

レーザ濁度計による微細藻類の培養制御

末広文一*、山村健治*、小島英嗣**、杉田今日子**

*住友重機械工業（株）環境技術研究所
神奈川県平塚市久領堤1-15

**住友重機械工業（株）総合技術研究所
神奈川県平塚市夕陽ヶ丘63-30
東京都田無市谷戸町2-1-1

概要

内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタによる微細藻類の培養に、レーザ濁度計測を適用し、藻体濃度のオンライン計測、パーソナルコンピュータによる演算及び培地の引き抜き・供給制御による培養実験を行った。その結果、レーザ濁度は広い濃度範囲で乾燥重量から求めた藻体濃度と良好な相関を有し、リアルタイムで微細藻類の比増殖速度、CO₂固定化速度などの培養特性値を求めることができ、最適培養制御への適用が可能であることを明らかにした。

キーワード

レーザ濁度、CO₂、微細藻類、フォトバイオリアクタ、連続培養

1. はじめに

化石燃料の燃焼などにより放出され、地球温暖化ガスの1つであるCO₂を、藻類などの光合成微生物を用いて固定化すると共に、有用物質として再資源化することを目的に研究開発を進めている。そのため、高温・高濃度CO₂耐性などの培養特性を有し高効率で光合成を行う藻類を自然界から探索・育種し、CO₂固定化や有用物質生産のための培養条件最適化やフォトバイオリアクタシステムなどの検討を行っている。

これら条件を検討する際の重要な特性値として藻体増殖速度やCO₂固定化速度がある。CO₂固定化速度は、フォトバイオリアクタ等（以下、リアクタと記す）の出入口でCO₂濃度を計測して直接的に求める方法と、リアクタ内で増殖する藻類の乾燥重量を測定して培養液中の藻体濃度を求め、藻体の炭素含有率を用いてCO₂に換算し間接的に求める方法がある。前者には、赤外線式ガス分析計やガスクロマトグラフなどが用いられ、リアルタイムで実測できる利点はあるが、培養条件により十分な測定精度が得られないなどの制限がある。後者については、乾燥藻体重量を測定し藻体増殖速度を求める方法であるが、人手と時間を要する欠点がある。このため、吸光光度分析計、比色式濃度計、パーティクルカウンタなどを用いて藻体濃度とそれらの計測値の相関を予め取得しておく方法が併用されている⁽¹⁾。しかし、測定機器により低濃度や高濃度での測定誤差が顕著であったり⁽²⁾、藻類によっては連続的な藻体濃度測定への適用が難しい場合がある。

本報文では内部照射・攪拌式のフォトバイオリアクタにレーザ濁度計を装着し、藻体濃度のオンライン計測、CO₂固定化速度の演算、各種条件での培養制御や長期の培養実験を検討した結果を報告する。

2. 計測システム構成

計測システムの構成を図1に示す。また、内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタの概念図を図2に示す。本リアクタは、太陽光や人工光を光ファイバを用いて伝送し、発光攪拌翼を介して槽内へ照射供給する構造からなる。本試験では仕込量 $1.5 \times 10^3 \text{ m}^3$ 及び $20 \times 10^3 \text{ m}^3$ のリアクタ（以下、2L及び20L規模と記す）を用いた。図3には20L規模内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタの外観を、図4には発光攪拌翼の一例につ

いて外観を示す。リアクタの特徴として、攪拌翼自体が光照射機能を兼ね備えるため、光供給が効率よく行え、また藻体等の付着が抑制でき、培養制御性が高いことがあげられる。なお、発光攪拌翼は透明ガラス、または透明プラスチック製で、翼内部に光散乱処理加工をしたものを用いた。

レーザ濁度計はASR社製LA-301LT(GT)を内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタの槽に直接装着して用いた。レーザ濁度指示値はRS232Cを介してパーソナルコンピュータ（以下、パソコンと記す）に1分間隔で取込み、10分毎に、後述する比増殖速度とCO₂固定化速度を演算して、表示と記録を行った。また、シーケンサでは濁度計本体からの濃度制御信号とリアクタ内の液面レベル計の信号を取込み、培養液や培地の移送用のポンプや開閉弁の駆動制御を行うとともに、パソコンに培養液の抜き出しにともなうレーザ濁度異常値の廃棄信号を送信した。

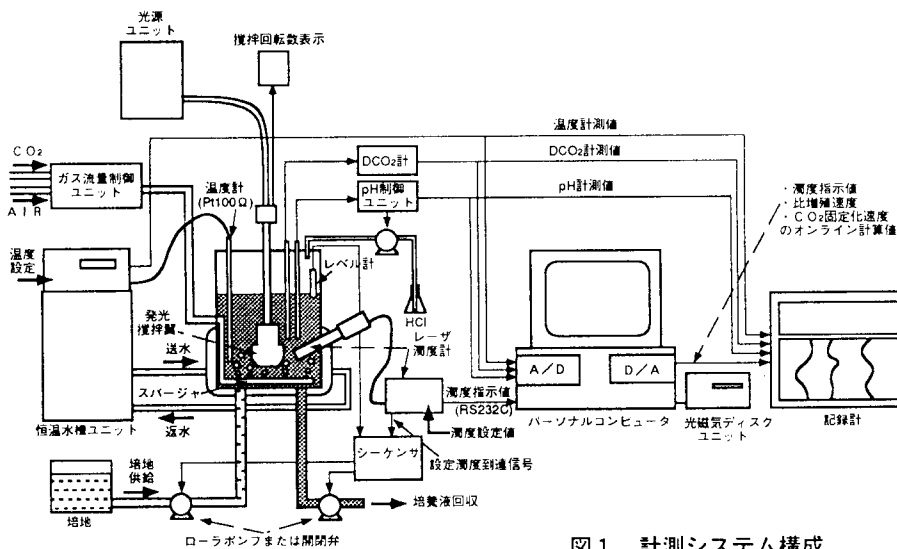


図1 計測システム構成

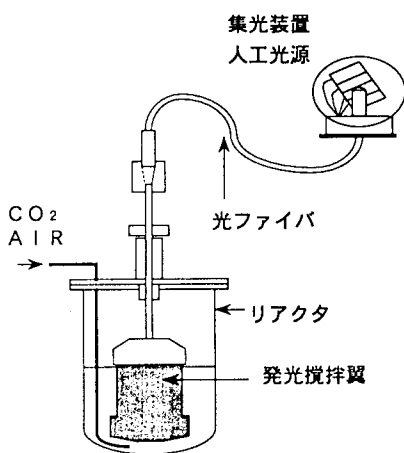


図2 内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタの概念図

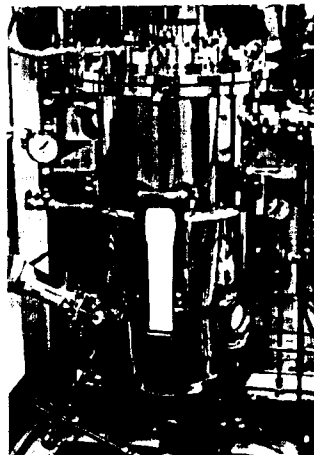


図3 20L規模リアクタ外観

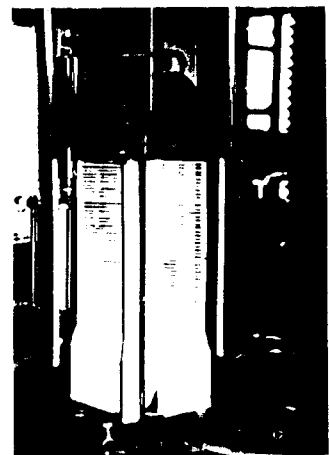


図4 発光攪拌翼

3. 検量線とCO₂固定化速度

3.1 レーザ濁度と藻体濃度の関係

まず、回分培養で、仕込量 $1.5 \times 10^3 \sim 20 \times 10^3 \text{ m}^3$ 、光強度 $50 \sim 900 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、発光攪拌翼回転数 $50 \sim 200 \text{ rpm}$ 、通気量 $0.1 \sim 0.5 \text{ vvm}$ と条件を変化させて、レーザ濁度指示値と藻体濃度の実測値から検量線を取得した。藻体濃度は常圧加熱乾燥法(105℃ 24時間)により求めた。得られた検量線を図5に示す。ここで、*Chlorella* sp. UK001、及び*Chlorella* sp.H84は国内で分離された大きさ $3 \mu\text{m}$ 程度の緑藻である。図から、藻体濃度が $0.02 \sim 1.5 \text{ kg-cell} \cdot \text{m}^{-3}$ の広い濃度域において良好な2次の相関が得られ、上記の条件範囲内であれば、検量線を用いて、レーザ濁度から藻体濃度をリアルタイムで求めることが可能であることが確認できた。

3.2 CO₂固定化速度の演算

CO₂固定化速度 $d(\text{CO}_2)/dt$ は、藻体増殖に使用される炭素が全て培地に供給されたCO₂に由来すると仮定して藻体の増殖速度 dX/dt を用いて(1)式から求めた。藻体増殖速度 dX/dt は比増殖速度 $\mu(\text{d}^{-1})$ と藻体濃度 $X(\text{g-cell})$ の積 μX で表される。藻体の炭素含有率を培養条件を変えた分析結果の平均値50%とすると(1)式は(2)式となる。

$$d(\text{CO}_2)/dt = dX/dt \times (\text{藻体中の炭素含有率}) \times 44/12 \quad (1)$$

$$d(\text{CO}_2)/dt = 1.833 \cdot \mu X \quad (2)$$

レーザ濁度計を用いた回分培養のオンライン計測・演算結果の一例を図6に示す。微細藻類の培養における比増殖速度、CO₂固定化速度の変化がオンラインで計測でき、培養状況がリアルタイムで把握できることが分かった。

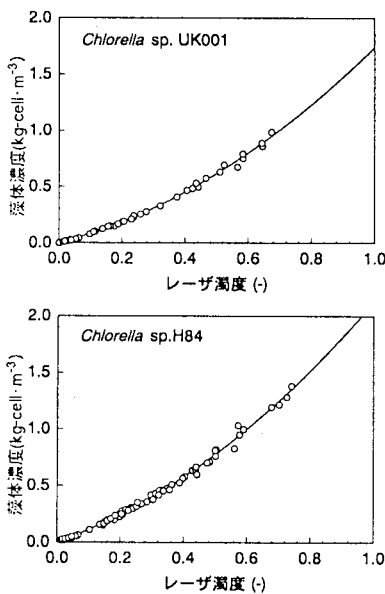


図5 レーザ濁度と藻体濃度の関係

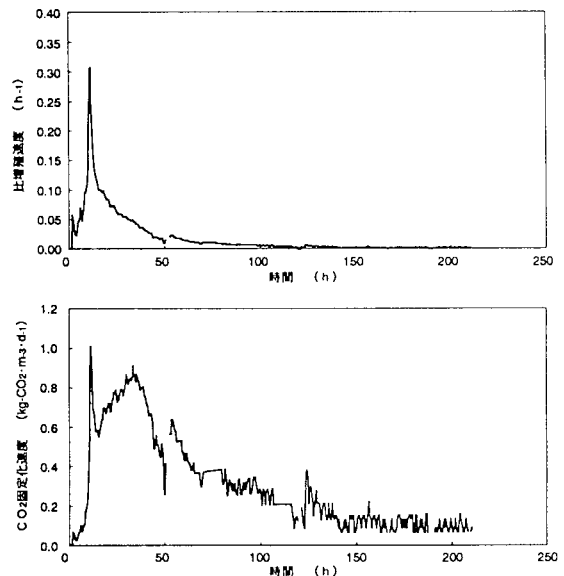


図6 *Chlorella* sp.H84の回分培養における比増殖速度・CO₂固定化速度

4. 微細藻類培養における濃度制御

次に所定のレーザー濁度値に達すると一定量の培養液を抜き出し、新鮮培地を供給するという半回分的なタービドスタット (Turbidostat) 制御培養を行った。さらに、太陽光を想定した10時間明+14時間暗の明暗照射条件についても検討した。図7に *Chlorella* sp. UK001を用いた20L規模内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタによる培養曲線を示す。図に示すように1000時間の培養において安定した濃度制御された培養を行うことが確認できた。また、同様に示した培養試験の結果から希釈率 (培地供給速度/リアクタ容積: d^{-1}) に対する CO_2 固定化速度及び藻体濃度の関係を図8に示す。今回用いたシステムでは行っていないが、この図から CO_2 固定化速度を指標とした培養制御の可能性が示唆された。

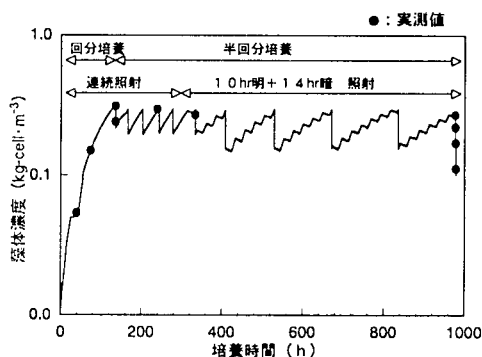


図7 20L内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタによる藻体濃度制御培養

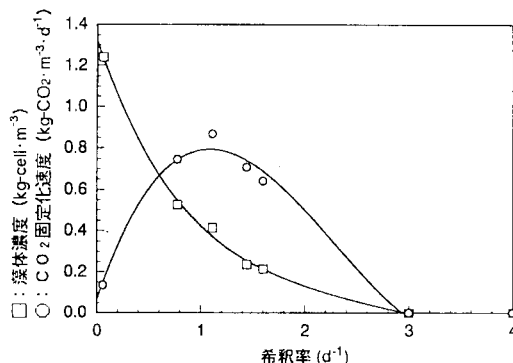


図8 希釈率に対する CO_2 固定化速度と藻体濃度の関係

5. 長期培養制御について

微細藻類の培養においては、藻体の沈降や付着、発泡などの現象がしばしば問題となる。そこで、内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタとレーザー濁度計を組み合わせたシステムにより長期連続培養を実施した。*Chlorella* sp. UK001を用いた2L規模での4000時間の長期タービドスタット培養の結果を図9に示す。本図に見られるように、長期間の安定した培養が可能であることが確認された。藻類の種類によっては、2ヶ月程度で発光攪拌翼への付着が見られたが、攪拌条件の最適化や簡易なメンテナンスにより培養は継続できると判断された。また、20L規模リアクタでも30日以上自動運転が可能であり付着等の問題も認められなかった。

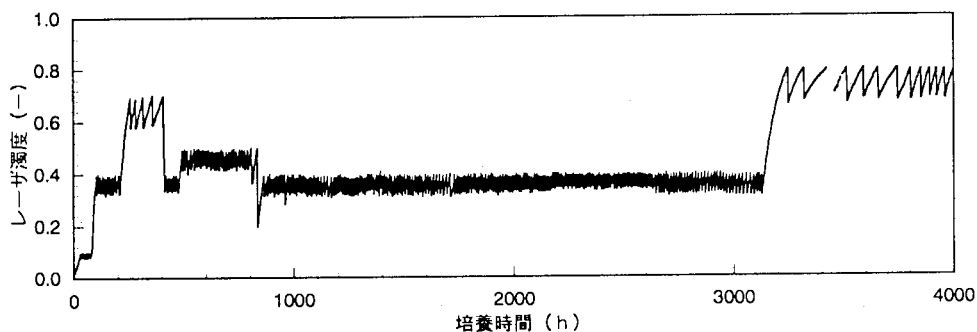


図9 20L内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタとレーザー濁度計システムによる4000時間長期培養結果

6. おわりに

内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタを用いた微細藻類の培養実験においてレーザ濁度計による藻体濃度のオンライン計測、パソコンによるCO₂固定化速度の演算や培養制御の検討を行い、以下の結果を得た。

- (1) 本報告の条件範囲内において、藻体濃度は0.02~1.5kg-cell·m⁻³の範囲でレーザ濁度と良好な相関をもち、オンラインでCO₂固定化速度を求めることができた。
- (2) レーザ濁度計による藻体濃度のオンライン計測は種々の培養条件を変化させた培養実験が容易に行え、各種条件検討や最適制御に適用できることが分かった。
- (3) 内部照射・攪拌式フォトバイオリアクタとレーザ濁度計との組合せによる微細藻類のタービドスタット培養実験を行い4000時間の長期安定培養が可能なことを確認した。

本研究の実施にあたっては筑波大学・応用生物化学系の田中秀夫教授にご指導を頂いた。また、発光攪拌翼の開発は日本板硝子(株)技術研究所との共同による。ここに感謝の意を表す。なお*Chlorella* sp. UK001及び*Chlorella* sp. H84は(財)地球環境産業技術研究機構からの供与株であり、それぞれ住友化学(株)及び東京大学先端科学技術センターより入手した。

本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)委託事業の一環として実施された。

(参考文献)

- (1) 酒井肇・坂田衛, 環境分析のための機器分析, 日本環境測定分析協会, p89 (1992) .
- (2) 野平正・坂庭行雄, オンラインレーザ濁度計による微生物測定の自動化, ASR技術資料.