

2J14-1 同時糖化発酵によるセルロース性資源からのバイオエタノール生成

○柳澤 満則, 張 鵬, 中崎 清彦
(静岡大・工・物質工)

【目的】近年、石油代替燃料としてバイオエタノールが注目されているが、食糧と競合することのないセルロース性資源からエタノールを効率よく生産する方法の開発が大きな期待を集めている。本研究では、同時糖化発酵によるセルロース性資源からのバイオエタノール生成について検討した。【方法】バイオエタノール生成に使用する酵母をスクリーニングするために、3 種類の酵母についてエタノール収率を検討した。グルコース濃度を 20g/L とした YM 液体培地に酵母を接種して培養し、経時的に培養液の一部をサンプリングしてグルコース濃度、エタノール濃度を測定し、それぞれの酵母についてエタノール収率を求めた。また、スクリーニングした酵母を用いて同時糖化発酵をおこない、セルラーゼやセルロース性資源について検討した。【結果】3 種類の酵母についてエタノール収率を求めたところ、いずれの酵母も培養 24 時間後のエタノール収率は 50% 程度となり、グルコースも残存しなかった。しかしながら、3 種類の酵母のうち 2 種類については 24 時間以降も培養を継続するとエタノール濃度が顕著に減少したが、他の 1 種類についてはエタノールの減少はみられず、バイオエタノール生成にはこの酵母が適していることがわかった。引き続き、セルロース性資源からセルラーゼと SSF をおこない、バイオエタノールを生成することができた。

Production of bioethanol by simultaneous saccharification and fermentation of cellulosic materials

○Mitsunori YANAGISAWA, Ho CHO, Kiyohiko NAKASAKI
(Dept. Mat. Sci. Chem. Eng., Shizuoka Univ.)

Key words bioethanol, cellulosic materials, SSF

2J14-3 海洋由来乳酸菌 *Halolactibacillus miurensis* によるキシランからの直接乳酸生産

○柴田 圭右¹, Amira Hamdan¹, 石川 森夫², 山里 一英²,
善藤 威史¹, 園元 謙二³
(¹九大院・農, ²東農大・醸造, ³九大・バイオアーク)

【目的】現在、環境問題の深刻化により、乳酸菌による植物バイオマスからの乳酸生産が盛んに行われている。しかしながら、乳酸菌による非食糧バイオマスであるキシランからの直接乳酸発酵の報告例はない。石川らは、海洋由来乳酸菌 *H. miurensis* を単離・同定し¹⁾、キシランを唯一の炭素源として生育することを明らかにした。本研究では、*H. miurensis* によるキシランからの直接乳酸生産について検討した。

【方法・結果】使用菌株には、*H. miurensis* M23-1、M23-2、M23-3、M23-4 及び M23-5 を用い、様々な植物及び海草由来のキシラン (beta-1,4 xylan, beta-1,3 xylan) を炭素源として初発 pH 8.5、30°C で培養を行った。その結果、M23-4 株が様々な資源由来のキシランを資化することができ、最も高い乳酸生産量と収率を示した。以後、M23-4 株を使用した。次に、様々な炭素源 (グルコース、ソルビトール、キシラン等) を用いて培養を行い、それぞれの培養液上清を用いてキシランからのキシロース生成について検討した結果、ソルビトールのとき最も高かった。以上より、キシラン分解酵素はソルビトールにより発現誘導されることが示唆された。

1) Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 55, 2427-2439, 2005

Direct production of lactic acid from xylan by marine lactic acid bacteria, *Halolactibacillus miurensis*

○Keisuke SHIBATA¹, Amira Mohsen El-Sayed Hamdan¹,
Morio ISHIKAWA², Kazuhide YAMASATO², Takeshi ZENDO¹,
Kenji SONOMOTO³
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Dept. Brew. Ferment., Tokyo Univ. Agric.,
³Bio-Arch., Kyushu Univ.)

Key words Direct lactic acid fermentation, marine lactic acid bacteria, beta-1,4 xylan, beta-1,3 xylan

2J14-2 ホタテガイ由来セルラーゼを用いた同時糖化発酵による L-乳酸生成

○中崎 清彦¹, 柳澤 満則¹, 小林 弘二¹, 尾島 孝男²
(¹静岡大・工・物質工, ²北大院・水産科・海洋生物工学)

【目的】当研究室では、従来から同時糖化発酵 (SSF) により、セルロース性資源から生分解性プラスチックの原料である L-乳酸の生成に取り組んできたが、セルラーゼが高価であることが乳酸生成のコスト高の原因となっていた。本研究では、新規セルラーゼとして廃棄物から得ることができると安価なホタテガイ由来セルラーゼ (ホタテセルラーゼ) を用いてセルロース性資源からの L-乳酸生成を検討した。【方法】まず、ホタテセルラーゼの活性の最適 pH、および最適温度を測定した。セルラーゼ活性は、緩衝液中におけるセルロースパウダーからのグルコース生成速度として定量した。次に、ホタテセルラーゼと乳酸菌を用いて SSF をおこない、セルロース性資源からの L-乳酸の生成を試みた。セルロース性資源には、セルロースパウダー、製紙汚泥、アナアオサを用いた。【結果】ホタテセルラーゼは、pH 5.5 付近、35°C で最大活性を示すことがわかり、従来から用いられてきたセルラーゼよりも乳酸菌との SSF に適していると考えられた。また、ホタテセルラーゼを用いて SSF をおこなったところ、いずれのセルロース性資源からも L-乳酸を生成することができた。

Production of L-lactic acid by applying simultaneous saccharification and fermentation using the cellulase derived from scallop

○Kiyohiko NAKASAKI¹, Mitsunori YANAGISAWA¹,
Koji KOBAYASHI¹, Takao OJIMA²
(¹Dept. Mat. Sci. Chem. Eng., Shizuoka Univ., ²Lab. Mari. Biotech. Microbiol., Grad. Fish. Sci., Hokkaido Univ.)

Key words cellulase, SSF, L-lactic acid

2J14-4 組換えコリネ型細菌によるソフトバイオマス由来混合糖からの有機酸生産

○佐々木 美穂, 城島 透, 沖野 祥平, 乾 将行, 湯川 英明
(RITE)

【目的】我々は現在、稲ワラやコーンストバーなどのソフトバイオマス由来する糖類を原料とするバイオプロセスの構築を検討している。ソフトバイオマスは、C5 糖である D-xylose や L-arabinose を主成分とするヘミセルロースを乾燥重量で 20~30% 含むが、C5 糖を利用可能な微生物が限られていること、また C5 糖利用可能株においても、カタボライトリプレッションにより C5 糖を glucose と同時に利用できないことが、バイオプロセスの効率化の妨げとなっている。本研究では、*Corynebacterium glutamicum* への糖利用能の拡大を目的に、D-xylose と L-arabinose 代謝経路を構築し、組換えコリネ型細菌による増殖非依存型 RITE バイオプロセスによる C5 糖を含む混合糖の同時利用による物質生産を検討した。

【方法及び結果】D-xylose 及び L-arabinose 代謝に関する遺伝子をクローニングし、*C. glutamicum* R 株における発現系を構築した。作製した組換え株は D-xylose または L-arabinose を単一炭素源として増殖が可能であり、RITE バイオプロセスではこれらの混合糖を基質として効率よく有機酸を生産した。また、RITE バイオプロセス還元条件下では混合糖の同時利用が可能であることを明らかにした。本研究の一部は NEDO の委託研究の一環として行われたものである。

Production of organic acids from sugar mixture by recombinant *Corynebacterium glutamicum*

○Miho SASAKI, Toru JYOJIMA, Shohei OKINO, Masayuki INUI,
Hideaki YUKAWA
(RITE)

Key words *Corynebacterium glutamicum*, pentose, cofermentation, organic acid