

# 藻類のミルクング培養法による省エネ型バイオ燃料生産プロセスの開発

東北大学大学院環境科学研究科 准教授 大田昌樹\*



\*otam@tohoku.ac.jp

## Introduction

➤ 緑藻: *Botryococcus braunii* (B. braunii) BOT-22

### 特徴

- 高いオイル含有率<sup>[1]</sup>
- 重油相当の炭化水素(C<sub>34</sub>H<sub>58</sub>)を産生<sup>[2]</sup>



Fig. Colony of *B. braunii*<sup>[3]</sup>

### 課題

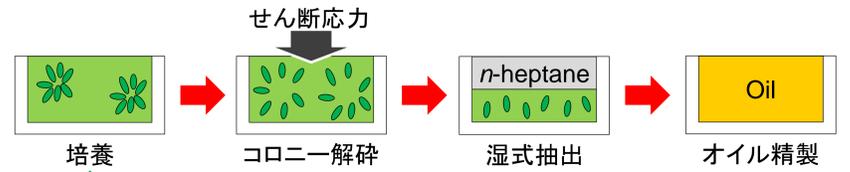
- 抽出溶媒との接触効率が悪い
- 他の微細藻類と比較して増殖速度が低い(右表)

**オイル生産性の向上が必須**

Table Biomass production<sup>[1, 4-6]</sup>

	[g/dm <sup>3</sup> /day]
<i>B. braunii</i>	0.13
<i>Dunaliella</i> sp.	0.75
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	1.63

➤ ミルキング(湿式抽出+藻体循環利用)プロセス<sup>[7, 8]</sup>

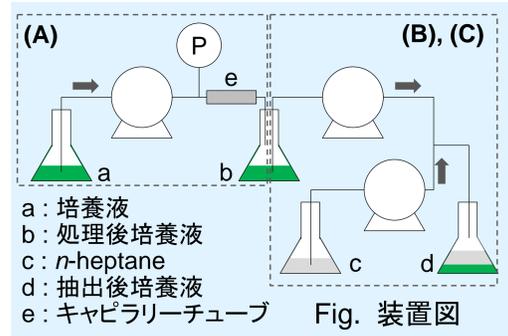


乾燥工程の省略と培養期間の短縮を実現

本研究の目的

- 連続式コロニー解砕および湿式抽出プロセスの検討
- ミルクング培養法の至適条件に関する検討

## Experimental



### 《オイル分析(GC-FID)》

$$\text{Oil Yield}[\%] = \frac{\text{Extract}[\text{g/g-dry algae}]}{\text{Content}[\text{g/g-dry algae}]} \times 100$$

➤ コロニー解砕(A)

*B. braunii* BOT-22 培養液

コロニー解砕(キャピラリーチューブ)

I.D 175 ~ 400 μm, L = 2, 3 cm  
U = 5 ~ 120 cm<sup>3</sup>/min, 20 °C  
(0.150 ~ 16.5 MPaG)

湿式抽出(回分)

20 min, 300 rpm, 20 °C  
培養液:n-heptane = 1:5 [v/v]

粒径分布測定

0.5 ~ 200 μm

➤ 連続式湿式抽出(B)

*B. braunii* BOT-22 培養液

コロニー解砕(キャピラリーチューブ)

I.D 175 μm, L = 3 cm  
U = 120 cm<sup>3</sup>/min, 20 °C  
(16.5 MPaG)

湿式抽出(連続式)

20 °C, 60 cm<sup>3</sup>/min (Total Flow rate)  
培養液:n-heptane = 1:5~5:1 [v/v]

➤ ミルキング培養(C)

*B. braunii* BOT-22 培養液

コロニー解砕(キャピラリーチューブ)

I.D 175 μm, L = 3 cm  
U = 50 cm<sup>3</sup>/min, 20 °C  
(3.66 MPaG)

湿式抽出(連続式)

20 °C, 15 cm<sup>3</sup>/min (Total Flow rate)  
培養液:n-heptane = 1:2 [v/v]

※ 培養液:培地 = 3:1 [v/v]  
Air: CO<sub>2</sub> = 100 :1 (cm<sup>3</sup>/min, SATP)  
100 μmol-photon m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 100 rpm, 20 °C

コロニー解砕・連続湿式抽出により各々の効果を確認後、ミルクング培養法による再培養の可否を検討

## Results and Discussion

➤ コロニー解砕(A)

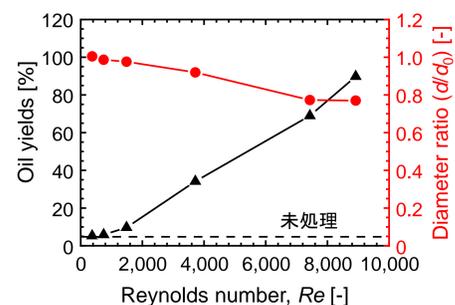


Fig. レイノルズ数Reとオイル回収率, コロニー径比の関係 (キャピラリーチューブ内径 = 175 μm)

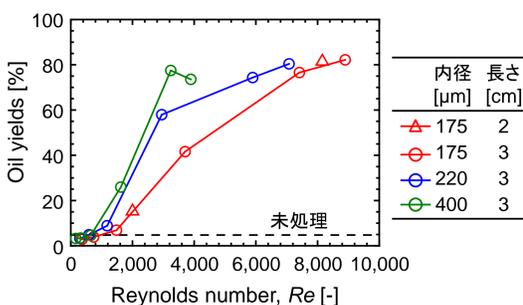


Fig. レイノルズ数Reとオイル回収率の関係 (キャピラリーチューブ内径 = 175~400 μm)

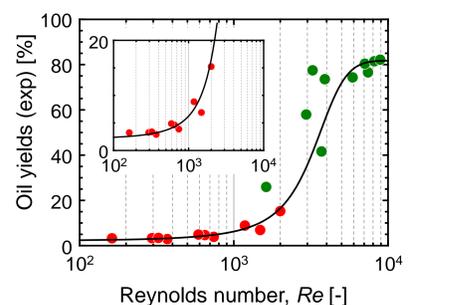


Fig. オイル回収率相関結果 (Eq. (1))

$$\text{Oil yield}[\%] = \frac{\alpha}{\beta + \exp(-\gamma \text{Re})} \quad \text{Re} = \frac{\rho D u}{\eta} \quad (1)$$

$\alpha = 2.20 \quad \beta = 2.69 \times 10^{-2} \quad \gamma = 1.12 \times 10^{-3}$

✓ 全Re領域に関して良好に相関可能

Table ARDs for correlation by Eq.(1)

	ARD [%]
Overall	18.5
< 20 %	16.8
> 20 %	20.2

$$\text{ARD}[\%] = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{\text{Yield}_{\text{calc},i} - \text{Yield}_{\text{exp},i}}{\text{Yield}_{\text{exp},i}} \right|$$

✓ 高Reでオイル収率が飽和する挙動

$$\lim_{\text{Re} \rightarrow \infty} \text{Oil yield} = \frac{\alpha}{\beta} = 81.8 \%$$

**オイル抽出挙動予測の可能性**

➤ 連続式湿式抽出(B)

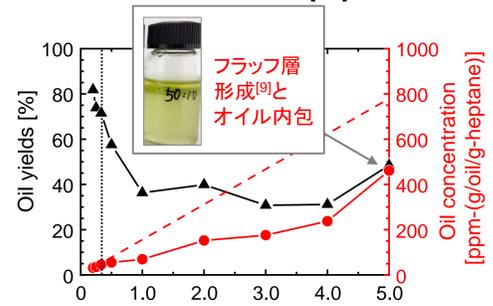


Fig. 培養液・n-heptane流量比とオイル回収率, オイル濃度の関係 (総流量60 cm<sup>3</sup>/min)

ミルクング条件(体積流量比) ⇒ 1:2

➤ ミルキング培養(C)

- Control (◇) 通常の継代培養
- No treatment (○) コロニー解砕なし 抽出は各サイクル
- Milking 1 (□) コロニー解砕1回 抽出は各サイクル
- Milking 2 (△) コロニー解砕2回 抽出は各サイクル

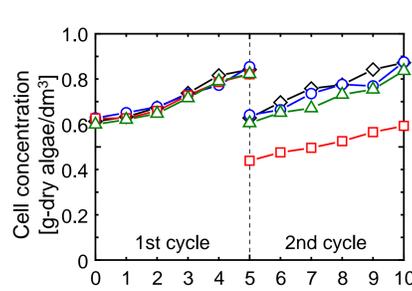


Fig. ミルキングにおける細胞濃度の時間依存性

✓ 抽出のみ (No treatment): 問題なく増殖  
・細胞増殖への影響は小さい

✓ 抽出+解砕 (Milking 1)  
・初期細胞濃度の低下を確認  
・オイル収率: 8.1 % (day5) → 18 % (day10)  
⇒ 増殖はできるが, 細胞の一部が破壊

**ミルクングにより, おおむね良好に再培養可能**

今後の検討課題

ミルクング条件(特に培養期間)の最適化

## Conclusion

- ✓ コロニー解砕・連続式湿式抽出プロセスの有用性を確認
  - ✓ スケールアップを目的とするオイル収率推算式の構築を達成
  - ✓ ミルキングによる再培養が可能であることを確認
- (今後の展望) ミルクング条件の最適化に向けた条件探索

## Acknowledgment

本研究は, 公益財団法人発酵研究所および東北復興次世代エネルギー研究開発プロジェクト (NET: Next-generation Energies for Tohoku Recovery) の助成を受けて行われました。本研究の遂行にあたり, 筑波大学 渡邊信先生, 鈴木石根先生, 田辺雄彦先生, 吉田昌樹先生をはじめとする諸先生方には, 培養液・培地提供および培養方法等に関しまして, 多くのご協力をいただきました。心より御礼申し上げます。