

## 蒸煮処理により生成するスギ材蒸煮水溶液の成分分析

松井 隆尚<sup>1)</sup>・松下 洋一<sup>2)</sup>・菅本 和寛<sup>3)</sup>・宮窪 建児<sup>4)</sup>**Analysis of Steaming Solution Obtained by the Steaming Treatment of Sugi (*Cryptomeria japonica*) Wood**

Takanao MATSUI, Yoh-ichi MATSUSHITA, Kazuhiro SUGAMOTO, Kenji MIYAKUBO

**Abstract**

The amounts of phenolics, flavanols and tannins in the steaming solution which was obtained by the steaming treatment of Sugi wood at 150 °C for 30-180 min were increased with a lengthening of the steaming time. The steaming solution was subjected to distillation under reduced pressure. Acetic acid, benzoic acid and pyrocatechol in the main distillate were determined by capillary gas chromatography (capillary GC). The dichloromethane extract of the main distillate was little compared with that of the steaming solution. The freeze-dried solid of the steaming solution was slightly soluble in hexane or ethyl acetate, and it was almost soluble in water.

**Key words:**

Sugi wood, Steaming treatment, Steaming solution, Phenolics, Flavanols, Tannins

**1. 緒言**

木質バイオマスは建築・木工材や製紙パルプ用材以外に再生産可能な特徴を生かし、化学資源やエネルギー資源として利用用途の拡大を目指すことが重要である。

木材の生産・製造過程で間伐材・除材や端材・鋸屑等の副産物が多く産出することから、著者らはスギ成分の分離・変換による化学物質の利用について研究を行っている<sup>1)</sup>。樹木は水蒸気処理によりその成分が化学・物理学的に変化することが知られており<sup>2)</sup>、木材およびセルロース材料を水蒸気による蒸煮処理し、反芻動物の飼料を作ることが検討されている。最近、ス

ギ材を蒸煮処理することで家畜飼料が開発された。本研究では、スギ材の蒸煮処理の際に生成する水溶液(蒸煮水溶液)の有効利用を検討するため、蒸煮水溶液の成分分析を行ったので報告する。

**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4気圧下150 °Cで3時間蒸煮処理し、150 °Cに到達するまでの約30分、到達後60分経過および150分経過した時に採取された蒸煮水溶液を、A、BおよびCとした(九州産業(株)製)。

**2.2 スギ材蒸煮水溶液のフェノール性化合物、フラバノール化合物およびタンニン化合物の分析**

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助教授  
3) 宮崎大学工学部物質環境化学科助手  
4) 宮崎大学大学院工学研究科物質工学専攻院生

## 1) フェノール性化合物の分析

蒸煮水溶液 **A**、**B** および **C** 各  $0.5 \text{ cm}^3$  を蒸留水で 100 倍に希釈し、試験溶液とし、これらを Folin-Denis 法<sup>3)</sup> によって分析した。試験溶液  $7.0 \text{ cm}^3$  を  $10 \text{ cm}^3$  のメスフラスコに入れ、Folin-Denis 試薬  $0.5 \text{ cm}^3$  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た後、それぞれ蒸留水で  $10 \text{ cm}^3$  に希釈した後、室温で 1 時間放置した。紫外可視吸光度計 V-530 (日本分光) で  $725 \text{ nm}$  における吸光度を測定した。検量線はカテキン標品に基づき作製したものをを用いた。

## 2) フラボノール化合物の分析

蒸煮水溶液 **A**、**B** および **C** 各  $0.5 \text{ cm}^3$  を蒸留水で 10 倍に希釈し、これを試験溶液とし、これらをバニリン-硫酸法<sup>3)</sup> によって分析した。試験溶液  $2.0 \text{ cm}^3$  を  $50 \text{ cm}^3$  三角フラスコに入れ、バニリン試薬  $4.0 \text{ cm}^3$  を加えた。この時三角フラスコは氷水につけて行った。室温で 15 分放置後、紫外可視吸光度計で  $500 \text{ nm}$  における吸光度を測定した。検量線はカテキン標品に基づき作製したものをを用いた。

## 3) タンニン化合物の分析

蒸煮水溶液 **A** はそのまま、**B** および **C** は各  $20 \text{ cm}^3$  を蒸留水で 5 倍に希釈し、これを試験溶液とし、これを Löwenthal 法<sup>4)</sup> によって分析した。試験溶液  $25 \text{ cm}^3$  を  $500 \text{ cm}^3$  三角フラスコに入れ、蒸留水  $300 \text{ cm}^3$ 、10% 硫酸  $10 \text{ cm}^3$ 、インジゴカルミン溶液  $2 \text{ cm}^3$  を入れてよく混合した後、ビュレットに入れた  $0.04 \text{ N KMnO}_4$  溶液で滴定した。試験溶液の代わりに蒸留水  $25 \text{ cm}^3$  を  $500 \text{ cm}^3$  三角フラスコに入れ、これに蒸留水  $300 \text{ cm}^3$ 、10% 硫酸  $10 \text{ cm}^3$ 、インジゴカルミン溶液  $2 \text{ cm}^3$  を入れてよく混合した後、ビュレットに入れた  $0.04 \text{ N KMnO}_4$  溶液で滴定した。次に試験溶液をホールピペットで  $50 \text{ cm}^3$  測り取り、これを  $100 \text{ cm}^3$  三角フラスコに入れ、これにゼラチン溶液を加え、10 分間振とうした。その後カオリン  $2.0 \text{ g}$  を加えてよく攪拌し、吸引濾過を行った。ろ液を  $100 \text{ cm}^3$  メスフラスコに入れ、蒸留水で  $100 \text{ cm}^3$  に希釈した。これをホールピペットで  $25 \text{ cm}^3$  測り取り、 $500 \text{ cm}^3$  三角フラスコに入れ、これに蒸留水  $300 \text{ cm}^3$ 、10% 硫酸  $10 \text{ cm}^3$ 、インジゴカルミン溶液  $2 \text{ cm}^3$  を入れてよく混合した。これをビュレットに入れた  $0.04 \text{ N KMnO}_4$  溶液で滴定した。ゼラチンを加える前後の  $0.04 \text{ N KMnO}_4$  の消費量の差よりタンニン

量を求めた。 $0.04 \text{ N KMnO}_4$  溶液  $1 \text{ cm}^3$  に対するタンニン化合物量はカテキン標品に基づき求めた。

## 2.3 スギ材蒸煮水溶液の減圧蒸留および減圧蒸留本留液のガスクロマトグラフィー分析

蒸煮水溶液 **A**、**B** および **C** の成分を沸点温度により分画するために、それぞれ試料約  $500 \text{ g}$  を使用して、減圧蒸留を行った。圧力  $115 \sim 128 \text{ mmHg}$  条件下、 $24 \sim 54^\circ\text{C}$  の留分を前留液、 $53 \sim 57^\circ\text{C}$  の留分を本留液、蒸留後の残留液を残液とした。試料および本留液の pH 値を測定した。次に減圧蒸留本留液についてキャピラリーガスクロマトグラフィー分析を行った。水素炎イオン化検出器 (FID) とデータ処理装置クロマトパック C-R4A を接続したガスクロマトグラフ GC-14B (島津製作所) を使用し、テレフタル酸処理ポリエチレングリコール修飾キャピラリーカラム BP-21 ( $0.25 \text{ mm I.D.} \times 25 \text{ m}$ , SGE Japan) により分析した。減圧蒸留本留液  $1 \mu\text{l}$  を標品添加法により定性分析を行った。分析条件を以下に示す。

キャピラリーカラム: BP-21。カラム昇温条件:  $45^\circ\text{C}$  ( $0 \sim 3 \text{ min}$ ),  $45 \rightarrow 209^\circ\text{C}$  ( $4^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $3 \sim 44 \text{ min}$ ),  $209^\circ\text{C}$  ( $44 \sim 50 \text{ min}$ )。インジェクター温度:  $300^\circ\text{C}$ 。ディテクター温度:  $300^\circ\text{C}$ 。キャリアーガス: He。

## 2.4 スギ材蒸煮水溶液のジクロロメタン抽出およびその抽出残液の凍結乾燥物の成分分離

有機溶媒に対する溶解性、水溶性など極性の違いにより分画するために、蒸煮水溶液 **A**、**B** および **C** の各  $200 \text{ cm}^3$  をジクロロメタン  $200 \text{ cm}^3$  を用いて室温で 3 時間攪拌抽出を行った。ジクロロメタン抽出液とジクロロメタン不溶部に分け、ジクロロメタン抽出液から溶媒を留去してジクロロメタン抽出物を得た。各ジクロロメタン不溶部は  $70 \text{ cm}^3$  をトラップ温度  $-40^\circ\text{C}$  で凍結乾燥を行い、凍結乾燥物を得た。次に **B** の凍結乾燥物  $103 \text{ mg}$  に対し、メタノール  $3 \text{ cm}^3$  を用いてメタノール可溶部とメタノール不溶部に分け、メタノール可溶部  $74.1 \text{ mg}$  を分取薄層クロマトグラフィー (展開溶媒、ベンゼン:メタノール=3:1) による成分分離を行った。 $19.5 \text{ mg}$  の褐色油状物を得た。IR  $\nu \text{ cm}^{-1}$   $3750 \sim 3050$ ,  $2950$ ,  $1600$ ,  $1520$ ;  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $63 \text{ MHz}$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta \text{ ppm}$   $60.8$ ,  $72.0$ ,  $72.5$ ,  $73.5$ ,  $73.8$ ,  $74.3$ ,  $84.9$

2.5 スギ材蒸煮水溶液の凍結乾燥物の有機溶媒による抽出分画

蒸煮水溶液 C 100 cm<sup>3</sup> をトラップ温度 -40°C で凍結乾燥を行い 187.8 mg の凍結乾燥物 (黒褐色粉末) を得た。凍結乾燥物 206.5 mg にヘキサン 30 cm<sup>3</sup> を加えて、室温で 2 時間攪拌抽出を行った。その後ろ過によりヘキサン抽出液とヘキサン不溶部に分け、ヘキサン抽出液からヘキサンを留去してヘキサン抽出物を得た。ヘキサン不溶部に酢酸エチル 30 cm<sup>3</sup> を加えて、室温で 2 時間攪拌抽出を行った。その後ろ過により酢酸エチル抽出液と酢酸エチル不溶部に分け、酢酸エチル抽出液から酢酸エチルを留去して酢酸エチル抽出物を得た。酢酸エチル不溶部にメタノール 30 cm<sup>3</sup> を加えて、室温で 2 時間攪拌抽出を行った後、ろ過によりメタノール抽出液とメタノール不溶部に分け、メタノール抽出液からメタノールを留去してメタノール抽出物を得た。

3. 結果および考察

3.1 スギ材蒸煮水溶液のフェノール性化合物、フラバノール化合物およびタンニン化合物

一般に木材を加温加圧の飽和水蒸気で蒸煮すると、木材細胞壁の構成高分子が熱軟化し、さらに水蒸気との化学反応で低分子化される。皮付きスギ材の主要な構成高分子成分はセルロース、ヘミセルロース、リグニンおよびタンニンであり、これらの成分は加水分解反応等によって水溶性の糖類、フェノール類およびフラバノール類等を生成すると考えられる。蒸煮処理のポリフェノール成分抽出量への影響について、木原と伊藤は蒸煮処理したモリシマアカシア樹皮およびヒノキ樹皮から抽出されるフラバノール量やタンニン量が増加することを報告している<sup>5,6)</sup>。そこで蒸煮水溶液 A、B、C のフェノール性化合物、フラバノール化合物およびタンニン化合物の分析を行った (表 1)。フェノール

Table 1 Analytical data of steaming solution obtained by the steaming treatment of Sugi wood

Sample	Steaming times/min	Concentration/ $\mu\text{g cm}^{-3}$		
		Phenolics	Flavanols	Tannins
A	30	102.0	8.2	4.0
B	60	545.1	25.0	44.0
C	150	776.6	52.0	80.0

性化合物、フラバノール化合物およびタンニン化合物の濃度は C が最も高く、A が最も低くなった。これらの結果からスギ材の蒸煮時間が長くなるとリグニンの低分子化によるフェノール性化合物や縮合型タンニンの単量体化・低分子化によるフラバノール化合物・タンニン化合物の生成が進行し、蒸煮水溶液中の濃度が高くなることがわかった。

3.2 スギ材蒸煮水溶液の減圧蒸留および減圧蒸留本留液の成分

蒸煮水溶液 A、B、C の減圧蒸留の結果および pH 測定結果を表 2 に示す。A、B、C の本留液の収量は 94%~96% となり、ほとんど同じであった。A、B、C 各本留液の pH を比較してみると、A の本留液は pH 値が上昇したのに対し、B と C の本留液の pH 値は低下した。A、B、C の本留液についてキャピラリー GC により定性分析を行った。それぞれの GC クロマトグラムに約 11 成分のピークが見られた。そのうち 3 つのピークは酢酸、安息香酸、およびピロカテコールであると同一した。

3.3 スギ材蒸煮水溶液のジクロロメタン抽出およびその残液の凍結乾燥物の成分分離

蒸煮水溶液には高分子成分のセルロース、ヘミセルロース、リグニン、タンニンおよび低分子成分の樹脂化合物等から蒸煮処理過程で生成する水溶性や難水溶性の種々の有機化合物が含まれていることが予測される。

Table 2 Distillation under reduced pressure of steaming solution obtained by the steaming treatment of Sugi Wood

Sample	Yield / %				pH	
	Fore distillate	Main distillate	Trap	Residue	Sample	Main distillate
A	0.6	95.7	1.8	0.2	7.51	8.21
B	0.1	94.6	0.2	3.8	4.61	3.63
C	0.2	93.6	0.4	4.6	4.79	3.58

最初に難水溶性有機化合物を分離するために、ジクロロメタンで抽出した(図1, Method 1)。蒸煮水溶液 A、B および C の 100 cm<sup>3</sup>あたりのジクロロメタン抽出結果を表3に示す。ジクロロメタン抽出量は C (30.9 mg) > B (21.9 mg) > A (2.8 mg) となり、蒸煮時間が長くなると増加した。なお蒸留本留液 100 cm<sup>3</sup>あたりのジクロロメタン抽出量は 2.2 ~4.7 mg ときわめて少量であり、蒸煮水溶液の成分は蒸留後の残液に多く残ることが分かった。そこで A、B、C のジクロロメタン不溶部 70 cm<sup>3</sup> を凍結乾燥し、凍結乾燥物量を上記の各ジクロロメタン抽出量と比較した(表3)。ジクロロメタン抽出量に比べ、凍結乾燥物量が極めて多いことから蒸煮水溶液の成分は水溶性・極性の高い化合物が多いと考えられる。次に B の凍結乾燥物をメタノールを用いてメタノール可溶部とメタノール不溶部に分け、メタノール可溶部 159.6 mg を得た。メタノール可溶部 74.1 mg について分取薄層クロマトグラフィー(展開溶媒、ベンゼン:メタノール=3:1)による分離を行った。単離した褐色油状化合物 19.5 mg は構造決定に至っていないが、IR、<sup>1</sup>H-および <sup>13</sup>C-NMR 測定の結果から単糖であると推定している。

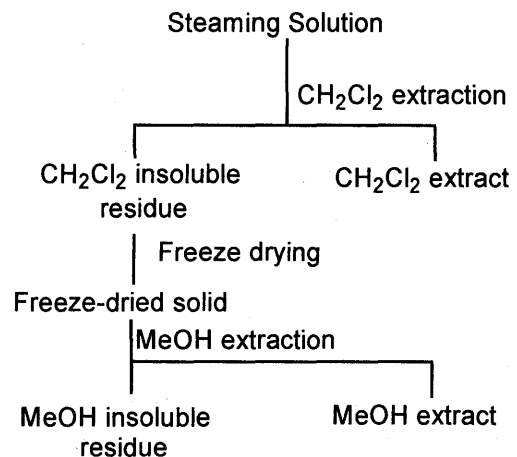
### 3.4 スギ材蒸煮水溶液の凍結乾燥物の有機溶媒による抽出分画

上記 3.3 の結果に基づき、蒸煮水溶液 C の凍結乾燥物(黒褐色粉末)の成分分離をヘキサン、酢酸エチルおよびメタノールを用いる溶媒抽出分画により行った(図1, Method 2)。凍結乾燥物 206.5 mg からヘキサン抽出物は 1.6 mg (0.8%)、酢酸エチル抽出物は 2.1 mg (1.0%)と極めて少なかった。一方メタノール抽出物は 89.3 mg (43.2%)と多かったことから蒸煮水溶液中には水溶性・極性の高いフェノール性化合物が多く含まれていることがわかった。

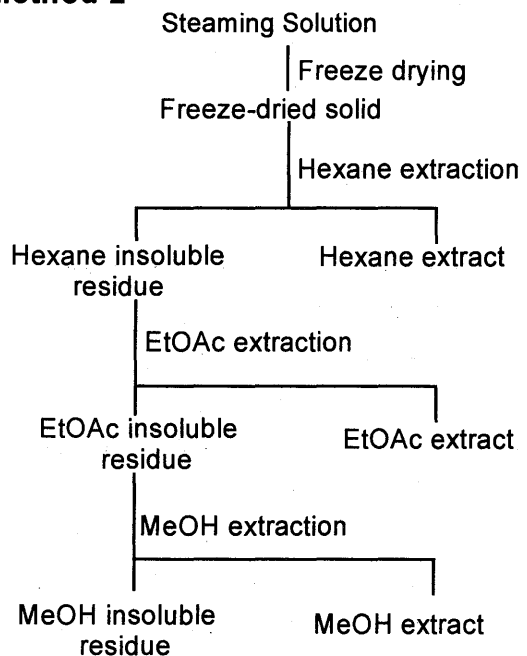
**Table 3** Dichloromethane extraction of steaming solution and methanol extraction the extract residue (freeze-dried solid)

Sample	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> extract		MeOH extract	
	Extract	Residue	Extract	Residue
A	2.8	37.6	—	—
B	21.9	558.4	148.0	337.8
C	30.9	481.0	—	—

#### Method 1



#### Method 2



**Fig.1** Fractionation procedure for steaming solution obtained by the steaming treatment of Sugi wood.

## 4 まとめ

- (1) スギ材蒸煮水溶液 A、B および C のフェノール性化合物、フラバノール化合物およびタンニン化合物の濃度は蒸煮時間が長くなると高くなった。
- (2) スギ材蒸煮水溶液 A、B および C の蒸留本留液の GC 分析により約 11 成分のピークが見られ、そのうちの 3 つのピークは酢酸、安息香酸およびピロカテコールであることを確認した。
- (3) スギ材蒸煮水溶液 A、B および C はジクロロメ

タン抽出物量が少ないことから、水溶性成分が多く含まれていると考えられる。

- (4) スギ材蒸煮水溶液 C の凍結乾燥物のヘキサンおよび酢酸エチルによる抽出物量は非常に少なく、メタノールによる抽出物量が多かった。この結果は上記(3)の結果と合わせて考えると、水溶性・極性の高いフェノール性化合物、フラバノール化合物、タンニン化合物および糖類等が蒸煮水溶液 C に多く含まれていると考えられる。

#### 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 30 報とする。第 29 報：松井隆尚，松下洋一，菅本和寛，矢野弘道，宮崎大学工学部紀要, **33**, (2004).
- 2) 檜垣寅雄編，ウッドケミカルの先端技術と展望, pp. 39-49, シーエムシー (1983).
- 3) T. Swain, W. E. Hillis, *J. Sci. Food Agric.* **10**, 63-68 (1959).
- 4) 芝本武夫編，林産化学実験書, pp. 173-174, 産業図書 (1956).
- 5) S. Ohara, S. Ito, *Mokuzai Gakkaishi*, **41**(5), 498-504 (1995).
- 6) S. Ohara, S. Ito, *Mokuzai Gakkaishi*, **41**(7), 689-693 (1995).