

固相表面培養による微細藻類バイオマス生産

Microalgal Biomass Production by Substrate-based Cultivation

吉村 航*
Ko YOSHIMURA

永田 由衣
Yui NAGATA

抄 録

日本製鉄(株)ではCCUS技術のひとつとして微細藻類によるバイオマス生産の研究に取り組んできた。我々は固相表面培養という培養技術に着目し、これを大規模培養に適用するための技術開発を行っている。これまでに得られた成果のうち、種々の微細藻類に対する固相表面培養の適用の検討、固相表面培養装置の開発、バイオマス生産性のシミュレーションについて簡単に紹介する。

Abstract

Nippon Steel Corporation has been researching biomass production using microalgae as one of the CCUS technologies. We have focused on a culture technique called substrate-based cultivation and are developing technology to apply it to large-scale cultivation. Among the results obtained so far, we will briefly introduce the study of the application of substrate-based cultivation to various microalgae, the development of a solid-phase surface culture device, and the simulation of biomass productivity.

1. 緒 言

大気中の二酸化炭素濃度の上昇による地球温暖化が大きな問題となるなかで、社会全体で様々な取り組みが進められている。日本製鉄(株)でもカーボンニュートラルの実現に向けた積極的な取り組みを進めており、製鉄プロセスの脱炭素化と並行して、排出された二酸化炭素(CO₂)を再び固定化・利用する技術であるCCUS(Carbon dioxide Capture, Utilization and Storage)技術についても多様な研究開発を実施している¹⁾。

そうした技術開発のひとつとして、日本製鉄では、微細藻類によるバイオマス生産の研究開発を実施している²⁾。微細藻類はその増殖性の高さから、人工的な大規模培養によるバイオマス生産への適用が期待されている³⁾。微細藻類はCO₂の濃度の上昇によって増殖速度が大きく向上するため、陸上植物に比べて、製鉄所などの排出源からのCO₂を含む排ガスへの適用が期待できる⁴⁾。このことから、微細藻類のバイオマス生産を製鉄所由来のCO₂を削減するためのCCUS技術として利用できないか研究を行っている。

微細藻類には健康食品としてよく知られているクロレラや、ユーグレナなどが含まれる。また、抗酸化成分として

化粧品などに利用されているアスタキサンチンはヘマトコッカスという微細藻類から、青色の食品用色素として利用されているフィコシアニンスピルリナという微細藻類から、それぞれ生産されている。このように、付加価値の高い製品においては、微細藻類はすでに商業的に利用されており、一定の規模で経済合理性のある生産が実現している。一方で、CO₂削減に資する技術としての微細藻類によるバイオマス生産性はいまだ研究途上にある。その理由として、大規模で安定的に高生産を実現できる、低エネルギー消費の培養技術が未確立であることが挙げられる⁵⁾。実験室レベルでは、高バイオマス生産性を実現することは難しいが、それをヘクタール(ha)規模の面積で実現することは極めて難しい。この点が、農業という大規模生産の仕組みが確立している陸上植物とは大きく異なる点である。

このような現状に対して、我々はバイオマス生産性を向上する培養技術が開発できないかと考えた。そこで着目したのが固相表面培養である⁶⁾。固相表面培養は、微細藻類を固体の表面で培養する方法であり、担持体培養や藻類バイオフィルム培養などとも呼ばれている。細かな培養方法には様々なバリエーションがあるが、我々は吸水性のある

* 先端技術研究所 環境基盤研究部 主幹研究員 博士(農学) 千葉県富津市新富 20-1 〒293-8511

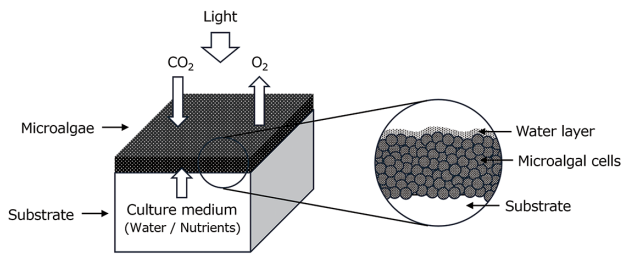


図1 固相表面培養の模式図
Schematic illustration of substrate-surface culture

担体の表面で微細藻類を培養する方法を検討している²⁾。

微細藻類の一般的な培養方法である液体培養では、微細藻類の細胞を液体中に懸濁した状態で、攪拌して培養する。これに対して、固相表面培養では細胞が気相中に露出している点に特徴がある。より厳密には、細胞の間は水で満たされており、培養表面の最表層の細胞は表面の非常に薄い水の膜を介して気相と接していると考えられる(図1)。このことにより、固相表面培養では二酸化炭素の利用性が向上し、バイオマス生産性が向上すると考えられる⁶⁾。

固相表面培養は多くの微細藻類種において高いバイオマス生産性を実現できることが報告されている⁷⁾。また、海外では大型の培養装置の開発も試みられている⁸⁻¹⁰⁾が、国内での研究例は少なく、液体培養に比べて研究が進んでいないのが現状である。しかし、前述したような特徴から、固相表面培養はバイオマス生産性の課題を解決するための技術となりうると考えた。

そこで、我々は固相表面培養を大規模培養に適用可能な技術として確立するために、培養装置の開発を中心とした研究開発を行ってきた。2022年度から2024年度にかけては、新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下、NEDO)からの委託事業のなかで、固相表面培養による微細藻類バイオマス生産の研究に取り組んできた。本報告では、それらの成果のうち、種々の微細藻類に対する固相表面培養の適用、固相表面培養装置の開発、バイオマス生産性のシミュレーションについて紹介する。

2. 本 論

2.1 種々の微細藻類への固相表面培養技術の適用

2.1.1 背景と目的

我々のこれまでの研究では、日本製鉄が製鉄所の排水処理設備から分離した微細藻類株である *Parachlorella kimitsuensis*¹¹⁾ を用いてきた。この株は、アンモニアを多く含む排水中で増殖可能であり、増殖性が高いなどの特徴を有している¹²⁾。一方で、固相表面培養自体は様々な微細藻類種に適用可能な手法であることが先行研究からも示されている⁷⁾。将来的なバイオマスの利用を考えたとき、商業的な利用価値の高い微細藻類に適用可能であることは重要である。そこで、技術の汎用性を確認するため、主要な微

細藻類種に対して本手法が適用できるかを小規模の培養実験によって確認した。

2.1.2 材料と方法

実験には *Parachlorella kimitsuensis* に加え、国立研究開発法人国立環境研究所の微生物系統保存施設から購入した株を用いた。商業的に利用されている、または利用が期待されている種から6株を選定した(表1)。シアノバクテリアでタンパク質生産への利用が期待されている *Arthrospira platensis*、緑藻でアスタキサンチン産生株として利用されている *Haematococcus lacustris*、緑藻で炭化水素産生株として利用が期待されている *Botryococcus braunii*、耐塩性の緑藻でカロテノイド産生株として利用されている *Dunaliella salina*、海洋性のモデル珪藻 *Phaeodactylum tricornutum*、海洋性の真正眼点藻で油脂生産能が高い *Nannochloropsis oceanica* である。

購入した微細藻類株は人工気象器(LPH-411PFD-SP、日本医科器械(株))内で、バッフル付き三角フラスコで振盪培養を行った。人工気象器内の温度は25℃、光合成光子束密度は約150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期は明期:14h、暗期:10hに設定した。各微細藻類株には表に示す液体培地を用いた。SOT培地は国立環境研究所から購入した。AF-6培地は、国立環境研究所の組成¹³⁾を基に、各成分の濃度を2倍にしたものを調製した。MA/IMK培地は、純水1LにマリニアートSF1(富田製薬(株))を35g溶解して調製した人工海水に、ダイゴIMK培地(塩谷エムエス(株))を説明書に記載の濃度の2倍量で加えたものである。

前記の人工気象器で前培養した微細藻類株を1Lのルー氏ビンによる液体培養に供した。1L容量のルー氏ビンに900mlの前培養と同じ液体培地をそれぞれ加え、そこに三角フラスコで培養した微細藻類の懸濁液100mlをそれぞれ加えた。これをLED照明の前に設置し、空気を約1L/minでそれぞれ通気した。LED照明はタイマーを用いて明期:14h、暗期:10hに制御した。室温25℃の条件で、1~2週間培養を行った。このようにして得た細胞懸濁液を、以下の手順で固相表面培養に供した。液体培養に用いた器具、培地はオートクレーブで滅菌処理した。

プラスチック容器と、容器のサイズよりもやや小さなサ

表1 実験に用いた微細藻類株と培地
Microalgal strains and medium used

Microalgal species	Strain No.	Medium
<i>Arthrospira platensis</i>	NIES-39	SOT
<i>Haematococcus lacustris</i>	NIES-144	AF-6
<i>Botryococcus braunii</i>	NIES-836	AF-6
<i>Parachlorella kimitsuensis</i>	-	MA/IMK
<i>Dunaliella salina</i>	NIES-2257	MA/IMK
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	NIES-4392	MA/IMK
<i>Nannochloropsis oceanica</i>	NIES-2146	MA/IMK

イズに裁断した厚さ 10mm の PVA スポンジ (ベリイター FB (D), アイオン(株)) を準備した。PVA スポンジを純水中でよく水になじませた後、よく水を切り、プラスチック容器内に敷いた。プラスチック容器に前培養と同じ液体培地を約 140ml ずつ加えた。吸引ろ過装置を用いて、あらかじめ秤量しておいた直径 47mm の円形ガラス繊維ろ紙(GF/F, メルクミリポア)で、微細藻類の細胞懸濁液を 30~100ml 程度ろ過し、ろ紙上に藻を担持した(ろ過部の面積: 0.96cm²)。微細藻類株ごとに実験に供した細胞懸濁液の濃度が異なるため、ろ過量を調整することで、概ね乾燥重量で 10g/m² で藻が担持されるようにした。藻を担持したろ紙は、3 枚を一組として、プラスチック容器内の PVA スポンジ上に配置した(図 2)。これらを培養ケースとし、各微細藻類株について 2 ケースを準備し、後述する固相表面培養に供した。これに加えて、各微細藻類株につき 3 枚のろ紙は、培養せずに 105℃で一晩乾燥し、重量を測定することで、0 日目のバイオマス量(初期担持量)を求めた。

前記の培養ケースを、蓋を開けたまま、LED 照明の下に設置した透明な気密チャンバーの中に配置した。チャンバーの蓋を閉め、空気と CO₂ をそれぞれ 5000ml/min, 100 ml/min で混合したガスをチャンバー内に通気した(図 3)。フィルター上の光合成光量子束密度が約 400μmol/m²/s となるようにした。LED 照明はタイマーを用いて、明期: 14h, 暗期: 10h に制御した。培養開始 3 日後、7 日後に各微細藻類株につき、ひとつの培養ケースを回収した。培養ケース上のろ紙を回収し、105℃で一晩乾燥した後、重量を測定した。

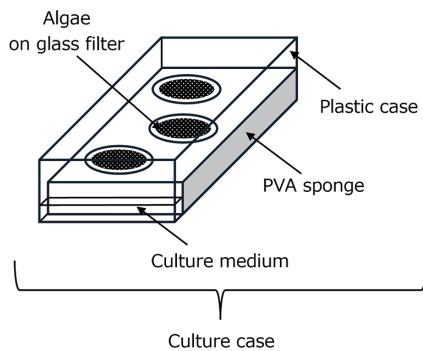


図 2 培養ケースの模式図
Schematic view of culture case

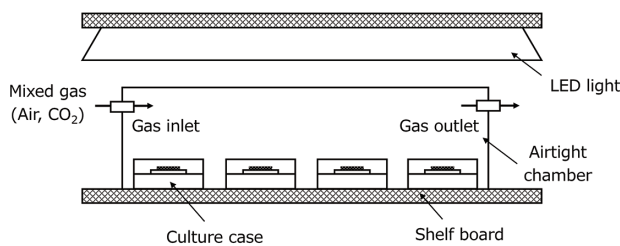


図 3 小規模の固相表面培養の模式図
Schematic view of small-scale experiment

2.1.3 結果と考察

各微細藻類株のバイオマス量の変化を図 4 に、0~3 日間のバイオマス生産性を表 2 に示した。*D. salina* 以外の 6 株は培養期間が進むにつれバイオマス量が増加したが、*D. salina* ではむしろ減少した。0~3 日目の 1 日あたりのバイオマス生産性は、*A. platensis* で最も高かった。

試験に用いた微細藻類株のうち *D. salina* のみ増殖がみられず、培養によってバイオマス量はむしろ減少した。この理由として、本実験に用いた他の株と異なり、*D. salina* の細胞は典型的な細胞壁をもたない¹⁴⁾ ため、担持の際の吸引ろ過によるストレス、または培養時の乾燥ストレスに耐えられなかった可能性がある。一方、アスタキサンチン産生株として知られる *H. lacustris*、タンパク質含有量が高い *A. platensis* (スピルリナ)、油脂生産能が高い *N. oceanica* はいずれも 10g/m²/d 前後のバイオマス生産性を示した。定量的な評価は難しいが、固相表面培養への適用が期待できる結果と考える。このように固相表面培養は淡水性、海水性を問わず、様々な微細藻類株に適用でき、商業利用への適用も期待できることがわかった。培地などの培養条件を最適化することで、株ごとのバイオマス生産性には向上の余地があると考えている。今回の試験はあくまで増殖性の評価のみであるが、今後、これらの株を用いた物質生産については、バイオマス中の有用物質の含有量評価を進める。

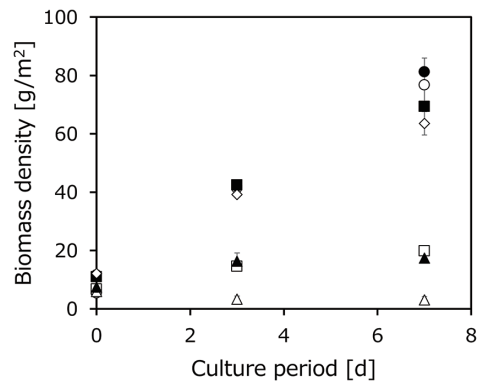


図 4 バイオマス量の推移

Time-course change of biomass density
See the following table for legends. Error bars indicate standard deviations (n=3).

表 2 各株の培養 0 から 3 日目におけるバイオマス生産性
Biomass productivity of microalgal strains from day0 to day3

Legend	Microalgal species	[g/m ² /d]
○	<i>Arthrospira platensis</i>	12.0
●	<i>Haematococcus lacustris</i>	10.1
□	<i>Botryococcus braunii</i>	2.60
■	<i>Parachlorella kimitsuensis</i>	10.5
△	<i>Dunaliella salina</i>	n.d.
▲	<i>Phaeodactylum tricornerutum</i>	2.98
◇	<i>Nannochloropsis oceanica</i>	9.04

2.2 固相表面培養装置の開発

2.2.1 背景と目的

固相表面培養は小規模の実験においては高いバイオマス生産性が確認されているが、これを大規模培養に適用するためには、安定な培養装置が必要である。先行研究においても様々な装置が考案されているが⁸⁾、大規模化が可能な実用的な培養装置が確立されているとは言い難い。

そこで我々は、ベンチスケールの培養装置の開発に着手した。基本方針は、前述の小規模実験の培養系を、そのまま大型化するというもので、液体培地を吸水させた平板上の担体（スポンジ）の表面で微細藻類を培養する方法である。さらに、担体を水平配置した小規模実験とは異なり、培養装置では担体に角度をつける設計とした。これは、このような担体の配置により太陽光を効率的に利用できることを考えたためである。

地表面における太陽光の強さ（光合成光量子束密度）は最大で約 $2000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に達する¹¹⁾。一方で、微細藻類が光合成に利用できる最大の光の強さはそれよりも低い。例えば我々の研究では、*P. kimitsuensis* の固相表面培養では、2%の CO_2 を含む空気を通気した条件において、培養表面の光合成光量子束密度が $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上であれば、バイオマス生産性は飽和することが明らかになった¹⁾。したがって、太陽光を有効に活用するためには、受光面積を増やすことで、表面積あたりの光合成光量子束密度を下げつつ、バイオマス生産に利用可能な培養面積を増やす必要がある。

このような考えに基づき、図5に示すような蛇腹状に担体を組み合わせた構造を考案した。これにより、培養面積が土地面積の約2~3倍に増加する。この構造が、太陽光下でのバイオマス生産性の向上に寄与するかについては、次節のシミュレーションの結果を参照されたい。

一方、担体を傾斜配置にすることで、担体中の液体培地が重力で下方に流出するという課題が生じる。そのため、流出した培地を回収し、ポンプで上部へ再供給する仕組みを導入した。このような仕組みは、培養にかかるエネルギーコストの増大につながるものの、培地を循環させることで、

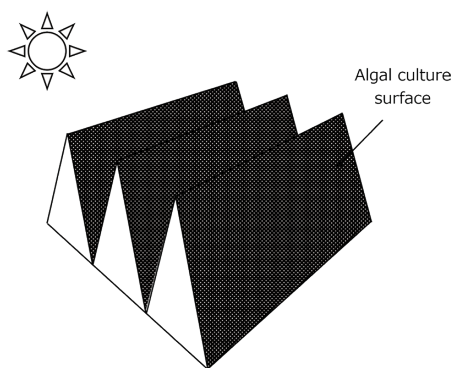


図5 培養装置の概念図

Conceptual view of substrate-surface culture apparatus

微細藻類へ効率的に栄養供給することが可能になる。長期間の効率的なバイオマス生産を実現するためには、このような培地供給の仕組みが必要であると考えた。

さらに、培養表面の CO_2 濃度を高めるため、装置全体を透明素材の温室状フードで覆い、内部に高 CO_2 濃度の空気を導入する設計とした。

以上のような考えに基づいて、培養装置を製作し、培養実験によってその性能を検証した。

2.2.2 材料と方法

製作した培養装置を図6に模式的に示した。培養装置の大部分をポリ塩化ビニル板（以降、塩ビ板）で製作し、温室状のフードはアルミフレームで作製した骨組みに、透明な塩ビ板とビニールを張ることで製作した。幅1m、高さ約0.6mの板状の構造物の上に同様の大きさの厚さ1mmのPVAスポンジ（ペルイーターEB(D)、アイオン）を設置する。下部に設置されたリザーバーに貯留した液体培地を、ダイアフラムポンプ（(株)イワキ）で板の上部に汲み上げ、スポンジの内部を流下した液体培地は、下部のリザーバーに再び回収される仕組みとした。このような装置全体を、アルミフレームと透明な塩ビ板とビニールで構成された温室状の構造で覆った。

製作した装置を用いて、培養実験を行った。幅460mm長さ570mmの角形ガラス繊維ろ紙（GF/F、メルクミリポア）を、特注で製作したろ過装置（ろ過部の面積： 0.23m^2 ）に設置し、液体培養で前培養した *P. kimitsuensis* の細胞懸濁液を重力でろ過することで、ガラス繊維ろ紙上に藻を担持した。同様に調製したガラス繊維ろ紙2枚を、培養装置のPVAスポンジ上に、藻を担持した面を表にして、並べて貼付した。このとき、ろ紙位置について左側をLeft、右側をRightとした。別途、前記の細胞懸濁液を30~50ml程度分取し、あらかじめ重量を測定したガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ紙は 105°C で一晩乾燥して重量を測定し、細胞懸

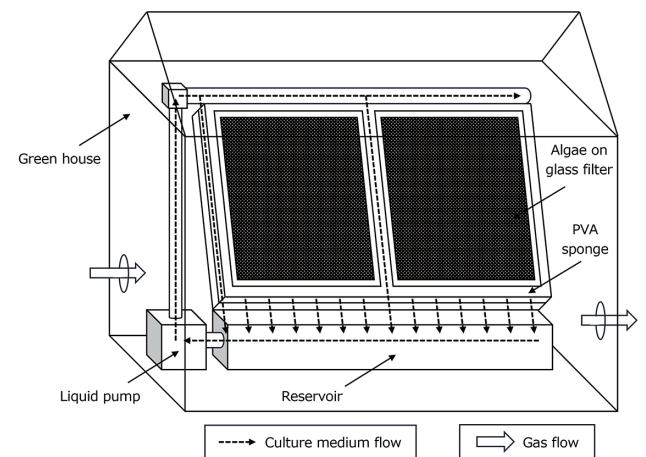


図6 培養装置の模式図

Schematic illustration of substrate-surface culture apparatus

濁液中のバイオマス濃度を求めた。この値を用いて、角形ガラス繊維ろ紙上に担持したバイオマス量を計算によって求めた。

リザーバーに、人工海水 10L にダイゴ IMK ストック溶液を 200ml 加えて調製した人工海水培地を加え、ダイアフラムポンプ（電磁定量ポンプ EHN-YT, イワキ）を作動し、培養液を循環させた。温室状のフードを閉じ、空気と CO₂ ガスをそれぞれ 5000ml/min, 100ml/min で混合したガスを内部に通気した。培養装置を LED 照明の前に設置した。LED 照明はタイマーで明期：14h, 暗期：10h に制御した。培養表面における光合成光量子束密度は 400 μ mol/m²/s となるようにした。室温 25℃ の室内で、3～7 日間培養を行った(図 7)。一連の実験を 5 回繰り返して実施した(RUN1～5)。

培養終了後、培養装置上からガラス繊維ろ紙を回収した。次いで、ヘラを用いてろ紙上の藻を概ね回収した後(図 8)、ろ紙を少量の純水で洗浄して、残った藻を回収した。回収した藻は、105℃ で一晩乾燥した後、重量を測定した。

2.2.3 結果と考察

培養試験の結果を表 3 に示した。実験ごとに培養期間が 3～7 日間で異なるものの、表面積あたりのバイオマス生産性は概ね 10 g/m²/d の値が得られた。表面積あたりのバイオマス生産性は最大で 11.0 g/m²/d であった。*P. kimitsuensis* の小規模での培養実験におけるバイオマス生産性は、最大で約 15.4 g/m²/d であり、今回得られた値はこれには及ばなかった。しかし、このような大面積において、小規模実験に近い値が得られたことは大きな成果であると考えられる。今回示した実験結果では比較的安定したバイオマス生産性が得られているものの、実験を始めた初期の頃は培養の再現性が低く、液体培地の濃度については多くの検討が必要であった。培養装置の規模に合わせた培養条件の検討、特に培地の組成や供給方法の最適化は、引き続き今後の課題である。

2.3 固相表面培養のシミュレーションによる評価

2.3.1 背景と目的

前述したように固相表面培養では担持体の配置を工夫することで、太陽光を効率よく利用できることが期待できる。地表面における太陽光の光量子束密度は最大で約 2000 μ mol/m²/s に達し¹⁵⁾、光合成速度が最大になる光の強さ(光飽和点)をはるかに上回っている¹⁶⁾。このような強い光を、広い培養面で受光することができれば、表面積あたりの光量子束密度を下げる可以降低できる。培養面あたりのバイオマス生産性を低下させずに、培養面積が増えた分だけ、土地面積あたりのバイオマス生産性を高めることができると期待できる。

しかし、太陽光は季節、時刻によって、その向きや強さが変化する。また、地表面に到達する太陽からの日射は直

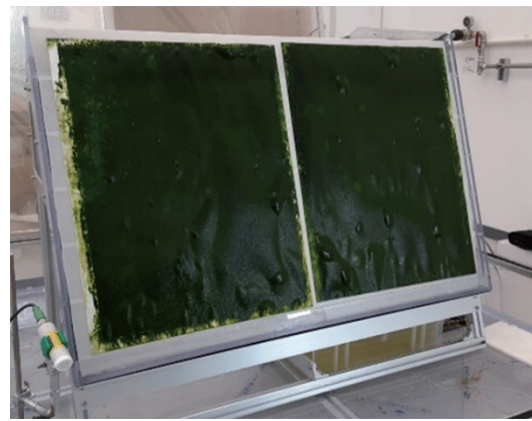


図 7 培養装置における試験の様子
Photograph of culture apparatus during experiment

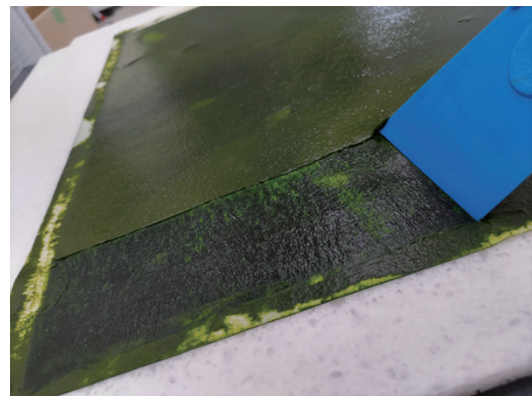


図 8 ろ紙上の微細藻類バイオマスを手で回収する様子
Collection of microalgal biomass on glass filter by scraper

表 3 培養実験におけるバイオマス生産性
Biomass productivity of culture experiment

Run No.	Filter position	Culture period [d]	Biomass productivity [g/m ² /d]
1	Left	5	9.17
1	Right	5	10.6
2	Left	5	11.0
2	Right	5	10.9
3	Left	3	9.88
3	Right	7	9.61
4	Left	4	9.22
4	Right	4	9.31
5	Left	4	9.07
5	Right	4	10.4

達光と散乱光の 2 種類に分けられる。直達光は太陽から直接、地表に到達する平行光であり、散乱光は太陽からの光が大気で散乱されたもので、無方向性の光である。直達光と散乱光の割合は気象条件によって大きく異なり、快晴の日は直達光の割合が大きくなり、曇りの日は散乱光の割合が大きくなる。構造物の表面における直達光と散乱光の当たり方は大きく異なる。

太陽光にはこのような複雑性があるため、培養装置の構造的な工夫によって、実際にどの程度太陽光を効率よく利

用でき、バイオマス生産性を向上できるかは明らかではない。このような疑問に対して、太陽光下でのバイオマス生産性をシミュレーションにより試算できないか検討を行った。

2.3.2 材料と方法

シミュレーションには3D-CADソフトであるRhino 7 (Robert McNeel & Associates.) を用いた。Rhino 7は、Grasshopperというビジュアルプログラミング言語上で、Ladybug toolsを動かすことができる。Ladybug toolsは気象データを読み込み、構造物への光の当たり方をシミュレートすることができるプラグインである。このプラグインに、構造物表面の微小領域(メッシュ)における日射量をバイオマス生産性に変換するコードを追加し、3D-CAD上で製作したモデル構造物におけるバイオマス生産性を評価した。

光の強さ(光合成光子束密度)に対して、どのようなバイオマス生産性を与えるかについては、実験で得られた値を基に構築した関係式を用いた。具体的には以下の処理を行った。まず、各メッシュにおける日射量を、日射量に占める光合成有効放射の割合を46%、光合成有効放射における光子1molあたりのエネルギーを225.3kJ/molとして¹⁷⁾、光合成光子束密度に変換した。次に、実験で得られた様々な光合成光子束密度におけるバイオマス生産性のプロットに、式(1)を最小二乗法でフィッティングすることで(図9)、光-バイオマス生産性の関係式における各変数の値を決定した(表4)。式(1)は、Thornleyの非直角双曲線モデル¹⁸⁾による光-光合成曲線を基に、光合成速度をバイオマス生産性に置き換えたものである。ここで、 P_{day} : 1日あたりのバイオマス生産性、 I [$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$]: 光合成光子束密度、 P_{max} [$\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$]: 1時間あたりのバイオマス生産性の最大値、 φ : 曲線の初期勾配、 θ : 曲線の凸度、 R [$\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$]: 呼吸による負のバイオマス生産性である。基となる実験は、明期: 14h、暗期: 10hの条件で行ったため、これを1時間単位のバイオマス生産性に直すために、式を変形した。このとき、 R は P_{max} の1/20という拘束条件を設けた。これは、拘束条件を設けずにフィッティングを行った場合、 R が P_{max} よりも大きな値をとったためである。この原因として、低光子束密度における実験値の不足が考えられた。

式(1):

$$P_{day} = 14[\varphi I + P_{max} - \{(\varphi I + P_{max})^2 - 4\varphi I \theta P_{max}\}^{1/2}] / 2\theta - 24R$$

日射量のデータはNEDOの日射量データベース閲覧システム(METPV-20)¹⁹⁾からダウンロードしたepwファイルを用いた。これらのファイルには、日本各地の地表面における1時間ごとの日射量が直達光と散乱光に分けて記録されている。このうち、NEDOプロジェクトの実施場所である広島県大崎上島に近い、愛媛県大三島(北緯34度14分43秒、東経133度0分38.8秒)のデータのうち平均年のデー

タを用いた。このデータから、ソフトウェア上に計測地点の1時間ごとの光環境を再現した。

計算対象とする構造物は、培養装置を単純化したモデル構造とし、これを蛇腹構造とした。単位構造の土地面積を縦横1mの正方形で固定し、高さを変更することで、蛇腹構造の最適な高さを検討した。高さが0mの構造を特に平面構造(Plain structure)とした(図10)。いずれの場合も、これらの単位構造が縦横に無限につながった場合を想定し、計算対象の周りに遮蔽物となる単位構造を十分に配置した。また、蛇腹構造の向きが、面が東西を向いている向き(東向き, East facing)、面が南北を向いている向き(南向き, South facing)の2つの条件でそれぞれ計算を行った。

計算期間は1年間とし、メッシュごとに年間のバイオマス生産性を計算した。計算期間のバイオマス生産性が負の

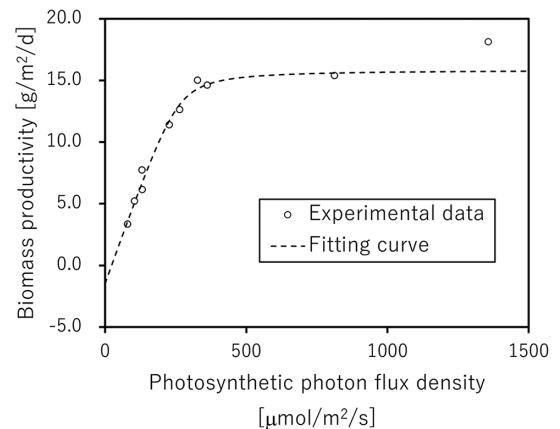


図9 実験値に対するモデル式のフィッティング
Curve fitting of model formula to experimental data
The top right data point was considered an outlier and was not used in the curve fitting.

表4 フィッティングにより得られた各変数の値
Values of variables determined by curve fitting

Variable	Value
P_{max}	1.24
φ	0.00459
θ	0.967
R	0.0620

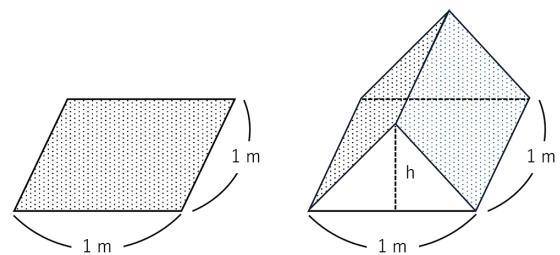


図10 シミュレーションに用いた単位モデル構造
Unit model structure used for simulation
Left: plain structure which is equivalent to bellows structure with a height of 0 meters. Right: bellows structure with a height of h meters.

場合、そのメッシュのバイオマス生産性は0とした。単位構造の全メッシュのバイオマス生産性を合計し、これを単位構造の年間のバイオマス生産性とした。

2.3.3 結果と考察

計算結果の一例として、南向きの蛇腹構造の高さ1.5mの年間のバイオマス生産性のコンター図を図11に示した。蛇腹構造の尾根に近い部分のバイオマス生産性が高く、谷間に近い部分の生産性が低いことがわかる。向かって右側の南向きの面で生産性が相対的に高く、左側の北向きの面は生産性が相対的に低い結果となった。

次に、蛇腹構造の向きと高さを変化させたときの、各構造の年間のバイオマス生産性を図12に示した。蛇腹構造の高さが1.5mまでは、バイオマス生産性が増大したが、高さが2.0mではバイオマス生産性はむしろ低下した。このことは以下のように考えた。表面積の増大により、太陽光の利用効率が増上するため、バイオマス生産性が向上するが、この効果はある程度で飽和してしまう。それ以上の

表面積の増加は、全体の呼吸量の増加につながり、全体のバイオマス生産性が低下したと考える。最も年間のバイオマス生産性が高かった蛇腹構造の高さが1.5mのとき、その表面積は平面構造の3.16倍となっている。このことから、年間のバイオマス生産性を向上するには土地面積に対する培養面積の比率を3倍程度にすることが効果的であることが示唆された。

このように、3D-CADソフトと気象条件ファイル、および実験値を組み合わせることで、太陽光下でのバイオマス生産性をシミュレーションする系を構築することができた。またその結果から、担体の配置を工夫することで、太陽光を効率よく利用でき、バイオマス生産性を高められることが示された。今回は蛇腹構造の計算結果のみを示したが、他の構造についても検討を行い、蛇腹構造がバイオマス生産性と構造の単純さの面で優れた構造であることが確認できている。このことから、蛇腹構造は、培養装置の基本構造として妥当であると考えられる。

本シミュレーションでは、培養表面上で起こる生物の反応を極めて単純化しているが、このシミュレーションによってこれまで概念的にしか示せていなかった固相表面培養の利点を定量的に評価する土台を提示することができたと考える。

3. 結 言

以上、紹介したように、我々は固相表面培養という技術に着目し、微細藻類によるバイオマス生産の研究に取り組んできた。特に培養装置の開発、シミュレーションによるバイオマス生産性の評価では大きな進展が得られた。また、開発した技術は、微細藻類による有価物生産への展開も期待できるものと考えられる。

一方で、課題も残されている。ひとつは、固相表面培養の原理やメカニズムに関する基礎的な理解が不足していることである。培養表面での反応や、細胞の状態を明らかにできれば、より良い培養条件や培養方法の探索が容易になると考える。もうひとつの課題は、屋外培養への適用が挙げられる。微細藻類をカーボンニュートラルの枠組みで考えたとき、最終的なゴールは太陽光を利用した大規模培養の実現である。まずは、今回開発した装置を一定の規模で、太陽光での培養に適用することを次のステップとしたい。

微細藻類を、大規模生産によるバイオマス生産で、CO₂削減に貢献する技術として社会実装するには、まだ多くの技術開発が必要である。そこに至るためには、冒頭に述べた高付加価値の有価物生産、例えば食料や水産餌料などへの適用を通じて、段階的に技術を実用化し、発展させていくことが必要だと考える。本研究を通じて得られた知見や技術についても、CCUS技術としてだけでなく、幅広い社会への還元に向けて、今後、具体的プロセスを模索していく。

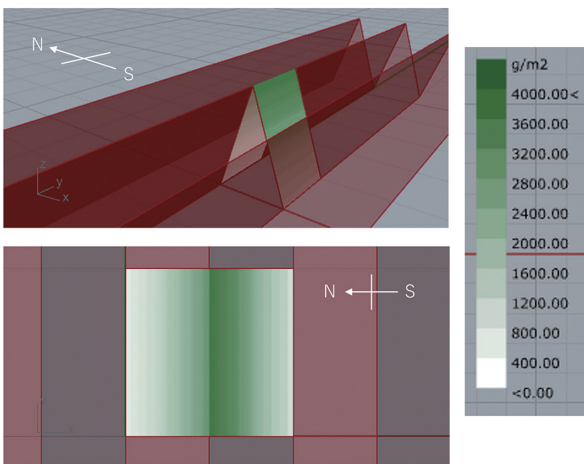


図11 年間のバイオマス生産性のコンター図
Contour diagram of annual biomass productivity
Upper left: quarter view of contour diagram on a model structure. Lower left: top view of contour diagram on a model structure. Right: a color indicator of heatmaps.

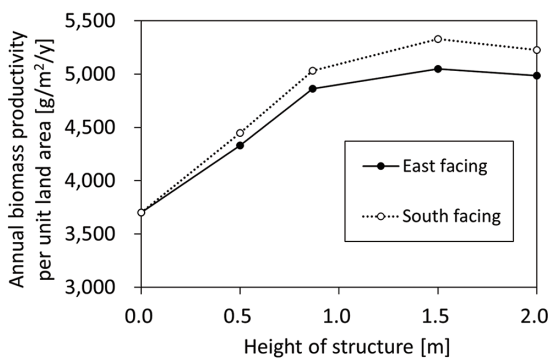


図12 異なる高さの蛇腹構造における年間のバイオマス生産性
Annual biomass productivity of bellows structures with different height

謝 辞

本研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託事業“カーボンリサイクル・次世代火力発電等技術開発／CO₂有効利用拠点における技術開発／CO₂を高効率で利用できる微細藻類バイオマス生産と利用技術の開発”(実施期間：2022～2025年度)において実施されたものです。ご支援に感謝申し上げます。また、本委託事業を行うにあたり、京都大学の宮下英明教授、ちとせ研究所の青木慎一氏、稲田敬氏に多大なご協力を頂きました。感謝申し上げます。

本研究のうち、“固相表面培養装置の開発”では日鉄テクノロジー(株)の滝川健次氏に、“固相表面培養のシミュレーションによる評価”では日鉄ソリューションズ(株)の中尾裕也氏と西村真吾氏にそれぞれご協力をいただきました。感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 日本製鉄技報. (417), (2021)
- 2) 吉村航, 小杉知佳, 加藤敏朗, 三木理, 宮下英明: 製鉄副産物を活用した微細藻類バイオマス生産の開発に向けた基礎検討. 日本製鉄技報. (417), 62–69 (2021)
- 3) Niels-Henrik Norsker, Maria J. Barbosa, Marian H. Vermuë, René H. Wijffels: Microalgal production—A close look at the economics. *Biotechnology Advances*. 29, 24–27 (2011)
- 4) Elizaveta A. Chunzhuk, Anatoly V. Grigorenko, Sophia V. Kiseleva, Nadezhda I. Chernova, Kirill G. Ryndin, Vinod Kumar, Mikhail S. Vlaskin: The Influence of Elevated CO₂ Concentrations on the Growth of Various Microalgal Strains. *Plants*. 12 (2013)
- 5) 星野孝仁: 微細藻類の産業利用. (株)東レ経営研究所 経営センサー. (238), (2021)
- 6) Björn Podola, Tong Li, Michael Melkonian: Porous substrate bioreactors: a paradigm shift in microalgal biotechnology? *Trends in Biotechnology*. 35, 121–132 (2007)
- 7) Junfeng Wang, Wen Liu, Tianzhong Liu: Biofilm based attached cultivation technology for microalgal biorefineries—A review. *Bioresource Technology*. 244, 1245–1253 (2017)
- 8) Martin Gross, Darren Jarboe, Zhiyou Wen: Biofilm-based algal cultivation systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99, 5781–5789 (2015)
- 9) Ying Shen, T. Yang, W. Zhu, Y. Zhao: Wastewater treatment and biofuel production through attached culture of *Chlorella vulgaris* in a porous substratum biofilm reactor. *Journal of Applied Phycology*. 29, 833–841 (2017)
- 10) Xuefei Zhao, Kuldip Kumar, Martin A. Gross, Thomas E. Kunetz, Zhiyou Wen: Evaluation of revolving algae biofilm reactors for nutrients and metals removal from sludge thickening supernatant in a municipal wastewater treatment facility. *Water Research*. 43, 467–478 (2018)
- 11) Ota, S., Yoshimura, K., Kosugi, C., Kawano, S.: Taxonomic and physiological studies of *Parachlorella kimitsuensis* sp. nov. (Trebouxiophyceae), which shows high ammonium tolerance. *Algal Research*. 71, (2023)
- 12) 日本製鉄(株), 特許第 7020229 号
- 13) 国立環境研究所, 微生物系統保存施設
<https://mcc.nbrp.jp/02medium.html>
- 14) Sara Pourkarimi, Ahmad Hallajisani, Asghar Alizadehdakheel, Amideddin Nouralishahi, Abooli Golzary: Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 29, (2020)
- 15) Yamashita, M., Yoshimura, M.: Estimation of Global and Diffuse Photosynthetic Photon Flux Density under Various Sky Conditions Using Ground-Based Whole-Sky Images. *Remote Sensing*. 11, (2019)
- 16) Eunyoung Lee, Mehregan Jalalizadeh, Qiong Zhang: Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*. 12, 497–512 (2015)
- 17) Kristina M. Weyer, Daniel R. Bush, Al Darzins, Bryan D. Willson: Theoretical Maximum Algal Oil Production. *Bioenergy Resources*. 3, 204–213 (2010)
- 18) John H. M. Thornley: Instantaneous Canopy Photosynthesis: Analytical Expressions for Sun and Shade Leaves Based on Exponential Light Decay Down the Canopy and an Acclimated Non-rectangular Hyperbola for Leaf Photosynthesis. *Annals of Botany*. 89, 451–458 (2001)
- 19) 日射量データベース閲覧システム, 年間時別日射量データベース (METPV-20)
<https://appww2.infoc.nedo.go.jp/appww/index.html>



吉村 航 Ko YOSHIMURA
先端技術研究所 環境基盤研究部
主幹研究員 博士(農学)
千葉県富津市新富20-1 〒293-8511



永田由衣 Yui NAGATA
先端技術研究所 環境基盤研究部