

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22656191

研究課題名（和文）

バイオ燃料に適した燃えやすく発熱量の大きい微生物を簡便に選択する新技術への挑戦

研究課題名（英文）

Development of new simple technology for screening microorganisms that evolve large exothermic heat when they are burnt in air

研究代表者

大竹 久夫 (OHTAKE HISAO)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：10127483

研究成果の概要（和文）：微生物を対象とした示差熱・熱重量同時測定において、通常の直線的な温度上昇プログラムでは、複雑な発熱ピークが重なり合い正確な発火点の決定が難しく、発熱量の正確な計測ができないことがわかった。そこで、湿重量の異なる 2 つのサンプルを用いベースラインの変動を打ち消すことのできる質量差分法を採用し、温度上昇プログラムに段階的に電気炉温度を上昇させる方法を用いることで測定ピークの重なりを分離して計測できることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The simultaneous thermogravimetry (TG) and differential thermal analysis (DTA) was applied to microorganisms to examine the potential of a thermal technique for screening oleaginous microorganisms. Thermal behaviours of oleaginous and non-oleaginous microorganisms were investigated by using the mass-difference baseline method. To resolve overlapping DTA peaks, a two-step linear temperature program was examined for discriminating oleaginous and non-oleaginous microorganism. When this method was applied to microorganisms, a marked difference in heat energy between oleaginous and non-oleaginous microorganisms was detected in the temperature range from 280 to 360 °C.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	0	1,700,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	390,000	3,390,000

研究分野：生物化学工学

科研費の分科・細目：プロセス工学・生物機能・バイオプロセス

キーワード：燃料用微生物、燃焼性、発熱量、示差熱・熱重量同時測定

## 1. 研究開始当初の背景

地球温暖化ガス発生量を削減するため、多

量の炭化水素を細胞内に蓄積する微生物  
Oleaginous microorganisms (OMs) への関

心が高まっていた。OMs として知られる微細真核藻類の他にも、シアノバクテリアやカビなどにも、炭化水素や脂肪を細胞内に多く蓄積するものが見つかった。当時、国内・国外を問わず、OMs から炭化水素や脂肪を抽出して、バイオ燃料を生産しようとする研究が盛んに行われていたので、発火温度が低く燃焼時の発熱量も大きい微生物を見つけることのできる簡便な方法を開発すれば、微生物細胞そのものを微生物燃料として直接利用できる技術へ発展することが期待された。

## 2. 研究の目的

燃えやすく発熱量も大きい微生物を見つけることができれば、新しい微生物燃料の開発につながることを期待できる。しかし、燃焼特性と発熱量を簡便に測定することにより、燃料用微生物を見つける技術はまだ確立されていない。純粋な化学物質の燃焼特性の分析法としては、示差熱・熱重量同時測定法が知られているが、微生物の様に組成が複雑な有機物試料に適用した例は殆ど報告されておらず、微生物の燃焼温度や発熱量の詳細な解析は行われていない。もともと、生物学やバイオの分野では、示差熱・熱重量同時測定法が研究に用いられた例も非常に少なく、その原理も余り知られていない。組成の単純な鉱物や化学重合体などを対象として開発された示差熱・熱重量同時測定法を、微生物細胞のように多様な有機物を含む試料に適用する場合、測定曲線が非常に複雑となり結果の解釈が難しくなる。したがって、解析方法も新たに開発する必要がある。本研究の目的は、①組成が複雑な微生物細胞の燃焼特性や発熱量を、示差熱・熱重量同時測定装置を用いて解析できる手法を確立し、②多様な微生物の燃焼温度と発熱量を直接測定することにより、③新しい燃料用微生物を探索するための汎用的な技術を開発することである。

## 3. 研究の方法

示差熱・熱重量同時測定装置を用い、大腸菌、疎水性放線菌、酵母、油糧蓄積カビなどのモデル微生物を対象に、微生物細胞の発火温度や燃焼時の発熱量などを詳細に計測する。微生物試料への示差熱・熱重量同時測定法の適用に当たっては、試料調製法、加熱方式やデータ解析方法を工夫して独自の技術として確立する。油糧蓄積カビの発熱量測定結果を大腸菌や酵母などの測定結果と比較することにより、示差熱・熱重量同時測定法により、燃えやすく発熱量も大きい微生物を簡便に識別できる指標を探し出す。これらの研究成果に基づき、燃えやすく発熱量も大きい微生物を簡便に選別できる装置を考案するとともに、実際に低炭素型社会に求められる新しい燃料に適した微生物を見いだすこ

とにより、本技術の有効性を実証する。

## 4. 研究成果

純粋な化学物質の燃焼特性や発熱量の測定法には、示差熱・熱重量同時測定法が知られているが、これまで微生物試料に適用された例は殆どなく、微生物細胞の燃焼開始温度や発熱量などについての詳細な解析は、まだ行われていない。微生物細胞のように多様な有機物を含む試料の場合、測定 peak が重なるなど既往の解析方法では結果の読み取りが難しくなり、これが示差熱・熱重量同時測定法を微生物試料に適用できなかった主な理由と考えられる。

微生物試料に示差熱・熱重量同時測定法を適用できる条件を探索するため、まず大腸菌、疎水性放線菌 *Rhodococcus opacus* および酵母 *Saccharomyces cerevisiae* をモデル微生物に選び、示差熱・熱重量同時測定装置を用いて熱分析を行い、試料調製法、加熱方式やデータ解析の方法を子細に検討した。示差熱・熱重量同時測定には、当研究室で保有している島津示差熱・熱重量同時測定装置 DTG-60/60H を用いた。本装置により、試料と基準物質を天秤ビームの両端に配置した支持棒を使用して加熱炉内に保持し、示差熱分析と熱重量分析を同時に実行することができた (図 1)。

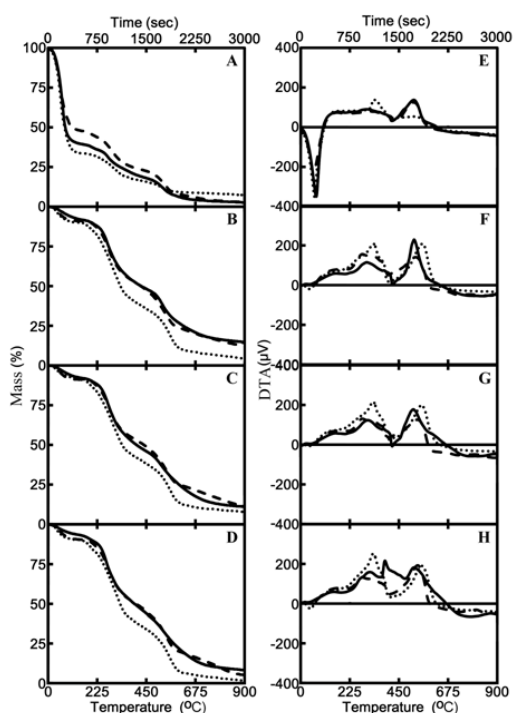


図 1 モデル微生物の DTG-TG 曲線

次に、OMs として知られているカビの *Mortirella alpina* IFO3228 株の燃焼特性が

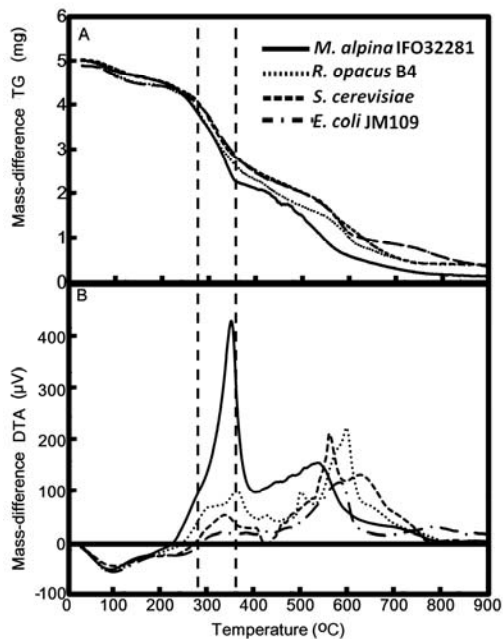


図2 Stepwise 加熱法による DTG-TG 曲線

らも、280°Cから 360°Cの温度領域において、明確な発熱現象が観察されることがわかった(図2)。この特定温度領域における発熱量を、大腸菌や酵母などの対照微生物のそれと比較したところ、脂肪酸蓄積微生物と非蓄積微生物では、この特定温度領域における細胞乾燥重量当たりの発熱量が、互いに大きく異なることが確認できた。DTA curve のピーク面積より求めた油糧蓄積カビ *Mortirella alpina* の発熱量は、約 11.5 kJ/g であり、この値は、大腸菌 JM101 株、疎水性放線菌 *R. opacus* や酵母 *S. cerevisiae* の発熱量の 3-5 倍も大きいものであった(図3)。

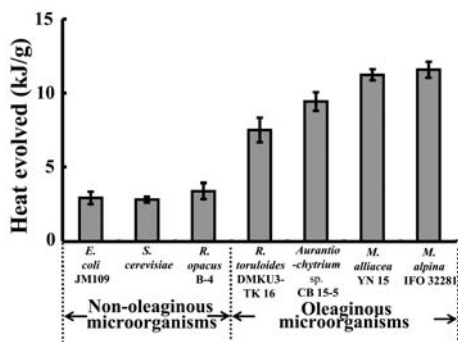


図3 微生物細胞による発熱量の差異

これらの結果から、微生物試料の熱測定により、燃えやすく発熱量も大きい微生物を簡単にスクリーニングできる機器開発のヒントを得ることができた。すなわち、この温度

領域で燃焼熱測定を行えば、熱測定だけで燃えやすい微生物を選択できる可能性がある。一方、微生物細胞は燃焼過程において大きな重量変化を示すが、その際に示差熱分析のベースラインが大きく歪むことが見出された。その対策として、重量の異なる2つのサンプルを用いて示差熱分析を行い、両者のデータの差分を取ることにより、このベースラインの歪みの影響を最小限に抑えることが可能であることも分かった。

今後は、特定の温度領域における試料の発熱量を測定するだけで、簡便に燃料用微生物の選別ができる装置を考案し、低炭素型社会に求められる新しい燃料用微生物を実際に探索することで、その技術の有効性を実証したい。また、学術的には、①微生物の燃焼開始温度は何により決まるのか、②複雑で多様な有機物からなる微生物は、どの温度で最も良く燃焼し最大の燃焼熱を発生するか、③燃焼温度と発熱量にはどのような関係があるかなど、微生物の燃焼特性に関する学術的知見を得て行きたいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

①Kang, B., Honda, K., Okano, K., Aki, T., Omasa, T., and Ohtake, H.

Thermal analysis for differentiating between oleaginous and non-oleaginous microorganisms.

Biochem. Eng. J., 57: 23-27 (2011).

②Kang, B., Honda, K., Aki, T., Omasa, T., and Ohtake, H.

Simultaneous thermogravimetric and differential thermal analysis of microorganisms for assessing their burning characteristics.

Thermochim. Acta, 517: 115-120 (2011).

[学会発表] (計4件)

①Kang, B. M., Honda, K., Aki, T., Omasa, T., Ohtake, H.; "A new methods for screening oil-producing microorganisms". International Conference on Algal Biomass, Biofuel & Bioproducts, 2011, July, 17-20th, St. Louis, U.S.A (Poster presentation).

②Kang, B. M., Honda, K., Aki, T., Omasa, T., Ohtake, H.; "A new methods for screening oil-producing microorganisms". IUPAC International Congress on Analytical Science, 2011, May, 22-26th, Kyoto, Japan (Poster presentation).

③Kang, B. M., Honda, K., Aki, T., Omasa,

T., Ohtake, H.; “A new methods for screening oil-producing microorganisms” . International Conference on Water Reuse and Desalination, 2011, April, 11-13th , Dague, South Korea (Poster presentation).

④Kang, B. M., Honda, K., Aki, T., Omasa, T., Ohtake, H.; “Simultaneous thermogravimetry and differential thermal analysis for comparing burning characteristics between oleaginous and non-oleaginous microorganisms” , The Japanese Society for Promotion of Science, JSPS and The Swedish University of Agricultural Sciences, SLU workshop, 2010, June 22-23th, Krusenberg, Uppsala, Sweden (Oral presentation).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大竹 久夫 (OHTAKE HISAO)  
大阪大学・工学研究科・教授  
研究者番号：10127483