

特別企画総説

微細藻類オイルの化学

彼谷邦光

筑波大学大学院生命環境科学研究科 〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

Chemistry of microalgal oil

Kunimitsu Kaya

Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba
1-1-1, Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

The terms, algal oil, biofuel and biodiesel are found in newspaper articles all over the world every day. Several airlines demonstrated that biofuel can be utilized as jet fuel. In particular, the industrial world is interested in microalgal oil, and is discussing the possibility of algal oil obtained from diatoms and green algae. In this review, the basic chemistry on microalgal lipids is given as a simple plain description, and findings on the utilization of microalgal lipids are also explained.

はじめに

最近になって、地球温暖化対策として大気中の二酸化炭素削減技術の開発が盛んに進められている。また、化石燃料枯渇に対する危機感から、再生可能なエネルギーの開発も進められている。再生可能エネルギーには太陽光発電、風力発電が実用化されているが、光合成生物の脂質の利用もその一つとして関心が集まっている。特に、政府の二酸化炭素の排出量削減計画が発表されてから、藻類オイル、バイオ燃料やバイオジーゼルの開発に関する記事が頻繁に新聞紙上で見受けられるようになった。昨年にはアメリカや日本の航空会社がバイオオイルでジェット機を飛ばすデモンストレーションを行ったことが話題になっている。この様な状況から、産業界も藻類オイルの燃料としての可能性を真剣に議論しているようである。しかし、微細藻類の脂質についての知識はあまり普及しておらず、藻類オイルという用語だけが独り歩きしている感がある。そこで、本稿では微細藻類の脂質の化学について平易に記述し、脂質の応用についての最近の知見も簡単に解説した。

構成成分

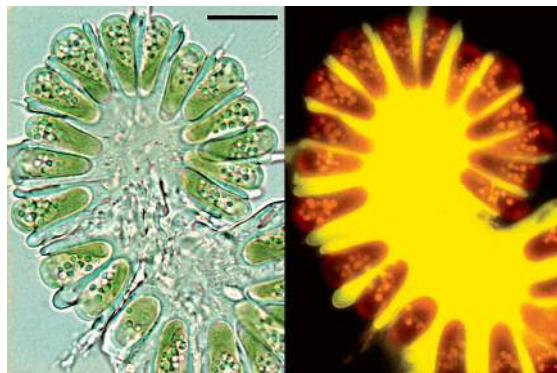
エネルギー資源として注目されている藻類の多くは緑藻類と珪藻類であるが、ユーゲレナ (*Euglena*) やラビリンチュラ (*Labyrinthula*) と呼ばれる海洋性真核微生物もトリグリセリドなどの脂質を蓄積すること

表1 微細藻類の脂質含量

| 微細藻類 (microalgae) | 脂質含量 (lipid content) (% in dry wt) |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Botryococcus braunii</i> | 25-75 |
| <i>Chlorella</i> sp. | 28-32 |
| <i>Cryptothecodium cohnii</i> | 20 |
| <i>Cylindrotheca</i> sp. | 16-37 |
| <i>Dunaliella primolecta</i> | 23 |
| <i>Isochrysis</i> sp. | 25-33 |
| <i>Monallanthus salina</i> | >20 |
| <i>Nannochloris</i> sp. | 20-35 |
| <i>Nannochloropsis</i> sp. | 31-68 |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | 35-54 |
| <i>Nitzschia</i> sp. | 45-47 |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 20-30 |
| <i>Schizochytrium</i> sp. | 50-77 |
| <i>Tetraselmis suecia</i> | 15-23 |

脂質には炭化水素、ステロイドおよびステロイドの脂肪酸エステル、ワックス（高級アルコールと脂肪酸のエステル）、モノ、ジおよびトリグリセリド、リン脂質、糖脂質の他、アミノ酸およびペプチドと脂肪酸のエステルやアミドを含む。

E-mail: kaya@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

図1 *Botryococcus braunii*

左は群体、右は同視野の蛍光像で、黄色がナイルレッドで染色されたオイル、赤は葉緑体の自家蛍光を示す。スケールバーは 10 μm (写真提供：河地正伸)。

が知られている（表1）。また、燃料用エチルアルコールの原料として炭水化物も注目されている。藻類における蓄積性の脂質と炭水化物の間には深い関係があるらしい。また、ユーゲレナやクロレラ (*Chlorella*) のように光合成だけではなく、有機物をも利用する藻類も知られており、培養条件の違いにより、細胞構成成分に大きな違いが見られる。また、一定の培養条件下でも細胞の増殖ステージによって脂質含有量が変動する。一般に対数増殖期の細胞の脂質含量は少なく、静止期になると増加するものが多い。

最近オイル生産緑藻として注目を集めている *Botryococcus braunii* では、脂質の主成分は炭素と水素からなる炭化水素であり、細胞内および細胞外に直鎖アルケンやトリテルペンなどの炭化水素を蓄積する（図1）。

オイルの種類

脂質と呼ばれている物質群の総称として油脂と呼ばれることがある。“油”は常温で液体の脂質を指し、“脂”は常温で固体の脂質を指す。“油”に属する脂質は一般に植物や魚などの変温生物由来の脂質である。構成する脂肪酸にはオレイン酸やリノール酸などの常温で液体の不飽和脂肪酸が多く、天ぷら油やサラダ油に利用されるトリグリセリドも常温で液体である。“脂”に属する脂質は主に恒温動物の脂質で、ステアリン酸などの飽和脂肪酸を多く含む。豚のトリグリセリドであるラードや牛のヘッドが代表的な脂である。微細藻類の脂質の脂肪酸は不飽和脂肪酸を多く含み、トリグリセリドは油に属する。特に、海洋性真核微生物であるシゾキトリウム (*Schizochytrium*) や渦鞭毛

表2 飽和脂肪酸の種類と名前

| 名前 | 炭素数 | 融点 (°C) |
|---------|-----|---------|
| ラウリン酸 | C12 | 43 |
| ミリスチン酸 | C14 | 54 |
| パルミチン酸 | C16 | 63 |
| ステアリン酸 | C18 | 70 |
| アラキシン酸 | C20 | 75 |
| ベヘン酸 | C22 | 80 |
| リグノセリン酸 | C24 | 84 |
| セロチン酸 | C26 | 88 |
| モンタン酸 | C28 | 91 |
| メリシン酸 | C30 | 94 |

藻類はドコサヘキサエン酸 (DHA) やエイコサペンタエン酸 (EPA) 等を多く含み、極めて酸化され易い。微細藻類の脂質にはトリグリセリドの他に炭化水素類、糖脂質、リン脂質など、植物に共通した脂質が含まれている。

1) 脂肪酸を構成成分とする脂質

通常の緑藻類の構成成分中の 15 ~ 17% は脂質である。この脂質中には種々の脂質が含まれており、大きく中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分けられる。およその組成比は、中性脂質 30%、糖脂質 37%、リン脂質 26%、および脂肪酸を含まない脂質 7% である。しかし、*Botryococcus* に見られるように、多量の炭化水素を蓄積する場合や、中性脂質に属するトリグリセリドを多量に蓄積する微細藻類も知られている。脂肪酸を含まない脂質に属する炭化水素については改めて詳細に解説する。

藻類を含む植物の脂質は動物の脂質と異なる特徴がある。まず、不飽和脂肪酸が全脂肪酸の 60% 以上あることである（表2, 3）。次に、光合成に関与するスルホン糖を持つ糖脂質が存在することである。中性脂質の大部分を占めるトリグリセリドはグリセロール分子の 3 つのアルコール性の水酸基と 3 分子の脂肪酸がエステル結合したものである（図2）。塩基としてコリンが付いたものをホスファチジルコリン、エタノールアミンが付いたものをホスファチジルエタノールアミンと呼ぶ。その他、セリンが付いたホスファチジルセリンや塩基を持たないホスファチジン酸がある。

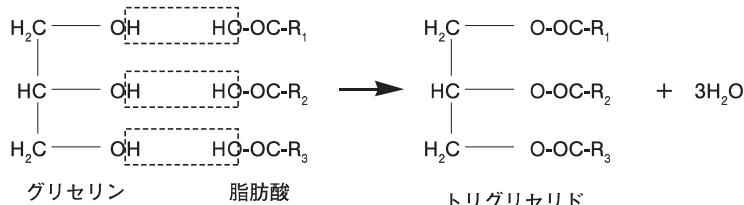
クロレラの主要脂肪酸はパルミチン酸 (C16:0) 21%、リノール酸 (C18:2) 29%、リノレン酸 (C18:3) 16% とほぼ一定であるが、*Botryococcus* では株によってかなり異なり、NIES-836 株 (Dayananda *et al.*, 2006) ではオレイン酸 (C18:1) とパルミチン酸 (C16:0) であるのに対して、IPPAS H-252 株 (Zhila *et al.*,

表3 不飽和脂肪酸の種類と名前

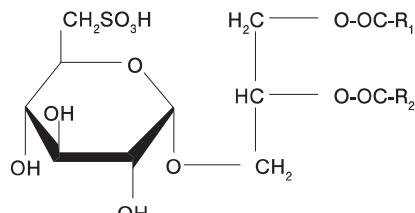
| 名前 | 炭素数:二重結合数 | 二重結合位置 | 二重結合配置 | 融点(℃) |
|------------|-----------|------------------------------------|--------|-------|
| パルミトオレイン酸 | C16:1 | n-7, Δ9 | Z | |
| オレイン酸 | C18:1 | n-9, Δ9 | Z | 4 |
| エライジン酸 | C18:1 | n-9, Δ9 | E | 44 |
| バクセン酸 | C18:1 | n-7, Δ11 | E | 43 |
| シスバクセン酸 | C18:1 | n-7, Δ11 | Z | |
| リノール酸 | C18:2 | n-6,9, Δ9,12 | Z | |
| アルファリノレン酸 | C18:3 | n-3,6,9, Δ9,12,15 | Z | |
| ガンマリノレン酸 | C18:3 | n-6,9,12, Δ6,9,12 | Z | |
| アラキドン酸 | C20:4 | n-6,9,12,15, Δ5,8,11,14 | Z | |
| エイコサペンタエン酸 | C20:5 | n-3,6,9,12,15, Δ5,8,11,14,17 | Z | |
| ドコサヘキサエン酸 | C22:6 | n-3,6,9,12,15,18, Δ4,7,10,13,16,19 | Z | |

Z: cis, E: trans

トリグリセリド



代表的な糖脂質



スルホキノボシリジグリセリド

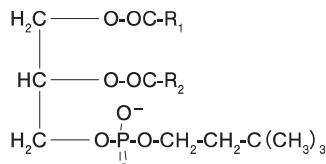
図2 脂質の種類

2005) ではリノレン酸 (C18:3) 52.8 ~ 57.2%, パルミチン酸 (C16:0) 23.7 ~ 26.0% が主要脂肪酸であると記載されている。種々の株の脂肪酸組成ではオレイン酸とパルミチン酸が主要脂肪酸の場合が多いようである。*Botryococcus braunii* NIES-836 ではオレイン酸とパルミチン酸が主要脂肪酸であるが、メチル側鎖を持つ脂肪酸として 16-methyl heptadecanoic acid と 5,9,13-trimethyl tetradecanoic acid が GC/MS で同定されている (Dayananda *et al.*, 2006).

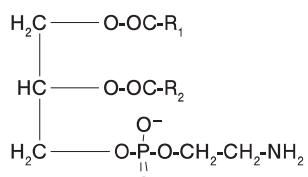
2) 脂肪酸組成の変動要因

脂肪酸組成は種々の培養条件で大きく変動することが知られている。最も一般的な脂肪酸組成の変動要因

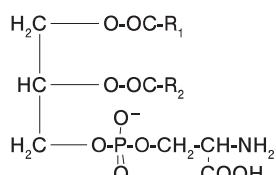
は生育温度である。特に、細胞膜を構成するリン脂質は温度変化に敏感である。細胞膜はエネルギーを使って、つまり、能動的に物質の取り込みや排出を行っている。そのためには細胞膜は常に一定の流動性を保持する必要があり、実際、保持している。この機能を恒常性維持機能 (homeostasis) と呼んでいる。細胞膜を構成しているリン脂質二重層は膜の中央に脂肪酸が集まり、細胞質側と細胞の外側には塩基のリン酸エステルが膜から露出している。膜には物質授受の受容体や膜酵素などが膜を貫通、または伝達系を介して分布している。リン脂質を構成している脂肪酸は直接膜の流動性に関与しており、温度変化に応じて脂肪酸組成を変化させて膜の流動性を一定に保っている (図3)。



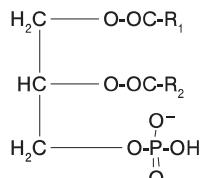
ホスファチジルコリン（レシチン）



ホスファチジルエタノールアミン



ホスファチジルセリン



ホスファチジン酸

図3 代表的なリン脂質

培養温度が高くなると、膜は流動性が増すので、常温で固体（融点の高い）のステアリン酸やパルミチン酸などの飽和脂肪酸を増加させて流動性を一定に保つ。また、培養温度が低下すると、柔らかい（融点の低い）オレイン酸やリノレン酸などの不飽和脂肪酸を増加させて膜の流動性を一定に保っている。しかし、どのような脂肪酸を動員して流動性を保持するのかは、生物種によって異なる（彼谷, 2001）。*Botryococcus*を最適培養温度（25℃）より高い温度（32℃）で培養すると、二重結合を3つ分子内に持つ脂肪酸（リノレン酸など）が最適培養時より有意に減少したとの報告がある（Kalachova et al., 2002）。

培養液中の栄養素である窒素を制限すると、*Botryococcus braunii* IPPAS H-252 のトリグリセリド

が蓄積し、脂肪酸組成も変化すると述べている（Zhila et al., 2005）。正常培養液で増殖した細胞をコントロールとした場合、窒素制限の細胞のリノレン酸の割合がコントロールの52.8～57.2%から19.5～24.7%に低下し、反対にオレイン酸が1.1～1.2%から17.1～24.4%に、飽和脂肪酸が23.7～26.0%から32.9～46.1%に増加した。リン脂質などの極性脂質では窒素制限培養13日目から飽和脂肪酸が76.8%にまで増加し、高度不飽和脂肪酸（分子内に二重結合が2つ以上ある脂肪酸）は6.8%まで低下したと報告している。これらの結果から膜の流動性が高まる原因を考察するのは無理であるが、IPPAS H-252株が産生し、細胞外に分泌する炭化水素と関係がありそうである。

培養のステージによって脂肪酸組成が変わるという報告もある（Kalachova et al., 2001）。*Botryococcus*の対数増殖期にパルミトリノレン酸（C16:3）とα-リノレン酸（C18:3ω3）の全脂肪酸に占める割合が35%以上になるというのである。これらの変化も細胞分裂と膜の流動性の関係を示唆しているものと思われる。

3) *Botryococcus braunii* の炭化水素

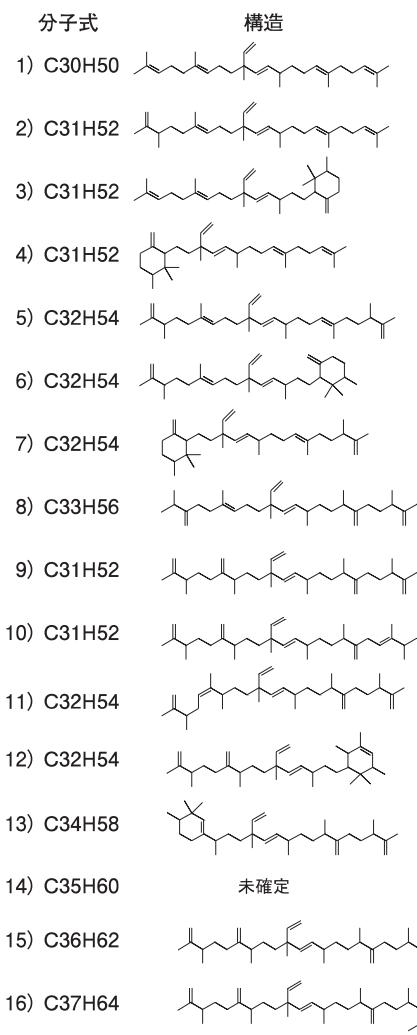
產生する炭化水素の構造上の特徴を基に*B. braunii*をRace-A, -BおよびLの3つに分け、“*B. braunii* A race”という表記の仕方が用いられている。Race-Aは25～31の奇数の炭素数を持つ直鎖で、分子内に2または3つの二重結合を持つ炭化水素を产生するグループ、Race-BはC_nH_{2n-10} (n=30～37)で表されるトリテルペン構造を持つ炭化水素を产生するグループ、Race-Lはテトラテルペンのlycopadiene (C₄₀H₇₆)構造と分子式を持つ炭化水素を产生するグループ、と定義されている。これらの代表的な炭化水素の構造を図4に示した。

Race-Aにおける炭化水素の含有量は株によって大きく異なり、0.4～61.0%（乾燥藻体重量中の炭化水素の重量）の範囲にあると述べている（Metzger et al., 1985）。Race-Bでは重量当たり30～40%の炭化水素を产生するものが多いため、9%程度しか产生しない株も報告されている（Okada et al., 1995）。Race-Lでは炭化水素产生がインドの株で0.1%程度、タイの株で8.0%（Metzger et al., 1997）とRace-Bに比べてかなり少ない。

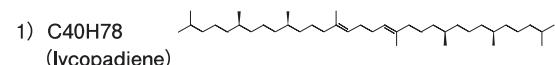
炭化水素产生と培養条件についてこれまで多くの試みがなされてきた。*Botryococcus braunii*の培養条件と产生する炭化水素の構造が密接に関係する。CO₂濃度を0.3%に高めた空気を通気するとRace-BではC₃₀-

| 分子式 | 構造 | 二重結合位置 |
|-----------|--|-------------------|
| 1) C25H48 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₃ CH=CH ₂ | 1,16(E/Z) |
| 2) C27H52 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₅ CH=CH ₂ | 1,18(E/Z) |
| 3) C29H56 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₇ CH=CH ₂ | 1,20(E/Z) |
| 4) C31H60 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₉ CH=CH ₂ | 1,22(Z) |
| 5) C29H54 | CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH-CH=CH(CH ₂) ₁₇ CH=CH ₂ | 1,20,22(Z) |
| 6) C27H50 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₃ CH=CH-CH=CH ₂ | 1,3,18(E/Z) |
| 7) C27H48 | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ CH=CH-CH=CH-CH=CH ₂ | 1,3,18(E/Z), 5(E) |

Race-A



Race-B



Race-L

図4 *Botryococcus braunii* の炭化水素

C₃₂のトリテルペンが主成分となるが、通常の空気(CO₂: 0.03%)ではC₃₃-C₃₄が主成分になる(Wolf et al., 1985).

*Botryococcus braunii*の特徴的な炭化水素として一連のn-alkylphenolがある(図4). 炭素数C₂₇, C₂₉およびC₃₁のものがテキサス州オースチンのコレクション株から同定されている。量的には少ない(乾燥重量の1.5%)が、精力的に構造研究が行われた。合成的には酢酸から合成されることが[1, 2-¹³C]ラベルの酢酸の取り込み実験とNMRによる解析の研究から明らかにされている(Metzger & Casadevall, 1989).

*Botryococcus*の炭化水素には二重結合がある場合がほとんどである。二重結合は不安定であり、酸化され易い。図5に示したように、二重結合が酸化されてエポキサイドになる。これも酸化されると、ジオールになる。この過程でそばにエポキサイドがあれば、重合してエーテル架橋が形成され、もう一方はアルコールまたはラジカル炭素になり、水が付加すれば、アルコールに、さらにエポキサイドがあればここでもエーテル架橋が形成され、高分子化が起きる。*Botryococcus*の炭化水素には少量成分として含酸素炭化水素が検出されている。その他の含酸素炭化水素としてケトンやアルデヒドがあるが、前述の含酸素炭化水素に比べ、生成量が少ないので省略した。

4) アルジナン (algaenan)

アルジナンは*Botryococcus*特有の成分である(図6)。混合有機溶媒(クロロホルム/メタノールまたはエタノール/ジエチルエーテルの混合液)で脂質を抽出した後の細胞残渣を顕微鏡で見ると、細胞は完全に破壊された状態が観察される。しかし、コロニーのマトリックスは無傷で残っている。このような化学的に安定で、不溶性の高分子物質をアルジナンと呼んでいる。最初、Race-Aの残渣からメタノール性KOHと、高濃度リン酸で処理して得られる可溶性アルジナン

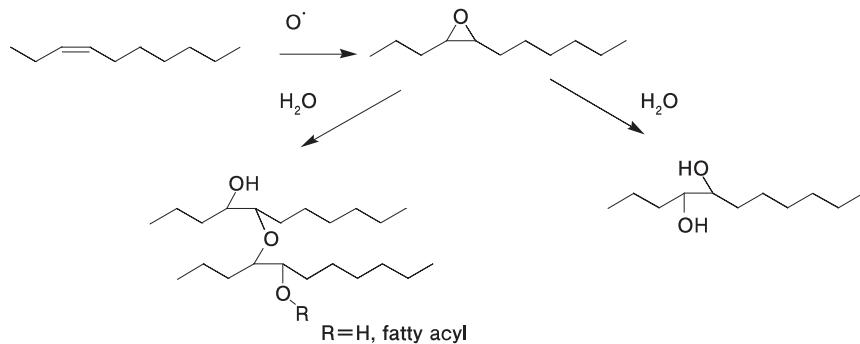


図5 二重結合が酸化されて生成するエポキサイド、アルコキシエーテルおよびジオール炭化水素。 O^\cdot :酸素ラジカル

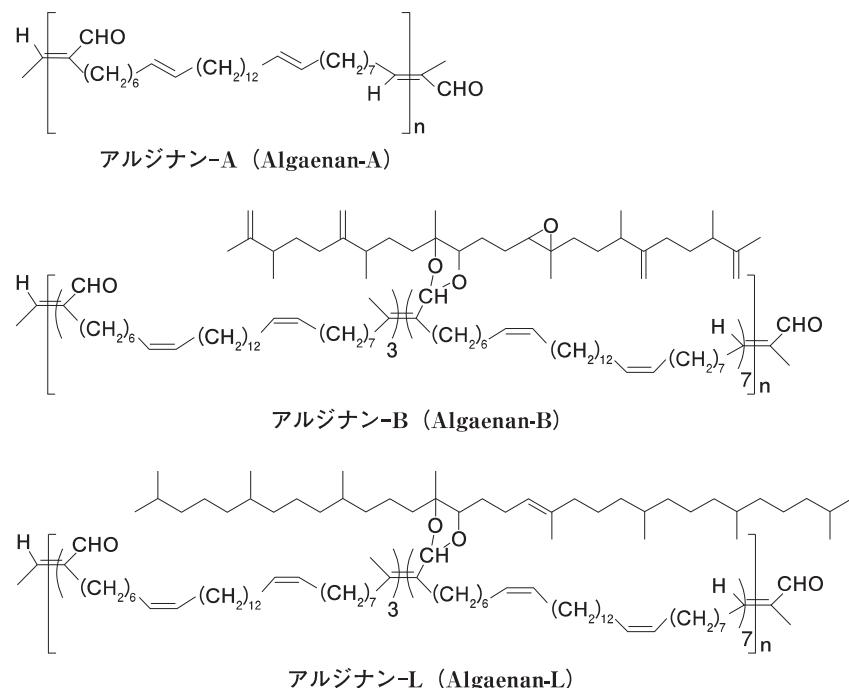


図6 アルジナン (algaenan)-A, B および L の推定構造

-Aとその残渣である不溶性アルジナン-Aが調整され、可溶性および不溶性アルジナン-Aと名付けられた (Kadouri *et al.*, 1988)。FTIR や $^{13}\text{C-NMR}$ を用いてそれらの構造が調べられてきた。IR では 720 cm^{-1} 付近に特徴ある吸収が見られ、 $^{13}\text{C-NMR}$ では 29 ppm 付近に強い強度のシグナルが観察された。これらのことからアルジナン-Aには長いメチレン鎖の存在が明らかにされた。不溶性のアルジナン-Aと可溶性の長鎖ポリアルデヒドとして調整されたアルジナン-Aのスペクトルの類似性から、また、ピロリシス分析 (pyrolysis, 热分解分析) による結果から、可溶性お

よび不溶性の両アルジナンの主成分は n-アルカン、n-アルケンおよび n-アルキルシクロヘキサンからなることが示された。おそらく、不溶性のアルジナン-Aは可溶性のアルジナンが縮合して網目状構造になったと推定されている。Race-B から調整されたアルジナン-Bは Race-A のものに比べ、メチル側鎖が多いことが示されている。このメチル側鎖は Race-B が生産するテルペノイドに由来するものと推定されている。つまり、アルジナンは *Botryococcus* が産生する炭化水素の重合による高分子とされている。

最近になって、アルジナン-Bをトリフルオロ酢酸

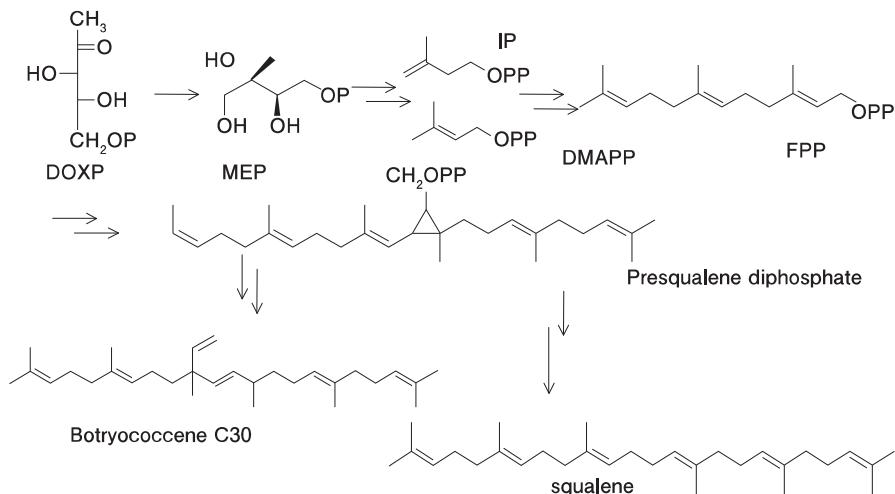
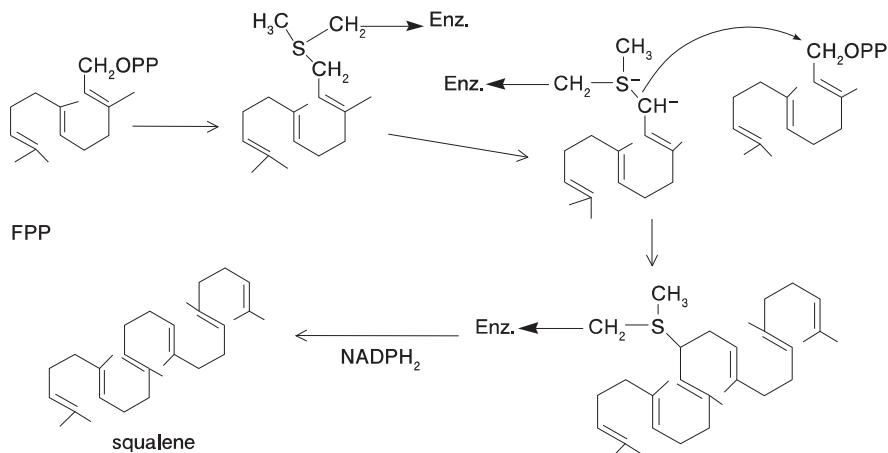


図7 Botryococcene と squalene の生合成経路の共通部分

図8 Farnesyl diphosphate から squalene への生合成機構
Enz.: squale synthetase; FPP: farnesyl diphosphate

と塩酸-THF（テトラヒドロフラン）で加水分解し、可溶化に成功している（Allard *et al.*, 1997）。このスペクトル分析、元素分析、などから、アルジナン-Bも鎖状の-(CH₂)_n-を含むポリアルデヒドと推定されている。

一方、Race-L から調整されるアルジナン-L は多量のメチル基を含むことが示され、機器分析の結果、C40 のテトラテルペノイドであるリコパジエンのポリケトン体がC-O-C 結合で重合して高分子化したものであることが示された（Derenne *et al.*, 1990）。*Botryococcus braunii* の細胞壁であるアルジナンは疎水性のスponジ構造であり、クロロホルムのような低極性の溶媒を多量に保持することができる。細胞はこ

の疎水環境のスponジ状構造に細胞外炭化水素を多量に保持し、コロニー凝集の役割を果たしているのであろう。

代謝機構

Botryococcus braunii B race はボトリオコッセン (botryococcene) を合成するが少量のスクワレンも合成している。スクワレンはトリテルペンの一種であり、ボトリオコッセンとスクワレンの生合成系はスクワレンの前駆体であるプレスクワレン二リン酸 (presqualene diphosphate) まで共通である（図7, 8）。中間体であるファルネシル二リン酸 (farnesyl diphosphate) はメバロン酸経路で合成されると考えられて

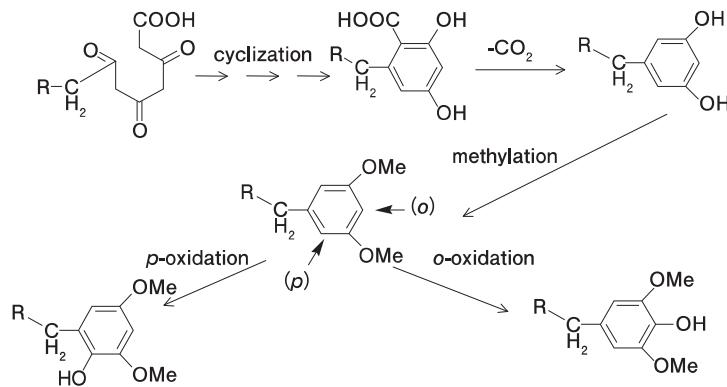


図9 *Botryococcus braunii* が産生する alkenyl resorcinol 誘導体の生合成機構

いたが、非メバロン酸経路で合成されることが確かめられた。Casadovall *et al.* (1984) はボトリオコッセンの生合成経路を調べるために [2-¹⁴C]mevalonate の取り込みを調べたが、予想に反して、僅か 0.2% しかボトリオコッセンに取り込まれなかつた。

その後、Sato *et al.* (2003) は [1-¹³C]glucose のボトリオコッセンとメチル化スクワレンへの取り込みを調べたところ、グルコースの解糖系産物であるピルビン酸とグリセラルデヒド三リン酸から DOXP (1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate) が合成され、さらに MEP (2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate) を経てボトリオコッセンとメチル化スクワレンが合成されることが確認された。この実験によってボトリオコッセンは非メバロン酸経路で合成されることが証明されたのである。

スクワレンは鮫の肝油から抽出されている比較的高価な炭化水素であるが、その詳細な生合成系は図に示したようにファルネシル二リン酸の二分子縮合がスクワレン合成酵素を介して行われる。スクワレンはコレステロールの前駆体であり、閉環反応によってコレステロールに変換される。

アルケニルフェノール (n-alkenylphenol) 類は自然界に広く存在している。例えば、海産褐藻類 (Amico, 1995)、高等植物 (Tyman, 1979)、海産スポンジ (Barrow & Capon, 1991) などから見出されている。これらの化合物は一般に抗酸化的に働くので、細胞の脂質の部分に分布して酸化防止に働くと考えられている。また、アルケニルフェノールは *B. braunii* の細胞から n-ヘキサンで容易に抽出されることから細胞壁の外側に分布していると思われる。

アルケニルフェノール類の生合成経路は [1,2-¹³C]

酢酸の取り込み実験で明らかにされた。酢酸から、テトラケタイド (tetraketide) が合成され (Metzger & Casadevall, 1989)，このケタイドが環化してベンゼン環を形成する。環化は通常のアルドール縮合による (Metzger & Pouet, 1995) (図9)。

これらのフェノール性の分子は細胞外脂質を酸化から防ぐ役割を担っているだけでなく、バクテリアやカビによる直鎖炭化水素の分解を防ぐ役目も果たしているのであろう。

藻類オイルおよびその他の成分の利用

1) カロテノイド (carotenoids)

β -カロテンはビタミンAの前駆体として、また抗酸化剤として利用価値の高い物質である。*Botryococcus braunii* を培養していると、細胞の色が変わってくる。これは窒素源不足や強い光強度がストレスとなって多量のカロテノイド生成が起こり、細胞マトリックスに蓄積するからである。カロテノイドの蓄積は Race-A や L でより顕著である。両 Race の対数増殖期ではほぼ等しい量の β -カロテン、エチネノン (echinenone), 3-OH エチネノン、カンタキサンチン (canthaxanthin), ルテイン (lutein), ピオラキサンチン (violaxanthin), ラロキサンチン (loroxanthin) およびネオキサンチン (neoxanthin) を产生する。対数増殖期ではルテインがカロテノイド中に占める割合が 22 ~ 29% と最も多いが、静止期ではカンタキサンチン (46%) とエチネノンが主要カロテノイドとなる (Grung *et al.*, 1998)。細胞の色調変化の主な原因是細胞内マトリックスにケトカロテノイドであるエチネノンが蓄積し、それ以外の色素の顕著な減少 (Tonegawa *et al.*, 1998) によることが明らかにされ

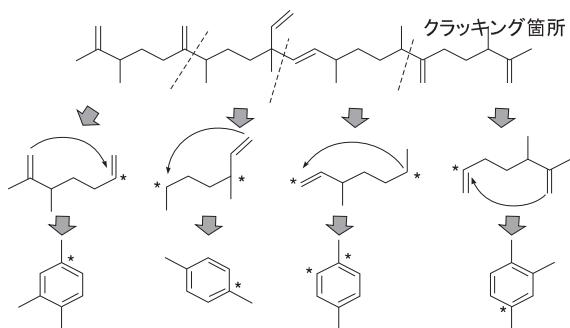


図 10 ボトリオコッセンの触媒クラッキングによる芳香族炭化水素の生成. Banerjee A., et al, Critical Reviews in Biotechnology (CRC Press) 22: 273, figure 6 より引用.

ている。これらのカロテノイドを株と培養過程を利用して選択的に作らせることができれば、抗酸化剤や食用色素として利用することが可能となろう。

2) ボトリオコッセン (*Botryococcens*)

藻類からヘキサンで抽出される炭化水素は直接燃料として使うことができる。しかし、内燃機関の燃料として使うには熱分解や触媒を用いたクラッキングによる改質が必要となる。湿った藻類バイオマスを熱処理することによって直接燃料オイルを製造することが可能である。バイオマスに触媒として 5% の炭酸ナトリウムを添加して 1 時間の熱処理 (300°C, 10 MPa) (Sawayama et al., 1999) を行うことによって高収率でオイルを得ることができる。このオイルにはボトリオコッセンの分解物で低分子 ($C_{17}C_{22}$, 200 ~ 300 Da) のものがオイルの 5% の収量で得られる他、ボトリオコッセンが 27 ~ 28% の収量で、極性有機物がオイルの 22% 程度得られる。全体としてヘキサン抽出物の 53% が得られるが、利用可能なオイルとしての収量は多くない。

触媒を用いたクラッキングによって、藻類炭化水素からガソリン (60 ~ 70%), 軽質油 (10 ~ 15%), 重質油 (2 ~ 8%), タール分 (5 ~ 10%) を得ることができる (Kitazato et al., 1989)。用いる触媒として、Co-Mo 触媒, zeolites (Kitazato et al., 1989) 等がある。得られるガソリン画分や他の画分の割合は用いる触媒の種類、反応温度に左右される。Zeolites を用いた場合のガソリン画分を得るための最適温度は 497°C であり、生成するガソリン成分はキシレンとトリメチルベンゼンである。ボトリオコッセン ($C_{34}H_{58}$) を直接クラッキングにかけると環化が起き、芳香族環が生成す

る (Kitazato et al., 1989; Banerjee et al., 2002)。クラッキングを受ける箇所は二重結合隣接の炭素—炭素結合である (図 10)。

ボトリオコッセンの末端ビニル基を選択的に酸化してメチルケトン誘導体 ($C_{34}H_{56}O$) にして使う方法も示されている (Chisti, 1980)。

3) その他の成分

Botryococcus braunii やその他の藻類の成分としてスクワレン (squalene) がある。従来、スクワレンは鮫の肝油から調整され、健康食品として利用されている。スクワレンと、テルペノイドであるボトリオコッセンの生合成経路は共通部分が多く、酵素阻害剤を用いて、スクワレンの蓄積量を増やすことも可能である。

その他、食用油の廃油や植物トリグリセリドをメタノール・酸触媒を用いてエステル交換反応により、脂肪酸メチルエステルを調整し、ジーゼルオイルとして用いる方法はすでに実用化されている。

リン脂質は大豆レシチンと同様に乳化剤や界面活性剤としても利用可能である。また、培養時に細胞外に多量に分泌される粘質多糖の利用も検討に値する。粘質多糖の構成糖にガラクトース、フコース、ガラクチュロン酸などが検出されている。特に、フコースはアボトシスと関係があるといわれており、医薬品としての展開が期待されている。

おわりに

微細藻類のオイルは再生可能エネルギーとして有望であるというのが最近の定説になっている。しかし、微細藻類を野外開放系で大量培養しようとすると、実験室内での培養と異なり多くの問題に直面する。例えば、温度変化をいかに克服するか、異種生物の混入、いわゆるコンタミを防ぐのかあるいは共生させるのか、高密度培養はどうするのか、といった難問が続出してくる。また、閉鎖系での大量培養に活路を見出そうとすると、滅菌方法、培養容器の形態や材質をどうするかといった問題が出てくる。そして、これらの全てに生産コストという要素が絡んでくるのである。これらの問題の克服には藻類学者の知恵をお借りして一つ一つ解決していくことが最善の策であろう。一方、大量培養された藻類の収穫方法、オイルの抽出方法、精製方法等にもコストを考慮したプロセス開発が必要になる。新たな産業の創生には新たな技術の創生が必要となる。藻類エネルギー産業を興すためには藻類工学の体系化と技術者の育成を図ることが必要となろう。

文 献

- Allard, B., Templier, J. & Largeau, C. 1997. Artificial origin of mycobacterial bacteria. Formation of melanoidin-like artifact macromolecular material during the usual isolation process. *Organic Geochemistry* **26**: 691-703.
- Amico, V. 1995. Marine brown algae of family *Cystaseiraceae*: chemistry and chemotaxonomy. *Phytochemistry* **39**: 1257-1279.
- Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y. & Banerjee, U.C. 2002. *Botryococcus braunii*: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology* **22**: 245-279.
- Barrow, R.A. & Capon, J. 1991. Alkyl and alkenylresorcinols from an Australian marine sponge, *Haliclona* sp. (Haplosclerida: Haliclonidae). *Australian J. Chemistry* **44**: 1395-1405.
- Casadevall, E., Metzger, P. & Puech M.P. 1984. Biosynthesis of triterpenoid hydrocarbons in the alga *Botryococcus braunii*. *Tetrahedron Lett.* **25**: 4123-4126.
- Chisti, Y. 1980. An unusual hydrocarbon. *J. Ramsay Society* **27-28**: 24-26.
- Dayananda, C., Sarada, R., Srinivas, P., Shamada, T.R. & Ravishankar, G.A. 2006. Presence of methyl branched fatty acids and saturated hydrocarbons in botryococcene producing strain of *Botryococcus braunii*. *Acta Physiologae Plantarum* **28**: 251-256.
- Derenne, S., Largeau, C., Casadevall, E. & Sellier, N. 1990. Direct relationship between the resistant biopolymer and the tetraterpenic hydrocarbon in the lycopadiene-race of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry* **29**: 2187-2192.
- Grunig, M., Metzger, P. & Liaaen-Jensen, S. 1998. Algal carotenoids, primary and secondary carotenides in two races of green alga *Botryococcus braunii*. *Biochem. Sys. Eco.* **17**: 263-269.
- Kadouri, A., Derenne, S., Largeau, C., Casadevall, E. & Berkaroff, C. 1988. Resistant biopolymer in the outer walls of *Botryococcus braunii*, B race. *Phytochemistry* **27**: 551-557.
- Kalacheva, G.S., Zhila, N.O. & Volova, T.G. 2001. Lipid of the green alga *Botryococcus* cultured in a batch mode. *Microbiology* **70**: 256-262.
- Kalacheva, G.S., Zhila, N.O., Volova, T.G. & Gladyshev, M.I. 2002. The effect of temperature on the lipid composition of green alga *Botryococcus*. *Microbiology* **71**: 286-293.
- 彼谷邦光 2001. 脂肪酸と環境, 脂肪酸と健康・生活・環境—ポピュラーサイエンスシリーズ—, p. 104-117, 裳華房, 東京.
- Kitazato, H., Asaoka, S. & Iwamoto, H. 1989. Catalytic cracking of hydrocarbons from microalgae. *Sekiyu Gakkaishi* **32**: 28-34.
- Metzger, P., Berkaloff, C., Coute, A. & Casadevall, E. 1985. Alakdiene- and botryococcene-producing races of wild strains of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry* **24**: 2305-2312.
- Metzger, P. & Casadevall, E. 1989. Aldehydes, very long chain alkenylphenols, epoxides and other lipids from an alkadiene-producing strain of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry* **28**: 2097-2104.
- Metzger, P. & Pouet, Y. 1995. Pyrogallol dimethyl ethers, aliphatic diol monoesters and some minor ether lipids from *Botryococcus braunii* (A race). *Phytochemistry* **40**: 543-554.
- Metzger, P., Pouet, Y. & Summons, S. 1997. Chemotaxonomic evidence for similarity between *Botryococcus braunii* L race and *Botryococcus neglectus*. *Phytochemistry* **24**: 2305-2312.
- Okada, S., Murakami, M. & Yamaguchi, K. 1995. Hydrocarbon composition of newly isolated strains of green alga *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycol.* **7**: 555-559.
- Sato, Y., Ito, Y., Murakami, M. & Abe, H. 2003. Biosynthesis of the triterpenoids, botryococcens and tetramethylsqualene in the B race of *Botryococcus braunii* via the non-mevalonate pathway. *Tetrahedron Lett.* **44**: 7035-7037.
- Sawayama, S., Minowa, T. & Yokoyama, S. 1999. Possibility of renewable energy production and carbon dioxide mitigation by thermochemical liquefaction of microalgae. *Biomass Bioenergy* **17**: 33-39.
- Tonegawa, I., Okada, S., Murakami, M. & Yamaguchi, K. 1998. Pigment composition of the green microalga *Botryococcus braunii*, Kawaguchi-I. *Fish. Sci.* **64**: 305-308.
- Tyman, J.H.P. 1979. Non-isoprenoid long chain phenols. *Chemical Society Reviews* **8**: 499-537.
- Wolf, F.R., Nonomura, A.M. & Bassham, J.A. 1985. Growth and branched hydrocarbon production in a strain *Botryococcus braunii*. *J. Phycol.* **21**: 388-396.
- Zhila, N.O., Kalacheva, G.S. & Volova, T.G. 2005. Effect of nitrogen limitation on the growth and lipid composition of the green alga *Botryococcus braunii* Kutz IPPAS H-252. *Russian Journal of Plant* **52**: 311-319.