2022年度成果報告会

バイオジェット燃料生産技術開発事業/微細藻類基盤技術開発

「海洋ケイ藻のオープン・クローズ型ハイブリッド 培養技術の開発」



✔POWER 電源開発株式会社

[再委託]



東京農工大学



関西学院大学



公立諏訪東京理科大学

問い合わせ先 電源開発株式会社

E-mail: kinhei_konishi@jpower.co.jp

TEL:093-741-0942

事業概要(実施期間:2020年度~2022年度)

目標:

- ① グリーンオイル生産量目標値である200L/回を見通す培養条件を設定し、600m³クラスのオープン型培養装置(以下基本ユニット)とクローズ型培養装置を組合せたハイブリッド培養システムによる培養試験を開始する。
- ② オイル生産性が最大となる培養プロセスの基本ユニット培養試験へ 反映、改良株評価による改変技術の有効性を確認する。
- ③ SAF製造事業シナリオを提案する。
- ④ CO2削減効果、エネルギー収支を明らかにする。

実施内容とスケジュール:

項目	2020	2021	2022
1. 培養システム開発(ハイブリッド装置)	培養試験·仕様検討	改造	基本ユニット(600m3クラス)
2. 藻体収量、オイル蓄積率の向上(各大学)	Ž	る大学で得られた知見を培養条件へ反映	
3. 副生品製造も含むSAF製造事業事業性検討	藻体安全性評価・副金	生品の市場性評価・SAFサプライチェーン関	見係者との関係構築
4. CO2削減効果とエネルギー収支の試算	機器調査・仕様検討・試算方法	検討機器	设置・データ取得・試算実施

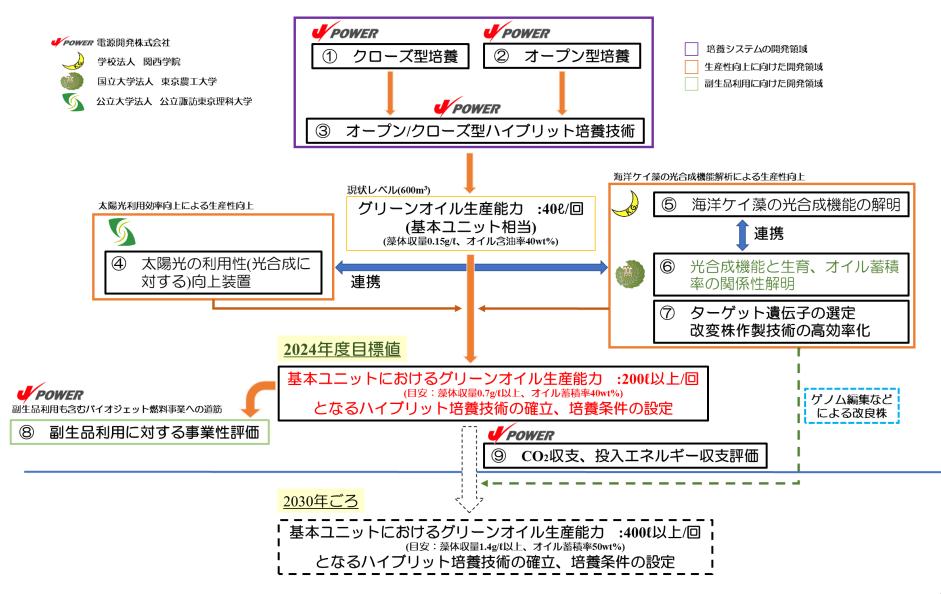
目次



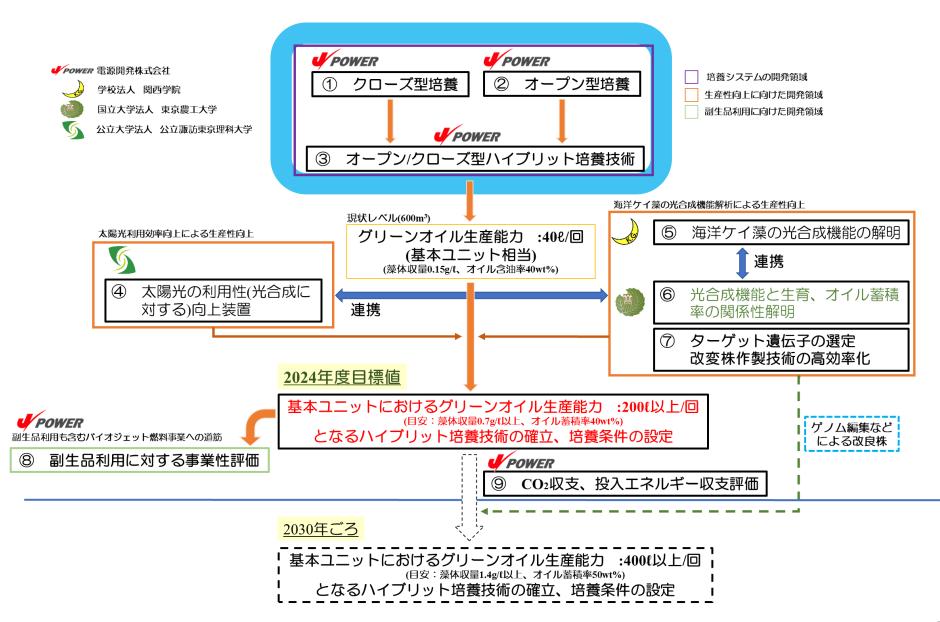
- 1. 研究体制
- 2. オープン・クローズ型培養装置による培養試験
- 3. グリーオイル生産性向上(各大学の実施内容)
 - (1) 太陽光の利用性向上 (2) 光合成機能解析
 - (3)光合成機能と生育、オイル蓄積率の関係性解明 (4)海洋ケイ藻の改変技術開発
- 4. 副生品利用も含むバイオジェット燃料製造事業性検討 CO2収支/エネルギー収支評価
- 5. まとめ

1. 研究体制











ハイブリッド培養について「NEDO事業実施計画書より」

本事業では、屋外オープン型培養の安定化に向け、クローズ型培養による培養液の清浄性を 担保した増殖活性の高い藻体を作製し、その藻体による屋外オープン培養を行い、グリーンオイル 生産における屋外培養の安定化の達成を目指した、培養装置を統合利用する新たな統合型培 養方法(以下、ハイブリッド培養方法)を確立するものである。

⇒小規模培養装置で各種培養試験を行い、得られた成果を大規模装置へ展開するステップで 適正化を進め、ハイブリッド型培養システムに関する技術を構築している。

体

ハイブリッド培養システム 【目標値(クローズ型培養)】

オープン培養試験開始に必要となる藻体濃度

ソラリス: 1900万cells/mL ルナリス: 3200万cells/mL



【図】大規模クローズ型培養装置)

【目標値(オープン型培養)】

グリーンオイル生産量目標値である200L/回

(例:藻体収量0.7g/L, オイル蓄積率40wt%)

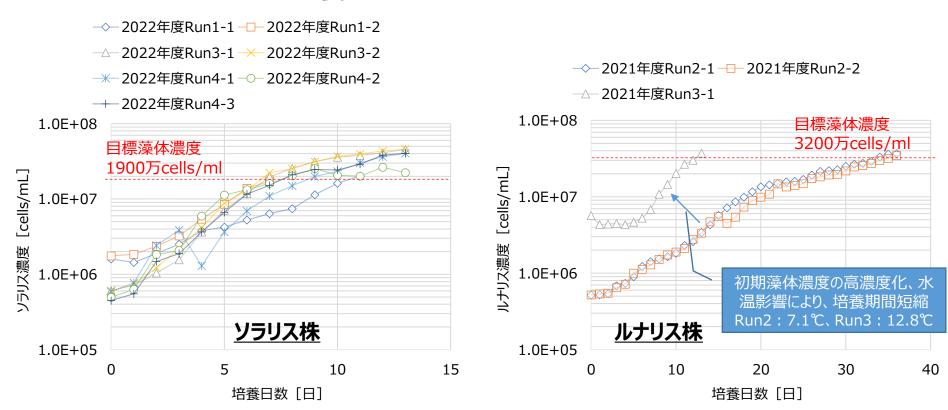


【図】 大規模オープン型培養装置(直径40m/600m3 クラス))



小規模クローズ型培養装置で得られた知見(水温、藻体濃度等に応じた日射量のコントロール(太陽光の遮光))を反映することで、<mark>培養を安定化</mark>させるとともに、大型化により発生した<mark>溶存酸素の高濃度化</mark>についても、脱気等の対策を講じることで目標藻体濃度を達成することができた。

大規模クローズ型培養装置で生育した本種藻体(ソラリス株、ルナリス株)を使用して、中規模、大規模オープン型培養試験を実施した。



図】 大規模クローズ型培養装置での藻体濃度変化について



光条件(培養水深30~50cm、水槽深部への導光)

オープン型培養では、ケイ藻の増殖により培養液が懸濁するため、培養の後半は水槽の深部で光律速になる。一方、透明ポリカーボネート製培養装置では、水槽側面から光が供給されることで深部の光律速が緩和されるため、オイル生産性の目標値を達成した。

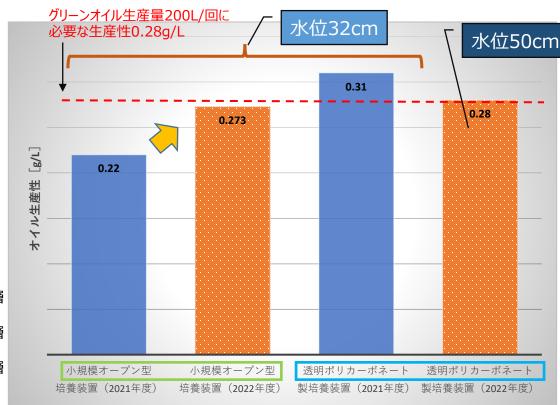
この結果を受け、小規模オープン型培養装置の光条件を改善することで、オイル生産性を向上させることができ、目標値達成への見通しが得られた。



【図】2021年度ソラリス 透明ポリカーボネート製培養装置



水面 上層 中層 下層



【図】ソラリス 透明ポリカーボネート /小規模オープン型培養装置でのオイル生産性について

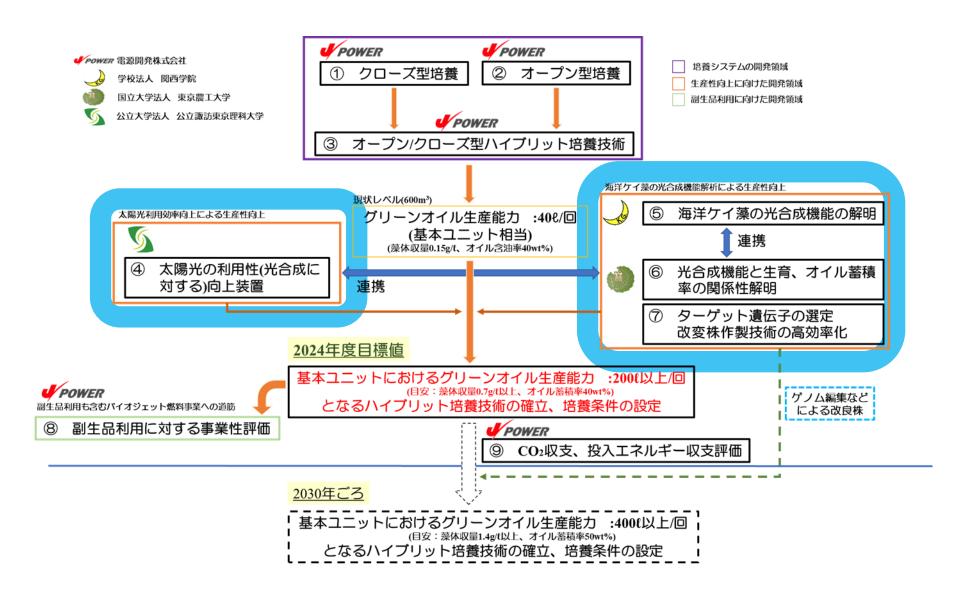


2022年5月より、基本ユニットによるグリーンオイル生産量200L/回(オイル生産性0.28g/L)の達成に向けた培養試験を開始した。オープン培養の課題に関して、捕食性雑菌による培養不良については、複数の対策により安定培養を継続することができ、光律速については、攪拌、光条件の適正化を進めている。2022年度は基本ユニットでの培養を実施し、0.21g/Lの結果を得ている。



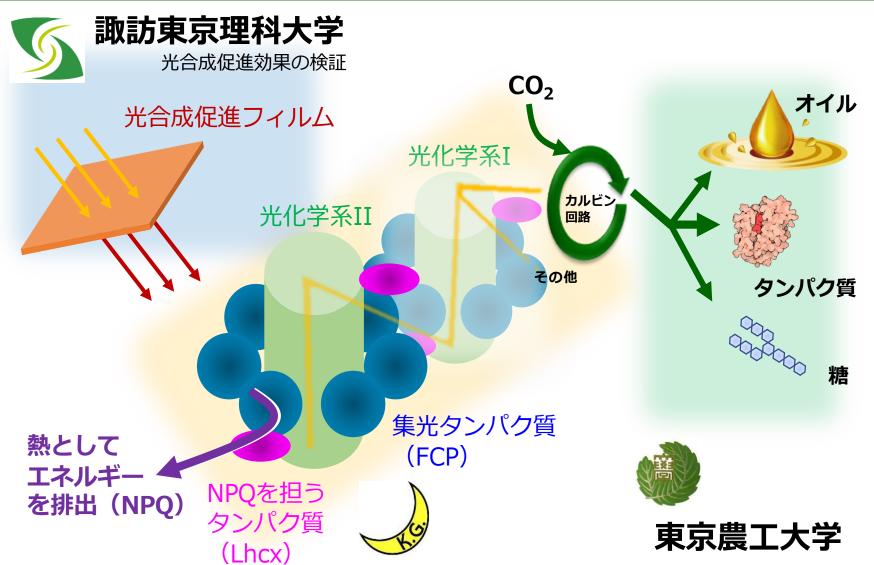
3. グリーオイル生産量向上(3大学)





3. グリーオイル生産量向上(3大学の関係)



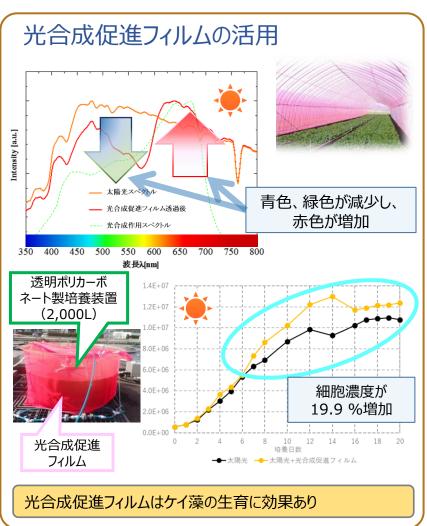


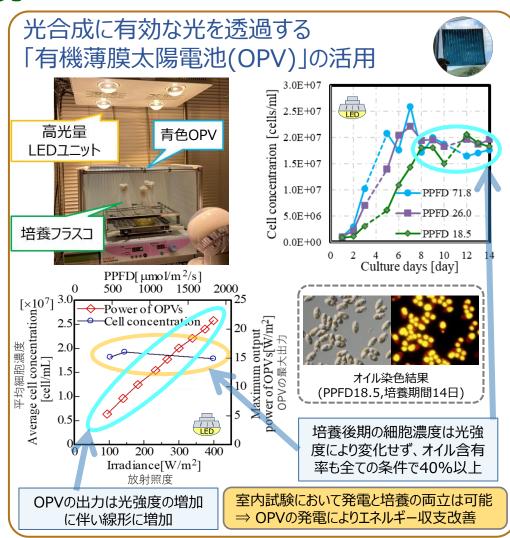
関西学院大学

光合成機能の解析

光合成機能と生育、オイル蓄積率の関係性解明 海洋ケイ藻の改変技術開発

太陽光の利用性向上に向けた装置開発

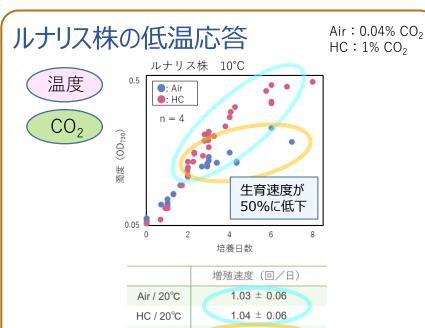




今後:OPVから透過した光による培養試験を行う。小規模のオープン型培養装置での試験に向けた設備条件を設定する。

参考:(2023年度~2024年度)小規模オープン型培養装置に光合成促進フィルム/OPVを設置し評価する。

光合成機能解析 (光合成-環境相関チャートの作成、生産性ボトルネックの把握)



Air / 10°C

HC / 10°C

10℃の大気CO2濃度(0.04%)で生育速度が50% に低下するが、高濃度CO2(1%)では、解消。

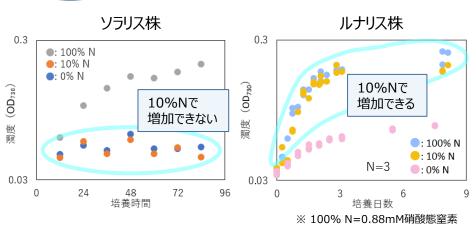
 0.54 ± 0.02

 1.00 ± 0.06

ルナリスの低温時の生育低下におけるボトルネックは CO₂供給系の低温順化である可能性が示唆された。

窒素欠乏がオイル生産能力に与える影響





- ・ソラリス株では、10%窒素条件下で増加できなかった。
- ・ルナリス株では、10%窒素条件では、100%との生育速度に違いは見られなかった。
- ・生育状況とオイルの蓄積は一致した。

ソラリス株とルナリス株で窒素飢餓耐性が異なる。

今後:光合成活性と生育環境因子との関係性から相関チャートを作成し、ボトルネックを解明する。

参考:(2023年度~2024年度)ボトルネック解消に向けた改変基盤を策定する。

3. グリーオイル生産量向上

⑥光合成機能と生育、オイル蓄積率の関係性解明

⑦海洋ケイ藻の改変技術開発

再委託先 🍿 東京農工大学

オイル生産性を最大化させる培養条件の検討

<培養条件>		
	条件①	条件② (低光量、低CO2濃度)
培地	f/2培地	f/2培地
光量子束密度 (µmol/m²/s)	140	50
温度 (℃)	25	25
通気CO ₂ 濃度 (%)	2	0.04
<培養結果>		
<培養結果>	条件①	条件 ② (低光量、低CO ₂ 濃度)
〈培養結果〉 バイオマス生産量 (mg/L)	条件 ① -	条件 ② (低光量、低CO ₂ 濃度) 333 ± 41
	-	
バイオマス生産量 (mg/L)	-	333 ± 41

低光量、かつ過剰量の CO_2 を通気しない条件でも、オイル含有率は同等

グリーンオイル生産の地域差の検証

<設置場所> 東京都小金井市 東京農工大学 小金井キャンパス



2022年5~6月の 培養状況



福岡県北九州市で行う培養試験と条件を統一して試験を行った(2022年5~6月)。生育は良好であった。

分子育種法の検討 <遺伝子導入法の最適化の検討>

パーティクルボンバードメント法、エレクトロポレーション法、接合伝達法の最適化を行い、最も形質転換効率の高かった接合伝達法を選定。

<エピソーマルベクターの導入の検討>

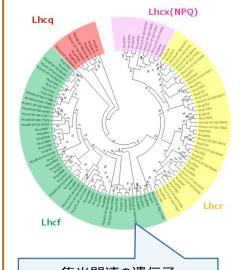
エピソーマルベクターは ソラリス株へ導入可能であることを確認

<ターゲット遺伝子のノックアウト法 の検討>

casCRISPR-Casシステムを利用したベクターを構築し、ソラリス株でのCasタンパク質の発現を確認

遺伝子導入法の最適化、組み換え用ベクターの設計及び構築が完了

ターゲット遺伝子の選定



集光関連の遺伝子 (*Lhc*遺伝子)としてタンパク 質をコードする配列から69個の 遺伝子を特定し、機能を推定



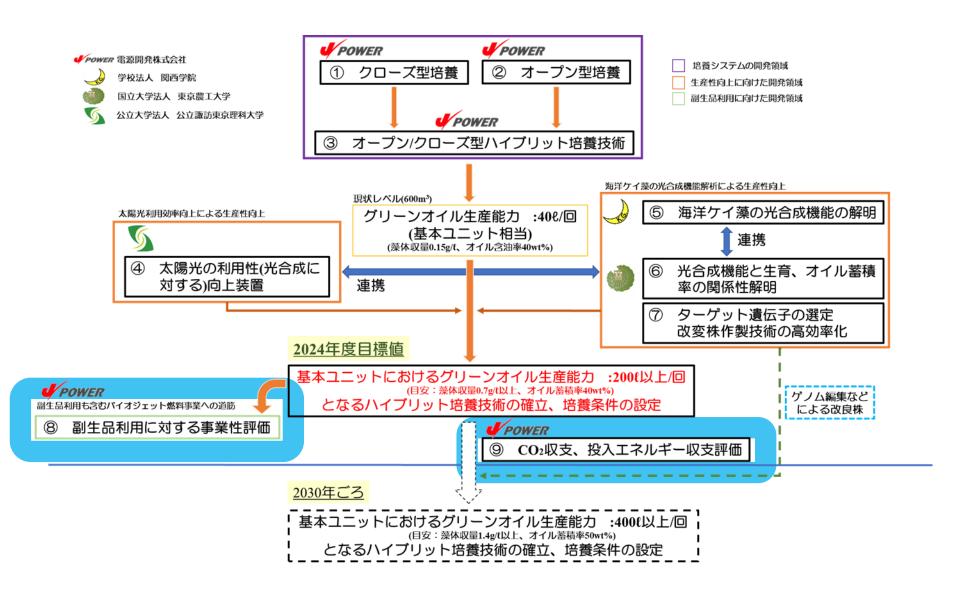
培養後期に高発現となる 2個のLhc遺伝子を ターゲット遺伝子として選定

今後:オイル生産性を最大化させる培養プロセスの設計及び検証

改良株の作出

参考: (2023年度~2024年度) 作出した改良株の評価

4.⑧副生品利用に対する事業性評価 / ⑨CO2収支、投入エネルギー収支評価 / POWER



4.⑧副生品利用に対する事業性評価 / ⑨CO2収支、投入エネルギー収支評価 ✔ POWER



低エネルギー化を目指した新たな生産プロセスを検証している。

従来プロセス:汎用遠心分離機 → スプレードライヤー → 乾式溶媒抽出

新プロセス : 高性能遠心分離機 → 天日乾燥 → マイクロ波乾燥機→ 乾式溶媒抽出



グリーンオイル

バイオジェット燃料

SAF生産プロセスでのCO2削減効果/エネルギー収支の試算に関して、設置した生産プロセス に必要な大型機器のデータ取得を開始した。有識者の助言を得ながら、CO2削減効果/エネ ルギー収支の試算式の精査を進めた。

- ・SAF製造事業シナリオの実現性を高めるためには、SAF原料の供給先となる燃料製造事業 者のニーズを把握することが必要である。そこで、国産SAFの商用化及び普及・拡大を目指す 業界団体「ACT FOR SKY」(2022年3月設立)に加盟し、燃料製造事業者やエンドユー ザーである航空会社とのネットワークの構築を進めている。
- ・食油メーカへの乾燥藻体のサンプル提供、及びサプリメーカの協力を得て安全性評価試験(遺 伝変異原性試験、皮膚一次試験、ヒトパッチ試験)を実施し、ソラリス株は、全試験クリア、ルナ リス株は遺伝変異原性がないことを確認し、次の安全性試験を進めている。

5. まとめ



項目	達成状況
1.オープン・クロー ズ型培養装 置による培養 試験	・基本ユニットでの培養試験に向けて、これまでの培養試験で得られた結果を反映した、グリーンオイル生産量200L/回(オイル生産性0.28g/L)を見通す培養条件を設定した。 ・基本ユニットによるグリーンオイル生産量200L/回の達成に向けた培養試験を開始し、2022年度実施し、オイル生産性0.21g/Lを得た。
2.グリーオイル生産性向上	・光合成促進フィルムの使用により生育促進効果を確認した。また、生育環境因子と生育、オイル蓄積の相関関係に関するデータを取得し、光強度の特性に係る知見等培養条件に反映した。 ・改変技術開発は、遺伝子導入方法の最適化及びターゲット遺伝子の選定を終了した。本手法により遺伝子導入した改良株を作出し、有効性を確認中である。
3. 事業性検討	・SAF製造事業シナリオ検討のため、「ACT FOR SKY」へ入会し、SAFサプライチェーン関連企業とのネットワーク構築を進めた。 ・食油メーカへの乾燥藻体のサンプル提供、及びサプリメーカの協力を得て安全性評価試験を実施し、ソラリス株は全試験クリア、ルナリス株は遺伝変異原性がないことを確認した。
4.CO2収支/エ ネルギー収支 評価	・CORSIA適格燃料認証基準を参考とするとともに、有識者の助言を得ながら、CO2削減効果/エネルギー収支の試算式の精査を進め、化石燃料比▲10%以上の削減に必要な条件を整理した。また各試算に必要な大型機器の消費エネルギーデータの取得を開始した。 ・これまでの試験結果や運用ノウハウ、及びオープン型培養の攪拌の低エネルギー技術調査の情報をもとに、各試算値の精査を進めていく。



ご清聴ありがとうございました。

本研究成果は、国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の委託業務 で得られたものです。

ここに謝意を表します。