

# 海水を有効利用したバイオ燃料生産法の開発

日大生産工（学部）○川口 天心，  
日大生産工 小森谷 友絵，秋田 紘長

## 1. 緒言

2015年のパリ協定で、2050年に世界の平均気温上昇を1.5℃に抑える目標が掲げられ、脱炭素化の取り組みが世界規模で進んでいる。我が国では、2050年までに温室効果ガス排出を全体としてゼロにする、「2050年カーボンニュートラル」の実現を国家目標として掲げている。この目標の達成には、国内の二酸化炭素排出量の約2割を占める運輸部門において、抜本的な対策が不可欠である。このような背景のもと、2025年5月、経済産業省が「2028年度にバイオ燃料10%混合ガソリン供給開始」を策定した。これは、化石燃料の使用量を直接的に削減する有効な手段であるが、それに伴い、バイオ燃料の需要が急増している。

バイオ燃料の生産には、トウモロコシ等の穀物が原料に利用されているが、食糧自給率の低い日本では、バイオ燃料の国内生産が困難な状況にある。これら背景のもと、木質系バイオマス等の再生可能資源を原料に利用する第二世代バイオ燃料の生産法の開発が急務の課題になっている。但し、木質系バイオマス原料に利用する場合、糖の抽出が必要なことから、前処理工程と酵素糖化工程が必須であり、工程が複雑なことから生産コストが高い<sup>1)</sup>。そこで本研究では、廃糖蜜と海水のみから調製した培養液を利用して、エタノールが生産可能か検証し、第二世代バイオエタノール生産法の基盤技術の確立を目指す。廃糖蜜は、精糖時に生じる副産物であり、グルコースをはじめ、数種類の糖を豊富に含むため炭素源としてのポテンシャルを持つ。一方、海水は酵母を培養する際のミネラル・淡水源として利用できる。即ち、本生産法では、再生可能資源のみを利用することから原料費を抑えることができ、前処理工程と酵素糖化工程が不要なことから

生産工程の簡略化による生産コストの低下が期待できる（図1）。

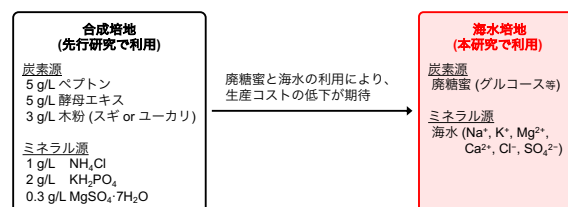


図1 本研究のオリジナリティー

## 2. 実験方法

### 2.1. エタノール生産試験

本研究で使用した海水は、いなげの浜沿岸（千葉県千葉市）で採取した。採取した海水は、速やかに実験室に持ち帰り、冷蔵保存した。

海水を利用して、廃糖蜜の濃度（1–50%）が異なる培養液を調製し、オートクレーブ後の培地をエタノール生産試験に用いた。なお、培養液のpHは、エタノール生産に利用した耐熱耐酸性酵母 *Pichia kudriavzevii* (NBRC1279およびNBRC1664) の至適pH 5.8に調製した。

エタノール生産試験は、攪拌子を含むバイアル瓶（容量：50 mL）を用いて実施した。培養液20 mLに対して、*P. kudriavzevii* をOD<sub>600</sub>値が0.1になるように加え、培養温度35℃で攪拌した。

### 2.2. エタノール濃度の測定

所定時間で培養液をサンプリングした。次に、遠心分離後の上清をフィルター滅菌し、滅菌後に得られたサンプルを用いてエタノール濃度を測定した。

サンプルのエタノール濃度は、アミネックス HPX-87Hカラム（Bio-Rad製）を用いたHPLCにより測定した。

Development of a method for producing biofuel using seawater

Tenshin KAWAGUCHI, Tomoe KOMORIYA and Hironaga AKITA

### 3. 実験結果および考察

#### 3.1. 廃糖蜜濃度の決定

廃糖蜜濃度がエタノール生産に与える影響を明らかにするため、各種培養液を用いてエタノール生産試験を24時間実施した(図2)。

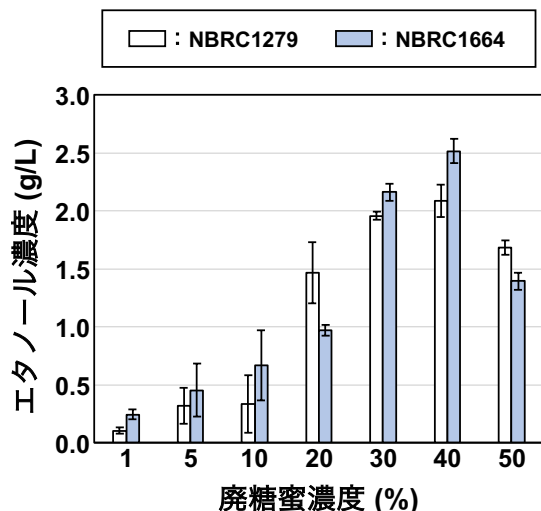


図2 各種培養液を用いたエタノール生産

生産試験より、エタノール濃度は40%廃糖蜜を含む培養液を用いた場合で最大となった。また、*P. kudriavzevii* NBRC1664 (2.5 g/L)の方がNBRC1279 (2.1 g/L)よりも高い生産濃度を示した。一方、両株を50%廃糖蜜を含む培養液で培養した場合、エタノール濃度が低下した。これは、糖濃度の増大により浸透圧が変化し、細胞内の水分が細胞外に排出されたことで生育阻害を受けたと考えられる。

#### 3.2. エタノール生産

両株を40%廃糖蜜を含む培養液で培養した場合、培養72時間後からエタノール濃度に違いが見られ、*P. kudriavzevii* NBRC1279 (14.5 g/L)に比べて、NBRC1664 (22.6 g/L)の方がより高いエタノール濃度を示した(図3)。この理由は解明できていないが、遺伝子発現量の違いに起因する可能性がある。

NBRC1279とNBRC1664では多少の違いが見られるものの、共通の代謝経路が保存されている<sup>2)</sup>。一方、生育阻害が生じるストレスを受けた場合、NBRC1664の方が高い遺伝子発現量を示し、NBRC1279と比較してより優れたストレス耐性を示す<sup>3)</sup>。上述のように、

高濃度廃糖蜜の利用により生育阻害を受ける場合、NBRC1664は遺伝子発現量の増大により生育阻害を抑制できると示唆された。

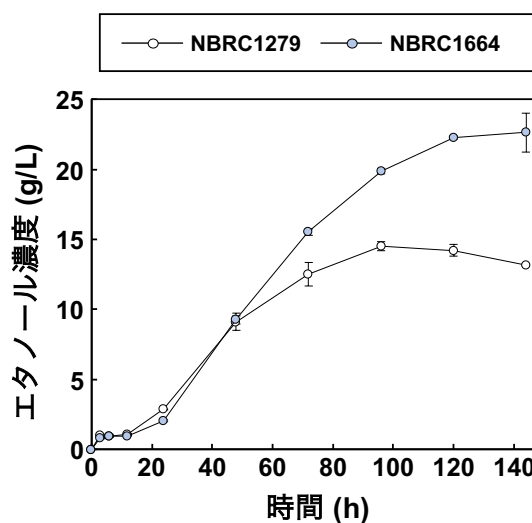


図3 エタノール生産の経時変化

### 4. 結言

本研究では、第二世代バイオエタノール生産法の基盤技術の確立を目的とし、再生可能資源である廃糖蜜と海水を利用してエタノールを生産した。この結果は、有効利用されていない廃糖蜜と海水が、バイオエタノール生産に有効であることを実証するものである。また本研究の成果は、再生可能資源のみを原料に利用していることから、バイオ燃料の国内生産のための基盤技術として、利用が期待される。

#### 参考文献

- 1) H. Akita, A. Matsushika, “A short review of second-generation isobutanol production by SHF and SSF”, *Appl. Biosci.* (2024) 3:296–309.
- 2) H. Akita, T. Goshima, T. Suzuki, Y. Itoiri, Z. Kimura, A. Matsushika, “Application of *Pichia kudriavzevii* NBRC1279 and NBRC1664 to simultaneous saccharification and fermentation for bioethanol production”, *Fermentation* (2021) 7:83.
- 3) H. Akita, A. Matsushika, “Transcription analysis of the acid tolerance mechanism of *Pichia kudriavzevii* NBRC1279 and NBRC1664”, *Fermentation* (2023) 9:559.