

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26450224

研究課題名(和文) 重金属を使用しない環境適合性に優れた木材防腐技術の構築

研究課題名(英文) Environmentally compatible wood Preservation without using heavy metals

研究代表者

羽生 直人 (HABU, Naoto)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：10292575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：牛乳の乳清由来の水溶性タンパク質であるWPI (whey protein isolate) を環境調和的な防腐処理に適用することを試みた。スギ辺材にWPIを含浸させた後、加熱してタンパク質を不溶化することによって調製したWPI処理木材の耐腐朽性を評価した。褐色腐朽菌オオウズラタケおよび白色腐朽菌カワラタケを用いた腐朽試験の結果、無処理材と比較して耐腐朽性が明らかに向上することが示された。また、WPIにホウ酸やシプロコナゾールなどの抗菌成分を添加することによって耐腐朽性はさらに向上し、JIS規格で「腐朽していない」とされる基準である質量減少率3%以下を達成することができた。

研究成果の概要(英文)：An environmentally compatible wood preservation was attempted by using whey protein isolate (WPI), which is a water-soluble protein and derived from milk whey. Sugi (Japanese cedar, *Cryptomeria japonica* D. Don) sapwood specimens were impregnated with WPI and heated to denature and insolubilize proteins. The fungal decay test using a brown-rot fungus *Fomitopsis palustris* and a white-rot fungus *Trametes versicolor* revealed higher durability of WPI-treated wood than control specimens. Their durability was further improved by adding antifungal components such as boric acid and cyproconazole, and the mass loss of 3% or less after decay test was accomplished.

研究分野：木材科学

キーワード：木材保存 防腐 ホウ素 木材腐朽菌 タンパク質変性 アゾール

### 1. 研究開始当初の背景

木材は多くの優れた性質を有しており、古くから幅広い用途に利用されてきた生物素材である。しかしながら、微生物などによって分解・腐朽されやすいという欠点があるため、様々な防腐処理によってこれを克服する努力が続けられてきた。防腐処理の主流となっているのは、加圧注入処理であり、以前は銅・クロム・ヒ素などの重金属を含む防腐剤 (CCA) が多く使用されていた。わが国では 1997 年からクロムおよびヒ素の使用は中止しているが、銅を含む防腐剤は依然として多く使われており、薬剤別の加圧処理木材の生産量を見ると、およそ 5 割が銅系の防腐剤で処理されている (日本木材防腐工業組合の資料

(<http://www.jwpia.or.jp/publics/index/>より)。

銅系防腐剤の安全性に関しては、現在のところコンセンサスが得られており、種々の法令や基準を守って使用すれば問題ないと考えられるが、将来、環境問題を取り巻く状況が現在より厳しい方向に変化した場合に備えて、銅などの重金属を含まない、より安全性が高く、環境調和性に優れた防腐処理技術を構築しておくことが重要であると考えた。

本研究では環境調和的な防腐処理法の一つとして、タンパク質の変性を利用した防腐処理について検討した。タンパク質は多数のアミノ酸が連結してできた高分子化合物であり、加熱や、強酸・強塩基などが要因となって変性すると立体構造が変化し、凝集して不可逆的に不溶化する性質を有する。そこで、水溶性タンパク質を木材に注入し、加熱処理を行い、変性により不溶化したタンパク質が木材の保護層として機能すれば、耐腐朽性を向上させることができると期待した。本研究では、タンパク質として WPI (whey protein isolate: ホエータンパク質分離物) を利用して検討を進めた。WPI は、乳 (通常は牛乳) から乳脂肪分やカゼインなどを除いた水溶液 (乳清) を濃縮してタンパク質濃度を 90% 以上にまで高めることによって調製されており、 $\beta$ -ラクトグロブリンなどの水溶性タンパク質を多く含んでいる。WPI は加熱処理により中性からアルカリ条件下、70 °C 以上で不可逆的に変性し、硬いゲルを形成し、不溶化する。特に主成分である  $\beta$ -ラクトグロブリンは、2 つのジスルフィド結合と 1 つの遊離 SH 基を含み、この遊離 SH 基が他のタンパク質と SH/SS 交換反応による分子内 SS 結合の分子間架け替えを誘発する性質があることが知られている。乳清は、チーズ製造の際の副産物として国内外で大量に発生しており、チーズ製造量が年々増加傾向にあることから、その発生量も増加していると推測される。そのため、乳清の新たな用途を確立できれば、その有効活用につながる可能性もあると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、牛乳の乳清 (whey) 由来の水溶性タンパク質の変性による不溶化を利用して、木材中に注入したホウ素化合物やアゾール系化合物などの防腐剤の定着性を向上させることをめざした。

そのために、木材に注入する WPI および防腐剤の濃度の組合せと変性条件を検討し、得られた処理木材を、日本工業規格 (JIS) に規定された試験法に準じて評価した。これらの検討を通して、腐朽試験において 2 種類の木材腐朽菌 (褐色腐朽菌オオウズラタケおよび白色腐朽菌カワラタケ) に対して、「腐朽しない」と評価される「質量減少率が 3% 未満」を安定して達成できる注入処理の最適条件を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料

木材試験体には、スギ (*Cryptomeria japonica*) の辺材を用いた。試験体寸法は、20 mm × 20 mm × 10 mm (接線方向 × 放射方向 × 繊維方向) とし、使用前に、105 °C で 4 時間乾燥した後、質量を測定した ( $M_0$ )。防腐剤には、ホウ素系化合物としてホウ酸、アゾール系化合物としてシプロコナゾールを使用した。

WPI は雪印メグミルク (株) から、シプロコナゾールは (株) ザイエンスよりそれぞれ提供いただいたものを使用した。

#### (2) 注入処理

木材試験体体積の 5 倍量の 5, 7, 10, 15, 20% (w/v) WPI 水溶液および所定の濃度のホウ酸、シプロコナゾールとの混合液に木材試験体を浸漬し、減圧下 (0.098 MPa) で 3 時間含浸させた。

タンパク質の変性・不溶化は、105 °C で 18 時間加熱乾燥する方法と、注入液から取り出した試験体をオートクレーブ (121 °C で 40 分) 処理を行った後、105 °C で加熱・乾燥する方法の 2 種類で行った。注入処理による質量変化を、次式により算出した。

注入処理後の木材試験体の質量変化 (%)

$$= M_1 / M_0 \times 100$$

$M_0$ : 注入処理前の木材試験体質量 (g),  $M_1$ : 注入処理後の木材試験体質量 (g)

#### (3) 溶脱処理

溶脱処理は JIS K 1571: 2010 「木材保存剤 - 性能基準及びその試験方法」に準じて行った。木材試験体体積の 20 倍量の水中に試験体を浸漬し、マグネチックスターラーで 8 時間攪拌した後、16 時間乾燥させる操作を 1 サイクルとし、これを計 10 回繰り返した。その後、試験体を乾燥させた後、質量を測定した ( $M_2$ )。注入処理前の試験体質量を 100% とした溶脱処理後の質量変化を、次式により算

出した。

溶脱処理後の木材試験体の質量変化 (%)  
=  $M_2 / M_0 \times 100$   
 $M_0$ : 注入処理前の木材試験体質量 (g),  $M_2$ : 溶脱処理後の木材試験体質量 (g)

#### (4) 腐朽試験

腐朽試験は JIS K 1571:2010「木材保存剤 - 性能基準及びその試験方法」を一部改変した方法で行った。供試菌には、褐色腐朽菌オオウズラタケ (*Fomitopsis palustris*) および白色腐朽菌カワラタケ (*Trametes versicolor*) を使用した。培養瓶は、底面積約 64 cm<sup>2</sup>, 全容積約 800 mL の円筒形の広口容器を使用し、これに 100 mL の培地 (グルコース (4.0%), ペプトン (0.3%), 麦芽抽出物 (1.5%), 寒天 (2.0%), pH 5.7) を加えて、植菌した。菌糸が培地表面を覆うまで 26 日、相対湿度約 70% で 5~10 日間培養した後、試験体を 3 個ずつ設置し、同様の条件でオオウズラタケについては明所 (約 6000 ルクス), カワラタケについては暗所で 12 週間培養した。培養終了後、試験体を培養瓶から取り出し、菌糸を取り除き、24 時間風乾後、105 °C で 24 時間乾燥させた後、質量を測定した ( $M_3$ )。次式によって木材試験体の質量減少率を算出し、耐腐朽性を評価した。

質量減少率 (%)  
=  $((M_2 - M_3) / M_2) \times 100$   
 $M_2$ : 腐朽試験前の木材試験体質量 (g),  $M_3$ : 腐朽試験後の木材試験体質量 (g)

### 4. 研究成果

#### (1) 注入処理

注入処理 (オートクレーブによるタンパク質の変性処理なし) 後および溶脱処理後における木材試験体の質量変化を、注入処理前の質量を 100% とし、図 1 に示す。WPI 濃度が高くなるのにもない、注入処理後の質量変化が増加していく傾向にあった。一方、注入された WPI の溶脱処理後の残存率を見ると、WPI 濃度が 10% 以上になると若干の低下が認められるものの、いずれも約 70% が残存していることから、今回用いた加熱処理条

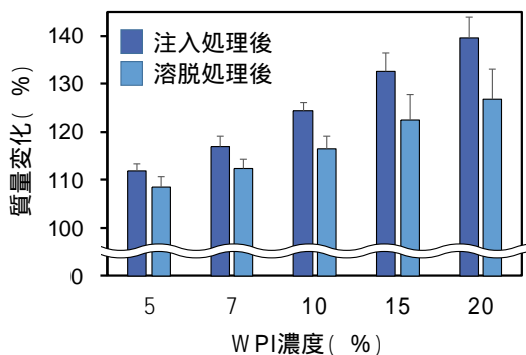


図 1 WPI 処理試験体の注入処理後および溶

脱試験後における質量変化

件で、注入された WPI の大半は不溶化したものと考えられる。なお、注入後のタンパク質の変性条件として、オートクレーブ処理を行った場合もほぼ同様な結果が得られた。

#### (2) WPI 処理が及ぼす耐腐朽性への影響

WPI で処理した木材試験体を、褐色腐朽菌オオウズラタケおよび白色腐朽菌カワラタケを用いた腐朽試験に供し、その耐腐朽性を評価した。なお、無処理材 (コントロール) の質量減少率は、オオウズラタケで約 51%, カワラタケで約 23% であり、JIS 規格の菌の活力判断基準を満たしていた。

図 2 に示すように、オオウズラタケおよびカワラタケいずれの場合も、WPI で処理した試験体の質量減少率は無処理材と比較して明らかに低下しており、耐腐朽性が向上することが認められた。耐腐朽性の向上が最も大きく認められたのは、オオウズラタケでは WPI 濃度が 7%, カワラタケでは 5% の場合で、質量減少率はそれぞれ 5.3%, 3.8% であった。また、WPI 濃度が 7% より高くなると質量減少率が増える傾向が認められたが、この理由については現在のところ不明である。

タンパク質の変性条件としてオートクレーブ処理を行った場合もほぼ同様な傾向が認められたため、以降の検討の変性条件はオートクレーブを行わないで進めることにした。

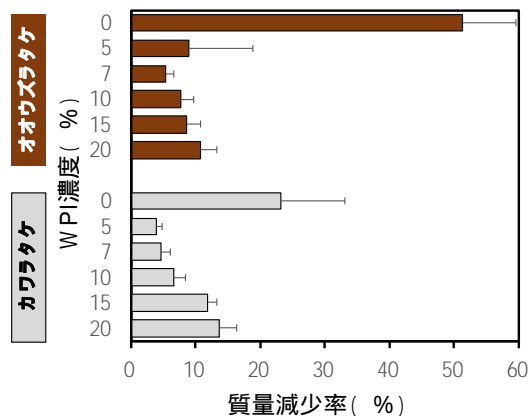


図 2 オオウズラタケおよびカワラタケに 12 週間暴露した WPI 処理試験体の質量減少率

#### (3) ホウ素化合物の添加の影響

WPI で処理することによって、無処理材と比較して耐腐朽性が向上することが明らかになった。しかしながら、JIS 規格において「腐朽していない」とされる基準である質量減少率 3% 以下を安定して達成することはできなかった。これは、WPI 自身には抗菌活性がなく、保護層を形成するだけで腐朽を完全に抑えることはできないことが一因であると考えられた。そこで、WPI に抗菌成分としてホウ酸 ( $H_3BO_3$ ) を添加して処理し、その耐

腐朽性を調べた。

WPI 濃度を 5%とし、これに種々の濃度のホウ酸 (1.5% (0.25 M), 3.1% (0.5 M), および 6.2% (1.0 M)) を添加して処理した試験体の腐朽試験を行った結果を図 3 に示す。オオウズラタケおよびカワラタケの両者において、ホウ酸を添加することによって耐腐朽性が向上することが認められ、質量減少率は、オオウズラタケで 4.1% (WPI と 3.1% のホウ酸の組み合わせ)、カワラタケで 3.1% (WPI と 6.2% のホウ酸の組み合わせ) となった。

木材中に注入されたホウ酸は、一般に定着性が低く水によって容易に溶脱することが知られている。これに対し、WPI と混合してホウ酸を注入した上記の結果では、耐腐朽性の向上が見られたことから、WPI の不溶化によって一定量のホウ酸が溶脱することなく木材中に残存したことが示唆された。ただし、溶脱処理の前後における試験体の質量変化から判断して、WPI の不溶化によるホウ酸固定化の効果は、今回の条件では限定的であったといえる。

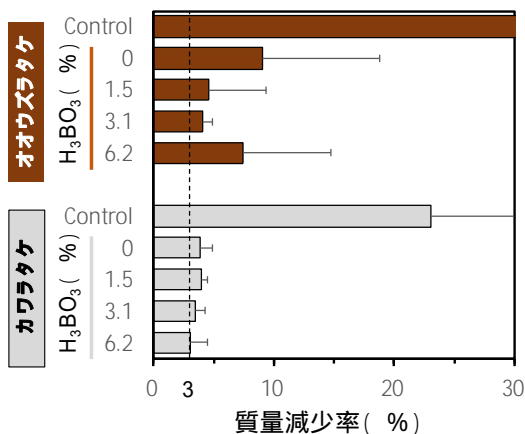


図3 オオウズラタケおよびカワラタケに12週間暴露した WPI (5%) およびホウ酸 (0~6.2%) 処理試験体の質量減少率

#### (4) アゾール化合物の添加の影響

WPI およびホウ酸の組み合わせで処理することによって耐腐朽性を向上させることができたが、質量減少率 3%以下を安定して達成するには至らなかった。そこで、抗菌成分としてアゾール化合物の一種であるシプロコナゾールを少量 (0.006%) 添加した溶液で処理し、耐腐朽性のさらなる向上をめざした。

図 4 は WPI (5%), ホウ酸 (3.1%) およびシプロコナゾール (0.006%) を組み合わせで処理した木材試験体の腐朽試験の結果を示している。シプロコナゾールのみで処理した試験体の質量減少率は、オオウズラタケで 15.8%, カワラタケで 8.3% と、無処理試験体と比較して低い値を示すことが認められた。このことから、注入されたシプロコナゾール

の一部は溶脱処理後も残存していることが示唆された。一方、WPI にシプロコナゾールおよびホウ酸を添加して処理した場合の質量減少率は、オオウズラタケで 2.3%, カワラタケで 1.8% となり、JIS 規格において「腐朽していない」とされる基準である質量減少率 3%以下を達成することに成功した。

また、オオウズラタケにおいては、WPI とシプロコナゾールのみの組み合わせにおいても質量減少率 2.0% が得られ、基準を満たすことができた。

シプロコナゾール添加の効果が、ホウ酸添加の場合よりも大きかった理由として、シプロコナゾールの水に対する溶解性が、ホウ酸よりも大幅に低いことが考えられる。変性して不溶化した WPI とともに木材中に残存したシプロコナゾールは、WPI に保護されたかたちで防腐効果を発揮したものと推測している。

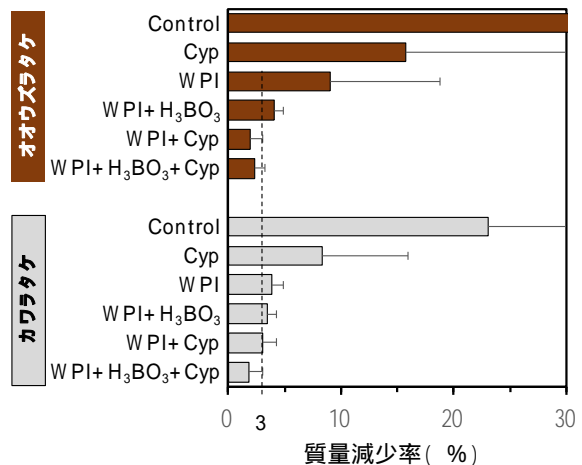


図4 オオウズラタケおよびカワラタケに12週間暴露した WPI (5%), ホウ酸 (3.1%) およびシプロコナゾール (0.006%) 処理試験体の質量減少率

#### (5) まとめ

牛乳の乳清由来の水溶性タンパク質である WPI (whey protein isolate: ホエータンパク質分離物) を防腐処理に適用することを試みた。WPI 水溶液を注入した後、加熱によってタンパク質を不溶化する処理を行った木材試験体は、無処理の場合と比較して高い耐腐朽性を示した。さらに、WPI にホウ酸およびシプロコナゾールを添加して処理すると耐腐朽性は一段と向上し、オオウズラタケ、カワラタケの両者に対して、また WPI とシプロコナゾールの組み合わせではオオウズラタケに対して、JIS 規格において「腐朽していない」とされる基準である質量減少率 3%以下を達成することに成功した。

以上のように、WPI の変性を利用した防腐処理によって耐腐朽性が大幅に向上することを示すことができた。ただし、これらはオオウズラタケおよびカワラタケのそれぞれ

単一菌による腐朽試験であるため、今後、ファンガスセラーや野外の杭試験での評価、また耐蟻性試験などの検討を通して、その有効性を確認していく必要があると考えている。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- ・ 山崎実紅, 金野尚武, 石栗 太, 東 徳洋, 羽生直人, タンパク質の変性を利用した木材防腐処理, 木材保存, in press

〔学会発表〕(計 3 件)

山崎実紅, 金野尚武, 石栗 太, 羽生直人, タンパク質とホウ素化合物の組み合わせによる腐処理, 日本木材保存協会第 32 回年次大会, 東京, 2016

山崎実紅, 金野尚武, 石栗 太, 羽生直人, タンパク質の変性を利用した木材の防腐処理, 第 67 回日本木材学会, 福岡, 2017

山崎実紅, 金野尚武, 石栗 太, 羽生直人, タンパク質の変性を利用した木材防腐処理, 第 68 回日本木材学会, 京都, 2018

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

羽生直人 (HABU Naoto)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号: 10292575