

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	乙 先 第 <b>31</b> 号	氏 名	高野 真希
審査委員	主査 長 宗 秀 明 副査 櫻 谷 英 治 副査 中 村 嘉 利		
学位論文題目 Bioprocess Studies on Ethanol Production in Simultaneous Saccharification and Fermentation with Novel Fermenting <i>Mucor</i> spp. (新規発酵糸状菌 <i>Mucor</i> spp.を用いた同時糖化発酵法によるエタノール生産プロセスに関する研究)			
審査結果の要旨 <p>近年、化石資源依存社会からの脱却を目指して、食料と競合しないリグノセルロース系バイオマスを原料としたバイオエタノールやバイオマテリアルの生産が盛んに研究されている。リグノセルロースを構成するセルロースおよびヘミセルロースは加水分解により単糖へ変換され、発酵微生物によりエタノールや乳酸へ変換される。しかしながら、リグノセルロースは複雑で強固な構造であり、発酵産物の生産には前処理、酵素加水分解、発酵の3段階プロセスを要し、各バイオマスに適した手法の選択が重要である。さらに、リグノセルロースからの効率的な発酵産物の生産には原料由来のさまざまな糖質を資化・発酵できる微生物が適していると考えられる。本研究では、リグノセルロース系バイオマスとして稲わらやペーパースラッジに着目し、効率的発酵法の確立にむけて前処理、酵素加水分解、発酵の各プロセスについて種々検討を行い、下記に示すような有用な知見を得た。</p> <p>(1) 発酵微生物として接合菌 <i>Mucor</i> に着目し、それぞれの菌株のエタノール生産能力について検討することにより、稲わらからのエタノール生産に適した菌株</p>			

*M.ciecinelloides* NBRC4572 を選択した。

(2) 種々の前処理法を稲わらへ適用し、比較検討したところ、セルロース含量や必要エネルギーの観点から水蒸気爆砕処理稲わらを選択した。また、4572 株を用いた処理稲わらの同時糖化発酵(SSF)によるエタノール生産法を確立した。

(3) 市販酵素剤のセルラーゼ活性およびアルカリ処理稲わらの分解活性に基づき多変量解析および実験計画法(DOE)による最適化を行い、酵素カクテル剤を構築した。これと 4572 株を組み合わせた SSF により高効率なエタノール生産を達成した。

(4) 2 種類の *Mucor* 属糸状菌の共培養による微粉末稲わらからの直接エタノール生産を試みた。数種の *M.circinelloides* 株のうち酵素生産菌 5398 株とエタノール生産菌 4572 株との共培養により、微粉末稲わらから直接エタノール生産に成功した。

(5) 稲わらを基質とした培養により 4572 株が分泌する  $\beta$ -glucosidase (BGL)について解析した。本菌株は 2 種類の BGL(1, 2)を分泌しており、それぞれについて反応速度論的、生化学的、および発現の特性について究明した。

(6) *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) および Chitin からのエタノール生産について検討した。*Mucor* 属糸状菌の多くが GlcNAc を発酵でき、さらに 8092 株のキチナーゼおよび 4572 株による SSF で Colloidal chitin からの直接エタノール生産を達成した。

(7) 接合菌 *Rhizopus* 属によるペーパースラッジ(PS)からの高温乳酸発酵を試みた。NaOH-HCl 処理により PS の無機成分や薬剤を除去し、PS に適した酵素カクテル剤と耐熱性 *Rhizopus* 属糸状菌の SSF により、処理 PS からの乳酸生産を達成した。

以上のことから、本研究はリグノセルロース系バイオマスの有用資源化のための前処理、酵素加水分解、発酵から成る一連のプロセスを確立したものであり、本論文は博士(工学)の学位授与に値するものと判定する。