

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 上野 嘉之

水素は燃焼後に二酸化炭素を生じないクリーンなエネルギー源である。生物的水素生産のうち、有機物の嫌氣的分解、すなわち発酵で生じる余剰電子を水素ガスとして回収する発酵様式が水素発酵である。本研究は、有機性廃棄物などのバイオマス資源を原料にした水素発酵技術の確立を目的に、自然界より集積した嫌気性マイクロフローラによる水素発酵を、微生物学および工学的に特徴づけたもので、序論およびそれに続く本論 5 章から成る。

まず序論では、水素と水素生産の意義、発酵生産、嫌気性消化法および菌叢解析技術の概要を述べ、水素発酵技術の理論的背景とマイクロフローラによる水素発酵技術を確立するための基本的な方策と考え方を述べている。

本論第 1 章では、水素発酵マイクロフローラの選定を行い、好気性活性汚泥を原料に強制通気によって製造されている汚泥コンポストをマイクロフローラ源に、発酵基質（セルロース）が存在する高温（60℃）嫌気条件で微生物のバッチ培養を行うと、酸生成菌が優先的に増殖し、著量の水素を蓄積することを見出した。

第 2 章では、メタン発酵マイクロフローラを完全攪拌混合型バイオリアクター（CFSTR）で連続培養し、培地の希釈率と発酵様式の検討を行なった。希釈率が低い状態（0.2 d⁻¹以下）では、安定なメタン発酵が観察されたが、希釈率を高くすることによって、メタン発酵が不安定化し、水素や有機酸などの蓄積が認められるようになった。この CFSTR を用いて集積したメタン発酵マイクロフローラの微生物群集構造を真正細菌の 16S rDNA の V3 領域をターゲットとした PCR-DGGE 法を用いて解析し、発酵様式と関連づけて評価した。セルロース基質、グルコース基質ともに優先種と考えられる微生物の多くは、*Bacillus/Clostridium* 属に近縁な菌群であった。希釈率の上昇によって集積される微生物群は基質によって異なり、グルコースではヘテロ乳酸発酵をおこなう *Bacillus* 属に近縁な菌群が集積され、セルロースでは *Clostridium* 属に近縁な菌群が集積された。

第3章では、水素発酵マイクロフローラより微生物の分離を行い、その生理学的性質を検討し、PCR-DGGE法の結果とあわせて解析、評価した。分離菌の多くは *Clostridium* 属に近縁であり、多くは水素生成能を有していた。PCR-DGGE法では、平板法で分離されなかった高温性セルロース分解菌が高強度に検出され、セルロースの水素発酵では複数種の微生物によって水素が生産されているものと考えられた。平板希釈法による微生物分離法では分離培地や培養条件によるバイアスが大きく、正確にマイクロフローラの群集構造と発酵様式を解析するためにはPCR-DGGE法との併用が望ましいものと判断された。

第4章では前章までの結果をもとに、汚泥コンポストよりマイクロフローラを集積し、製糖工場廃水を原料にベンチスケールで連続水素発酵実験を行った。非殺菌系での連続水素発酵を約200日間以上にわたり観察し、HRT（水理的滞留時間）0.5 dにおいて、最高水素生成速度：約200 mmol/l-reactor/day、水素生産収率：2.6 mol/mol-glucoseを得た。この水素生産収率は、水素生産収率の高い単離菌と比較しても同等であった。このマイクロフローラからの分離株 (*T. thermosaccharolyticum* KU001) による発酵様式および水素生産収率はマイクロフローラのものと同様であった。また、本株の16S rDNAシーケンスは、汚泥コンポストを人工培地で集積したマイクロフローラのDGGEで優先種と考えられるバンドのシーケンスと完全に一致していた。これら実廃水での実験結果は、人工培地での実験結果から解釈可能であり、基礎的検討の妥当性が示された。

第5章では、本研究で得られた結果を総括するとともに総合的な考察を加えた。

以上、本研究は、自然界に存在する嫌気性マイクロフローラをコントロールすることにより廃水からの水素生産が可能であることを世界に先駆けて示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。