

発表番号 18 (0507)

耐塩性藻類を用いた人工石油生産プロセスの開発

堀内 淳一 (北見工業大学工学部)

[目的]

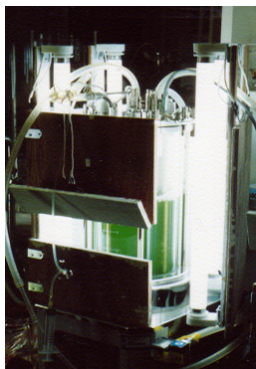
現存する石油資源の起源は、藻類の死骸や生物分解を受けた有機物が、地中の高温条件下で熱分解を受け石油鉱床が形成されたものであると考えられている(ケロジェン根源説)。石油資源枯渇後の資源・エネルギー確保のために、この自然界の石油生成過程を模倣した人工石油生産について検討することは有意義と考えられる。本研究では石油転換に適した耐塩性藻類、*Dunaliella tertiolecta* を用いた炭酸ガス固定とその油化による石油代替物生産プロセスに関する研究を行った。

[実験方法]

高塩濃度環境下においてグリセリンを細胞内に蓄積する耐塩性藻類 *Dunaliella tertiolecta* ATCC30929 を用い、外部照射型(5L)光合成培養装置および攪拌型油化装置により、培養の最適化、藻体の回収方法および藻体の油化処理条件について検討を行った。

[結果]

耐塩性藻類の培養条件を検討した結果、本株は海水の2倍程度まで塩濃度まで培養可能で、塩濃度の増加に伴い高濃度に主に細胞内にグリセリンを蓄積することが明らかとなった。藻体の回収では、培養液のpHをアルカリ側に制御することにより藻体が凝集沈降する現象を利用した回収方法を検討した。その結果藻体濃度に応じpHを8.5 - 11.0に上昇させることにより90%以上の藻体を簡便に回収しうることを明らかとした。pHを10.5以上に制御した場合細胞内グリセロールの漏出が生じるためこれ以下のpHで制御することが必要である。藻体の油化処理条件について検討した結果、250℃、50気圧の条件で藻体の油化を行うことにより有機物換算で約40%の収率で原油状物質(6 - 7,000 cal/g)が得られることが明らかとなった。



藻体の培養



藻体バイオマスの回収



油化による人工原油化

耐塩性藻類を用いた人工原油生産

助成番号 0507

耐塩性藻類を用いた人工石油生産プロセスの開発

堀内 淳一 (北見工業大学工学部化学システム工学科)

<研究背景>

現在のエネルギー源は石油資源に大きく依存しているが、石油資源は化石燃料であるために枯渇の一途をたどっている。また、石油資源の燃焼に伴って発生する二酸化炭素が、地球温暖化の一因として考えられている。このため、持続可能な石油代替物生産プロセスの開発が期待されている。

現存する石油資源の起源は、藻類の死骸や生物分解を受けた有機物が、地中の高温条件下で熱分解を受け石油鉱床が形成されたものであると考えられている(ケロジエン根源説, Fig. 1)。石油資源枯渇後の資源・エネルギー確保のために、この自然界の石油生成過程を模倣した人工石油生産について検討することは有意義と考えられる。このような観点から、石油転換に適した耐塩性藻類、*Dunaliella tertiolecta* を用いた炭酸ガス固定とその油化による石油代替物生産プロセスに関する研究を行う。

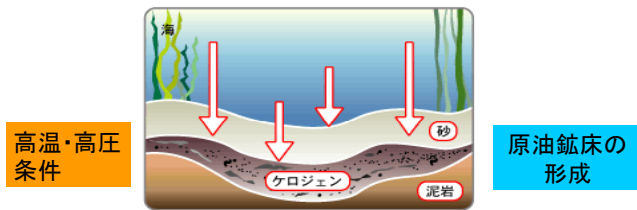


Fig. 1 原油生産メカニズム…ケロジエン根源説
((財)日本エネルギー経済研究所 石油情報センター)

<研究目的>

耐塩性藻類を用いる石油代替物質の生産においては、大規模生産を前提に、効率的な 1) 藻体の培養、2) 藻体の回収、3) 藻体の油化処理を検討することが重要である(Fig. 2)。本申請ではこれらの点について検討を行うが、海水を用いた効率的な耐塩性藻類の培養法、特に塩濃度とグリセリン含有率の関係、pH 制御による簡便かつ効率的な藻類回収法について検討を行った。

<実験方法>

菌株は耐塩性藻類 *Dunaliella tertiolecta* ATCC30929 を使用した(Fig. 3)。

Table 1 に培養液組成、Table 2 に培養条件をそれぞれ

示した。塩化ナトリウム濃度は海水と同じ 29.2 g/l とし、通気の炭酸ガス濃度は 10% とした。

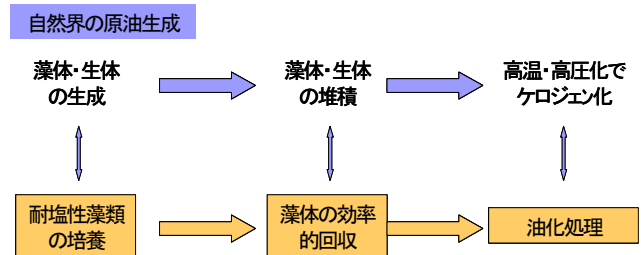


Fig. 2 耐塩性藻類を用いた人工原油生産プロセス

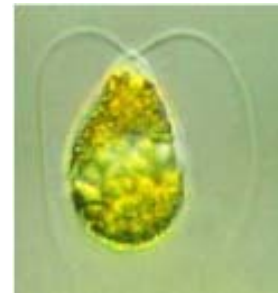


Fig. 3 耐塩性藻類 *Dunaliella tertiolecta* ATCC30929

Table 1 培養液組成

NaCl	29.2
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.5
KNO ₃	1.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2
NaHCO ₃	43 × 10 ⁻³
K ₂ HPO ₄	0.495
KH ₂ PO ₄	40.8 × 10 ⁻³
FeCl ₃	0.03 × 10 ⁻³
EDTA·2Na	7.73 × 10 ⁻³
H ₃ BO ₄	0.61 × 10 ⁻³
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.023 × 10 ⁻³
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.087 × 10 ⁻³
CuSO ₄ ·7H ₂ O	0.06 × 10 ⁻³
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.021 × 10 ⁻³
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.015 × 10 ⁻³

Table 2 培養条件

培養液量	1.5 l
培養温度	27.0 °C
光強度	10,000 lux
通気量	0.33 vvm
CO ₂ 濃度	10 %
攪拌速度	250 rpm
pH	7.0

Fig. 4 に、実験に使用した光合成培養システムを示した。外部照射型の光合成培養槽に培養液を 1.5 L 入れ滅菌後、培養液約 10 ml を植菌し培養を開始した。培養中、1 M の塩酸および水酸化ナトリウム水溶液によって pH を 7.0 に制御し、炭酸ガス濃度 10% の混合ガスを 0.33 vvm で通気した。菌体濃度は、波長 680 nm における濁度を測定し、別途定めた検量線により乾燥菌体濃度を算出した。菌体内及び菌体外のグリセロール濃度は、F-キット(R-Biopharm GmbH 製)を用いて測定した。

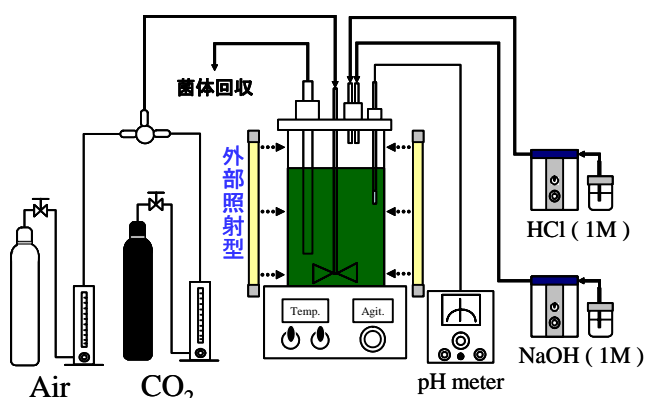


Fig. 4 光合成培養システム

凝集沈降実験は、培養液 49 ml を採取し、種々の濃度の水酸化ナトリウム水溶液 1 ml 添加し全量を 50 ml とした後、速やかにスターラーで 250 rpm、1 min 攪拌した。培養液の pH を測定後、100 ml テフロン製メスシリンダーに移し、界面の沈降を観察した。界面の高さの測定は、メスシリンダー 50 ml の高さを h_0 、境界面の高さを h とし、界面の高さ h/h_0 を求めた。60 分静置後、培養液を採取し、グリセロール濃度を測定した。

<結果及び考察>

1. 耐塩性藻類 *D.tertiolecta* の培養特性

D.tertiolecta を用いた回分培養の結果の 1 例を Fig. 5, 6 に示した。この結果から、培養液の塩濃度が海水と同程度の塩濃度であるにもかかわらず、約 2 d の誘導期の後、藻体は良好に増殖することがわかった。本研究で用

いた培養条件下では、藻体は直線的に増殖し、藻体生産性は 0.2 – 0.4 g-dw/L・day になった。また、藻体含有グリセロール濃度 (Gly I) は、藻体濃度の増加に伴い比例的に増加したが、培養液中のグリセロール濃度 (Gly E) は殆ど検出されなかった。このことから、増殖期では藻体内で生成したグリセロールは藻体外に漏出しないことが明らかになった。したがって、海水を用いても本研究の培養条件下で培養を行えば、グリセロール含有率の高い耐塩性藻類を得ることが可能と考えられる。

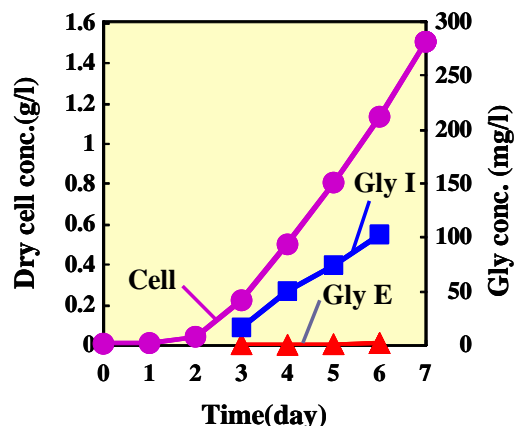


Fig. 5 *D. tertiolecta* を用いた回分培養
 ●; Dry cell conc.(g/l)、■; 藻体含有グリセロール濃度 GlyI、▲; 培養液中のグリセロール濃度 GlyE

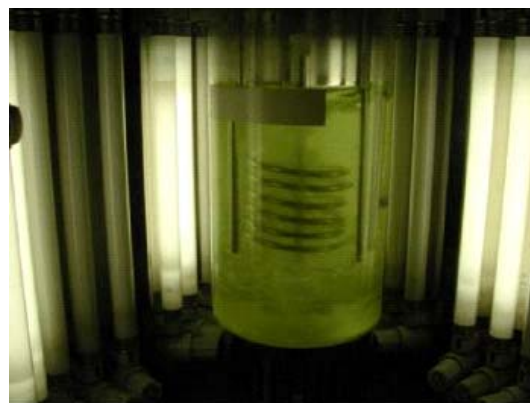


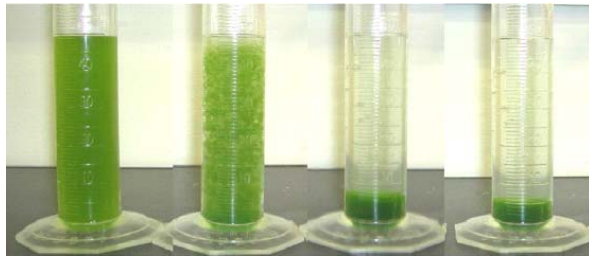
Fig. 6 光合成培養システムによる *D.tertiolecta* の培養

2. 耐塩性藻類 *D.tertiolecta* の効率的回収

2. 1 pH 制御による藻体の回収

pH 制御による藻体の回収を検討するために、種々の pH 条件において藻体の凝集沈降実験を行った。その結果を Fig. 7 に示した。図に示した写真は、菌体濃度 0.61 g/l の培養液に水酸化ナトリウム水溶液を添加し pH を 9.5 に上昇させた後、沈降開始 0 min、5 min、10 min 後に撮影したものである。この図を見るとわかるように、アルカリ

条件下にすることで急激な凝集沈降が認められた。



Time 0 min 0 min 5 min 10 min
培養液 (pH 7.0) pH 9.5

Fig. 7 pH 9.5 の条件下における藻体の凝集沈降培養液の藻体濃度 0.61 g/L

次に、種々の pH 条件が藻体の凝集に与える影響について、より詳細に検討を行い、その結果を Table 3 に示した。その結果、pH をアルカリ側に制御することにより 90% 以上の菌体を効率的に回収でき、最適条件における凝集菌体濃度は約 15 g/l 程度となった。

以上の結果から、pH 制御による *D.tertiolecta* の効率的回収が可能であることが明らかとなり、従来の遠心分離や凝集剤を用いるよりも低コストの藻体回収が期待できる。

Table 3 種々の藻体濃度および pH 条件における *D. tertiolecta* の回収

菌体濃度 (g/l)	pH (-)	h/h ₀ (-)	回収率 (%)	凝集菌体濃度 (g/l)
0.61	8.6	0.04	94.7	14.6
	9.5	0.08	97.3	7.42
	10.3	0.20	98.8	3.01
1.25	10.5	0.08	98.8	15.1

2. 2 pH 制御によるグリセロールの溶出

次に、原油化に重要な藻体内成分であるグリセロールの漏出に及ぼす pH の影響について検討を行い、その結果を Fig. 8 に示した。この図は、様々な pH で凝集を行った藻体からのグリセロールの漏出について調べたものである。図から明らかなように凝集 pH が 11 以上になると藻体外へのグリセロールの漏出が急激に進むことが明らかとなった。これは、高い pH 条件下では、藻体の細胞膜が破壊されグリセロールなどの藻体内成分が漏出したためである。このため、藻体を細胞内成分と共に回収するには、pH 11 以下の条件で藻体の凝集沈降を行うことが望ましいと考えられる。

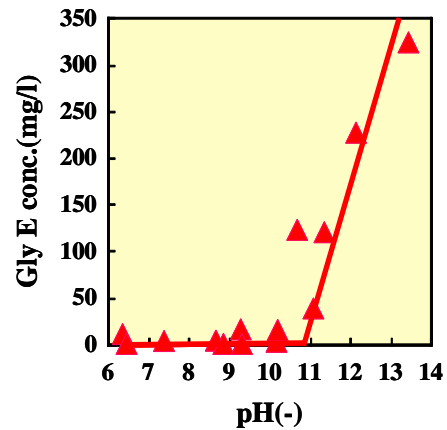


Fig. 8 グリセロール漏出に及ぼす pH の影響

3. 藻体の油化

自然界の原油生成で起こっている高温・高圧化によるケロジェン化の代替法として油化処理の検討を行った。Fig. 9 に、油化実験に利用した攪拌型油化装置を示した。この反応容器に原料となる藻体、水、触媒(アルカリ金属塩等)を入れ加熱し、一定時間保持することによりオイルが得られる。この方法は、水素や一酸化炭素などの還元ガスを必要としないために安価であり、また原料の脱水・乾燥も不必要であるために、特に含水率の高い藻体に適している。Table 4 にその藻体の性状を示した。

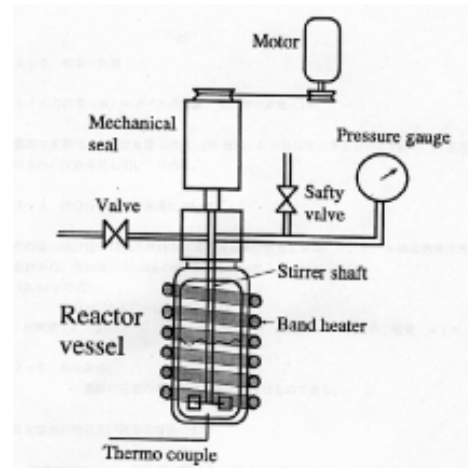


Fig. 9 油化実験装置

Table 4 藻体の性状

含水率 (%)	76.1
有機物比	63.1
発熱量(理論値 cal/g)	4,100
炭素 (%)	51.2
水素 (%)	5.2
窒素 (%)	10.8
酸素 (%)	32.8

藻体の油化処理条件について検討した結果を Fig. 10 及び Table 5 に示した。これは、耐塩性藻類 *D. tertiolecta* を原料として攪拌速度 3 - 400 rpm、保持時間 10 min、種々の温度および圧力条件下で油化実験を行ったものである。その結果、250℃、50 気圧の条件で藻体の油化を行うことにより有機物換算で約 40%の収率で原油状物質 (6-7,000 cal/g) が得られることが明らかとなった。



Fig. 10 人工石油(藻体の油化で生成したオイル)

<結論>

これまでの結果から、海水および耐塩性藻類を利用し原油状物質を生産しうることが明らかとなった (Fig. 11)。本プロセスが実現できれば、ほぼ完全に sustainable なエネルギー・物質生産基盤となりうる。また耐塩性藻類の利用による海水中の炭酸ガス利用による地球温暖化抑制や、光エネルギーの固定によるエネルギー再生産など環境面からも多くのメリットが期待できる。藻類による炭酸ガス固定の研究は無数に見られるが、藻体の有効利用に関しては藻体内成分の部分的利用に留まる研究が多く、本研究のように人工原油生産を目的としたものは少ない。また原油類似物質が生産できることから現存する多くの石油精製・石油化学プロセスを、ほとんど変更することなく転用できるメリットがある。石油資源枯渇後の循環型社会において、石油資源に代わりうる単一資源を見出すことは難しく、多様なエネルギー源・バイオマス資源を最適に組み合わせて社会システムを構築する必要に迫られるだろう。そのような社会におけるエネルギー・物質生産基盤のひとつとして、本研究が実質的に寄与することを目指して研究を進めていきたい。

本研究の遂行に当たり、京都工芸繊維大学・岸本通雅教授の協力を得た。

Table 5 人工石油の性状

試料	炭素 (%)	水素 (%)	窒素 (%)	硫黄 (%)	発熱量(理論値 cal/g)	収率 (%)
A	58.4	7.5	3.5	14.2	6,600	43.8
B	59.4	7.2	1.4	14.1	6,600	42.6
C	54.6	7.5	3.8	13.9	6,100	34.2

ただし、発熱量: Dulong の式

$$Q(\text{J/g}) = 33.8 C(\%) + 1442 (H(\%) - O(\%) / 8)$$

$$\text{オイル収率}(\%) = \text{オイル重量} / \text{有機物量} \times 100$$



Fig. 11 耐塩性藻類を用いた人工原油生産プロセス

0507

Artificial crude oil production using halotolerant microalgae

Jun-ichi HORIUCHI (Kitami Institute of Technology)

Summary

The origin of petroleum is considered to be “kerogen”, which was formed from sea sediments including algal biomass under high pressure and at a high temperature. When we think of oil crisis in future, which will be surely caused by rapid increase of energy consumption accelerated by economic growth and a population explosion, it is beneficial to examine a possibility of producing crude oil from renewable resources by a mimetic approach based on a mechanism of natural kerogen generation. In this study artificial crude oil production from halotolerant microalgae *Dunaliella tertiolecta* was investigated. *D. tertiolecta* was successfully cultivated under high saline condition and accumulated intracellular glycerol. The cells were effectively harvested from culture broth by increasing pH to around 8.5-10.5. The harvested cells were then thermo-chemically liquefied under the conditions of 250°C and 50 kg/cm², which generated crude oil-like product with a calorific value of 6-7,000 cal/g.



Photobioreactor for algal biomass production



Cell harvesting by pH regulation



Crude oil-like product generated by thermal treatment of algal biomass

Artificial crude oil production from halotolerant microalgae