

II - 122

Chlorella vulgarisによる無機炭素の固定について

岩手大学大学院 学生員 ○富高英典 奥田健太郎

岩手大学工学部 正 員 相沢治郎 海田輝之 大村達夫

1. はじめに

近年、地球規模による環境問題が世界各国において問題提起されてきている。その中に大気中の二酸化炭素濃度の上昇に伴う地球温暖化現象がありここ数年の間、重要視されてきていることは良く知られている。この地球温暖化の防止策として微細藻類による二酸化炭素の固定除去法がある。これは、無尽蔵の太陽エネルギーを利用し二酸化炭素を体内に固定する植物の光合成能力を使ったバイオマスによる除去技術である。

本研究では、緑藻類Chlorella vulgarisを培養し無機炭素の濃度変化による固定能力の違い、及び藻体内に蓄えられる有用物質（タンパク質、炭水化物等）の変化の経過を調べる事を目的としている。

2. 実験方法

2. 1 Chlorella vulgaris培養方法及び条件

C. vulgaris（国立環境研究所より提供）の培養に用いた実験装置は、Fig. 1に示すように、培養槽、照明装置（光源装置）、通気装置及び攪拌装置などから構成されており、25℃（±1℃）に保たれた恒温室内に設置された。培養槽は容量10ℓ、内径240mmのガラス製円筒を用い、光源として側面より白色蛍光灯（照度：4000 lux）を照射した。ただし、12/12時間の明暗培養系である。また、H₂SO₄を通した無菌空気による曝気て培養槽内の混合を行ない、補助的にMagnetic stirrerによる攪拌を行った。なお、外部からの細菌の混入を極力避ける為、実験に用いた器具、装置及び培地は乾熱滅菌、高圧蒸気滅菌、紫外線滅菌、火炎滅菌のいずれかを施したものである。培養にはTable 1に示すChu培地を用いた。

Ca(NO ₃) ₂ ・4H ₂ O	0.040g	PIV金属混液	
K ₂ HPO ₄	0.020g	FeCl ₃ ・6H ₂ O	0.1960g
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.025g	MnCl ₂ ・4H ₂ O	0.0360g
Na ₂ CO ₃	0.020g	ZnCl ₂	0.0105g
Na ₂ SiO ₃ ・9H ₂ O	0.025g	CoCl ₂ ・6H ₂ O	0.0040g
FeCl ₃	0.0008g	NaMoO ₄ ・2H ₂ O	0.0025g
PIV金属混液	1.0ml	Na ₂ EDTA	1.0g
Distilled water	1000ml	Distilled water	1000ml
pH 7.5			

Table 1 Chu培地の組成

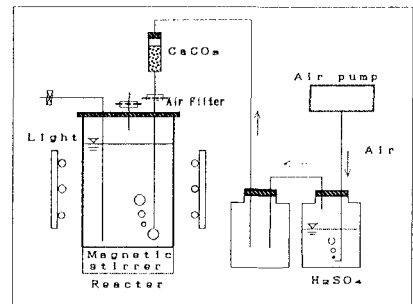


Fig. 1 培養装置

2. 2 無機炭素固定実験における装置及び条件

無機炭素固定実験にはFig. 1に示す装置により培養したC. vulgarisを対数増殖期を経て定常期へと移る時点に採取し用いた。前処理として遠心分離操作(8000rpm, 10min)により濃縮した後、炭素源であるNa₂CO₃を除いた滅菌済み改変Chu培地に移し換え、そこにNaHCO₃を添加し容量約100mlの共栓付き円筒瓶に満たして完全密閉した後に4000luxで培養を行った。分析は無機炭素(IC)、総有機炭素(TOC)及び藻体成分について植種後における経時の変化の観測を行った。なおC. vulgarisの沈降を防ぐため振とう培養による混合を行った。また、12/12時間の明暗培養系から24時間の明培養系に変えた。

2. 3 分析方法及び装置

- (1)藻類量：藻類量の指標としてアセトン抽出法によるChlorophyll a量を用いた。また、乾燥重量（85℃、4.5h）について測定を行った。
 - (2)無機炭素量(IC)、総有機炭素量(TOC)：測定にはSHI MADZU-TOC 5000を用いた。
 - (3)藻体成分：タンパク質はLowry法を、炭水化物はアンスロン・硫酸法を用いた。
- (1)～(3)に付いて経時的に測定を行った。

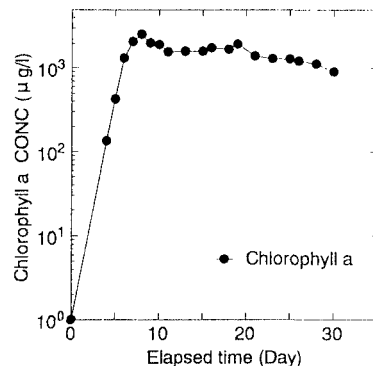


Fig.2 Chlorella vulgarisの成長曲線

3. 実験結果及び考察

3. 1 *C. vulgaris* 生長過程

Fig. 2に*C. vulgaris*の生長曲線を示した。植種後約3~4日の遅滞期を経て対数的に増殖し、Chl-a量が約2500($\mu\text{g/l}$)に達した後に定常期となり、その後減衰期に入りChl-a量の緩やかな減少が観測された。

3. 2 無機炭素固定実験

Fig. 3に無機炭素源として NaHCO_3 添加後における培養液中の全炭素中に占める無機炭素の割合の変化を経時的に示した。なおRun1は無添加、Run2は0.05g/l、Run3は0.5g/lの NaHCO_3 を添加したもので、初期Chl a量は1.73mg/lであった。Fig. 3よりRun1では培養24時間で無機炭素のほぼ100%を、Run2では50%近くの固定除去が行われた。しかし、Run3においては10%程に留まった。また、この時の各RunのChl. a量はRun1で1.99mg/l、Run2で2.18mg/l、Run3で2.49mg/lと増加しており、単位Chl-a量当たりの無機炭素固定速度はRun1で0.41(mg-C/mg-Chl-a/h)、Run2で0.51(mg-C/mg-Chl-a/h)、Run3で0.37(mg-C/mg-Chl-a/h)であった。本実験において無機炭素固定量が多いのはRun3であったが、最も効率よく光合成の行われているのはRun2であった。また、培養24時間以降では、Run1で無機炭素の欠乏によるChl a量の減少が観測された。Run2, 3では増殖限界によるChl-a量の減少が起こり、無機炭素固定率の低下が観測された。

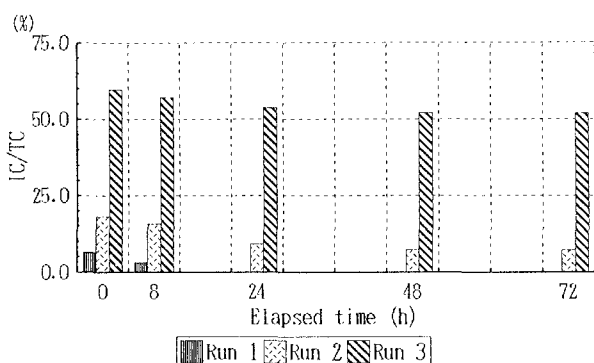


Fig. 3 全炭素中に占める無機炭素の割合の経時変化

3. 3 藻体内生成有機物

Fig. 4(a)~(d)に藻体内成分重量比を NaHCO_3 添加前の初期値と培養48時間後の各Runの値で示した。各Runとも NaHCO_3 添加後に藻体乾燥重量が増加し、Run3における98mg/lが最大であった。藻体内成分重量比の変化は、タンパク質は増加傾向を、炭水化物については各Runとも光合成が活発に起きる培養初期（特に0~8時間）で増加し、固定率の低下が起き始める24時間以降にRun1, 2 (Fig. 4(b), (c))は減少をした。Run3 (Fig. 4(d))では増加しており、48時間以降で減少した。しかし、これらの増減は藻体内成分重量比の僅か数%であり、 NaHCO_3 添加量による変化は主に藻体乾燥重量で、藻体内生成有機物であるタンパク質及び炭水化物の重量比については、特に大きな変化は観測されなかった。

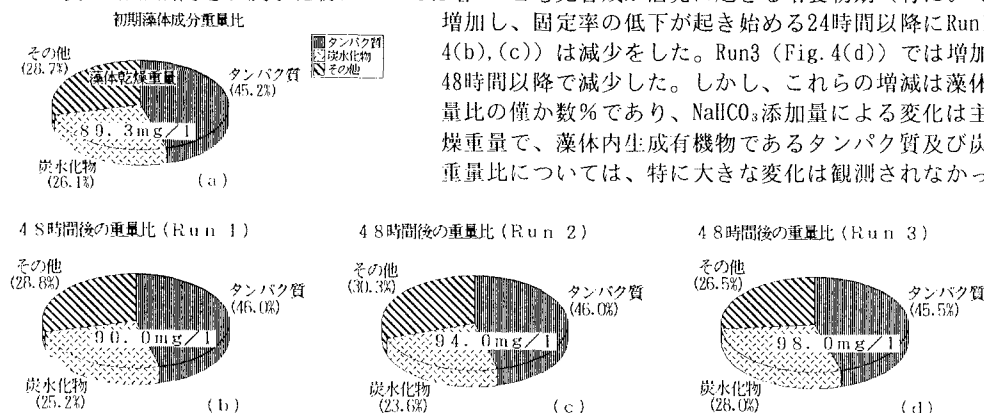


Fig. 4 藻体内生成有機物の成分重量の割合

4. おわりに

以上の結果より、無機炭素固定量及び効率の違いは NaHCO_3 の添加量（無機炭素濃度）により変化する。また、藻体乾燥重量の増加は NaHCO_3 添加量により差が見られるが、藻体内生成有機物であるタンパク質、炭水化物の成分重量比には大きな変化は起こらなかった。

今回、培地の移し換えによる遅滞のため、大量の藻体回収が得られなかったが、今後は大量培養を考慮していく予定である。