

3P-1117 沖縄微生物ライブラリーより得られた酵母の抗酸化活性

○池端 真美¹, 豊里 哲也¹, 高良 亮¹, 渡嘉敷 唯章¹,
波平 知之², 新里 尚也², 松井 徹²
(¹ トロピカルテクノセンター,² 琉大・熱生研)

【目的】沖縄県は亜熱帯地域に属し、島嶼環境により独特な進化をとげた生態系をもつ、亜熱帯生物資源に恵まれた地域である。我々は、このような地域から採取した試料を分離源とし、様々な微生物の分離培養を行って産業への利用を目指した沖縄微生物ライブラリーの構築を行っている。これまでに分離した微生物の培養特性やアルコール生産性、フェノール酸分解性およびGABA生産性などの機能性解析を行ってきたが、今回は分離した酵母様微生物の培養上清の抗酸化活性について報告する。

【実験方法及び結果】沖縄各地より採取した試料（土壌・植物体・河川水など）を分離源として、クロラムフェニコール添加YPD寒天培地にて酵母様微生物の分離を行った。得られた微生物約2,000株をYPD液体培地で培養し、培養上清の抗酸化活性をDPPHラジカルスカベンジャー法で測定したところ、約160株に強い抗酸化活性が確認された。これらの菌株は海岸沿いの土壌や砂、および河川水から多く分離されたが、植物由来試料からも分離された。分離菌株の遺伝子解析による同定も行っており、併せて報告する。

The antioxidation of yeasts culture medium from Okinawa microbial library

○Mami IKEHATA¹, Toyosato TETSUYA¹, Takara RYO¹,
Tadaaki TOKASHIKI¹, Tomoyuki NAMIHIRA², Naoya SHINZATO²,
Toru MATSUI²
(¹Tropical Technology Center LTD,²TBRC, Univ. Ryukyuu)

Key words Yeasts,antioxidation,Okinawa microbial library

3P-1119 発酵阻害物存在下におけるキシロースからの効率的なエタノール生産

○三田 智也¹, 山田 亮祐¹, 蓮沼 誠久², 近藤 昭彦¹
(¹ 神戸大院・工,² 神戸大・自・研究環)

【背景・目的】近年、化石燃料を代替するエネルギー源の創出が課題となり、再生可能なバイオマス資源を原料としたバイオエタノール生産に注目が集まっている。そこで、木質系バイオマス原料の主要成分の一つであるキシロースを利用するために、酵母*Saccharomyces cerevisiae*において外来のキシロース代謝系遺伝子を発現させ、キシロースからエタノールを生産する形質転換酵母が作出されてきた。しかし、バイオマスの前処理工程によって生じる過分解物質である酢酸やギ酸などの弱酸類はキシロースからのエタノール生産を強く阻害する。そこで本研究では、酢酸やギ酸存在下でもキシロースから効率的にエタノールを生産する酵母の創製を試みた。

【実験方法・結果】キシロース資化性酵母*S. cerevisiae* MN8140X株を用いて酢酸存在下、非存在下でキシロースからの発酵試験を行い、酢酸が酵母の代謝、発酵能に及ぼす影響を検討した。具体的には、発酵過程の酵母菌体から細胞内代謝産物を抽出し、抽出液をCE-TOFMS、GC-TOFMSに供することで、代謝産物量の網羅的解析を行った。その結果、酢酸存在下で特異的に蓄積する中間代謝産物を同定し、遺伝子工学的にこの蓄積を解消させることにより酢酸存在下でも効率的にエタノールを生産する酵母の創製に成功した。さらに、この酵母にギ酸耐性を強化するためにギ酸デヒドロゲナーゼを過剰発現させることで、酢酸、ギ酸存在下においてキシロースから効率的にエタノールを生産する新規酵母の創製に成功した。

Efficient ethanol production from xylose in the presence of fermentation inhibitors

○Tomoya SANDA¹, Ryosuke YAMADA¹, Tomohisa HASUNUMA²,
Akihiko KONDO¹
(¹Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ.,²Org. Adv. Sci. Tech., Kobe Univ.)

Key words ethanol fermentation,xylose,Fermentation inhibitors,metabolic engineering

3P-1118 プーアル茶発酵過程における有機物変化と微生物の役割

○安部 道玄, 中崎 清彦
(東工大院・理工・国際開発)

【目的】プーアル茶は茶葉に含まれる酵素の作用を利用して製造される紅茶や烏龍茶とは異なり、微生物の作用によって発酵される茶である。本研究では、プーアル茶発酵過程における茶葉に含まれる有機物の変化と発酵過程に出現する特徴的な微生物の特性を解析することでプーアル茶の製造に関わる微生物の役割を明らかにすることを目的とした。

【実験方法および結果】発酵過程における茶葉堆積層の温度変化を測定したところ、微生物の自己発熱によりおよそ1週間で温度は約60℃まで上昇し、約1週間毎の堆積層の攪拌にともなって30℃付近まで低下することを繰り返して、発酵全体を通じて約30℃から60℃の範囲で推移した。また、発酵過程で適宜サンプルを採取し、pH、含水率を測定したところ、pHは4から5の酸性条件に、含水率は30%から40%程度に維持されていた。HPLCを用いて、茶の渋み成分であるカテキン類の含有量を測定したところ、発酵過程を通して濃度が減少し続けた。また香気成分についてGC-MSを用いて定量した結果、発酵過程でLinaloolの濃度は減少し、DimethoxybenzeneおよびTrimethoxybenzeneの濃度は増加したことが確かめられた。真菌については26S rRNA遺伝子、細菌については16S rRNA遺伝子を対象としてPCR-DGGE法により菌叢解析をおこなったところ、真菌・細菌ともに発酵過程に特徴的なバンドが確認された。引き続き発酵過程において特徴的に見られた2種類の真菌を単離し、滅菌した緑茶に接種して純粋培養した結果、カテキン分解活性を有することが明らかとなり、これらの2種類の単離菌はプーアル茶発酵過程でカテキン類の分解を担っていることが示唆された。

Change in the organic matter composition and role of microorganisms during the fermentation process for Puer tea

○Michiharu ABE, Kiyohiko NAKASAKI
(Dept. Int. Develop. Eng., Tokyo Inst. Technol.)

Key words Puer tea,DGGE,fermentation

3P-1120 テンサイシックジュースおよびチーズホエーの無滅菌混合原料から繰り返し回分発酵によるエタノール生産

○仲村 憲治¹, 四宮 紀之², 大庭 潔², 折笠 善丈³, 小田 有二³
(¹ 岩手連大・生物資源,² 道立十勝食加技,³ 帯畜大・食品科学)

【目的】フレックス酵母*Kluyveromyces marxianus* KD-15は、カタボライトリプレッション非感受性の酵母であり、テンサイシックジュースとチーズホエーから成る培地中のスクロースとラクトースを完全に消費し、効率的にエタノールを生産する*。本研究では実用化を視野に入れて、無滅菌混合原料から繰り返し回分発酵によるエタノール生産について検討した。

【方法および結果】総糖濃度が15% (w/v) になるようにシックジュースをホエーで希釈した培地50mlにおいて30~37℃でKD-15を培養すると、培養温度の上昇に伴い発酵速度も上昇したが、生菌率は培養温度が高いほど低下しやすかった。発酵速度と生菌率の観点から良好な結果が得られたのは33℃であった。次に、2Lファーメンター中の無滅菌培地1.5LにKD-15の菌体3mg/mlを接種して、33℃、通気量15ml/min、回転数300rpmで発酵を行った。繰り返し回分発酵試験は、この発酵終了後の培地から遠心分離により菌体を回収し、次の発酵に用いて行った。その結果、発酵完了までに要する時間は、1~3回目で36時間、4回目で48時間となり、5回目においては96時間が経過しても発酵は完了せず、5回目の最大生成エタノール量は1~4回目の88%程度にとどまっていた。この結果から、菌体は4回まで再生利用可能であることがわかった。*Oda *et al.*(2010) *Biomass Bioenergy* 34, 1263-1266.

Repeated-batch fermentation of non-sterilized mixture of beet juice and crude whey

○Kenji NAKAMURA¹, Noriyuki SHINOMIYA², Kiyoshi OHBA²,
Yoshitake ORIKASA³, Yuji ODA³
(¹Dep. Biore. Sci., United Graduate School Agr. Sci., Iwate Univ.,²Hokkaido Tokachi Area Regional Food Proc. Technol. Center,³Dep. Food Sci., Obihiro Univ. Agric. Vet. Med.)

Key words *Kluyveromyces marxianus*, crude whey, beet juice, ethanol