

氏名（本籍）	遅 永雪（中華人民共和国）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	甲第188号
学位授与の日付	平成27年9月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	バイオ燃料の生産のための微細藻類 <i>Nannochloropsis oceanica</i> IMET1 による脂質生産条件に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 滝口 泰之 (副査) 教授 尾上 薫 教授 村上 和仁 教授 黒崎 直子 成蹊大学 教授 原 節子

学位論文の要旨

バイオ燃料の生産のための微細藻類 *Nannochloropsis oceanica* IMET1 による脂質生産条件に関する研究

第一章は、主に *Nannochloropsis oceanica* IMET1 という微細藻類の説明及び微細藻類からオイルやバイオディーゼルを作る研究の背景である。微細藻類が作り出すバイオ燃料が枯渇する石油の代替エネルギーとして期待されている。現在の主なバイオ燃料は食料資源から製造しており、これが食料資源の価格を高騰させることとなっているが、バイオ燃料の製造で微細藻類を使用することで食料を使用する必要がなくなり、食料価格高騰がなくなる。しかし、微細藻類から製造するバイオ燃料の価格は既存の燃料より高く、微細藻類からのバイオ燃料プロセスは実用化に至っていない。この問題に対し微細藻類からのバイオ燃料の低コスト化のために、新規微細藻類の探索、培養条件の最適化、バイオ燃料生産メカニズムの解明が必要とされている。

本研究は微細藻類からバイオ燃料を低コストで生産することを目的としており、そのためにバイオ燃料生産として新規に *Nannochloropsis oceanica* IMET1 を使用し、バイオ燃料を高効率製造する培養条件について検討した。

N. oceanica IMET1 は微細藻類のなかでも高いバイオ燃料生産能力のある属であることから、高いバイオ燃料生産能力が期待できる。

第二章は、BG11 培養液中で、*N. oceanica* IMET1、*N. gaditana* CCMP526、527、1775、1894 を培養した結果、*N. oceanica* IMET1 の細胞密度が *N. gaditana* よりも高くなることから、バイオ燃料

生産能力が高いと推定される。また、*N. gaditana* では CCMP526、1894 が高いバイオ生産能力を有すると推定される。CCMP526 は知見も多いことから、*N. oceanica* IMET1 の比較として使用することに決定した。

第三章は、二酸化炭素濃度、培養温度、明度の成長特性に与える影響を調べた結果、*N. oceanica* IMET1 は *N. gaditana* CCMP526 に比べて優れた成長特性を示すことがわかった。特に二酸化炭素濃度 10vol%以上で培地にもよるが 1.25~20 倍の高い成長率を示した。最適な培養条件は二酸化炭素濃度 2vol%、明度 $53\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、培養温度 30°Cであることがわかった。この時のバイオ燃料の組成は C14:0、C16:0、C16:1、C18:0、C18:1、C18:2、C18:3、C20:5 であり、主成分は C16:0 であり、微細藻類違いによる組成への違いはなかった。

第四章は、窒素源として尿素と硝酸ナトリウムを BG11 に加えた結果、硝酸窒素を添加するとバイオ燃料の収率は尿素の添加に比べて 2 倍となることがわかった。添加する窒素源によって脂肪酸の組成も異なり、硝酸窒素を使用すると主に C16:0 (6.3%) と C18:2 (14.9%)、尿素を使用すると C16:0 (6.8%)、C18:3 (8.6%) と C22:0 (33.1%)であった。

グルコースの成長特性への影響を調査した結果、バクテリア抑制のために添加したストレプトマイシン効果もあり成長特性は低下したが、脂質含有量は増加することがわかった。

N. oceanica IMET1 はこれまでの *Nannochloropsis* 属の中でも成長率が高く、バイオ燃料収率も高いことから、高効率でバイオ燃料が生産できる見込みがある。

第五章では、*N. oceanica* IMET1 からのバイオ燃料生産のコストを説明する。計算の結果、*N. oceanica* IMET1 からのバイオ燃料生産のコストは、220 ¥/L となった。*N. oceanica* IMET1 は、低コストでバイオ燃料を製造することが可能であると考えている。

今後の課題は、バイオ燃料収量の向上のため *N. oceanica* IMET1 のバイオ燃料生産メカニズムを解明すること、実プラント化に向けたパイロットプラントでのバイオ燃料生産技術の基礎研究である。

審査結果の要旨

本論文は「微細藻類 *Nannochloropsis oceanica* IMET1 によるバイオ燃料の生産条件に関する研究」と題し、6 章 16 節から構成されている。

本論文第 1 章では、微細藻類を用いたバイオ燃料生産研究の現状と本研究の目的について述べている。微細藻類のバイオ燃料は高等植物の種子から採られている油に比べ、耕作面積が少なく、

短時間で収穫が可能である。また、石油の枯渇による代替燃料としても注目されている。二酸化炭素の吸収率も高く、地球環境の保全にも貢献できるなどの利点がある。本研究は研究例の少ない *Nannochloropsis* 属の微細藻類を用いてバイオ燃料生産のための菌株の選択、窒素源、炭素源の影響、コスト計算を行うことを目的とした。

第2章では微細藻類 *Nannochloropsis* 属6株を二酸化炭素の濃度を0.03~20%の範囲で変えてマイクロプレート内で培養し、その増殖速度を比較した。その結果、*N. oceanica* IMET1が検討したすべての二酸化炭素濃度で高い増殖速度を示した。また、高濃度の二酸化炭素中でも安定した増殖を維持することが判明した。

第3章では *N. oceanica* IMET1 および *N. gaditana* CCMP526 の2株を用いて光合成に影響が大きいと思われる温度、二酸化炭素濃度、光強度を変えて、マイクロプレート中で培養した。培養はMBG11培地とASW培地の2種類を用いた。その結果、*N. oceanica* IMET1は二酸化炭素濃度2%、温度30°C、光強度 $53\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で最大の増殖を示すことが判明した。

第4章では窒素源を硝酸塩と尿素とした条件で *N. oceanica* IMET1 をフラスコ培養し、増殖とともにオイル生産条件検討し、得られた油の脂肪酸組成を測定した。その結果、12日間の培養後のオイル生産量は硝酸塩で5.3 g/L、尿素で1.7 g/Lとなった。また、主要な脂肪酸は硝酸塩ではオレイン酸、パルミチン酸であったのに対し、尿素ではベヘン酸、リノレン酸であり、窒素源は生産される油の脂肪酸組成に大きく影響することが判明した。また、炭素源としてグルコースを加えると乾燥菌体中の油含量が高まることが分かった。

第5章では *N. oceanica* IMET1 から得られるバイオ燃料のコストを試算した。その結果、最適条件下で1リットル当たり220円の価格で生産できることが判明した。

第6章では第2章から第5章の結論をまとめた。

本論文は微細藻類を用いたバイオ燃料の製造において、培養条件が油の生産速度や脂肪酸組成に大きな影響を与えることを明らかにした点において、重要な知見を得たものである。従って、学位論文申請者の遅 永雪は博士（工学）の学位を得る資格があると認める。