

メタン発酵消化液利用による微細藻ヘマトコッカスの培養に関する検討

(株)大林組 正会員 ○山本縁、正会員 千野裕之
 正会員 大島 義徳、小川幸正
 東京薬科大学 佐藤 諒、都筑幹夫

1. はじめに

持続可能な社会に向けた取り組みの一環として、我々はメタン発酵処理技術の向上による廃棄物からのエネルギー回収や廃棄物の減容化に努めてきた。メタン発酵処理後に排出される消化液のうち、脱水ろ液は廃水処理施設で処理されることが多い。そこで、排出される消化液を微細藻類の培養液として利用できないか検討してきた^{1), 2)}。これまでの試験で、クロレラはメタン発酵消化液を 1/6~1/10 に希釈し、簡易ろ過することにより藻体が良好に生育することがわかった²⁾。そこで、我々は同じ緑藻であるヘマトコッカスに着目した。ヘマトコッカスは、抗酸化作用を持つアスタキサンチンを生産する藻類であり、赤色の色素は魚の色揚げに利用されるなど、有用性が期待される。しかし、クロレラに比べ増殖速度が遅く、環境の変化により形態が変化するなど培養が難しい。本報では、ヘマトコッカスにおいても消化液で良好に培養が可能であるかを調査した。

2. 消化液培地の最適利用条件の検討

ヘマトコッカスの培養液として消化液を利用するための最適条件を調査した。メタン発酵消化液はメタン発酵施設より入手した。前処理として消化液を 0.1mm 目の金網フィルターで簡易ろ過し、不純物を取り除いて試験に供試した。消化液の性状を表 1 に示す。希釈濃度は 1/3~1/25 に調整し、表 2 に示す条件で培養した。

試験方法を以下に示す。供試消化液に不織布を浸し、その上にヘマトコッカスを補足したメンブレンフィルターを載せ、照明付きインキュベータ(温度条件 25°C)内にセットした CO₂ 充填袋内で静置培養した。試験に供試した藻類は国立環境研究所から入手したヘマトコッカス (NIES-144) を使用した。藻類の増殖量は藻体重量で評価した。

図 1 に各消化液の希釈濃度における藻類の増加量を示す。ヘマトコッカスの培養では、1/15~1/25 程度に希釈した消化液で良好に生育することがわかった。前報のクロレラの培養では 1/6~1/10 程度に希釈した消化液で良好に生育したことから²⁾、藻類の種類により消化液培地の最適希釈条件が異なることがわかった。

3. 消化液培地の性能

前述の試験より、ヘマトコッカスは 1/15~1/25 程度に希釈した消化液で良好に生育することがわかった。そこで、1/15 消化液と一般的な培地の藻

表1 消化液の性状

水質項目	測定値
pH	7.7
EC (mS/m)	1100
TS (%)	2.8
VTS/TS (%)	59
BOD (g/L)	1.2
TOC (g/L)	6.2
T-N (g/L)	2.5
D・T-N (g/L)	2.0
NH ₄ -N (g/L)	1.7
T-P (g/L)	0.31
PO ₄ -P (g/L)	0.16

表2 培養条件

使用培地	メタン発酵消化液
前処理	0.1mm 目金網 フィルター
希釈濃度	1/3, 1/5, 1/7, 1/10, 1/15, 1/20, 1/25
CO ₂ 濃度	5%程度
光強度	110~120 μmol・m ⁻² ・s ⁻¹ 24h 明
温度	25°C
培養期間	3 日間

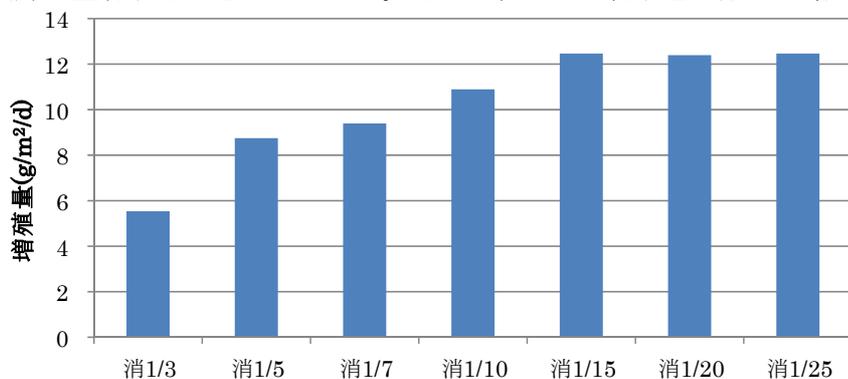


図1 1日当たりの藻体増加量

キーワード メタン発酵消化液, 微細藻類, ヘマトコッカス

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸 4-640 (株)大林組 技術本部 環境技術研究部 TEL042-495-1068

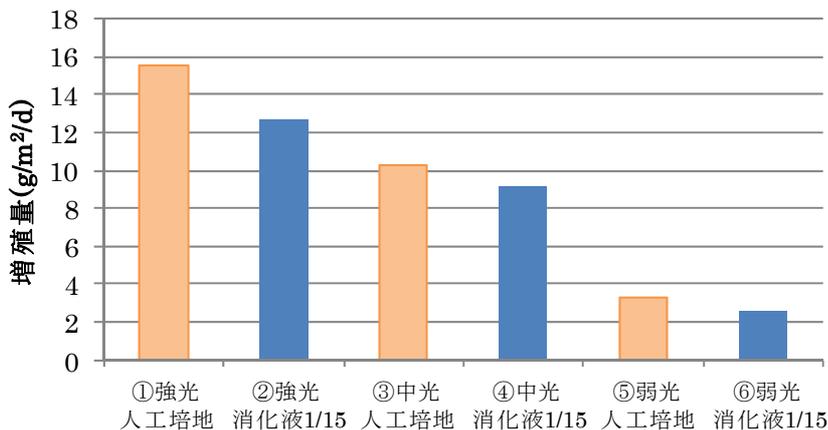


図2 ヘマトコッカス 1日当たりの藻体増加量

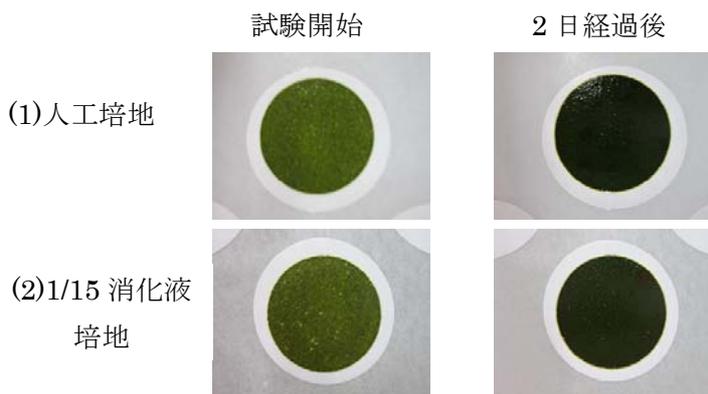


写真1 中光での培養状況

体増加量を比較して、どの程度の増加量なのか確認試験を実施した。

比較する一般的な培地として、表3に示すガンボーク 1/5 培地に表4のビタミンを添加した人工培地を使用した。培養条件は表5に示す通りである。培養の光条件として、強光 ($165\sim175\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、中光 ($120\sim130\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、弱光 ($40\sim45\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) の3種類で行い、光強度と藻体増加量の関係も合わせて確認した。

図2に1日当たりの藻体増加量を示す。また、写真1に、中光で培養したときの藻体の変化を示す。写真1より、(1)人工培地、(2)1/15 消化液培地ともに藻体が緑色に濃く変化し、良好に増加したことが観察できる。図2より、橙色で示す(1)人工培地と青色で示す(2)1/15 消化液培地はともに良好に生育し、藻体が増加することがわかった。光強度と藻体増加量の関係は、(1)人工培地、(2)1/15 消化液培地ともに 強光>中光>弱光 の順で藻体が増加した。

以上より、ヘマトコッカスは $40\sim175\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ の光条件で生育することがわかった。すべての光条件において1/15 消化液培地の藻体量は、(1)人工培地の8割程度の増加量が得られ、良好に生育した。

4. まとめ

消化液培地の最適利用条件は、クロレラでは 1/6 ~1/10 消化液で生育するのに対し、ヘマトコッカスは 1/15~1/25 消化液で良好に生育した。藻類の種類により、条件が異なるもののヘマトコッカスもクロレラ同様、消化液での培養が可能であった。これにより、消化液培地はヘマトコッカスの培養においても消化液由来の栄養塩のみで培養できることがわかった。

表3 ガンボーク 1/5 培地組成 (/100 mL)

KNO ₃	50 mg
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.68 mg
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	3 mg
KI	0.015 mg
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.556 mg
Na ₂ EDTA	0.746 mg
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.04 mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5 mg
MnSO ₄ · H ₂ O	0.2 mg
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.005 mg
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.0005 mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.0005 mg
CaCl ₂ · 2H ₂ O	3 mg
H ₃ BO ₃	0.06 mg

表4 添加ビタミン (/100 mL)

Vitamin B ₁₂	0.01 μg
Biotin	0.01 μg
Thiamine HCl	1 μg

表5 培養条件

使用培地	(1)人工培地 ガンボーク 1/5 培地+ビタミン (2)1/15 消化液
CO ₂ 濃度	5%程度
光強度	(1)強光 $165\sim175\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (2)中光 $120\sim130\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (3)弱光 $40\sim45\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 24h 明
温度	25°C
培養期間	2日間

参考文献

- 山本緑他：微細藻類培養へのメタン発酵消化液利用に関する基礎的検討，土木学会第67回年次学術講演会概要集，VII-118，pp.235-236，(2012)
- 山本緑他：メタン発酵消化液利用による微細藻類の温室培養に関する基礎的検討，土木学会第68回年次学術講演会概要集，VII-068，p.135-136，(2013)