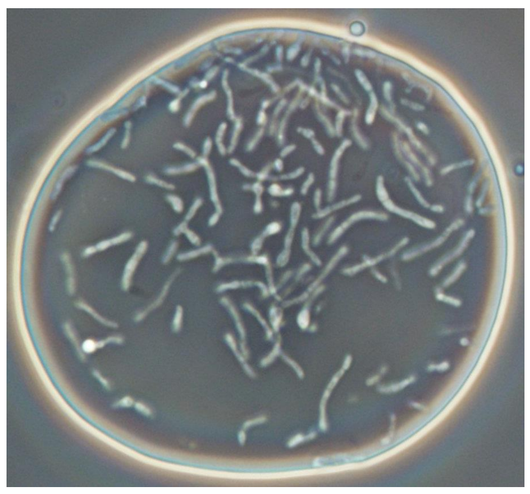
含細胞ミセル液の水環境汚染浄化への応用

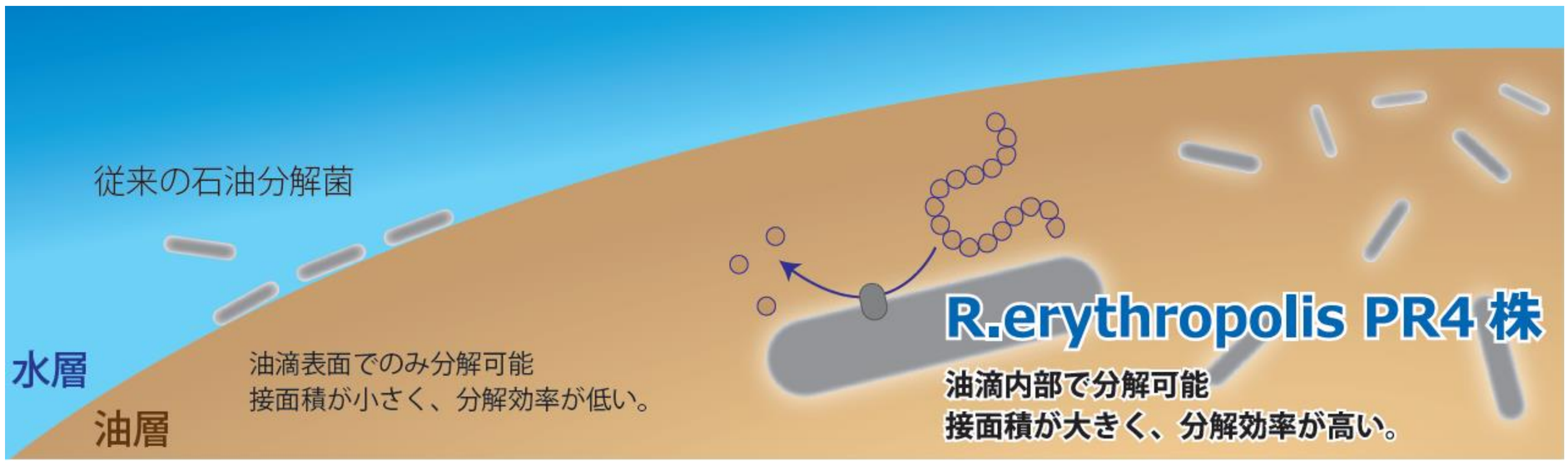
生物資源科学部　応用生物科学科　准教授　岩淵　範之

目的・背景

廃水処理業界で渇望されている低コスト・ローテクノロジーからプラント対応までを可能とする高機能な新規微生物製剤の開発を目指す。具体的には、oil in water (o/w)エマルションのオイル相に、有機溶媒中で増殖できる炭化水素分解菌である*Rhodococcus*属細菌を、空間的位置を制御して配置した微生物製剤を開発する。そのため、超音波処理機を用いて平均粒径、平均細胞密度の違う各種o/wエマルション溶液を作製し、その炭化水素分解活性を検討する。最適条件を導き出した後、続いて、廃油を対象とした試験プラントを利用し、その効果を検討し、実用化を目指す。



***R. erythropolis* PR4**

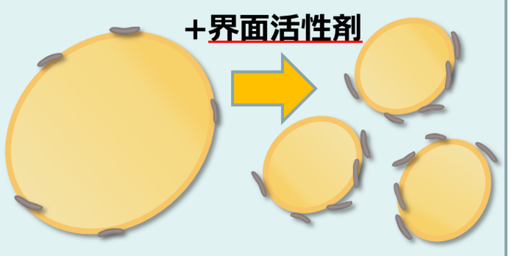


BR、水処理におけるbioavailablityの問題

Bioavailability

低い　　高い

+界面活性剤



・界面活性剤の毒性、環境負荷大

・基質と分解菌の反応は界面に限られる

PR4株の場合

有機溶媒の内部で生育

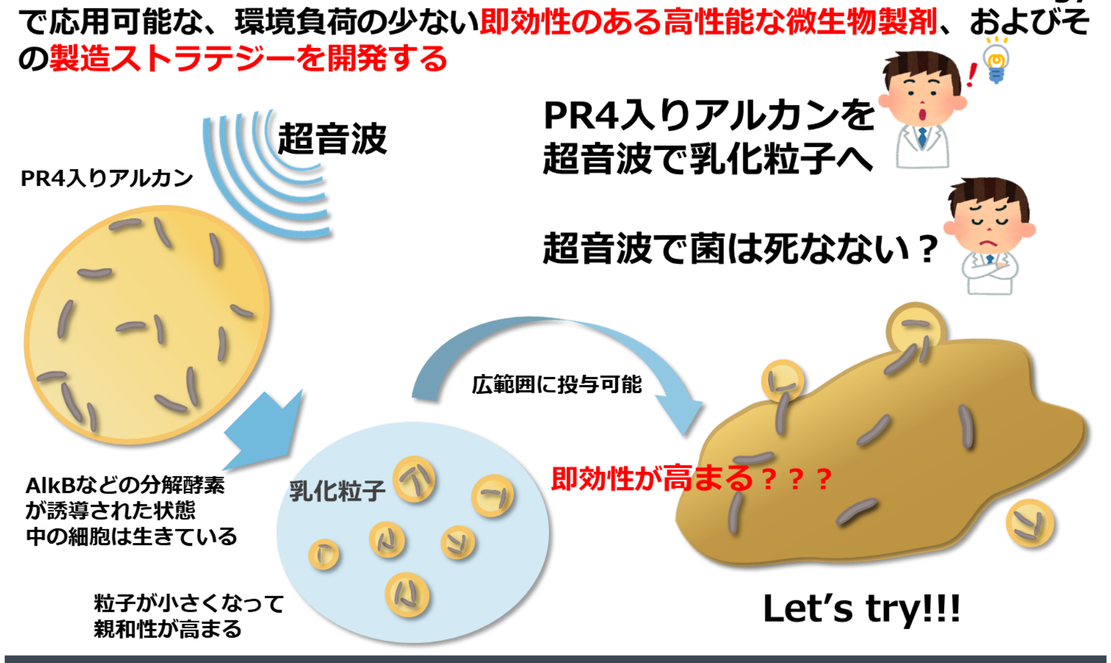
・１菌体当たりの基質との接触面積が大きい→分解効率の上昇

・PR4にはbioavailabilityを無視できるポテンシャルがある

BR、水処理業界からPR4株を使った微生物製剤の開発に期待感

PR4を使った微生物製剤のニーズと開発コンセプト

中小企業や国外の排水処理プラントでの使用を対象とした、low technologyで応用可能な、環境負荷の少ない即効性のある高性能な微生物製剤、およびその製造ストラテジーを開発する



原理・方法

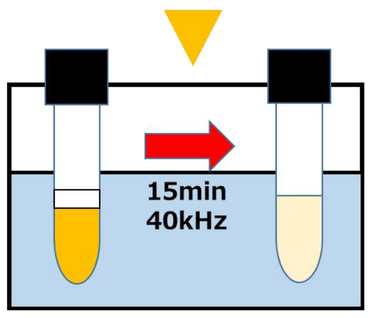
超音波処理条件の検討

市販の超音波洗浄機を用いて、

1　PR4株の培養液が乳化されるか？

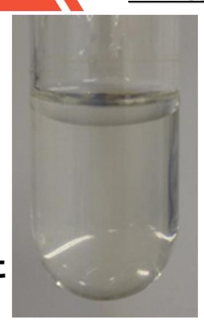
2　乳化に適したアルカン

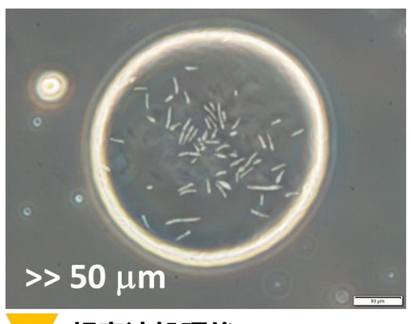
3　乳化に適した培地等を検討した



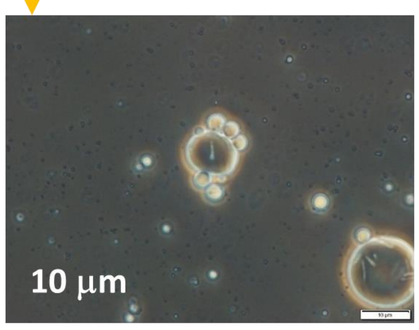
用いる培地に関係なく転移型のアルカンでは、乳化が可能であった。

MM培地にヘキサデカン(C16)を添加

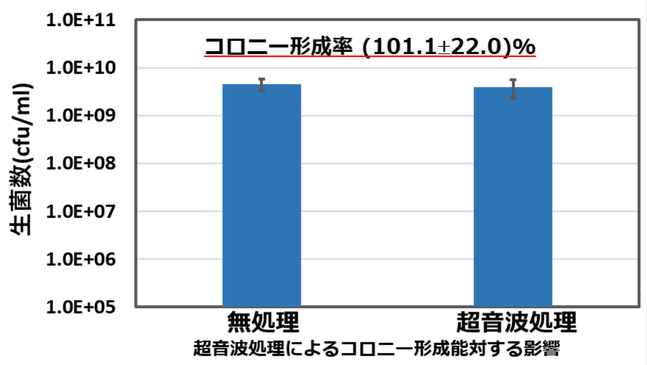




超音波処理後



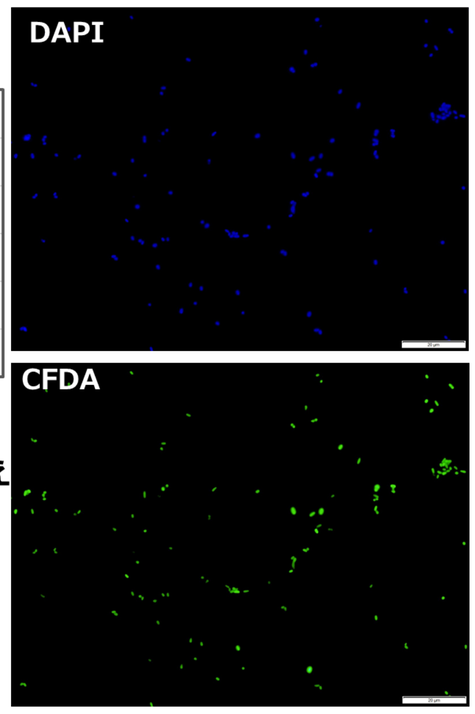
超音波処理のPR4に対する影響



☞超音波処理はPR4株の生菌数に影響を与えなかった。

☞超音波処理をしてもPR4株の各種活性は維持されていると考えられた。

☞続いて乳化した溶液の石油分解活性を検討した。



生菌率 (95.4±0.2)%

自主創造
日本大学
NIHON UNIVERSITY

日本大学産官学連携知財センター（NUBIC）

〒102-8275　東京都千代田区九段南4-8-24　日本大学会館
Tel: 03-5275-8139　Fax: 03-5275-8328　E-mail: nubic@nihon-u.ac.jp　http://www.nubic.jp

Nubic

含細胞ミセル液の水環境汚染浄化への応用

生物資源科学部　応用生物科学科　准教授　岩淵　範之

結果・まとめ

乳化サンプルのw-oilの分解への影響

・1)～3)各培養液の菌数は10^6 cells/mlに調整

1) 未処理 → C16 (0.01 ml)とMM培地に懸濁したPR4株(0.1 ml)を別々に投与

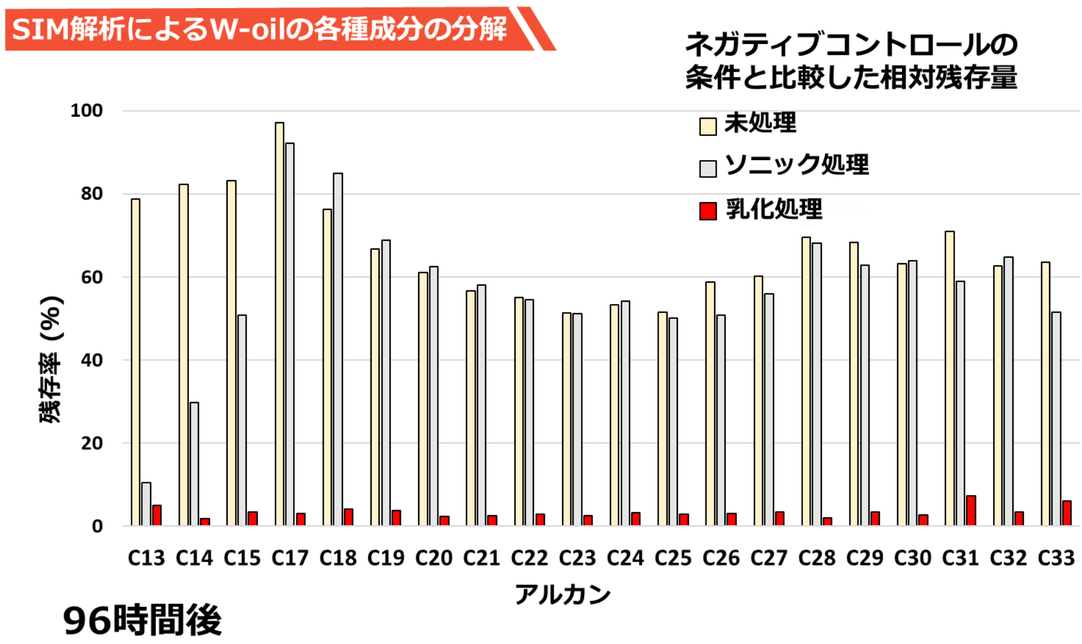
2) ソニック処理 → 一度、C16無しでMM培地に懸濁したPR4株に超音波処理を行ってから投与(0.1 ml)。これとは別にC16を投与(0.01 ml)

3) 乳化処理 → C16相にPR4株を転移させた状態で超音波処理後、投与(0.1 ml)

4) 無菌コントロール→C16だけを投与(0.01 ml)

☞相対残存率(%)= { 1), 2), or 3) / 4) }×100

SIM解析によるW-oilの各種成分の分解



96時間後

☞乳化処理により分解時間が大幅に短縮された

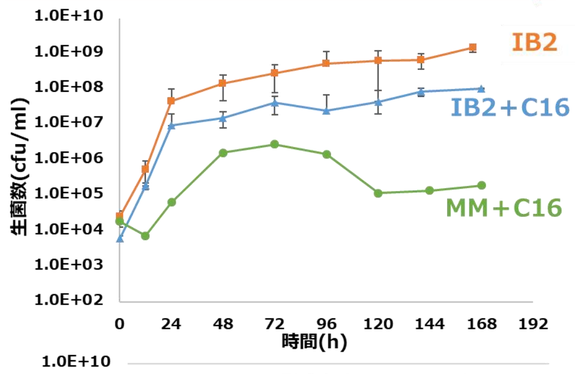
乳化処理前後で局在性の変化しないアルカン分解菌の探索

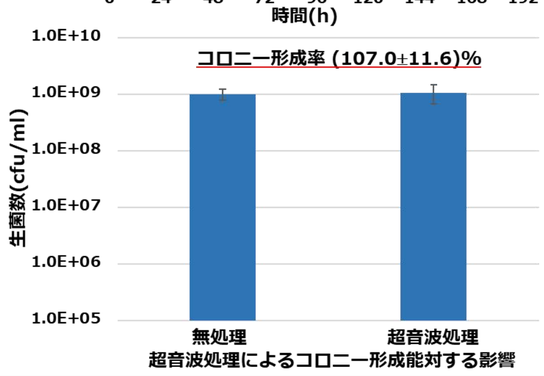
R. rhodochrous ATCC184
R. rhodochrous ATCC271
R. rhodochrous ATCC12674
R. rhodochrous ATCC15905
R. rhodochrous ATCC4001
R. rhodochrous JMC2156
R. rhodochrous JMC2157
R. rhodochrous R-1
R. rhodochrous R-2
R. rhodochrous S-1
R. rhodochrous S-2
R. globerulus ATCC3110
R. globerulus ATCC14898
R. globerulus ATCC15076
R. globerulus ATCC21292
R. globerulus ATCC25669
R. erythropolis ATCC27857
R. erythropolis ATCC47072
R. erythropolis JCM3201
R. erythropolis PR4
R. australis ATCC35215
R. coprophilus JCM3200
R. ruber IFO15591
R. zopfii ATCC51349
Rhodococcus sp. PG7-2
Rhodococcus sp. MSZ1
Rhodococcus sp. MSZ9
Gordonia sp. MSZ6

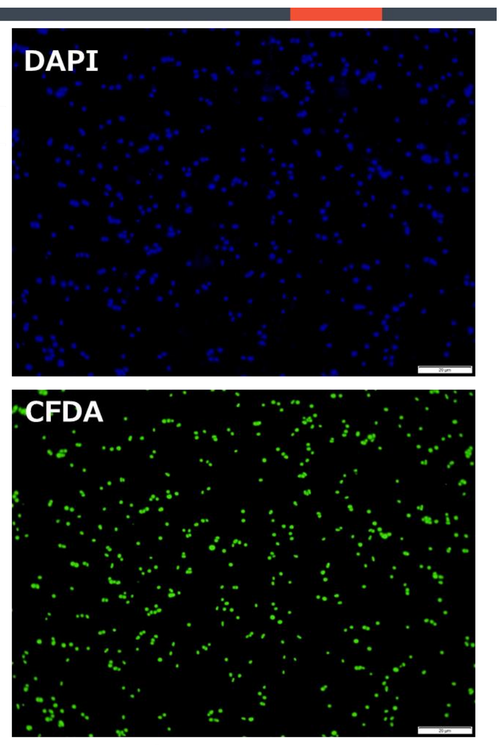
Rhodococcus sp. MSZ1(転移)
Gordonia sp. MSZ6(転移)
Rhodococcus sp. MSZ9(吸着)

・乳化処理前後で局在性が変化しない
・菌サイズ(数μmの粒子にも転移、吸着可)
・1粒子当たりの菌密度

Rhodococcus sp. MSZ1の性質







生菌率 (99.3±0.0)%

乳化サンプルのw-oilの分解への影響

・1)～3)各培養液の菌数は10^6 cells/mlに調整(各株を2.5×10^5 cell/mlで複合)

1) 未処理 → C16 (0.01 ml)とMM培地に懸濁した複合培養液 (0.1 ml)を別々に投与

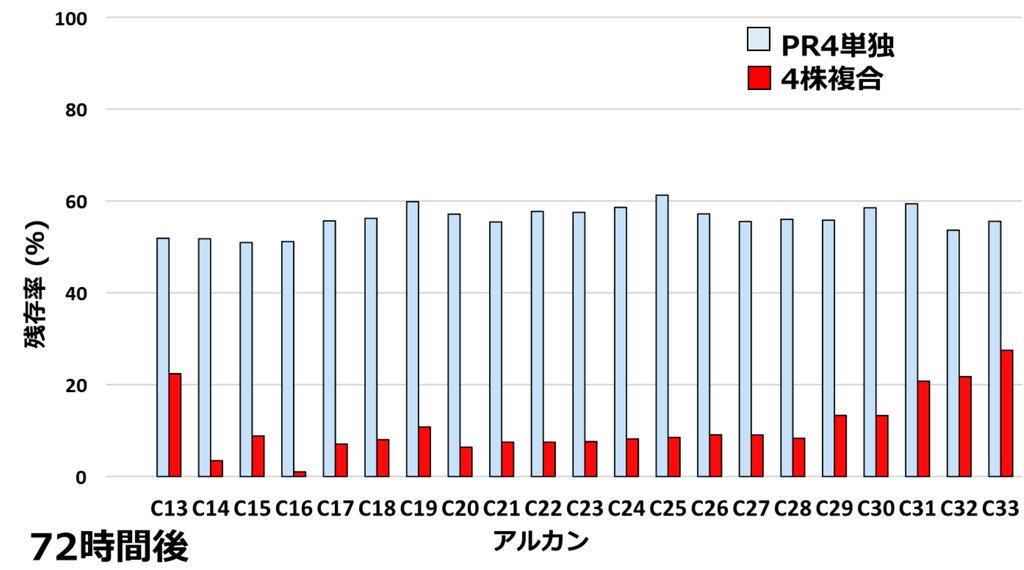
2) ソニック処理 → 一度、C16無しでMM培地に懸濁した複合培養液に超音波処理を行ってから投与(0.1 ml)。これとは別にC16を投与(0.01 ml)

3) 乳化処理 → C16相に各株を局在させた状態で超音波処理後、投与(0.1 ml)

4) 無菌コントロール→C16だけを投与(0.01 ml)

☞相対残存率(%)= { 1), 2), or 3) / 4 } ×100

複合培養ミセル液添加条件でのW-oil分解性



72時間後

☞複合培養乳化液を添加することで、PR4単独の条件より、W-oilの分解が促進されることが確認された。

本研究では、中小企業や国外の排水処理プラントでの使用を対象とした、low technologyで応用可能な、環境負荷の少ない即効性のある高性能な微生物製剤およびその製造ストラテジーを開発することを試みた。その結果、アルカン分解菌複合培養乳化溶液を添加した場合、PR4単独条件より分解に必要な期間が短縮され、最速3日間でアルカン類を分解できることから、今後の実用化が期待される。

自主創造 日本大学 NIHON UNIVERSITY

日本大学産官学連携知財センター（NUBIC）

〒102-8275　東京都千代田区九段南4-8-24　日本大学会館
Tel: 03-5275-8139　Fax: 03-5275-8328　E-mail: nubic@nihon-u.ac.jp　http://www.nubic.jp

Nubic