

題目「宮城の水を利用した新エネルギー開発」

宮城県工業高等学校化学工業科 人工石油チーム

第1章 諸論

(1) 背景

昨年発生した東日本大震災の時には東北地方を中心としてエネルギー不足となり、今後はより安心・安全な再生可能エネルギーが必要であることが実感された。そこで、次世代エネルギーとして、藻類からのバイオ燃料生産が注目を集めている。日本では、筑波大学等が有名である。私たちはこの研究施設を見学し研究を進めてきた。又、私たちの日常生活の中には灯油やガソリンのようにして様々な用途に石油エネルギーが使われている。これらの石油は、外国から99%輸入しているものであり可採年数は40年であると言われている。そして今、地球温暖化という世界的な問題もある。これは砂漠化を進めるなど、地球規模での環境に異変をもたらす。以上の問題から再生可能な新エネルギーが必要であると考えた。又、私たちは身近な広瀬川や仙台湾の水を利用してオイル産生藻類を培養し、その可能性を検討した。

(2) 目的

オイル産生微細藻類として繁殖力が強い *Chlorella* 属及び *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing を実際に仙台の気候のもとで、地元広瀬川の水を培地として使用し、その実用化を検討する。特に今回使用したものの一つである *Chlorella* sp (NIES-2171) は、地元仙台市仙田野草園で発見されたものであり、仙台の気候・風土に適合する可能性がある。又、*Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing についても非常に増殖力が強いことで知られている。これらを広瀬川の水を煮沸又は殺菌して培養を行った。

また、海水で育つ藻類としては、海洋藻類の *Chlorella vulgaris* Beijerinck(NIES-1269)を仙台湾の水を使用し、実際に培養を行った。

第2章 *Chlorella* sp (NIES-2171) 培養における広瀬川の水活用の検討

(1) 目的

AF-6 は作るのに様々な薬品を使うためコストが高くなる。又、地元仙台の広瀬川の水を利用できればその成分を有効利用でき、将来実用化に大きく貢献すると考えた。そこで広瀬川の水を使い AF-6 と混合し 20、40、60、80、100% の濃度の培地を作り培養してその可能性を検討した。

(2) 実験方法

窒素濃度 100% の AF-6 に煮沸殺菌した広瀬川を混ぜ 20、40、60、80% の培養液と広瀬川 100% の培養液を作った。菌などが極力入らないようにするために実験で使うガラス器具や広瀬川を混ぜた培養液 20~100% などをオートクレープで殺菌し、AF-6 が 30 度まで下がるまで冷却した。

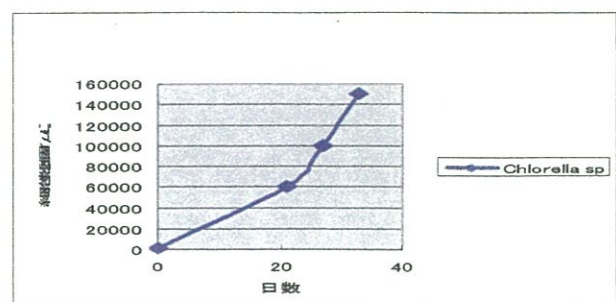
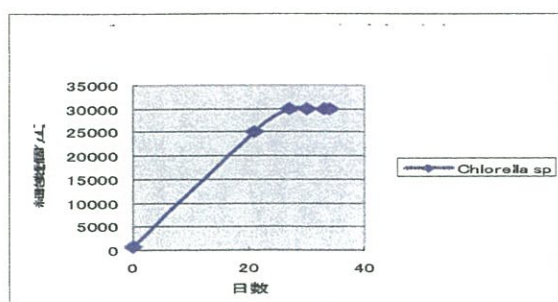
- ① 容器に AF-6 を 700mL 入れた。
- ② 試料を白金時で削りとり AF-6 が入った容器に入れふたをした。
- ③ 容器内にガラス棒を入れフィルターをつけたチューブから空気を入れた。
- ④ 血中濃度で細胞数を測定した。
- ⑤ 数日おきに細胞数を測定した。

(3) 結果と考察



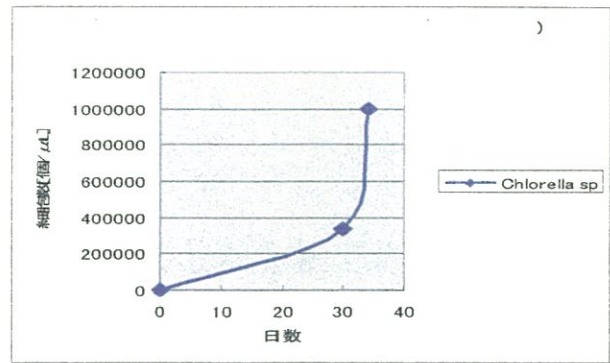
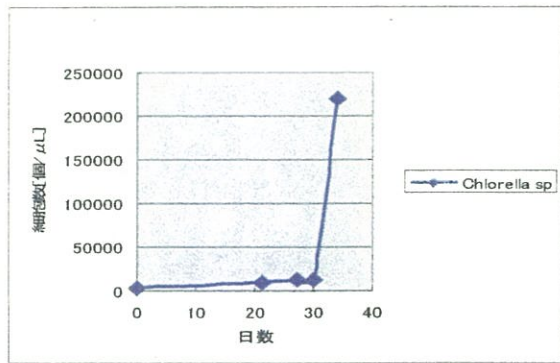
写真 2-1 広瀬川 20% 写真 2-2 広瀬川 40% 写真 2-3 広瀬川 60% 写真 2-4 広瀬川 80% 写真 2-5 広瀬川 100%

Chlorella sp を AF-6 に広瀬川の水を混ぜ 20~100% の濃度別で培養しその繁殖速度を血中濃度で細胞数をはかり縦軸は細胞数[個/ μ L]、横軸は日数でグラフに表した(グラフ 2-1~2-5)。



グラフ 2-1 の広瀬川 20%の *Chlorella* sp は一定に増殖しており 21 日を過ぎたあたりから増殖しなくなった。34 日まで細胞数が 30000 個に増えた。

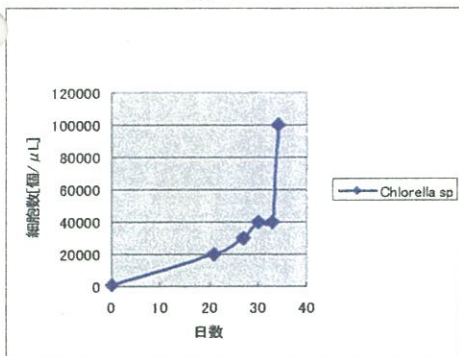
グラフ 2-2 の広瀬川 40%の *Chlorella* sp は 20 日まで一定に増えており 20 日後はさらに増え比例している。33 日まで細胞数が 150000 個に増えた。



グラフ 2-3 の広瀬川 60%の *Chlorella* sp は 30 日まであまり増えなかったが 30 日後から急激に増えている。34 日まで細胞数が 220000 個に増えた。

グラフ 2-4 の広瀬川 80%の *Chlorella* sp は 30 日まで一定に増殖していたが 30 日後から急激に増えている。34 日まで細胞数が 1000000 個に増えた。

グラフ 2-5 の広瀬川 100%の *Chlorella* sp は 30 日まで一定に増殖していたが 30 日後から急激に増えている。34 日まで細胞数が 1000000 個に増えた。これらのグラフを比較して全体的に数に違いは出るが細胞数は増殖した。またグラフ 2-1 では細胞数が飽和状態になるまで増殖したため途中から変化が見られなかった。細胞数に違いはあるがグラフ 2-3、グラフ 2-4 とグラフ 2-5 の形が似ていていずれも 30 日以降に急激に増殖している。広瀬川 100%では繁殖速度が落ちることがわかったが 60%、80%での培養では繁殖速度が速くなることがわかった。特に写真とグラフからわかるとおり広瀬川 80%での培養が一番繁殖した。この結果から十分に煮沸すれば広瀬川の水を利用して培養することができるとわかった。広瀬川の水を使うことで経済的負担を軽減できるため、今後の実用化が期待される。



第 3 章 広瀬川の水を活用した *Chlorella* sp (NIES-2171) の大量培養の検討

(1) 目的

Chlorella (NIES-2171) を 20 L の大きな容器に入れ学校の隣を流れる広瀬川の水を活用して大量培養させ、有効利用の可能性を検討した。

(2) 実験方法

これまで 300ml の三角フラスコで培養をおこなっていた *Chlorella* sp (NIES-2171) 株の培養液 3ml を広瀬川から汲んできた水と混合し 18リットルの溶液とした。養分として硝酸ナトリウムと硝酸アンモニウム、グルコースを加えた。なお、広瀬川の水は煮沸・濾過してから使用した。養分それぞれの割合はそれぞれ 0.14%、0.022%、0.1%である。この市販容器にポンプに繋がったチューブを入れ、脱脂綿で隙間を埋め、窓際で太陽光を当てて培養した。

(3) 結果と考察

血中濃度計での細胞数の計測結果から順調に増殖を続け、およそ三週間で飽和状態となった。細胞の大きさは 3~8 μm であり小規模の場合と同程度であった。それまで培地内での雑菌や他の微生物などの繁殖は確認されなかった。よって広瀬川の水による培養は成功したといえる。



写真 3-1 大量培養 NIES-2171

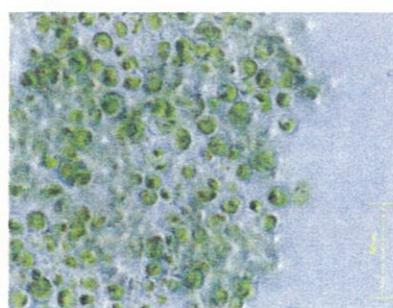


写真 3-2 染色前

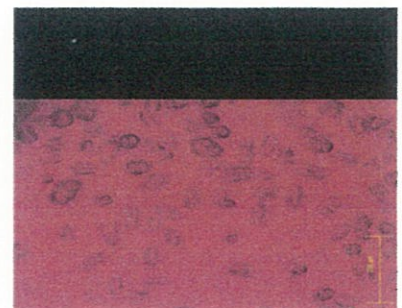


写真 3-3 染色後

また、仙台でも最高気温は真夏では 30℃ 以上にはなり、ある程度的高温に耐える種が必要となる。今回培養した

Chlorella sp (NIES-2171) は室温 35℃の培養条件でも繁殖速度に低下はみられず、仙台の気候にも対応可能であると考えた。更に偏光顕微鏡で培養した細胞内にオイルが生成されているかを確認した。写真3-2はこの Chlorella sp (NIES-2171) の染色前の偏光顕微鏡写真であり、写真3-3はこれにナイルレッドという染色剤で染色した場合の偏光顕微鏡写真である。染色後に赤く光っている部分があるがこれがオイルであり存在を確認することができた。

第4章 広瀬川水を活用した Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing (NIES - 2279) の大量培養の検討

(1) 目的

オイル抽出のための大量培養を8リットルの培養容器3個を用いて、当初の目的とする広瀬川の水を培地としての培養を試み、その可能性を検討する。また、対象藻類の時間の経過による増殖速度の測定をおこなう。増殖速度の測定により、1マイクロリットルあたりの細胞数がどのくらいの値で飽和するかを測定し、その可能性を検討する。

(2) 実験方法

これまで 300ml の三角フラスコで培養をおこなっていた Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing (NIES - 2279) 株の培養液 3ml を広瀬川から汲んできた水と混合し6リットルの溶液とした。養分として硝酸ナトリウムと硝酸アンモニウム、グルコース、グラニュー糖を加えた。これを3セット(合計18L)作成した。なお、広瀬川の水は煮沸・濾過してから使用した。硝酸ナトリウムと硝酸アンモニウム、グルコース、グラニュー糖の割合はそれぞれ0.14%、0.022%、0.1%、1.0%である。この市販容器にポンプでバブリングをし太陽光を当てた。

(3) 結果と考察

血中濃度計での細胞数の計測結果から順調に増殖を続け、およそ二週間で1μLあたりの細胞数が約55000程度となり飽和状態となった。細胞の大きさは5~10μmであり小規模の場合と同程度であった。それまで培地内での雑菌や他の微生物などの繁殖は確認されなかった。よって広瀬川の水による培養は成功したといえる。これは小規模で培養した値よりも小さいが、その原因として大型の容器で培養した場合、あたる光の量が中心部に行くに従って弱くなり、その結果に効率が低下する為と推測した。また、仙台でも最高気温は真夏では30℃以上にはなり、ある程度の高温に耐える種が必要となる。今回培養したのは室温35℃の培養条件でも繁殖速度に低下はみられず、仙台の気候にも対応できる可能性があると考えた。更に偏光顕微鏡で培養した細胞内にオイルが生成されているかを確認した。

第5章 オイル産生藻類からのオイル抽出の検討

(1) 目的

広瀬川の水を利用して培養をおこなった Chlorella sp (NIES-2171) 及び Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing (NIES - 2279) からオイルを抽出しその可能性について検討した。

(2) 実験方法

最初に、上記2つの培地から藻を分離させるため、それぞれ吸引濾過機を用いて濾過をおこなった。その後、細胞からオイル分を取り出すためにメタノールに浸漬し、オイルのメタノール溶液を調整した。ただこの方法では、ろ紙の目が細かすぎると効率が落ち、大きすぎると多くのオイル産生藻類がろ紙を通過してしまい、十分に取り出せなかった。そこで2000rpmで5分間の条件で遠心分離機にかけ沈殿物としてオイル産生藻類を取り出した。取出した沈殿物であるオイル産生藻類をめのう乳鉢ですり潰し、冷凍庫で凍結させ藻類の細胞を破壊した。解凍し、メタノールを加え24時間攪拌してオイルを抽出した。

(3) 結果と考察

上記で得られたオイルのメタノール溶液を濾過後、高速液体クロマトグラフィーで分析したところ、オイルが抽出されたことを確認できた。またこのオイルは菜種油に近い成分であることも確認された。次に以下の写真5-7のように脱脂綿に含ませて、燃焼実験を行ったところ燃焼した。その後、Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing (NIES - 2279) から抽出したオイルについて、メタノールとの混合燃料としてエンジンに使用できるか、エンジン駆動のラジコンカーで駆動実験を行ったところ、市販の燃料よりも匂いがしない排気ガスを排出しながらラジコンカーを走行させることができた。



写真5-5 オイル燃料



写真5-7 燃焼実験の様子



写真5-7 ラジコンカー駆動実験

第6章 音楽による成長速度の検討

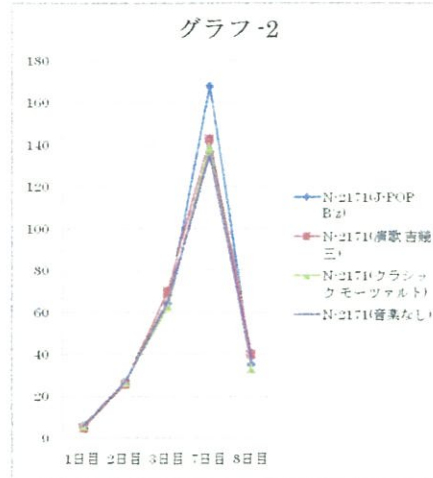
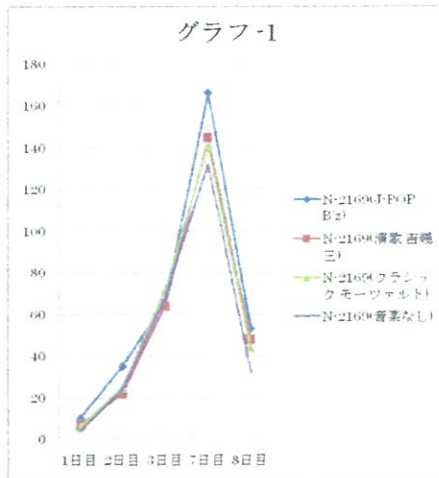
(1) 目的

藻類 (N-2169[*Chlorella sorokiniana* Shihira et Krauss]・N-2171[*Chlorella* sp]) に音楽 (J-pop・演歌・クラシック) を聴かせた藻類と聴かせない藻類の成長速度を比較、検討した。

(2) 実験方法

加熱処理した広瀬川の水を 300 ml 三角フラスコにクリーンベンチ内で3種類の藻類(N-2169・N-2171)を植え付け、栄養分として N-2169・N-2171 には窒素分を加えた。それらに J-pop[B'z ギリギリチョップ]、演歌[吉幾三 秋風]、クラシック[モーツァルト Eine Kleine Nachtmusik]、音楽なしの4つに分けてそれぞれの成長速度を比較した。

(3) 結果と考察



グラフ-1の N-2169 は J-pop[B'z]の血中濃度が他の音楽に比べて3日から7日までの4日間での伸びが特に大きく、N-2169には J-pop[B'z]を聴かせると成長速度が上がると考えられる。

グラフ-2の N-2171 も J-pop[B'z]の血中濃度が他の音楽に比べて3日から7日までの4日間での伸びが特に大きかった。また、藻類の N-2169 と N-2171 は、J-pop を聴かせると育ちやすくなる事がわかった。どのような理由で影響があるのかは代謝を含め現在検討中である。

第7章 仙台湾の海水を使用した海洋藻類の可能性の検討

(1) 目的

淡水藻類の他に、海洋藻類 *Chlorella* sp(NIES-1269)を身近な仙台湾閉上で採取した天然海水を使用して培養し、仙台の海水での培養の可能性を検討した。

(2) 実験方法

汲んできた天然海水をろ過して不純物を取り除いた。その海水に各栄養塩類を加えて、海洋藻類用栄養塩強化培地 ESM2 を調整し、容器に ESM2 を 300ml 入れた。試料をスポイトで 1ml ほどとり、ESM2 の入った容器に入れふたをした。容器内にガラス管を入れフィルターをつけたチューブからポンプを使用し空気を 24 時間供給した。光合成を促進させるために日当たりのよい窓際で太陽光に 24 時間当て続けた。これまでの作業は全てクリーンベンチ内で行った。バブリングをしながら血中濃度計で細胞数を計り記録した。



写真 7-1 培養の様

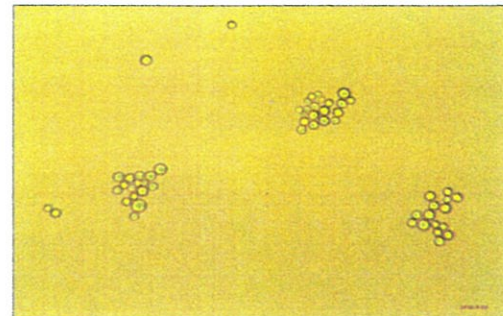
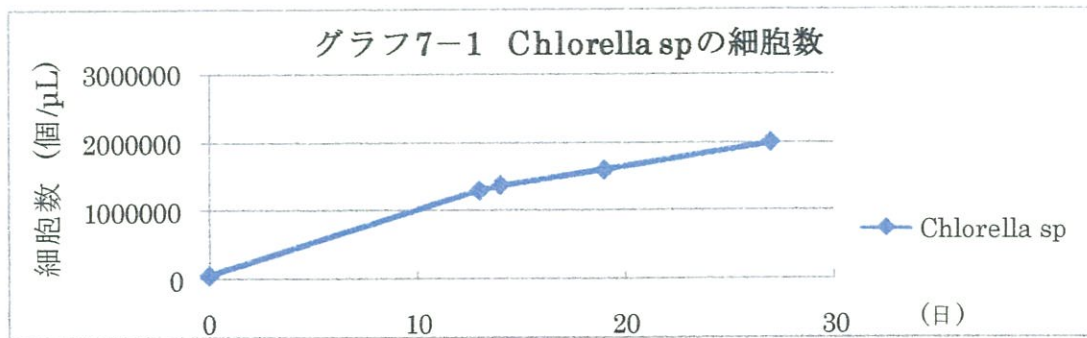


写真 7-2 NIES-1269 コロニー×1000

(3) 結果と考察

上記方法により私たちは海洋藻類 *Chlorella vulgaris* Beijerinck (NIES - 1269) 株の培養をおこなった。以下のグラフは今回培養した *Chlorella vulgaris* Beijerinck (NIES - 1269) の増殖状態を 1 μ L あたりの細胞数の測定結果を縦軸にしてグラフ化したものである。



グラフを見ると、初日から2週間後までは一定に増殖し、それからすこし増殖速度が遅くなったが、それでも27日までには細胞数が2000000個まで増殖し、その後安定した。この結果から、海洋藻類は仙台湾の海水で順調な培養ができることがわかった。このことから、海岸付近の平地を利用して大量に培養し、工業的な利用も可能であることが考えられる。

第8章 まとめと展望

- ① 広瀬川の水を培地として利用した *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (NIES - 2279) 及び *Chlorella* sp(NIES-2171)は、蒸留水や水道水を利用したものよりも順調に生育した。広瀬川の水に含まれる有機物などが成長を促したのではないかと考えた。また、高価なAF-6等の培地を使用することなく、広瀬川の河川水に含まれる各種イオンや有機物等の成分を有効に利用でき、培養コストの削減につながると考えた。
- ② 広瀬川の水を利用して *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (NIES - 2279) 及び *Chlorella* sp(NIES-2171)を実際に仙台で培養したところ最高気温が35℃の条件でも繁殖速度には影響はみられなかった。特に *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (NIES - 2279) についてはより増殖力が強く工業化に有利と考えた。現在注目されている *Botryococcus braunii* Kützing も培養したが、これらの繁殖速度の方が圧倒的に速い上に、高温にも耐えたので有望であると考えた。
- ③ 広瀬川の水を利用して大量に培養した *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (NIES - 2279) 及び *Chlorella* sp(NIES-2171)を培養液からの分離に成功した。またオイル抽出を行うこともできた。このオイルは菜種油に近い成分であると推測した。これをラジコンカー駆動燃料として使用できた。市販の燃料よりも匂いがしない排気ガスを排出しながらラジコンカーを走行させることができた。このことから広瀬川の水を活用して生産したオイルは、エンジン用の燃料として利用できる可能性もあると推測した。
- ④ 広瀬川水の殺菌処理の方法は、今回の実験では、煮沸が最も確実であると推測した。しかしながら、今回更に低コストな処理方法を検討する必要があると考える。
- ⑤ 仙台湾の海水を培地として利用して海洋藻類 *Chlorella vulgaris* Beijerinck (NIES - 1269) の培養に成功した。繁殖速度も速く、仙台湾の海水に含まれる塩類が良く藻類と適合したと見られる。また仙台湾の海水は無限にあるので、このことを利用して海岸付近の平地での大量培養が、オイルをすこしでも多く作り出すためにとっても有効であると考えた。

以上の事から、仙台における広瀬川の水や仙台湾の水を利用したオイル産生藻類による人工石油の生産の可能性は十分あるのではないかと考えた。具体的な用途としては、液体である利点を踏まえ、震災時にも使用可能な自動車用燃料や家庭用燃料などが想定できる。この燃料が仙台において大量生産され、宮城の創造的復興に役立つことを願っている。また、世界中で震災やエネルギー不足、地球温暖化が叫ばれている今日、この新エネルギーの生産が世界中で行われ、これらの問題解決につながることも願っている。今回の成果および課題をふまえ地元仙台はもとより、世界中で培養可能なオイル産生藻類の更なる可能性を見つけていきたい。