

微生物発酵生産の原料としての微細藻類の利用

Utilization of microalgae as source of fermentation production

○横山諭¹, 丸山優美¹, 松野良亮², 平戸祐喜², 谷川実³, 西村克史^{3, 4}* Satoshi Yokoyama¹, Maruyama Yumi¹, Ryosuke Matsuno², Yuki Hirato², Minoru Tanigawa³, Katsushi Nishimura^{3, 4}

Abstract: Microalgae have higher photosynthetic efficiency and production rate than higher plants because of their rapid growth. It was our goal to develop sustainable bio-based-production systems in which phototrophic microalgae are used for conversion of light energy and CO₂ into fine chemicals without depletion of natural resource. *G.xylinus* produced BC to a certain extent using hydrolysates with solid acids. The amount of BC was not proportional to the concentration of glucose. The two amylases effectively hydrolyze microalgae to produce glucose.

1. 諸言

本研究では、CO₂を炭素源とした微生物発酵生産システム構築を目的として、*Chlamydomonas reinhardtii* (*C. reinhardtii*) と藍藻 *Arthrospira platensis* (*A. platensis*) を栄養源として、バクテリアセルロース (BC) や EtOH の生産を試みた。

先行研究において、硫酸を用いて加水分解した微細藻類が BC の原料として有用であること、また、硫酸を中和したときに生成する塩が BC 生産を阻害することが明らかになった。そこで、固体酸やアミラーゼを用いた加水分解条件を検討した。

2. 方法及び結果

2-1. 固体酸を用いた微細藻類の分解

中和時に生じる塩を最小限にするため、固液分離が可能な固体酸 (DOWEX, Zeolite) による処理を試みた。三角フラスコに藍藻 (*A. platensis*) 粉末 1.2 g, DOWEX または Zeolite 3.6 g, 純水 35 mL を加え、オートクレーブ (129 °C, 5 時間または 10 時間) で加熱した。水酸化ナトリウムを用いて中和 (pH 6.5 付近) した後、遠心分離 (8000 rpm, 15 分) により沈殿を除去した。上澄みを 40 mL になるよう純水でメスアップした後、試験管に 10 mL ずつ分注した。培地成分を添加し、オートクレーブで滅菌 (121 °C, 20 分) した。培地に含まれるグルコース量は、グルコース CII テスト (WAKO) を用いて測定した。酢酸菌 (*G. xylinus* IFO 13772 株) 100 μL を植菌し、30 °C で 25 日間静置培養し、生産された BC の乾燥重量を測定した。

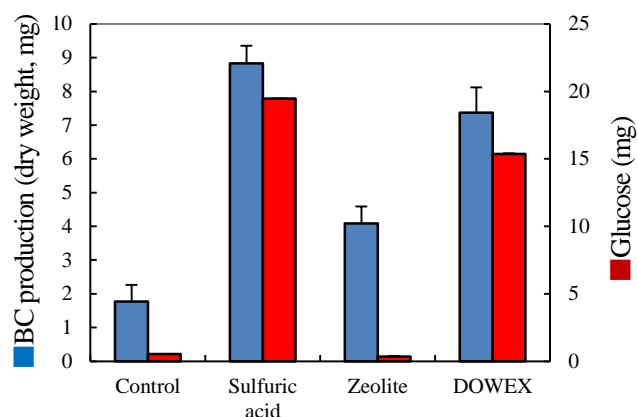


Fig. 1. 固体酸を用いた加水分解

固体酸処理された微細藻類から、15 mg (DOWEX) と 0.3 mg (Zeolite) のグルコースが得られた。*G. xylinus* はこの酸加水分解物を資化し、7.4 mg (DOWEX) と 4.1 mg (Zeolite) の BC を生産した。

Zeolite 処理ではグルコースやアミノ酸の量が低いにも関わらず、予想よりも高い BC 生産量が得られた。

2-2. アミラーゼを用いた微細藻類の加水分解

A. platensis 135 mg に純水または Buffer 4.5 ml を加え、藻類懸濁液とした。 α -Amylase を加え、40~68°C で分解を行った。5 分後、Glucoamylase を加え、40~60°C で分解を継続し、生成したグルコースの経時変化を調べた。

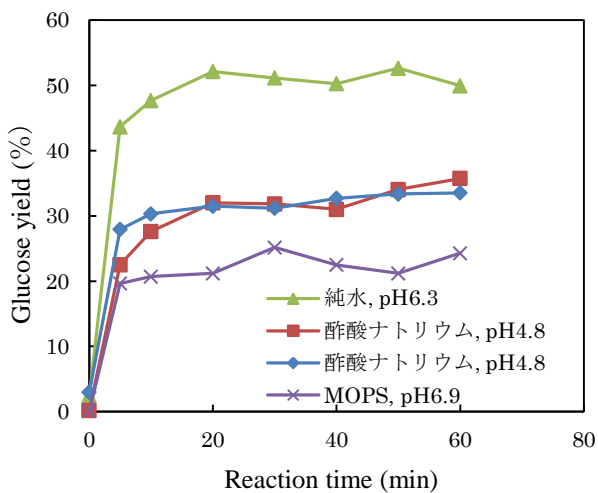


Fig. 2. Buffer の検討

アミラーゼ処理に用いる Buffer の種類および pH の検討を行った。純水を用いたとき、最も高いグルコース収率が得られた。

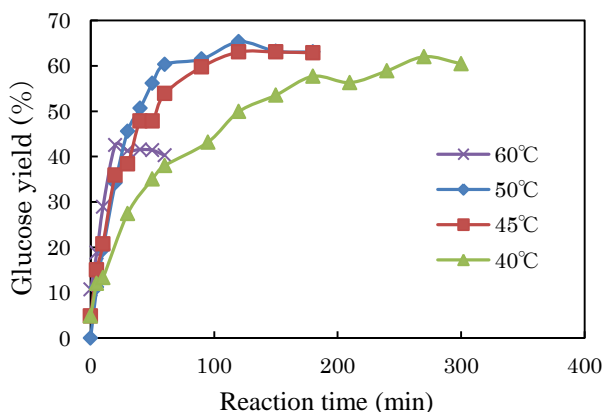


Fig. 3. 反応温度の検討

アミラーゼ処理における反応温度の検討を行った。反応は α -Amylase , Glucoamylse 共に同じ温度で行った。50°C, 180 分の場合、最も高いグルコース収率が得られた。

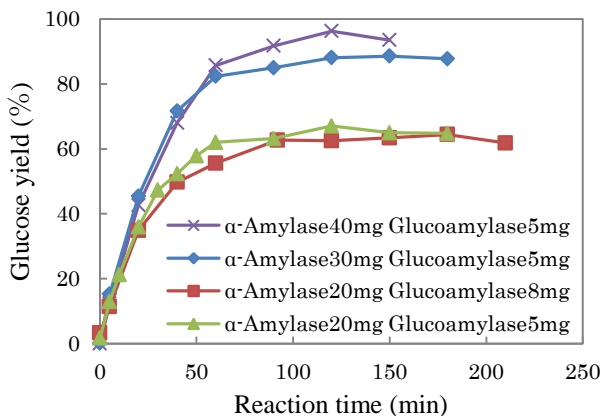


Fig. 4. アミラーゼ添加量の検討

アミラーゼ添加量の検討を行った。微細藻類は純水を用いて懸濁し、50°Cで反応させた。 α -Amylase 40 mg, Glucoamylase 5 mg を用いたとき、90% 以上の高いグルコース収率が得られた。この値は、硫酸 (31.6 %) や固体酸 (24.9 %) の値と比較して非常に高かった。

3. 考察

固体酸処理における、グルコース量と BC 生産量は硫酸処理の場合よりも低い値になった。これは固体酸の酸当量 (DOWEX; 213 mM, Zeolite; 12 mM) が硫酸 (600 mM) と比べて低いためであると考えられた。

アミラーゼ処理において、Buffer を用いた方が高いグルコース収率が得られると予想していたが、純水の方が高いグルコース収率となった。この理由は不明であり今後の検討が必要である。反応時間が 180 分の時、50°Cでの反応のグルコース収率が最も高いが、45°Cでも同程度の収率であることから、エネルギー的視点では、45°Cでの反応が適切であると考えられる。