

蒸煮処理により生成するスギ材蒸煮水溶液の成分分析(第Ⅱ報)

松井 隆尚¹⁾・松下 洋一²⁾・菅本 和寛³⁾・土井良 俊輔⁴⁾

Analysis of Steaming Solution Obtained by the Steaming Treatment of Sugi (*Cryptomeria japonica*) Wood II.

Takanao MATSUI, Yoh-ichi MATSUSHITA, Kazuhiro SUGAMOTO, Shunsuke DOIRA

Abstract

A mixture of Sugi (*Cryptomeria japonica*) wood and bark was steamed at 150 °C and 5 atm for 90 min. The steaming solution was collected from the waste drain of steaming kiln. The steaming solution was extracted with hexane and ethyl acetate. The steaming solution was adsorbed on polystyrene resin adsorbent HP20 and the adsorbate was desorbed with methanol and ethyl acetate.

Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of the hexane extract, the ethyl acetate extract and the HP20 adsorbate revealed 55 compounds such as terpenes, phenols and furans in the steaming solution. From the HP20 adsorbate, sequirin C and agatharesinol of norlignans were isolated by column chromatography and preparative thin layer chromatography.

The residue solutions after solvent extraction and HP20 adsorption of the steaming solution were freeze-dried and were ignited. The ash content was analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP) and Na, K, Ca, Si, Fe, Mg, P, Zn, Al, B and Mn were detected.

Key words:

Sugi wood, Steaming, Steaming solution, Terpenes, Norlignans, Sugars, Ashing, Ash-contents

1. 緒言

スギ材の主たる用途は住宅に使用される建築材であるが、製材時に出る端材や間伐材など、未利用部分の活用方法が検討され、製品開発が行われている。その手法の一つとして、蒸煮処理があり、蒸煮したスギ材は家畜飼料として用いられている。しかし、その製造過程において水蒸気でスギ材を処理するため、大量の

蒸煮水溶液が排出される。当研究室では、木質バイオマスの化学的利用の研究を行っており¹⁾、これまで、スギ材の蒸煮処理や水蒸気乾燥の際に排出される廃液の分析についてすでに報告している^{2,3)}。本研究では、スギ材蒸煮水溶液を有機溶媒による抽出および架橋ポリスチレン樹脂吸着剤 HP20 による吸着分離を行い、抽出物と吸着分離物および抽出残液と吸着残液の成分の分離・分析を行ったので報告する。

- 1) 宮崎大学工学部物質環境化学科教授
- 2) 宮崎大学工学部物質環境化学科准教授
- 3) 宮崎大学工学部物質環境化学科助教
- 4) 宮崎大学大学院工学研究科物質環境化学専攻院生

2. 実験

2.1 試料

樹皮を含むスギ (*Cryptomeria Japonica* D.Don) 材をチップ状にして、約 5 気圧下 150 °C で 1 時間半蒸煮処理した時に採取された蒸煮水溶液を試料とした (宮崎みどり製薬株式会社から提供されたもの)。

2.2 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出

蒸煮水溶液 1000 cm³ にヘキサン 200 cm³ を加えて、室温で 1 時間攪拌抽出を行った。その後ヘキサン抽出液とヘキサン抽出残液に分け、ヘキサン抽出残液は同様の操作によりヘキサンでさらに 1 回抽出を行った。ヘキサン抽出液からロータリーエバポレーターでヘキサンを留去してヘキサン抽出物を得た。ヘキサン抽出残液に酢酸エチル 200 cm³ を加えて、室温で 1 時間攪拌抽出を行った。その後酢酸エチル抽出液と酢酸エチル抽出残液に分け、酢酸エチル抽出残液は同様の操作により酢酸エチルでさらに 8 回抽出を行った。酢酸エチル抽出液からロータリーエバポレーターで酢酸エチルを留去して酢酸エチル抽出物を得た。酢酸エチル抽出残液は凍結乾燥を行い、有機溶媒抽出残渣 (黒褐色粉末) を得た。

2.3 スギ材蒸煮水溶液の吸着剤 HP20 による有機成分の分離

架橋ポリスチレン樹脂吸着剤 HP20 (三菱化学製) 10.00 g をカラム管 (2.0 cm I.D.×30 cm) に詰め、メタノール 300 cm³、蒸留水 600 cm³ を順次流して洗浄した。そのカラム管に蒸煮水溶液 1000 cm³ を入れ、約 16 cm³/min で流出させた。流出した水溶液を未吸着残液とした。カラム管から流出が終了した後、窒素ガスを流してカラム管内の液を流出させた。次にカラム管にメタノール 300 cm³、酢酸エチル 100 cm³ を順次流して吸着物を溶出させた。溶出液はロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、HP20 吸着分離物 (茶褐色の粘性液体) を得た。未吸着残液は凍結乾燥を行い、HP20 吸着残渣 (黒褐色粉末) を得た。

2.4 スギ材蒸煮水溶液のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物および HP20 吸着分離物のガスクロマトグラフィー質量分析

蒸煮水溶液のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物および HP20 吸着分離物のガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS 分析) を行った。ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-QP2010 (島津製作所) を使用し、ポリエチレングリコール修飾キャピラリーカラム DB-WAX (0.25 mm I.D.×25 m, エス・ジー・イー・ジャパン製) により分析した。GC-MS クロマトグラムの各ピークのマスフラグメントをシミラリティ検索し、化合物を定性した。定量はガスクロマトグラムの総ピーク面積における各ピークの割合で示した。分析条件を以下に示す。Capillary column : DB-WAX (0.25 mm I.D.×25 m, J & W Scientific) . Column conditions: 40 °C (0-1 min) , 40→245 °C (10 °C /min, 1-21.5 min) , 245 °C (21.5-50 min) . Injector temperature: 250 °C. Carrier gas : He. Column flux: 1.00 ml/min. Split ratio : 1/30. Interface temperature: 250 °C. Ion source temperature: 200 °C.

2.5 スギ材蒸煮水溶液の HP20 吸着分離物のカラムクロマトグラフィーによる成分の分離

HP20 吸着分離物の溶媒分画を行い、分画物の成分をカラムクロマトグラフィーを用いて分離・分析を行った。

HP20 吸着分離物 1200 mg をヘキサン 20 cm³ を用いて室温で 1 時間攪拌した。ヘキサン抽出液とヘキサン不溶物に分け、ヘキサン抽出液はロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、ヘキサン可溶物を得た。ヘキサン不溶物は酢酸エチル 20 cm³ を用いて室温で 1 時間攪拌した。酢酸エチル抽出液と酢酸エチル不溶物に分け、酢酸エチル不溶物は同様の操作により酢酸エチルでさらに 1 回抽出を行った。酢酸エチル抽出液はロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、酢酸エチル可溶物を得た。

酢酸エチル可溶物 195.0 mg をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した。Fr.22-23 72 mg を高速液体クロマトグラフィー分析 (HPLC 分析) により成分の分離・分取を行い、スギに含まれるノルリグナン類の Sequirin C および Agatharesinol を単離し、¹H および ¹³C 核磁気共鳴 (¹H-NMR および ¹³C-NMR) により同定した^{4,6)}。HPLC 分析および分取 HPLC には送液ユニット LC-6AD、オンラインデガッサ DGU-20A5、オートサンブラ SIL-10AF、検出器 SPD-20A、およびフラクションコレクタ FRC-10A (島津製作所) を用いた。:

分取条件；検出器，紫外可視分光光度計検出器；波長，254 nm；使用カラム，ULTRON VX-ODS，250L×20 mm I.D (Shinwa chemical 社製)；流速，5.0 cm³/min；分離液，(A) H₂O，(B) MeOH；B.Conc. 30%

2.6 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣のフェノール性化合物、フラバノール化合物および糖類の分析

1) フェノール性化合物の分析

有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣を Folin-Denis 法⁷⁾によって分析した。試験溶液 7.0 cm³を試験管に採取し、Folin-Denis 試薬 0.5 cm³を加えてよく混合した。3 分後、飽和炭酸ナトリウム水溶液を加えてよく混合し、蒸留水を 1.5 cm³加えて 10 cm³に希釈した。室温で 1 時間放置後、紫外可視吸光度計 V-530 (日本分光)で 725 nm における吸光度を測定し、カテキン標品に基づき作製した検量線からフェノール性化合物の濃度を求めた。

2) フラバノール化合物の分析

有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣をバニリン-硫酸法⁷⁾によって分析した。試験溶液 2.0 cm³を試験管に採取し、バニリン試薬 4.0 cm³を加えた。室温で 15 分放置後、紫外可視吸光度計 V-530 (日本分光)で 500 nm における吸光度を測定し、カテキン標品に基づき作製した検量線からフラバノール化合物の濃度を求めた。

3) 糖の分析

有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣をフェノール-硫酸法⁸⁾によって分析した。試料溶液 0.5 cm³を試験管に採取し、5%フェノール溶液 0.5 cm³加えた。その後、濃硫酸 2.5 cm³を液面に直接加え、試験管ミキサーで激しく攪拌した。室温で 10 分間放置後、30 °C の恒温槽で 20 分間放置した。反応液を紫外可視吸光度計 V-530 (日本分光)で 490 nm における吸光度を測定し、グルコース標品に基づき作製した検量線から糖の濃度を求めた。

2.7 スギ材蒸煮水溶液の HP20 吸着残渣の高速液体クロマトグラフィー分析

蒸煮水溶液の HP20 吸着残渣の HPLC 分析を行った。試料に標品 (フルクトース，グルコース) を添加する方法により、成分の定性を行った。HPLC 分析には送液ユニット LC-9A、オンラインデガッサ DGU-14A (島

津製作所)、および検出器 エバポレイティブ光散乱ディテクター ELSD Model 200 (ナフタ社)を用いた。分析条件；エバポレイティブ光散乱ディテクター；使用カラム，NH2P50 4E 250L×4.60 mm I.D (Shinwa chemical 社製)；流速，1.0 cm³/min；分離液，(A) H₂O，(B) CH₃CN；B.Conc. 75%

2.8 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣の灰化物の ICP 分析

蒸煮水溶液の有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣を 100 °C の乾燥器で 2 日乾燥した。風袋を量った磁器のつぼに試料を入れ、炭化用電気炉の炉心管中央に置き、流速 500 cm³/min で空気を流しながら、昇温速度 200 °C/h で 850 °C まで昇温し、850 °C で 2 時間保持して灰化した。放冷後、つぼの重量を測定し、灰分量を求めた。灰化物 10.0 mg を 4 M 硝酸溶液 1.0 cm³で溶解し、100 cm³メスフラスコに移し蒸留水で 10 倍に希釈し、100 ppm 灰化物水溶液を調製した。100 ppm 灰分水溶液を ICP (Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer) により無機元素の定性・定量分析を行った。

3. 結果および考察

3.1 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出

蒸煮水溶液の成分分離をヘキサンと酢酸エチルによる溶媒抽出により行った (図 1)。蒸煮水溶液 1000 cm³ からヘキサン抽出物は 31 mg と少なく、酢酸エチル

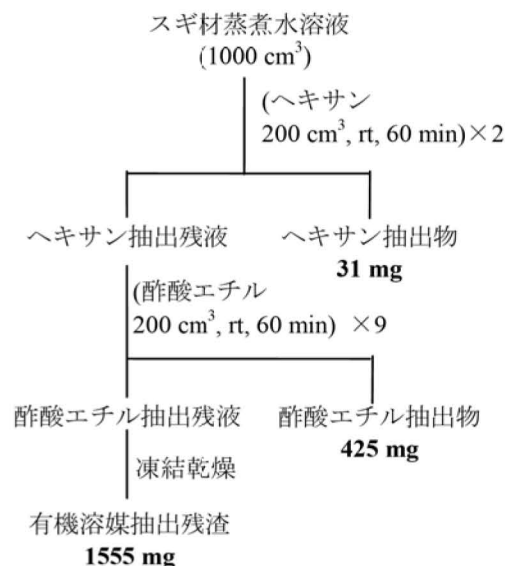


図 1 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出。

抽出物は 425 mg、抽出残渣は 1555 mg と最も多かった。

3.2 蒸煮水溶液の吸着剤 HP20 による有機成分の分離

蒸煮水溶液中の有機成分を分離する方法として、有機溶媒による抽出に代えて吸着剤による分離を行った (図 2)。吸着剤はスチレンとジビニルベンゼンが重合した構造を持つ架橋ポリスチレン吸着剤 HP20 を使用した。蒸煮水溶液からの吸着分離物は 448 mg だった。これは 3.1 に示したヘキサン抽出物量と酢酸エチル抽出物量の合計量 (456 mg) とほぼ同じであった。また、HP20 吸着残渣は 1608 mg となり、抽出残渣と比較して少し多かった。吸着分離法は溶媒抽出に比べ、使用す

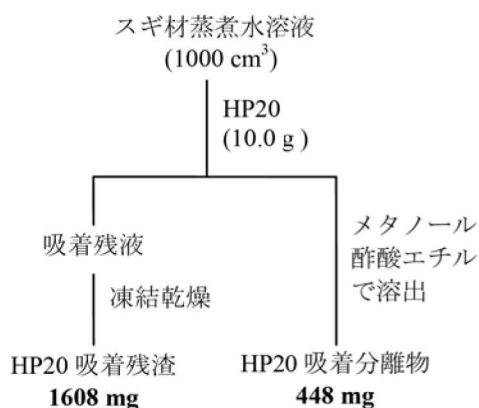


図 2 スギ材蒸煮水溶液の吸着剤 HP20 吸着分離。

る溶媒量を減らし、分離成分を得るまでに要する時間の短縮することができた。

3.3 スギ材蒸煮水溶液のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物および HP20 吸着分離物のガスクロマトグラフィー質量分析

蒸煮水溶液のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物および HP20 吸着分離物の GC-MS 分析について、前報の試料²⁾と今回の試料の定性結果を一緒にして表 1 に示す。

ヘキサン抽出物にはスギ材樹脂成分であるセスキテルペンが主に含まれており、酢酸エチル抽出物には熱分解による生成物等が含まれていた。また、HP20 吸着分離物には、スギ材樹脂成分であるセスキテルペンや熱分解生成物が含まれていた。

3.4 スギ材蒸煮水溶液の HP20 吸着分離物のカラムクロマトグラフィーによる成分の分離

蒸煮水溶液の HP20 吸着分離物 1200 mg をヘキサンおよび酢酸エチルで順次分画した。ヘキサン分画物 2 mg、酢酸エチル分画物 454 mg、酢酸エチル不溶物 604 mg を得た。

酢酸エチル分画物をシリカゲルクロマトグラフィーで分離した。ヘキサン、ヘキサン:酢酸エチル=1:1、酢酸エチル、メタノールを展開溶媒として用い、順次溶出した。Fr.22-23 72 mg を HPLC により成分の分離・分取を行い、スギに含まれるノルリグナン類の Sequirin C 13 mg および Agatharesinol 13 mg を単離し、¹H-NMR、¹³C-NMR により同定した (図 3)。図 4 に Sequirin C および Agatharesinol の ¹³C-NMR データを示す。

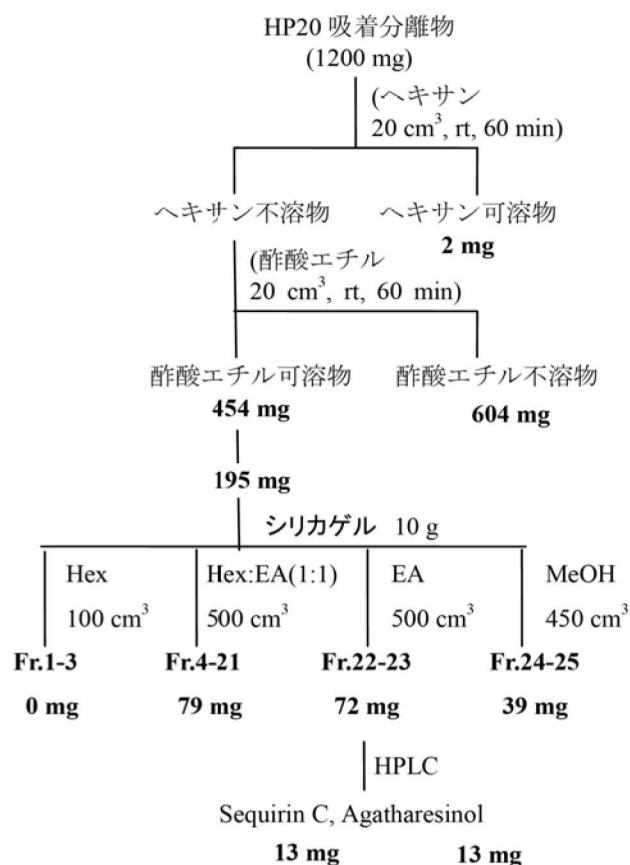


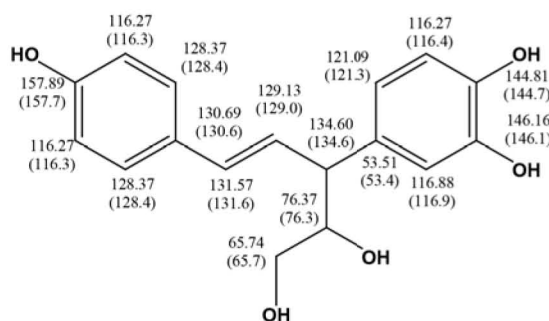
図 3 HP20 吸着分離物の溶媒分画とクロマトグラフィー分離。

表 1 スギ材蒸煮水溶液のヘキサン抽出物、酢酸エチル抽出物および HP20 吸着分離物の GC-MS 結果

No.	Compounds	R.T/min	Steaming solution		
			Hexane	EtOAc	HP20
1	Acetic acid	9.65		0.63	
2	α -Cedrene	10.64	0.47		
3	5-Methyl-2-furfural	11.56			1.17
4	β -Elemene	11.69	0.45		
5	2-Furanmethanol	12.36			0.18
6	Furfuryl alcohol	12.38			10.22
7	α -Muurolene	13.38	6.81		
8	δ -Cadinene	13.76	15.65		0.39
9	3-Methyl-1,2-cyclopentadione	14.61		0.91	0.20
10	Calamenene	14.67	7.73		
11	2-Methoxyphenol	14.89			0.81
12	Benzylalcohol	15.07			0.31
13	α -dehydro-ar-Himachalene	15.43	0.32		
14	α -Calacorene	15.62	1.45		
15	Phenol	16.30		0.37	0.67
16	Furyl-hydroxymethylketone	16.56		0.64	
17	Pyrrole-2-aldehyde	16.64		1.68	0.39
18	Greenol	16.85	1.09		
19	Cubenol	17.18	2.00		
20	<i>epi</i> -Cubenol	17.27	1.66		
21	elemol	17.34	3.87		
22	2-Methylcyclopentanone	17.85		0.53	
23	3-Allyl-2-methoxyphenol	18.16			0.55
24	γ -Eudesmol	18.28	2.28		1.49
25	5-Acetoxy-2-furaldehyde	18.43		0.75	
26	<i>epi</i> - α -Muurolol	18.44	1.13		0.57
27	α -Muurolol	18.55	1.37		0.60
28	β -Eudesmol	18.93	2.21		1.39
29	2,5,8-Trimethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	19.15	1.26		
30	Kaur-15-ene	19.28	5.14		2.81
31	Cryptomerione	19.57	1.44		

No.	Compounds	R.T/min	Steaming solution		
			Hexane	EtOAc	HP20
32	4-Oxo-pentanoic acid	19.77		2.49	
33	<i>cis</i> -Camenen-10-ol	19.87	0.34		
34	<i>trans</i> -Camenen-10-ol	20.15	0.29		
35	Phyllocladene	20.32	0.65		
36	Calamenen-10-one	20.51	0.46		
37	5-Hydroxymethylfurfal	21.18		25.43	5.69
38	Abietadiene	21.24	2.30		
39	Abietatriene	21.49	0.75		
40	Vanillin	21.80	0.59	29.53	16.33
41	Acetovanillone	22.58		1.18	1.26
42	4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl-2-propanone	22.78		1.32	1.34
43	Dihydroapofarnesal	23.08			2.53
44	Cryptomeridiol	23.71			0.80
45	Calamenen-5-ol	24.23	0.54		
46	Bulnesol	24.38	0.65		
47	Amino-3-hydroxy-4-methoxyacetophenone	24.47		0.99	
48	5-Hydroxy-3,7(14),10-Bisabolatrien-2-one	24.53	1.73		
49	Sandaracopimarinal	25.21	2.23		
50	4-Butylphenol	25.94			1.23
51	4-Hydroxybenzaldehyde	26.27		2.29	0.99
52	Homovanillic acid	26.83		8.27	4.74
53	Cinnamaldehyde	30.27		2.24	
54	Sandaracopimarinol	30.86	7.15		1.63
55	Ferruginol	39.65	5.38		1.59

Squirin C



Agatharesinol

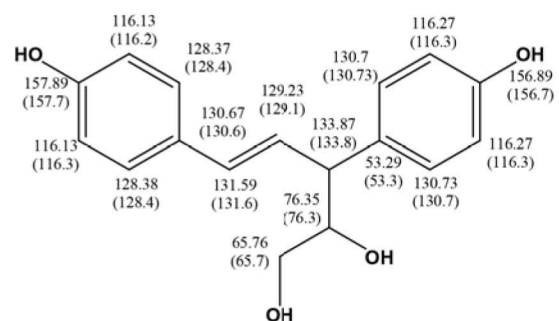


図4 Squirin C と Agatharesinol の ^{13}C -NMR 化学シフト値(カッコ内の値は文献値⁴⁻⁶⁾).

3.5 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣のフェノール性化合物・フラバノール化合物・糖類の分析

一般に木材を水蒸気で処理すると、高分子成分のセルロース、ヘミセルロース、リグニンおよびタンニンが加水分解によって低分子化され水溶性のフェノール性化合物や糖類が生成する。そこで、スギ材蒸煮水溶液の溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣のフェノール性化合物、フラバノール化合物および糖類の分析を行った。溶媒抽出残渣と HP20 吸着残渣を比較すると、溶媒抽出残渣の方が糖類、フェノール性化合物およびフラバノール化合物の濃度が高かった。また、両者とも糖類の濃度はフェノール性化合物およびフラバノール化合物よりも高いことが分かった(表 2)。

表 2 溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣のフェノール性化合物、フラバノール化合物および糖類の分析

	濃度 /mg・dm ⁻³	
	溶媒抽出残渣	吸着残渣
フェノール性化合物	43	23
フラバノール化合物	11	5
糖	304	156

続いて、HPLC により HP20 吸着残渣の糖分析を標品添加法で行った。その結果、フルクトースが含まれていることが分かった(図 5)。スギ形成層付近部位からフルクトースの検出が報告されており⁹⁾。スギ材(樹皮を含む)の蒸煮処理により、フルクトースが生成したと考えられる。

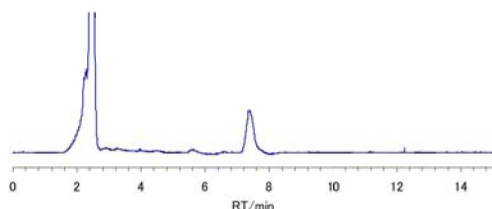


図 5 スギ材蒸煮水溶液の HP20 吸着残渣の凍結乾燥物の液体クロマトグラム。

3.6 スギ材蒸煮水溶液の有機溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣の灰化物の ICP 分析

蒸煮水溶液の溶媒抽出残渣および HP20 吸着分離残渣の灰化物の分析を行った。溶媒抽出残渣 1.0 g を灰化し、灰化物 243 mg を得た。HP20 吸着分離残渣 1.0 g を

灰化し、灰分 242 mg を得た。この結果を基にして蒸煮水溶液 1000 cm³ 当たりに含まれる灰分量を示した(表 3)。また、含有している無機元素の定性・定量分析をするため、灰化物を ICP で分析を行った。これらの結果、溶媒抽出残渣と HP20 吸着分離残渣について比較すると、溶媒抽出残渣の方が無機元素存在量が多く、また両者とも、Na, K, Ca および Si が主な元素として含まれていた(表 4)。

表 3 溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣の灰分量

灰分	濃度 /mg・dm ⁻³	
	溶媒抽出残渣	吸着残渣
	288.6	206.6

表 4 溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣 1 dm³ 中の無機元素存在量(mg)

元素	溶媒抽出残渣	HP20 吸着残渣
B	0.31	0.26
Na	28.09	18.89
Mg	10.04	5.51
Al	1.20	0.32
Si	15.8	10.26
K	24.7	18.29
Ca	22.8	12.15
Mn	0.23	0
Fe	11.45	8.21
Zn	2.14	1.53
P	3.03	0
合計	119.79	75.42

まとめ

- 1) スギ材蒸煮水溶液中の有機成分を分離する方法として有機溶媒抽出と架橋ポリスチレン樹脂 HP20 吸着分離を行った。スギ材蒸煮水溶液 1000 cm³ から得られる溶媒抽出物の合計は 456 mg、HP20 吸着分離物は 448 mg であり両者の方法によって得られる有機物量には差はほとんどなかった。従って、HP20 吸着分離は操作が簡単であり、多量の試料を処理する場合は有効な方法であると考えられる。
- 2) スギ材蒸煮水溶液の溶媒抽出物および HP20 吸着分離物の GC-MS 分析により、ヘミセルロース由来の熱分解物、リグニンの分解物であるフェノール類お

よびスギ材樹脂成分であるテルペン類の存在を確認した。また、カラムクロマトグラフィーによる分離と HPLC 分取を行い、ノルリグナン類の Sequirin C および Agatharesinol を単離した。

- 3) スギ材蒸煮水溶液の溶媒抽出残渣および HP20 吸着残渣のフェノール性化合物、フラバノール化合物および糖類の分析結果、糖類の濃度がもっとも高いことが分かった。また、HP20 吸着残液の HPCL 分析を行い、フルクトースが含まれていることを確認した。
- 4) スギ材蒸煮水溶液の溶媒抽出残液および HP20 吸着残液の凍結乾燥物の灰化を行い、その灰化物の ICP 分析を行った。無機元素として多い順に Na, K, Ca, Si, Fe, Mg, P, Zn, Al, B および Mn の存在を確認した。

参考文献

- 1) この報文を、“樹木バイオマスの有機化学資源としての利用研究”の第 40 報とする。第 39 報: Y. Matsushita, K. Sugamoto, K. Miyakubo, C. Kurogi, T. Matsui, *J. Wood Sci.* **54**, 476-482 (2008).
- 2) 松井隆尚, 松下洋一, 菅本和寛, 宮窪建児, 宮崎大学工学部紀要, **33**, 75-79 (2004).
- 3) 松井隆尚, 松下洋一, 菅本和寛, 宮窪建児, 藤本英人, 落合克紀, 宮崎大学工学部紀要, **34**, 23-26 (2005).
- 4) K. Takahashi, *J. Wood. Sci.* **27**, 654-657 (1981).
- 5) H. Kano, S. Shibutani, K. Hayashi, Y. Iijima, S. Doi, *J. Wood. Sci.* **50**, 91-98 (2004).
- 6) X. H. Chen, C.-S. Kim, T. Kashiwagi, S. Tebayashi, M. Horiike, *Z.Naturforsch.* **56c**, 249-252 (2001). K. Orihashi, Y. Kojima, M. Terazawa, *J For. Res.*, **6**, 191-196, (2001).
- 7) T. Swain, W. E. Hillis, *J. Sci. Food Agric.* **10**, 63-68 (1959).
- 8) 日本生物工学会編, “生物工学実験書”, 培風館 (1992).
- 9) 西 真澄美, 野崎 英吉, 八神 徳彦, 上馬 康生, 中田 彩子, 石川県白山自然保護センター研究報告, **30** (2003).