

ノート

担子菌およびイオン液体を併用した高効率セルロース抽出法の開発

濱野 智子^{*1)} 飯田 孝彦^{*1)} 小沼 ルミ^{*1)} 瓦田 研介^{*2)}

Development of high-efficiency cellulose extraction methods using basidiomycetes and ionic liquid

Tomoko Hamano^{*1)}, Takahiko Iida^{*1)}, Rumi Konuma^{*1)}, Kensuke Kawarada^{*2)}

キーワード: セルロース, 白色腐朽菌, イオン液体, バイオエタノール

Keywords: Cellulose, White-rot fungus, Ionic liquid, Bioethanol

1. はじめに

東日本大震災による深刻な原子力発電所事故を受けてエネルギー政策の転換が求められ, 再生可能エネルギーや未利用資源の有効利用に対する期待が高まっている。木材などに含有されるセルロースの賦存量は多く, 原料が食料と競合しないため第二世代のバイオエタノール原料として注目されている。ところが木材などのリグノセルロース中のセルロースは強固な結晶構造を有しており, さらにセルロースが化学的に安定なリグニンに覆われているため, そのままではエタノールへの糖化効率が悪く, 適切な糖化前処理技術の開発が求められている。近年ではイオン液体を用いた新しい糖化前処理技術も検討されているが, リグニンがイオン液体処理の障壁となっており, 効率的なセルロースの抽出が課題となっている⁽¹⁾。そこで本研究では担子菌(白色腐朽菌)がもつリグニンの分解能を利用し, 再生セルロース抽出の高効率化を検討した。

2. 実験方法

2.1 白色腐朽菌の選定 供試菌をリグニンを含む液体培地中で培養し, リグニンの分解能力を比較した。供試菌には白色腐朽菌のカワラタケ, ナメコ, エノキタケ, ブナシメジおよびヒラタケの 5 菌種を用いた。供試菌は分譲機関から入手後, ポテトデキストロース寒天 (PDA) 培地上で培養したのち, 滅菌した内径 5 mm の管を用いて直径 5 mm のディスク打ち抜き, リグニンを含む液体培地に接種し, 26°C, 100 rpm で 3 週間振とう培養した。液体培地の組成を表 1 に示す。培養終了後, 液体培地をろ過し, 分光光度計を用いてろ液の紫外吸収スペクトルを測定し, リグニンに由来する吸収ピークの強度からリグニン分解能力の比較を行った。

事業名 平成 24 年度 基盤研究

*1) 環境技術グループ

*2) ロボット事業推進部

2.2 木材の腐朽処理 ブナ材を, JIS Z 2101:2009 を参考にして, 供試菌を用いて腐朽処理を行った。試験片の形状は, 20 mm(T)×20 mm(R)×10 mm(L) (二方桁木取り) とした。供試培地には PDA 培地を用いた。PDA 培地に供試菌を一白耳接種し, 2 週間培養し菌糸が十分に生育したことを確認後, 試験片を培地上に置き, 26±2°C, 80%RH 以上の条件で所定の期間腐朽処理を行った。腐朽処理後, ブナ材に付着した菌糸を取り除き, 60°C で恒量になるまで乾燥し, (1) 式により質量減少率を求めた。

$$\text{質量減少率 (\%)} = \frac{\text{腐朽前の質量} - \text{腐朽後の質量}}{\text{腐朽前の質量}} \times 100 \dots (1)$$

2.3 イオン液体によるセルロース抽出 腐朽処理を行ったブナ材および無腐朽のブナ材をそれぞれ粉碎し, イオン液体によるセルロース抽出を行った。セルロースの抽出には 1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリド ([C4mim][Cl]), 1-エチル-3-メチルイミダゾリウムクロリド ([C2mim][Cl]), 1-エチル-3-メチルイミダゾリウムアセテート ([C2mim][OAc]) および 1-エチル-3-メチルイミダゾリウムホスホネート ([C2mim][PO₄]) の 4 種類のイオン液体を用いた。イオン液体をガラス容器に 5 g 量りとり, 120°C のオイルバスの中で 15 分加熱し, イオン液体を溶解させた。次に粉碎した試料 0.25 g をイオン液体中で, 120°C, 3 時間, 加熱攪拌を行い, イオン液体中にセルロースを溶解させた。その後, 残渣をろ過し, ろ液に過剰量の純水を加えセルロースを遊離させた。得られた再生セルロースをガラスろ紙を用いてろ過し, ジメチルスルホキシド (DMSO), アセトンおよび純水で洗浄し, 105°C で恒量になるまで乾燥させた後, 質量を測定し, 木粉に対する再生セルロースの収率を (2) 式により求めた。

$$\text{再生セルロース収率 (\%)} = \frac{\text{再生セルロースの質量}}{\text{用いた木粉の質量}} \times 100 \dots (2)$$

表1. リグニン分解用液体培地の組成

成分	濃度[g/l]
ポテトデキストロースブロス	24
マンガン	0.0241
ポリペプトン	1
リグニン	2

3. 結果と考察

供試菌 5 菌種（カワラタケ、エノキタケ、ナメコ、ヒラタケ、ブナシメジ）を用いた、リグニン含有液体培地培養後の吸光度を測定した結果を表 2 に示す。リグニンに由来する 205 nm および 280 nm の吸収ピークはカワラタケが最も低く、リグニン分解能力はカワラタケが最大と考えられた。

表2. リグニン含有液体培地の吸光度の比較

白色腐朽種	吸光度 (205 nm)	吸光度 (280 nm)
カワラタケ	0.84	0.31
エノキタケ	1.61	0.43
ナメコ	1.21	0.43
ヒラタケ	1.96	0.48
ブナシメジ	1.84	0.48
菌接種なし	1.96	0.48

さらに、供試菌 5 菌種の木材腐朽能力を調べた結果を図 1 に示す。カワラタケは他の 4 菌種に比べて質量減少率が最も大きく、木材の腐朽能力が高いことがわかった。またその他の菌種においては、ナメコとヒラタケがカワラタケに次いで質量減少率が大きかった。

以上の結果からイオン液体を用いたセルロース抽出の前処理にはカワラタケを用いた。

カワラタケにより 60 日間腐朽処理を行ったブナ材を用い

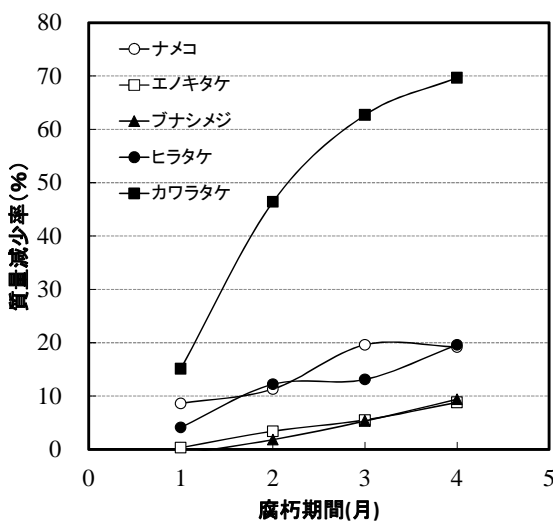


図1. 白色腐朽菌 5 菌種の質量減少率の経月変化

て、4 種類のイオン液体によるセルロース抽出を行った。イオン液体[C4mim][Cl], [C2mim][Cl]および[C2mim][OAc]で抽出した再生セルロースの収率を図 2 に示す。ただしイオン液体[C2mim][PO₄]を用いた場合はセルロースの回収ができなかった。再生セルロースの収率は[C2mim][OAc]を用いた場合が最大となった。イオン液体[C4mim][Cl], [C2mim][Cl]および[C2mim][OAc]のいずれにおいてもカワラタケで腐朽処理を行ったブナ材は無処理に比べ再生セルロースの収率が高くなった。このことよりカワラタケによる前処理はイオン液体を用いたセルロース抽出の高効率化に有効であることがわかった。

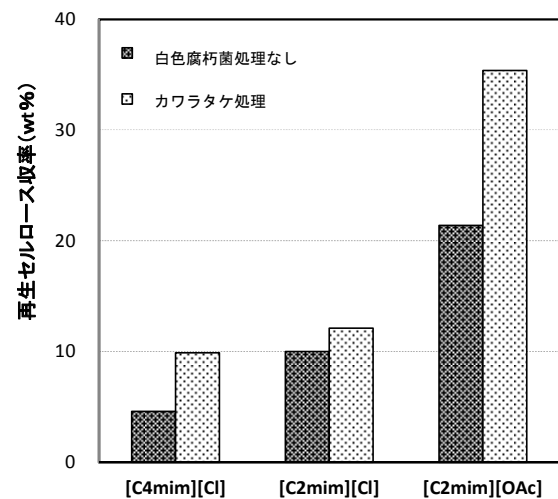


図2. カワラタケ腐朽処理と再生セルロース収率

4. まとめ

リグニン分解能力を持つ白色腐朽菌およびイオン液体を併用し、高効率なセルロース抽出方法を開発した。5 種類の白色腐朽菌についてリグニン分解能力を比較したところ、カワラタケのリグニン分解能力が高くイオン液体を用いたセルロース抽出の前処理に適することがわかった。さらにカワラタケで腐朽処理を行った木材をイオン液体を用いてセルロース抽出を行ったところ、[C4mim][Cl], [C2mim][Cl]および[C2mim][OAc]のいずれのイオン液体を用いた場合も、再生セルロースの収率が無処理の木材に比べ向上することが明らかになった。これらの結果からカワラタケによる前処理は、イオン液体を用いたセルロース抽出の高効率化に有効であることがわかった。

(平成 28 年 7 月 7 日受付, 平成 28 年 7 月 28 日再受付)

文 献

- (1) VO Huyen thanh, KIM Chang Soo, AHN Buoung Sung, LEE Hyunjoo: "Study on Dissolution and Regeneration of Poplar Wood in Imidazolium-Based Ionic Liquids", J Wood Chem Technol, Vol.31, No.2, pp.89-102 (2011)