



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

クラフトパルプ残留リグニンの分解に関与する酵素系の解明

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 片桐, 誠之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2462

氏 名（国籍）	片 桐 誠 之（岐 阜 県）
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	農博甲第121号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年3月13日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学 位 論 文 題 目	クラフトパルプ残留リグニンの分解に関与する 酵素系の解明
審 査 委 員	主査 静岡大学 教授 吉 田 彌 明 副査 静岡大学 助教授 西 田 友 昭 副査 岐阜大学 教授 篠 田 善 彦 副査 信州大学 教授 中 野 達 夫

論 文 の 内 容 の 要 旨

未晒クラフトパルプ（UKP）の漂白（脱リグニン）には塩素系薬品が用いられているが、ダイオキシンを始めとする有機塩素化合物の排出を伴うため、環境保全の立場からは塩素系薬品の使用量を極力減少させる漂白法の開発が望まれている。その一つとして、UKP中の残留リグニンを白色腐朽菌で分解して漂白しようとするバイオブリーチングが注目されており、塩素系薬品の使用量を大幅に減少させることが報告されている。しかしながら、バイオブリーチング時に産生されるリグニン分解酵素については未だ解明されるには至っていないため、本論文では残留リグニンの分解に関与する酵素系の解明を行った。

既知の代表的な白色腐朽菌である *Phanerochaete chrysosporium* とカワラタケを用いて、窒素および炭素濃度を種々に変化させた培養条件下で広葉樹UKP（HWKP）のバイオブリーチングを行った結果、白色度上昇と銅価減少（リグニン量の減少）との間に極めて高い相関があり、白色度上昇を残留リグニン分解の指標と見なうことが明らかとなった。そこで、HWKPのバイオブリーチング時に産生される酸化系酵素（マンガンペルオキシダーゼ（MnP）、リグニンペルオキシダーゼ（LiP）およびラッカーゼ）の累積活性と白色度上昇との関係を解析した。その結果、*P. chrysosporium* については白色度上昇と累積MnPおよびLiP活性との間に、LiPを産生しないカワラタケについては累積MnP活性との間に高い相関が認められ、さらには白色度上昇と累積MnP活性との関係が両菌株で同一であったことから、パルプ白色化すなわち残留リグニンの分解にはMnPが

最も重要な酵素であると結論された。

さらには、残留リグニンの分解には還元系酵素と酸化系酵素とが相補的に作用しているとの報告があることから、還元系酵素とパルプ白色化との関係を検討した。その結果、還元系酵素は広葉樹UKP残留リグニンの分解には関与しておらず、セルロース分解に関与していることが明らかとなった。

また、針葉樹UKP (SWKP) のバイオブリーチングにおける酸化系酵素の役割についても検討し、残留リグニンの分解は認められるが、HWKPの場合と比べるとMnPの産生量が著しく少ないことを見だし、その理由はMnPの産生を誘導するマンガンイオンがHWKPの1/10程度しか含有されていないためであることを明らかにした。なお、マンガンイオンは、MnP触媒サイクルのメディエーターとしても重要な役割を果たすことから、バイオブリーチング時に産生されたMnPがSWKP残留リグニンには作用できないことをモデル実験的に立証した。また、LiPは産生されておらず、累積ラッカーゼ活性と残留リグニンの分解には相関が認められなかったことから、SWKPのバイオブリーチングにおいては、MnP、LiPおよびラッカーゼ以外の新規酵素がリグニン分解に関与している可能性を示した。

審 査 結 果 の 要 旨

塩素系薬剤を用いる未晒クラフトパルプ (UKP) の漂白プロセスから排出されるダイオキシンを含む有機塩素系化合物の低減は、環境影響の観点から解決すべき大きな技術的課題となっている。その解決法の一つとしてUKPの残留リグニンを白色腐朽菌を用いて分解・除去しようとするバイオブリーチングが注目されており、これを併用することによって塩素系薬剤の使用量を大幅に減少させることが報告されている。しかしながら、バイオブリーチング時にどのようなリグニン分解酵素が産生され、どのような機作でリグニンの分解を行っているのか未だに明らかにされていない。本論文ではこれらの解明を目指して以下のような研究を行い、極めて重要な新しい知見を得ている。

既知の代表的な白色腐朽菌である *Phanerochaete chrysosporium* とカワラタケを用いて広葉樹UKP (HWKP) のバイオブリーチングを行った結果、白色度上昇とカップ一価減少 (リグニンの減少) との間に極めて高い相関があり、白色度上昇を残留リグニン分解の指標と見なしうることを明らかにした。そこで、HWKPのバイオブリーチング時に産生される酸化系酵素であるマンガンペルオキシダーゼ (MnP)、リグニンペルオキシダーゼ (LiP) 及びラッカーゼの累積活性と白色度上昇との関係を解析したところ、*P. chrysosporium* では白色度上昇とMnP及びLiP累積活性との間に、LiPを産生

しないカワラタケではMn P 累積活性との間に高い相関が認められた。更には白色度上昇とMn P 累積活性との関係が両菌株で同一直線上にプロットされた。以上のことから、パルプの白色化すなわち残留リグニンの分解にはMn P が最も重要な酵素であることを提示している (Applied and Environmental Microbiology, 61(2), 617-622(1995) (American Society for Microbiology))。また、残留リグニンの分解には還元系酵素と酸化系酵素が相補的に作用しているとの報告があることから、還元系酵素とパルプ白色化との関係を検討した結果、還元系酵素はHWKPの残留リグニンの分解には関与しておらず、セルロースの分解に関与していることを明らかにしている (Mokuzai Gakkaishi, 41(8), 780-784(1995) (日本木材学会))。

また、針葉樹UKP (SWKP) のバイオブリーチングにおける酸化系酵素の役割についても検討し、残留リグニンの分解は認められるが、HWKPの場合と比べるとMn P の産生量が著しく少ないことを見だし、その理由はMn P の産生を誘導するマンガンイオンの含有量が少なくHWKPの1/10しか含まれていないためであることを明らかにしている。更に、マンガンイオンはMn P 触媒サイクルのメディエーターとしても重要な役割を果たしていることから、SWKPのバイオブリーチングでは産生されたMn P が残留リグニンの分解に作用できないことをモデル実験により明らかにしている。また、Li P の産生はなく、ラッカーゼの累積活性と残留リグニン分解との間には相関が認められなかったことから、SWKPのバイオブリーチング (残留リグニンの分解) にはMn P、ラッカーゼ及びLi P とは別途の新規酵素が関与している可能性を指摘している (Mokuzai Gakkaishi, 43(8), 678-685(1997) (日本木材学会))。

以上のように、本論文はバイオブリーチングに関与する酵素とその機作について新規かつ有用な知見を明らかにしていることから、審査員は全員一致で岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文に相応しいものと認めた。