

木材乾燥における芳香蒸留水の有用成分利用（第3報）

ヒノキ芳香蒸留水抽出物のかび抵抗性試験

伊藤国億*

Effective Use of Aromatic Distilled Water by Drying Wood (III) Test for Fungus Resistance of Hinoki-Aromatic Distilled Water Extracts

ITO Kuniyasu*

木材乾燥過程で排出される芳香蒸留水(FW)の抽出物を添加したブナ辺材およびスギ辺材のかび抵抗性試験をクロカビ(*Cladosporium sphaerospermum*)を用いて行った。5.0%(w/v)のFW抽出物添加木材において、試験体表面の菌糸の発育状態の判定および拭き取り培養による生菌数測定の内いずれも、かび抵抗性が認められた。また、FW抽出物添加木材と同梱した試験体においてもかび抵抗性が認められ、FW抽出物の揮発成分によるかび抵抗性が示唆された。

1. 緒言

スギ、ヒノキなどの住宅用材の乾燥過程で木材内の水分が排出蒸気として多量に生じている。この排出蒸気には木材由来の精油等が含まれているが、排出蒸気を回収して精油を利用することはほとんどない。我々は、未利用資源かつ副生産物である排出蒸気中の精油を回収するため、木材乾燥をラボスケールから実大スケールまで行い、その成分や収量を検証¹⁻³⁾し、精油生産の事業化を促進した。こうしたなか、精油回収の際に精油よりも多く回収される芳香蒸留水(以後、FWとする)に着目した。一般的にFWとは植物の枝葉から水蒸気蒸留により精油抽出とともに滞留して得られる水(ハーブウォーターとも言われる。)であり、抽出時に木材から水に溶け込んだ成分が含まれるため、その機能性を活用して古くから芳香剤や化粧水として利用されている⁴⁾。これと同じ原理で木材乾燥から得られるFWにも機能性成分が含まれていると考えられることから、ヒノキ材乾燥時に回収したFWの抽出成分を調査した。その結果、 α -テルピネオールやテルペン-4-オールなどのモノテルペンアルコールや α -カジノールや ϵ -ムウロロールなどのセスキテルペンアルコールが含まれていた⁵⁾。 α -カジノールや ϵ -ムウロロールは木材を腐朽させる

担子菌に対する抗菌活性を有することが認められている⁶⁻⁷⁾。テルペン-4-オールはティートリーオイルの主成分であり、様々な抗菌活性が知られている⁸⁾ことから、ヒノキ材乾燥時に回収したFWから有用成分を抽出し、FWの機能性の一つとして抗かび活性を評価した結果、クロカビや白癬菌に対する抗かび効果が認められた。また、FW抽出物の揮発成分による抗かび性も示唆された⁹⁾。

そこで、FW抽出物を木材に添加し、実用性評価としてJIS Z2911のかび抵抗性試験による評価を行った。また、本試験は目視評価による定性的或いは半定量的な手法であることから、より定量的に評価するため、拭き取り培養による生菌数測定を行った。

2. 実験方法

2.1 供試材料

2.2.1 FW抽出物添加木材

FWはヒノキ除湿乾燥(Dehumidification Drying:DD)で除湿器から排出された凝縮水とヒノキ高温セット乾燥(High-Temperature Drying:HTD)で排出される蒸気を冷却回収した凝縮水を用いた。これらFWは前報⁹⁾と同様に固相抽出を行い、各乾燥で得られたFW抽出物をそれぞれDD_fw_ext.、HTD_fw_ext.とした。各抽出物は0.5、1.0、5.0%(w/v)になるようにアセトンで希釈した。

* 試験研究部

かび抵抗性試験に用いる試験体はブナ辺材及びスギ辺材（いずれも径目、R30×L30×T1.5(mm)）とした。これら試験体はシャーレに3枚ずつ入れてオートクレーブ処理（121℃、20分）し、処理後は安全キャビネット内で一昼夜風乾した。風乾後、試験体にFW抽出希釈液150μlを滴下し、1時間風乾してアセトン除去した（以後、FW抽出物添加木材とする）。また、FW抽出物添加木材と同様にアセトンのみ滴下した試験体を調製し、FW抽出物添加木材の入ったシャーレに1枚ずつ同梱した（以後、FW抽出物同梱木材とする）。

2.2.2 供試菌株

クロカビ (*Cladosporium sphaerospermum*, NBRC 6348)を用いた。試験直前に0.005%クロラムフェニコール入りPDA平板培地を用いて28℃にて1週間の前培養を行った。前培養した菌株から胞子を湿潤剤添加滅菌水（スルホコハク酸ジオクチルナトリウム水溶液、0.005%）に加え、約10⁶個/mlとなるように単一胞子懸濁液を調製した。

2.2 FW抽出物添加木材のかび抵抗性試験

2.2.1にて調整した試験体（FW抽出物添加木材、FW抽出物同梱木材）に2.2.2で調製した胞子懸濁液0.5mlを接種し、シャーレを粘着テープで密閉し、26℃で4週間培養した。培養後、試験体表面の菌糸の発育を実体顕微鏡（(株)ニコンソリューションズ社製、SMZ1270）を用いて観察し、表1に従ってかび抵抗性を評価した。

2.3 生菌数測定

2.2で試験した試験体表面に発育した菌糸を採取するため、サンプリングスワブ（TexWipe社製、STX764T）を用いた。スワブ容器に予め湿潤剤添加滅菌水10mlを加え、湿らせたスワブで試験体表面を全方向から万遍なく拭き取りした。拭き取りしたスワブを容器に戻し、タッチミキサーで20秒以上攪拌した。この湿潤剤添加滅菌水を10倍希釈系列で希釈液を調製し、希釈液0.1mlを2枚のPDA平板培地にそれぞれ塗抹し、27℃で1週間培養した。

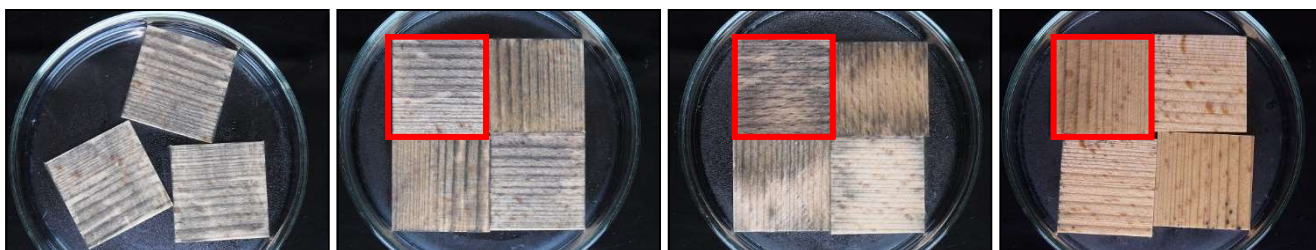


図1 *C. sphaerospermum*に対するFW抽出物(HTD_fw_ext.)を添加したブナ辺材のかび抵抗性試験
左から順に抽出物添加濃度0%、0.5%、1.0%、5.0%、赤枠はFW抽出物同梱木材（抽出物無添加）

表1 かび抵抗性試験の判定方法

表示	菌糸の発育
0	試料又は試験片の接種した部分に菌糸の発育が認められない
1	試料又は試験片の接種した部分に認められる菌糸の発育部分の面積が1/3を超えない
2	試料又は試験片の接種した部分に認められる菌糸の発育部分の面積が1/3を超える

これら平板培地上に3~100個程度発育した菌集落数(CFU: Colony Forming Units)をカウントし、試験体1枚当たりの生菌数を算出した。

2.4 FW抽出物の放散成分分析

2.2.1にて調製した5%抽出液8μlを7mm角のブナ材に滴下し、5分以上室内で静置してアセトン除去した。これを前報と同様にサンプリングバックを用いて捕集した放散成分を、加熱脱着-GCMS分析により分析した。なお、放散濃度はα-Terpineol濃度に換算した。

3. 結果と考察

3.1 FW抽出物添加木材のかび抵抗性

かび抵抗性試験を行なった試験体の一例を図1に示す。また、かび抵抗性試験の判定結果および生菌数を図2に示す。生菌数の常用対数値を示す棒グラフ上にかび抵抗性試験の判定結果を表記した。

かび抵抗性試験の判定では“1”または“0”の場合において、生菌数の常用対数値は無添加の試験体よりも1以上小さかったことから、かび抵抗性試験の判定と拭き取り培養による評価は一致したと考えられる。

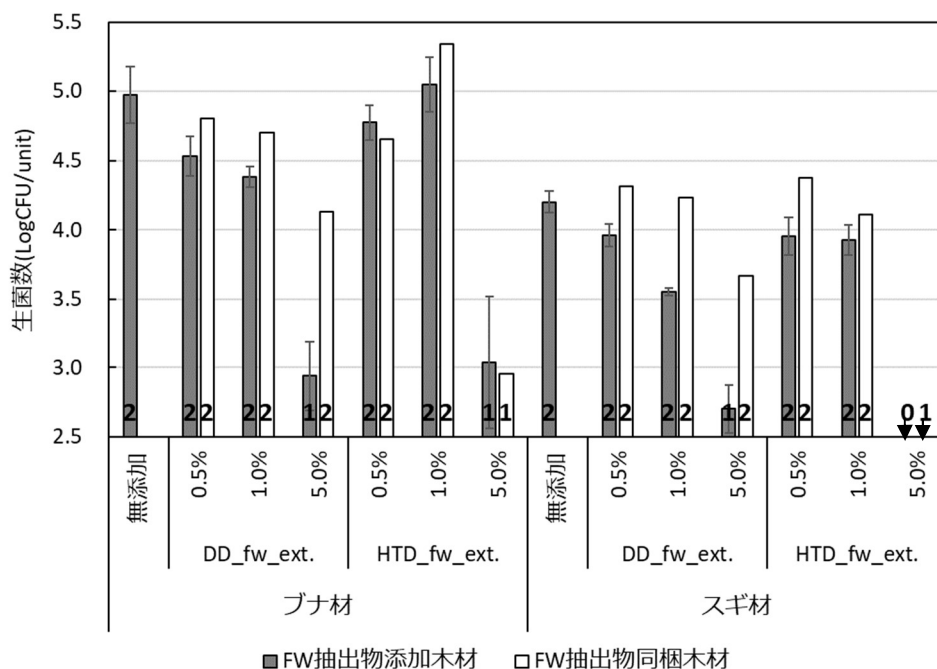


図2 各試験体のかび抵抗性試験の判定結果および拭き取り培養による生菌数

FW抽出物添加木材において、FW抽出物の添加濃度が高いほど試験体表面の生菌数が少ない傾向が認められ、5.0%は他の濃度よりも生菌数が著しく少なかった。抽出物の成分比が異なるDD_fw_ext. およびHTD_fw_ext.の間では明確な差は認められなかった。これは拭き取り後の湿潤剤添加滅菌水中の生菌数が少なく、塗抹培養した平板培地が3CFU未満であった場合、測定不能となるためである。故に、より詳細な評価を行うには予めスワブ容器に入れる湿潤剤添加滅菌水を減らして希釈前の孢子濃度を高くするなどの試験方法の再考が必要であった。また、FW抽出物添加木材の樹種間では総体的にブナ辺材の方がスギ辺材よりも生菌数が多かったが、FW抽出物添加濃度間における生菌数の増減傾向は変わらなかった。つまり、樹種によって菌の発育度合いが異なることが示唆された。試験期間中の試験体表面の菌糸の発育状態を実体顕微鏡で観察したところ、ブナ辺材はスギ辺材よりも素材内部での菌糸の発育が盛んであり、発育状態は異なっていた。

FW抽出物同梱木材において、0.5%および1.0%のFW抽出物同梱木材は無添加木材と同程度の生菌数であったが、5.0%のFW抽出物同梱木材の生菌数は他の試験体よりも少ない傾向が認められた。つまり、FW抽出物の揮発成分によって発育が抑制されたと考えられる。前報において白癬菌に対する抗かび性にFW抽出物の揮発成分が寄与したことから、

*C. sphaerospermum*に対して同様にFW抽出物の揮発成分がある一定量の濃度で寄与したと考えられる。また、5.0%のFW抽出物間ではHTD_fw_ext.のFW抽出物同梱木材の方が、DD_fw_ext.のFW抽出物同梱木材よりも生菌数が少なかった。前報で抗かび性に寄与すると考えられる揮発成分の放散量を表2に示す。放散量はHTD_fw_ext.がDD_fw_ext.よりも多く、最も放散量の多い成分は α -Terpineolであった。また、HTD_fw_ext.の放散成分はDD_fw_ext.に比べてセスキテルペンアルコール類が少なく、酢酸エステル類は同程度であった。前報において、放散量の少ないセスキテルペンアルコール類や酢酸エルテル類が、白癬菌に対する抗かび性に大きく寄与したが、クロカビに対する抗かび作用は白癬菌への作用とは異なると考えられる。前報の気体寄与率測定では5.0%FW抽出物を30 μ l使用したが、

表2 FW抽出物の放散成分 [mg/m³]

成分名	DD_fw_ext.	HTD_fw_ext.
Borneol	1.34	4.59
Terpinen-4-ol	1.65	4.30
Terpineol< α ->	1.92	13.69
Bornyl acetate	0.08	0.09
Terpinyl acetate< α ->	0.09	0.11
Murrolol<epi- α ->	0.15	0.03
Cadinol< α ->	0.07	0.00

本試験ではシャーレ内にその15倍量（150 μ l/試験体 \times 3枚）を使用したことから、総体的に放散量が多く、かび抵抗性に影響した可能性が考えられる。

4. まとめ

木材乾燥過程で排出される芳香蒸留水(FW)の有効利用の一つとして、FW中に含まれる抗菌作用を有する精油分に着目し、FW抽出物添加木材(ブナ辺材およびスギ辺材)のかび抵抗性試験を*C. sphaerospermum*を用いて行った。5.0%のFW抽出物添加木材において、かび抵抗性試験の判定は“1又は0”であり、かび抵抗性が認められた。

また、試験後の試験体表面の拭き取り培養による生菌数測定を行った。FW抽出物の添加濃度が高いほど生菌数が少ない傾向にあり、5.0%FW抽出分添加木材の生菌数は他の試験体よりも著しく少なかったことから、かび抵抗試験の判定と同様のかび抵抗性が示唆された。

FW抽出物同梱木材においても5.0%においてかび抵抗性が認められ、FW抽出物の揮発成分もかび抵抗性を示唆することが認められた。また、FW抽出物間においては揮発成分が多かったHTD_fw_ext.のFW抽出物同梱木材にかび抵抗性が認められた。

謝辞

本研究にあたり芳香蒸留水サンプルをご提供いただきました有限会社伊藤林産様、交告製材株式会社様に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 伊藤国億ほか：香りでやすらぐ木工製品の開発 木材乾燥における排出蒸気中の精油成分について，岐阜県生活技術研究所研究報告，No. 18，pp. 5-9，2016.
- 2) 伊藤国億ほか：香りでやすらぐ木工製品の開発（第3報）木材乾燥における排出蒸気中の精油回収について，岐阜県生活技術研究所研究報告，No. 20，pp. 6-9，2018.
- 3) 伊藤国億ほか：香りでやすらぐ木工製品の開発（第5報）木材乾燥による精油回収実証試験について，岐阜県生活技術研究所研究報告，No. 22，pp. 1-4，2020.
- 4) 小木曾 加奈：信州産ハーブの芳香蒸留水-その特性と機能性-，長野県短期大学紀要 Vol. 64，pp. 49-59，2009.
- 5) 伊藤国億ほか：木材乾燥における芳香蒸留水の有用成分利用（第1報）芳香蒸留水の精油量について，岐阜県生活技術研究所研究報告，No. 23，pp. 18-22，2021.
- 6) 近藤隆一郎ら：ヒノキ心材の耐朽成分、木材学会誌，Vol. 32(3)，pp.213-217，1986.
- 7) 金城和彦ら：担子菌栽培培地に関する研究(第4報)ヒノキの阻害活性，木材学会誌，Vol.32(8)，pp.632-636，1986.
- 8) 井上重治ら：抗菌アロマテラピーへの招待,2011.
- 9) 伊藤国億ほか：木材乾燥における芳香蒸留水の有用成分利用（第2報）ヒノキ芳香蒸留水抽出物の抗かび性，岐阜県生活技術研究所研究報告，No. 24，pp. 32-37，2022.