

カラマツアラビノガラクトンの製造 (第1報)

マグネシアによるアラビノガラクトンの精製

水本克夫*, 高橋理平*

Production of Larch Arabinogalactan I. Purification of Arabinogalactan by Magnesia treatment

MIZUMOTO, Katsuo* and TAKAHASHI, Rihei*

For establishing the purification process for arabinogalactan extracted from sawdust of Siberian larch (*Larix sp.*) with water at room temperature, we attempted to remove undesirable impurities, causing a tan color, a slightly woody odor and a bitter taste, from the water-extracted arabinogalactan by magnesia and ion-exchange resin treatments.

From the result of this study, it was concluded that the necessary amount of magnesia for sufficient decoloring was more than 5% to water-extracted arabinogalactan and heating temperature and treating time were 70 to 100°C, 10 to 30 min., respectively.

Under the purifying condition of the magnesia treatment, about 50% of the phenolic compounds, and almost all iron and manganese were removed and a slightly yellowish powder was obtained with a 90% yield. Nevertheless, half of the phenolic compounds found in the water-extracted arabinogalactan, magnesium supposedly dissolved from the magnesia, sodium, potassium, and calcium existed in the polysaccharide decolorized by magnesia.

To eliminate these phenolic compounds and cations, a polysaccharide solution was made to pass through ion-exchange resins (H⁺ and OH⁻ type). Eighty percent of the phenolic compounds and almost all the cations were removed by this treatment. The resultant polysaccharide was sufficiently white, tasteless and odorless with a 70% yield based on water-extracted arabinogalactan. The polysaccharide thus obtained gave the same weight-average molecular weight and sugar composition as the water-extracted arabinogalactan.

本研究では、ソ連カラマツの鋸屑から水抽出で得られた苦み、木材臭を有する黄褐色のアラビノガラクトンを精製することを目的に、マグネシア吸着剤処理、およびイオン交換樹脂との併用処理による精製効果について検討した。

マグネシア処理によって抽出物を十分に脱色するためには、マグネシア添加量は抽出物重量当り5%以上、処理温度70~100°C、処理時間10~30分が必要であった。

本処理条件によって、抽出物中の着色原因物質であるフェノール性成分の約50%と、金属成分のうち鉄、マンガンはほとんど吸着除去され、収率約90%で、わずかに黄色を帯びたアラビノガラク

本報告の一部は第39回日本木材学会大会 (沖縄) で発表した。

* 木材試験場

タンが得られた。しかしながら、フェノール性成分の約半量と吸着剤から溶出したと考えられるマグネシウム、および木材由来のナトリウム、カリウム、カルシウムの金属成分が残った。

そこで、イオン交換樹脂処理を併用した結果、収率は約70%に低下したが、フェノール成分の80%以上と金属成分の大部分が除去され、純白、無味無臭で高純度のアラビノガラクトンが得られた。精製アラビノガラクトンの糖組成、重量平均分子量は、無処理のそれと概ね同じであった。

1. はじめに

富山県は全国最大のソ連材輸入・加工基地を擁し、港湾に隣接する製材工場群から年間約6万トン（全乾重量）に及ぶ大量の鋸屑が発生している。これらは家畜敷料、きのご培地、燃料、活性炭等の用途として県内外に出荷されている。このうち、全鋸屑量の約1/3を占めるカラマツ鋸屑の場合は、他の鋸屑に比べてきのご培地や家畜敷料としての商品価値が低いと、より付加価値の高い用途の開発が必要である。

カラマツ属の心材仮導管内腔には、水溶性多糖であるアラビノガラクトン（以下AG）が特異的に5~25%含まれ¹⁾、ソ連カラマツの場合には鋸屑から約10%の収率でAGが得られる²⁾。この多糖類は、水に対して高溶解性かつ低粘性であること、乳化性あるいは懸濁安定性、製剤賦型性があること等から食品、医薬品や化粧品添加剤等への利用³⁾が期待できる。また、その特徴的な分子構造⁴⁾から、難消化性であることが予想され、いわゆる水溶性食物繊維素材として有望である。

AGはカラマツ材の鋸屑、あるいはチップなどの細片を冷水に浸漬するだけで容易に抽出できるが、水抽出物は不純物としてフェノール性成分⁵⁾のほか、微量の金属成分を含む。このため、黄褐色に着色し、かつ苦み、木材臭を呈するので、このままでは上記用途への利用は困難であり、なんらかの脱色精製を必要とする。

これまで、AGの精製方法としてアルコール沈澱法、活性炭法、イオン交換樹脂法等が提案されたが、いずれも脱色効果、あるいは経済性に多くの難点が指摘された³⁾。その後、Adamsらは西部カラマツ (*L. occidentalis* Nutt) のAG精製に活性酸化マグネシウム処理法を提案し、脱色効果の高いことを報告した⁶⁾。

一般に、酸化マグネシウムはマグネシウム化合物を高温炉内で焼成することによって得られるが、焼成温度によっては吸着能に大きな差が生じ、また、

微粒子のため濾過性が悪い⁷⁾。これらの欠点を改善するため、猪狩らは低温焼成（500℃前後）した酸化マグネシウムに濾過性改善のパーライトを混合したマグネシア系吸着剤を試作し、着色性有機物や無機イオン等の吸着能を検討した^{7,8,9)}。その結果、製糖原液の脱色精製では、着色性有機物や無機イオンの吸着能力、食品衛生、コスト等の総合的評価から従来の炭酸法を凌ぐことが確認され⁷⁾、現在この吸着剤は甘味料であるステビオサイドの脱色精製とともに実工程に採用されている。

本研究では、国内で生産され、かつAGの精製では研究例がない上記マグネシア系吸着剤に着目し、ソ連カラマツの水抽出物から高純度のAGを精製することを目的に、マグネシア処理の適正な脱色条件を求めるとともに、その単独処理、およびイオン交換樹脂との併用処理によるAG精製効果を追究した。

2. 実験材料および方法

2.1 カラマツ水抽出物

ソ連カラマツ (*Siberian Larch, Larix sp.*) の気乾鋸屑に重量比で30倍量のイオン交換水を加え、2時間攪拌抽出した後、懸濁液を濾布付き遠心分離機（国産遠心機KK製、H-110B）、東洋濾紙No.2、メンブランフィルター（富士フィルムKK製、ポアサイズ0.45μm）で順次濾過し、清澄濾液を得た。濾液はさらに減圧濃縮、凍結乾燥して粉末状とし、以下実験に供した。その性状はpH5.4（10%濃度）、全フェノール量1.5%、全糖量92.5%の黄褐色粉末（以下KWE）である。

2.2 マグネシア吸着剤

供試した吸着剤は通常の酸化マグネシウムよりも更に低い温度（500℃前後）で焼成したMg(OH)₂の焼成物（北海道曹達KK製、平均粒径：0.2μm）と、パーライト439（タイガライト・オリエン特製、平均粒径：7μm）を重量比で1：3に混合し、調整した⁷⁾。その性状はMgO含量69.7%、CaO含量0.9%の白色粉

末（以下マグネシア）である。

2.3 脱色処理

マグネシアによる脱色処理は表-1の条件に従い、以下のとおり行った。

KWEの10%水溶液に対して所定量のマグネシアを加え、湯浴中で各条件の処理を行った後、処理液を直ちにメンブランフィルターで吸引、濾過した。濾液はそのまま、および希塩酸でpH 5~5.5に調整し、着色度、脱色度を測定した。

表-1 脱色処理条件

因子	水準
マグネシア添加量 [%] ¹⁾	1~10 (7)
温度 [°C]	50~100 (4)
時間 [Min]	3~240 (11)
KWE濃度 [W%]	10

1) KWE (カラマツ抽出物) に対する重量% () ; 水準数

2.4 マグネシア処理AG, およびイオン交換樹脂併用処理AGの調製

2.3において、高い脱色率を示したマグネシア処理AG溶液を二等分し、一方はそのまま、他方はイオン交換樹脂カラムに通し、それぞれ減圧濃縮後、凍結乾燥して粉末状のマグネシア処理AG (以下MAG) と、イオン交換樹脂併用処理AG (以下MIAG) を調製し、以下の分析に供した。なおイオン交換樹脂には強酸性カチオン交換樹脂(H⁺型, KURITA C-111), および強塩基性アニオン交換樹脂(OH⁻型, KURITA A-110) を用いた。

2.5 評価方法

溶液着色度は、10mmセルを用いて420nmと720nmの吸光度の差に100を乗じた値とした。また、脱色度は処理前後の着色度の差に100を乗じて求めた。

マグネシア処理とイオン交換樹脂併用処理の精製効果は収率, pH, 白色度, 全フェノール量, 全糖量, 金属成分(Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe)含有量, 中性還元糖モル比, 重量平均分子量を測定し、評価し

た。

粉末白色度は色差計(東京電色KK製, カラーアナライザー TC-1800MKII)によってLab系白色度を測定し、求めた。全フェノール量はFolin-Denis法¹⁰⁾によるカテキン換算, 全糖量はSomogyi-Nelson法¹¹⁾による全還元糖(Galactose/Arabinoseモル比:1/6基準)に0.9を乗じて求めた。また、金属成分の定量は原子吸光光度計(島津KK製, AA-640-12)を用い、K, Naは炎光分析で、その他は原子吸光分析によりそれぞれ測定した。中性還元糖はポストカラム方式のHPLC(日本分光KK製, TRI ROTAR SR)により分析した。すなわち、各単糖を糖-ホウ酸アニオン性錯化合物としてから陰イオン交換クロマトカラム(TSKgel, Sugar AXI)で分離¹²⁾後、 α -シアノアセトアミドを反応させ¹³⁾, UV検出器(波長275nm)で検出し、定量した。

分子量分布, および重量平均分子量はGFCカラム(東ソーKK製, TSKgel G4000PWXL, G3000PWXL)を2本直列に接続したHPLC(東ソーKK製, 全自動GPCシステム)を用い、リン酸緩衝液(1/15M, pH6.8)を溶離液として試料を溶出分離し、RI検出して測定した。なお、標準物質にはDextran (Sigma社製, Mw72200, 40200, 9400), Maltoheptaose (KK林原製, Mw 1153), Maltose (KK林原製, Mw 360), および α -Dextrose (和光純薬工業KK製, Mw 180)を用いた。

3. 結果および考察

3.1 マグネシア処理の適正条件

まず、マグネシア処理の適正条件を明らかにするため、マグネシア添加量, 処理温度, および処理時間と着色度, 脱色率との関係について検討した。

図-1に、KWE濃度10%, 処理温度90°C, 処理時間20分におけるマグネシア添加量と着色度との関係を示す。マグネシア添加量3%以下では、処理液は出発原液(無処理液)より着色度を増し、赤褐色を呈した。しかし添加量4%以上では、出発原液の着色度を下回り、脱色効果が認められた。この時、処理液は薄い黄橙色から淡黄色となり、pH9.3~9.9の微アルカリ性を示したことから、マグネシアからMgOが溶出し残留するフェノール性成分によって深色化したものと考えられた。

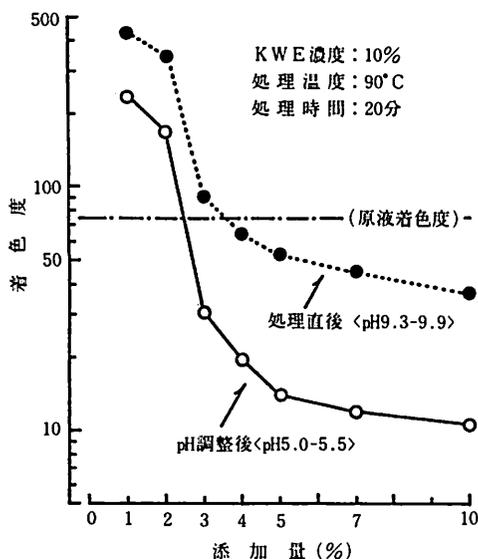


図-1 マグネシア添加量と処理液の着色度との関係
KWE ; カラマツ水抽出物

そこで、処理液を微酸性(pH 5~5.5)に調整した結果、着色度は大きく低下し、添加量3%以上では出発原液の着色度を下回り、さらに添加量5%以上では着色度15以下を示した。

pH調整の効果は図-2に示すマグネシア添加量と脱色率との関係からも明らかである。すなわち、pH調整前の脱色率はいずれも50%以下であるのに対して、pH調整後、脱色率は上昇し、添加量5%以上で

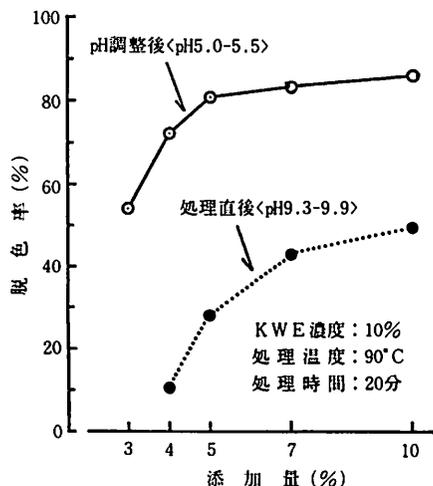


図-2 マグネシア添加量と脱色率との関係
KWE ; カラマツ水抽出物

80%を越える高い脱色率を示した。

次に、KWE濃度10%、マグネシア添加量7%における処理温度、および処理時間と脱色率との関係を図-3に示す。図からわかるように、処理温度が高いほど脱色効果はより短時間で現れ、100°C-10分、90°C-20分、70°C-30分の各条件のとき脱色率はそれぞれ最高に達した。なお、図には示さないが、処理温度50°Cの条件では脱色効果の発現に長時間を要し、脱色率も低かった。例えば、3時間処理で脱色率は50%、4時間処理で72%にとどまった。

以上のことから、KWEをマグネシア処理によって十分に脱色するためには、マグネシア添加量5%以上、処理温度70~100°C、処理時間10~30分が適正であるといえる。

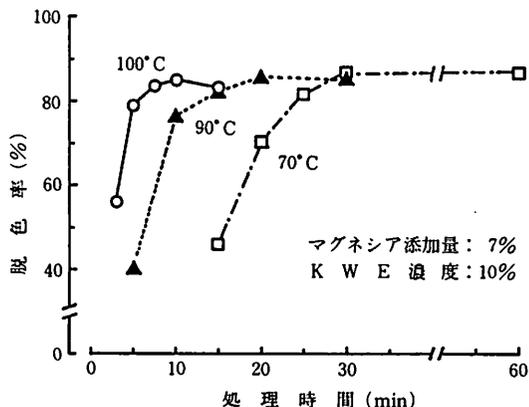


図-3 処理温度および時間と脱色率との関係
KWE ; カラマツ水抽出物

3.2 マグネシア処理の精製効果

マグネシア処理によるAGの精製効果を明らかにするため、3.1で高い脱色率を示した処理温度90°C、処理時間20分、マグネシア添加量5、7、および10%の条件でMAGを調製し、無処理のKWEと比較検討した。

図-4に各処理AGの紫外線吸収スペクトル、表-2にマグネシア処理によるAG精製効果を示す。

図-4から明らかなように、無処理のKWEにおいて見られるフェノール由来の顕著な吸収極大(280nm付近)が、MAGでは顕著に低下した。またマグネシア添加量の増加によって吸収極大は順次低下したが、

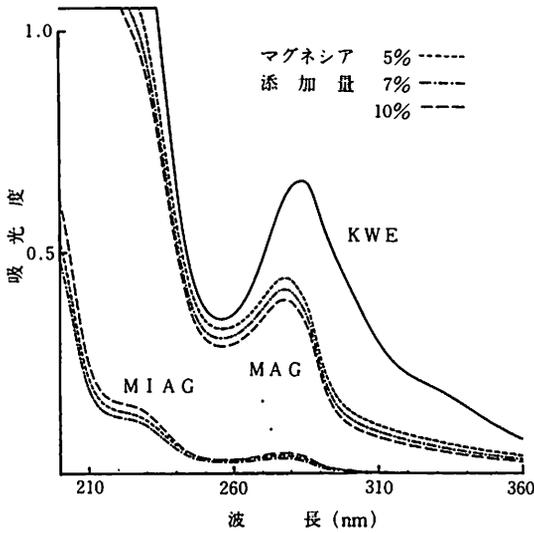


図-4 各処理AGの紫外線吸収スペクトル
 KWE;カラマツ水抽出物, MAG;マグネシア処理AG
 MIA G;マグネシア及びイオン交換樹脂併用処理AG

その程度は僅かであった。以上のことは、マグネシア添加量5%以上でフェノール性成分が安定的に吸着除去されたことを示唆しており、事実、表-2に示すように全フェノール量はマグネシア添加量にほとんど関係なく無処理のKWEのほぼ1/2に減少した。

これに伴って、溶液着色度はKWEの1/3から1/6に低下し、一方、粉末白色度は約65から83ないし87に増加し、かなりの脱色効果が認められた。しかしMAG粉末は多少淡黄色を呈していた。また収率はいずれの条件も約90%であった。

ところで、猪狩らはマグネシアの吸着機構について、水と接触した吸着剤の粒子表面にマグネシウム水和物の活性な表層が形成され、その表層に水中に溶存している各種のアニオン性有機物、および弱解離性基をもつ有機物等がイオン結合的あるいはキレート形成反応的に濃縮吸着されると述べている⁹⁾。このことから、マグネシア処理によってKWE中のフェノール性成分のほかにウロン酸結合部位を持つ一部のAGも同時に吸着されたため、収率が約90%になったものと考えられる。

全糖量はわずかに増加傾向を示したが、ガラクトースとアラビノースのモル比、分子量分布、および重量平均分子量にほとんど変化は見られなかった。

次に、マグネシア処理による各金属成分の量的変化を表-3に示す。Mgは出発物質であるKWEのほぼ3.5倍に増加し、MAG重量当り約0.2%の含有率に達したことから、吸着剤からMgが溶出したものと考

表-2 マグネシア処理の精製効果

	マグネシア添加量 [%]				
	0	5	7	10	
収 率 [%]	100	87.5	92.6	89.4	
pH	5.4	5.8	5.8	5.6	
全フェノール量 ¹⁾ [%]	1.54	0.83	0.79	0.77	
溶液着色度 ²⁾	73.8	21.2	16.9	13.0	
粉末着色度 ³⁾	65.8	83.5	83.6	87.0	
全 糖 量 ⁴⁾ [%]	92.5	93.4	93.6	93.4	
Gal/Ara モル比 ⁵⁾	5.8	5.9	5.8	5.7	
重量平均分子量 ⁶⁾ Mw [$\times 10^2$] (面積比)	A	206 (94.2)	187 (92.4)	185 (92.0)	183 (92.6)
	B	14.6 (0.8)	16.4 (2.1)	16.4 (2.1)	16.1 (2.3)
	C	6.5 (2.5)	6.8 (2.3)	6.8 (2.3)	6.6 (2.1)
	D	2.3 (2.3)	2.5 (3.2)	2.5 (3.2)	2.4 (3.0)

1) Catechin基準 (Folin-denis 法) 2) $[Abs_{420} - Abs_{720}] \times 100$, 10%濃度

3) Lab系白色度 4) 全還元糖 $\times 0.9$ (Ara/Gla:1/6モル基準) 5) IEC (TSKgel Sugar AXI) 6) GPC (Dextran, Maltoheptaose, Maltose, Glucose 基準, TSKgel G4000PWXL+G3000PWXL, M/15 Phosphate Buffer pH6.8), 以上の条件でA,B,C,D画分に分離, <マグネシア処理条件> KWE 濃度10%, 処理温度90°C, 処理時間20分

表-3 マグネシア処理, およびイオン交換処理
併用処理による金属成分の変化 (単位ppm)

	無処理 (KWE)	マグネシア 処理(MAG)	イオン交換樹脂 併用処理(MIAG)
Na	523	488	<1
K	3361	3037	ND
Mg	551	1941	ND
Ca	1172	9177	9
Mn	334	1	ND
Fe	36	<1	<1

<マグネシア処理条件> 添加量7%, 温度90°C, 時間20分
<分析法> Na, K:炎光, Mg, Ca, Mn, Fe:原子吸光

えられる。これに対してNa, K, およびCaは7から22%の範囲で僅かに減少し, またMn, Feは痕跡レベルまで減少した。このようにアルカリあるいはアルカリ土類金属と遷移金属の間にはっきりとした選択吸着性が認められたが, その原因については不明であり今後の検討課題である。

以上のように, マグネシア単独処理だけではフェノール性成分やアルカリ, アルカリ土類金属を完全に吸着除去できず, 精製度がまだ十分ではないことから, MAGをさらにカチオンならびにアニオン交換樹脂カラムに通し, その精製効果を検討した。

3.3 イオン交換樹脂併用処理による精製効果

図-4に示すように, MIAGでは280nm付近の吸収極大がほとんど消失したことから, マグネシア処理で除去できなかったフェノール性成分の大部分がイオン交換樹脂処理によりほぼ完全に除去されたものと推察した。

表-4に併用処理による精製効果を示す。表から明らかなように, 全フェノール量は0.34~0.23%と無処理であるKWEの約1/6までに減少した。これに伴い着色度の低下と白色度(約93)の増加が顕著に認められ, また全糖量はほぼ97%に上昇して, 純白, 無味無臭のMIAGが得られた。

併用処理による収率は約70%を示した。この著しい収率の低下は, イオン交換樹脂処理によってフェノール成分以外にもかなりのAGが同時に吸着除去されたことを示唆しており, 経済的観点からみて, 収率低下のより少ないイオン交換樹脂処理法の検討が必要である。

また, 表-4に示すようにイオン交換樹脂の単独処理だけで, 全フェノール量は0.31%とマグネシア単独処理(全フェノール量:0.83~0.77%)以下に減少し, マグネシアとイオン交換樹脂の併用処理(全フェノール量:0.23~0.34%)と同程度の値を示し

表-4 マグネシアおよびイオン交換樹脂併用処理の精製効果

	マグネシア添加量 [%]				
	0	5	7	10	
収率 [%]	100	68.5	69.8	73.1	
pH	3.4	3.4	3.4	3.4	
全フェノール量 ¹⁾ [%]	0.31	0.26	0.23	0.34	
溶液着色度 ²⁾	18.0	1.6	1.3	1.4	
粉末白色度 ³⁾	80.6	92.7	93.1	93.1	
全糖量 ⁴⁾ [%]	95.9	96.8	96.1	96.6	
Gal/Ara モル比 ⁵⁾	6.1	6.0	6.0	6.5	
重量平均分子量 ⁶⁾ Mw [$\times 10^2$] (面積比)	A	188 (94.7)	177 (97.1)	177 (97.1)	
	B	—	—	—	
	C	6.8 (3.0)	6.1 (0.8)	6.6 (1.3)	6.2 (1.0)
	D	2.4 (2.3)	2.3 (2.1)	2.2 (2.1)	2.2 (2.1)

1), 2), 3), 4), 5), 6) は表-1と同じ <イオン交換樹脂処理条件> 表-1の
マグネシア処理AGをカオチンおよびアニオン交換樹脂カラム処理

た。しかし着色度および白色度の評価値は併用処理に比して明らかに劣った。

この原因を探るため、GPCにより各処理物のUV吸収クロマトグラムを求めた。その結果を図-5に示す。各クロマトピークはフェノール性成分の分子量分布を示す。図から明らかなように、無処理のKWEの場合に多数出現した吸収ピークは、イオン交換樹脂の単独処理によって、主ピーク2とそれに隣接するより高分子側の肩ピーク1だけを残し、以下はすべて消失した。一方、マグネシア単独処理では、ピーク1は消失し、主ピーク2も顕著に低下した。さらにイオン交換樹脂との併用処理によって、主ピーク2のみが僅かに残った。以上のことから、マグネシア処理によって吸着除去できる肩ピーク1および主ピーク2に相当する高分子のフェノール性成分がイオン交換樹脂処理だけでは吸着除去できないために十分な脱色効果が発現しなかったものと考えられる。

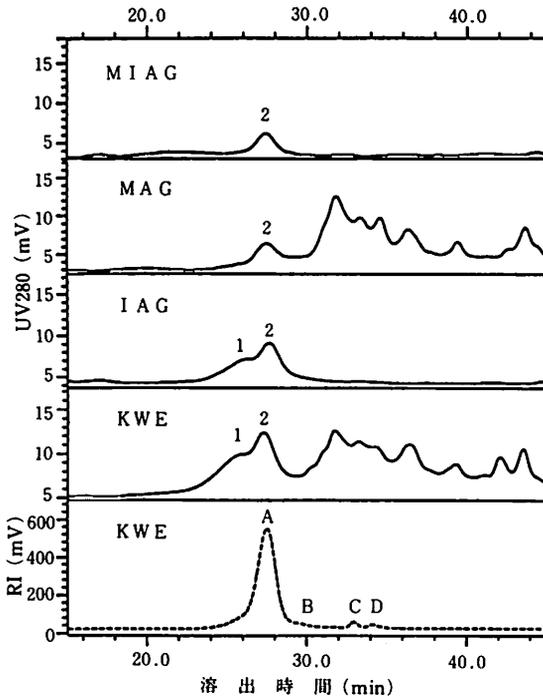


図-5 各処理AGのGPCクロマトグラム
 KWE; カラマツ水抽出物 I A G; イオン交換樹脂処理AG
 MAG; マグネシア処理AG MIAG; マグネシアおよびイオン交換樹脂併用処理AG

なお、マグネシアとイオン交換樹脂処理を併用したMIAGにも、フェノール性成分の存在を示す主ピーク2が残っていること、この溶出位置はAGの高分子画分Aのピークと同位置であることから、カラマツAGの高分子部分には、フェノール性成分が一部化学結合、あるいは強い親和力によって結びついているものと推定される。

表-4に示すように、イオン交換樹脂処理によってガラクトースとアラビノースのモル比は僅かに増加傾向を示した。またGPC分析の結果、オリゴマーのB画分はすべて消失し、C、D画分も1/2ないし1/3に減少した。その分、主成分であるポリマー画分A(重量平均分子量約17700)の割合が97%に増加した。

マグネシア処理では除去できなかった各金属成分は表-3に示すように、すべて痕跡、ないし未検出レベルまで減少した。

以上の結果から、マグネシア処理とイオン交換樹脂処理との併用は収率の低下は大きいですが、着色原因のフェノール性成分や金属成分等の不純物の吸着除去効果が高く、かつAGの糖組成、重量平均分子量を概ね損なわない精製法であることが確認された。

4. まとめ

本研究では、ソ連カラマツ鋸屑の水抽出物から高純度のAGを精製する方法を見いだすことを目的に、マグネシア処理、およびイオン交換樹脂との併用処理による精製効果を検討した。その結果は次のとおりであった。

- 1) マグネシア処理によって水抽出物を十分に脱色するためには、マグネシア添加量は抽出物重量当り5%以上、処理温度70~100℃、処理時間10~30分が必要である。
- 2) 本処理条件によって、抽出物中に含まれる着色不純物であるフェノール性成分の約50%と、金属成分のうちのFe、Mnの大部分が選択的に吸着除去され、収率約90%で、淡黄色のAGが得られる。しかし、マグネシアからはMgが著量溶出し、かつ木材由来のフェノール性成分やK、Na、Caがかなり残留するため、その精製度は十分とはいえない。
- 3) マグネシア処理とイオン交換樹脂処理を併用することによって、収率は約70%に低下するが、AGの分子的特性(糖組成、平均分子量)には概ね影

響を与えないで、フェノール性着色成分の約80%と金属成分の大部分が除去され、純白、無味無臭の高純度アラビノガラクトンが得られる。

5. 謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご指導、ご助言いただいた森林総合研究所研究管理官、志水一允氏、酵素利用研究室長、石原光朗氏、ならびに金属成分の分析にご協力いただいた富山県衛生研究所主任研究員、新村哲夫氏に対し深謝いたします。

文 献

- 1) W. E. Cote, Jr., A. C. Day, B. W. Simson, and T. E. Timell: *Holzforschung*, 20, 178 (1966)
- 2) 水本克夫, 高橋理平: "富山県林業技術センター業務報告", 1989, P.19-20
- 3) M.F.Adams, B.V.Ettling: "Industrial Gums", Academic Press, 1973, P.415-427
- 4) D. Fengel and G. Wegner: "Wood; Chemistry, Ultrastructure, Reactions", Walter de Gruyter, 1983, P.124-125
- 5) 水本克夫, 志水一允: 第38回日本木材学会大会要旨集, 旭川, P250 (1988)
- 6) I. Herrick, M. F. Adams, E. M. Huffaker, : U. S. Patent 3, 325, 473 (1967)
- 7) 加賀敏夫, 猪狩俣将ら: 製糖技術研究会誌, 32, 18-41 (1983)
- 8) 猪狩俣将, 化学と工業, 31, 282-285 (1978)
- 9) 産業公害防止協会: "排水のCOD 低減・磷除法最新技術講習会資料", 1980, P.11-30
- 10) T. Swain, W. E. Hills: *J. Sci. Fd. Agri.*, 10, 63-68 (1959)
- 11) M. Somogyi: *J. Biol. Chem.*, 195, 19-23 (1952)
- 12) M. Sinner, M. M. Simatupang, and H. H. Dietrichs: *Wood Sci. Technol.* 9, 307-322 (1975)
- 13) S. Honda, et al.: *Anal. Biochem.*, 118, 162-167 (1981)