

身近な水辺に生息する酵母はカーボンニュートラルに貢献できるか

浦野 直人 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, urano@kaiyodai.ac.jp)

石田 真巳 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, ishida@kaiyodai.ac.jp)

岡井 公彦 (東京海洋大学 学術研究院海洋環境科学部門, mokai01@kaiyodai.ac.jp)

鈴木 耕太郎 (ゼンショーホールディングス基盤技術研究所, kotaro.suzuki@zensho.com)

武井 俊憲 (ゼンショーホールディングス基盤技術研究所, toshinori.takei@zensho.com)

高塩 仁愛 (ゼンショーホールディングス基盤技術研究所, masachika.takashio@zensho.com)

Possibility to contribute carbon neutral by yeasts inhabiting in aquatic environments of our neighborhood

Naoto Urano (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Masami Ishida (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Masahiko Okai (Department of Ocean Science, Tokyo University of Marine Science Technology, Japan)

Kotaro Suzuki (Zensho Laboratories of Food Technology, Zensho Holdings Co., Ltd., Japan)

Toshinori Takei (Zensho Laboratories of Food Technology, Zensho Holdings Co., Ltd., Japan)

Masachika Takashio (Zensho Laboratories of Food Technology, Zensho Holdings Co., Ltd., Japan)

要約

身近な水辺に生息する酵母はカーボンニュートラルに貢献できるか？この突飛な課題について考えてみたい。2021年10～11月に開催されたCOP26では、カーボンニュートラルの実現に向け各国による具体的な取り組みが提案されたが、実現への道程は厳しい。特に日本では2011年の原発事故以来、石炭需要が高まったまま今日に至っている。石炭は大気汚染ガスの排出量が多いため、石炭依存からの脱却が急務である。そこで筆者らは、国土面積が世界第61位・排他的経済水域が第6位である日本の特性を考慮したエネルギー資源として、海洋バイオマス（主に海藻加工廃棄物や雑海藻の有効利用）を提案する。日本人は海藻食民族であるが、加工廃棄物の海への大量投棄や富栄養化に伴う雑海藻の異常増殖と死滅漂着が、沿岸部の更なる汚染と地球温暖化を誘引しており、改善が急務である。筆者らは海洋バイオマスからバイオエタノール生産を行うことで、カーボンニュートラルの一助に成り得ると考えた。しかし海藻は水分含量が多く焼却が困難であり、また高濃度の塩分を含有しているため一般的な微生物処理では著しい活性の低下を伴う。そこで諸問題克服のために、野生酵母による海洋バイオマスの発酵利用を考えた。では海藻バイオマスからエタノール高発酵生産が可能な野生酵母は何処に居るのか？意外にも期待する酵母は身近な水辺環境に生息しており、筆者らはそれらを平易に単離して、有効利用が可能であることを明らかにした。本報では酵母とエタノール発酵とは何か、身近な水棲酵母の単離方法、海藻からのバイオエタノール生産に関して総論する。

Abstract

Is it possible to contribute carbon neutral by yeasts inhabiting in aquatic environments of our neighborhood? In COP26, held from October to November in 2021, various concrete attempts by participating countries were proposed for realization of carbon neutral. However, many people seem to be skeptical about their completions. Especially in Japan, coal demand has increased since a nuclear accident in 2011. It is an urgent need to break away from this dependence because coal has a high emission of air pollutants. Thus, we propose marine biomass-utilization of both processing seaweed waists and wild unused seaweeds for energy resources because the land area of Japan is ranked the 61st, and its exclusive economic zone is the 6th in the world. As many Japanese people ordinarily eat seaweeds, a lot of their processing wastes are dumped in the sea. Additionally, abnormal growths of seaweeds and drifting to shores of dead ones are causing marine pollutions and global warning. There is an urgent need to improve this situation. We propose that bioethanol production from marine biomass can contribute to the carbon neutral. It is difficult to incinerate seaweeds with high water content, and treatments by normal microorganisms significantly decrease their activities because seaweeds also contain a high concentration of salt. Therefore, fermentation of marine biomass by wild yeasts is thought to be useful to overcome various problems. We have found that expectations are inhabiting in aquatic environments of our neighborhood, the yeasts are easily isolated, and are effectively available. In this report, we discuss about explanation of the yeast and ethanol fermentation, isolation of aquatic yeasts in our neighborhood, and bioethanol production from seaweeds.

キーワード

水棲酵母, エタノール発酵, 水辺環境, 海洋バイオマス, カーボンニュートラル

など馴染み深い微生物であるが、正式な分類名称ではなく、真菌類(カビやキノコの仲間)の中でも単細胞で過ごす期間が長い微生物の総称である。ヒトは酵母の形態を認識する遙か昔一紀元前4000年頃のメソポタミア文明やエジプト文明の時代から、酵母を含んだ澱(オリ)を経験的に使用してパンや酒を発酵・製造してきた。長い歳月を経た後、17世紀にオラン

1. 酵母とは

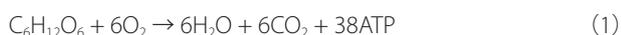
酵母 yeast はイースト菌と言われパンの発酵に用いられる

ダのレーウェンフックが自作の顕微鏡を用いて、ビール発酵液中の酵母(直径5~10 μm)を観察したことで、ヒトが初めて酵母の細胞形態を認識できた。そして19世紀になり、デンマークのエミール・ハンゼンがビール醸造工程からアルコール発酵能を持つ酵母を単離して、その生理機能が本格的に解明されていった。

酵母は周囲の有機物等を資化・代謝して生活する従属栄養生物で、陸の湿潤環境や水中に広く生息している。一方、ヒトの生活圏内で酵母が最も高密度に生息している場所は、パンや酒(日本酒、ビール、ワイン、ウイスキーなど)の製造場であろう。これらの製造技術者は酵母を含む澱を代々受け継ぎ、発酵力が高く香味に優れた酵母を経験的に純化し継代培養し続けて来た。このため酵母発酵技術は人類最古のバイオテクノロジーともいわれ、今日に至るまで酵母は世界中でパン・酒・その他の発酵食品や医薬品製造に広く利用されて来た。また近年では真核生物遺伝子のクローニング宿主など遺伝子工学分野でも使用され、酵母は人類史上で最も有効利用がなされている微生物と考えると良いであろう。

2. 酵母の発酵

真核生物である酵母の好気(有酸素)下での代謝はヒトとほとんど同じである。代表的な栄養源であるグルコースの代謝を例に挙げると、簡略式(1)で表される。



酵母はグルコース1分子と酸素6分子を資化分解して、水6分子と二酸化炭素6分子を生成し、同時に多量のエネルギー供与体(ATP:アデノシン三リン酸)を生産する。この代謝を呼吸respirationと称し、酵母はATPを利用して活発に増殖しながら生活を送っている。ところがパン生地や酒発酵タンクなどの閉鎖環境では酸素量が限定されるため、酵母はしばらく呼吸すると嫌気(酸素欠乏)下に置かれる。嫌気環境ではヒト等の高等生物は呼吸できずに死滅するが、酵母は嫌気代謝(2)に切り替えて生存することができる。



(2)ではATP生産量が少ないため、酵母は増殖できないが生命を維持することが可能である。嫌気代謝は発酵fermentationとも称し、特に酵母では主な発酵産物がアルコール(エタノール)であるため、アルコール(エタノール)発酵と呼ぶ。酒醸造やバイオエタノール生産は、酵母のエタノール発酵を利用した技術である。またパン製造では発酵工程で生成する二酸化炭素によりパン生地が膨らむが、続く焼成工程を経ると低沸点成分のエタノールは残存しない。

なお、(2)はエタノール発酵の簡略式として常用されており、理論上グルコース1分子からエタノール2分子が生産される。しかし実際の発酵では、エタノール以外にも少量の高級アルコール、有機酸、エステル等が生産されるため、正確なエタノール生産量は2分子より低くなる。このことからエタノール発酵を産業利用する場合、下記の発酵収率(%)の高

さが重要ファクターとなる。

$$\text{発酵収率}(\%) = (\text{生産エタノール分子数} / \text{エタノール2分子}) \times 100$$

さらに発酵はATP生産量が少なく酵母にとってストレスが掛かる代謝であるため、発酵中に短時間で細胞活性が低下し、発酵収率が減少して行くケースが多い。このため、エタノール発酵を産業利用するためには、高発酵(発酵収率が高い)活性を長く継続できる酵母を適用することが重要ファクターとなる。

3. 酵母種の分類

ヒトは世界各地の様々な発酵産業で、酵母の純粋培養を行い、高発酵かつ香味が良い酵母の単離を繰り返すことで、優良酵母の選抜育種を行ってきた。19~20世紀になると生物の分類同定技術が進歩し、酵母では最初にphenotype(形態的・生理生化学的・化学的解析)による分類法が確立し、次にgenotype(遺伝系統解析)による分類法が進展した。その結果、各発酵産業で常用してきた優良酵母はいずれも極めて近い種類一分類学上*Saccharomyces cerevisiae*とその亜種に属することが分かった。現代では*S. cerevisiae*は人類史上最も有効利用され、食経験値からヒトに対する安全性が最も高い微生物種と認識されている。このため*S. cerevisiae*をConventional Yeastとも称している。

永塚は遺伝子やタンパク質種に基づく最新の酵母分類同定法を分かりやすくまとめている(永塚, 2021)。酵母全体では現在までに約1,700種が正式な種として登録されている(Groenewald et al., 2018)が、酵母種の多くは生理学的性状に未知の部分が多く有効利用もなされていない。発酵産業では、*S. cerevisiae*以外の酵母をNon-Conventional Yeastと称することも多いが、これは今後の未知酵母の解明と産業利用に期待する単語でもある、と捉えて良いであろう。

4. 身近な水辺に生息する酵母の単離

野生酵母の単離は、作業の平易さから草木や土壌など陸上由来の報告が多い(Kurtzman et al., 2011)。一方、大都市周辺には海岸・河川・湖沼・運河・公園池・排水路など様々な水辺が存在し、その環境水や底泥中にも酵母が生息している。筆者らは長年に渡り、大都市近郊の水棲酵母を単離解析し有効利用する研究を行ってきた。著者らが研究を始めた1994年頃は、都市水辺環境に生息する酵母の単離や有効利用の報告がほとんど無く、酵母の単離源としての新規性に価値があると判断して研究をスタートした。

水棲酵母の単離は*S. cerevisiae*用YPD(yeast extract 1%, peptone 2%, glucose 2%)寒天培地を用いて開始した。しかし水辺の環境水をYPD寒天培地に塗布したところ、培養1日目で細菌コロニーが多数増殖し、更に1週間後にはカビ菌糸が培地全面を覆い、酵母コロニーを獲得することができなかった。そこで培地中に抗生物質を含有させると細菌の増殖を抑制できたため、水棲酵母の単離法として、「採水→メンブランフィルターによる微生物濃縮→濃縮水をYPD+クローラ

ムフェニコール 100 µg/mL 寒天培地に塗布→25～30℃下3～4日間培養→「酵母コロニー単離」の方法を確立した。本法を用いると培養3～4日で寒天培地上に増殖するコロニーの大部分が酵母であり、カビが増殖する前に酵母を単離できた。こうして東京近郊の水辺から水棲酵母を単離して生理学的正常を解析する研究を遂行することができた (Urano et al, 1998)。

5. 水棲酵母ライブラリ作製と発酵酵母の選抜

単離酵母には株番号を付与して、各培養液にグリセロールを20%混合した後、-80℃下で冷凍して半永久保存可能な水棲酵母ライブラリを作製した。保存酵母は使用時に解凍・培養することで、逐次研究試料とした。こうして筆者らは大都市近郊の湾岸や周辺河川における海水・汽水・淡水から様々な水棲酵母を単離・解析して、それらの有効利用に関する研究を行った (Urano et al, 1998; 2001; 2017; 2021; Ueno et al., 2001; 2002; 2003; Ogawa et al., 2008a; 2008b; Takagi et al., 2012; 2015; Obara et al., 2012; 2015a; 2015b; Mitsuya et al., 2016; 2017; Okai et al 2017; Naito et al., 2019)。

酵母の発酵能は図1に示す器具にて簡易測定した。試験管内にYPD培地とダーラム管（一端を閉じたガラス細管で閉鎖部を上にして配置）を入れた。酵母を培地に植菌し試験管をアルミキャップで封印して密閉状態で培養した。培養が進むと試験管内の酸素が枯渇して(2)の反応が始まり、ダーラム管内に二酸化炭素の気泡が貯まることで、発酵能を持つ酵母株を検出することができた。更にダーラム管内への気泡蓄積速度で、酵母の発酵能力を概算することができた。

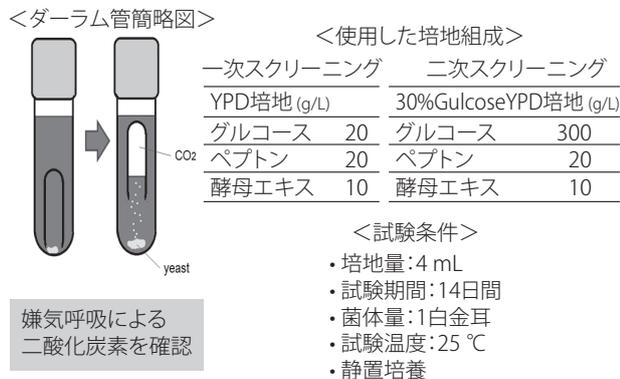


図1：ダーラム管を用いる発酵酵母の検出法

6. 高発酵酵母の単離・選抜

図2に示す東京湾・相模湾の八景島・葉山港・レインボーブリッジ3ポイントの海水から酵母を採集した研究 (Obara et al., 2015a) を記載する。図3にポイント由来の単離酵母824株から耐糖性発酵酵母をスクリーニングした方法を示す。824株についてダーラム管発酵試験を行ったところ、221株に発酵能があった。次に培地のグルコースを2%から30%に大きく増やして発酵試験を行ったところ、発酵能が55株で存在した。よって全単離酵母中に耐糖性が高い発酵酵母は約6.7%存在することが分かった。

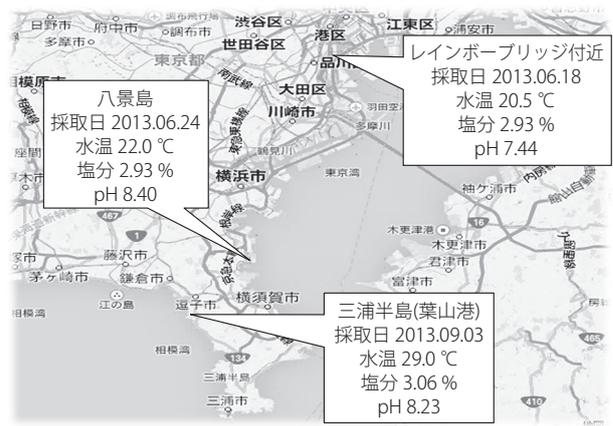


図2：東京湾・相模湾における酵母採集



図3：耐糖性発酵酵母のスクリーニング

耐糖性発酵酵母55株の二酸化炭素生成量を図4に示す。別試験にて東京海洋大学繋船場からエタノール高生産酵母として単離しバイオエタノール生産に使用していた *Saccharomyces cerevisiae* C19 (Obara et al., 2012) を対照株としたところ、C19の二酸化炭素生成量を上回る酵母が29株も存在した。また図5に示すように、酵母が生成する二酸化炭素量とエタノール量には十分な相関関係があることが分かった。そこで、特に二酸化炭素生成量及びエタノール生成量が高かった酵母HK6、HK9、HK21、HK29について、28S rDNA塩基配列解析による分類同定を行ったところ、全ての酵母株が *Saccharomyces cerevisiae* であることが分かった(表1)。

ヒトが各発酵産業で数千年の歳月を経て純粋培養してきた優良発酵酵母群を近代になり分類同定したところ、それらの大部分が *S. cerevisiae* であったことを前述した。そして筆者らの研究でもエタノール高生産の上位4株は全て *S. cerevisiae* であった。このことから、筆者らの研究は人類史がもたらした成果を追従したものと言って良いだろうか。

7. バイオエタノール生産に使用する耐塩性高発酵酵母の選抜

2021年10～11月に開催されたCOP26(国連気象変動枠組条約第26回締結国会議)では、2050年カーボンニュートラル

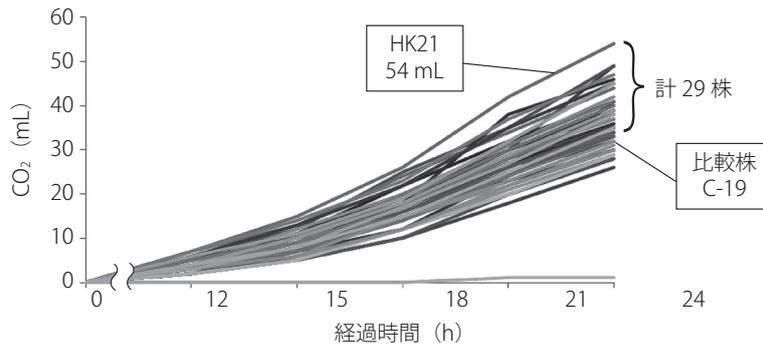


図4：二酸化炭素高生成酵母株

注：29株がC-19より多くのCO₂を生成。最も多くのCO₂を生成したのはHK21。

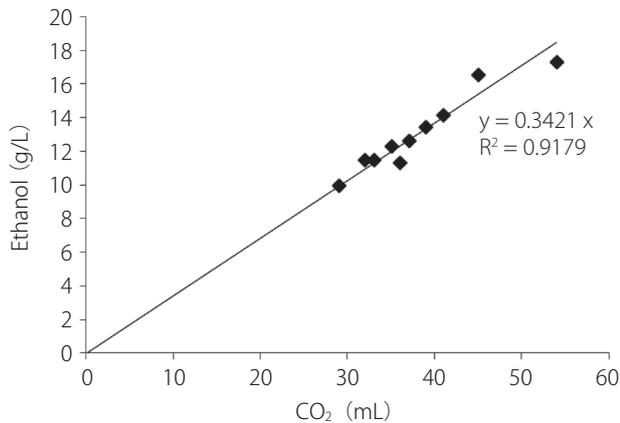


図5：酵母が生成する二酸化炭素量とエタノール量の相関

表1：エタノール高生産酵母の分類同定（CO₂生成量の多かった上位4株）

株No.	菌名
HK21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
HK6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
HK9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
HK27	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

注：菌種同定／28SrDNA D1/D2領域塩基配列解析。

実現に関する各国の目標が示された。そして日本では2011年の原発事故以来、温暖化ガスの排出量が多い石炭エネルギー依存が高まったまま、今日に至っていることが問題化され、国際NGOから二年連続の化石賞を頂戴するはめになった。そこで筆者らは、国土面積が世界第61位、排他的経済水域が第6位という日本の特質を考慮したエネルギー資源として、海洋バイオマス（主に雑海藻や海藻加工廃棄物の有効利用）を提案する。日本人は海藻食民族であるが、同時に加工廃棄物の海洋への大量投棄や富栄養化によるアオサなど雑海藻の異常増殖と死滅漂着が、沿岸部の更なる海洋汚染と地球温暖化を誘引しており、改善が急務である。筆者らは海洋バイオマスからバイオエタノール等のエネルギー生産を行うことで、カーボンニュートラルの一助に成り得ると考えた。図6に海藻からのバイオエタノール生産を行う工程を示す。バイオマ

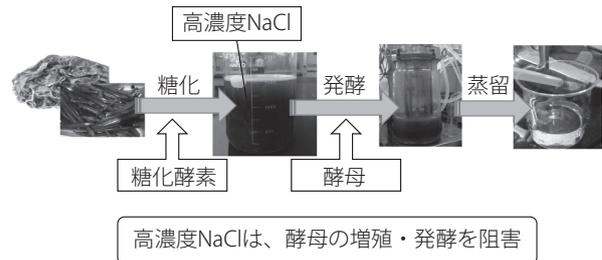


図6：海藻バイオマスを原料とするバイオエタノール生産工程

ス原料は高濃度の塩分を含有しているため、一般的な微生物処理は困難であり、筆者らはこの問題の克服のために耐塩性が高い水棲酵母の発酵利用を考えた。

図7に示すように、太平洋沿岸水（塩分0～4%）と醤油諸味（塩分16～17%）から耐塩性高発酵酵母の単離を試みた。図8に示すように、採集試料を4%NaCl含有YPD寒天培地に塗布して培養したところ、酵母1,003株を単離した。次に1,003株を全て15%NaCl含有寒天培地に植え継ぎ培養したところ、酵母35株のみが増殖して単離することができた。これら35株に関して、15%NaCl含有YPD液体培地を用いてダーラム管発酵試験を行い、特に発酵速度が高かったM37（海水から単離）とS11（醤油諸味から単離）を選抜した。

28S rDNA塩基配列解析によりM37とS11の分類同定を行ったところ、表2に示すようにM37は*Citromyces matritensis*であり、S11は*Zygosaccharomyces rouxii*であることが分かった。*C. matritensis*は果物発酵液から最初に単離され、1種で*Citromyces*属を形成して、海水からの単離報告は無かった（Kurtzman et al., 2011）。その後、*Citromyces*属として4種が新種登録され、*C. matritensis*近縁種の*C. nyonsensis*はフランスのオリーブオイル製造工場から単離され、耐塩性・耐浸透圧性が高い酵母と報告された（Casaregola et al., 2013）。*C. matritensis*は典型的なNon-Conventional Yeastであり、有効利用が期待される。一方、*Z. rouxii*は醤油製造で常用されている高発酵酵母であり、高度の耐塩性が報告されている（小熊, 2015）。

高発酵酵母による高塩濃度下でのバイオエタノール生産を図9に示す。酵母は*S. cerevisiae* C19、*C. matritensis* M37、

海水(沿岸の水)	採取地点	日時	水温(°C)	NaCl濃度(%)	pH
	東京海洋大学係船場	2013.4.15	21.1	1.33	7.1
	レインボーブリッジ付近	2013.4.23	20.5	2.16	7.4
	東北(10か所)	2012.1.20	1.0~9.0	0~3.8	7.0~8.0
	房総(8か所)	2012.4.15	16.8~25.4	3.45~5.18	8.3~9.6
	三浦①(8か所)	2012.2.20	13.2	3.5~3.8	8.1
	三浦②(8か所)	2013.9.3	26.3~29.9	2.99~3.26	7.85~8.97
	鵜沼海岸	2013.7.27	22.0~28.4	0.52~2.93	6.8~7.0

醤油諸味	採取地点	日時	NaCl濃度(%)	pH
	【1A】 アルコール発酵旺盛時期発酵槽 (仕込みから1ヶ月経過)	2014.5.13	13.3	5.01
	【1B】 醸造終期発酵槽 (仕込みから6ヶ月経過)	2014.5.13	13.7	4.64

図7：海水および醤油諸味からの酵母採集

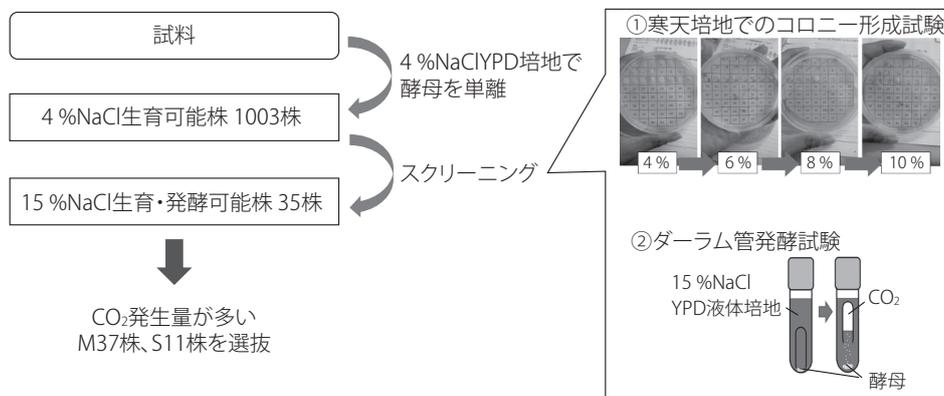


図8：耐塩性高発酵酵母の単離方法

表2：耐塩性高発酵酵母の分類同定

株	菌名
M37 (海水由来)	<i>Citeromyces matritensis</i>
S11 (諸味由来)	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>

注：菌種同定 / 28S rDNA D1/D2 領域塩基配列解析。

Z. rouxii S11を使用した。NaCl 0%・48時間発酵でのC19とM37のエタノール生産量は約10 g/Lであり、S11のそれは約8 g/Lであった。NaCl 5~10%では、三株ともにエタノール約8 g/Lを生産した。NaCl 15%では、C19はエタノールを生産せず、M37は約6 g/L、S11は約5 g/Lのエタノールを生産した。更にNaCl 20%・96~144時間発酵では、M37は約2 g/Lのエタノール生産、S11はエタノールを生産しなかった。この結果から、高塩分を含有する海洋バイオマスからのバイオエタノール生産酵母として、*C. matritensis* M37の使用が有効と考えられた。次に塩蔵ワカメ原料からのバイオエタノール生産結果を図10に示す。海から収穫したワカメは塩蔵貯蔵するが、貯蔵中に脱色を受け食用に不適なワカメがしばしば発生して、廃棄対象となる。そこで塩蔵ワカメ廃棄物をセル

ラーゼ糖化して、酵母発酵を試みた。*C. matritensis* M37はワカメ糖化液中のグルコースから、発酵収率72.4%でバイオエタノールを生産することができた。また*Z. rouxii* S11の発酵収率は27.4%であり、M37の有効性が示された。

8. 酵母による耐塩性機構の解明

将来的に、耐塩性高発酵酵母の突然変異や遺伝子工学による超耐塩性高発酵酵母の創製を目指して、酵母が持つ耐塩性メカニズムの解明を行った。図11に示すように、酵母は細胞内に適合溶質(浸透圧調節用の糖アルコール)を蓄積することで高浸透圧の外界と等圧となる条件を細胞内に造り出す(春見, 2010)、あるいは細胞内に流入するNa⁺イオンを、H⁺-ATPase(プロトンポンプ)の働きにより細胞外へ汲み出すことにより、細胞内を常に低浸透圧に保つ(渡部他, 2001)こと、いずれかの機能が働き、高浸透圧環境下での生存を可能にしていると考えられている。酵母の適合溶質はグリセロールが一般的であり、筆者らは低高濃度塩分下での菌体内グリセロール量の変化を解析した(図12)。YPD培地で培養すると、*S. cerevisiae* C19、*C. matritensis* M37、*Z. rouxii* S11のいずれも菌体内にグリセロールの蓄積は無かった。一方、10

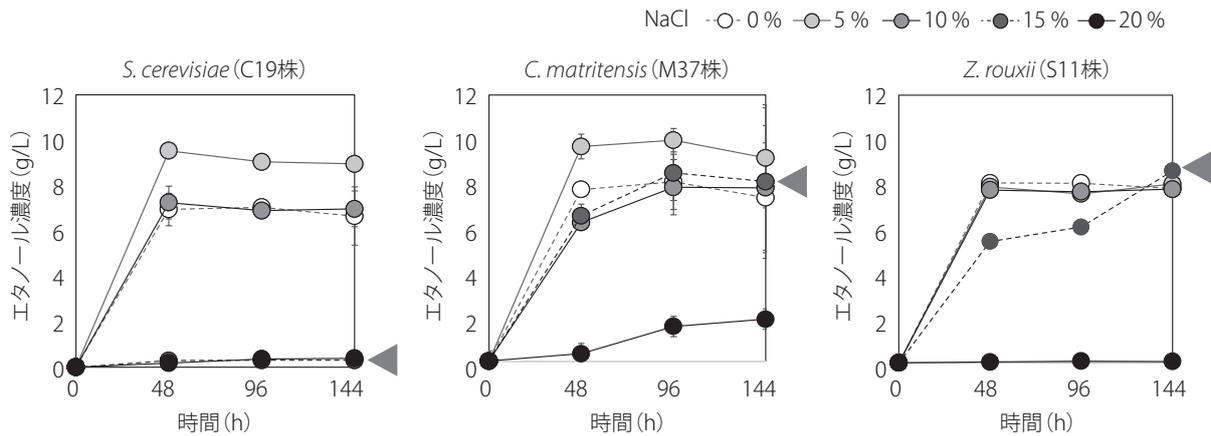
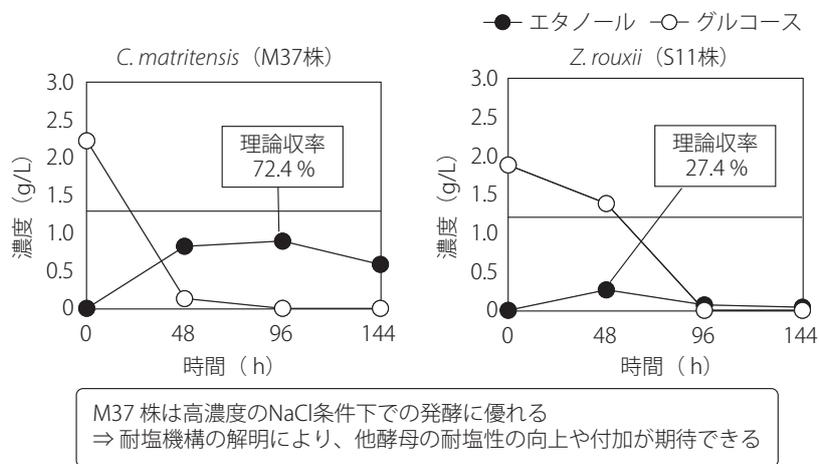


図9：高発酵酵母による高塩濃度下でのバイオエタノール生産
注：M37株、S11株は15% NaCl条件でも発酵可。



M37株は高濃度のNaCl条件下での発酵に優れる
⇒耐塩機構の解明により、他酵母の耐塩性の向上や付加が期待できる

図10：塩蔵ワカメ原料からのバイオエタノール生産

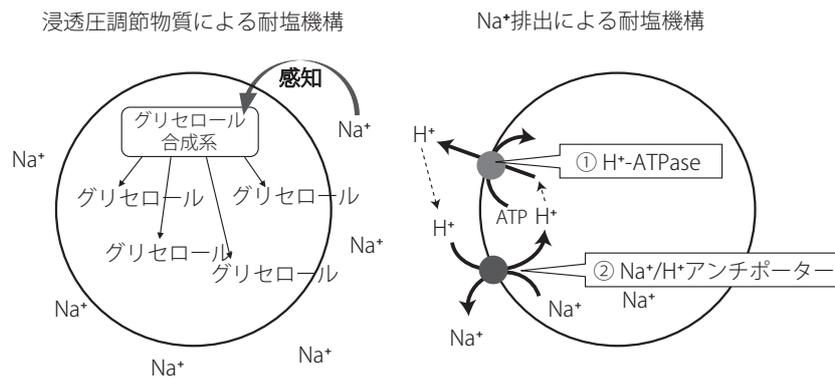
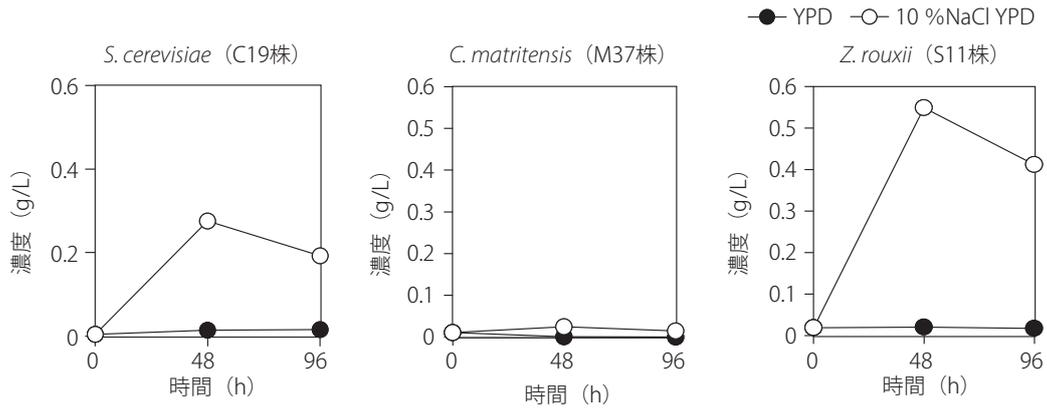


図11：酵母の耐塩性メカニズム

%NaCl含有YPD培地で培養すると、*Z. rouxii* S11に高濃度のグリセロールが蓄積されることがわかった。このことから、*Z. rouxii* S11はグリセロール蓄積性の浸透圧調節機構を保持しているが、他の二株はそれ以外の浸透圧調節機構を持っている可能性が高いことが分かった。

培地にカルボニルシアニド-mクロロフェニルヒドラゾン (CCCP)を添加して、H⁺-ATPaseを不活性化することで、細胞内外の浸透圧勾配を解消して、0～15%NaCl含有YPD培地で

酵母の培養を行った (図13)。CCCP無添加では、*S. cerevisiae* C19は0～10%NaClで増殖、*C. matritensis* M37と*Z. rouxii* S11は0～15%NaClで増殖した。一方CCCP添加では、*S. cerevisiae* C19は10%NaClで非増殖、*C. matritensis* M37と*Z. rouxii* S11は15%NaClで非増殖となった。これらの結果から三株ともH⁺-ATPaseによるNa⁺イオンの排出が耐塩性に関与していることが明らかになった (図14)。



浸透圧上昇に伴う菌体内グリセロール量に大きな差異が見られた

図12：酵母体内のグリセロール量に及ぼす浸透圧の影響

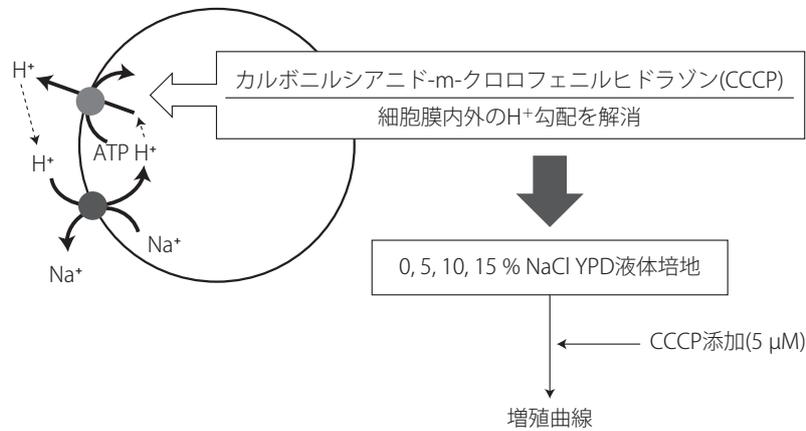
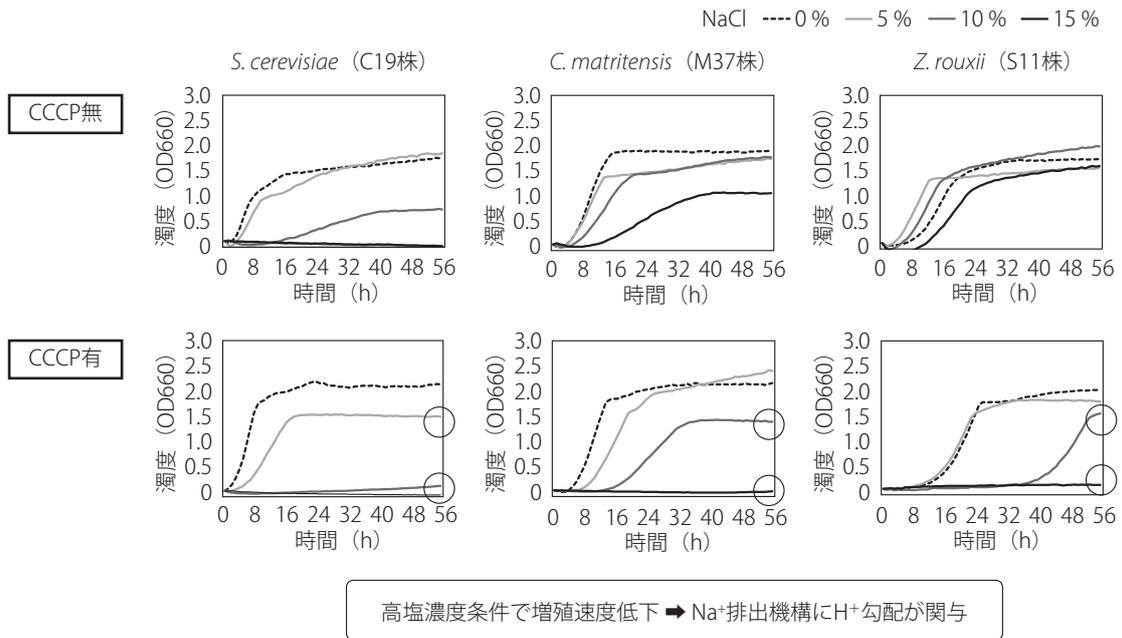


図13：酵母H⁺-ATPaseの不活性化



高塩濃度条件で増殖速度低下 → Na⁺排出機構にH⁺勾配が関与

図14：H⁺-ATPase不活性化が酵母増殖に及ぼす影響

9. おわりに

地球温暖化対策として、化石資源代替となる原子力や再生可能エネルギー（太陽光・風力・水力・地熱・バイオマスなど）の生産拡大が世界中で叫ばれている。しかしいずれのエネルギーも開発途上で、現状では長短併せ持ち、実質的なカーボンニュートラル実現には時間を要するであろう。本報では海洋バイオマスを原料とするバイオエタノール生産に焦点を当ててみた。海藻は光合成(3)を行っている。



すなわち水6分子と二酸化炭素6分子からグルコース1分子と酸素6分子を生産して生命活動を行っている。しかし海藻はやがて活動を止め死滅すると、分解細菌による海藻の腐敗(4)が発生する。



(4)は(3)の逆反応であり、海藻加工廃棄物の大量投棄や富栄養化に伴う雑海藻の異常増殖と死滅漂着などを放置すれば、(4)が進行して地球温暖化の促進に繋がる。

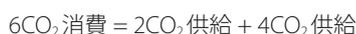
そこで筆者らは(4)を酵母発酵(5)に置き換える技術開発を行った。



エタノール発酵(5)で生産されたバイオエタノールは燃焼すると反応(6)となる。



(6)は発熱反応であり、熱エネルギーとしての利用が可能となり、同時に(3)、(4)、(5)から



となり、理論上カーボンニュートラルなエネルギーが実現する。よって筆者らは水棲酵母による海藻バイオマスからのエタノール高生産を提案する。

しかし(5)の発酵収率100%実現には未だ課題が多く存在する。特に工業化を目指した大型発酵プラントの稼働時には、長時間に渡り高度耐塩性高発酵状態を維持できる酵母が必要となろう。優良酵母の創製には、水棲酵母の有効利用だけでなく、突然変異や遺伝子工学による新たな酵母育種は有効な手段と考える。筆者らを含む研究者による今後の研究の発展を期待する次第である。

謝辞

本総論は、東京海洋大学・海洋生化学研究室に在籍した学生達が遂行した研究成果をまとめたものであり、彼らのデータを中心に本総論に掲載した。ここに感謝の意を表す。また酵母発酵代謝の計測に関しては、瀧川美緒氏（技術補佐員）

から多大なる技術指導を受けた。ここに感謝の意を表す。

引用文献

- Casaregola, S., Jacques, N., Louis-Mondesir, C., Coton, M., and Coton, E. (2013). *Citeromyces nyonsensis* sp. nov., a novel yeast species isolated from black olive brine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Vol. 63, 3086-3090.
- Groenewald, Vu. D., Szoke, M., Cardinali, S., Eberhardt, G., Stielow, U., Vries, B. de., Verkeiji, M., Crous, G. J., Boekhout, P. W., and Robert, V. (2016). DNA barcoding analysis of more than 9,000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation. *Studies in Mycology*, Vol. 85, 91-105.
- 春見隆文 (2010). 微生物の浸透圧ストレスと糖アルコールの生成. 日本醸造協会誌, Vol. 100, No. 10, 618-627.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., and Boekhout, T. (2011) *The yeasts: A taxonomic study, Fifth edition*. Elsevier Science.
- Mitsuya, D., Okai, M., Kawaguchi, R., Ishida, M., and Urano, N. (2016). Cascade bioethanol productions from glucose and mannitol in saccharified kombu Laminariaceae by anaerobic and aerobic fermentations with two kinds of yeast. *Studies in Science and Technology*, Vol. 5, No. 1, 59-65.
- Mitsuya, D., Yamamoto, M., Okai, M., Inoue, A., Ojima, T., and Urano, N. (2017). Continuous saccharification of laminarine by immobilized laminarinase ULam111 followed by ethanol fermentation with a marine-derived yeast. *Advances in Microbiology*, Vol. 7, No. 7, 387-403.
- Naito, Y., Okai, M., Ishida, M., Takashio, M., and Urano, N. (2019). Bioethanol production from molasses by yeasts with stress-tolerance isolated from aquatic environments in Japan. *Advances in Microbiology*, Vol. 9, No. 9, 1000-1011.
- 永塚 (半田) 由佳 (2021). 真菌の分類と同定7—酵母の分類と同定一. 日本防菌防黴学会誌, Vol. 49, No. 5, 61-70.
- Obara, N., Ishida, M., Hamada-Sato, N., and Urano, N. (2012). Efficient bioethanol production from paper shredder scrap by a marine derived *Saccharomyces cerevisiae* C-19. *Studies in Science and Technology*, Vol. 1, No. 2, 49-54.
- Obara, N., Oki, N., Okai, M., Ishida, M., and Urano, N. (2015a). Development of a simple isolation method for yeast *Saccharomyces cerevisiae* with high fermentative activities from coastal waters. *Studies in Science and Technology*, Vol. 4, No. 1, 71-76.
- Obara, N., Okai, M., Ishida, M., and Urano, N. (2015b). Bioethanol production from mixed biomass (waste of *Undaria pinnatifida* processing and paper shredding) by fermentation with marine-derived *Saccharomyces cerevisiae*. *Fisheries Science*, Vol. 81, No. 4, 771-776.
- Ogawa, G., Ishida, M., Usui, Y., and Urano, N. (2008a). Ethanol production from the water hyacinth *Eichhornia crassipes* by yeast isolated from various hydrospheres. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 2, No. 1, 110-113.

- Ogawa, G., Ishida, M., Shimotori, K., and Urano, N. (2008b). Isolation and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* from hydrospheres. *Annals of Microbiology*, Vol. 58, No. 2, 261-264.
- 小熊哲也 (2015). 醤油や味噌の微生物. *モダンメディア*, Vol. 61, No. 10, 298-304.
- Okai, M., Betsuno, A., Shirao, A., Obara, N., Suzuki, K., Takei, T., Takashio, M., Ishida, M., and Urano, N. (2017). *Citeromyces matritensis* M37 is a salt tolerant yeast that produces ethanol from salted algae. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol. 63, No. 1, 20-26.
- Takagi, T., Uchida, M., Matsushima, R., Ishida, M., and Urano, N. (2012). Efficient bioethanol production from water hyacinth *Eichhornia crassipes* by both preparation of the saccharified solution and selection of fermenting yeasts. *Fisheries Science*, Vol. 78, No. 4, 905-910.
- Takagi, T., Uchida, M., Matsushima, R., Komada, H., Takeda, T., Ishida, M., and Urano, N. (2015). Comparison of ethanol productivity among yeast strains using three different seaweeds. *Fisheries Science*, Vol. 81, No. 4, 763-770.
- Ueno, R., Urano, N., and Kimura, S. (2001) Characterization of thermotolerant, fermentative yeasts from hot spring drainage. *Fish. Sci.*, Vol. 67, No. 1, 138-145.
- Ueno, R., Urano, N., and Kimura, S. (2002). Effect of temperature and cell density on the ethanol fermentation by a thermotolerant, aquatic yeast strain isolated from hot spring environment. *Fisheries Science*, Vol. 68, No. 3, 571-578.
- Ueno, R., Hamada-Sato, N., and Urano, N. (2003). Fermentation of molasses by several yeasts from hot spring drain and phylogeny of the unique isolate producing ethanol at 55 °C. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, Vol. 90, No. 1, 23-30.
- Urano, N., Hirai, H., Ishida, M., and Kimura, S. (1998). Characterization of ethanol-producing marine yeasts isolated from coastal water. *Fisheries Science*, Vol. 64, No. 4, 633-637.
- Urano, N., Yamazaki, M., and Ueno, R. (2001). Distribution of halotolerant and/or fermentative yeasts in aquatic environments. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, Vol. 87, No. 1, 23-29.
- Urano, N., Shirao, A., Okai, M., and Ishida, M. (2017) High ethanol production by marine-derived yeasts-*Saccharomyces cerevisiae* under stress pressures. *Advances in Microbiology*, Vol. 7, No. 7, 348-357.
- Urano, N., Ishida, M., Naito, Y., Endo, R., Takei, T., Takashio, M., and Okai, N. (2021). Ethanol fermentation by high stress-tolerance aquatic yeasts and their mutants. *Advances in Microbiology*, Vol. 11, No. 11, 616-629.
- 渡部保夫・岩城知子・玉井洋一 (2001). 耐塩性酵母のナトリウム排出と浸透圧の調節. *日本醸造協会誌*, Vol. 96, No. 1, 23-30.

(受稿：2021年11月16日 受理：2021年12月13日)