

氏名（本籍）	谷藤 溪詩（茨城県）
学位の種類	博 士（農学）
学位記番号	博 甲 第 6928 号
学位授与年月日	平成26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	生命環境科学研究科
学位論文題目	Application of Acid Sulfite Cooking to Process of Bioethanol Production from Wood (木材由来バイオエタノール生産プロセスへの酸性サルファイト蒸解の適用)

主査	筑波大学教授	農学博士	大井 洋
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	中川 明子
副査	筑波大学准教授	工学博士	梶山 幹夫
副査	筑波大学教授	博士（農学）	江前 敏晴
副査	University of New Brunswick教授	PhD	Yonghao Ni
副査	東京大学教授	農学博士	松本 雄二

## 論 文 の 要 旨

近年、木材リファイナリーおよび木材からのエタノール生産技術の開発が注目されている。酸性サルファイト蒸解では、蒸解廃液（SSL）中に単糖およびオリゴ糖が得られ、さらに酸性サルファイトパルプ（SP）を酵素糖化することでグルコースが得られる。本研究では、バイオエタノール生産前処理技術として酸性サルファイト蒸解を用い、SSLおよびSPからのエタノール生産を向上させることを目的とした。

第一に、SSL中の単糖およびオリゴ糖を高収率で得るための蒸解条件を検討した。カラマツ（*Larix leptolepis*）材、アカシア（*Acacia mearnsii*）材およびタケ（*Phyllostachys pubescens*）稈の酸性サルファイト蒸解を行い、SSL中への炭水化物の溶出挙動を明らかにした。蒸解初期においてカラマツ材のグルコマンナンおよびアカシア材とタケ稈のキシランは、単糖とオリゴ糖としてSSL中に溶出した。SSL中のキシロースとキシロオリゴ糖は蒸解の進行と共に分解し、マンノースとマンノオリゴ糖に比べて速く分解した。マンノースとマンノオリゴ糖収率、およびキシロースとキシロオリゴ糖収率は、それぞれpH 1.4の1時間の蒸解およびpH 2.0の1時間の蒸解で最大（7.7%および12.6%）となった。蒸解後期にはセルロース由来のグルコースがSSL中に得られた。単糖およびオリゴ糖をSSL中に高収率で得るためには、蒸解中に起こるSSL中の単糖およびオリゴ糖の分解を抑制する必要があるとあり、短時間の蒸解が適している。

第二に、*Pichia stipitis*による五炭糖からのエタノール生産を向上させるため、広葉樹SSL中の発酵阻害物質の除去方法について検討した。酢酸の濃度が1 g/L以下ではキシロースからのエタノール生産が阻害されないという知見に基づき、SSLを酸化カルシウム（CaO）で処理し、イオン交換樹脂による処理を二回行うことにより、酢酸濃度を11.2 g/Lから0.9 g/Lまで減少できることを明らかにした。CaO処理後に炭酸ガスで中和するとイオン交換樹脂処理における単糖の損失を抑制することができる。この方法で発酵阻害物質を除去した広葉樹SSLを*P. stipitis*で発酵させると、29.0 g/Lの単糖から10.6 g/Lのエタノールが得られた。一方で、未処理のSSLからはエタノールが得られなかった。この除去方法は、広葉樹SSL中のキシロースからのエタノール生産の向上に効果があることが明らかとなった。

第三に、*P. stipitis*によるオリゴ糖からのエタノール生産を向上させるため、CaOとイオン交換樹脂による処理を針葉樹SSLに適用した。酢酸濃度が1 g/L以下では、セロビオースからのエタノール生産は阻害されない。CaOとイオン交換樹脂を組み合わせた処理により、針葉樹SSL中のオリゴ糖を損失することなく、

酢酸濃度を 5.2 g/L から 0.9 g/L まで減少できる。この処理を行った SSL を発酵させると、1.3 g/L のエタノールが得られ、全オリゴ糖の 38% が消費された。これらのことから、CaO とイオン交換樹脂を組み合わせた処理は、針葉樹 SSL 中のオリゴ糖を損失することなく選択的に酢酸を除去し、*P. stipitis* によるエタノール生産を向上させることが明らかとなった。

第四に、SP の酵素糖化効率の向上のために、パルプ残留リグニンおよびパルプの膨潤度が酵素糖化に与える影響を検討した。アカシア SP の酵素糖化速度は、カラマツ SP に比べて遅い。アカシア SP の酵素糖化残さ中のリグニンに吸着した酵素量はリグニン 1 g あたり 61 Filter paper unit (FPU) であり、カラマツ SP に吸着した酵素量 (35 FPU/ lignin g) に比べて高かった。アカシア SP の残留リグニンは酵素を吸着し、セルロースの酵素糖化を阻害すると考えられる。叩解処理によりカラマツ SP の酵素糖化速度は増加する。酵素添加量が低い条件では、アカシア SP 残留リグニンが酵素を吸着して糖化を阻害する。このとき、アカシア SP の酵素糖化速度は叩解によってもわずかしか増加しない。反応系に過剰の酵素が存在するように酵素添加率を高くすると、残留リグニンに吸着していない酵素が存在するため、糖化を阻害する影響が小さくなる。このとき、叩解によりアカシア SP の酵素糖化速度が増加することが明らかとなった。一方、脱リグニン処理は、叩解処理に比べてアカシア SP およびカラマツ SP の酵素糖化速度を大きく向上させた。

以上をまとめると、本研究では、木材由来の酸性サルファイト蒸解廃液からのバイオエタノール生産に適した条件を明らかにした。また、バイオエタノール生産を向上させるために、発酵阻害物質を除去する方法を見出した。さらに、木材からのグルコース生産量を向上する前処理方法として酸性サルファイト蒸解の優位性を確認すると共に、パルプの糖化効率は、残留リグニンの性状、叩解処理および脱リグニン処理により影響を受けることを明らかにした。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、木材リファイナリーと酸性サルファイト蒸解について概説し、バイオエタノール生産プロセスとしての酸性サルファイト蒸解の優位性を明らかにしている。また、蒸解廃液中の五単糖の発酵阻害物質の除去方法、オリゴ糖の発酵阻害物質の除去方法を提案し、エタノール生産を増大できることを明らかにしている。さらに、脱リグニン処理したパルプの酵素糖化効率に及ぼす因子について検討を加えている。新規で有用な信頼性の高い科学的知見が示され、また信頼性の高い方法が提案されており、その内容の発展と社会的貢献が期待できる。

平成26年1月22日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。