

2023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

国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

代表者名 若松研究所 所長 作野 慎一

団体名(企業・大学名など) 電源開発(株)

問い合わせ先 電源開発株式会社 技術開発部 若松研究所 TEL:093-741-0931

事業概要

1. 目的

本事業ではSAFの商用化に向け、その原料であり、カーボンリサイクル技術の一つである微細藻類の安定大量培養技術の確立を目的とする。またエネルギーCO₂収支の試算と効率化を進めると共に、収益性が認められた高付加価値併産品物質については事業化に向けた検討を加速していく。

2. 期間

助成事業：2023年4月 1日～2025年 3月31日

3. 目標（中間・最終）

【2023年度】

①中規模オープン型培養装置を活用したユニットにより安定大量培養技術を醸成し、大規模オープン型培養装置設置後は、基本ユニット（600 m³クラスのオープン型培養装置）として藻油（グリーンオイル）生産量200 L/回(例：藻体収量0.7 g/L, オイル蓄積率40 wt%)を達成する安定大量培養技術確立に向けた培養条件等の改良を行う。

②ケイ藻の生理学的なアプローチにより得られた知見を活用し、グリーンオイル生産速度（10 g/m²/day）の向上に資する培養条件の改善方法を立案する。

③SAF改質/流通事業者とのネットワーク構築、SAF原料品質確認の準備を行う。また、有望な併産品の原料サンプルを協力事業者に提供し、併産品評価の準備を行う。

④エネルギーCO₂収支向上について検討し、具体的な方法を立案する。

【2024年度】

①基本ユニットによるグリーンオイル生産量200 L/回(例：藻体収量0.7 g/L, オイル蓄積率40 wt%)を達成する安定大量培養技術を確立する。

②グリーンオイル生産速度向上（10 g/m²/day）に係る培養条件をハイブリッド型培養システムで検証する。

③SAF製造事業者とのネットワーク構築、SAF原料品質確認、及び有望な併産品の原料サンプルを協力事業者に提供し、併産品の評価を行う。

④エネルギーCO₂収支向上の方法を試行し、その効果を評価する。

4. 成果・進捗概要

2023年度、オープン型培養装置によるハイブリッド培養試験を8回実施し、安定して培養できることを確認するとともに、オイル生産性やオイル生産速度向上に向けた検証を行った。また、SAFに関する情報収集や品質確認並びに併産品の事業化検討を実施中。エネルギーCO₂収支向上に向けて具体的な方案を検討した。

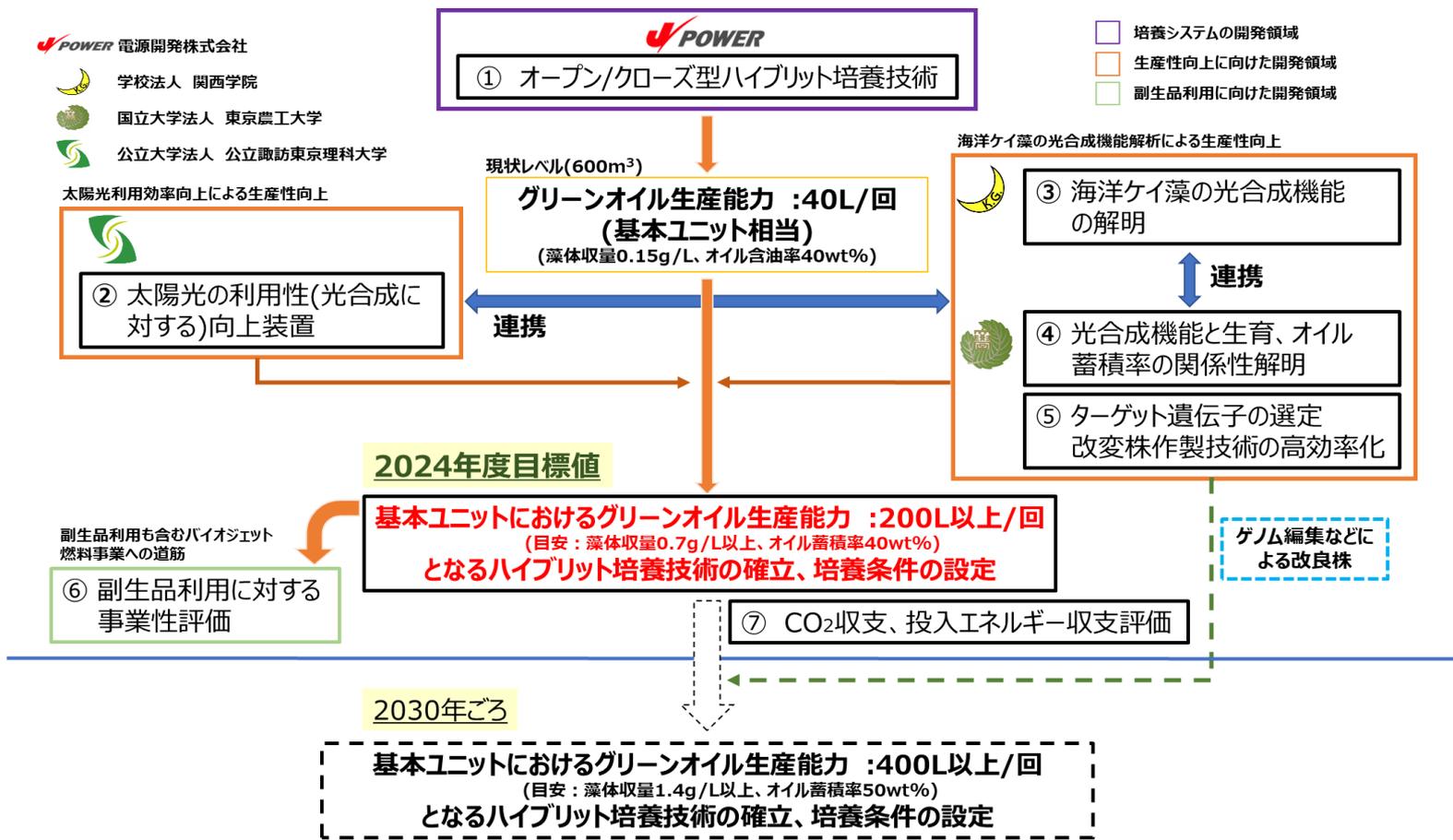
1. 研究内容と体制
2. 全体スケジュール
3. 中間目標の達成状況及び最終目標
4. オープン・クローズ型培養装置による培養試験
5. グリーオイル生産性向上（各大学の実施内容）
 - (1) 太陽光の利用性向上に向けた装置開発
 - (2) 海洋ケイ藻の光合成機能解析
 - (3) 光合成機能と生育、オイル蓄積率の関係性解明
 - (4) 海洋ケイ藻の改変技術開発
6. 併産品利用を含むバイオジェット燃料製造事業性検討
7. CO₂削減効果とエネルギー収支評価

1. 研究内容と体制



本事業では、海洋ケイ藻の屋外安定化培養技術確立を主要課題とし、海洋ケイ藻の光合成や生育、オイル蓄積などの代謝を含む生理学的アプローチを取り入れ、基本ユニット(600m³クラス)となる培養規模において、目標とするグリーンオイル生産量 200L/回 を安定的に達成すること、及びグリーンオイル生産速度 (10g/m²/day) の向上に係る培養条件の改善方法を立案、検証する。

さらに、SAF 改質/流通事業者及び製造事業者とのネットワーク構築、SAF原料品質確認を行うと共に、有望な併製品の評価を行う。CO₂のエネルギー収支向上については、検討及び評価を行う。



2. 全体スケジュール (2023年度～2024年度)



項目	2023年度	2024年度
(1) 主な設備導入、既設設備の整備		
・オープン型培養装置(基本ユニット用)	※	
(2) 試験項目		
① オープン・クローズ型ハイブリッド培養装置の研究開発		
①-1 オープン・クローズ型ハイブリッド培養装置による屋外大量安定培養技術の確立		
①-2 ハイブリッド培養システムの運用に向けた運転ノウハウの取得		
①-3 実証ユニットに向けた検討		
② 太陽光の利用性向上に向けた装置開発		
②-1 海洋ケイ藻の生育段階に対する光質、及び光量の適正化		
②-2 「有機薄膜太陽電池と光合成促進フィルム」のハイブリッド型培養システムへの適用性把握		
③ 海洋ケイ藻の光合成機能解析		
③-1 窒素飢餓下における光合成状態の環境応答に基く培養系評価		
③-2 シームレスな培養規模拡大に資する光ストレス緩和法の確立		
④ 光合成機能と生育、オイル蓄積率の関係性解明		
④-1 オイル生産性を最大化させる培養プロセスのブラッシュアップ		
⑤ 海洋ケイ藻の改変技術開発		
⑤-1 ゲノム編集による改良株の作出と評価		
⑤-2 改変株のnon-GMO 化手法の検討		
⑥ 併産品も含むSAF 製造事業の採算性検討		
⑦ CO2削減効果とエネルギー収支の試算と更なる効率化検討		

3. 中間目標の達成状況及び最終目標 (1/2)



中間目標 (2023年度目標)	達成状況	最終目標 (2024年度目標)	評価
<p>(1)中規模オープン型培養装置を活用したユニットにより安定大量培養技術を醸成し、大規模オープン型培養装置設置後は、基本ユニット(600 m³ クラスのオープン型培養装置)として藻油(グリーンオイル)生産量200 L/回(例：藻体収量0.7 g/L, オイル蓄積率40 wt%)を達成する安定大量培養技術確立に向けた培養条件等の改良を行う。</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・オープン型培養装置(20m、40mオープン培養装置)を用いたハイブリッド培養試験を8回実施し、これまでクローズ型培養、オープン型培養ともに、捕食性微生物の影響を大きく受けることなく安定して培養できた。 ・オイル生産性は、直径2m～直径5m槽において、目標値の0.28g/Lを達成可能な見通しが得られているとともに、20mオープン培養装置を使用した培養試験では、培養条件の適正化を進めて0.24g/Lのオイル生産性が得られている。 	<p>基本ユニットによるグリーンオイル生産量200 L/回(例：藻体収量0.7g/L, オイル蓄積率40wt%)を達成する安定大量培養技術を確立する。</p>	○
<p>(2)ケイ藻の生理学的なアプローチにより得られた知見を活用し、グリーンオイル生産速度10g/m²/day)の向上に資する培養条件の改善方法を立案する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・オイル生産速度は、培養条件等の適正化を行うことでクローズ培養からオープン培養(直径20m槽)完了までの培養期間を短縮することができた。 ・発電に使用できるOPVの波長の検討、シームレスな培養規模拡大に資する光ストレス緩和法の検討、ターゲットとする集光関連遺伝子の配列を変異させた改質株の作出等を進めている。 	<p>グリーンオイル生産速度向上(10g/m²/day)に係る培養条件をハイブリッド型培養システムで検証する。</p>	○

評価欄：○ 目標を達成できる見込み。 △ 一部達成できる見込み。 × 未達の見込み。

3. 中間目標の達成状況及び最終目標 (2/2)



中間目標 (2023年度目標)	達成状況	最終目標 (2024年度目標)	評価
<p>(3)SAF改質/流通事業者とのネットワーク構築、SAF原料品質確認の準備を行う。また、有望な併製品の原料サンプルを協力事業者に提供し、併製品評価の準備を行う。</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・SAF サプライチェーン関連企業とのネットワーク構築を目的に2022年度から加盟したAct for Skyの定期部会に参加し、SAF開発動向などについて情報収集を図っている。 ・培養後の藻体を複数の乾燥条件で作成した試料(乾燥藻体)の品質を確認するため成分分析を実施し、分析結果について取り纏め中。 ・併製品(高付加価値成分)による事業化検討のため、協力事業者(候補)となる2社へソラリス株の乾燥藻体等を提供し、評価を実施中。 	<p>SAF 製造事業者とのネットワーク構築、SAF 原料品質確認、及び有望な併製品の原料サンプルを協力事業者に提供し、併製品の評価を行う。</p>	○
<p>(4)エネルギーCO₂収支向上について検討し、具体的な方法を立案する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・CO₂削減効果/エネルギー収支の試算式の精査を進め、CORSIAの持続可能性基準である化石燃料由来ジェット燃料の▲10%以上削減(80.1gCO₂/MJ以下)に向けて、実際の試験データを一部用いた試算を行った。 ・今後も、培養期間短縮、間欠補機運転、及びオープン型培養の攪拌の低エネルギー技術調査を継続して行い、各試算値の精査を進める。 	<p>エネルギーCO₂収支向上の方法を試行し、その効果を評価する。</p>	○

評価欄：○ 目標を達成できる見込み。 △ 一部達成できる見込み。 × 未達の見込み。

4. オープン・クローズ型培養装置による培養試験

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。

【目標値 (クローズ型培養)】
 オープン培養試験開始に必要な藻体濃度
 (藻体が安定的に増殖可能な初期藻体濃度)
 ソリス：30万cells/mL
 ⇒クローズ培養では1900万cells/mL
 ルナリス：50万cells/mL
 ⇒クローズ培養では3200万cells/mL

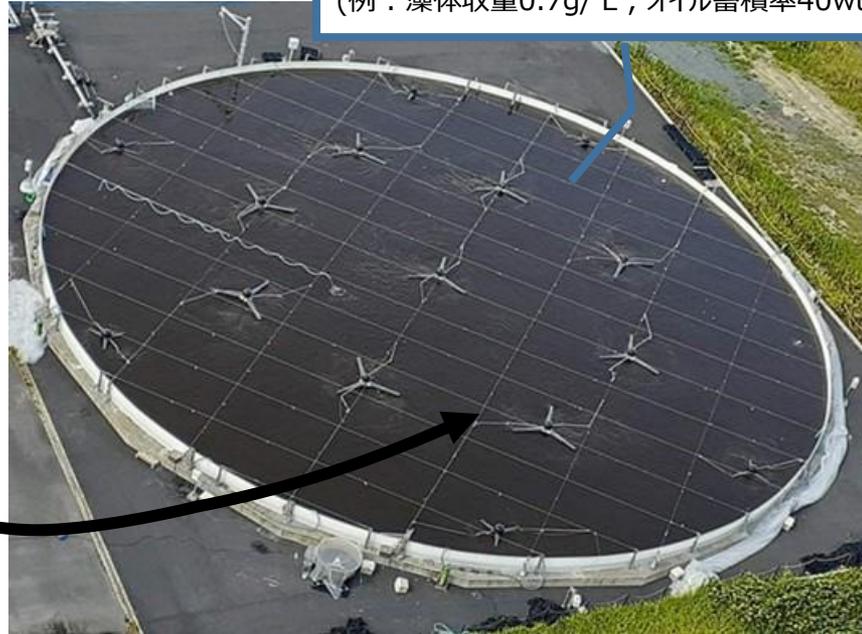
【目標値 (オープン型培養)】
 グリーンオイル生産量目標値である200L/回
 (例：藻体収量0.7g/L, オイル蓄積率40wt%)

ハイブリッド培養システム



【図】 大規模クローズ型培養装置 (1.5m³/基)

藻体移送



【図】 大規模オープン型培養装置(直径40m/600m³ クラス)

4. オープン・クローズ型培養装置による培養試験

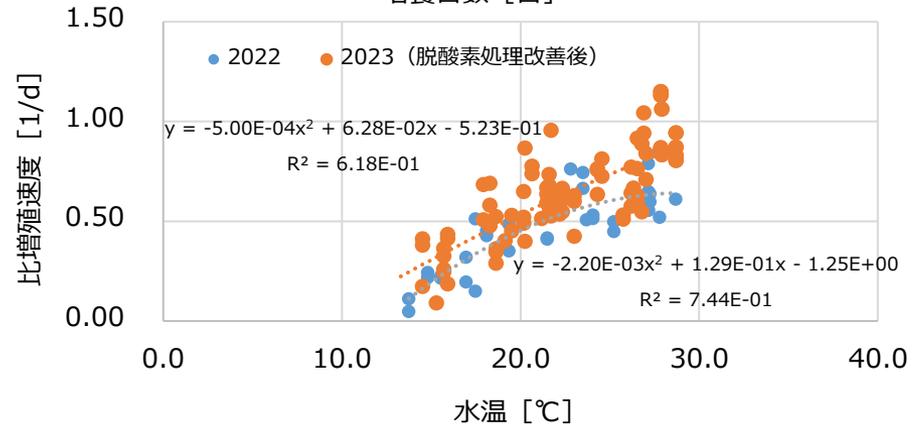
クローズ型培養技術開発については、藻体濃度に応じた日射量の管理等を適切に行うことで安定的培養が可能となり、オープン型培養試験開始に必要な藻体濃度を確保した。

「クローズ型培養における光合成による酸素濃度増加対策（脱酸素処理）の改善」

クローズ型培養では、光合成による酸素濃度の上昇により生育遅延（光呼吸）する。これまでは中継タンクで空気曝気することでの脱気効果により酸素濃度低減を行ってきたが、今回はクローズ型培養での生育速度向上を目指し、脱酸素処理の改善を試みた。

この結果、従来よりも対数増殖期における比増殖速度を増強できたことで、クローズ型培養での生育速度向上（＝培養期間短縮）を可能とした。

左下図：中継タンクの概況
 右上図：ソラリス濃度変化（改善前後）
 右下図：水温と比増殖速度の関係



4. **オープン・クローズ型培養装置による培養試験**

2022年度⇒2023年度

オイル生産性、生産速度向上に向けたオープン培養条件の適正化について(実施計画書抜粋)

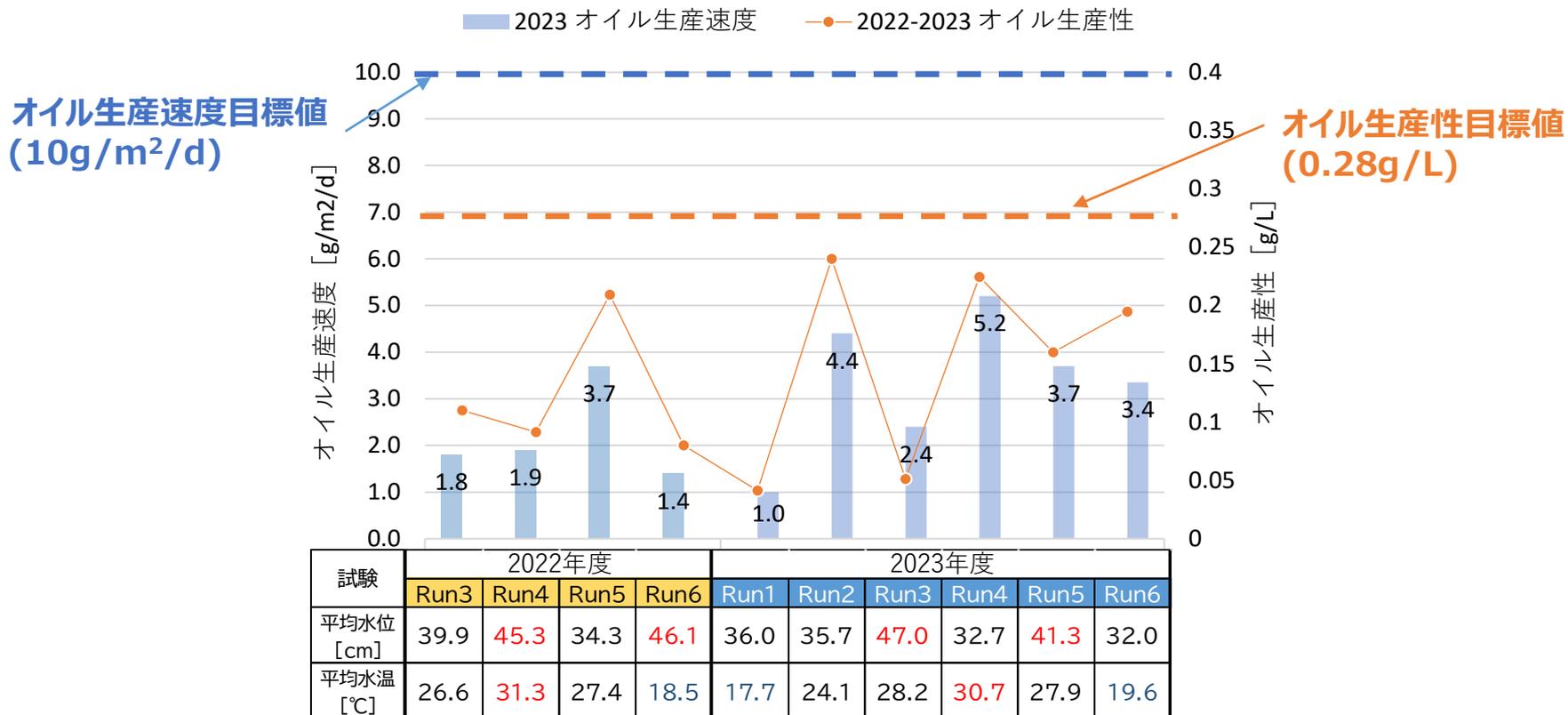
オープン・クローズ型ハイブリッド培養システムを用いた培養試験を通して、中規模オープン型培養装置を活用したユニットにより安定大量培養技術を醸成し、大規模オープン型培養装置の復旧後は、本事業でのグリーンオイル生産量目標値である200 L/回（例：藻体収量0.7 g/L, オイル蓄積率40 wt%）を達成可能とすること、及びグリーンオイル生産速度（10g/m²/day）の向上に係る培養条件の改善方法を立案、検証する。

【2022、2023年度実績】オープン型培養 培養条件適正化について

条件	2022年度 Run5実績		2023年度 パラメータ把握(適正化内容)		条件適正化
藻種	ソラリス				ソラリス
培養装置	大規模オープン型				中規模オープン型
種藻体培養	大規模クローズ型	⇒	弱光順化の影響の把握	⇒	対数増殖期の藻体を使用
攪拌	設置台数 25台				設置台数 12台
N源	硝酸	⇒	N源種による藻体の取り込み	⇒	アンモニア
N濃度	18ppm	⇒	N濃度による生育濁度の影響	⇒	18ppm
水位	34.5cm	⇒	水位影響の把握	⇒	水位30~40cm
CO ₂	pH制御時のみ	⇒	光合成のCO ₂ 利用性の効率化	⇒	CO ₂ 高濃度化(重曹添加)

4. オープン・クローズ型培養装置による培養試験

【2022年度、2023年度実績】中規模オープン型培養装置でのオイル生産性、オイル生産速度について



- オイル生産速度は50%程度の達成度であるが、オイル生産性は80%程度の達成度となっている。
- オイル生産速度の達成度が低い理由は、面積あたりのオイル生産量が少ないためであり、水位30cmでオイル生産性0.28g/Lを達成した場合は、オイル生産速度は最大で6.0g/m²/dとなる。

⇒ 今後オイル生産速度の目標値10g/m²/dを達成するためには水位上げによる培養液の増量や攪拌効率の改善が必要となる。

2023Run1:低温時に強光を受けたことで、強光阻害が生じ、オイル生産速度が低下した。
 2023Run3:2度の大雨の影響により、水位調整を行ったところ、2回目の水位調整後に突如培養が不良化したため、オイル生産性は7日が最大となった。
 2023Run5:降雨により水位が上昇した。
 2023Run6:ソラリス低水温により生育遅延した。

4. オープン・クローズ型培養装置による培養試験

【2022年度、2023年度実績】スケールアップ培養の結果取り纏め

パラメータ検討の結果、オイル生産性を向上させるための栄養塩濃度、培養の安定化（高水温）等に寄与する適正なCO₂条件を明らかにするとともに、コンタミ対策等によって安定培養が可能となり、オイル生産性の目標値0.28g/L達成に向けて目途を付けることができた。

一方で、このオイル生産性は水位30cmの条件であり、水位50cmでオイル生産性0.28g/Lを達成するためには、攪拌条件について更なる検討が必要である。

パラメータ	条件	対策	評価
攪拌	水位30cm	攪拌十分 (藻体沈殿無し)	○:小規模オープン型 △:中規模オープン型
	水位50cm	攪拌十分 (藻体沈殿無し)	× オイル生産性低
栄養塩	N濃度	必要な藻体濃度の生産のための濃度設定	○
CO ₂	高濃度化	重曹濃度適正化	○
コンタミ対策	早期検出	R-PCR条件決定	○

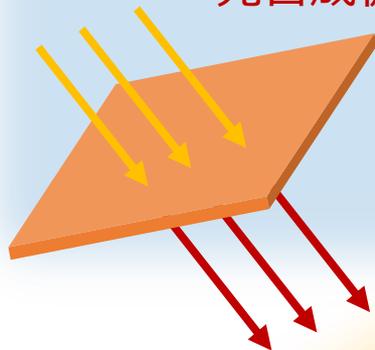
5. グリーオイル生産量向上 (3大学の関係)



諏訪東京理科大学

光合成促進効果の検証

光合成促進フィルム



光化学系II

光化学系I

CO₂

カルビン回路

その他



タンパク質

糖

熱として
エネルギー
を排出 (NPQ)

NPQを担う
タンパク質
(Lhcx)

集光タンパク質
(FCP)



関西学院大学

光合成機能の解析



東京農工大学

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

5. グリーオイル生産量向上

(1) 太陽光の利用性向上に向けた装置開発

太陽光の利用性向上に向けた装置開発

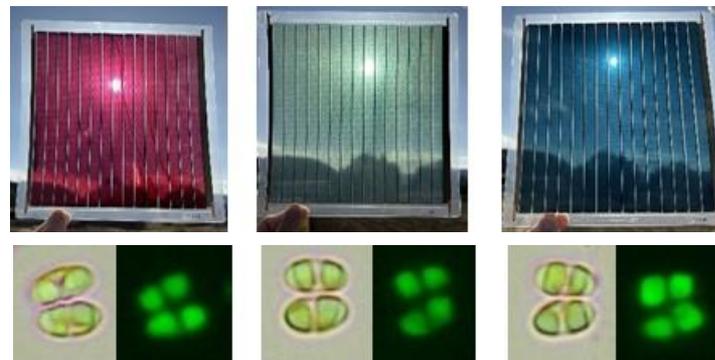
培養に影響を与えることなく発電に使用できる波長の検討

「緑色波長」はソリス等の光合成性への利用が低いと考えられることから、「緑色波長」に注目して、ラボ試験（疑似太陽光LED）でソリスの生育に与える影響を評価した。

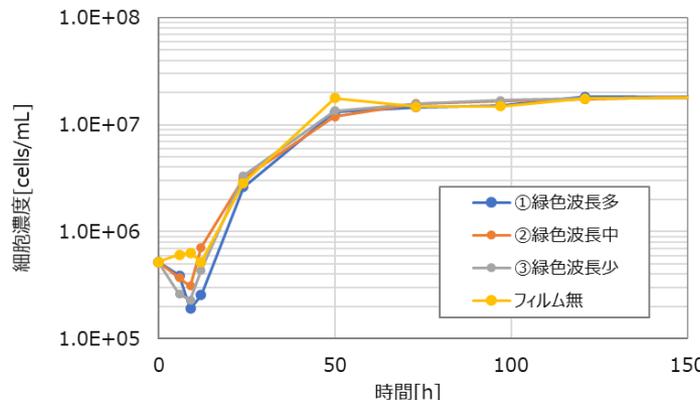
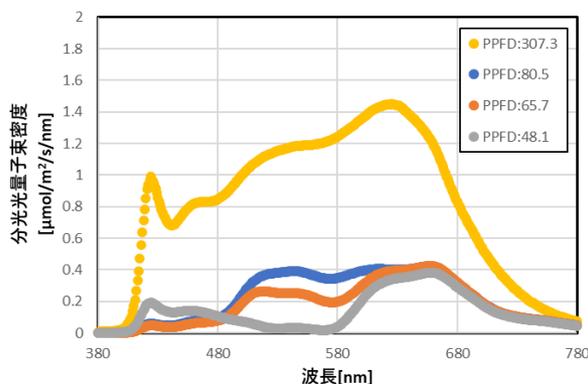
【緑色波長条件(使用したフィルム), 光強度】

- ① 緑色波長多(青色 + 黄色) PPFD 80.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ② 緑色波長中(青色 + 黄色 + 光合成促進) PPFD 65.7 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ③ 緑色波長少(青色 + 赤色 + 光合成促進) PPFD 48.1 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ④ コントロール (フィルム無) PPFD 307.3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

自然太陽光下における各OPVの比較



赤色、緑色、青色の3色のOPVを用いてソリスを培養した結果、ソリスの生育やオイル蓄積に大きな差異は確認されなかった。



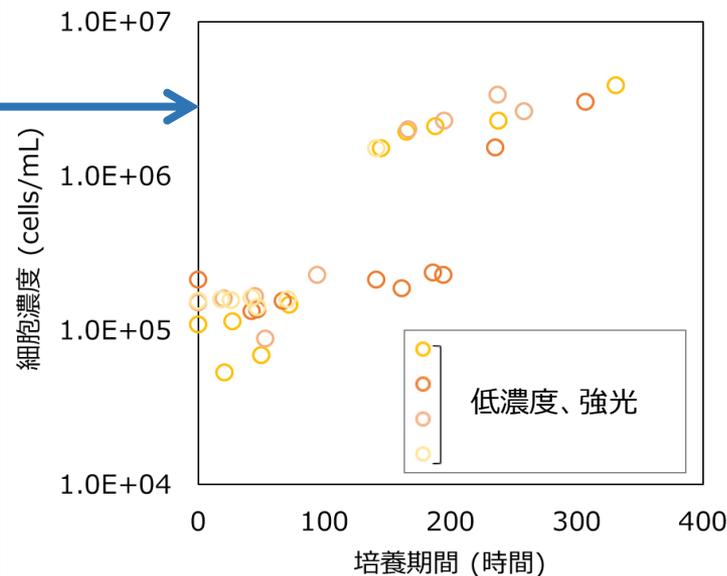
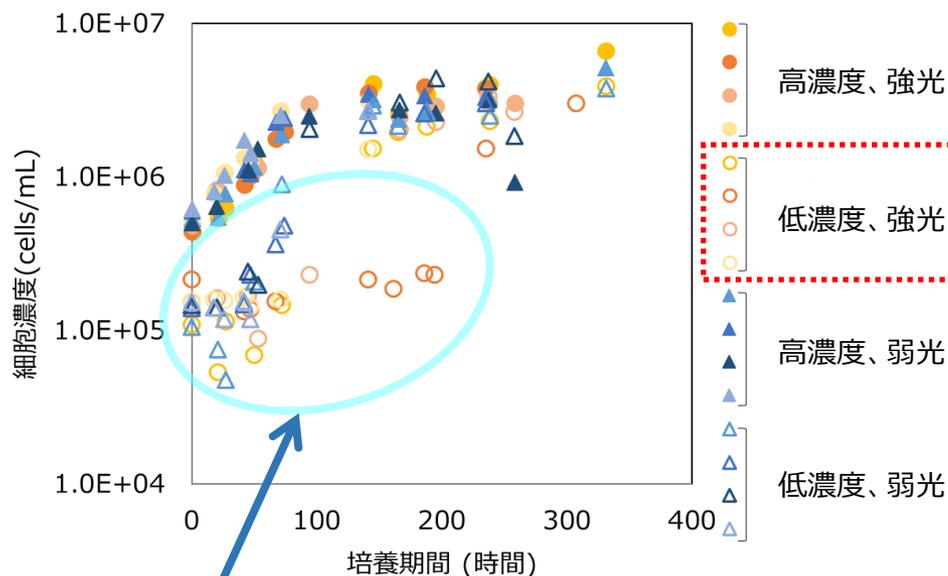
各条件において、緑色波長の量は異なってもソリスの生育に大きな差は認められなかった。このことから、ソリス培養における緑色波長域の必要性は低いと考えられる。
⇒ 発電にはソリスの生育に不要と考えられる緑色波長が利用可能であることが示唆された。

今後：OPVを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：(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。

5. グリーオイル生産量向上 (2)海洋ケイ藻の光合成機能解析

シームレスな培養規模拡大に資する光ストレス緩和法の確立

ハイブリッド培養において、クローズ培養からオープン培養へ藻体に移した後に藻体の生育停滞が認められている。そのメカニズムを解明することで、細胞のストレスを抑制できるような段階的希釈法を探索する。



前培養した藻体を高濃度(OD0.03)または低濃度(OD0.003)となるように希釈し、弱光($50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)または強光($2,500 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)で培養した結果、低濃度の細胞において生育遅延が確認された。

低濃度の藻体を強光で培養した条件では、同一条件にも関わらず、細胞の生育に差異が認められた。この差異の要因を明らかにすることで、細胞の生育速度に関わる条件を明らかにできる可能性がある。

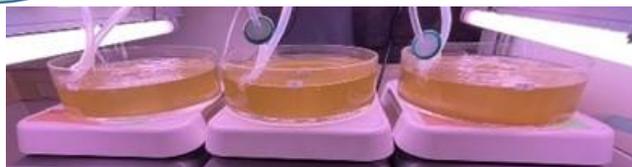
今後：希釈倍率の違いが継代後の培養における生育・光合成パラメータへ与える影響を明らかにする。
参考：(2024年度) 培養初期の生育不良トラブルの回避、生育ラグの解消による培養期間短縮等を目的としたシームレスな培養スケールアップ法を生理学的観点から提供することを目指す。

5. グリーオイル生産量向上

(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

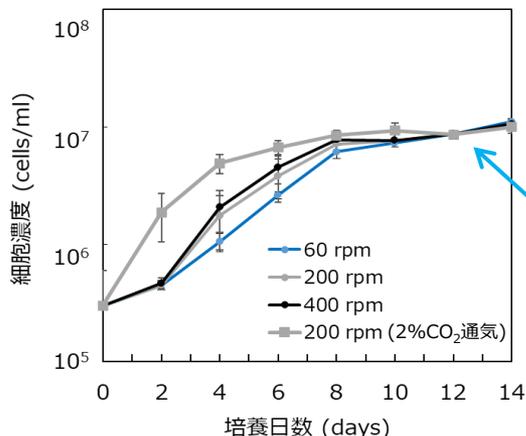
オイル生産性を最大化させる培養条件の検討

CO₂ ※ ラボでの培養試験 (小型円形培養装置)



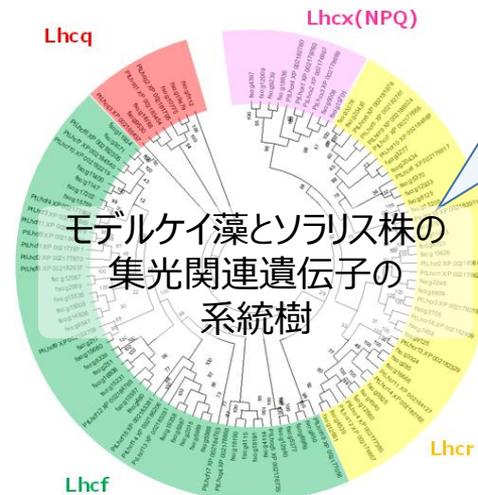
攪拌速度(rpm)	2%CO ₂ 通気		CO ₂ 供給なし	
	200	60	200	400
最終細胞濃度 (×10 ⁷ cells/mL)	1.0	1.1	1.0	1.2
比増殖速度 (/day)	0.40	0.18	0.37	0.49
バイオマス濃度 (g/L)	0.39	0.39	0.38	0.34
オイル含有量 (%) 8日目	49	25	40	42
14日目	52	39	42	37

攪拌速度が同じ場合、CO₂を供給すると、供給しない場合と比較して、オイル蓄積量が約20%増加。



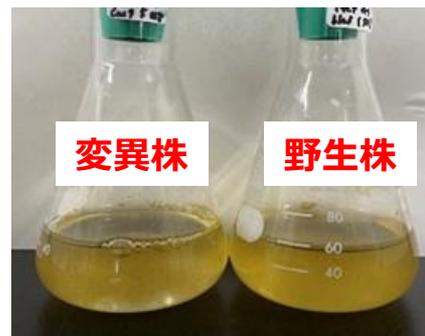
攪拌速度の向上により比増殖速度が増加したが、最終的な細胞濃度やバイオマス濃度への影響は見られなかった。

遺伝子改変株の作出



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 (報告済)

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(報告済)



変異導入を確認したクローンを17個獲得。得られた17個のクローンの塩基配列を確認し、ターゲット遺伝子の配列が変異した株を獲得。

今後：培養期間の短縮に向けたソリス株の前培養条件の検討、作出した改良株の表現型 (オイル蓄積率や生育) についての評価
参考：(2024年度) オイル蓄積量が最大となるような培養条件を調整するプロセスの検討、改変株のnon-GMO化

6. 併産品利用を含むバイオジェット燃料製造事業性検討

1. バイオジェット燃料事業に向けた取り組み

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）に加盟した。定期的に行われる部会参加を通して、石油元売り会社との関係を築き、SAF開発動向などについて情報収集を行った。

またIMAT(日本微細藻類技術協会)に加盟し、技術委員会参加を通じて、試験方法や評価基準の標準化などの情報収集を図っている。

2. SAF原料の品質確認のための取り組み

培養した湿藻体を複数の乾燥条件で作成した乾燥藻体について、乾燥方法の違いによる品質への影響を調べることを目的とした成分分析（対象：脂肪酸、フコキサンチン）を行い、結果について取り纏め中。

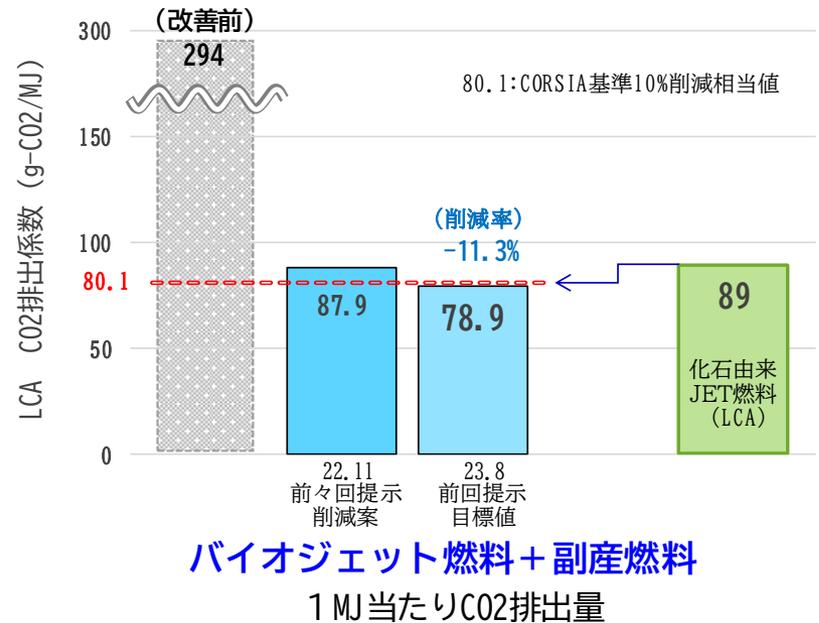
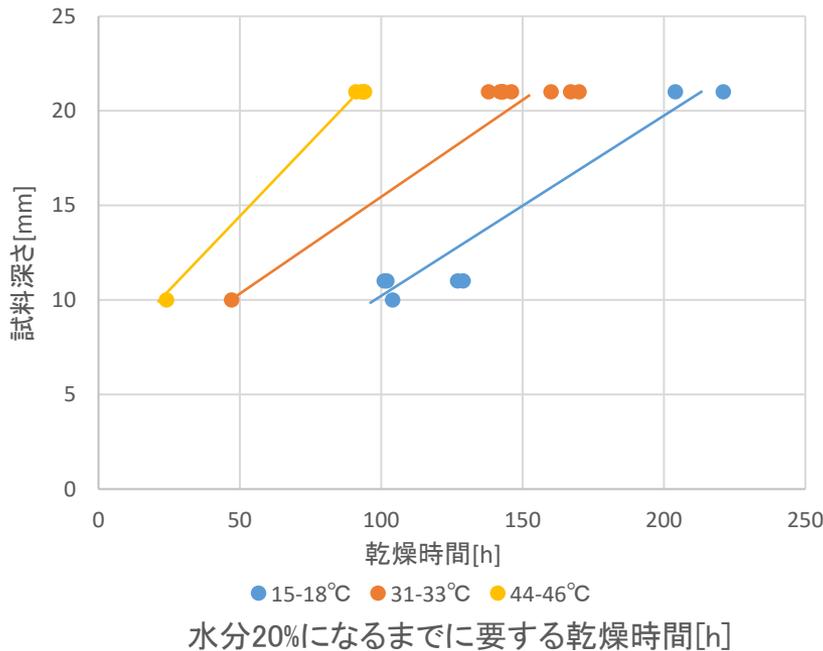
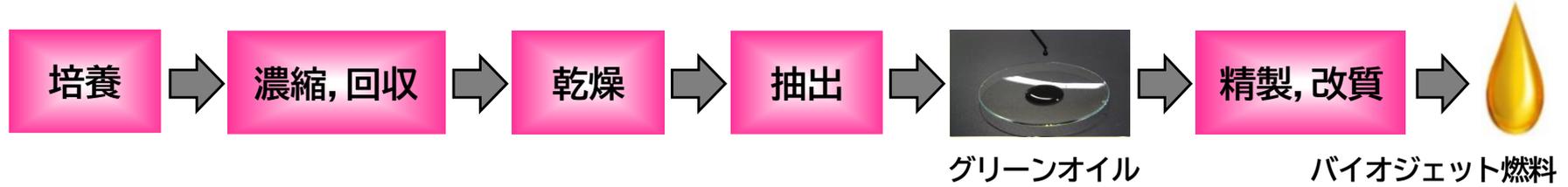
3. 併産品による事業化検討

藻体から得られる併産品のうち、高い市場価値や機能性物質として期待されるフコキサンチン、エイコサペンタエン酸、パルミトレイン酸等に着目し、高付加価値成分原料による事業化の可能性を検討するため、NEDO事業の協力事業者（候補）となる2社へソラリス株の乾燥藻体を提供し、評価を実施中。

・A社：ソラリス株から抽出・精製した高付加価値成分原料（例：フコキサンチン、パルミトレイン酸）の事業化について検討に着手。現在、高付加価値成分の抽出・精製方法について検討中。

・B社：同社の有する高付加価値成分の抽出・精製技術を用いてソラリス株の乾燥藻体または湿藻体からサンプルを作製し、ユーザによる評価を計画中。

低エネルギー化を目指した生産プロセスを検証中



エネルギー消費の大きい乾燥装置の電力削減には天日乾燥との組合せが不可欠。
天日乾燥(温室通風)の最適化に向けた検討を実施中。

化石燃料由来ジェット燃料のGHG排出量89gCO₂/MJに対して、
▲10%以上の削減 (80.1gCO₂/MJ以下) を達成するための改善策を見込んだ試算を行った。