pm 0.7	70.8 \pm 3.8	B	60.7 \pm 2.4	79.2 \pm 1.3	B	71.1 \pm 3.2	95.0 \pm 6.8	B
	幹	61.3 \pm 1.1	98.2 \pm 6.5	A	75.3 \pm 0.6	92.8 \pm 5.7	C	86.0 \pm 1.4	109.1 \pm 6.3	B
残渣	葉	77.3 \pm 0.5	108.7 \pm 1.5	B	88.4 \pm 2.5	102.9 \pm 3.9	C	92.5 \pm 4.7	98.5 \pm 6.9	C
	枝葉	79.6 \pm 1.9	98.7 \pm 1.3	C	85.6 \pm 0.8	94.2 \pm 7.3	C	90.5 \pm 0.8	103.5 \pm 7.3	C
	枝	48.5 \pm 0.8	92.4 \pm 3.5	A	68.8 \pm 1.1	108.7 \pm 5.3	A	83.2 \pm 2.4	97.0 \pm 6.7	C
	幹	47.1 \pm 0.7	82.4 \pm 0.1	A	65.1 \pm 1.0	99.5 \pm 3.6	B	77.8 \pm 1.0	104.4 \pm 7.8	B

※MC: メラニン含有率 melanin content (%) CV: 細胞生存率 cell viability (%)

※Type: 培養細胞中メラニン含有率判定 MC/CV= A < 65 < B < 80 < C

表6. メラニン生成抑制活性 (ハイドロゾル、廃液 means±SD, n=3)

試料	部位	320 μg/mL			160 μg/mL			80 μg/mL		
		MC (%)	CV (%)	Type	MC (%)	CV (%)	Type	MC (%)	CV (%)	Type
ハイドロゾル	葉	118.0±1.9	99.0±3.7	C	116.5±1.0	106.5±1.2	C	115.6±3.6	116.1±4.8	C
	枝葉	113.5±0.5	93.6±1.0	C	115.0±3.2	102.3±3.9	C	108.7±3.1	114.4±3.6	C
	枝	115.6±4.9	95.5±1.9	C	113.5±3.2	104.9±3.1	C	113.8±2.7	118.0±4.0	C
	幹	118.8±2.3	103.7±1.4	C	117.7±0.0	107.1±1.8	C	119.8±1.4	105.3±2.8	C
廃液	葉	68.3±3.2	89.1±4.3	B	75.0±5.2	83.2±3.7	C	81.5±3.6	90.0±4.5	C
	枝葉	79.9±3.5	103.3±1.4	B	91.4±7.7	104.7±3.5	C	86.0±7.8	98.0±2.6	C
	枝	45.4±0.6	70.9±4.6	A	52.3±1.3	81.9±1.4	A	62.9±2.0	89.1±0.8	B
	幹	41.3±7.6	25.2±2.0	C	44.2±3.3	64.1±5.5	B	55.3±0.8	95.1±4.2	A

※MC: メラニン含有率 melanin content (%) CV: 細胞生存率 cell viability (%)

※Type: 培養細胞中メラニン含有率判定 MC/CV= A < 65 < B < 80 < C

表7. メラニン含有率/細胞生存率比 (%)

試料	部位	320 μg/mL		160 μg/mL		80 μg/mL	
		MC/CV (%)	Type	MC/CV (%)	Type	MC/CV (%)	Type
精油	葉	67.8	B	77.1	B	79.8	B
	枝葉	80.6	C	82.0	C	79.0	B
	枝	74.0	B	76.6	B	74.8	B
	幹	62.4	A	81.1	C	78.8	B
ハイドロゾル	葉	119.2	C	109.4	C	99.6	C
	枝葉	121.3	C	112.4	C	95.0	C
	枝	121.0	C	108.2	C	96.4	C
	幹	114.6	C	109.9	C	113.8	C
残渣	葉	71.1	B	81.2	C	93.9	C
	枝葉	80.6	C	90.9	C	87.4	C
	枝	52.5	A	63.3	A	85.8	C
	幹	57.2	A	65.4	B	74.5	B
廃液	葉	76.7	B	90.1	C	90.6	C
	枝葉	77.3	B	87.3	C	87.8	C
	枝	64.0	A	63.9	A	70.6	B
	幹	163.9	C	69.0	B	58.1	A

メラニン生成抑制活性は、B16メラノーマ細胞培養液を用い静置培養後MTT比色測定。アルブチンをポジティブコントロールとして抽出物を溶解させたDMSOの細胞生存率とメラニン生成量を比較した。

アルブチン (100 μg) のメラニン含有率と細胞生存率は、それぞれ95.0±3.6%と61.6±8.8%、メラニン含有率/細胞生存率比 (MC/CV) は64.8で、判定はAだった。

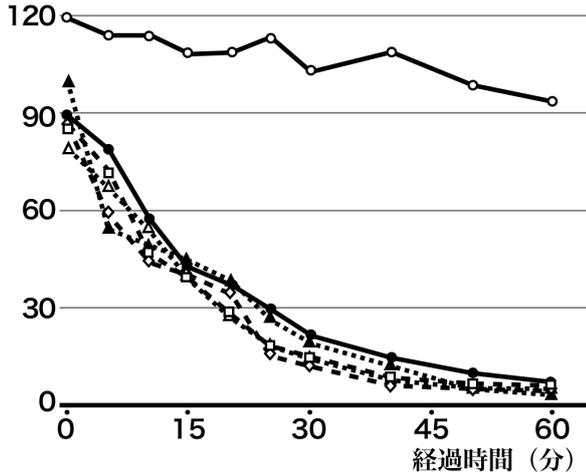
精油はどの部位のMC/CV値も80%前後より低く、概ね活性を示した。一方、アロマウォーターはどの部位もメラニン生成を促進し、しかも濃度と比例している。残渣は枝と幹でアルブチン (MC/

CV=64.8) と同程度の強い活性を示した。廃液も枝と幹で強い活性を示したが、320 μg/mLでMC/CV値が高い。これは、メラニン生成を促進したのではなく、細胞毒性が強く顕れたためである。この細胞生存率 (25.2±2.0%) は、他の試料では見られない特異な数値である。廃液では、160 μg/mLでも細胞生存率が64.1±5.5%と、それほど顕著ではないが、同様の傾向が見られる。

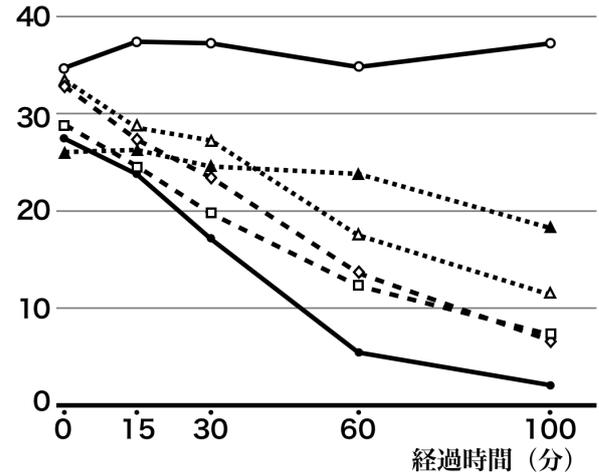
以上の結果、精油の幹、残渣の枝および幹にはメラニン生成抑制活性が大いに期待できる。また、廃液の枝と幹にも同様に期待できるが、高濃度で示しているMC/CV値についての検討が必要。

【消臭効果】

A. アンモニア濃度の経時変化 (ppm)

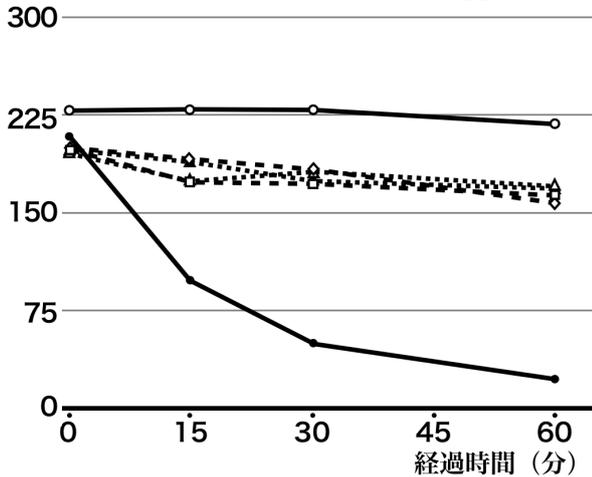


B. ホルムアルデヒドの経時変化 (ppm)

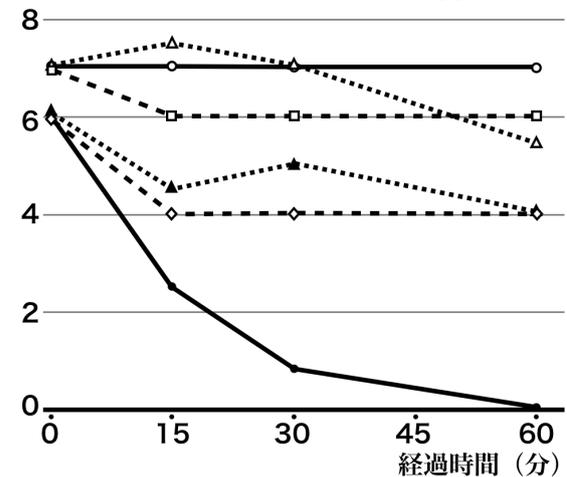


○ 対照 ● 活性炭 ▲ 葉 △ 枝葉 ◇ 枝 □ 幹

C. アセトアルデヒド濃度の経時変化 (ppm)



D. メチルメルカプタンの経時変化 (ppm)



消臭効果は、各部位の残渣について、アンモニア、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、メチルメルカプタンに対する消臭効果を、活性炭との比較により経時的に測定した。アンモニアに対しては、どの部位も活性炭と同等の高い効果が認められた。

ホルムアルデヒドに対しては、枝と幹で活性炭に近い消臭効果があり、次いで枝葉、葉の順番に消臭効果が高い。アセトアルデヒドとメチルメルカプタンに対しては、どの部位も活性炭には及ばず消臭効果は低い。

§ § §

精油の機能性としては、抗菌活性、メラニン生成抑制作用が認められ、ヒドロゾルにはメラニン生成促進作用が認められる。精油とヒドロゾルは部位によって成分が大きく異なりバラエティに富んでいる。他のスギと比べても構成成分や含量に違いがあり、これらについてヒトの生理心理応答に関する調査を進めることで、新たな利用法の開発が期待できる。特に、スギのヒドロゾルについては現在ほとんど利用されていない。精油とは異なる成分と機能を解明することによって大きく発展する可能性がある。

一方、蒸留残渣のメタノール抽出物や蒸留廃液の凍結乾燥物にはフェノール類が多く含まれ、抗酸化活性、メラニン生成抑制活性があることがわかった。さらに、残渣には、抗菌活性や消臭効果も認められた。精油を抽出する水蒸気蒸留の過程で、地杉に含まれるフェノール類は残渣や廃液に残存すると考えられる。多くの機能性が期待できるフェノール類が残渣や廃液の中に含まれており、新しい利用法を開発することで原料としての可能性を拡大することができる。

【要約】屋久島に自生する杉（地杉）のカスケード的利用法の探索

Multiple uses of Essential Oil and By-Products from Various Parts of the Yakushima Native Cedar (Cryptomeria Japonica), Journal of Wood Chemistry and Technology, Journal of Wood Chemistry and Technology, 36:1, 42-55, DOI: [10.1080/02773813.2015.1057648](https://doi.org/10.1080/02773813.2015.1057648) Published online: 09 Oct 2016.
To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/02773813.2015.1057648>