

3E11-1 排気 CO₂ 変化を基質フィードの指標とする超高速高効率連続エタノール発酵○島崎 敬士, 河野 明彦, 石崎 文彬
(有限会社 新世紀発酵研究所)

【目的】97年12月に開催されたCOP3では先進国及び市場経済移行国の温室効果ガス排出削減目的を定めた京都議定書が採択され、わが国は2008年から2012年の二酸化炭素等の温室効果ガス排出量を1990年比6%削減することが国際的な責務となった。このような背景の中、エネルギーの安定供給の確保、地球環境問題の対応の観点から石油代替エネルギーとしてバイオマス燃料製造を研究課題として取り組んだ。バイオエタノールのガソリンへの添加需要が拡大する中、バイオエタノールの生産方式はカスケード方式による半連続発酵法が多く採用されているが、生産性は高くなく、高まる世界の需要を十分に満たすことはできない。我々は、培養槽内の菌体をリサイクルし高濃度に保ちながら、CO₂排出量を指標とする基質制御法を用い世界最速のエタノール発酵法を確立し、その需要を満たす目的で研究を行った。【方法及び結果】我々は酵母よりも発酵速度の速い *Zymomonas mobilis* を用いた。3l ベンチスケールで発酵槽内には菌体制御用濁度センサー及びCO₂の排出量を指標とする基質濃度制御用マスフローメーターを取り付け長期連続発酵を試みた。原料はグルコース、スクロース、コーンスターチ、ケインモラセスを使用した。その結果、何れの原料を用いてもエタノール37.5ml/hの高い生産速度で250時間以上の長期安定運転が可能になり超高速高効率連続エタノール発酵生産事業化の目処がついた。

(注) 特許出願済み

Superhighspeed continuous production of bioethanol by the new fermentation system using effluent CO₂ change for substrate feed.○Keishi SHIMAZAKI, Akihiko KONO, Ayaaki ISHIZAKI
(New Century Fermentation Research Ltd.)**Key words** bioethanol, continuous fermentation, *Zymomonas mobilis*, effluent CO₂ change**3E11-3 Production of fumaric acid by *Rhizopus oryzae* M1683 using airlift bioreactor under low pH control**○川西 あけみ¹, 山岸 兼治², 青木 香澄¹, 岡部 満康¹
(¹静岡大・農・応生化,²三菱化学科学技術研究セ)

【目的】通常フマル酸発酵では、pHコントロールが必要である。この場合、培養液中のpHは炭酸カルシウムなどで中和され、カルシウム塩などの形で培養液中に蓄積されている。遊離のフマル酸を生産する場合、生産物が塩では回収精製が困難となるためpKaよりも低いpH下での培養が必要である。本研究では、低pH下でのフマル酸生産の可能性について検討した。【方法・結果】高収率でフマル酸を生産するために、フラスコ培養により酵母エキス、乾燥酵母、CSL、硫酸の4種類について窒素源の検討を行った。結果は、CSLを用いた場合、硫酸を用いた培養と比較し、生産量が2倍になった。さらに、最適CSL濃度2g/lの条件でエアリフトバイオリクターを用いてスケールアップを試みた結果、水酸化ナトリウムを中和剤としてpH6に制御した場合、炭酸カルシウムを用いてpH5に制御した場合、いずれも40g/lと以前の2倍以上の生産量になった。現在は、低pH下での培養について検討中である。

Production of fumaric acid by *Rhizopus oryzae* M1683 using airlift bioreactor under low pH control○Akemi KAWANISHI¹, Kenji YAMAGISHI², Kasumi AOKI¹, Mitsuyasu OKABE¹
(¹Dept. Appl. Biol. Chem., Fac. Agric., Shizuoka Univ., ²Mitsubishi Chemical Science and Technology Reserch Center, INC)**Key words** *Rhizopus oryzae*, fumaric acid, airlift bioreactor, CSL**3E11-2 Repeated batch stable production of peroxidase (rDyP) from *Aspergillus oryzae***○Mozaffar SHAKERI, Yasushi SUGANO, Makoto SHODA
(Chem. Res. Lab., Tokyo Inst. Technol.)

To have industrial usage of peroxidase, its production in prolonged time without supplementation new mycelium is crucially important. Production of a newly isolated dye-decolorizing peroxidase (DyP) by recombinant *Aspergillus oryzae* encoding *dyp* gene was conducted in batch and repeated batch cultures. After batch cultivation in 4 and 6 days, repeated batch was continued by sedimenting the cell mass, withdrawing the culture supernatant and supplying fresh medium to the cell mass, 25 and 8 cycles of repeated batches using maltose and rice bran powder, respectively were carried out. In batches maximum rDyP activities were 3 and 4 U/ml using maltose and rice bran powder, respectively. In repeated batches, maximum rDyP activities by using maltose and rice bran powder were 6 and 6.4 U/ml, respectively. Rice bran powder was a cost effective substrate for production of rDyP.

Repeated batch stable production of peroxidase (rDyP) from *Aspergillus oryzae*○Mozaffar SHAKERI, Yasushi SUGANO, Makoto SHODA
(Chem. Res. Lab., Tokyo Inst. Technol.)**Key words** *Aspergillus oryzae*, repeated batch, rDyP**3E11-4 *Rhizopus oryzae* M1683によるフマル酸生産における CSL の添加効果**○青木 香澄¹, 川西 あけみ¹, 山岸 兼治², 岡部 満康¹
(¹静岡大・農・応生化,²三菱化学科学技術研究センター)

【目的】現在 *Rhizopus oryzae* M1683 によるフマル酸生産を検討しているが、その対糖収率が低いことが大きな問題であった。そこで対糖収率をあげるために窒素源の検討を行ったところ、corn steep liquor (CSL) の微量の添加によりフマル酸の生産量が著しく増加した。このCSLによるフマル酸の増収効果について解析した。

【方法・結果】

前培養 CSL での濃度を 3ml/l とし、本培養での CSL 濃度を 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 g/l と変化させフラスコ振盪培養を培養を行った。また前培養 CSL 濃度を 0 ml/l として同様に培養を行ったところ、前培養に CSL を添加しなかったものは菌がすべて凝集してしまった。それに対し前培養に CSL を添加したものは、本培養 CSL 濃度 3.0g/l 以外の濃度では菌の凝集は見られなかった。これにより前培養と本培養にそれぞれ至適な濃度の CSL を添加すると菌糸形に影響が見られ、結果的にフマル酸の収量が増加することが明らかとなった。

Effect of corn steep liquor on the production of fumaric acid by *Rhizopus oryzae* M1683○Kasumi AOKI¹, Akemi KAWANISHI¹, Kenji YAMAGISHI², Mitsuyasu OKABE¹
(¹Dept. Appl. Biol. Chem., Fac. Agric., Shizuoka Univ., ²Mitsubishi Kagaku Science and Technology Reserch Center)**Key words** fumaric acid, *Rhizopus oryzae*, CSL