

# 高オイル産生海洋微細藻類 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株 の未乾燥藻体からのオイル抽出条件の検討

松本 光史

電源開発株式会社 若松研究所 バイオ研究室  
〒808-0111 北九州市若松区柳崎町 1 番 電話: 093-741-0942  
Fax: 093-741-0959 E-mail: mitsufumi\_matsumoto@jpower.co.jp

微細藻類を用いたバイオ燃料生産については、微細藻類の培養、回収、オイル抽出、バイオ燃料転換など各プロセスにおいて低エネルギー化が課題となっている。特に一連プロセスの中で、オイル抽出工程(藻体乾燥部分)における低エネルギー化が、全体のエネルギー収支に大きく影響することが明らかとなっている。筆者らは、高オイル産生微細藻類である *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株(旧名 *Navicula* sp. JPCC DA0580) を用いたバイオ燃料生産に関する研究を進めており、本藻の乾燥工程を必要としないオイル抽出条件の検討を進めてきた。その結果、従来から用いられているヘキサソル溶媒にメタノール溶媒を加えた 2 相溶媒を用いることで、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の未乾燥藻体からオイル抽出が行えることを見出した。

## 1. はじめに

エネルギー生産プロセスを構築するうえで、エネルギー収支バランス EPR(Energy Profit Ratio : 出力エネルギー/投入エネルギー)を評価することは、最も重要な事項である。この点については、微細藻類を用いたバイオ燃料生産についても例外ではない。EPR が高いほどエネルギーを生み出されることを意味しており、各プロセスの低エネルギー化は、EPR を向上させる上で、非常に重要となる。中でもオイル抽出プロセスの“藻体の乾燥”が全体プロセスの EPR に大きく影響する。そこで本研究では、高オイル産生海洋微細藻類 *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の未乾燥藻体からのオイル抽出方法について検討を行った。

## 2. 方法及び結果

### (1) 高オイル産生海洋微細藻類 JPCC DA0580 株について

高オイル産生海洋微細藻類 JPCC DA0580 株 [1] は、海洋 *Fistulifera* 属に分類される珪藻で、弊社が保有する微生物コレクション J-POWER Culture Collection より見出された(<http://www.oceanquest.jp> で公開中)。この *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株は、f/2 培地において 1 週間で生育が定常に達し、オイル蓄積量は乾燥藻体当たりに対して 40wt%~60wt% に達することが確認された(図 1)。また、培養時の比増殖速度  $\mu$  (day<sup>-1</sup>) は最大で 1.8 を示した。

オイル蓄積については、培養中期から後期にかけて起こることが確認され、他の微細藻類で報告される窒素源消費(欠乏)とリンクしていた(図 1)。

通常、微細藻類にオイルを蓄積させるには、一旦生育させた後、栄養塩である窒素成分を抜いた培地でインキュベーションを行う 2 段階の培養を必要としているが、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株は、“生育させながら”オイルを蓄積することができることが示唆された。これは、培養(生育と栄養塩)をコントロールすることで、オイル生産に必要な培養期間の短縮や、短時間で他の微細藻類と同量以上のオイル蓄積を達成することができること、極めて有益な特徴を有していた。このことから今後の研究には、本藻を利用することとした。

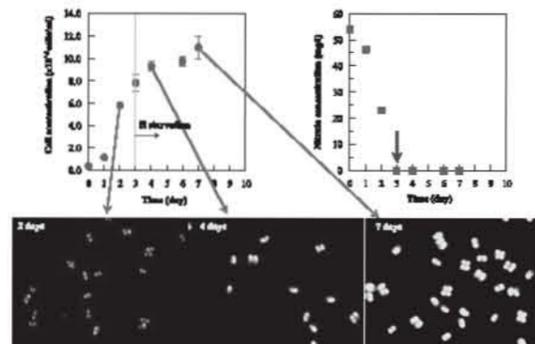


図 1. *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の培養時における生育、硝酸消費とオイル蓄積状況

### (2) *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の未乾燥藻体からのオイル抽出

*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株を用いる場合についても各プロセスの低エネルギー化は、同様に解決すべき重要な課題である。筆者は、出来るだけ既存技術で解決する方法を模索した結果、ヘキサソル/メタノールの極性/無極性溶媒による 2 相溶媒を用いることにより、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の未乾燥藻体から、容易にオイル抽出が行えることを見出した(表 1)。他の微細藻類種を用いて同条件下においてオイル抽出量を比較したところ、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株のみにおいて有効な方法であることが明らかとなった。

表 1 ヘキサソル/メタノール 2 相溶媒を用いた各種微細藻類未乾燥藻体からの抽出オイル量比較

藻類種	未乾燥率 (%) (ヘキサソル)	未乾燥率 (%) (ヘキサソル/メタノール)	抽出率 (%) (ヘキサソル)	抽出率 (%) (ヘキサソル/メタノール)
JPCC GA-1 株	-	29.5	100	21.5
JPCC CB シアノバクテリア	-	31.0	100	41.8
JPCC GA-2 株	-	15.4	100	52.1
<i>Fistulifera</i> sp. JPCC DA0580	-	112.1	100	98.1

・乾燥藻体、ヘキサソル抽出量を基準とした。  
・同条件下において 1 週間で増殖した藻体を使用した。  
・5 分間の固液分離で抽出した。

また、ヘキサソル/メタノール 2 相溶媒では、互いに混ざり合わず、藻体はメタノール相、オイルはヘキサソル相へ分離し、抽出オイルと藻体残渣を容易に分取できる。残渣分離についても、遠心処理やろ過などの物理的処理が必要なく、プロセスの更なる低エネルギー化、簡略化が可能であることが確認された(図 2)。

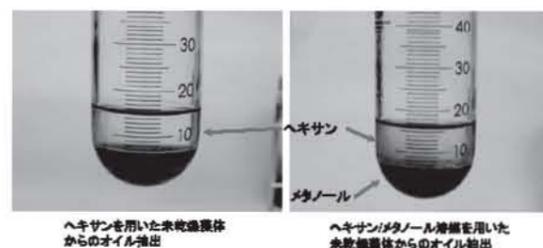


図 2 2 相溶媒を用いた未乾燥藻体からのオイル抽出

### (3) 超音波、攪拌処理によるオイル抽出

ラボレベルでは、オイル抽出時に超音波処理を併用しているが、実際の大量・連続処理プロセスを想定した場合、運用面やエネルギー収支にも出来る限り、簡易で低エネルギー型の抽出方法が望ましい。そこで、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の 2 相溶媒を用いた攪拌処理によるオイル抽出について検討した結果、超音波処理と同等のオイル抽出効率を達成できることが確認された。

## 3. 考察

*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株のオイル抽出プロセスの低エネルギー化に向けて、未乾燥藻体からのオイル抽出方法を検討した結果、ヘキサソル/メタノールの 2 相溶媒を用いることで、容易にオイル抽出が行えることが確認された。また、本方法は、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株にのみ適用可能であった。これは *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株が珪藻であり、他の微細藻類と比べ細胞構造が異なることに起因していると推定された。

さらに 2 相溶媒は、藻体残渣と抽出オイルが初めから分離されており、藻体残渣と抽出オイルを遠心分離やろ過などの物理的方法で分ける必要がない(その分、EPR が改善)利点がある。また、攪拌処理で超音波処理と同等のオイル抽出が行えることは、①スケールアップが容易、②低エネルギー化、③連続プロセス、④低コスト化が可能といったプロセスを構築するうえで、非常に大きなメリットと考えられた。

## 4. 今後の展望

微細藻類を用いたバイオ燃料生産に関する研究では、主に *Botryococcus* 属、*Pseudochoricystis* 属、*Euglena* 属、*Chlorella* 属、などの藻種で検討されている。*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株はこれら藻種と比較しても、オイル蓄積量、生育速度、容易なオイル抽出など、同等以上に非常に優れた特徴を持っている。オイル抽出プロセスの低エネルギー化はどの藻種を用いる場合についても重要な課題である。現在のところ、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株は、従来技術の組み合わせで低エネルギー化が達成できる貴重な藻種であるといえる。

現在 J-POWER では、CREST 研究(H21 年度採択)として、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株の屋外培養試験を開始している。さらに、自社で凝集剤を用いた培養液から藻体の低エネルギー連続回収技術にも目処をつけている。今後は、*Fistulifera* sp. JPCC DA0580 株を用いたバイオ燃料生産の全体プロセス構築について検討を進めていく予定である。

## 参考文献

[1] Matsumoto M, et al.: Appl. Biochem. Biotechnol., 161, 483 (2010)

## 謝辞

本研究は、H21 年度 CREST 採択研究「海洋微細藻類の高層化培養によるバイオディーゼル生産」の一部として実施したものである。