

## Studies on novel high-temperature fermentation for L-lactic acid production

プラモド, ポウデル

<https://hdl.handle.net/2324/1544030>

---

出版情報：九州大学, 2015, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏名	プラモド ポウデル
論文名	Studies on novel high-temperature fermentation for L-lactic acid production (L-乳酸生産のための新規な高温発酵に関する研究)
論文調査委員	主査 九州大学 教授 氏名 酒井 謙二 副査 九州大学 教授 氏名 園元 謙二 副査 九州大学 講師 氏名 土居 克実

## 論文審査の結果の要旨

バイオマスからの燃料、化成品やプラスチックの持続的生産は、限られた化石資源に対する依存を減らすために重要であり、微生物を用いた発酵変換によるバイオマス資源の総合利用は環境保全型、持続型社会のための一つの解決策を与える。家庭からの食品ゴミを含む廃棄物バイオマスのリサイクルは社会的問題となっており、有効な方法の開発が求められている。本研究はその一つの方法として、高品質バイオプラスチックの原料として重要な光学活性な L-乳酸の高温発酵生産に有効な複合微生物系 (MCS) と構成微生物について研究を行った。

まず、乳酸発酵における好熱性/耐熱性微生物やバチルス属細菌の報告についてまとめ、それらの特徴を生かした利用法について論じた。次に、新規な高温菌 MCS による食品ゴミの L-乳酸発酵生産を「メタ発酵」として定義し検討を行った。温度を主要な制御因子とした場合、50-55°C で高い収量と 100% の光学純度が達成された。また、50-55°C における MCS の群集構造の変成剤濃度勾配ゲル電気泳動による解析から、*Bacillus coagulans* を含む 6 種の主要な細菌種の消長を明らかにした。「メタ発酵」の理解と制御に資するために、上記主要細菌種の体系的な分離手法を設計し、体系的フィードバック分離法と命名した。本法は、系統情報から類推される既報分離培養条件の適用とコロニーレベルでの MALDI-TOF-MS によるハイスループットスクリーニングを含んでいる。結果として、上記の 6 種主要細菌と共に、それ以外の多種の好熱性/耐熱性細菌を分離した。分離株のうち、MO-04 について最近縁種の *Bacillus thermolactis* R-6488<sup>T</sup> と比較しながら同定を行った。DNA-DNA 相同性 (44.5%) の他、糖利用性、生育 pH、及び生育温度などが R-6488<sup>T</sup> 株と異なっており、その形態学的特徴から *Bacillus kokeshiiformis* sp. nov. MO-04<sup>T</sup> を提案した。さらに、*Bacillus thermoamylovorans* LMG18084<sup>T</sup> と 99.2% の 16S rRNA 塩基配列相同性を示し、デンプンから直接発酵により光学活性な L-乳酸を生成する分離株 MC-07 の性質を検討した。MC-07 はデンプンを炭素源、塩化アンモニウムを窒素源とする単純な培地中、糖化酵素を添加せずに 50°C、pH 7.0 での振動制御下、消費糖当たりの収率 0.977 g/g、100% の光学純度で L-乳酸を生産することを明らかにした。

以上要するに、本研究は食品ゴミを基質とした複合微生物系による L-乳酸の高温発酵生産と関与する好熱性/耐熱性微生物の分離、同定、利用に関して、新しい手法と応用

性を示したものである。これらは廃棄物バイオマス資源の持続的なリサイクル利用に有用な知見を与えるものであり、土壤環境微生物学の発展に寄与する価値ある業績である。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。