

学位論文内容の要旨

セルロース系バイオエタノールは非食糧を原料とする再生可能なエネルギーとして注目されている。一般にセルロース系バイオエタノール合成は草木や木材などセルロース源を前処理しグルコースへ糖化させた後、酵母でエタノール発酵させて生産する。しかし、セルロースからグルコースなどの単糖への糖化には多くエネルギーを費やし、高コストになってしまう。そこで、本研究ではセルロースの糖化について、グルコースよりもセロオリゴ糖への糖化が有利になると考え、セロオリゴ糖のエタノール直接発酵について定量的検討した。発酵に用いる形質転換酵母は(独)酒類総合研究所より提供された pYBGA1 酵母を用いた。pYBGA1 酵母によるグルコース及びセロビオースのエタノール発酵を始めに検討し、最適酵母数を 1×10^8 cells/ml、最適発酵温度は 30°C であることが分かった。次にセロビオース、セロトリオース、セロテトラオース、セロペンタオースの4種のセロオリゴ糖のエタノール発酵を検討した。糖濃度は 50g/L、発酵温度は 30°C 、酵母数は 1×10^8 cells/ml に調整して発酵を行った。グルコースは24時間でエタノール最高濃度が 17.5g/L になった。セロオリゴ糖のエタノール発酵で、pYBGA1 酵母は初めにグルコースに糖化し、その後にエタノール発酵がはじまるため、グルコースの発酵より時間がかかることが分かった。セロビオースは60時間でエタノール最高濃度 18.7g/L になり、セロトリオースとセロペンタオースの発酵では72時間でエタノール最高濃度が 18.0g/L になり、セロテトラオースは 18.5g/L のエタノール最高濃度を得られた。pYBGA1 酵母の糖化及び発酵の作用機構をセロテトラオースを用いて検討した。一定時間ごとの HPLC 測定により、セロテトラオースはより小さなセロオリゴ糖及びグルコースに加水分解され最終的にグルコースが発酵していることが明らかになった。pYBGA1 酵母によりセロオリゴ糖の発酵が効率よく進行することが分かった。

次にセルロースをセロオリゴ糖に変換するために、種々のセルラーゼ糖化を検討した。セルロースの前処理にはマーセル化処理をして、セルロースを膨潤させた。セルロース(2g)に9%(w/w)水酸化ナトリウム水溶液を加え、 -10°C で10分間攪拌させることで溶解させ、水に加えて再生してマーセル化セルロースを得た。そして、種々の市販セルラーゼによる糖化を検討した。マーセル化セルロース2gを用いて、

メイセラゼ(明治製菓)(1% w/w)による糖化では6時間でグルコース9.11g/L及びセロビオース5.25g/Lが得られた。スクラーゼC(三菱フーズ)(10%w/w)による糖化では6時間でグルコース6.66g/L、セロビオース6.28g/L及びセロトリオース0.64g/Lを得られ、糖化96時間ではセルロース糖化率83%となった。マーセル化セルロースは酵素糖化を効率よく進行させ、糖化液にはグルコース及びセロビオース、セロトリオースなどのセロオリゴ糖があることが分かった。

以上、形質転換酵母 pYBGA1 酵母によるセロオリゴ糖の糖化、発酵は1段で効率的に進行し、収率良くエタノールが得られ、新しいバイオエタノール製造技術として期待できることが明らかになった。マーセル化セルロースはセルラーゼの種類によりセロオリゴ糖が高濃度で得られるので、pYBGA1 酵母の糖化、発酵により効率的にエタノールに変換できる。今回は、まだエネルギーバランス、コストなどを検討していないので、今後はよく検討し、新しい製造方法を開発する。

論文審査結果の要旨

セルロース系バイオエタノールは非食糧の再生可能エネルギーとして注目されているが、酵素糖化に抵抗する結晶性構造の存在や、効率的な糖化と発酵などの問題点がある。そこで、申請者はセルロースの糖化と発酵の問題に着目し、セロオリゴ糖に糖化し直接発酵する効率的な製造方法を見出した。初めに、セロオリゴ糖の糖化と発酵能力があるpYBGA1形質転換酵母を用いてセロオリゴ糖の直接糖化を行い、効率的にエタノールが得られることを明らかにした。次にマーセル化前処理したセルロースを10種類の市販セルロースで糖化を行い、セロオリゴ糖へ効率的に糖化できるセルラーゼ酵素を選定するとともに逐次糖化発酵法によりセロオリゴ糖を単離することなく、連続的に糖化、発酵させてエタノールを効率的に得る方法を開発した。

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、かつ国際会議、高分子学会等でも発表されている。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。