

日 本 木 材 学 会

北 海 道 支 部 講 演 集

第 45 号

平成 25 年 11 月

日本木材学会北海道支部

旭 川

目 次

〈口頭発表〉

O-1)道産トドマツ材による圧縮木材の生産技術開発

(北海道立総合研究機構林産試験場) ○澤田哲則、戸田正彦、清水光弘、阿部龍雄

(松原産業株式会社) 山崎康弘、松原輝和 . . . . . 1

O-2)強制腐朽処理を施したスギにおけるビスのせん断性能

(北林産試) ○野田康信、東智則、森満範、戸田正彦、(住友林業) 小椋健二、中島裕貴、

(京大生存研) 森拓郎 . . . . . 5

O-3)空気搬送による木質ペレット配送システムの開発

(株式会社イワクラ) ○清原 征裕、高橋賢孝

(苫小牧テクノセンター) 高橋 保行、三浦 修 . . . . . 7

O-4)Electrospun lignin fibers and their application

Xiangyu You , Junlei Duan , Keiichi Koda , Tatsuhiko Yamada , and Yasumitsu Uraki . . . . . 11

O-5)シイタケ廃菌床の酵素糖化

(道総研林産試) ○檜山亮、宜寿次盛生、原田陽、折橋健 . . . . . 15

O-6)カバノキ属樹木における外樹皮の構造と形成

(北大院農) ○渋井宏美、佐野雄三 . . . . . 18

O-7)タモギタケの子実体形成における LED 照射の影響

(北大院農) ○雲英真人、玉井裕、宮本敏澄、矢島崇 . . . . . 22

〈展示発表〉

P-1)西洋下見板貼り耐力壁のせん断性能評価

(北大院農) ○片山知実、佐々木義久、平井卓郎 . . . . . 23

P-2)長期使用された構造用パーティクルボードの接着耐久性

(道総研林産試) ○古田 直之、吹野 信、平林 靖、(北大農) 平井 卓郎 . . . . . 27

P-3)鉄触媒炭化した各種バイオマス炭化物の導電性フィラーとしての応用

(北見工大) ○中川健太郎、本保徹也、鈴木京子、鈴木勉 . . . . . 31

P-4)銅担持木炭から調製した電気二重層キャパシタ電極用炭素の性能 (北見工業大学) ○百崎俊幸・坂下修也・鈴木京子・鈴木勉	33
P-5)香気成分の定量的分析によるインドネシア産沈香の評価 (北大農) ○石井 貴史、(北大院農) 幸田 圭一、玉井 裕、 (FORDA) Ina Winarni、Maman Turjama、(北大院農) 浦木 康光	35
P-6)カラマツ類の枝樹皮組織における二次代謝物の集積 (北林産試) ○関 一人、折橋 健	37
P-7)シラカンバ外樹皮からの終末糖化産物(AGEs)形成阻害成分の探索 (北大院農) ○岡田 直己、久間木 孝史、三橋 進也、重富 顕吾、生方 信	41
P-8)Sphingomonas sp.の異種バクテリアに対する増殖因子の探索 (北大院農) ○高井 亮吾、Mohammad Nazrul Islam Bhuiyan、三橋 進也、鎌形 洋一、生方 信	44
P-9)樹木冬芽における有鱗芽と裸芽の凍結適応機構 (北大院農) ○岡田香織、遠藤圭太、荒川圭太	48
P-10)カラマツ木部由来のデハイドリンタンパク質の凍害保護活性について (北大農) ○加藤潤、坂本友陽、鈴木伸吾、宇梶慎子、荒川圭太	52

## 0-1 道産トドマツ材による圧縮木材の生産技術開発

北海道立総合研究機構 林産試験場 ○澤田哲則、戸田正彦、清水光弘、阿部龍雄  
松原産業株式会社 山崎康弘、松原輝和

### 1. はじめに

圧縮木材は本州以南のスギ材を中心に、床材、家具材を主な用途として普及が進んでいるが、北海道においては生産拠点が無いことから思うように普及が進まないのが現状である。トドマツ人工林木は主伐期を迎えつつあり、中大径材の新たな用途、需要の創出が強く求められており、圧縮木材生産技術に対する木材産業界からの期待は大きい<sup>1)</sup>。床材に関しては、有用な広葉樹資源が枯渇しつつあり、また人工造林による針葉樹材を地材地消で利用し、健全な森林の育成を持続的に図ろうという生物資源の循環利用に対する取り組みが認知されてきたことも、トドマツ圧縮木材の製品化を後押ししている。

圧縮木材にはロールプレスなどを用い、表裏面付近のみを圧縮する表層圧縮と、主に平盤プレスを用い、厚さ全域に渡って圧縮を施す全層圧縮とがある。今回の研究対象は、加工後の用途が重歩行（土足歩行）を含む床材であることから後者の全層圧縮とした。

圧縮木材生産には高温・高圧を加えることのできるホットプレス装置が必要となり、初期投資が大きいことから、プレス能力の設定を行うにも実生産規模での試作が必要である。また圧縮条件は樹種ごとに、あるいは樹種の中でも材質の区分ごとに設定する必要がある。トドマツに関しては先発メーカーから難圧縮材との評価が示された経緯もあったが、本研究ではスギ圧縮木材で蓄積された生産技術を活かし、必要とされる独自の技術開発に取り組み、生産条件等の検討を行った。

### 2. 試験方法

試作試験は、林産試所有の電気オイルヒーター式小型ホットプレス（熱盤寸法 50 × 50cm：写真1）を用いて加熱・圧縮条件等を検討しながら、蒸気加熱式大型ホットプレス（熱盤寸法 100 × 200cm：写真2）を用いて実大試作を行い、データを収集した。また圧縮用原板としては次に示す条件を満たすものが望ましいと考え、主に用いた。

- ・心去り材の板目板（部分的に追証を含むのは可）
- ・割れ、ねじれ、幅反りのないこと
- ・ヤニ抜き処理が施されていること（水食い材、アテ材の混入は可）
- ・含水率が 10%前後であること  
（製品時標準含水率 + 2%が妥当）
- ・厚さが均一で、幅、長さが所定の寸法であること（四面鉋削が望ましい）
- ・厚さ 35 × 幅 120 × 長さ 1,820mm を標準サイズとすること

#### 2.1 加熱・軟化

木材は一定温度であれば含水率が高くなるに従って軟化が進み、一定含水率であれば温度が上昇するに従って軟化が進む性質を持つ<sup>2,3)</sup>。本研究においては、圧縮後に材料の乾燥を行うことによるデメリット（難



写真1 小型ホットプレス



写真2 大型ホットプレス

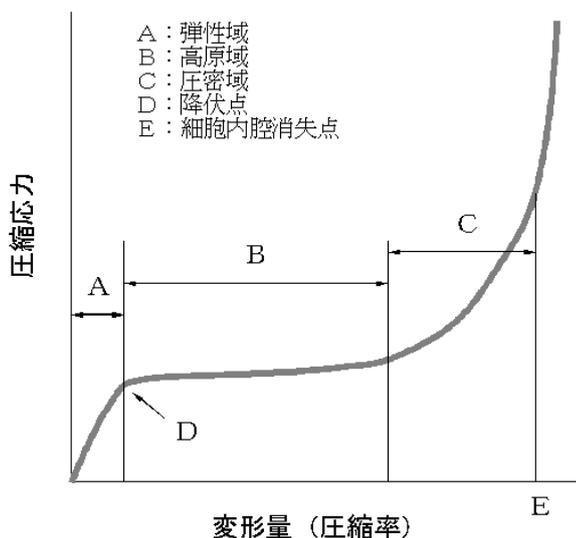


図1 変形量と圧縮応力との関係

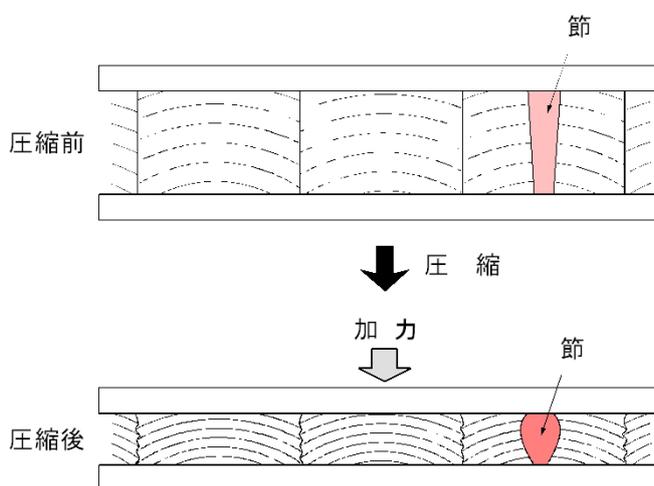


図2 木材同士による横幅寸法拘束

乾燥性、変形発生など) が大きいことを考慮し、出荷時の含水率に近い乾燥製材を圧縮用の原板として使用し、厚さ方向に上下からホットプレスの加熱された熱盤で挟み込んで原板を加熱し軟化させることとした。

## 2.2 圧縮・減寸

軟化した木材を厚さ方向に圧縮する際には、圧縮応力と変形量との間に図1に示すような関係があることが知られている<sup>4)</sup>。しかしながら各点の値やグラフの傾斜などは樹種や材質、圧縮工程の設定により異なるため、試作により検討することとした。

## 2.3 横幅寸法拘束

軟化した木材を圧縮する際には金型や型枠で幅方向への変形を拘束・抑制しないと、加力の直交方向かつ繊維方向と直交方向に拡幅しようとする応力が作用し、材面や材内部に割れや裂けが生じる。本研究においては、図2に示すように、圧縮しようとする木材同士を長手方向に接触させて並べ、お互いの幅方向へ拡張しようとする力を横幅寸法の拘束力として用いることとした。

## 2.4 加熱・形状固定

木材は 160 ~ 220 °C で熱処理することにより変形した状態で形状が固定される<sup>4)~7)</sup>。本研究ではホットプレスの熱盤温度を 180 °C として材温変化や寸法安定性などから固定時間を検討した。

## 2.5 冷却・除圧

圧縮・加熱処理後の冷却に関して検討した事例は少ない。本研究においては冷却時に発生する様々な事象を検討しながら、冷却方法と除圧～解圧のタイミングを検討した。

# 3. 結果および考察

## 3.1 加熱・軟化

180 °C に加熱したホットプレスの熱盤で圧縮用トドマツ原板(厚さ 35 × 幅 120 × 長さ 1,820mm × 7 本+両長辺に横拘束材, 含水率 10 % 前後) を挟み込み, 上下熱盤と原板とが密着した状態で加熱を行うと、原板の中心付近の温度には図3に示すような変化がみられた。中心温度が 65 ~ 80 °C に達したあたりでは、圧縮変形に十分な軟化が生じて

表1 木材主要成分の熱軟化温度 (単位: °C)

成分	乾燥状態	湿潤状態
セルロース	231 ~ 253	222 ~ 250
ヘミセルロース	167 ~ 217	54 ~ 142
リグニン	134 ~ 235	77 ~ 128

いるものと考えられた。これは表 1 に示す湿潤状態におけるヘミセルロースおよびリグニンの熱軟化温度<sup>8)</sup>に相当するものと考えられる。

### 3.2 圧縮・減寸

トドマツおよび比較としてカラマツを用い、写真3に示すように圧縮用原板 7 枚と横幅寸法拘束用の供材 2 枚を並べ、軟化温度に達した後に圧縮し、プレスショットごとに圧縮率と加圧力の関係を計測した。平均的な結果を図4に、またプレスショットごとの原板の平均比重と、圧縮率 55 % 時の加圧力との関係を図5に示す。

スギ材においては圧縮率を 35 ~ 60 % の範囲で用途に合わせた設定がなされている。しかしながらトドマツ材においては、後述する寸法固定において樹種的な特徴である寸法戻りを抑制するため、圧縮率は 55 % 前後が望ましいと考えられた。これは寸法固定と、表面の傷つきにくさ、エア釘の打ち込みやすさなどを考慮した値である。

### 3.3 横幅寸法拘束

金型や型枠を使用せず、写真3のように木材同士を接触させて並べ、圧縮により原板が横幅方向に拡幅しようとする動きをお互いの原板の横幅拘束として利用することにより、節部が平坦に仕上がり、また節回りの割れを最小限に留めることができた。この横幅拘束を用いた際の加圧力と側圧との関係（材温は 65 °C）を感圧フィルムを用いて測定した結果を表2に示す。

表2 加圧力と側圧との関係

圧縮率(%)	側圧/加圧力
10	0.20
20	0.28
30	0.49
40	0.58
50	0.77

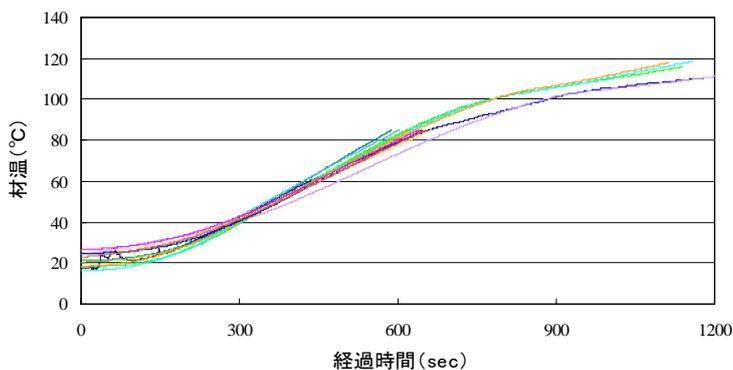


図3 熱盤180°Cの加熱による圧縮用原板の温度変化例



写真3 圧縮用原板のセッティング

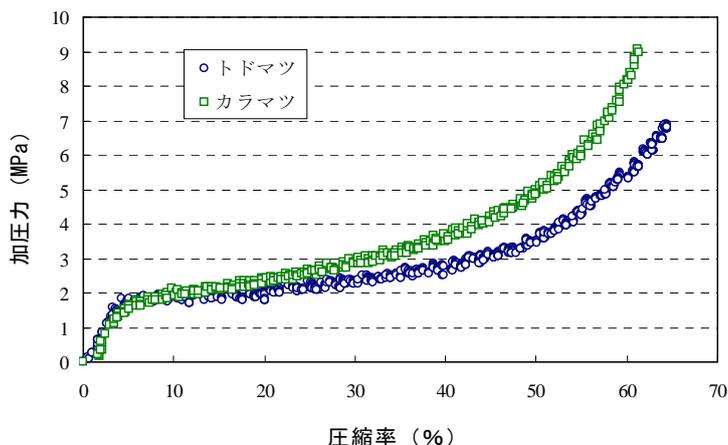


図4 圧縮率と加圧力との関係 (例)

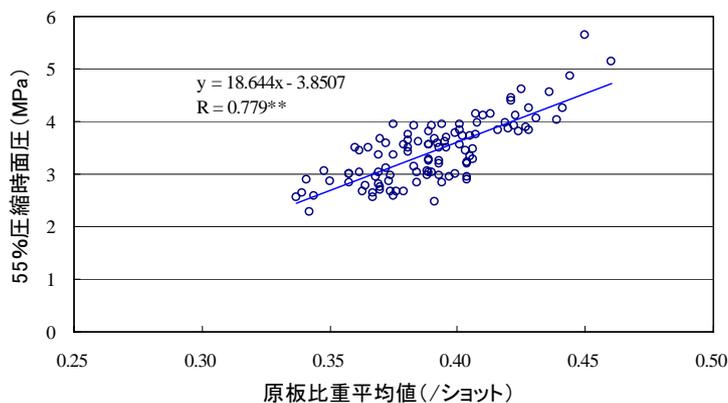


図5 原板平均比重と面圧との関係

### 3.4 加熱・形状固定

トドマツ乾燥材（含水率 10 % 前後）を 180 °C に加熱したホットプレス熱盤で圧縮し、圧縮率 55 % まで減寸させ、内部温度が 165 °C 以上に達したところから 15 分程度保持すると、圧縮材の断面には写真4に示すような濃褐色の変色域が生成される。この部分は熱変性による形状固定が高度に促進された部分であると考えられ、寸法安定性も高い。逆に変色域を囲むように存在する淡色域は、変色域に比べて吸放湿による寸法変化が大きく、ドラインゲセットに近い部分であると考えられる。淡色域を薄く存在させることにより、材表面には針葉樹材の木目・色調を残すことができる。

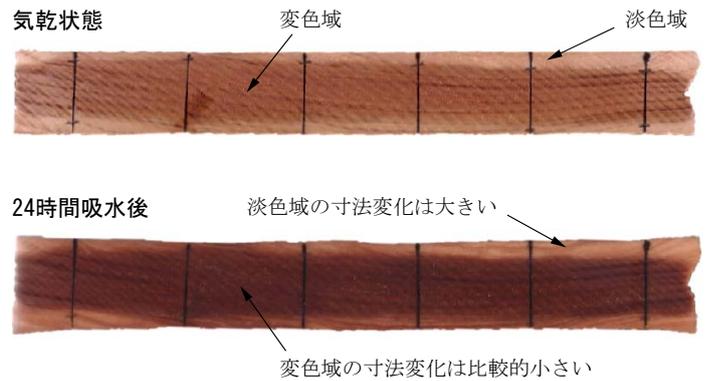


写真4 トドマツ圧縮材内に生じる変色域

### 3.5 冷却・除圧

冷却は製造時間を短縮する有用な工程であるが、実大研究における報告事例は見当たらない。本研究においては、ホットプレス上下熱盤内の加熱用蒸気の通気経路に分岐回路を設け、蒸気を遮断し抜気した後に、蒸気経路に冷却水を直接注水して冷却する仕様に改造を行った。なお上下熱盤への通水回路には、それぞれにバルブと流量計を取り付け、熱盤温度の降下を調整できるものとした。これを使用することにより、図6に示すように、材温の降下が促進され、除圧・解圧までに要する時間は飛躍的に短縮された。また、上下熱盤の温度差が大きくなると、解圧時に長さ方向の反りが発現するため、温度差の制御が必要であることが明らかになった。

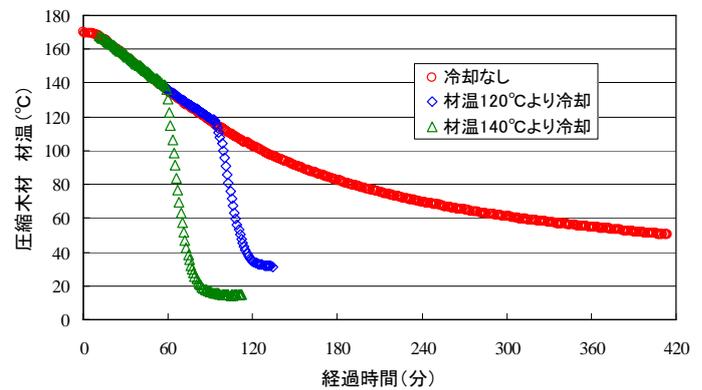


図6 冷却による材温変化

## 4. おわりに

開放型ホットプレスを用いてトドマツ圧縮木材を生産する基本技術を確立した。製品化に移行するには、多段プレスによる生産方法、圧縮にかかる設備コストの回収、設備の効率稼働、節の意匠性向上、新製品の提案など、残された課題は多い。これらを検討し、道内での道産針葉樹圧縮木材生産につなげたい。

### 参考文献

- 1) 北海道緑の産業再生協議会：道産木製品マーケティング戦略ビジョン， 5-14 (2012)
- 2) 日本木材学会：木質の物理， 146-151 (2007)
- 3) 古田裕三， 矢野浩之， 梶田 熙， 木材学会誌， 41 (8) ， 718-721 (1995)
- 4) 則元 京， 木材研究・資料， 巻 30， 京都大学木質科学研究所， 1-15 (1994)
- 5) 井上雅文， 木材工業， Vol.56 , No.5, 245-249 (2001)
- 6) 師岡淳郎， 木材工業， Vol.56 , No.12, 604-610 (2001)
- 7) 東原貴志， 木材工業， Vol.59 , No.1, 2-7 (2004)
- 8) 伊藤洋一， 林産試だより， 12, 1-4 (1995)

## 0-2 強制腐朽処理を施したスギにおけるビスの一面せん断性能

(北林産試)○野田康信、東智則、森満範、戸田正彦、(住友林業)小椋健二、中島裕貴、(京大生存研)森拓郎

### 【緒言】

木造住宅の構造躯体が腐朽などによって生物劣化している場合には、劣化の度合いに応じて最適な改修・補強方法を選択する必要がある。しかし、その判断は目視判断によることが多く、改修・補強方法に対する住宅所有者の不安や疑念を払拭するためには、客観的根拠が必要となる。特に、壁量不足を補う耐震改修の場合においては、柱脚の引抜耐力も担保されなければ、面材などで既存の躯体を補強したとしても、それが耐力壁として十分に機能するとは言い難い。そこで、本研究ではビス留めタイプの柱脚補強金物を想定して、強制腐朽処理をしたスギ (*Cryptomeria japonica*) にビスを留め付けた場合の一面せん断試験を実施し、ピロディン®による打ち込み深さとの関係について検討した。

### 【実験方法】

#### ＜強制腐朽処理＞

心材のみ、もしくは辺材を含むように木取りした 60×60×300 mm のスギ製材（以下、心材試験体、辺材試験体）を腐朽源ユニットを用いる手法で強制的に腐朽させた（図 1）。腐朽源ユニットはポリプロピレン容器（タイトボックス、187×127×34.5mm）にポテトデキストロース寒天培地（PDA 培地）を充填した上にオオウズラタケ (*Fomitopsis palustris*) を培養したもので、これを試材に接触させ、梱包用ビニールシートで包み、ポリプロピレンテープで封印した。これらを温度 26℃ の恒温室にて、処理期間を段階的に設定して腐朽させた。腐朽処理期間は、辺材試験体については 4, 8, 12, 16, 20 週間の 5 期間とし、心材試験体については 28, 32, 36, 40 週間の 4 期間を追加した。処理期間と試験体数を表 1 に示す。

#### ＜強度試験＞

腐朽処理終了後、屋内環境で試験体質量が恒量に達するまで養生し、試験体長さを 200 mm に調整してからビス（カネシン YB55）を木口から 50 mm の位置で鋼板（厚さ 3.2 mm, Z マーク短ざく金物を加工）を添え板として留めつけた。鋼板の先穴径はねじ首下直径  $\phi 5.75$  mm に対して  $\phi 6$  mm である。試験は、万能試験機を用いた繰り返し加力方式とし、加力スケジュールは  $\pm 0.5 \rightarrow \pm 1 \rightarrow \pm 2 \rightarrow \pm 4 \rightarrow +25$  mm とした。終了後に鋼板を取り外し、ビス横でピロディンによる気乾状態の打ち込み深さを測定した。

表 1 処理期間と試験体数

処理期間 (週間)	4	8	12	16	20	28	32	36	40
辺材試験体	12	12	12	12	12	-	-	-	-
心材試験体	4	4	4	4	4	4	4	4	4

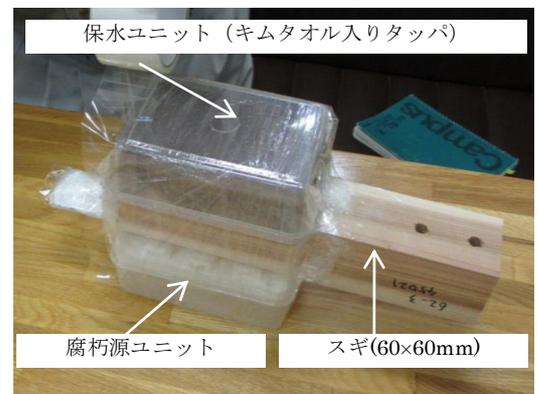


図 1 腐朽源ユニットを用いた強制腐朽処理の様

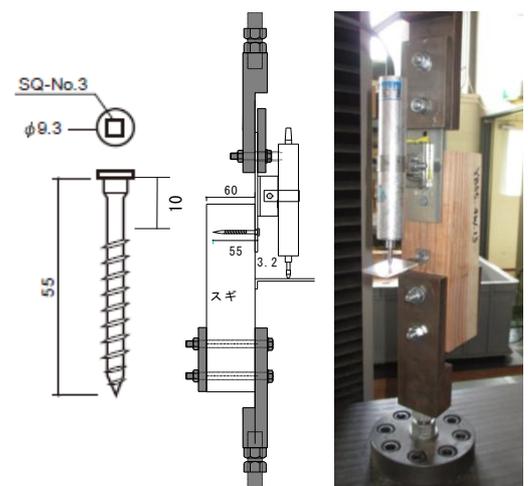


図 2 せん断試験体と強度試験方法

【結果および考察】

図3に心材試験体の荷重変形曲線の例を示す。0週処理に比べ、処理期間が長くなると繰り返しループは小さく、最大荷重も低くなる傾向にあるが、ループが小さい場合は20mm変位時まで荷重が上昇する傾向にあった。

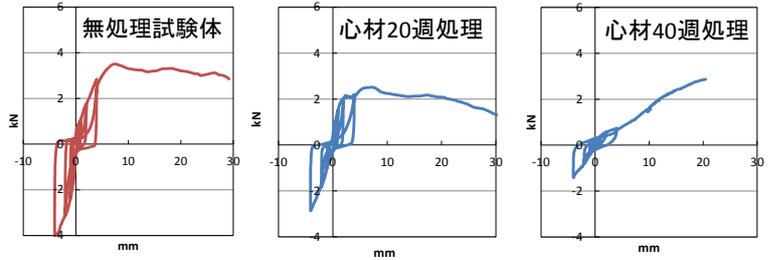


図3 荷重変形曲線の例

図4, 5に最大荷重とピロディンの打ち込み深さの関係を示す。ピロディンの打ち込み深さは測定限界である40mmを超えたものは50mmに図示し、直線回帰においては除外した。最大荷重とピロディン打ち込み深さの関係においては心材試験体ともに負の相関が得られた。図6, 7に20mm変位までのエネルギー吸収量とピロディンの打ち込み深さの関係を示す。辺材試験体においては、負の相関が得られているが、心材試験体においては相関が得られなかった。

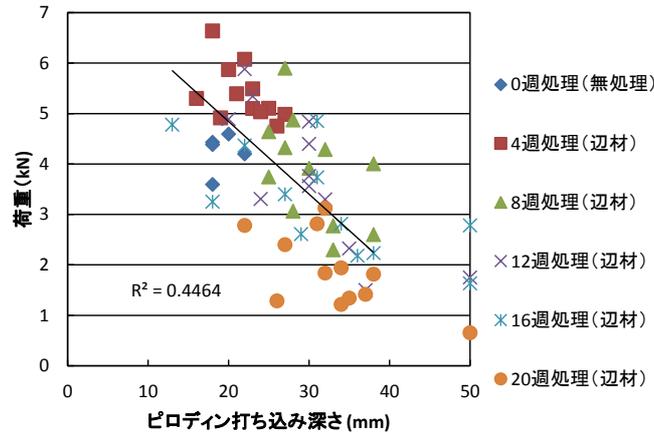


図4 辺材試験体における最大荷重とピロディン打ち込み深さの関係

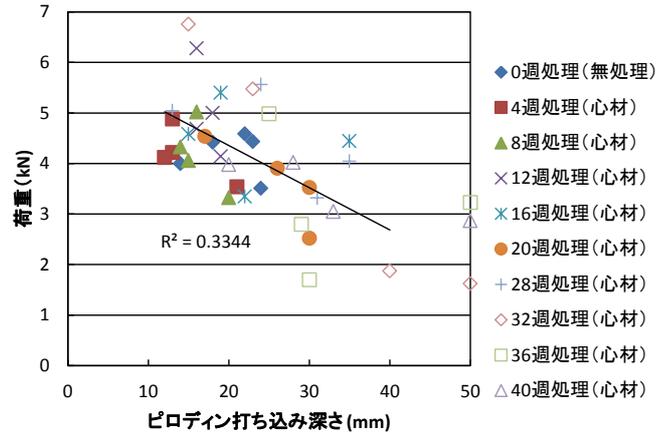


図5 心材試験体における最大荷重とピロディン打ち込み深さの関係

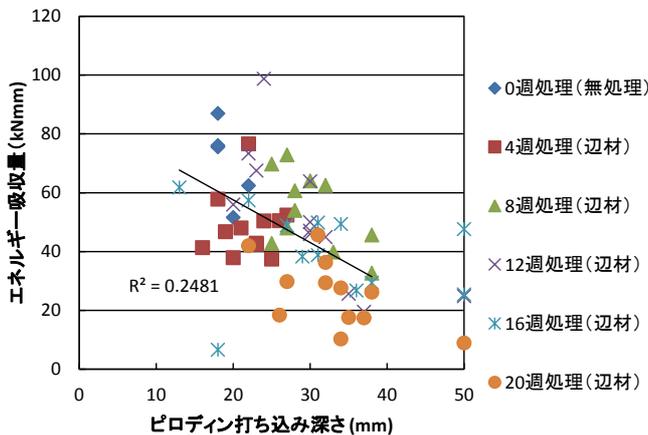


図6 辺材試験体におけるエネルギー吸収量とピロディン打ち込み深さの関係

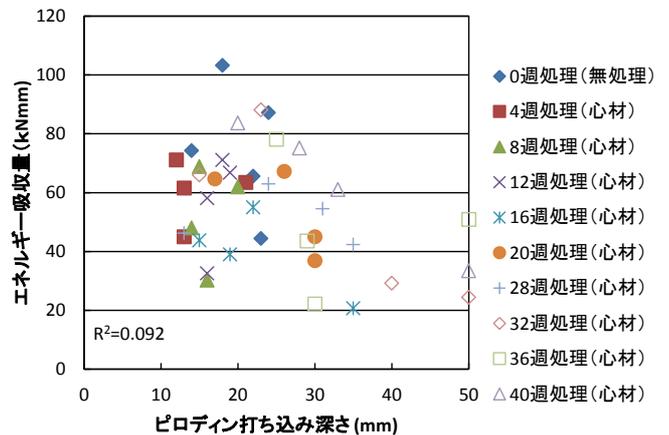


図7 心材試験体におけるエネルギー吸収量とピロディン打ち込み深さの関係

【結言】

強制腐朽処理をしたスギ部材を用いて、これにビスを留め付けた場合の一面せん断耐力を測定した。腐朽部材を乾燥させた状態で測定したピロディンによる打ち込み深さは、最大荷重やエネルギー吸収量との間において有意な相関が得られた。今後は、剛性（初期剛性、割線剛性）、質量減少率についての解析結果を加え、改修現場において、目視に代わる客観的判断根拠の一つとしてピロディンが活用できるように発展させたい。

## 0-3 空気搬送による木質ペレット配送システムの開発

(株式会社イワクラ) ○清原 征裕、高橋 賢孝  
(苫小牧市テクノセンター) 高橋 保行、三浦 修

### 1. はじめに

株式会社イワクラでは、カラマツなどの道産間伐材を原料として、家庭用・業務用の木質系燃料用ペレットを生産している。間伐材を用いた木質ペレットは、当然、燃焼によってCO<sub>2</sub>を発生するが、化石燃料の燃焼とは異なり、炭素循環の枠内でその総量を増加させるものではないため、統計上は排出しないものとして取り扱うことができる(カーボンニュートラル)。また、我が国における数少ない自給可能な循環型のエネルギー源であるということより、非常に価格安定性も高いため、近年の原油価格高騰に対抗する燃料コスト削減の観点から急速に注目を浴びている。この木質ペレットを普及させるために、空気搬送による木質ペレット配送システムを開発した。

### 2. 温室効果ガス削減効果

木質ペレットが有する特性：カーボンニュートラル

木(森林)は地中の水と大気中の二酸化炭素を吸収して光合成を行ない成長するが、木に含まれている炭素はもともと大気中に存在したものであり、木をエネルギー利用(燃焼)させたときに出る二酸化炭素は、木が生長過程で大気から吸収したものを大気に戻すだけであり、大気中の炭素量を増やさないと考えられている。この特性をカーボンニュートラルと言う。

また、エネルギー利用(燃焼)させたときに出る二酸化炭素量と木が朽ちて分解したときに出る二酸化炭素量は同量と考えられ、それに対して、石油等の化石燃料は地中に埋蔵されているものを、地表で利用(燃焼)させるため、利用すればするほど大気中の二酸化炭素量は増加してしまう。このことから、化石燃料の代替として木質バイオマスを利用し、化石燃料の消費量を削減すれば、化石燃料利用時に排出されていた二酸化炭素量を削減することができる。



図-1 カーボンニュートラルのイメージ

一般的な燃料発熱量で比較すると木質ペレット(4,000~4,700kcal/kg)は、灯油(8,767 kcal/l)の1/2とみることができる。

平成23年度経済産業省北海道経済産業局石油製品需要状況によると、北海道の灯油の年間消費量は約3,604千キロリットルであり、木質ペレットに代替する潜在賦存量は発熱量ベースで換算すると約7,200千トンのペレットが必要となると試算できる。

(株)イワクラの平成24年度木質ペレット販売量は約500トンであり、灯油換算では250キロリットルとなる。換算式により、 $2.49\text{tCO}_2/\text{kl} \times 250 = 622.5\text{tCO}_2$ の削減量となる。

今後木質ペレットの普及が進んだ場合、(株)イワクラの木質ペレット生産能力は、最大で年間6千トンであり、灯油換算では3千キロリットルとなる。換算式により、 $2.49\text{tCO}_2/\text{kl} \times 3,000 = 7,470\text{tCO}_2$ の削減量となる可能性がある。

### 3. 木質ペレット空気搬送システム開発

現状、木質系燃料用ペレットを供給先の屋外設置のサイロ等（以降、設置タンクと称する。）まで、車両にて配送する場合、クレーン付きトラックでフレコンバックを吊り上げ、作業員が設置タンクの上まで登り、フレコンバックの下の口を開けて設置タンクに投入する方法をとっている。この作業は高所作業であり、また、冬期間に積雪等もある状況の中では転落等の危険性がある。またクレーン付きトラックを使用するため、クレーンでの吊り作業が可能な半径まで車両を設置タンクの近くまで寄せることが出来なければペレットを供給することが出来ない。



図-2 現状の作業写真

車載型ペレット空送システムの開発検討にあたり、新たに、以下の要件を開発目標とした。

- 車載可能な空送システムとする。（特殊な車両を用いることなく通常の平ボデートラックに積載）
- 樹脂ホースにて、入り組んだ供給先でも20m以上の距離を空送できる。
- 作業安全性、および車両のペレット積載量を高めるため、クレーン付き車両を用いない。
- 作業員は供給先にて高所作業を行う必要がないシステムとする。
- 現状の市販バルク車（価格2,000万円）と比較して安価なシステムとする。
- 使用する発電機は25kVAクラス（自重650kg程度）とする。
- フレコンバック1個分程度のペレットを（600kg）を30分以下程度で供給可能。
- 住宅街等での供給作業に配慮した静音性

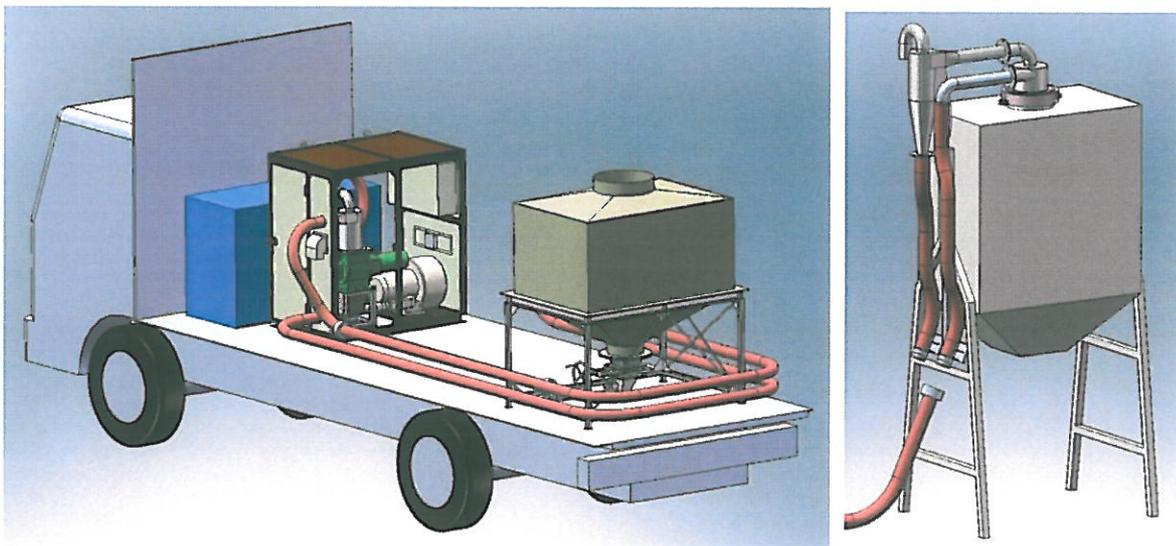


図-3 車載ユニット・車載タンク及び設置タンクのイメージ図

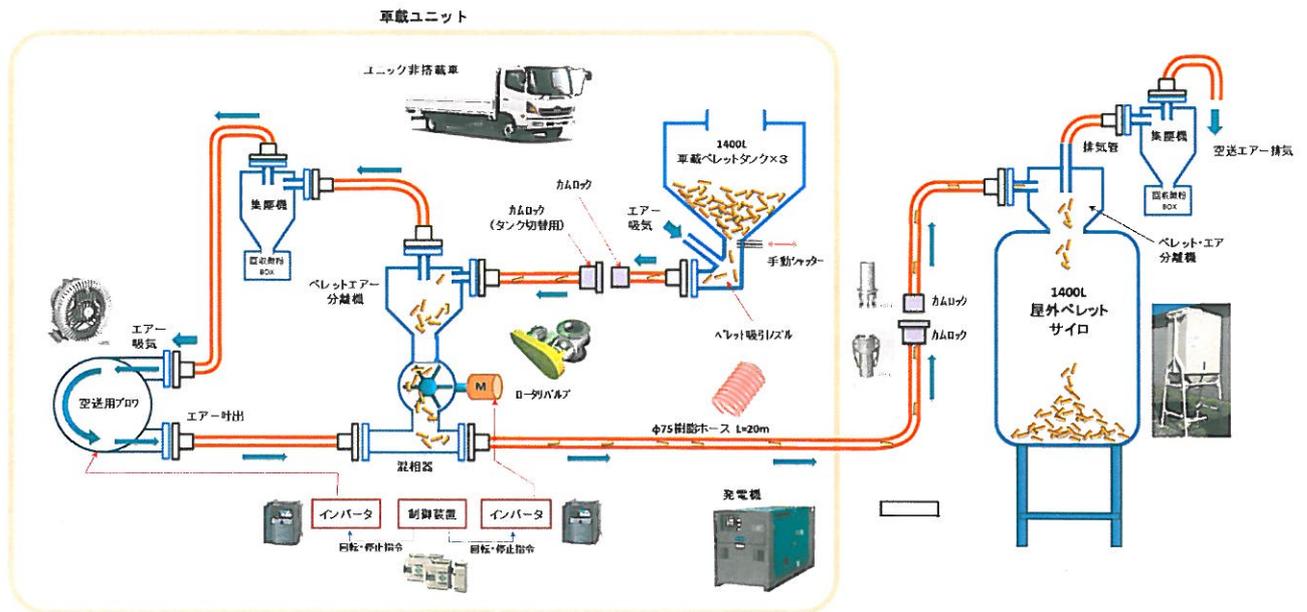


図-4 車載空送システムのイメージ図(1ブロータイプ)

#### 4. 木質ペレット空気搬送システム開発結果

図-5 に空気搬送システム完成状況を示す。

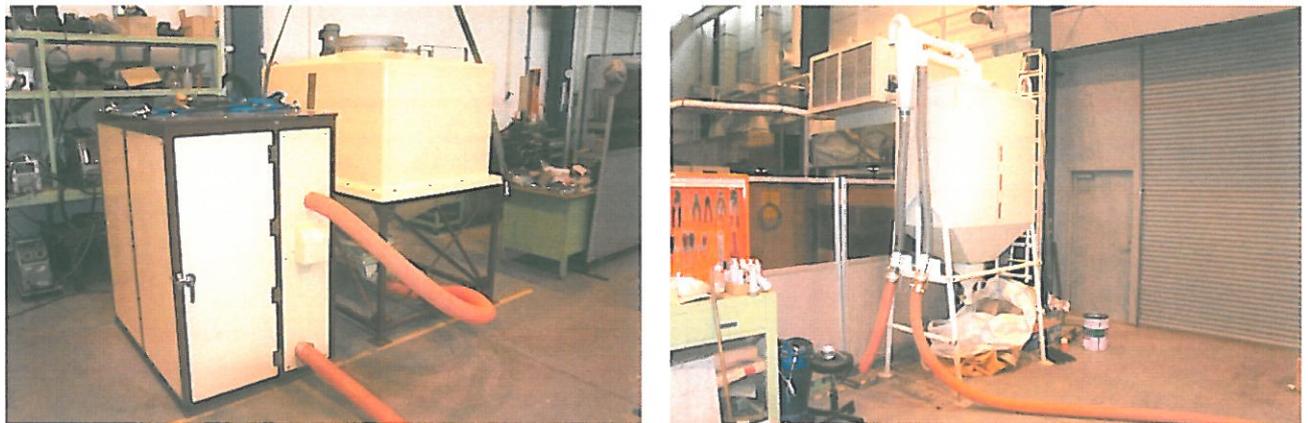


図-5 車載ユニット・車載タンク及び設置タンクの完成状況

車載量4トントラックに2,100kg以上のペレットを積載し、開発費130万円程度で車載型空送システムを開発した。野外タンクやトラック荷台上でのクレーン作業も一切不要となり、安全性の面においても洗練されたシステムとすることが出来た。

重量700kgのボイラー用木質ペレットを、20mの樹脂ホースを使用し、25分程度(約25kg/min)で空送出来る能力を確認した。

## 5. 木質ペレット空気搬送システムの実用化

実際に木質ペレットを空気搬送している写真を図-5・6に示す。



図-5 開発品の作業写真1



図-6 開発品の作業写真2

この開発により、600kg のペレットを30分程度(約25[kg/min]以上)で空送できる事が可能となり、高所作業も必要なくなり、搬送性が著しく向上した。当社が保有する新冠町のグループホーム[ゆーあい館]に設置されたペレットタンクに供給使用した結果、問題無く供給する事が出来ている。

現在、札幌円山動物園・平取町トマトハウス・新冠町グループホームに供給を行っており、今後もこのシステムを普及させて行く。

## O-4 Electrospun lignin fibers and their application

Xiangyu You<sup>1)</sup>, Junlei Duan<sup>1)</sup>, Keiichi Koda<sup>2)</sup>, Tatsuhiko Yamada<sup>3)</sup>, and Yasumitsu Uraki<sup>2)</sup>

- 1) Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan.
- 2) Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060-8589, Japan.
- 3) Division of Biomass Chemistry, Forestry and Forest Products Research Institute, Tsukuba 305-8687, Japan.

### Introduction

Lignin has attracted much attention as an alternative raw material to fossil resources. Recently, lignin-based carbon fibers are being focused on as one of value-added functional materials. So far they have been prepared by melt spinning or dry spinning followed by thermostabilization and carbonization. In this study, we attempted electrospinning and melt-electrospinning of different lignin preparations, such as acetic acid lignin (AL), soda lignin (SL) and poly(ethylene glycol)-lignin (PEGL) [1, 2], to prepare thin fibers as precursory fibers for carbon fibers (CFs) and activated carbon fibers (ACFs). Herein, we demonstrate preparation routes for CFs and ACFs, especially using modified method of thermostabilization in order to shorten its treatment time. In addition, we would like to report a new utilization of lignin-based CFs and ACFs as electrodes for electrical double layer capacitor (EDLC).

### Experimental

#### Preparation of AL fibers by dry-electrospinning

Hardwood acetic acid lignin (HAL) was dissolved in acetic acid (AcOH) or AcOH/CCl<sub>4</sub> (weight ratio, 8:2), and then hexamethylenetetramine (hexamine) with different amounts was added to the solution. The mixture solution was subjected to electrospinning of lignin fibers by using a homemade electrospinning machine, and it was carried out under the following conditions: applied voltage, 38 kV; solution flow rate, 5 ml/min; tip-collector distance, 13 cm.

#### Preparation of SL fibers by dry-electrospinning

A mixture of softwood soda lignin (SSL) and poly(ethylene glycol) (PEG, Mw= 500 kDa) was dissolved in N,N-dimethylformamide (DMF), DMF/acetone and DMF/ethanol, and followed by heating at 80 °C for 2.5 h. The as-prepared lignin solutions were then directly electrospun under these conditions: applied voltage, 25 kV; solution flow rate, 0.5 ml/h; tip-collector distance, 13 cm.

#### Preparation of PEGL fibers by melt-electrospinning

PEGL alone derived from softwood or its mixture with different solvents, such as acetone, ethanol, and DMF, in different weight ratio, was melt-electrospun by a homemade spinning machine under the following conditions: Nozzle temperature, 145-150 °C; applied voltage, 20 kV; winding rate, 50 m/min.

#### EDLC assembly and characterization

An EDLC assembly process is shown in Fig. 1. As a first process, the electrospun lignin fibers as mentioned above were converted to CFs and ACFs. The lignin fibers were thermostabilized under air atmosphere by heating up to 250 °C at different heating rates. Then, the thermostabilized fibers were, in turn, carbonized under a nitrogen

stream at 1000 °C to yield lignin based CFs. Finally, the resultant CFs were steam activated at 900 °C. Thus, lignin based ACFs were obtained.

In the case of melt-electrospun fibers, the lignin fibers were first immersed in 6 M HCl aqueous solution at 100 °C to give chemically stabilized fibers. These fibers were further subjected to thermostabilization, carbonization and activation by the same processes as other electrospun fibers.

The resultant CFs and ACFs were grounded to powder, and suspended in aqueous carboxymethyl cellulose (CMC) solution. These suspensions were ultrasonicated to give homogeneous slurry. Then, 5% of conductive carbon black (CB) was added to the carbonaceous sample/CMC suspensions, and the mixtures were spread on an Al foil to yield electrode. The electrodes and a piece of paper sheet (Mitsubishi paper Mills Ltd. Tokyo, Japan) as a separator were immersed in triethylmethylammonium tetrafluoroborate (TEAMBF<sub>4</sub>)/propylene carbonate (PC) solution. An Al foil was placed at the bottom of electrode flat cell, and the cellulosic separator was put on the foil. Afterwards, the other Al foil was placed on the separator to give EDLC.

The performance of our EDLC was evaluated by cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and galvanostatic charge/discharge (GCD) method using an electrochemical workstation (Autolab PGSTAT302N FRA32M, Metrohm Autolab B.V., Japan).

## Results and discussion

### Preparation of lignin based fibers

The structure of lignins varies depending on the plant source and the method of isolation. Furthermore, they also affect lignin fusibility and solubility in different solvents. Herein, both dry-electrospinning and melt-electrospinning of different lignin preparations were attempted to obtain lignin fibers. Dry-electrospinning is a very simple method, which enables spinning by electrical force, and applied to most of polymer solutions to produce fine fibers, while melt-electrospinning can be applied only to polymer melt. The latter spinning costs rather low because of no use of

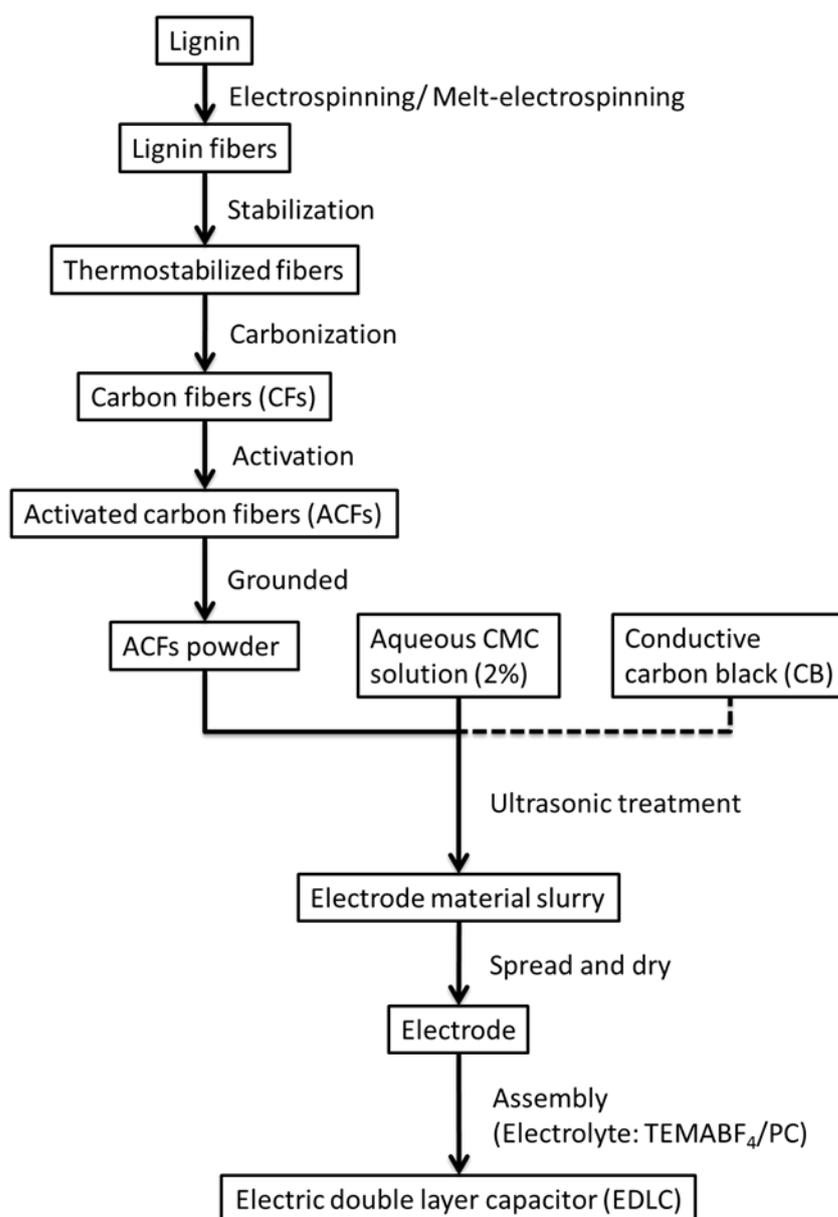


Fig. 1 A scheme for lignin-based ACF preparation and EDLC assembly

solvent. So the requirements of two methods are basically different. AL electrospun fibers (Fig. 2-A) could be obtained by dry-electrospinning from 35 wt% of AL/AcOH solution. An average fiber diameter was 1.30  $\mu\text{m}$ . SL electrospun fibers (Fig. 2-B) were also prepared by dry-electrospinning from 1 wt% of PEG. On the other hand, PEGL fibers was able to be obtained by melt melt-electrospinning. However, the fiber diameter (18.0  $\mu\text{m}$ ) was relatively large. The diameter could be decreased by mixing PEGL with 30 wt% of DMF (Fig. 2-C). Therefore, we provided relatively feasible routes for preparing lignin-based thin fibers.

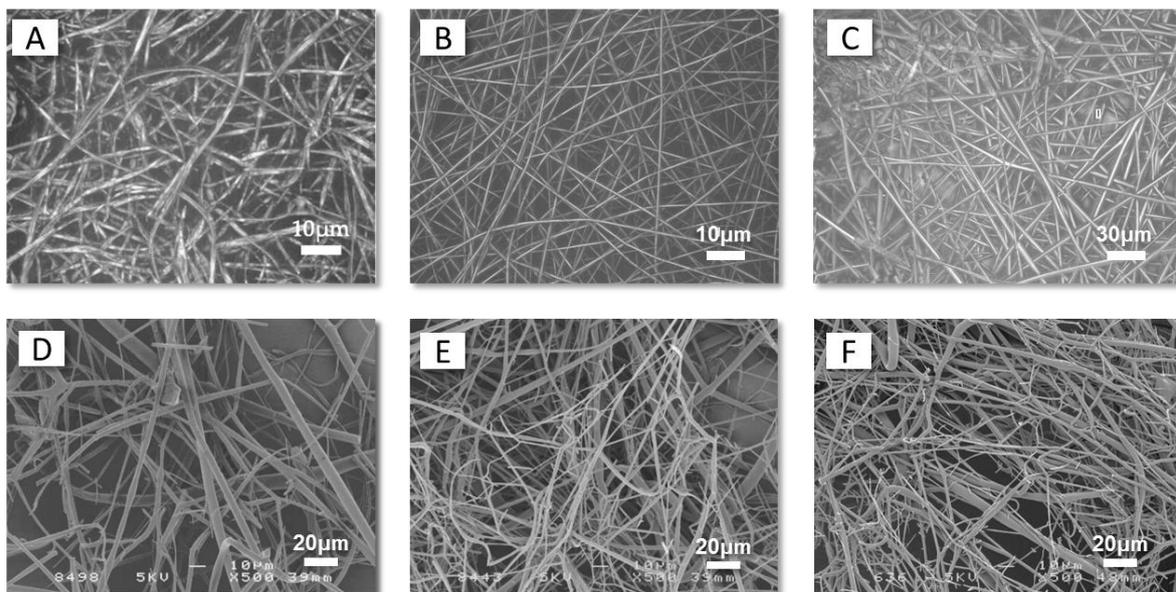


Fig. 2 Images of A) AL electrospun fibers, B) SL electrospun fibers, C) PEGL melt-electrospun fibers, and D) thermostabilized fibers, E) CFs and F) ACFs derived from AL electrospun fibers.

#### EDLC assembly and electrochemical characterization

The obtained fibers were converted into CFs and ACFs as a raw material for electrode of EDLC by stabilization, carbonization and activation (Fig. 1). In conventional thermostabilization process, it is carried out at 250  $^{\circ}\text{C}$  in air atmosphere for sufficient time to render them infusible by introducing oxygen molecules into lignin molecules. In general, a low heating rate is impractical because very long periods are required (i.e. for 2 days), while a high heating rate causes violent exothermic reactions resulting in a melt. Therefore, optimum stabilization conditions (heating rate, heating time and heating temperature) should be established. Thus, thermostabilization is very critical in the ACFs production process. To overcome this subject, we tried to add hexamine to the lignin solution, which was expected to act as a crosslinker to suppress thermal mobility of lignin. When hexamine was added to AL/AcOH solution, no electrospun fiber was obtained because of rapid curing before spinning. Therefore, when the reagent was applied to a mixture solvent of AcOH and  $\text{CCl}_4$ , the dry-electrospinning of AL mixture was carried out. When the resultant fibers with 10% hexamine (on solution) were subjected to thermostabilization under air atmosphere, the infusible fibers (Fig. 2-D) were obtained by 3 h treatment. In addition, the resultant CFs (Fig. 2-E) obtained a large BET specific surface area of 1287  $\text{m}^2/\text{g}$  even without activation. The CFs were easily converted into ACFs with the surface area of 2185  $\text{m}^2/\text{g}$  (Fig. 2-F) by steam activation.

EDLC was assembled with the resultant CFs or ACFs as electrode materials and cellulosic paper as a separator, which contained TEAMBF<sub>4</sub>/PC as an organic electrolyte, where commercial activated charcoal (AC) powder was also used as a reference.

As shown in Table 1, the specific electrostatic capacitance and charge transfer impedance ( $R_{ct}$ ) of ACF-based EDLC were 25.1 F/g and 37.2  $\Omega$ , respectively. These electrochemical properties were remarkably superior to those of EDLC assembled with AC powder. The excellent performance was attributed to large specific surface area of ACFs. However, these values were quite low, compared to those of EDLC previously reported[3]. By the addition of CB, EDLC performance was drastically improved;  $R_{ct}$  of ACF-CB based EDLC was decreased to 12  $\Omega$  and the capacitance was remarkably increased to 133.3 F/g, which was comparable among the reported work[4]. Therefore, lignin-based ACFs can be a promising electrode material for preparing EDLC.

### Acknowledgement

This work was supported by a grant from the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan, "Development of Technologies for Biofuel Production Systems in Rural Areas (2012-2015)".

Table 1. The electrochemical properties of EDLC based on different electrode materials.

Sample	Specific capacitance <sup>1)</sup> (F/g)	Specific capacitance <sup>2)</sup> (F/g)	Charge transfer resistance ( $\Omega$ )
AC powder	-	0.1	>4000
AC powder-CB	74.8	90.9	2.4
AL-ACF-2	27.9	25.1	37.2
AL-ACF-CB-2	142.0	133.3	12.0
PEGL-CF-CB	87.5	94.3	7.0

1) Specific capacitance was obtained by cyclic voltammetry

2) Specific capacitance was obtained by galvanostatic charge and discharge method.

### References

- [1] Uraki Y, Kubo S, Nigo N, Sano Y, Sasaya T. Preparation of Carbon Fibers from Organosolv Lignin Obtained by Aqueous Acetic Acid Pulping. *Holzforschung*. 1995;49(4):343-50.
- [2] Lin J, Kubo S, Yamada T, Koda K, Uraki Y. Chemical thermostabilization for the preparation of carbon fibers from softwood lignin. *BioResources*. 2012;7(4):5634-4646.
- [3] Zhang LL, Zhao XS. Carbon-based materials as supercapacitor electrodes. *Chemical Society Reviews*. 2009;38(9):2520-2531.
- [4] Wang G, Zhang L, Zhang J. A review of electrode materials for electrochemical supercapacitors. *Chemical Society Reviews*. 2012;41(2):797-828.

## 0-5 シイタケ廃菌床の酵素糖化

(道総研 林産試) 檜山 亮、宜寿次 盛生、原田 陽、折橋 健

### 1. 背景と目的

近年、北海道では生シイタケ生産量が伸びており、全国2位の7,365トンとなっている(2011年)<sup>1)</sup>。北海道では広葉樹おが粉を主体とした菌床栽培の比率が全国平均の85%と比べて高く95%となっており(2011年)<sup>1)</sup>、生重量で5,000~8,000トンのシイタケ廃菌床(以下、廃菌床)が発生していると見積もられる。菌床栽培の普及によりシイタケ生産地の集約化・大型化、また、季節変動の少ない安定生産が進んでいる。廃菌床は収集、運搬コストが極めて少なく、通年安定して供給できるバイオマス資源と考えられる。現状では廃菌床は主に堆肥化されているが、我々は廃菌床に3割程度セルロースが含まれること、およびそのセルロースは白色腐朽菌であるシイタケの作用により酵素糖化されやすい状態になっていることを明らかにし<sup>2)</sup>、廃菌床から糖類を得てバイオエタノール等の原料とする可能性を示した。さらに、廃菌床を一定温度で保存する、またはシイタケの収穫期間を長期化することで酵素糖化率が高められることを明らかにした<sup>2,3)</sup>。ただし、これらの糖化試験は基質濃度が2%という希薄な溶液での試験結果であり、糖液をバイオエタノール等の原料とする際にはできるだけ濃度を上げる必要がある。一方、我々はヤナギを主体とした菌床による新しいシイタケ栽培手法を確立しつつある<sup>4)</sup>。ヤナギを用いた菌床は収穫後に通常廃菌床に比べてより大きな重量減少が観察されたことから、酵素糖化率が高い可能性が考えられた。

そこで本研究では、ヤナギを用いたシイタケ栽培で発生した廃菌床を用い、高基質濃度での酵素糖化を行い、できるだけ高い濃度の糖液を得ることを目的とした。

### 2. 試験方法

#### 2.1. 試験材料

オノエヤナギ(*Salix sachalinensis*、以下、オノエ)およびエゾノキヌヤナギ(*Salix pet-susu*、以下、キヌ)を用いてシイタケ栽培をした<sup>4)</sup>後の廃菌床を試料とした。廃菌床を50~60℃の条件下で水分が10%以下になるように乾燥し、10mmの目皿を付けたカッターミルで粗粉碎した。72%硫酸を用いた方法<sup>2,3,5)</sup>で、試料のリグニンおよび構成多糖量を吸光高度計およびHPLCにより測定した。

糖化酵素としてメイセラゼ(明治製菓、*Trichoderma viride*由来)を用いた。酵素活性をAdneyとBakerの方法<sup>6)</sup>で測定し、FPU(Filter Paper Units)を求めた。

#### 2.2. 酵素糖化

##### 2.2.1 試験管スケールのオノエとキヌ廃菌床の酵素糖化

オノエおよびキヌの廃菌床を乾燥重量240mgとり、酵素を1.2FPU(5FPU/g-基質) pH4.8に調整した0.1Mクエン酸緩衝液を12ml(基質濃度2%[w/v])、アジ化ナトリウムを0.24mg添加して40℃で72時間糖化した。酵素糖化で単糖化したグルコースをHPLCで定量し<sup>2,3)</sup>、試料に含まれるグルカンが全て糖化したときのグルコース理論量に対する割合を求め、グルコー



写真1 3L用ジャーフェメンター  
(基質濃度35%の糖化開始時)

ス収率とした。

### 2.2.2 ジャーファーマンターでのキヌ廃菌床の酵素糖化

3L容のジャーファーマンター（写真1）に基質濃度2%および35%（w/v）となるようにそれぞれ750および566.7mlの0.1Mクエン酸緩衝液とキヌ廃菌床をそれぞれ15および198.3g入れた。各ファーマンターに所定量の酵素および153mgのアジ化ナトリウムを添加した。40または50で200rpmの搅拌をしながら96時間酵素糖化し、2.2.1と同様にグルコース収率を計算した。

## 3. 結果と考察

### 3.1. 廃菌床の分析

表1にオノエおよびキヌ廃菌床に含まれるリグニンおよび構成多糖の割合を示す。オノエおよびキヌ廃菌床で構成成分に大きな違いは見られなかった。我々のこれまでの報告<sup>2,3,7</sup>の廃菌床とも大きな違いは見られなかった。

### 3.2. 試験管スケールでの廃菌床の酵素糖化

図1にオノエおよびキヌの廃菌床の酵素糖化結果を示す。オノエとキヌでは同量の基質乾燥重量から得られるグルコースの量はほとんど変わらなかった。オノエおよびキヌから

得られるグルコースの量およびグルコース収率は、我々のこれまでの報告<sup>2,3,7</sup>と同程度であった。ヤナギ2種を代表して、以降の試験ではキヌの廃菌床を用いることとした。

### 3.3. ファーマンタースケールでの廃菌床の酵素糖化

図2に5FPU/g-基質の酵素添加量で基質濃度と糖化温度を変えて酵素糖化した時のキヌ廃菌床のグルコース収率を示す。各条件で60%以上のグルコース収率が得られた。40・基質濃度2%の条件の時にグルコース収率が72~92時間で急激に低下した。これについては雑菌汚染の可能性が考えられた。基質濃度35%では糖化が遅いが、96時間の糖化で基質濃度2%と同程度のグルコース収率が得られることがわかった。50において基質濃度35%で96時間酵素糖化したときのグルコース濃度は76.6g/Lであり、メイセラゼを用いた酵素糖化に関する林産試験場内の過去の実験データと比較して高いグルコース濃度が得られた。

図3に50において基質濃度35%で酵素添加量を変えた時の

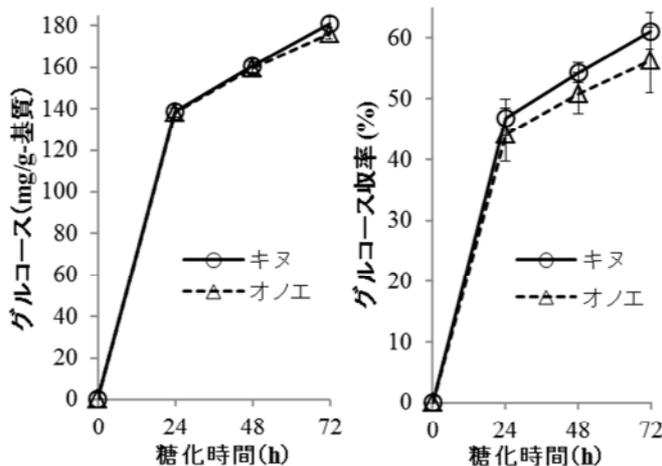


図1 オノエおよびキヌ廃菌床の酵素糖化により生成したグルコースの量とグルコース収率 (n = 3)

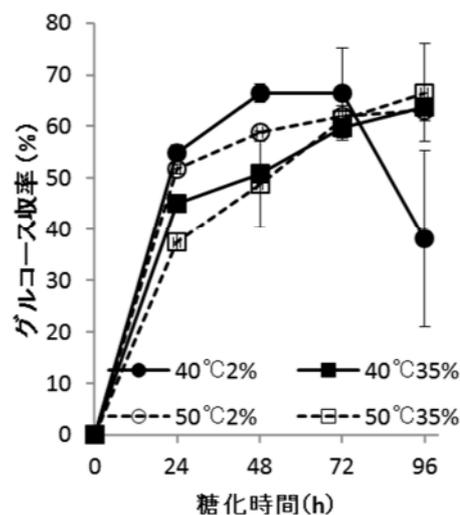


図2 糖化温度と基質濃度 (w/v) を変えて5FPU/g-基質で酵素糖化したキヌ廃菌床のグルコース収率 (n = 3)

表1 廃菌床の構成成分 (重量%)

	酸不溶性 リグニン	酸可溶性 リグニン	グルカン	キシラン	ガラクトン	アラビナン	マンナン	その他
オノエ	13.5 ± 1.3	6.6 ± 0.2	31.5 ± 2.6	9.3 ± 0.8	1.8 ± 0.4	3.0 ± 0.3	5.3 ± 0.6	29.0
キヌ	14.2 ± 0.6	6.7 ± 0.3	29.6 ± 1.2	9.7 ± 0.7	1.7 ± 0.3	3.0 ± 0.3	5.3 ± 0.8	29.7

数値は平均±標準偏差を表す (n = 3)

キヌ廃菌床のグルコース収率を示す。酵素量を 5FPU よりも減らすと得られるグルコース収率が低くなる傾向が見られた。

#### 4. まとめ

ヤナギを用いた廃菌床にグルカンが 30%前後残存していること、および 5FPU/g-基質の比較的少ない酵素添加量で 60%以上の糖化率が得られることがわかった。35%の高基質濃度で 2%の基質濃度とほぼ同程度の糖化率で糖化でき、最高で 76.6g/L のグルコース濃度が得られることを明らかにした。現在、エタノール生産酵母を用いた併行複発酵による更なる高基質濃度化を試験中であり、その詳細は当日発表する。

#### 5. 引用文献

- 1) 北海道 (2013) 平成 23 年 特用林産統計  
( [http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/rrm/grp/04/tokusan/tokusan\\_toukei23.pdf](http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/rrm/grp/04/tokusan/tokusan_toukei23.pdf) )
- 2) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2011) J Wood Sci 57: 429–435
- 3) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2013) J Wood Sci 59: 88–93
- 4) 原田 陽、折橋 健、檜山 亮、宜寿次 盛生、棚野 孝夫 (2013) 日本きのこ学会第 17 回大会講演要旨集 p. 68
- 5) Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scararlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D (2008) Technical Report NREL/-510-42618
- 6) Adney B, Baker J (1996) Technical Report NREL/TP-510-42628
- 7) Hiyama R, Gisusi S, Harada A (2012) J Wood Sci 58: 446–452

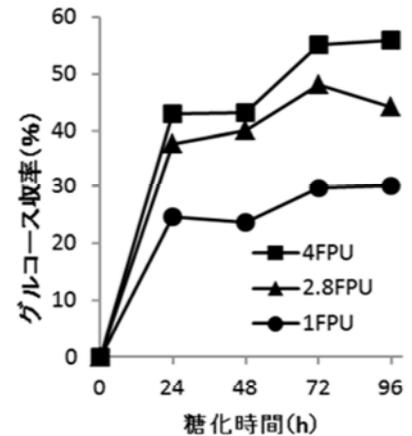


図3 50°C、基質濃度35%で酵素添加量を変えた時のキヌ廃菌床のグルコース収率

## 0-6 カバノキ属樹木における外樹皮の構造と形成

(北大院農) ○渋井宏美、佐野雄三

### 1. 諸言

外樹皮とは、樹皮において最も新しい周皮から外側の部分を指す。周皮とは内樹皮外部で二次的に分化したコルク形成層によって形成される組織であり、コルク形成層、その内側に形成されるコルク皮層、その外側に形成されるコルク組織の三つの組織から構成される。コルク組織は、スベリン化した細胞壁を持ち、外部からの病原菌の侵入や乾燥を防いでいる。カバノキ属の外樹皮は、平滑で線形皮目が見られ、水平方向に薄く剥がれる(Fig. 1)。このような外樹皮を形成する樹種のコルク組織は多層構造をもち、その構成細胞は接線方向に細長い形をしている<sup>1,2)</sup>。コルク組織の層状構造はコルク形成層の季節的な活動により形成されると言われるが、その正確な周期は調べられていない<sup>3)</sup>。そこで、本研究では道産のカバノキ属樹種を用いて外樹皮の構造および形成について調査した。



Fig. 1 ウダイカンバ樹皮の外観.

### 2. 研究方法

#### 2. 1 供試木

ウダイカンバ(*Betula maximowicziana*)、シラカンバ(*B. platyphylla* var. *japonica*)の幹と枝の樹皮を用いた。両樹種とも幹の樹皮は北海道大学苫小牧研究林、枝は北海道大学札幌研究林実験苗畑にて採取した。ウダイカンバ幹の樹皮は2012年10月、シラカンバ幹の樹皮は2013年6月、両樹種の枝は2013年10月に採取したものを用いた。枝は、1～5年生枝までを採取した。

#### 2. 2 実験方法

試料を1辺1cm程度の立方形のブロックにし、3%グルタルアルデヒドで固定した。水洗後、トリミングを行い、エタノールシリーズで脱水した。ただし、2012年に採取したウダイカンバ幹の試料は固定を行わずに脱水を行った。脱水後、エポキシ樹脂(Epon812)で包埋し、滑走式マイクロームを用いて横断面、放射断面、接線断面の切片を作製し、サフラニンで染色した。永久プレパラートを作製し、光学顕微鏡及び偏光顕微鏡で細胞の形態や配列を観察し、細胞の寸法も測定した。

### 3. 結果

#### 3. 1 細胞の構成と配列

##### ウダイカンバ

コルク組織に周期的な層状の構造が認められた(Fig. 2)。偏光下で複屈折を示す細胞壁を持つ細胞が4～10層配列する部分と、複屈折を示さない細胞壁を持つ細胞が1～2層配列する部分が交互に現れ(Fig. 3 矢尻, アステリスク)、コルク組織の中～外層では後者の部分が随所で剥離を起こしていた(Fig. 2, 4 矢印)。コルク

ク皮層の幅はコルク組織に比べると極端に狭かった(Fig. 2, 4 CCo)。平滑部のコルク細胞は接線方向に細長く、横断面で線形 (Fig. 2)、放射断面で楕円形ないし長方形(Fig. 4)、接線断面では細胞によって接線方向に長い多角形、紡錘形を呈した(Fig. 5)。またこれらの細胞は横断面および放射断面では整然とした放射列を成しているのを確認でき、接線断面では、各細胞の末端が不整になっており、樹軸方向には整然と配列していないことが確認できた(Fig. 2, 4, 5)。偏光下で細胞壁が複屈折を示さない細胞はコルク組織の内層では内容物を豊富に含んでおり、古くなると細胞が崩壊していた(Fig. 2, 4 矢尻, 矢印)。平滑部では、複屈折が見られないコルク組織細胞の方が複屈折を示す細胞よりも放射径が大きかった(Table 1)。

皮目では、コルク細胞の断面形はほぼ円形、あるいは多角形で、細胞間隙が見られた。偏光下で複屈折を示す層も同様にして見られた。複屈折を示さない細胞の層では、破壊されている細胞が多く見られた。皮目、平滑部ともにコルク皮層の細胞は、偏光下で弱い複屈折を示し(Fig. 3 CCo)、コルク組織の細胞と接線方向の長さはほぼ同じであったが、放射径はコルク組織の細胞よりも大きかった(Table 2)。

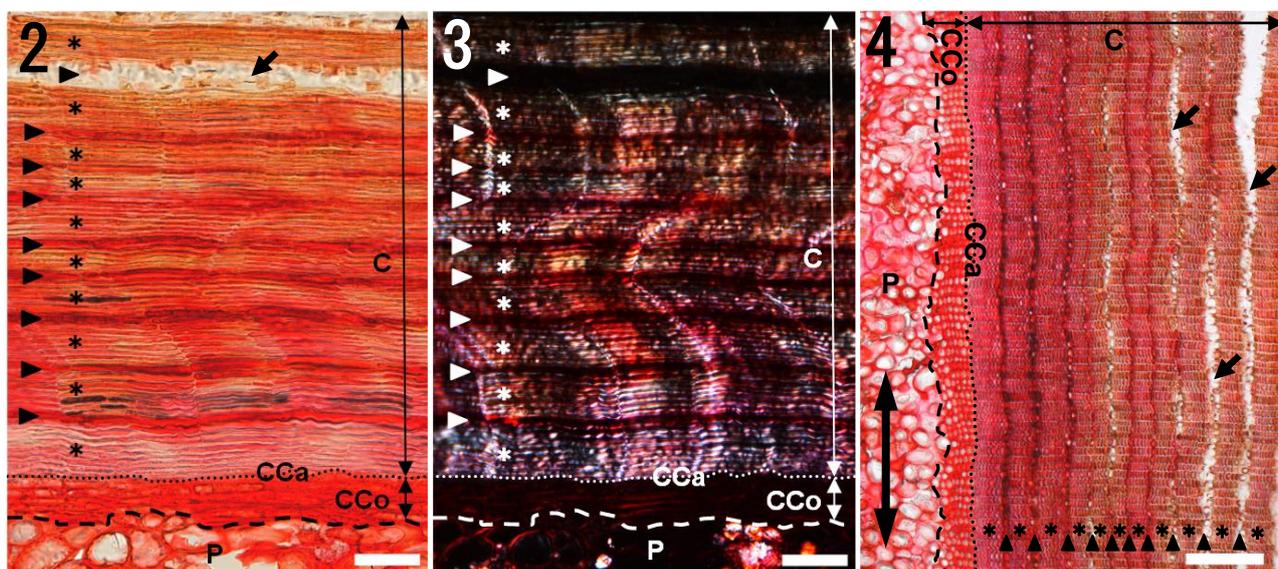


Fig. 2, 3 ウダイカンバ横断面. 2, 3は同一視野のそれぞれ可視光透過像と偏光像. Bar=50  $\mu$ m.

Fig. 4 ウダイカンバ放射断面. Bar=100  $\mu$ m.

Fig. 5 ウダイカンバのコルク組織の接線断面. Bar=100  $\mu$ m.

C : コルク組織、CCa : コルク形成層 (点線)、CCo : コルク皮層

P : 二次師部、破線 : 二次師部とコルク皮層の境界

太い両矢印 : 樹軸方向、矢印 : 崩壊した細胞

アステリスク(\*) : 細胞壁が複屈折を示す細胞層

矢尻 : 細胞壁が複屈折を示さない細胞層

### シラカンバ

外樹皮の構造や細胞の配列等はウダイカンバと似ている点が多かった。以下にウダイカンバとは異なる特徴を述べる。偏光下で複屈折を示す細胞壁を持つ細胞が4~15層配列する部分と、複屈折を示さない細胞壁を持つ細胞が2~5層配列する部分が交互に現れていた。偏光下で複屈折を示さない細胞にはコルク組織の内層でも内容物が認められなかった(Fig. 6a)。平滑部のコルク細胞の接線方向の長さは、ウダイカンバよりも短か

った(Table 1)。これらの細胞は横断面および放射断面では整然とした放射列を成し、接線断面では接線方向へ配向する傾向も見られた (Fig. 7 C)が、全体的にはウダイカンバよりも配列が乱れている傾向にあった。また、コルク組織外層の古いコルク細胞は、内層の新しいコルク細胞と比較して放射径は小さいが長さ(接線方向幅)が長く、細長くつぶれたような形状をしており、内腔も放射方向に狭くなっていた。皮目のコルク細胞は断面形状がほぼ円形、あるいは多角形(Fig. 7 LC)で、複屈折を示す層と示さない層が見られた。皮目において複屈折を示さない層は細胞が破壊されていて、層の幅も皮目でない部分よりも広がった(Fig. 6b)。このため、皮目の部分では内側に膨らんでいた(Fig. 6a)。コルク皮層の細胞は、コルク組織の細胞と比べ、接線方向の長さはほぼ同じであった。内樹皮との境界付近で部分的に厚壁化しているコルク皮層細胞も見られ、内樹皮で頻出するスクレレイドと似ていた。皮目部分のコルク皮層は平滑部よりも厚かった (Fig. 6a)。

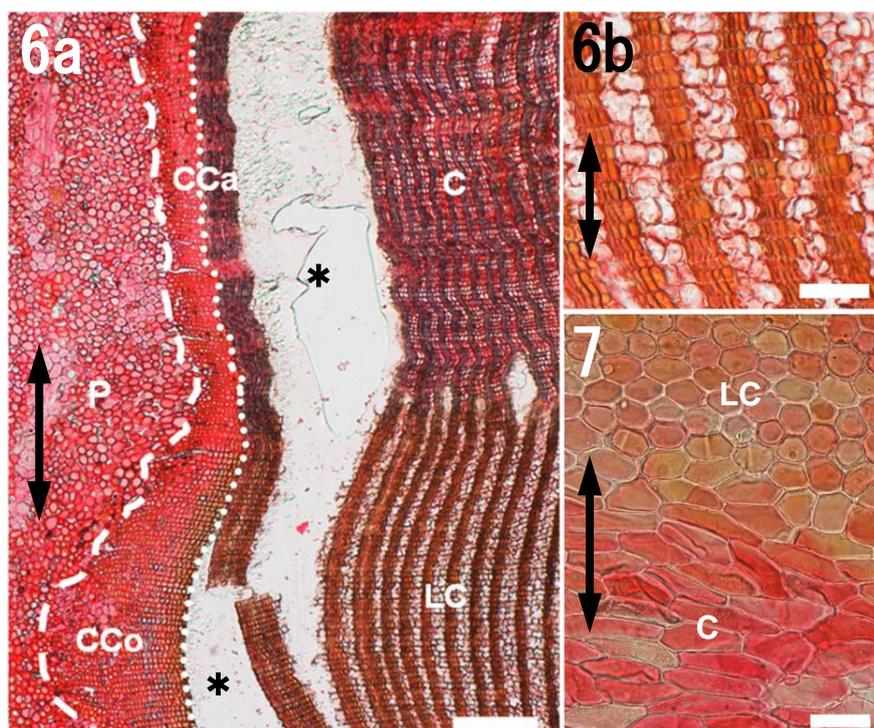


Fig. 6a, b シラカンバ放射断面.

b, 皮目のコルク組織の拡大.

Bars = 200  $\mu$ m(a), 50  $\mu$ m(b).

Fig. 7 シラカンバのコルク組織の接線断面. Bar= 30  $\mu$ m.

C : 平滑部のコルク組織

LC : 皮目のコルク組織

CCa : コルク形成層 (点線)

CCo : コルク皮層

P : 二次師部

破線 : 二次師部とコルク皮層の境界

両矢印 : 樹軸方向

アスタリスク(\*) : 試料作製時に生じた空隙

Table 1 平滑部のコルク組織内層の細胞サイズ (平均 $\pm$ SD, n=25)

方向	ウダイカンバ ( $\mu$ m)		シラカンバ ( $\mu$ m)	
	a	b	a	b
長さ (接線方向)	74.8 $\pm$ 28.27	73.8 $\pm$ 22.00	30.0 $\pm$ 12.08	29.5 $\pm$ 12.16
放射径	3.5 $\pm$ 1.20	5.6 $\pm$ 1.72	3.8 $\pm$ 1.65	11.6 $\pm$ 3.55
軸方向径	11.1 $\pm$ 3.37	9.9 $\pm$ 2.67	13.2 $\pm$ 4.46	14.9 $\pm$ 4.54

a : 複屈折を示す細胞、b : 複屈折を示さない細胞

Table 2 コルク皮層細胞の放射径 (平均 $\pm$ SD, n=25)

	ウダイカンバ ( $\mu$ m)	シラカンバ ( $\mu$ m)
放射径	6.3 $\pm$ 1.34	11.2 $\pm$ 3.14

### 3. 2 形成

1～5年生枝の周皮を比較し、コルク組織における周期的な構造が、一年周期で構成されるかどうかを述べる。現在検討中である。

### 4. 考察

シラカンバとウダイカンバのコルク組織では、平滑部においては接線方向に長いコルク細胞で構成されるのに対して、皮目においては断面形が円形あるいは多角形の細胞で構成され、細胞間隙が存在することがわかった。この特徴は、北米に分布する *Betula alleghaniensis* (Yellow Birch) と *B. papyrifera* (Paper Birch) の特徴とほぼ一致した<sup>1)</sup>。コルク組織では、皮目・平滑部ともに複屈折を示さない一次壁のみから成ると見なされる細胞が層状にほぼ等間隔で存在し、この細胞層が強度的に弱く壊れやすくなっているため、この部分で剥離しやすくなっていると考えられる。カバノキ属のような平滑な外樹皮を形成する樹種のコルク形成層は、新しい周皮を何回も形成する鱗片状の樹皮を形成する樹種とは異なり寿命が長く、個体の寿命とほぼ同じであると言われている<sup>2)</sup>。そのため、薄く剥がれやすい層を数多く形成することで、樹皮が一度に深く剥がれてコルク形成層や師部にダメージが及ぶのを防ぐようになっていると考えられる。

また、ウダイカンバ、シラカンバともに平滑部のコルク組織細胞は整然とした放射列を成していたが、樹軸方向には不整に配列していた。このような配列によって、樹軸方向に直線的に裂けにくくなっているものと考えられる。カバノキ属のコルク形成層は一般に再生しないため、コルク形成層の寿命が短く次々と新しく周皮を形成する樹種のように古い外樹皮を剥落させると、外樹皮の保護機能の低下を招くリスクが高まる。そうなるのを防ぐため、カバノキ属のコルク組織は比較的長い期間外樹皮として幹の外層に留まる必要がある。幹の外層では肥大成長により外側に移行するほど組織が接線方向に引き伸ばされる。カバノキ属のコルク組織は、この引き伸ばしによって容易に裂けるのを防ぐために適した構造を持ち、露出や剥離からコルク形成層および二次師部を守っていると考えられる。

コルク皮層は、コルク組織に比べて幅が極端に狭く、コルク形成層の内側への分裂は盛んではないことは明らかである。また、シラカンバにおいて厚壁化したコルク皮層細胞が見られた。コルク皮層細胞は柔細胞であり<sup>3)</sup>、この細胞は内樹皮のスクレレイドのように二次的に分化して厚壁化したと思われる。このことから、コルク皮層細胞は二次的に分化する能力を持つ内樹皮の柔細胞と似た性質を持つと考えられる。

### 引用文献

- 1) Chang, Y. P. : “Anatomy of Common North American Pulpwood Barks”, Tappi Monograph Series 14, Technical Association of the Pulp and Paper Industry, N. Y., 1954, pp. 110-127.
- 2) Evert, R.F. : “Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their structure, Function, and Development. 3rd ed.”, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2006, pp. 427-445.
- 3) 吉永新 : “木質の構造”, 日本木材学会編, 文永堂出版, 東京, 2011, pp. 249-261.

## O-7 タモギタケの子実体形成における LED 照射の影響

(北大院農) ○雲英真人、玉井裕、宮本敏澄、矢島崇

### 【緒言】

近年きのこ栽培に使用する光源として LED が注目されている。LED は従来使用されてきた蛍光灯と比較して使用電力量の削減が可能である。LED 照射の有効性はこれまでに数種の食用きのこの栽培において確認されている。さらに LED の色の違いによる原基形成および子実体形成への影響も報告されている。本研究では、各色 LED の照射によるタモギタケの子実体形成への影響を明らかにし、タモギタケ栽培における LED の有効性を実証することを目的とした。

### 【実験方法】

供試菌株にはタモギタケの Pc 98-3 株を用いた。菌床培地にはブナおが粉(10メッシュパス)と米ぬか(20メッシュパス)を体積比3:1で混合し、水道水を加えて含水率を60%に調整したものをを用いた。光源には対照区として蛍光灯を、試験区として青色、緑色、赤色の LED を用いた。850 ml の PP 製栽培瓶に培地約 510 g を充填し、高

タモギタケの栽培に用いた光源の光量子束密度および照度

Light source	PFD ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	illuminance (lx)
Flourescent light	11	560
Blue LED	6	112
Green LED	3	330
Red LED	1	44

圧滅菌 (121°C、60分間) を行なった。栽培瓶は放冷後に種菌を約 10 g 接種し、温度 22°C、湿度 70% の暗所で培養した。菌回りが完了した栽培瓶を温度 19°C、湿度 85% の条件に移し、農業用マルチシートで栽培瓶の上面を覆いながら光を照射して原基形成を促した。原基形成後に覆いを外し、直接光を照射することで子実体の成熟を促した。子実体は傘が開ききる前に栽培瓶の口の面で切り取るように収穫した。収穫した子実体について収量、傘径、有効茎数 (傘径  $\geq 10$  mm) の測定および形態観察を行った。

### 【結果および考察】

青色 LED によって原基の形態、傘色および形態は蛍光灯照射と同等となった。緑色 LED によって原基数が増加する傾向があり、傘は色が薄く小径のものが多い傾向となった。赤色 LED では緑色 LED でみられた傾向がより顕著に表れた。収量は青色 LED で蛍光灯と同等であり、緑色および赤色 LED で減少した。有効茎数は全試験区で変わらなかった。

原基誘導に赤色 LED を、その後収穫まで青色 LED を用いた結果、収量、有効茎数および傘色は青色 LED のみを照射したものと同様であった。さらにこの試験区における傘は青色 LED のみを照射する場合と比較して小径のものが揃う傾向がみられた。



各光源を用いて栽培したタモギタケの子実体

左から青色 LED、緑色 LED、赤色 LED を照射したもの。

## P-1 西洋下見板貼り耐力壁のせん断性能評価

(北大院農) ○片山知実、佐々木義久、平井卓郎

### 1 緒言

下見板は古くから外壁に多用されてきており、現在も多くの下見板を使用した建物が存在する。しかし、下見板は主要耐力部材として考えられていない為か、そのせん断性能に関する研究は非常に少ない。

下見板は大きく日本下見と西洋下見の2種類に大別され、西洋下見はイギリス下見とドイツ下見に分けられる。特に北海道においては開拓期に北米の知識や技術が導入された影響で、木造洋風建築に下見板が多用されている。重要文化財に指定されている北海道大学植物園の建物を実際に調査したところ、イギリス下見とドイツ下見が使用されており、釘の種類、板の留めつけ方、釘間隔等は様々であった。

そこで本研究では既報<sup>2)</sup>を発展させる為、西洋下見板の仕様に着目し、そのせん断性能について実験的に比較を行った。

### 2 実験

#### 2.1 試験体

試験体は以下の5種類、計18体とした。試験体の概要・外観は表1、図1、図2に示す。

A：イギリス下見（上下の羽重ね間を釘2本打ち）

B：イギリス下見（羽重ね部分を2枚重ね打ち）

C：ドイツ下見

D：ベベルサイディング

F：軸組のみ

全ての試験体に共通する軸組は壁長さ910mm、壁高さ1430mmで、柱脚には面外にホールダウン金物をそれぞれ2つ、柱頭にはコーナー金物をそれぞれ1つずつ設置した。軸組は比重に応じて1、2、3の3つのグループに分けた。

下見板の寸法は、N釘またはCN釘を使用することを前提とし釘種類（長さ、胴部径）、釘の主材打ち込み長、下見板厚、縁距離、羽重ねの幅、釘間隔（板幅）を考え以下のように決定した。

「木質構造設計規準・同解説書」<sup>3)</sup>（以下、木規準）では釘径 $d$ を基準として、原則、側材厚 $6d$ 以上、有効主材打ち込み長 $9d$ 以上、縁距離 $5d$ 以上としている。これを踏まえて試験体AとBの主材打ち込み長をなるべく等しくし、木規準の寸法と近い値となるように釘はN65（ $d=3.05\text{mm}$ ）、下見板の厚さ18mm、縁距離15mm、羽重ね10mmとした。板幅は流通材を考え180mmとし、釘間隔は150mmとした。

試験体Cの下見板の厚さはA、Bと同様に18mmとした。この場合、Cの主材打ち込み長は $15d$ となりA、Bの $9d$ との差があるが、既往の研究<sup>4)</sup>より主材打ち込み長 $15d$ と $9d$ の場合、終局耐力には違いが生じるが本実験の変形範囲の内は耐力の違いは小さいため打ち込み長の違いが本実験に与える影響が少ないと考えた。相じゃくり部分は羽重ねと同じ10mmとした。

試験体DはAの柱・板間の隙間を埋めた形状であるが、実部分の縁距離 $5d$ を確保する為に板幅は10mm大きくした。なお、bevel sidingで広義に下見板全体をさす場合もあるが、本実験では板を台形断面に加工したものをベベルサイディングとした。

試験体A~Dは長さ1500mmの下見板を4枚、柱・間柱に釘打ちした。長さ方向に継ぐことを考え片側の端距離を柱の太さの4分の1である26mmとした。これは「木規準」に示されている端距離 $15d$ を満たしていないが、安全側の値が出るので問題ないと考えた。

試験体FはA~Dの試験体を $1/10\text{rad}$ まで変形させた後、下見板を外しコーナー金物を付け替えた軸組だけの試験体である。今回の実験はモデル実験であるため、実大へ耐力を換算する際に軸組の反剛接ラーメンとしての耐力効果を除くために設定した。

#### 2.2 試験方法

柱脚には面外にホールダウン金物をそれぞれ2つ、柱頭にはコーナー金物をそれぞれ1つずつ設置し、無載荷の正負交番繰返し加力で $1/600$ 、 $1/450$ 、 $1/300$ 、 $1/200$ 、 $1/150$ 、 $1/100$ 、 $1/75$ 、 $1/50\text{rad}$ の各段階で3回繰返しした後、 $1/10\text{rad}$ まで加力点側への一方向単調加力を行った。また、振れ止めを設置し面外変形を防止した。

表 1 各部材の平均比重

試験体名	柱・梁	間柱	下見板
A1、FA1	0.31	0.32	0.35
A2	0.34	0.37	0.39
A3	0.36	0.42	0.43
B1、FB1	0.31	0.32	0.36
B2	0.34	0.38	0.39
B3	0.36	0.43	0.43
C1、FC1	0.31	0.33	0.30
C2、FC2	0.34	0.36	0.36
C3、FC3	0.36	0.44	0.39
D1、FD1	0.31	0.33	0.32
D2	0.34	0.36	0.36
D3	0.36	0.45	0.40

※比重グループ 1 の仕様 A の試験体  
 : 試験体名 A1  
 A1 の軸組を利用した仕様 F の試験体  
 : 試験体名 FA1

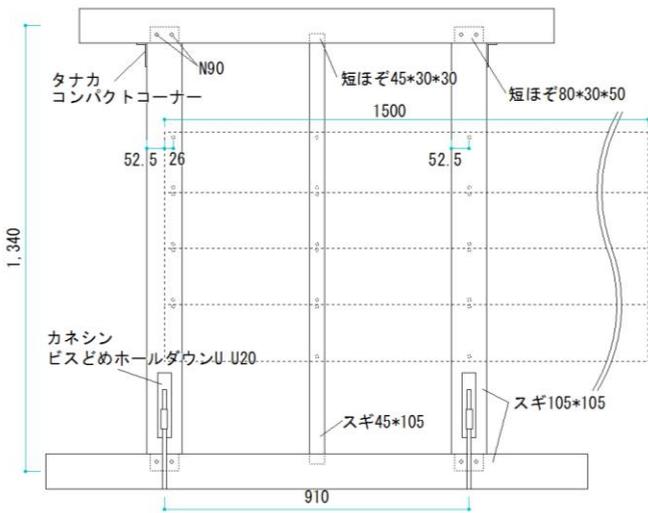


図 1 試験体図 (実線: 軸組、破線: 下見板 A)

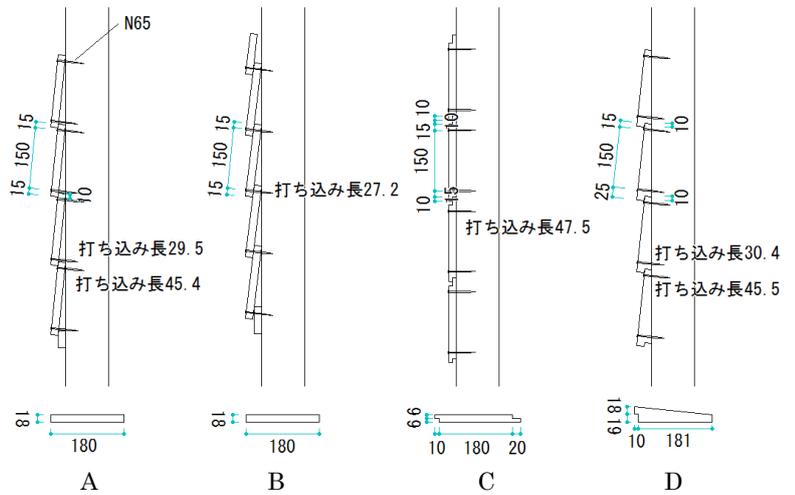


図 2 A~D の加力方向より見た試験体図・下見板断面図

### 3 試験結果と考察

#### 3.1 荷重-変形角曲線

試験体 A~D の各 3 体の平均の荷重-見かけの変形角曲線 (以下、 $P-\theta$ ) を図 3 に示す。A、B、C で割れが見られたものもあったが、いずれの壁仕様も荷重は最後まで伸び続け粘り強い壁であることがわかった。しかし、F の  $P-\theta$  を比較してみると  $1/120\text{rad}$  と  $1/60\text{rad}$  時で約 2 割、 $1/10\text{rad}$  では約 5 割が軸組の耐力であった。

初期剛性は A が一番低く、B が一番高かった。これは A と比較し C、D は相じゃくりの摩擦、B は板を 2 枚通し打ちすることによって板同士が一体化した効果が働いていると考えられる。

試験体 F は同一比重では  $P-\theta$  に大きな差が見られなかった。そこで後述する実大壁への換算時には、FC の試験体を代表とし、比重グループ 1 には FC1、2 には FC2、3 には FC3 の  $P-\theta$  を使用した。

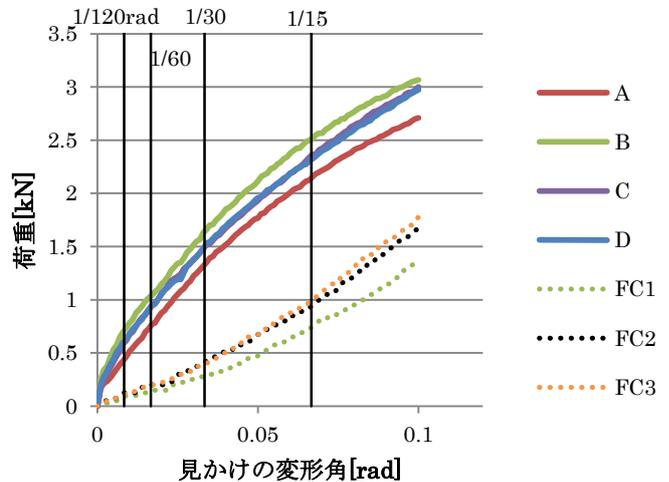


図 3 荷重-見かけの変形角曲線

### 3.2 実大壁への換算

本実験の試験体は壁長 910mm、壁高さ 1340mm 下見板 4 枚貼りのモデル試験体である。実験より得られた  $P-\theta$  よりこれを壁長さ 1820mm (柱 3 本、間柱 2 本)、壁高さ 2730mm、下見板 13 枚貼りの実大壁の  $P-\theta$  を推算した。

換算の手順は

- (1) 下見板・柱頭・柱脚接合部の試験体 A~D の  $P-\theta$  から柱頭・柱脚接合部の試験体 F の荷重を除く
- (2) (1)で得られた  $P-\theta$  のデータから実大壁の下見板のみの  $P-\theta$  を算出する。詳細は後述する。
- (3) (1)で除いた柱頭・柱脚接合部の  $P-\theta$  を(2)の  $P-\theta$  に加算する

とした。(3)で加算した柱頭・柱脚接合部  $P-\theta$  はモデル試験体のもので実大の軸組とは異なるが、今回は目安としてこのような概算を行った

手順(2)の方法は既往の研究<sup>5)</sup>を参考に全体の仕事を  $U$ 、全釘接合部の総仕事を  $U_J$ とすると、

$$U = \frac{P \times \delta}{2} = \frac{Ph\theta}{2}$$

$$U_J = \sum_{i=1}^n \frac{i \times s_i}{2}$$

となる (各パラメーターは図 4 に示す)。全体の仕事量と各釘接合部の総仕事量は等しいので、

$$U = U_J$$

が成り立つ。以上の関係式を用いて実大壁の変形角  $\theta$  に対するせん断力  $P$  を求める。なお、以下の式アポストロフィがついているものはモデル試験体、ついていないものは実大壁のパラメーターを示している。

モデル試験体より下見板・釘接合部の釘 1 本あたりの仕事量  $\frac{'s'}{2}$  を求める。  $U' = \frac{P'h'\theta}{2}$ 、  $U' = U_J'$ より

$$U_J' = \sum_{i=1}^n \frac{i' \times s_i'}{2} = \frac{n' 's'}{2}$$

$$\frac{'s'}{2} = \frac{U_J'}{n'} = \frac{U'}{n'} = \frac{P'h'\theta}{2n'}$$

下見板と柱は図 5 のような変形を仮定しているのでモデル試験体と実大壁の釘 1 本あたりの仕事量は等しいとする。実大壁の釘接合部の総仕事量  $U_J$  は

$$U_J = \sum_{i=1}^n \frac{i \times s_i}{2} = \frac{nfs}{2} = n \times \frac{'s'}{2} = \frac{nP'h'\theta}{2n'}$$

$$U_J = U, U = \frac{Ph\theta}{2} \text{より}$$

$$P = \frac{2U}{h\theta} = \frac{2U_J}{h\theta} = \frac{nP'h'}{n'h}$$

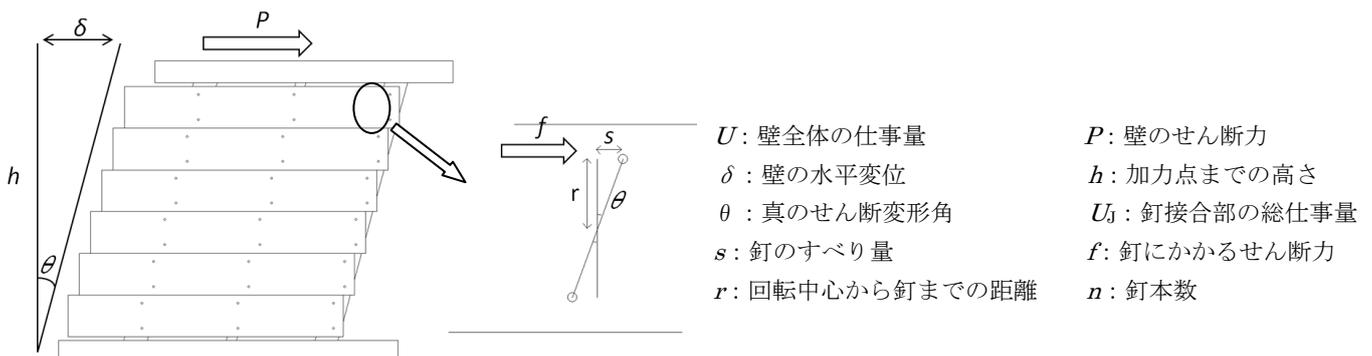


図 4 下見板貼り壁の挙動

算出した実大壁 A~D 各 3 体の平均の  $P-\theta$  を図 5 に示す。モデル試験体の  $P-\theta$  (図 3) と比較すると 1/20rad 程度で荷重の増加が止まった。これは変形角が大きくなるほどモデル試験体の  $P-\theta$  に占める軸組の  $P-\theta$  の割合が大きくなっていったためである。A、B と比較して C、D の頭打ちが顕著でないのは、変形が大きくなるにつれ相じゃくり部に生じる摩擦力が効いている為と考えられる。

「伝統構法を生かす木造耐震設計マニュアル」<sup>6)</sup> で一般的に使用される損傷限界、安全限界として設定されている変形角 (1/120、1/60、1/30、1/15rad) を図 5 中に示す。

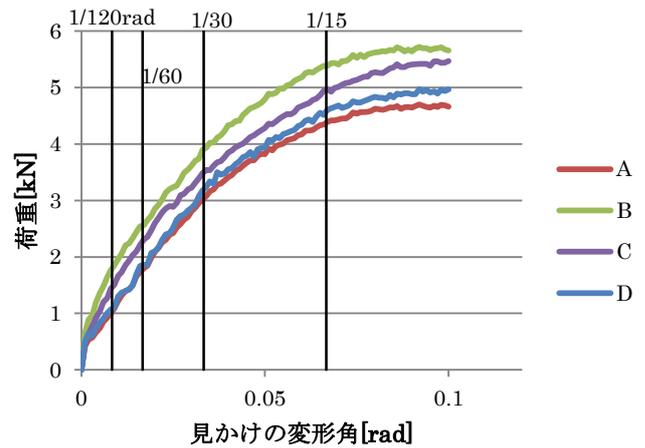


図 5 実大壁の荷重-見かけの変形角曲線

### 3.3 壁倍率

実大壁 A~D について完全弾塑性モデル置換による一般的な壁倍率評価<sup>7)</sup> を行った。その際に、荷重変形曲線の特徴点抽出自動化ツール Pick Point (軽部, 森林総研) を使用した。

A~D 各 3 体の初期剛性・壁倍率を算出する際の 4 つの値の平均値と壁倍率を表 2 に示す。壁倍率は全て特定変形時 (見かけの変形角 1/120rad) により決定された。最も低かったものは A の 0.27 であり、最も高いものは初期剛性の高かった B で 0.43 であった。

求められた短期許容耐力が  $P_{max}$  に対して十分な安全率がある、破壊時までのエネルギー量にも十分な余裕がある、変形に対し一般の建築物並みの機能は求められていないという既報<sup>2) 8)</sup> と同様の考え方より、見かけの変形角 1/60rad 時の荷重を壁倍率に換算した値を求めた (表 2)。最も低かったものは A の 0.46、最も高いものは B の 0.60 と、木ずり壁 (壁倍率 0.5) とほぼ同等の値が得られた。

表 2 壁倍率

	K	Py	Pu*0.2/Ds	2/3*Pmax	見かけ1/120	壁倍率	壁倍率 見かけ1/60
A	92	3.04	1.58	3.14	1.02	0.27	0.46
B	137	3.10	2.16	3.84	1.78	0.43	0.60
C	120	3.01	1.93	3.65	1.46	0.34	0.53
D	109	1.83	3.63	1.51	1.50	0.39	0.58

## 4 まとめ

仕様 A~D の中で差はあるものの、一般の方法で求められた壁倍率は低い。しかし、いずれの仕様においても変形性能が高く大地震の際の倒壊に対する安全性は高いことが分かった。よって、下見板は倒壊防止を目的とした際の耐力部材としての木ずり壁と同等の効果があると考えられる。

施工のしやすさを考えるならば C または D の仕様で作製することが勧められる。

## 5 参考文献

- 1) 田苗重樹：日本建築学会東北支部研究発表会，5-8 (1987)
- 2) 片山知実・富高亮介・澤田圭・平井卓郎：日本木材学会北海道支部講演集第 44 号，14-17 (2012)
- 3) 日本建築学会：木質構造設計規準・同解説，丸善株式会社 (2006)
- 4) 澤田圭・本田康輔・平井卓郎・小泉章夫・佐々木義久：木材学会誌 Vol.56, No.5, 317-325 (2010)
- 5) 平井卓郎・張沛文・入江康孝・若島嘉朗：木材学会誌 45(2), 120-129 (1999)
- 6) 木造軸組構法建物の耐震設計マニュアル編集委員会：伝統構法を生かす木造耐震設計マニュアル，学芸出版社 (2004)
- 7) 日本住宅・木材技術センター：木造軸組み工法住宅の許容応力度設計，研恒社 (2008)
- 8) 富高亮介・片山知実・平井卓郎・澤田圭：日本木材学会北海道支部講演集第 43 号，12-15 (2011)

## P-2 長期使用された構造用パーティクルボードの接着耐久性

(道総研林産試) ○古田 直之、吹野 信、平林 靖、(北大農) 平井 卓郎

### 1. はじめに

パーティクルボード（以下、PB）は木材小片からなるエレメントを接着剤で再構成した材料であり、住宅の壁や床の下地材として使用される場合には、住宅の耐震性を確保する上で重要な役割を果たすため、その接着耐久性が重要視されている。木質材料の接着耐久性は、主として促進劣化試験や屋外暴露試験により評価されてきた<sup>1)</sup>が、住宅構造部材としての劣化を把握するためには、これらの実験室レベルの評価に加えて、実際の使用環境の劣化に関するデータの蓄積が望まれている<sup>2)</sup>。

本報では、築後 26～32 年経過した札幌市の改修物件 3 棟から、床下地材として使用された構造用 PB を採取し、含水率、曲げ性能、吸水厚さ膨張率およびはく離強さを調べた結果を報告する。

### 2. 試験方法

#### 2. 1 調査物件と採取材料の概要

調査物件の概要と採取した PB の概要を表 1 に示す。また、物件 A および物件 B の 1 階平面図を図 1 に、採取時の様子を図 2 に示す。採取した PB はいずれも腐朽等の外観上の劣化は認められず比較的健全な状態であった。A32-1J のみ和室の床に使用されたものであり、畳仕上げであったが、その他は PB の上にカーペットが敷かれていた。A32-1W、B30-2W、C26-2W はカーペットと PB が接着剤で固定されていたため、採取後も PB 表面に接着剤が部分的に付着していた。根太間隔は A32-1J は 455mm、その他は 303mm であり、いずれも根太の方向と PB の長手方向が平行になるように施工されていた。物件 A から採取した PB は、製造元が特定できたが、物件 B、C は不明であった。物件 A に使用された PB は、製造元への聞き取り調査の結果、製造当初、表層はソーダスト・おが粉、芯層はラワン合板用剥き芯からのチップから構成されており、ユリア・メラミン共縮合樹脂接着剤（MUF）が使用されていた。

#### 2. 2 含水率の測定

採取した PB について、採取後直ちに電気抵抗式含水率計（楸ケット科学研究所 MT-900）を用いて含水率を測定した。PB 1 枚につき、室内側と床下側それぞれ 5 点ずつ計測した。

表 1. 調査物件と採取した PB の概要

物件記号	築年数	延床面積 (m <sup>2</sup> )	ボード記号	採取位置	採取時厚さ(mm)	根太間隔	床構成	表面接着剤
A	32	94.1	A32-1W	1F洋室	13	303	カーペット+PB	有
			A32-1J	1F和室	13	455	畳+PB	無
B	30	81.4	B30-1L	1F居間	15	303	カーペット+PB+防湿シート	無
			B30-2W	2F洋室	15	303	カーペット+PB+防湿シート	有
C	26	103.51	C26-2W	2F洋室	15	303	カーペット+PB+防湿シート	有

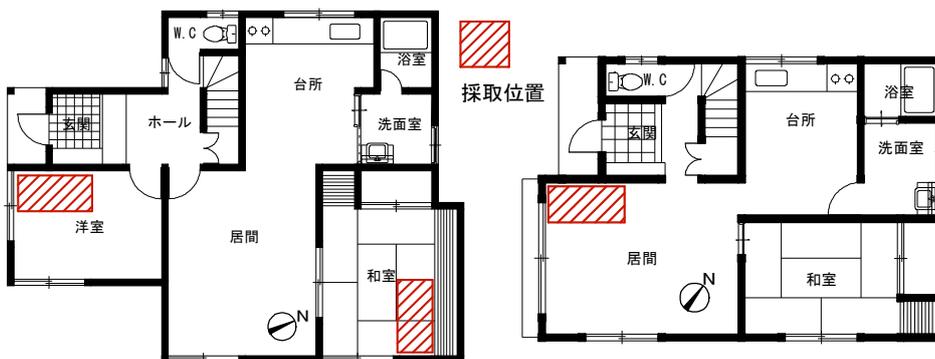


図 1. 1 階平面図の例（左：物件 A、右：物件 B）



図 2. 採取時の様子

## 2. 3 曲げ試験

JIS A 5908「パーティクルボード」に準拠した曲げ試験を行った。試験は常態時の曲げ試験（20℃-65%R.Hで調湿）と湿潤時曲げA試験（70℃±3℃の温水中に2時間浸せき→常温水中に1時間浸せき）の2条件で実施した。試験片は、PB 1枚あたり長手方向に平行なもの（0度方向）と直交するもの（90度方向）を常態、湿潤時ともに各6片ずつ採取した。試験片の幅は50mm、スパンは厚さの15倍とした。湿潤時曲げ性能の算出の際には、処理前の試験片寸法を用いた。また、B30-2WおよびC26-2Wの試験片は、表面（室内側）に接着剤が付着したままのもの、および表面を0.9~1.0mm程度鉋削し、接着剤を除去したものの2条件とした。

## 2. 4 吸水厚さ膨張率試験

JIS A 5908に準拠した吸水厚さ膨張率試験を行った。50×50mmの試験片をPB 1枚あたり6片採取した。試験片を20±1℃の水中に24時間浸せきし、処理前後の重量と厚さの変化から吸水率および吸水厚さ膨張率を算出した。

## 2. 5 はく離試験

JIS A 5908に準拠したはく離試験を行った。50×50mmの試験片をPB 1枚あたり8片採取した。アルミニウムブロックに試験片をホットメルト接着剤により接着し、試験片表面に垂直に引張荷重を加え、はく離強さを求めた。荷重速度は2mm/minとした。試験は20℃-65%R.Hで十分に調湿した後に行った。

## 3. 試験結果

### 3. 1 含水率

採取時含水率を図3に示す。物件BおよびCから採取したPBは採取時含水率が8%未満と低く、非常に乾燥していた。両物件では、PBの直下に防湿シートが施工されており、床下の湿気が遮断されていたことによるものと推察される。一方、物件Aの含水率はやや高く、特に和室の床（A32-1J）では、平均16%、最大18%であり湿潤環境に置かれていたことがわかる。

### 3. 2 曲げ性能

常態時の曲げ試験結果を表2に示す。また、物件Aから採取したPBについて、製造元への聞き取りによる製造当初の曲げ強さを初期参考値として表2に示す。物件Aから採取したPBに着目すると、A32-1Wは初期参考値と同程度、A32-1Jは初期参考値よりも2割程度低い値を示した。物件BおよびCから採取したPBについては、ヤング係数が2.5~3.4kN/mm<sup>2</sup>、曲げ強さが14~21N/mm<sup>2</sup>の範囲となり、MUFを用いたPBの曲げ性能に関する文献値<sup>3-5)</sup>と同程度かやや低い値を示した。次に鉋削の有無について考察する。PBは通常、表層部の密度が内層部よりも高いため、鉋削によってPB全体に占める高密度部分が相対的に減少するため、表面の接着剤の付着の有無によらず、曲げ性能はやや低下するものと考えられる。本試験結果では、90度方向においてそのような傾向が認められた。しかし、0度方向では、鉋削によっていずれも曲げ性能がやや増加している。この結果は、相対的に劣化が生じていた表層部分を鉋削によって取り除いたことによる曲げ性能の上昇とも捉えることができ、0度方向曲げ性能の劣化が90度方向よりも顕著であったことを示唆しているが、このことを明確にするにはもう少し詳細な検討が必要である。

湿潤時の曲げ試験結果を表3に示す。A32-1WおよびA32-1Jについて見ると、いずれも初期参考値よりも低く、特にA32-1Jでは初期参考値の4割程度の値を示した。A32-1Jは、

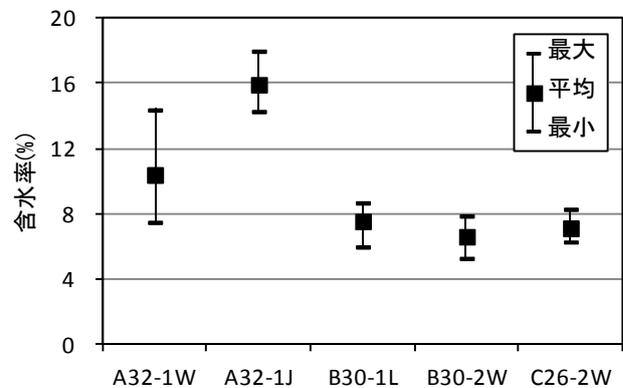


図3. 採取時のPBの含水率

表2. 常態時の曲げ試験結果

記号	表面鉋削	厚さ (mm)	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	0度		90度	
				ヤング係数 (kN/mm <sup>2</sup> )	曲げ強さ (N/mm <sup>2</sup> )	ヤング係数 (kN/mm <sup>2</sup> )	曲げ強さ (N/mm <sup>2</sup> )
A32-1W	無	13.4	0.75(1.7)	2.89(4.4)	18.2(3.2)	2.84(5.4)	17.0(4.3)
A32-1J	無	13.3	0.73(1.1)	2.38(4.8)	12.7(10.4)	2.46(4.7)	12.9(8.1)
初期参考値 <sup>※1</sup>					16.5		16.5
B30-1L	無	15.1	0.73(1.5)	2.70(5.7)	14.4(9.5)	2.62(5.3)	14.0(7.4)
B30-2W	無	15.1	0.69(2.6)	2.49(1.2)	13.4(8.0)	2.69(3.2)	15.0(4.7)
	有	14.2	0.70(1.4)	2.60(5.2)	15.2(9.2)	2.45(4.2)	13.6(6.7)
C26-2W	無	15.1	0.76(2.1)	2.87(10.2)	16.8(11.5)	3.42(5.9)	21.2(12.2)
	有	14.2	0.74(1.8)	3.14(7.6)	18.2(13.0)	3.23(3.6)	16.3(8.6)

注) ( )内は標準偏差を示す。※1 製造元への聞き取りによる製造当初の物性値

処理後の厚さ膨張率が48%と非常に大きく、湿潤環境に置かれたことによる接着性能の低下の影響が示唆される。物件BおよびCから採取したPBは、厚さ膨張率が15~21%と比較的低い値を示し、曲げ強さはJIS基準値の6.5N/mm<sup>2</sup>を概ね上回っていた。

### 3. 3 吸水厚さ膨張率

採取したPBの吸水率および吸水厚さ膨張率を表4に示す。吸水厚さ膨張率の平均値は4.1~10.0%の範囲となり、JISの基準値(12%未満)や

初期参考値(10.8%)と比較するとやや低い値を示した。また、MUFを用いたPBの初期の吸水厚さ膨張率については3.4~7%程度<sup>3,6,7)</sup>と報告されており、本試験結果はこれらの報告と大差は無く、経年による性能変化は比較的軽微であったものと推察される。ただし、A32-1JはA32-1Wの約2倍を超える10.0%となっており、これはA32-1Jが湿潤環境にさらされたことによって、エレメント間の結合力が低下したことによる影響が考えられる。

### 3. 4 はく離強さ

はく離強さを表5に示す。採取したPBのはく離強さの平均値は、0.45~0.81 N/mm<sup>2</sup>となり、いずれもJISの基準値0.2~0.3 N/mm<sup>2</sup>を上回っていた。また、MUFを用いたPBの初期のはく離強さは0.5~0.9 N/mm<sup>2</sup>程度<sup>4,8,9)</sup>と報告されており、本試験結果は概ねこの範囲内にあり、この結果のみからは、経年劣化が生じていたかどうかの判断は難しい。ただし、物件Aから採取したPBに着目すると、A32-1JはA32-1Wの7割程度で初期参考値のおよそ8割の値を示した。したがって、A32-1Jは高含水率環境に置かれた影響で、PBの内部結合力が低下していた可能性がある。

表3. 湿潤時の曲げ試験結果

記号	表面 飽削	処理後 厚さ (mm)	厚さ 膨張率 (%)	0度		90度	
				ヤング係数 (kN/mm <sup>2</sup> )	曲げ強さ (N/mm <sup>2</sup> )	ヤング係数 (kN/mm <sup>2</sup> )	曲げ強さ (N/mm <sup>2</sup> )
A32-1W	無	17.0	26.9	1.05(11.4)	6.5(7.9)	0.90(12.8)	5.4(12.9)
A32-1J	無	19.7	48.1	0.60(7.3)	3.0(15.6)	0.58(8.8)	3.0(7.6)
初期参考値 <sup>※1</sup>					6.9		6.9
B30-1L	無	17.5	15.1	1.07(11.3)	6.1(20.7)	1.11(12.2)	6.5(6.5)
B30-2W	無	17.6	15.8	1.11(6.2)	6.6(8.8)	1.21(4.2)	7.9(9.2)
	有	16.7	17.6	1.17(8.6)	8.1(12.9)	1.14(5.7)	7.6(12.5)
C26-2W	無	17.8	17.9	1.15(11.4)	7.5(8.9)	1.31(14.7)	8.3(11.1)
	有	17.2	21.1	1.17(14.6)	7.5(16.9)	1.30(3.3)	7.1(9.4)

※1 表2参照

表4. 吸水率と吸水厚さ膨張率

PB 記号	吸水率(%)		吸水厚さ膨張率(%)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
A32-1W	23.5	2.59	4.1	0.30
A32-1J	49.2	3.21	10.0	1.71
初期参考値 <sup>※1</sup>			10.8	
B30-1L	50.1	3.53	6.5	0.83
B30-2W	47.9	2.82	5.9	0.22
C26-2W	36.2	4.53	6.4	0.43

※1 表2参照

表5. はく離試験結果

PB 記号	密度(g/cm <sup>3</sup> )		はく離強さ(N/mm <sup>2</sup> )	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
A32-1W	0.75	0.023	0.66	0.076
A32-1J	0.73	0.009	0.45	0.036
初期参考値 <sup>※1</sup>			0.56	
B30-1L	0.72	0.011	0.48	0.054
B30-2W	0.71	0.017	0.48	0.038
C26-2W	0.77	0.019	0.81	0.070

※1 表2参照

## 4. まとめ

築後26~32年経過した札幌市の住宅から、床下地材として使用された構造用PBを採取し、各種性能を調べた。本試験では、採取したPBの初期値が不明のため、長期使用による劣化の程度を判断するのは難しい。しかし、高湿度環境に置かれたPBは、相対的に曲げ性能やはく離強さが低く、吸水厚さ膨張率は高い値を示したことから、構造用PBの水分の作用による劣化への影響が確認できた。住宅構造材としての木質面材料の耐久性を明確にするためには、実際の使用環境での劣化についての更なるデータ蓄積が望まれる。

## 謝辞

調査に際して多大なるご協力を頂いた北方建築総合研究所の植松武是氏、NPO北海道住宅の会の高倉俊明氏、(株)CIS計画研究所の服部倫史氏、さらには住宅メーカーの皆様方に深く御礼申し上げます。

## 文献

- 1) 高麗秀昭, 関野登 : 木材工業 60(5), 229-232 (2005)
- 2) 関野登 : 木材工業 58(7), 298-304 (2003)
- 3) 大熊幹章、清水臣 : 木材工業 35(9), 411-414 (1980)
- 4) 堀江秀夫 : 林産試験場報 15(2), 1-8 (2001)
- 5) 関野登 : 木材学会誌 31(10), (1986)
- 6) 関野登 : 木材学会誌 32(4), 280-284 (1986)
- 7) 堀江秀夫 : 林産試験場報 15(5), 1-9 (2001)
- 8) 吹野信, 堀江秀夫, 佐藤司, 小川尚久 : 木材学会誌 46(6), 581-586 (2000)
- 9) 鈴木滋彦, 斎藤藤市 : 木材学会誌 30(10), 799-806 (1984)

## P-3 鉄触媒炭化した各種バイオマス炭化物の導電性フィラーとしての応用

(北見工大) ○中川健太郎、本保徹也、鈴木京子、鈴木勉

### 1. 緒言

導電性フィラー炭素は高分子絶縁体などに導電性を付与する目的で幅広く利用されているが、その炭素の大部分は化石資源由来である。従って、再生可能なバイオマスからの製造は大いに推進されてよく、当研究室では既に木質バイオマス（木材）の 850℃鉄触媒炭化による二元機能炭素（導電性と高分子液相吸着能を有する結晶性メソ孔炭素、CMC）の製造に成功し、CMC の二元機能は結晶部がグラファイトシェルチェーン（GSC）という特異な形状・形態を持つことで発現することを明らかにした<sup>1)~3)</sup>。さらに、導電性は粉碎（P）、酸洗浄（A）して鉄を、引き続き空気酸化（O）して非晶炭素を除去することで大きく向上し、市販の導電性炭素に匹敵する以上に達することも報告した<sup>4)</sup>。本研究では、上記の鉄触媒炭化を木材以外の植物系バイオマスに適用し、後処理として P-A-O することで高性能の導電性フィラーが得られるかどうかを調べた。

### 2. 実験方法

①850℃Fe 炭の調製： カラマツ（LW）、モウソウチク（BA）、ガーゼ（GA）、ウメ殻（AS）、パルプシート（PU）に硝酸鉄  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  を水溶液含浸で添加し（金属 Fe として 3wt%）、 $\text{N}_2$  気流中で 500℃-2h、引き続き 850℃-1h 処理した。得られた 850℃炭は、Fe-LW、-BA、-GA、-AS、-PU と表した。参考用に無添加 850℃-1h 炭（No）を調製した。②後処理： 遊星型ボールミルで 20min 粉碎（P）した後 1M  $\text{HNO}_3$  に室温で 24h 浸漬攪拌した（A）。乾燥後 400℃マッフル炉中で熱処理した（O）。この O 処理は、熱重量曲線測定結果から推算した非晶炭素割合を考慮して処理時間を調節した（O による重量減少は 30-50wt%であった）。③後処理炭の性状： 各後処理炭の X 線回折から炭素の結晶性を判定し、窒素吸脱着等温線により細孔構造を調べ、走査電顕（SEM）観察により表面形状等を調べた。また、人工気流中の熱重量（TG）曲線測定により、熱化学的安定性を調査した。④導電性能： 各炭の酢酸セルロース粉末への配合割合を 20wt%として遊星型ボールミルにて 10min 粉碎混合し、熱圧成型（140℃、200kgf/cm<sup>2</sup>、30min）した。得られた円板試料（30mm×1.5mm）について 4 探針法で体積抵抗率（R<sub>v</sub>）、単一正弦波相関法によりインピーダンス（Imp, 1kHz~2MHz）、同軸キャビティ管法で電磁波シールド性能（EMS, 40MHz~2GHz）を測定した。市販の導電性炭素（中性能デンカブラック DB、高性能ケッチェンブラック KB）についても同様の測定を行った。

### 3. 結果と考察

図 1 は OAP 後の炭素の結晶性は GA > LW > AS > BA > PU であることを示しているが、いずれの Fe 炭でも PA による鉄の除去、O による非晶質炭素の除去は効果的に結晶性を増大させた。この結晶性増大は TG 曲線測定結果とも一致し、OAP 後処理はメソ孔を効果的に発達させることも分かった。また、これら 5 種 OAPFe 炭のメソ孔体積はいずれも DB より大きく、細孔径 10-50nm の比較的大きなメソ孔の体積は KB と同等以上であった。こうした状況から LW 炭以外でも GSC の生成が予測され、実際 SEM 観察から BA、GA、AS、PU 炭では形状・形態に多少の違いはあるが、LW 炭と同様に GSC の生成が確認された（図 2）。しかし、炭素の性状分析から炭素の結晶性や細孔構造、GSC の微細構造や形態は原料種によって異なり、この差異が導電性（=フィラー性能）に重大な影響を与えると予想される。

図3は各 Fe 炭の後処理に伴う Rv の変化であり、PA、PAO による導電性向上を表している。このことは上記した性状変化から予想できることであり、メソ孔発達も導電性向上の一要因であることが了解される。特に興味深いのは、5 種 OAPFe 炭の導電性はほぼ同等で、KB に匹敵することである。EMS 性能は、GA-OAPFe 炭が特に優れていたが、他の 4 種 OAPFe 炭でも KB に遜色なく、AS、PU を除けば全周波数域で実用基準の 30dB を超えた。Imp は 5 種 OAPFe 炭と KB の間に重大な差は認められなかった。従って、木材以外のバイオマス原料からも KB と同等以上の高性能導電性フィラーが製造できることが確認された。

ただし、フィラー原料としての適性は、得られる GSC の最終収率（炭化と後処理に伴う減量を考慮）にも関係する。この値は、表1に示したように LW > PU > GA > BA > AS であり、木材は最適であるが、他のバイオマスからも LW の 60-80% に相当する量が生成するので、GA、BA、AS、PU はいずれも有望な出発原料であることを裏付けている。

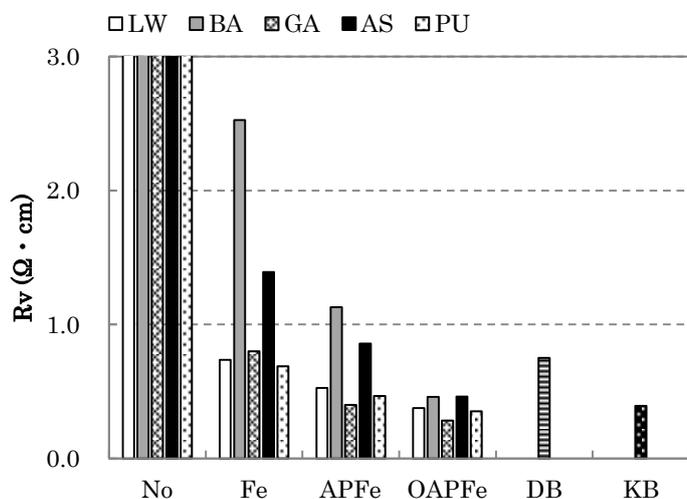


図3. 各炭の体積抵抗率

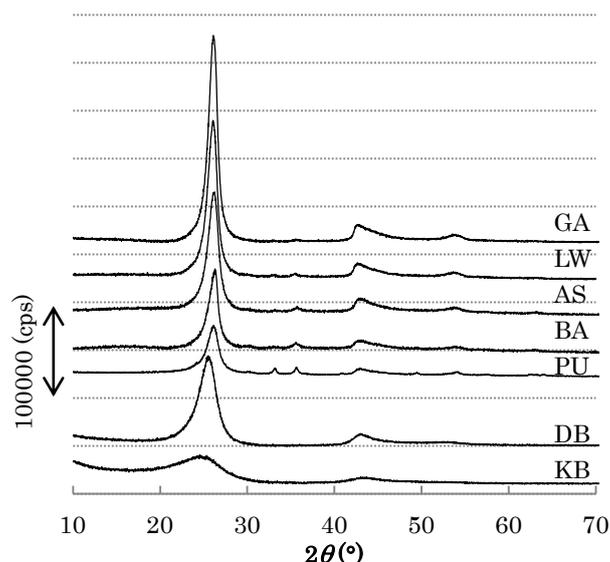


図1. OAPFe 炭の XRD プロファイル

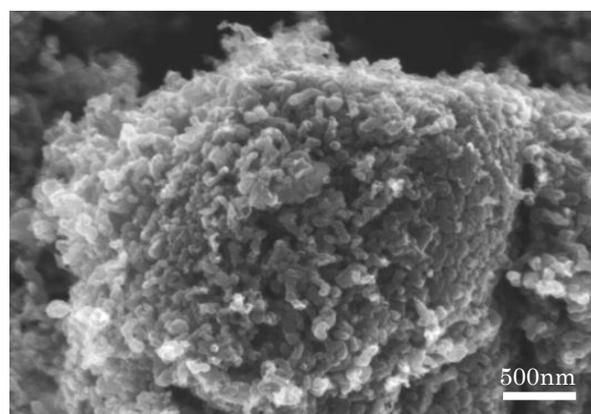


図2. OAPFe-GA の SEM 像

表1. 各 Fe 炭の最終収率

試料名	850°C炭収率(%)	O による重量減少(wt%)	最終収率(%)
LW	27.7	30	19
BA	26.9	50	13
GA	21.2	30	15
AS	17.4	30	12
PU	22.4	30	16

#### 4. 参考文献

- 1) T. Suzuki, H. Matsuzaki, K. Suzuki, Y. Saito, S. Yasui, N. Okazaki, and T. Yamada, *Chem. Lett*, **37**, 798-799 (2008)
- 2) T. Suzuki, D. Kawakami, K. Suzuki, and K. Hattori, *J. Jpn. Inst. Energy*, **90**, 544-545 (2011)
- 3) T. Suzuki, T. Shinomoto, H. Matsuzaki, K. Suzuki, N. Okazaki, Y. Saito, H. Kita, and H. Tamai, *J.MRS*, **36**[3], 417-420 (2011)
- 4) 中川健太郎, 山本剛, 鈴木京子, 鈴木勉, 第44回日本木材学会北海道支部講演集, p. 42-43 (2012)

## P-4 銅担持木炭から調製した電気二重層キャパシタ電極用炭素の性能

(北見工業大学) ○百崎俊幸・坂下修也・鈴木京子・鈴木勉

### 1. 緒言

当研究室では、木材に鉄系金属塩を水溶液含浸で添加した後 500℃で炭化すると図 1 のように金属微粒子が超高分散し、次いで 700-800℃で KOH 賦活処理すると市販活性炭を凌ぐ高い電極性能を持つ電気二重層キャパシタ(EDLC)電極用炭素となることを明らかにしている<sup>1)</sup>。この高い EDLC 性能は、金属微粒子が BET 表面積(SBET)と 4nm 以下のメソ孔(V<sub>2-4</sub>)を選択的に発達させるためと考えられる。本研究では、鉄系金属と同様に高分散するが炭素との相互作用が小さい銅を添加した木炭からの EDLC 炭素製造の可能性を調べた。

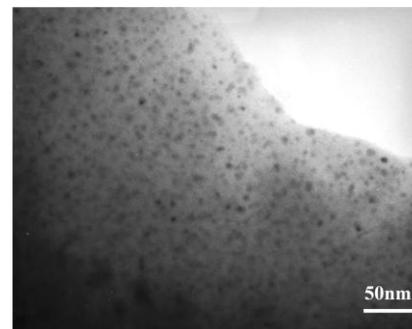


図 1 Fe500℃炭の STEM-TE 像

### 2. 実験

原料炭と賦活、後処理:  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  を金属担持量が 5wt%となるようにカラマツ木粉に水溶液含浸で添加し、 $\text{N}_2$  気流中で 500℃・2h 炭化した。賦活は、これら原料炭に 4 倍量の KOH を加え、 $\text{N}_2$  気流中 700、800℃で 1h 行った。得られた賦活炭は、金属除去のための 1M  $\text{HNO}_3$  浸漬(A)を行い、Cu700A、Fe800A 等として表した。性状分析: 細孔構造は-196℃の窒素吸脱着等温線測定で、炭素と金属の結晶性は X 線回折で調べた。金属含有量は、850℃燃焼残渣を王水に溶解して原子吸光を行い、算出した。炭素表面と金属粒子の形態は、STEM で観察した。電極性能: 金属除去炭(A 炭)、アセチレンブラック、PTFE をそれぞれ 90、5、5wt%配合して製膜し、これを電極として 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (無機電解液)、1M  $\text{Et}_4\text{NBF}_4/\text{PC}$ (有機電解液)中の定電流充放曲線を 2 極式セルで測定し、重量基準のキャパシタンス(Cg)を算出した。比較用の市販活性炭(YP-50)についても同様に Cg を求めた。サイクリックボルタメトリー(CV 測定): 銀-塩化銀電極を参照極、白金を対極として 1M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を用いた 3 極式セルにより、残留金属による擬似容量としての可能性を調べた。

### 3. 結果と考察

500℃炭化で鉄系金属は 4nm 以下の超微粒子が高分散するのに対して、Cu 粒子の多くはより大きな 10nm 前後の微粒子として存在していた(図 2)。また、700℃賦活では鉄系金属担持とは異なり、サイズの異なるメソ孔が多数形成され、800℃賦活ではメソ孔の数が増加する傾向にあった(図 3)。さらに、800℃賦活では鉄系金属担持のような炭素による被覆は起こらず、A による Cu の回収は容易であった(回収率>99.9%)。図 4 に Cu、Fe、Ni、Co700A、800A および YP-50 の電流密度 25mA/cm<sup>2</sup>における無機電解液と有機電解液の Cg を示した。Cu 担持 A 炭の 700℃賦活は鉄系金属担持 A 炭にやや劣るが、800℃賦活では無機および有機電解液共に最も高い値を与えた。

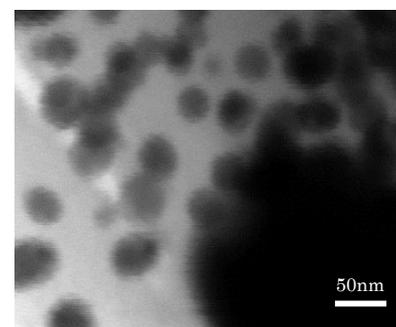


図 2 Cu500℃炭の STEM-TE 像

他方 CV 測定では鉄系金属担持 A 炭と同じく酸化還元反応の形跡は認められず、残留 Cu が擬似容量として働く可能性は小さかった。従って、Cu 炭の高い Cg もその細孔構造に起因することは確かであり、実際 Cu700A、800A 共に SBET は 2800m<sup>2</sup>/g を超え、V<sub>2-4</sub> もそれぞれ 0.24、0.49cm<sup>3</sup>/g とメソ孔が大きく発達した。図 5 は Cg と V<sub>2-4</sub> の関係をプロットしており、これまでの鉄系金属担持 A 炭と同じく CuA 炭は両者の高い相関性を表す近似直線に乗った。以上のことから、鉄系金属担持とは細孔形成の機構は異なるものの、担持 Cu も効率よく V<sub>2-4</sub> を増加させることが、Cg 増加の主因であると推断された。金属回収がより容易であることから、Cu 担持木炭は鉄系金属担持炭より優れた EDLC 電極用炭素原料であると結論した。

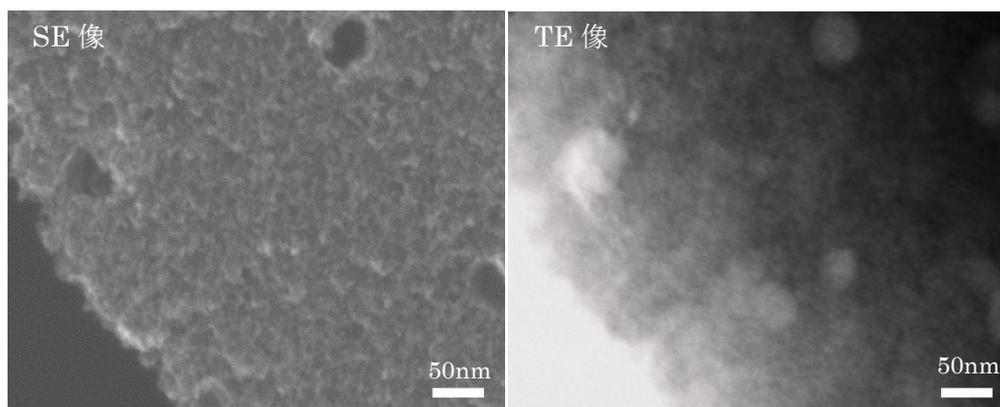


図 3 Cu800A の STEM 像

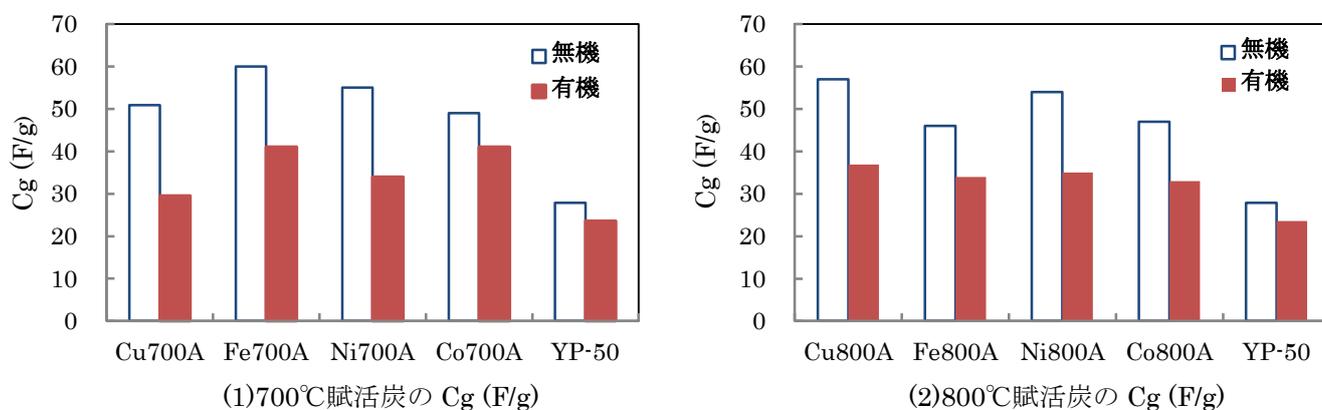


図 4 異なる金属担持 A 炭の Cg

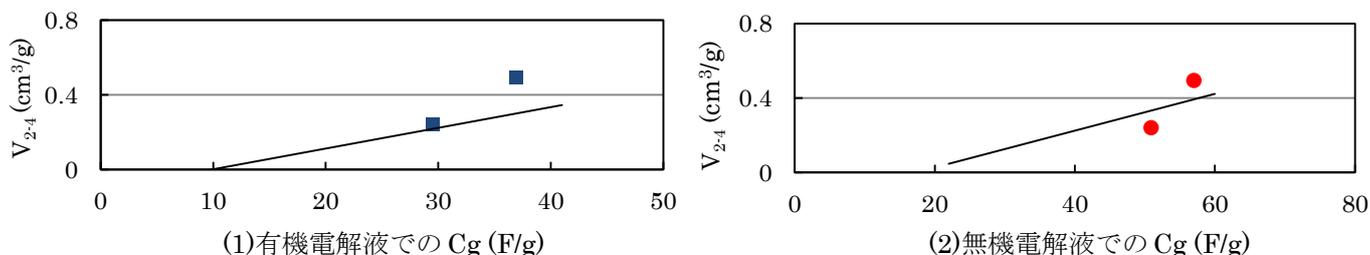


図 5 Cg とメソ孔体積(2~4nm)の関係

#### 4. 参考文献

- 1) 鈴木 勉, ケミカルエンジニアリング, 58 (9), 23-30 (2013).

## P-5 香気成分の定量的分析によるインドネシア産沈香の評価

(北大農) ○石井 貴史、(北大院農) 幸田 圭一、玉井 裕、  
(FORDA) Ina Winarni、Maman Turjama、(北大院農) 浦木 康光

### 【緒言】

沈水香木（沈香）は、インドから東南アジアにかけて生育するジンチョウゲ科 *Aquilaria* 属および *Gyrinops* 属から得られる木材のことを指し、加熱することによって長時間強い芳香を発散させるという特徴がある。沈香は主にお香やエッセンシャルオイルの採取に利用されており、熱帯林における貴重で高価な非木材林産物の一つである。しかし、沈香の品質は、そのほとんどが色や形といった視覚的なものによってのみ決定されている (Table 1; この表では高品質なものから並べてある)。さらに、地域によってもその分類が異なることから、価格決定の不確実性が問題視されている。よって、本研究では、沈香に含まれる香気成分によって品質を評価することを目的とした。

沈香の香気成分は主にセスキテルペン類とクロモン類 (Fig. 1) であるとされ、特に、加熱した際に発生する芳香成分は、クロモン類と推定される。そこで、異なる品質のインドネシア産沈香についてクロモン類の種類および含有量を比較し、現行の品質分類との関係について検討した。

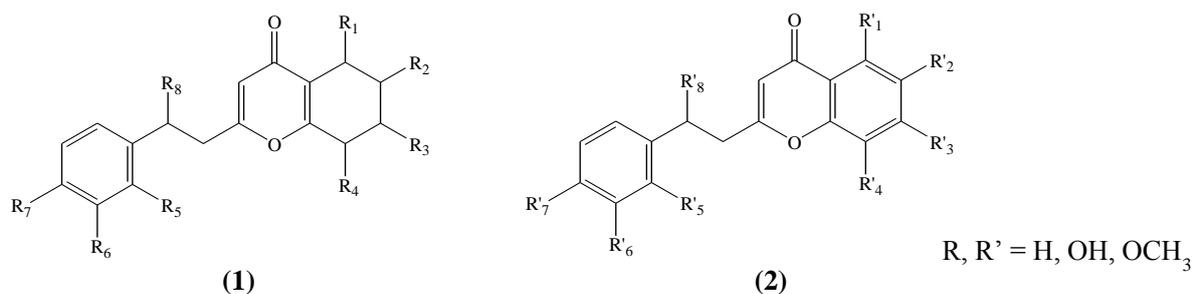


Figure 1 Chemical structure of chromones

### 【実験】

試料は、Table 1 の Super、Tanggung、Kacangan と Teri に分類される *Aquilaria* 属の沈香を、インドネシア林業研究所 (FORDA) より供与して頂いた。Super の中で、より高品質な Double super と呼ばれている沈香も使用した。また、*Gyrinops* 属は、Kacangan に分類される Grade A と Kupingan、および Teri に分類される沈香を使用した。

薄く削った試料をソックスレー抽出器に入れ、エタノール-ベンゼン混液 [1:2 (v/v)] による 4 時間の抽出を行った (アルベン抽出)。抽出物は濃縮乾固した後、24 時間攪拌しながらメタノールに溶解させた。濾過後、メタノール可溶部を回収した。メタノール可溶部は、メタノール/水系のグラジエントを用いた ODS カラムの HPLC および UPLC-TOF-MS に供した。

Table 1 Criteria and classification of agarwood quality

Classification	Criteria
Super	Dark black, hard, dense, shiny and very smelly, no mixed with wood fibers, a large-sized of chunks or granules, and no hollow inside.
Tanggung	Black and brown, dense, hard, sometimes there are hollow inside, occasionally mixed with wood fibers and middle sizes.
Kacangan	Black and sometimes mixed with brown, mixed with wood, granules of pea seed sized or 2 mm in diameter.
Teri	Black and sometimes mixed with brown, mixed with wood, less than granules of pea seed sized and less thin or 2 mm in diameter.
Kemedangan	Wood that contains agarwood resin
Cincangan	Small cutting wood from agarwood separation

出典：『Rekam Jejak: Gaharu Inokulasi, Teknologi Badan Litbang Kehutanan』(英訳)

## 【結果と考察】

Double super および Super に分類された沈香のアルベン抽出量は、絶乾試料ベースでそれぞれ 49.5%、35.2%であり、低い品質に分類された沈香のアルベン抽出量（10~20%程度）に比べて著しく高い値となった（Fig. 2）。このことから、Table 1 において Super に相当する品質の沈香は、有機溶媒に可溶性樹脂を多量含んでいることが明らかとなった。一方、品質の低いランクに相当する沈香では、品質のランクとアルベン抽出量の間に明確な関係は見られなかった。

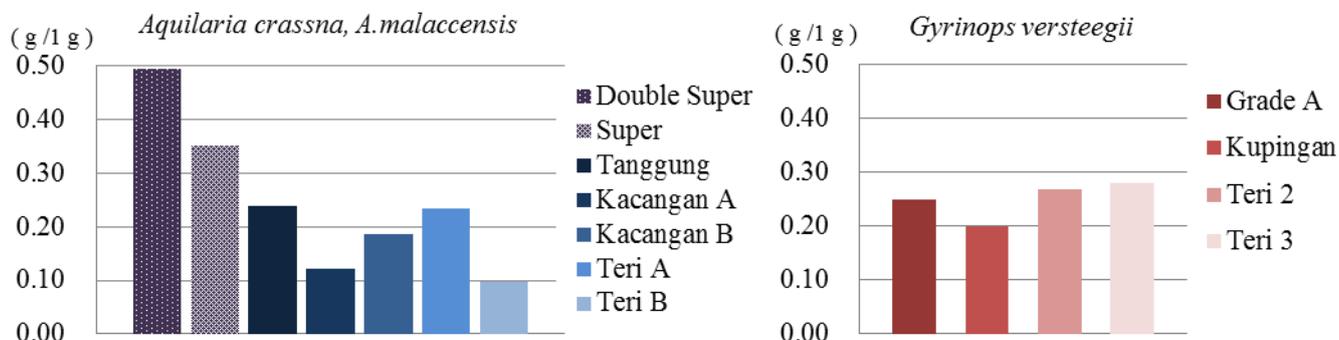


Figure 2 Ethanol-benzene extractives on dried sample

UPLC-TOF-MS を用いた分析により、これらの沈香に含まれる主なクロモン誘導体として、3 種類の化合物を検出した。化合物(A)は Fig. 1-(1)の 4 箇所の R が OH 基、化合物(B)は Fig.1-(2)の 2 箇所の R'が OH 基、化合物(C)は Fig. 1-(2)の 3 箇所の R'が OCH<sub>3</sub> 基のものとして同定した。HPLC/PDA により、これら化合物の定量を試みた。クロモン類は市販されておらず標品がなかったため、化合物含有量を絶乾試料 1 g あたりのピーク面積として Fig. 3 に示す。Double super および Super には、これらの化合物のいずれも検出されず、精油成分から樹脂が構成されていることが推測された。また、化合物(C)は *Aquilaria* 属から採取された低品質の沈香に多く含まれていることが分かった。しかし、どの化合物についても、含有量と品質ランクとの間に明確な関係性は認められなかった。今後は、ヘッドスペース GC-MS を用いて揮発性成分の分析を行うと共に、人間が感知する香気と樹脂含有物との関係について調べる予定である。

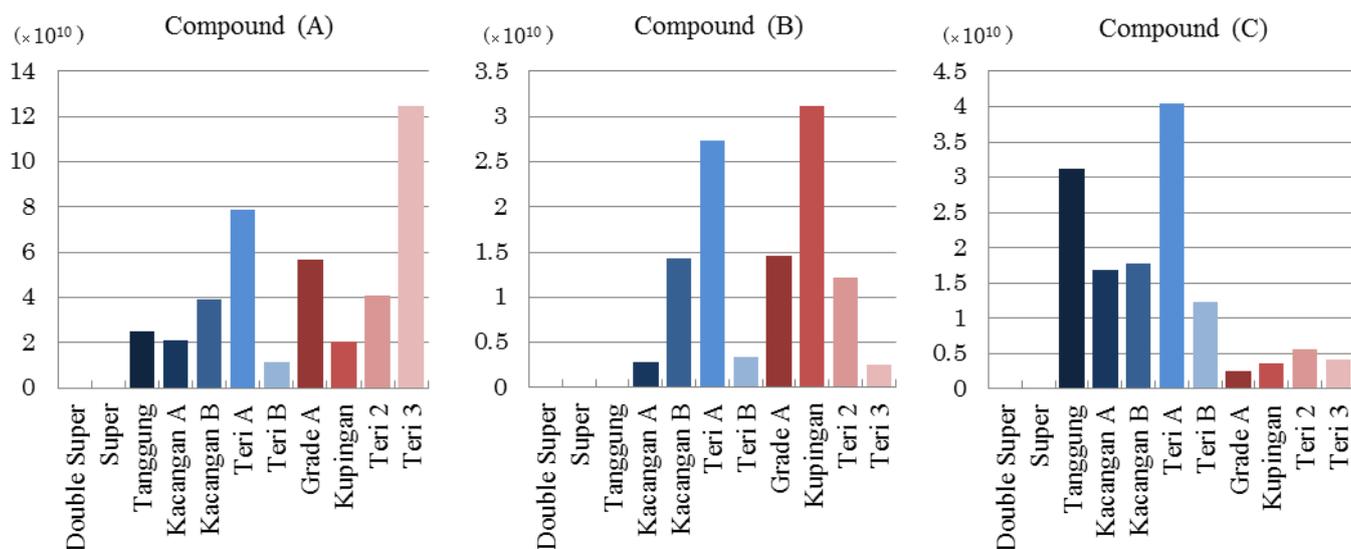


Figure 3 Peak area of each compound based on 1 g dried sample

## P-6 カラマツ類の枝樹皮組織における二次代謝物の集積

(北林産試) ○関 一人、折橋 健

### 1. 緒言

樹皮の基本的機能のひとつとして、病原菌、植食性昆虫および哺乳類などの外敵に対して、樹木自身を物理的および化学的に防御することが知られている<sup>1)</sup>。一般的に成熟した樹皮組織は、外側に死滅組織であるリチドーム、内側に生組織である二次師部からなる。マツ科樹種は、樹皮の二次師部においてテルペノイドやフラボノイドなどの二次代謝物を生合成して<sup>2)</sup>、外敵に対して自らを恒常的に化学的防御する<sup>3)</sup>。これに対して、コルク層に被覆されているリチドームは専ら物理的防御を担当すると考えられてきたが<sup>1)</sup>、ごく最近、カラマツ類のグイマツ (*Larix gmelinii* var. *japonica*) の枝樹皮において、リチドームの形成機構によりジテルペノイドを最外側のリチドームに配置し、より強固な化学的防御を形成することが示唆されている<sup>4)</sup>。しかし、グイマツ以外の樹種や他の二次代謝物の樹皮における集積状況はいまだ把握されていない。

サハリンやクリル諸島南部から北海道へ導入された北方系カラマツ類であるグイマツは、本州中央部から導入されたカラマツ (*L. kaempferi*) と比較して、野ネズミによる樹皮食害に対して高い抵抗性が認められるとともに、樹皮の化学的防御との関連性が多数の先行研究<sup>5, 6)</sup>で示唆されてきた。一方、カラマツ類は容易に種間雑種を形成する特徴があることから、林木育種により両樹種から初期成長性、材質、野ネズミ食害抵抗性、炭素固定能などの点で優れた形質を受け継いだグイマツ雑種 F<sub>1</sub> (♀グイマツ×♂カラマツ、以下 F<sub>1</sub> という) が創出されてきた<sup>7)</sup>。近年、F<sub>1</sub> の道内の年間造林面積は 500 ha 以上<sup>8)</sup>と年々増加してきており、将来的な主力造林樹種として期待されている。

そこで本研究では、樹木の化学的性質を利用した新たな林木育種開発に関する基礎的情報の取得に向けて、カラマツ類のグイマツ、カラマツ、F<sub>1</sub> の枝樹皮組織における主要テルペノイドやフラボノイドの組成および集積分布について比較検討するとともに、その分布と生合成、樹皮形成との関係について考察した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 リチドームおよび二次師部における主要テルペノイドの定量

北海道立総合研究機構 林業試験場 道東支場 (新得町) において、グイマツ、カラマツ、F<sub>1</sub> の各 12 個体 (30 年生) より、リチドームの発達した生枝 (地上高約 8m、枝齢 10~15 年、直径 3~5cm) を採取し、直ちに -20℃ の冷凍庫に保存して実験に供した。

枝の樹幹側の部位において、最内側の周皮を境にしてリチドームと二次師部を正確に分離した。得られたリチドームと二次師部をそれぞれ液体窒素存在下で粉碎した。10ml 容スクリュウキャップ付き遠沈管において、200mg の各樹皮粉碎物を、内部標準物質として 200mg/ml の *n*-tridecane を含有する 4ml 酢酸エチルで超音波洗浄機を用いて 10℃ 以下で 1 時間抽出したのち、遠心分離した。抽出液は硫酸ナトリウムで 24 時間脱水したのち、ガスクロマト質量分析計 (GC-MS) およびガスクロマトグラフィー (GC-FID) を用いて、モノ-およびセスキテルペノイドを市販標準物質または MS スペクトルデータベースと比較することにより同定したのち定量し、乾燥試料中における含有量を算出した。

10ml 容遠沈管において、200mg の各樹皮粉碎物を、内部標準物質として 200μg/ml の heptadecanoic

acid を含む 4mL の石油エーテル-ジエチルエーテル (1:1, v/v) で超音波洗浄機を用いて 10°C 以下で 1 時間抽出したのち、遠心分離した。得られた上清は窒素気流下で乾燥させたのちジアゾメタン含有ジエチルエーテルを添加してメチル化を図った。メチル化試料は GC-MS および GC-FID 分析に供し、8 種のジテルペノイド<sup>3)</sup>を標準物質として、乾燥試料中における含有量を算出した。

## 2.2 リチドームおよび二次師部におけるフェノール性成分および主要フラボノイドの定量

2.1 の試料を凍結乾燥したのち、10mL 容遠沈管において、100mg の粉碎物を 4mL のメタノールで超音波洗浄機を用いて 10°C 以下で 1 時間抽出したのち、遠心分離した。(+)catechin を標準物質として Folin-Ciocalteu 法および DMACA 法を用いて、得られた上清のそれぞれ総フェノールおよび総フラバノールを分析した。また、内部標準物質として 500 $\mu$ g/ml の phthalic acid を含む前記同様のメタノール抽出液を調製し、高速クロマトグラフィー (HPLC) とフラボノイド標準品を用いて、抽出液中のフラボノイドを同定・定量した。

## 3. 結果と考察

3 樹種の二次師部およびリチドームの樹皮組織の各抽出物から、いずれも 17 種のモノテルペノイド、9 種のセスキテルペノイド、8 種のジテルペノイドが同定された。テルペノイドの総量は、両樹皮組織ともにグイマツ>F<sub>1</sub>>>カラマツの順に高かった。グイマツにおいてモノテルペノイドでは 3-carene、ジテルペノイドでは larixol が最多の化合物であり、同様にカラマツではそれぞれ  $\alpha$ -pinene、abietic acid が最多の化合物であった。F<sub>1</sub> ではグイマツとカラマツの主要テルペノイドの量的組成の中庸よりややグイマツよりの傾向を示した。また、3 樹種ともに、主要テルペノイドの相対比は両樹皮組織で近似していたが、その含有量はリチドームの方が二次師部と比較して高かった (Figure 1)。

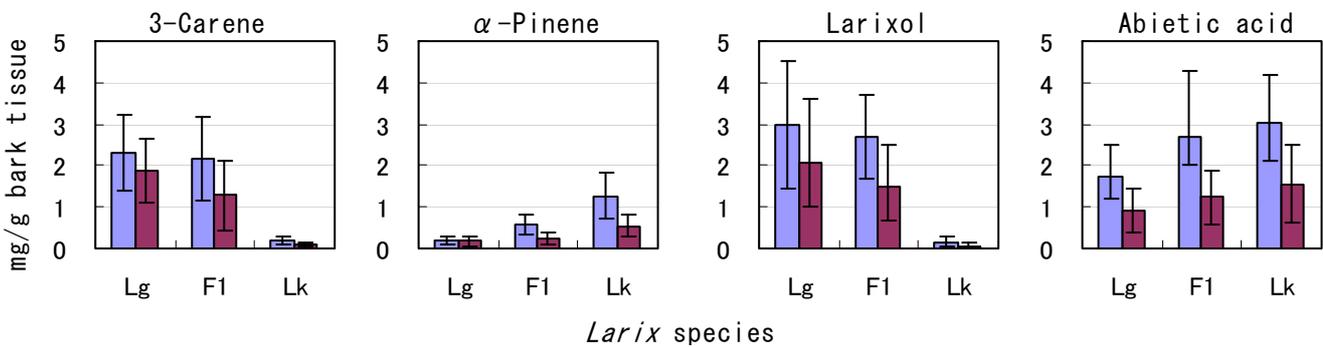
3 樹種の樹皮の各抽出物から、いずれも 3 種の flavan-3-ol 型のフラボノイド ((+)catechin、(-)epicatechin、(-)epiafzelechin) が同定された。総フェノール量、総フラバノール量、(+)-catechin および(-)epicatechin 量は、カラマツ>F<sub>1</sub>>グイマツの順に高い傾向を示した。また、3 樹種ともに、総フェノール量、総フラバノール量、(+)-catechin および(-)epicatechin 量は、二次師部の方がリチドームと比較して高かった (Figure 2)。

一般にマツ科樹種の樹皮において、テルペノイドは二次師部のより細胞活性の高い内側 (conducting phloem) に存在するエピセリウム細胞において生合成されたのち、他の化合物群にほとんど再合成されることなく<sup>9)</sup>、それらを主要成分とするオレオレジンとして二次師部の外側 (non-conducting phloem) で肥大化傾向の高い水平樹脂道や樹脂囊などの内分泌構造に集積される<sup>2)</sup>。カラマツ類の樹皮はリチドームの形態から“うろこ状樹皮”に分類されている<sup>1,2)</sup>。グイマツでは主要ジテルペノイドのリチドームへの偏在性が認められており、二次師部の外側からのリチドームの形成機構に起因することが示唆されている<sup>4)</sup>。したがって、カラマツや F<sub>1</sub> におけるテルペノイドのリチドームにおける偏在性は、同属であるグイマツと同様にリチドームの形成機構によることが推定された。

フラボノイドは生組織において生合成されたのち、さらに多種多様な配糖体や縮合型タンニンに再合成される<sup>10)</sup>。カラマツ類 3 樹種では、二次師部の内側の柔細胞で生合成された 3 種のフラボノイドが、さらに配糖体、プロシアニジン、縮合型タンニンなどに再合成されたのち、リチドームに取り込まれる二次師部の外側ではなく、内側にその多くが集積していることが推定された。

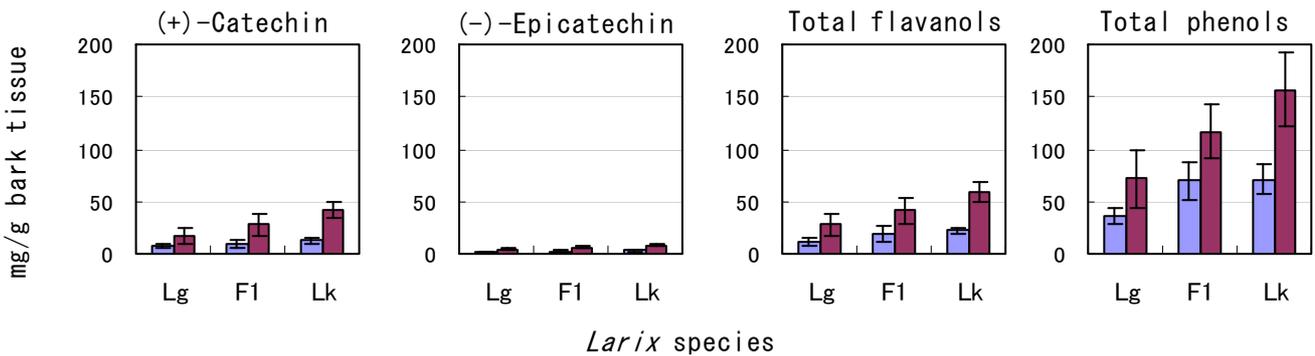
これまでに、カラマツ類の雑種 F<sub>1</sub> における葉のモノテルペノイド<sup>11)</sup>および樹皮のジテルペノイド<sup>5)</sup>は、両親種から量的遺伝を受けることが認められている。今回検討した F<sub>1</sub> の樹皮における総フェ

ノール量、総フラバノール量、フラボノイド量も両親種から量的遺伝を受ける可能性のあることが示唆された。



**Figure 1.** Contents of the constitutive mono- and diterpenoids in the rhytidome and secondary phloem in the branch bark of *Larix* species: Lg, *Larix gmelinii* var. *japonica*; F1, hybrid larch F<sub>1</sub> (*L. gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*); Lk, *L. kaempferi*.

n = 12, based on the dry weight of the bark tissues: ■, rhytidome; ■, secondary phloem



**Figure 2.** Contents of (+)-catechin, (-)-epicatechin, and total phenols and flavanols, in the rhytidome and secondary phloem in the branch bark of *Larix* species: Lg, *Larix gmelinii* var. *japonica*; F1, hybrid larch F<sub>1</sub>; (*L. gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*); Lk, *L. kaempferi*.

n = 12, based on the dry weight of the bark tissues: ■, rhytidome; ■, secondary phloem

## 参考文献

1. Kučera LJ, Bergamin L (2003) The structure, function and physical properties of bark. In: Vaucher E, Eckenwalder JE (eds) *Tree bark: a color guide*. Timber Press, Portland, pp 23–37.
2. Evert RF (2006) *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*, 3rd ed. John Wiley & Son, Hoboken.
3. Gershenzon J (2006) Secondary metabolites and plant defense. In: Taiz L, Zeiger E (eds) *Plant physiology*, 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland, pp 315–344.
4. Seki K, Orihashi K, Sato M, Kishino M, Saito N (2012) Accumulation of constitutive diterpenoids in rhytidome and secondary phloem of the branch bark of *Larix gmelinii* var. *japonica*. *J Wood Sci* 58: 437–445.

5. Hayashi E, Iizuka K, Sukeno S, Kohno K (1998) Relationship between resistance to vole browsing and content of ether extract in bark of larch species and hybrids. *J For Res* 3: 119–122.
6. Sato M, Seki K, Kita K, Moriguchi Y, Hashimoto M, Yunoki K, Kofujita H, Onishi M (2009) Comparative analysis of diterpene composition in the bark of the hybrid larch F<sub>1</sub>, *Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi* and their parent trees. *J Wood Sci* 55: 32–40.
7. 林業試験場 (2009) 種苗の品種にこだわる時代がやってきた, グイマツ雑種 F<sub>1</sub> の特定品種「クリーンラーチ」と「スーパーF<sub>1</sub>」. 林業試験場, 美唄.
8. 北海道水産林務部 (2012) 平成 23 年度北海道林業統計. 北海道, 札幌.
9. Gershenzon J (1994) Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *J Chem Ecol* 20: 1281–1328.
10. Harborne JB (1991) Flavonoid pigments. In: Rosenthal GA, Berenbaum MR (eds) *Herbivores: their interaction with secondary metabolites, I: the chemical participants*, 2nd ed. Academic Press, San Diego, pp 389–429.
11. Holm Y, Hiltunen R (1997) Variation and inheritance of monoterpenes in *Larix* species. *Flavour Fragr J* 12: 335–339.

## 謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（課題番号 20580166, 25450221）の助成を受けて実施された。

## P-7 シラカンバ外樹皮からの終末糖化産物(AGEs)形成阻害成分の探索

(北大院農) ○岡田 直己、久間木 孝史、三橋 進也、重富 顕吾、生方 信

### 【緒言】

現在、糖尿病患者数は年々増加しており、大きな社会問題となっている。糖尿病合併症の原因の一つであるメイラード反応由来の終末糖化産物(AGEs)の形成を阻害する化合物を発見することは、糖尿病合併症に対する新たな予防・治療へと繋がると考えられる(図 1)。

当研究室では、樹皮に含まれる成分の多様性に着目し、北海道に自生する 8 種類(トドマツ・カラマツ・シラカンバ・キハダ・ハルニレ・アズキナシ・ミズナラ・イタヤカエデ)の樹木の外樹皮・内樹皮の抽出成分の組成と AGEs 形成阻害活性との相関性に関する調査を行った。その結果、フェノール含有量と AGEs 形成阻害活性とは正に相関することが示めされた。フラボノイド等のフェノール化合物は抗酸化作用を示し、AGEs 形成阻害活性を持つことが知られている。しかし、シラカンバ外樹皮抽出物のみ、相対的にフェノール含有量は低いにもかかわらず高い AGEs 形成阻害活性を示した<sup>1)</sup>。

そこで、シラカンバ外樹皮からの AGEs 形成阻害物質の単離・構造決定を目的として本研究を行った。

### 【実験】

#### ・ AGEs 形成阻害活性の測定

pH 7.4 のリン酸ナトリウム緩衝液に、BSA(牛血清アルブミン)とグルコースをそれぞれ 800 µg/ml と 0.2 M になるように加えた後、試料を添加し、60 °C で 16 時間インキュベートした。トリクロロ酢酸によりタンパク質を不溶化・遠心し、その沈殿物を pH 10 のリン酸生理食塩水により再溶解した後、蛍光度を励起波長 360 nm・蛍光波長 465 nm で測定した<sup>2)</sup>。また、ポジティブコントロールとして 1 mM のアミノグアニジンを用いた。AGEs 形成阻害活性の計算方法は以下のとおりである。

$$\text{AGEs 形成阻害活性(\%)} = 100 - \frac{\text{蛍光度(試料 + グルコース)} - \text{蛍光度(試料)}}{\text{蛍光度(グルコース)} - \text{蛍光度(グルコースなし)}} \times 100$$

#### ・ フェノール含有量の測定

フェノール含有量は、フェノール性水酸基の還元力を測定する Folin-Ciocalteu 法を用いて行った<sup>3)</sup>。0.25 mg/ml のサンプル溶液に、7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液と 10% Folin-Ciocalteu 試薬を加え、40 °C で 30 分間インキュベートした。その後、765 nm に於ける吸光度を測定した。ただし、サンプルのフェノール含有量は、タンニン酸当量(µM)で  $y = 53.737x + 0.01$ 、 $R^2 = 0.9768$  の検量線で表した( $y =$  タンニン酸当量、 $x =$  吸光度)。

#### ・ 抽出方法と分離操作

シラカンバ外樹皮を凍結乾燥し、ミキサーにより粉末にした後、4 °C・暗所下で 24 時間、重量比の 0.5 倍体積量(100 g に対し 500 ml)の有機溶媒を用いて抽出を行い、木粉の重量比として 12.9%の収量で抽出物を得た。次に、シリカゲルや LH-20 を用いたカラムクロマトグラフィー等による分離操作を行い、粗精製された活性画分を得た。

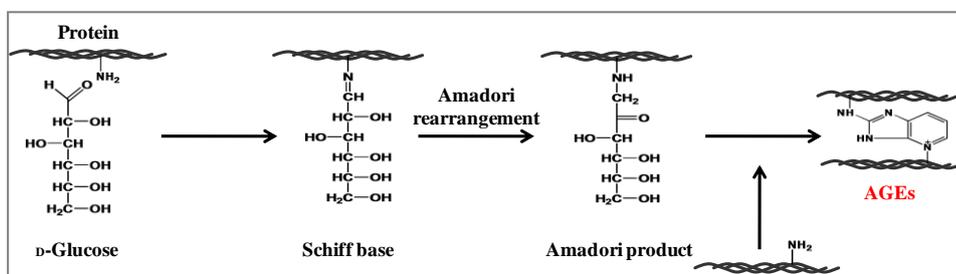


図 1 メイラード反応と AGEs

## 【結果と考察】

### 1. 抽出溶媒

植物から抽出物を得る際に用いられる溶媒は、一般的にメタノールが使用されるが、フェノール性化合物はメタノールへの溶解性が高いことが知られている。そのため、溶解性の低い酢酸エチルによる抽出物との比較を行った。その結果、酢酸エチル抽出物はメタノール抽出物よりも AGEs 阻害活性が高く、フェノール含有量が低いことが示された(図 2-1,2)。

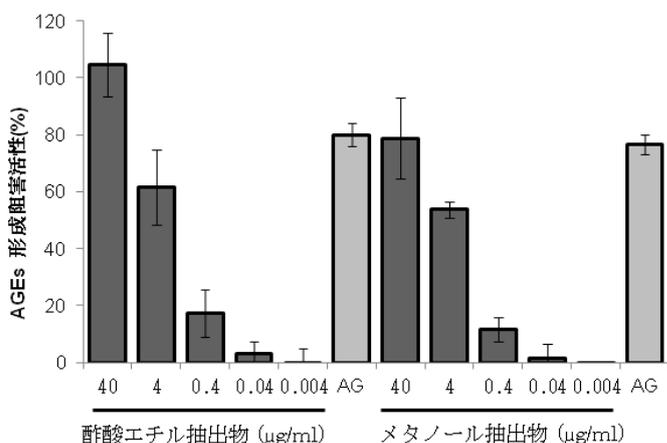


図 2-1 抽出溶媒による AGEs 形成阻害活性の差異

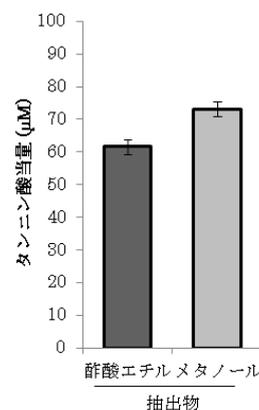


図 2-2 フェノール性化合物含有量

### 2. カラムクロマトグラフィーによる活性物質の分離

酢酸エチルによる抽出により得られた 12.9 g の抽出物は、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CH<sub>3</sub>Cl-MeOH) を用いて、一次分離を行った。その結果、シラカンバ外樹皮の主成分であるベチュリンを多く含む fr. 13-14 には AGEs 形成阻害活性は確認されなかった。一方、fr. 15-17 はフェノール量が極めて少ないにもかかわらず、高い AGEs 形成阻害活性を示した(図 3-1,2)。そのため、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー、Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにより分離操作を行った結果、AGEs 形成阻害活性を示す 35.8 mg の画分が得られた。得られた活性画分から HPLC を用いた分離や結晶化等による活性物質の単離・精製を検討中である。

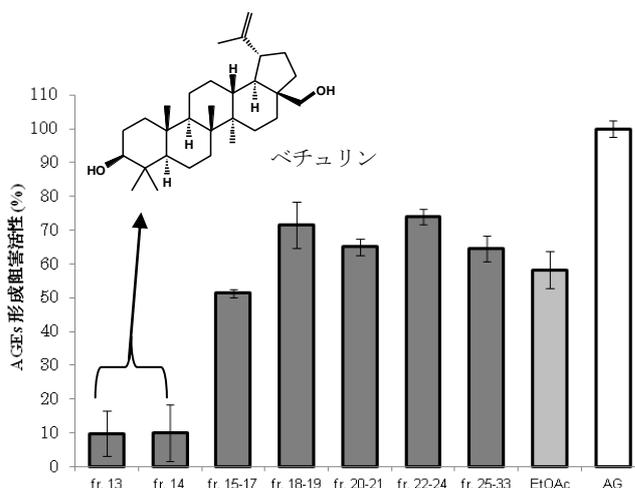


図 3-1 シリカゲルカラムによる分離 (AGEs 形成阻害活性)

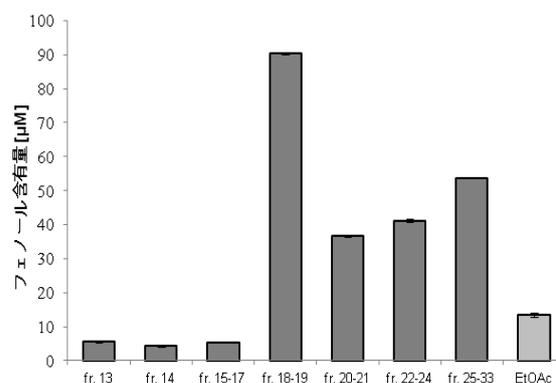


図 3-2 シリカゲルカラムによる分離 (フェノール含有量)

参考文献

- 1) 久間木ら：樹皮のフェノール性抽出成分と AGEs 形成阻害活性との相関に関する研究. 第63回 日本木材学会大会要旨集, 2013.
- 2) Nobuyasu Matsuura, Tadashi Aradate, Chihiro Sasaki, Hiroyuki Kojima, Mitsuharu Ohara, Junichi Hasegawa, and Makoto Ubukata; Screening system for the maillard reaction inhibitor from natural product extracts; *Journal of Health Science*; 2002, 48 (6), 520-526.
- 3) Mbaebie BO, Edeoga HO and Afolay AJ; Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq; *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; 2012, 118-124

# P-8 *Sphingomonas* sp.の異種バクテリアに対する増殖因子の探索

○高井 亮吾、Mohammad Nazrul Islam Bhuiyan、三橋 進也、鎌形 洋一、生方 信（北大院農）

## 1. はじめに

現在、地球上に存在する微生物のうち、実に90%以上の種がいかなる人工培地を用いても培養ができない難培養微生物である<sup>1)</sup>。難培養微生物の中には1種のみでは増殖せず、異種微生物が生産する物質を増殖因子として受け取って初めて増殖可能となる種も存在すると考えられている。そのような異種微生物間の共生関係を媒介する物質を探索することは、難培養微生物を培養可能にするために重要である。

本研究で使用した微生物は4種(GF9、AST4、ASTN45、ASN212株)であり、ともに産業技術総合研究所の生物資源情報基盤研究グループにより、活性汚泥から単離されたものである。GF9株が増殖因子を供給し、他の3種はそれぞれ異なった増殖因子を受け取ることで生育することがわかっている(図1)。

上記の異種微生物間でやりとりされる増殖因子を単離・構造決定するために、ジャーファメンターを用いてNPB培地(表1)でGF9株の培養上清を得た。次に、分液、カラムクロマトグラ

フィーを用いて単離を試みた結果、増殖因子が極めて微量であることが示唆された。

よって本研究では、増殖因子生産をより効率良くし、探索のための出発材料を大量に得るために、培地の組成などのGF9株の培養条件(表2)を検討した。

## 2.材料と方法

### 2.1 培養装置

培地 600 mL を、1 L 容量のジャーファメンター (ABLE 社 BMJ-01P1) を用いて 48 時間培養した。

### 2.2 培地成分

本研究において検討した培地成分は、ポリペプトンと酵母エキスである。以下に実験に使用した由来の異なる培地成分を示す。(表3、表4)

ポリペプトン:

略称	販売会社	商品名	原材料
トリプトン	Difco	Bacto™ Tryptone	カゼイン
カゼイン由来	日本製薬	ハイポリペプトン	カゼイン
大豆由来	日本製薬	ハイポリペプトンS	大豆精製物
脱脂大豆由来	日本製薬	ハイポリペプトンN	脱脂大豆

表3.使用したポリペプトンの情報と略称

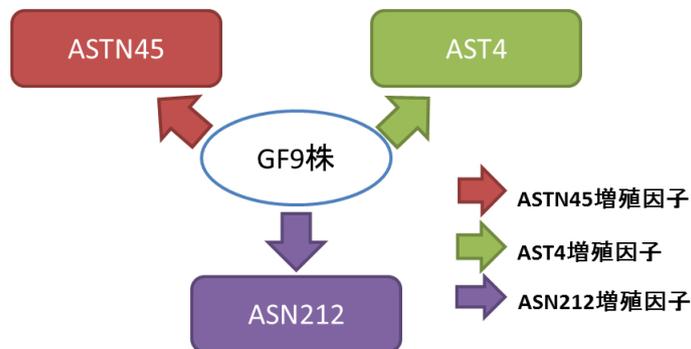


図1.4種の微生物の関係

MATERIAL	ratio(%)
Bacto™ Tryptone (Difco社製)	1.0
Bacto™ East extract (Difco社製)	0.2
MgSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O (和光純薬工業社製)	0.1
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (和光純薬工業社製)	0.1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (和光純薬工業社製)	0.05
D-glucose (和光純薬工業社製)	0.5

表1. NPB培地の培地成分と組成

medium	NPB medium
time	24 hour
agitation	300rpm
aeration	1 v/v/m
temperature	30 °C

表2 GF9株培養条件

酵母エキス：

略称	販売会社	商品名	原材料
Difcoイースト	Difco	Bacto™ Yeast extract	パン酵母エキス
極東 イースト	極東製薬工業	極東 粉末酵母エキス	ビール酵母
パン酵母	オリエンタル酵母	酵母エキスT-514	パン酵母エキス
ビール酵母	オリエンタル酵母	酵母エキスB2	ビール酵母エキス

表 4. 使用した酵母エキスの情報と略称

### 2.3 活性評価方法

GF9 株由来の増殖因子生産量を評価するために、増殖活性を指標とした。すなわち、調製した GF9 上清をサンプルとして、ASN212 株、AST4 株、ASTN45 株に対して表 5 示した条件<sup>3)</sup>で培養し、次いでそれぞれの微生物の増殖量を、OD<sub>595</sub>を測定して評価した。

この時、GF9 上清は希釈していない濃度 (E.C.) とともに、5 倍希釈濃度(0.2 E.C.)、25 倍希釈濃度(0.04 E.C.)のサンプルを活性評価に供し、濃度依存性も調べた。

bacteria	sample	NPB medium	bacteria (from stock)	time	agitation	temperature
ASN212	100 μL	260 μL	40 μL	48 hour	600 rpm	30 °C
AST4	100 μL	260 μL	40 μL (48時間前培養)	48 hour	600 rpm	37 °C
ASTN45	40 μL	320 μL	40 μL	48 hour	600 rpm	37 °C

表 5. 増殖因子活性評価条件

## 3.結果

### 2.1 増殖因子生産に対する攪拌速度の影響

はじめに攪拌速度と増殖因子の関係を調べた。3 種の攪拌速度 (300 rpm, 500 rpm, 700 rpm) で培養した条件における GF9 株培養上清の、ASTN45 株、AST4 株、ASN212 株に対する増殖活性の評価を行った。

結果、ASTN45 株に対する増殖活性が攪拌速度の増加とともに顕著に増加することが判明した (図 2)。

また、AST4 株においても同様に 0.04 E.C.での増殖量は増加した。一方で、ASN212 株に関しては大きな変化は見られなかった。

この結果から、以降の培養条件の検討は、攪拌速度を 700 rpm に設定して行った。

### 2.2 培地組成比の違いによる増殖活性の変化

次に、NPB 培地の培地組成比の違いによる増殖因子の生産に対する影響を調べることを目的として、以下の実験を行った。

まず、ポリペプトンと酵母エキスの比率を変えた 5 種類の NPB 培地を調製した。(表 6)

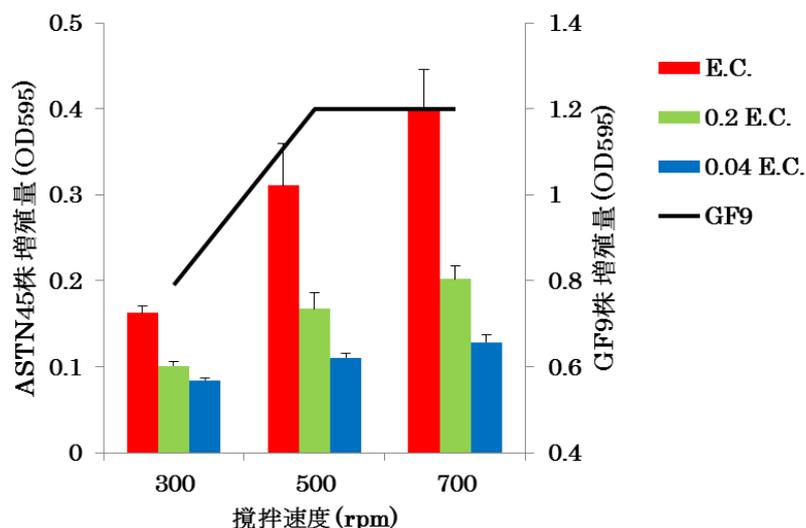
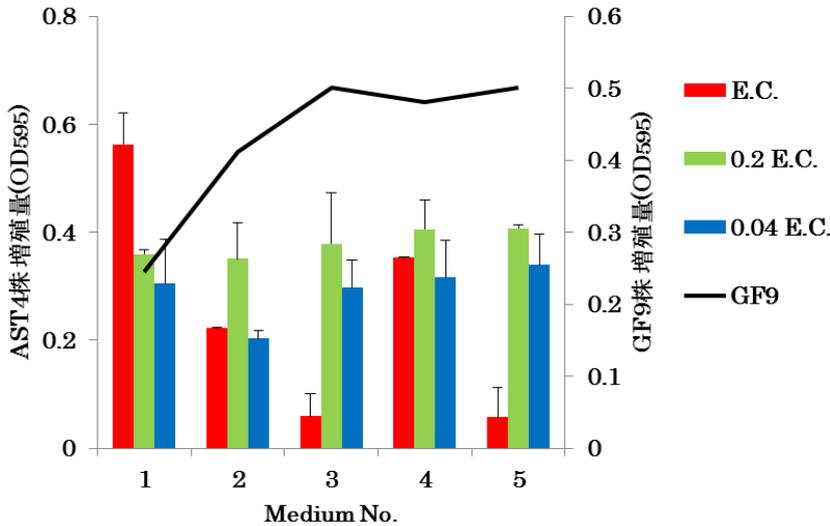


図 2. 攪拌速度の違いによる GF9 株から ASTN45 への増殖活性の変化

Medium No.	1	2	3	4	5
Polypeptone(%)	0.5	0.75	1	1	0.75
Yeast extract(%)	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2

表 6. ポリペプトンと酵母エキスの組成比が異なる NPB 培地



培養後の増殖活性評価の結果、AST4 株に対しては希釈したサンプル (0.2 E.C.、0.04E.C.) で活性が見られたにもかかわらず、E.C.では増殖活性が見られなかった。(図 3 No. 3,5)

また、ポリペプトンについて変更した培養条件において、栄養分が最少の条件で、GF9 株菌体量が減少したにもかかわらず増殖活性の変化は見られなかった。よって、これ以降培地組成は No. 1 の条件で行った。

図 3. 組成比の異なる NPB 培地条件で培養した GF9 株の AST4 に対する増殖活性評価。

### 2.3 培地成分の違いによる増殖活性の変化

最後に、NPB 培地で用いていたポリペプトン、酵母エキス (medium A ) を、由来の異なるものに変更した培地 (medium B~G) を調製した (表 7)。

Medium	A	B	C	D	E	F	G
Polypeptone	トリプトン	トリプトン	大豆由来	大豆由来	トリプトン	トリプトン	脱脂大豆由来
Yeast extract	Difco イースト	極東 イースト	Difco イースト	極東 イースト	ビール酵母	パン酵母	Difco イースト

表 7. 由来の異なる NPB 培地

これら 7 種の培地を用いて GF9 株を培養し、調製した上清をサンプルとして、3 種の微生物に対する増殖活性を評価した。

その結果、ASTN45 株に対して、極東イーストを用いた条件

(medium B) では、GF9 株の菌濃度が低いにもかかわらず、GF9 株の菌濃度が低いにもかかわらず、増殖活性が亢進した (図 4)。しかし、ポリペプトンとして大豆由来のポリペプトン (medium C,D)、及び脱脂大豆由来のポリペプトン

(medium G)を用いた培地条件

で培養された GF9 株上清においては、ASTN45 株の増殖活性が著しく低下することがわかった。ASN212 株に対しても同様に大豆由来のポリペプトン (medium C, D) 及び脱脂大豆由来のポリペプトン (medium

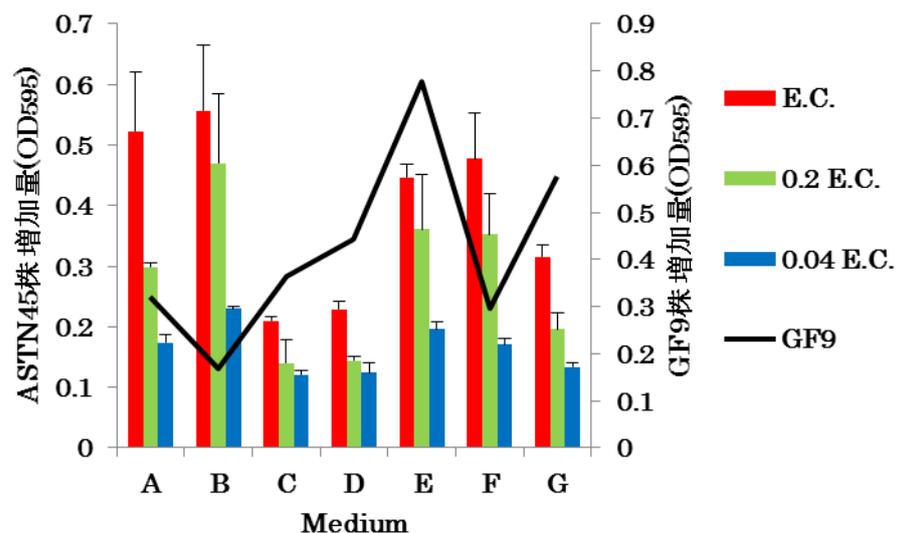


図 4. 素材の異なる NPB 培地で培養した GF9 株の ASTN45 に対する増殖活性評価

G) を用いた条件で増殖活性の低下がみられた。一方で、AST4 に対しては大豆由来のポリペプトン使用培地 (medium C, G) において増殖活性が増加した。

#### 4. 考察

本研究では、GF9 株が生産する ASTN45 株、AST4 株、ASN212 株に対する増殖因子の同定にむけて、それぞれの増殖促進因子を生産する GF9 株の最適培養条件を模索し、以下の結果を得た。

- ・培養時における攪拌速度が高ければ、ASTN45 株及び AST4 株に対する増殖因子生産が活性化される (図 2)。

これは、培養液の攪拌効率と それに伴う溶存酸素の増加が影響しているものと考えられる。

- ・培地組成においてポリペプトンの量を半分にしても、GF9 株の菌体量は減少するが AST4 株及び ASTN45 株に対する増殖活性は変化しない。(図 3)

この結果は、AST4 株及び ASTN45 株に対する増殖因子の単離・精製にむけて、夾雑物になりうる物質を減らせるので有利である。

- ・GF9 株の菌体量とそれぞれの増殖活性には相関性は見られなかった (図 2、図 3、図 4)。

- ・AST4 株は、特定の培地組成において希釈したサンプル (0.2 E.C.、0.04E.C.) においては活性が見られたにもかかわらず、E.C.のみに増殖活性が見られないことがあった。(図 3)。

上記の原因として二つの可能性があり、まず培養の条件によっては、増殖阻害物質も生産されるという可能性、または、増殖促進因子の濃度が高すぎると、逆に増殖が抑制されるという可能性である。

- ・ASTN45 株に対する増殖促進因子は大豆由来のポリペプトン使用条件において生産が低下する。(図 4)

その一方で AST4 株の増殖量は、大豆由来のポリペプトン使用条件においてむしろ促進されていた。この結果は、GF9 株は自然環境において周囲の環境が変化にあわせ、3 種の増殖因子の生産をそれぞれ個別に変化させている可能性を示唆している。

今後、上記の結果をふまえ、GF9 株の大量培養を行い、ASTN45 株及び AST4 株に対する増殖因子の単離・精製を目指す。

#### 5.参考文献

1) R. I. Amann W. Ludwig, and K.H.Schleifer *Micribiol. Rev.* **59(1)**, 143-146 (1995)

2)村上 能寿,微生物間相互作用に關与する未知機能物質の分離精製および同定, 早稲田大学大学院理工学研究所  
応用化学専攻 2006 年度修士論文

3) Mohammad Nazrul Islam Bhuiyan,Growth promoting compound for bacterial strain ASTN45  
produced by *Sphingomonas* sp., 北海道大学応用生命化学専攻 2012 年度修士課程論文

## P-9 樹木冬芽における有鱗芽と裸芽の凍結適応機構

(北大院農) ○岡田香織、遠藤圭太、荒川圭太

### 1. 緒言

北方の樹木の冬芽は、冬季の間、厳しい寒さや凍結にさらされる。冬芽は枝葉や花の元となる原基組織を備えた、春以降の生長や生殖に関わる重要な器官である。細胞内の水分が凍結する（細胞内凍結）と、氷晶により細胞膜が損傷し、細胞は致命的な傷害を被るため、多くの樹種において原基組織を含む冬芽は器官外凍結という凍結適応機構を発達させている。これまで、冬芽の凍結適応機構に関する研究では主に実体顕微鏡や示差熱分析（DTA）といった手法が用いられてきた。器官外凍結する冬芽では、凍結が起こると鱗片や原基組織が脱水し、鱗片の間などの原基組織から離れた場所に氷が蓄積する様子が実体顕微鏡による観察で明らかになっている。また、DTAにより凍結下の原基組織の細胞は過冷却していることが示唆されていた。しかし、これらの手法は冬芽を構成する各組織の細胞がどのような凍結挙動を示すかを明らかにするものではないため、冬芽の凍結適応機構の詳細は未だ明らかになっていない。そのため、当研究グループでは近年、低温走査型顕微鏡（Cryo-SEM）を用いて冬芽の凍結挙動を細胞レベルで明らかにすることを試みている。そこで本研究では、サラサドウダン（*Enkianthus campanulatus*）とエゴノキ（*Styrax japonica*）の広葉樹2種についてCryo-SEMを用いて冬芽の凍結適応機構を解析した。

### 2. 実験方法

#### 2.1. 供試材料

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター森林圏ステーション札幌研究林の実験苗畑に生育するエゴノキ（*Styrax japonicum*）、サラサドウダン（*Enkianthus campanulatus*）の成木から当年生枝を採取した。採取は2012年12月下旬から2013年1月上旬にかけて行い、採取した枝はポリ袋に入れて4℃の冷蔵庫で一晩かけて融解後、実験に用いた。

#### 2.2. 凍結抵抗性の測定

凍結抵抗性は電解質漏出法により求めた。ねじ口試験管に冬芽1つを蒸留水(500 μl)と共に入れ、-3℃に冷却しておいたフリーザーに移して1時間温度平衡させた。その後、植氷して凍結させ、一晩静置した。翌日-5℃に設定し、その後は5℃/dayの速度で冷却した。試料は-5、-10、-20、-30℃の各設定温度まで冷却した後、直ちに4℃の冷蔵庫に入れ、遮光条件下で一晩かけて融解した。引き続き遮光条件下にて振とう機で4時間振とうした後、試験管内の水を分取して、溶液中に漏出した電解質量を導電率計で測定した。測定後、熱湯中で10分間加熱して冬芽を死滅させた後、1時間振とうしてから再度電解質量を測定した。また、未凍結の試料と液体窒素による凍結融解した試料も同様の方法で電解質量を測定し、それぞれ生存率100%と生存率0%の指標とした。

なお、生存率は次式によって求めた。

$$\text{生存率(\%)} = \{1 - (Z - X) / (Y - X)\} \times 100$$

X=未凍結試料の電解質漏出量 / 未凍結試料の加熱後の電解質漏出量

Y=液体窒素による凍結融解試料の電解質漏出量 / 液体窒素による凍結融解試料の加熱後の電解質漏出量

Z=凍結試料の電解質漏出量 / 凍結試料の加熱後の電解質漏出量

### 2.3. 実体顕微鏡による凍結挙動の観察

室温観察時は、野外より採取した冬芽を 4°C の冷蔵庫に入れ一晩融解後、剃刀で切断し、実体顕微鏡下にて横断面と縦断面を観察した。凍結試料観察時は、野外より採取した冬芽を-3°C のフリーザーに入れ 1 時間静置した後、-5°C に設定して一晩静置した。その後 5°C/day の冷却速度で-30°C まで凍結した。-30°C まで凍結した枝は、フリーザーから取り出した後、直ちに液体窒素に浸けて急速凍結固定した。枝を-10°C の冷温室に持ち込み冬芽を剃刀で切断し、横断面を実体顕微鏡で観察した。

### 2.4. 低温走査型電子顕微鏡 (Cryo-SEM) による凍結挙動の観察

#### 2.4.1. 凍結試料の作成

野外より採取した冬芽を 4°C の冷蔵庫に入れ一晩融解後、室温にて Cryo-SEM 観察用の試料ホルダーに入れ、水でマウントした。ホルダーを-3°C のフリーザーに移し 1 時間温度平衡させた後、植氷して凍結させ、一晩静置した。翌日-5°C に設定し、その後は 5°C/day の速度で各設定温度まで凍結した。フリーザーから取り出した試料は直ちに液化フロン(-164°C)に浸漬し、急速凍結固定した。作成した試料は実験に使用するまで液体窒素中で保管した。

#### 2.4.2. 再結晶化試料の作成 (サラサドウダン冬芽)

サラサドウダン冬芽を上記(2.4.1.)の要領で調製し、-20°C まで 5°C/day の速度で凍結した試料をフリーザーから取り出し、直ちに液体窒素を用いて急速凍結固定した。この試料を再び-20°C のフリーザーに戻して一晩静置し、未凍結水の再結晶化を促した。その後、試料をフリーザーから取り出し、直ちに液化フロンを用いて急速凍結固定した。作成した試料は実験に使用するまで液体窒素中で保管した。

#### 2.4.3. Cryo-SEM による観察

液体窒素中で保管していた試料は、-100°C に設定した Cryo-SEM の凍結処理室内の冷却ステージに移し、試料をステージ上で 10 分間温度平衡させた後、凍結処理室内のコールドナイフを用いて試料を切断した。切断断面を 70 秒間エッチングした後、白金 - パラジウムにより蒸着した。蒸着は 120 秒を連続 2 回行った。蒸着後、試料を-140°C の観察用ステージに移し、加速電圧 5.0 kv で二次電子像を観察した。

### 3. 結果と考察

#### 3.1. サラサドウダン冬芽の凍結適応機構

図1に電解質漏出法により測定したサラサドウダン冬芽の凍結抵抗性を示した。鱗片に包まれた完全な状態の冬芽では、 $-30^{\circ}\text{C}$ まで凍結したときの生存率は約60%であった。一方、原基のみを取り出すと $-10^{\circ}\text{C}$ までの凍結で生存率は約35%まで低下した。このことから、サラサドウダン冬芽の葉原基は鱗片に内包された状態にあることで初めて十分な凍結抵抗性を得られることが示唆された。

$-30^{\circ}\text{C}$ まで緩速冷却した冬芽の横断面を実体顕微鏡で観察した結果を図2に示した。サラサドウダン冬芽の内部には中央に葉原基があり、それが8~10枚ほどの鱗片に包まれていた(図2a)。 $-30^{\circ}\text{C}$ まで凍結した冬芽では、鱗片の間に一様に氷の蓄積が見られた(図2b)。

Cryo-SEMを用い、細胞の凍結挙動を観察したところ、鱗片組織に細胞外氷晶が認められたが、葉原基組織には細胞内外ともに氷晶は存在しなかった。鱗片、葉原基の細胞はどちらも凍結による脱水に起因すると考えられる収縮変形を生じていたが、細胞内の水分が完全に脱水されているのか、過冷却しているのかはわからなかった。細胞内水分の状態を明らかにするために再結晶化処理を行ったところ、葉原基の細胞では再結晶化によって成長した氷晶が細胞内に認められたのに対し、鱗片細胞の内部には氷晶は認められなかった(データ未掲載)。したがって葉原基細胞は部分的な脱水を伴った過冷却によって、また鱗片細胞は細胞外凍結によって、それぞれ凍結に適応していたことが明らかになった。

器官外凍結による凍結適応機構を持つカラマツの冬芽において、同様の凍結挙動が明らかにされていることから、サラサドウダンの冬芽は器官外凍結によって凍結に対して適応していることが示唆された。

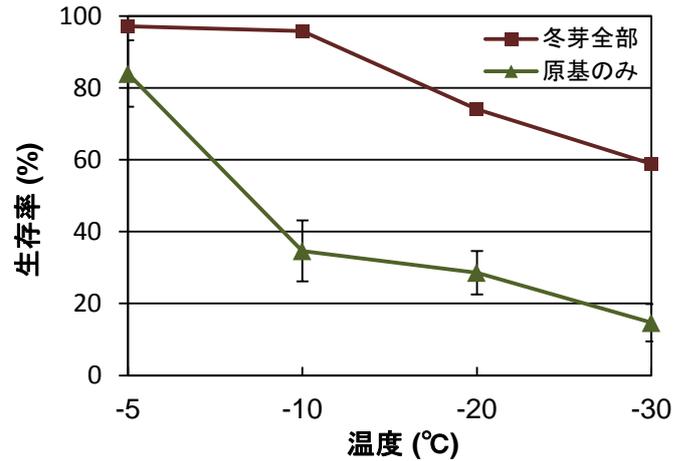


図1. サラサドウダン冬芽の凍結抵抗性.

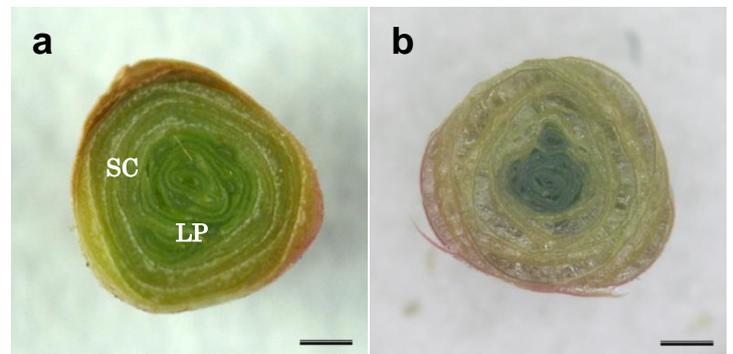


図2. サラサドウダン冬芽の横断面を示す実体顕微鏡写真. a: 室温, b:  $-30^{\circ}\text{C}$ まで凍結. SC: 鱗片, LP: 葉原基, Bars: 1 mm.

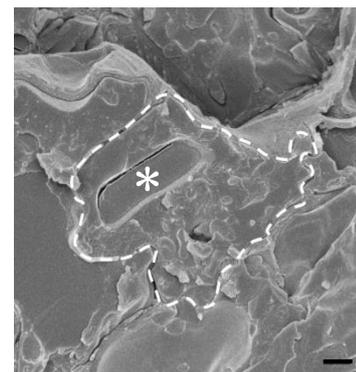


図3. 再結晶化処理後のサラサドウダン冬芽の葉原基細胞の凍結挙動を示す Cryo-SEM 画像. \*: 細胞内氷晶, 破線: 細胞の輪郭, Bar: 100  $\mu\text{m}$ .

### 3.2. エゴノキ冬芽の凍結適応機構

図4に電解質漏出法により測定したエゴノキ冬芽の凍結抵抗性を示した。-5℃まで凍結したところ、生存率は約90%であったが、-10℃までの凍結で急激に低下し、約50%となった。-30℃まで凍結すると生存率は約20%であった。

-30℃まで緩速冷却した冬芽の横断面を実体顕微鏡で観察した結果を図5に示した。エゴノキの冬芽は鱗片を持たない裸芽であり、冬芽内部には表面に褐色の毛を持つ3~4枚の緑色の葉原基が認められた(図5a)。葉原基には表面と裏面に褐色の毛が生えているため、結果として冬芽全体を褐色の毛が覆うような形になっている。-30℃まで凍結した冬芽では、葉原基中に氷の蓄積を確認することはできなかった(図5b)。

Cryo-SEMを用いて細胞の凍結挙動を観察したところ、-5℃まで緩速凍結した冬芽内の組織にはどこにも氷の蓄積が認められなかった(データ未掲載)。-20℃まで凍結すると葉原基の内部に細胞外氷晶が析出しており(図6)、氷晶の周囲の細胞は著しく扁平に収縮した様子が観察された。また、このとき細胞内凍結した細胞は認められなかった。したがって、エゴノキ冬芽の葉原基細胞は、凍結に対し過冷却ではなく、細胞外凍結による凍結適応機構を持つものと考えられた。一般に細胞外凍結を示す組織や細胞は高い凍結抵抗性を示すことが知られているが、エゴノキ冬芽では、-10℃までの凍結で生存率が約50%まで低下し、かなり低い凍結抵抗性を示した。このような結果は、設定した冷却速度による人為的な要因によるものか、あるいは本来の冬芽の性質によるものかは不明である。そのためエゴノキ冬芽の凍結適応機構に関しては、今後さらに詳細な研究が必要と考えられる。

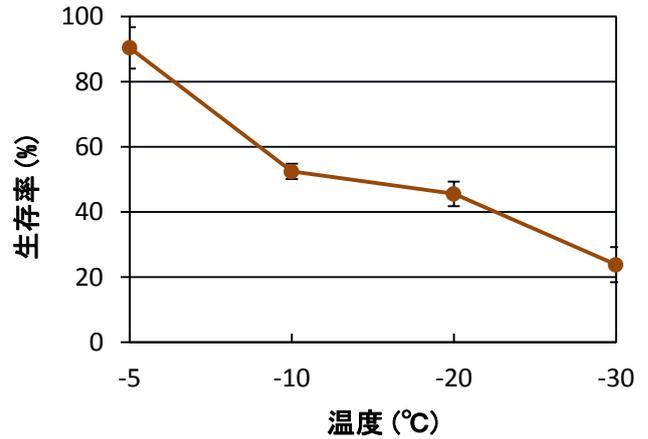


図4. エゴノキ冬芽の凍結抵抗性.

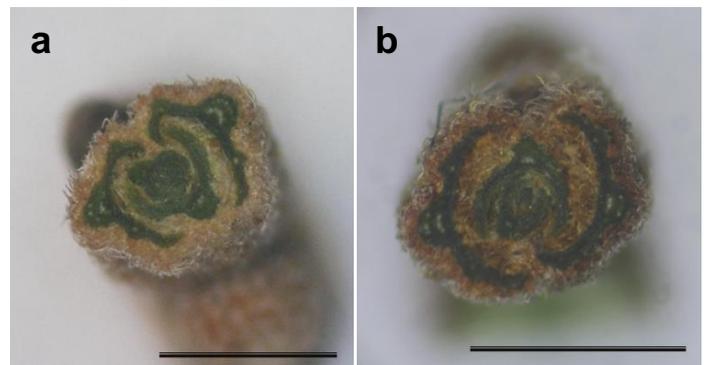


図5. エゴノキ冬芽の横断面を示す実体顕微鏡写真.

a: 室温, b: -20℃まで凍結, Bars: 1 mm.

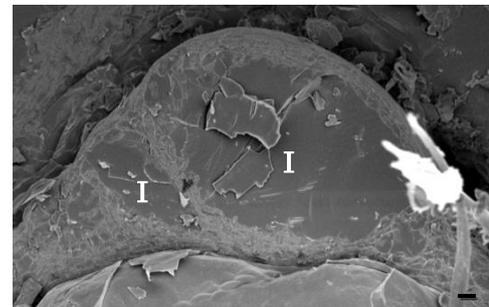


図6. -20℃まで凍結したエゴノキ冬芽の葉原基組織の凍結挙動を示す Cryo-SEM 画像, I: 細胞外氷晶, Bar: 10 μm.

## P-10 カラマツ木部由来のデハイドリンタンパク質の凍害保護活性について

北大農 ○加藤潤、坂本友陽、鈴木伸吾、宇梶慎子、荒川圭太

### 【緒言】

寒冷地に生育する樹木は、冬季に厳しい低温および凍結にさらされるため、樹木の細胞にとって致命的な細胞内凍結を防ぐ機構を備えている。寒冷地域に生育しているカラマツの木部柔細胞は、細胞内の水を準安定的に液体状態に保つ深過冷却と呼ばれる機構によって氷点下温度に適応している。この深過冷却能は、秋から冬にかけて季節的な低温馴化の過程において上昇するため、低温馴化で誘導される可溶性糖やタンパク質、遺伝子の種類や性質、それらの深過冷却能における役割について解析してきた (Kasuga et al. 2007, Takata et al. 2007, Arakawa et al. 2006, Takahashi et al, 2005)。カラマツ木部では、低温馴化で誘導される遺伝子群の中に、Late Embryogenesis Abundant (LEA) タンパク質の一種であるデハイドリン (DHN) をコードする7種類の遺伝子 (*LkDHN1~7*) が含まれていることがわかった (高田 2005)。一般的に DHN は、低温や乾燥などのストレス耐性に関わっていることが知られているため、カラマツ木部柔細胞における深過冷却能や越冬機構と関与することが考えられる。そこで、越冬機構に関する機能評価の一環として、デハイドリン遺伝子 (*LkDHN1~7*) を挿入した組換えタンパク質発現用のプラスミドベクター (高田 2005) を利用して LkDHNs の組換えタンパク質 (rLkDHN1~7) を大腸菌で発現させ、それらの精製標品を用いて凍害保護活性の測定を行うことにした。本研究では、凍結感受性の高いアイソフォームが存在する乳酸脱水素酵素 (LDH) を用い、凍結によって失活する LDH アイソフォームに対して、予め rLkDHN を添加することで LDH アイソフォームの凍結失活を防ぐ効果 (凍害保護活性) を調べた。なお、LDH アイソフォームに対する凍害保護活性の測定の際、rLkDHN の代わりにウシ血清アルブミン (BSA) やリゾチームを用い、rLkDHN を添加した時の活性と比較することにした。今回、7種類の rLkDHNs のうち最初に高度に精製できた rLkDHN6 の凍害保護活性の測定結果について示すことにした。

### 【実験方法】

#### ・ rLkDHNs の大量発現及び精製

His タグ融合型組換えタンパク質の発現用プラスミドベクター (pET100/D-TOPO, Invitrogen) に *LkDHN6* を挿入して作成した rLkDHN6 発現用プラスミド (高田 2005) を増幅した後、組換えタンパク質発現用の大腸菌 [BL21 Star™ (DE) One Shot Cell, Invitrogen] に導入し、添付のプロトコルに従って rLkDHN6 を大量に発現させた。

rLkDHN6 を発現した大腸菌から可溶性画分を回収した後、His タグアフィニティカラム (His Trap HP, GE Healthcare) を用い、添付のプロトコルに従って rLkDHN6 を精製した。

#### ・ 凍害保護活性の測定

凍結により著しく活性が低下することが知られている LDH を用いて凍害保護活性を測定した。LDH (Roche, from rabbit skeletal muscle) を 25 µg/ml に希釈した溶液と 0.2, 2, 20, 200 µg/ml に調製した各種試料溶液 [rLkDHN6, BSA (Boserol DEM®; Organon Teknika) またはリゾチーム (Wako, from Egg White) のいずれか1種類] を等量ずつ混合し、この混合溶液を -20°C のフリーザー内で 24 時間静置して凍結させ、その後 15 分間室温で解凍した。そして、分光光度計に前もってセットした石英キュベット中に、凍結融解後の混合溶液から 20 µl を分取し、ここに予め 25°C に保温した 1 ml の基質溶液 [80 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM KCl,

2 mM pyruvic acid, 0.3 mM NADH] を直ちに添加し、直ちに吸光度 ( $A_{340}$ ) の低下を測定し、LDH活性によるNADH消費の初速度を求めた。そして、LDHと各種試料の混合溶液に、凍結前と比べて凍結融解後にどれだけLDH活性が残っているのかを算出することで凍害保護活性を求めた。なお、ここでは同じ試料を用いた活性測定を3回行い、その平均値を凍害保護活性とした。

### 【結果と考察】

これまでに Lin and Thomashow (1992) や Koda ら (2001) の方法に準じた凍害保護活性の測定では、Sigma 社製の凍結感受性の LDH アイソフォーム (from rabbit skeletal muscle, type V-S) を購入して使用してきたが、あいにく製造中止となり入手不可能となった。そのため、凍結感受性 LDH アイソフォーム単品での購入はあきらめ、他の市販品に凍結感受性の LDH アイソフォームが含まれている試薬を探すことから始めたが、同等品は見つからず、他の LDH 製品を活性測定に用いることにした。その結果、Roche 社製の LDH アイソフォーム (from rabbit muscle, タイプ不明) では  $-20^{\circ}\text{C}$  で 24 時間静置して凍結融解処理をすると、凍結前のものに比べて LDH 活性が 50~60% 損なわれたため、この製品には凍結感受性の LDH アイソフォーム活性が 50% 強含まれていることが示唆された。そのため、以降の実験ではこの製品を使用することにし、凍害保護活性を求める際には、この製品に含まれる全 LDH 活性のうち凍結失活する 50% 強の LDH 活性が LkDHN6 などの試料の添加によってどれだけ凍結失活から保護されるのかについて調べることにした。

また、凍害保護活性を求める際、添加する試料として rLkDHN6 のほか、BSA やリゾチームを用いて活性を比較することにした。

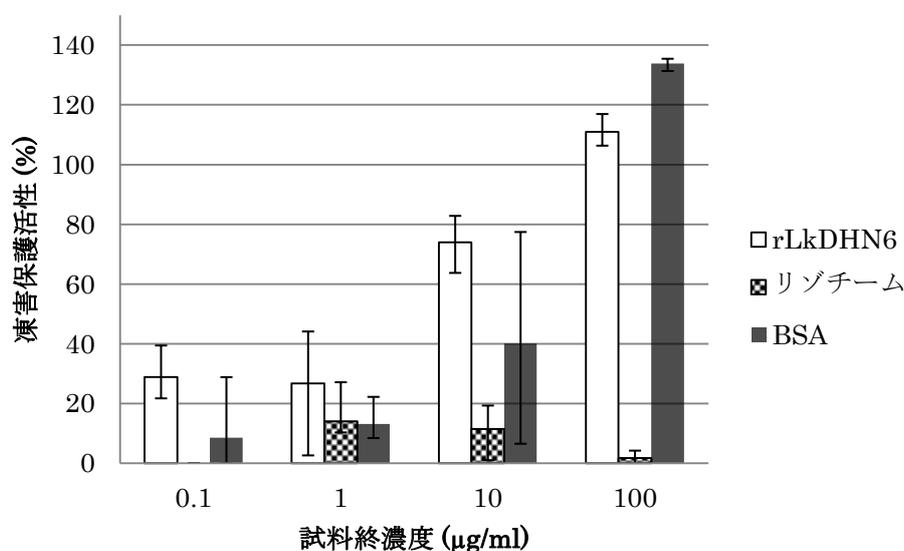


図 1. 各種試料における LDH に対する凍害保護活性の比較。  
各試料 (rLkDHN6、リゾチーム、BSA) をそれぞれ終濃度が 0.1~100 µg/ml となるように LDH 酵素溶液 (終濃度 12.5 µg/ml) に添加して混合溶液を調製した。この溶液について、凍結前と  $-20^{\circ}\text{C}$  で 24 時間静置して凍結融解させた後の LDH 活性を比較し、凍害保護活性を求めた。

その結果、rLkDHN6 と BSA で凍害保護活性が検出された (図 1)。これまで報告された同様の研究でも、BSA は凍害保護活性を持つことが示されている一方で、リゾチームは活性をほとんど持たないことが示されている。結果をみると、rLkDHN6 は BSA と同程度の凍害保護活性を持ち、BSA に比べて、比較的低濃度域で効果的に活性を示す傾向があった。しかし、一部の試料で測定結果にばらつきが出たところがあったので、今後さらにデータを取って検証する必要がある。

これまでに行われてきたデハイドリンに関する研究のひとつとして、ウンシュウミカンのデハイドリンタンパク質 (CuCOR19) の機能評価に関する一連の研究が知られている。この CuCOR19 は凍害保護活性を持ち、さらに、この CuCOR19 遺伝子を過剰発現する形質転換タバコの苗を作出し、 $-4^{\circ}\text{C}$  で 3 時間静置させた後に  $25^{\circ}\text{C}$  で 8 時間静置して凍結融解させたところ、この形質転換株の細胞からの電解質漏出量が野生株のものに

比べて減ったことが示された (Hara et al. 2003)。電解質漏出の減少は、すなわち、凍結脱水などのストレスに起因する生体膜の傷害が緩和されたことを意味するため、CuCOR19 の蓄積には凍結脱水ストレスによる生体膜の不可逆的な構造変化を軽減する作用があることが示唆された。そのため、CuCOR19 と同様に低温誘導性デハイドリンである rLkDHN6 にも凍結傷害を緩和する働きがあることが期待されるため、LkDHNs の機能評価は継続しておこなっていきたい。今後、他の rLkDHNs についても精製でき次第、随時凍害保護活性を調べる予定である。

日本木材学会 北海道支部講演集 第 45 号

---

平成 26 年 10 月 15 日 発行

編集人 幸田 圭一

発行人 菊地 伸一

発行所 日本木材学会 北海道支部

〒060 8589 札幌市北区北 9 条西 9 丁目

北海道大学農学部内

---