

ヒノキ間伐材抽出成分の組成分析

Chemical composition of extracts from forest thinning residues of *Chamaecyparis obtusa*

山田 建太¹, 武田 圭斗¹, 佐藤 真², 高田 勝己³, 村上 篤司⁴

YAMADA Kenta, TAKEDA Keito, SATO Makoto, TAKADA Katsumi, MURAKAMI Atsushi

1. 背景

近年、化石燃料だけではなく幅広い天然資源の利用が求められる中で、木質バイオマスの利用が期待されている。一般にバイオマスとは、化石燃料を除く再生可能な生物由来の有機性資源を指し、木材からなるバイオマスが木質バイオマスと呼ばれている¹⁾。

日本では、戦後の拡大造林期間にスギ・ヒノキ等の人工林の造成を進めた結果、その面積は約1,000万 ha に達し、現在それら森林資源が活用の時期を迎えている²⁾。一方、森林整備や木材利用によって大量の木材由来廃棄物が生じることから、それらの有効利用が課題となっている¹⁾。製材工場等から生じる端材やおがくず等の木材加工残渣は、木質ボード原料や家畜敷料、木質ペレット等への利用が進んでいるが、樹皮については、一部は堆肥化されているが、その他の利用方法が少なくほとんどが廃棄されている。また、森林整備において伐採される間伐材については、多くが森林内に放置され、年間約2千万 m³ の未利用材が生じていることが報告されている¹⁾。

ヒノキ材が有する抗菌・防虫効果のような優れた特性は、樹木に含まれる様々な天然成分が寄与していると考えられている。とりわけ、多種のテルペン類が抗菌活性や抗蟻活性殺虫効果を有することが知られており^{4),5)}、それら成分を抽出して医薬部外品や食品添加物、農薬等の有効成分として利用することが期待されている。また、ヒノキ樹皮に含まれていることが知られている ferruginol は、近年世界中の病院で院内感染の病原菌となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対しても優れた抗菌活性を示すことが報告されており⁶⁾、ferruginol をリード化合物とした誘導体が合成され、新薬の開発が期待されている⁷⁾。さらに、ヒノキ木材や葉油由来の精油に含まれているモノテルペン類の α -pinene や 1,8-cineole が、アセチルコリンエステラーゼ阻害活性を有することが報告されており⁸⁾、アルツハイマー型認知症の対症療法への利用が期待されている⁹⁾。

ヒノキの木材加工残渣や間伐材は建築資材としての商業価値は低いが、様々な生物活性を有する成分を含んでいると推測される。従って、有効に利用されていないヒノキ間伐材や木材加工残渣から、成分を抽出し抗菌剤や殺虫剤、害虫忌避剤としての利用が可能となれば、木質バイオマスとして資源化する

¹ 常葉大学 社会環境学部

² 株式会社コーヨー化成

³ タカダテクノコンサルタント

⁴ 環境科学研究所

ことが期待できる。このような木質バイオマスの利用は、家畜敷料や堆肥として利用するよりも付加価値が高いと言える。そこで本研究では、ヒノキ間伐材に含まれる成分の利用方法を検討する為に重要な抽出成分の化学的データを得ることを目的とし、ヒノキ材から成分を抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いて、抽出成分の組成を分析した。

2. 実験方法

2-1. 試薬

植物試料からの成分抽出や、機器分析試料の前処理に使用したメタノール (HPLC 用, 純度 >99.8%)、*n*-ヘキサン (PCB・残留農薬試験用, 純度 >96.0%)、無水硫酸ナトリウム (特級, 純度 >99.0%) は、関東化学株式会社より購入した。また、抽出液に含まれる成分の保持指標 (retention index; RI) を算出するために、炭化水素混合試料 (C9 ~ C40, ジーエルサイエンス株式会社) を用いた。トリメチルシリル (TMS) 化剤として用いた *N,O*-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA, ガスクロマトグラフ用, 純度 97.0%) は、和光純薬株式会社より購入した。

2-2. 試料の調製

本研究では、静岡県富士宮市で植栽されたヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) の間伐材を植物試料とした。ヒノキ材は、樹皮、辺材、心材を別にせず、全てグラインダーを用いて細かく粉碎・攪拌した。この試料 5 g (生重量) を約 100 mL のメタノールに浸漬し、超音波を 5 分照射した後、ろ紙を用いてメタノール溶液をろ過した。この操作を 3 回繰り返して得られた抽出液を、ガラス繊維ろ紙 (孔径 1 μ m) でろ過し、メタノールで 300 mL に定容した。このメタノール溶液は、冷蔵保存 (5 $^{\circ}$ C) し、使用時に必要量を分取した。

メタノール抽出液を試験管に 2 mL 採り、窒素気流下でメタノールを除去した。その後、精製水と *n*-ヘキサンを 2 mL 添加して 5 分間振とうした。水相と *n*-ヘキサン相が分離した後、*n*-ヘキサン相を分取し、無水硫酸ナトリウムを添加して 30 分静置したものを GC-MS 測定用の抽出試料とした。また、水酸基を有し揮発し難い成分を検出する為に、GC-MS 測定用試料を 1 mL 試験管に分取し、誘導体化試薬として BSTFA を 0.1 mL 添加し、1 時間室温で静置した後、GC-MS で測定した。

2-3. 分析装置と解析方法

本研究ではヒノキ試料の分析に、アジレント・テクノロジー株式会社製の GC-MS (5977B MSD) と、分離カラムとしてキャピラリーカラム (J&W, HP-5 MS Ultra Inert, 30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m) を用いた。昇温プログラムは、60 $^{\circ}$ C を 1 分間保持した後、2 $^{\circ}$ C/min で 300 $^{\circ}$ C まで昇温し、300 $^{\circ}$ C を 5 min 保持するように設定した。キャリアガスには高純度 He ガスを用い、流速は 1.3 mL/min (圧力: 10.8 psi) に設定した。注入口温度、イオン源、インターフェースの温度は 250 $^{\circ}$ C とし、四重極の温度は 150 $^{\circ}$ C とした。イオン化法は EI 法 (70 eV) とし、スキャン質量数の範囲は *m/z* 50 から 550 (スキャン速度: 1,562) に設定した。試料の注入量は 1 μ L とし、スプリットレス法により注入した。

GC-MS 測定によってヒノキ試料から検出された成分の分子構造式を推定する為に、アジレント・テクノロジー株式会社製の解析ソフトである MSD Chemstation (F.01.03.2357) と、Mass Hunter

Workstation, Qualitative Analysis (Ver. 13.07.00, Sp 2) を用い、national institute of standards and technology (NIST) のデータベースに保存されているマススペクトルデータと比較した。NIST のデータベースとして、NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (Data Version: NIST 14) を用い、解析ソフトによってライブラリ検索を行い、マススペクトルデータの一致率を評価した。

また本研究では検出された成分を推定するために、マススペクトルデータだけではなく、RI を既報と比較した。RI の計算は、式 1 に示した Van Den Dool and Kratz の方法¹⁰⁾ を用い、本研究と同じ無極性カラム (HP-5) で測定され、かつ同じ計算方法で算出された文献値と比較した。

$$RI = 100n + 100 (t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n) \dots \text{(式 1)}$$

n: 未知ピークより保持時間が早く、かつ最も近接した炭化水素化合物の炭素数

t_x : 測定試料から検出された未知ピークの保持時間

t_n : 未知ピークより保持時間が早く、かつ最も近接した炭化水素化合物の保持時間

t_{n+1} : 未知ピークより保持時間が遅く、最も近接した炭化水素化合物の保持時間

3. 結果と考察

3-1. 抽出試料に含まれる成分の検出と分子構造式の推定

GC-MS 測定によって得られたヒノキ試料のトータルイオンクロマトグラム (TIC) を図 1 に示す。これより、ヒノキ材から抽出された成分と推測される 19 種のピークが検出された。各ピークのマススペクトルと推定された分子構造式を図 2 と図 3 に示す。また、各ピークの保持時間と RI、面積値の比率、推定された成分の化合物名、NIST ライブラリのマススペクトルとの一致率を表 1 に示す。

保持時間 34 ~ 45 分の間に検出されたピーク番号 1、2、3、5、6、8、10 のピークは、 $C_{15}H_{24}$ に由来すると推測される m/z 204 が分子イオンピークとして観測された。また、セスキテルペン類から観測される特徴的なマスフラグメントである $C_{12}H_{17}$ に由来すると推測される m/z 161 や、 C_8H_9 に由来すると推測される m/z 105 がベースイオンピークとして観測されたことから、セスキテルペン類と推定された。さらに NIST ライブラリの検索結果と、RI の値を文献と比較した結果、ピーク 1 は γ -muurolene、ピーク 2 は α -muurolene、ピーク 3 は 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene、ピーク 5 は γ -cadinene、ピーク 6 は δ -cadinene、ピーク 10 は τ -cadinol と推定された。ピーク 8 と 10 については、セスキテルペン類と推測されたが、NIST ライブラリのマススペクトルと高い一致を示す分子構造式が無く、推定はできなかった。

ピーク 4 は、分子イオンピークと推測される m/z 202 と、分子イオンピークである m/z 159 が観測された。このマスフラグメントパターンは、cis-calacorene のマススペクトルデータと 91% の一致率であった。またピーク 7 は、分子イオンピークと推測される m/z 200 と、ベースイオンピークである m/z 139 が観測された。このマスフラグメントパターンは NIST ライブラリの α -calacorene と 90% の一致率を示した。さらに、RI の値も文献値と近似していたことから、ピーク 4 は cis-calacorene、ピーク 7 は α -calacorene と推定された。

ピーク 10 と 11 は、分子イオンピークと推測される m/z 222 が観測され、その他に特徴的なフラグメ

表 1. ヒノキ試料から検出された成分の推定と組成

No.	RT ^{a)}	RI ^{b)}	area ^{c)}	CAS No.	Components	一致率 ^{d)}	RI _{ref.} ^{e)}	Ref. ^{f)}
1	34.44	1470	0.5	30021-74-0	γ -muurolene	90	1477	11)
2	35.87	1494	0.1	31983-22-9	α -muurolene	98	1496	12)
3	36.59	1506	1.4	483-75-0	1,2,4a,5,6,8a-hexahydro -4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)- naphthalene	97	1504	13)
4	37.16	1516	1.2	72937-55-4	cis-calamenene	91	1520	14)
5	37.23	1517	1.7	39029-41-9	γ -cadinene	94	1514	15)
6	37.95	1530	0.7	483-76-1	δ -cadinene	91	1528	16)
7	38.20	1534	0.2	21391-99-1	α -calacorene	90	1533	11)
8	42.98	1619	0.5	-	n.i. ^{g)}	-	-	-
9	43.72	1632	7.6	5937-11-1	τ -cadinol	95	1635	17)
10	43.98	1637	1.8	-	n.i.	-	-	-
11	44.43	1645	10.0	481-34-5	α -cadinol	87	1646	18)
12	45.51	1665	1.3	483-78-3	1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-naphthalene	95	1674	19)
13	48.80	1726	1.2	1911-78-0	oplopanone	93	1707	20)
14	64.22	2041	4.4	596-85-0	13-epimanolo	90	2056	21)
15	73.19	2247	4.2	-	n.i.	-	-	-
16	75.53	2302	6.9	-	n.i.	-	-	-
17	75.77	2309	21.9	514-62-5	ferruginol	96	2325	19)
18	87.10	2601	6.0	511-05-7	sugiol	95	2659	22)
19	101.55	3023	26.7	26543-89-5	hinokinin	96	3096	22)

a) retention time [min]

b) retention index on nonpolar column HP-5MS UI.

c) TIC の面積値から算出された比率 [%]

d) NIST ライブラリのマススペクトルとの一致率 [%]

e) 引用文献の RI

f) 文献番号

g) n.i.: not identified

ントイオンピークとして、 m/z 204、161、121、105、95 が観測された。このフラグメントパターンからセスキテルペンアルコールと推測された。RI の値と文献を比較したところ、ピーク 9 は τ -cadinol と、ピーク 11 は α -cadinol と近似していた。また NIST ライブラリ検索の結果から、二つの成分のマススペクトルと高い一致率を示したことから、ピーク 9 は τ -cadinol、ピーク 11 は α -cadinol と推定された。

ピーク 12、13、14 については、NIST ライブラリ検索の結果から、最も高い一致率を示した 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-naphthalene、oplopanone、13-epimanolo とそれぞれ推測された。RI の値も文献値と近かったが、より正確な分子構造式を推定するためには、GC-MS のマススペクトルデータだけではなく、様々な分光分析データが必要である。

GC 保持時間が 73 ~ 88 分の間に検出されたピーク番号 15、16、17、18 は、分子イオンピークとフラグメントパターンから、ジテルペン類と推測された。ピーク 17 は分子イオンピークと推測される m/z 286 が観測され、ベースイオンピークとして 271 が観測された。NIST ライブラリ検索の結果から、96% の高い一致率でアビエタン型ジテルペン類である ferruginol のマススペクトルとの一致を示し、RI の値も文献値と近かったことから、ピーク 17 は ferruginol と推定された。ピーク 18 は、分子イオンピークと推測される m/z 300 が観測され、その他に特徴的なフラグメントイオンピークとして、 m/z 285、243、217、189、163 などが観測された。NIST ライブラリ検索の結果から、95% の高い一致率で sugiol のマススペクトルと一致した。また RI の値も文献値と近かったことから、ピーク 18 は sugiol と推定された。ピーク 15 と 16 は、マスフラグメントパターンからジテルペン類と推測されたが、NIST ライ

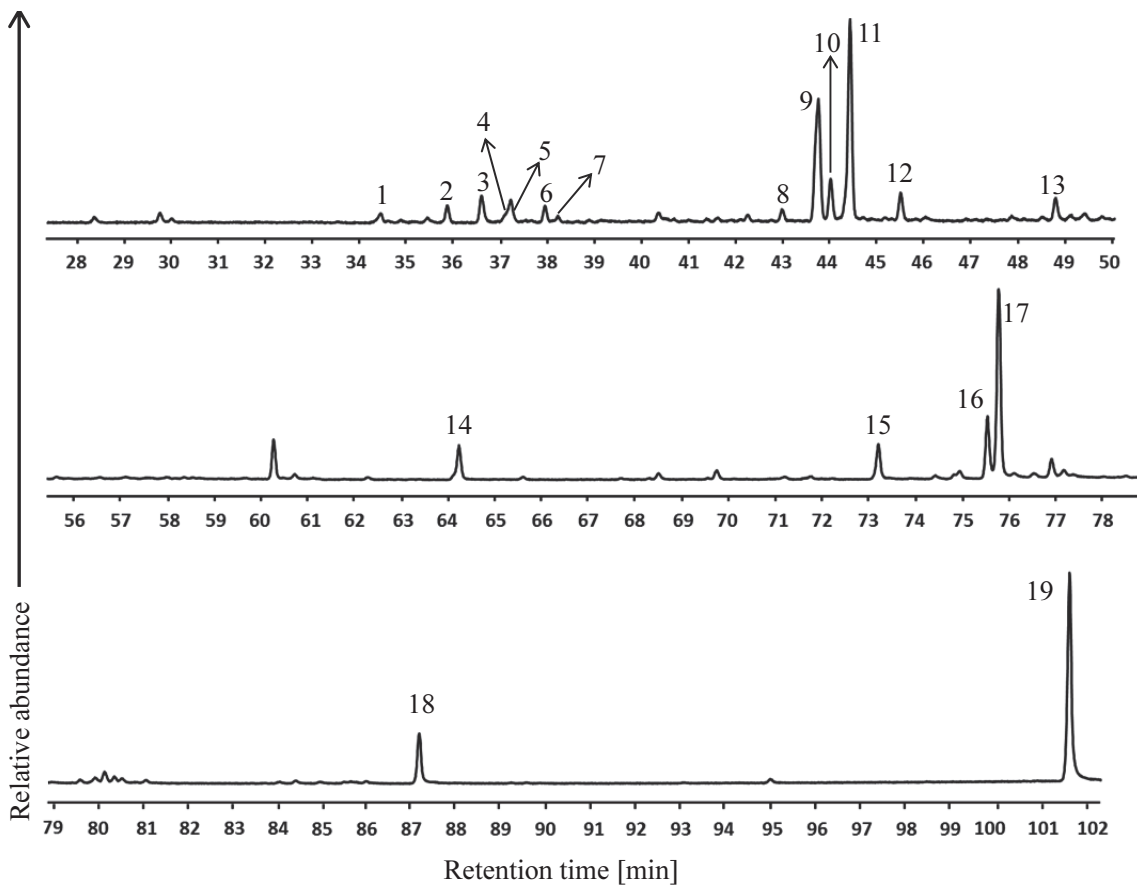


図 1. GC-MS 分析から得られたヒノキ抽出試料の TIC

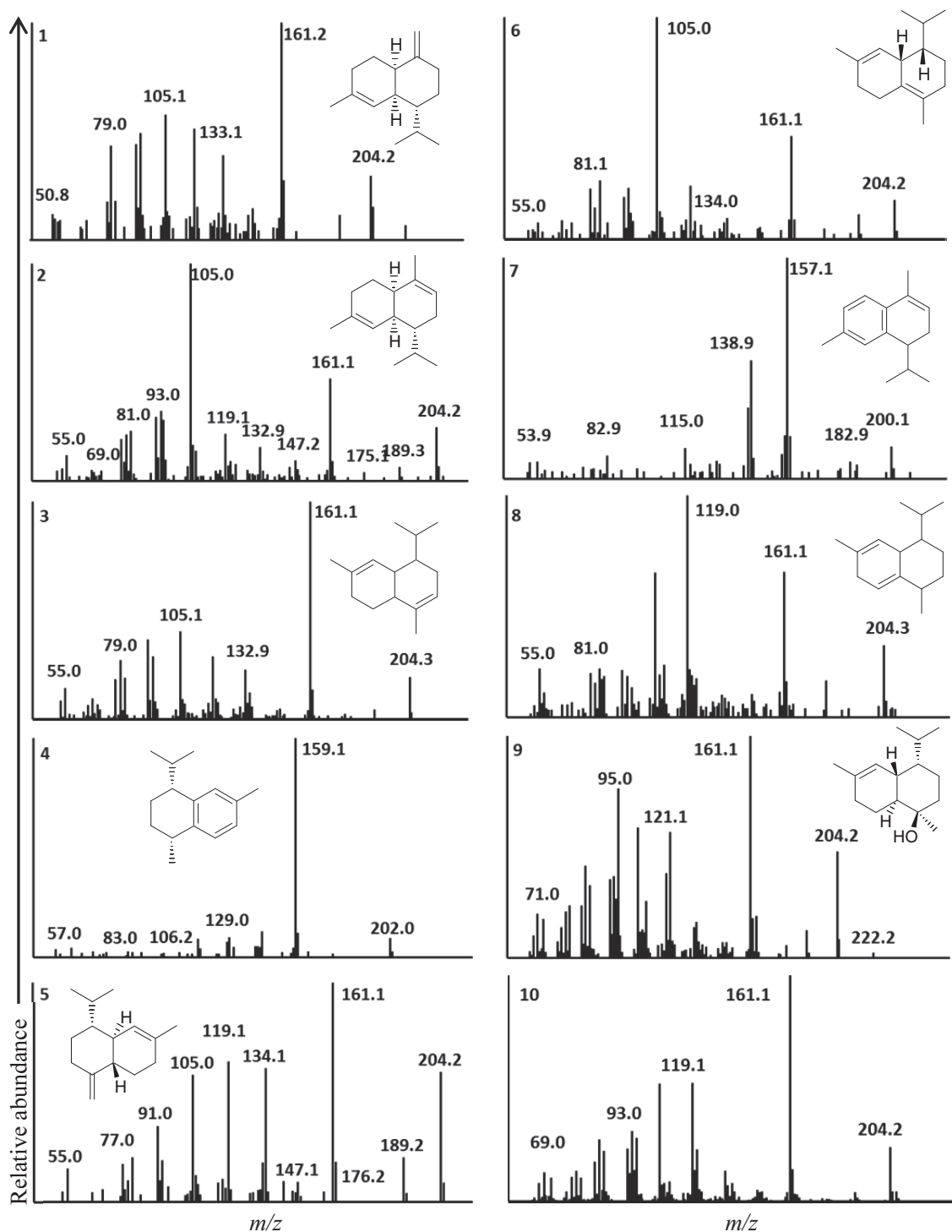


図2. ヒノキ抽出試料から検出されたピークのマスペクトルと推測された分子構造式 I

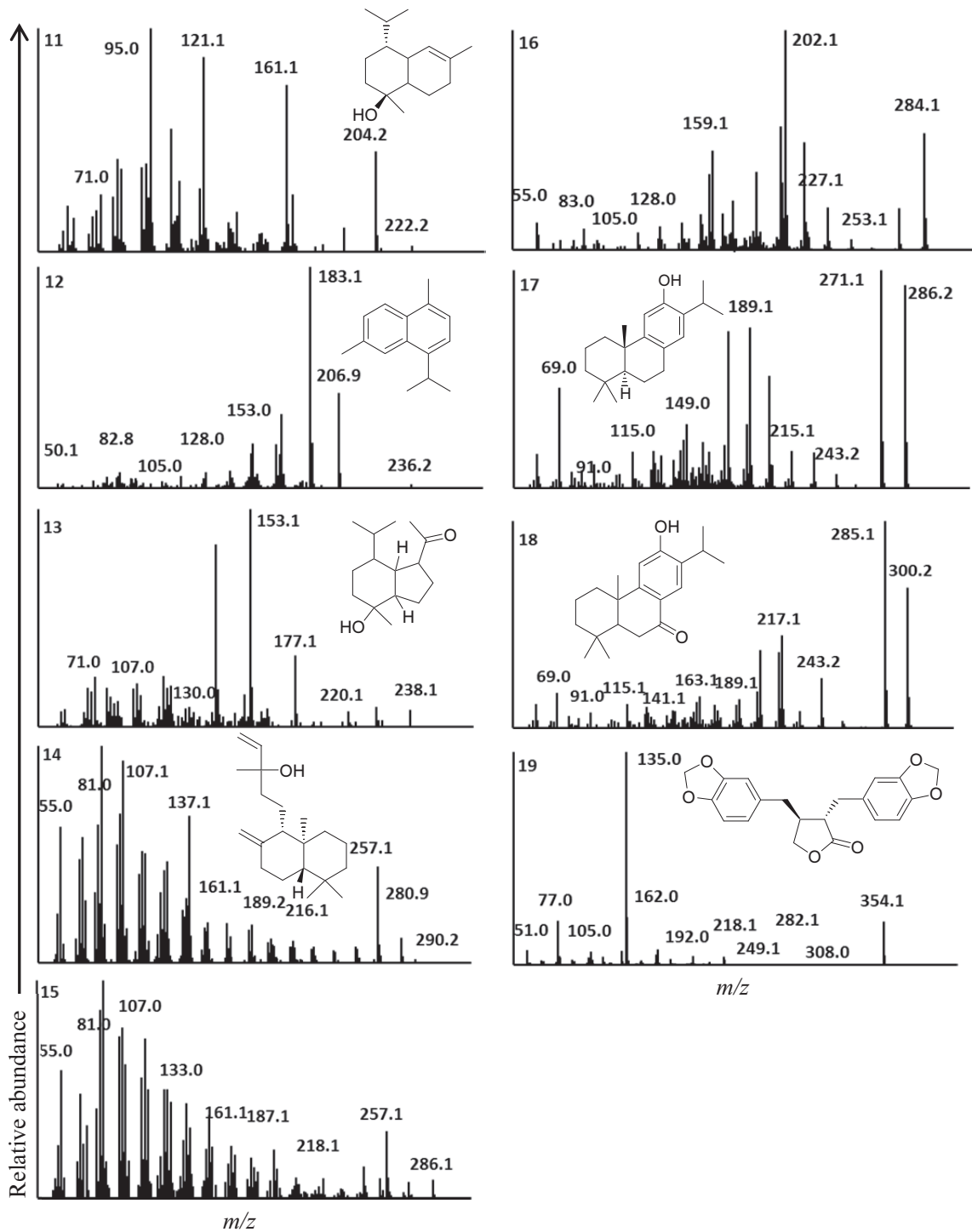


図3. ヒノキ抽出試料から検出されたピークのマスペクトルと推測された分子構造式 II

ブラリのマスペクトルと高い一致を示す分子構造式が無く、本研究データだけでは分子構造式を推定することができなかった。

保持時間 101 分に検出されたピーク 19 は、分子オンピークと推測される m/z 354 が観測され、ベースイオンピークとして m/z 135 が観測された。NIST ライブラリ検索の結果から、このフラグメントパターンは、リグナン類である hinokinin のマスペクトルと 96% の高い一致率を示した。また文献値の RI と近い値であったことから、ピーク 19 は hinokinin と推定された。

3-2. TMS 化によってヒノキ試料から検出された成分の推定

ヒノキ試料に TMS 化剤を添加し、GC-MS で測定した結果得られた TIC を図 4 に示す。保持時間 55 分から 79 分の間で、TMS 化されたと推測される主要なピークが 4 種検出された。それらピークのマスペクトルを図 5 に示す。これより、保持時間 72.6 分に検出されたピーク A は、分子イオンピークと推測される m/z 356 が観測され、ベースイオンピークとして m/z 274 が観測された。また、TMS 化された分子から観測される m/z 73 のフラグメントピークも観測された。NIST ライブラリ検索の結果、このフラグメントパターンは TMS 化された 2,3-dehydroferruginol と 98% の高い一致率を示した。

保持時間 73.2 に検出されたピーク B は、分子イオンピークと推測される m/z 358 が観測され、その他に特徴的なフラグメントピークとして、 m/z 348、273、247、221、73 が観測された。このフラグメントパターンは、NIST ライブラリ検索の結果、TMS 化された ferruginol と 98% の高い一致率を示した。保持時間 75.6 分に検出されたピーク C は、分子オンピークと推測される m/z 374 が観測され、ベースイオンピークとして m/z 121 や 73 が観測された。このフラグメントパターンは、TMS 化された pimaric acid と 90% の高い一致率を示した。保持時間 76.1 分に検出されたピーク D は、分子オンピークと推測される m/z 374 が観測され、ベースイオンピークとして m/z 73 が観測された。このマスペクトルパターンから、TMS 化されたジテルペン類と推測されたが、NIST ライブラリ検索の結果高い一致率を示すマスペクトルデータは無かった。

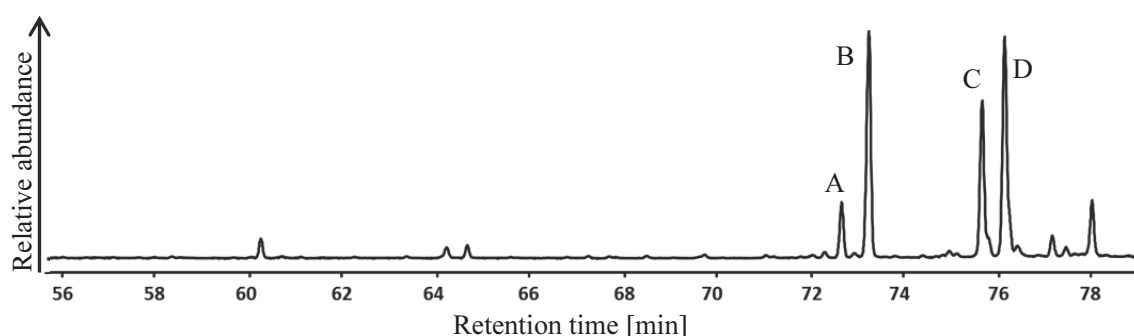


図 4. TMS 化剤を添加したヒノキ抽出試料の TIC

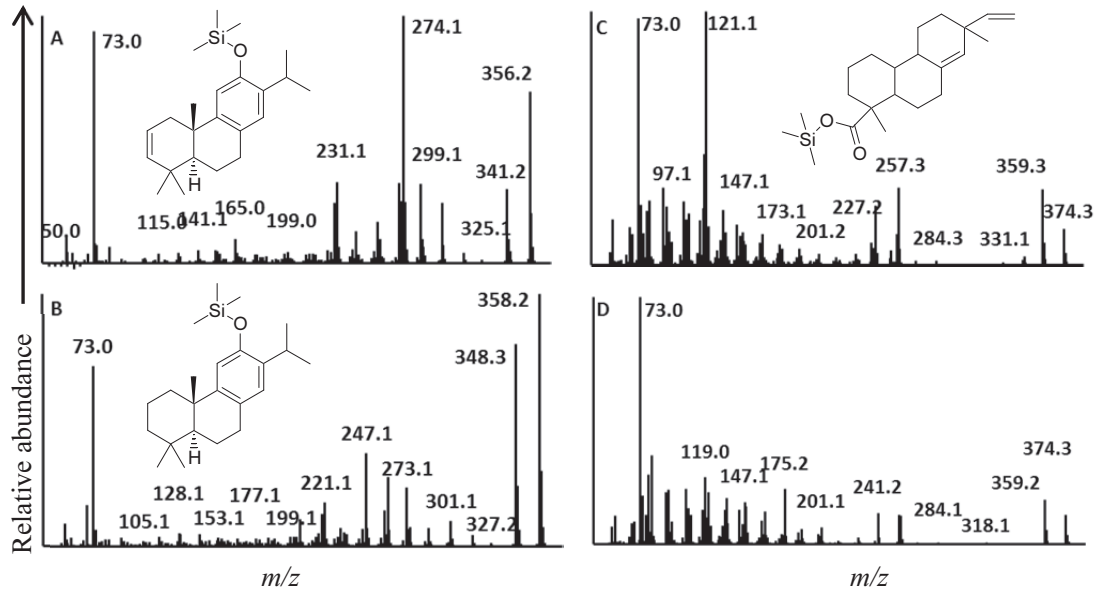


図5. TMS 化剤を添加したヒノキ抽出試料から検出されたピークのマススペクトルと推測された分子構造式

3-3. ヒノキ試料から検出された成分の組成

GC-MS の TIC 面積値から算出した組成比を図6に示した。これより、ferruginol 等を含むジテルペン類の比率が40%と最も高く、次に hinokinin を含むリグナン類の40%、 α -cadinol を含むセスキテルペンアルコール類の24%、 γ -cadinene を含むセスキテルペン類が9%であった。また表1に記載した各成分の比率では、ピーク19の hinokinin が26.7%と最も高く、次に ferruginol (21.9%)、 α -cadinol (10.0%)、 τ -cadinol (7.6%) の比率が高かった。

ヒノキ材抽出成分の分析に関する研究は多数行われており、本研究でも検出された ferruginol や α -cadinol、hinokinin 等が主要な成分として同定されている。一方、ヒノキ材から水蒸気蒸留法で得られる精油の主成分として知られている α -pinene 等のモノテルペン類は、本試料からは検出されなかった。王らは、ヒノキ材由来の精油成分を GC-MS で分析した結果、 α -pinene が約50%、その他にセスキテルペン類が約29%、cadinol が約9%の比率で含まれていたことを報告しており³⁾、本研究のメタノール抽出試料とは成分組成が異なる。本研究と同様にメタノールを用いてヒノキ材から成分を抽出した大橋らは、抽出物に含まれる主要な成分として ferruginol や hinokinin を同定している²³⁾。また、ヒノキ材からヘキサンを用いて成分を抽出した Morikawa et al は、主要な成分として γ -cadinene、 α -cadinol、hinokiresinol、hinokinin を同定したことを報告している⁴⁾。ヒノキ材から抽出される成分は、水蒸気蒸留法では比較的沸点の低いモノテルペン類やセスキテルペン類が得られ、メタノール等を用いた溶媒抽出ではセスキテルペンアルコール類やジテルペン類、リグナン類が主要な成分として得られると考えられる。ヒノキ材に含まれることが予想される α -pinene 等のモノテルペン類は、生物活性を有するだけでなくヒノキの香りに寄与する芳香成分でもあり、芳香剤としての利用も期待できることから、今後は水蒸気蒸留法によるモノテルペン類の抽出も検討する必要がある。

テルペン類やリグナン類は針葉樹樹木の心材部分に多く含まれ^{4), 24)}、ferruginol は樹皮に多く含まれ

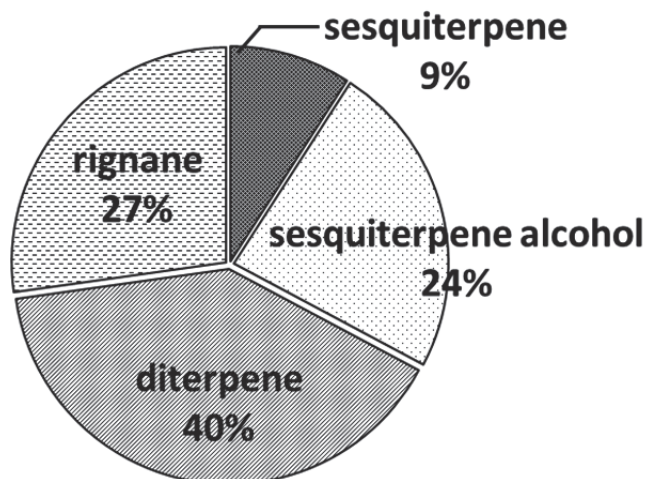


図6. ヒノキ材から抽出された成分の組成比率

ていることが知られている²⁵⁾。本研究では、ヒノキ間伐材や木材加工残渣から抽出できる成分を網羅的に検出することを目的としたことから、樹皮、辺材、心材を全て合わせ、比較的幅広い種類の有機化合物を溶解できるメタノールを抽出溶媒として用いた。その結果、セスキテルペン類、セスキテルペンアルコール類、ジテルペン類、リグナン類と幅広い種類の成分が抽出・検出されたと考えられる。本研究でヒノキ試料から検出された成分は、各種様々な生物活性を有することが知られており、それを利用するためには成分の分離が求められる。今後は、植物試料の部位を分けた抽出や、抽出溶媒を変えることで、目的の成分のみを抽出できる条件を検討する必要がある。

4. まとめ

本研究では、ヒノキ間伐材抽出成分の利用方法を検討する為に重要なデータとなる成分組成を評価した。ヒノキ材からメタノール抽出によって得られた試料をGC-MSで分析した結果、19種の成分が検出された。本研究で分析したヒノキ試料では、 τ -cadinol(7.6%)、 α -cadinol(10.0%)、ferruginol(21.6%)、hinokinin(26.7%)が主要な成分であった。また成分組成比は、セスキテルペン類が9%、セスキテルペンアルコール類が24%、ジテルペン類が40%、リグナン類が27%であり、モノテルペン類は検出されなかった。

本研究でヒノキ試料から検出された主要な成分は、様々な生物活性を有することが知られていることから、廃棄されているヒノキ間伐材や木材加工残渣から、それら成分を抽出して利用することが可能となれば、木質バイオマスとしての資源化も期待される。今後は、異なる有機溶媒を用いた抽出方法や、水蒸気蒸留法による抽出成分の異同の確認、また抽出成分の生物活性を評価することを計画している。

謝 辞

本研究は平成27年度富士市ものづくりチャレンジ補助金の助成事業の一環として進められました。

引用文献

- 1) 東京農業大学農山村支援センター (2015) 再生可能エネルギーを活用した地域活性化の手引き, pp12-23, http://nousanson.jp/data/tebiki_ene2015.pdf
- 2) 林野庁編, 平成 27 年度 森林・林業白書, 第 1 章 国産材の安定供給体制の構築に向けて (2016) p10, <http://www.rinya.maff.go.jp/j/kikaku/hakusyo/27hakusyo/pdf/5hon1-1.pdf>
- 3) 王超男, 大谷慶人, 市浦英明, 西村安代 (2014) “農業害虫オンシツコナジラミ *Trialeurodes vaporariorum* に対する数種の樹木精油の殺虫効果” 森林バイオマス利用学会誌, 9(1): 25-29
- 4) Morikawa T., Ashitani T., Sekine N., Kusumoto N., Takahashi K. (2012) “Bioactivity of extracts from *Chamaecyparis obtusa* branch heartwood” *J. Wood Sci.*, **58**(6): 544-549
- 5) Morita Y., Matsumura E., Okabe T., Fukui T., Shibata M., Sugiura M., Ohe T., Tsujibo H., Ishida N., Inamori Y. (2004) “Biological activity of α -thujaplicin, the isomer of hinokitiol” *Biol. Pharm Bull.* **27**(6): 899-902
- 6) Tada M, Kurabe J, Yoshida T, Ohkanda T, Matsumoto Y. (2010) “Syntheses and antibacterial activities of diterpene catechol derivatives with abietane, totarane and podocarpane skeletons against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*.” *Chem Pharm Bull.*, **58**(6): 818-24.
- 7) Miguel A. González, David Pérez-Guaita (2012) “Short syntheses of (+)-ferruginol from (+)-dehydroabietylamine” *Tetrahedron*, **68**(47): 9612–9615
- 8) Dohi S., Terasaki M., Makino M. (2009) “Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils” *J. Agric. Food Chem.*, **57**(10): 4313-4318
- 9) Winblad B., Messamore E., O’Neill C., Cowburn R. (1993) “Biochemical pathology and treatment strategies in Alzheimer’s disease: emphasis on the cholinergic system” *Acta. Neurol. Scand. Suppl.*, **149**: 4-6
- 10) Van Den Dool H. and Kratz P.D. (1963) “A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas – liquid partition chromatography” *J. ChromatogrA*, **11**: 463-471
- 11) Saroglou, V., Dorizas, N., Kypriotakis, Z., Skaltsa, H.D., (2006) “Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Greece” *J. Chromatogr. A*, **1104**(1-2): 313-322.
- 12) Couladis, M., Özcan, M., Tzakou, O., Akgül, A.(2003) “Comparative essential oil composition of various parts of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L) growing wild in Turkey” *J. Sci. Food Agric.*, **83**(2): 136-138
- 13) Zeng, Y.-X., Zhao, C.-X., Liang, Y.-Z., Yang, H., Fang, H.-Z., Yi, L.-Z., Zeng, Z.-D. (2007) “Comparative analysis of volatile components from *Clematis* species growing in China” *Anal. Chim. Acta.*, **595**(1-2): 328-339.
- 14) Mancini, E., Arnold, N.A., De Martino, L., De Feo, V., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., (2009) “Chemical composition and phytotoxic effects of essential oils of *Salvia hierosolymitana* Boiss. and *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon” *Molecules*, **14**(11): 4725-4736.

- 15) Macchioni, F., Cioni, P.L., Flamini, G., Morelli, I., Maccioni, S., Ansaldi, M. (2003) "Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy" *Flavour Fragr. J.*, **18**(2) : 139-143
- 16) Zhao, C.-X., Liang, Y.-Z., Fang, H.-Z., Li, X.-N. (2005) "Temperature-programmed retention indices for gas chromatography-mass spectroscopy analysis of plant essential oils" (2005) *J. Chromatogr. A*, **1096**, (1-2) : 76-85
- 17) Saroglou, V., Marin, P.D., Rancic, A., Veljic, M., Skaltsa, H. (2007) "Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia" *Biochem. Syst. Ecol.*, **35**(3) : 146-152
- 18) Kim, T.H., Thuy, N.T., Shin, J.H., Baek, H.H., Lee, H.J. (2000) "Aroma-active compounds of miniature beefsteakplant (*Mosla dianthera* Maxim.)" *J. Agric. Food Chem.*, **48**(7) : 2877-2881
- 19) Skaltsa, H.D., Mavrommati, A., Constantinidis, T. (2001) "A chemotaxonomic investigation of volatile constituents in *Stachys* subsect. *Swainsonianae* (Labiatae)" *Phytochemistry*, **57**: 235-244
- 20) Pavlovic, M., Kovacevic, N., Tzakou, O., Couladis, M. (2006) "Essential oil composition of *Anthemis triumfetti* (L.) DC." *Flavour Fragr. J.*, **21**(2) : 297-299
- 21) Karioti, A., Skaltsa, H., Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Economakis, C.D., Salem, A.B. (2003) "Effect of nitrogen concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves of *Salvia fruticosa* Mill. in solution culture" *J. Agric. Food Chem.*, **51**(22) : 6505-6508.
- 22) Andriamaharavo, N.R. (2014) Retention Data. NIST Mass Spectrometry Data Center., NIST Chemistry WebBook, <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- 23) 大橋 英雄, 林秀行, 山田美津子, 安江保民 (1987) "ヒノキのフェノール性心材成分と心材色" 岐阜大農研報, 52: 131-139
- 24) Takaku N, Choi D.H., Mikame K., Okunishi T., Suzuki S., Ohashi H., Umezawa T., Shimada M., (2001) "Lignans of *Chamaecyparis obtuse*" *J. Wood Sci.*, **47**(6) : 476-482
- 25) 小藤田久義, 藤野陽治, 佐々木達也, 長谷部真, 太田路一, 鈴木幸一 (2001) "スギ樹皮の抗菌活性とその関連成分" 木材学会誌, 47(6) : 479-486