【97】

氏　名（国籍）	ロブレ　ノエル　ドンゴグ（フィリピン）
学位の種類	博　　士（農　　学）
学位記番号	博　甲　第　3357　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	**Development of production systems for raw cassava starch bioconversion in novel bioreactors with cells immobilized in loofa (*Luffa cylindrica*) sponge** （ヘチマ繊維体に固定化した微生物細胞を用いる新規なバイオリアクターによるキャッサバ澱粉からの有用物質生産システムの開発）

主　査	筑波大学教授	工学博士	田　中　秀　夫
副　査	筑波大学教授	工学博士	向　高　祐　邦
副　査	筑波大学教授	農学博士	木　村　俊　範
副　査	筑波大学助教授	農学博士	青　柳　秀　紀

論文の内容の要旨

デンプンは地球上に豊富に存在するバイオマスの1つであり，その有効利用が期待されてきた。これまで，微生物や酵素を利用して，デンプンを基質としてエタノールや乳酸などの有用物質生産が試みられてきたが，依然として，生産性や経済性の面で多くの問題点が残っている。これらの問題点を解決するためには，安価なデンプンの使用法や，条件が異なる糖化プロセス（好気条件）と発酵プロセス（嫌気条件）を同時にかつ連続的に行うことができるプロセス（SSF）の確立が必須である。本研究では，これらの現状を踏まえ，まず熱帯地域で豊富に存在する安価なキャサッバデンプンを基質として使用する事を考えた。次に，ヘチマ繊維体に固定化した好気性微生物および嫌気性微生物を用いると伴に，好気槽と嫌気槽が連結した新規な2種類のバイオリアクターシステムを開発し，それらを使用することでSSFを実現し，高い生産性を有し，経済性に優れた有用物質の実用的生産システムの開発を試みた。

好気糖化プロセスと嫌気発酵プロセスを同時に行うために，好気槽と嫌気槽を並列に連結し，それぞれの槽に好気性菌と嫌気性菌を固定化したヘチマ繊維体を挿入して用いる循環型環状バイオリアクター（CLB）をまず初めに開発した。*Aspergillus awamori* と凝集性酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IR-2 をそれぞれ別々にヘチマ繊維体に固定化したCLBを用いて，キャッサバ澱粉からのエタノール生産を試みた。その結果，通気速度の上昇に伴い α -amylase および glucoamylase の活性が増大した。エタノール収率と生産量は通気速度が0.5vvmでピークとなり，それより高い通気速度では減少した。通気速度0.5vvmで600時間以上繰り返し回分培養を行った結果，キャッサバ澱粉からの収率と平均エタノール生産性はそれぞれ0.45g-ethanol/starchと $0.5gL^{-1}h^{-1}$ であった。CLBの性能を向上させ，さらにエタノール生産性を高めるために，CLBの好気槽と嫌気槽を連結している上部のパイプに経時的に開閉するバルブを装備した。バルブの開放時間および頻度を最適化し，1.0vvmでAirを通気することで，エタノールの生産性は $1.17gL^{-1}h^{-1}$ なり，バルブを装備していないものと比較して2.4倍に増大した。次にCLBを用いて，*A.awamori* と *Lactococcus lactis spp. lactis* をヘチマ繊維体に固定化し，キャッサバ澱粉からL-乳酸の生産を試みた。CLBを用いた繰り返し回分

培養によるＬ－乳酸生産は400時間以上行われ，キャッサバ澱粉からの平均の乳酸収率（0.76g lactic acid/g starch）と生産性（1.6gL^{-1}h^{-1}）はこれまで報告されている値の中で最も高く，CLBの有用性が証明された。

さらにCLBを用いる同時糖化発酵プロセスのより高い効率化を図るために，固体培養と液体培養の利点を考慮した新しい気相－液相交換バイオリアクター（ALAB）を開発した。ALABはガラスカラム製のbubble columnバイオリアクターに装備されたサイフォンシステムを通じて給水と排水が交互になされる。*A.awamori*と*S.cerevisiae*をヘチマ繊維体に固定化したALABを用いてキャッサバ澱粉からのエタノール生産を試みた。可溶性澱粉を用いて基礎的検討を行った結果，glucoamylaseとα-amylase生産のための最適な液相と気相の時間比は12h:12hであった。しかしながら，キャッサバ澱粉（不溶性）の場合，本条件下では澱粉が沈殿をおこし，結果的に酵素とエタノールの生産量が大きく減少した。キャッサバ澱粉から同時酵素生産，糖化，エタノール生産を行うための最適な液相と気相の時間比は3h:6hだった。この条件では澱粉の沈殿は最小限に抑えられ，α-amylaseとglucoamylaseの生産性は，それぞれ218 Uml^{-1}h^{-1}と0.29 Uml^{-1}h^{-1}であった。また，キャッサバ澱粉からの平均エタノール生産性（1.73gL^{-1}h^{-1}）と収率（0.46 g-ehanol/g-starch）はいずれもCLBより高い値が得られ，これらの値はこれまでに知られた報告の中で最も高い値を示し，ALABが，固体培養と液体培養の利点を十分に活かしたリアクターであることが証明された。

審査の結果の要旨

本研究は，澱粉を基質としてエタノールや乳酸などの有用物質生産に用いるための糖化プロセス（好気条件）と発酵プロセス（嫌気条件）を同時にかつ連続的に行うことができる安価なバイオリアクターシステムを開発することを目的とした研究である。検討の結果，好気性菌（*Aspergillus awamori*）と嫌気性菌（*Sacharomyces cerevisiae*および*Lactococcus lactis*）の長期使用のための，安価な固定化担体としてヘチマ繊維体を用いる２種類の独創性の高いバイオリアクターシステムを開発した。まず，好気槽と嫌気槽を並列に連結し，それぞれの槽に好気性菌と嫌気性菌を固定化して用いる循環型環状バイオリアクターシステム（CLB）を開発し，キャッサバ生澱粉から高生産で高収率のエタノールおよび乳酸の生産に成功した。次に，CLBよりもより効率化を図るために，好気槽に固体培養と液体培養の利点を考慮した新しい気相－液相交換槽を用いるバイオリアクターシステム（ALAB）を開発し，キャッサバ生澱粉からエタノールの生産を行い，これまで報告された中で最も高い生産性を得ることに成功した。本研究で開発したバイオリアクターシステムは，いずれも好気性微生物と嫌気性微生物を組み合わせた他の多くの有用物質生産に使用可能で，その利用性は広く，かつ，非常に安価なシステムであることから，特にバイオマス資源が豊富な開発途上国に適したシステムとして評価できる。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。