

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580116

研究課題名(和文)「メタ発酵法」体系化のための高温複合微生物発酵系の解析と制御

研究課題名(英文)Control of mixed culture fermentation system at high temperature to establish a novel concept "meta-Fermentation"

研究代表者

酒井 謙二 (Sakai, Kenji)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：50205704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：例えば殺菌をせずに、安定な複合微生物系により廃棄物バイオマスを発酵変換して高機能な有価物を得ることができれば、設備、殺菌エネルギーの削減、原料の分解回避、発生源オンサイトでの処理など多くのメリットがある。当研究ではこのような複合微生物系を用いた化成品レベルの発酵変換法を「メタ発酵法」と命名し、その特徴や安定に制御する方法を検討し体系化することを目的とし、生ゴミからの高光学活性な乳酸生産について検討し、温度と通気が重要な制御因子となることをその微生物相解析から明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We newly reported unique concept of "meta-fermentation", a fermentation that enables production of value-added products from non-sterilized waste biomass by using a mixed culture system. The meta-fermentation has several merits compare ring to the general fermentation using a pure culture: no need of sterilization facility, lower energy cost, no degradation of heat labile compounds, on-site treatment of waste biomass, etc. We investigated specific features of "meta-fermentation", L-lactic acid production from food waste using certain compost as a mixed seed. It was found that factors affect on yield, productivity, selectivity, and optical purity were temperature, neutralization, and aeration. Under the best condition, Bacillus coagulans proliferate as a major species in the meta-fermentation.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：バイオマス メタ発酵 複合微生物系

## 1. 研究開始当初の背景

生活活動の場における化石資源の消費過多により、大気中温暖化ガス濃度の上昇に伴う異常気象の発生や廃棄物処理などの社会問題が顕在化しており、これらを是正し、持続型生産体系を有する循環型社会の構築を目指すことは重要である。我々は、その循環の輪を形成するための経済的にも資する技術の構築を目指している。

## 2. 研究の目的

例えば殺菌をせずに、安定な複合微生物系により廃棄物バイオマスを発酵変換して高機能な有価物を得ることができれば、設備、殺菌エネルギーの削減、原料の分解回避、発生源オンサイトでの処理など多くのメリットがあり、低品質で分散型で排出される廃棄物バイオマスの利用にも駆動力を与えることができる。当研究ではこのような複合微生物系を用いた化成品レベルの発酵変換法を「メタ発酵法」と命名し、その特徴や安定に制御する方法を検討し体系化することを目的とした。

## 3. 研究の方法

調査から得られたデータを基にモデル生ゴミを設定し、これを用いて半固形培地を調整した。コンポストなどから得た複合種菌を用いて、種菌、殺菌の有無、温度、通気等の各種条件を変化させて発酵を行った。循環型バイオプラスチックの原料として有用な高光学活性 L-乳酸の生産について検討した。細菌相変化は発酵系より抽出した全 DNA から細菌の 16S rRNA 遺伝子部分配列を増幅し、温度変成剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) や次世代シーケンサを用いたアンプリコン解析 (ピロシーケンス解析) により行った。

## 4. 研究成果

その結果、収率、選択性、光学純度などは発酵条件に大きく影響を受け、特に温度、pH のシングコントロールと通気が重要な制御因子となることを明らかにした。成績が最も良好だった pH 振動制御下 50 では、速やかに安定な細菌群集構造へとシフトした。この際の主要細菌は *Bacillus coagulans* であり、補助的に関与する細菌も示唆された。これらの概念は廃棄物の微生物変換の分野で多くの応

用可能性を与えるであろう。

さらに我々は、このような未分離微生物を含む系からの体系的な主要菌分離の手法としてフィードバック分離という考え方を提唱し、主要菌でありながら未分離な細菌種の効率的な分離が可能であることを例示した。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1) Pramod Poudel, Hirokuni Miyamoto, Hisashi Miyamoto, Yuki Okugawa, Yukihiro Tashiro, and Kenji Sakai (In press). "Thermotolerant *Bacillus kokeshiiformis* sp. nov. isolated from marine animal resources compost" *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (2014).

2) Saowanit Tongpim, Ratchanu Meoydong, Poudel Pramod, Satoshi Yoshino, Yuki Okugawa, Yukihiro Tashiro, Masayuki Taniguchi and Kenji Sakai. (2014). Isolation of thermophilic L-lactic acid producing bacteria showing homo-fermentative manner under high aeration condition. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(3), 318-324.

3) Yukihiro Tashiro, Hiroko Matsumoto, Hirokuni Miyamoto, Yuki Okugawa, Pramod Poudel, Hisashi Miyamoto and Kenji Sakai. (2013). "A novel production process for optically pure L-lactic acid from kitchen refuse using a bacterial consortium at high temperatures" *Bioresource Technology*, 146, 672-681.

4) 酒井謙二, バイオマス資源の利活用とリサイクル -持続型生産体系に関する一考察-, 都市清掃, 64(304), 565-570 (2012).

5) Mohamed Ali Abdel-Rahman, 田代幸寛, 善藤威史, 園元謙二, Improved lactic acid productivity by an open repeated batch

fermentation system using *Enterococcus mundtii* QU 25. RSC Advances, (In press)

6) Jianguo Liu, Qunhui Wang, Hongzhi Ma, Kemin Gan, 田代幸寛, Effects of pretreatment on the microbial community and L-lactic acid production in vinasse fermentation., J. Biotechnol., 164, 260-265 (2012).

7) Mishina T, Fuchimukai K, Igarashi K, Tashiro K, Shiokawa K., Modification of secondary head-forming activity of microinjected -catenin mRNA by co-injected spermine and spermidine in *Xenopus* early embryos. Amino Acids. 42, 791-801 (2012).

8) Matsuzawa T; Mori K., Kadowaki, T., Shimada, M., Tashiro K., Kuhara S., Inagawa H., Soma G., Takegawa K. Genome Sequence of *Pantoea agglomerans* Strain IG1. J. Bacteriology, 194, 1258-1259 (2012).

9) Hurley D, Araki H, Tamada Y, Dunmore B, Sanders D, Humphreys S, Affara M, Imoto S, Yasuda K, Tomiyasu Y, Tashiro K, Savoie C, Cho V, Smith S, Kuhara S, Miyano S, Charnock-Jones DS, Crampin EJ, Print CG. Gene network inference and visualization tools for biologists: application to new human transcriptome datasets. Nucleic Acids Res. 40, 2377-98 (2012).

10) Hashikawa K, Kimura Y, Yasuda K, Tashiro K, Kuhara S, Nagata K, Ohshima K. Gene expression analysis of rheumatoid arthritis synovial lining regions by cDNA microarray combined with laser microdissection: up-regulation of inflammation-associated STAT1, IRF1, CXCL9, CXCL10, and CCL5. Scand J Rheumatol. 41,

170-9 (2012).

11) 酒井謙二, 複合微生物系の解析と制御, SCAS News Talk About vol. 21(39号) p3-6 (2014)

〔学会発表〕(計 56 件)

1) Kenji Sakai, Microbiome Study for Sustainable Production-Utilization Society, International Conference for Malaysian Society for Microbiology (Dec.12,2013, Langkawi, Malaysia) Invited as a Keynote Speaker  
他

〔図書〕(計 2 件)

1) Sakai K, Pramod Poudel P and Shirai Y, Total Recycle System of Food Waste for Poly-L-lactic acid Output in Advances in Applied Biotechnology, 23-40, ed. by Petre M, In Tech Open Access (2012).

2) 田代幸寛、田中重光、小林元太、バイオマス・プロセス・ハンドブック, 1 部4章第15 節 アセトン・ブタノール発酵, 株式会社オーム社, pp.330-338 (2012).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 1 件)

名称: 有機肥料の製造方法  
発明者: 中村正和, 小田一光, 中園金洋, 宮明 邦夫, 酒井謙二  
権利者: 中村正和  
種類: 特許  
番号: 4280850  
取得年月日: 2011.10  
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/dobi/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
酒井謙二 (九州大学・農学研究院・教授)

研究者番号：50205704

(2)研究分担者

田代康介(九州大学・農学研究院・准教授)

研究者番号：00192170

(3)連携研究者

田代幸寛(九州大学・農学研究院・助教)

研究者番号：90448481