



Title	微細藻類バイオマスの資源化を目的とする水素エネルギー変換システムの構築
Author(s)	池, 晶子
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40534
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	いけ あき 晶子
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第13796号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科環境生物薬学専攻
学位論文名	微細藻類バイオマスの資源化を目的とする水素エネルギー変換システムの構築
論文審査委員	(主査) 教授 宮本 和久 (副査) 教授 那須 正夫 教授 溝口 正 教授 西原 力

論文内容の要旨

微細藻類は「赤潮」や「水の華」の原因微生物として疎まれてきた反面、その高い光合成能、窒素・リン取り込み能が着目され廃水処理へも積極的に利用されてきた。また昨今地球温暖化問題が議論される中、微細藻類のCO₂固定媒体としての役割も浮上し様々な研究が進められている。一方、富栄養化水域や廃水処理プラント、CO₂固定プラントなど様々な場所から回収された大量の藻体バイオマスの再利用法については、メタン発酵、エタノール発酵、オイル生産など、エネルギー物質への変換が試みられているが、生成物の回収過程に多量のエネルギーを要するなど克服すべき課題が多く、未だ実用化にいたるものはない。本研究では前述のエネルギー物質に代わって、比較的容易に回収できる水素を目的生産物とし、光合成細菌を用いた水素生産システムの構築を行った。

淡水性緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* および海産性緑藻 *Dunaliella tertiolecta* のバイオマス組成を分析したところ、両株は光合成産物であるデンプンをそれぞれ55%および25%蓄積していた。これを光合成細菌の水素生産基質として効率よく利用するためには、藻類の細胞を破碎し、細胞に蓄えられたデンプンを低分子化する「基質化」過程が必要である。従来、藻体バイオマスを原料としたエネルギー生産において、熱化学的な前処理を行うことが一般的であった。そこでまず塩酸存在下、高温高圧で反応させる熱酸処理により藻体バイオマスの基質化を行ったところ、水素生産の基質となる有機酸の生成量は少なく、水素生産の阻害物質であるアンモニアの溶出濃度が0.5~1.7 g / l と高いため、水素生産のための基質化方法としては好ましくないことが分かった。

次に、熱酸処理に比べて消費エネルギーが著しく少なく、デンプンを光合成細菌の水素生産に理想的な基質「乳酸」に変換する乳酸発酵による基質化を試みた。その結果、デンプン資化性乳酸菌 *L. amylovorus* により、*C. reinhardtii* および *D. tertiolecta* のバイオマスから、蓄積デンプンあたりそれぞれ93%, 98%の収率で乳酸が生成し、アンモニアの溶出濃度も0.2, 0.3 g / l と低く、本法が理想的な基質化方法であることが明らかになった。また、藻体に蓄えられた窒素・リン源などの栄養源が乳酸菌に有効に再利用されるので新たな栄養源添加が不要であった。さらに、藻細胞の電子顕微鏡観察および藻細胞壁タンパク成分のSDS-PAGEによる分画実験より、*L. amylovorus* が *C. reinhardtii* の藻細胞壁の消化作用を有していることも分かった。つぎに5種類の光合成細菌を用いて乳酸発酵液からの水素生産を試みたところ、海産性の *Rhodobium marinum* を用いた場合に、*C. reinhardtii*, *D. tertiolecta* のバイオマスの乳酸発酵液から、含有乳酸あたりそれぞれ71%, 62%という水素収率が得られた。したがって藻体バイ

オマスのデンプン 1 mol-glucose が、乳酸発酵と水素生産の 2 段階の変換システムにより最大 7.9 mol の水素に変換されたことになる。しかし、2 段階変換システムゆえにプロセスが複雑になるという問題点が残った。

そこで、異なる役割を担う微生物の共生系を用いて、単一の培養過程により基質化と水素生産が遂行できる 1 段階変換システムを構築し、変換プロセスの簡略化を試みた。海水による希釀処理を行うし尿処理場の汚泥より分離した耐塩性微生物共生系 BC1 は、デンプンより直接水素を生産するほか、グルコース、マルトース、セロビオース、ショ糖、酢酸、乳酸、リンゴ酸およびグリセロールも水素へ変換する能力を有していた。これらのうちデンプン、セロビオース、酢酸は、BC1 から単離された光合成細菌である A-501 株の単独培養では水素に変換されなかった。また乳酸やリンゴ酸、グリセロールから A-501 株単独培養で生成する水素の量は、共生系である BC1 よりかなり少なかった。よってこれらの基質から水素が生産されるには、A-501 株と BC1 を構成する他の微生物との間に、基質や水素生産促進物質の授受といった何らかの相互作用が働いていることが示唆された。次に、BC1 の構成菌株の単離、同定および特性評価を行ったところ、BC1 は光合成細菌 *Rhodobium marinum* A-501、通性嫌気性細菌 *Vibrio fluvialis* T-522 および T-59、*Proteus vulgaris* T-51、T-53～58 の計 10 株を含んでいること、デンプンの分解は *V. fluvialis* により行われ、デンプンからの水素生産は *V. fluvialis* と *R. marinum* の共生関係によりなされていることが明らかとなった。そこで *V. fluvialis* T-522 と *R. marinum* A-501 より構成される共生系 BC2 を用いて水素生産のメカニズムを解析したところ *V. fluvialis* T-522 によりデンプンが分解されて酢酸と少量のオクタン酸、エタノールが生成されること、*R. marinum* A-501 によりこれらの基質が使われ水素が生成することが明らかとなった。しかし、*R. marinum* A-501 は酢酸、オクタン酸、エタノールを混合した合成培地からは水素を生産しないことから、水素への変換には *V. fluvialis* T-522 の產生する何らかの水素生産促進物質が関与していると考えられた。つぎに BC2 を *C. reinhardtii*、*D. tertiolecta* のバイオマスに適用したところ、藻体デンプン 1 mol-glucose より最大 6.2 mol の水素が得られた。しかし共生系においてデンプン分解と光水素生産を担う微生物のどちらにも最適な培養条件を設定するのが難しいため、本 1 段階変換システムでは水素生産に 2 段階変換システムの 2.5 倍に相当する 17 日という処理時間を要した。今後種々の培養条件を再検討することにより反応速度が改善されれば、反応槽が単一化できるという 1 段階変換の長所を活かしたシンプルなシステム設計が可能になると期待できる。

論文審査の結果の要旨

近年、大気中の CO₂ 濃度の上昇による地球の温暖化が危惧されるようになり、対策技術の開発が望まれている。本研究では、CO₂ を固定した微細藻類バイオマスから近代型燃料（水素）を生産する生物学的変換システムの構築を試み、化石燃料への依存を軽減することで間接的に CO₂ の削減を図ろうとしている。

まず、*Chlamydomonas reinhardtii* および *Dunaliella tertiolecta* など、微細藻類バイオマスの新たな基質化法としての乳酸発酵の有効性を検討し、本基質化方法が、デンプンから乳酸への変換率が高く、阻害物質の溶出量も少ない理想的な手法であることを示している。また、藻体バイオマスの乳酸発酵液からの水素生産に最適な光合成細菌として、海産性の *Rhodobium marinum* を選抜し、藻体バイオマス中のデンプンから、高い変換率で水素が生産されることを明らかにしている。

さらに、藻体バイオマスを原料として 1 段階の培養で水素を生産することを目的とし、デンプンより水素を直接生産できる耐塩性微生物共生系の分離に成功し、その構成菌株の単離・同定を行った。さらに、本共生系での微生物種の役割を検討し、通性嫌気性細菌 *Vibrio fluvialis* によりデンプンが分解されて、酢酸、オクタン酸およびエタノールが生成され、これらの基質を使って光合成細菌 *R. marinum* が水素を生産していることを明らかにした。

本研究は、耐塩性微生物の共生系を利用した新規水素生産システムを提示した点において環境生物薬学の展開に寄与するところが大きく、博士論文としての価値を有するものと認められる。