木材防腐剤としての化学修飾タンニンおよび タンニン—銅複合体

山 口 東 彦*

Fungal Resistance of Chemically Modified Tannin and Tannin—Copper Complexes as Wood Preservatives

Haruhiko YAMAGUCHI*

The efficacy of Mimosa tannin, chemically modified tannin, and tannin-copper complexes as wood preservatives was evaluated.

Mimosa Tannin (MT), mimosa tannin treated with trichloroacetic acid (TMT), resorcinolated mimosa tannin (RMT) and catecholated mimosa tannin (CMT) were prepared as tannins. The treated specimens showed satisfactory decay resistance in a basidiomycete laboratory test using *Formitopsis palustris* according to the Japanese Industrial Standard (JIS) K 1571 : 1998. When wood powder was treated with these agents, mycelial growth and generated protein decreased to some extent. The preservative effects of the chemically modified tannins (RMT and CMT) or compound agents composed of the tannins and ammonia-copper were considered to be due to inhibition of the activities of xylanase, mannase and CMCase. In the culture medium where treated wood powder was put in with these agents, drop of pH by oxalic acid, which *F. palustris* produces, is not generated.

縮合型タンニンのミモザタンニンを化学修飾し、タンニンのみあるいはタンニン—アンモニア—銅複合薬剤の木材用防腐剤としての性能を検討した。タンニンとして未処理ミモザタンニン (MT)、トリクロロ酢酸処理ミモザタンニン (TMT)、レゾルシノール化ミモザタンニン (RMT)、カテコール化ミモザタンニン (CMT) を準備した。

これらタンニンと銅との複合薬剤で処理した木材に対する耐候操作による薬剤の溶脱はほとんどなく、JIS K 1571 : 1998に準じたオオウズラタケ (*F. palustris*) を用いた腐朽試験の結果、化学修飾タンニン (RMT, CMT) —アンモニア—銅複合薬剤で顕著に腐朽は抑制され、防腐性能基準値 (3 %) を満たした。また、これらのタンニン—銅系薬剤で処理した木粉を入れた液体培地でオオウズラタケを培養したところ、菌糸体の成長が抑制され、タンパク質

*九州大学大学院農学研究院森林資源科学 Forest and Forest products Science, Faculty of Agriculture, Graduate School, Kyushu University, Fukuoka, Japan

(酵素)の生成量はわずかで、培地のpH低下も抑制された。RMTまたはCMT単独、あるいはこれらとアンモニア銅複合薬剤によるオオウズラタケ腐朽に対する防腐効果は、オオウズラタケが産生する酵素の生成抑制、必須微量元素である銅のタンニンによる捕捉、アンモニア銅によるシュウ酸の産生抑制と中和などによると考えた。

1. はじめに

現在使用されている木材保存剤の中には高毒性の成分を含むものがある。これらの毒性成分による住環境あるいは地球環境の汚染を考えると、それら毒性成分を含まない木材保存剤を用いた保存処理をしなければならないことは明らかである。このような観点から環境への負荷が小さく、しかし木材保存活性は高い薬剤の開発が現在望まれている。

タンニンは、分子量500～3,000の水溶性ポリフェノール化合物であり、一般的なフェノール反応を呈し、タンパク質およびアルカロイドを沈殿させる性質を持つ化合物群であり、その構造から加水分解型と縮合型とに分類される。またタンニンはそのタンパク質沈殿能に由来すると考えられる抗微生物活性¹⁾、抗発癌性²⁾、抗酸化能³⁾のほか、錯体形成による重金属沈殿能を有する。加水分解型タンニンは、そのタンパク質、金属、アルカロ

イドなどとの反応性を利用して、古くは皮なめし剤として、現在は医薬品として利用されている⁴⁾。また縮合型タンニンは、近年木質材料用接着剤、凝集剤、塗料などとして実用化もされている⁵⁾。

また、タンニンは木材防腐剤としても使用され、例えば、カテキューに $\text{CuSO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ を加えた薬剤で処理した木材の耐朽性が向上すること、あるいはスルホン化した樹皮抽出物で処理した後 CuCl_2 で処理する方法が木材保存方法としてよい方法であることが示されている⁶⁾。

縮合型タンニンであるミモザタンニンは、レゾルシノール環およびカテコール環を有する化合物であり(図1)抗微生物性を有するが、ヒトにはほとんど無害である。また、銅は、抗微生物性を有するものの、銅鍋などとして用いられるように哺乳動物に対しての毒性は低い。ただ、可溶性塩としての銅は有毒である⁷⁾。

そこで、本研究では、ほぼ無毒と考えられるタンニンの重金属との反応性を利用して、木材中で

図1 化学修飾タンニンの構造模式図⁹⁻¹¹⁾
Fig. 1 Chemically modified MTs. ⁹⁻¹¹⁾

銅イオンをタンニン—銅錯体とすることによって銅を難溶化し、低毒性化し、木材中に固定し、その木材保存剤としての効力を評価した。著者は、先にこのミモザタンニンを用いてタンニン—アンモニア—各種金属イオンの三者混合物で一段階処理した木材が、白色腐朽菌カワラタケ (*C. versicolor*) 腐朽に対して良好な防腐性能を与えることを示した⁸⁾⁹⁾。また、前報¹⁰⁾において、スギ (*C. japonica* D. Don) 丸太へのこれら薬剤の注入性が優れ、処理木材がイエシロアリに対する抗蟻性能を有することを明らかにした。

本報では、モリシマアカシア (*Acacia mearnsii*) 樹皮から熱水抽出したミモザタンニン (MT)、トリクロロ酢酸処理したMT (TMT)、レゾルシノール化MT (RMT)⁹⁾¹¹⁾およびカテコール化MT (CMT)⁹⁾を用い、これら化学修飾タンニンあるいはタンニン—アンモニア—銅複合薬剤で処理した木材に対して、白色腐朽菌カワラタケより腐朽力が強いであろう褐色腐朽菌オオウズラタケを用い⁹⁾、防腐性能と防腐機構を検討した。

2. 実 験

2.1 化学修飾タンニンの調製

MT：モリシマアカシア (*Acacia mearnsii*) 樹皮から熱水抽出したミモザタンニン (市販品) の20% (w/w) 水溶液を遠心分離 (3,000rpm, 30分) して、水不溶解分を除いた。これをMTとする。

TMT：50%MT (1 mol) 水溶液にトリクロロ酢酸 (0.257mol) を加え、攪拌下、86℃湯浴中、120分間加熱した。冷却後、2 N NaOH で中和した。これをTMTとする。

RMT および CMT：65%MT (1 mol) 水溶液にトリクロロ酢酸 (0.257mol) およびレゾルシノール (1.54mol) あるいはカテコール (1.54mol) を加え、攪拌下、86℃湯浴中、90分間加熱した。冷却後、2 N NaOH で中和した。これらをそれぞれRMT および CMT とする。

化学修飾タンニンを脱イオン水中で透析 (分画分子量500, Spectrum Medical Industries, Inc 製) した後、凍結乾燥して保存した。各タンニンはMTとして5% (w/w) となるように脱イオン水を加えて使用した。各化学修飾タンニンの構造模式図⁹⁻¹¹⁾を図1に示す。

2.2 タンニン—銅錯体の定量分析

0.1M CuCl₂水溶液と化学修飾および未修飾タンニンの5%水溶液とを容量比1：1で混合した。生成したタンニン—銅錯体 (沈殿) を濾紙 (アドバンティック東洋(株)製, NO. 7) でろ過し、250 ml の脱イオン水で洗浄し、105℃で24時間乾燥して重量を測定した。

2.3 薬剤の調製

タンニン (MT, RMT, CMT) 溶液：5% (w/w) タンニン水溶液と脱イオン水を容量比15：29で混合した。

タンニン—アンモニア—銅 (MT-Cu, RMT-Cu, CMT-Cu) 溶液：5%タンニン水溶液に18%アンモニア水溶液を加え、その後0.1M CuCl₂水溶液を容量比15：14：15で混合した。この方法でおこなうと、MT, RMT, CMT の場合、タンニン—銅錯体が生成されないで、一回の処理で木材に注入できる。

2.4 防腐性能

JIS K. 1571：1998に準じて、褐色腐朽菌オオウズラタケ *Fomitopsis palustris* (Berk. Et Curt. Gilbn. & Ryv. FFPRI 0507) に対する耐朽性能を測定した。スギ辺材から、一条件あたり18個の試験片 (20×20×10mm 繊維方向) を調製した。試験片をプラスチック容器に入れ試験片の上に重しを載せた後、減圧デシケータ中に入れた。真空ポンプ (吸引速度100 l/min) で30分間減圧した後、減圧を保ったまま薬剤をデシケータ中のプラスチック容器に導入し、試験片を薬剤に浸漬した。30分間減圧を保った後、大気圧に戻し24時間室温に放置した。試験片を取り出し、それぞれ9試験片ずつ2組に分けた。

1組の試験片を腐朽試験前に耐候操作に供した。耐候操作は室温水中浸漬8時間後、60℃で16時間乾燥する操作を10回繰り返した。

これらの試験片をオオウズラタケによる腐朽試験に供した。腐朽試験はインキュベータ中、光 (40W×2) 照射下、30℃、相対湿度70±5%で12週間おこなった。

2.5 防腐機構の検討

オオウズラタケ腐朽に対するこれら薬剤による防腐機構を検討した。オオウズラタケの菌糸体成長量の測定には20～42メッシュのスギ辺材木粉

を、酵素活性阻害を測定する実験では200メッシュを通過した木粉を用いた。絶乾1g相当の気乾木粉にそれぞれ4mlの薬剤を添加した。試料を時々攪拌しながら乾燥した後、耐候操作を10回行った。耐候操作は、試料重量の20倍重量の脱イオン水を加え、室温に1時間保った後、ガラスフィルター(G3)で捕集後60℃で23時間乾燥する操作を10回繰り返した。処理木粉は気乾状態で使用した。

液体培地として Highley の基本液体培地¹²⁾ [2g NH_4NO_3 , 2g KH_2PO_4 , 0.5g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.57mg H_3BO_3 , 0.036mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.31mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.039mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.018mg $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.015mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1mg チアミン塩酸塩, 炭素源としてグルコース (2g), および脱イオン水 (1ℓ)] を用いた。

菌糸体の成長阻害を測定する場合、絶乾0.5gに相当する処理木粉(気乾状態)と50mlの液体培地を500ml三角フラスコに入れた。酵素活性阻害を測定する場合には、絶乾0.8gに相当する処理木粉と80mlの液体培地を500ml三角フラスコに入れた。オートクレーブ(121℃, 30分)で滅菌した液体培地表面に、平板培地で前培養したオオウズラタケを植菌した。成長阻害を測定する試験の場合は10日間、酵素活性阻害を測定する場合は14日間、光(40W×2)照射下、30℃, 相対湿度70±5%で静置培養した。

2.5.1 菌糸体成長阻害度の測定

菌糸体および培地をビーカーに移し入れ、少量の脱イオン水を加えた。菌糸体と木粉を注意深くビーカー中で分け、菌糸体を重量既知のガラス繊維濾紙(GA 100; 東洋濾紙製)で濾別した。乾燥後秤量し、菌糸体の重量を算出した。

2.5.2 全タンパク量と酵素活性の測定

2.5.2.1 粗酵素の調製

培養液のpHを測定した後、菌糸体と培地を、0.1M酢酸緩衝液(pH5.5)を用いて培養容器からビーカーに移した。氷冷しながら超音波破碎機(USP-400A, 島津製作所製)で30分間(1秒-1秒パルス)菌糸体を破碎した。固体(菌糸体と木粉)と液体(酵素を含む培地)をガラス繊維濾紙で分離した。

液体に硫酸アンモニウムを90%飽和まで添加し、冷蔵庫(3±1℃)中で16時間塩析した。その後、0℃, 10,000rpmで30分間遠心分離し沈殿を集めた。沈殿を透析膜(Viskase Sales Co.Ltd製)に入れ、0.1M酢酸緩衝液(pH5.5)に対して3日間冷蔵庫中で繰り返し透析した。透析膜内容物を0℃, 10,000rpmで30分間遠心分離し沈殿を除いた。上澄み液に0.1M酢酸緩衝液(pH5.5)を加え一定量とした。この溶液を粗酵素液とし、タンパク質の定量および酵素活性の測定に供した。

2.5.2.2 タンパク質の定量

Bradford のミクロ法¹³⁾で粗酵素中のタンパク質を定量した。粗酵素液に染料(Bio-Rad Laboratories)を加え、室温で5分間攪拌した後、595nmでの吸光度を測定した。

2.5.2.3 酵素活性の測定

粗酵素液のキシラナーゼ活性、マンナーゼ活性、カルボキシメチルセルラーゼ活性を調べた。また、オオウズラタケが産生するシュウ酸による液体培地のpH変化を測定した。

マンナーゼ活性

基質として、0.5%グルコマンナン(コンニャク芋由来)0.1M酢酸緩衝溶液を(pH5.0)を用いた。基質(1ml), 0.5m緩衝溶液および0.5ml粗酵素溶液を混合し、40℃で30min反応した後、反応容器を5分間煮沸水につけ酵素を失活させた。生成した還元糖の量を、Somogyi-Nelson法¹⁴⁾で660nmでの吸光度を測定し、求めた。マンナーゼ活性1Unitは、1分間に1μmolのマンノースを生成する酵素量とした。

キシラナーゼ活性

0.1M酢酸緩衝液(pH 5.5) 1mlを1% (w/v) β-1,4-キシラン(カバ材由来)分散水溶液1mlに添加し、37℃に保った。粗酵素液0.5mlをこの溶液(基質)に加え、混合物を激しく攪拌した後、37℃に15分間保った。沸騰水中に5分間浸漬して酵素を失活させた後、氷浴中で冷却し、5,000rpmで15分間遠心分離した。蒸留水1mlを上澄み液1mlに加え、酵素反応で生成した還元糖量をSomogyi-Nelson法¹⁴⁾で500nmの吸光度を測定し求めた。キシラナーゼ活性1Unitは、1分間に1μmolのキシロースを生成する酵素量とした。

図2 タンニン-銅錯体生成に及ぼすタンニンへの化学修飾の影響

Fig. 2 Effect of chemical modification to tannin on the formation of tannin-copper complexes.

カルボキシメチルセルラーゼ (CMCase) 活性

カルボキシメチルセルロース(置換度0.53)を基質として使用した。0.5%基質水溶液 1 ml に緩衝溶液 (pH 5.5) を加えた後0.5ml の粗酵素液を加えた。40℃で30分間反応させた後、反応容器を5分間煮沸水につけ酵素を失活させた。生成した還元糖の量を Somogyi-Nelson 法¹⁴⁾で500nmでの吸光度を測定し求めた。CMCase 活性 1 Unit は、1分間に 1 μmol のグルコースを生成する酵素量とした。

3. 結果と考察

3.1 タンニン-銅錯体の形成

タンニン水溶液に塩化銅水溶液を添加して生成したタンニン-銅錯体の重量を図2に示す。MTと比較して、CMTとTMTは多量にタンニン-銅錯体を生成した。

タンニンの化学修飾によって、タンニン-銅錯体生成量が増加した原因は、次のように考えられる。Pizzi ら⁹⁾は、RMTの調製において、MTのフラボノイド骨格のC環がトリクロロ酢酸処理によって開裂し、レゾルシノール基がこの開裂部位に導入されるとしている。このタンニン構造の変化によるA環あるいはB環のフレキシブル性の増大と、新たに導入されたレゾルシノール環あるいはカテコール環によって銅イオンの捕捉性が増

図3 オオウズラタケ腐朽による質量減少率

Fig. 3 Mass loss by the decay test using *F. palustris*.

大したと考えられる。

また、化学修飾タンニンのうちTMTは最も多量のTMT-銅錯体を生成し、アンモニアが共存しても錯体(沈殿)が生成する。このため、一段処理用注入剤を調製できなかった。TMTの場合、フラボノイド骨格のC環の開裂によるA環あるいはB環の動きの自由度が増大し、C環の開環部分にフェノール環が導入されたRMTあるいはCMTより反応性が高くなったことが原因と考えられる。また、CMTとRMTの錯体生成能の差は、付加したカテコール環とレゾルシノール環の錯体生成能の差および錯体性能に劣るレゾルシノール環による立体障害が原因と考えた。

3.2 防腐機構

3.2.1 防腐性能

本報の方法で薬剤を注入した場合の試験片に対する注入量は、それぞれ重量%でMTは 2.5 ± 0.7 , RMTは 4.4 ± 1.1 , CMTは 4.8 ± 1.0 , MT-アンモニア-銅複合薬剤は 3.9 ± 0.5 , RMT-アンモニア-銅複合薬剤は 8.6 ± 1.0 , CMT-アンモニア-銅複合薬剤は 9.3 ± 0.9 であった。

図3は、オオウズラタケによる木材腐朽に対する薬剤の影響を示している。コントロール試験片の質量減少率と比較して、各薬剤で処理することによって腐朽は明らかに抑制された。特に、試験片をタンニン-アンモニア-銅複合薬剤で処理す

ると、防腐性能は試験片をタンニンのみで処理するより明らかに向上した。

RMT-およびCMT-アンモニア-銅複合薬剤の防腐性能は耐候操作後でも良好であった。CMTは多量にタンニン-銅錯体を生成し(図2),銅耐性菌であるオオウズラタケに対しても,タンニンと銅の相互作用によってその防腐性能は明らかに向上した。

3.2.2 菌糸体成長に及ぼす薬剤の影響

薬剤処理木粉によるオオウズラタケ菌糸体の成長抑制の程度を図4に示す。コントロール木粉(タンニン,アンモニアおよび銅の添加なし)と比較して,化学修飾しないタンニンで処理した場合でも菌糸体の成長は抑制された。

特にCMTは効果的で,CMTの場合でも腐朽による質量減少率も小さく(図3),菌糸体の成長も抑制された。MT-アンモニア-銅複合薬剤で処理した場合には,MTのみで処理した場合より菌糸体の成長は抑制されたが,化学修飾タンニン-アンモニア-銅複合薬剤による菌糸体の成長抑制は,各化学修飾タンニンのみで処理した場合と大差なかった。

3.2.3 タンパク質(酵素)生成に及ぼす薬剤の影響

褐色腐朽菌が木材を腐朽する場合,腐朽初期に

セルロースの重合度が急激に低下すると言われている。褐色腐朽菌の一つであるオオウズラタケが木材を腐朽する場合にも,腐朽の初期段階にセルロースの重合度は急激に低下する。その後,腐朽が進行するとセルロースの結晶領域も分解される¹⁵⁾。木材細胞壁中で,セルロースは,ヘミセルロース,リグニンそしてタンパク質などに覆われている¹⁶⁾。このため,褐色腐朽菌の作用で木材が腐朽する場合,セルロースが分解する前にヘミセルロースなどの分解が必要である。オオウズラタケによる針葉樹の腐朽では,特にマンナンの分解が先ず進行し,腐朽の初期段階(質量減少率15~20%)でのセルロースの分解は少ない。また,カラマツ辺材腐朽では,初期にキシランの含有量も著しく減少するとされている¹⁷⁾。質量減少率が20%以上になるとセルロースの結晶化度も徐々に低下する。また,褐色腐朽菌オオウズラタケによるセルロースの生分解は,セルラーゼによる加水分解だけでなく,産生されるシュウ酸が関係する反応によって,酸化的に分解される¹⁸⁻²⁰⁾。

粗酵素中のタンパク質量および培地のpHに及ぼす薬剤の影響を図5に示す。異なった薬剤で処理することによるタンパク質生成量の変化は,菌糸体成長量の変化と相似していた(図4)。タンニ

図4 オオウズラタケの成長に及ぼす薬剤の影響
Fig. 4 Effect of agent on the growth of *F. palustris*.

図5 オオウズラタケ培養培地に産生するタンパク質量に及ぼす薬剤の影響
Fig. 5 Effect of agent on the quantity of protein produced in medium to culture *F. palustris*.

図6 オオウズラタケ培養培地中のマンナーゼ活性に及ぼす薬剤の影響

Fig. 6 Effect of agent on the mannase activity of medium to culture *F. palustris*.

ン添加によってタンパク質の生成量は、コントロールのそのの半分以下になった。さらに、タンニン-アンモニア-銅複合薬剤で処理した場合、タンパク質の生成はさらに抑制され、約1/3～1/4になった。

菌糸体の成長が最も大きかったコントロール木粉の場合、培地のpH(初期pH5.5)は2.7であった。一方、成長量が小さかったRMT-アンモニア-銅複合薬剤の場合はpH 5.0, CMT-アンモニア-銅複合薬剤の場合はpH 5.1であった。すなわち、これらの薬剤によって、オオウズラタケが産生するシュウ酸によるpHの低下が抑制された。

3.2.4 酵素活性に及ぼす薬剤の影響

それぞれの薬剤で処理した木粉を入れた液体培地でオオウズラタケを培養し、培養期間内にオオウズラタケが産生した菌体内および菌体外酵素の活性を、培養基全体から調製した部分精製粗酵素を用いて測定した。

マンナーゼ活性

マンナーゼ活性に及ぼす薬剤の影響を図6に示す。MTで処理した木粉の場合のマンナーゼ活性は特に高い。熱水抽出した原料タンニン粉末の水溶液から遠心分離によって水不溶解分のみを除いたMTで木粉を処理したので、MT中に含まれる糖類がマンナーゼ活性を向上させたと考えた。

図7 オオウズラタケ培養培地中のキシラナーゼ活性に及ぼす薬剤の影響

Fig. 7 Effect of agent on the xylanase activity of medium to culture *F. palustris*.

RMTあるいはCMTで処理した木粉の場合のマンナーゼ活性でも、無処理木粉の場合のマンナーゼ活性と同レベルまでしか低下しなかった。さらに、RMT-またはCMT-アンモニア-銅複合薬剤で処理した場合でも、マンナーゼ活性はわずしか低下しなかった。しかし、RMT-アンモニア-銅複合薬剤で処理した木粉の場合、マンナーゼ活性は最も抑制されコントロールのそのの約1/2となった。

キシラナーゼ活性

キシラナーゼ活性に及ぼす薬剤の影響を図7に示す。マンナーゼ活性の場合と比較して、MTのみで処理しても活性がコントロールよりも向上することはなかった。しかし、キシラナーゼ活性の抑制は小さく、CMTの場合に、やや活性が低くなった程度であった。また、化学修飾タンニン-アンモニア-銅複合薬剤で処理した木粉の場合でも、キシラナーゼ活性の抑制は小さく、コントロールのそのの約80%の活性を示した。

CMCase活性

CMCase活性に及ぼす薬剤の影響を図8に示す。木粉をタンニン-アンモニア-銅で処理した場合、CMCase活性はコントロールの約1/2.5に抑制された。

しかしながら、キシラナーゼ活性およびマンナーゼ活性が阻害されることは腐朽菌による初期

図8 オオウズラタケ培養培地中に産生するカルボキシメチルセルラーゼ活性に及ぼす薬剤の影響
Fig. 8 Effect of agent on the CMCase activity of medium to culture *F. palustris*.

腐朽が抑制されることを意味し、CMCase 活性が阻害されることはその後の腐朽が遅れることを意味している。

ま と め

未処理ミモザタンニン (MT), トリクロロ酢酸処理ミモザタンニン (TMT), レゾルシノール化ミモザタンニン (RMT), カテコール化ミモザタンニン (CMT) のみ, あるいはこれらタンニンとアンモニア銅複合薬剤のオオウズラタケによる腐朽に対する防腐性能は, 化学修飾タンニン (RMT, CMT) - アンモニア銅複合薬剤で大きく, 防腐性能基準値 (3%) を満たした。これらタンニン-銅系薬剤によるオオウズラタケの成長抑制, 酵素の生成抑制, シュウ酸の産生抑制と中和などによる pH 低下の抑制が観察された。

また, これらのタンニン-銅系薬剤は木材への注入性も良くイエシロアリによる木材の食害も抑制する¹¹⁾ことから, 天然フェノール性化合物を主原料とする木材保存剤としての可能性を有しているといえる。

引用文献

1) 中坪文明, 河本晴雄: 木材の科学と利用技術

II 3. 抽出成分の利用, 日本木材学会研究分科会編, 31-39, 1991.

2) Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Fujiki, H., Yoshida, T., Okuda, T. and Sugimura, T.: *Phytotherapy Res.*, **1**, 44, 1987.

3) 奥田拓男: 日本農学会誌, **69** (9), 1202-1205, 1995.

4) 日本公定書協会編: 第十三改正日本薬局方解説書, 廣川書店, C1654-C1656, 1996.

5) 寺谷文之: 木材の化学, 文永堂出版(株), 東京, 185-192, 1993.

6) Laks, Peter, E., McKaig, P. A. and Hemingway, R. W.: *Holzforschung*, **42**, 299-306, 1998.

7) 志田正二他11名編: 化学辞典, 849, 1981.

8) 山口東彦, 岡村徹也: 木材工業, **50** (4), 155-159, 1995.

9) Pizzi, A. and Roux, D. G.: *J. Applied Polymer Science*, **22**, 2717-2718, 1978.

10) Yamaguchi, H. and Okuda, K.: *Holzforschung*, **52**, 596-602, 1998.

11) Yamaguchi, H., Yoshino, K. and Kido, A.: *J. Wood Sci.*, **48**, 331-337, 2002.

12) Highley, T. L.: *Wood and Fiber*, **5** (1), 50-58, 1973.

13) Bradford, M. M.: *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254, 1976.

14) Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 19-23, 1952.

15) 石原光朗, 志水一允: 林業試験場研究報告, **330**, 153-164, 1984.

16) Keegstra, K., Taimadge, K. W., Bauer, W. D. and Albersheim, P.: *Plant Physiol.*, **51**, 188-196, 1973.

17) 石原光朗, 志水一允: 林業試験場研究報告, **330**, 141-152, 1984.

18) Eriksson, K. E., Pettersson, B. and Westermarck, U.: *FEBS Lett.*, **49**, 282-285, 1974.

19) 島藺平雄: 日本林学会誌, **33**, 393-396, 1951.

20) Takao, S.: *Appl. Microbiol.*, **13**, 732-737, 1965.

(2002. 9. 27受付)

(2003. 1. 14受理)