

## 研究報告書

### 「乾燥・細胞壁破壊・有毒抽剤が不要な藻類からの燃料抽出技術の創出」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 4 月～平成 28 年 3 月

研究者: 神田 英輝

#### 1. 研究のねらい

水生植物の微細藻類はろ過や遠心分離などで水分を除去しても、水分 80%(水分の重量 80:微細藻類の重量 20 の割合)の高含水状態にしかならない。通常、微細藻類からバイオ燃料の原料である油脂を抽出するためには、微細藻類を乾燥したり、油脂の抽出に用いる有機溶媒(ヘキサン・メタノール・クロロホルムなど)の蒸発に 100℃以上の熱を投入しなければならない。これらの熱量が微細藻類が光合成で獲得した熱量を上回るため、微細藻類からバイオ燃料を生産するほどエネルギーを消費し、そのエネルギーが化石燃料由来の場合は、逆に二酸化炭素の排出量が増えるジレンマに陥る。

この問題を解決するために、従来の有機溶媒ではなく、水や油脂と混合し、沸点が常温よりも低く、化学的に安定で、分子構造中に窒素・硫黄・ハロゲン・金属などの環境負荷物質を含まず、毒性が低い物質を用いて、高含水状態の微細藻類から油脂を直接抽出するとともに、抽出液からこの物質を常温域の熱源で蒸発・分離させればよいと着想した。

これらの要求される性質を全て満たすと思われる物質として、ジメチルエーテル(DME)を選び出した。DME は標準沸点が-24.8℃であり、常温・常圧では気体である。DME は 20℃でも 0.51MPa に加圧すれば液体となる。DME は元々毒性が低い次世代クリーン燃料として使われてきた。液体状態ではディーゼル燃料代替、気体状態ではLPG代替として、とりわけ中華人民共和国で普及している。しかし、これまで DME は燃料として研究されてきた経緯から、抽出溶媒としては研究事例が殆ど無く、液化 DME に溶解する物質やその溶解度といった溶媒としての性質は未知である。また、DME を液化させて溶媒として用いる抽出装置自体も無い。

本研究では、液化 DME を抽出溶媒として用いて、様々な高含水の微細藻類から油脂を直接抽出できるか自作の装置を用いて検討するとともに、抽出された油脂の構成物質(元素割合・分子量分布・脂肪酸割合・高位発熱量・機能性成分)を明らかにすることを主な目的とした。また、その結果を一般的な有機溶媒抽出(ヘキサン抽出法や Bligh-Dyer 法)や、近年注目されている超臨界二酸化炭素抽出による結果とも比較検討した。

#### 2. 研究成果

##### (1) 概要

乾燥や細胞破壊といった前処理を施すこと無く、高含水の様々な微細藻類や水圏微生物、例えばラン藻・緑藻・ケイ藻・円石藻・ユーグレナ・ボツリオコッカス・オーランチオキトリウムから、高効率に油脂を抽出することに成功した。

特に、ケイ藻や円石藻といった無機質の被殻を有する微細藻類では、通常の有機溶媒抽出法では細胞破壊により抽出油脂の問題があったものの、細胞破壊が不要な液化 DME 抽出法を適用することにより、これら被殻の油脂への混入を防ぐことが可能になる。

細胞壁を有さないユーグレナは、抽出法に左右されず、どの抽出法でもほぼ同一性状の油脂が得られる可能性が示唆された。また、カロテノイド類などの有価物や脂肪酸も、従来法と遜色の無い収率で抽出することに成功した。

## (2) 詳細

研究テーマ A「低環境負荷溶媒DMEによる乾燥・細胞破壊が不要な湿潤抽出技術の確立」

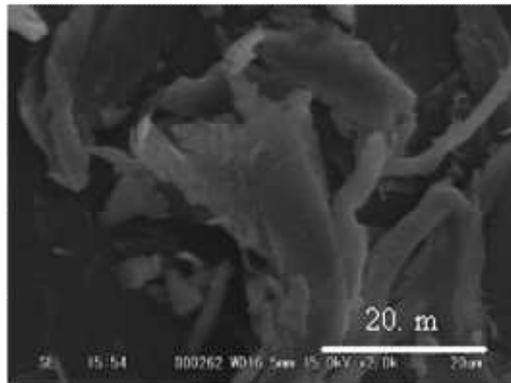
さきがけ研究では、ユーグレナ、ケイ藻スピルリナ、珪藻キートセロス、円石藻プレウロクリシス、緑藻ヘマトコッカス、真正眼点藻ナンノクロロプシス、ラビリンチュラであるオーランチオキトリウムを用いた。

何れの微細藻類や水圏微生物においても、抽出油脂は、元のサンプルに比して炭素・水素の含有量が増加し、また残渣の酸素・窒素含有量が増加した。これは、イオン液体などと異なり、蛋白質やアミノ酸を液化 DME によって抽出できないことを意味している。微細藻類の窒素含有量は 10%程度に達し、これは高等植物より著しく高い。この窒素は、培養液中の窒素肥料や、富栄養化した窒素を源にしており、更にこの窒素はアンモニア合成によって固定されたことを考えると、油脂に含まれる窒素分を燃焼して窒素ガスに戻すことは、アンモニア合成のエネルギーを無駄にすることになる。このため、油脂中の窒素含有量の低減はエネルギー収支の改善からも有効である。また、燃焼に伴い NO<sub>x</sub>も発生することになり、大気汚染防止の観点からも、窒素除去ができたことも有効である。

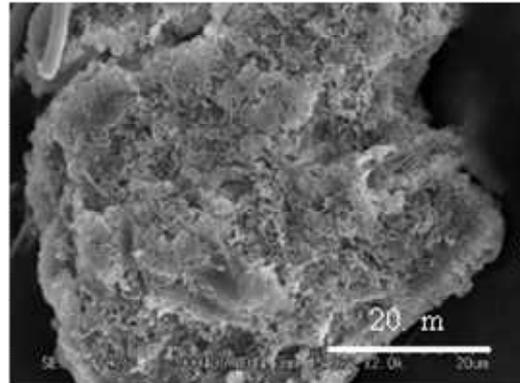
ユーグレナの場合、液化 DME 抽出法は、ユーグレナに乾燥や細胞破碎といった前処理を施していないにも拘わらず、乾燥と細胞破碎が必要な従来のヘキサン抽出法とほぼ同じ量、分子量分布、発熱量の油脂を、高含水のユーグレナから抽出することに成功した。後述の通り、他の藻類では有機溶媒抽出法とは分子量分布に違いが生じているのに対して、ユーグレナの場合には細胞壁がない特異な構造故に、極めて容易に細胞内部の全ての物質を抽出できるためだと考えられる。これは、抽出残渣が無色透明になったことから裏付けられる(論文 4)。

珪藻や円石藻はシリカや炭酸カルシウムの被殻を有しており、これが液化 DME による油脂抽出の妨げになる危険性があった。また、珪素やカルシウムが油脂中に混入する危険性もあった。液化 DME 抽出法を珪藻キートセロスと円石藻プレウロクリシスに適用すると、Bligh-Dyer 法とヘキサン抽出法(共に細胞破壊は施していない)に比べて、2倍近くの油脂を抽出することに成功した。また円石藻に対して抽出前に粉碎による細胞破壊を施すと、炭酸カルシウム被覆である円石の破片が油脂に混入する問題も明らかになった(Fig.1:孔径 1 $\mu$ m のフィルターろ過で抽出液と残渣を固液分離した場合。白く写っているのが円石。)。また、液化 DME 抽出法で得た油脂中の珪素とカルシウム濃度は従来法よりも少なく、液化 DME 抽出法において問題にならないことも判明した。

DME抽出物



ヘキサン抽出物

Fig. 1 SEM images of extracts from *P. carterae*

従属栄養微生物ラビリンチュラであるオーランチオキトリウムの場合も、微細藻類と同様に、湿潤状態から油脂を良好に抽出することに成功した(特許1・3)。

これに、後述の緑藻ヘマトコッカス、ナンノクロロプシス、ラン藻スピルリナや、さきがけ研究の準備段階で行った、ケイ藻を主とするアオコや、緑藻ポツリオコッカスブラウニーでの成功を併せると、主要なほぼ全ての種類の微細藻類について、液化DME抽出法を適用できると思われることが明らかになった。

#### 研究テーマ B「液化DME抽出法による有価物・油脂抽出挙動の解明」

ラン藻スピルリナの場合でも、液化DME抽出法は、ヘキサン抽出法や Bligh-Dyer 法と、同じ量の油脂を、高含水のスピルリナから抽出することに成功した。また、超臨界二酸化炭素抽出法と比べると倍以上の量の油脂を抽出することにも成功した。しかし分子量分布は、液化DME抽出法が最も広がりがあり、続いて Bligh-Dyer 法、ヘキサン抽出法の順に分布が狭くなった。このように、弱極性の液化DMEは、無極性から極性まで様々な物質を溶解・抽出する能力があり、油脂成分の選択性の観点からは液化DMEの溶媒としての優位性は無く、抽出油脂に様々な不純物が含まれることが判明した。例えば、スピルリナに含まれる水溶性青色蛋白質フィコシアニンが抽出油脂に混入することが明らかになった。このフィコシアニンは液化DMEに不溶であることから、液化DMEに不溶な物質でも抽出される場合があることも判明した。これについては、フィコシアニンが水溶性であり、液化DMEがフィコシアニン水溶液の形で抽出した可能性がある。

赤色カロテノイドである有価物アスタキサンチンを豊富に含む緑藻ヘマトコッカスの場合、細胞壁にセルロース構造を有し、またシスト体では細胞壁が更に硬くなり、従来の有機溶媒抽出法では事前に細胞を破壊処理する重要性が高い。細胞破壊を施していない湿潤ヘマトコッカスに液化DME抽出法を適用したところ、油脂抽出量は従来の乾燥や細胞破壊を施す有機溶媒(アセトン)抽出法の約70%となった。また、細胞破壊処理を施したところ、油脂抽出量は従来法とほぼ同じとなった。アスタキサンチンの抽出挙動も油脂とほぼ同様であり、カロテノイド類に対しても、本手法を適用できることが明らかになった(論文2)(特許1・3)。大型藻類のワカメに対しても応用したところ、乾燥や細胞破壊を施さなくともフコキサンチンを抽出することに成功した(論文1)。

真正眼点藻ナンノクロロプシスを用いて、微細藻類の初期含水率が液化 DME 抽出法に及ぼす影響を検討した。その結果、絶乾状態のナンノクロロプシスからの油脂抽出量は、湿潤状態のナンノクロロプシスからの約半分であった。また、予め液化DMEを水で飽和させ、液化DMEの水の抽出能力を失わせた状態では、抽出に要する液化DME量が約 10 倍になった。液化DME抽出法においては、水が存在することにより油脂抽出量が増大するとともに、水が抽出可能な状況で油脂の抽出速度が速くなることが明らかになった。

### 3. 今後の展開

本技術では DME を 0.5MPa(20℃)～3.5MPa(80℃)程度で液化して溶媒に用いることから社会実装するには、高圧流体のハンドリング経験が豊富な企業などに技術移転をすることが重要である。また、日本国内では、100mlを超える容器の液化ガスのハンドリングには高圧ガス保安法による規制があり、同法に許可された部品(高圧ガス保安協会の認可品)を用いるだけで、同じ装置を作成するために3～4倍の装置コストがかかる。同法の規制は日本が最も厳しく、海外では規制そのものが無い国もある。このため、早期に液化 DME 抽出法を社会実装するには、海外に大型装置を設置して試験を行うのが良いと考えている。

### 4. 評価

#### (1)自己評価

##### (研究者)

ラン藻、緑藻、珪藻、円石藻、ユーグレナなど、様々な種類の微細藻類に対して、液化 DME を溶媒に用いる抽出方法を適用できることが明らかになった。液化 DME 抽出装置は部品を自ら組んで作成したオリジナルのものであり、この装置をさきがけの支援で作成したことで、様々な微細藻類に対して網羅的に、液化 DME 抽出法の適用の妥当性を確認できた。

さきがけの支援を受けて論文・口頭発表を実施できたのみならず、研究成果は日本経済新聞と朝日新聞に取り上げられた。また、複数の企業との共同研究にも発展することができた。

また、研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果の点での特記事項としては、本研究成果を元に、南アフリカ共和国のダーバン工科大学と共同で、南アフリカ共和国の現地の微細藻類培養オープンポンドに液化 DME 利用型の抽出装置を設置して、現地で培養した微細藻類から油脂を抽出する社会実装を立案し、JST・JICA の SATREPS に 2015 年 6 月に研究代表として採択して頂いた。本研究では、日本の大手企業、東京農工大学の農学の専門家、名古屋大学の国際開発と経済学の専門家と共同して実施するなど、産学連携・文理融合・国際協力の点からの特徴も有する。

#### (2)研究総括評価

本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った。さきがけによる支援で独自の高圧抽出装置を作成し、様々な微細藻類や水圏微生物への液化 DME 抽出法の優位性を明らかにした。本さきがけ研究の成果が認められ、日本エネルギー学会進歩賞(学術部門)を受賞するなど、本分野のトップランナーの一人として注目されるようになり、研究者としての飛躍につながった。

本研究は、微細藻類からのバイオ燃料生産におけるエネルギー収支の改善というダウンス

トリーム分野である。既に、複数の研究者や民間企業との国際共同研究に発展するとともに、科学技術振興機構JSTと国際協力機構JICAの地球規模課題対応国際科学技術協力プログラムSATREPS(低炭素社会)に研究代表者として採択されるなど、実用化に向けて研究はステップアップしている。さきがけ研究提案時は民間研究機関の所属で実用化を強く意識した研究提案だったこともあり、今後の研究成果の実用化を期待する。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1)論文(原著論文)発表

- |   |
|---|
| 1. Hideki Kanda, Yuichi Kamo, Siti Machmudah, Wahyudiono, Motonobu Goto,<br>Extraction of fucoxanthin from raw macroalgae excluding drying and cell wall disruption by liquefied dimethyl ether, <i>Marine Drugs</i> , (2014) 12, 2383–2396   |
| 2. Panatpong Boonnoun, Yuko Kurita, Yuichi Kamo, Wahyudiono, Siti Machmudah, Yuji Okita, Eiji Ohashi, Hideki Kanda, Motonobu Goto,<br>Extraction of lipids and astaxanthin from wet <i>Haematococcus pluvialis</i> by liquefied dimethyl ether, <i>Journal of Nutrition and Food Sciences</i> , (2014), 4, art.no.305 (5pp) |
| 3. Motonobu Goto, Hideki Kanda, Wahyudiono, Siti Machmudah,<br>Extraction of carotenoids and lipids from algae by supercritical CO2 and subcritical dimethyl ether, <i>The Journal of Supercritical Fluids</i> , (2015), 96, 245–251  |
| 4. Hideki Kanda, Peng Li, Motonobu Goto, Hisao Makino,<br>Energy-saving lipid extraction from wet <i>Euglena gracilis</i> by the low-boiling-point solvent dimethyl ether, <i>Energies</i> , (2015), 8, 610–620   |

### (2)特許出願

研究期間累積件数:3件

### (3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

受賞1件

- 1) 日本エネルギー学会 進歩賞(学術部門) 液化ジメチルエーテル抽出法による高水分炭素資源の高品位化に関する研究 (2015/2/27)

著作物4件

- 1) 藻類の培養とその事業化・高収益化に向けた最新技術

分担箇所:第3部培養藻類の活用分野別利用技術 1節3項「微細藻類由来バイオ燃料の高効率抽出技術の開発」p.166–173 出版社:情報機構, ISBN: 978-4-86502-025-0 (2013/6)

- 2) 藻類オイル開発研究の最前線—微細藻類由来バイオ燃料の生産技術研究—

分担箇所:第3部未利用廃熱を利用する微細藻類バイオオイルの省エネルギー抽出技術 p.83–92 出版社:エヌ・ティー・エス, ISBN: 978-4-86469-085-0 (2013/11)

- 3) 分離技術のシーズとライセンス技術の実用化 分担箇所:乾燥や細胞破壊が不要な微細藻類からの油脂抽出技術 p.95–101 出版社:分離技術会, ISBN: 978-4-9908079-7 (2014/10)

4) 躍進する超臨界流体技術－新しいプロセスの原理とその実用化－ 分担箇所: 第2章 亜臨界ジメチルエーテル抽出技術 p.19-36 出版社: コロナ社, ISBN: 978-4-339-06635-7 (2014/11)

新聞報道 2 件

1) 日本経済新聞 名古屋大学: 藻から燃料を効率抽出 乾燥や粉碎不要 朝刊 14 面 (2013/8/27)

2) 朝日新聞 藻からバイオ燃料 朝刊 16-17 面 (2014/1/4)