

# 木質バイオマス由来機能性成分の利用技術の開発

足立良富、奥村和之、横山慎一郎

Development of application technology using functional compound from wood biomass

Yoshitomi ADACHI, Kazuyuki OKUMURA and Shin-ichiro YOKOYAMA

木質バイオマス由来の機能性成分であるヒノキ酸の応用利用のため、繊維素材にヒノキ酸の持つ抗細菌性を付与する技術の開発を試みた。ヒノキ酸の付与加工は、ヒノキ酸のカルボキシ基と綿布の水酸基が、架橋剤を介して化学結合するよう設計した。ヒノキ酸を2.5%(w/v)SDS水溶液に溶解し、飽和水溶液のヒノキ酸溶解度はおよそ0.8 mg/mLであった。これを用いてヒノキ酸付与加工綿布を作製し、黄色ブドウ球菌に対する抗菌性試験を行った。その結果、抗菌活性が見られ、ヒノキ酸が黄色ブドウ球菌に有効な抗細菌物質である可能性が示唆された。しかし、洗濯により抗菌活性が低下したことから、本研究で作製した綿布は、一定量のヒノキ酸は担持されているものの、化学結合以外の付着によってもヒノキ酸が綿布に残留していると考えられた。

## 1. はじめに

資源の循環的、効率的利用を進め、環境に対する負荷の小さい社会を築いていくため、木質バイオマスの利活用が進められている。我々は、これまでに高圧水蒸気圧搾蒸留法を用いて、スギ・ヒノキ枝葉から精油と固形燃料を同一工程で生産する技術を開発した<sup>1-3)</sup>。さらに、同蒸留法で得られたヒノキ精油から独自の精製技術を用いて、精油成分の一つであるヒノキ酸の精製に成功した<sup>4-6)</sup>。

ヒノキ酸は、従来技術では精油当たり0.08%の着色結晶しか得られず、その機能性については一部抗真菌性や抗蟻性等が知られているのみである<sup>7,8)</sup>。新規の抽出・精製技術は、高純度の白色結晶として約2%の高回収率にてヒノキ酸が得られ、その機能についても体臭原因菌等に対する抗細菌活性を確認している<sup>4-6)</sup>。

ヒノキ酸は希少ゆえに知見が少なく、新規性の高い素材であり、幅広い分野に利用できる可能性があることから、樹脂や繊維、紙等有機材料への機能性付与技術の開発を目指す。

本研究では、ヒノキ酸の利用を図る第一歩として、抗細菌活性を利用して、菌の増殖抑制による抗細菌機能を持った繊維の開発を目標とする。繊維素材へのヒノキ酸の付与技術を開発し、抗細菌機能の保持や堅ろう度等を評価する。

## 2. 実験方法

### 2.1 ヒノキ酸飽和水溶液の調製

界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の2.5%(w/v)水溶液を200 mL調製し、ヒノキ酸500 mgを加えて1時間攪拌した。次に50℃にて1時間加熱した後、室温にて徐冷されるまで攪拌した。水溶液にヒノキ酸が溶け残っていることを確認し、メンブレンフィルター(セルロースアセテート材、孔径3 μm)を用いてろ過した。得られたろ液をヒノキ酸飽和水溶液として、以降の試験に用いた。また、

回収されたヒノキ酸不溶分は、蒸留水で洗浄後、乾燥した後に重量を測定した。

### 2.2 ヒノキ酸の付与加工

ヒノキ酸飽和水溶液100 mLに、架橋剤として水系ブロックドイソシアネートSU-268A(明成化学工業株式会社)を2 mL加えて攪拌した。このヒノキ酸-架橋剤混合液に、200×300 mmの綿布(JIS L 0803準拠 染色堅ろう度試験用 添付白布、一般財団法人日本規格協会)を浸し、5 kg/cm<sup>2</sup>加圧のマンゲルを用いて、余分な混合液を除いた。混合液を含浸させた綿布を60℃にて1時間送風乾燥し、次に架橋反応のため130℃にて30分間熱処理を行った。徐冷後、加工した綿を2.5%(w/v)SDS溶液500 mLで3回洗浄し、蒸留水ですすいだ後、60℃にて乾燥した。

### 2.3 加工綿布の抗菌性試験

ヒノキ酸付与加工を行った綿布を用いて、抗菌性試験を行った。試験菌種には黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* NBRC 12732を用いた。試験方法はJIS L 1902 菌液吸収法に準じ、綿100%の白布を対照とした。試験片約0.4 g(n=3)に適宜調製した菌液0.2 mLを接種し、接種直後および37℃18時間培養後に洗い出し用生理食塩水20 mLを加えてボルテックスミキサーで攪拌した。洗い出し液を採取して希釈系列を作成し、混積平板培養法により洗い出し液の生菌数を算出した。また、SEKマーク繊維製品の洗濯方法(一般財団法人繊維評価技術協議会)に準じて、加工綿布を液温40℃の水とJAFET標準配合洗剤(一般財団法人繊維評価技術協議会)を用いて10回洗濯し、この洗濯後綿布についても抗菌性試験を行った。

抗菌性の評価は、生菌数の常用対数値を用いて、接種直後から18時間培養後までに増加した生菌数を増殖値、対照の増殖値から加工綿布の増殖値を差し引いた値を抗菌活性値とした。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 ヒノキ酸付与綿布の作製

ヒノキ酸を繊維素材に付与するため、官能基であるカルボキシ基を利用した固定方法を検討した。繊維素材として、水酸基を多数持つセルロースを主成分とする木綿を選択した。これに架橋剤としてブロックドイソシアネートを用いることで、水酸基とカルボキシ基を介してヒノキ酸が化学的に結合した綿布の作製を計画した。

架橋剤は水系であり、親水性の低いヒノキ酸は水溶液を調製する必要があるため、界面活性剤を用いて、ヒノキ酸の飽和水溶液を調製した。水酸基を持たず、架橋反応を妨害しない界面活性剤としてSDSを採用した。2.5%(w/v)SDS水溶液200 mLにヒノキ酸を過剰量加え、加温と攪拌により十分に溶解を促進した後、室温下にて不溶分をろ過回収した。その結果、加えたヒノキ酸500 mgのうち、323 mgが回収された。回収ロス率を10%と想定し、約160 mgのヒノキ酸が2.5%(w/v)SDS水溶液に溶解したと考えられ、溶解度はおよそ0.8 mg/mLと推測された。

#### 3.2 ヒノキ酸付与加工綿布の抗菌性試験

ヒノキ酸付与加工を行った綿布を用いて、黄色ブドウ球菌 *S. aureus* NBRC 12732に対する抗菌性試験を行った。表1より、ヒノキ酸付与加工綿布が黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を有していることから、ヒノキ酸が体臭原因菌だけでなく、黄色ブドウ球菌にも有効な抗細菌物質である可能性が示唆された<sup>4,6)</sup>。

表1 ヒノキ酸付与加工綿布の抗菌性試験

試験菌種		黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 12732		抗菌活性値
		生菌数の常用対数値(小数点以下2桁)		
		接種直後	18時間培養後	
洗濯前	加工綿布	4.55	4.87	<b>2.1</b>
	対照	4.55	7.02	
洗濯後	加工綿布	4.63	5.41	<b>1.6</b>
	対照	4.63	7.03	

抗菌活性値=対照の増殖値 - 加工綿布の増殖値 (小数点以下1桁)  
増殖値=18時間培養後の生菌数-接種直後の生菌数 (常用対数値)

洗濯前の加工綿布が抗菌活性値2.1を示し、これはJIS L 1902(繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果)における効果基準の2.0を超えており、抗菌効果が認められた。しかし、SEKマーク繊維製品認証基準(防菌防臭加工:一般財団法人繊維評価技術協議会)である2.2以上には及ばなかった。また、洗濯後の加工綿布では、抗菌活性値が1.6と洗濯前の値から低下しており、一定の増殖抑制効果は見られたものの、JIS L 1902の効果基準を下回った。

これらのことから、本研究で作成したヒノキ酸付与加工綿布は、ヒノキ酸を一定量担持しており、抗細菌機能を有していた。しかし洗濯により抗菌活性が低下することから、

ヒノキ酸の固定が不完全であり、化学的結合以外の付着によりヒノキ酸が綿布に残留していると考えられる。

ヒノキ酸のカルボキシ基の利用と抗細菌性の維持は、ヒノキ酸の構造と機能の関わりを検討し、応用利用する上で重要な情報となる。今後、ヒノキ酸の固定を確認するため、有機溶媒洗浄した加工綿布や、架橋剤不使用の加工綿布を作製し、抗菌性試験を行う予定である。

### 4. まとめ

木質バイオマス由来の抗細菌成分であるヒノキ酸の応用利用を目指し、ヒノキ酸を付与した布地の作製とその抗菌活性を評価した。

ヒノキ酸付与加工は、ヒノキ酸のカルボキシ基と架橋剤を介してヒノキ酸が綿布に固定されるよう設計した。水系の架橋剤と混合するため、ヒノキ酸の飽和水溶液を調製した結果、2.5%(w/v)SDS水溶液に対し、ヒノキ酸の溶解度はおよそ0.8 mg/mLであった。

作製したヒノキ酸付与加工綿布を用いて、黄色ブドウ球菌 *S. aureus* NBRC 12732に対する抗菌性試験を行った結果、抗菌活性が見られ、ヒノキ酸が黄色ブドウ球菌に有効な抗細菌物質である可能性が示唆された。また抗菌活性値がJIS L 1902の抗菌基準を上回り、繊維製品として抗菌効果が認められた。しかし、洗濯により抗菌活性値が低下したことから、本研究で作製した綿布は、一定量のヒノキ酸は担持されているものの、架橋以外の付着によりヒノキ酸が綿布に残留していると考えられる。

引き続き加工方法や洗浄方法を検討し、ヒノキ酸の固定と抗細菌性の保持に関して研究を行う。

#### 【謝辞】

架橋剤を提供頂きました明成化学工業株式会社様に深謝いたします。

#### 【参考文献】

- 1) 横山慎一郎ら, 岐阜県産業技術センター研究報告, 7, pp.10-13, 2013.
- 2) 横山慎一郎ら, 岐阜県産業技術センター研究報告, 8, pp.36-39, 2014.
- 3) 横山慎一郎ら, 環境技術, 9, pp.26-34, 2015.
- 4) 足立良富ら, 岐阜県産業技術センター研究報告, 12, pp.12-14, 2018.
- 5) 棚橋光彦, 横山慎一郎, 足立良富, 特開2019-0341454
- 6) 棚橋光彦, 横山慎一郎, 足立良富, 特開2019-0341455
- 7) Hideo Ohashi *et al.*, *Holzforschung*, 48, pp.193-198, 1994.
- 8) 王ら, 森林バイオマス利用学会誌, 8(1), pp.13-19, 2013.
- 9) 奥田治, 薬学雑誌, 72, pp.703-705, 1952.