

海洋性微細藻の機能性油脂の生産速度について

(株)大林組 正会員 ○大島 義徳, 同 正会員 山本 縁
同 正会員 千野 裕之, 同 小川 幸正

1. 背景と目的

我が国の食糧自給率はカロリーベースで約40%と低いままで推移しており、今後の世界的な人口増による食料不足の懸念から、国内での食料生産量の向上が課題となっている。クロレラなどの藻類は、タンパク質や良質な脂質に富み、高栄養食品として知られている。さらに、微細藻が作るカロテノイド等の色素やドコサヘキサエン酸(DHA)等の不飽和脂肪酸など食品成分の効果の解明が進んでいることから、さらに注目されている。そこで、DHAを生産する藻類の生育速度や不飽和脂肪酸の生産性の現状を知るために、最大150L規模で微細藻の培養試験を行った。

2. 試験方法

2-1. 検討した微細藻類

本試験で利用した微細藻を表1に示す(以下、藻株は略称)。増養殖研究所が所有しているDHA生産株を購入し、比較用にDHAを生産しないものの海洋性微細藻として培養されることの多いN.ocも用いた。培養には、海水に主要ミネラルとビタミンを加えるギラードF培地(増養殖研究所提供)を用いた。

表1.供試した微細藻(全て海産性)

購入菌株名称	略称	備考
<i>Isochrysis galbana</i>	I.ga	DHA産出株
<i>Isochrysis sp. Tahiti</i> (<i>Tisochrysis lutea</i>)	I.ta	DHA産出株
<i>Pavlova lutheri</i>	P.lu	DHA産出株
<i>Nannochloropsis oculata</i>	N.oc	比較用

2-2. フラスコ培養による生育速度の比較

表1の入手可能だったDHA産生株の基本的な生育速度を把握するために、300mL三角フラスコでの培養比較試験を実施した。試験ケースを表2に示す。培養は、照明付き培養器(パナソニックMLR-352)内で25℃、蛍光灯により16h照射と8h消灯の繰り返しを行い、 $90 \mu\text{mol/s/m}^2$ (レベル4)と $160 \mu\text{mol/s/m}^2$ (レベル5)の2水準の光量に設定した。シリコ栓を貫通させたガラス管からフィルターろ過した大気を供給し、攪拌を兼ねた。培地と種培養液を併せて、200mLになるように調整した。680nm吸収波長での吸光度(OD680)を藻類の濃度指標とし、これを経時的に計測した。

表2.比較培養試験ケース一覧

ケース名	藻株	照射レベル
I.ga(4)	I.ga	4 (約90 $\mu\text{mol/s/m}^2$)
I.ta(4)	I.ta	
P.lu(4)	P.lu	
N.oc(4)	N.oc	
I.ga(5)	I.ga	5 (約160 $\mu\text{mol/s/m}^2$)
I.ta(5)	I.ta	
P.lu(5)	P.lu	
N.oc(5)	N.oc	

2-3. 1L培養における増殖速度と油脂含量の把握

フラスコの比較培養でDHA産出株としては、生育が速かったI.taとP.luについて、1L透明耐圧ビンでの培養試験を実施した。培養液量を1Lとし、照射時の光のレベルを $35 \mu\text{mol/s/m}^2$ (レベル3)とレベル4にした以外は、フラスコ試験と同等に実施した。OD680を経時的に計測し、培養後の液の藻体濃度と藻体中の油脂の濃度を分析した。油脂は、凍結乾燥後の液をメタノール硫酸溶液でメチル化し、GC-FID(島津GC2010)で分析した。定量は、脂肪酸混合標準液(スペルコ37種FAMEMix)で検量線を作成し比較した。

表3.1L培養試験ケース一覧

ケース名	藻株	照射レベル
I.ta(3)	I.ta	3 (約35 $\mu\text{mol/s/m}^2$)
P.lu(3)	P.lu	
I.ta(4)	I.ta	4 (約90 $\mu\text{mol/s/m}^2$)
P.lu(4)	P.lu	

2-4. 150L培養における増殖速度と油脂含量の把握

I.taについて、150Lの培養槽(ポリカーボネート製、アース(株)サンライトタンクSLP200U)に、上部からLED照射(660nm・520nm・445nmの3色組合せ192個、(株)日本医科器械製作所)しながら実施した(図1参照)。曝気を行うことで攪拌を兼ねた。光量は、水面直上で $260 \mu\text{mol/s/m}^2$ で水のない状態の底部では $60 \mu\text{mol/s/m}^2$ であった。

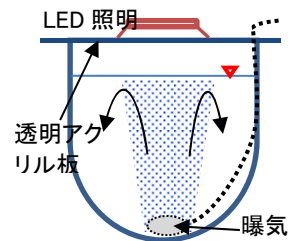


図1.150L培養器模式図

キーワード 微細藻、培養速度、DHA

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸4-640 (株)大林組技術研究所 TEL042-495-1014

培養中の OD680 と油脂含有量, 培養後の乾燥重量を分析した.

3. 試験結果

3-1. フラスコ培養による比較検討

フラスコでの 200mL 培養の OD680 の測定結果を図 2 に示す. 全ての藻株で光量レベルは 5 よりも 4 の方が生育が速く, 160 μmol/s/m² では光量が強すぎるということが分かった. N.oc が最も生育が速く, DHA 産出株では, I.ta が最も速く生育した.

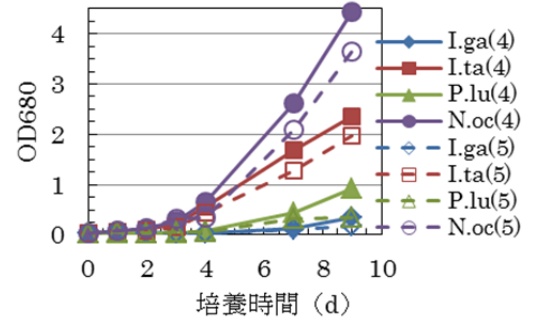


図 2. 比較試験時の培養液中 OD680

3-2. 1L 培養における増殖速度と油脂含量

1L 培養での OD680 の経時変化を図 3 に, 培養後の藻体濃度と OD680 の関係を表 4 に, 脂肪酸含量を表 5 に示す. I.ta と P.lu の増加が鈍化し始める 21 日目の OD680 は, それぞれ 2.7 と 2.0 であり, 表 4 から推定すると両株の濃度は 1.1g/L 程度であった. この際の総脂肪酸濃度は, I.ta と P.lu のそれぞれで乾燥藻体あたり 10~13, 15~18% であった.

表 4. OD680 と藻濃度(1L 培養)

ケース名	OD680	重量濃度
I.ta(3)	3.20	1.3g/L
P.lu(3)	3.15	1.5g/L
I.ta(4)	3.01	1.6g/L
P.lu(4)	3.50	2.0g/L

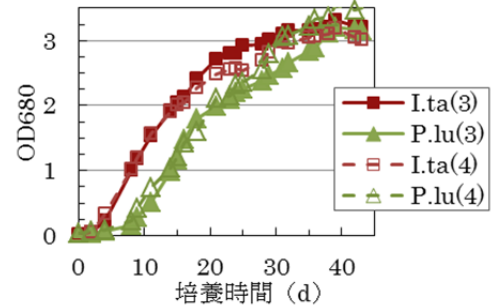


図 3. 1L 培養での培養液中 OD680

3-3. 150L 培養での増殖と油脂生産量

150L 培養における OD680 と培養後の藻体濃度, 培養時の脂肪酸含量をそれぞれ図 4 と表 6, 表 7 に示した. 38 日で OD680 が 1.1 で, 1L 培養では 3.2 であったことから, 1/3 程度であった. 重量濃度でも 25 日で 0.28g/L であり, 1L 培養の 1.1g/L に比べ 1/3 程度であった. 油脂生産では, 2 週目と 3 週目にかけて, 藻体あたりの総量も主要脂肪酸成分も大きな変化はなかった. 1L 培養に比べて藻体あたりの脂肪酸総量は差がなかったものの, 構成脂肪酸では, ミスチリン酸やオレイン酸, パルミトレイン酸など飽和脂肪酸や 1 価不飽和脂肪酸が増える一方で, DHA などの多価不飽和脂肪酸の割合が減少した.

表 5. 培養後の乾燥藻体あたりの脂肪酸含量(1L 培養)

脂肪酸種	藻体あたり脂肪酸量(%)			
	I.ta(3)	I.ta(4)	P.lu(3)	P.lu(4)
ミスチン酸	1.8	1.2	1.5	1.2
パルミチン酸	0.9	0.9	2.1	3.2
パルミトレイン酸	0.4	0.3	1.7	3.2
オレイン酸	1.1	1.1	<0.1	0.2
αリノレン酸	1.5	1.0	<0.1	<0.1
EPA	<0.1	<0.1	5.3	3.8
DHA	2.5	2.0	2.8	4.7
総脂肪酸量	13.1	10.1	14.5	17.6

表 6. OD680 と濃度(150L 培養)

培養時間	OD680	重量濃度
25d	0.885	0.28 g/L
28d	0.941	0.31 g/L

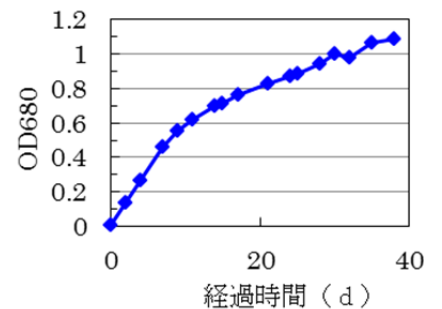


図 4. 培養液中 OD680(150L 培養)

4. 考察

今回の試験において, DHA 産出株は水産養殖の餌等に用いられる N.oc よりも生育が遅い傾向があり, 160 μmol/s/m² で強光障害が起き始めることが分かった. 大型培養で強光を用いずに実施するには, 培養層厚が薄くならざるを得ないため, 培養速度が稼ぎにくい. 実際に, 1L 培養と 150L 培養の例を比較すると, 藻の培養速度が 1/3 程度に低下した. 本試験で 150L 培養の方で生育が遅かった主な原因は, 藻に供給できる光と二酸化炭素の量が限定されたことが考えられる. ただし, 単純に光量を増すことは光障害を誘発する可能性があつて難しい. 今回用いた DHA 生産株は, 光合成など独立栄養条件で DHA を生産する株の代表的な種であり, 今回の検討結果は, 現状の藻類の DHA 生産能力を考える基本的知見になると言える. 今後の研究に活かしたい.

表 7. 150L 培養時の乾燥藻体あたりの脂肪酸含量(%)

脂肪酸種	経過日数				
	14	18	21	25	28
ミスチン酸	3.4	3.3	2.8	2.6	2.6
パルミチン酸	1.4	1.4	1.2	1.1	1.1
パルミトレイン酸	1.3	1.2	1.0	1.0	0.9
オレイン酸	2.5	2.9	2.5	2.5	2.6
リノール酸	1.6	1.6	1.3	1.5	1.6
αリノレン酸	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8
DHA	1.0	1.2	1.0	1.3	1.4
総脂肪酸量	13.1	13.6	11.4	11.8	12.2

謝辞 本研究にあたり, (独)水産総合研究センター増養殖研究所の岡内正典氏に多くの協力をいただきました. ここに感謝いたします.