

琉球大学学術リポジトリ

[報文]太陽光・人工光を複合利用した通気攪拌培養システム(光バイオリアクター)による藍藻類の多段式連続生産：第2報

人工光使用による通気攪拌培養槽での藍藻類、*Spirulina platensis*の増殖特性

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 川崎, 聖司, 小原, 浩, 儀部, 茂八, 金城, 清郎, KAWASAKI, Seisi, OBARA, Hiroshi, GIBU, Sigehachi, KINJOU, Seiro メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016526

報 文

太陽光・人工光を複合利用した通気攪拌培養システム
(光バイオリアクター)による藍藻類の多段式連続生産第Ⅱ報 人工光使用による通気攪拌培養槽での藍藻類、
*Spirulina platensis*の増殖特性

川崎聖司*, 小原 浩**, 儀部茂八**, 金城清郎***

(*兵庫県立姫路短期大学, **財団法人 地域産業技術振興協会, ***沖縄県農業試験場)

Multistage Continuous Production of Blue-Green Algae by the Stirred Tank Photobio-
reactor System with Conjugated Utilization of Sun and Artificial Light(II) Growing Characteristics of Blue-Green Alga, *Spirulina platensis*, in the Stirred
Tank Photobioreactor with Artificial Light

Seisi KAWASAKI*, Hiroshi OBARA**, Sigeachi GIBU** and Seiro KINJOU***

*Himeji College, Himeji, Hyougo 670, **Foundation of Regional Industry and Tech-
nology Promotion Association, Matsuyama, Naha, Okinawa 900, ***Agricultural Expe-
rimental Station, Sakiyama, Naha, Okinawa 903

In order to develop a highly effective system for the production of blue-green algae, a three-step series culture installations equipped with natural light/artificial light conjugated transmitter was manufactured by way of trial and *Spirulina platensis* was cultured therein. Further various factors affecting the growth properties were paralelly examined on a laboratory scale.

In a test culture with culture flask, the addition of approximately 5 ppm of growth promoters such as uracil or kinetin to the basic medium elevated the yield of the algae by 5 to 20%.

As the result of a single-tank batch culture (350 l) in the trial installation by using artificial light from 15 fluorescent lamps, the cell concentration increased 5 times as much to give an absorbance of approximately 1 (0.4 to 0.5g/l of dry matters) about 6 days after the initiation of the culture. In the case of three-step continuous culture (1200 l) under artificial light from 32 fluorescent lamps and 12 halogen lamps, the absorbance of the final tank was maintained at a level of approximately 1 during this period, though unstationarily. Thus the efficiency of the present system was evaluated approximately 2.4 times as high as that achieved by a conventional open-pool system of commercial plant on a volume productivity basis.

* 〒670 兵庫県姫路市新在家本町1-1-12

** 〒900 沖縄県那覇市松山2-2-4

*** 〒903 沖縄県那覇市崎山4-222

緒 言

著者らはスピルリナ（藍藻類）を対象として、自然光・人工光併用培養槽を用いる連続生産システム（光バイオリクター）の開発を目的としてモジュールプラントを設計試作し、その性能試験ならびに改良を行ってきた²⁾。また、並行して実験室レベルでの増殖特性についても検討を加えた。ここでは、本装置を使用して回分・連続培養試験を行い、これまでに得られた成果を中心に報告する。

装置および実験法

培養試験には藍藻類のうちスピルリナ属 (*Spirulina*) として分類されている *Spirulina platensis* を用いた。

実験室規模での増殖特性の把握には蛍光灯照射下において通常の培養フラスコ（ルー氏フラスコ、容量約300ml）での通気培養によって行った。

Table 1. Component of Basal Medium.

		(g/litter)	
NaHCO ₃	16.80	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.20
K ₂ HPO ₄	0.50	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.04
NaNO ₃	2.50	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01
K ₂ SO ₄	1.00	EDTA	0.08
NaCl	1.00		

培養液の組成はTable 1 に示す溶液（以下基本培地）を用い、これに他の化合物を加えて藻体の成長促進効果を調べた。

藻体濃度の測定には培養液の吸光度（濁度、OD 560nm）により概算する方法（フラスコ培養では乾物重量0.5g/lが吸光度1に相当）と培養液を口過、洗浄後乾燥して恒量を求める方法を併用した。

スピルリナ（藍藻類）の大量培養には自然光人工光複合伝送拡散機構を備えた3段式直列培

養装置（1基の有効培養液量約400ℓ）を用いた。本装置は流路の変更により単槽独立での回分・連続運転の他、3槽連続培養試験も可能である。また、付帯設備として培養液の温度制御のための熱・冷熱供給装置、通気攪拌のために二酸化炭素を含む混合ガスを送る混合ガス供給装置、培養液調製供給装置、各種計測機器、制御装置等を配置した。本システム（モジュールプラント）の詳細については前報²⁾を参照されたい。尚、ここでは主に培養槽内に設置した蛍光管（ナショナルパルック、FL40SS-EX 137, 32W, 28φ×1198mm）20本およびハロゲンランプ（EKE, 21V, 150W）12個による人工光での試験結果を報告する。また、実験条件の詳細については後述のとおりである。

実験結果および考察

1. 培養フラスコでの試験

(1) 培養液の組成

培地成分の変化が増殖特性に及ぼす影響を調べるため、培養フラスコを用いて各種化合物を添加した。

1) 主要炭素源の影響

スピルリナ属は偏性光合成独立栄養生物として知られているが、通常、炭素源として二酸化炭素の他に有機化合物も資化することが認められている。小川⁴⁾は明暗2種の条件下で培養試験を行い、スピルリナが光合成従属栄養生物としての性格を有しておりグルコースを添加した場合の効果について報告している。このことは少なくとも光が増殖に律速的な因子として作用する場合での炭素源の適切な選択によって増殖が増大され、あるいは有機化合物が光量の不足を補う代謝系を有していると示唆される。

光と有機性基質を同時に与える培養様式において、有機化合物の添加は弱光下や直線増殖期のような細胞濃度が高い時など光が律速的な条件で有効とされている^{1), 4), 6)}。

藍藻類の増殖に必要な炭素源としてまず考えられるのは二酸化炭素^{5), 7)}であり、通気培養時のpH調整の役割もになっている。その他

の炭素源の影響を調べるため、酢酸、酢酸ナトリウム、クエン酸、クエン酸ナトリウム、ギ酸、エタノール、グルコース、重炭酸ナトリウムについて検討した結果、このうち重炭酸ナトリウムが最も効果的であった。

2) 窒素源の影響

多くの藍藻は最も簡単な栄養要求を示す生物で、十分な光条件下で無機培地中二酸化炭素を炭素源とし、窒素分子を窒素源として生育することができる。通気培養中には空気中の窒素は一部培養液中に溶解するものと考えられるが、その他の窒素源として硝酸態窒素、アンモニア態窒素を添加して試験をおこなった。その結果、硝酸態窒素が効果的に作用し、アンモニア態窒素は抑制的であった。

3) 無機塩の影響

無機塩類のうち塩化ナトリウムは濃度が0.1～0.5%では良好な増殖効果が得られたが、それ以上では阻害的に作用した。栄養塩類の補給については、硝酸塩、リン酸塩が培養初期に消費される傾向がみられたので、培養の状態によっては再添加の必要があった。藻体の退色防止には硝酸塩が有効であった。

4) その他の成長促進物質の影響

アミノ酸の効果については、L-グリシン、L-リジン、L-チロシン、L-グルタミンを培養液に各々5 ppm添加して試験をしたが効果はみられず、むしろL-リジンでは藻体収量が無添加区に比較して10%程度低下した。

核酸関連物質のうちオロチン酸、ウラシル、キサンチンを各々5 ppm添加した場合、ウラシルで5～10%の収量増加がみられたが、キサンチンでは逆に低下する傾向が認められた。

植物成長促進ホルモンであるカイネチンを0.5～10.0ppm添加した場合、10% (0.5ppm添加)、20% (1.0ppm)、25% (5.0ppm)、20% (10.0ppm)の収量増加が得られた。

ビタミンB₁₂は0.5～10ppmで効果があり、25ppm以上では阻害作用が現れてきた。

(2) 至適 pH の範囲

スピルリナは熱帯地域の湿地帯、塩湖に自生しアルカリ側で増殖する。小川⁴⁾は独立栄養

条件下で回分培養を行い、藻体濃度の増加とともに培養液のpHが高アルカリ側に移動シフトし⁸⁾初発pHと比増殖速度の関係はpH8～10.5でpHに依存せず、それ以上では生育が抑制されることを報告している。著者らも実験室での試験で同様な結果を得、pHを酸で低下させると増殖速度が回復(直線増殖期の延長)することを認めた。培養に際して、高アルカリ側(約pH10.5以上)ではpHの制御が必要であろう。

(3) 温度

熱帯原産の藻類は比較的高温域を好み³⁾、最適温度域は30～40℃とされている。実験室での培養試験でも同様な結果を得たが、40℃以上の長時間の培養は藻体の死滅をもたらした。

2. モジュールプラントでの試験

(1) 人工光源による回分培養

人工光源での増殖特性を検討するため、槽内蛍光管およびハロゲンランプの点灯本数を変化させて単槽での実験を行った。

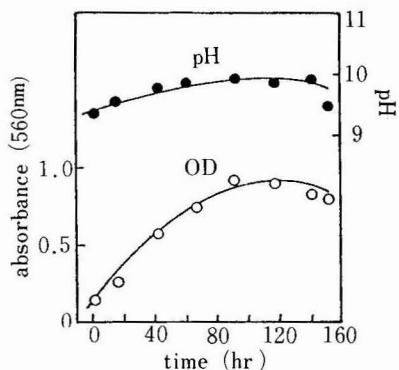


Fig. 1. Effect of 20 Fluorescent Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in Batch Culture.

1) 蛍光管

Fig. 1に20本点灯時の吸光度とpHの経時変化を示した。その他の条件は以下のとおりである。設定温度:37℃、培養液:水道水希釈による基本培地360ℓ、種藻濃度:初発吸光度OD0.150、pH制御法:pH10.5以上で二酸化炭素ガス供給/初発pH9.37、通気量:空気圧縮機により70ℓ/min供給。培養状態については1日～2日目での増殖が著しく、吸光度は40時間後で

0.59, 90時間では0.92に達したが, 5日目あたりから低下する傾向がみられた. pHは4日目までは上昇傾向が確認されたが, それ以降は一定ないし漸減した. 装置の一部作動不良にも起因していると考えられた.

つぎに点灯本数を15本にして培養を行った.

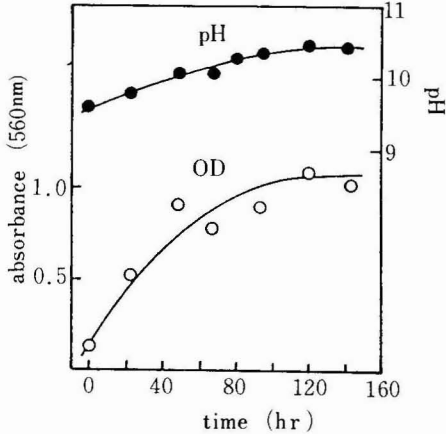


Fig. 2. Effect of 15 Fluorescent Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in Batch Culture.

結果をFig. 2に示した. その他の条件は以下のとおりである. 設定温度: 37°C, 培養液: 同上 350ℓ, 種藻濃度: 同上OD 0.140, pH制御法: 同上初発 pH 9.67, 通気量: 50ℓ/min. 初期の培養状況は, 20本点灯時 (Fig. 2) と同様に順調な藻体の増殖がみられた. 特に90時間以降は15本の場合のほうが高い吸光度を維持していた. pHシフトも順調で培養2日目で10を越え, 5日目では10.5近くまで上昇した. 6日目には多少低下したので培養を中止, 藻体を口過回収したが口液の汚濁は少なく清澄であった. 培養開始後2日目頃に液面上部での気泡発生が著しくなったので少量の水で消泡したが, 5日目から再び増加した.

さらに点灯本数を12本に減らして培養を行った. Fig. 3に結果を示した. 条件は以下のとおりである. 設定温度: 35°C, 培養液: 同上410ℓ, 種藻濃度: 同上OD 1.11, pH制御法: 同上初発 pH 9.67, 通気量60ℓ/min. 同図のように15本点灯の場合よりも全般的に生長速度が低下しており, 特に初期の吸光度は緩慢であった. しか

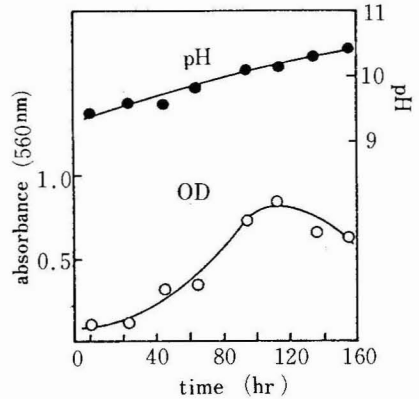


Fig. 3. Effect of 12 Fluorescent Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in Batch Culture.

しながら, 3~4日目で15本とほぼ同水準にまで回復した.

点灯本数10本で培養した結果をFig. 4に示し

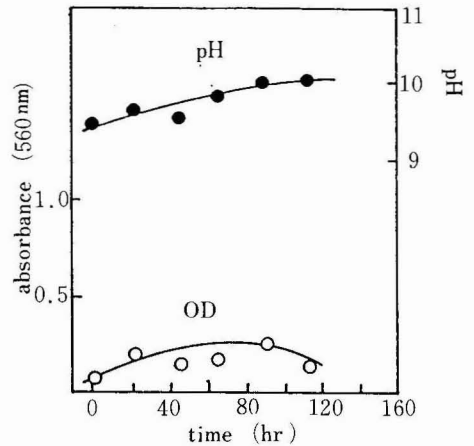


Fig. 4. Effect of 10 Fluorescent Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in Batch Culture.

た. 条件は以下のとおりである. 設定温度: 35°C, 培養液: 同上350ℓ, 種藻濃度: OD 0.09, pH制御法: 同上初発 pH 9.50, 通気量: 60ℓ/min. 培養期間を通して吸光度は0.3以下であり, 12本よりも更に増殖速度が低下した. 吸光度のピークは開始後約60~80時間頃にみられ, 20, 15,

12本の場合の同約120時間以上よりもはるかに短期間で藻体の自己溶解, 雑菌の繁殖等が観察された。このことは泡沫の発生状況とも関連し, 3日目あたりから異常な増加が認められた。培養液の色調も緑色から黒褐色へと変化していった。

2) ハロゲンランプ

ハロゲンランプ12本を点灯して石英ロッドの先端に光束を導入し, 同様の試験を行った。

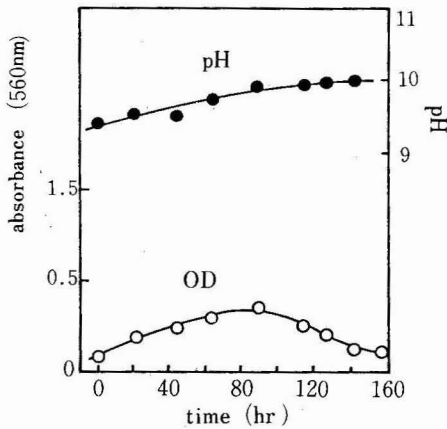


Fig. 5. Effect of 12 Halogen Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in Batch Culture.

Fig. 5にその結果を示した。条件は以下のとおりである。設定温度: 35°C, 培養液: 同上350l, 種藻濃度: OD 0.10, pH 制御法: 同上初発 pH 9.40, 通気量: 60l/min. 増殖特性は, 蛍光管10本の場合より増加傾向にあるものの12本より低下していた。藻体濃度は4日目にはほぼ最大に達し, 以後は減少していった。

(2) 人工光源による3槽連続培養

第1, 第2, 第3槽で各々独立に回分培養を行い, 所定濃度に達した後にこれらを直列に連結した。条件は以下のとおりである, 設定温度: 各槽30°C, 培養液: 同上, 各槽400l計1200l, 種藻濃度: 開始時OD, 第1槽0.313, 第2槽0.395, 第3槽0.765, pH 制御法: 同上, 開始時 pH 第1槽9.69, 第2槽9.66, 第3槽9.77, 通気量: 各槽50l/min, 光源: 第1槽ハロゲンランプ12本, 第2槽蛍光管12本, 第3槽蛍光管20

本, 希釈率: 3.5l/hr. 各槽における培養期間中の経時変化をFig. 6に示した。第1槽では, 吸

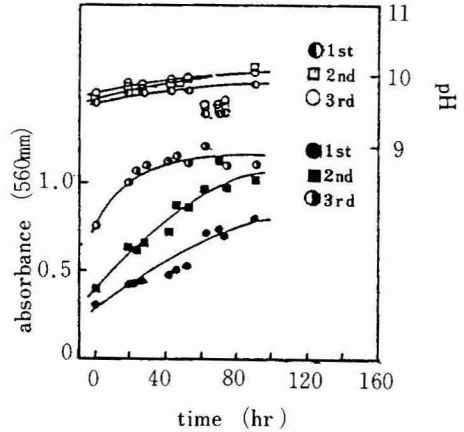


Fig. 6. Effect of Different Lamps on the Growth and pH of *Spirulina platensis* in 3 Stage Continuous Culture:

- 1st tank: 12 Halogen Lamps
- 2nd tank: 12 Fluorescent Lamps
- 3rd tank: 20 Fluorescent Lamps

光度が培養日数の増加とともに上昇しており, 藻体の増殖が認められた。第2槽でも同様に吸光度が増加しており, それにともなって pH シフトが観察された。第3槽では, 開始後約1日目で吸光度が1に達し, 以後はほぼ横ばいか多少増加する傾向が続いた。pHの変動は9.5~10.0の範囲にあり培養試験の後期では藻体濃度にのみ限り定常状態にあると考えられた。このように実験期間中第1, 2槽では非定常状態にあり, 比増殖速度が比較的高水準に維持されている。第3槽出口からの培養液に含まれる藻体の乾物換算重量は0.35~0.45g/lであった。また, 全般的に本モジュールプラントでの一連の実験では最も高い吸光度を得ることができた。今後, このような定常状態に到達するまで培養期間を維持させる技術が必要となるし, この目標達成により長期間の安定した生産が可能となる。

3. 性能評価および課題

モジュールプラントの温度管理は自動制御による温・冷水循環機構により一定に保持されるよう設計・製作した。また, 万一制御機構に異

常が生じて、培養に支障のないようマニュアル操作をも可能なようにした。その結果、培養期間中の温度変動の幅は初期を除けば手動、自動いずれの場合でも設定値からのずれは±2～3℃の範囲に維持されており、槽内が完全混合状態にあるとすれば藻体の増殖特性に重要な影響を及ぼしているとは考えられない。一方、絶対的な光量不足の場合、培養経過につれて、藻体が槽内の構造部位、特に突起物、蛍光管や石英ロッドを保護するアクリルカバー外壁あるいは温度制御用の熱交換パイプといった光源、熱源部分に付着する傾向が観察された。このような状態にある藻体は死滅、分解していることが多く、ひいては培養液の汚染、光量低下から増殖速度の減少をもたらし、連続培養時の最大稼働日数を圧迫することになる。今後、藻体の付着に対する対策を図る必要がある。

人工光線と増殖特性との関係は前述のとおりであったが、これを含めて太陽光（自然光）、人工光（蛍光管、ハロゲンランプ）について以下の組合せによりその特性を検討した。

- a. 太陽光集光, 光ファイバー/石英ロッド伝送
- d. 太陽光集光, ハロゲンランプ併用, 光ファイバー/石英ロッド伝送
- c. 太陽光集光, 光ファイバー/石英ロッド伝送および蛍光管放散
- d. 太陽光集光, ハロゲンランプ併用, 光ファイバー/石英ロッド伝送および蛍光管放散
- e. ハロゲンランプ, 石英ロッド伝送
- f. ハロゲンランプ, 石英ロッド伝送および蛍光管放散
- g. 蛍光管放散

その結果、a. に関しては太陽追尾機構、集光・伝送システムの改良により伝送効率の向上がなされたが、光ファイバーの伝送効率は予想よりも低く、また石英ロッドの伝送・放散率も含めた場合、試算によってはパラボラ型集光装置から得られた光量の約3割程度が槽内で放散されることになった。これを補完するためにはさらに大型の集光装置の開発と高効率な伝送・放散技術について検討していく必要がある。

b. についても太陽光導入時における光量の不足分をハロゲンランプ、石英ロッド伝送によって補完する培養形式を採用することになるが、e. のハロゲンランプ、石英ロッド伝送のみの実験結果 (Fig.5, 12本点灯) に示されるように、現在使用しているハロゲンランプでは蛍光管と比較すると寿命、光量、価格とそれにみあう経済性を加味した培養効率は今光学技術では達成されていない。

従って、自然光と併用する人工光としては蛍光管を用いた c. の組合せの方が槽内に占める光放散部分の単位容積あたりの実効効率は優れていると考えられる。また、太陽光利用については別のシステム、例えば光ダクト方式も含めて今後の研究開発過程でその特性を明かにする必要がある。

増殖速度の向上、生産効率の増大と装置・システムの改良とは不可分の関係にある。大型試験装置の特徴として、実験室での小規模培養の結果がスケールアップにそのまま反映できない場合もみられたが、試験回数の増加とともに多くの知見が得られるようになった。

モジュールプラントにおける実験結果を総合すると、現在のレベルでの容積生産性はオープンプール方式に比較して約2.4倍の効率を有するとの試算がなされた。培養条件の選定、光源の導入技術、藻種の選択などに今後とも改善を要するが、これら対策の実施により容積生産性はさらに拡大するものと期待される。

要 約

藍藻類の高効率生産システムの開発を目標として、自然光集光・人工光複合伝送拡散機構を備えた3段式直列培養装置を試作改良し、スピルリナ (*Spirulina platensis*) の培養試験を行った。また、並行して増殖特性に及ぼす諸因子についても実験室規模での検討を加えた。

培養フラスコによる試験培養では、基本培地とされている成分の他に生長促進物質としてウラシルやカイネチンを5 ppm程度添加することにより収量が5～20%増加した。

試作大型装置を用いた人工光（蛍光管）での単槽回分培養の結果、開始後約7日で藻体濃度

は吸光度が1程度(乾物量0.4~0.5g/l)まで増加した。人工光(蛍光管, ハロゲンランプ)による3槽連続培養でも, 非定常状態ながら同期間中に最終槽は吸光度1前後を維持していた。これらの成績を容積生産性の点で既存のオープンプール方式と比較すると約2.4倍の効率を有すると試算された。

謝 辞

本報告は, 財団法人地域産業技術振興協会等が財団法人機械システム振興協会の委託を受けて実施中の「藍藻類生産システムの開発に関するフィージビリティスタディ」の成果の一環であります。この研究の実施にあたっては同協会の藍藻類生産システム分科会(委員長: 軽部征夫東京大学教授)委員各位にご指導をいただきました。ここに慎んで関係各位に謝意を表する次第であります。

参考文献

- (1) Endo, H., Hosoya, H. and Koibuchi, T. (1977): Growth Yields of *Chlorera regularis* in Dark-heterotrophic Continuous Cultures Using Acetate, *J. Ferment. Technol.*, **55**, 369-379.
- (2) 川崎聖司, 小原 浩, 儀部茂八, 金城清郎 (1988): 南方資源利用技術研究会誌 **4** (1)
- (3) Goldman, J. C. (1977): Biomass Production in Mass Cultures of Marine Phytoplankton at Varying Temperatures, *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **27**, 161-169
- (4) 小川隆平: 藍藻 (*Spirulina platensis*) による光合成培養の培養工学的研究, 学位論文, 大阪大学
- (5) Ogawa, T. and Aiba, S. (1978): CO₂ Assimilation and Growth of a Blue-green Alga, *Spirulina platensis*, in Continuous Culture, *J. appl. Chem. Biotechnol.*, **28**, 515-521.
- (6) Ogawa, T. and Aiba, S. (1981): Bioenergetic Analysis of Mixotrophic Growth in

- (7) Richmond, A., Krag, S. and Boussiba, S. (1982): Effects of Bicarbonate and Carbon Dioxide on the Competition between *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*, *Plant & Cell Physiol.*, **23**, 1411-1417.
- (8) Yanagimoto, M., Saitoh, H. and Kakimoto, N. (1983): Alkaline Shift Effect on the Uptake of Germanium by Algae, *Chlorella ellipsoideae*, *Oscillatoria sp.* and *Spirulina platensis*, *J. Ferment. Technol.*, **61**, 233-238.