研究論文

TEMPO 触媒酸化法を用いたシイタケ廃菌床からの
セルロースナノファイバー調製

金野 尚武^{*1, 2}, 木村 茉穂^{*1}, 奥澤 里奈^{*1}, 中村 泰隆^{*1},
池 正和^{*3}, 林 徳子^{*4}, 小原あゆみ^{*2}, 坂本 裕一^{*2},
羽生 直人^{*1}

Preparation of cellulose nanofibers from waste mushroom bed of shiitake (*Lentinus edodes*) by TEMPO-mediated oxidation

Naotake KONNO^{*1, 2}, Maho KIMURA^{*1}, Rina OKUZAWA^{*1}, Yasutaka NAKAMURA^{*1},
Masakazu IKE^{*3}, Noriko HAYASHI^{*4}, Ayumi OBARA^{*2}, Yuichi SAKAMOTO^{*2},
Naoto HABU^{*1}

The mushroom bed cultivation of wood-decaying edible mushrooms generates a large amount of waste mushroom beds, composed of decayed woods. The analysis of the waste mushroom beds after shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms cultivation showed that cellulose content was 25.4%, which was one of the main components. In this study, we applied TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl radical)-mediated oxidation to the waste mushroom beds of shiitake, and cellulose nanofibers were prepared. The waste mushroom beds (1.0 g) were treated with catalytic amount of TEMPO and sodium bromide under three conditions of NaClO, 20, 40 and 80 mmol. After this TEMPO-mediated oxidations, water-insoluble fractions were suspended in water, and disintegrated to individual cellulose nanofibers by sonication. When observed by the transmission electron microscopy (TEM), these nanofibers had widths of 2-3 nm and lengths of several microns. Dry films prepared by casting of the obtained nanofiber dispersions were transparent. The highest yield of the film was obtained at the condition of 80 mmol NaClO, which was 0.18 g per 1.0 g of the waste mushroom bed (71% toward cellulose content in the waste mushroom bed).

Keywords : wood decay, waste mushroom bed, TEMPO-mediated oxidation, cellulose nanofiber

-
- * 1 宇都宮大学農学部
Faculty of Agriculture, Utsunomiya University
 - * 2 公益財団法人岩手生物工学研究センター
Iwate Biotechnology Research Center
 - * 3 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
National Agriculture and Food Research Organization
 - * 4 国立研究開発法人森林総合研究所
Forestry and Forest Products Research Institute

Corresponding author : Naotake Konno (konno@cc.utsunomiya-u.ac.jp)

木材腐朽性食用きのこ類の菌床栽培において、大量の廃菌床が発生している。廃菌床には腐朽木材が含まれているが現在のところ有効な活用方法がない。成分分析の結果、シイタケ栽培後の廃菌床には25.4%のセルロースが主要成分として含まれていた。そこで本研究では、シイタケ廃菌床に TEMPO (2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシラジカル) 触媒酸化を適用することで、セルロースナノファイバーを調製した。廃菌床 (1 g) を、3つの次亜塩素酸ナトリウム添加量条件下 (20, 40, 80mmol) において、触媒量の TEMPO と臭化ナトリウムと共に酸化処理した。TEMPO 触媒酸化反応後、水不溶性画分を水中で懸濁させ、超音波処理によりセルロースナノファイバーを個々に分散させた。透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行ったところ、これらセルロースナノファイバーは幅 2~3 nm、長さ数 μ mであった。得られたセルロースナノファイバー分散液をキャストすることで透明なフィルムを作製した。セルロースナノファイバーフィルムの収率は次亜塩素酸ナトリウム添加量80mmol 条件下において最も高く、廃菌床 1 g に対して 0.18g であった。また、廃菌床中に含まれるセルロースに対する収率を算出したところ、71%であった。

1. 緒言

近年、きのこ類の人工栽培には菌床栽培が用いられている。菌床栽培とは、木粉に水と栄養体を加えて固めた培地を用いる栽培方法で、シイタケ (*Lentinus edodes*)、マイタケをはじめ様々なきのこ類の栽培で確立されている (図 1)。菌床栽培は、季節を問わず、通年の栽培が可能といった利点を持つため、きのこ生産の主流になってきており、2014年のシイタケ栽培における菌床栽培の割合は、全体の89%にも及んでいる (林野庁, <http://www.rinya.maff.go.jp/j/tokuyou/tokusan/1.html>)。一方で、きのこ収穫後の使用済み菌床 (廃菌床) の発生が問題視されている。発生する廃菌床は収穫されるきのこの約 2 倍量に及ぶが、利用

方法は、肥料、ボイラー熱源などごく一部に限られており、多くは20~40円/kgで産廃処理されている。また、エタノール変換への試みもあるがコスト面などから実用化に至っていない。

廃菌床は「腐朽木材」が主成分であり、セルロースが最も多く含まれている。天然セルロースは、セルロースマイクロフィブリルという結晶性の高次構造をとっている。木材に見られる物理的強度や耐久性は、このマイクロフィブリルに由来しており、材料として優れた性質を示す。セルロースマイクロフィブリル間には無数の水素結合が存在し強固に結びついているため、マイクロフィブリル 1 本 1 本を解くことは困難とされてきたが、近年、木材からセルロースをマイクロフィブリル単位で取り出す技術が確立され、得られるマイクロフィブリルは「セルロースナノファイバー」と呼ばれ、現在精力的に研究開発されている。斎藤らは、天然セルロース繊維に、TEMPO (2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシラジカル) を触媒として、臭化ナトリウム、次亜塩素酸ナトリウムとともに共酸化させる反応 (TEMPO 触媒酸化) を施すと、セルロースマイクロフィブリル表面の第一級水酸基をカルボキシル基に変換でき、軽微な機械的解繊処理を水中で加えると幅 3~4 nm、長さ数 μ m のマイクロフィブリル単位に分散したセルロースナノファイバーが得られることを報告した^{1, 2)}。分散したセルロースナノファイバーの幅は可視光の波長より小さいために透明となる。さらに、セルロースナノファイバーは、高結晶性かつ高アスペクト

図 1 シイタケの菌床栽培
Fig. 1 The mushroom bed cultivations of shiitake mushroom

比のバイオ系ナノファイバーであり、1本当たりの引張強度が1.6～3.0GPaと高強度であることから、新規高機能素材として多分野から期待されている³⁾。近年、実際に大人用おむつやゲルインクボールペンに実用化された。また、セルロースナノファイバーをキャストし乾燥させると高密度で空隙のない自立フィルムがえられる。セルロースナノファイバーフィルムは、高い光学透明性、柔軟性、ガスバリア性を有しており、力学物性としては紙やセロファン以上の高い引張弾性率(6.2GPa)、引張破断強度(222MPa)を有することが分かっている^{4, 5)}。

本研究では、きのこ廃菌床から新たな機能性材料を生み出し有効活用することを目的とし、廃菌床にTEMPO触媒酸化を施すことでセルロースナノファイバーを調製した。このとき酸化剤として作用する次亜塩素酸ナトリウム量について検討した。さらに、得られたTEMPO触媒酸化生成物を用いて透明なフィルムを作成した。

2. 実験方法

2.1 試料

菌糸がまん延したシイタケ菌床ブロック(株式会社北研)から子実体を発生させた(約15℃)。子実体が発生しなくなるまで栽培し、すべての子実体を収穫した菌床ブロックを、シイタケ廃菌床サンプルとした。廃菌床はオートクレーブすることでシイタケを滅菌後、凍結乾燥したものを本実験に使用した。特にことわらない限り、試薬は和光純薬のものを使用した。

2.2 廃菌床中の成分分析

廃菌床中の成分はShiromaらの手法で分析した⁶⁾。概略を以下に示す。遊離のグルコース、フルクトース及びスクロース量はSucrose/D-Fructose/D-Glucose Assay Kit (Megazyme社製)を、澱粉及び β -1,3-グルカン量はTotal Starch Kit及びMixed-Linkage Beta-Glucan Assay Kit (共にMegazyme社製)を用いて定量した。総グルカン及びキシラン量は、2段階硫酸加水分解により生成したグルコース及びキシロース量を定量することで算出した。総グルカン量と、澱粉及び β -1,3-グルカン量の総和との差分をセルロース量とした。リグニン含量は、酸可溶性リグニン(2段階

硫酸加水分解液上清中のリグニン)及び酸不溶性リグニン(2段階硫酸加水分解後残渣中のリグニン)の総和とした。灰分は、廃菌床粉末を600℃で5時間焼却した後の残渣量を計量することで算出した。

2.3 廃菌床のTEMPO触媒酸化反応

上記シイタケ廃菌床(乾燥重量1.0g)を、蒸留水およびアセトンで洗浄後、TEMPO(0.016g)、臭化ナトリウム(0.1g、関東化学株式会社)を含む水溶液130mLに懸濁させた。TEMPO触媒酸化反応は、次亜塩素酸ナトリウム水溶液を加えることによって開始した。次亜塩素酸ナトリウム量は、20, 40, 80mmolの4通りで実験を行い、ナノファイバー化に適した条件を検討した。TEMPO触媒酸化反応は、攪拌しながら、室温条件下で4時間行った。本TEMPO触媒酸化反応は、アルカリ性条件で進行するが、反応液中のpHは、カルボキシ基の生成により低下していくため、水酸化ナトリウムを加えることによって、pHを10.0～10.5に維持した。反応終了後、0.1mLのエタノールを加え、沈殿物を遠心分離(570 x g, 30分)にて回収した。水溶性成分を完全に除去するため、得られた沈殿物を蒸留水で洗浄しながら、メンブレンフィルター(孔径0.8 μ m)を用いた濾過により回収した。生成物は湿潤状態で4℃にて保管した。

2.4 廃菌床TEMPO触媒酸化物の分散処理(ナノファイバー化)

TEMPO触媒酸化物を、濃度が0.1%になるように蒸留水(40mL)に懸濁させた。懸濁液を超音波(TOMY精工UD-201; 20KHz; OUTPUT, 5; DUTY, 50)処理し、セルロースマイクロフィブリルを分散させナノファイバー化した。ナノファイバー化しない固形物は遠心分離(18,710 x g, 30分)で除去した。セルロースナノファイバーの透過型電子顕微鏡(TEM)観察は、JEOL JEM-2000EXを用いて行った。サンプルを2%酢酸ウラニルで染色し、加速電圧20kvにて観察した。

2.5 フィルム化

上記セルロースナノファイバー懸濁液を、40℃、常圧下で約2倍に濃縮した後、直径5cmのシャーレに注ぎ込み、さらに乾燥させることでフィルムを作製した。得られたフィルムの質量を測定する

ことで、セルロースナノファイバー収率を算出した。

3. 結果と考察

3.1 シイタケ廃菌床の TEMPO 触媒酸化

シイタケ栽培における菌床には、主に広葉樹のオガ粉と栄養剤（ふすま）が含まれている。乾燥廃菌床の成分を分析したところ、木材由来の成分として、セルロースが25.4%、リグニンが22.4%、キシランが9.87%含まれており、廃菌床中にはセルロースが最も多く含まれていることが明らかとなった（表1）。一方、一般に広葉樹におけるセルロース含有量（40～50%）は、リグニンの含有量（18～35%）に対して2倍程度の相対比であることから、シイタケの菌床栽培では、木材成分のうち、リグニンの質量減少率が他の成分に比べて低い可能性がある。また、シイタケ廃菌床には、栄養剤由来の澱粉や単糖・オリゴ糖、シイタケ菌糸由来の β -1,3-グルカンも少量含まれていた。表1中に示すその他（33.3%）の成分としては、タンパク質、脂質、およびシイタケ菌糸に含まれ

る多糖成分であるキチンや β -1,6-グルカンが推定される⁷⁾。シイタケ栽培前の元の菌床の成分を分析する必要があるが、廃菌床中には木材由来成分が多く含まれており、一方で澱粉含有量は約1%と少量であったことから、シイタケは、菌床中のセルロースなどの木材成分をあまり分解せず、栄養剤として添加しているふすま等を主な栄養源として利用して子実体を形成していると考えられる。

シイタケ廃菌床をオートクレーブで滅菌した後、水とアセトンで洗浄することで、水溶性糖類、タンパク質、有機酸などを除去した。洗浄後の廃菌床サンプルを TEMPO 触媒酸化に供した。本実験で用いた反応は、次亜塩素酸ナトリウムを酸化剤とした共酸化反応であり、その添加量が TEMPO 触媒酸化生成物のカルボキシ基導入力、およびセルロースナノファイバー収率に大きく影響することが知られていることから⁸⁾、本実験では次亜塩素酸ナトリウム添加量を、廃菌床1gに対して20, 40, 80mmolの3条件とし、適切な添加量を検討した。TEMPO 触媒酸化反応中の pH の低下は、20mmol/g 条件では210～230分経過、40mmol/g 条件では170～200分経過、80mmol/g 条件では120～150分経過の時点で認められなくなった。元の廃菌床サンプルは褐色であったが、どの条件においても4時間の反応によって脱色し、ほぼ白色の生成物（固形分）が得られた。次亜塩素酸ナトリウム添加量20, 40, 80mmol/g における、廃菌床サンプル1.0gからの不溶性固形分の生成量は、それぞれ0.46, 0.29, 0.26gであった。

これらの結果は、TEMPO触媒酸化反応過程で、リグニンやセルロース以外の多糖類（ヘミセルロース、アミロース、 β -1,3-グルカン等）が可溶化し、廃菌床固形分から脱離したことを示唆する。天然セルロースがTEMPO触媒酸化されると、そのマイクロフィブリル表面のみが酸化されることでカルボキシ基が導入される。よって生成物である TEMPO 触媒酸化セルロースは、高結晶性を維持しており水不溶性である¹⁻³⁾。本実験で用いた廃菌床サンプルには、セルロースの他にリグニンやヘミセルロース等の木材成分が含まれていた。Barreca らは TEMPO と酸化還元酵素（ラッカーゼ）を用いて未漂白クラフトパルプから脱り

表1 シイタケ廃菌床乾燥物の成分分析

Table 1 The content analysis of the dried waste mushroom beds after shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms cultivation

	Content (%)
セルロース Cellulose	25.4 ± 0.50
リグニン Lignin	22.4 ± 0.37
キシラン Xylan	9.87 ± 0.18
澱粉 Starch	1.33 ± 0.01
スクロース Sucrose	0.27 ± 0.04
グルコース Glucose	0.08 ± 0.00
フルクトース Fructose	22.4 ± 0.37
β -1,3-グルカン β -1,3-Glucan	0.03 ± 0.01
灰分 Ash	7.24 ± 0.31
その他 Others	33.3

グニンする方法について報告している⁹⁾。また、本研究で用いた反応と同じ TEMPO/NaBr/NaClO 系酸化を用いてリグノセルロース（針葉樹サーモメカニカルパルプ）を処理した場合、19mmol/g 以上の次亜塩素酸ナトリウム添加により、完全にリグニンが除去され、生成した固形分は、高結晶性の酸化セルロースが主体であったことが報告されている¹⁰⁾。その他、廃菌床中にはシイタケ生育のための栄養剤として澱粉（アミロース）が含まれている。アミロースは TEMPO 触媒酸化反応により全ての第 1 級水酸基がカルボキシ基に酸化され、水溶性ポリマーであるポリウロン酸に変化する¹¹⁾。また、シイタケ菌糸の成分も廃菌床中に含まれているが、その主成分は β -1,3/1,6-グルカンであり、この多糖も上記アミロースと同様に TEMPO 触媒酸化され水溶化したと考えられる¹²⁾。本反応試験における次亜塩素酸ナトリウム添加量 40, 80mmol/g での固形分の生成量は、廃菌床中に含まれるセルロースの量とほぼ一致していた。よって、セルロース以外の廃菌床成分の殆どが、TEMPO 触媒酸化により分解または構造変化により水溶化し、生成物である酸化セルロースのみが不溶性固形分として得られたと考えられる。一方、次亜塩素酸ナトリウム添加量 20mmol/g の条件では、廃菌床中に含まれるセルロース量の 1.8 倍量の固形分が得られたことから、本条件下では酸化剤の不足により、セルロース以外の成分を完全に除去できなかったと考えられる。

3.2 廃菌床 TEMPO 触媒酸化物のナノファイバー化

廃菌床の TEMPO 触媒酸化により得られた固形生成物を、0.1% になるように蒸留水に懸濁し、超音波処理することでナノファイバー化した。超音波処理時間の経過に伴う、懸濁液の様子を図 2 に示す。未処理の段階では、どの次亜塩素酸ナトリウム条件においても下部に固体が沈殿していた。80mmol/g 条件では、処理時間が 0.5 分の段階から、固体が消失しはじめ、11 分間の処理でほぼ透明な分散液が得られた。一方、20, 40mmol/g 条件においては、処理時間の経過に伴い徐々に固形物が減少していく様子が確認できたが、11 分以上の処理を続けても完全に固形物由来の白色沈殿が消失することはなかった。

図 2 廃菌床の TEMPO 酸化生成物を水中で超音波処理したときの経時変化

Fig. 2 Changes in TEMPO-oxidized products of the waste mushroom beds by sonication in water

酸化剤 20, 40mmol/g 条件下では、上述した TEMPO 触媒酸化反応過程におけるセルロース以外の夾雑物の除去が不十分であったことの他に、セルロースマイクロフィブリルの表面に十分なカルボキシ基が導入されていなかったことが考えられる。本研究で用いた廃菌床は広葉樹由来の木紛から調製されており、キシランが含まれている。キシランは C 6 位の第 1 級水酸基をもたない疎水性のヘミセルロースで、グルカンやマンナンと異なり TEMPO 触媒酸化反応により水溶化しない。よって、キシランの多くは固形分として残存し、これがセルロースのナノファイバー化に影響していると推測される。実際に、針葉樹漂白クラフトパルプ（グルコマンナンを主なヘミセルロースとして有する）を出発物質とした場合、1.0mmol/g 以上のカルボキシ基の導入で十分に透明な分散液が得られるが、広葉樹クラフトパルプの場合、1.5mmol/g とより高いカルボキシ基導入量が必要であることが報告されている¹³⁾。一方で、80mmol/g 条件では、残存したキシランがあつて

図3 廃菌床から調製したセルロースナノファイバーの透過型電子顕微鏡画像

Fig. 3 Transmission electron microscope images of cellulose nanofibers prepared from the waste mushroom beds

も完全にナノファイバー化できる、十分な量のカルボキシ基がセルロースマイクロフィブリル表面に導入できたと考えられる。

遠心分離により透明に分散せずに残存した固形分を除去し、上清を TEM 観察したところ、用いた全ての条件において、幅 2～3 nm、長さ数 μm の分散したナノファイバーが確認された（図 3）。よって、収量には差があるものの、どの条件においても廃菌床からセルロースナノファイバーが得られていることが示された。シイタケ廃菌床中のセルロースは、部分的にシイタケによる酵素分解を受けている可能性がある。しかしながら、観察されたセルロースナノファイバーは、漂白木材パルプから得られるものと同等の幅と長さであると推定され、セルロースナノファイバーが持つ高アスペクト比かつ高強度といった特性を維持していると考えられる。

3.3 フィルムの作製とナノファイバー収率

廃菌床から得られた透明分散液を用いて、キャ

スト法によりフィルムを作製した。TEM 観察結果から、全ての次亜塩素酸ナトリウム添加条件においてナノファイバーが得られたことから予想されたように、どの条件でも透明なフィルムを作成することができた（図 4）。添加量 20, 40, 80mmol/g において、廃菌床 1.0g から、それぞれ 0.15, 0.16, 0.18g の透明フィルムが得られ、次亜塩素酸添加量を増やすに従って、高い収率でフィルムが得られた。これら透明フィルムの重量を最終的なセルロースナノファイバー生成物収量とすると、廃菌床中のセルロース含有量は、25.4%であったことから、セルロースに対する収率は、それぞれ 60.4, 63.3, 71.1%であった（図 5）。

以上のように、シイタケ廃菌床を TEMPO 触媒酸化することで、セルロースナノファイバーおよび透明フィルムを作製することができた。TEMPO 触媒酸化セルロースナノファイバーフィルムは強度・弾性に優れ、透明性が高い素材であり、ガスバリア性も高いことから、包装材料、電

図4 廃菌床から調製したセルロースナノファイバーフィルム

Fig. 4 Cellulose nanofiber films prepared from the waste mushroom beds

注：フィルムをきのこの写真上に置いた。点線はフィルムを置いた位置を示す。

Note : The films on the mushroom pictures. Dotted lines show the film areas attached.

図5 廃菌床 1 g から得られたセルロースナノファイバーフィルムの収量

Fig. 5 Yields of cellulose nanofiber films prepared from 1 g of the waste mushroom beds

子材料などの多分野での利用が期待されている新素材である^{4, 13)}。シイタケ廃菌床から高収率でセルロースナノファイバーを得るためには、80mmol/gの次亜塩素酸ナトリウムを要することが明らかとなり、これは先行研究において最も用いられている針葉樹漂白クラフトパルプの場合の10mmol/gと比べると多い。しかしながら、シイタケ廃菌床にはセルロース以外にも、リグニン、ヘミセルロース、栄養剤成分、菌糸成分など多様な物質が含まれており、これら成分を1段階の反応によって除去し、選択的に酸化セルロースを抽出することができたこと、そして透明なナノファイバーフィルムを調製できたことは、廃菌床の有効活用を考える上で重要な結果である。

本研究において、このような新規機能性素材であるセルロースナノファイバーの原料として、きのこ廃菌床が活用可能であることを示すことができた。きのこ廃菌床は言い換えれば腐朽木材であることから、本成果は腐朽された廃棄木材など、多様な未利用バイオマスへ応用可能であると考えられる。また、きのこの菌床栽培には、間伐材などの林地残材や木材加工において発生する木屑などを利用することも可能である。よって、本技術によりきのこ栽培後の廃菌床からさらに機能性素材を生み出したことは、木材の新たな多段階利用を可能にし、木材保存にも繋がると考えている。

4. 結論

きのこの菌床栽培において大量に発生する廃菌床に、TEMPO触媒酸化を適応し、セルロースナノファイバーを調製した。TEMPO触媒酸化における酸化剤である次亜塩素酸ナトリウムを、乾燥廃菌床 1 g に対し80mmol 添加することで、収率 18%（廃菌床中に含まれるセルロースに対しての収率：71%）で透明なセルロースナノファイバーフィルムを得ることができた。セルロースナノファイバーは、高強度かつ高弾性の新規高機能素材として多分野から注目されていることから、本成果は廃棄木材の有効活用、および木材の多段階利用に繋がると考えられる。

謝辞

本研究は JST 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) フィージビリティスタディ (FS) ステージ 探索タイプ 課題番号 AS231Z03520E の支援により実施された。

引用文献

- 1) Saito, T., Nishiyama, Y., Putaux, J.L., Vignon, M. and Isogai, A. : Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose, *Biomacromolecules*, **7** (6), 1687-1691 (2006).
- 2) Saito, T., Kimura, S., Nishiyama, Y. and Isogai, A. : Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose, *Biomacromolecules*, **8** (8), 2485-2491 (2007).
- 3) Saito, T., Kuramae, R., Wohler, J., Berglund, L.A. and Isogai, A. : An ultrastrong nanofibrillar biomaterial : the strength of single cellulose nanofibrils revealed via sonication-induced fragmentation, *Biomacromolecules*, **14**(1), 248-253 (2007).
- 4) Fukuzumi, H., Saito, T., Iwata, T., Kumamoto, Y. and Isogai, A. : Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation, *Biomacromolecules*, **10** (1), 162-165 (2009).
- 5) Saito, T., Hirota, M., Tamura, N., Kimura, S., Fukuzumi, H., Heux, L. and Isogai, A. : Individualization of nano-sized plant cellulose fibrils by direct surface carboxylation using TEMPO catalyst under neutral conditions,

- Biomacromolecules*, **10** (7), 1992-1996 (2009).
- 6) Shiroma, R., Park, J.Y., Al-Haq, M.I., Arakane, M., Ike, M. and Tokuyasu, K. : RT-CaC-CO process : an improved CaCCO process for rice straw by its incorporation with a step of lime pretreatment at room temperature, *Bio-resource Technology*, **102** (3), 2943-2949 (2011).
- 7) 金野尚武 : きのこと類が生産する糖質加水分解酵素, 木材保存, **39** (2), 60-70 (2013).
- 8) Okita, Y., Saito, T. and Isogai, A. : Entire surface oxidation of various cellulose microfibrils by TEMPO-mediated oxidation, *Biomacromolecules*, **11** (6), 1696-1700 (2010).
- 9) Barreca, A.M., Sjögren, B., Fabbrini, M., Galli, C. and Gentili, P. : Catalytic Efficiency of some Mediators in Laccase-Catalyzed Alcohol Oxidation, *Biocatalysis and Biotransformation*, **22** (2), 105-112 (2004).
- 10) 磯貝明, 斎藤継之, 沖田祐介 : 特開2008-308802 (2008).
- 11) Iihashi, N., Nagayama, J., Habu, N., Konno, N. and Isogai, A. : Enzymatic degradation of amylose (α -(1 $\rightarrow$ 4)-linked glucuronan) by α -glucuronidase from *Paenibacillus* sp. TH501b, *Carbohydrate Polymers*, **77** (1), 59-64 (2009).
- 12) Tamura, N., Wada, M. and Isogai, A. : TEMPO-mediated oxidation of (1 $\rightarrow$ 3)-beta-D-glucans, *Carbohydrate Polymers*, **77** (2), 300-305 (2009).
- 13) 磯貝明 : TEMPO 酸化セルロースナノファイバーの調製と特性解析, 東京大学農学部演習林報告, 126, 1-43 (2011).
- (2016.2.18受付)
(2016.3.23受理)