

## 論文の内容の要旨

生物・環境工学 専攻  
生物機械工学研究室  
平成 25 年度博士課程 進学  
氏 名 古橋 賢一

### 論文題目

希釈海水培地による *Botryococcus braunii* の培養と効率的炭化水素回収プロセス

#### 1. 研究背景と目的

化石燃料の枯渇及び地球温暖化対策として、輸送用燃料代替を想定した脂質生産性微細藻類に、世界中で注目が集まっている。脂質生産性微細藻類の一種である緑藻 *Botryococcus braunii* (以下, *B. braunii*) は炭化水素を生産し、個々の細胞を繋いでいる細胞間マトリックスに分泌した後に蓄積する。一方で、他の多くの脂質生産性微細藻類は、生産する脂質が油脂や脂肪酸であり、細胞内に蓄積する。そのため *B. braunii* は細胞破碎を経ない脂質回収プロセスおよび回収した脂質の変換プロセスで省エネルギーおよびコスト削減が期待されており、バイオ燃料の原料として、有望視されている。しかし、容易と期待されていた *B. braunii* からの炭化水素抽出プロセスで、既存の植物油脂の抽出に用いられているノルマヘキサン抽出を湿藻体に適用すると、炭化水素を蓄積しているマトリックスによって有機

溶媒と炭化水素の接触が阻まれ、溶媒抽出前に何らかの前処理をしないと回収率が上がらない。前処理として藻体を乾燥もしくは加熱した後に、溶媒抽出を行うと回収率が上昇することが知られている。

*B. braunii* は元来淡水域に存在する緑藻である。淡水資源は地域偏在性・時間的変動が大きく、常に安定した量を地球各地で得られるわけではない。そのため将来的なバイオ燃料生産のための商業的規模の培養では、*B. braunii* への海水利用の可能性も模索する必要があると考えた。

そこで、まず予備実験として、市販されている人工海水を 1/1 海水、1/2 海水、1/4 海水濃度となるようにそれぞれ添加することで塩濃度を調整し、それぞれの培地で *B. braunii* B race (Showa 株) を培養した。1/1 海水および 1/2 海水濃度で培養した藻体は、35 日目までに死滅した。しかし 1/4 海水濃度の培地では、藻体の増殖が確認された。さらに、その培地で増殖した藻体では、淡水培地で培養した藻体と比較して、ノルマルヘキサン抽出を行うと炭化水素を容易に回収できることが確認された。以後、*B. braunii* から炭化水素を容易に回収するために、増殖可能な希釈した海水培地中で藻体を培養することを、「希釈海水培養法」と呼称する。

既往の研究で、高塩濃度下で *B. braunii* を培養した事例はあるが、それらは増殖への影響や代謝物の変化に関して調べた研究である。また、*B. braunii* を培養して炭化水素生産を目指した既往の研究は全て、炭化水素含有率や増殖速度を上げる培養の研究、または工学的プロセスにより炭化水素の回収性を上げる回収技術の研究であり、両者を繋ぎ合わせた培養方法によって炭化水素を回収しやすい藻体へと変えるような研究は報告されていない。

本研究では、まず *B. braunii* による炭化水素生産システムの投入エネルギー低減を目指し、乾燥、加熱、物理的破碎等の前処理を行わなくても、ノルマルヘキサン等の非極性溶媒により炭化水素を高収率で回収できる藻体に変えることが可能な、希釈海水培養法を開発する。そして、希釈海水培養法を用いた炭化水素生産システムと、淡水培養した藻体を溶媒

抽出する前に加熱もしくは乾燥する既存の炭化水素生産システムを比較し（図 1），希釈海水培養法が炭化水素生産システムのエネルギー収支向上に与える影響を評価することを目的とした。

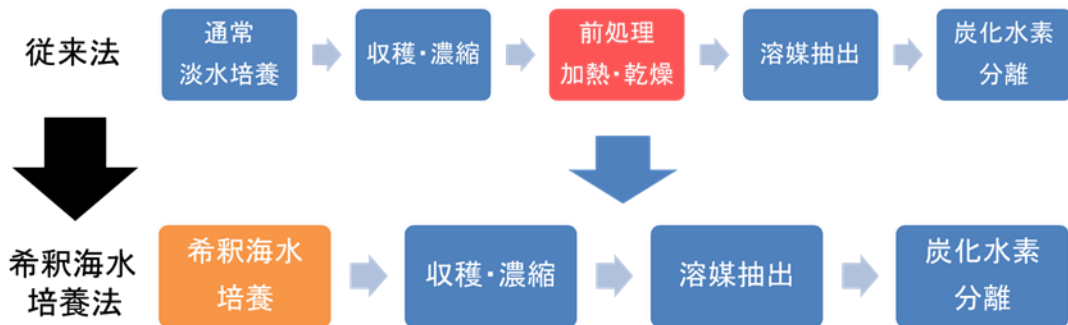


図 1. 本研究で提案する希釈海水培養法を用いた *B. braunii* からの炭化水素生産システム.

## 2. 実験結果のまとめ

淡水性微細緑藻 *B. braunii* を希釈海水培地で培養することで，溶媒抽出による炭化水素の回収性が向上することが確認された．B race の Showa 株を用いた実験で 1.8%以上の海水塩濃度培地で培養すると，藻体は死滅し，培養することができなかった．0.9%海水塩濃度の希釈海水培地では増殖速度が大幅に低下したが，炭化水素の回収性は飛躍的に向上した．さらに塩濃度を下げた 0.3%海水塩濃度の希釈海水培地では，増殖速度，炭化水素含有率に低下はみられず，炭化水素回収性が向上した．また，希釈海水培地は炭化水素回収性の改善効果をもたらすだけでなく，濾過プロセスに有効であると考えられる浸透圧由来と考えられるコロニーサイズの大幅な増大およびコロニー浮上性の向上をもたらした．

希釈海水培養が炭化水素回収性を向上させるメカニズムについても検討した．*B. braunii* が炭化水素を細胞内ではなく細胞外マトリクスに蓄積するにも関わらず，容易に溶媒抽出できない理由は，コロニー全体を覆っている主に糖類からなる Colony sheath と呼ばれてい

る繊維層が、コロニー内部への有機溶媒の侵入を妨げているためと考えられる。希釈海水培養では Colony sheath の繊維長が短くなりかつ繊維密度が低下し、徐々に繊維層が消失していくために、また加熱処理では繊維層の溶出のために、コロニー内部への有機溶媒の侵入が容易になったため藻体からの炭化水素回収性が向上したと考えられる。一方で、細胞分裂が完了した際に、細胞頭頂部の Colony sheath とともに培地中に放出される Retainig wall は、希釈海水培養と加熱処理の両方でコロニー表面に残存していた。Retaining wall が存在するにも関わらず、藻体からの炭化水素回収性が向上していた理由は、Retaining wall は炭化水素の重合物であると考えられており、コロニー内部への有機溶媒の侵入を妨げないためと考えられる。

溶媒抽出前に加熱・乾燥処理する既存の *B. braunii* からの炭化水素生産システムの EPR を算出した結果、それぞれ 1.9, 1.3 であった。一方で希釈海水培養を用いた炭化水素生産システムの場合、算出された EPR は 2.2 となり、希釈海水培養により *B. braunii* からの炭化水素生産システムのエネルギー収支は向上することが確認された。希釈海水培養システムを用いると加熱システムと比較して、収穫・輸送・脱水プロセスでは投入エネルギーを 80% 程度削減、溶媒抽出プロセスでは 20% 程度削減することが可能となった、しかし、収穫・輸送・脱水プロセスの投入エネルギーが占める割合は全プロセス投入エネルギーの 4% 程度と小さいため、その削減効果は僅かである。ただ、希釈海水培養では、ウェッジワイヤースクリーンを用いた傾斜型固液分離により、重力濾過のみで培養ポンドで現地収穫が可能となるので、パイプラインによる液輸送を使わず、低投入エネルギーで車輸送することが可能である。パイプラインを引くことが難しい場所や、培養ポンドが飛び地である場合には、大きなメリットになると考えられる。一方で、残渣を直接燃焼して熱電併給を考えた場合、炭化水素生産システムに必要な熱エネルギーおよび投入電力のほとんどを残渣から賄うことが可能である。