

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2012

課題番号：21612004

研究課題名（和文） デンプン高生産性のウキクサ類を用いた食料非競合型のバイオエタノール生産

研究課題名（英文） Bioethanol production using duckweeds accumulating starch which is non-competitive with food production

研究代表者

森 一博（MORI KAZUHIRO）

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授

研究者番号：90294040

研究成果の概要（和文）：本研究は、ウキクサ類を用いてデンプンを多く含むバイオマスを生産し、これをバイオエタノール生産の原料に用いようとするものである。そこで、有用ウキクサ植物株の探索、バイオマス生産条件、デンプン誘導条件、ウキクサ類バイオマス由来デンプン糖化条件を明らかにした上で、供試植物のエタノール生産への適用性と実用性評価を検討し結果、ウキクサ類から効率的にバイオエタノールを生産できることが示された。

研究成果の概要（英文）：Bioethanol production using duckweeds plants as raw material accumulating high amount of starch was investigated. Collection of useful duckweed plants, cultivation condition for growth and starch production, saccharification from duckweed biomass were elucidated. After these basic studies, evaluation of duckweed biomass usability as raw material for ethanol production was performed indicating high potential of these plants.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：バイオマスエネルギー

キーワード：ウキクサ、デンプン、バイオエタノール

## 1. 研究開始当初の背景

石油資源の枯渇と地球温暖化への対策は、我が国が直面する喫緊の課題である。バイオエタノールの生産と利用の促進は、いわゆるカーボンニュートラルなエネルギーとしても、二酸化炭素の排出抑制に向けての重要な取り組みの1つといえる。しかし、デンプン含有量の高い穀物類を中心とした食糧向けの農業作物との競合が大きな課題となっている。特に、耕地面積が限られ、かつ、食糧

の海外依存度の高い我が国では、バイオエタノール向けの植物バイオマスを生産する際に耕地を利用するのは困難である。現在、生ゴミや木質系バイオマスからのエタノール生産技術が開発されつつあるが、水系の物質集約システムである下水処理系を始め環境水中の栄養塩は、植物栽培の高い潜在性を有しながらバイオエタノール生産には未だ十分に利用が検討されてはいない。BOD除去後の窒素やリン等の栄養塩が残存する二次

処理水は水生植物の生育に適用できることから、本研究では高い増殖能とデンプン生産能をもつウキクサ類を用いた、富栄養化対策と地球温暖化対策の両者に寄与する技術開発の着想に至った。ウキクサ類は種子植物ではあるが、通常は水面で分裂し、好適な条件では瞬く間に水面を覆うほどの高い増殖能力を有している。そのような高い増殖を示すバイオマスにはタンパク質が多く含まれるが、環境条件が生育に適さなくなると休眠芽や休眠体 (turion) を形成しこれらにはデンプンが含まれることが報告されている。そこで、このようなデンプンを蓄積したバイオマスを生産し、エタノール生産に利用することができれば、本研究で提案する高栄養塩含有環境水からの食料非競合型でバイオエタノール生産が可能のとなる。

## 2. 研究の目的

本研究では、下水二次処理水を用いてウキクサ類の中でも特にミジンコウキクサを中心に効率的にデンプン含有バイオマスを生産させ、得られたバイオマスから効率的にバイオエタノール生産を行う手法を研究開発する。そのために、(1)有用植物株の探索、(2)バイオマス生産条件の解明、(3)デンプン高蓄積バイオマス誘導条件の解明、(4)糖化条件の検討、(5)エタノール生産への適用性の検討、(6)実用性評価を研究目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1)有用植物株の探索

ウキクサ類は我が国をはじめ世界各地の池沼に広く分布している。本研究では、典型株に加えて、野外に生育するものを広く国内から収集し、栄養塩含有水を用いたバイオマス生産 (生育) とデンプン含有量に優れた株を探索した。

### (2)バイオマス生産条件の解明

上記(1)で調査した株の中から優れた生育並びにデンプン生産能をもつ株について、環境要因 (温度、栄養塩濃度、光、生育密度、水中溶解・懸濁成分) への生育応答を各種栽培試験により詳細に検討し、栄養塩含有環境水での最適な栽培条件を明らかにした。

### (3)デンプン高蓄積バイオマス誘導条件の解明

ウキクサ類は、栄養塩濃度などの環境条件によりデンプン生産が誘導され、蓄積後、植物体または休眠芽等が水底に沈降する。そこで、上記(1)で得られた有用株について、生育体からのデンプン生産誘導に及ぼす温度や栄養塩濃度等の環境要因の影響を詳細な栽培試験により検討し、デンプン誘導条件を明らかにした。

### (4)糖化条件の検討

ウキクサ類のバイオマス中に蓄積された

デンプンをエタノール生産に供するにあたり、糖化によるグルコース化が必要と考えられる。デンプンやセルロースの利用を念頭に回収バイオマスの酸加水分解によるグルコース生産を検討した。

### (5)ウキクサ類バイオマスのエタノール生産への適用性の検討

ウキクサ類バイオマス糖化物からのアルコール生産性酵母等を用いたエタノール生産を検討した。これにより下水二次処理水等の栄養塩含有環境水を用いて得られるウキクサ類バイオマスのバイオエタノール生産への適用性を評価した。

### (6)実用性評価

以上(1)~(5)の検討の基に、ウキクサ類バイオマスの栽培とデンプン誘導を温室サイズの水耕栽培槽で行い、バイオエタノール生産のためのウキクサ類によるデンプン資源生産の実用性評価を行った。

## 4. 研究成果

### (1)有用株の探索

日本各地の水環境より、ウキクサ、コウキクサ、ミジンコウキクサを採取した。これらについてデンプン含有量を予備的に検討した結果、特にミジンコウキクサにおいて特に高いデンプン含有量が確認された。そこで、以降の検討には、得られた6株のミジンコウキクサ (*Wolffia arrhiza* (A株) および *Wolffia globosa* (B~F株)) を用いた。各種基礎培地で栽培した供試6株のデンプン含有率を図1に示した。

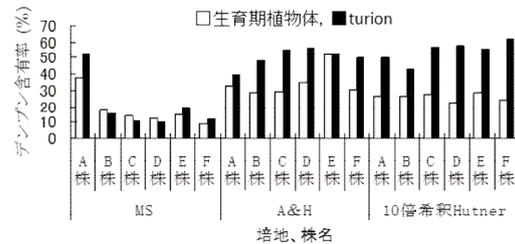


図1 供試植物のデンプン含有量

### (2)デンプン含有バイオマス並びにグルコース生産条件の検討

最初に、各供試植物の光と温度条件に対する生育応答を人工気象器を用いた栽培試験により検討した結果、株により至適条件が異なり、15000 または 20000 lux 以上、25 または 30~35°C、pH 7 または 8~10 である一方、10°C以上、pH4~11 でも生育が見られるなど比較的広い環境条件に適応できることが示された。一方、これらの栽培条件が turion の形成に及ぼす影響は限定的であり、一部の株で温度の低下が turion 形成を促進したものの、条件制御にともなう負荷やコストを考慮すると実用化に向けた操作因子としては

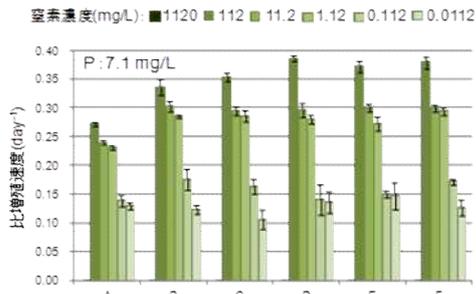


図2 窒素濃度が生育に与える影響

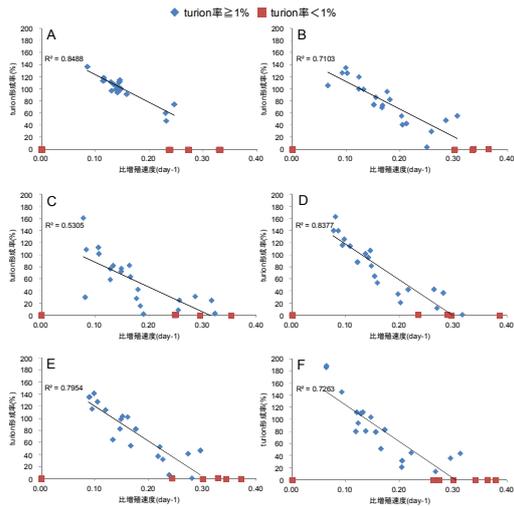


図3 比増殖速度と turion 形成の関係

適当でない判断された。

次に、栄養塩濃度が増殖特性に与える影響を同じく人工気象器を用いた各種栄養塩濃度条件下での栽培試験にて検討した。供試植物株は何れも幅広い窒素濃度およびリン濃度条件下 (N : 0.0112~112 mg/L、P : 0.0071~71 mg/L) で生育可能であることがわかった。図2にリン濃度 7.1mg/Lにおける窒素濃度が比増殖速度に与える影響を例示する。栄養塩濃度が低下すると生育が低下する一方 turion の増加が観察された。図3に比増殖速度と turion 形成率 (得られたバイオマスに占める turion の割合) の関係を示した。

続いて、供試植物バイオマスからの糖化処理によるグルコース生産をここでは酸加水分解を適用して検討した。2%~4%のHClあるいはH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>による turion バイオマスの加水分解試験を行った結果、いずれの株も15分程度の処理で含有デンプンからの理論的グルコース転換率に対して100%を越えるグルコースを回収することができた。

以上の結果より、供試植物では栄養濃度を制御することでデンプン含有バイオマスである turion を誘導できることから栄養塩除去を兼ねたデンプン生産が可能であり、回収されるバイオマスから効率的に糖化を行いグルコースが得られることが示された。

### (3) 供試植物からのエタノール生産とその実用性の検討

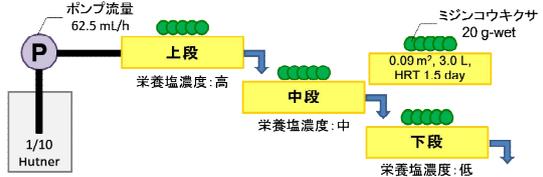


図4 三槽式連続培養槽

供試植物を用いたエタノール生産の実用性を評価するために、温室内に設置した三槽式連続栽培槽 (図4) におけるデンプン生産試験を行った。その結果、上段から下段に至るに従い栄養塩濃度が低下し、各段で得られるバイオマスに占める増殖形態と休眠体の比率が異なり、株により栄養塩に対する特性が異なるため適用する環境水と処理濃度等に合わせた適切な株を用いることの重要性が示唆された。図5に連続培養試験における回収バイオマスの結果を示した。これらから得られたバイオマス生産量とデンプン含有量の結果から、温暖条件で年間通して栽培した場合のデンプン生産量を求めると 2.2~5.1 t/ha/y の生産性が得られた。続いて、回収したバイオマスを糖化後、酵母を用いたエタノール発酵に供した結果、供試植物バイオマスからのバイオエタノールの生産に成功した。上述のデンプン生産速度と本試験でのエタノール変換率からエタノール生産速度を求めた結果、7~15 t/ha/y の値が得られた。本検討では、理論収率に対するエタノール収率が 74~80%に留まったが、発酵条件の最適化を行えばより高いエタノール生産率も期待できる。

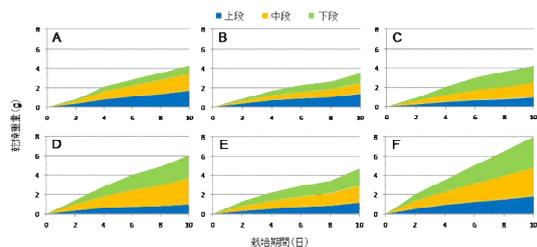


図5 連続栽培におけるバイオマス生産

### (4) 結論及び今後の展望

本研究では多数のウキクサ類を採取し比較検討し、特に高いバイオマス並びにデンプン生産能力を有する6株を得ることができた。これらの株は幅広い環境条件下での生育が可能であり、栄養塩条件を制御することで容易にデンプン高蓄積性のバイオマスを誘導できることが示された。供試株のバイオマス中に蓄積されるデンプンは容易に糖化することができ、バイオエタノール生産の原料と

して高い価値を有していることが示された。得られたバイオマスによるデンプン生産速度並びにこれを利用したエタノール生産速度は、主要穀物の生産力（2～8 t-デンプン/ha/年）やトウモロコシからのエタノール生産力（3 t-エタノール/ha/年程度）に潜在力として匹敵するものである。また、栄養塩を含む環境水を栽培水に用いることで、栄養塩除去を兼ねた資源生産が可能であり、既存のエネルギー消費型の高度処理を含めた水質浄化法の一部を代替することで、環境浄化におけるエネルギー消費とそれによる温室効果ガス排出の抑制にも寄与できる。以上の成果は、食料とは競合せず、環境浄化とのコベネフィットも期待できる新たな有用資源としてのウキクサ類の高い価値を示すものであり、今後の実用化が期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕（計 4 件）

- ① 齊藤博之, 水生植物 *Wolffia* の生育特性, 第 64 回日本生物工学会大会, 2012 年 10 月 24 日, 神戸国際会議場 (兵庫県)
- ② Y. Takai, Environmental Effects on Growth and Turion Formation of Duckweed *Wolffia arrhiza*, The 4th IWA-ASPIRE conference and exhibition, 2011 年 10 月 4 日, 東京国際フォーラム (東京都)
- ③ 森一博, 環境水からのデンプン生産に向けたミジンコウキクサ生育条件の比較, 日本水処理生物学会第 47 回大会, 2010 年 11 月 19 日, 筑波大学 (茨城県)
- ④ 瀬山佳隆, 環境条件がミジンコウキクサの生育に与える影響, 第 44 回日本水環境学会年会, 2010 年 3 月 15 日, 福岡大学 (福岡県)

〔図書〕（計 1 件）

森一博, 惣田訓, シーエムシー出版, 植物機能のポテンシャルを活かした環境保全・浄化技術—地球を救う超環境適合・自然調和型システム—, 第 5 章 3 ミジンコウキクサによる水質浄化とデンプン生産, 2011, 231-238

〔その他〕

ホームページ等

<http://shingen.ccn.yamanashi.ac.jp/~mori/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森 一博 (MORI KAZUHIRO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・准教授

研究者番号：90294040

### (2) 研究分担者

田中 靖浩 (TANAKA YASUHIRO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・助教

研究者番号：50377587

### (3) 連携研究者

なし