

2G16-1 アンモニア耐性変異株 *Rhizopus* sp. MK-96-1196 による L-乳酸生産の最適化及びスケールアップ

三浦 重信¹, ○劉 鉄軍², 有村 友広¹, 星野 美奈子¹,
小島 麻美¹, 岡部 満康³
(¹武蔵野科学研究所, ²岐阜大院連農・生資料, ³静岡大農・応生化)

近年, L-乳酸は生分解プラスチックの原料としての研究、開発が進められている。本研究ではアンモニア耐性変異株 *Rhizopus* sp. MK-96-1196 を用い、3-L エアリフトバイオリアクター (ALB) での L-乳酸生産条件の最適化および 100-L ALB へのスケールアップを試みた。結果的に 3-L ALB において前培養菌濃度 10⁶ spores/ml, 通気量 1.0vvm, 初発濃粉濃度 120g/L, 培養時の pH 6.5 (10% アンモニア水で制御) の条件下で 90 g/L 以上の L-乳酸が 87% の対糖収率で生産された。またこの時の L-乳酸の生産速度は 2.6g/L/h であった。次に酸素移動容量係数 k_1a を基準とする 3-L ALB から 100-L ALB スケールアップを行い、後者において前者の結果を正確に再現することが出来た。

Optimization and Scale-up of L-Lactic Acid Fermentation by Mutant Strain *Rhizopus* sp. MK-96-1196 in Airlift Bioreactors

SHIGENOBU MIURA¹, ○TIEJUN LIU², TOMOHIRO ARIMURA¹,
MINAKO HOSHINO¹, MAMI KOJIMA¹, MITSUYASU OKABE³
(¹Musashino Chemical Laboratory Ltd.Division, ²Science of Biological Resource, United Graduate School of Agricultural Science, ³Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University)

Key words Airlift bioreactor, *Rhizopus* sp., Scale-up, Mutant strain, k_1a

2G16-3 酪酸を基質とした pH-stat 流加培養法による アセトン・ブタノール (ABE) 発酵

○田代 幸寛, 小林 元太, 園元 謙二, 石崎 文彬,
吉野 貞蔵
(九大院・農)

【目的】アセトン・ブタノール (ABE) 発酵は、酪酸を生産する酸生成期から、酸を再同化しブタノールを生産するソルベント生成期へと移行する独特な代謝経路を有し、培養液の pH は減少から上昇へと移行する。しかし、ABE 発酵の高効率な培養システムは未だ構築されていない。そこで本研究では、ABE 発酵の効率化を目的とし、培養液の pH を指標に基質である酪酸をフィードする pH-stat 流加培養法を検討した。

【方法と結果】使用菌株は *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564)、培地はグルコースを炭素源とする TYA 培地を用い、培養液の pH が減少から上昇に移行した時点で酪酸をフィードする pH-stat 流加培養を行った。酪酸のみをフィードした結果、培養液のグルコースは枯渇し、酪酸は再同化されずブタノールは生産されなかった。次に、酪酸にグルコースを添加しフィードした結果、酪酸は再同化されブタノールは生産された。さらに、酪酸とグルコースのフィード量を濃度勾配調節装置により制御した結果、培養液の pH、酪酸濃度はほぼ一定に維持され、培養液中のグルコース濃度は 2g/l ~ 5g/l に維持され、最大ブタノール生産量は 13.3g/l であった。また回分培養と比較して、菌体あたりおよび消費グルコースあたりのブタノール収率はそれぞれ約 1.5 倍に増加した。

pH-stat fed-batch culture with butyric acid in Acetone-Butanol-Ethanol fermentation

○Yukihiro Tashiro, Genta Kobayashi, Kenji Sonomoto, Ayaaki Ishizaki,
Sadazo Yoshino
(Fac. Agr., Kyushu Univ.)

Key words *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4, butanol, butyric acid, pH-stat fed-batch culture

2G16-2 コーンコブの糖化とそれを用いた乳酸生産

三浦 重信¹, ○戸田 憲昭², 西尾 利明², 崔 洪武¹,
岡部 満康²
(¹武蔵野化学研究所, ²静岡大農・応生化, ³ハルビン医科大学)

【目的】コーンコブの加水分解条件の最適化と、それを用いた *Rhizopus* sp. MK-96-1196 による L-乳酸の生産

【方法及び結果】コーンコブ粉砕物の一般分析を行ったところ食餌繊維が 90% を占め、そのうち 70% が不溶性食繊維 (セルロース、ヘミセルロース、リグニン) であった。ついで市販のアクレモニウムセルラーゼ (明治製菓) によるコーンコブ粉砕物の加水分解条件の最適化を試みた。結果的に加水分解温度 40℃, 初発 pH 4.5, 酵素量 10 u/g-cob ならびに基質量が 100 g/L の時に 60 g/L の還元糖を生成した。その糖組成はグルコース 63%, キシロース 11%, セロビオース 9% であった。この糖化液のみを用いて *Rhizopus* sp. MK-96-1196 による乳酸発酵を行ったところ 25 g/L の L-乳酸を生産した。

Production of L-lactic acid from corn cob

Shigenobu Miura¹, ○Noriaki Itoda², Toshiaki Nishio², Hong-Bin Cui¹,
Mitsuyasu Okabe²
(¹Musashino Chemical Laboratory Co., ²Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, ³Harbin Medical University)

Key words L-Lactic acid, Corn cob, *Rhizopus* sp., Saccharification

3G09-1 トチュウポリイソプレノイドの組織内局在解析

○馬場 健史^{1,2}, 福崎 英一郎¹, 中澤 慶久², 小林 昭雄¹
(¹阪大院工・応生工, ²日立造船(株))

【目的】我々は植物におけるポリイソプレノイドの生合成機構を解析するとともに、高いポリイソプレノイド生産能を有する形質転換植物の作出を目指して研究を進めている。これまで、ポリイソプレノイド産生植物における組織学的な研究はほとんど行われておらず、組織レベルでのポリイソプレノイドの生合成および蓄積機構についてはわかっていない。そこで、本研究では、トランス型のポリイソプレノイド (EU-rubber) を生産するトチュウ (*Eucommia ulmoides* Oliver) において、色素染色法ならびに顕微 FT-IR 分光分析法により組織内における EU-rubber 局在を調べた。

【方法および結果】試料には、トチュウ 15 年生木当年枝の柔らかい新梢を用いた。分析対象物が脂溶性のポリイソプレノイドのため、凍結切片作製法により 25μm の切片を作製した。まず、Oil Red O により色素染色を行ったところ、EU-rubber と考えられる繊維状の構造物が明瞭に染色された。また、篩部側の形成層に近い部分では赤色に染色された顆粒状構造が認められ、これらは脱脂処理により容易に除かれることから低分子化合物の集合体であることが示唆された。次に、ポリイソプレノイドの分布を調べるために、顕微 FT-IR 分析を行った。染色実験において繊維状構造物が確認された部位で、トランスポリイソプレノイド由来の強い吸収が観測された。また、形成層に近い部分に見られた顆粒状の物質にもポリイソプレノイドの存在を示唆する赤外吸収が認められた。

In-situ chemical analyses of trans-polyisoprene in a rubber producing plant, *Eucommia ulmoides* Oliver

○Takeshi Bamba^{1,2}, Ei-ichiro Fukusaki¹, Yoshihisa Nakazawa², Akio Kobayashi¹
(¹Dept. Biotechnol., Osaka Univ., ²Hitachizosen Co. Ltd.)

Key words *Eucommia ulmoides* Oliver, polyisoprene, FT-IR microspectroscopy