

論文の内容の要旨

論文題目 熱水抽出多糖類に着目した *Botryococcus braunii* からの
炭化水素回収メカニズムの解明

氏名 跡部 季子

1. 研究背景および目的

微細藻類 *Botryococcus braunii* (以下 *B. braunii*) は炭化水素含有量が高く、バイオ燃料資源の一つとして期待されている。本藻種の最大の特徴は、細胞同士が粘着性の多糖類などのバイオポリマーによって形成される細胞間マトリクスによって繋ぎとめられ、コロニーを形成していることである。多くの藻類が細胞内にトリグリセリドなど脂肪酸系の脂質を蓄積するのに対し、*B. braunii* は炭化水素を蓄積し、生産される大部分の炭化水素を細胞内ではなく細胞外に分泌して細胞間マトリクス部分に蓄積する。*B. braunii* のコロニーを顕微鏡下で観察する際、カバーガラスで圧迫すると炭化水素がコロニーから染み出してくる様子が観察される (図 1)。*B. braunii* の品種の中でも、*botryococcene* 類および *methylsqualene* 類と呼ばれる分岐型不飽和トリテルペン系炭化水素を生産する B 品種はガソリン相当に改質できることから、石油代替の燃料源として有望であると考えられる。我々は、これまでに *B. braunii* の B 品種である Showa 株を用い、高効率な炭化水素回収プロセスの検討を行ってきた。*B. braunii* の炭化水素は、他の微細藻類と同様に藻体を乾燥させ、ヘキサンなどの低極性有機溶媒で回収する方法が一般的である。しかし乾燥工程には多大なエネルギーが必要となるため、乾燥工程を経ずに湿潤状態のまま炭化水素を回収する加熱処理法が検討されてきた。Kita らは、乾燥藻体あたり 1.5 g L^{-1} の低濃度の藻体スラリーに 90°C で 10 分間加熱処理を施したところ、藻体の持つ 95% 以上の炭化水素を回収することができた。そこで筆者らは、実用化に向け 50 g L^{-1} まで濃縮した高濃度藻体スラリーを Kita らの加熱処理法で炭化水素回収を試みた。しかし、高濃度の藻体スラリーを加熱処理すると多糖類で構成される熱水抽出物が溶出し (図 2)、ヘキサンを添加すると乳化されて、炭化水素を回収できなかった。そこで、加熱後の熱水抽出物を除去した藻体スラリーにヘキサンを添加したところ、高濃度の藻体スラリーからも藻体の持つ炭化水素の 95% 以上を回収することができた。しかし、なぜ *B. braunii* の藻体スラリーに加熱処理を施すと炭化水素を回収できるか、そのメカニズムは不明であった。また、高濃度の藻体スラリーから熱水抽出される多糖類は、炭化水素の回収を妨げる物質であると考えられるが、その詳細は不明であった。そこで本研究では、

① *B. braunii* から加熱処理により熱水抽出される多糖類に着目し、多糖類の化学組成、分子量および物理的特性を明らかにする。

② *B. braunii* から熱水抽出される多糖類と炭化水素の回収に用いる有機溶媒との相互作用を明らかにすることで、多糖類が炭化水素回収を阻害することを説明する。

③ *B. braunii* から熱水抽出される多糖類の熱物性を明らかにし、藻体スラリーに対して80℃の加熱処理では不可能であった炭化水素回収が、90℃の加熱処理で可能となるメカニズムを説明する。

④ *B. braunii* からの熱水抽出される多糖類において、炭化水素の回収を阻害する構成成分を明らかにする。

以上を本研究の目的とした。

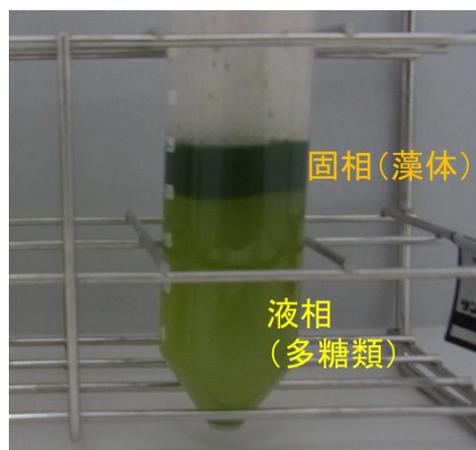
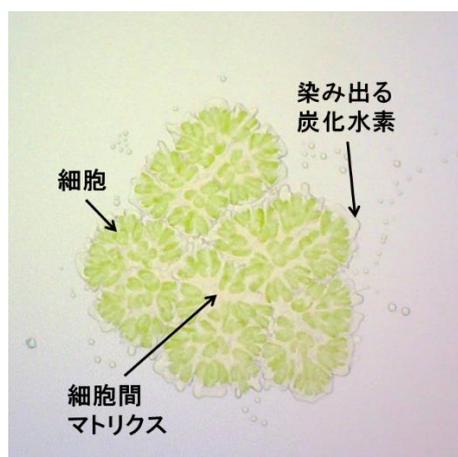


図 1 *B. braunii* の顕微鏡写真

図 2 高濃度藻体スラリーから熱水抽出される多糖類

2. 結果および考察

初めに、*B. braunii* から熱水抽出される多糖類の溶出量、組成、分子量と両親媒性特性について検討した。*B. braunii* から90℃で熱水抽出される多糖類は、溶出量が乾燥藻体重量の約10%であり、ガラクトース、アラビノースを主とする中性糖およびウロン酸を主とする酸性糖で構成され、分子量がプルラン換算で200万以上の高分子化合物であった。またこの多糖類は、水-有機溶媒の混合系を乳化させる両親媒性高分子であることを明らかにした。さらに、熱水抽出多糖量を乾燥藻体重量の0.5%以下になるまで藻体から除去することで、藻体に含まれる90%以上の炭化水素が回収可能となることを明らかにした。

次に、*B. braunii* からの炭化水素回収において、90℃の加熱処理が必要となるメカニズムを解明するために藻体の熱物性を測定した。藻体を構成するタンパク質は約64℃で熱変性し、タンパク質の変性後に熱水抽出される多糖類の溶出量が増大することを確認した。また、藻体タンパク質の変性後70℃および80℃で熱水抽出される多糖類は可逆的なゾルゲル転移を示すことを明らかにした。これらの多糖類は、常温に戻る過程で再ゲル化し、藻体の周りに再度付着して、炭化水素と有機溶媒の接触を妨げ、炭化水素の回収を阻害することが示唆された。一方、90℃で熱水抽出される多糖類はゾルゲル転移を示さず、不可逆的なゾル状態にあることが示唆された。90℃以上に藻体を加熱すると、熱水抽出される多

糖類は再ゲル化能をもたず、藻体の周りに再度付着しないため、有機溶媒が藻体に含有される炭化水素と接触することが可能となり、常温に戻した状態でも炭化水素の回収が可能となることが示唆された。そこで、70℃および80℃で加熱温度を維持し、多糖類をゾル化させた状態で藻体スラリーからの炭化水素回収を試みたところ、70℃でも90%以上の炭化水素を回収することができた。また、90℃以上の加熱で熱水される多糖類が不可逆的なゾル状態になる理由を明らかにするために、異なる温度で熱水抽出される多糖類の分子量測定を行った。90℃で熱水抽出される多糖類の分子量は、70℃および80℃で熱水抽出される多糖類と比較して、分子量が若干低下することが明らかになった。90℃で熱水抽出される多糖類は低分子化による不可逆的な変性でゲル化能が低下し、常温においても藻体から炭化水素が容易に溶媒抽出可能となることが示唆された。以上の結果から、*B. braunii* から高効率に炭化水素を回収するためには、熱水抽出される多糖類がゾル状態にあることが重要であり、不可逆的なゾル状態にするには90℃以上の加熱処理が必要であることを明らかにした。これにより加熱処理による藻体からの炭化水素回収のメカニズムを説明した(図3)。

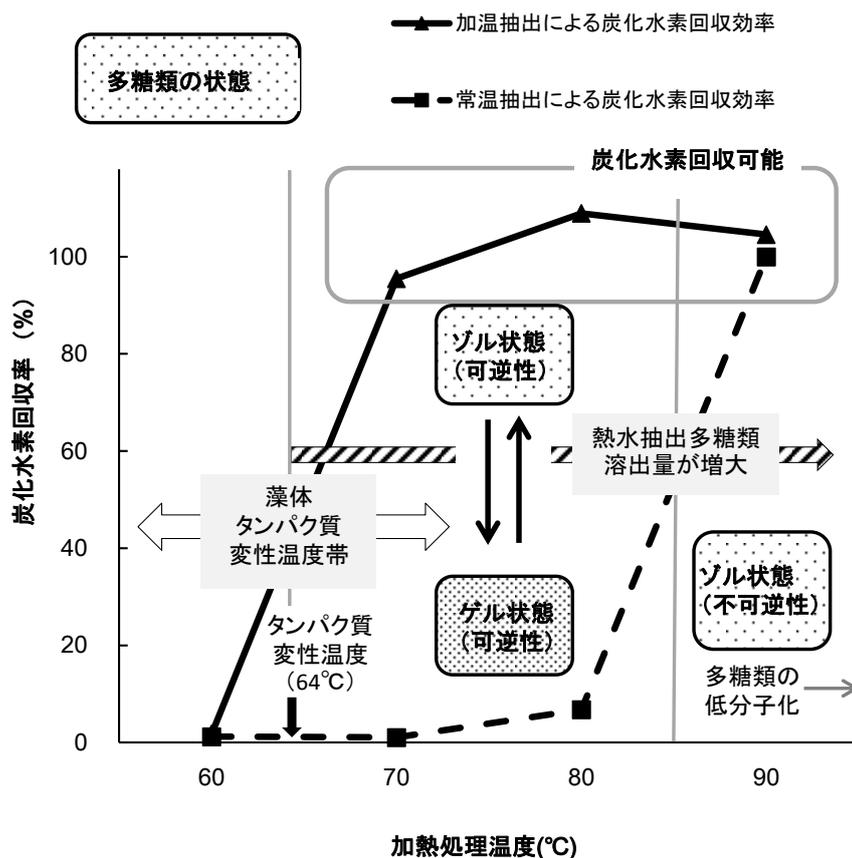


図3 *B. braunii* の加熱処理によるタンパク質および多糖類の状態変化と炭化水素回収率の関係

最後に、炭化水素の回収を阻害する多糖類の構成成分を明らかにした。*B. braunii* の培養には 6 波長混合照射用 LED を用い、炭化水素の回収性が向上する藻体と、炭化水素の回収性の低い藻体を生産し、熱水抽出される多糖類の溶出量と構成成分を比較した。多糖類の溶出量は、炭化水素の回収されやすい藻体において減少した。多糖類の構成糖については、炭化水素が回収されやすい藻体で、ガラクトース、アラビノース、ウロン酸を主とする酸性糖で構成される多糖類が減少した。以上の結果から、ガラクトース、アラビノース、ウロン酸で構成される熱水抽出多糖類は、*B. braunii* からの炭化水素回収を阻害することを示した。

以上の研究結果から、*B. braunii* から熱水抽出される多糖類が炭化水素回収を阻害する物質であること、またそのメカニズムが示された。今後、これら多糖類の生成を抑制することで、藻体からの炭化水素回収性を向上させることが期待される。また、多糖類が示す乳化性などの両親媒性特性やゲル化性は有価性物質としての商業利用につながる可能性が高く、マテリアル利用も期待される。