

2Hp07 イカ油を原料としたマンノシルエリスリトールリピッドの生産および構造・機能の解析

○河村 大輔¹, 森田 友岳², 福岡 徳馬², 井村 知弘², 酒井 秀樹¹, 阿部 正彦¹, 北本 大²
 (¹東理大院・理工,²産総研・環境化学)
 dai-kitamoto@aist.go.jp

【目的】マンノシルエリスリトールリピッド (MEL) は、微生物が生産する天然の界面活性剤 (バイオサーファクタント) であり、優れた保湿性能を発揮する化粧品素材として最近、製品化されている。一方、機能性バイオ素材としての実用を広げるために、MELの構造・機能の更なる拡張が課題となっている。本研究では、多価不飽和脂肪酸を含む水産系バイオマス (イカ油) を原料として、機能性の脂肪酸を含有するMELの生産を目指した。

【方法】イカ油を炭素源として、既知のMEL生産菌を培養した。MELは、TLCおよびHPLCで検出・定量した。MELの構造は、GC-MS、二次元NMR、MALDI-TOF/MSで解析した。抗酸化活性は、DPPHラジカル消去能から評価した。

【結果および考察】11株のMEL生産菌が、イカ油からMELを生産し、*Pseudozyma antarctica*が最大の生産性を示した (17.5g/L)。GC-MSの結果、*P. churashimaensis*が生産したMELは、既知のMELには見られない脂肪酸ピークを多数示し、全脂肪酸ピークの10%以上が、C16:4 (m/z = 262) と推定された。さらに詳細な構造解析の結果、このMELは、主な脂肪酸の鎖長がC4およびC16のMEL-Aであることが分かった。このMEL-Aの抗酸化活性は、大豆由来のMEL-Aに比べて2倍以上高かった。以上の結果から、イカ油由来のMELは多価不飽和脂肪酸を多く含み、保湿性能に加えて抗酸化効果も期待できることが示唆された。

Production and characterization of glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, from cuttlefish oil

○Daisuke Kawamura¹, Tomotake Morita², Tokuma Fukuoka², Tomohiro Imura², Hideki Sakai¹, Masahiko Abe¹, Dai Kitamoto²
 (¹Tokyo University of Science,²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology AIST)

Key words biosurfactant, mannosylerythritol lipid, *Pseudozyma*, polyunsaturated fatty acid

2Hp09 パラロースアニリンを利用した高温アルコール発酵微生物の探索

○金城 裕行, 立花 太郎, 東 雅之
 (阪市大院・工・化生系)
 azuma@bioa.eng.osaka-cu.ac.jp

化石燃料の代替エネルギーとして、微生物のアルコール発酵により得られるバイオエタノールが注目されている。しかし、微生物を用いたエタノールの工業生産にはまだ問題点が残されている。問題の一つに発酵熱の影響がある。*Saccharomyces cerevisiae*を利用したアルコール発酵は、発酵熱により温度が上昇するため、発酵槽を冷却する必要があり、それによって生産効率が低下している。このような問題の解決には、高温 (40℃以上) で効率的にアルコール発酵を行うことができる微生物が求められている。しかし、簡便なエタノール発酵微生物の検出系がない。本研究では、簡便な高温エタノール発酵微生物の検出系の確立を目指し、エタノール発酵の過程で生じるアルデヒドの可視化を試みた。グルコース代謝の流れは、解糖系を介してピルビン酸まで分解し、ピルビン酸デカルボキシラーゼによりアセトアルデヒドとなり、最終的にエタノールが生じる。そこで、アルデヒドが検出できればエタノールを生成していると仮定し、アルデヒド検出が可能な寒天培地を検討した。その結果、パラロースアニリンを含む寒天培地を用いると、アルデヒドを生産しているコロニーを可視化することが可能であった。この検出系を用いて、実際に土壌などから発酵微生物の探索を進めた。結果として有望株が1株得られた。5%のグルコースを含むYPD培地を用い42℃で発酵させた場合、添加グルコースに対するエタノールの収率は90%を超えた。現在、炭素源の資化性など、得られた菌株の特性を検討している。

Screening for fermentative microorganism at high temperature using medium containing parosaniline

○Hiroyuki Kaneshiro, Taro Tachibana, Masayuki Azuma
 (Dept. Appl. Chem. & Bioeng., Osaka City Univ.)

Key words yeast, ethanol, fermentation, parosaniline

2Hp08 *Enterobacter aerogenes* HUC201 株によるグリセロール含有バイオディーゼル廃液からのエタノール発酵法の開発

○下吹越 雅人, 柿菌 俊英, 田島 誉久, 加藤 純一, 西尾 尚道, 中島 豊
 (広島大院・先端・生命機能)
 nyutaka@hiroshima-u.ac.jp

【目的】バイオディーゼル燃料 (BDF) は廃食用油といった原料をメタノールとメチルエステル化することによってできる軽油代替エネルギーである。わが国で発生する廃食用油の総量は年間50万トンと言われており、BDFはその有効な処理法であると言える。しかし、メチルエステル化する際に副産物として高濃度グリセロール含有廃液 (BDF廃液) が同時に生産される。BDF廃液は不純物を多く含み、再利用が困難なため、その有効な処理法が模索されている。そこで本研究ではBDF廃液からの高収率エタノール生産株 *Enterobacter aerogenes* HUC201を用いたBDF廃液からの最適エタノール生産法を検討した。

【方法及び結果】まず、培養pHの影響を調べるためバイオリアクターを構築し、BDF廃液中のグリセロールを単一の炭素源として、グリセロール濃度25g/Lで回分培養を行った。その結果、pH6.3にて最大エタノール生産性0.62mol-EtOH/mol-gly/hが得られた。次に、BDF廃液濃度の影響を検討した。培養pH6.3で基質濃度を変化させ回分培養を行った結果、低基質濃度で高いエタノール収率、そして高い比増殖速度が得られた。以上の結果から、培養pH、BDF濃度はエタノール生産に大きな影響を及ぼすことが示唆された。そこで、現在、基質を低濃度に保つことが出来る指数流加培養法によるエタノールの高速・高収率生産条件を検討している。

Efficient production of ethanol from glycerol-containing biodiesel wastes using *Enterobacter aerogenes* HUC201

○Masato SHIMOHIGOSHI, Toshihide KAKIZONO, Takahisa TAJIMA, Junichi KATO, Naomichi NISHIO, Yutaka NAKASHIMADA
 (Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

Key words ethanol production, glycerol, *Enterobacter*

2Hp10 H₂-CO₂からの酢酸・エタノール生産菌の探索

○村上 直之¹, 田島 誉久¹, 加藤 純一¹, 中島 豊¹, 二階堂 輝之², 河田 直紀², 山本 浩明², 松本 明子²
 (¹広島大院・先端・生命機能,²ダイセル化学工業)
 nyutaka@hiroshima-u.ac.jp

【目的】今日、化石資源の枯渇、及び二酸化炭素の排出による地球温暖化が懸念されている。酢酸は化学工業において数多く利用されているが、主に化石資源からの製造に依存しており、またエタノールは燃料として近年注目されているが、食糧との競合が問題となっている。このことから食料とも競合しない再生可能資源を使った生産方法への転換が求められている。そこで着目したのが、廃木材などのバイオマスをガス化して得られる合成ガスから、微生物を使って生産する方法である。合成ガスとは、H₂とCO、CO₂が主成分の混合ガスであり、バイオマスから発生させられるため枯渇の心配がなく、また地球温暖化の抑制にも役立つと考えられる。本研究では土壌サンプル中の微生物をH₂とCO₂を基質として培養し、酢酸・エタノール生産菌を探索した。

【方法及び結果】全国各地から土壌サンプルを50種類採取し、H₂-CO₂を基質として複合培地で回分培養を行い、酢酸・エタノール生成をHPLCにより確認した。その結果、3サンプルにおいて酢酸およびエタノールを生成することが確認できた。そこからさらにH₂-CO₂混合ガスを基質として培養し、より安定的に高濃度生産する菌叢を決定した。得られた菌叢を顕微鏡観察したところ、少なくとも2種類の菌が確認できたことから、ロールチューブ法により単一菌を取得した。現在、単離菌の同定とともに、合成ガスからのエタノール生産の最適培養条件について検討を行っている。

Screening of acetic acid and ethanol-producing microorganisms from hydrogen and carbon dioxide

○Naoyuki Murakami¹, Takahisa Tajima¹, Junichi Kato¹, Yutaka Nakashimada¹, Teruyuki Nikaido², Naoki Kawata², Hiroaki Yamamoto², Akiko Matsumoto²
 (¹Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.,²Daicel Chemical Industries, Ltd.)

Key words acetic acid, ethanol, H₂-CO₂