

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 6月10日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22560275

研究課題名（和文） パルスパワーを用いたバイオマス燃料製造技術の研究開発

研究課題名（英文） Development of Process Technologies of Biomass Fuel Using Pulsed Powers

研究代表者

下村 直行 (SHIMOMURA NAOYUKI)

徳島大学・大学院ソシオテクノサイエンス研究部・教授

研究者番号：90226283

研究成果の概要（和文）：バイオマス燃料となる微細藻の油性分抽出の効率化のため、パルス電界による微細藻細胞壁の穿孔を試みた。パルス幅 25-100 μ 秒のパルス発生装置を開発して印加すると、一部が透明化した個体が確認され、全体が透明になったものも存在した。印加電界を高めると、細胞壁の一部が欠けて見えるものも現れた。これらは細胞壁の穿孔による結果と考えられる。パルス電界による微細藻増殖促進の実験では、一部に増殖が加速されたサンプルも見られたが、さらに実験継続して確認が必要である。

研究成果の概要（英文）：To improve the extraction efficiency of oil component from microalgae for biomass fuel, electroporation was applied to the cell wall. By using developed pulsed power generator with 25-100 microseconds pulse width, partly- or whole-transparent individuals were observed. In increasing electric fields, some individuals seem having a deficit on the cell wall. The changes were considered to be a result by electroporation. In an experiment for proliferation acceleration by electric pulses, some samples grew faster than controls. Further experiments were required for the confirmation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・電力工学・電力変換・電気機器

キーワード：バイオマス燃料，パルスパワー，バイオエレクトロクス，微細藻，エレクトロポレーション

1. 研究開始当初の背景

エネルギーの枯渇は、国内だけでなく世界的な問題であり、再生可能エネルギー開発に対する期待が高まっている。(本研究開始後、震災にともなう原発事故を経て、さらに高まることとなる) その中の一つにバイオマスエネルギーがあり、一部は実用化され、研究開発も盛んになりつつある。バイオマスエネ

ルギーにもさまざまなものがあるが、緑藻は油分を多く含み繁殖力に優れていて、通常は食用に適さないため穀物原料由来のバイオ燃料に代わるものとして注目されている。そのような中、緑藻(イカダモ)の大量培養の成功が報じられた(徳島新聞 '08 8/25)。イカダモは、日に2倍以上の増殖が可能であり、その乾燥重量のおよそ半分が油分であって、栽

培面積当たりの生産性は菜種の7倍になる。この方法では、火力発電所等より発生される二酸化炭素を供給でき、藻が発生する酸素は火力発電所の燃焼効率に改善に利用可能である。また養分として生活排水も利用できる可能性がある。しかしながら、実用化には至っていない。それは油分等の効率的な抽出技術が存在しないためである。これまでは、乾燥させてから超臨界を用いて抽出を行う方法が提案されているが、エステル化(ディーゼル化)を同時に行える利点はあるものの、加熱と加圧を要することによる低効率と処理速度の遅さが問題になっている。

一方、パルスパワーの応用研究として生物を対象にするものがここ数年特に盛んに行われるようになってきている。我々はパルスパワーに関する研究を長年にわたり行ってきており、生物を対象にした研究として、細菌や固形腫瘍に対するパルス電界の印加の研究や、さとうきび(和三盆糖)に対してパルス電界の印加する収量増加に関する研究を行ってきた。このバイオマス燃料の製造上の問題点に対して、パルス電界による細胞壁穿孔や水中パルス放電による衝撃波を適用でき、効率の改善に繋がると判断した。

2. 研究の目的

パルスパワー技術を利用して、高電界パルスと水中パルス放電あるいはその併用により藻細胞壁を穿孔する油性分抽出技術を確立すること、高電界パルスにより緑藻の増殖速度の向上を確認すること、さらにそれらための最適実験条件の検索を目的とする。なお高電界パルスによる穿孔(エレクトロポレーション)とは、細胞膜の両面に充電される電荷のクーロン力による破壊による。

(1) 高電界パルスによる細胞壁穿孔

① 高電界パルスによるイカダモの細胞壁の穿孔が可能であるかを確認する。高電界パルスによって、動物性あるいは植物性細胞の細胞膜穿孔が可能であるとの報告がなされているが、水生でかつ微細な植物性の細胞であるイカダモの細胞穿孔の可否は不明である。同様に、水中のパルス放電を用いて、イカダモの細胞壁に穿孔を起こすことができるかを確認する。

② 印加パルス電圧(電流)、パルス幅、印加パルス数、さらに印加用電極の形状などを変化させて、これらの実験条件と細胞壁穿孔の関係について詳細に検討する。また高電界パルスと水中のパルス放電を併用した効果についても検討する。これらにより、細胞穿孔に適した実験条件を明らかにする。

③ 細胞壁の穿孔状態と、油性分の細胞からの流出作用について検討を行う。

(2) 電界パルスによる増殖効果

電界パルスによるイカダモの増殖促進作用に関する予備的実験を行う。本イカダモおよびその他藻類に、電界パルスを印加して、藻の増殖に対する効果を検討し、無印加のものに対して増殖効果がある実験条件を検索する。

3. 研究の方法

(1) 高電界パルスによる細胞壁穿孔

高電界パルス印加用電極容器を数種類製作して、対象のイカダモに電界パルスを印加する。実験条件は、電気容器の種類に加えて、印加電圧、印加パルス幅、繰返し印加回数を変化させて行う。実験結果の評価については、生物顕微鏡を用いて撮影された画像により行う。

パルスパワー発生装置の出力パルス幅は通常変化させることができないため、印加パルス幅の変更は他の実験条件の変更に比べて困難である。したがって、現有のパルス幅1ナノ秒出力のパルスパワー発生装置とパルス幅100ナノ秒から1マイクロ秒程度を出力するパルスパワー発生装置群により実験を行う。これらの実験結果を見定め、必要に応じてこれらのパルスパワー発生装置の改良および新たに開発して、パルス幅の変更に対応する。

(2) 電界パルスによる増殖効果

細胞壁穿孔の実験と基本的には同じである。パルス電界印加容器は単純に電界印加を行えるものを用いる。実験条件は、印加電圧、印加パルス幅、繰返し印加回数を変化させて行う。パルス幅に関してはあまり長いパルスは必要としないと考えられるため現有のパルスパワー発生装置のみを用いて、1ナノ秒から1マイクロ秒の範囲で行う。

実験結果の評価については、パルス電界印加後数日から数週間培養して、増殖状況をコントロール(パルス電界をかけずに培養したサンプル)と比較して判断する。藻の密度は吸光度計を用いて、定量的に評価する。

4. 研究成果

(1) 高電界パルスによる細胞壁穿孔

現有のパルスパワー発生装置を用いて実験を行ったところ、藻個体それぞれに特別な変化は観測されなかった。したがって、パルス幅1ナノ秒から1マイクロ秒程度のパルスでは、少なくとも25 kV/cm程度の電界強度までは影響がないことが分かる。

そこで、10マイクロ秒、25マイクロ秒および100マイクロ秒のパルス幅の電圧パルスを発生するパルスパワー発生装置の開発を

行った。まず比較のためにパルス電界を印加していないコントロールの写真を図1に示す。イカダモであるが、培養環境によりイカダを構成していないものもあり、数の上ではこちらの方が多。個々の個体は変形した楕円形状をしており、内部は緑色をしている。境界部すなわち細胞壁もしっかりした形状

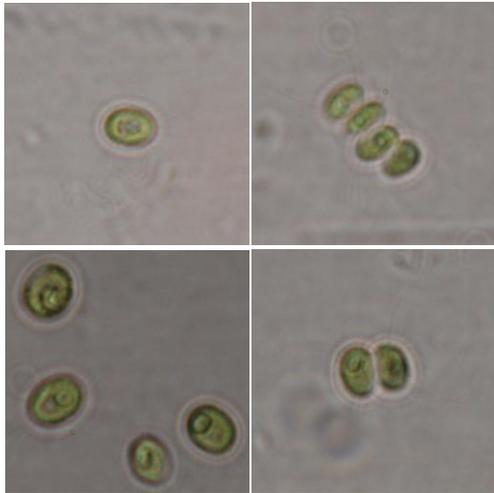


図1 コントロール

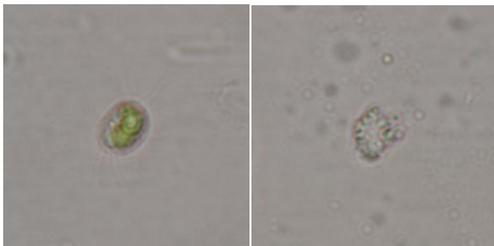


図2 25 マイクロ秒, 4kV, 30 パルス



図3 25 マイクロ秒, 12kV, 30 パルス

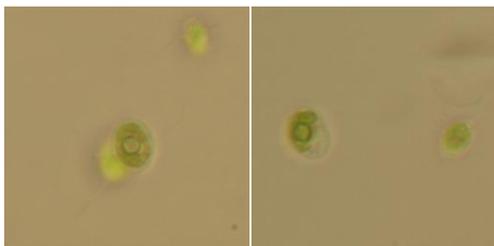


図4 100 マイクロ秒, 4kV, 30 パルス

として観測されている。ただし、位相差顕微鏡の特性上、イカダを構成していたりして個体どうしが重なっている部分については、白く観測されている。いくつかの実験条件により得られた写真を図2から図4に示す。ここで行った実験条件下でもっともよく観測されたパルスの印加による変化は、一部が透明化したもの(図2左, 図4右)である。全体が透明化したものも(図2右)見受けられた。なお図の表題は、パルス幅、パルスパワー発生装置の充電電圧、パルスの印加回数を示している。パルスパワー電源の充電電圧が4kV時で、印加電界強度はおよそ20kV/cm程度となる。充電電圧12kV時にしばしば観測されたものが、細胞壁の一部に穴が空いているように見えるサンプル(図3左右)である。また一部のサンプルには、内容物が外部に放出されているように見えるもの(図4左)もあった。

ここで観測された変化は、パルス電界により細胞壁が穿孔された結果であると考えられる。実験条件に併せて考察すると、25マイクロ秒、20kV/cm以上のパルスであれば、穿孔される可能性がある。すべての個体で観察されないのは、比較的弱い個体、比較的弱い個所において穿孔が起こっていると考えられることができる。12kVの充電時には印加電界強度は60kV/cm程度となり、この場合には比較的大きくはっきりとした穿孔が生じたと思われる。25マイクロ秒から100マイクロ秒へのパルス幅の増加による明確な効果は確認できなかった。

一定のパルス幅、一定の電界強度以上で、対象になる微細藻の細胞壁の穿孔が可能になったと考えられる。電界強度を高めるとより大きな効果が期待できる。電界による処理はほとんどエネルギーを消費しないので、燃料精製工程の前処理に適応することで、工程を効率化できると考えられる。また非加熱処理であるため、これ以外にもたとえば食品からの有効成分の抽出などへの適用が期待できる。

(2) 電界パルスによる増殖効果

現有のおよそ1ナノ秒のパルス幅のパルスパワー発生装置を用いて実験を行った。35から45kV/cm程度の電界強度のパルスを1,000回から100,000回印加した。この実験ではパルス電界印加後、数日から1週間程度育成して増殖させる必要がある。コントロールのサンプルを含めいろいろな実験条件のサンプルを同一の生育環境に置く必要があるため、36サンプルを育成可能な培養装置(図5)を開発して実験を行った。光源には赤色LEDに青色LEDを一定の割合で混ぜたものを平面上に配列したものを使用し、一定の生育環境が実現できるようにした。

実験結果の一例（図 6）を示す。パルス電界印加後培養し、印加後 2 日ごとに 6 日までの吸光度を測定した。対象の微細藻は緑色をしており、培養が進むと緑が濃くなる。したがって緑の補色光の吸光度は藻の密度に関係する。予備実験の結果、吸光度と藻の密度はおおよそ比例関係にあることが確認されており、図 6 の縦軸の吸光度は藻の密度すなわち増殖の度合いを示していると考えてよい。実験条件ごとに 3 つのサンプルを用意し、その平均値をプロットした。6 つの実験条件の内、一つはコントロールより速く、一つはコントロールより遅く、そして残りの 4 つはコントロールと同程度の速度で増殖した。増殖速度がコントロールより遅かったものは、ある程度の割合で藻が死滅したためと考えられる。コントロールから外れたものは、どちらも 3kV の充電電圧で印加回数が多い方のものである。これから以下のように推論できる。何らかの影響が現れるには、一定以上の印加電界強度、印加パルス回数が必要である。すなわち一定以上のストレスを与える必要があり、死滅する程度に近いストレスが与えら

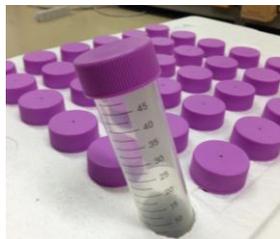
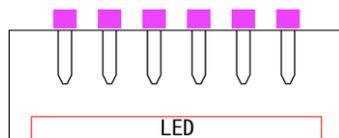


図 5 培養装置の概略と外観

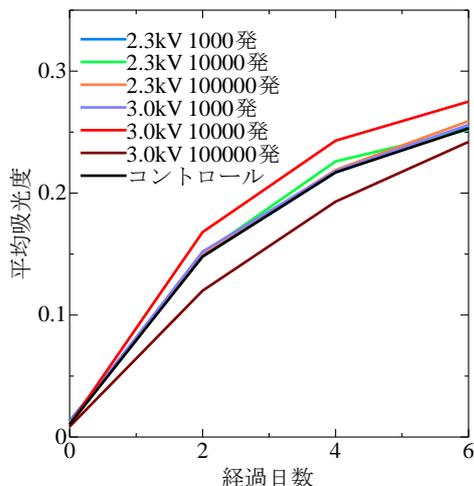


図 6 パルス印加後の培養結果

れたものの増殖が盛んに行われた。別の実験でもこれと似た結果が得られたものもあったが、有意差検定等の統計処理により、影響を確定することはできなかった。

パルス電界の印加により、比較的強いストレスを与えられたときに増殖の促進が行われる可能性があることが示された。しかしながら、さらに実験を進めて影響を確定するとともに、増殖促進に適した条件の特定が必要である。これらの結果は、微細藻以外の植物にも適用できる可能性があり、農業分野や医薬分野等へも適用が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Masato Yamanaka, Ayumu Fujita, Kenji Teranishi, Naoyuki Shimomura, Fundamental Study to Apply the Pulsed Power Technology on the Biomass Fuel Production, Proceedings of the 18th IEEE International Pulsed Power Conference, 査読無, pp.1237-1241, 2011, DOI: 10.1109/PPC.2011.6191591

[学会発表] (計 2 件)

- ① 下村直行, パルスパワーを用いた微細藻類の増殖活性に関する研究, 平成 24 年電気学会全国大会, 2012. 3. 21, 広島工業大学 (広島市)
- ② 下村直行, パルス高電界印加による微細藻類への影響に関する研究, 平成 23 年電気学会全国大会, 2011. 3. 18, 大阪大学 (吹田市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下村 直行 (SHIMOMURA NAOYUKI)
徳島大学・大学院ソシオテクノサイエンス研究部
・教授
研究者番号：90226283

(2) 研究分担者

寺西 研二 (TERANISHI KENJI)
徳島大学・大学院ソシオテクノサイエンス研究部
・准教授
研究者番号：80435403

(3) 連携研究者

()

研究者番号：