

秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と香りによる癒し効果

誌名	秋田県総合食品研究センター報告 = Bulletin of the Akita Research Institute of Food and Brewing
ISSN	21856699
著者	進藤, 昌
巻/号	21号
掲載ページ	p. 8-14
発行年月	2019年12月

秋田スギから製造したバイオエタノールの殺菌効果と 香りによる癒し効果

進藤昌

(秋田県総合食品研究センター)

Sho SHINDO

【要約】

我々は、これまでに秋田スギを原料としたガソリン代替燃料であるバイオエタノールの製造技術の開発を行い、微粉碎した秋田スギを原料としてセルラーゼと高温発酵性酵母を用いた同時糖化発酵によるバイオエタノール生産システムを開発した。このバイオエタノールの新たな利用法として消毒用エタノールの利用開発を進めている。消毒用エタノールは、食品工場やレストランでの殺菌目的としての使用に加え、さらに香りによるマスクングや癒し効果が期待されるため、高齢者施設などの利用が考えられる。

そこで、低濃度エタノールと杉葉抽出成分の相乗効果による殺菌能と香りによる脳波への影響を検討した。その結果、秋田スギ葉の抽出物を含むエタノール溶液に細菌や真菌類に対して強い殺菌効果があることが判明した。さらに、抽出成分に含まれるテルペン類由来の香気成分が、人の脳波に影響を及ぼしリラックス効果を示すことが明らかとなった。

【緒言】

バイオマス（生物系資源）を利用したエネルギーは、再生可能かつクリーンであるため、地球温暖化対策として積極的に開発を推進することが求められている。また、有機性廃棄物のリサイクル推進の観点からも重視されている。特に、バイオマスを微生物・酵素を利用してエタノールへ変換し、エネルギー源として利用する利用法はきわめて魅力的であり、その実用化が強く期待されている¹⁾

日本では、バイオエタノールの原料として食糧と競合しない、雑草や稲ワラなどのような草本系バイオマスと間伐材や廃木材などのような木質系バイオマスを利用するのが望ましいと考えられている。しかし、これらバイオマスからバイオエタノールを生産することは、トウモロコシなどの澱粉系穀物に比較して技術的に難しい点が多い。間伐材や林地残材の場合、国内での発生量は年間760万トンを超えており、稲わらでは年間900万トンを超える。これらをバイオエタノールに変換することは資源の乏しい日本にとって有用なことである¹⁾。

セルロース系バイオマスの多くは、ヘキソースとペントースで構成されているセルロース、ヘミセルロースなどの植物繊維が大部分を占めている。ところが現状では、ヘキソースからの酵母によるエタノール生産技術は開発されているが、ペントースからのエタノール生産は困難であり、遺伝子組換え菌などによる研究報告が有るが生産能が低く、制御も困難であり未だ実用化の例はない^{2,3)}。

一方、エタノールは、殺菌効果を持つ為、殺菌剤として利用されている。エタノール殺菌剤は、その高い殺菌効果により食品工場やレストランなどの食品分野だけでなく医療現場など殺菌が必須なエリアでも広く使用されている^{4,5)}。エタノール殺菌効果は、濃度に依存し、70%の濃度が最も殺菌効果が高い。しかし、単独で使用する場合、高濃度のエタノールでは、引火性が高いため危険である。そこで、中低濃度で高い殺菌効果を得るために、低 pH や低水分活性、加熱、紫外線照射などが考えられる。さらに殺菌効果のある添加材として、塩化ベンザルコニウム、グリシン、ロジチム、脂肪酸エステル、炭酸ガス、脱酸素剤、キトサン、フィチン酸、モノカプリン、チアミンラウリル硫酸塩、有機酸、抗生物質などを併用した殺菌剤もある。

我々は、バイオマスを原料として製造されたバイオエタノールを消毒用エタノールとして使用するために、秋田スギを原料とした消毒用エタノールの殺菌効果について検討を行った。さらに、秋田スギ葉から抽出された香り成分の癒し効果について検証を行った。

【実験方法】

1. 試料調製方法

バイオマス原料は、秋田スギの葉を用いた。試料は湿潤状態で0.5mmの長さに裁断したものを水蒸気処理に用いた。水蒸気処理で得られた精油は50%濃度のエタノールに溶解した。また、減圧蒸留によるエタノール抽出は、0.5mmの長さに裁断したスギ葉20gを20%エタノール溶液200mlに加えて、ロータリーエバポレーターで60℃、減圧(170hpa)条件で50%エタノールの蒸留液を作成した。

2. 殺菌能試験

供試菌株として、*Escherichia coli* NBRC3972、*Staphylococcus aureus* NBRC12732、*Salmonella enteritidis* NBRC3313、*Saccharomyces cerevisiae* NBRC216を用いた。殺菌試験は、各種バイオマス抽出液を含むエタノール溶液4.5mlに0.5mlの菌培養液を加え、30秒間vortexで攪拌した。次に懸濁液を無菌水で希釈して寒天培地に塗布して培養を行い、生菌数をCFUカウント法で測定した。

3. 脳波測定方法

試験は、秋田県総合食品研究センター倫理審査委員会(登録番号;2017-002)に基づく研究活動により被検者を募集して行った。測定は、被験者に対して平常時の場合、および秋田スギ葉から抽出された成分を含む50%エタノール溶液について、ボトルを手に持ち、鼻に近づけて匂いを嗅ぎながら、3分間、静座状態で脳波を測定した。脳波測定器は、フューテックエレクトロニクス株式会社のブレインプロFM929を用い

て、7~13Hzの α 波と17~26Hzの β 波を測定して平均電位を算出し、 α 波電位/ β 波電位をリラクセス度とした。

4. テルペノイドの分析方法

ガスクロマトグラフィー質量分析計の分析条件は以下の通りである。各サンプル1 μ Lをそのままガスクロマトグラフィーに注入し、下記の条件で分析を行って溶存するテルペノイドの検出をした。(ガスクロマトグラフィー分析条件) 装置: GC-14B (島津製作所), カラム: TC-5 (GLサイエンス)、試料導入口温度: 200 $^{\circ}$ C、カラム初期温度: 60 $^{\circ}$ C、カラム初期時間: 5min、昇温速度: 3 $^{\circ}$ C/min、カラム最終温度: 220 $^{\circ}$ C、カラム最終時間: 41min, 検出器温度: 230 $^{\circ}$ C, キャリアーガス: N_2 , 検出器: FID、成分の同定には装置付属のライブラリデータを用いた。

【結果と考察】

1. 秋田スギ葉エタノールの殺菌能

秋田スギ葉をエタノール溶液中で減圧蒸留して作成した蒸留液の殺菌能を検証した。はじめに、3種類の細菌を用いて検討を行った。その結果、*E. coli*では、初期菌数 2.4×10^8 cfu/ml の場合、25%エタノール溶液のみに 30 秒間接触させた際の菌の減少率が 89.5%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む 25%エタノール溶液に同時間接触させた場合には、減少率が 99.999%と 5Log_{10} 以上であった(表 1)。また、*S. aureus* NBRC12732 では、初期菌数 5.1×10^8 cfu/ml の場合、40%エタノール溶液では、菌の減少率が 93.73%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む 40%エタノール溶液の場合には、減少率が 99.999%と 5Log_{10} 以上であった(表 2)。さらに、*S. enteritidis* NBRC3313 では、初期菌数 8.7×10^8 cfu/ml の場合、30%エタノール溶液では、菌の減少率が 15.75%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む 30%エタノール溶液の場合には、減少率が 99.963%と減少率が上昇した。なお、*S. enteritidis* NBRC3313 は、40%エタノール溶液のみに 30 秒間接触させた場合に、減少率が 5Log_{10} 以上であった(表 3)。一方、真菌類を用いて検討を行った。その結果、*S. cerevisiae* では、初期菌数 2.0×10^8 cfu/ml の場合、30%エタノール溶液のみに 30 秒間接触させた際の菌の減少率が 16.1%であったのに対して、スギ葉抽出液を含む 30%エタノール溶液に同時間接触させた場合には、減少率が 98.1%であった(表 4)。以上の結果より、細菌、真菌類に対して、何れも秋田スギ葉の抽出成分がエタノールとの相乗効果により殺菌能を上昇させることが判明した。

表1. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Escherichia.coli*に対する殺菌効果

25%エタノール溶液	減少率	89.50%
25%エタノール杉葉溶液	減少率	>99.999%
初期菌数 2.4×10^8 cfu/ml		

表2. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Staphylococcus aureus*に対する殺菌効果

40%エタノール溶液	減少率	93.73%
40%エタノール杉葉溶液	減少率	>99.999%
初期菌数 5.1×10^8 cfu/ml		

表3. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Salmonella enteritidis*に対する殺菌効果

30%エタノール溶液	減少率	15.75%
40%エタノール溶液	減少率	>99.999%
30%エタノール杉葉溶液	減少率	99.963%
初期菌数 8.7×10^8 cfu/ml		

表4. 秋田スギ葉抽出物とエタノールの相乗効果による*Saccharomyces cerevisiae*に対する殺菌効果

30%エタノール溶液	減少率	16.1%
30%エタノール杉葉溶液	減少率	98.1%
初期菌数 2.0×10^8 cfu/ml		

2. 秋田スギ葉エタノールのテルペン組成と殺菌能の検討

秋田スギ葉エタノールに含まれる、テルペン類の分析を行った。その結果、モノテルペンである α ピネン、サビネン、カンファー、ボルネオールが含まれていた。また、モノテルペンアルコールのテルピネン-4-オールが含まれており、この成分が最も多く含まれていた(表5)。そこで、テルピネン-4-オールの殺菌能について検討を行った。テルピネン4 オールを25%エタノール溶液に0ppmから1.0ppmの濃度で*E. coli*に対する殺菌能を検討した。その結果、殺菌能は、テルピネン4 オールの濃度に依存し、濃度が高いほど*E. coli*の減少率が高くなった。初期菌数 4.7×10^8 cfu/mlの場合、1.0ppmのテルピネン4 オールを含む25%エタノール溶液に30秒間接触させ

た際の菌の減少率が 99.999%と 5Log_{10} 以上であった。比較として α ピネンを用いて同様の検討を行った。その結果、1.0ppm の α ピネンを含む 25%エタノール溶液に 30 秒間接触させた際の菌の減少率は、81.3%と同濃度のテルピネン 4 オールよりも低く、さらに、3.0ppm の α ピネンを含む 25%エタノール溶液でも 98.9%の減少率となった。本試験で調製した秋田スギ消毒用エタノールの高い殺菌効果は、テルピネン 4 オールの含有率が高いことに起因することが推察された。

表 5. 秋田スギ葉抽出物に含まれるテルペン

テルペン	濃度 (mg/ml)
α -Pinene	0.0031
Camphene	0.0000
Sabinene	0.0070
Limonene	0.0000
cis-Sabinene hydrate	0.0160
trans-Sabinene hydrate	0.0119
Camphor	0.0037
Borneol	0.0024
Terpinen-4-ol	0.3345
Bornyl acetate	ND
Elemol	0.0150
γ -Eudesmol	0.0075
Muurolol	0.0056
β -Eudesmol	0.0128
α -Eudesmol	0.0168
Kaurene	ND

3. 脳波計による癒し効果の検証

秋田スギ葉のエタノール減圧蒸留液の脳波への影響を検討した。表 6 に示したように脳波によって脳の状態を推測することが出来る。 α 波電位/ β 波電位をリラックス度として、20代から60代までの男女86名の被検者で測定を行った結果、リラックス度が1.47倍上昇し、明らかに効果があることが実証された (図1)。被検者の多くで α 波 (ゆったりしている度合い) が上昇し、 β 波 (イライラしている度合い) が減少していた。これまでに精油には、多くの効果あり精油の種類によってその効果が異なることが報告されている^{6,7)}。しかし、それぞれの効果について学術的な報告が極めて少ない。田口らは、ストレス解消に及ぼす精油の効果を検証するために、脳波計を用いて測定を行った⁸⁾。128種類の精油を用いて6人の被験者で測定したところ、匂いを嗅いだ時の α 波、 β 波の分布率が精油の種類により大きく異なり、さらに、 β 波が減少して α 波が増加するのは個人によって異なり、被検者によっては、逆の効果があったことを報告している。今回本試験で調整した秋田スギ葉消毒用エタノールは、被験者

によっては、リラックス度が2倍以上になる場合や、一部リラックス度の上昇率が低い被験者もいたが、リラックス度が低下する被験者はいなかった。以上のことより、秋田スギ葉消毒用エタノールの香り成分は、リラックス度を向上させる効果が強いと推察される。

表6. 脳波の種類とその内容

脳波	周波数	脳の状態
β	13<~30	イライラしている度合い
α	8~13	ゆったりしている度合い
θ	4~<8	眠い度合い
δ	0.5~<4	とても眠い度合い

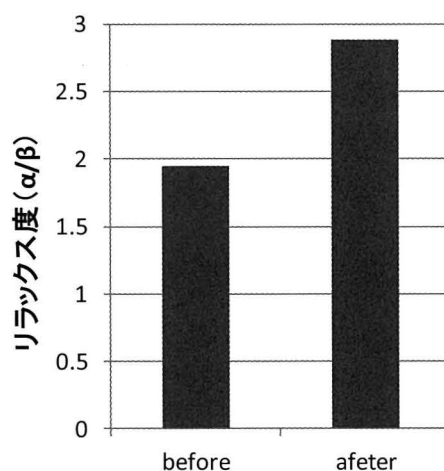


図1. スギ葉エタノール蒸留液のリラックス度に及ぼす効果

【引用文献】

- 1) 進藤昌 (2010) エタノール発酵技術各論：次世代バイオエタノール生産の技術革新と事業展開－持続可能社会実現に向けたセルロース系バイオマスの利用技術－ (鮫島正浩監修) フロンティア出版 153-163.
- 2) Nishida T., Shindo S., Masuda S., Sakaki I., Takahashi T., and Mori H. (2016) Production of bioethanol from pulverized Japanese cedar powder by simultaneous saccharification and fermentation with high-temperature fermentability yeast *Schizosaccharomyces japonicus* SS4-5. *J. Jpn. Inst. Energy*, **95**(4), 283-288.
- 3) Shindo S. (2015), Effect of amphiphilic phospholipid polymer treatment on enzymatic saccharification of pulverized Japanese cedar powder. *J. Jpn. Inst. Energy*, **94**(10), 1098-1104.

- 4) 古田太郎 (1994) 食品衛生分野におけるアルコール製剤の利用、*ジャパンフードサイエンス*、**33**(4), 58-64.
- 5) 山下勝 (1996) アルコール類の微生物に対する作用、*防菌防黴*、**24**(3), 195-219.
- 6) Shinya Y., Funabashi N., Lee, K., Toyoda T., Sekine T., Honjo S., Hasegawa R., Kawata T., Wakatsuki Y., Hayashi S., Murakami S., Koike K., Daimon M., and Komuro I. (2007) Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int. J. Cardiol.*, **129**(2), 193-197.
- 7) Martin, G. N. (1998) Human electroencephalographic (EEG) response to olfactory stimulation: Two experiments using the aroma of food. *Int. J. Psychophysiol.*, **30**(3). 287-302.
- 8) 田口寛、伊藤貴恵、耳野弘晃 (2009) ストレス解消に関する研究 エッセンシャルオイルが脳波に及ぼす影響、*三重大学大学院生物資源学研究科紀要*、**36**, 31-38.



秋田スギから製造したバイオエタノールの
殺菌効果と香りによる癒し効果
(原料の杉葉)
進藤昌 No. 21 8-14 (2019)



秋田スギから製造したバイオエタノールの
殺菌効果と香りによる癒し効果
(消毒用アルコール)
進藤昌 No. 21 8-14 (2019)