

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

学位論文題目	Enhancement of hydrogen production using the blend of two algal biomass with casamino acids as nitrogen source by <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832. (2 種類の藻類バイオマスと窒素源としてのカザミノ酸を原料とした場合の <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 による水素生産の向上)
氏 名	Shahira Said Ahmed Mohamed Aly
<p>Hydrogen is considered as an ideal energy carrier because of its clean combustion product (i.e., water) and high energy density (122 kJ/g). The aim of this study to develop effective dark fermentation hydrogen process with low cost by mesophilic bacteria by <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 isolated from Wajiro beach Fukouka using algal waste substrate, In order to accomplish the goal of the study, the study purpose divided to direction:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) The first is to reach a defined medium required for the microorganism <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 as an optimal condition. Therefore, finding suitable carbon sources, casamino acids as nitrogen source, the use of vitamins and metal important for hydrogen production.</li> <li>2) The second is the application by using algal substrate and fined effective production at low cost by reach to the blend ratio to reduce the required supplementation of casamino acids and minerals.</li> </ol> <p>The present thesis consists of 5 chapters and contents of each chapter are shown below:</p> <p>Chapter I “Introduction” states the problem, aims of the research, and structure of the dissertation.”</p> <p>Chapter II “Literature review” the chapter reviews the literature of the previous studies and introduces the bacil ground knowledge of biohydrogen.</p> <p>Chapter III “Identification of factors that accelerate hydrogen production by <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 using casamino acids as a nitrogen source.” This chapter demonstrate the important carbon source utilized by the microorganism, use the casamino acids as nitrogen source, and reach to the important mineral element and vitamins for hydrogen production.</p> <p>Chapter IV “Enhancement of hydrogen production by blending of two waste biomass sources <i>Chlorella fusca</i> and <i>Ulva lactuca</i> blend with reduced supplementation of casamino acids by <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832.” In this chapter according to chapter III, the importunate element of hydrogen production optimized with algal waste substrate to reduce the use of casamino acids as it is the most expensive elements required for hydrogen production.</p> <p>Chapter V “conclusions summarize the finding and overall results of this study and suggests ideas for the future work.”</p>	

# 学位論文審査の結果及び最終試験の結果報告書

## (博士後期課程博士用)

山口大学大学院理工学研究科

報告番号	理工博甲 第 752 号	氏名	Shahira Said Ahmed Mohamed Aly
最終試験担当者		主査	今井 剛
		審査委員	関根 雅彦
		審査委員	新苗 正和
		審査委員	赤田 倫治
		審査委員	樋口 隆哉
<p><b>【論文題目】</b>            Enhancement of hydrogen production using the blend of two algal biomass with casamino acids as nitrogen source by <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832            (2種類の藻類バイオマスと窒素源としてのカザミノ酸を原料とした場合の <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 による水素生産の向上)</p>			
<p><b>【論文審査の結果及び最終試験の結果】</b></p> <p>近年、水素はエネルギーとして使用した際に水しか排出しないこと、またその高いエネルギー密度 (122 kJ/g) から理想的なエネルギー源として注目されている。また、この水素を藻類バイオマスを原料として生産できれば、藻類はその成長過程で光合成によって大気中の二酸化炭素を吸収するためにカーボンニュートラルであることから、実質的な二酸化炭素削減に大きく寄与できる。そこで、本研究の目的は、福岡市の和白干潟からスクリーニングした <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 (中温菌) を用いて、藻類 (海藻や微細藻類) を原料とした効率的な微生物学的嫌気性発酵法を用いた水素生産プロセスを開発することである。本研究の遂行のために以下の2つの実験を実施した。(1) 窒素源としてのカザミノ酸を用いた場合の <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 に最適な培地条件を把握するために、炭素源、ビタミン類や微量元素 (ミネラル) 類などの水素生産に及ぼす影響を調査した。(2) 藻類を原料として用いた場合の水素生産について、海藻と微細藻類の混合比率を変化させてできるだけ窒素源としてのカザミノ酸、ビタミン類や微量元素 (ミネラル) 類などの使用量を減じる (これによりコスト減が見込める) ことができる条件を調査した。</p> <p>本博士論文は5章で構成されており、その内容は以下の通りである。</p> <p>第1章では、本研究の背景と目的、本論文の構成について述べている。</p> <p>第2章では、微生物学的水素生産 (水素発酵) に関する従来の研究についてまとめている。</p> <p>第3章では、窒素源としてのカザミノ酸を用いた場合の <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 による水素生産が加速できるような培地条件を把握するために、最適な炭素源、ビタミン類や微量元素 (ミネラル) 類などの最適配合量について実験を行い、その影響を明らかにした。</p> <p>第4章では、2種類の藻類を原料として用いた場合の <i>Clostridium butyricum</i> RAK25832 による水素生産について、海藻 (<i>Ulva lactuca</i>) と微細藻類 (<i>Chlorella fusca</i>) の混合比率を変化させてできるだけ窒素源としてのカザミノ酸 (これが培地組成の中では最も高価)、ビタミン類や微量元素 (ミネラル) 類などの使用量を減ずることができる (これによりコスト減が見込める) 条件を把握するための実験を行い、それを明らかにした。</p> <p>第5章では、以上をまとめて結論とし、今後の展望について述べている。</p> <p>公聴会には、学内外から25名の参加があり、活発な質疑応答がなされた。公聴会での主な質問内容は、</p>			

①窒素源としてカザミノ酸を用いているが、単体のアミノ酸でも *Clostridium butyricum* RAK25832 による水素発酵が可能なのか、②この研究では廃棄された藻類を原料として水素発酵を行っているが、*Clostridium butyricum* RAK25832 そのものも増殖するので、それも原料として水素発酵が可能であるか、③カザミノ酸は窒素源であるのみならず、*Clostridium butyricum* RAK25832 の代謝にも影響するのではないか、④なぜ、窒素源として酵母エキスからカザミノ酸に変更することを試みたのか、⑤*Clostridium butyricum* RAK25832 による水素発酵は30℃で行っているがその理由は何か、⑥この水素生産プロセスを実用化するにあたってコストが重要となると考えられるが、どのような課題があるか、⑦この水素発酵の残渣として発酵廃液中にまだ有機物が残存していると考えられるが、これをどう有効活用するのか、など多数であった。

以上のいずれの質問に対しても発表者からの的確で具体的な回答がなされた。

以上より、本研究は独創性、信頼性、有効性、実用性および完成度ともに非常に優れており、博士（学術）の学位論文に十分値するものと判断した。

論文内容および審査会、公聴会での質疑に対する応答などから、最終試験は合格とした。

なお、主要な関連論文の発表状況は下記の通りである（関連論文：2編）。

- 1) Shahira Said Aly, Tsuyoshi Imai, Mohamed Salah Hassouna, Diem-Mai Kim Nguyen, Takaya Higuchi, Ariyo Kanno, Koichi Yamamoto, Rinji Akada, Masahiko Sekine, Identification of factors that accelerate hydrogen production by *Clostridium butyricum* RAK25832 using casamino acids as a nitrogen source, International Journal of Hydrogen Energy, In Press (2017.9 受理).
- 2) Shahira Said Aly, Tsuyoshi Imai, Mohamed Salah Hassouna, Takaya Higuchi, Ariyo Kanno, Koichi Yamamoto, Rinji Akada, Masahiko Sekine, Enhancement of hydrogen production by combining a blend ratio for two types of algal waste biomass and reducing casamino acids supplementation by *Clostridium butyricum* RAK25832, International Journal of Research in Environmental Science, 4(1), pp.9-19, 2018.