

II-154 ChlorellaによるCO₂固定と生成有機物について

東北電力(株) 正員 ○石崎正志
岩手大学工学部 正員 大村達夫 海田輝之 相沢治郎

1.はじめに

藻類の大量培養は食品化や下水の三次処理の利用など様々な観点から研究の対象となっている。中でも、近年関心が向けられている大気中の二酸化炭素の増加における環境問題を藻類を用いて抑制していくとする動きがみられている。そこで本研究においては、緑藻類のChlorella vulgarisを実験室内で無菌的に回分培養を行い、CO₂固定に伴う細胞内生成有機物および培養液中における細胞外代謝有機物の評価を行った。

2.実験装置および方法

2.1 藻類培養装置および培養条件

藻類の培養は図-1に示す装置を用い、表-1に示す培養条件で行った。また、使用した培地はChu培地中の無機炭素源であるNa₂CO₃を除いた改変培地を用いた。

2.2 CO₂固定実験における装置および条件

CO₂固定実験では前節で示した装置および条件で培養されたChlorellaを各生長段階において、図-2に示すような装置に移しかえ、そこにCO₂を吹き込み、密閉48時間後の装置内におけるCO₂濃度の変化を調べた。ただし、Chlorellaの呼吸活動によるCO₂の発生を抑え、CO₂濃度の減少を観測しやすくするために光の照射時間を12/12時間明暗培養から24時間明培養に変え、さらに攪拌をスターラーに変えた。また、温度変化によるCO₂固定への影響を調べるために固定時の温度を25°Cと5°Cの2種類について行った。

2.3 分析装置および分析条件

- (1)藻類量；藻類量の指標としてクロロフィルaを用いた。また、Thomaの血球計算盤を用いてChlorellaの計数も行った。
- (2)総有機炭素量(TOC)および無機炭素量(IC)；培養液中の総有機炭素量(TOC)および無機炭素量(IC)はSHIMADZU TOC-5000を用いて測定した。また、CO₂固定実験における気相部分のCO₂濃度はガスクロマトグラフィーを用いて測定した。
- (3)藻体成分；細胞内の脂質の定量はクロロホルム-メタノール混液による抽出法によって行った。また、タンパク質はLowry法によって定量した。

3.実験結果および考察

3.1 生長過程

図-3にChlorellaの生長曲線を示している。植種後約3日の遅滞期を経て対数増殖し、それ以後定常期、減衰期へと移行した。また、培養液中のTOCも生長過程が進むに連れて増加した。

3.2 CO₂固定

48時間の密閉系における装置内の気相および液相中のCO₂の減

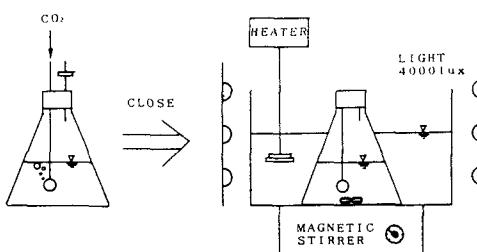
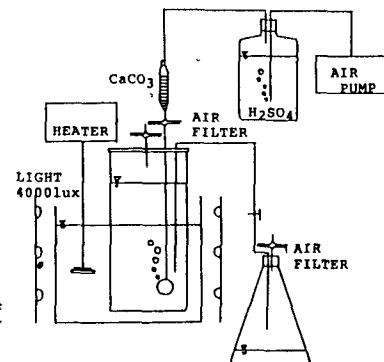
図-2 CO₂固定実験装置

図-1 藻類培養装置

表-1 培養条件

培養槽	容量9.6(l)の混合培養槽
照度	4000(lux)で12/12明暗培養
温度	恒温槽により25(°C)に保持
混合	無菌空気で曝気

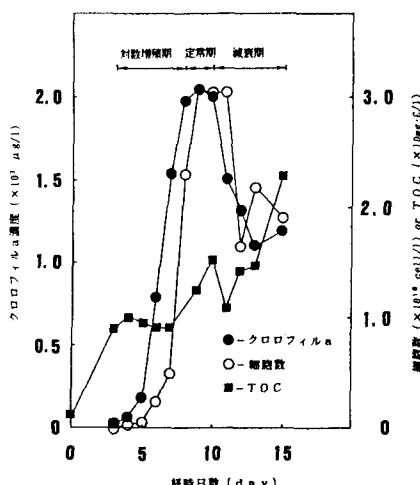


図-3 生長曲線

少量の合計量が*Chlorella*による全CO₂固定量と考えられる。表-2は25℃と5℃でのCO₂固定実験後のICの減少量および全CO₂固定量を示している。また、表-3には単位藻体あたりのCO₂固定量の変化を示している。これらより、25℃での固定実験においては各生長段階における全CO₂量の約70~77(%)が固定されたが、5℃においては固定量割合がそれぞれ減少した。しかしながら、対数増殖期と定常期における全CO₂固定量はそれぞれ温度差による影響がなく、ほぼ同じ値を示した。また、減衰期については温度差による明かな全CO₂固定量の減少がみられ、藻体の抵抗力の低下が顕著に現れた。さらに、単位藻体あたりのCO₂固定量は25℃と5℃の両方において対数増殖期における値が最も大きく、生長過程が進行するに連れてCO₂の固定化量が低下していくのが分かる。このことは*Chlorella*の生長過程における活性能の違いと培地組成の差異に起因するものと考えられる。

3.3 生成有機物

(1)細胞内生成有機物；表-4は*Chlorella*の各生長段階における藻体成分の比率と25℃および5℃でのCO₂固定後の成分比率の変化を示したものである。これより初期値については脂質は生長過程が進行するに連れて増加するが、一方タンパク質は減衰期になると減少するのが分かる。また、その初期値とCO₂固定後を比較すると、脂質については減衰期における25℃での固定実験において少し割合が減少したものの他の場合については全て増加した。またタンパク質に関しては、25℃の時に全ての生長段階において固定後増加した。さらに25℃と5℃におけるCO₂固定後の比率を比較をすると、脂質の5℃での固定実験における値が25℃での値よりも全ての生長段階において上回っていることから、温度を下げるこによって藻体の脂質の割合が増加することが分かった。特に対数増殖期においては初期値の約1.5倍もの大きな増加がみられた。

(2)細胞外代謝有機物；表-5はCO₂固定前後における培養液中のTOCの変化を示したものである。これより25℃での固定実験に関してはCO₂固定前後においてTOCはほぼ一定であったが、5℃については全ての生長段階において固定後増加した。したがって、25℃での固定実験においては光合成で固定されたCO₂が藻体から有機炭素として排出はされなかったが、5℃においては温度を下げるこによる藻体の自己分解が原因となってTOC濃度が増加したと思われる。

4. おわりに

48時間の密閉系におけるCO₂固定実験において、*Chlorella vulgaris*は全CO₂量の約70~77(%)を固定し、温度を5℃に下げた場合においても対数増殖期および定常期においては25℃の時と同様なCO₂固定量を示した。また、単位藻体あたりのCO₂固定量は対数増殖期において最も大きいものであった。さらにCO₂固定によって藻体成分の比率の変化がみられ、脂質、タンパク質の比率の増加がみられた。特に温度を5℃に下げた場合の脂質の割合は25℃の時よりも大きいものであった。また、*Chlorella vulgaris*からの有機炭素の排出は25℃の固定実験ではみられなかったが、5℃に下げた場合は自己分解が原因と思われる有機炭素の増加がみられた。

表-2 CO₂固定実験後のICの減少量および全CO₂固定量

		対数増殖期		定常期		減衰期	
		25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)
IC (mg·C/l)	液相	39.705	43.626	40.552	37.808	22.363	3.677
	気相	0.679	1.408	0.976	1.370	0.541	4.712
	全減少量	40.384	45.034	41.528	39.178	22.904	8.389
IC初期値(mg·C/l)		52.308	91.409	58.924	70.277	31.201	21.177
全CO ₂ 固定量(mg·C)		64.412	72.054	66.279	62.685	36.601	7.869
CO ₂ 固定量割合(%)		77.2	49.3	70.5	55.7	73.4	39.6

表-3 単位藻体あたりのCO₂固定量の変化

	対数増殖期		定常期		減衰期	
	25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)
全CO ₂ 固定量(mg·C)	64.412	72.054	66.279	62.685	36.601	7.869
細胞数($\times 10^{10}$ cell)	0.79~0.98	0.64~0.56	4.85~3.27	4.22~3.18	3.48~3.12	6.12~2.96
単位藻体当たりのCO ₂ 固定量($\times 10^{-9}$ mg·C/cell)	6.57~8.15	11.3~12.9	1.37~2.03	1.49~1.97	1.05~1.17	0.13~0.27

表-4 各生長段階での成分比率における初期値とCO₂固定の比較

	対数増殖期		定常期		減衰期	
	初期値	CO ₂ 固定		初期値	CO ₂ 固定	
		25(℃)	5(℃)		25(℃)	5(℃)
脂質(%)	30.6	31.3	43.8	34.2	41.7	42.1
タンパク質(%)	40.8	45.7	51.1	46.7	54.4	39.1
その他(炭水化物など)(%)	28.6	23.0	5.1	19.1	3.9	18.8
				1.49~1.97	18.4	6.3
					16.2	

表-5 CO₂固定前後におけるTOCの比較

	対数増殖期		定常期		減衰期	
	25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)	25(℃)	5(℃)
CO ₂ 吹込み前のTOC(mg·C/l)	9.709	5.639	15.261	6.987	14.661	18.073
CO ₂ 固定後のTOC(mg·C/l)	8.826	5.972	14.267	9.061	10.240	23.253