

バイオテクノロジー・バイオシステムを利用した地球温暖化の緩和と適応対策

Utilizing biotechnology and bio-system as global warming mitigation and adaptation measures.

We are engaged in Biotechnical Eco-management research for mitigation of Green House Gases (GHGs). The development of efficient microbial processes to produce useful products from waste biomass is a promising route that is expected to contribute to mitigation of GHGs.

We applied the electrochemical cultivation system for a butanol-producing bacterium, *Clostridium acetobutylicum*. An electron as reducing power was supplied to *C. acetobutylicum* by electrolysis from a working electrode at -0.7V (Ag/AgCl). Addition of electron to cell inhibited glucose consumption and increased butanol production. By a reduction of electrolysis time for 10 min at mid-phase, avoidance the inhibition of glucose consumption and increase of butanol production by two times was established. We also aimed at examining the increased efficiency of the microbial conversion of glycerol, a by-product of biodiesel production, to ethanol using electrochemical cultivation. We examined the conversion of waste glycerol by a microbial consortium and attempted to isolate the target microorganism. In an anaerobic culture bottle, we dissolved 2 types of waste glycerol in 100 mL of a microbial consortium to achieve a final concentration of 10 g/L. The suspensions were incubated at 30 degree C for 3 weeks. Therefore, the conditions for microbial activity on both types of waste glycerol were the same as those for microbial activity on pure glycerol. Furthermore, microbial activity was enhanced up to 1.3-1.5 times by using potential-controlled cultivation at -0.6 V (vs Ag/AgCl). We proposed the novel electrochemical cultivation system for biorefinery processes in these ways.

東日本大震災を挟んだここ数年、世界や日本の各地で起こる経済危機、紛争、自然災害等は、社会がとるべき地球温暖化問題への対応の基本姿勢である、エネルギー安全保障、経済性、環境保全(3E)の同時達成を困難なものとした。では、社会がとるべき新たな選択はどのようなものであるか。その選択に関する様々な議論が、始まっている。

世界的にも国内的にも、長期的な温室効果ガス (Green House Gases:GHGs) 排出削減の見通しが不透明なうえ、温暖化対策の水準が不確実な状況が長期に亘る中で、社会はいかに地球温暖化問題に対応すべきか。その対応策の一つとして、再生可能エネルギー (≒新エネルギー) や省エネルギーを最大限に進めることがある。しかしながら、新エネルギーや省エネルギーには、普及を妨げるもの=「ギャップ」と「バリア」が存在する。新エネ・省エネのギャップやバリアを克服するために、戦略的な「技術設計」や「研究開発」、そして「制度設計」が重要となる。

バイオエコマネジメント学分野では、新エネルギー・省エネルギーや資源リサイクルについてバイオテクノロジーやバイオシステム、環境計測技術の研究開発を行っている。これまで、新エネの一つバイオマスに関わり、微生物と電気を利用した「電気培養法」を廃棄物系バイオマスからの有用物質生産やエネルギー回収への適用することを最終目標として、その技術的可能性を示してきた。2012年では、電気を用いた革新的微生物変換技術の開発、さらに、電気を用いた未利用廃棄物系バイオマスからの物質生産の視点

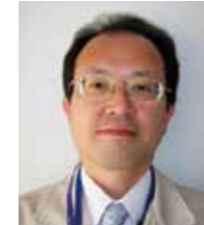
から、研究開発を進めた。

電気を用いた革新的微生物変換技術の開発～還元力の供給によるブタノール増産とそのメカニズム～

微生物の発酵機能を利用した、再生可能資源である未利用バイオマスからのバイオ燃料生産が注目されている。エタノールより単位容量当たりのエネルギー価が高く次世代バイオ燃料として期待されているブタノールは微生物の発酵により生産されるが、生産に時間がかかる、生産反応に必要な還元力が不足するため生産性が低い、という問題がある。これまでに、電気化学的に微生物によるブタノール生産を早めることに成功しているが、一方、細胞外から電気化学的に還元力(電子)を供給することができれば、ブタノール生産に適した代謝を促進し、ブタノール収率を向上できる可能性がある。このため、電気化学的に電子を供給することによるブタノール収率向上への効果を明らかにした。

(1) 電極から電子を供給することによるブタノール収率の向上

モデル基質としてグルコースを使用し、ブタノール生産菌として *Clostridium acetobutylicum* を対象とした電気培養を実施した。電気化学的にメチルピオロゲンを介して電子を常時供給しながら培養を行ったところ、非通電時と比べてブタノール収率は向上したが、グルコースの消費が



客員教授
渡部 良朋
Visiting Professor
Yohitomo Watanabe



客員准教授
松本 伯夫
Visiting Associate Professor
Norio Matsumoto

抑制された。そこで、通電条件を検討した結果、グルコース消費中期に短時間(10分)通電し電子を供給することにより、グルコース消費の抑制を回避しつつ、ブタノール生産量および収率を最大で非通電時の約3倍向上させることができた (Fig.1)。

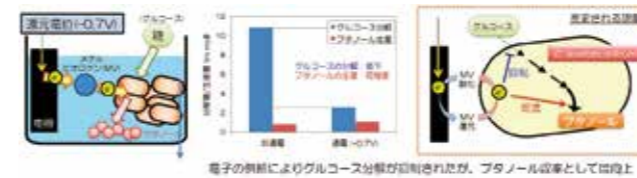


Fig.1 Effect of electron supply on butanol production by *Clostridium acetobutylicum* in the electrochemical cultivation method.

(2) 網羅的代謝産物分析によるブタノール生産促進メカニズムの推定

細胞内の全代謝産物を網羅的に分析し、通電時と非通電時で比較することで代謝に対する通電の効果を評価した。その結果、通電の効果として、細胞内の主な還元力であるNADHが増加する一方で、NADHを消費するアミノ酸など菌体構成成分の合成は抑制されることが明らかとなった。この結果は、細胞内の代謝がブタノール生産に適した状態に変化したことを示唆する。ブタノール生産の促進は電子の供給効果だけではなく、細胞内代謝がブタノール生産に適した状態へなったことに起因すると推定された。

今後は、廃棄物系バイオマス(グリセロール、セルロース)の変換に電気化学的な代謝制御手法を適用し、その有効性を評価する。

電気を用いた未利用バイオマスからの物質生産～実廃液を対象としたグリセロール変換微生物の活性評価～

植物由来油からのディーゼル燃料変換の際に生じるグリセロール廃液の有効利用策として、微生物によるエタノールへの変換に着目し、自然界から新たに取得したグリセロール変換微生物群によりグリセロール純品からエタノールへの変換を電氣的に促進できることを既に報告している。一方、グリセロール廃液は種々の不純物も含むため、実廃液を対象としたエタノールへの微生物変換、及び電氣的促進作用は不明であり、更に変換活性を担う微生物属も明らかでない。そこで、グリセロール変換微生物群による実廃液中グリセロールのエタノールへの変換及びその電氣的促進の可能性を検証するとともに、群中の変換活性を有

する微生物属を明らかにした。

(1) 廃液中グリセロールのエタノールへの変換

商業的なディーゼル燃料変換の際に生じた2種類のグリセロール廃液は、成分として40～45%程度のグリセロールを含み、それ以外に微生物の生育を阻害する不純物を含有していた。しかしながら、変換における微生物への阻害効果は小さく、グリセロール純品使用時と同様のエタノールへの変換が生じ、グリセロール廃液に対してもその有用性が確認できた。更に、培養に通電した場合は、30～50%高いグリセロールの変換が観察された。

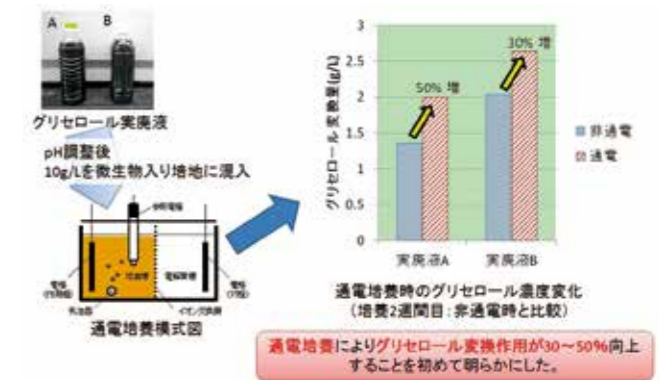


Fig.2 Enhancement of waste glycerol conversion to ethanol by electrochemical control/cultivation method of microorganism.

(2) グリセロール変換活性を有する微生物の解明

グリセロール変換微生物群から活性を有する細菌を単離した結果、Paenibacillus属の近縁種で未同定株であった。この菌は実廃液中でも増殖が確認されており、微生物群中において、グリセロールのエタノールへの変換を担う重要な菌であると考えられた。

今後は、廃液中グリセロールを対象としたエタノール変換の培養工学的な最適化、エネルギー収支の評価を検討し、変換プロセスとしての成り立ちを調べる。