

平成21年 4月30日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19860052

研究課題名（和文）非滅菌高温 L-乳酸発酵による農業廃棄物の資源化

研究課題名（英文）Thermophilic L-lactate fermentation of agricultural wastes

研究代表者

赤尾 聡史（AKAO SATOSHI）

鳥取大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：30448196

研究成果の概要：循環型社会の実現に向けて有機性廃棄物の利用が求められている。本研究では、稲わらなどの農業廃棄物に対して滅菌を必要としない L-乳酸発酵（高温 L-乳酸発酵、*Bacillus coagulans*）の適用を目指しており、同発酵が農業廃棄物を構成する糖質（ヘキソース、ペントース）から L-乳酸を生成できることを示した。また、農業廃棄物の糖化液から実際に非滅菌下で L-乳酸を生成した。高温 L-乳酸発酵により増殖する菌体の有効利用方法として生菌剤化も検討した。生菌剤化プロセスに必要と考えられる乾燥工程の温度・時間条件（生存条件）を探索し、80°C で 2 時間の乾燥により概ね生存率  $10^{-2}$  が得られることを確認した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	940,000	282,000	1,222,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,240,000	282,000	2,522,000

研究分野：環境工学

科研費の分科・細目：土木工学・土木環境システム

キーワード：L-乳酸、*Bacillus coagulans*、農業廃棄物、発酵残渣

## 1. 研究開始当初の背景

カーボンニュートラルとなるバイオマスの資源化は、化石資源依存からの脱却、あるいは二酸化炭素排出量削減による地球温暖化防止の観点から緊急を要する課題である。さらに、バイオマスの内でも有機性廃棄物を対象とした資源化は、社会活動の結果排出される廃棄物の代謝を促すことに繋がり、廃棄物処理の観点からも意義深い。そこで本研究では、有機性廃棄物の内、現在広くその利用方法が検討されている農業廃棄物からの L-

乳酸発酵を実施することとした。なお、L-乳酸は、植物由来でカーボンニュートラルであり、生分解性プラスチックでもあるポリ乳酸の原料となることから、化石資源代替品として近年生産量が急増している物質である。

ところで、有機性廃棄物を原料とする場合、従来法と比べて製造プロセスが複雑となり、製造コストの大幅な増加が予想される。また、植物体を構成するセルロースやヘミセルロースを発酵利用することとなるが、ヘミセルロースはキシロースやマンノースなどから構成されることもあり、これらを生菌剤化で

きる技術が必要となる。つまり、①製造コストを安価とできる、②ヘミセルロース由来単糖も利用できる技術が必要となる。

以上の課題に対して、本研究では新規なL-乳酸発酵法を用いて対処することとした。このL-乳酸発酵は、非滅菌下でも培養温度とpH条件を整えるだけで特定の菌種を優占化させ、L-乳酸のみを選択的に生成する方法（高温L-乳酸発酵）<sup>1)</sup>であり、従来の滅菌に関わる設備・工程を省略化できることから、製造コストの大幅な削減をもたらす可能性を有している。また、この発酵法で優占化されるL-乳酸菌 *Bacillus coagulans* は、多糖類の加水分解能やヘミセルロース由来糖の資化能を有している可能性が高く<sup>2)</sup>、代替原料に対する適応性が高いと考えられる。さらに *B. coagulans* は、家畜飼料における生菌剤（整腸剤）として利用される菌であることから、菌体の集積する発酵残渣も有価物として取引される可能性を有している。これらを踏まえ本研究では、農業廃棄物（稲わら、廃菌床）を用いて高温L-乳酸発酵を実際に行うとともに、発酵の結果増殖するL-乳酸菌 *B. coagulans*（発酵残渣）の有効利用に関する検討を行うこととした。

## 2. 研究の目的

### (1) 農業廃棄物の資源化を行える株の探索

農業廃棄物を利用する場合、糖化によって得られた単糖の効率的な資化が必要となる。そこで、試薬糖質（単糖類、二糖類、多糖類）を用いたL-乳酸発酵性試験を実施することとした。単糖類を用いた試験では、ヘミセルロース由来糖からの発酵性を、多糖類を用いた試験では加水分解性を評価した。

### (2) 農業廃棄物の資源化検討

高温L-乳酸発酵は、非滅菌下で実施できること、つまり効率的とされる連続的発酵を実施できる特徴を有している。従来グルコースを用いて連続的発酵（半連続培養）を実施してきたが、ペントースでも同発酵が実施できるかを確認した。また、実際に農業廃棄物を糖化し、その糖化液を用いて非滅菌発酵（回分培養、半連続培養）を実施した。

### (3) 高温L-乳酸発酵の用途拡大検討

#### ① 発酵残渣の乾燥条件の検討

高温L-乳酸発酵残渣を生菌剤として利用するためには、ハンドリング性から乾燥・ペレット化することが必要と考えられる。そこで、乾燥温度や乾燥時間を変化させて *B. coagulans* が生存できる発酵残渣の乾燥条件の検討を行うこととした。

#### ② *B. coagulans* を用いたサイレージ発酵

*B. coagulans* は、通常のサイレージ発酵に

においても出現する菌種<sup>2)</sup>である。ここでは、生菌剤として使用可能な *B. coagulans* を積極的に利用することを目的とし、牧草に同菌を植種し高温L-乳酸発酵の温度条件でサイレージ発酵を進め、*B. coagulans* をスターター（植種菌）とした高温サイレージの実現性について検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 糖質からのL-乳酸発酵性試験

（独）理化学研究所バイオリソースセンターから購入した *B. coagulans* 標準株（JCM2257, JCM2258, JCM9076）と生ごみなどからの単離株（4株）を用いて、単糖類、二糖類および多糖類からのL-乳酸発酵性を見た。滅菌済みの15 mLチューブに糖液（表1）と栄養液（表2）を5 mLずつ注ぎ、あらかじめLB培地で前培養（55°C, 48時間、振とう培養）した試験株を植種した。培養条件は、55°Cで5日間の振とう培養とした。なお、単離株は、Dextrose Tryptone 培地（Difco）を用い、55°Cで24時間の培養により黄変するコロニーを釣菌（LB培地に植種）したものであり、生ごみ、土壌および菓子（有孢子乳酸菌入り、以下、BK株）から単離した。

表1 L-乳酸発酵性試験に用いた糖液組成

(単位:g/50 mL)		
<b>単糖類</b>		
D-グルコース	和光純薬, 特級	1
D-マンノース	和光純薬, 特級	1
D-キシロース	和光純薬, 特級	1
L-アラビノース	和光純薬, 特級	1
<b>二糖類</b>		
スクロース	和光純薬, 特級	1
D-マルトース	和光純薬, 特級	1
ラクトース	和光純薬, 特級	1
D-セロビオース	和光純薬, 化学用	1
トレハロース	林原生物化学研究所	1
<b>多糖類</b>		
でんぷん(溶性)	和光純薬, 一級	1
でんぷん(トウモロコシ由来)	和光純薬, 一級	1
セルロース	Alfa Aesar	1
ペクチン(かんきつ由来)	和光純薬, 化学用	1

\* オートクレーブ滅菌(121°C, 15分)

表2 L-乳酸発酵性試験に用いた栄養液組成

(単位:g/50 mL)		
Yeast Extract	Difco Laboratories	0.5
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	和光純薬, 特級	0.05
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	和光純薬, 特級	0.01
MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	和光純薬, 特級	0.002
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	和光純薬, 特級	0.001
CaCO <sub>3</sub>	和光純薬, 特級	0.5

\* オートクレーブ滅菌(121°C, 15分)

### (2) 糖質からのL-乳酸発酵経過

(1)においてペントースからL-乳酸発酵性が確認された株について、グルコースとキシロースの発酵経過を見た。別々にオートクレ

一滅菌した糖液 200 mL (糖質濃度: 10 g/L) と栄養液 200 mL (Yeast Extract と Tryptone (Difco): 各 10 g/L) を作成し, 前培養した試験株液 (1%) を用いて図 1 に示す培養装置 (有効容積 400 mL) にて滅菌下で培養した (55°C, pH5.5).

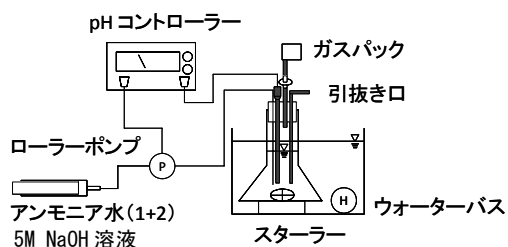


図 1 培養装置概略図

### (3) ペントースを基質とする半連続培養

キシロースを主な基質とする高温 L-乳酸発酵を半連続培養 (非滅菌培養, 55°C, pH5.5) で実施した. 糖質 (濃度は試験ごとに設定), Yeast Extract と Tryptone をそれぞれ 1% ずつ添加した培地を作成し, 図 1 に示す培養装置 (有効容積 400 mL) にて滞留時間 (HRT) 4 日 (1 日 1 回の発酵液引抜き・培地添加; 1 回の培地添加量, 100 mL) の培養を実施した.

### (4) 農業廃棄物の糖化と L-乳酸発酵

鳥取県内から入手したはたけしめじの廃菌床と稲わら, および廃棄梨を試験材料とした. 廃菌床と稲わらは, ミルにて粉末状とした後デシケーター内で保管した. 廃棄梨は, 家庭用ミキサーで破碎後冷凍 (-20°C) 保管した. 粉末状の廃菌床と稲わらは, L-乳酸発酵に先立って糖化处理 (希硫酸法) した (図 2). 糖化处理した廃菌床と稲わら糖化液に対して, 生成した単糖類およびフルフラール (発酵阻害物) を測定した.

- ① バイオマス: 3.5g
- ② 72%硫酸を35mL添加し, 室温で1時間攪拌
- ③ 1Lまで蒸留水でメスアップ
- ④ 121°Cで1時間加熱分解 (オートクレーブ)
- ⑤ 放冷後, 中和・ろ過 (GF/B)

図 2 希硫酸法の糖化手順

廃棄梨および廃菌床・稲わら糖化液の高温 L-乳酸発酵は, 図 1 に示す培養装置 (廃棄梨, 有効容積 1 L; 糖化液, 有効容積 400 mL) を用いて回分培養で行った (55°C, pH5.5). 発酵に際し, 窒素源として Yeast Extract (廃棄梨, 1%添加) または下水汚泥 (糖化液, 5%添加) を用いた. 接種源として, 前培養 (LB 培地, 55°C, 48 時間) した *B. coagulans* 菌液を 1%添加した. なお, 用いた下水汚泥は, 農業集落排水処理施設 (JARUS I 型) の汚泥

貯留槽から採取したものである. さらに, 廃菌床糖化液については半連続培養 (培養条件は (3) と同様) も実施した.

### (5) 発酵残渣の乾燥処理

高温 L-乳酸発酵残渣の乾燥条件を *B. coagulans* の生存菌数を基準に求めた. 試験株は, *B. coagulans* JCM 2257, JCM 2258, JCM 9076 および BK 株を, あらかじめ LB 培地に前培養 (55°C, 48 時間, 振とう培養) した後用いた.

耐熱試験は, *B. coagulans* 4 株に対して 70°C および 80°C の条件にて行った. 前培養液を滅菌済みの 1.5 mL チューブに 1 mL ずつ添加し, 70°C 試験では *Bacillus* 属全菌中の芽胞数を計数する方法<sup>3)</sup>を参考に 30 分×2 回の湯浴を行った. 80°C 試験では, 先のチューブを遠心分離 (5000×g, 5 分) した後上澄みを除去し, 対流式乾燥機にて 2 時間加熱した.

### (6) 高温 L-乳酸発酵のサイレージへの適用

*B. coagulans* を接種し, 高温 L-乳酸発酵の温度条件でサイレージ発酵を進めた. 飼料用のイタリアングラスを購入し, 約 1 cm 長に裁断した. 上部に 2ヶ所穴を開けた 50 mL チューブ (28 本) に裁断したイタリアングラスを約 3.5 g ずつ詰め, 接種系 (12 本) には *B. coagulans* を含む前培養液を 35 μL ずつ加えた. 菌液は, LB 培地に JCM2258 を前培養し, その後室温で長期間放置したものである. 全てのチューブについて窒素ガスでパージした後, 上部の穴をビニールテープで塞いで 55°C のインキュベーターに静置した.

0, 1, 3, 6, 9, 14 および 34 日目に接種系と非接種系から 2 本ずつ採取し, 発酵の進捗を測定した. 採取したチューブに滅菌生理食塩水 30 mL を注ぎ, 20 分間振とうした. その後, イタリアングラスを含まないように生菌数および DNA 抽出用 (PCR-DGGE) のサンプルを滅菌済み 1.5 mL チューブに採取した. また, 0.45 μm のシリンジフィルターでろ過し, D-, L-乳酸と単糖の分析に使用した. 最後に 50 mL チューブにおいて pH を測定した. 生菌数測定の際のコロニーについて菌種推定 (16S rDNA を利用) も試みた.

### (7) L-乳酸発酵の実験装置と培養方法

振とう培養を除く L-乳酸発酵では, 実験装置 (図 1) を用いた. 反応器は 500 mL 三角フラスコ (有効容積 400 mL) またはセパラブルフラスコ (有効容積 1 L) を用いた. 加温は, ウォーターバスと水位保持コントローラー (アズワン, WLC-SA) を用いた. pH 制御は, pH コントローラー (日伸理化, NPH-660), ローラーポンプおよび中和剤 (アンモニア水 (1+2) または 5M 水酸化ナトリウム溶液) を用いた. 高温 L-乳酸発酵の培養条件は, 温度

55°C, pH5.5 とした<sup>1)</sup>。

#### (8) 分析方法

材料組成に関わる項目として、全有機炭素・全窒素 (TOC・TN 計, 島津製作所, TOC-V, TNM-1), CN (elementar, vario ELIII), 含水率 (加熱減量法) を測定した。L-乳酸発酵に関わる項目として, pH (堀場製作所, D-52T), 全糖 (フェノール硫酸法), D-, L-乳酸 (HPLC: カラム, SUMICHRAL OA-5000), 単糖類 (HPLC: カラム, Shodex SUGAR SP0810), フルフラール類 (HPLC: カラム, Inertsil ODS-3) および生菌数 (Dextrose Tryptone 培地, 55°C, 24 時間培養) を測定した。

サイレージ発酵では, 16S rDNA を用いたコロニーの菌種推定と菌叢変化の観察として PCR-DGGE (Bio Rad, DCode) を実施した。生菌数測定時にできたコロニーは, LB 培地に釣菌し, 55°C で培養した後 DNA 抽出 (QIAGEN, DNeasy Blood&Tissue Kit) を行った。抽出した DNA は, 10F-800R プライマーを用いて増幅<sup>4)</sup>・精製 (QIAGEN, QIAquick Gel Extraction) した。シーケンス反応 (ABI, BigDye Terminator Ready Mix) の後, 学内委託 (ABI, 3130xl) で塩基配列を得た。得られた塩基配列 (約 500 bp) から DDBJ の BLAST 検索により菌種推定を行った。PCR-DGGE は堆らの手順<sup>5)</sup>に従った。

### 4. 研究成果

#### (1) 糖質からの L-乳酸発酵性

標準 3 株 (JCM2257, JCM2258, JCM9076) と生ごみからの単離株について単糖類からの L-乳酸発酵性を見た (図 3)。その結果, JCM2258 は試みた全ての単糖類から L-乳酸を生成した。農業廃棄物中にはキシロースやマンノースなどヘミセルロース由来の単糖が多く含まれ, 例えばエタノール発酵ではこれ

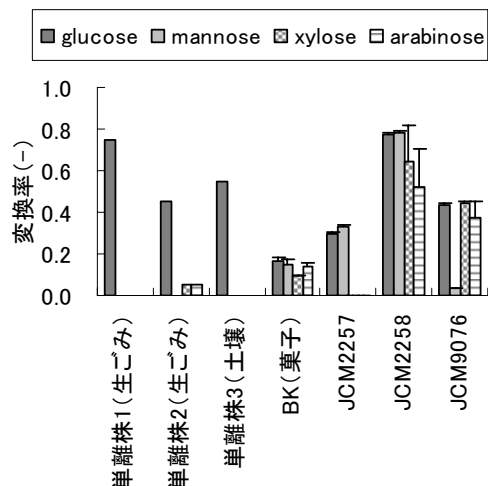


図 3 単糖類からの L-乳酸発酵性 (n=3)

らの資化性を持たせるため遺伝子組換えが実施されているが, *Bacillus coagulans* による L-乳酸発酵ではこれら糖質をそのまま利用できることが示された。

*B. coagulans* の加水分解能を確認するため, 標準 3 株について二糖類・多糖類からの L-乳酸発酵性を見た。二糖類については, JCM2258 がスクロース以外を資化し, 試みた糖質の中で最も広い資化範囲となった (変換率は概ね 0.4 程度)。ただし, 単糖類の結果と比較すると, L-乳酸発酵性に大きなバラツキが見られた。多糖類については, いずれの株についてもペクチンのみの資化 (変換率 0.4 未満) となり, 期待したでんぷんからの直接の L-乳酸発酵は確認できなかった。

#### (2) 糖質からの L-乳酸発酵経過

別々にオートクレーブ滅菌した糖液 200 mL と栄養液 200 mL を作成し, 前培養した試験株を用いて図 1 に示す培養装置にて滅菌下で培養した。グルコースおよびキシロースを単独基質とした場合の L-乳酸生成過程を図 4 に示す。グルコースを用いた場合, 速やかに L-乳酸発酵が完了した。キシロースを用いた場合, 培養開始後 8 時間の時点で L-乳酸生成が始まるものの, 以後緩やかに L-乳酸生成を続けた。また, 生菌数の経時変化によると, グルコースの場合は, 短時間のうちに増殖して基質枯渇後は速やかに死滅している。一方, キシロースの場合は, 緩やかに増殖するため生菌数の積分値は大きい。この点は, L-乳酸収率 (変換率) の差を示していると考えられる。なお, グルコースからの L-乳酸変換率が

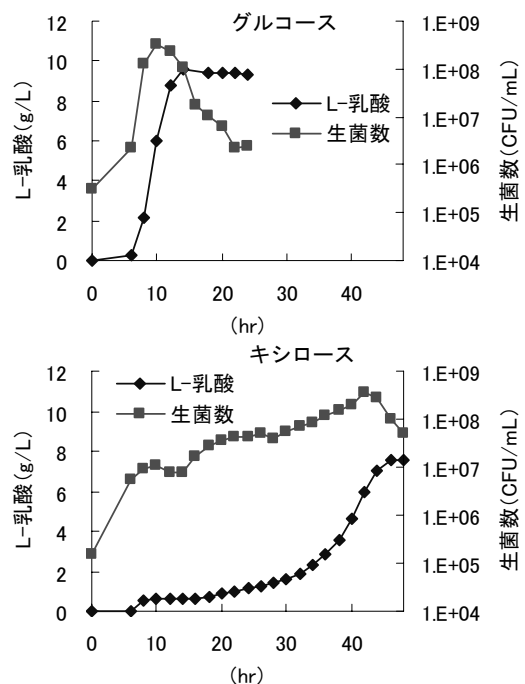


図 4 生菌数変化 (JCM2258, Glu と Xyl)

最大 0.96 に対してキシロースからの変換率は最大 0.76 に留まった。

グルコースとキシロースが共存し、それぞれ初期濃度 5.0 g/L と設定された培養では、両糖とも同時に消費されているものの、グルコースの消費が早いことから同時資化性を認め難い結果となった。また、生菌数の変化から、グルコースにより増殖した菌体は、グルコース枯渇後速やかにキシロースを消費すること無く一旦死滅し、キシロース消費を早める効果には至らないことが伺えた。

### (3) キシロースを基質とする半連続培養

JCM2258 は、キシロースから L-乳酸を生成できるものの、その生成速度（糖消費速度）は遅い。この遅い消費速度が原因となり、非滅菌下の半連続培養では *B. coagulans* に代わるキシロース消費の速い菌種の優占化も考えられる。そこで、ここではキシロースを基質とした半連続培養を実施した（図 1、糖液：キシロース 2%）。

培養（HRT：4 日）の結果、キシロース消費に時間を要することから 1 日目の半連続操作時にはほとんど L-乳酸生成が見られなかったが、2 日目以降は概ね 15 g/L（変換率：約 0.71）の L-乳酸濃度を維持できた。一方、培養継続に伴って L-乳酸濃度の漸減が見られ、生成乳酸の光学純度も 90% 程度に留まった。

糖質をキシロースのみとした半連続培養において D-乳酸の僅かな生成が見られたことから、グルコースとキシロースを糖質源（それぞれ 2%）とする非滅菌下の半連続培養を実施した。その結果、変換率は 0.5 前後（L-乳酸濃度：約 20 g/L）に留まったが、光学純度 98% 以上の L-乳酸が生成できた。また、引抜き発酵液中の糖質濃度から、グルコースが主に資化されているものの、キシロースも量は少ないが安定して資化されていることを確認できた。グルコースが存在することで、*B. coagulans* の素早い増殖と L-乳酸生成が起き、D-乳酸を生成する菌株の増殖を阻んだものと考えられる。どの程度のグルコース濃度で L-乳酸発酵の妨げとなる菌株の増殖を防げるかは今後の課題である。

### (4) 農業廃棄物の糖化

農業廃棄物として稲わらおよび廃菌床を対象に糖化を実施した。廃菌床を対象に濃硫酸法（一段階）を幾度か試みたが、期待したような糖化液が得られず（グルコース：<1 g/L）、ここでは希硫酸法の実施となった。

希硫酸法で得られた糖化液の糖濃度を表 3 に示す。糖濃度は 0.2% 程度と非常に希薄なものであった。希薄な糖化液は加温する発酵においてエネルギー的に損失が大きいことから、高い糖濃度が得られる糖化法の実施が必要である。今後は、濃硫酸法（多段階）あ

るいは酵素法を検討する。

表 3 稲わらと廃菌床糖化液の糖濃度（希硫酸法）

	(g/L)			
	グルコース	マンノース	キシロース	アラビノース
稲わら	2.3	<0.1	0.5	0.1
廃菌床	2.3	<0.1	<0.1	<0.1

	(mg/L)	
	HMF*	フルフラール
稲わら	12.9	0.4
廃菌床	49.8	0.2

\* ヒドロキシメチルフルフラール

### (5) 廃棄梨および糖化液の高温 L-乳酸発酵

廃棄梨および稲わらと廃菌床糖化液を用いた非滅菌下の高温 L-乳酸発酵を実施した。廃棄梨（含水率 81.1%、全糖 93.6 g/L、2 倍希釈で培養）をそのまま発酵に供した場合、TOC・TN 計による C/N 比で 273 と窒素が著しく不足する。そこで、Yeast Extract を 10 g/L 添加した比較系を用意した結果、生成 L-乳酸量の向上を確認した（L-乳酸、44.3 と 16.4 g/L）。廃棄梨は、特に糖化を行わなくても充分 L-乳酸発酵の原料と成り得た。ただし、窒素分の不足が懸念されることから、窒素分を豊富に含む有機性廃棄物（例えば、下水汚泥）と混合発酵することが必要である。

次に、稲わらおよび廃菌床の糖化液（TOC・TN 計による C/N 比：39.9 および 20.9）を高温 L-乳酸発酵に供した。糖化液は、ロータリーエバポレーター（90°C、0.04MPa）で約 3 倍に濃縮したものをを用いた。廃棄梨の検討より窒素分の不足も懸念されたことから、下水汚泥を添加した比較系を用意した。L-乳酸発酵結果（3 日間回分培養）を図 5 に示す。図 5 によると、攪拌の都合により発酵進捗が不安定であったが、終端濃度の比較においていずれも高い収率で L-乳酸が生成した。特に廃菌床糖化液の場合、両系列ともグルコースを基準とすると 1 に近い変換率で L-乳酸が生成した。一方、稲わら糖化液では、下水汚泥添加系において変換率 0.82、無添加系において 0.70 と、下水汚泥を添加する効果がわずかに見られた。

廃菌床糖化液について、特に窒素分を添加せずとも高温 L-乳酸発酵が実施できたことから、廃菌床糖化液のみを用いた非滅菌下の半連続培養を実施した。希硫酸法で糖化した糖化液を約 3 倍に濃縮し、HRT 3 日の条件で培養（図 1）した結果、非滅菌下でも安定して L-乳酸発酵が進展した。

また、窒素源添加の効果も見られたことから、高温 L-乳酸発酵に必要な C/N 比を求めた。ここでは、グルコースと Yeast Extract からなる培地において、グルコース量（50 g/L）を一定とし、段階的に Yeast Extract を変化した培養を行った（3 日間回分培養、400mL 反応器、図 1）。Yeast Extract の炭素・窒素

割合を CN コーダーにより求め (C : 42.0%, N : 11.3%), 計算で求めた培地 C/N 比とその時の L-乳酸発酵濃度を比較した結果, C/N 比 13 以下が望ましいとの結果を得た。

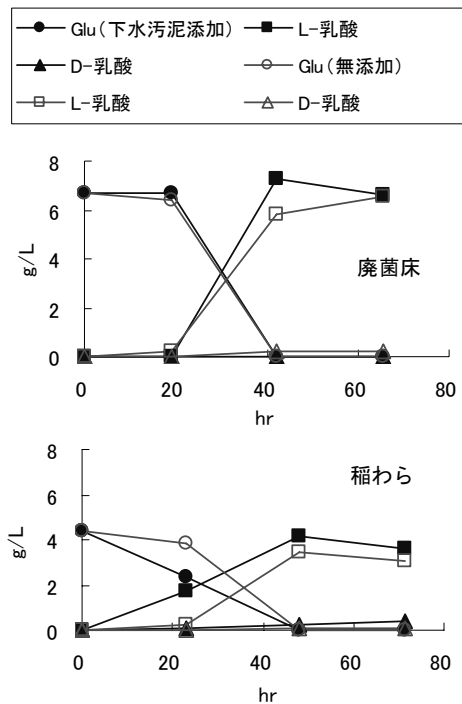


図 5 糖化液の高温 L-乳酸発酵 (JCM2258)

(6) 発酵残渣の乾燥処理

JCM2257, JCM2258, JCM9076 および BK 株について, 70°C で 30 分×2 回の湯浴後および 80°C で 2 時間の乾燥後の生菌数を図 6 に示す。JCM 2258 および JCM 9076 は, 前培養後から見て比較的高い生存率 (10<sup>-2</sup>) であった。ただし, JCM 9076 は前培養後の生菌数が少ないことから, 乾燥後の生菌数が比較した 4 株中で最も多いものは JCM 2258 となった。

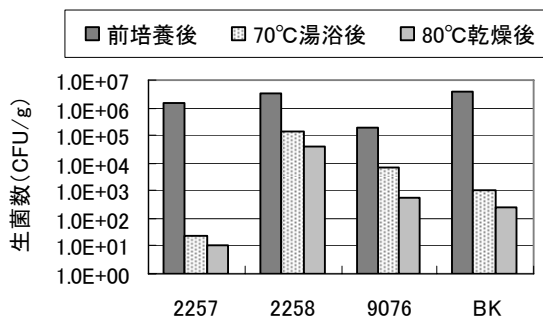


図 15 70°C 湯浴および 80°C 乾燥処理による *B. coagulans* 生菌数の変化

(7) 高温 L-乳酸発酵のサイレージへの適用

飼料の品質保持を目的とするサイレージでは, 主として乳酸発酵を進め, pH を 4 程度に低く抑えることが必要とされる。イタリア

ングラスに JCM2258 を植種する系と植種しない系を用意し, 密閉できる容器で 55°C に加温したサイレージ発酵を実施したが, 非植種系よりも植種系において pH が変動し(図 7), L-乳酸濃度も比較系より低く留まった。用いた株の性質にも拠るが, *B. coagulans* を中心としたサイレージ発酵は困難と考えられる。

なお, 生菌数培地および DGGE 観察の結果, 植種系において *B. coagulans* から別の菌種 (*Bacillus smithii* と推定) に優占種が遷移した様子が伺えた。また, 非植種系では, *Brevibacillus thermoruber* や *Bacillus licheniformis* および *B. coagulans* と推定される菌種が出現した。

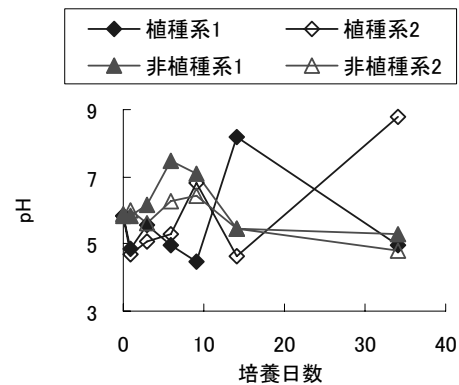


図 16 高温サイレージ培養における pH 変化 (JCM2258, 55 °C, イタリアングラス)

参考文献

- 1) Akao S., et al. 2007. Water Res 41, 8, 1774-1780.
- 2) 佐々木博, 高尾彰一. 1977. 北海道大学農学部邦文紀要 10, 3, 241-246.
- 3) 高村一知, 星野浩子. 1987. 聖徳栄養短期大学紀要 18, 14-19.
- 4) 厚生労働省. 2004. 第十四改正日本薬局方第二追補 145-147.
- 5) 堆洋平ほか. 2008. 生物工学会誌 86, 4, 157-163.

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)  
 ①赤尾聡史ほか, *Bacillus coagulans* による L-乳酸発酵の糖資化性検討, 第 45 回環境工学研究フォーラム, 2008 年 11 月 29 日, 大阪工業大学。

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
 赤尾 聡史 (AKAO SATOSHI)  
 鳥取大学・大学院工学研究科・助教  
 研究者番号 : 30448196