

単細胞藻類 *Phaeocystis* sp. を原料とした新素材開発の試み

著者	森川 彰
発行年	2002-03
学位授与番号	26402甲第5号
URL	http://hdl.handle.net/10173/208

単細胞藻類 *Phaeocystis* sp. を原料とした
新素材開発の試み

環境システムコース

1036002

森川 彰

目次

要旨	1
緒言	3
第1章 目的藻 <i>Phaeocystis</i> sp.の培養	5
1-1 目的藻 <i>Phaeocystis</i> sp.	
1-2 <i>Phaeocystis</i> sp.の培養、回収	
第2章 <i>Phaeocystis</i> sp.を用いた混成フィルムの作成	9
2-1 目的	
2-2 材料および方法	
2-2-1 <i>Phaeocystis</i> sp.の調製	
2-2-2 廃パルプの調製	
2-2-3 トレイ乾燥温度を変えた時の引張り強度の変化	
2-2-4 廃パルプ混合量を変えた時の引張り強度の変化	
2-2-5 加圧時熱処理温度と引張り強度の関係	
2-2-6 熱処理時加圧力と引張り強度の関係	
2-2-7 熱処理時加圧時間と引張り強度の関係	
2-2-8 廃パルプ以外の利用	
2-2-9 藻の化学修飾による引張り強度の変化	
2-3 結果および考察	
2-4 総括	
第3章 <i>Phaeocystis</i> sp.外被多糖の構成単糖の分析	18
3-1 目的	
3-2 材料および方法	

3-2-1	<i>Phaeocystis</i> sp.の調製	
3-2-2	塩酸加水分解後の溶出糖量の変化	
3-2-3	加熱温度を変えた時の溶出全糖量の変化	
3-2-4	多糖粉末化の工程	
3-2-5	粉末多糖の分析	
3-2-6	粉末多糖の加水分解	
3-2-7	粉末多糖加水分解物の重合度の測定	
3-2-8	粉末多糖の構成糖の分析	
3-3	結果	
3-4	考察	
第4章	<i>Phaeocystis</i> sp.を用いた簡易浄水剤としての利用	28
4-1	目的	
4-2	方法および結果	
4-2-1	<i>Phaeocystis</i> sp.を用いた凝集材としての利用	
4-3	考察	
総括		30
謝辞		33
参考文献		34

要旨

海産単細胞藻類 *Phaeocystis* sp. を原材料とした新素材開発の試み

環境システムコース 森川 彰

近年、枯渇が危惧されている石油資源を用い公害源ともなるプラスチックの代わりに多糖類を用いた生分解性プラスチックの開発が行われてきていて、デンプンを原料とした生分解性プラスチックはすでに市場に出回っている。しかし、この先いずれ起こるであろう食糧危機を考えるとデンプンのような人間の食糧となるものをプラスチック原料とするのではなく、人間の利用していない材料を用いてプラスチックを作るべきである。

そこで、周囲に多糖の層を持つ *Phaeocystis* sp. を用いて生分解性を有するプラスチック様基材を開発することを目的とし、簡単な生分解性フィルム作成のための条件と *Phaeocystis* sp. 周囲の多糖の構成糖の分析を行った。さらに、混成フィルムを作る過程で得た *Phaeocystis* sp. と廃パルプの相互作用を背景として、簡易浄水剤としての検討も行った。

Phaeocystis sp. だけをテフロントレイで乾燥させたフィルムは、乾燥段階での収縮で裂けるような強度の弱いものとなった。藻に廃パルプを混ぜたところ、乾燥させた後に剥がすことも簡単になり、引張り強度の高い混成フィルムが出来た。混成フィルムは市販のポリエチレンのフィルムと同等の引張り強度を持っていた。そこで更に混合量比や物理的な条件を変えて混成フィルムを試作した。乾燥温度では 50 度でもっとも高い引張り強度を示し、廃パルプの混合量比では全糖量換算で *Phaeocystis* sp. と等量の廃パルプを混ぜたときに高い引張り強度を示した。加熱、加圧および処理時間による引張り強度の変化では、100℃、200kgf/cm²、20 分の処理でもっとも高い強度が得られた。廃パルプの代わりに新聞故紙を用いた混成フィルムでも、廃パルプと同程度の引張り強度のものを作ることができた。ホルムアルデヒドやグルタルアルデヒドで化学処理した *Phaeocystis* sp. を用いた混成フィルムは、かえって弱いものとなった。

Phaeocystis sp.懸濁液を 0.01M 塩酸、あるいは 80 以上に加熱すると藻体から多糖外被が外れる事が見出された。はく離した多糖は粉末にする事ができた。その粉末の成分は糖 40%、灰分 35%、水分 10%、タンパク質 4%、脂質 4%であった。灰分中の 11%がカルシウムであり、*Phaeocystis* sp.を覆っているカルシウムの殻が外被の糖とともにはく離してきたものと思われた。粉末多糖を 0.5M 塩酸で 2 時間加水分解するとほとんど単糖にまで分解されていた。この単糖はグルコース：キシロースが 1：1であった。

フィルムは藻の多糖とパルプの絡まりによってつくられる事から、第三者を絡みとるような大きな網の役目を果たすと考えられ、簡易浄水剤としての役割に期待が持てた。陽イオン性を持たせるような化学処理を行うことで浄水剤としての開発の可能性を示す結果を得た。

緒言

前世紀、化石資源を使ったプラスチック製品は加工が簡単で長期間安定であるという理由でさまざまなものに使われ、プラスチック製品のおかげで安く軽くて丈夫なものに囲まれて快適な生活ができるようになった。しかし、そのプラスチック文化の中でプラスチックの長期安定性があだとなり、廃棄したときには分解されずに環境中に残って、ゴミ公害の原因の一つとなっている。また従来のプラスチックは枯渇が予想される化石資源を原料としている。これからの文化的生活の中で、プラスチック製品の存在を否定することなど到底できないが、どんなものにも経済至上主義によって容易に化石資源を使うようなことは避けなければならない。

そこで化石資源に変わる新たな資源として天然高分子を用い、廃棄したときには分解され、地球の物質循環に乗るようなプラスチックの開発が進んできた。近年トウモロコシやジャガイモのデンプンを原料とした生分解性プラスチックの開発が最も進んでおり、すでに商品として市場に出回っている。

原材料のデンプンは、遺伝子導入技術や品種改良のおかげで原材料のトウモロコシやジャガイモの生産性が格段にあがっているなどの理由で先進国では余剰生産され、そのデンプンを原料に使うことに対する抵抗性は低い。しかし、近未来においていずれ起こるであろう世界的人口増加による食糧危機を考えると、食料は食料として人間や家畜が食用とするべきである。そこで今まで人間が利用してこなかったものを利用することとして、使い捨てられる製品の原材料としては、太陽光と水、そして二酸化炭素で増える植物にその源を探ることが良いと考えられる。そこで、地球の7割を占める海に育つ海藻に注目をし、その中でもあまり利用されていない単細胞藻を利用する試みを行った。

単細胞藻は色素の抽出のために培養されているか、わずかな種類が食用として用いられているだけであまり利用されていない。この未利用の単細胞藻の中で寒天様の多糖の層に包まれた藻を捜すと、淡水産の藻には *Aphanocapsa* sp. (Sudo *et al.*, 1995) *Chroococcus* sp., *Gomphosphaeria* sp., *Microcystis* sp., *Nostoc* sp. (Helm *et al.*, 2000) *Gloeocystis* sp., *Sphaerocystis* sp., *Urogrena* sp. などがある。

り、海水産の藻には *Phaeocystis* sp. (Biersmith and Benner, 1998; Myklestad, 1995; Rajssei *et al.*, 2000)、*Porphyridium* sp.(Heaney-Kieras and Chapman, 1976; Dvir *et al.*, 2000)、*Rhodella* sp. (Ramus, 1972; Gereshand and Arad; 1991) などがある。

実際に単細胞藻を工業的に利用するには、屋外の広大な敷地で大量の天日開放培養を行う必要がある。屋外での培養は滅菌タンクによる培養とは異なり、外部からのコンタミネーションが多くなり、目的藻だけを増殖させることが困難となる。イスラエルやメキシコでベータカロテンを生産する *Dunaliella* sp.の天日開放培養では塩濃度を相当に高く調節維持する方法がとられている。将来の工業生産のためには同様の塩濃度による培養管理が想定されるので、淡水藻に塩耐性を持たせるよりも、海産藻にさらに高濃度の海水に対する塩耐性を持たせることが容易であると考えられたので、海産の単細胞藻を原材料として新素材の開発を行うこととした。

第 1 章

目的藻 *Phaeocystis* sp. の培養

1-1 目的藻 *Phaeocystis* sp.

Phaeocystis sp. はハプト藻綱、プリネシウム目に属する、周囲に寒天状物質を有し、不動の群体を形成する単細胞の海藻である。顕微鏡写真では *Phaeocystis* sp. の周囲の寒天状物質の存在をはっきりさせるために、墨汁を流し込み寒天状物質を白く浮き上がらせている (図 1-1)。藻の大きさは寒天質を含めると 10-15 μm であり、寒天質を除くと 5 μm 程度の藻である。生育場所は沿岸域を中心にどのような海域にでも見出されるごく一般的な藻である。赤潮原因藻の一つであり、ヨーロッパや中国では赤潮のブルームの中からの分離が報告されている (Sverre and Mykkestad, 1995; Hegarty *et al.*, 1998; Ditullio *et al.*, 2000; Madhupratad *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2002)。今回の実験に用いた *Phaeocystis* sp. は

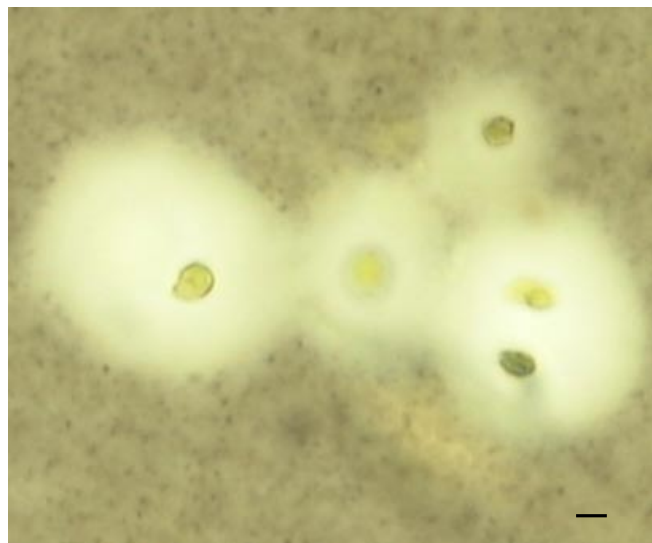


図1-1 *Phaeocystis* sp.の顕微鏡写真

Bar: 5 μm

沖縄県近海で採取、単離されたものを用いた。

1-2 *Phaeocystis* sp.の培養、回収

Phaeocystis sp.の培養にはすべて人工海水（アクアマリン、八洲薬品）を用い、*Phaeocystis* sp.用の強化培地（PES）を加えたものの中で培養を行った。まず *Phaeocystis* sp.を1%寒天PES培地に塗り、明期16時間（平均照度3,000Lux）、暗期8時間、25℃の環境で培養した。1-2週間で茶色のコロニーが出現した。コロニーを液体培地に移し、10、50、500mlと順にスケールアップしながら無菌しんとう培養を行った。このあと100Lの蓋付きポリカーボネート製のタンクに移し、エアポンプによるエアレーションによって通気（20l/min）と攪拌と同時に二酸化炭素を供給しながら培養した。約4週間の培養でタンクが茶色になり回収を行った（図1-2）。



図1-2 *Phaeocystis* sp.の
100Lタンク培養の様子

4週間後、*Phaeocystis* sp.が十分に培養されたタンクから連続集藻器を用いて藻の回収を行った。この連続集藻器の主体は0.1 μ mの穴のあいたフロロファイバーで、フロロファイバーの中心の穴への培養液の圧入によって、通過時に培地を排出する事で通過した藻の懸濁液の濃縮ができる（図1-3）。この連続集藻器を用いて、100Lの培養液は約10分で5Lにまで濃縮した後、4,000 \times g、20分で遠心分離を行い *Phaeocystis* sp.を回収し、ポリエチレン製のボトルに入れて

4 で保存した。収穫した *Phaeocystis* sp.は周囲の寒天状物質の影響でペレットとして固まるというよりはプルプルとしたゼリー状になった。

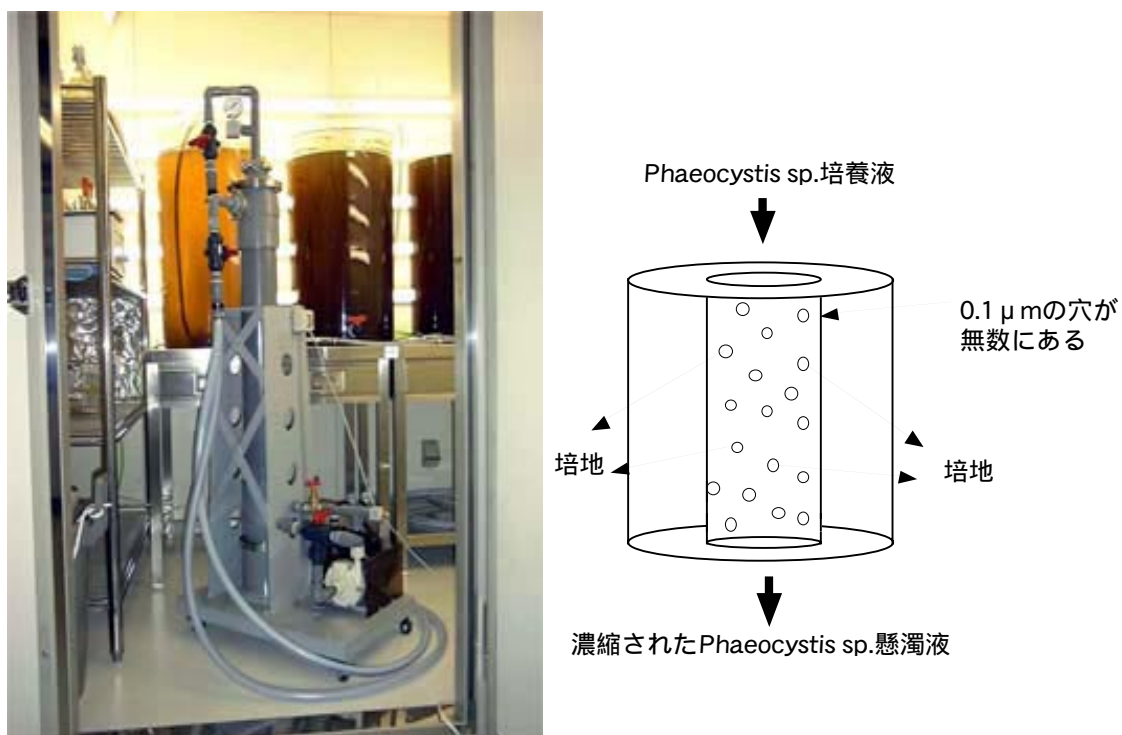


図1-3 連続集藻器の仕組み

PES

NaNO ₃	350	mg
-Na ₂ glycerophosphate	50	mg
Vitamin B ₁₂	10	μg
Thiamine HCl	500	μg
Biotin	5	μg
2-Amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol [Tris(hydroxymethyl)aminomethane]	500	mg
<hr/>		
Fe(as EDTA; 1:1 molar)*	25	ml
P- metals**	25	ml
純水	50	ml

*Fe(as EDTA; 1:1 molar)

Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	70.2	mg
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	66	mg
<hr/>		
純水	100	ml

**P- metals

H ₃ BO ₃	114	mg
FeCl ₃ · 6H ₂ O	4.9	mg
MnSO ₄ · 4H ₂ O	16.4	mg
ZnCl ₂	1	mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.41	mg
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	100	mg
<hr/>		
純水	100	ml

980mlの人工海水に20mlのPESを加え、1MHClでpHを7.8に調整する。

Phaeocystis sp.の培養に用いた

Provasoliの栄養塩強化海水(PES)培地の組成

第 2 章

Phaeocystis sp. を用いた混成フィルムの作成

2-1 目的

Phaeocystis sp.は周囲に多糖を有する褐色の藻体である。回収した *Phaeocystis* sp.を凍結乾燥処理するとスポンジ状に加工でき、またこれを粉末にする事もできたが、用途が想定できなかった。このような試行の中で、トレイに流し込んでフィルム状に乾燥し加熱加圧したものは作業工程も簡単で、出来上がった状態は黄褐色で透明なフィルムとなった。そこで *Phaeocystis* sp.を用いた生分解性を有するフィルムを作る検討を行った。

乾燥後のフィルムは黄褐色で均質であり、農業用のマルチフィルムとして利用できると考えた。現在使われている農業用のマルチフィルムはポリエチレンで作られており、畑に植えた苗の保湿、保温のために敷くもので、特に種苗の発芽期あるいは苗を植えた初期段階に必要なものである。このフィルムを用いれば使用後に回収の必要性はなくなり、畑をならすときにいっしょに鋤込んでしまえば分解されて肥料として循環することとなる。さらにフィルムの強度を高めるために製紙工場から出る廃パルプの利用を考えた。この廃パルプを混ぜることでパルプの繊維が絡み合い、強度の上がることを期待した。フィルムを作る上でこのような混ぜものの添加は *Phaeocystis* sp.の使用量を減らし、フィルムとした時の価格の低下が考えられる。しかも、工場から出る廃棄物を使うことで、捨てられるだけのゴミを有効な資源として再利用できる。そこで農業用マルチフィルムの代替品を目標として、*Phaeocystis* sp.と廃パルプを利用した混成フィルムの試作を行った。

2-2 材料および方法

2-2-1 *Phaeocystis* sp.の調製

原材料として 4 週間培養をして集藻し 4 の低温室に保存しておいた *Phaeocystis* sp.を用いた。藻に残っている培地成分の除去のために 4,000 × g、10 分で 3 回、イオン交換水を用いて洗浄を行った。洗浄後の *Phaeocystis* sp.に 0.5M 硫酸を加え、沸騰水中で加水分解を行いろ紙 (No.1、ADVANTEC) でろ過を行った。ろ液中の全糖量をフェノール硫酸法で測定した。以上の作業で洗浄後の *Phaeocystis* sp.1 g あたりのグルコース換算糖量を決めた。

2-2-2 廃パルプの調製

日本高度紙工業株式会社から産業廃棄物として排出された廃パルプを用いて実験を行った。廃パルプについているゴミを取り除くために廃パルプと水道水をミキサーにいれ攪拌し、網で漉した。この作業を 5 回繰り返し洗浄を行った。洗浄の終わったパルプを温風乾燥器に入れ乾燥させて保存した。

2-2-3 トレイ乾燥温度を変えたときの引張り強度の変化

洗浄の終わった *Phaeocystis* sp.を糖量として 200mg となるように秤り取り、小型電動ミルに入れてイオン交換水を加えてよく攪拌した。別に、乾燥廃パルプを 200mg 秤り取り、小型ミルでイオン交換水と共に攪拌した。*Phaeocystis* sp.液と廃パルプ液を混ぜて、テフロン加工をしてあるトレイ (12 × 15cm) に流し込み、混液にむらがないようによく混ぜ合わせた。テフロントレイを温風乾燥器に入れ乾燥した。温度を 30 60 の間で変えて乾燥し、乾燥の終わったフィルムはプレス機 (TOYOSEKI) にかけて加熱加圧を行った。出来上がったフィルムは 1cm 幅に切り取り、引張り試験機 (SHIMADZU) にかけて、引張り強度を測定した。

2-2-4 廃パルプ混合量を変えたときの引張り強度の変化

全糖量換算で 200mg となるように作った *Phaeocystis* sp.液に廃パルプをそれぞれ 10-300mg となるよう加えて各濃度の混合液を作った。それぞれをテフロントレイに流し込み乾燥をし、できたフィルムはプレス機で加熱加圧（100 、250kgf/cm²、10 分）した。出来上がったフィルムは引張り試験機で引張り強度の測定を行った。

2-2-5 加圧時熱処理温度と引張り強度の関係

プレス機を用いて加圧時の加熱温度条件を変えたときの引張り強度の変化を調べた。*Phaeocystis* sp.を全糖量換算で 200mg と廃パルプを 200mg で乾燥させたフィルムをもとに、加熱温度を 85-110 の間に変え、加圧力は 250kgf/cm²、加圧加熱時間は 20 分として加工し、引張り試験をした。

2-2-6 熱処理時加圧力と引張り強度の関係

プレス機を用いて熱処理時の加圧力条件を変えたときの引張り強度の変化を調べた。*Phaeocystis* sp.を全糖量換算で 200mg と廃パルプを 200mg で乾燥させたフィルムをもとに、加圧力を 100-250kgf/cm²の間に変え、加熱温度は 100 で、加圧加熱時間は 20 分として加工し、引張り試験をした。

2-2-7 熱処理時加圧時間と引張り強度の関係

プレス機を用いて熱処理加圧時の時間を変えたときの引張り強度の変化を調べた。*Phaeocystis* sp.を全糖量換算で 200mg と廃パルプを 200mg で乾燥させたフィルムをもとに、時間を 0-30 分の間に変え、加熱温度 100 、加圧力 250kgf/cm²で加工し、引張り試験をした。

2-2-8 廃パルプ以外の利用

上記と同じ条件で廃パルプの代わりに新聞故紙を 200mg 用意し、ミキサーでイオン交換水とともに攪拌し分散させた。*Phaeocystis* sp.液（200mg 含有）と新聞故紙液を混ぜて、テフロントレイに流し込み乾燥し、加熱加圧をしてフィルムを作った。フィルム加工できた新聞故紙の混成フィルムは引張り試験機を用いて引張り強度を測定した。フィルム加工の条件は廃パルプを用いた混成フィ

ルムでの最適条件を使った。

2-2-9 藻の化学修飾による引張り強度の変化

Phaeocystis sp.液をウォーターバス中で 80 に温めながら攪拌しつつ *Phaeocystis* sp.のグルコース換算糖量と、モル比で 10:1 から 1:1 になる量のホルムアルデヒドまたはグルタルアルデヒドを加え 1 時間攪拌した。攪拌した溶液を遠心分離し、イオン交換水で洗浄して余計なアルデヒドを除いた。これに廃パルプ溶液を混ぜて処理混合液を作った。処理混合液をテフロントレイに流し入れ、乾燥を行い、加熱加圧を行いフィルムを作った。引張り試験機で引張り強度の測定を行った。

2-3 結果および考察

2-3-1 トレイ乾燥温度による引張り強度の変化

トレイ乾燥温度による引張り強度の変化についての測定結果の一例を掲げる。

乾燥温度 ()	30	40	50	60
強度 (MPa)	24.8 ± 1.45	39.0 ± 1.39	36.6 ± 0.99	25.3 ± 0.20

乾燥温度を上げると共に引張り強度が上昇した。しかし、60 の乾燥温度で乾燥をさせると強度が低下した。乾燥温度を上げることでより短時間に乾燥を行うことができるため以降 50 で乾燥させることとした。

2-3-2 廃パルプ混合比を変えたときの引張り強度の変化

廃パルプ混合比を変えた時の引張り強度の変化についての測定結果の一例を掲げる。

廃パルプ量の増加で引張り強度が上がった。廃パルプの利用は強度をあげる為には有効な手段となった。しかし、廃パルプ 300mg を用いた混成フィルムの

廃パルプ量 (mg)	10	100	200	300
強度 (MPa)	20.9 ±3.10	33.2 ±1.88	38.0 ±1.50	43.9 ±1.32

状態は白色に近く、触感も外観も紙のような印象を与える混成フィルムとなった。そこで、触感も外観も紙のような印象を与えないフィルムとして、200mgの廃パルプを用いることとした。

2-3-3 加圧時熱処理温度と引張り強度の関係

加圧時熱処理温度と引張り強度の関係についての測定結果の一例を掲げる。

温度 ()	85	90	95	100	105	110
強度 (MPa)	14.4 ±0.90	30.7 ±1.65	34.8 ±0.89	47.0 ±0.44	39.8 ±1.10	19.8 ±1.85

加熱温度を上げるとともに引張り強度が上昇した。100 でもっとも高くなり、110 では低下した。常圧に戻り水の沸点が下がり、フィルム内の水分が瞬時に蒸発するために 100 で引張り強度が高くなったと考えられる。110 で強度が低下した理由は不明である。

2-3-4 熱処理時の加圧力と引張り強度の関係

熱処理時の加圧力と引張り強度の関係についての測定結果の一例を掲げる。

圧力 (kgf/cm ²)	100	150	200	250
強度 (MPa)	28.2 ±0.14	34.5 ±0.89	40.9 ±1.14	34.6 ±0.73

熱処理時の加圧力は 150kgf/cm² 以上かけることで安定した強度が得られた。圧力をかける事でフィルムの厚みは減少するが密度が高くなり、強度を上げることができた。中でも 200kgf/cm² 処理は高い強度を示した。

2-3-5 熱処理時加圧時間と引張り強度の関係

熱処理時加圧時間と引張り強度の関係についての測定結果の一例を掲げる。

時間 (分)	0	5	10	20	30
強度 (MPa)	15.8 ±2.11	31.2 ±1.06	37.9 ±0.90	39.2 ±0.92	39.5 ±1.14

加圧時間を伸すことで一定の強度が得られた。5 分の加圧時間でも引張り強度が上がることから 5 分以内の加圧時間でフィルムは作られ、より長時間にすると引張り強度が最大点に近付くと考えられる。20 分以上の加圧時間があれば強度のあるフィルムを得ることができることが分かった。

2-3-6 廃パルプ以外の利用

新聞故紙を用いた混成フィルムでの測定結果の一例を掲げる。

	新聞故紙	廃パルプ
平均厚さ (μm)	48.2 ±0.14	51.3 ±0.40
強度 (MPa)	44.1 ±1.58	47.0 ±2.97

出来上がったフィルムは新聞故紙の色を受けてわずかに黒味を帯びていた。引張り強度の測定の結果、廃パルプの混成フィルムと同程度の引張り強度が得られ、新聞故紙を用いても混成フィルムを作ることが可能であった。新聞故紙の新たな再利用法となる可能性が高いと思われた。

2-3-7 藻の化学修飾による引張り強度の変化

藻の化学修飾による引張り強度の変化についての測定結果の一例を掲げる。

アルデヒドによる化学修飾を行った藻を使って作ったフィルムは、熱処理を行うことで褐色から緑色に褪色したフィルムとなった。緑色フィルムは廃パルプと藻がきれいに混ざり合わず、藻が先に沈み、その後に廃パルプが重なると

いう様な 2 層のフィルムであった。ホルムアルデヒド処理をしたものは、非処理と比べると引張り強度の弱いものになった。グルタルアルデヒド処理をしたものは非処理と同じ程度の強度を示した。なにも入れていないものは今まで作っていた混成フィルムと比べると弱いものとなり、3分の1程度の強度しか示

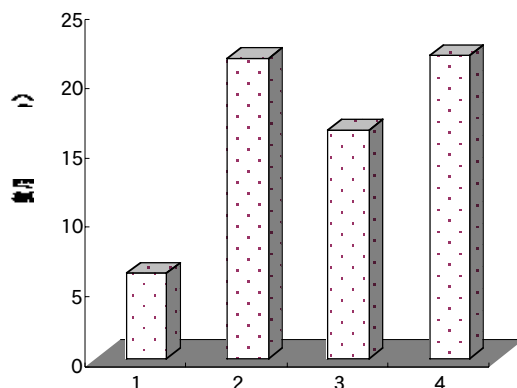


図2 化学修飾をした藻を用いた混成フィルムの引張り強度の変化

- 1、Phaeocystisのみ
- 2、Phaeocystis+廃パルプ
- 3、Phaeocystis+廃パルプ+ホルムアルデヒド
- 4、Phaeocystis+廃パルプ+グルタルアルデヒド

さなかった。

2-4 総括

市販の黒色農業用マルチフィルムは日光を遮断し、マルチフィルムの下では植物が光合成を行うことができなくなり、雑草の繁茂が押さえられる。褐色混成フィルムは黒色マルチフィルムと同様に太陽光を遮り、雑草の繁茂を押さええる働きがあると思われる。引張り強度が 43MPa の混成フィルムが水にぬれた場合、強度が 8MPa に急激に低下した。しかし、再び乾燥させることで 47MPa の強度にまで回復した。しかも、1度濡れることで地面との接着が良くなり、そのまま乾燥をすることで、地面の形に添って密着したフィルムとなると推測され、実験的には実際にそうだった。この事は従来のマルチフィルムの場合に

必要な、土塊等による押さへの作業を省略できる可能性がある。

フィルムに用いる *Phaeocystis* sp.と、廃パルプの最適量が全糖量換算で 200mg の *Phaeocystis* sp.と 200mg の廃パルプと決まり、その量比で乾燥温度を最適の 50 で作ったフィルムは充分の引張り強度があり、見た目も紙のようではない、混成フィルムを作ることができた。その他の最適条件は 100 、 200kgf/cm²、20 分での処理が良いと決まった。この時引張り強度が 40MPa 程度のフィルムができた。目安としてのポリエチレンの引張り強度は 7-40MPa であり、引張り強度に関してはこの混成フィルムは十分にポリエチレンの代替品となりうるものであると思われた。金岡(2000)の報告では、5%のキトサンを添加したセルロースとの複合シートの引張り強度は 100MPa である。柔軟性を加えるためにこれにグリセリンを添加した結果、強度は 65MPa に低下したが、伸びは 10%を示した。キチン、キトサンのようなアミノ基のついた多糖を用いることで、セルロースとの結合の形が複雑になって、より強度と柔軟性のあるフィルムを作ることができると思われる。アイセロ化学はキトサン層の中にセルロースおよびデンプン粒子を分散した構造のフィルムを作った。このフィルムは水には溶解しないが、水に触れると吸水し強度低下が起こる。引張り強度は 35.7MPa となり伸びは 15%であった。

このように *Phaeocystis* sp.と廃パルプを混ぜることでポリエチレンと同程度の引張り強度を持ったフィルムを作ることができた。新聞故紙を廃パルプの代わりに用いても廃パルプ混成フィルムと同様の強度のある混成フィルムを作ることができた。このフィルムが大量生産されるようになった時点で新聞故紙の新しい利用法の一つとして考えることができると思われる。

混成フィルムの更なる改良のためには、化学的な修飾も一法だと考え、化学修飾を行うことによる性質の変化、製品の変化を検討した。グルタルアルデヒドとホルムアルデヒドを用いてアルデヒド基による糖間架橋を試行したが性質をよりよい方向に改変することはできなかった。薬品を入れていないフィルムも今まで作っていたものと比べると弱いものになっており、反応を促進させるために 50 に加温したことが混成フィルムとして弱いものになった原因の一つと思われた。この 2 種類以外の修飾試薬や修飾条件等さらなる検討が必要であり、今後に残された課題である。

以上の廃パルプを用いた混成フィルムの製造は、単細胞藻類の藻体を含有する加工用素材及び該素材にて製造された生分解性包材という名称で特許の公開審査中となっている。

第 3 章

Phaeocystis sp. 外被多糖の構成単糖の分析

3-1 目的

Phaeocystis sp.を用いた混成フィルムを作る上で、乾燥温度、廃パルプの混合比、加熱、加圧条件の検討を行い、より強度のあるフィルムを作るための条件の検討を行った。このような最適条件の選択以外では化学処理によって強度を上げる可能性がある。化学修飾を行うにあたっては、*Phaeocystis* sp.外被多糖に関する知見を得ておく必要があるので、外被多糖の構成単糖を分析した。

3-2 材料および方法

3-2-1 *Phaeocystis* sp.の調製

原材料として 4 週間培養をして集藻し 4 の低温室に保存しておいた *Phaeocystis* sp.を用いた。藻に残っている培地成分の除去のために 4,000 × g、10 分で 3 回、イオン交換水を用いて洗浄をおこなった。

3-2-2 塩酸加水分解後の溶出糖量の変化

塩酸の濃度を変えて *Phaeocystis* sp.を直接加水分解したときに溶出してきた糖量の変化を調べた。まず洗浄の終わった *Phaeocystis* sp.を 5 g とり、そこに 0.1-

2M の塩酸を加えた。均一になるようによく混ぜ、沸騰水中で還流冷却をしながら加水分解を行った。一定時間ごとに加水分解液を遠心管に取り、冷却後、2,000 × g、10 分で遠心分離を行い上清と藻に分けた。上清を 5ml 取り、水酸化ナトリウムで中和し水を加えて 10ml として全糖量と還元糖量の測定に用いた。全糖量の測定はフェノール硫酸法を用い、溶液中の糖量をグルコースの検量線を用いてグルコース換算で表した。還元糖量はソモジネルソン法を用いて測定し同様にグルコースの検量線を用いてグルコース換算で表した。

3-2-3 加熱温度を変えたときの溶出全糖量の変化

洗浄済み *Phaeocystis* sp. を 5 g 取り、40 60 の範囲で加熱温度を変化させて加温をした。一定時間ごとに加温溶液を採取し、遠心分離にかけ上清と藻とに分けた。上清中の全糖量をフェノール硫酸法を用いて測定した。

3-2-4 多糖粉末化の工程

後述の実験の過程で *Phaeocystis* sp. が熱水中で外被の多糖がはく離した。遠心分離することで裸になった藻と多糖を含んだ溶液を分離できる事が判明した。

洗浄の終わった *Phaeocystis* sp. をイオン交換水に入れ、100 で 30 分加温して藻から多糖をはずし、4,000 × g、10 分で遠心分離を行い藻と多糖液に分けた。多糖液が希薄なのでロータリーエバポレーター (ROTARY VACUUM EVAPORATOR N 11、EYELA) を用いて濃縮した。この過程で生じた塊を除くためにステンレスメッシュ (80 メッシュ) でろ過した後 80 に加温しながらフラッシュエバポレーター (SPRAY DRYER SD-1000、EYELA) にかけて、粉末にした。

3-2-5 粉末多糖の分析

秤量した粉末多糖を 105 の乾燥器に入れ、重量の減少を追って平衡に達したと見られる点 (2 時間以降) で得た重量減少を水分量とした。灰分の測定は粉末多糖を磁製のつぼに入れ、550 で 2 時間灰化を行ない、残った重量から灰分を算出した。粗タンパク質の測定は、粉末多糖中の窒素を常法に従って硝酸態に変換し、同様に処理したアルブミンの検量線からアルブミン換算で表し

た。粗脂質は、メタノール-クロロホルムによる抽出物を粗脂質として溶媒乾燥後の重量を測定した。糖質はフェノール硫酸法で全糖量測定した。カルシウムは常法に従ってシュウ酸カルシウムに変え、過マンガン酸カリウムで滴定し算出した。

3-2-6 粉末多糖の加水分解

粉末多糖を 1mg/ml となるようにイオン交換水に溶解した。終濃度が 0、0.5、1、 2M となるように塩酸を加え、沸騰水中で還流冷却下に加水分解を行った。一定時間ごとに加水分解液を採取し冷却した。冷却した加水分解液を 5ml 取り、水酸化ナトリウムで中和し水を加えて 10ml とした。全糖量と還元糖量を 3-2 と同じ方法で測定しグルコース換算に統一し、全糖量に対する還元糖量の割合を加水分解率として表した。

3-2-7 粉末多糖加水分解物の重合度の測定

加水分解が完了したと思われるサンプルを用いて加水分解後の糖の重合度の分析を行った。 1mg/ml の多糖溶液を 0.5M 塩酸中で 2 時間加水分解したサンプルを中和せずにバイアルに入れて乾燥した。このとき反応バイアル中にグルコース換算の全糖量として 10nmol となる量を添加した。バイアルに窒素を吹き付けて加水分解液の水分を塩酸とともに蒸発させた後 $50\ \mu\text{l}$ のイオン交換水を加えて残渣を溶かした後窒素を吹き付けて再度乾燥させた。塩酸を完全に除去するためにこの作業を後 2 回行った。加水分解液のなくなったバイアルにピリジン：メタノール：水 (15:30:10) を $50\ \mu\text{l}$ 、無水酢酸を $2\ \mu\text{l}$ 加え、30 分室温で放置し N アセチル化を行った。反応後、窒素を吹き付け乾燥させた。N-アセチル化の終わったバイアルに、糖質蛍光標識装置 (PALSTATION model4000、TaKaRa) とピリジルアミノ化キット (PALSTATION Pyridylamination Reagent Kit”単糖分析用”、TaKaRa) を用いてピリジルアミノ化を行いピリジルアミノ化単糖を作った。ピリジルアミノ化単糖は、ET250/4NUCLEOSIL Carbohydrate カラム (MACHERY-NAGEL) を用いてカラム温度 30°C で HPLC にかけて。移動相には 200mM 酢酸 (トリメチルアミンを用いて $\text{pH}7.3$ に調整) とアセトニトリルを 1:3 で混合した A 液と 200mM 酢酸 ($\text{pH}7.3$) とアセトニトリルを 1:1 で

混合した B 液を用意し、60 分で A と B が 100%入れ替わる勾配をかけ、1ml/min の流量で展開した。検出には蛍光検出器 (RF 10AXL、SHIMADZU) を用いて、励起光 310nm で 380nm の蛍光を測定した。標準物質としてグルコース、マルトース、重合度標準物質 (PA-Glucose Oligomer、TaKaRa) を用いた。

3-2-8 粉末多糖の構成糖の分析

上記の条件で得たピリジルアミノ化単糖を単糖分析用カラム PALPAK TypeA (TaKaRa) を用いて分析した。カラム温度 65、移動相には 0.7M ホウ酸 (水酸化カリウムを用いて pH9.0 に調整) とアセトニトリル 9:1 の混合液を用い流量 0.3ml/min で HPLC を行った。糖の定量は蛍光検出器を用いて、励起光 310nm で 380nm の蛍光を測定した。検出されたピークの糖は標準物質 (PA-Monosaccharide Mixture、TaKaRa) と比較して同定し面積によって定量した。内部標準物質にはリボースを用いた。

3-3 結果

3-3-1 塩酸を用いた加水分解後の溶出糖量の変化

塩酸濃度を変えて行った *Phaeocystis* sp. 藻体の加水分解による溶出糖量の時間経過を示した (図 3-1)。全糖量に注目すると、いずれの塩酸濃度でも塩酸を加えた直後に溶液中に全糖が検出され、その量は時間経過によって漸増した。これは塩酸を加えることで外被多糖がはく離したものと考えられる。還元糖量に注目すると、塩酸による加水分解の進行とともに溶液中の還元糖量が増加した。塩酸の濃度に依存して還元糖量の増加の傾きは違うものの、0.5M の塩酸を用いて 2 時間加水分解を行うことで還元糖量の増加はほぼ終了し加水分解は終わったものと考えられた。イオン交換水だけで加熱したものでは、入れた直後には上清に全糖量としての糖は確認されなかったが、30 分加温することで上清に糖が確認された。還元糖量は実験終了の 3 時間後まで増加は認められなかった。以上のことから、*Phaeocystis* sp. 懸濁液に塩酸を加えるか、加温をするかすれば

藻から多糖外被がはく離してくることが分かった。塩酸が存在すると加水分解が進行し多糖の断片化が進むため、多糖外被をはく離させるにはイオン交換水で加温することとした。

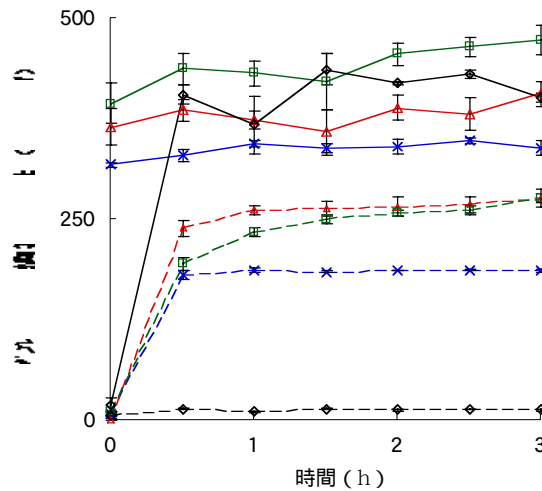
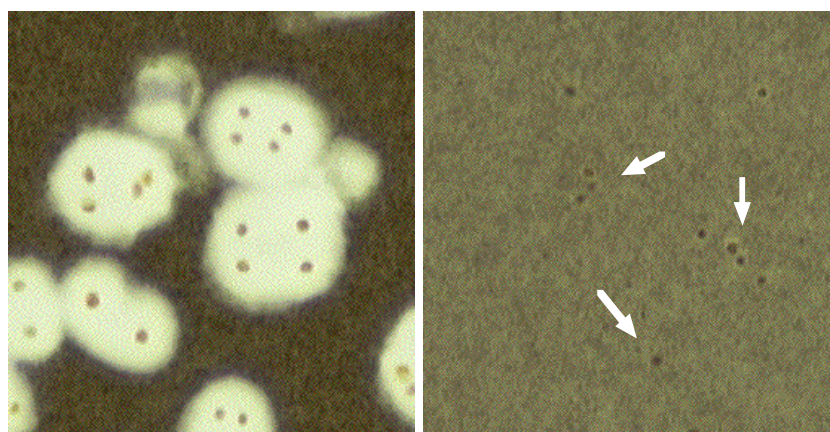


図3-1 塩酸の濃度を変えた時の溶出糖量の変化

実線、全糖量、点線、還元糖量

◇; 0MHCl、□; 0.5MHCl、△; 1MHCl、×; 2MHCl

加熱処理前後の *Phaeocystis* sp. の顕微鏡映像 (図 3-2) からは、加温前には藻の周囲には墨汁で染まらない白い多糖の層が確認されたが、加温後には周囲の多糖の層が確認されず、藻だけが確認され、外被多糖ははく離して溶液中にあるということがわかった。



熱処理前

熱処理後

図3-2 100 熱水処理後の *Phaeocystis* sp. の顕微鏡写真

3-3-2 加熱温度を変えたときの溶出全糖量の変化

加熱温度を変えて行った *Phaeocystis* sp. 藻体の加水分解による溶出糖量の時間経過を示した(図 3-3)。沸騰水中で加温したものは 30 分で溶液中にほとんど最大量の糖の存在が確認された。80 では 1.5 時間後には一定値となった。60、40 ではわずかな上昇が認められたが、多糖外被が完全にはく離するにはかなりの時間が必要だと思われた。*Phaeocystis* sp. を熱水中で加温することで、沸騰水中なら 30 分の加温でほぼ完全にはく離させうることがわかった。

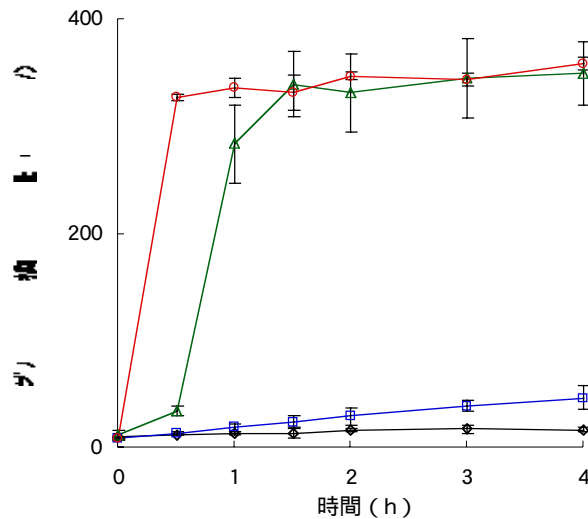


図3-3 加熱温度を変えた時の溶出糖量の変化

◇;40、□;60、△;80、○;100

3-3-3 粉末多糖の分析

粉末多糖の組成を示した(表 3-1)。粉末重量の約 40%が糖質であった。灰分は全体の 35%含まれていた。カルシウムは全体の 4%を占めており、灰分の 11%を占めていた。灰分の残り 90%弱(全体量の 30%強)の成分は不明である。タンパク質、脂質は

水分	約 10%	
灰分	約 35%	内カルシウム11%
粗タンパク質	約 4%	
粗脂質	約 4%	
糖質	約 40%	グルコース:キシロース 1:1
約 93%		

表3-1 粉末多糖の組成

一桁少なくて炭水化物の塊だと言ったことがわかった。

3-3-4 粉末多糖の加水分解

塩酸の濃度を変えて行った粉末多糖の加水分解の時間経過を示した(図 3-4)。加水分解率は 85%が最高値となった。塩酸の濃度を変えることで加水分解率が定常に達するまでの時間は変わるものの、0.5M で 2 時間加水分解すれば加水分解はほとんど完了した。

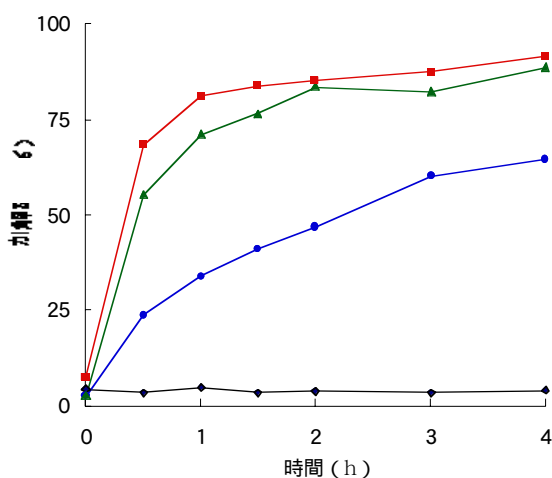


図3-4 塩酸の濃度を変えたときの粉末多糖の加水分解率の変化

◇; 0MHCl、○; 0.1MHCl、△; 0.5MHCl、□; 1MHCl

3-3-5 粉末多糖加水分解物の重合度の測定

粉末多糖の加水分解物の HPLC による重合度測定結果を示した(図 3-5)。単糖は 3.5 分、2 糖は 4.5 分、3 糖は 8 分に現れることを標準物質で確認した。多糖粉末加水分解物では単糖の検出される 3.5 分領域には大きなピークが認めら

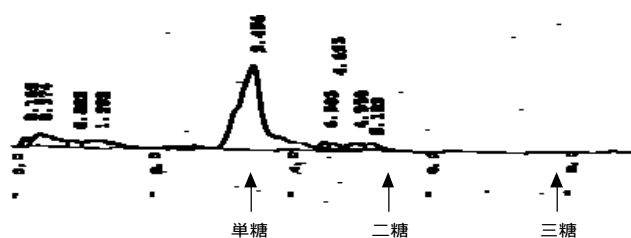


図3-5 粉末多糖加水分解物の HPLC による重合度測定の結果

れたが、8分以降にはピークは検出されなかった。多糖はほとんど単糖となつていと推定された。

3-3-6 粉末多糖の構成糖の分析

粉末多糖を加水分解して得た単糖の HPLC 分析結果を示した(図 3-6)。単糖分析用カラムを用いた HPLC の結果、キシロースとグルコースのみが検出された。面積からの推定ではキシロースとグルコースはほぼ等量であったので、この粉末多糖はキシロースとグルコースを 1:1 で含んでいることがわかった。さらに加水分解の進んだ試料を分析したところ糖残基の総量は増えたが、キシロースとグルコース以外の糖は検出されず、またこの2種の糖残基の比率に変化はなかった。

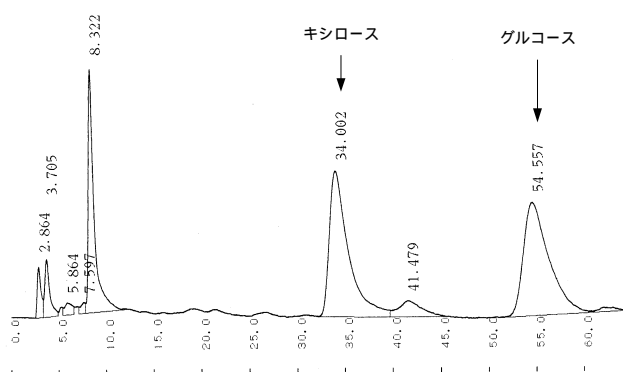


図3-6 粉末多糖の構成単糖の HPLC分析結果

41分は内部標準物質のリボース

3-4 考察

Phaeocystis sp.の外被多糖を分析するために、藻から多糖だけを分離しようとして *Phaeocystis* sp.を超音波処理で破碎した後に密度勾配をかけて藻の残骸と多糖の層を分離することなどを試みたが、いろいろの試行はいずれも成功に至ら

ずまた、回収できる多糖の量が少なすぎて目的を達し得なかった、そのため糖を藻についたままで直接加水分解を行い、分解されて溶出した単糖から構成単糖の分析を行うこととした。

塩酸で加水分解をすると *Phaeocystis* sp. から糖を含む多糖外被がはく離し、分解されながら溶出することがわかり構成単糖が分析できるようになった。ところが、熱水中でも *Phaeocystis* sp. の多糖外被がはく離するということがわかり、しかも熱水では *Phaeocystis* sp. から多糖外被を加水分解させる事なく取り外す方法として用いることが分かった。*Phaeocystis* sp. から多糖外被をはく離させるときの温度は、80 以上であればよいこともわかった。

このように容易に単離して回収できるようになった多糖外被は、さらに粉末にすることができた。藻体をくるんだままの多糖外被は粉末乾燥させる事はできず、この事は多糖を定量的に取り扱おうとする度に全糖量の測定などが必要であった。しかし多糖外被のみを粉末にできる事になって持ち運びに便利で、より定量的に取扱いのできる、保存のきく試料を作ることができた。フィトマスとして大量生産される場合、植物体から多糖を単離する工程がコストを左右する。加熱あるいは酸によって多糖が分離できるという *Phaeocystis* sp. の多糖は、フィトマス生産にも有利であると思われる。

Phaeocystis globosa の多糖は 6 種類の糖とメチル化糖 (Rijssel *et al.*, 2000) *Phaeocystis* sp. は 6 種類のアルドースで構成されている (Biersmith and Benner, 1998) 9 種類の糖を含んでいるもの (Janse *et al.*, 1996) 7 種類で構成されているもの (Painter, 1983) などの報告もある。Rijssel は *Phaeocystis* sp. の多糖の構成は種によるものよりも、地域や季節などの環境によって左右されると報告している。今回の実験では単糖は 2 種類しか検出できなかった。これは我々の *Phaeocystis* sp. が 2 種の糖しかもたない種なのか、外環境と実験室における環境の差が構成糖の種類の変化をもたらしたもののなのかは未知でありこの種を他の環境で培養して糖の分析を試みる必要がある。

キシロースとグルコースから構成されている多糖としてはキシログルカンが考えられ、サゴヤシの非デンプン性多糖 (Sun *et al.*, 1998) α -1,4 グルカン鎖に 1,6 鎖でキシロースが結合したレジューム豆 (Onmeluzo *et al.*, 2002) など植物に多く検出される。双子葉植物の、キシログルカンはキシロースとグルコー

スのほかにガラクトースやフコースを含み、一方単子葉植物のキシログルカンにはガラクトースとフコースは含まれない。

酵素を用いて構成糖の結合様式の確認を試みたが、アミラーゼ、セルラーゼ、プルナーゼ、ラミナーゼのいずれの酵素でも分解は確認されなかった。グルコースの α -1,4 結合、 β -1,4 結合、 α -1,6 結合、 β -1,3 結合を含まないと推測される。 α -グルコシダーゼや β -グルコシダーゼを用いても結合を切ることができなかったためグルコースを側鎖に持っていない事も推測される。これらの結果から構成単糖がどのように配列しているかは不明である。

グルコースとキシロースで構成される *Phaeocystis* sp. の外被多糖の化学処理の方法としては、デンプンの誘導体を作る工程を参考にすることができるであろう。たとえばグルコースを酸化してグルクロン酸をつくると、グルクロン酸の6位のカルボキシル基はカルシウムを介して架橋を作ることが、ペクチンのカルシウムを介した架橋からわかっている。カルシウム架橋を作ることができれば、多糖同士の網目状の構造が広がり、より強度の増したフィルムを作ることが可能だと思われる。

デンプンにホルムアルデヒドやアセトアルデヒド、リン酸またはその塩類を作用させたものに架橋デンプンと呼ばれるものがある。架橋型リン酸デンプンはアメリカでは食用に使われており、日本においても食品添加物として用いられている。またデンプンに3級アミンなどを反応させて、正の電荷を持たせた陽性デンプンも作られている。外被多糖を同様に処理して陽性多糖にすれば、負に荷電している廃パルプ中のセルロースやヘミセルロースと結合して混合した廃パルプとの結合を強くし、フィルムの物性を変えることができると思われる。多糖の構成成分がわかったことで更なるフィルムの改良の方向を探ることができたと思われる。しかし、このフィルムは実際に畑で用いたときにはどのような状態で保持されるのか、分解されるまでの期間、利用のしやすさなどの面はまだ検討されていないため、今後の課題である。

第 4 章

Phaeocystis sp. を用いた簡易浄水剤としての利用

4-1 目的

Phaeocystis sp. は廃パルプと凝集することがフィルム作りの過程で見出された。この特性は製紙工場の廃液から廃パルプを集めて沈澱させる手段に使える可能性が生まれた。

4-2 方法および結果

4-2-1 *Phaeocystis* sp. を用いた凝集材としての利用

同量の廃パルプ溶液を作り攪拌をした。攪拌を止め、片方には藻体浮遊液を少し流し込み、他方には同量の水を加え 15 秒程急激に攪拌した後攪拌を止めた。*Phaeocystis* sp. 浮遊液を入れた方は 1 分以内に藻と廃パルプが塊となって沈降した。これは藻の周囲に広がった多糖と廃パルプがくっつき、大きな塊となって沈んだ為と思われる。



図 4 *Phaeocystis* sp. を用いた凝集剤としての利用

4-3 考察

簡易浄水剤としての利用は用途の広いものだと思われる。ただ入れるだけで回りのものを抱き込んで沈んだり浮いたりするため、後はその浮いたり沈んだりしたものを回収してしまえばよいこととなる。*Phaeocystis* sp.が水に混ぜ込まれ、その広がった多糖が廃パルプその他いろいろなものと凝集できれば、浄水剤として用いるはずである。さまざまな場所で使うには持ち運びの便利なものである必要がある。そのために藻をフラッシュエバポレーターを用いて乾燥粉末にし携帯、使用に便利なものにしようと試みたが藻の粉末乾燥化はできなかった。しかし、藻から多糖を取り外し、これを粉体化できたため、浄水剤としての利用の可能性が広がった。簡易浄水剤としての利用は上水道の不足する発展途上国での飲用水の衛生面の改善、被災地での飲用水の維持などの人間の飲み水だけに用いられるのではなく、ダム湖や湖沼などで発生するアオコや海で発生する赤潮の除去に用いる可能性も考えられる。これらの新しい展開は実験の過程で偶然発見された *Phaeocystis* sp.の藻体から外被多糖が分離され、粉体化できたことに起因する。

以上の凝集効果を示した実験内容は、製紙排水中の短小パルプ用凝集材及び該凝集材を用いる製紙廃水の処理法という名称で特許の公開審査中となっている。

総括

現在、分解性のプラスチックの原材料としては化石資源を原料として分解されるように設計された合成高分子は論外として、微生物の作る高分子、植物、動物由来の天然高分子があげられる。微生物の作る高分子材料にはバクテリオセルロースやポリヒドロキシ酪酸、ポリグルタミン酸などがある。有用成分を作り出す微生物を原材料とするには、目的とする微生物を培養する必要があり、培養には餌となる有機物が必要となる。付加価値の高い有用成分を回収することができ、付加価値の高い製品が出来るのならともかく、使い捨てのための材料にはエネルギー、資源、労力、価格を考えると不適當である。分解されるように設計された合成高分子には、ポリビニルアルコールやポリエチレンにデンプンを混ぜたもの、エチレン-酸化炭素共重合体などが挙げられる。分解性はあるものの結局は化石資源を原材料にしているために、今後使い捨ての材料として用いるには不適當である。植物や動物由来の天然高分子には、デンプンやセルロース、キチン、キトサンなどがある。デンプンの原材料となる穀物やイモ類の世界の年間生産量は約 20 億トンと言われている。枯渇が予想される石油に代わり農産物資源としての利用がねらいとなり、世界のプラスチック需要量約 1 億 3,000 万トンにデンプン原料の生分解性プラスチックに変えることが考えられている。デンプンを原材料としての生分解性プラスチックの開発は進んでいて、イタリアなどでは 60%がデンプンでできているマタービーという製品で買い物用の袋が商品化されている。また、デンプンから乳酸を作り出し、それを重合した高分子ポリ乳酸は、三井化学からレイシアとして市場にあげられ、シート類、化粧品用ボトルに加工され販売されている。しかしこれらの生分解性プラスチックは食料を原料とした製品であり、食用の原料は人間や家畜が使うべきでありプラスチックの原料にするべきではない。

生分解性を有するプラスチックを作る上でその原材料には使い捨てても人間が困らないものを選ぶことが必要である。そこで太陽の光と二酸化炭素と水で増殖をし、多糖を多く含んでいる植物である海藻の利用を思いついた。大型海藻は大量に多糖を回収することのできる有用なものである (Mori *et al.* 1977; 森

ら、1981)。しかし、大型藻を海の中から収穫する作業は山の中に木を切り出しに行くことと変わりがない。多糖原料の回収を簡便化するためには、陸上で液体培地で単細胞藻を培養すればパイプ輸送が可能であり、ろ過や遠心分離で集めることができる。

しかし、実際に単細胞藻を利用するには大量培養を行う必要があり、屋外で天日開放培養を、広大な敷地を利用して行う必要がある。屋外で培養を行うことは滅菌培養タンクを用いたバッチ法での培養とは異なって外部からのコンタミネーションが多くなり、目的藻だけを増殖させることが困難となる。そこで目的藻だけを増殖させる方法の一つである塩濃度の調節による選択培養を行う必要がでてくる。塩濃度を高めに調節して高塩耐性の目的種だけが増殖できる環境を作る事でその環境に適応できないものは増殖できなくすれば選択的な天日開放培養が可能となる。イスラエルやメキシコで、ベータカロテンを生産する *Dunaliella* sp.の培養で実際に行われている方法で、塩濃度を通常海水の5倍近くにまで上昇させ *Dunaliella* sp.のみが生育できる環境を作り培養をしている。本研究の展開の末にはこのような天日開放培養までを考える必要があり、塩濃度の調節を行うことで目的藻だけを培養するには、塩耐性のない淡水藻に塩耐性を持たせるような操作を施すよりも、始めから塩耐性のある海産藻により高度の塩耐性を持たせる方が有利であると考えられた。そこで海産藻を原材料とした新素材の開発を行うこととした。

実際に出来上がった混成フィルムは引張り強度の面から見ると市販のポリエチレンのフィルムと変わらない強度を示したが、混成フィルムは伸びると言う感じのものにはならなかった。目標としている農業用のマルチフィルムにどの程度の「のび」が必要なのか、またどれくらいの期間耐久性が要求されるのかといった比較はまだしていない。添加剤を加えることで、伸びが上昇するという報告もあるので添加剤を加えてマルチフィルムの代替品となるような特性を持たせる必要があるのかもしれない。生分解性の試験には、JIS規格にのっとった試験が必要となるが、今回使用した材料は単細胞藻と廃パルプということからも試験は行っていないが確実に生分解性であると思われる。耐久性に関しては、マルチフィルムが種々の用途に使われる事から、必要期間を終える頃に分解消滅させるために加工法、添加物等の検討が必要となる

日本では包装容器リサイクル法の完全施工が平成 12 年 4 月に始まり、家電、建築廃材、食品残さリサイクル法、グリーン購入法と法整備が進んできている。マルチフィルムは過去には焼却されていたが、現在は禁止され、使用量の 97% が廃棄されている。平成 13 年度よりグリーン購入法が制定され、物品の購入に際しては環境負荷の少ない物品を選択するように勤めることと記されている。そのようなことから、ますます環境にやさしい天然型の新素材の開発が必要となっている。どんな物にでも合成高分子を用いるのではなく使うべきところと使わなくてもどうにかなるところの区別をしっかりとつけて行く必要があり、そのような分別を持って新しいものを作ることがこれからの工業技術者の責任だと考えられる。

謝辞

本研究をまとめるにあたり、絶えず懇切な御指導と御助力を賜った高知工科大学工学部向畑恭男教授に深く感謝の意を表します。また、研究遂行上種々の有益なる御尽力をいただいた高知工科大学榎本恵一教授、大浜 武教授、有賀修助教授、佐塚正樹講師、大阪教育大学生田享介助手に厚く御礼申し上げます。

本研究遂行にあたって絶えず御協力いただいた田中宣秀氏、石川香織氏、江村英人氏、岡花直人氏、山下志津香氏、環境生物工学研究室の卒業生及び在籍する諸君に感謝しここに厚くお礼申し上げます。

研究の機会を与えて下さったマイクロアルジェコーポレーション株式会社の皆様に深く感謝します。

参考文献

- 大石不二夫 (2000): 図解プラスチックのはなし、日本実業出版社、東京
- 沖増哲、金谷昭子 (1977): 食品高分子化学、医歯薬出版、東京
- 金岡邦夫 (2000): 生分解性プラスチックの開発公演要旨集
- 桜井直樹、山本良一、加藤陽治 (1991): 植物細胞壁と多糖類、培風館、東京
- 白石信夫、谷吉樹、工藤謙一、福田和彦 (2000): 実用化進む生分解性プラスチック、工業調査会、東京
- 土肥義治 (1990): 生分解性高分子材料、工業調査会、東京、
- 広田望 (1990): 改訂版食品栄養実験、地球社、東京
- 森 文平、久島和美、岩崎富生、大宮弘道 (1981): 海藻に含まれる dietary fiber について。日本農芸化学会誌、55 (9) 787-791。
- Biersmith, A. and R. Benner(1998): Carbohydrates in phytoplankton and freshly produced dissolved organic matter. *Mar. Chem.*, 63, 131-144.
- Chen, Y. Q., N. Wang, P. Zhang, H. Zhou and L. H. Qu(2002): Molecular evidence identifies bloom-forming *Phaeocystis*(Prymnesiophyta) from coastal waters of southeast China as *Phaeocystis globosa*. *Biochem. Sys. Ecol.*, 30(1), 15-22.
- DiTullio, G. R., J. M. Grebmeier, K. R. Arrigo, M. P. Lizotte, D. H. Robinson, A. Leventer, J. P. Barry, M. L. VanWoert, R. B. Dunbar(2000): Rapid and early export of

Phaeocystis antarctica blooms in the Ross sea, Antarctica. *Nature*, 404(6778), 595-598.

Dvir, I., R. Chayoth, U. Sod-Moriah, A. Nyska, A. H. Stark, Z. Madar, S. M. Arad(2000): Soluble polysaccharide and biomass of red microalga *Poriphyridium* sp. Alter intestinal morphology and reduce serum cholesterol in rat. *British journal of Nutrition*. 84(4), 469-476.

Geresh, S. and S. Arad(Malis)(1991): The extracellular Polysaccharides of the red microalgae: Chemistry and rheology. *Biores. technol.*, 38,195-201.

Hegaety, S. G. and T. A. Villareal(1998): Effects of light level and N:P supply ratio on the competition between *Phaeocystis* cf. *Pouchetii* (Hariot) Lagerheim (Prymnesiophyceae) and five diatom species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 226, 241-258.

Heaney-Kieras, J. and D. J. Chapman(1976): Structural studies on the extracellular polysaccharide of the red alga, *Porphyridium cruentum*. *Carbohydr. Res.*, 52, 169-177.

Helm, H. F., Z. Huang, D. Edwards, H. Leeson, W. Peery, M. Potts(2000): Structural characterization of the released polysaccharide of desiccation-tolerant *Nostoc commune* DRH-1. *J. Bacteriol*, 182(4), 974-982.

Madhupratap, M., S. Sawant and M. Gauns(2000): A first report on a bloom of the marine prymnesiophycean, *Phaeocystis globosa* from the Arabian sea. *Oceanologica acta*, 23(1), 83-90.

Hiroe, M., S. F. Sakaki and K. Nisizawa(1977): Analysis of sugar constituents of brown algal polysaccharides in view of comparative biochemistry. *Bull. Jap. Soc. Phycol.*, 25 196-187.

Myklestad, S. M.(1995): Release of extracellular producys by phytoplankton with

special emphasis on polysaccharides. *Sci. total Env.*,165(1-3), 155-164.

Onweluzo, J. C., H. P. Ramesh and R. N. Tharanathan(2002): Characterization of free sugars and xyloglucan-type polysaccharides of two tropical legumes. *Carbohydr. Polymers*, 47(3), 253-257.

Rijssel, M. V., I.Janse, D. J. B. Noordkamp, W. W. C. Gieskes(2000): An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. *J.Sea Res.*, 43, 297-306.

Sudo, H., J. G. Burgess, H. Takemasa, N. Nakamura, T. Matsunaga(1995): Sulfated exopolysaccharide production by the halophilic cyanobacterium *Aphanocapsa halophytia*. *Currebt Microbiol.*, 30(4), 219-222.

Sun, R. C., G. L. Jones, J. Tomkinson, J. Bolton(1999): Fractional isolation and partial characterization of non-starch polysaccharides and lignin from sago pith. *Ind. Crops Prod.* 19, 211-220.