# 3P-149 Roseateles depolymerans 由来の2種の生分解性プラスチック分解遺伝子のクローニング

○中島 敏明,筒井 敦司,飯島 俊,鈴木 敏弘 (筑波大院・生命環境)nakajima.toshiaki.ga@u.tsukuba.ac.jp

生分解性プラスチックは、環境中で微生物等によって分解される環境低負荷な素材であり、今後の市場拡大が予想される。当研究室では、生分解性プラスチックのリサイクル法として、微生物由来分解酵素を用いたバイオケミカルリサイクルを提案している。この方法では、酵素の基質特異性を利用することにより、プラスチックの混合廃棄物から選択的にモノマーを回収し、新品同様の製品を再生産することができる。その為には、基質特異性が高く、分解力の強い酵素が必要である。

これまでに、本研究室において新たに取得された脂肪族 - 芳香族系の生分解性プラスチック分解菌 Roseateles depolymerans TB-87 株が、分子量の異なる2種の分解酵素(Est-H、Est-L)を生産することを報告した。本発表では、これらの遺伝子を特定し、その性質について検討した。

精製した酵素の内部アミノ酸配列解析の結果と、TB-87株のドラフトゲノム解析結果より、Est-H、L遺伝子と考えられるORF それぞれ1083bp、870bpを特定した。Est-H、L遺伝子は互いに80%の相同性を持ち、それらはシャペロン様遺伝子を挟んで隣接していた。Est-H、Lのアミノ酸相同性検索の結果、クチナーゼやエステラーゼなどの加水分解酵素と一定の相同性が見られた。

### Cloning of two plastic-degrading enzymes from Roseateles depolymerans TR-87

○Toshiaki Nakajima-Kambe, Atsushi Tsutsui, Shun Iijima, Toshihiro Suzuki (Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)

Key words Roseateles depolymerans, biodegradable plastic, biodegradation

## 3P-151 放射性物質汚染バイオマスの減容化を目指した UASB メタン発酵システムの開発

○木村 光平¹, 大塚 祐一郎², 中村 雅哉², 新谷 政己¹, 金原 和秀¹(¹静大・創科技院,²森林総合研究所) f0330219@ipc.shizuoka.ac.jp

【背景】福島原発事故後、放射性物質汚染バイオマスが発生した。こうしたバイオマスの量は膨大であり減容化が必要である。本研究は、その減容化過程の一環として、湿式ミリングによるバイオマスの効率的糖化と産物の糖化液のUASBメタン発酵に焦点を絞った。湿式ミリングでバイオマスをどれだけ糖化できるか、また糖化液のUASBメタン発酵において、どの程度のCODまで安定した運転が可能か検討した。

【方法】(1) 湿式ミリング: スギと稲わらを用いた。木粉 50 g、水 445 mL、リン酸緩衝液 (pH5.5) 5 mL、酵素 10 mL を混ぜ、ビーズミルを 2 時間行った。その後得られたスラリーを固液分離し、糖化液と固形残渣を得た。残渣は、追加糖化を、4 次糖化まで行った。(2)UASB メタン発酵: スギ、稲わら糖化液を、初期 COD100 mg/L に希釈し、段階的に COD を上昇させた。ガス生成量、組成を測定した。

【結果と考察】(1)湿式ミリング:スギ1次糖化液のCODは47000 mg/Lで、糖化率22%、稲わら1次糖化液は57000 mg/Lで、糖化率30%を得た。スギに関しては4次糖化後、全体で67%の糖化率を得た。(2)UASBメタン発酵:スギ、稲わら糖化液のCOD上昇に伴い、ガス生成量は増加し、メタン含育率60%を維持していることから、バイオマス糖化液のメタン発酵は良好に運転可能だと示された。スギは2000 mg/L、稲わらは1200 mg/LまでCOD上昇が可能であった。湿式ミリングと液分のメタン発酵によりバイオマス減容化・エネルギー回収が可能だと考えられた。

### Development of a UASB methane fermentation system for volume reduction of biomass which contaminated by radioactive materials

○Kohei Kimura¹, Yuichirou Otsuka², Masaya Nakamura², Masaki Shintani¹, Kazuhide Kimbara¹

(¹Grad. Sch. Sci. Technol. Shizuoka Univ., ²Forestry and Forest Products Research Institute)

**Key words** radioactive material, UASB methane fermentation

#### 3P-150 焼酎蒸留廃液を用いた微生物燃料電池の特性

○長島 諒¹, 下條 光浩², 川上 満泰²(¹福岡工大院・工・生命環境, ²福岡工大・工・生命環境)renkun0706@gmail.com

#### 【背景と目的】

九州では国内の本格焼酎の約8割が生産されており、副産物である蒸留残差の量も増大している。この蒸留廃液は、BODが高く処理法や有効利用が検討されている。そこで、廃棄物の消費と同時に、次世代型バイオエネルギー回収プロセスとして微生物燃料電池が期待されつつある。本研究では、活性汚泥から分離した焼酎蒸留廃液資化菌を用いて蒸留廃液を燃料とする微生物燃料電池の特性について研究を行った。

#### 【実験方法】

微生物燃料電池は2槽式とし、イオン交換膜としてNafionでコーティングした透析膜を、電極としては炭素フェルトを使用した。アノード室は、リン酸緩衝液で希釈した1% 焼酎蒸留廃液に、Candida krusei SH-3 株を加え、一定の流速で循環培養することで吸着固定を試みた。この培地の交換は2週間ごとに行った。カソード室には、0.1Mのフェリシアン化カリウム溶液を一定の流速で流した。DMMにより、外部抵抗を変えつつ電流、電圧を測定し、分極曲線を測定した。また、廃液中の有機物の消費を確認するためにCOD測定した。【結果と考察】

起電力測定では、好気条件の方が嫌気条件に比べて起電力、最大電力密度共に高い値を示した。また、いずれの条件においても COD が減少したことから菌による資化が確認できたが、嫌気条件の方が COD の減少が早い結果となった。これらの結果より、微生物燃料電池としては、好気条件での稼働が望ましいが、有機物処理を考慮した際は、嫌気条件での稼働が望ましいことが示唆された。

## Characteristics of microbial fuel cell generating electricity from shochu distillery wastewater

ORyo Nagashima¹, Mitsuhiro Shimojo², Mitsuyasu Kawakami² (¹Div. Life, Environ. Materials Sci., Grad. Sch. Eng., Fukuoka Inst. Technol., ²Dept. Life, Environ. Materials Sci., Faculty. Eng., Fukuoka Inst. Technol.)

Key words microbial fuel cell, COD, yeast

#### 3P-152 微生物燃料電池型バイオセンサによる焼酎蒸留廃液の BOD 測定

○黒木 悠太 <sup>1</sup>, 下條 光浩 <sup>2</sup>, 川上 満泰 <sup>2</sup> (「福岡工大院・工・生命環境,<sup>2</sup>福岡工大・工・生命環境) yuta.kuroki.0701@gmail.com

【緒言】焼酎蒸留廃液は環境負荷有機物の一つであり、適切な処理が求められている。その処理に際して必要となるのが、有機物濃度をモニタリングする技術である。そこで本研究では焼酎蒸留廃液資化菌として分離した Candida krusei SH-3 株を用いて、微生物燃料電池型バイオセンサを作製し、焼酎蒸留廃液の BOD 測定用センサとしての特性を検討した。

【実験】 微生物燃料電池はアクリル板、PTFE 樹脂板、シリコンシートを用いて作製した。アノード及びカソード電極として炭素フェルトを使用した。電極室の容量は 3.2~mL でアノードとカソードを隔てる膜として Nafion を使用した。アノード室に電極をセットし、YM 培地を用いて SH-3 株を循環培養することにより、炭素フェルトに固定化した。カソード室を 10~mM フェリシアン化カリウム溶液、アノード室を 0.1~M リン酸緩衝液 (pH~7.0) で満たし、フローインジェクション装置に組み込み、外部抵抗を接続して流れる電流を DMMで測定した。電流が安定した後、BOD 標準溶液であるグルコース - グルタミン酸混合溶液、OECD 人工下水、または焼酎蒸留廃液をアノード室に 1~mLを注入し、応答測定を行った。

【結果及び考察】基質注入後、電流の増加がみられた。測定で得られた応答電流値を用い基質濃度に対する検量線を作成し、焼酎蒸留廃液のBOD値を算出した。本センサの焼酎蒸留廃液のBOD値と5日間法(BOD<sub>5</sub>)による測定値を比較したところ、ほとんど差がなくBOD測定用センサとして機能することが確認できた。

### BOD measurement of Shochu distillery wastewater using microbial fuel cell (MFC)-type biosensor

OYuta Kuroki<sup>1</sup>, Mitsuhiro Shimojo<sup>2</sup>, Mitsuyasu Kawakami<sup>2</sup>

(¹Div. Life, Environ. Materials Sci., Grad. Sch. Eng., Fukuoka Inst. Technol., ²Dept. Life, Environ. Materials Sci., Faculty. Eng., Fukuoka Inst. Technol.)

**Key words** BOD, MFC, biosensor, shochu distillery wastewater