

氏名(本籍)	ひでのあきひろ 秀野晃大(和歌山県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第4343号
学位授与年月日	平成19年3月23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	生命環境科学研究科
学位論文題目	未利用木質バイオマスの廃菌床を有効利用したエタノール生産システムの開発

主査	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	内山裕夫
副査	筑波大学教授	農学博士	土居修一
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

近年、未利用木質バイオマスから作られるバイオエタノールが注目されている。木質バイオマスは、散在していることによる集積コストや、季節による量の変動が実用面での利用において問題となる。セルロース、ヘミセルロースおよびリグニンの複合体である木質バイオマスからエタノールを生産するためには、はじめに木質バイオマスを前処理し、セルロースやヘミセルロースなどの構成成分を分離した後、糖化発酵する必要がある。現在、主に硫酸などを用いる化学的前処理法が用いられているが、コストが高く、環境問題を引き起こす可能性を有している。糖化においては、現在、世界最強の糖化力を持つと言われる *Trichoderma* 属由来のセルラーゼでも、力価不足であるという問題を抱えている。そのため、低コスト、低負荷な前処理法や、酵素の有効利用を可能にする同時糖化発酵法(SSF)など、環境低負荷型の技術開発が求められている。このような現状を踏まえ本研究では、集積性に優れた未利用木質バイオマスとして、毎日大量に工場から排出されている(数百トン/1工場)マイタケ(*Grifola frondosa*)栽培後の廃菌床(おが粉培地)に着目し、廃菌床を有効利用した低コストで環境低負荷型のエタノール生産システムの開発に関する研究に取り組んだ。

これまで廃菌床の諸特性に関する研究がほとんどなされていない為、第一ステップとして、エタノール生産用の基質として、廃菌床の素材評価を行った。廃菌床には、栽培前のおが粉と同程度の約37%(w/w)のグルコースが含有されていた。熱分析および木材腐朽度の指標となる1% NaOH抽出物の結果から、廃菌床の木材部分はマイタケによって腐朽されている可能性が示唆された。廃菌床に *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼを作用させた場合、糖化率はおが粉の16倍高かった。以上の結果から、廃菌床は、エタノール生産の原料として優れていることが示唆された。次に、大量に排出される廃菌床を利用するための前処理として、連続処理が可能な二軸式スクリー粉砕機を用いた廃菌床の物理的前処理を検討した。その結果、乾燥粉砕および熱水抽出が適しており、最大約88%のグルコース取率が得られた。乾燥粉砕および熱水抽出などの高温処理はコスト面で問題があるが、本研究ではその解決策として、市町村に点在するクリーンセンター(ゴミ処理場)と連携し、そこで発生する廃熱の有効利用を提案した。

第二ステップとして、生体触媒を効率的に機能させる固定化担体の開発を行った。本研究室で微生物細胞

の優れた固定化担体として提案してきたヘチマ繊維体は、セルラーゼによって分解されるため、セルラーゼを使用する木質バイオマスからのエタノール生産システムには使用することができない。そこで、ヘチマ繊維体にセルラーゼ耐性を付与する簡便な処理法を検討した結果、オートクレーブ（120℃，20min）を用い、ヘチマ繊維体をアセチル化することで、720h以上にわたってセルラーゼによる加水分解からヘチマを保護できることを明らかにした。

最終ステップとして、上述の前処理を行った廃菌床を原料に、セルラーゼとアセチル化ヘチマ繊維体に固定化した凝集性酵母（*Saccharomyces cerevisiae* IR-II）による同時糖化発酵を外部攪拌式リアクター（3ℓ）で行った。その結果、固定化およびエタノール生産が阻害されることなく、生産速度0.17g/ℓ・hで16g/ℓのエタノールが得られた（理論収率の約75%）。

本研究で提案した、未利用木質バイオマスの廃菌床を有効利用したエタノール生産システムは、クリーンセンターの廃熱と組み合わせることでその実用性は高く、低コストで環境低負荷型エタノール生産システムの構築に大きく貢献するものと考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

地球温暖化問題の解決にあたり、木質バイオマスからのエタノール生産は世界中でその重要性が叫ばれている。しかしながら、原料の散在性や供給の不安定性に加えて、難分解性のリグニンの存在が大きな問題となっており、この現状をブレイクスルーする事が社会的ニーズとして強く求められている。本研究は、集積性および供給の安定性に優れた原料として、工場から大量に廃棄されている廃菌床に着目し、種々検討を行った結果、廃菌床の木材部分がマイタケによって腐朽され、セルラーゼに分解しやすくなっていることを明らかにしている。また、乾燥粉碎および熱水抽出による前処理を行う事で廃菌床の分解性が高まる事を示すと共に、そのコスト面での問題解決策として、市町村に点在するクリーンセンター（ゴミ処理場）で発生する廃熱の有効利用を提案した。さらに、廃菌床から実用的なエタノールを生産するための固定化担体として、天然繊維のヘチマ繊維体をアセチル化することにより、セルラーゼ耐性を付与したアセチル化ヘチマ繊維体を開発し、セルラーゼ存在下の種々の生産プロセスにおいてその有用性および実用性を示した。最後に、本研究成果を組み合わせた同時糖化発酵を行うことで、最終的に生産速度0.17g/ℓ・hで16g/ℓのエタノールが得られた（理論収率の約75%）。

本研究は、現在、社会的ニーズが高い、実用的な木質バイオマスからのエタノール生産の開発の基盤となる新規性および応用性の高い研究であり、高く評価することができる。

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。