

302 光合成微生物の低アスペクト比 Taylor 涡による培養実験

Culture experiment of photosynthesis microorganism in Low aspect ratio Taylor Vortex Flow

○ 学 安井 砂雄 (室蘭工大院) 正 河合 秀樹 (室蘭工大)
正 高橋 洋志 (室蘭工大)

Sao YASUI, Muroran Institute of Technology, 27-1, Mizumoto-cho, Muroran, Hokkaido
Hideki KAWAI, Muroran Institute of Technology
Hiroshi TAKAHASHI, Muroran Institute of Technology

Keywords : Taylor Vortex Flow(TVF), Photosynthesis, Growth characteristics, Spirulina, Chlorophyll-a

1. 緒言

宇宙ステーションなどの閉鎖環境における長期に及ぶ人間活動に対応して、CELSS(閉鎖生態系生命維持システム)の研究が進められており、その中の酸素再生システムとして高い光合成能力を持つ微細藻類を用いたバイオリアクターの研究が行われている。

微細藻類の効率的なガス交換には培養液中の微細藻類の攪拌による受光条件の改善が望まれるが、高せん断においては微細藻類の細胞の損傷が懸念される。

そこで本研究では、緩やかな混合攪拌能力が期待できる Taylor-Couette Vortex Flow(TVF)に着目した。TVF とは同軸二重円筒間せん断回転流れにおいて、主流方向に対して二次方向に速度成分を持つセル型渦流れである。CO₂/O₂変換バイオリアクターの開発基礎研究として、TVF 発生装置内で微細藻類の培養実験を行い、光合成微生物の増殖に最適な回転 Re 数及び、細胞破壊の有無を調べ、光合成微生物の増殖に最適な流動状態の模索を行った。

2. 実験方法

実験装置は内円筒回転型二重円筒装置（アスペクト比 H/d = 1, 半径比 R_{in}/R_{out} = 0.375）およびモーターユニット、ギアヘッド、回転速度表示計からなる (Fig.1)。

また TVF のパラメータとして回転 Re 数を使用した。

$$Re = \frac{d \cdot \Omega \cdot R_{in}}{\nu} \quad \dots (1)$$

Ω : 内円筒角速度

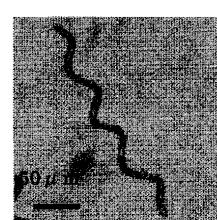
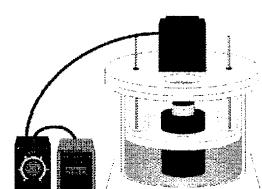
R_{in} : 内円筒半径 28[mm]

R_{out} : 外円筒半径 75[mm]

d : 内円筒間隙間 47[mm] Fig.1 Experimental device

ν : 動粘度 1.0×10^{-6} [m²/s]

H : 作動流体高さ 47[mm]



本研究では試供藻体として *Spirulina platensis* IAM M-135 株を使用した。*S. platensis* は高い光合成能力、栄養価からこれまで多くの研究が行われてきた。また、Fig.2 のような形状から、せん

断に非常に敏感であることが予想され、TVF の緩やかな混合攪拌能力の検証に適すると考えられる。*S. platensis* 培養液として SOT 培養液を使用した。実験はインキュベーター内にて 5 日間行い、培養液温度は 30[°C]、入射光強度は 3.5[klx]とした。沈殿藻体の攪拌は実験終了時のみ行い、浮遊藻体濃度の推移および最終日藻体濃度より増殖評価を行った。

3. 理論および評価方法

本実験における培養は栄養条件の制限される回分培養にあたり、微生物は適応期、対数増殖期、直線増殖期、生育減衰期、定常期と推移すると考えられる。本実験は対数増殖期および、より藻体濃度の高い直線増殖期にて行い、TVF 内における *S. platensis* の増殖に最適な Re 数の検証および藻体破壊の有無の検証を行った。増殖速度の評価には、対数増殖期では比増殖速度 μ [day⁻¹]、直線増殖期では濃度増加量 Q[g/(l·day)]を用いた。下記に比増殖速度と濃度増加量の式を示す。ここで x_0 は初期濃度 [g/l]、 x_t は藻体濃度 [g/l]、t は培養時間 [day] を表す。

$$\mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t} \quad \dots (2)$$

$$Q = \frac{x_t - x_0}{t} \quad \dots (3)$$

また、低 Re 数の実験において、装置底部に沈殿・凝集が発生した。この沈殿・凝集体の割合を表す指標として沈殿率 s[%]を定義し、TVF の攪拌能力の評価に用いた。下記に沈殿率の式を示す。ここで x_t 、 x'_t はそれぞれ攪拌前と攪拌後の藻体濃度 [g/l] を表す。

$$s = \frac{x_t - x'_t}{x_t} \times 100 \quad \dots (4)$$

また藻体破壊検証実験では、培養液の吸収スペクトルより細胞破壊の検証を行った。これは細胞破壊により *S. platensis* の細胞内物質である chlorophyll-a が培養液中に漏出することによって、培養液中の吸収スペクトルが波長 660~680[nm]でピークを示すことを利用している。その例を Fig.3 に示す。ピークの高さと藻体破壊量については相関関係にあることがわかっているので、このピーク

の高さにより細胞破壊量の検証が可能となる。

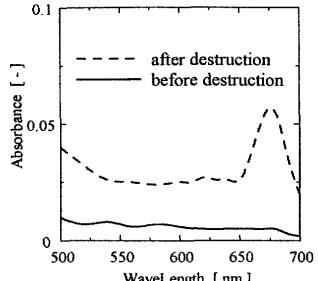


Fig.3 Absorption spectrum

4. 実験結果および考察

対数増殖期の比増殖速度 μ [day⁻¹]と沈殿率 s[%], 直線増殖期の濃度増加量 Q [g/(1·day)]をそれぞれ Fig.4, Fig.5 に示す。

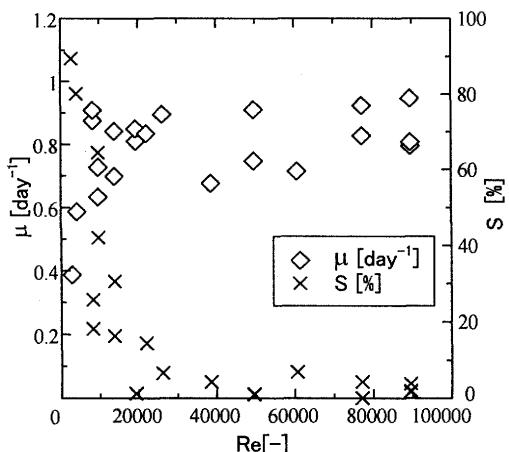


Fig.4 Specific growth rate and sedimentation ratio (The logarithm increase period : initial concentration of 0.01[g/l])

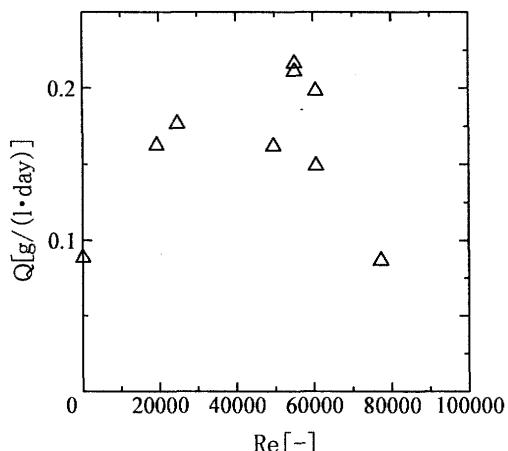


Fig.5 Quantity of multiplication (The straight line increase period : initial concentration of 0.3[g/l])

対数増殖期における実験 (Fig.4) では、低 Re 数では沈殿率は高い値、比増殖速度は低い値を示した。これは TVF の攪拌能力が十分ではなく、*S.platensis* が装置底部に沈殿・凝集し、受光条件の悪化に伴い光合成に悪影響を与えたことが原因であると考えられる。一方、沈殿の生じない $Re=20000$ 以上の領域では比増殖速度に大きな

差は見られなかった。このことから、この領域では TVF の攪拌能力が十分であり、また大きな増殖阻害がないことが予想される。

直線増殖期における実験 (Fig.5) では沈殿の生じない $Re=20000$ 以上においても $Re=60000$ 付近まで増殖量 Q が増加する傾向が得られた。これは藻体濃度が高いため、光の照射範囲が限定され、より高い攪拌力が必要とされたためと考えられる。また、 $Re=60000$ 以上から *S.platensis* の細胞内物質である *Chlorophyll-a* が確認される場合があり、濃度増加量 Q は低い値を示した。このことから、高い藻体濃度における培養において $Re=60000$ 以上では *S.platensis* の細胞が破壊される可能性が考えられる。

次に、直線増殖期の実験 (Fig.5) において、濃度増加量 Q が小さくなる $Re=60000$ 以上での領域においての濃度増加量 Q と吸収スペクトルを Fig.6 に示す。

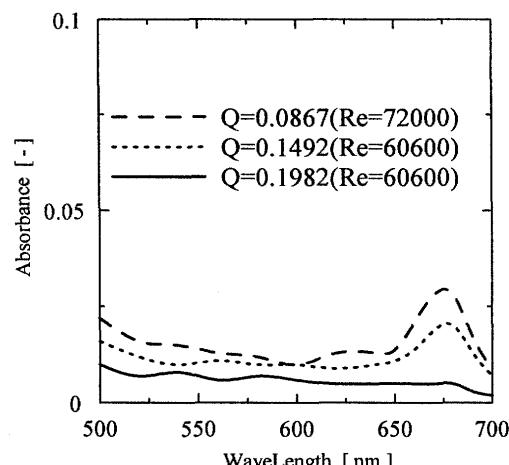


Fig.6 Absorption spectrum

Fig.6 から、 $Re=60000$ 以上では、吸収スペクトルのピークが高いほど濃度増加量 Q の値が小さくなる相関が得られた。すなわち、濃度増加量と藻体破壊量には明確な関係があることが分かる。

5. 結言

Re 数の増加と共に、TVF の攪拌力による沈殿率の減少など、受光状態の改善が見られ、対数、直線増殖期共に増殖速度の増加が見られた。対数増殖期は $Re=20000$ から増殖速度はほぼ一定に推移するが、直線増殖期では $Re=50000$ 程度まで増殖速度は急増する。しかし、 $Re=60000$ から藻体破壊が起り、増殖速度が低下する可能性が考えられる。よって、高い濃度においては *S.platensis* の培養には高い攪拌力を持ち、藻体破壊の起こらない $Re=50000$ 程度が適していると考えられる。

TVF はより緩やかな攪拌が必要となる高濃度における培養においても有用であることが示された。

6. 参考文献

- (1) IBM 微生物・微細藻類カタログ 初版 (1993) 財團法人 応用微生物学研究奨励会 p403, 404
- (2) 大平勇一・楠木史子・空閑良壽・小幡英二・安藤公二, “藻類培養における最適培養” 化学工学会論文集 (2004)p545-548