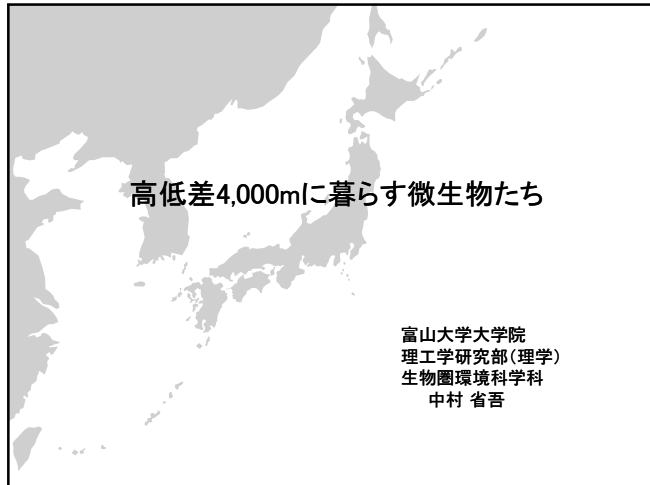




技術士会北陸本部 2015

微生物とは

微生物: microorganism, microbe

肉眼では、はっきり認識できない生物

体長が、数mm以下の生物

ウイルス、細菌、～原生動物、後生動物

分類学的にも広範囲



技術士会北陸本部 2015

微生物の大きさ

mm = 10^{-3} m ミリメートル

甲殻類・群体珪藻・群体らん藻

 $\mu\text{m} = 10^{-6}$ m マイクロメートル

ほとんどの微生物

nm = 10^{-9} m ナノメートル

ウイルス



技術士会北陸本部 2015

微生物の発見

Robert Hooke

Cell(細胞)の発見

生物の基本単位は細胞である



Antoni van Leeuwenhoek

微生物を観察・記録

技術士会北陸本部 2015

Robert Hooke (1635-1703)

自作の複合顕微鏡(約50倍)で

コルクの断片を観察 cellを発見 1665年

「Micrographia」カ・ノミ・カビ(1664年)・コケ

Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723)

雨水、唾液、歯垢

細菌、原生動物、赤血球、横紋筋、昆虫の複眼、動物の精子

単眼式顕微鏡 50-300倍

animalcules 小動物: 微生物

単細胞性: 原生動物、藻類、酵母、細菌

彼が最初に記載 1674~84年

技術士会北陸本部 2015

細胞・微生物を見る道具

光学顕微鏡の歴史

単式顕微鏡 ⇒ 複合顕微鏡

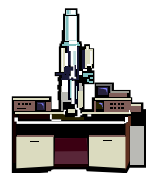
明視野顕微鏡、暗視野顕微鏡

偏光顕微鏡、位相差顕微鏡、微分干渉顕微鏡

蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡

ラマン顕微鏡、X線顕微鏡

原子間力顕微鏡、超音波顕微鏡...



電子顕微鏡の登場

透過型電子顕微鏡、走査型電子顕微鏡

技術士会北陸本部 2015

Chemical Abstracts Service
登録化学物質
11/03/2008 3,968万種以上
11/07/2009 5,088万種以上
05/14/2012 6,665万種以上
05/12/2015 9,705万種以上
日本 日常的に 製造・使用 6万種以上

技術士会北陸本部 2015

これらの化学物質が、
運搬・製造・使用・廃棄などの過程で、漏出する
さらに、 環境中での化学反応
微生物などによる生合成・生分解
ゴミ処分場(埋立、焼却)
下水処理場 副生成物、浸出物

予測困難な汚染物質が混入
非意図的生成物

技術士会北陸本部 2015

生態系:
いろいろな生き物+水・光・空気・土...
地球上のすべての生き物はつながっている
食べる・食われる → 食物連鎖
始まりは、植物: 太陽の光(エネルギー)から
+ 水 + 二酸化炭素 → 炭水化物
光合成
炭水化物を作り出す(生産する)植物は 生産者

植物プランクトン、藻類、草木

技術士会北陸本部 2015

生態系のピラミッド

食べる生き物より
食べられる生き物の
数(量)が多い
それぞれの生き物を
積み重ねると

消費者

生物に影響がある汚染物質は
体にたまりやすい(排出されにくい)
大きな生き物ほど汚染物質がたまりやすい

生産者

生物濃縮

生物多様性

分解者

技術士会北陸本部 2015

生物濃縮

海水(1) PCB
プランクトン(500)
アミ(45,000)
魚(48,000,000)
アザラシ(384,000,000)
ホッキョクグマ(3,000,000,000)

水俣病、イタイイタイ病、環境ホルモン

技術士会北陸本部 2015

北東アジア地域には、さまざまな環境汚染問題がある

放射性廃棄物

黄砂・硫黄酸化物

石油汚染
化学物質汚染

富栄養化

海岸漂着物

日本の環境:
総面積: 3,775 万 m²
平地: 1,300 万 m²
閉鎖内陸: 4-20 万 m²
閉鎖内陸: 40-50 万 m²
閉鎖内陸: 平均120 万 m²
閉鎖内陸: 総面積200 万 m²
閉鎖内陸: 15-20 万 m²

技術士会北陸本部 2015

1. 環境中の汚染物質、土壌、河川、湖沼、地下水などを通じて海洋へ。

2. 閉鎖的な海域である日本海では、汚染物質が溜まりやすい。

3. 土壌や環境水中の汚染物質を、総合的に検出できる方法が、環境の保全で重要になる。

4. 汚染物質を分解、除去できる方法も重要になる。

* 環境水：河川、湖沼、地下水、海水など

技術士会北陸本部 2015

環境水中の汚染物質を検出する

化学分析：何を分析するか決めてから
重金属，界面活性剤，農薬，．．．
環境水中の他の汚染物質を見逃してしまう
生物に影響があるのかわからない
複合汚染

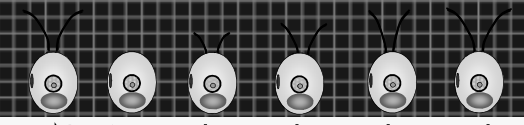
直接，生物を使って，生物に影響があるかどうかで調べよう 環境水中の全ての汚染物質の影響
環境水 → 生物 バイオアッセイ(Bioassay)
環境水中の生物そのものの変化，体内濃度
バイオモニタリング(Biomonitoring)

技術士会北陸本部 2015

ドナリエラ (*Dunaliella* sp.) について



葉緑体を持つ
単細胞緑藻類
体長約 10µm



切断 2時間 4時間 8時間 10時間

技術士会北陸本部 2015

繊毛型運動

鞭毛型運動

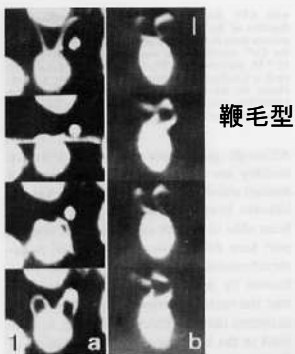


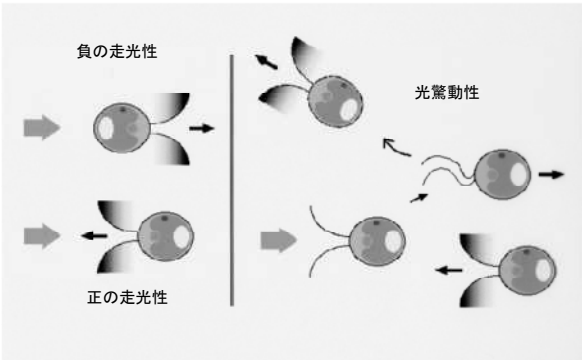
Fig. 1. Photographs from the TV-recordings of the flagellar motion in cells attached to the glass surface. The beating pattern of (a) the wild-type flagella in the forward swimming mode; (b) the RL-10 flagella. Bar, 5 µm.

技術士会北陸本部 2015

負の走光性

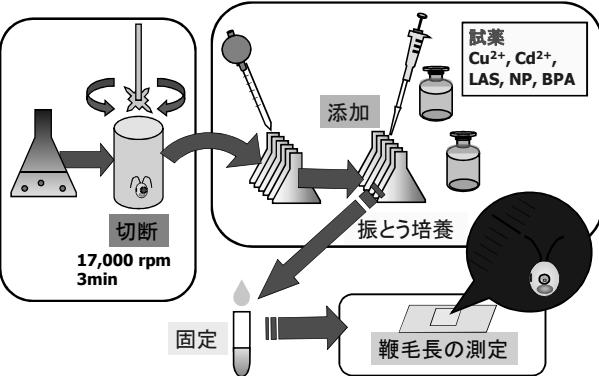
正の走光性

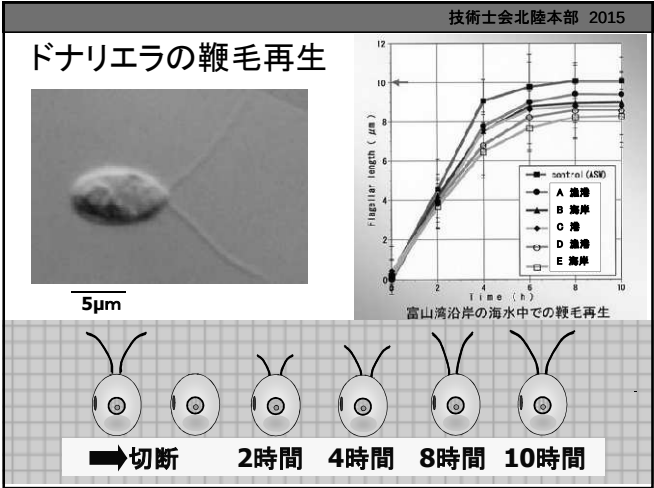
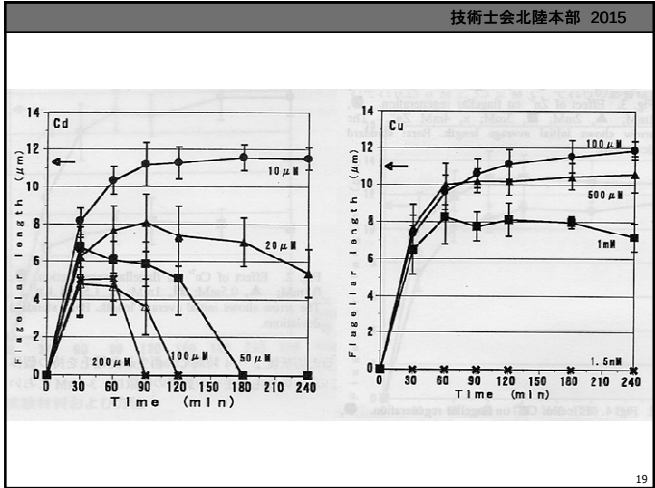
光驚動性



技術士会北陸本部 2015

鞭毛再生実験の方法





技術士会北陸本部 2015

海洋環境の微生物群集によるモニタリング

微生物の種数
細菌: 4万~40万種、微細藻類: 2万~30万種
世界の海洋に、日本の海洋に共通した微生物種
日本海に、富山湾に 沿岸に、沖合に、表層水に、深層水に、
海底堆積層に固有な微生物種
各海域の微生物相を把握する
富栄養化海水が好きな(嫌いな)微生物種
石油が、重金属が、農薬が、洗剤が好きな(嫌いな)微生物種
環境変化に反応する微生物を把握する

バクテリア、動植物プランクトン、海洋動物の卵、胚、幼生
環境保全、海洋生態系の把握、漁業にも有用

技術士会北陸本部 2015

実験方法 ①

表層海水の採取 → プレ濾過 → 減圧濾過

20 μm 0.2 μm S (0.2 – 20 μm)
212 μm 20 μm M (20 – 212 μm)
2 mm 180 μm L (180 μm – 2mm)
- 0.2 μm W (>0.2μm)

技術士会北陸本部 2015

実験方法 ②

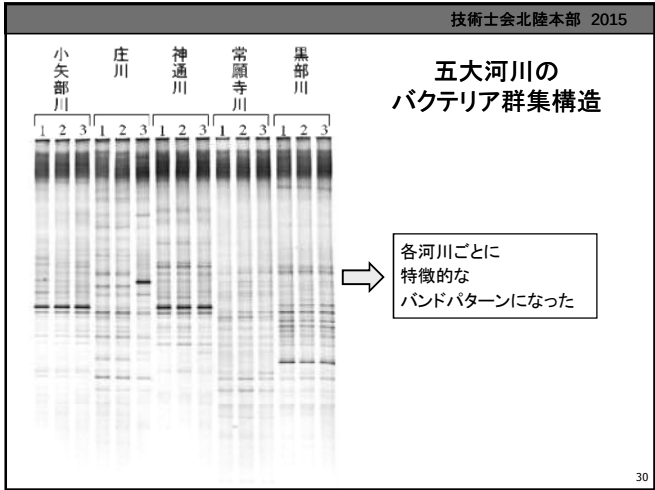
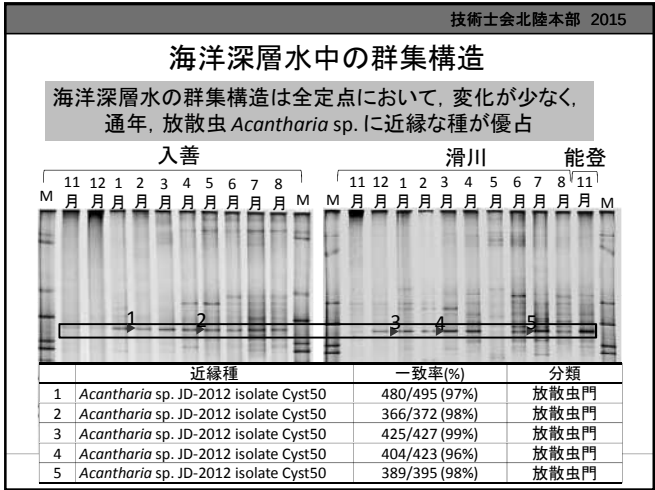
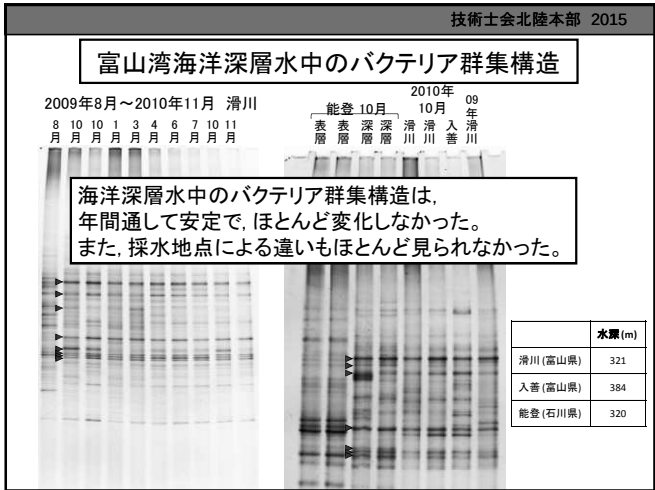
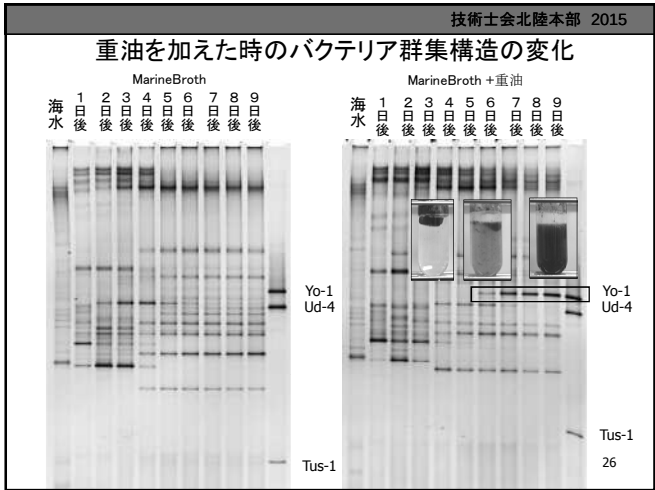
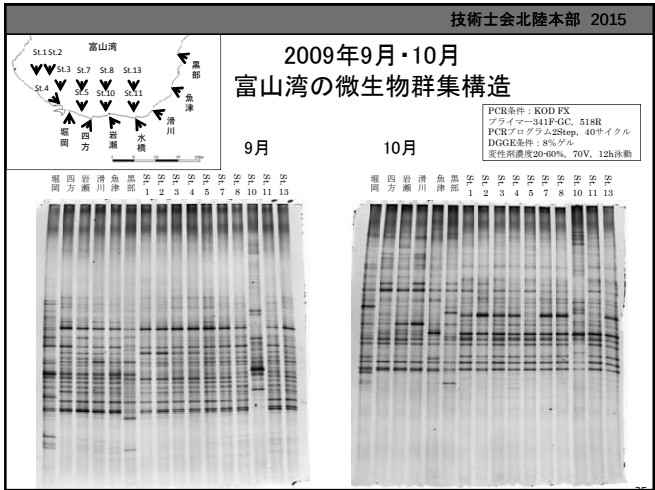
ISOPLANT II によりDNA抽出
18S-rDNAをGCクランプが付加するようにPCRで増幅
GCクランプ: GCのみからなる塩基配列
DGGE法により、バンドパターンを検出
バンドパターンの類似度の比較
主要なバンドが由来する種の同定

技術士会北陸本部 2015

DGGE (変性剤濃度勾配ゲル電気泳動) 法

ほぼ同じサイズでありながら、異なる塩基配列をもつ複数のDNAをそれぞれゲル上の異なる位置にバンドとして分け、検出する方法。

低 ↑ 変性剤濃度 ↓ 高
GC含量 多 GC含量 中 GC含量 少
種ごとにバンドとして分離



技術士会北陸本部 2015

バイオレメディエーション (Bioremediation)
生物を使って、汚染された環境もとに戻そう
汚染環境の浄化技術

1989年 バルディーズ号(エクソン社)の座礁事故
アラスカ湾
石油による海洋汚染
肥料を散布

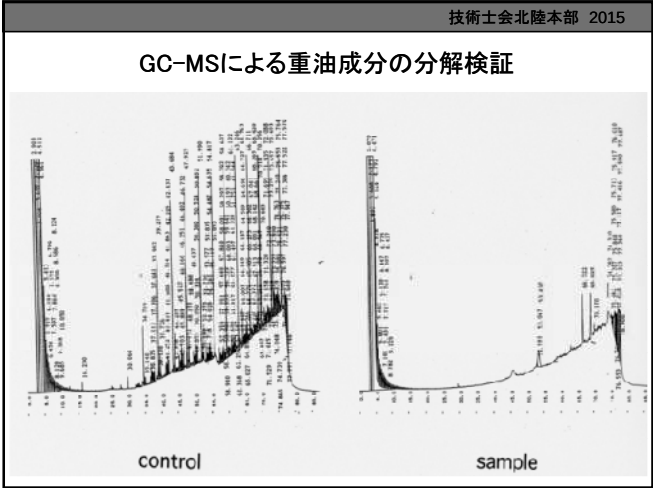
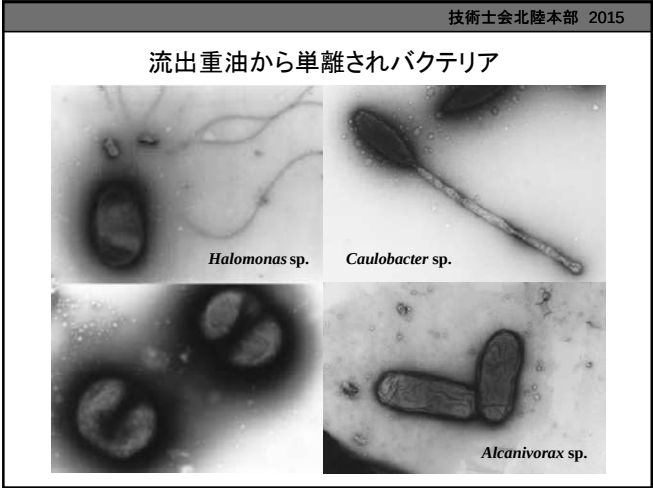
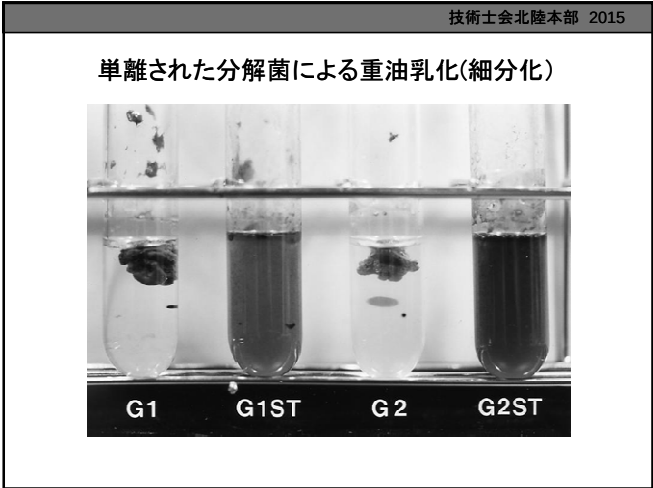
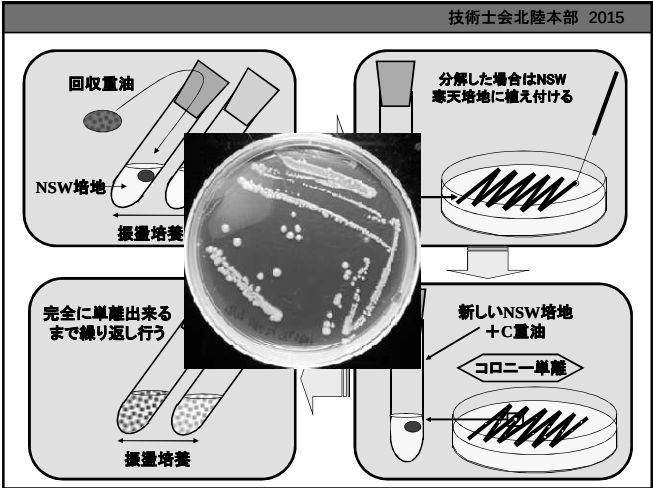
1990年 湾岸戦争
イラク軍の攻撃 クウェート油田破壊
大林組、東京大学、石油産業活性化センター

1997年 ナホトカ号の重油流出事故 三国海岸
物理・化学的(機械的)除去 毒性・地形的困難

技術士会北陸本部 2015

環境汚染を生物で修復
生物的除去 生物環境修復 が効果的

バイオレメディエーション 自浄作用
微生物による環境保全からスタート
活性汚泥 廃水処理
コンポスト 堆肥化 農業・園芸
一般家庭用も販売
家庭から出る生ゴミの減量化
高山のトイレ



技術士会北陸本部 2015

バイオマス

太陽エネルギー → 光合成 → 有機物
(化石燃料)

バイオマスの利用、再生が均衡

二酸化炭素も一定 カーボンニュートラル

大量の有機性廃棄物

麦わら、稲わら、もみ殻、サトウキビバガス、木材
チップ、鮑くず、不良農作物、野菜残根、食品加工
廃棄物、くず紙、都市ゴミ

タンパク質、アルコールへの変換

クリーンエネルギー

技術士会北陸本部 2015

バイオマス (Biomass) : 再生可能な、生物由来の有機性
資源で化石資源を除いたもの

廃棄系バイオマス
食品廃棄物
家畜排泄物
建築発生木材
下水汚泥

未利用バイオマス
稲わら・麦わら
もみ殻
間伐材・被害木

資源作物
飼料作物
デンプン系作物

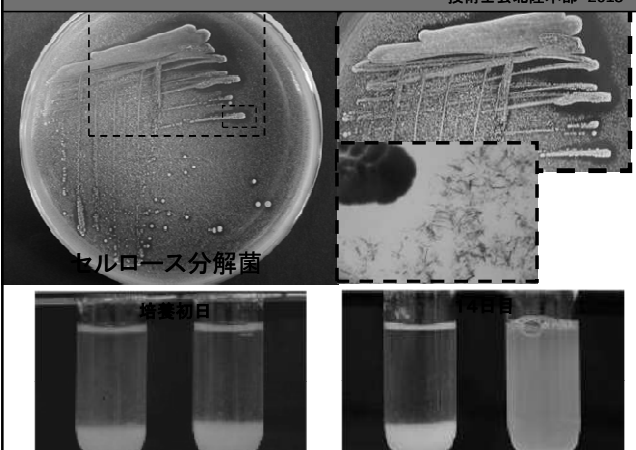
非可食性

可食性

非可食性
可増殖バイオマス
藻類
微細藻類

技術士会北陸本部 2015

セルロース分解菌



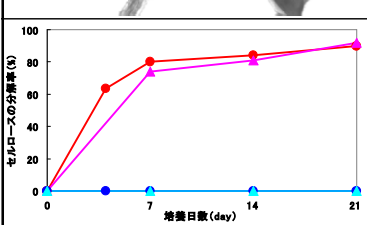
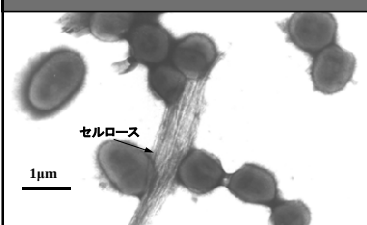
技術士会北陸本部 2015

セルロース分解菌

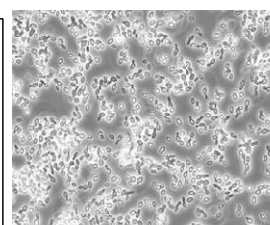
Scu-1

Cellulomonas sp.

バイオマス・エネルギー へ



培養日数 (day)	1回目セルロース+増地中 (%)	2回目セルロース+増地中 (%)	1回目Control (%)	2回目Control (%)
0	0	0	0	0
7	~80	~75	~0	~0
14	~85	~80	~0	~0
21	~90	~85	~0	~0



技術士会北陸本部 2015

廃棄海藻の減容化、有効利用

海藻分解菌の単離

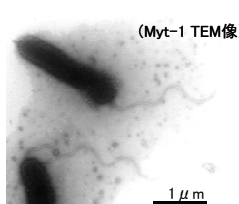
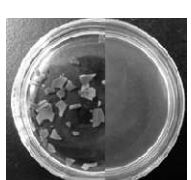
Saccharophagus sp. Myt-1株

褐藻類、紅藻類、緑藻類の
藻体を分解・質化

アルギン酸リアーゼ、アガラーゼ、
セルラーゼ他

10種類以上の多糖分解酵素

分解産物: 機能性素材、バイオ燃料、
養殖餌料、海藻のプロトプラスト



(Myt-1 TEM像)

富山市環境未来都市計画プロジェクト

海洋バイオマスを使った
自律型エネルギー・資源循環システムの導入

微細藻類
単離

大型藻類(海藻)
分解・発酵菌の単離

CO₂

廃水・排水

海水・深層水

富山色
プロジェクト

増殖方法
増殖設備

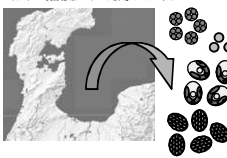
エネルギー
バイオディーゼル
バイオエタノール
メタンガス
炭化水素
水素
生物電池

機能性物質
必須アミノ酸、ビタミン、
ミネラル、DHA、EPA、
α-リノレン酸

養殖餌料

富山市環境未来都市計画プロジェクト

富山市環境未来都市計画「海洋バイオマスを使った自律型エネルギー・資源循環システムの導入」プロジェクト

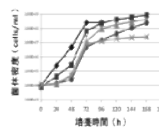
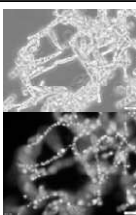


- 富山湾より微細藻類を単離
→ 大量培養
沿岸生態系保全、遺伝子汚染防御
- 燃料産生（軽油、ジェット燃料、アルコール、メタン、水素）
地産地消の燃料生産・消費
- 機能性物質、食品、養殖・家畜飼料
- CO₂ 固定

二段階培養が不要なものが多い
高密度に培養が可能
凝集剤の効果も確認

燃料油が容易に製造できる油脂類を含む
(C14~C18の飽和脂肪酸)
γ-リノレン酸等の機能性油脂を含む

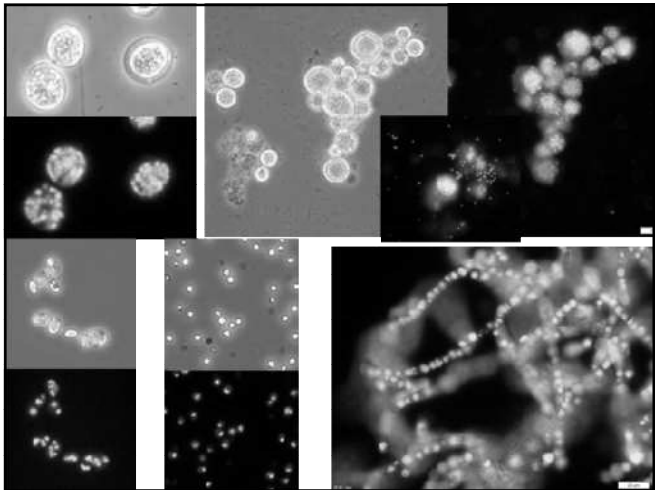
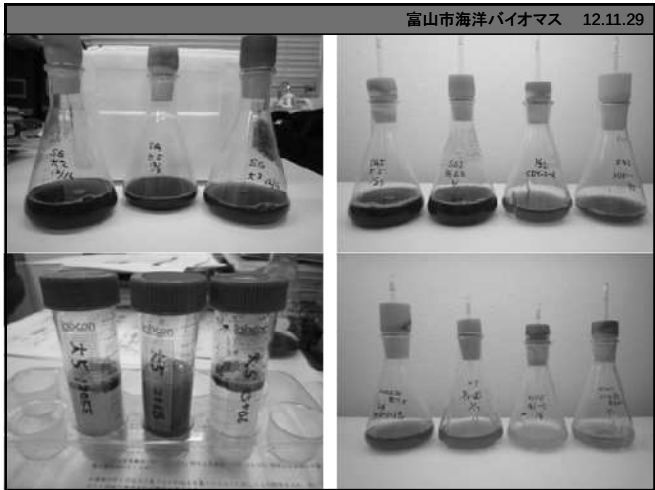
微細藻類	実 施	学術誌
<i>Chlorella</i> sp.	○	○
<i>Tetraselmis</i> sp.	*	○
<i>Chlamydomonas</i> sp.	*	○
<i>Nanochlorum eucaryotum</i>	**	**
<i>Nannofrustulum</i> sp.	**	**
<i>Thraustochytrium</i> sp.	○	○



増殖速度：3~7日間で 10⁶~10⁹ cells/mL
01: 4.9h (3h-24h)

乾燥重量：7日間で 1.2~1.9g/L
深さ30cmのプールで培養 約50~80g/m²/day

油量：約25% (dry weight)
Chlorella: 28-32%, *Botryococcus*: 25-75%
Tetraselmis: 15-23%, *Dunaliella*: 23%



技術士会北陸本部 2015

海藻から

エタノール：三菱総研、京都府海洋セ、東京海洋大
大和碓 海藻養殖 → 2,000万kL
フコイダン、アルギン酸分解菌

メタンガス：東京ガス、
新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）
海藻バイオマス発酵プラント アオサ

ジェット機用燃料：アリゾナ州立大学
海藻からジェットプロペラント8
他に自動車用バイオディーゼル

技術士会北陸本部 2015

微細藻類
油(トリアシルグリセリド、石油(炭化水素)を作る

クロレラ、クラミドモナス、ユーグレナ、ボトリオコッカス、
シュードコリキスチス

脂肪酸 → バイオディーゼル
デンプン、セルロース → エタノール
水素、エチレン、メタン

DHA、EPA、機能性油 アスタキサンチン

技術士会北陸本部 2015

[環境水のモニタリング]
単細胞緑藻の鞭毛の再生
ウニの初期発生
微生物群集構造
表層水・深層水・河川水・温泉水・地下水

[環境汚染の修復]
重油分解菌、食用油分解菌、セルロース分解菌、
海藻分解菌

微生物で守る富山の水環境

廃棄物の減容化、バイオマス燃料、機能性多糖、
養殖餌料