

ミクロキスティスおよびクロレラの脂質およびタンパク質量の評価

岩手大学大学院 学生員 ○青木克憲

岩手大学工学部 正員 相沢治郎 海田輝之 大村達夫

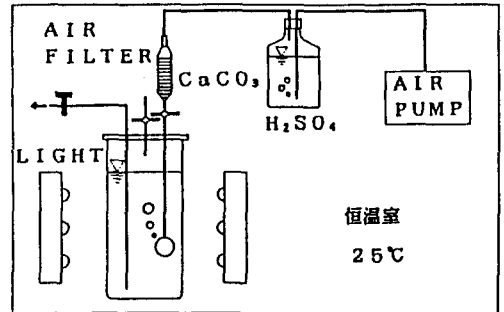
1. はじめに

近年、湖沼の富栄養化に伴う水の大発生が問題となっている。この水の華に多く存在する *Microcystis aeruginosa* に関しては、増殖特性や抑制方法など様々な研究がなされている。本研究では *M. aeruginosa* を実験室内で無菌的に回分培養を行い、それぞれの生長段階における細胞内の脂質、タンパク質量の評価を行い、*Chlorella vulgaris* の場合と比較検討した。

2. 実験方法

2.1 藻類培養方法及び培養条件

図-1に藻類の培養に用いた実験装置を示した。完全混合培養槽は容量9.6lのガラス製のものを用い、また側面から白色蛍光灯 (*M. aeruginosa* は2000lux, *C. vulgaris* は4000lux) を照射し、12/12時間明暗培養を行った。実験に使用した装置は無菌的に培養を行うために、あらかじめ121℃で30分間蒸気滅菌した。培養温度は恒温室によって25℃に保ち、培地はChu培地を使用した。



2.2 分析装置及び分析方法

- (1) 藻類量: 藻類量の指標としてアセトン抽出法によるクロロフィルaを用いた。
- (2) 総有機炭素量(TOC): 培養液中の総有機炭素量(TOC)はSHIMADZU TOC-5000を用いて測定した。
- (3) 藻体成分: 試料は各生長段階に培養槽から3lずつ取り出し遠心分離し、デシケーター内で乾燥させたものの一部を用いた。細胞内の脂質の定量はクロロホルム-メタノール混液による抽出法によって行った。またタンパク質はLowry法によって定量した。

図-1 藻類培養装置

Chu培地		PIV金属混液	
Ca(NO ₃) ₂	0.04g	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.195g
KH ₂ PO ₄	0.02g	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.036g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.025g	ZnCl ₂	0.0105g
Na ₂ CO ₃	0.02g	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.004g
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	0.025g	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.0025g
FeCl ₃	0.0008g	Na ₂ EDTA	1.0g
PIV金属混液	1.0ml		
蒸留水	1000ml	蒸留水	1000ml
	pH 7.5		

3. 実験結果及び考察

3.1 生長過程

図-2に *M. aeruginosa* 及び *C. vulgaris* の生長曲線を示した。両藻とも植種後約4日の遅滞期を経て対数増殖し、クロロフィルa換算による比増殖速度は *M. aeruginosa* が 0.36day^{-1} 、*C. vulgaris* が 0.59day^{-1} であった。これらの値は以前に行った実験値とほぼ同程度の値であった¹⁾。その後、クロロフィルa量は *M. aeruginosa* が約400(μg/l)、*C. vulgaris* が約2000(μg/l)で定常期となったが、両藻にはかなりの差があり光合成によるCO₂同化能に違いがあるものと思われる。その後、*M. aeruginosa* は定常期に入り、時間の経過とともに、培養槽中の藻の色に変化がみられたが、実験期間内においてクロロフィルa量に顕著な減少がみられなかった。一方、*C. vulgaris* は2、3日の定常期の後、減衰期に入り、緩やかなクロロフィルaの減少が観測された。

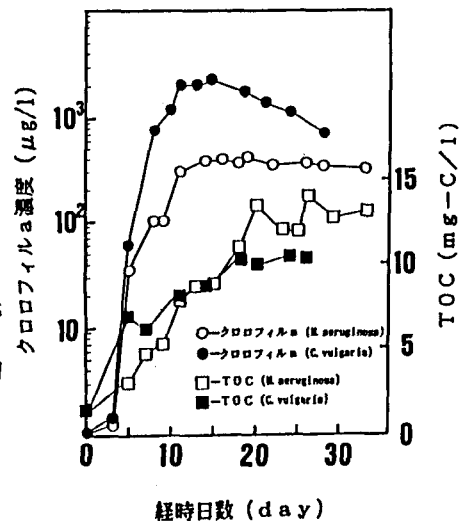


図-2 生長曲線

3.2 藻体内の脂質およびタンパク質

表-1に示されるように、*M. aeruginosa*および*C. vulgaris*の各生長段階における藻体内の脂質およびタンパク質の含有率は、*M. aeruginosa*の方が*C. vulgaris*より小さくなった。特に脂質については、*C. vulgaris*が対数増殖期の25.6%、定常期の34.2%と徐々に増加し、減衰期が最も多く53.1%となるが、*M. aeruginosa*についてはそれぞれ16.2%、11.6%、11.9%と徐々に減少した。またタンパク質については、*C. vulgaris*が対数増殖期から定常期にかけて42.4%、44.0%と高い比率を示し、減衰期に31.1%と減少したのと同様に、*M. aeruginosa*についても、対数増殖期が23.9%と最も高く、その後14.1%、10.3%と徐々に減少した。このことにより、*M. aeruginosa*は*C. vulgaris*と異なって、対数増殖期の活発に増殖する時期においては、最も多くのタンパク質を含有し、その後の生長過程につれて減少することが分かった。*M. aeruginosa*はタンパク質も脂質と同様の傾向にあるので、定常後期においては炭水化物などの他の成分は77.8%にも達し、*C. vulgaris*の15.8%とは全く異なることが明らかになった。

3.3 細胞外代謝有機物(培養液中のTOC)

*M. aeruginosa*の培養液中のTOCは、*C. vulgaris*の場合と同様に対数増殖期から急激に増加し、定常期以降は横ばいとなった。その時の値は*M. aeruginosa*が13.407(mg-C/l)、*C. vulgaris*が10.560(mg-C/l)となり*M. aeruginosa*の方が大きくなった。培養液中へのTOCの放出は、藻体内の脂質やタンパク質の増減に影響を与えるので、今後の研究課題としたい。

表-1 実験結果

生長段階		対数増殖期		定常期		定常後期	減衰期
		Microcystis	Chlorella	Microcystis	Chlorella	Microcystis	Chlorella
経過日数(day)		11	10	15	13	28	21
クロロフィルa(μg/l)		300	1230	380	2020	340	1430
TOC(mg-C/l)		7.974	8.173	8.802	8.650	12.246	10.307
藻体試料量(mg)		123.1	225.3	252.7	163.9	205.6	253.9
脂質	mg	19.9	57.7	29.3	56.1	24.5	134.8
	%	16.2	25.6	11.6	34.2	11.9	53.1
タンパク質	mg	29.4	95.5	35.6	72.1	21.2	79.0
	%	23.9	42.4	14.1	44.0	10.3	31.1
その他(炭水化物など)	mg	73.8	72.1	187.8	35.7	159.9	40.1
	%	59.9	32.0	74.3	21.8	77.8	15.8

4. おわりに

*M. aeruginosa*および*C. vulgaris*の各生長段階における藻体内の脂質およびタンパク質の含有率は、*M. aeruginosa*の方が*C. vulgaris*よりも小さくなった。脂質については*C. vulgaris*が生長が進むにつれて増加するが、*M. aeruginosa*については生長とともに減少した。タンパク質については、*C. vulgaris*が対数増殖期から定常期にかけて高い比率を示し減衰期に減少したのと同様に、*M. aeruginosa*についても対数増殖期が最も高く、その後徐々に減少した。

<参考文献>

- 1) 大村達夫、海田輝之、相沢治郎、小松佳幸、石崎正志、大沼正郎；パッチ培養における*Chlorella vulgaris*および*Microcystis aeruginosa*の細胞外代謝不揮発性有機酸の培養液中への蓄積、pp615～623 水質汚濁研究 第14巻 第9号、1991