

氏名	つじ やま しょう いち 辻 山 彰 一
学位(専攻分野)	博士 (農 学)
学位記番号	論農博第1963号
学位授与の日付	平成7年1月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Degradation of Lignin-Carbohydrate Complex by Wood-rotting Fungi (木材腐朽菌によるリグニン—炭水化物複合体の分解)
論文調査委員	(主 査) 教授 岡村圭造 教授 島田幹夫 教授 桑原正章

### 論 文 内 容 の 要 旨

木材腐朽菌は木材の構成成分を効率的に分解することができるが、その分解の詳細は未だ不明である。この理由として木材が構造的かつ化学的に複雑なことが挙げられる。本研究では、木材に代わる基質として、アカマツ材から調製した水可溶性のリグニン—炭水化物複合体 (Lignin Carbohydrate Complex: LCC) を取り上げ、褐色腐朽菌オオウズラタケ (*Tyromyces palustris*) と白色腐朽菌カワラタケ (*Coriolus versicolor*) を培養し、LCC の分解実験を行った。

第1章では、LCC 分解時における木材分解酵素の生産について検討した。オオウズラタケは、多量のヘミセルロース分解酵素を生産するだけであったが、カワラタケはヘミセルロース分解酵素だけでなく、培養7日目以降にはフェノールオキシダーゼ及びペルオキシダーゼをも生産した。しかし、リグニンペルオキシダーゼの活性はほとんど見られなかった。

第2章では、培養中に両菌の作用により水可溶性 LCC が一部不溶化した画分 (P-1) の組成変化と構造変化について分析を行った。この P-1 画分の収量変化には両菌の間で顕著な違いが認められ、カワラタケはオオウズラタケとは異なり、この水不溶画分を再可溶化していることが確認できた。この原因は、リグニン含量が低下するとともに、カワラタケは LCC 中のリグニンを攻撃し、P-1 画分を再可溶化するためであることが示唆された。リグニンの構造解析の結果、オオウズラタケはリグニンをわずかに変性させるだけであったが、カワラタケでは  $\alpha$  カルボニル含量やフェノール性水酸基含量などに顕著な変化がみられた。また、GPC 分析の結果カワラタケの場合、炭水化物—リグニン間の結合の開裂が示唆された。これは、カワラタケが生産するフェノールオキシダーゼによる作用であるものと推定した。

第3章では、カワラタケの培養液から特異的に回収できた、酸性条件下で沈殿する水可溶性の画分 (P-A) について構造解析を行い、その分解機構の解明を試みた。培養開始後 10 日目以降に生成したこの画分では、生成初期においてはリグニン中のフェノール性水酸基が顕著に増加し、引き続いて  $\alpha$  カルボニル基やカルボキシル基の増加など酸化的变化が確認された。この酸化的变化は、活性の高いラッカーゼやマ

ンガン依存性のペルオキシダーゼによるものと推定した。

第4章では、第2章において示唆されたカワラタケによるリグニン—炭水化物間の結合の開裂を確認するために、LCCモデル化合物を合成し、カワラタケ菌体外酵素液による分解実験を行った。2種類のモデル化合物、メチル-6-O-バニルグルコピラノシド及びメチル-6-O-ベラトリルグルコピラノシドをこの酵素溶液で分解した結果、パラ位にフェノール性水酸基を有する場合に、フェノールオキシダーゼ及びペルオキシダーゼによるリグニン—炭水化物間のベンジルエーテル結合の開裂が起こることが確認できた。同様に、アカマツ材から調製したLCCを酵素溶液で酸化した場合も、著量の炭水化物が遊離することから、カワラタケによる腐朽の過程では、LCC間結合の開裂はベンジルエーテル結合の開裂を含むことを証明した。

第5章では、LCC中の高分子成分について両菌による化学変化を、示差走査熱量計分析により確かめようと試みた。その結果、LCC中の高分子成分の熱的挙動の経緯から両菌の作用の違いが認められた。

### 論文審査の結果の要旨

木材腐朽菌が木材の構成成分を分解することは知られているが、その分解の詳細な点は未だ明らかでない。

本論文は、化学構造の点では木材ほど複雑でなく取扱いの容易な、アカマツ材から調製した水可溶性リグニン—炭水化物複合体 (Lignin Carbohydrate Complex: LCC) を基質とし、褐色腐朽菌オオウズラタケ (*Tyromyces palustris*) と白色腐朽菌カワラタケ (*Coriolus versicolor*) を培養してLCCの分解実験を行い、化学構造の変化を経時的に追跡し、両菌によるLCCの分解機構を解明しようとしたものである。内容のうち、特に評価できる点は次のとおりである。

1. LCC分解時における木材分解酵素の生産を追跡し、オオウズラタケは多量のヘミセルロース分解酵素を生産するのみであったが、カワラタケはヘミセルロース分解酵素のほかに、培養時間の経過とともにフェノールオキシダーゼ及びペルオキシダーゼの生産も始めることを見出した。
2. 培養中に両菌の作用により水可溶性LCCが一部不溶化した画分について、組成変化と構造変化について分析を行った。その結果、この画分の収量変化には両菌の間で顕著な違いが認められ、カワラタケはオオウズラタケとは異なり、この水不溶性画分を再可溶化していることを確認した。また、その原因として、カワラタケはLCC中のリグニンを攻撃し、リグニン含量の低下とともにこの画分を再可溶化するためであると考察した。さらに、カワラタケの場合について、GPC分析の結果見出された炭水化物—リグニン間の結合の開裂はカワラタケの生産するフェノールオキシダーゼによるものと推定した。
3. カワラタケの培養液から特異的に回収できた酸性条件下で沈殿する水可溶性の画分について構造解析を行い、生成初期においてはリグニン中のフェノール性水酸基が著しく増加し、引き続いて $\alpha$ カルボニル基やカルボキシル基が増加することを見出し、これらの変化は活性の高いラッカーゼによる酸化的变化であると考察した。
4. カワラタケによるリグニン—炭水化物間の結合の開裂を確認するために、2種のLCCモデル化合

物、メチル-6-O-パニリルグルコピラノシド及びメチル-6-O-ベラトリルグルコピラノシドを合成し、これらのモデル化合物をカワラタケ菌体外酵素溶液を用いて分解した。その結果、パラ位にフェノール性水酸基を有する場合には、フェノールオキシダーゼ及びペルオキシダーゼによりLCCモデル化合物のベンジルエーテル結合の開裂が起こることを確認した。同様に、アカマツ材から調製したLCCを酵素溶液で酸化した場合にも、著量の炭水化物が遊離することを確認した。従って、カワラタケによる腐朽の過程では、リグニン-炭水化物間結合の開裂はベンジルエーテル結合の開裂を含むことが証明された。

以上のように、本論文は木材腐朽菌によるリグニン-炭水化物複合体の分解機構の解明に新知見を加えたものであり、木材工学、木質制御生化学、木質バイオマス変換化学の進歩に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成6年12月12日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。