

# 特集 微細藻類を使ったCO<sub>2</sub>吸収・バイオ燃料化の研究と期待\*

## Research Expectations for CO<sub>2</sub> Fixation and Biofuel Production from Microalgae

福田 裕章 Hiroaki FUKUDA	藏野 憲秀 Norihide KURANO	保井 秀彦 Hidehiko YASUI	小松 さと子 Satoko KOMATSU
吉満 勇也 Yuya YOSHIMITSU	渥美 欣也 Kinya ATSUMI		

Microalgae have attracted the most attention as a source of biofuels because they do not compete with food crops and they can be a better alternative to petroleum. We have been developing the technologies of a breeding and cultivation system of unicellular green algae named *Pseudochoricystis*. Through the development, we have succeeded in building a model to predict the growth rate and lipid production of *Pseudochoricystis*. This modeling system enables for us to estimate the influence of each characteristic of microalgae on growth rate and lipid production. As the next step towards the practical application of this research, we are attempting to integrate each characteristic, which improves the lipid productivity, into one cell using genetic manipulation.

**Key words :** Biofuels, microalgae, cultivation, lipid productivity

### 1. はじめに

東北地方太平洋沖地震の福島原発で崩れ去った「原発の安全神話」、更に、シェール層に存在する石油や天然ガスを安価に採掘できる技術の実現、いわゆる「シェール革命」など、エネルギー供給に関する動向が近年激しく揺れ動いている。そのような状況下、米国のオバマ大統領は2013年6月25日に、温室効果ガス削減に向けた国際的取り組みの強化などを盛り込んだ包括的な地球温暖化対策の行動計画を発表した。具体的には、(1)米国でのCO<sub>2</sub>削減計画（2030年までに炭素汚染を30億トン減らす）、(2)気候変動に伴う災害への備え、(3)国際的な対応、の3本柱である<sup>1)</sup>。化石燃料に頼り続けると大気中のCO<sub>2</sub>は増加の一途を辿り、将来の「気候変動」、「食糧問題」、「水問題」に悪影響を及ぼす可能性は高い。人類の永続的な発展を実現するためにも風力や太陽電池、バイオ燃料などの自然エネルギーの利用は、21世紀の人類が解決しなければならない重要課題のひとつである。

### 2. 注目される微細藻類バイオ燃料

米国やブラジルを中心に、バイオエタノールを添加

したガソリン市場が形成され、2007年のブッシュ大統領の一般教書演説では、2017年までに1.32×10<sup>8</sup>KLの再生可能燃料（ガソリン需要の1割に相当）を実現する必要性が言及された。しかし、それを機にトウモロコシや大豆などの食糧価格が高騰し、食糧と競合するバイオ燃料の課題が浮き彫りとなった。そこで、食糧と競合しない微細藻類がクローズアップされることになる。微細藻類の中には油脂を蓄積するものも見つかり、エネルギー密度の高い炭化水素系燃料が得られるため、軽油やジェット燃料代替に適した材料と考えられる。更に、微細藻類の光合成効率は植物より高く<sup>2)</sup>、バイオマス生産性の面でも有利である。Fig. 1に、各種植物（微細藻類含む）における単位面積当りのバイオ燃料生産エネルギー量を比較した。微細藻類のバイオ燃料生産性が高等植物に比べて高いことが分かる。微細藻類は、その高い油脂生産能力に加え、植林による熱帯林の破壊を伴わないこと、年間を通じて安定に生産できることなどの特長もあり、世界から注目を浴びるようになった。

燃料の中でも、航空機への利用が特に着目されている。国際航空運送協会（IATA）は2050年までにCO<sub>2</sub>排出量を2005年比で50%削減するとの目標を発表し<sup>3)</sup>、2011年11月には、ユナイテッド航空が40%の藻類バイ

\*自動車技術会の了解を得て、「自動車技術会会誌」Vol.67 No.11 20134747より一部加筆して転載

オ燃料を添加したジェット燃料でヒューストンとシカゴ間のフライトに成功するなど、藻類バイオ燃料を用いた飛行試験が活発化している。中国民間航空総局（CAAC）も、「2020年までに中国の民間航空業のCO<sub>2</sub>排出量を2005年比で22%削減する。」という方針を打ち出し、2010年9月に米国ボーイング社と青島バイオエネルギー・バイオプロセス研究所が、微細藻類からの航空機用バイオ燃料の研究を促進させるための共同研究所を開設した。

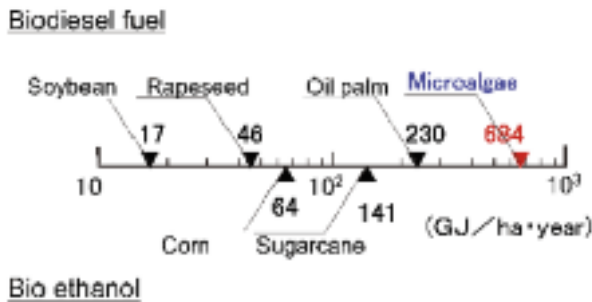


Fig. 1 Comparison of energy production of biofuels from plants per unit area

### 3. 微細藻類バイオ燃料を実用化するための課題

バイオ燃料生産を前提として微細藻類を育てる場合、安価でエネルギー投入量の少ない開放系培養システムが適している<sup>4)</sup>。その代表的なものがレースウェイ・ポンドであり、水深15~30cmの細長い池である。水車パドルで循環流を作ることによって微細藻の沈殿を防ぐ単純な培養法である。米国のDenverで2012年に開催されたAlgal Biomass Summitでは、「スケールアップ技術」、「生産性の向上」、「持続性の実現」、「燃料以外の付加価値」が4つの大きな課題として挙げられた。「スケールアップ技術」とは、大量培養が失敗する主要因となる微細藻類を捕食する原生生物やカビなどのコンタミネーション<sup>5)</sup>による被害を未然に防ぐ技術のことである。「生産性の向上」については、米国政府がロードマップで設定した微細藻類の増殖速度35g/m<sup>2</sup>/dayに対し、13g/m<sup>2</sup>/dayしか到達できていない事から問題視されている。多額の研究資金を投入して研究開発を推進してきた米国においても、微細藻類の能力を十分に発揮できるレベルに育種できていないのが現状である。「持続性の実現」は、CO<sub>2</sub>と水、肥料源の確保とリサイクルシステムを構築することであり、「燃料以外の付加価値」は、油脂抽出残渣の有効な利活用先を確保することである。最近の経済性評価から

も、藻類バイオ燃料を実現させる鍵は、培養リアクターの設備費とバイオマス生産性の改良、バイオ燃料以外の付加価値と指摘されている<sup>6)</sup>。石油は、重油や軽油、ガソリン、ナフサなどに分留され、各種樹脂原料を中心とした多くの製品に活用されることで低価格な燃料を実現している。藻バイオマスについても、燃料以外の残渣を有効に利活用することを考えないと、商業化レベルのコストを実現することはできない。

## 4. デンソーの取り組み

### 4.1 デンソーの保有する微細藻類

デンソーは、油脂産生微細藻類であるシュードコリスチス (Fig. 2) を保有している。シュードコリスチスは5μm程度の小さな緑藻で、窒素欠乏になると油脂の主成分であるトリグリセライド (TG) を体重の30~50%貯め込む性質がある<sup>7)</sup>。蛍光顕微鏡写真で黄色く光っている部分がTGを含む油滴である。また、シュードコリスチスには増殖に必要な三大栄養素 (窒素、リン、カリウム) の要求性が低い特長がある。通常、微細藻類のC/N比は草本植物に比べて顕著に低く5から15に分布しており<sup>8)</sup>、微細藻類を増殖させるための培地コストが高くなることが指摘されている。しかし、シュードコリスチスのC/N比は25を越えており、草本植物と肩を並べるレベルである。このように、一般の微細藻類の半分以下の肥料コストで培養できる点も魅力の一つである。更に、シュードコリスチスは強い酸性条件下 (pH3~4) で増殖できるため、屋外で培養しても他藻の混入は殆ど観察されない。屋外に設置した4m<sup>2</sup>の設置面積のレースウェイ・ポンドでシュードコリスチスを連続的に1ヶ月以上培養し、培養液中の真核生物種の変遷を変性剤濃度勾配電気泳動 (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis: 以下DGGEと略す)<sup>9)</sup> という遺伝学的分析手法で確認した。その結果をFig. 3に示す。中性で培養した緑藻Aでは培養開始後7日以内に藻類を捕食する原生生物が現れたが、シュードコリスチスの場合は38日間の培養期間を通じて他の生物の遺伝子は検出されなかった。このような特長を持つ微細藻類は稀であり、人件費を削減する培養を実現する上で極めて重要な特性と言える<sup>10)</sup>。また、培養液中の塩濃度を上げることで油脂生産量が増加することも確認している。Fig. 4は、シュードコリスチスの低クロロフィル変異株 (Fig. 8参照) を2.0%のNaClを添加して培養した際に油脂蓄積量が増加

燃  
料

したことを示す結果である。光合成で固定したCO<sub>2</sub>の炭素は、澱粉または油脂として蓄えられるが、塩ストレスにより油脂として蓄えられる炭素の割合が増加することを突き止めている。以上の特性を踏まえ、沖縄県宮古島の藻類培養施設で海水を利用した培養試験を実施した (Fig. 5)。14m<sup>2</sup>のレースウェイ・ポンドでシュードコリスチスを育て、培養液中の窒素が無くなるタイミングで65m<sup>2</sup>のレースウェイ・ポンドに移藻する。その際、非滅菌の地下水と海水を投入し、継続して培養させることで藻体内の油脂蓄積を促した。移藻前および収穫前の培養液中の真核生物種をDGGEで分析したが、異種生物によるコンタミネーションは発生せず、油脂生産速度を20%近く向上させることができた。このように、自然のままの地下水や海水を直接培養に活用できる利点は大きい。

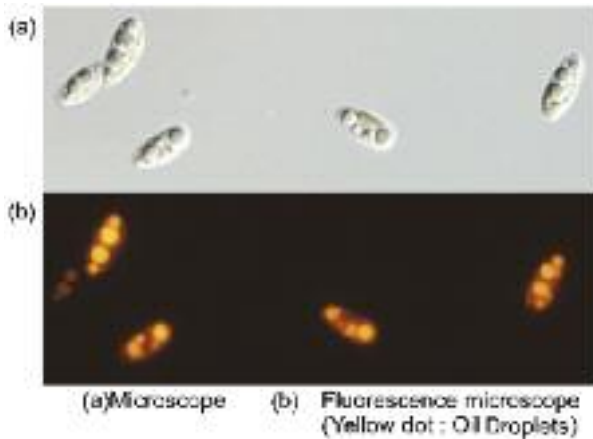


Fig. 2 Photo of *pseudochoricystis*

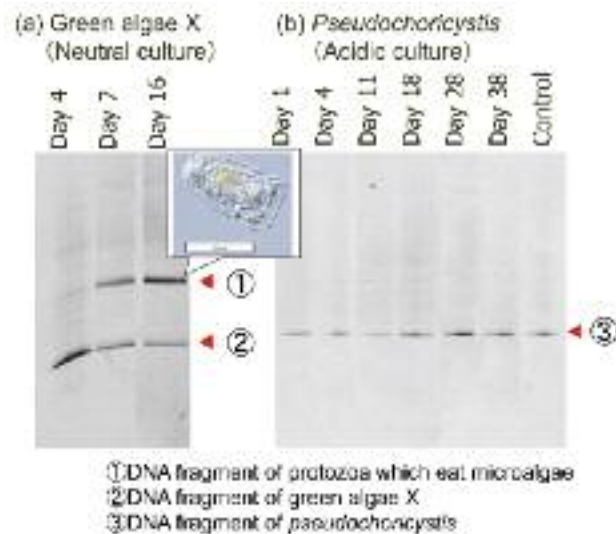


Fig. 3 DGGE results with the partial sequence of DNA from microalgal cultures

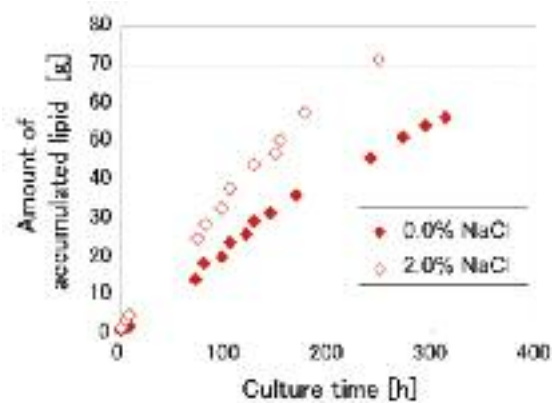


Fig. 4 Time course of lipid accumulation during cultivation

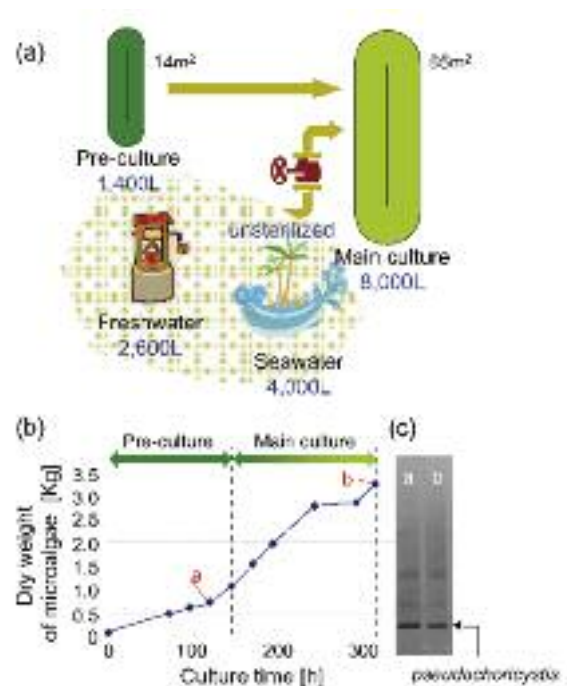


Fig. 5 Culture test using unsterilized seawater and freshwater  
 (a)Steps for scaling up the culture  
 (b)Growth curve of *pseudochoricystis* in open ponds  
 (c)DGGE analysis of the culture

#### 4.2 微細藻類の育種

我々は、油脂生産性を向上させる取組みも推進している。油脂生産性を向上させるには、「どんな特性をどのレベルにまで引き上げるのか」を明確にすることが必要と考え、各種特性が油脂生産性に及ぼす影響を加味した予測システムを構築した。本システムを用い、光強度と水温が一定の実験室内に設置したレースウェイ・ポンド (Fig. 6) で微細藻類を培養した際の実測値と予測値を比較した。その結果を Fig. 7 に示す。予測値と実測値は一致し、この予測システムにより油脂生産性を改善する手段とその効果を見積もることが可

能となった。微細藻類の油脂生産性は、その増殖速度と油脂含量により決まる。増殖速度の改善を狙い、中央大学はクロロフィル色素の少ない変異株を単離することに成功した。変異株と野生株の培養液をFig. 8に比較したが、変異株の緑色が薄いことが分かる。緑色のクロロフィル色素が少なくなると、水中への太陽光の透過割合が増加し、より多くの微細藻類が活発な光合成を行えるようになる。Fig. 6のレースウェイ・ポンドで、実際に変異株を培養した時の結果をFig. 9に示す。野生株に比べ藻体濃度は増加し、藻体の生産性が39%向上することを確認した。更に、Fig. 10に示すような、油脂蓄積量の多い変異株（形状と大きさが変化している）を取得することにも成功している。現在は、クロロフィル色素の少ないものや、油脂含量の高い変異株などを個別に取得しているが、油脂生産性を高める効果のある、これら特性を1つの細胞に集積する技術が重要になってくる。そこで、各種変異株において変化した遺伝子を特定し、それを遺伝子操作<sup>11)</sup>で1つの細胞に組み込む技術の開発に取り組んでいる（Fig. 11）。遺伝子操作といっても、自分の遺伝子のみを活用・強化したセルフクローニングという手法や遺伝子破壊など、“遺伝子組換え”に該当しない育種を中心に進めている。これらの技術の実現により、油脂生産性が2~3倍、高まることが期待できる。



Absorbance of 750nm were settled to 3.0

Fig. 8 Photo of the culture of the wild type and low chlorophyll mutant strain

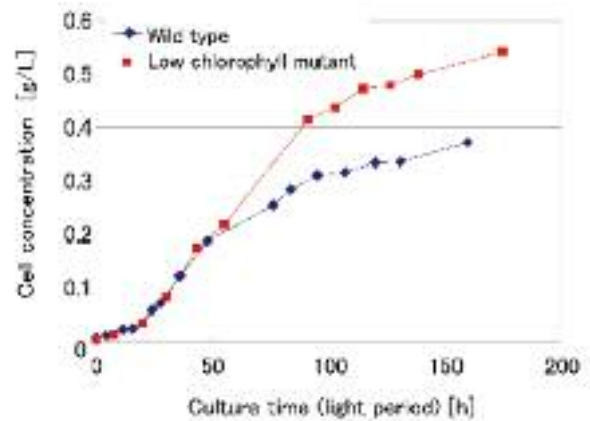


Fig. 9 Growth curve of the wild type and low chlorophyll mutant strain in the indoor raceway pond



Fig. 6 Indoor raceway pond for cultivation of microalgae

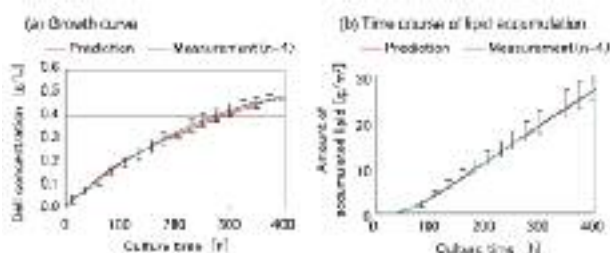


Fig. 7 Prediction of growth curve and time course of lipid accumulation in indoor raceway pond by developed prediction system

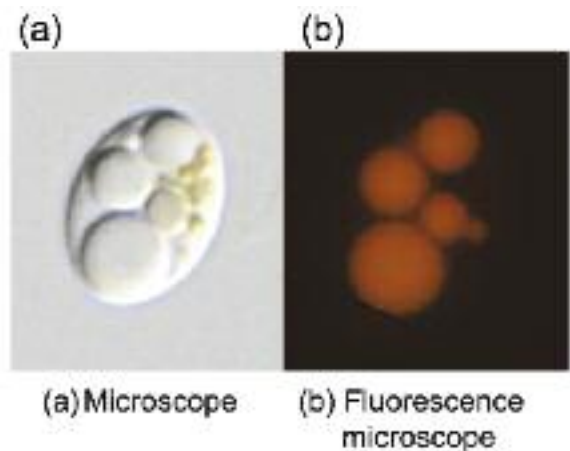


Fig. 10 High oil content mutant strain

燃  
料

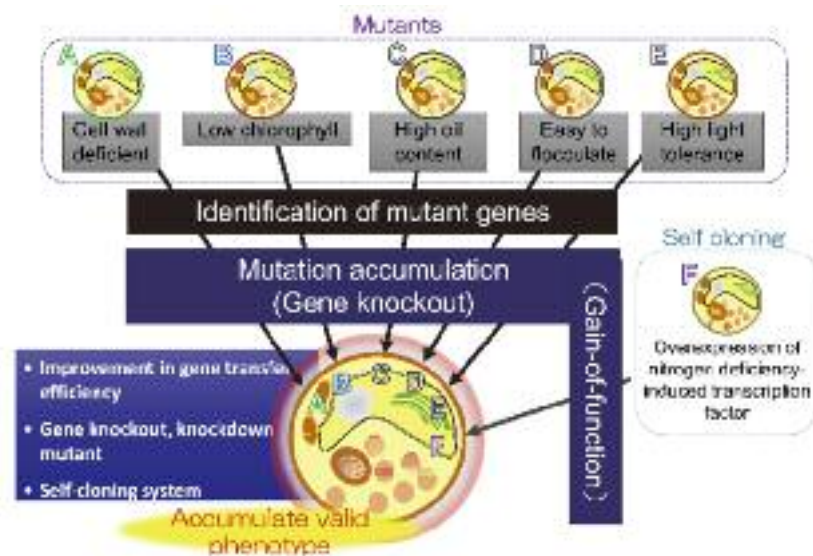


Fig. 11 Approach to *pseudochochicystis* breeding

## 5. おわりに

石油の枯渇は、液体燃料だけでなく樹脂などの化学製品にも大きな影響を及ぼす。日本が永続的に液体燃料を輸入できる保障はなく、燃料を自給する技術を早期に立ち上げ、我が国の産業競争力を復活させることが重要である。そのためにも、産官学が連携して英知を結集させるオールジャパン体制で取組み、実用化レベルに技術を発展させたい。我々は、出光興産株式会社と共同でシュードコリスチスから抽出した油脂を Drop-in Fuel として使用可能な水素化バイオディーゼルにした (Fig. 12)。低温流動性に課題は残るものの、軽油燃料を代替するバイオ燃料の第一歩を踏み出すことができた。デンソーは、微細藻類バイオ燃料研究のトップランナーとして、工業と農業を融合させた日本発の技術を発展させ、自動車業界のCO<sub>2</sub>排出量削減に向けた取組みや、競争力有る日本の未来に繋がる研究開発を通じ、世界に貢献することを目指す。環境立国を支える一企業として、カーボンニュートラルな自動車社会を実現していきたいと考えている。



Fig. 12 Hydrogenated biodiesel from *pseudochochicystis*

## 6. 謝辞

シュードコリスチスによる藻類バイオ燃料生産の研究は、農林水産省の委託研究「農山漁村におけるバイオ燃料等生産基地創造のための技術開発／微細藻類を利用した石油代替燃料等の製造技術の開発」および NEDO の委託研究「バイオマスエネルギー技術研究開発／戦略的次世代バイオマスエネルギー利用技術開発事業（次世代技術開発）／油分生産性の優れた微細藻類の育種・改良技術の研究開発」の一環として実施していることを記し、ここに感謝の意を表します。また、中央大学理工学部の原山教授の研究室の皆様を始め、研究への協力・支援を頂いた関係者各位、油脂の水素化と写真を提供して頂いた出光興産株式会社の皆様に深謝いたします。

### <参考文献>

- 1) President Obama's Climate Action Plan, <http://www.whitehouse.gov/the-press-office/2013/06/25/fact-sheet-president-obama-s-climate-action-plan>
- 2) Hase, R. Oikawa, H., Sasao, C., Morita, M. and Watanabe, Y. *J. Biosci. Bioeng.* Vol.89 (2000), p.157-163.
- 3) IATA press Releases, <http://www.iata.org/pressroom/pr/Pages/2009-10-13-01.aspx> (2012/9/7参照) : Aviation Presents Climate Change Plan to the UN
- 4) AQUAFUELS Project, <http://www.aquafuels.eu/deliverables.html> (2012/9/7参照) : D3.6 Economic assessment.
- 5) Borowitzka, M.A. *J. Biotech.* Vol.70 (1999), p.313-321

- 6) Stephens, E. Ross, I.L., King, Z., Mussnug, J.H., Kruse, O., Posten, C., Borowitzka, M.A., Hankamer, B. *Nat. Biotechnol.* Vol.28 (2010) , p.126-128
- 7) Satoh, A., Kato, M., Yamato, K., Ishibashi, M., Sekiguchi, H., Kurano, N., Miyachi, S. *J. Japan Inst. Energy.* Vol.89 (2011), p.909-913
- 8) Yoshida.T., Hairston, N.G., Jr. and Ellner, S.P. *Proc. R. Soc.* Vol.B271 (2004), p.1947-1953
- 9) Van Hannen, E.J., Mooij, W., Van Agterveld, M.P., Gons, H.J., Laanbroek, H.J., *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.65 (1999), p.2478-2484
- 10) Sheen, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO 80401 NERL/TP-580-24190 (1998). p.294
- 11) Imamura, S., Hagiwara, D., Suzuki, F., Kurano, N., Harayama, S. *J. Gen. Appl. Microbiol.* Vol.58 (2012), p.1-10

<著 者>



福田 裕章  
(ふくだ ひろあき)  
機能材料研究部  
微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定と  
バイオ燃料生産研究開発に  
従事



藏野 憲秀  
(くらの のりひで)  
機能材料研究部  
博士 (薬学)  
微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定と  
バイオ燃料生産研究開発に  
従事



保井 秀彦  
(やすい ひでひこ)  
機能材料研究部  
博士 (工学)  
微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定と  
バイオ燃料生産研究開発に  
従事



吉満 勇也  
(よしみつ ゆうや)  
先端研究室  
博士 (農学)  
微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定と  
バイオ燃料生産研究開発に  
従事



小松 さと子  
(こまつ さとこ)  
機能材料研究部  
微細藻類によるCO<sub>2</sub>固定と  
バイオ燃料生産研究開発に  
従事



渥美 欣也  
(あつみ きんや)  
新事業推進室  
微細藻類の事業化に従事  
コスメや健食・医療など  
ヘルスケア分野への展開を  
検討中