

# マンガンペルオキシダーゼによるブナ木粉中リグニンの*in vitro*分解

○良知慎太郎<sup>1</sup>、河岸洋和<sup>1,2</sup>、平井浩文<sup>1,2</sup>、亀井一郎<sup>3</sup>、近藤隆一郎<sup>4</sup>、田中奏<sup>5</sup>、三好孝則<sup>5</sup>

1 静大院農、2 静大グリーン研、3 宮大農、4 九大院農、5 帝人(株)

## 背景・目的



近年、石油系プラスチックによる石油資源の枯渇問題や廃棄物処理の問題から、**リグニンモノマー**等を利用した、再生可能なバイオプラスチックの研究が進められている。

しかし、木材中のリグニンは複雑な構造をもつため、分解産物も極めて複雑となり、**プラスチックモノマーとして安定供給可能な手法が確立されていない。**

## 白色腐朽菌とは・・・

自然界においてリグニンを高度に分解出来る唯一の微生物であり、脱リグニンツールとして期待されている。

リグニン分解酵素の作用によりリグニンを低分子化し、生成するリグニンモノマーは即座に細胞内に取り込まれ分解・無機化されてしまう。

リグニン分解酵素による*in vitro*での分解が可能であれば、低分子フェノールを回収することが可能！

本研究では、**リグニン由来低分子フェノールを定量的に得ることを目的に、リグニン分解酵素の一種であるマンガンペルオキシダーゼ(MnP)を用いて、木材中リグニンの*in vitro*分解を試みた。**

**リグニンの*in vitro*分解の報告例はない。**

## MnPによるブナ木粉中リグニンの*in vitro*分解の試み

### MnPの調製法

*Phanerochaete sordida* YK-624株由来MnP高生産株BM-65株をMnP産生用液体培地にて、30℃・150 rpmで7日間振盪培養

培養液を回収し、透析後、陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにて精製

部分精製MnPを取得

### ブナ木粉のMnP処理

下表の反応系を構築し、24 h・150 rpm・30℃にて酵素処理を行った。

反応系 (n = 3, 50 mM malonate buffer, pH 4.5)	60 ml (Klason法)	20 ml (Kappa価)
脱脂ブナ木粉(100 mesh pass)	0.45 g	0.15 g
MnP	0, 1200 nkat	0, 400 nkat
Tween 80		0.05%
Glucose		25 mM
MnSO <sub>4</sub>		0.1 mM
Glucose oxidase (GOD)	0.75 U	0.25 U

処理後、リグニンの定量を**Klason法及びKappa価測定**により行った。

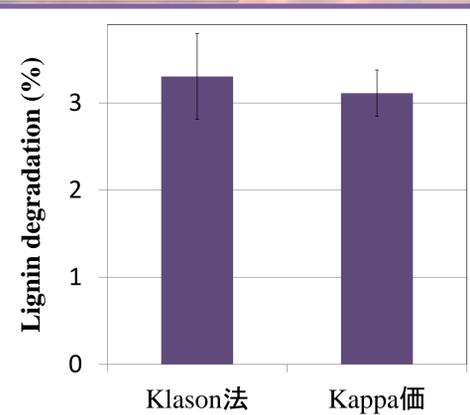


Fig. 1 MnPによるブナ木粉中リグニンの分解.

☆ **約3%のリグニン分解が認められた！**  
→ 『リグニンの*in vitro*分解』として初めての報告！

## MnPによるリグニンの*in vitro*分解 —最適化条件の検討—

(i) MnP添加量、(ii) GOD添加量、(iii) セルラーゼ添加の効果、について検討を行った。処理後、Kappa価を測定し、リグニン分解率を算出した。

反応系(20 ml) (n = 3, 50 mM malonate buffer, pH 4.5)	MnP添加量	GOD添加量	セルラーゼの有無
脱脂ブナ木粉(100 mesh pass)		0.15 g	
MnP	0~800 nkat		400 nkat
Tween 80		0.05%	
Glucose		25 mM	
MnSO <sub>4</sub>		0.1 mM	
GOD	0.25 U	0~25 U	0.25 U

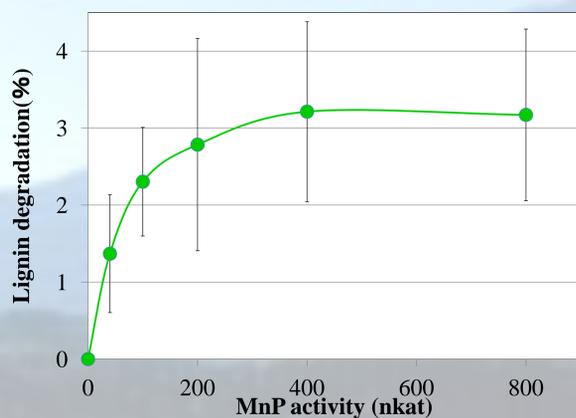


Fig. 2 リグニンの*in vitro*分解におけるMnP添加量の影響.

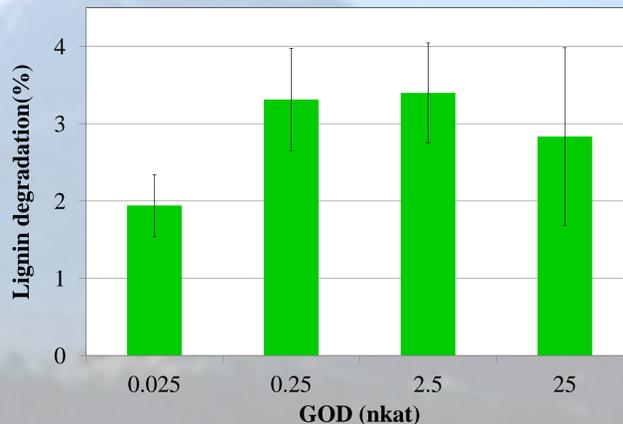


Fig. 3 リグニンの*in vitro*分解におけるGOD添加量の影響.

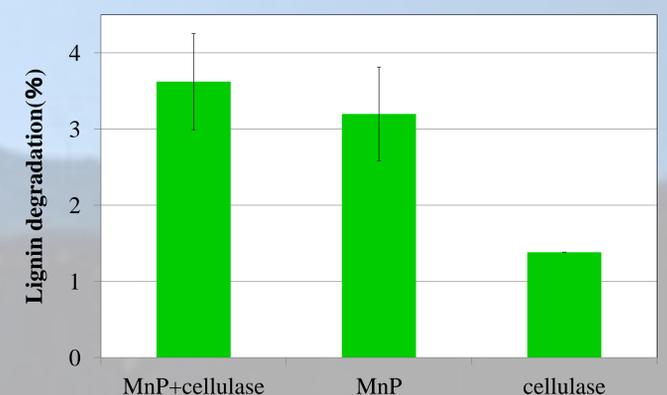


Fig. 4 リグニンの*in vitro*分解におけるセルラーゼの影響.

**最適条件: MnP 400 nkat, GOD 2.5 U, セルラーゼ有り**

## 総括

- ☆ MnPにより、ブナ木粉中リグニンの*in vitro*分解に成功した。
- ☆ 最適条件を検討した結果、MnP 400 nkat、GOD 0.25 U、セルラーゼ添加条件下で最も良いリグニン分解率が認められた。