

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658209

研究課題名(和文) 寡少日射・寒冷地域における藻油産生微細藻類の周年培養システムの開発

研究課題名(英文) Development of full-year culturing systems for oil-producing microalgae in low solar radiation and cold region

研究代表者

中野 和弘 (Nakano, Kazuhiro)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：70188994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：BDFの原料となる微細藻類について、寡少日射の積雪寒冷地域においても周年的・効率的に生産できる培養システムを検討した。

実験室内で無菌培養したユーグレナの増殖速度の測定技術を検討した結果、近赤外分光分析法による藻類の個体数や乾燥重量等の迅速・非破壊測定法を検討した。さらにバッチ式培養において、培養器内に閉じこめられた上部空間の割合が藻類増殖速度に影響していることが示された。

研究成果の概要(英文)：A full-year culturing systems for oil-producing microalgae in low solar radiation and cold region was studied.

By using NIR (Near Infra-red) spectroscopy, population and dry weight of *Euglena gracilis* cultured in the pure culture can be evaluated rapidly and non-destructively. It was showed experimentally that the volume of head space in the incubator may affect the population of *Euglena* during cultivating.

研究分野：農業システム工学

キーワード：微細藻類 ユーグレナ 周年培養 連続培養 増殖速度 二酸化炭素濃度 藻油

1. 研究開始当初の背景

(1) バイオマスエネルギーの中でも微細藻類は、BDF (Bio Diesel Fuel バイオディーゼルフリーエル: バイオ燃料) の合成が可能であり、石油代替エネルギーとして期待が高まっている。さらに、微細藻類は二酸化炭素を吸収する、食料と競合しない、他のバイオマスよりも生産効率が高いなどといった利点が挙げられる。

(2) 微細藻類の生産技術で欧米に大きく出遅れている我が国では、寡少日射・寒冷地域でも効率的に増殖させる技術を開発し、全国的規模で展開することが喫緊の課題である。

(3) 本研究では、BDF の原料となる微細藻類を寡少日射・寒冷地域においても周年・効率的に生産するために、培養システムのフィージビリティ・テストを行う。

2. 研究の目的

(1) 上記背景に鑑み、本研究では微細藻類のための効率的培養空間 (フォトバイオリアクター) を製作し、寡少日射・寒冷地域で藻類の周年・大量培養、増殖速度の最適制御を行うための基礎技術を開発する。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、培養容器、収穫容器、減圧容器及び培地供給容器をフィルターとチューブを介して繋ぐことで、連続的に培養を行える装置を構築した。供試材料として微細藻類であるユーグレナ (*Euglena Glaciris*) を用いた。

(2) 培養液中の微細藻類個体数または乾燥重量を濃度として評価した。自動細胞カウント装置 (Cellometer Auto T4 Plus) を使用し、個体数の測定を行った。また、培養液を吸引・濾過・乾燥させて、藻類の乾燥重量を求めた。

(3) ユーグレナの油脂抽出は、Bligh-Dyer 法によって遠心分離機およびエバポレーターを用いて行い、ユーグレナは、濃度 4×10^5 個/ml の培養液 100 を使用した。

(4) 寡少日射・寒冷地域における藻油産生微細藻類の周年培養システムの可能性について、低温での培養法を検討した。

4. 研究成果

(1) 藻類個体数の非破壊推定法

近赤外分光分析法によるスペクトルデータの解析から、個体数はクロロフィル a との

相関が高いことがわかった。藻類個体数を予測する重回帰式の作成において、クロロフィル a の吸収波長である 679nm を説明変数の第 1 波長として選択し、第 2 波長以降を変数増減法により選択した。その結果、高い予測精度 (予測標準誤差 SEP = 74461) での藻類個体数検量線が得られた (図 1)。

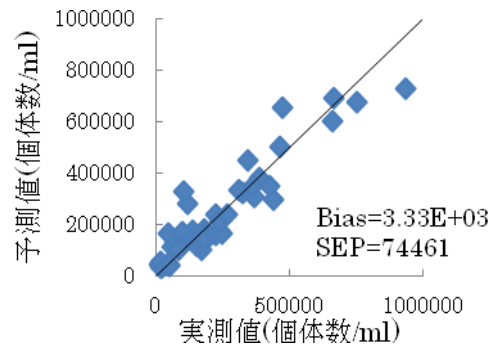


図 1 藻類個体数の予測値と実測値

(2) 藻類乾燥重量の非破壊推定法

藻類の乾燥重量についても、近赤外分光分析法の変数増減法により波長を選択し、重回帰式を作成した。その結果、高い精度 (SEP = 0.0769) での乾燥重量検量線が得られた (図 2)。さらに、乾燥重量と個体数との関係から回帰直線を作成した (図は省略)。その結果、 $R^2=0.9124$ と高い値を得た。これらから、個体数から乾燥重量を推定することが可能になると期待される。

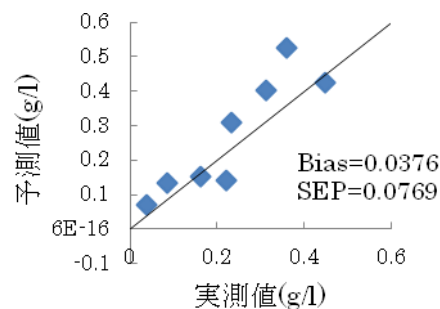


図 2 藻類乾燥重量の予測値と実測値

(3) 温度別の連続培養実験

連続培養時の藻類個体数の経日変化を図 3 に示す。同図から、培養温度 15 での増殖速度は遅いが、培養温度 25 と同程度まで濃度が上昇していることがわかる。すなわち、15 温度条件においても培養が可能であることがわかった。また、バッチ培養と連続培養における収穫可能個体数の比較を図 4 に示す。同図から、本研究で構築した連続培養システムは収穫能力が高く、クローズドシス

テムであることから、外部よりコンタミネーションがなく、安定的に収穫できることが示された。

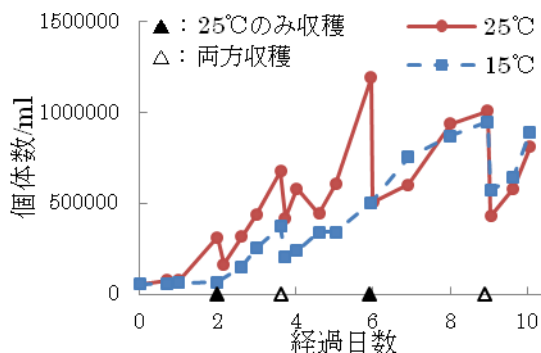


図3 連続培養時の藻類個体数の経日変化

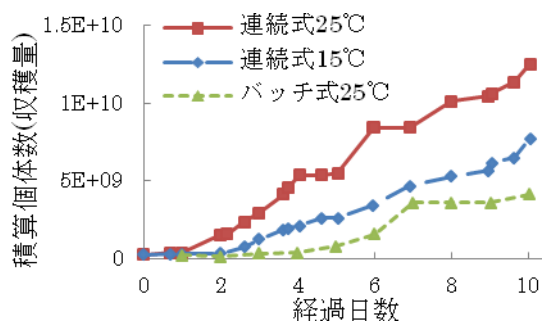


図4 連続およびバッチ培養の積算個体数の経日変化

(4) 連続培養時の二酸化炭素添加の効果

CO₂ を添加することで標準培地以上の個体数が得られた。通気するCO₂濃度を10~15%、30~35%に調製して添加した場合と実験室内の通常の空気を添加した場合を比較すると、個体数に大きな違いは見られなかった。しかし、倍加時間ではCO₂濃度10~15%が最も速い結果となった。濃度100%のCO₂を添加する場合、通常の空気も添加することで4日目まで対数増殖期の維持が可能となった。

(5) 培養速度に及ぼす培養器内残留空間の容積の影響

バッチ式培養において、培養器容積に対する上部残留空間(ヘッドスペース)の割合が増殖速度に及ぼす影響について検討した結果、残留空間割合56%では対数増殖期が見られたものの、残留空間割合78%と同12%では明確な対数増殖期が見られなかった。特に、78%区の増殖速度は他の空間割合のそれより著しく劣り、残留空間の割合も影響していることが示唆された(図5)。

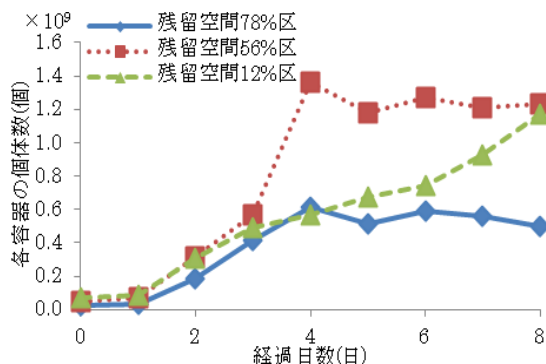


図5 培養器内の個体数の経日変化

5. 主な発表論文等

[著書](計1件)

中野和弘・大橋慎太郎、微細藻類の大量生産・事業化に向けた培養技術 - 積雪寒冷地域における微細藻類の培養とバイオ燃料生産 -、情報機構、138-146、2013

[雑誌論文](計2件)

前川孝昭・中野和弘・大橋慎太郎、寒冷地の微細藻類培養における伝熱問題と微細藻類由来バイオ燃料の製造、伝熱、52巻、38-43、2013

中野和弘・大橋慎太郎・神香純・宮下涉、近赤外分光法による微細藻類培養時の収量予測に関する基礎的研究、新潟大学農学部研究報告、65巻、93-97、2012

[学会発表](計2件)

細川薫・中野和弘・大橋慎太郎・滝沢憲一、分光分析法によるユーグレナの産生物質(パラミロン)の検出に関する研究、2014年度農業施設学会大会、2014年8月28日、神戸大学(神戸市)

木村孝平・中野和弘・大橋慎太郎・谷口豪、微細藻類の連続培養に関する研究、2013年度農業施設学会大会、2013年8月30日、岐阜大学(岐阜市)

[図書](計 件)

[産業財産権] 出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 和弘 (NAKANO, Kazuhiro)
新潟大学・自然科学系・教授
研究者番号：70188994

(2) 研究分担者

大橋 慎太郎 (OHASHI, Shintaro)
新潟大学・自然科学系・助教
研究者番号：70452076

滝沢 憲一 (TAKIZAWA, Ken-ichi)
新潟大学・自然科学系・研究員
研究者番号：60730132

中野 隆之 (NAKANO, Takayuki)
鹿児島純心女子大学・看護栄養学部・教授
研究者番号：30155783

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

木村 孝平 (KIMURA, Kohei)
新潟大学・自然科学研究科・大学院生

細川 薫 (HOSOKAWA, Kaoru)
新潟大学・自然科学研究科・大学院生