

## 海洋大型藻類からのエネルギー・マテリアル回収

### Conversion of Seaweeds to Energy and Useful Materials

中島田 豊<sup>1,2\*</sup>, 喜多 晃久<sup>1,2</sup>, 三浦 豊和<sup>1,2</sup>, 田島 誉久<sup>1,2</sup>,  
秋 庸裕<sup>1,2</sup>, 岡村 好子<sup>1,2</sup>, 松村 幸彦<sup>2,3</sup>  
YUTAKA NAKASHIMADA<sup>1,2\*</sup>, AKIHISA KITA<sup>1,2</sup>, TOYOKAZU MIURA<sup>1,2</sup>, TAKAHISA TAJIMA<sup>1,2</sup>,  
TSUNEHIRO AKI<sup>1,2</sup>, YOSHIKO OKAMURA<sup>1,2</sup> and YUKIHIKO MATSUMURA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> 広島大学大学院先端物質科学研究科 〒739-8530 広島県東広島市鏡山 1-3-1

<sup>2</sup> JST, CREST 〒102-0076 東京都千代田区五番町 7

<sup>3</sup> 広島大学大学院工学研究院 〒739-8527 広島県東広島市鏡山 1-4-1

\* TEL & FAX: 082-424-4443

\* E-mail: nyutaka@hiroshima-u.ac.jp

<sup>1</sup> Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University,  
1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8530, Japan

<sup>2</sup> CREST, JST, 7 Gobancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0076, Japan

<sup>3</sup> Institute of Engineering, Hiroshima University, 1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8530, Japan

キーワード: 大型藻類, メタン, カロテノイド, 機能性油脂, 金属回収

Key words: seaweed, carotenoids, functional lipids, metal recovery

(原稿受付 2016年8月22日/原稿受理 2016年8月29日)

#### 1. はじめに

化石資源価格の高騰, 二酸化炭素排出規制, そして震災後の原子力エネルギーの安全利用への懸念から, 再生可能資源を中心としたカーボンニュートラルなエネルギー自給を可能とする技術革新が求められている。世界第6位の排他的経済水域をもつ我が国は, 豊富な海洋バイオマス資源の利用が可能な立場にある。海洋バイオマスをエネルギー生産に利用しようというアイデアの最初は, 1968年に Haward Wilcox によって提案されたプロセスで, ケルプを搾汁し有機物からメタン発酵を行い, 残渣を肥料化するという考えであった。その後, メタン発酵前にカロテン, ポリフェノール, アルギン酸, ビタミンなど生理活性物質を回収するというアイデアに引き継がれていった。一方, 日本でも海洋バイオマスからのエネルギー生産に関する調査が1970年代後半から1980年代前半にかけて行われた<sup>1)</sup>。

この調査では, 栽培種として日本周辺の最も大きな海藻の一つであるマコンブ (*Laminaria japonica*) が提案された。まず陸上の水槽でコンブの苗を大量培養し, これを沖合の栽培システムに運んでコンブを栽培する(藻体養殖)。成長したコンブを収穫して, 高価値な有用物質を回収した後, メタン発酵により燃料ガスを製造するものであり, メタン発酵法をエネルギー回収の中心技術として使用するというものである。沖合の水深60mの海域に約1km四方の養殖場で年間100万トンのコンブを生産した場合のシステム評価を行い, メタン発酵のみ

によるエネルギー回収を行った場合, 生産されるメタンガスのエネルギーが  $2.3 \times 10^{11}$  kcal に対して, 使用エネルギー量はコンブの栽培, 収穫に  $0.85 \times 10^{11}$  kcal, 発酵に  $0.6 \times 10^{11}$  kcal でエネルギー収支はプラスであるが, 高価値をもつ副産物が抽出できなければ, 経済的には成り立たないと試算されている。一方, 抽出した副産物を販売できれば経済性は改善するものの, 高付加価値化するための回収・精製工程などに  $3.7 \times 10^{11}$  kcal もの大量のエネルギーを消費するので, 正味のエネルギー生産はマイナスとなり, エネルギー生産システムとしては機能しない<sup>2)</sup>。しかし, エネルギー問題がより深刻化する将来を考えた場合, エネルギー回収率がプラスとなるメタン発酵法を中心とした海藻の利活用システムを構築することは重要な課題である。そこで, 現在, メタン発酵プロセスの更なる高速化を中心として, エネルギー収率と経済性を両立させた海洋藻類のエネルギー・資源化の要素技術の確立を目指して研究開発を行っている。

#### 2. 研究開発の概要

現在, 開発を行っている要素技術とその関連を図1に示す。まずコンブなどの海洋大型藻類を粉碎, 必要であれば加水分解などの前処理を行うことで, 発酵基質として利用可能な形にする。次に, メタン発酵によるバイオガス生産によりエネルギー回収を行う。発酵基質の一部を高付加価値物質生産にまわすことで経済性の改善を図る。本プロジェクトではラビリンチュラ類(オーランチ

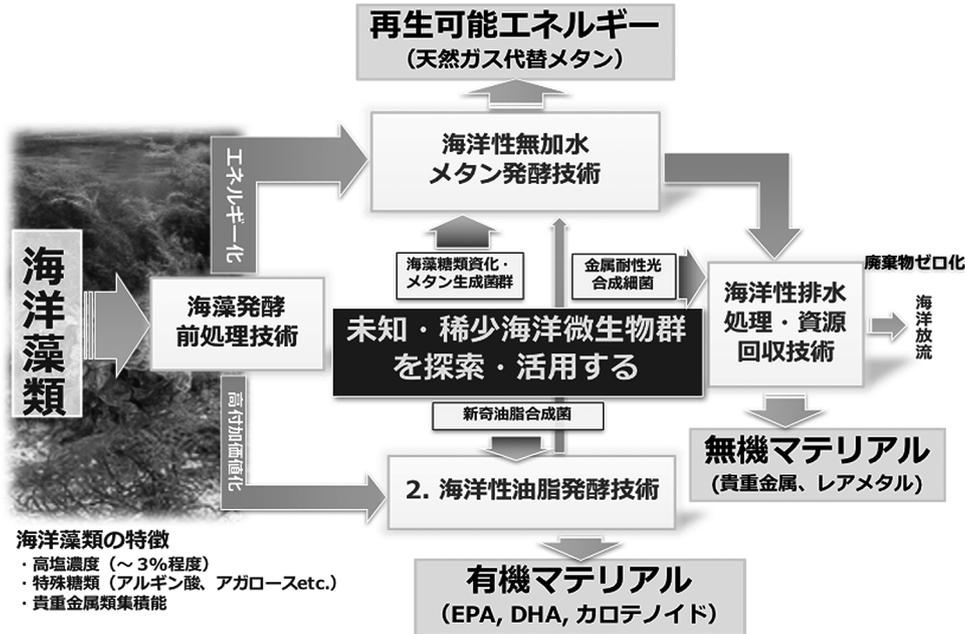


図1. 海洋大型藻類からのエネルギー・マテリアル回収技術開発の概要

キトリウム属)を用いた藻類由来基質からの不飽和脂肪酸やカロテノイドなどの高付加価値油脂生産法の開発を行う。さらに、メタン発酵後の残渣について排水処理・資源回収技術を開発する。

従来プロセスとの大きな違いは、藻体をカスケード利用するのではなく発酵基質として利用し、エネルギー生産と高付加価値生産を独立に最適化することで、経済性とエネルギー回収率のベストミックスを可能とすることにある。さらに、従来、発酵残渣は肥料化が想定されていたが、藻類には有害金属類が含まれていることが多くそのままでは肥料化できないことも多い。そこで、有害金属類の除去も含めた残渣処理技術も合わせて開発することで、無駄のない廃棄物ゼロの海洋藻類の完全活用を目指している。以降、賦存量の多い褐藻類の一つであるマコンブをモデル藻体として開発しているそれぞれの要素技術について、海洋藻類からのメタン発酵高速化技術を中心にして、得られた知見の一端を紹介する。

### 3. 海洋藻類のメタン発酵高速化

#### 3.1 海洋耐塩メタン生成菌群の利用

藻体バイオマスのエネルギー資源化方法としてメタン発酵法が期待されているが、エネルギー生産効率のさらなる向上が求められている。海洋藻類メタン発酵のエネルギー回収率を改善するためには、投入エネルギーを少なくすること、そして藻体有機物からのメタン生成収率の向上が重要である。投入エネルギーの最小化のためには、藻体の乾燥処理は不適切であり水揚げそのままの藻体を使うことにならう。しかし、乾燥前の海洋藻類の含水率は約90%と高く、輸送ではほとんど水を運ぶことになるので、海洋オンサイト処理が望ましい。また、淡水による希釈や<sup>3)</sup>、低塩有機排水との混合処理が行われてきたが<sup>4)</sup>、希釈により装置規模が大きくなり、建設費および加温エネルギーコストが増大するので無希釈運転

が望ましい。しかし、乾燥前の海洋藻類にも海水と同程度の約2-3%の塩分が含まれており、従来の淡水系メタン生成微生物では塩による発酵阻害によりメタン発酵は難しかった。さらに海洋藻類は、例えば褐藻類であれば、アルギン酸やマンニトールなどの陸上植物が持たない糖類を主要成分としており、従来の淡水由来の微生物による分解には限界がある。

このような課題を解決するために、我々は、海洋微生物に着目した。海洋微生物は耐塩性をもち、海水環境下でも当然増殖する。さらに、アルギン酸やマンニトールなどの資化性能の高い微生物の存在も期待できる。そこで、コンブを基質として、種々の海洋底泥を3%塩化ナトリウム存在下で嫌気培養したところ、コンブを基質としてメタンを生産するものが確かに存在した。

メタン発酵は、それを構成する3つの過程、すなわち、加水分解・脂肪酸生成過程、脂肪酸酸化酢酸生成過程、そして酢酸または水素からのメタン生成過程に関与する少なくとも三種類の異なった代謝機能を持つ微生物群がバランスよく働くことで成立する。そこで、耐塩無加水メタン発酵における律速段階を調べることを目的とし、種々の海洋底泥を、3%塩化ナトリウムを含む培地中で、海洋藻類としてコンブ、中間代謝産物としてプロピオン酸、酪酸、水素、酢酸を基質として嫌気培養した。その結果、加水分解・脂肪酸生成過程および水素資化メタン生成過程においては、海洋底泥は淡水系微生物源と比較して同等かそれ以上の活性をもち、その他の過程においては、海洋底泥は淡水系微生物源より高い活性をもつことが分かった(表1)<sup>5)</sup>。

上記結果から、海洋底泥は耐塩無加水メタン発酵における微生物源として有用であることが示されたが、高効率にメタン発酵を行うには、まず、メタン発酵菌叢のメタン発酵速度を高速化する必要がある。そこで、海洋底泥中微生物菌叢に、コンブを逐次添加することにより、メタン発酵速度の高速化を行った。実際には、種々の海

表 1. 海水条件における海洋低泥のメタン発酵各過程における基質分解活性

微生物源	3%NaCl 添加	基質分解速度 (mg-COD/g-VS/d)				
		加水分解 / 酸生成	有機酸酸化 (酢酸生成)		メタン生成	
			プロピオン酸	酪酸	H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>	酢酸
中温 UASB グラニュール	-	1,735	17	184	3,250	54
	+	608 (35.0) <sup>a</sup>	ND <sup>b</sup> (0)	27 (14.7)	2,940 (90.5)	ND (0)
海洋汚泥 -1	+	405	79	121	1,170	48
海洋汚泥 -2	+	613	ND	554	3,480	102
海洋汚泥 -3	+	1,304	ND	1,476	5,690	79
海洋汚泥 -4	+	697	35	315	1,040	30

<sup>a</sup> NaCl 非添加に対する NaCl 添加時の残存活性の割合; <sup>b</sup> 培養 60 日で活性なし  
文献 5) から一部改変

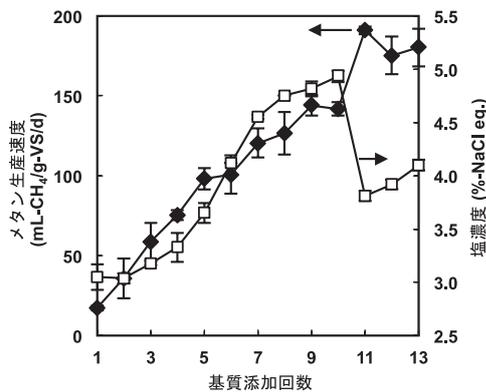


図 2. コンブ添加培養によるメタン生成速度および塩濃度変化<sup>6)</sup>

洋底泥と 3% NaCl を含む培地に、コンブを断続的に添加した (図 2)<sup>6)</sup>。

1 回の培養につき、培地中の水分に対して 1 wt% コンブ固形分が含まれるように添加したところ、培養を繰り返すにつれて、塩濃度とメタン生成速度が上昇し、コンブ添加量が生コンブの固形分含有量である 10 wt% となる 10 回目の培養においても、メタン生成速度は低下することなく高いままであった。10 回目の培養において、塩濃度は 5% に達し、メタン生成速度は培養 1 回目のメタン生成速度と比較して 8 倍に増加した。塩濃度が 4% に達した培養 6 回目から、メタン生成速度の上昇が緩やかになったが、11 回目の培養において塩濃度を 4% 未満に減少させたところ、メタン生成速度が有為に上昇した。このことから、メタン生成速度を上昇させ続けるには、塩濃度を 4% 未満に保つことが必要であると考えられた。13 回目の培養において、メタン生成速度は培養 1 回目のメタン生成速度と比較して 10 倍、発酵槽基準での最大メタン生成速度は、1.0 L/L- 培養液 /d であった。また、培養 10 回目の菌叢を解析した結果、培養後、通常のメタン発酵においてほとんど検出されない *Fusobacteriaceae* 科に属する細菌が優先し、古細菌においては酢酸資化メタン生成菌である *Methanosaeta* が優先することが分かった。

### 3.2 海洋耐塩メタン生成菌群を用いた連続メタン発酵

ここで得られた集積海洋微生物は褐藻類の耐塩無加水メタン発酵に耐えられるものであり、今後、この海洋微

生物群を制御・活用することで、淡水を使わない海洋オンサイト型メタン発酵による大型藻類の高効率エネルギー化が期待できる。しかし、大型藻類から高効率にメタンを生産するためには、無加水条件下での連続処理が必要である。そこで、コンブ耐塩メタン発酵培養液の半連続メタン生成能を調べた。

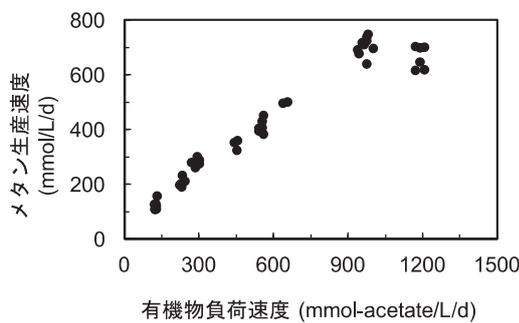
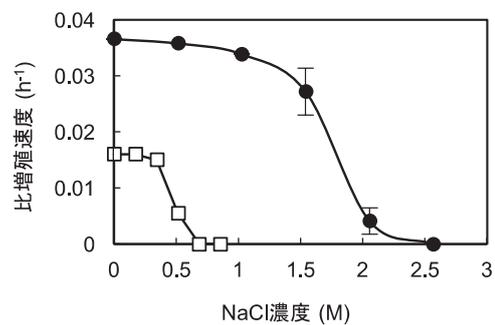
種培養液として、コンブ耐塩メタン発酵培養液を使用し<sup>6)</sup>、培養液の一部を引き抜いた後、無加水コンブに相当する 90% 含水率に調整したコンブを添加する半連続試験を行った。まず、有機物負荷 2.0 g VS (volatile solid)/kg/day (滞留時間 39 日) として培養を開始し、安定したメタン生産を確認したことから、有機物負荷を 2.9 g VS/kg/day (滞留時間 28 日) 上昇させたところ、定常状態となり始めた培養日数から有機酸が蓄積、メタン収量が減少し始めた。そこで、再び基質負荷を 1.7 g VS/kg culture/day (滞留時間 46 日) に下げて培養したところ、再度安定してメタンを生産することができた。この時の培養液の塩濃度は約 2% であり、基質に含まれる灰分が全て溶解したとして計算できる濃度と同等であった。平均メタン収率は 346 mL/g VS substrate、メタン生産速度は 602 mL/L/day であり、既報と比較して高いものであった (表 2)<sup>7)</sup>。

また、本連続培養における菌叢解析を行ったところ、初発メタン発酵汚泥および初期有機物負荷条件において酢酸資化メタン生成菌である *Methanosaeta* が優先していたが、メタン生産が不安定となった高負荷条件において、水素資化メタン生成菌である *Methanoculleus* が優先することが分かった。興味深いことに低負荷条件に戻しメタン生産が安定したにもかかわらず、*Methanosaeta* の割合は回復せず、*Methanoculleus* が優先したままであった。水素資化メタン生成菌は、酢酸酸化菌と共生して酢酸酸化に関与することができることから、高負荷条件での連続培養以降では、酢酸資化メタン生成によるメタン生成に加えて、酢酸酸化により生成した水素からの水素資化メタン生成によるメタン生成も起こっていることが考えられた。

結論としては、海洋耐塩メタン発酵菌叢を用いることにより無加水コンブをそのまま連続発酵することは可能であり、既報と比較して高効率なメタン発酵が可能と考えられる。

表 2. 大型褐藻類の中温連続メタン発酵性能比較 (文献 7) から一部改変)

発酵原料	有機物負荷 (g VS/L/day)	滞留時間 (days)	補助栄養添加	メタン収率 (mL/g VS)	メタン生成速度 (mL/L/day) <sup>b</sup>	文献
淡水希釈条件						
<i>Laminaria hyperborea</i>	1.65	24	-	280	462	21)
<i>Laminaria saccharina</i>	1.65	24	-	230	380	21)
<i>Laminaria hyperborea</i>	1.00	20	+	230	230	22)
未希釈条件						
<i>Saccharina latissima</i>	1.73	38	+	238	412	23)
	2.17	33	+	137	297	23)
<i>Saccharina japonica</i>	2.00	39	-	358	695	本研究
	2.87	28	-	335	961	本研究
	1.74	46	-	346	602	本研究

図 3. 固定床リアクターによる酢酸からの連続メタン生産<sup>9)</sup>図 4. 海洋酢酸資化メタン生成菌 Strain H<sub>A</sub> 株の耐塩性<sup>11)</sup>。  
●, Strain H<sub>A</sub> 株; □, *Methanosaeeta concilii*

### 3.3 大型藻類の高速エネルギー化の可能性

前項で述べた通り、海洋メタン発酵微生物群を用いた完全混合型でのコンブ連続メタン発酵の有機物負荷速度は 2.0 g-VS/L/d 程度であり、高塩条件下での無加水連続発酵であるにも関わらず、従来型の淡水系メタン発酵プロセスと遜色ない処理速度を実現できている。しかし、上向流嫌気汚泥床 (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB) 法に代表される高速メタン発酵法が 20 ~ 30 g/L/d の有機物処理速度を実現していることを考えると、まだまだ処理速度としては低い。先に述べた通り、完全混合型発酵では有機物高負荷時の有機酸、特に酢酸の蓄積が問題となった。有機酸蓄積はメタン生成を低下させるとともに、pH 低下を招き、最悪の場合、メタン発酵菌叢構造を破壊する。見方を変えれば、高負荷時には有機酸生成は進行するが、その後のメタン生成過程が律束となっていることになる。従って、更なる処理高速化を図るためには有機酸からのメタン生成過程を高速化すれば良い。

我々は以前の研究において、干潟底泥が酢酸資化メタン生成菌の固定化担体として用いることができることを見いだしていた<sup>9)</sup>。しかし、以前の研究では酢酸供給が律束となり、固定化担体としての海洋底泥のポテンシャルを完全には評価できなかった。そこで、海洋底泥を固定床とする上向流嫌気固定床リアクターを製作し、3% 塩濃度下で酢酸からの高速メタン発酵を試みた<sup>9)</sup>。広島湾内の干潟から採取した海洋底泥を、酢酸を含む人工海水を用いて 37°C で 6 か月間馴養した後、固定床リアクターに投入、酢酸を基質とし連続培養を始めた。有機物

負荷を徐々に上昇させたところ、メタン生成速度も同様に上昇し、有機物負荷速度 972 mmol-acetate/L/d (希釈率 16.2 d<sup>-1</sup>) の時に 750 mM d<sup>-1</sup> の最大メタン生産効率が得られた (図 3)。その際の酢酸除去率は 77% であった。従来、酢酸からのメタン生成に関して、thermophilic down-flow packed-bed リアクターを用いた低塩濃度条件下での連続培養で 598 mM d<sup>-1</sup> のメタン生産速度が報告されている<sup>10)</sup>。今回の研究では海水相当の塩分が含まれているにも関わらず、既報より顕著に高いメタン生産速度が得られていることから、海洋干潟底泥の固定床としての性能とともに、海洋性酢酸資化性メタン生成菌の高機能性が示唆された。

実際、同じ広島湾海洋底泥から限界希釈法を用いて 99% 以上の純度で単離した酢酸資化性メタン生成菌 Strain H<sub>A</sub> 株は、NaCl 無添加で代表的な中温酢酸資化性メタン生成菌である *Methanosaeeta concilii* の約 2 倍の比増殖速度を有するとともに、*M. concilii* が到底増殖できない 1.5 M NaCl (9 wt%) 存在下でもメタンを生成する優れた微生物であった (図 4)<sup>11)</sup>。Strain H<sub>A</sub> の 16S rRNA ss 遺伝子は *Methanosaeeta harundinacea* 6Ac と 98%, *M. pelagica* とは 95% の相同性を示した。また、メタン生成菌の系統解析に用いられる methyl coenzyme-M reductase (mcrA) のアミノ酸配列相同性は *M. pelagica* と 93%, *M. harundinacea* と 90%, そして *M. concilii* と 83% という結果となり、これらの既存株とは明らかに別種であることが示された。

また、本研究における固定床型メタン発酵槽の最大有

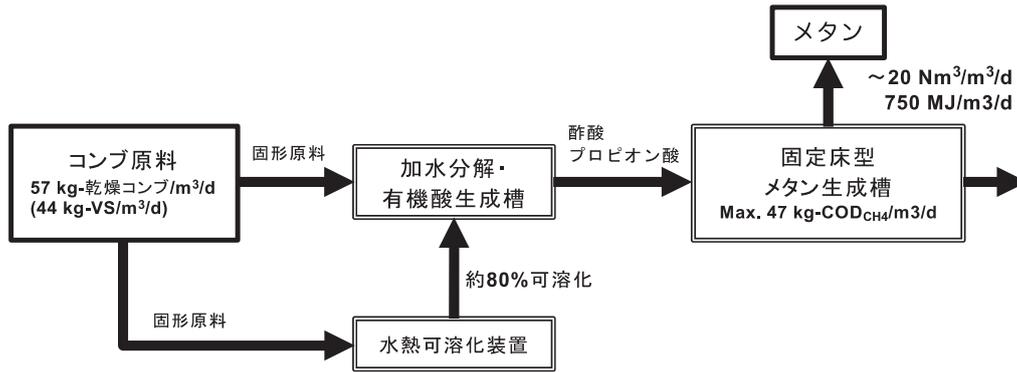


図 5. 水熱前処理を含むコンブ二段メタン発酵プロセスの想定処理性能

機物（酢酸）負荷速度を化学的酸素要求量（Chemical Oxygen Demand, COD）に換算すると 47 kg-COD/m<sup>3</sup>/d である。本研究に用いた乾燥コンブは 1.03 g-COD/g-乾燥コンブであったので、後段に有機酸の固定床型メタン生成槽、前段にコンブの加水分解・有機酸生成槽を設けた二段式メタン発酵プロセスを考えた場合、有機物の加水分解率を 80% とすると、最大で 57 kg-乾燥コンブ/m<sup>3</sup>/d、有機物負荷としては 44 kg-VS/m<sup>3</sup>/d の速度で処理できる可能性がある（図 5）。もちろん、上記速度を達成するためには、コンブバイオマスの加水分解・有機酸生成速度を向上するための更なる検討が必要ではある。

さらに、本研究が示す従来菌と比較して高い増殖速度と耐塩性を持つ海洋性酢酸資化メタン生成菌は、塩環境下だけでなく従来の淡水系メタン発酵プロセスに適用することで、その性能向上が見込まれるので、今後、種々のバイオマスへの適用が期待できる。

#### 4. 発酵に適したコンブの前処理法

大型藻類を高効率かつ残渣が残らないようにエネルギー化・高付加価値物質化するためには、藻体中の有機・無機成分を微生物が利用しやすいように前処理することも重要である。そこで我々は、高温高压の水で藻体を前処理する水熱処理法を開発している。

海から収穫されたコンブには水分のみならず塩分が残っている。水熱前処理にあたって塩が影響するのであれば、脱塩工程が必要となる。このため、水熱処理に及ぼす塩の影響を検討した。塩存在下、回分式反応器中でコンブを 150–190°C で処理し、得られた液体ならびに固体生成物を分析したところ、塩の添加効果は確認されず、脱塩処理を行わなくても水熱前処理の有効性は損なわれないことが確認された。また、150°C という比較的低温での水熱処理で 80% 以上の有機炭素が可溶化しており、水熱前処理が有機物溶解に有効であることが確認された（図 6）<sup>12)</sup>。ただ、マンニトール、およびウロン酸ポリマーであるアルギン酸などの藻体糖質の一部が分解され<sup>13,14)</sup>、ギ酸や酢酸などの有機酸が生成した。これら有機酸はメタン生成の良い基質なので、メタン発酵の前処理として問題はないと考えられるが、未同定の分解産物も確認されており、これが発酵阻害を引き起こす可能性があり、主要糖質の分解機構を踏まえて反応条件を確立する必要がある。固形物の可溶化工程はメタン発酵

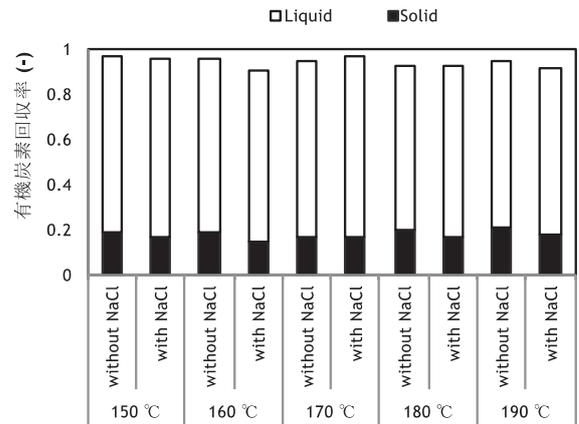


図 6. 水熱前処理によるコンブ可溶化に及ぼす処理温度、塩添加の影響<sup>12)</sup>

において、メタン生成段階と並ぶプロセスの律速要因なので、本可溶化処理工程を発酵プロセスに組み込むことにより（図 5）、加水分解・有機酸生成槽での反応を劇的に改善できるものと期待できる。

#### 5. 海洋藻類糖質発酵による高付加価値物質生産

先に述べた通り、海藻バイオマスを用いたメタン発酵プロセスで低価格エネルギーを提供するシステムにおいては、高付加価値物質の同時生産によってコストバランスを安定させる技術開発が必要となる。しかし、従来行われていたような藻体有用成分の抽出によるカスケード利用ではエネルギー回収率の低下とともに、回収産物が藻体成分のみのため販売マーケットは限定される。そこで我々は、カスケード利用ではなく、藻体糖質を基質とした発酵生産による高付加価値物質生産法の開発を行っている。

油糧微生物ラビリンチュラ（オーランチオキトリウム属）は、ドコサヘキサエン酸やアスタキサンチン、スクアレンなど高機能性、高付加価値物質の生産能を有しており、大型藻類からの効率的機能性油脂生産プロセスの構築が期待できる。しかし残念ながら、オーランチオキトリウム属既存株の資化特性を検討した結果、褐藻類の主要構成成分であるアルギン酸、およびマンニトールなどの資化性を有していなかった。そこで、海藻糖質に対

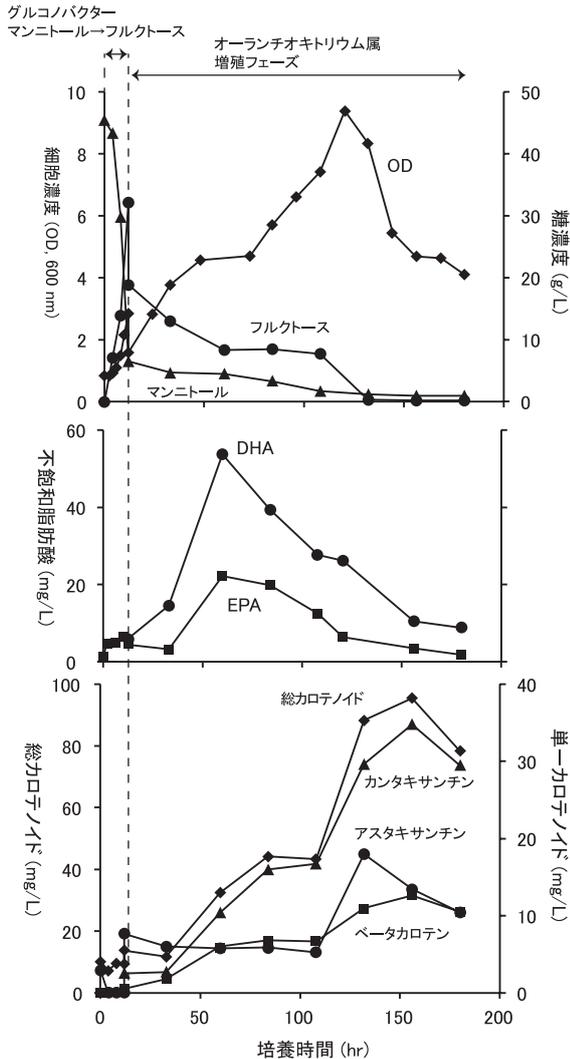


図7. 単行複発酵によるマンニトールからの不飽和脂肪酸およびカロテノイド生産<sup>15)</sup>

する資化性を指標に近海から単離した微生物や同様の資化性が報告あるいは予想された系統保存株、合計 168 株を一次ライブラリーとして、それらの培養上清を加えた培地でオーランチオキトリウム属が増殖しうるかを検討した。その結果、褐藻等の主要糖質であるマンニトールをオーランチオキトリウム属が資化可能なフルクトースに変換して細胞外に放出するグルコバクテラ属が有望株として選抜された。さらに、糖質の変換に要する培養時間や両微生物の耐塩性の違いなどについて詳細に検討し、ジャーフェーメンターによる実証試験を経て、グルコバクテラ属による糖質変換ステージとオーランチオキトリウム属による油脂生産ステージを組み合わせた単行複発酵による海藻からの油脂発酵技術を世界で初めて確立した (図7)<sup>15)</sup>。褐藻類の主要糖類であるアルギン酸についても、我々がアルギン酸分解菌として発見した新種の細菌 *Dysgonomonas alginatilytica* が<sup>16)</sup>、アルギン酸をラビリンチュラが資化可能な代謝産物に変換していることを見いだしている (未公表)。

世界的には遺伝子組換えにより基質資化性やカロテノイド合成能を付与する合成代謝工学的アプローチが一般

的であり、本プロジェクトにおいても、同様の方針での検討も進めている<sup>17-19)</sup>。しかし、環境放出防止措置などにコストがかかるため実用化は難しい。本成果は、遺伝子組換えに頼らない高付加価値油脂生産基盤技術として高い価値を持つと考えている。

## 6. ミネラル, 油脂生産型排水処理

メタン発酵, 油脂発酵後の排水はそのまま放流できないので発酵残渣の高効率排水処理は重要な要素技術である。一方, 海洋藻類には藻体表面の分泌性酸性多糖への吸着によりレアメタル・レアアースを含む様々な金属イオンが濃縮されていることが知られている。その量は日本近海産では毎日食べても人体に害を及ぼす程ではないが, 海水溶存濃度と比べて, 計算上, 10 万倍程度濃縮された金属イオンもある。レアメタル・レアアース資源の確保を目指す我が国としては, これを回収・利用することが望まれる。また, 黒海などの内海に生育する海藻類には重金属が集積しており有害物質として扱われており, 肥料化は困難である。そこで現在, 優れた排水処理能力および金属耐性を持つ海洋性細菌を用い, 無機資源および, 有用物質回収も可能とする排水処理技術の開発を進めている。

日本国内で採集した海水サンプルに対し, 光照射下で重金属である  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $AsO_4^{3-}$  などを添加した培地に植え継ぎ, 金属耐性菌群を集積した。それぞれの菌群について, 金属イオン ( $Mn^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Te^{2+}$ ,  $Se^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ) に対する感受性, および各イオンの除去率および回収率を評価した。その結果, マンガン集積菌群は  $500 \mu M$   $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  に対して生育感受性を示したが, 亜鉛集積菌群は全ての金属イオン存在下においても生育した。一方,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  を添加した培地での金属除去実験では, マンガン集積菌群の方が除去能は高く, 90%以上を菌体内に回収することが示された。ヒ酸集積菌群は亜鉛とレアアースをほぼ全て除去することが示された。コンブを無加水でメタン発酵すると仮定したときの金属イオン濃度で換算すると, これらの菌群を段階的, 複合的に使用することで, コンブバイオマス中の重金属およびレアアースを完全に除去・回収することができるかと試算された。

一般にメタン発酵残渣に残存する有機物は, リグニン由来の分解困難な固形有機物や, メタン発酵で処理しきれなかったプロピオン酸などの低級脂肪酸が主体である。海水浄化・放流のためには, 固形有機物は固液分離して別途処理すれば良いが, 可溶性有機物処理が必要とされる。そこで, 単なる排水処理ではなく, 発酵残渣からも有用物質回収を目的として, プロピオン酸を主な炭素源とする培地で油脂生産能をもつ光合成細菌群を集積した。この集積群から油脂生産菌を分離した結果, 光合成細菌とコンソーシアムを組んでいた細菌が真の油脂生産者であり, トリアシルグリセロール生産菌 *Nitratireductor* sp. OM-1 株と同定した<sup>20)</sup>。本株はプロピオン酸のほかにも, 酢酸, 酪酸, 吉草酸までの低級有機酸を資化できた。さらに, プロピオン酸と酢酸の同時摂取により, 基質資化が促進された。メタン発酵残渣からの油脂生産を考えると, 実用的メタン発酵プロセスの多

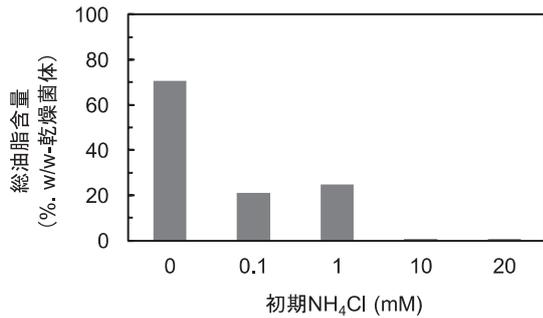


図8. *Nitratireductor* sp. OM-1 株の油脂生産に及ぼすアンモニア濃度の影響<sup>20)</sup>

くの場合、酢酸、プロピオン酸が残存することから、上記発酵特性はメタン発酵残渣処理としては非常に都合が良い。有機酸以外の炭素源として、グリセロールは油脂合成の基質として好ましく、酢酸・プロピオン酸・グリセロールを等濃度ずつ混合したモデル廃液中では、グリセロールを最初に消費し、その後、酢酸・プロピオン酸を完全消費した。この時、基質濃度が3倍になっても菌体生育量はあまり変化せず、余分に資化した分の炭素は油脂合成に振り分けられたことから、OM-1株は残存有機酸を余剰汚泥に変換せず、油脂合成を優先する可能性が期待された。また、グリセロールはメタン発酵残渣には通常含まれないが、微細藻類により生産される油脂からのバイオディーゼル製造において発生する大量の廃液にグリセロールが含まれており、これを補助基質として用いることができるかもしれない。油脂生産条件をさらに詳細に検討したところ、窒素濃度が重要な因子であり、窒素枯渇条件では、乾燥菌体当たり70%もの油脂含量率に達した(図8)。興味深いことに、この時、油脂の50%が可燃性の軽油である2-butenoic acid 1-methylethyl esterであったことから、さらに検討を加えることで、将来、本菌を用いた軽油の直接生産も期待できる。

## 7. おわりに

近年、地上バイオマスに倣って海藻からエタノールを発酵生産する計画が発表されている。例えば、(財)東京水産振興会は「オーシャンサンライズ計画」を発表、EEZを含む447万平方kmという広大な海を利用して、ホンダワラ的一种であるアカモクを、年間1.5億t生産し、400万tのバイオエタノールを生産するという。また、(株)三菱総合研究所は、「アポロポセイドン構想2025」の中で、日本海のEEZにある大和堆に着目し、年間2,000万キロリットルのバイオ液体燃料を供給する構想を発表している。しかし、例えばエタノール発酵は蒸留工程などに大きなエネルギーが必要であり、正味のエネルギー生産量はメタン発酵の方が高いと考えられる。

さらに、海藻が原料の場合、比較的単位収穫量の多いコンブなど褐藻類の主成分であるアルギン酸、粗タンパクなどはエタノール発酵に適しておらず、たとえエタノール発酵が行われたとしても、残りの残渣からもエネルギーを回収する為には、結局、メタン発酵を行うことになろう。従って、バイオマスの成分を問わず、単一の化合物であるメタンとしてエネルギー回収な嫌気消化法は、依然として、海藻バイオマスからのエネルギー回収法の大きな柱である。加えて、海洋糖質を基質とした高付加価値物質の発酵生産技術、および環境に配慮した発酵残渣処理技術開発も同時を行うことで、エネルギー生産性、経済性、そして環境性能のベストミックスを可能とするグリーンプロセスの開発・実用化を行いたい。

## 謝 辞

ここで紹介した研究成果は、全てJST CREST事業「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」の研究助成により達成されたものである。ここに感謝の意を表する。

## 文 献

- 1) Yokoyama, S., et al. 2007. World Academy of Science, Engineering and Technology. 28: 320-323.
- 2) (社)日本海洋開発産業協会, 他. 1984. 海洋バイオマスによる燃料油生産に関する調査成果報告書. 昭和58年度第2部. トータルシステム.
- 3) Matsui, T. 2007. Clean Energy. 16: 31-35.
- 4) Matsui, T. and Y. Koike. 2010. J. Biosci. Bioeng. 110: 558-563.
- 5) Miura, T., et al. 2014. Bioresour. Technol. 169: 362-366.
- 6) Miura, T., et al. 2015. Bioresour. Technol. 187: 275-281.
- 7) Miura, T., et al. 2016. Bioresour. Technol. 200: 616-623.
- 8) Takeno, K., et al. 2001. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56: 280-285.
- 9) Kita, A., et al. 2016. Journal of the Japan Petroleum Institute. 59: 9-15.
- 10) Tatara, M., et al. 2008. Bioresour. Technol. 99: 4786-4795.
- 11) Kita, A., et al. 2016. J. Biosci. Bioeng. 121: 196-202.
- 12) Matsumoto, R., et al. 2014. Journal of the Japan Institute of Energy. 93: 531-535.
- 13) Matsumoto, R., et al. 2015. Journal of the Japan Petroleum Institute. 58: 252-255.
- 14) Mohamad, R., et al. Journal of the Energy Institute (In press).
- 15) Arafles, K.H.V. et al. 2014. Appl. Microbiol. Biotechnol. 98: 9207-9216.
- 16) Kita, A., et al. 2015. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 65: 3570-3575.
- 17) Iwasaka, H., et al. 2013. J. Oleo Sci. 62: 729-736.
- 18) Aki, T., et al. 2014. Lipids. 49: 133-141.
- 19) Watanabe, K., et al. 2016. J. Lipid Res. 57: 89-99.
- 20) Okamura, Y., et al. 2016. Bioresour. Technol. 201: 215-221.
- 21) Hanssen, J.F., et al. 1987. Biomass. 14: 1-13.
- 22) Hinks, J., et al. 2013. Bioresour. Technol. 143: 221-230.
- 23) Jard, G., et al. 2012. Chem. Eng. J. 209: 513-519.