



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A strategic approach for optimization of fermentative hydrogen production of marine Vibrionaceae species using Design of Experiments (DOE) [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Nurhidayu Binti AL, saari
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第12412号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63225
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Nurhidayu_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：Nurhidayu binti Al-saari

審査委員	主査	教授	尾島	孝男
	副査	教授	澤辺	智雄
	副査	助教	美野	さやか

学 位 論 文 題 目

A strategic approach for optimization of fermentative hydrogen production of marine *Vibrionaceae* species using Design of Experiments (DOE)
(実験計画法に基づく海洋性ビブリオの水素生産の最適化)

持続可能なエネルギー供給システムの構築は地球規模課題の一つであり、原油を中心とする化石燃料体系に替わるエネルギー源の探求が進められている。水素は、直接燃焼による利用以外でも、燃料電池の直接の基質として利用できることから、低炭素社会の形成にとって、理想的かつ究極のクリーンエネルギー源であり、その利活用に向けた研究開発が進展している。しかし、現在の水素生成法は、化石燃料の改質に負うところが多く、これに替わるものとして、生物学的に生産する「バイオ水素」が再生可能および持続可能な水素生成法として注目されている。特に、エネルギー生産過程において水と食料との競合を避けることができる海洋バイオマスからのバイオ水素の生産基盤、なかでも海洋バイオマス由来の糖質からエタノールや水素等を効率的に生産可能な微生物の探索や代謝改変株の開発が活発化してきた。その成果として、海藻糖質の一種類である糖アルコールを基質として、理論収率の8割に達する高い水素生成能を有する新規な海洋細菌 *Vibrio tritonius* が見いだされている。本菌の水素生成は、温度、pH、塩分、金属イオンなど、数多くの要因に影響を受けることが知られているものの、本菌の水素生成の最適化は十分に行われてこなかった。そこで、本研究は実験計画法に基づく方法論により、*V. tritonius* AM2 株の水素生成の最適化を目的とした。本研究の評価される点は以下のとおりである。

1. 本菌の水素生産と増殖に及ぼす NaCl 濃度の影響を調べ、本菌が既知の水素生成細菌には見られない幅広い NaCl 濃度 (0.5-4.6%) 下で水素を生成できることを明らかにした。しかし、3% (w/v) 以上の NaCl 濃度では、その水素生成量は顕著に低下し、4.6%になるとそれはほぼ停止すると推定した。NaCl 濃度が上昇することによる水素生成能の低下は、細胞増殖の低減と基質となるマンニトールの利用効率が低下することに加え、水素の前駆物質となるギ酸生成と細胞外への排出量の低下やギ酸再取込能の低下が一因であることを示唆した。水素収率 (Yield)、水素生成速度 (HPR) および基質消費率 (SCE) の水素生成能の指標となる 3 つの応答を勘案すると、本菌は 1% NaCl 濃度で水素生成能が最大となることを見いだした。

2. 応答局面法 (RSM) を用いて、AM2 株の水素生産を最適化する条件を推定したところ、1% NaCl および 3% (w/v) マンニトールを添加し、pH 5.8 に調整した培地に、前培養液 (OD₆₂₀=0.8-1.0) を 0.5% (v/v) の割合で接種した条件であった。この条件下で、水素生産速度 (HPR)、水素収率 (yield) および基質消費率 (SCE) はそれぞれ 29.0 mL/h, 1.6 mol H₂/mol マンニトールおよび 100%であった。既報の最適水素生成条件 (2.25% (w/v) NaCl, 5.0% (w/v) マンニトール, pH 6 および 1% (v/v) の接種菌量) に比べ、この RSM で最適化した条件では HPR, yield および SCE が大きく上昇した。

3. AM2 株の水素生成を触媒するギ酸水素リアーゼ複合体はその触媒部位に Fe, Ni, Mo, Se などの金属が配位しているため、本菌の水素生成にはこれらの金属が要求される。本菌の水素生成能の指標として重要な HPR, Yield および SCE の 3 つの応答を統合した指標を導入し、水素生成を変動させる主要因となる金属を見いだす Hybrid Taguchi 法を用いて解析したところ、Mo > Ni > Zn > Mg > Fe の順に影響が高いことが予測された。水素生成に及ぼす効果が最も高い金属濃度、最も低い濃度、およびその中間濃度になるよう、各種金属を添加し、照合実験を行ったところ、この予測を概ね支持した。

以上、本研究は、海洋バイオマスの生物的水素変換の研究分野に工学的な方法論導入し、海洋バイオマスでの含量が高いマンニトールをモデル基質として、海洋細菌の水素生成能の最適化を進展させたものであり、海洋生物資源を利用した連続的な水素生産技術の開発に向けて基礎的知見を集積したことが高く評価された。よって審査員一同は申請者が博士 (水産科学) の学位を授与される資格のあるものと判定した。