

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2014年12月31日(31.12.2014)



(10) 国際公開番号  
WO 2014/208621 A1

- (51) 国際特許分類:  
C12N 1/12 (2006.01) C12P 7/06 (2006.01)  
C02F 3/32 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/066890
- (22) 国際出願日: 2014年6月25日(25.06.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2013-136559 2013年6月28日(28.06.2013) JP
- (71) 出願人: 株式会社神鋼環境ソリューション(KO-BELCO ECO-SOLUTIONS CO., LTD.) [JP/JP]; 〒6510072 兵庫県神戸市中央区脇浜町1丁目4番78号 Hyogo (JP). 国立大学法人筑波大学(UNIVERSITY OF TSUKUBA) [JP/JP]; 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番地1 Ibaraki (JP).
- (72) 発明者: 赤司 昭(AKASHI, Akira); 〒6512241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目1番4号 株式会社神鋼環境ソリューション 技術研究所内 Hyogo (JP). 竹▲崎▼ 潤(TAKEZAKI, Jun); 〒6512241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目1番4号 株式会社神鋼環境ソリューション 技術研究所内 Hyogo (JP). ▲高▼橋 円(TAKAHASHI, Madoka); 〒

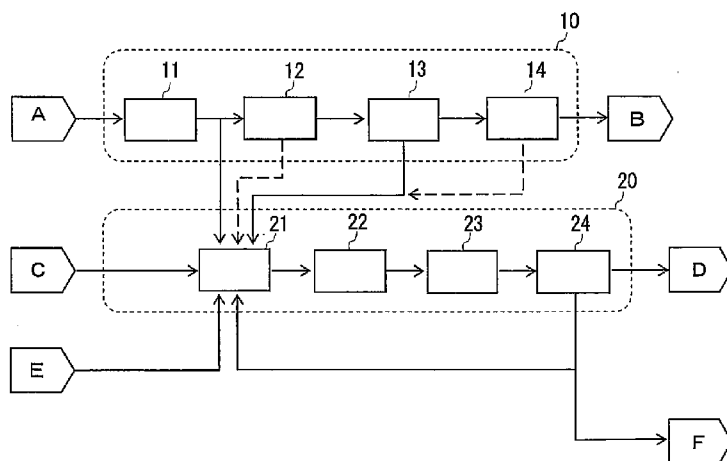
6512241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目1番4号 株式会社神鋼環境ソリューション 技術研究所内 Hyogo (JP). 寺澤 圭(TERASAWA, Kiyoshi); 〒6512241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目1番4号 株式会社神鋼環境ソリューション 技術研究所内 Hyogo (JP). 渡邊 信(WATANABE, Makoto); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番地1 国立大学法人筑波大学内 Ibaraki (JP). 出村 幹英(DEMURA, Mikihide); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番地1 国立大学法人筑波大学内 Ibaraki (JP). 河地 正伸(KAWACHI, Masanobu); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番地1 国立大学法人筑波大学内 Ibaraki (JP). 米澤 夏岐(YONEZAWA, Natsuki); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目1番地1 国立大学法人筑波大学内 Ibaraki (JP).

- (74) 代理人: 藤本 昇(FUJIMOTO, Noboru); 〒5420081 大阪府大阪市中央区南船場1丁目15番14号 堺筋稲畑ビル2階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,

[続葉有]

(54) Title: MICROALGA CULTURE METHOD AND DRAINAGE WATER TREATMENT METHOD

(54) 発明の名称: 微細藻類の培養方法及び排水処理方法



(57) Abstract: Provided is a microalga culture method which comprises carrying out heterotrophic culturing or photoheterotrophic culturing of a microalga under dark conditions for the microalga in the presence of an organic carbon source in a liquid that contains at least a residual liquid obtained after the collection of ethanol from a fermentation liquor produced by the alcoholic fermentation of a biomass in the process of producing bioethanol. Also provided is a drainage water treatment method for removing an organic substance contained in drainage water, which comprises carrying out heterotrophic culturing or photoheterotrophic culturing of a microalga under dark conditions for the microalga in the presence of an organic carbon source in a liquid that contains a distillation residual liquid produced in the process of producing bioethanol, thereby allowing an organic substance contained in the distillation residual liquid to be consumed by the microalga.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2014/208621 A1



LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 規則 13 の 2 に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示 (規則 13 の 2.4(d)(i) 及び 48.2(a)(viii))

バイオエタノール製造過程でバイオマスをアルコール発酵させて得られる発酵液からエタノールを回収した後の残液を少なくとも含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類の暗条件下での従属栄養培養又は光従属栄養培養を実施する微細藻類の培養方法を提供する。また、排水に含まれている有機物を除去する排水処理方法であって、バイオエタノール製造過程で生じる蒸留残液含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類を暗条件下で従属栄養培養又は光従属栄養培養することにより、蒸留残液に含有されている有機物を微細藻類に消費させる排水処理方法を提供する。

## 明 細 書

**発明の名称：微細藻類の培養方法及び排水処理方法**

### 関連出願の相互参照

[0001] 本願は、2013年6月28日出願の日本国特願2013-136559号の優先権を主張し、該出願が引用によって本願明細書の記載に組み込まれる。

### 技術分野

[0002] 本発明は、微細藻類の培養方法及び排水処理方法に関する。

### 背景技術

[0003] 従来、微細藻類を増殖させ、微細藻類の細胞内に燃料、飼料、健康食品などの原料となる脂質、又は、タンパク質やビタミン等の有価物を貯蔵させることが行われている。また、貯蔵した有価物を利用して燃料や食品等に利用することが行われている。

この微細藻類の増殖は、下水処理水の浄化といった排水処理（特許文献1参照）や二酸化炭素の回生を目的とした排ガス処理（特許文献2参照）などにも利用されている。

[0004] この微細藻類を増殖させるための培養方法としては、独立栄養培養、暗条件下での従属栄養培養、及び、光従属栄養培養などが知られている。しかしながら、従来、暗条件下での従属栄養培養や光従属栄養培養などを効率的に実施する方法については、十分に確立されてはいない。

微細藻類が効率的に増殖しないと、細胞内における有価物の貯蔵量が必ずしも十分なものとならないため、前記有価物の有効利用が困難になるおそれがある。

また、微細藻類が効率的に増殖しないと、微細藻類による処理対象物質の消費量も十分なものとならないおそれがあり、排水処理や排ガス処理が効率的に行われないおそれがある。

### 先行技術文献

## 特許文献

- [0005] 特許文献1：日本国特開平05-301097号公報  
特許文献2：日本国特開2010-022331号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、上記の点に鑑み、微細藻類を効率的に増殖させることができる微細藻類の培養方法を提供することを一の課題とする。

また、本発明は、上記の点に鑑み、微細藻類を利用した効率的な排水処理を提供することを他の課題とする。

### 課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者は、上記課題を解決すべく鋭意検討を行ったところ、バイオエタノール製造工程から得られる発酵液の成分とともに有機炭素源を微細藻類に与え、微細藻類の暗条件下での従属栄養培養又は光従属栄養培養を実施することで微細藻類が効率良く増殖されること、また、前記発酵液の蒸留残液を排水処理するのに際して該蒸留残液に含まれている成分が効率良く微細藻類に消費されて排水処理が効率良く行われ得ることを見出して本発明を完成させるにいたった。

- [0008] 即ち、本発明に係る微細藻類の培養方法は、バイオエタノール製造過程でバイオマスアルコール発酵させて得られる発酵液からエタノールを回収した後の残液を少なくとも含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類の暗条件下での従属栄養培養又は光従属栄養培養を実施するものである。

- [0009] 本発明に係る微細藻類の培養方法の一態様としては、発酵液を固液分離することにより発生する固形分をさらに含有する液体中で、暗条件下での従属栄養培養又は光従属栄養培養を実施する態様が採用される。

- [0010] 本発明に係る微細藻類の培養方法の他の態様としては、前記残液が容量で1/40以上1/2以下含有されている前記液体中で前記培養を実施する態様が採用される。

[0011] 本発明に係る微細藻類の培養方法の他の態様としては、前記培養が、暗条件下での従属栄養培養である態様が採用される。

[0012] さらに、本発明に係る微細藻類の培養方法の他の態様としては、バイオマスから得られた糖を前記炭素源として使用する態様が採用される。

[0013] 本発明に係る排水処理方法は、排水に含まれている有機物を除去する排水処理方法であって、

前記排水は、

バイオマスから糖を含んだ原液を得る原液作製工程、

前記原液をアルコール発酵してエタノールを含有する発酵液を得る発酵工程、及び、

前記発酵液を蒸留し、該発酵液よりもエタノール濃度の高い凝縮液と前記発酵液よりもエタノール濃度の低い蒸留残液とを得る蒸留工程、を含むバイオエタノール製造過程における前記蒸留残液であり、

該蒸留残液を含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類を暗条件下で従属栄養培養又は光従属栄養培養することにより、前記蒸留残液に含有されている有機物を前記微細藻類に消費させる排水処理方法である。

[0014] 本発明に係る排水処理方法の一態様としては、前記発酵工程の後段であって前記蒸留工程の前段で、前記発酵液から固液分離して得られる固形分を前記液体中に供給する態様が採用される。

### 図面の簡単な説明

[0015] [図1]微細藻類の培養方法において用いる装置類の概要、及び、他の装置類の概要を表した概略図。

[図2A]実験例1における微細藻類の培養実験の一結果（微細藻類含有率変化）を示すグラフ。

[図2B]実験例1における微細藻類の培養実験の一結果（培養液のTOC濃度変化）を示すグラフ。

[図3A]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（微細藻類含有率変化）を示すグラフ。

[図3B]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（培養液のTOC濃度変化）を示すグラフ。

[図4A]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（微細藻類含有率変化）を示すグラフ。

[図4B]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（培養液のTOC濃度変化）を示すグラフ。

[図5A]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（微細藻類含有率変化）を示すグラフ。

[図5B]実験例1における微細藻類の他の培養実験結果（培養液のTOC濃度変化）を示すグラフ。

[図6]実験例2における微細藻類の培養実験結果（微細藻類含有率変化）を示すグラフ。

### 発明を実施するための形態

[0016] 以下、本発明に係る微細藻類の培養方法の一実施形態について説明する。

[0017] 本実施形態の微細藻類の培養方法は、バイオエタノール製造過程でバイオマスアルコール発酵させて得られる発酵液からエタノールを回収した後の残液を少なくとも含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類を暗条件下で従属栄養培養又は光従属栄養培養するものである。

より具体的には、本実施形態の微細藻類の培養方法は、バイオエタノール製造設備においてバイオマスがアルコール発酵されてなる発酵液を蒸留した後の蒸留残液を含む液を培養液として用いるもので、該培養液に含有させる有機炭素源としてバイオマスから得られた糖を使用するものである。

[0018] 本実施形態の微細藻類の培養方法においては、前記発酵液の成分を含む液体中で微細藻類を培養するため、微細藻類を効率的に増殖させることができる。

即ち、本実施形態の微細藻類の培養方法は、微細藻類を効率的に増殖させることができるという効果を奏する。

[0019] 前記微細藻類は、水中を浮遊しつつ生息する生物である。また、前記微細

藻類は、昆布やワカメと異なり、通常、単細胞性であり、大きさが概ね数マイクロメートルから数十マイクロメートルの微小な藻類である。

[0020] 前記微細藻類としては、ユーグレナ (Euglena) 属に属する生物、クロレラ (Chlorella) 属に属する生物、オーランチオキトリウム (Aurantiochytrium) 属に属する生物、オーキセノクロレラ (Auxenochlorella) 属に属する生物、ボツリオコッカス (Botryococcus) 属に属する生物、ナンノクロリス (Nannochloris) 属に属する生物、ナンノクロロプシス (Nannochloropsis) 属に属する生物、ネオクロリス (Neochloris) 属に属する生物、シュードコリスチス (Pseudochoricystis) 属に属する生物、セネデスムス (Scenedesmus) 属に属する生物、シゾキトリウム (Schizochytrium) 属に属する生物からなる群より選択された少なくとも1種が好ましい。

[0021] 前記ユーグレナ (Euglena) 属に属する生物としては、例えば、Euglena gracilis、Euglena longa、Euglena caudata、Euglena oxyuris、Euglena tripteris、Euglena proxima、Euglena viridis、Euglena sociabilis、Euglena ehrenbergii、Euglena deses、Euglena pisciformis、Euglena spirogyra、Euglena acus、Euglena geniculata、Euglena intermedia、Euglena mutabilis、Euglena sanguinea、Euglena stellata、Euglena terricola、Euglena klebsii、Euglena rubra、又は、Euglena cyclopicolaなどが挙げられる。

前記Euglena gracilisとしては、例えば、Euglena gracilis NIES-48、Euglena gracilis EOD-1、(原寄託日2013年3月25日付で独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター (NITE-IPOD (郵便番号292-0818 日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室)) にブダペスト条約の規定下で、受託番号FERM BP-11530として国際寄託済み) などが挙げられる。

[0022] 前記クロレラ (Chlorella) 属に属する生物としては、例えば、Chlorella vulgaris、Chlorella pyrenoidosa、又は、Chlorella sorocinianaなどが挙げられる。

前記Chlorella sorocinianaとしては、例えば、Chlorella sorociniana NI

ES-2169（後述する独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設における保管株）などが挙げられる。

- [0023] 前記オーキセノクロレラ (Auxenochlorella) 属に属する生物としては、例えば、Auxenochlorella protothecoidesなどが挙げられる。
- [0024] 前記ボツリオコッカス (Botryococcus) 属に属する生物としては、例えば、Botryococcus brauniiなどが挙げられる。
- [0025] 前記ナンノクロリス (Nannochloris) 属に属する生物としては、例えば、Nannochloris bacillaris、Nannochloris normandinaeなどが挙げられる。
- [0026] 前記ナンノクロロプシス (Nannochloropsis) 属に属する生物としては、例えば、Nannochloropsis oculataなどが挙げられる。
- [0027] 前記ネオクロリス (Neochloris) 属に属する生物としては、例えば、Neochloris aquatica、Neochloris cohaerens、Neochloris conjuncta、Neochloris gelatinosa、Neochloris pseudostigmata、Neochloris pseudostigmatica、Neochloris pyrenoidosa、Neochloris terrestris、Neochloris texensis、Neochloris vigensis、Neochloris wimmeri、Neochloris oleoabundansなどが挙げられる。
- [0028] 前記シュードコリスチス (Pseudochoricystis) 属に属する生物としては、例えば、Pseudochoricystis ellipsoideaなどが挙げられる。
- [0029] 前記セネデスムス (Scenedesmus) 属に属する生物としては、例えば、Scenedesmus ovaltermus、Scenedesmus disciformis、Scenedesmus acumunatus、Scenedesmus dimorphusなどが挙げられる。
- [0030] 前記オーランチオキトリウム (Aurantiochytrium) 属に属する生物としては、例えば、Aurantiochytrium limacinum、又は、Aurantiochytrium mangroveiなどが挙げられる。
- [0031] 前記シゾキトリウム (Schizochytrium) 属に属する生物としては、例えば、Schizochytrium aggregatumなどが挙げられる。
- [0032] 上記の微細藻類は、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター（郵便番号292-0818 日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8）

、独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設（郵便番号305-8506 日本国茨城県つくば市小野川16-2）、又は、The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin, USA (<http://web.biosci.utexas.edu/utex/default.aspx>) などから容易に入手される。

[0033] 前記微細藻類としては、バイオディーゼルの原料となるワックスエステルを大量に産生できるという点、ビタミン、カロテノイド、栄養価の高いタンパク質、パラミロンなどの有価物を多く含んでいるという点、大量に培養しやすいという点で、前記ユーグレナ (*Euglena*) 属に属する生物が好ましい。

また、前記微細藻類としては、バイオディーゼルの原料となるトリグリセリドを大量に産生できるという点、食物繊維、ビタミン、カロテノイド、タンパク質、リノール酸、リノレン酸などの有価物を多く含んでいるという点、大量に培養しやすいという点で、前記クロレラ (*Chlorella*) 属に属する生物が好ましい。

[0034] 前記蒸留残液や前記糖の出発物質となるバイオマスとしては、例えば、植物やその加工品、および、植物に由来する物質を挙げることができる。前記植物としては、陸上植物や水中植物が挙げられる。

なお、前記バイオマスとしては、その成分によって糖質系バイオマス、でんぷん系バイオマス、及び、セルロース系バイオマスに分けられるが、本実施形態においては用いるバイオマスを特に限定するものではない。

なお、本実施形態におけるバイオマスは、微細藻類及び微細藻類由来のものを実質的に含有していない。

[0035] なお、前記糖質系バイオマスとしては、例えば、さとうきび、甜菜、糖蜜、廃糖蜜などが挙げられる。

[0036] 前記でんぷん系バイオマスとしては、例えば、トウモロコシ、こうりゃん、ジャガイモ、サツマイモ、米、麦、キャッサバなどが挙げられる。

[0037] 前記セルロース系バイオマスとしては、例えば、間伐材や幹の生育のために切断された枝などの樹木の全部又は一部からなるチップ、おが屑などが挙げられる。

また、前記セルロース系バイオマスとしては、麦わら、稲わら、バガス、ケナフ、麻、綿、雑草などが挙げられる。

また、前記セルロース系バイオマスには、エリアンサスやネピアグラスといったいわゆるエネルギー植物なども含まれる。

また、古紙などのパルプ製品についても前記セルロース系バイオマスとして採用可能である。

[0038] 上記のようなバイオマスを使用した前記微細藻類の培養方法について図を参照しつつより詳しく説明する。

なお、以下においては、微細藻類の培養設備をバイオエタノールの製造設備から排出される排水の処理設備として使用する態様を例示しつつ説明する。

[0039] まず、本実施形態の藻類の培養方法に使用する装置類について説明する。

図1は、微細藻類の培養方法において用いる装置類の概要、及び、他の装置類の概要を表した概略図である。図1は、前記バイオエタノール製造設備、及び、前記微細藻類培養設備の主たる構成を表す。

本実施形態においては、図に示されているようにバイオエタノール製造設備10が微細藻類培養設備20に併設されている。本実施形態の培養方法が実施される前記微細藻類培養設備20は、前記バイオエタノール製造設備10の排水処理に利用されている。

なお、図1の符号Aは、バイオエタノール製造設備10に供給されるバイオマスを表す。符号Bは、バイオエタノール製造設備10で得られるバイオエタノールを表す。

また、図1の符号Cは、前記微細藻類培養設備20に供給される水を表す。符号Dは、微細藻類を培養することによって得られる有価物を表す。

以下においては、当該有価物が藻バイオマスである場合を例に説明する。

なお、図1の符号Eは、必要に応じて微細藻類培養設備20に供給される各種成分を表す。符号Fは微細藻類培養設備20から排出される処理水を表す。

[0040] 前記バイオエタノール製造設備10は、主要構成として以下の(11)～(14)を有している。

(11) 前記バイオマスAが供給され、該バイオマスから糖を含む原液が作製される原液作製装置。

(12) 前記原液が原液作製装置11から供給され、該原液に含まれている糖がアルコール発酵されてエタノールを含有する発酵液が作製される発酵装置。

(13) 前記発酵液が発酵装置12から供給され、該発酵液が蒸留されてエタノールが回収され、発酵液よりもエタノール濃度の高い凝縮液と発酵液よりもエタノール濃度の低い蒸留残液とに分離される蒸留装置。

(14) 前記凝縮液が蒸留装置13から供給され、該凝縮液に含有されている水分などの不純物が除去されて前記不純物を含む分離液と高純度のエタノールとに前記凝縮液が分離される精製装置。

前記バイオエタノール製造設備10は、発酵装置12の後段であって蒸留装置13の前段に、前記発酵液を固液分離する固液分離装置をさらに有しているもよい。

[0041] 一方で、前記微細藻類培養設備20は、主要構成として以下の(21)～(25)を有している。

(21) 前記蒸留装置13から前記蒸留残液が供給されるとともに前記原液作製装置11から糖を含む前記原液が供給され、これらが系外から供給される水によって適度な濃度に希釈されて前記微細藻類の培養液が調製される調製タンク。

(22) 調製タンク21において調製後の培養液を除菌する除菌装置。

(23) 前記微細藻類が収容され、前記調製タンク21から除菌装置22を経て供給される培養液によって、有機炭素源の存在下、前記微細藻類が暗条件下で従属栄養培養又は光従属栄養培養される培養装置。

(24) 前記培養装置23から微細藻類を含む藻類含有液が供給され、該藻類含有液が固形分と液体分とに分離されて微細藻類が濃縮されるとともに前

記調製タンク 21 で作製される培養液よりも全有機炭素（TOC）濃度が低い前記処理水 F が排出される濃縮装置。

（25）前記濃縮装置 24 で濃縮された濃縮物に含まれる微細藻類から有価物たる脂質が抽出されて該脂質を主成分とした有価物（液体燃料）が排出される抽出装置。

なお、前記微細藻類培養設備 20 は、固液分離装置にて固液分離された固形分を培養装置 23 に供給するように構成され得る。

[0042] 前記のように本実施形態における微細藻類培養設備 20 は、前記バイオエタノール製造設備 10 の排水処理に利用されている。

そして、バイオエタノール製造設備 10 では、バイオエタノールが製造される過程において以下のような工程が実施される。

（1a）バイオマスから糖を含む原液を得る原液作製工程。

（1b）前記原液に含まれている糖をアルコール発酵してエタノールを含有する発酵液を得る発酵工程。

（1c）前記発酵液を蒸留することによりエタノールを回収し、該発酵液よりもエタノール濃度の高い凝縮液と前記発酵液よりもエタノール濃度の低い蒸留残液とを得る蒸留工程。

（1d）水分などの不純物を前記凝縮液から除去し、前記凝縮液よりもエタノール濃度の高いバイオエタノール B を得る精製工程。

なお、バイオエタノールが製造される過程において、発酵工程の後で蒸留工程の前に、前記発酵液に固液分離処理を施す固液分離工程が実施されてもよい。

[0043] 前記原液作製装置 11 での原液作製工程では、前記バイオマス A が糖質系バイオマスである場合は、例えば、さとうきびや甜菜を圧搾するなどして糖蜜を得て、該糖蜜を水で適度に希釈して原液を作製することができる。該糖質系バイオマスが廃糖蜜である場合には、原液作製工程では、例えば、該廃糖蜜を水で希釈するなどして原液を作製することができる。

[0044] また、前記バイオマス A がセルロース系バイオマスである場合、原液作製

工程は、例えば、該バイオマスを適当な大きさに粉砕した後、酵素、酸又はアルカリを用いてバイオマスを加水分解し、ヘミセルロース、セルロース由来の糖を含んだ糖化液を得、該糖化液を必要に応じて中和処理して原液とする方法を採用して行うことができる。

[0045] 前記バイオマスAがでんぷん系バイオマスである場合には、原液作製工程は、例えば、バイオマスに含まれているでんぷんのグリコシド結合を酵素や酸により加水分解して糖化液を得、該糖化液を必要に応じて中和処理して原液とする方法を採用して行うことができる。

[0046] なお、原液は、繊維等の固形物を含有している場合、この固形物を除去した上で前記発酵装置12に供給されることが好ましい。

[0047] 前記発酵装置12における発酵工程は、例えば、前記原液に酵母を加えたものを嫌気環境下で所定時間保持するバッチ（回分）式の方法を採用して実施することができる。

[0048] 前記酵母としては、酵母菌を用いることができ、例えば、サッカロマイセス (Saccharomyces) 属に属するものを使用できる。

より具体的には、前記酵母菌としては、Saccharomyces cerevisiae等を使用することができる。

また、前記酵母としては、いわゆる清酒酵母、いわゆるワイン酵母、又は、いわゆるビール酵母などを用いても良い。

[0049] なお、当該発酵工程において作製された発酵液は、前記酵母をろ別等によって回収した後に前記蒸留装置13に供給されることが好ましい。

回収した酵母は、例えば、次バッチ以降の発酵工程に再利用することができる。

前記酵母には、タンパク質、アミノ酸、ビタミン、リン、カリウムなどの成分が含まれている。

従って、当該発酵工程において回収した酵母は、要すれば前記調製タンク21、又は、前記培養装置23に供給され、微細藻類の培養に活用されることも可能である。

なお、微細藻類の培養に活用する場合、酵母は、酵母エキスとして活用されることが好ましい。

前記酵母エキスとしては、例えば、熱水と接触させて酵母菌の細胞壁を破壊して抽出されたもの、又は、酵素処理によって酵母菌の細胞壁を破壊して抽出されたもの等を用いることができる。

また、前記酵母エキスとしては、前記酵母が自己消化することにより生じたものであってもよい。

即ち、前記発酵工程に用いる酵母エキスは、酵母が有する酵素を利用して、酵母を構成する成分を分解することにより生じたものであってもよい。

前記酵母の自己消化は、例えば、糖類などの有機栄養素がない条件下に酵母をおくことによって、起こすことができる。

このように酵母を酵母エキスにするための装置であって、前記調製タンク 21 や前記培養装置 23 に酵母エキスを供給する前に、酵母に熱水処理、酵素処理、自己消化させる処理を施すための装置を、別途設けても良い。後述する除菌装置などを用いるようにしても良い。

[0050] 前記蒸留装置 13 での蒸留工程は、例えば、蒸留釜と凝縮器とを用いた一般的な方法によって実施することができる。

そして、この蒸留工程で発酵液から凝縮液としてエタノールが回収された後の残液たる蒸留残液は、通常、有機物等を含んでいるためにそのままの状態では放流水としたり、何等かの工程水として再利用したりすることが難しい。

本実施形態においては、バイオエタノール製造設備 10 から排出される排水たる前記蒸留残液が、前記微細藻類培養設備 20 によって排水処理されている。

[0051] なお、前記精製装置 14 における精製工程は、例えば、モレキュラーシーブや膜分離によって前記凝縮液から水分などの不純物を除去することによって実施することができる。

この工程においては、前記モレキュラーシーブの再生や前記膜分離に際し

て前記凝縮液から分離された分離液が排水となって精製装置 14 から排出されることになる。要すれば、この排水も前記微細藻類培養設備 20 によって処理させることができる。

[0052] 次いで、藻バイオマス D の製造とともに微細藻類培養設備 20 の排水処理として実施される本実施形態の微細藻類培養方法について説明する。

本実施形態の微細藻類培養設備 20 では、藻バイオマス D が製造される過程において以下のような工程が実施される。

(2 a) 前記蒸留残液とともに前記原液作製装置 11 から糖を前記調製タンク 21 に導入し、当該調製タンク 21 に前記蒸留残液を適度に希釈するための水 C を導入し、該水 C で前記蒸留残液及び前記糖を適度な濃度に希釈して微細藻類を培養するための培養液を調製する培養液調製工程。

(2 b) 前記調製後の培養液から微細藻類の増殖を阻害するおそれのある菌を前記除菌装置 22 で取り除く除菌工程。

(2 c) 前記調製タンク 21 から培養液を除菌装置 22 を経由して培養装置 23 に導入し、該培養装置内にて微細藻類を増殖させる培養工程。

(2 d) 前記培養装置 23 から藻類含有液を濃縮装置 24 に導入し、該濃縮装置 24 で藻類含有液の固形分と液体分とを分離することにより、微細藻類を濃縮する濃縮工程。

(2 e) 前記濃縮工程で藻類含有液が濃縮された濃縮物から有価物（藻バイオマス）D を得る抽出工程。

なお、藻バイオマス D が製造される過程において、固液分離工程にて固液分離された固形分を、培養液（蒸留残液を含む液体）に供給することができる。

[0053] 前記調製タンク 21 において実施される培養液調製工程においては、例えば、前記蒸留残液の含有量が過度に少ない培養液を調製すると、当然ながら本発明の効果が十分に発揮されなくなるおそれがある。

その一方で、前記蒸留残液の含有量が過度に多い培養液も、微細藻類の効率的な培養には適さないおそれがある。

従って、本発明の効果をより顕著なものとし得る点において、当該工程において作製する前記培養液には、前記蒸発残液を容量で $1/40$ 以上 $1/2$ 以下含有させることが好ましく、前記蒸発残液を培養液に $1/20$ 以上 $1/5$ 以下となる割合で含有させることがさらに好ましい。

[0054] 該蒸留残液とともに培養液に含有させる前記糖は、微細藻類の炭素源となるもので、前記蒸留残液に微細藻類が利用可能な炭素源が十分に含有されているようであれば取えて培養液に含有させる必要はない。しかしながら、通常、微細藻類が利用可能な有機炭素源が、蒸留残液に十分に含有されていることはない。

従って、通常は、何等かの形で微細藻類が利用可能な有機炭素源となる物質を培養液に含有させることが必要となる。

前記培養液に有機炭素源を含有させる際には、バイオマスから得られた糖以外のものを有機炭素源として使用しても良い。一方、バイオエタノール製造過程においては、ブドウ糖や果糖などの糖が安価で大量に製造される。本実施形態の微細藻類培養方法を経済的観点からも多くの利点を有するものとする上において、前記培養液に含有させる有機炭素源は、バイオマスから得られた糖であることが好ましい。

また、糖の添加量が少ない場合、微細藻類の増殖に必要な炭素源を十分に得ることができずに微細藻類の培養の効率が低下するおそれがある。

一方で、糖の添加量が多い場合、微細藻類が糖を利用しきれずに糖が残存する可能性があり、添加した糖類が無駄になるおそれがある。

更に糖の添加量が多いと、本実施形態のごとく微細藻類を排水処理に利用する場合、残存した糖類が結果的に水質を悪化させてその目的が十分に果たせなくなるおそれがある。

なお、本発明の効果をより顕著なものとし得る点において、微細藻類としてユーグレナを利用する場合、当該工程において作製する前記培養液には、前記糖を $5\text{ g/L}$ 以上の割合で含有させることが好ましく、 $10\text{ g/L}$ 以上の割合で含有させることがより好ましい。

また、前記培養液には、前記糖を 25 g/L 以下の割合で含有させることが好ましく、20 g/L 以下の割合で含有させることがより好ましく、15 g/L 以下の割合で含有させることが特に好ましい。

[0055] また、培養液調製工程においては、培養液が微細藻類の増殖に適した pH 値を示すように調節することが好ましい。

増殖させる微細藻類が、例えば、ユーグレナ (*Euglena*) 属生物である場合には、前記培養液の pH は、特に限定されないが、3.0~5.5 とすることが好ましい。

なお、培養液の pH を調整するためには、前記各主成分 E として塩酸のような無機酸や酢酸のような有機酸を採用して、これらの酸を前記調製タンク 21 に導入させるようにすればよい。

なお、このとき調製タンク 21 に導入させる酸としては、微細藻類が栄養源として利用可能である点において、有機酸が好ましい。

[0056] 本実施形態においては、前記炭素源とは別に微細藻類の増殖に必要な無機栄養素やビタミンを含む物質を前記各種成分 E として前記調製タンク 21 に導入させるようにしても良い。

なお、該無機栄養素としては、例えば、カリウムイオン、鉄イオン、マンガニオン、コバルトイオン、亜鉛イオン、銅イオン、モリブデンイオン、ニッケルイオンなどが挙げられる。

[0057] このようにして調製された培養液を前記除菌装置 22 で除菌する前記除菌工程は、例えば、菌の増殖に悪影響を与えるおそれのある薬剤を用いることなく実施することが好ましい。前記除菌工程は、水蒸気などの熱を利用した加熱殺菌、濾過膜を利用した菌の除去などにより行うことが好ましい。

[0058] 本実施形態においては、前記培養液を利用することにより、前記培養装置 23 での微細藻類の培養をより効率的なものとすることができる。

[0059] 前記培養装置 23 での培養工程は、従属栄養培養がなされる条件下であれば、明条件下（光従属栄養培養）、暗条件下の何れで微細藻類を培養させても良い。本実施形態においては、実質的に微細藻類に光を照射しない暗条件

下で従属栄養培養することが好ましい。

特に、増殖させる微細藻類がユーグレナ (Euglena) 属生物である場合には、前記培養工程においては、微細藻類と前記培養液との混合液に対して曝気を実施し、微細藻類を暗条件下且つ好気条件下で培養することが好ましい。

[0060] なお、本明細書中における「暗条件」とは、培養期間を通じて光の照射強度を平均した場合にその値が数  $\mu\text{m}^2 \cdot \text{s}$  以下（多くとも  $10 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}$  を超えない）となることを意味する。

前記曝気としては、一般的な曝気方法を利用することができる。曝気は、単に液体中に気体を曝気する方法に限定されず、攪拌や振とうによって気体を取り込む方法も含むものである。

曝気する気体としては、空気や純酸素及びこれらの混合気体を利用することができる。

[0061] 該培養工程における培養液の温度は、微細藻類が増殖できる温度であれば、特に限定されない。該培養温度（培養液の温度）としては、具体的には例えば、 $20^\circ\text{C} \sim 35^\circ\text{C}$  が採用される。

[0062] なお、前記培養工程では、前記培養装置 23 から微細藻類の全てを取り出す回分式、培養した微細藻類の一部を培養装置 23 から定期的に取り出す半回分式培養方法、微細藻類の増殖速度に合わせて藻類含有液を調製タンク 21 から除菌装置 22 を経由して培養装置 23 に向けて連続的に流下させる連続式、のいずれを採用しても良い。

なお、培養工程を連続式培養方法や半回分式培養方法によって実施する場合、前記連続式培養方法であれば、前記調製タンク 21 における培養液を、蒸留残液濃度、糖濃度、pH などが前記の好ましい範囲となるように調製し、該調製された培養液を培養装置 23 に向けて連続的に供給させるようにすればよい。

一方で、半回分式培養方法によって培養工程を実施する場合、前記調製タンク 21 における培養液の蒸留残液濃度、糖濃度、pH などの調整は、培養装置 23 での培養液の濃度が前記の好ましい範囲となるように実施されるこ

とが好ましい。

即ち、半回分式培養方法による培養工程は、培養装置 23 から取り出されずに残った培養液と調製タンク 21 で調製された新たな培養液とを混合した結果、該混合後の培養液における糖濃度が  $5 \text{ g/L} \sim 25 \text{ g/L}$ （特には  $10 \text{ g/L} \sim 20 \text{ g/L}$ ）となり、前記混合後の培養液における pH が前記の好ましい範囲となるようにして実施することが好ましい。

また、蒸発残液についても同様である。例えば、半回分式培養方法における培養液の入れ替えが全体量の半分であるとした場合、調製タンク 21 で調製する培養液には、前記の好ましい範囲（容量で  $1/40$  以上  $1/2$  以下、より好ましくは、 $1/20$  以上  $1/5$  以下）の倍の濃度で蒸発残液を含有させることが好ましい。

[0063] この培養工程に次いで実施される前記濃縮工程においては、例えば、培養装置 23 から濃縮装置 24 に導入された藻類含有液に対し、浮上濃縮、重力濃縮、膜濃縮、ベルト濃縮等によって微細藻類を濃縮して濃縮された微細藻類を得る方法を採用することができる。また、前記濃縮した後、例えば、真空脱水機、加圧脱水機（フィルタープレス）、ベルトプレス、スクリュープレス、遠心濃縮脱水機（スクリュージェカンタ）、又は、多重円盤脱水機などによってさらなる濃縮を実施し、最終的に脱水ケーキのような状態で微細藻類を得る方法を採用することができる。

[0064] このようにして得られる微細藻類は有価物として有効利用することができる。

例えば、得られた微細藻類は、嫌気条件で培養、又は嫌気条件に伏すことで、ワックスエステルなどの脂質を個体内に蓄積する。

ワックスエステルを蓄積した微細藻類は、そのまま燃料として利用することができる。

また、蓄積された該脂質は、微細藻類から抽出することによって、該脂質を主成分とした燃料に利用することもできる。

前記抽出工程は、例えば、ヘキサンなどの溶媒を利用した溶媒抽出法によ

り実施することができる。なお、公知の方法によって抽出後の脂質を改質して更に利用しやすい燃料としても良い。

また、微細藻類がユーグレナ (Euglena) 属生物である場合は、通常、パラミロンなどの多糖類やビタミン類を有価物として個体内に含有している。

この多糖類やビタミン類についても、脂質とは別に抽出してその有効利用を図ることができる。

また、溶媒抽出などをせずにユーグレナを上記燃料や飼料等にそのまま有効利用しても良い。

[0065] なお、本実施形態においては、前記微細藻類が前記蒸留残液に含まれている各種成分を個体内に取り込むことにより効率的な増殖が行われる。

即ち、前記培養工程における微細藻類の単位時間当たりの増加量は、蒸留残液を含まない培養液で微細藻類を培養する場合に比べて大きなものとなっている。

従って、前記濃縮工程での微細藻類の収量も従来に比べて大きなものとなり、藻バイオマスDも従来に比べて効率的に作製されることになる。

[0066] それとともに前記培養装置23から濃縮装置24に向けて流下される藻類含有液から微細藻類を除いた処理水Fは、前記培養液や前記蒸発残液に比べてTOC濃度などを大きく低下させた状態となる。

[0067] 即ち、前記処理水Fは、バイオエタノール製造設備10から排出される蒸留残液に比べると、放流水や何等かの工程水として再利用しやすい状態になっている。仮に、処理水Fが、放流水とすることや工程水として再利用することに対してさらなる処理を要する場合でも、処理水Fは、前記蒸発残液に比べて前記処理の手間を軽減させ得るものとなっている。

また、前記処理水Fは、前記調製タンク21に返送して、外部から導入する前記水Cの量を削減するのに有効利用されることも可能である。

なお、外部から導入される水Cとしては、特に限定されず、水道水や地下水、工場用水など通常の水を利用することができる。

[0068] 上記のように本実施形態においては、蒸留残液の利用によって微細藻類培

養設備 20 における微細藻類の培養が効率的なものになるとともに、バイオエタノール製造設備 10 における排水処理が効率的なものとなっている。即ち、バイオエタノール製造設備 10 及び微細藻類培養設備 20 が互いに相手の存在によって利益を獲得できる状態となっている。

[0069] なお、上記のように、本実施形態の排水処理方法は、排水に含まれている有機物を除去する排水処理方法であって、

前記排水は、バイオマスから糖を含んだ原液を得る原液作製工程と、前記原液をアルコール発酵してエタノールを含有する発酵液を得る発酵工程と、前記発酵液を蒸留し、該発酵液よりもエタノール濃度の高い凝縮液と前記発酵液よりもエタノール濃度の低い蒸留残液とを得る蒸留工程、とを含むバイオエタノール製造過程における前記蒸留残液であり、

該蒸留残液を含む液体中で、有機炭素源の存在下、暗条件下で微細藻類を従属栄養培養又は光従属栄養培養することにより、前記蒸留残液に含有されている有機物を前記微細藻類に消費させる排水処理方法である。

本実施形態の排水処理方法は、排水に含まれている成分を微細藻類によって効率良く消費させることができるため、排水処理を効率良く実施させ得る。

[0070] 本実施形態においては、上記のように互いに利益を獲得させ得る点において、バイオエタノールの製造過程において排出される排水の処理方法として微細藻類培養方法を適用している。本発明の微細藻類培養方法の目的は、必ずしも前記排水処理に限定されるものではない。

例えば、本実施形態においては、蒸留残液以外に糖や各種成分を培養液に含有させることにより、前記濃縮装置 24 から排出される処理水 F の TOC 濃度が必ずしも蒸留残液よりも低下するとは限らない。本発明の微細藻類培養方法は、処理水 F の TOC 濃度が蒸留残液よりも高くなってしまっても、意図するものである。

[0071] また、本実施形態においては、藻バイオマス D について特定の例示を行っている。増殖させた微細藻類を上記例示以外に利用する場合も、本発明の意

図する範囲である。

さらに、上記に具体的な記載のない事項であっても、微細藻類の培養方法及び排水処理方法において従来公知の技術事項については、本発明の効果を著しく損ねない範囲において採用することができる。

即ち、本発明は、上記実施形態に限定されず、本発明の意図する範囲内において適宜設計変更されることが可能である。また、本発明の作用効果も、上記実施形態に限定されるものではない。

今回開示された実施の形態は、すべての点で例示であって制限的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は、上記の説明ではなく、特許請求の範囲によって示される。また、本発明の範囲には、特許請求の範囲と均等の意味及び範囲内でのすべての変更が含まれることが意図される。

## 実施例

[0072] 次に実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0073] (実験例1)  
(種藻)

下記培地にて、微細藻類（「ユーグレナ属に属する生物 (Euglena gracilis EOD-1株) (2013年3月25日付で独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許生物寄託センター (NITE-IPOD) (現所在地 郵便番号292-0818 日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室) にブダペスト条約の規定の下で受領番号FERM BP-11530として国際寄託) を従属栄養培養にて4日間培養し、種藻とした。

培地：Hutnerの培地を改変したもの（以下「Modified Hutner」ともいう）にグルコース25g/L添加したもの。具体的には表1の通り。液体に含まれる栄養素以外は、水である。

[0074]

[表1]

アスパラギンを除いたmodified Hutner培地：グルコース添加

glucose	25g/L
glutamic acid	5g/L
malic acid	5g/L
glycine	2.5g/L
urea	0.4g/L
succinic acid (コハク酸)	0.1g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.4g/L
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.14g/L
MgCO <sub>3</sub>	0.4g/L
CaCO <sub>3</sub>	0.1g/L
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Fe(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.021g/L
ビタミンB 1 (Vitamin B <sub>1</sub> )	0.6mg/L
ビタミンB 1 2 (Vitamin B <sub>12</sub> )	0.05mg/L
微量元素 (Trace metals) 含有溶液	10 mL/L

[0075] 表1における微量元素含有溶液としては、下記表2の組成を有する微量元素含有溶液を用いた。

微量元素成分以外は、水である。

[0076] [表2]

ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1.1g/L
MgSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	0.58g/L
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.18g/L
CoSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.024g/L
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.077g/L
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.029g/L
NaNO <sub>3</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.074g/L

[0077] (培養方法)

前記種藻を培養するために、下記の培養液を用意し、下記の条件下にて培養した。

「培養液の組成」：

バイオマスをアルコール発酵させた発酵液からエタノールを留去した後の残滓（蒸留残液）を純水で5倍、10倍、20倍、40倍にそれぞれ希釈した4種類の培養液を用意した。

このうち5倍希釈の培養液については、グルコースを0g/L、15g/Lとなる割合で含有させて、2種類の培養液を用意した。

また、10倍希釈、20倍希釈、40倍希釈の培養液については、これらにグルコースを0 g/L、10 g/L、15 g/L、20 g/L、25 g/Lとなる割合で含有させて、それぞれ5種類の培養液を用意した。

なお、各培養液は、塩酸によってpHを3.5に調製し、滅菌処理を行った。

「培養容器」：500 mL 坂口フラスコ

「培養条件」：

仕込み：培養液200 mLと種藻20 mLとを前記の坂口フラスコに収容

培養温度：28℃

明暗条件：暗条件（外光の差し込まない恒温槽内）

好気条件：振とう機に坂口フラスコをセットし、130 rpmの往復振とうで運転することにより培養液中に空気を供給

[0078]（結果の確認）

5倍希釈の培養液を用いて前記条件による藻類の培養を8日間実施した。1日ごとに各フラスコ中の液をサンプリングした。

そして、サンプリングした液の容積： $V$  (mL)と、該液に含有されている微細藻類の質量（乾燥質量）： $M$  (mg)とを求めた。前記質量 ( $M$ )を前記容積 ( $V$ )で除して藻類含有率： $M/V$  (g/L)を算出した。

さらに、培養開始時点と8日間の培養終了時点とにおいて、サンプリングした液から微細藻類を取り除いた培養液単体について、TOC濃度を測定した。

結果を、図2A、図2Bに示す。

同様に10倍希釈、20倍希釈、40倍希釈の培養液を用いて、前記条件による藻類の培養を5日間実施した。1日ごとに各フラスコ中の液をサンプリングした。

さらに、培養開始時点、培養2日目、及び5日間の培養終了時点とにおいて、サンプリングした液から微細藻類を取り除いた培養液単体について、T

OC濃度を測定した。

結果を図3～5に示す。

[0079] 上記結果からは、蒸留残液を炭素源とともに培養液に含有させることにより、当該培養液が微細藻類の増殖に有効であることがわかる。

また、上記結果からは、微細藻類培養方法を、蒸留残液を含む排水処理目的に実施することで大きなメリットが得られることもわかる。

また、上記結果からは、10g/Lのグルコース含有量では、微細藻類が糖を消費して増殖する能力に余力を残した状態となっていることが分かる。

即ち、上記結果からは、10g/L以上のグルコースを含有する培養液を用いることで、微細藻類がより効率良く増殖され得ることがわかる。

一方で、TOCの濃度に着目した場合、グルコースを20g/L未満の割合で含有する培養液を用いることで、培養液中のTOC濃度を大きく低下させ得ることが分かる。

[0080] (実験例2)

(培養方法)

実験例1と同様に、微細藻類を培養するために、下記の培養液を用意した。

ただし、培養条件は下記のように変更して藻類の培養を実施した。

「培養液の組成」：

バイオマスをアルコール発酵させた発酵液からエタノールを留去した後の残滓（蒸留残液）を純水で5倍、10倍、20倍にそれぞれ希釈した3種類の培養液、及び、これらにグルコースを15g/Lとなる割合で含有させた3種類の培養液を用意した。

なお、各培養液は、塩酸によってpHを3.5に調製し、滅菌処理を行った。

「培養容器」：300mL三角フラスコ

「培養条件」：

仕込み：培養液100mLと種藻5mLとを前記の三角フラスコに収容

培養温度：25℃

好気条件：振とう機に三角フラスコをセットし、120rpmの回転数で運転することにより培養液中に空気を供給

明暗条件：明／暗条件（12時間の光照射環境と12時間の暗環境とを繰り返して培養した。なお、光照射環境における光合成光量子束密度（PPFD）は、約100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ とした）

この培養結果を図6に示す。

[0081] 上記結果において、例えば、図6と図2～4との対比から、本実施形態の藻類培養方法は、暗条件下で実施される方が藻類をより効率良く培養する上において有利であることがわかる。

### 産業上の利用可能性

[0082] 本発明の微細藻類の培養方法は、細胞内に炭化水素や多糖類などの有機化合物を貯蔵した微細藻類を、健康食品、医薬品、飼料、化成品、又は燃料等の用途で利用するために、好適に使用できる。

具体的には、本発明の微細藻類の培養方法は、例えば、微細藻類としてユーグレナ（*Euglena*）属に属する生物を採用して、該微細藻類を培養することにより、微細藻類の細胞内に油分を貯蔵させ、油分を取り出して燃料の原料として利用するために好適に使用できる。

### 符号の説明

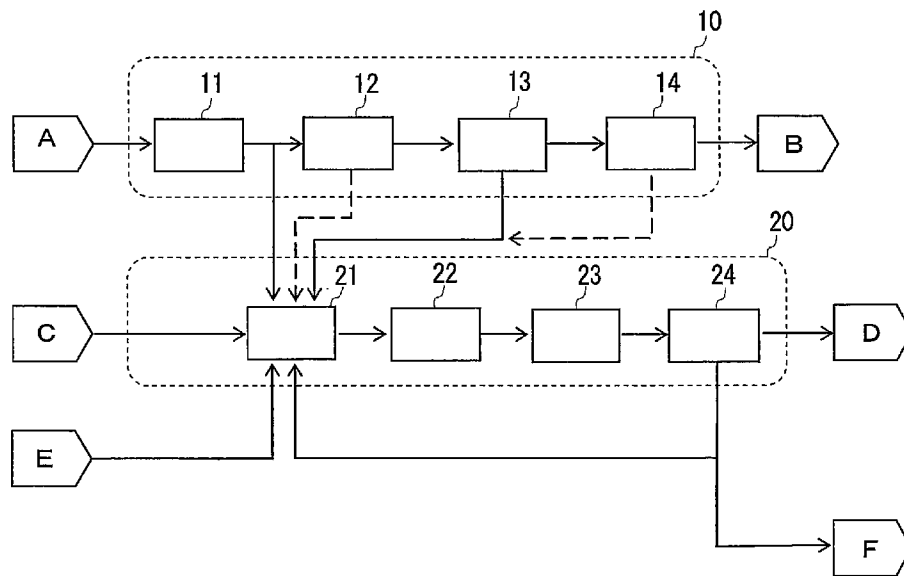
[0083] 10：バイオエタノール製造設備  
13：蒸留装置  
20：微細藻類培養設備  
23：培養装置  
A：バイオマス  
B：バイオエタノール  
C：水  
D：有価物（藻バイオマス、液体燃料）  
F：処理水

## 請求の範囲

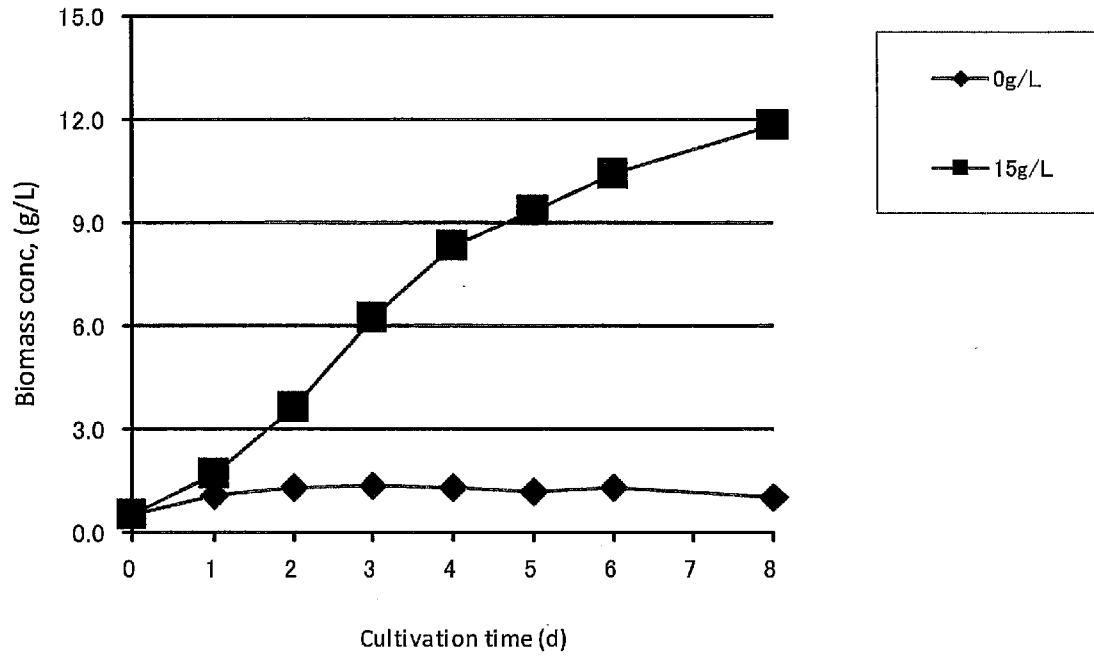
- [請求項1] バイオエタノール製造過程でバイオマスをアルコール発酵させて得られる発酵液からエタノールを回収した後の残液を少なくとも含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類の暗条件下での従属栄養培養又は光従属栄養培養を実施する微細藻類の培養方法。
- [請求項2] 前記発酵液を固液分離することにより発生する固形分をさらに含有する前記液体中で、前記暗条件下での従属栄養培養又は前記光従属栄養培養を実施する請求項1記載の微細藻類の培養方法。
- [請求項3] 前記残液が容量で1/40以上1/2以下含有されている前記液体中で、前記暗条件下での従属栄養培養又は前記光従属栄養培養を実施する請求項1又は2記載の微細藻類の培養方法。
- [請求項4] 前記培養が、暗条件下での従属栄養培養である請求項1乃至3のいずれか1項に記載の微細藻類の培養方法。
- [請求項5] バイオマスから得られた糖を前記有機炭素源として使用する請求項1乃至4のいずれか1項に記載の微細藻類の培養方法。
- [請求項6] 排水に含まれている有機物を除去する排水処理方法であって、  
前記排水が、  
バイオマスから糖を含んだ原液を得る原液作製工程、  
前記原液をアルコール発酵してエタノールを含有する発酵液を得る発酵工程、及び、  
前記発酵液を蒸留し、該発酵液よりもエタノール濃度の高い凝縮液と前記発酵液よりもエタノール濃度の低い蒸留残液とを得る蒸留工程、を含むバイオエタノール製造過程における前記蒸留残液であり、  
該蒸留残液を含む液体中で、有機炭素源の存在下、微細藻類を暗条件下で従属栄養培養又は光従属栄養培養することにより、前記蒸留残液に含まれている有機物を前記微細藻類に消費させる排水処理方法。
- [請求項7] 前記発酵工程の後段であって前記蒸留工程の前段で、前記発酵液か

ら固液分離して得られる固形分を前記液体中に供給する請求項6に記載の排水処理方法。

[図1]

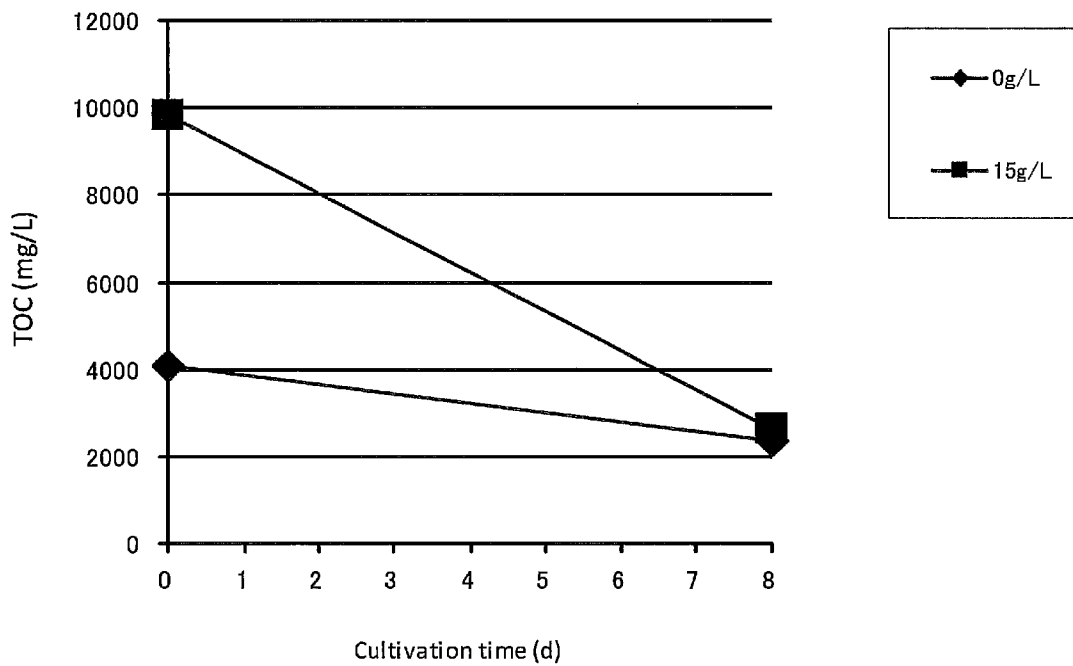


[図2A]



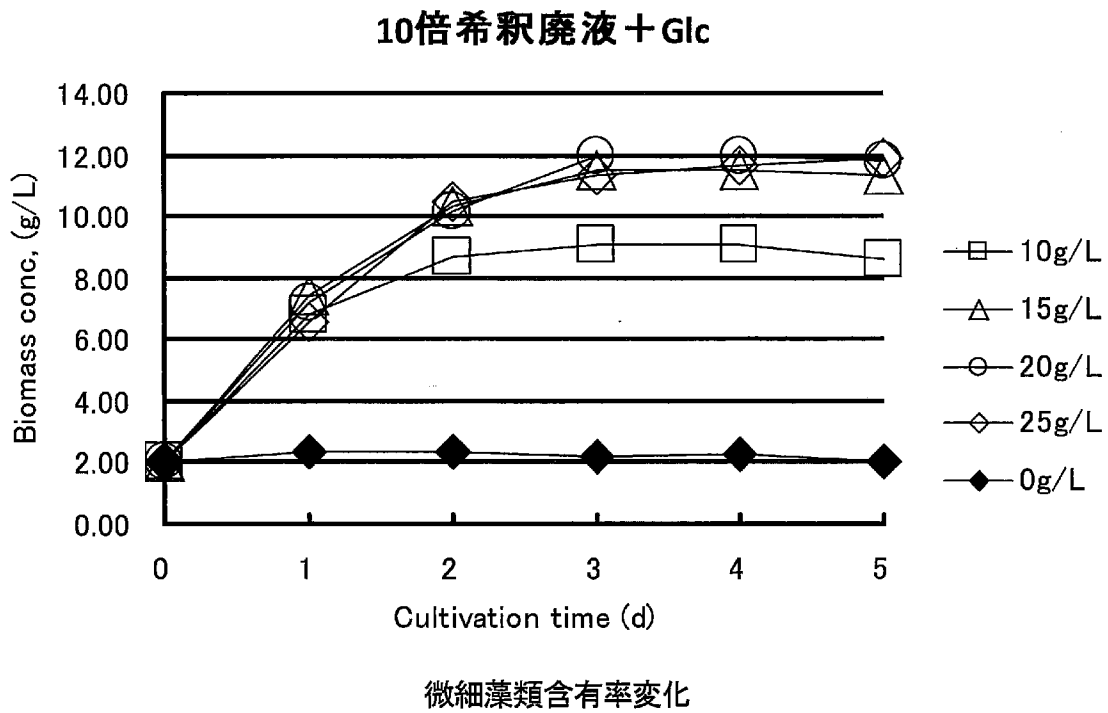
微細藻類含有率変化

[図2B]

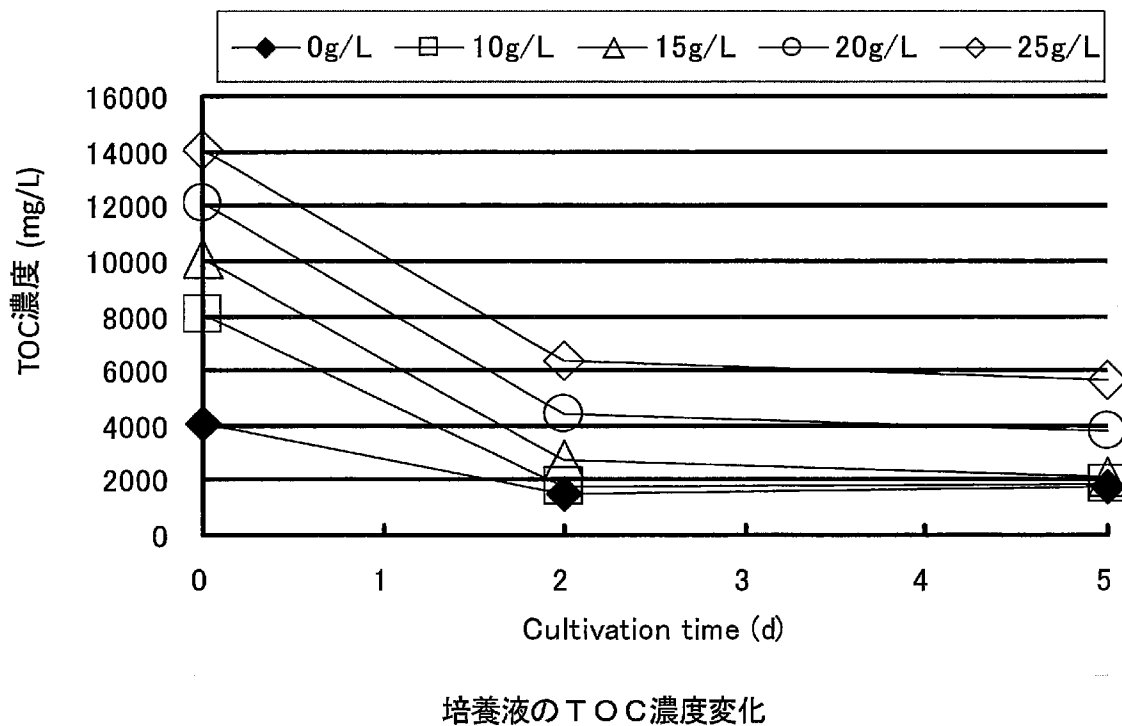


培養液のTOC濃度変化

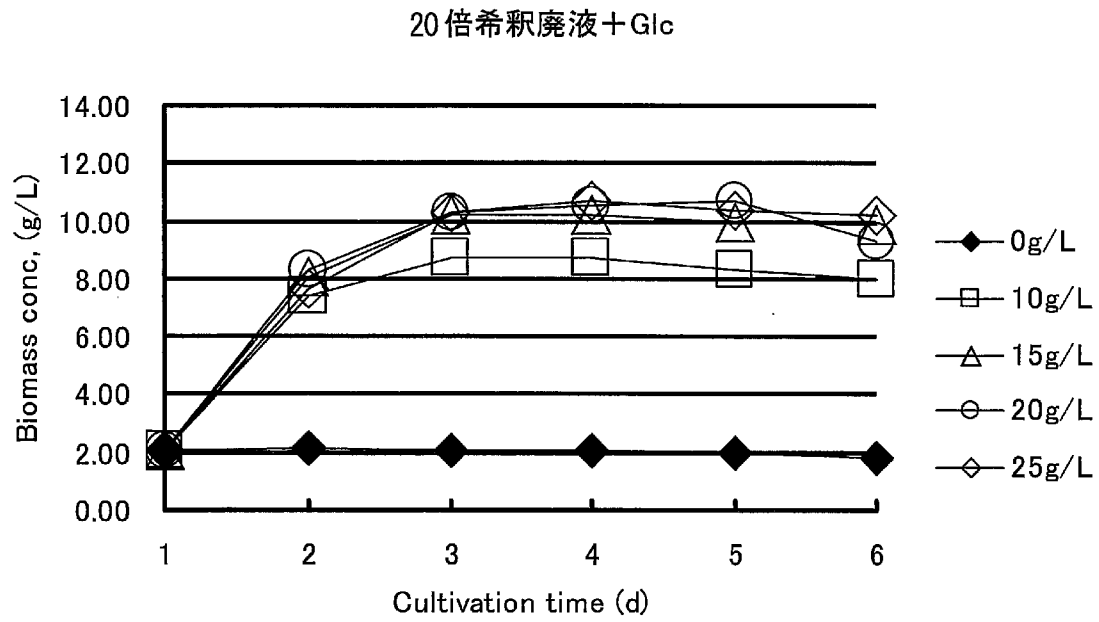
[図3A]



[図3B]

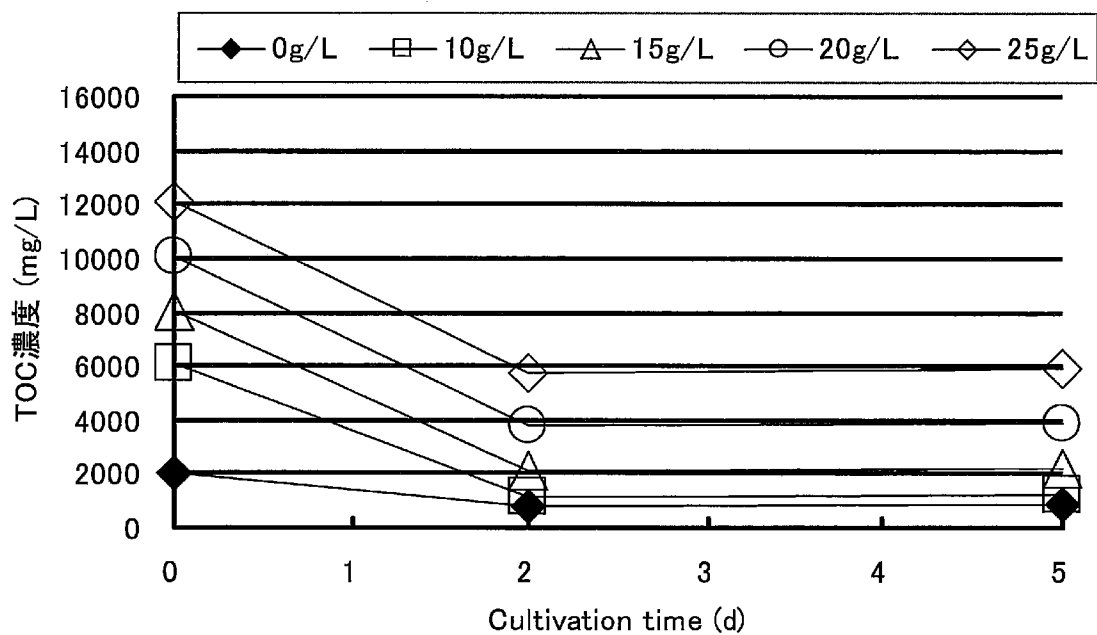


[図4A]



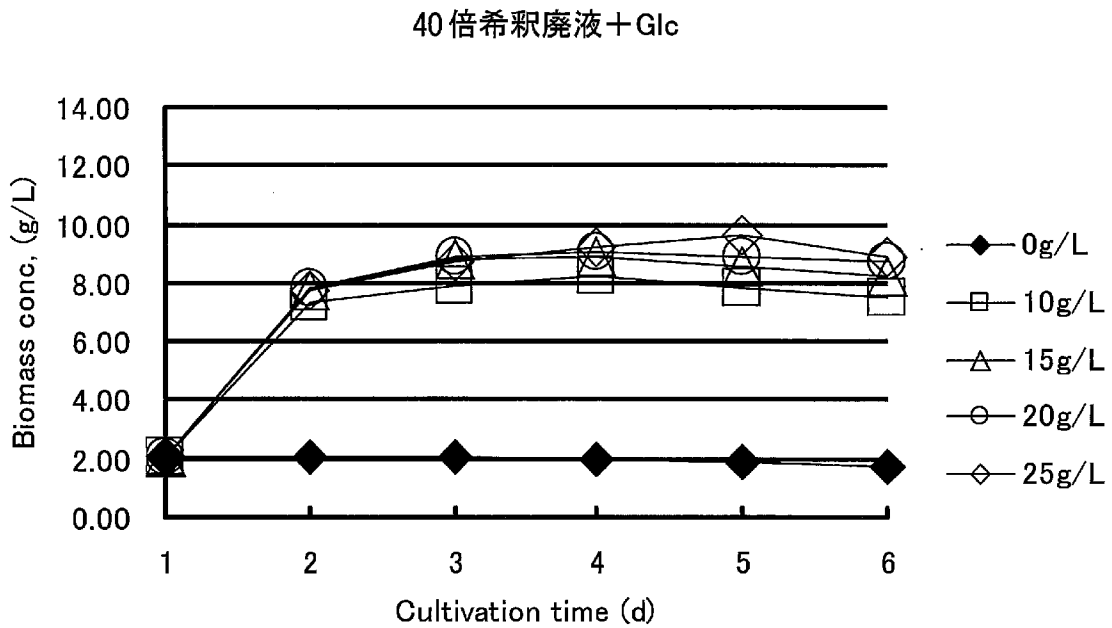
微細藻類含有率変化

[図4B]



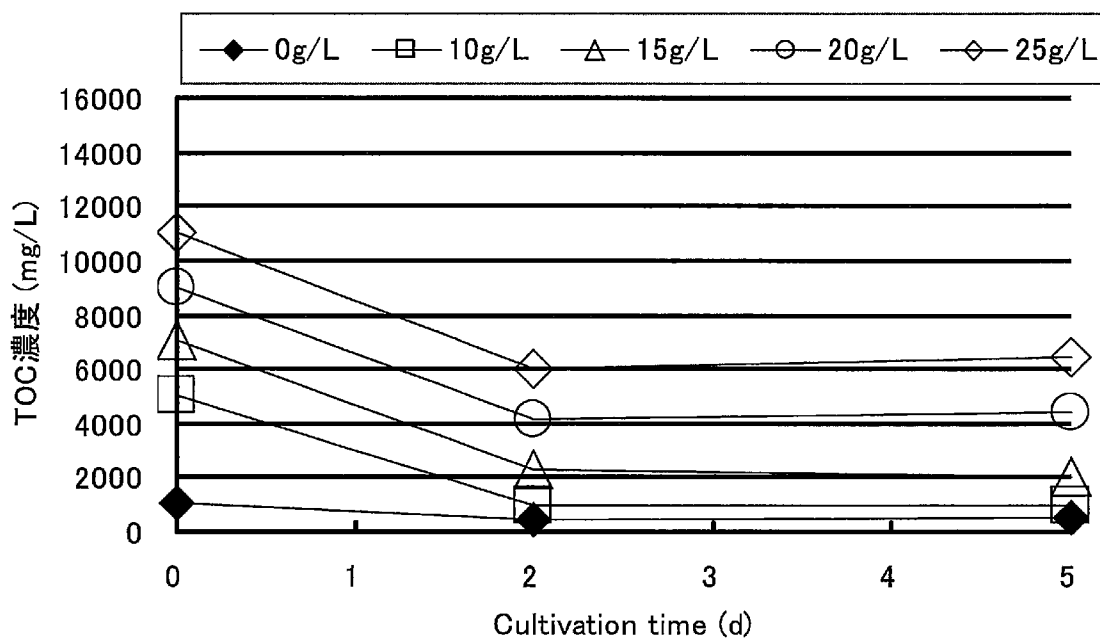
培養液のTOC濃度変化

[図5A]



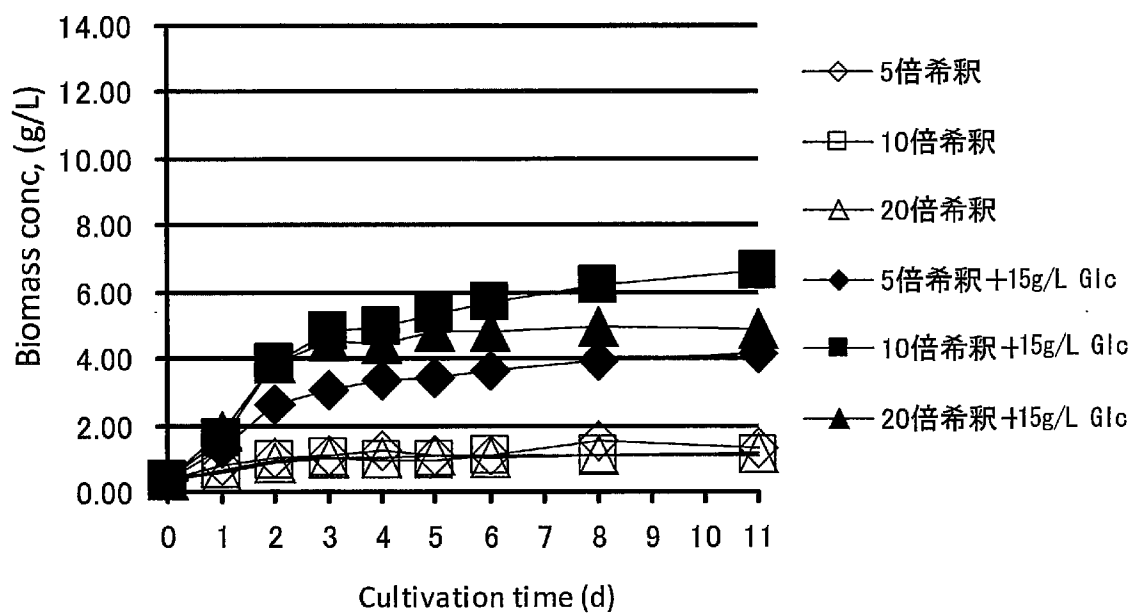
微細藻類含有率変化

[図5B]



培養液のTOC濃度変化

[圖6]



微細藻類含有率変化

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP2014/066890

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
C12N1/12(2006.01)i, C02F3/32(2006.01)i, C12P7/06(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
C12N1/12-1/13, C02F3/32, C12P7/00-7/66

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN),  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YANG C.F. et.al., Growth of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> in wastewater from cassava ethanol fermentation. World J. Microbiol. Biotechnol., 2008, vol.24, no.12, pp.2919-2925 (Abstract)	1-7
X	JP 2013-039085 A (IHI Corp.), 28 February 2013 (28.02.2013), claims (Family: none)	1-7

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 22 September, 2014 (22.09.14)	Date of mailing of the international search report 30 September, 2014 (30.09.14)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12N1/12(2006.01)i, C02F3/32(2006.01)i, C12P7/06(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12N1/12-1/13, C02F3/32, C12P7/00-7/66		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2014年 日本国実用新案登録公報 1996-2014年 日本国登録実用新案公報 1994-2014年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	YANG C. F. et. al., Growth of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> in wastewater from cassava ethanol fermentation. World J. Microbiol. Biotechnol., 2008, vol.24, no.12, pp.2919-2925 (Abstract 等)	1-7
X	JP 2013-039085 A (株式会社 I H I) 2013.02.28. (請求項等) (ファミリーなし)	1-7
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 22.09.2014	国際調査報告の発送日 30.09.2014	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ISA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 戸来 幸男 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 3964