

粉碎した茶殻より作製した茶殻配合紙の構造と力学的性質

島根大学教育学部 高橋哲也
九州大学バイオアーキテクチャーセンター 笠井稚子・近藤哲男
愛媛製紙株式会社 開発企画課 横田博志・国武哲則

Structure and Mechanical Properties of Papers Containing Ground Wasted Tealeaves

Tetsuya Takahashi^{*1}, *Wakako Kasai*^{*2}, *Tetsuo Kondo*^{*2}, *Hiroshi Yokota*^{*3}, and *Tetsunori Kunitake*^{*3}

^{*1} Faculty of Education, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane, 690-8504, Japan

^{*2} Bio-Architecture Center, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

^{*3} Ehime Paper Mfg. Co.,LTD, 370 Muramatsu-cho, Shikokuchuo, Ehime, 799-0401, Japan

Abstract : Wasted Green tea leaves were ground by different methods and papers containing the ground wasted Green tea leaves were prepared. The ground wasted Green tea leaves and the papers containing the ground wasted Green tea leaves were subjected to Scanning Electron Microscopy for morphological observation. The observation revealed that a mass-colloider ground wasted Green tea leaves to very thin films. As the clearance of the mass-colloider was widened from 40 μm to 150 μm , the ground wasted Green tea leaves somewhat increased in thickness and turned into partially folded structures. In addition, after ground, the wasted Green tea leaves showed spiral vessels and vascular bundles extended into coil shapes by shear at the grinding. In contrast, wasted Green tea leaves ground with a ball mill were lumps ranging a few to 400 μm in size. The ground wasted Green tea leaves were used to prepare papers containing wasted Green tea leaves, which were observed. The observation revealed that papers containing wasted Green tea leaves ground with the mass-colloider had a layered structure in which the thin films of wasted Green tea leaves were layered in tight adhesion with networks of pulp fibers. In contrast, papers containing wasted Green tea leaves ground with the ball mill had a coarse structure in which lumps of the wasted Green tea leaves were buried in the network of pulp fibers. In addition, the papers containing wasted Green tea leaves ground by the two different methods were examined for tensile strength and bursting strength. The examination revealed little differences resulting from the different grinding methods, the mass-colloider and the ball mill, or from difference in the clearance of the mass-colloider. The result showed that the mechanical properties were mainly controlled by the pulp fibers in the papers containing wasted Green tea leaves and the wasted Green tea leaves made little contribution to the mechanical properties. On the other hand, papers containing wasted Green tea leaves were lower in stiffness than 100wt% pulp papers; especially papers containing wasted Green tea leaves ground with the ball mill were very soft. Furthermore, an examination of papers containing wasted Green tea leaves for permeability revealed that papers containing wasted Green tea leaves ground with the ball mill had much higher permeability than 100wt% pulp papers.

(Received 5 February, 2008 ; Accepted 19 May, 2008)

1. 緒言

茶は古くから多くの人々に飲まれ、健康や嗜好に良い影響を与えている。また、近年のPETボトルの普及や健康ブームにともなって茶飲料市場が増大し[1]、茶殻の排出量も多くなっている[2]。茶殻には、カテキンをはじめとする様々な有用成分が多く含まれている[3-5]。しかし、茶殻は湿潤状態で排出されるために乾燥工程で大きなコストがかかり、肥料などの一部の用途を除いてあまり再利用されていないのが現状である。そこで、湿潤した茶

殻を再利用する方法として、湿潤状態の茶殻をマスコロイダーを用いて粉碎し、抄紙法による茶殻配合紙の作製を試みた[6]。また、ボールミルを用いた茶殻の粉碎も行い、同様に茶殻配合紙を作製した。これらは、壁紙などのインテリア用品への用途展開を想定したものである。本研究では異なる方法で粉碎した茶殻の構造を調べるとともに、これら異なる粉碎方法により得られた茶殻配合紙に対しても形態観察を行った。そして、得られた茶殻配合紙の構造と性能との関係について調べたので報告する。

2. 実験

2.1 試料

2.1.1 供試した茶葉

お茶はいずれもツバキ科のチャ(学名 *Camellia sinensis*)の葉から作られるが、緑茶は摘み取った葉をできるだけ速やかに加熱して葉の中の酵素を不活化して酸化を止めて作った茶葉である。その代表として、最も一般的なのが若芽を蒸してよく揉んで仕上げられる煎茶である。本研究では、煎茶である株式会社伊藤園製の「おーいお茶」の茶葉を用いた。なお、この茶葉は日本産のものである。

2.1.2 バインダー

パルプおよび茶殻の接着を向上させるため、スチレンブタジエンゴム(SBR)系ラテックスバインダー(乳化物)であるアイカアイボンRAX117(アイカ工業株式会社製)を用いた[7]。このバインダーの用途は主に紙加工であり、一般的に紙力増強剤や紙塗工材料に使用されているものである。なお、本研究に用いたラテックスバインダー乳化物中の固形分は40wt%である。

2.2 茶および茶殻の採取方法

ホーロー製鍋に4.0ℓの蒸留水を入れ、70℃になるまで沸かした後、400gの茶葉を加えて30分間煮た。その後、目開きの細かなステンレス製のメッシュボールを用いて茶殻を濾し取り、試料として用いた。

2.3 茶殻配合紙の作製方法

2.3.1 マスコロイダー粉砕

深さ3~4mmの筋付きの炭化ケイ素製グラインダーを取り付けた増幸産業株式会社製スーパーマスコロイダーMKZA6(石臼式粉砕機)を用い、所定のクリアランスで1,800rpmで回転させて湿式粉砕を行った。その際、湿潤状態の茶殻の乾燥重量を測定し、蒸留水を加えて濃度を3.0wt%になるように希釈調整して使用した。磨り潰された茶殻は、遠心力によって外周方向より取り出される構造になっている。図1に、マスコロイダーの模式図を示す。

2.3.2 ボールミル粉砕

湿潤状態の茶殻を100℃、60分間のオープン乾燥を行っ

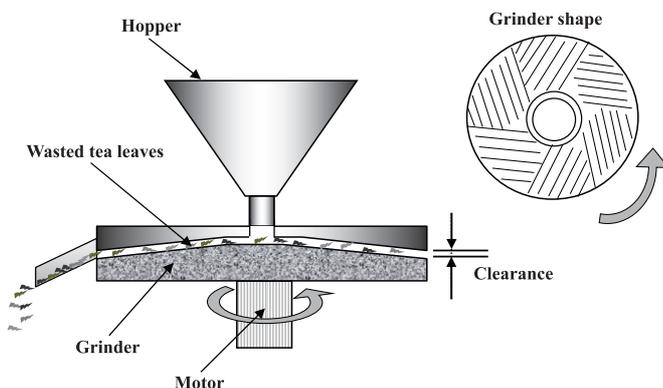


Fig. 1 The schematic representation of Mass-Colloider (Stone mill type crusher).

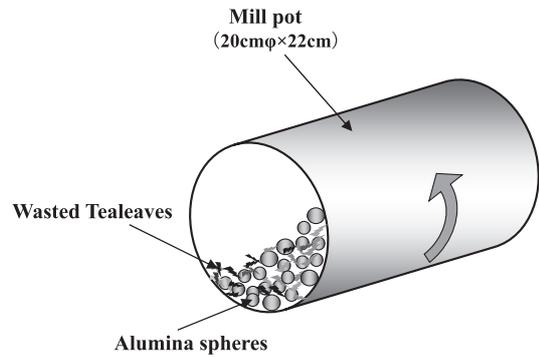


Fig. 2 The schematic representation of Ball mill.

た。その後、内径20cmφ、長さ22cmの陶器製のポットに乾燥後の茶殻100gを入れて、アルミナ製の20mmφのボール1.0kg、30mmφのボール1.0kgとともに、78rpmで60分間の回転をさせて粉砕を行った。図2に、ボールミルの模式図を示す。なお、粉砕前にオープン乾燥を行なった理由は、湿潤した状態では粉砕が不十分になるためである。

2.3.3 抄紙工程

採取した茶殻を粉砕した後、針葉樹晒シクラフトパルプと混合した。その際、茶殻が0、20、40、60wt%になるように、パルプとの配合率を調整した。なお、パルプ分散液は濃度1.0wt%に調整して用いた。また、ラテックスバインダーは、パルプと茶殻の総量に対して全ての試料とも0.3wt%を配合した。上記の割合で配合して混合した後、蒸留水を加えて均一になるようにミキサーで10秒間攪拌し、分散スラリーを得た。坪量100g/m²になるように調整した量の分散スラリーをテスター産業製角型シートマシン(型式PU-401)中に投入した。その後、水抜きを行い、ワイヤーメッシュ上に茶殻粉砕物とパルプの混合物を積層させ、25×25cmの寸法にて抄紙した。さらに、410kPaの圧力にて室温下でプレスし、回転ドライヤーにより約120℃で乾燥して茶殻配合紙を作製した(JIS-P8209)[6]。なお、得られた茶殻配合紙の坪量は、全て100±2g/m²であった。

2.4 測定方法

2.4.1 光学顕微鏡による茶殻粉砕物の観察

粉砕した茶殻をシャーレーに取って自然乾燥させた後、光学顕微鏡(オリンパス光学工業製BX60)を用いて100倍で観察を行った。デジタル顕微鏡写真撮影装置(オリンパス光学工業製DP12)を用いて画像を取り込んだ。

2.4.2 走査型電子顕微鏡(SEM)による観察

電子顕微鏡用ステージに蒸着用カーボンテープを貼り、その上に試料を固定した。これを室温で24時間乾燥を行った後、日立サイエンスシステムズ株式会社製E-1010形イオンパターン装置を用いて、試料に金の蒸着を施した。その後、日立サイエンスシステムズ株式会社製S-3000N形・走査電子顕微鏡を用い、茶殻粉砕物と茶殻配合紙の表面観察を行った。その際、茶殻配合紙の場合で

は、紙の裏面に対する観察を行った。なお、加速電圧は、茶殻配合紙における2,500倍と5,000倍での観察では15kVで、その他の観察では全て20kVで実施した。

2.4.3 透過型電子顕微鏡 (TEM) による観察

マスコロイダー粉砕した湿潤状態の茶殻に蒸留水を加えて軽く攪拌し、その上澄み付近からスポイトで少量の液体をメッシュ上に乗せ、ゆっくりと乾燥させた。その際、試料の支持台として用いたメッシュは、3mmφの銅メッシュにコロジオン膜を張ったものである。つまり、試料の固定方法として、水ペースト法を用いての観察を行った。

2.4.4 力学的性質

作製した茶殻配合紙に対して、JIS-P8113(紙及び板紙—引張特性の試験方法)に準じた乾燥時の引張試験を行った。引張試験の試験片は、幅 $15.0\pm 0.1\text{mm}$ 、長さ $250\pm 1\text{mm}$ に裁断して用いた。定速伸張型引張試験機を用いて、間隔 $180\pm 1.0\text{mm}$ に合わせた2つのつまみ具に試験片の端を固く締め付け、 20mm/min で引張荷重をかけて試験片が破断するまでの最大荷重及び引張破断時の伸び量を読み取った。

また、JIS-8131(紙及び板紙のムーレンの高圧形試験機による破裂強さ試験法)に準じた破裂試験も行った。試験片は $100\times 100\text{mm}$ に裁断した。ムーレン高圧形試験機を用い、試験片が締付板を覆うような位置に強く締め付け、加圧装置によって試験片が破れるまで加えてその最大圧力を読み取った。

2.4.5 剛軟度

作製した茶殻配合紙に対して、JIS-L1096(一般織物試験方法)に準じたカンチレバー法による紙の剛軟度(こわさ)を測定した。一端が 45° の傾斜を持つ水平台の上に幅 10mm の短冊状に裁断した試験片を置き、斜面の方向に滑らせて試験片の一端が斜面に接した時の他端の位置を、スケールにより読み取った。

2.4.6 透気度

作製した茶殻配合紙に対して、JIS-P8117(紙及び板紙—透気度試験方法—ガーレー試験機法)に準じたガーレー試験機法による紙の透気度を測定した。内筒の重さによって空気が圧縮され、 300ml の空気が円孔径 $\phi 28.6\pm 0.1\text{mm}$ (透過面積 642mm^2)の締付板に固定された $50\times 50\text{mm}$ の試験片を通り抜けるのに要した時間を測定し、 100ml 当たりの透気に要する時間に換算した。

3. 結果および考察

3.1 茶の生葉の観察

ツバキ目ツバキ科ツバキ属の常緑樹である茶の木(学名: *Camellia sinensis*)は、4月頃より新葉が出て、4月下旬から5月頃に茶葉の摘採(茶摘み)が始まる。また、茶葉は一芯三葉や一芯二葉の摘み方が一般的である。図3に、被子植物門・双子葉植物である茶の単葉構造を示す。茶葉として出荷される場合には、葉の部分と葉柄が含ま

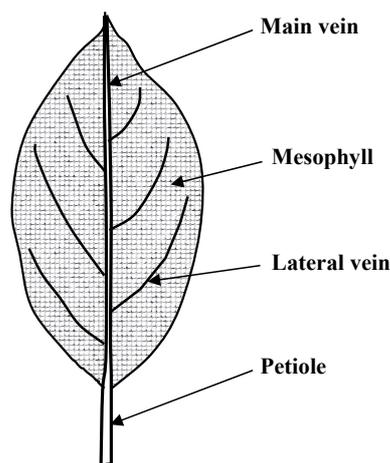


Fig. 3 Structure of tea leaves.

れる。また、葉には葉肉部分以外にも、主脈や側脈などの繊維質も多く含まれている。

そこで、茶の生葉に対して、走査型電子顕微鏡を用いて茶葉に対して部位別に観察を行った。図4に、茶葉の葉柄部分(a)と主脈部分(b)の拡大写真(700倍)を示す。その結果、共に直径 $10\mu\text{m}$ 程度の筋状物が束になった構造をしていることがわかる。また、葉柄と主脈の筋状物の直径には、あまり差が見られない。さらにその状態を調べるべく、葉柄や主脈に対して 2.0mol/l のNaOH水溶液の沸水に20分間の浸漬処理を行ったところ、束になった筋状物は別々に分かれて完全に独立した。また、後述する粉砕後の茶殻に見られるコイル状の螺旋紋導管は、NaOH水溶液で葉肉部分を完全に溶解しても粉砕前には見つけることは全くできなかった。

次に、茶葉の葉肉部分についても観察を行った。葉の表面を図4-(c)に、裏面を図4-(d)に拡大写真(700倍)を各々示す。その結果、表側(c)では鱗状の凹凸をしていることがわかる。一方、裏側では多数の気孔とそれを取り囲んだ襞状の構造が多く見られる。さらに、気孔の周辺部分を拡大したのが図4-(e)と図4-(f)である。非常に複雑な形状をしており、深さ数 μm の襞状の構造をしていることもわかる。

3.2 粉砕後の茶殻の構造

次に、茶を沸かした後に残る茶殻に対して、マスコロイダーのクリアランスを $40\mu\text{m}$ 、 $100\mu\text{m}$ 、 $150\mu\text{m}$ に変化させて粉砕を行った。光学顕微鏡を用いて、粉砕後の茶殻の構造を100倍にて観察した。クリアランス $40\mu\text{m}$ での葉脈部分を図5-(a)に、葉肉部分を図5-(b)に示す。図5-(c)、図5-(d)には、マスコロイダーにおけるクリアランスを $100\mu\text{m}$ 、 $150\mu\text{m}$ に調整して粉砕した各々の茶殻の写真を示す。

その結果、クリアランス $40\mu\text{m}$ で粉砕された茶殻は非常に薄く、数 μm 程度の厚みであった。また、バラバラになった葉肉細胞も多数見られる。一方、クリアランス $100\mu\text{m}$ で粉砕された茶殻でも、非常に薄くスライスされている

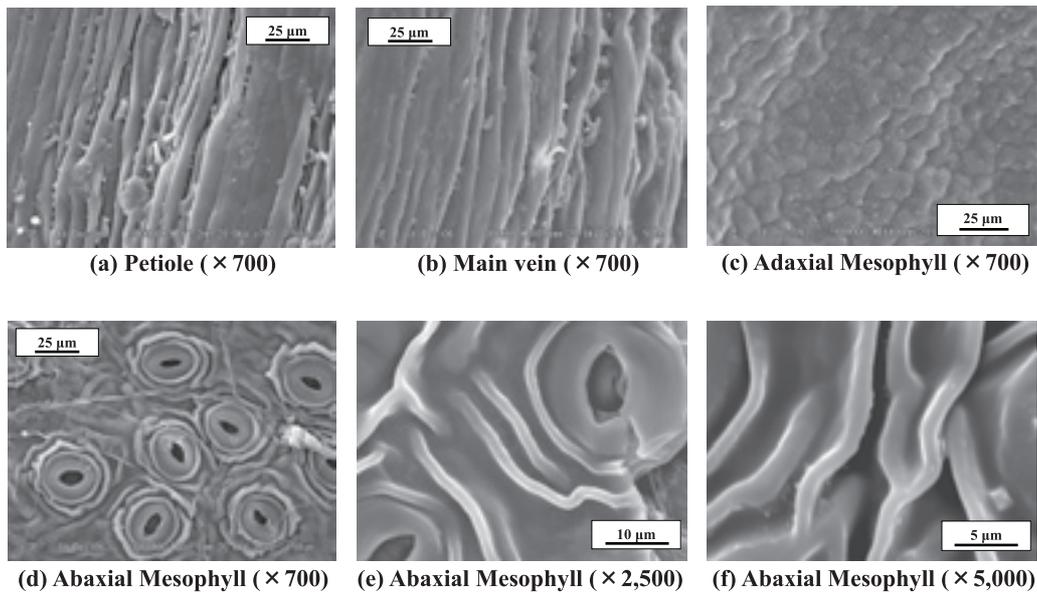


Fig. 4 Scanning electron micrographs of tea leaves.

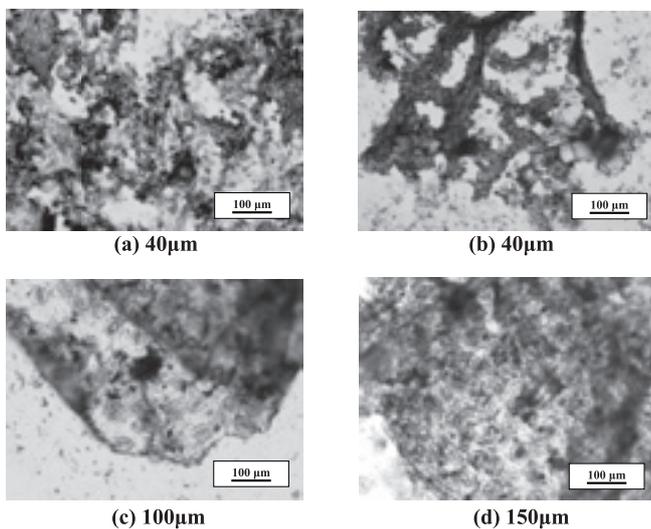


Fig. 5 Optical microscope images of wasted tea leaves ground by the mass-colloider for different clearances (x100).

ことがわかる。しかし、クリアランス 40 μm の場合に比べると比較的厚い薄膜状になっており、それらが部分的に折り畳まれた状態で観察されている。さらに、クリアランス 150 μm の場合では、僅かではあるがクリアランス 100 μm の場合よりも厚みを増していることもわかった。

それらのマスコロイダー粉碎された茶殻に対して電子顕微鏡観察を行った。葉脈部分の SEM 写真を図 6-(a)、図 6-(b)、図 6-(c)、に示す。その結果、マスコロイダー粉碎によって葉脈部分は引き伸ばされ、コイル状の螺旋紋導管として現れていることがわかる(図 6-(b))。これらの構造は、粉碎を行う前には全く見られていなかった。つまり、マスコロイダーによる剪断力によって維管束が引き伸ばされたものと考えられる。そこで、透過型電子顕微鏡(TEM)を用いてさらに高倍率に拡大し、引き伸ば

されていないと思われる維管束部分の観察を行なった(図 6-(c))。その結果、維管束内部にコイル状の導管を確認することができた。次に、マスコロイダー粉碎された葉肉部分に対しても SEM 観察を行った(図 6-(d))。その結果、粉碎後の茶殻においても気孔が壊れずに多く存在し、多数の葉肉細胞と共に観察された。

次に、ボールミル粉碎された茶殻に対しても、光学顕微鏡と走査型顕微鏡(SEM)を用いてその構造を観察した。その結果を図 7 に示す。ボールミル粉碎された茶殻は、直径が数 μm ~400 μm 程度の大きささまざまな塊状であり、300~400 μm 程度の比較的大きな塊状物が比較的多く見られた。また、マスコロイダー粉碎した茶殻の場合と同様に、粉碎前の茶殻には見られなかった引き伸ばされたコ

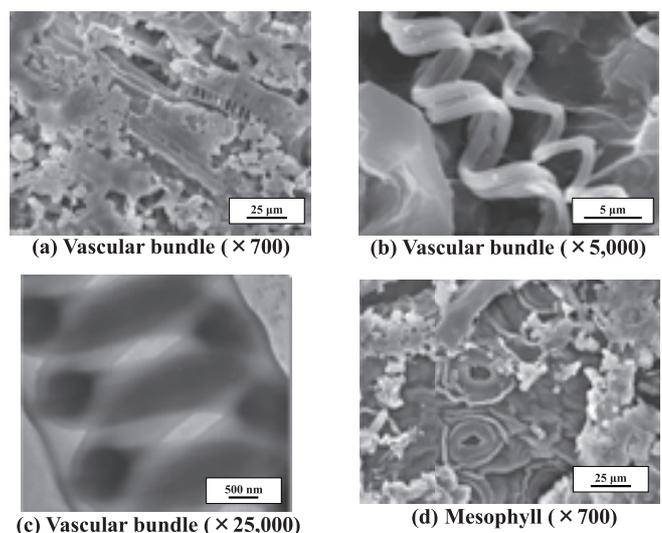


Fig. 6 Scanning electron micrographs and Transmission Electron Micrographs of wasted tea leaves ground by the mass-colloider. (a) (b) (d) : SEM, (c) : TEM

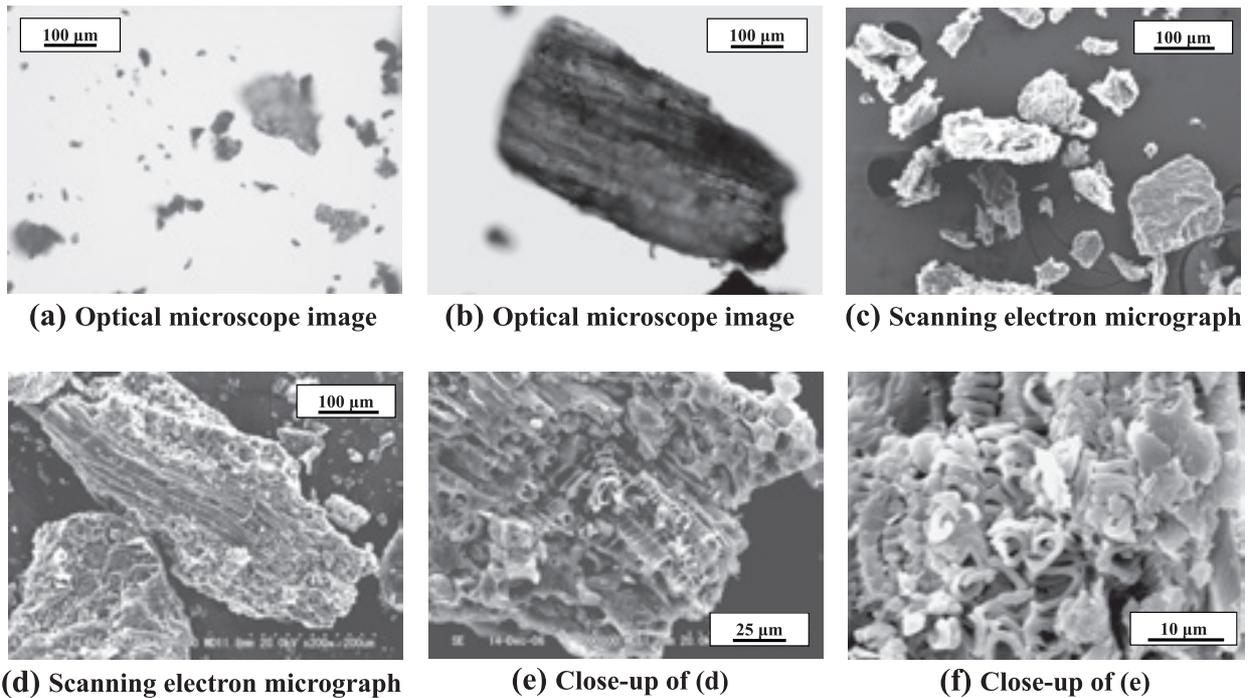


Fig. 7 Optical microscope images and Scanning Electron Micrographs of wasted tea leaves ground after ball milling.

イル状の螺旋紋導管が粉碎物の端面に多数見られた(図7-(e), 図7-(f)).

これらのマスコロイダー粉碎した茶殻やボールミル粉碎した茶殻を用いて、茶殻60wt%配合紙を作製した。そして、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて茶殻配合紙の構造を表面方向と断面方向より調べた(表1)。また、比較としてパルプ100wt%紙の構造についても調べた(表1)。その結果、マスコロイダー粉碎(クリアランス:40 μ m)した茶殻配合紙では、非常に薄い薄膜状の茶殻が何層にも積層され、パルプ繊維と密着して絡み合った構造をしていることがわかった。一方、ボールミル粉碎した茶殻より作製した茶殻配合紙では、3次元的な網目状に構成されたパルプ繊維中に塊状の茶殻が埋没された構造を形成して

いた。また、紙の断面方向から見ると塊状の茶殻がパルプ繊維中に埋没しているためにパルプ繊維間の密着性が悪く、比較的疎な紙の構造になっていることもわかった。紙の厚みを測定したところ、クリアランス40 μ mのマスコロイダー粉碎した茶殻配合紙とパルプ100wt%紙では共に280 μ m程度であった。一方、ボールミル粉碎した茶殻配合紙では、厚さが450 μ m程度もあった。このように、抄紙、プレス、乾燥などの製造条件が全く同じ茶殻60wt%配合紙であっても、茶殻の粉碎方法によって茶殻配合紙の内部構造が大きく異なることがわかった。

3.3 茶殻配合紙の性能

以上のように、異なる粉碎方法で粉碎した茶殻を用いて作製した茶殻配合紙は、その構造が大きく異なること

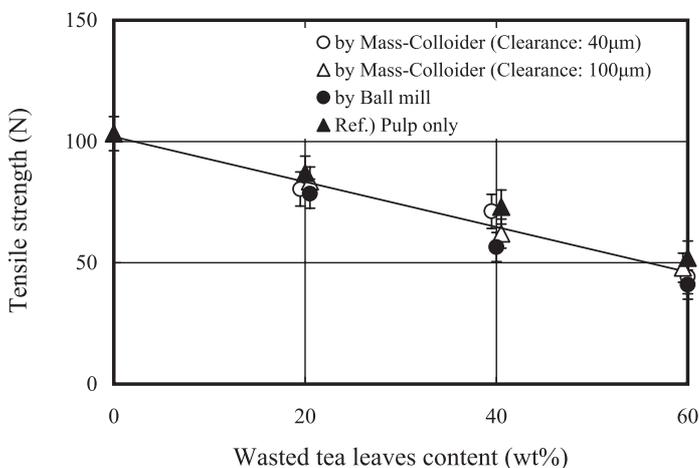


Fig. 8 Tensile strength of papers containing wasted tea leaves for different milling methods. (Temperature : 23 $^{\circ}$ C, Humidity : 50%)

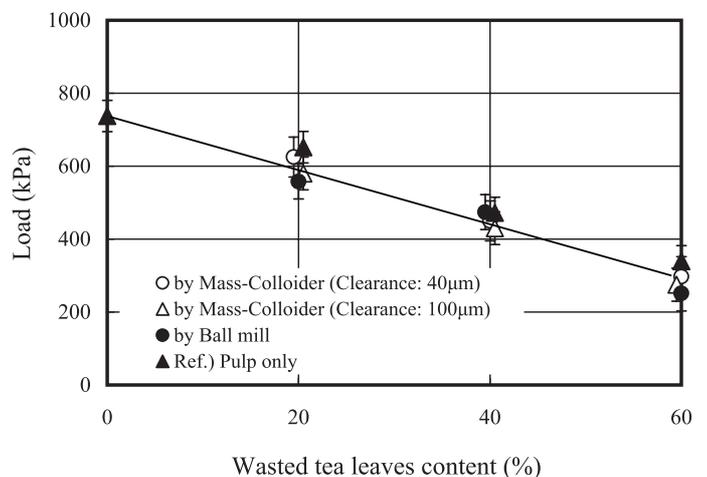
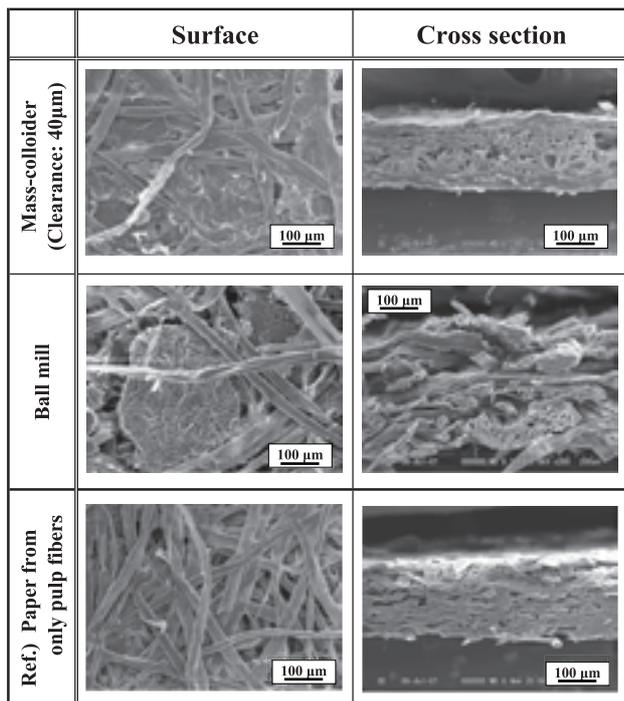


Fig. 9 Bursting strength of papers containing wasted tea leaves for different milling methods. (Temperature : 23 $^{\circ}$ C, Humidity : 50%)

Table 1 Scanning Electron Micrographs of papers containing 60wt% of wasted tea leaves for different milling methods (×200).



がわかった。そこで、マスコロイダー粉碎した茶殻配合紙とボールミル粉碎した茶殻配合紙に対して、引張強さと破裂強さを測定した。その際、マスコロイダー粉碎に関してはクリアランスを40μmと100μmの2通りの条件で作成した茶殻配合紙に対して測定を行った。また、茶殻配合紙中のパルプ繊維の力学物性への寄与を調べるために、坪量の異なるパルプ100wt%紙も作製した。そして、それらも合わせて物性測定を行った。図8と図9に、引張強さと破裂強さの各々の結果を示す。

その結果、茶殻配合紙の引張強さと、破裂強さとも茶殻

配合率の増加に伴って一様に低下していることがわかる。また、茶殻の粉碎方法による力学物性の差は見られていない。つまり、茶殻配合紙の力学物性は、配合紙を構成しているパルプ繊維によって大きく支配されていると云える。そこで、茶殻の含まれていない坪量の異なるパルプ紙(バインダー0.3wt%配合)を作製した(40, 60, 80, 100 g/m²)。そして、茶殻配合紙中の茶殻を除いたパルプ含有量の坪量に合わせてプロットしてみた。その結果、パルプ100wt%紙の方が茶殻配合紙よりも若干は高く現れる傾向が見られるものの、茶殻配合紙との差はあまり見られないことがわかった。つまり、粉碎した茶殻は茶殻配合紙の引張強さや破裂強さにはほとんど寄与していないことがわかった。このことは、粉碎された茶殻の力学物性が極めて小さいためと考えられる。

次に、茶殻60wt%配合紙の剛軟度についても調べた(表2)。その結果、茶殻配合紙の剛軟度は、ボールミル粉碎、マスコロイダー粉碎の場合ともパルプ100wt%紙に比べて小さく、茶殻の配合によって柔軟になることがわかった。特にボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙の剛軟度は非常に低く、ソフトな感触でもあった。茶殻60wt%配合紙の透気度についても調べた(表2)。その結果、ボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙の透気度は非常に高いことがわかった。また、マスコロイダー粉碎の場合でもパルプ100wt%紙に比べると高いものの、ボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙に比べると小さいことがわかった。このように、ボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙の性能には大きな特徴が見られた。

以上のことより、ボールミル粉碎した茶殻を含んだ配合紙は疎な内部構造をしているため、茶殻配合紙の曲げ変形のし易さや通気性を非常に高めたものと考えられた。但し、ボールミル粉碎では、湿潤状態で排出される茶殻の乾燥が必要となる。そのため、マスコロイダー粉碎より得られる茶殻配合紙に比べてコストがかかるものと推

Table 2 Performances of papers containing 60wt% of wasted tea leaves for different milling methods (Temperature : 23°C, Humidity : 50%).

Sample	Milling method	Clearance (μm)	Stiffness ^{*1)} (mm)	Permeability [*] (sec/100cc/1 Steet)
Papers containing wasted tea leaves	Mass-Colloider	40	150	12.5
		100	146	11.7
		150	141	11.0
	Ball mill	—	114	1.5
Ref.) Pulp only	—	—	177	14.3

*1) Cantilever type stiffness tester (Slope: 45°), Specimen width: 10mm

*2) Frazier type air permeability tester

定される。つまり、用途によって茶殻の粉碎方法を選択する必要が生じるものと考えられる。

4. 結 論

粉碎した茶殻を用いて作製した茶殻配合紙に対して、主に走査型電子顕微鏡を用いてその形態観察を行った。

- (1) 茶葉の葉柄部分や主脈部分は、直径 10 μm 程度のフィブリルより構成されていた。一方、葉肉の裏部分には無数の気孔が見られた。また、粉碎前の茶葉には、引き伸ばされたコイル状の螺旋紋導管は全く見られなかった。
- (2) マスコロイダー粉碎した茶殻に対して観察を行ったところ、非常に薄い薄膜状になっていた。また、マスコロイダーのクリアランスを 40 μm より 150 μm まで広げることによって薄膜状の茶殻の厚みは幾分増し、部分的に折り畳まれた構造をしていることがわかった。また、粉碎後の茶殻には螺旋紋導管も見られ、粉碎時の剪断力によって維管束がコイル状に引き伸ばされていることがわかった。一方、ボールミル粉碎された茶殻に対しても観察を行ったところ、大きさが数 μm ~400 μm 程度の大小様々な塊状であることがわかった。
- (3) 作製した茶殻配合紙の観察を行ったところ、マスコロイダー粉碎により得られた茶殻配合紙では、薄膜状の茶殻が幾層にも積層されて網目状のパルプ繊維と密着した積層体を形成していることがわかった。一方、ボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙では、3次元的な網目状のパルプ繊維中に塊状の茶殻が埋没している疎な構造を形成していることがわかった。
- (4) 粉碎方法の異なる茶殻を用いて作製した茶殻配合紙の引張強さと破裂強さを調べた。その結果、マスコロイダーとボールミルとの粉碎方法による差や、マ

スコロイダーにおけるクリアランスによる差は見られなかった。また、比較として坪量の異なるパルプ 100 wt%紙についても力学物性を調べた。その結果、茶殻配合紙の力学物性は、配合紙中のパルプ繊維に大きく支配されており、茶殻自体は茶殻配合紙の力学物性にはほとんど寄与していないことがわかった。

- (5) 粉碎方法の異なる茶殻を用いて作製した茶殻配合紙の剛軟度を調べた。その結果、パルプ 100wt%紙に比べて柔軟であり、特にボールミル粉碎により得られた茶殻配合紙の剛軟度は非常に低いことがわかった。また、茶殻配合紙の透気度についても調べたところ、ボールミル粉碎した茶殻配合紙は、パルプ 100wt%紙やマスコロイダーにより得られた茶殻配合紙に比べて非常に高いことが分かった。このことは、ボールミル粉碎した茶殻を含んだ配合紙では疎な内部構造をしているためと考えられた。

文 献

1. R. Murayama, *The Food Industry*, **46**, 9, 64-70 (2003).
2. K. Muramatsu, I. Oguni, Y. Isemura, K. Sugiyama, M. Yamamoto, "Health science of tea: new possibility for physiological function", Japan Scientific Societies Press, 409-412 (2002).
3. H. Yasuda, T. Arakawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 7, 1232-1236 (1995).
4. S. Sakanaka, L. R. Juneja, M. Taniguchi, *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 1, 81-85 (2000).
5. J. M. T. Hamilton-Miller, *Antimicrob Agents Chemother.*, **39**, 11, 2375-2377 (1995).
6. T. Takahashi, T. Kondo, W. Kasai, H. Yokota, T. Kunitake, *Sen'i-Gakkaishi*, **63**, 256 (2007).
7. D.I.Lee, *NATO ASI Ser. E.*, **335**, 497-513 (1997).