

## 「海洋環境と微生物の利用」

澤山茂樹

京都大学 農学部 資源生物科学科 海洋環境微生物学分野

## 1. 海洋環境の保全

人類の活動が徐々に盛んになるにつれ、海洋環境は産業活動により大きな影響を受けるようになってきた。下水道が十分に整備される以前は、廃水処理が十分とは言えない時代があり、有機物や微細藻類の栄養源となる窒素やリンが河川等を通じて沿岸域に流れ込み、微細藻類等のプランクトンが異常増殖する赤潮や貧酸素水塊による青潮など富栄養化現象を引き起こして問題となった。その後、総量規制などにより排水中の富栄養化物質の除去が進み、赤潮の件数は1970年代後半以降徐々に減少傾向にある。しかし、魚類養殖業への被害が依然大きいラフィド藻 *Chattonella* 属赤潮や、麻痺性貝毒渦鞭毛藻 *Alexandrium* 属による二枚貝の毒化など、有害・有毒微細藻類発生に関する監視や対策は現在も必要である。また、PCBに代表される化学物質による汚染、海洋生物における水銀の蓄積や有機スズ化合物等による内分泌かく乱の問題など、食物網において微生物は化学物質汚染と密接な関係を持っている。海洋環境の保全を考えるキーワードとしては、地球温暖化・海洋酸性化、富栄養化、化学物質汚染、油汚染、海洋ごみ、生物多様性、放射性物質などがあげられる。

近年化石燃料の大量使用に伴い問題となっているのは、大気中の二酸化炭素濃度の上昇と地球温暖化である。サンゴは褐虫藻という渦鞭毛藻を共生させて高い生産性を示しているが、水温が30℃以上になると褐虫藻との共生が維持できなくなり、白化現象が起きやすくなるといわれている。また、カリブ海などの熱帯域でシガテラを引き起こすことが知られている *Gambierdiscus* 属渦鞭毛藻は、海水温の上昇により生息域の拡大が懸念されている。ただ、地球温暖化の程度や影響については、専門家の間でも意見が分かれており、注意が必要であろう。大気中の二酸化炭素濃度の上昇は、はっきり認められている現象で、二酸化炭素が今まで以上に海水中に溶解して現在の海水のpH7.9~8.4が徐々に低下することが懸念されている。

海水中により多くCO<sub>2</sub>が溶け込むと、海洋生物の体内の水素イオン濃度が増えるためpHが酸性化する。生物は細胞内pHの低下を防ぐために、余分なエネルギーを使用することになる。ATPを使って細胞内の水素イオンを細胞膜のチャンネルから排出する方法や、重炭酸イオンを生産して水素イオンと結合させ、H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>として排出する方法がある<sup>1)</sup>。pHが0.3下がると、微細藻類の鉄の取り込みが10~20%低下するといわれている。また、pH8.1では正

常に生育するクモヒトデの幼生は、pH7.7では成体には育たなかったことが報告されている。大気中の二酸化炭素濃度の上昇は、海水温の上昇のみならず pH の低下を招き、海洋生物に影響を与えることが危惧される。

大気中の二酸化炭素濃度の上昇を抑えるためには、省エネルギー技術により化石燃料の使用を抑える方法が有効である。さらに、再生可能なエネルギーである太陽電池・風力発電・バイオマスエネルギーなど、新エネルギーの普及拡大が期待されている。植物などの生物資源であるバイオマスは、水・有機物・無機物で構成され、燃焼等で利用すると二酸化炭素が排出されるが、先に植林などで光合成により二酸化炭素を有機物に変換しておけば、理想的な条件ではネットの二酸化炭素排出量はゼロとなり、カーボンニュートラル（炭素中立）な資源と考えられている。バイオマス由来の燃料が、バイオガス、バイオディーゼルやバイオエタノールなどのバイオ燃料である。バイオ燃料としては、特にバイオエタノールなど輸送用の液体燃料について需要が高い。すでに実用化している糖デンプン系のバイオエタノール(ガソリン代替)や FAME と呼ばれる植物油由来のバイオディーゼル(軽油代替)は、第一世代バイオ燃料と呼ばれている。リグノセルロースは資源量が多いが液体バイオ燃料に加工するのが難しく、リグノセルロース系バイオエタノールや BTL (バイオマスツーリキッド) は実用化に差し掛かった第二世代バイオ燃料と呼ばれる。さらに、新エネルギー作物や微細藻類は、第三世代バイオ燃料と位置付けられる。

本項では、最終的には大気中の二酸化炭素濃度の上昇を抑制し、海洋の酸性化を低減することを目的に、微細藻類や糸状菌といった微生物を利用したバイオ燃料製造技術に関する研究を中心に紹介する。

## 2. 微細藻類の利用

微細藻類は、原核生物のラン藻から真核生物まで多様な分類群を含む<sup>2)</sup>。微細藻類の産業利用としては、真正眼点藻 *Nannochloropsis* 属などが、ワムシ等の動物プランクトンの餌生物として養殖業において重要である。また、緑藻 *Chlorella* 属や *Dunaliella* 属などがレースウェイ型オープンポンドで培養後、乾燥して健康食品として利用される例があげられる。養殖業では魚粉や魚油が利用されているが、価格が上昇していることもあり、将来的には植物系飼料の利用拡大が求められている。魚粉や魚油が海産魚類の養殖に必要な原因は、EPA や DHA などの高度不飽和脂肪酸やタウリン等のアミノ酸が不足するためであり、微細藻類は高度不飽和脂肪酸の供給源として重要になることが予想される。

1973年と1979年には、原油価格の急激な上昇によるオイルショックが起きた。そのため新エネルギーへの関心が高まり、微細藻類由来のバイオ燃料に関する研究が米国等でスタートした。日本では、ニューサンシャイン計画の一部として、1990～1999年度に「細菌・藻類等利用二酸化炭素固定化・有効利用技術研究開発」が実施された。その後、原油価格が低位で安定したため、微細藻類由来のバイオ燃料の研究は下火になったが、近年原油価

格の高騰とともに再度研究開発が盛んになってきた。特に米国では、ベンチャー企業が微細藻類由来のバイオ燃料の研究開発を進めている。

微細藻類由来のバイオ燃料生産者としては、まず群体性緑藻 *Botryococcus braunii* があげられる。*B. braunii* は乾燥重量の 50%以上の炭化水素を、細胞間マトリックスに蓄積する。カバーガラスで押しつぶすと、炭化水素の油滴が光学顕微鏡で観察できる。現在でも、淡水産藻類では *B. braunii* が主要な研究対象の一つとなっている。世界的に見れば、淡水資源は必ずしも豊富とはいえないため、海水ベースで培養できる微細藻類も注目されている。NEDO（独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構）事業では、炭化水素を生産する海産珪藻 *Rhizosolenia* 属を用いたバイオ燃料生産技術の研究事業が実施されている。微細藻類由来のバイオ燃料生産技術の研究開発は、少なくとも国内では基礎研究の段階と言えよう。

微細藻類がバイオマスの中で注目されているのは、実験室レベルでの高い生産性にある 3)。バイオ燃料として利用するためには、広大な面積で安定して経済性よく微細藻類バイオマスが生産できる必要がある。微細藻類は独立栄養が基本ではあるが、*Chlorella* 属のように有機物も利用できる混合栄養も知られている。単位体積当たりの生産性は、独立栄養より従属栄養の方が高いため、従属栄養であるラビリンチュラ (*Aurantiochytrium* 属) を用いたバイオ燃料生産の研究も実施されている。従属栄養微生物を利用する場合は、エタノール発酵酵母と同様に大量の有機物を安価に供給する必要がある。第三世代として位置付けられる微細藻類由来のバイオ燃料が実用化される時期には、社会情勢が今とは大きく変わっていると考えられる。石油に関してはピークオイルという考え方もあり、石油価格のトレンドは上昇傾向と予想され、液体バイオ燃料にとっては追い風になると考えられるが、実用化には地道な研究開発によるコスト低減が求められている。

### 3. バイオエタノールの生産

微細藻類由来のバイオ燃料は、基礎研究の段階であることを紹介したが、米国やブラジルでは糖・デンプン由来のバイオエタノールは大きな産業となっている。トウモロコシは食料や飼料に使用されることから、バイオ燃料の需要により食料価格が上昇することが問題となっている。そこで、世界中でリグノセルロース由来のバイオエタノールの研究開発が進められている 4)。2007 年には、堺市で廃木材からのバイオエタノール生産が小規模ながらスタートしている。2011 年には、イタリアで大規模なセルロース系バイオエタノール工場の建設が始まっている。リグノセルロース由来のバイオエタノールは、丁度実用化に差し掛かったところと言える。

堺市の工場は希硫酸法を採用しているが、イタリアの工場や日米で研究開発の中心となっているのは酵素法である。多糖であるセルロースやヘミセルロースは、糸状菌の生産するセルラーゼやヘミセルラーゼにより、グルコースやキシロースなどの単糖に加水分解す

ることができる。木や草を単糖化するためには、酵素処理の前に前処理が必要となる。前処理法としては、希硫酸法、アルカリ法、メカノケミカル法、水熱法などが開発されている。デンプンがアミラーゼで加水分解できるのと同様であるが、結晶性セルロースはエンド型の酵素が作用しないことなど、分解速度が極端に遅く酵素必要量が多い。従って、セルロース系バイオエタノール製造において、酵素コストの低減が大きな課題となっている。

糖化酵素生産者としては、細菌も知られているが生産性が高いのは糸状菌である。セルラーゼ生産糸状菌として最も研究が進んでいる *Trichoderma reesei* は、セルロースを炭素源としてセルラーゼやヘミセルラーゼを細胞外に分泌する。細胞外のタンパク質濃度は、20 g/l 以上になる。セルラーゼ生産糸状菌 *Acremonium cellulolyticus* は、山辺博士らが1982年に日本の土壌から単離した。紫外線や変異原処理により、セルラーゼ生産性の高い突然変異株が取得されている。さらに、ゲノム解析が実施され、遺伝子操作によるセルラーゼ生産性向上の研究が進められている。バイオエタノール工場内で糸状菌を培養し、オンサイトで低コストで糖化酵素を生産する必要がある。

前処理した植物バイオマスを、できるだけ高い固形分濃度で酵素糖化する。エタノールを蒸留・濃縮する際に必要なエネルギーを節約するためである。酵素糖化の温度は45~50℃で糖化時間は48~72時間程度である。その後30℃で醸造産業などで利用される酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を加え、グルコースから発酵によりエタノールを生成させる。*S. cerevisiae* は、草本や広葉樹に含まれる五炭糖キシロースを発酵することができない。キシロースを代謝できる酵母 *Pichia stipitis* から、*S. cerevisiae* にキシロース代謝の2つの遺伝子を組み換え、キシロースをエタノールに変換できるようにする研究も進められている。稲わらを加水分解すると、キシロースがグルコースの半分程度生成するので、キシロースを変換できるとエタノール収率が大きく向上する。発酵液に含まれる5%程度のエタノールを蒸留・膜脱水して99.5%以上のエタノールを得、ガソリンと混合して自動車燃料(E3)として利用する。

#### 参考文献

- 1) M. J. ハート, C. サフィナ、日経サイエンス、2010年11月号、p 66-74
- 2) 井上勲著、「藻類30億年の自然史 第2版」、東海大学出版会、2007
- 3) 渡邊信、「新しいエネルギー藻類バイオマス」、みみずく舎、2010
- 4) 坂西欣也・澤山茂樹ら編著、「トコトンやさしいバイオエタノールの本」、日刊工業新聞社、2008