

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・適応対策ならびに環境計測技術

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

We are engaged in Biotechnical Eco-management research for mitigation of Green House Gases (GHGs) and environmental analysis/monitoring.

1. We applied the electrochemical cultivation system for a bio-ethanol production from glycerol.

Glycerol is produced as a byproduct in biodiesel fuel (BDF) production. We investigated the conversion activity against crude glycerol, and numerically simulated the performance of ethanol production under continuous cultivation. We investigated their ethanol-producing activity from pure glycerol under high pH conditions. The ethanol conversion ratio (ethanol production/glycerol consumption) was maintained from pH 7 to 9 at approximately 90% for NS-1 strain. A numerical growth simulation for continuous cultivation of ethanol production from crude glycerol was performed using the NS-1 strain. In this simulation, the initial glycerol concentration was assumed to be 50 mM, and maintained at this level while crude glycerol was periodically added. Consequently, the ethanol concentration reached a final level of 600 mM, which is the highest concentration level reported to date.

2. We developed the novel biosensor using nano-micro technology/imunoassay for sensitive analysis of environmental mercury.

We apply the simple analysis for standard environmental samples. First, pressure driven flow control was tested and then, appropriate Solid-phase extraction (SPE) condition was found at optimized flow rate. Next, mercury enrichment by increasing of sample volume applying for SPE was developed. By adding 50 mL of sample solution, 6-fold sensitive detection was achieved compared to no-enrichment experiment. Furthermore, developed simple analysis was applied for standard environmental samples (river water and coal ash). For SPE based mercury extraction, river water spiked with environmental limit level of mercury and elution with coal ash spiked with criterion level of mercury for land filling disposal were prepared and processed. Effluent after SPE was determined by using microfluidic mercury immunoassay. Accordingly, good recovery rate for river water and elution with coal ash were achieved.

1992年にリオデジャネイロ(ブラジル)で開催された“地球サミット”は、我々人間が抱える「環境」の「問題」を認識させ、2つの国際条約(地球温暖化防止枠組み条約、生物多様性条約)を生み出した。20年後の2012年、“国連持続可能な開発会議(リオ+20)”では、グリーン・エコノミーならびに持続可能な開発の組織的フレームワークがキーワードとなり、「環境」の「問題」の具体的な解決に向けての「実現可能な取り組み」についての認識が高まった。

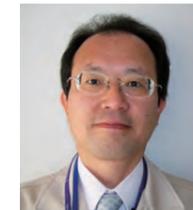
2011年の東日本大震災の以前と以降では、我々が捉える「問題」(論議の対象= issue)の認識が変わった。以前において重要であったもの正しかったものの優先事項が低位に下がり、以降に優先的となった「論点」について明確化と議論が進んだ。「環境」の「問題」の具体的な解決に向けての「実現可能な取り組み」も、震災から3年を経て今「論点」と認識し、議論を進めていく必要性がある。

世界的にも国内的にも、長期的な温室効果ガス(Green House Gases:GHGs)の排出は増加を続けている。温暖化の影響は、もはや避けては通れない。我々はいかに地球温暖化問題に対応するべきか。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)や省エネルギーがあ

る。バイオエコマネジメント学分野では、再生可能エネルギー・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の適用を図っている。これまで、再生可能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。2013年では、“電気培養法”を用いた未利用廃棄物系バイオマス(グリセロール)からのバイオエタノール生産技術の開発と、さらに環境中化学物質の迅速測定技術の開発を進めた。

1. 微生物電気培養法を用いた未利用廃棄物系バイオマス(BDF 副生グリセロール)からのバイオエタノール生産

植物油からバイオディーゼル燃料(BDF)に変換する際にアルカリ性のグリセロール廃液が副生する。グリセロール廃液は微生物の作用により有用物質へ転換することが可能であり、我々は既にエタノールを生産する新規の微生物2種類を取得することに成功した。実用的なグリセロール廃液の利用においては、アルカリ環境下における微生物のエタノール生産が求められるとともに、連続的培養の際の



客員教授
渡部 良朋
Visiting Professor
Yoshitomo Watanabe



客員准教授
松本 伯夫
Visiting Associate Professor
Norio Matsumoto

エタノール生産性を見積もる必要がある。そこで、エタノール生産微生物のアルカリ環境下でのエタノール生産活性を調査するとともに、連続培養の際のエタノール生産性をシミュレーションにより予測した。

(1)エタノール生産微生物のアルカリ環境下でのエタノール生産性調査

所有するエタノール生産微生物(NS-1株、NS-3株)のアルカリ環境下でのエタノール生産活性を調べるため、pH7~9における培養試験を行った。両菌株ともにエタノール生産量はpHの影響を受けず、NS-1株では90%を超える高い変換効率(エタノール生産量/グリセロール消費量)を示した。さらに、NS-1株を使用しpH未調整の不純物を含むグリセロール廃液(pH=9)からのエタノール生産試験を実施したところ、pHを調整した場合(pH=7)と変わらないエタノール生産が認められた。アルカリ環境下でグリセロールからエタノールを生産した報告例はこれまでになく、初めての事例である。

(2)微生物反応の数式化による連続培養時のエタノール生産性予測

NS-1株の培養結果を基に微生物反応を数式化し、グリセロール廃液からエタノールを生産する連続培養のシミュレーションを実施した。培養器中のグリセロールがゼロに達した時点で培養液の5%を回収しグリセロール廃液を添加する操作を約500日繰り返すことで、現状の最高値(28.1g/L)に匹敵する約600mM(27.6g/L)のエタノールを定常的に生産可能と予測された。さらに、培養に用いる微生物の密度を10倍に維持することで、定常生産に達するまでの期間を約45日に短縮できると推定された(Fig. 1)。

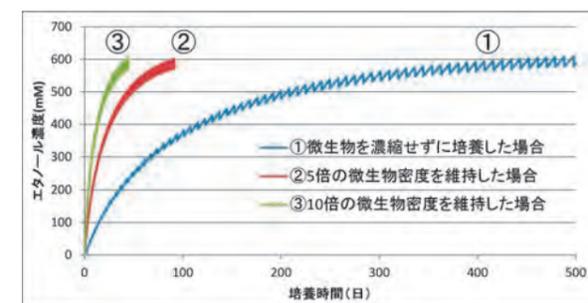


Fig.1 Continuous ethanol production by NS-1 strain from glycerol-liquid culture simulation results.. (quoted from Matsumoto *et al* (2013))

2. ナノ・マイクロテクノロジー利用生物計測技術の開発と標準環境試料の分析

世界的な水銀規制の強化を受けて、環境中や廃棄物中の水銀を分析する機会が増加しており、測定時間を要する機器分析に加えて、短時間で分析を可能とする簡易分析の実用化が望まれている。そこで、イオン交換樹脂を用いた固相抽出とマイクロ流体デバイスを利用した高感度イムノアッセイに基づく、新しい簡易水銀分析法を構築した(Fig.2)。この方法についてさらに、環境試料への適用性を評価した。

(1) 固相抽出の迅速化と簡易水銀分析の高感度化

固相抽出時の試料送液速度を制御し、水銀に対する選択性を損なわずに操作の迅速化を達成した。さらに、固相抽出時の送液量の増加が、固相への水銀の吸着(濃縮)と検出下限に与える影響について検討した結果、分析感度の大幅な向上を達成した(検出下限値0.12 μg/L)。この分析感度はイムノアッセイに基づく水銀分析法として世界最高値である。

(2) 標準環境試料の簡易水銀分析

河川水および石炭灰溶出液に対して、微量の水銀を添加し、改良した簡易水銀分析に供した。その結果、河川水では環境基準値(0.5 μg/L)、石炭灰溶出液では埋立処分判定基準値(5 μg/L)において、試料溶液に含まれる水銀を定量できた。

以上から、本手法は河川水および石炭灰溶出液に対して、基準値付近における優れた分析性能を有することが示された。

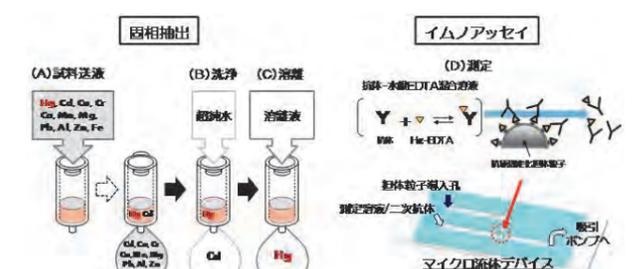


Fig.2 Simplified mercury ion (Hg^{2+}) analytical technique based on solid-phase extraction followed by microfluidic immunoassay. (quoted from Date *et al* (2013))