

氏名	ZHAO XUZHE
授与学位	博士(工学)
学位記番号	博甲第139号
学位授与年月日	平成26年9月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
学位論文題目	Bioethanol conversion of cellulosic biomass using a combination of cellulase and recombinant yeast (セルラーゼと形質転換酵母の組み合わせによるセルロース系資源からのバイオエタノール変換)
論文審査委員	主査 教授 吉田 孝 教授 中谷 久之 准教授 服部 和幸 准教授 菅野 亨 准教授 佐藤 利次

学位論文内容の要旨

グルコースを発酵して得られるバイオエタノールは再生可能エネルギーの一つとして研究開発が進められている。デンプン原料では食糧と競合するため、セルロース原料からのバイオエタノール生産が望まれているが、セルロースが結晶性のため、効率的な生産方法が求められている。本研究では、低エネルギーでセルロースの結晶性を低減させるマーセル化について始めに検討した。続いてビートパルプ、ビート葉、ともろこし茎、雑草などの未利用農業資源のバイオエタノール化について検討し効率的に糖化発酵が可能であることを見出した。

1. マーセル化セルロースの酵素糖化

ミクロクリスタルセルロースに9 wt%水酸化ナトリウム水溶液を加え、 -10°C で10分間攪拌し、水に注ぎマーセル化セルロースを得た。種々の市販セルラーゼを用い、至適条件でマーセル化セルロースをグルコースおよびセロオリゴ糖への糖化を行った。その結果、20 g/Lのマーセル化セルロースから Sucrase Cによる糖化では、12 hで12.4 g/Lのグルコース、4.9 g/Lのセロビオース及び0.5 g/Lのセロトリオースの混合糖化液が得られ、pYBGA1形質転換酵母と併用した糖化、発酵では効率的にエタノールに変換されることを見出した。

2. 未利用農業資源のバイオエタノール化

北海道は日本で最大の農業生産地であり、豊富なビートパルプ、ビート葉、ともろこし茎、雑草など非食用セルロース系植物を原料として、バイオエタノールの効率的な糖化と発酵について検討した。リグニン除去とセルロースの結晶構造を低下させるために、2% NaOH水溶液でオートクレーブ中 121°C 、1時間前処理を行った。セルロースはビートパルプではアルカリ処理前の58.3%から処理後の74%に、リグニンは4.2%から1.2%に低減することを見出した。ヘミセルロースはアルカリ処理により溶出し16.7%から10.9%に減少した。他の試料でもセルロースは上昇し、ヘミセルロースとリグニンは減少した。ビートパルプはMeicelase (10 wt%)を用いて糖化を行い、グルコース濃度はアルカリ処理前の1.3 g/Lから処理後の9.6 g/Lに増加しアルカリ前処理により効率的に糖化が進行することが分かった。次に種々のセルラーゼ (Cellic CTec, Sucrase

C、Sumizyme AC、Meicelase、GODO-TCL、Onazuka RS など)を用いて、pYBGA1 形質転換酵母と組み合わせ逐次糖化発行と同時糖化発酵を行った。ビートパルプでは Cellic CTec(10 wt%)を用い、24 時間糖化でグルコース濃度は 11.8 g/L (転換率 75%) となった。その後、36 時間発酵させ 5.54 g/L バイオエタノールが生成した。バイオエタノールはセルロース基準で 66% (グルコース基準では 92%) の高い収率で得られることを明らかにした。Sucrase C、Sumizyme C と meicelase を用いた場合にも、ビートパルプから高い濃度のグルコースへ糖化することを見出し、ビート葉、ともしこし茎、雑草からはそれぞれ 9.4 g/L、7.1 g/L、6.1 g/L グルコースが得られ、エタノール発酵収率はそれぞれ 91%、91%、96% となり効率的な結果が得られた。清酒酵母きょうかい 7 号 (K7) でのバイオエタノールの逐次発酵も行ったが、バイオエタノールの生成量は 3.25 g/L で低い結果になった。Sucrase C (10 wt%) と pYBGA1 (1×10^8 cells/mL) による同時糖化発酵ではビート葉から 82% の収率で 3.97 g/L バイオエタノールを得られ、逐次糖化発酵より低い結果になった。また、上で検討した実際の試料を用いるマーセル化処理についてはリグニン除去の問題が残り、パルプやミクロクリスタルセルロースなど原料選択が重要であることが分かった。

論文審査結果の要旨

グルコースを発酵して得られるバイオエタノールは再生可能エネルギーの1つとして研究開発が進められている。デンプン原料では食糧と競合するため、セルロース原料からのバイオエタノール生産が望まれているが、セルロースの結晶性とリグニン除去の必要があり、効率的な生産方法が求められている。本研究では、低エネルギーでセルロースの結晶性を低減させ、リグニン除去効果があるアルカリ前処理について検討し、続いてビートパルプ、ビート葉、ともしこし茎、雑草などの北海道に豊富に存在するが未利用の植物資源を原料としたバイオエタノール化を行い、効率的に糖化発酵が可能であることを見出した。

始めに植物試料のモデルとして微結晶セルロースを9wt%水酸化ナトリウム水溶液、 -10°C で10分間攪拌して溶解後、水に注ぎアルカリ処理セルロースを得た。種々の市販セルラーゼを用い、逐次糖化発酵法によりエタノール発酵を行った。酵素およびpYBGA1形質転換酵母を用いた糖化、発酵により効率的にエタノールに変換されることを見出した。さらに北海道の植物資源を原料とした逐次糖化発酵法、同時糖化発酵法によるエタノール発酵を比較検討し、逐次糖化発酵法で植物によって最適な酵素とpYBGA1酵母の組合せにより効率的なエタノール発酵可能であることを見出した。大規模な合成法の基礎的な研究として評価できる。

これらの成果は、国際専門学術誌に総合論文として掲載決定され、かつ学会での発表も行われている。本研究の成果は博士論文として必要な事項をすべて満たし、かつ研究の発展性も期待できる。よって、申請者は北見工業大学博士(工学)の学位を授与される資格があると審査委員会は認めた。