

2D15-5 好熱性嫌気性細菌 *Moorella* sp. HUC22-1 を用いたガス基質からのエタノール生産
 ○鶴野 正浩¹, 喜多 正幸¹, 柿園 俊英¹, 中島田 豊², 西尾 尚道¹
 (¹広島大院・先端・生命機能, ²東農工大院・工・応化)

【目的】 近年、エタノールは再生可能なエネルギーとして注目され需要が拡大している。当研究室では糖化が困難であるバイオマスの有効利用を考え、バイオマスをガス化した際に生じるH₂、CO₂およびCOを基質としたエタノール生産技術に注目し研究を行っている。当研究室で単離された好熱性嫌気性細菌*Moorella* sp. HUC22-1はガス基質からのエタノール生産が可能であるが主生成物は酢酸であり、エタノール生産性は低い。実用化にはエタノール生産性の向上が必要である。そこで本研究では実用化に向けたエタノール生産性の向上を目指し、基質となるガスの混合比を変え培養条件の検討を行った。【方法及び結果】 55℃嫌気条件下でH₂-CO₂混合ガスを基本的な基質として、合成ガス中に含まれるCOについてもガス混合比を変えHUC22-1の回分培養を行った。いずれのガス組成でもCOを加えることにより菌体量の著しい増加がみられた。エタノール生産についても一部増加が認められ、CO 混合比について更なる検討が必要である。また菌体の増殖、エタノール生産にはpHが重要な影響を与えているが増殖とエタノール生産は連動しておらず相関はみられない。したがって増殖系、エタノール生産系のpH二段制御によるH₂、CO₂、COガス基質のガス流加pHスタート培養系の構築を進めている。

Ethanol production from gaseous substrate by a thermophilic anaerobic bacterium, *Moorella* sp. HUC22-1
 ○Masahiro TSURUNO¹, Masayuki KITA¹, Toshihide KAKIZONO¹, Yutaka NAKASHIMADA², Naomichi NISHIO¹
 (¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ., ²Dept. Appl. Chem., Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agr. Tech.)

Key words ethanol production, H₂-CO₂, CO, *Moorella* sp.

2D16-2 バイオディーゼル廃液からの水素・エタノール発酵
 ○菊崎 智文, 柿園 俊英, 西尾 尚道
 (広島大院・先端・生命機能)

【目的】軽油等の使用により二酸化炭素が発生し、地球温暖化の要因となっている。これら化石燃料の枯渇も問題となっている。また、家庭や工場などで使用される油の総量は年間50万トンを超え、その処理が問題となっている。これらの問題を解決する方法としてクリーンエネルギーであるバイオディーゼル燃料の生産があるが、副産物として高濃度グリセロール含有廃液を同時に排出する。これまで*Enterobacter aerogenes*を用いて廃液中のグリセロールの水素・エタノール発酵処理行ってきたが、20g/l程度のグリセロールしか適応できなかった。そこで今回はより高濃度のグリセロールを利用できる、有力菌の検索及び、培地条件の検討を行った。【方法及び結果】様々な土地からサンプリングを行い、70g/lの高濃度系でグリセロール消費が見られた水素・エタノール生産菌を単離し同定を行った。これらの有力菌を用いて、廃液中のグリセロール消費量及び、水素・エタノールの生産率を上昇させる培地条件の検討を行っている。培地は廃液(基質)と合成培地、リン酸bufferを加え、嫌気条件下、37℃暗所にて回分培養を行った。1日毎にガス量測定、サンプリング、pH測定、ガス組成測定を行い、変化を追っていった。

Hydrogen and ethanol production from biodiesel wstes
 ○Chifumi KIKUZAKI, Toshihide KAKIZONO, Naomichi NISHIO
 (Dept. Mol. Biotech., Grsd. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

Key words hydrogen production, ethanol production, biodiesel waste, glycerol

2D16-1 水素・エタノール生成菌 *Enterobacter aerogenes* HU101 の1,3-プロパンジオール非生成株の作製
 ○小林 修一¹, 中島田 豊², 柿園 俊英¹, 西尾 尚道¹
 (¹広島大院・先端・生命機能, ²東農工大院・工学・応化)

【目的】近年の化石エネルギーの枯渇や環境問題から、新たなエネルギーとしてバイオマス由来の水素・エタノールが注目されている。当研究室で単離した水素生成菌*Enterobacter aerogenes* HU101はグリセロールを良好な基質として主に水素・エタノールを生産する。しかし、副生される1,3-プロパンジオールによって収率は低くなってしまふ。そこで、本研究では、1,3-プロパンジオール生成酵素の一つであるglycerol dehydratase (*gldh*)を破壊することによりグリセロールからの水素・エタノール収率を改善することを目的とした。【方法及び結果】*E.aerogenes*ゲノムから*gldh*遺伝子をクローニングするため、類縁菌の*gldh* 遺伝子情報に基づき保存性の高い部分をプライマーとしてPCRを行い、目的遺伝子断片を取得した。さらにインバースPCRにより*gldh*の大部分を取り出した。本遺伝子断片によるサザンブロットの結果、アイソザイム遺伝子が存在しないことを確認した。そこで、*gldh*中に抗生物質耐性遺伝子を挿入したプラスミドを作製し、エレクトロポレーション法によって菌体内に導入した。現在、導入プラスミドとゲノムとの相同性組み換えによる*gldh*破壊株の作製を試みている。

Construction of a 1,3-propanediol deficient mutant of *Enterobacter aerogenes* HU101
 ○Shuichi KOBAYASHI¹, Yutaka NAKASHIMADA², Toshihide KAKIZONO¹, Naomichi NISHIO¹
 (¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ., ²Dept. Appl. Chem., Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agr. Tech.)

Key words *Enterobacter*, hydrogen, ethanol, glycerol

2D16-3 各種パン廃棄物の水素発酵特性
 ○仁藤 峻輔¹, 中島田 豊², 柿園 俊英¹, 西尾 尚道¹
 (¹広島大院先端・生命機能, ²東農工大院工・応化)

【目的】循環型社会における廃棄物処理法の一つに食品廃棄物の再資源化があり、水素・メタン二段発酵法が有効処理の一つと考えられる。メタン発酵の前段に水素発酵を導入することにより基質の可溶化・酸発酵を行い、メタン発酵槽を分離することによってシステム全体の高速化を計ることが可能である。本研究は各種パン廃棄物の有効利用と減量化を目的とし、水素・メタン二段発酵の前段階である水素発酵について検討した。【方法及び結果】広島市下水道処理場の嫌気消化汚泥、及び食品排水UASBグラニュールを水素発酵微生物源に、種々廃棄菓子パンを基質として用い、水素発酵に適した汚泥の特定、培地成分の添加の有無、基質濃度(50~150g/L)、培養温度(37℃・55℃)による生産性の比較を行った。培養はpH7.0、静地培養による回分培養を行い、水素生成及び有機酸の測定を行った。各汚泥を用い培地成分添加の検討を行ったところ水素発酵に適した汚泥を特定し培地成分無添加でも十分水素発酵することが分かった。これを元に最も生産能の高い汚泥を用いた培養温度による水素生成の違いは各基質濃度とも37℃では55℃に比べ2倍以上の水素生成が確認された。また、酢酸と酪酸を主に生成していたことから、水素・メタン二段発酵の後段であるメタン発酵も十分行うことができることが示唆された。

Hydrogen production by various bread waste
 ○Shunsuke NITO¹, Yutaka NAKASHIMADA², Toshihide KAKIZONO¹, Naomichi NISHIO¹
 (¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci., Hiroshima Univ., ²TUAT)

Key words hydrogen production, bread, sludge