

新規微細藻の培養条件とカロテノイド生産性

(株)大林組 正会員 ○山本 縁, フェロー会員 千野 裕之
正会員 緒方 浩基, 正会員 大島 義徳
富山大学理学部 中村 省吾, 酒徳 昭宏

1. 目的

近年、健康への関心から抗酸化作用があるアスタキサンチンやルテインなどのカロテノイド成分が注目されている。微細藻の中には、これら有用成分を産出するものがある。そこで、これらの成分を生産する藻について探索し、富山湾の河口表層水よりアスタキサンチン等のカロテノイドを産出する新種の藻類を単離した。上記、新種の藻類（AB-1C 株）の培養条件や性能特性を把握することを目的に試験を実施した。

2. 試験内容

2-1. 新規藻の培養条件の検討

1) 試験方法 培養条件により、新規微細藻（AB-1C 株）が、どのように変化するかを観察した。表 1 に培養条件を示す。また、溶媒と培地の組み合わせを表 2 に示す。なお、海産用培地は、ダイゴ IMK 培地（日本製薬㈱）を使用した。この他、他の緑藻で良好に生育した淡水用培地でも培養し、藻の変化を観察した。

2) 試験結果及び考察 図 1 に培養 7 日目と 26 日目の培養液の様子を示す。(1)培養 7 日目の④海産用培地の結果は、④1/4 海水のみ良好に生育し、②海水、③1/2 海水は生育しなかった。⑥淡水用培地では、①超純水で培養した藻が良好に生育し、②海水では生育しなかった。以上より、海水では生育できない藻であることがわかった。④海産用培地+①超純水で、藻が殆ど増殖しなかった理由として、海水中に存在する Ca^{2+} や Mg^{2+} が培地に含まれていなかったためと思われる。(2)培養 26 日目では、④海産用培地+④1/4 海水で培養した藻が赤色に変化した。

2-2. 温泉水による培養試験

1) 試験方法 上記 2-1. で、④海産用培地+④1/4 海水で藻体が赤く変色した理由として、塩分が影響したと予想した。そこで、④1/4 海水に加え、化石海水由来の壱岐の温泉水を用いて、表 1 の条件で培養した。海水と温泉水の溶存成分量を表 3 に示す。

2) 試験結果及び考察 温泉水による藻体増加量と培養液の色の変化を図 2 に示す。⑤温泉水及び⑥1/2 温泉水はともに 10 日目頃から色がつきはじめ、30 日で鮮やかな赤色に変化した。また、赤く変化した 30 日目以降の藻体量は、⑥1/2 温泉水が⑤温泉水より、2 倍以上増加した。2-1 及び 2-2 の結果より、海水では④1/4 海水で、温泉水では⑥1/2 温泉水で培養すると、新規微細藻は、良好に生育し、かつ赤く変色することがわかった。表 3 に示す溶液中の電解質量 (mEq/L) を比較すると、1/4 海水は

表 1 培養条件

項目	培養条件
光強度	150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 24h 明条件
温度	25℃
液量	100 mL
曝気量	120～150 mL/min

表 2 溶媒と培地の組み合わせ（試験ケース）

	①超純水	②海水	③1/2海水	④1/4海水
④海産用培地 (IMK培地)	2 連	2 連	2 連	2 連
⑥淡水用培地	2 連	2 連		



図 1 培養液の色の変化

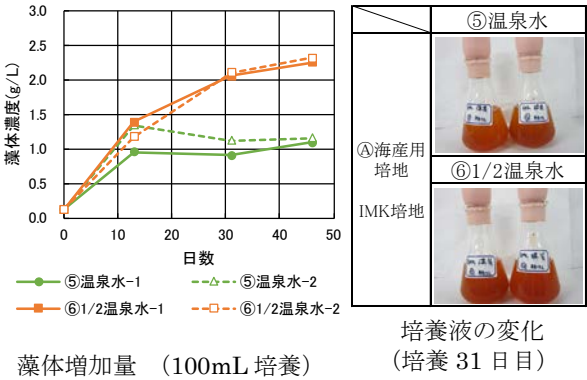


図 2 温泉水による培養試験結果

キーワード 微細藻, カロテノイド, アスタキサンチン

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸 4-640 (株)大林組技術本部 技術研究所 TEL 042-495-1068

表 3 海水及び温泉水の溶存成分量

	溶存成分量(mg/L)									
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺		Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	I	Br
海水	10760	390	410	1290		19350	2690	140	0.05	67.5
1/4海水	2690	98	103	323		4838	673	35	0.01	16.9
温泉水	4847	407	705	269		8546	692	498	2.3	29.4
1/2温泉水	2424	204	353	135		4273	346	249	1.15	14.7

	溶存成分量(mEq/L)										
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	カチオン	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	I ⁻	Br ⁻	アニオン
分子量	22.98977	39.0953	40.08	24.305		35.453	96.0576	61.0171	126.9045	79.904	
価数	1	1	2	2		1	2	1	1	1	
海水	468.03	9.98	20.46	106.15		545.79	56.01	2.29	0.00	0.84	
					604.62						604.93
1/4海水	117.01	2.49	5.11	26.54		136.45	14.00	0.57	0.00	0.21	
					151.15						151.23
温泉水	210.83	10.41	35.18	22.14		241.05	14.42	8.15	0.02	0.37	
					278.56						263.62
1/2温泉水	105.42	5.21	17.59	11.07		120.53	7.21	4.08	0.01	0.18	
					139.29						131.82

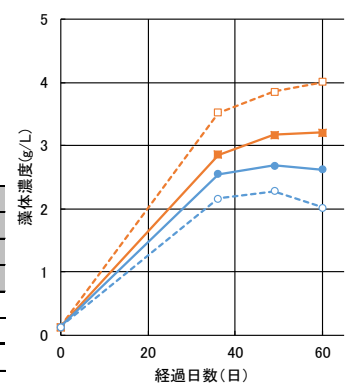


図 3 藻体増加量 (1L 培養)

150 mEq/L 程度であり, 1/2 温泉水は 130~140 mEq/L 程度であった. このことから電解質濃度として, 100~200 mEq/L 程度が, 最適と考えられる.

2-3. 新規藻による 1L 培養試験

1) 試験方法 2-1 及び 2-2 で良好な結果であった④1/4 海水と⑥1/2 温泉水を溶媒とし, これに④海産用培地(IMK 培地)を添加して得られる藻体量を調査した. なお, 培養は 1L 瓶を用いた.

2) 試験結果及び考察 図 3 に藻体増加量を示す. 藻体増加量は, ④1/4 海水が 100 mL 培養と 1L 培養でともに, 約 1 ヶ月で 2 g/L 程度に増加した (データを示さず). また, 図 2 より⑥1/2 温泉水は, 100 mL 培養が 2 g/L 程度, 図 3 より 1L 培養が約 3 g/L 程度に増加し, 1L 培養でも良好に生育した. しかし, 藻の色については 100 mL 培養が 26~30 日で赤くなったのに対し, 1L では, 50 日目頃からオレンジ色となり, 色づくのに時間がかかった. この理由として, 藻に到達する光の量の違いが影響したと考えられる. よって, 強光による光ストレスがカロテノイドの蓄積に関係したと予想される.

2-4. 新規藻のカロテノイド含有量及び脂肪酸含有量

1) 試験方法 溶媒と培地の組み合わせにより, 藻の色が変わった. この色の変化は, 蓄積するカロテノイドの種類に違いがあると予想した. そこで, ④海産用培地(IMK 培地)+④1/4 海水と⑥淡水用培地+①超純水の 2 種類の培地を用いて 1 ヶ月培養し, 得られた藻のカロテノイドと脂肪酸量を分析した. なお, カロテノイドは HPLC で測定し, 脂肪酸は GC-FID で測定した.

2) 試験結果及び考察 図 4 にカロテノイドの組成の割合を示す. また, 図 5 に脂肪酸含有量を示す. 新規藻を④海産用培地+④1/4 海水で培養すると, 抗酸化物質であるアスタキサンチンやカンタキサンチンを多く蓄積することがわかった. また, 脂肪酸は藻体重量の 50 %以上を蓄積し, このうち, 68 %がオレイン

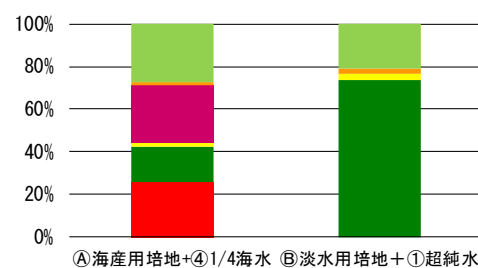


図 4 カロテノイドの組成 (%)

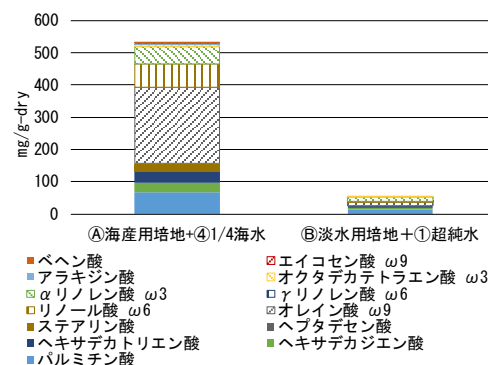


図 5 脂肪酸量 (mg/g-dry)

酸やリノール酸, α-リノレン酸等の不飽和脂肪酸であった. 以上より, 新規藻は有用な物質を生産する藻であることが確認された

3. まとめ 新規微細藻は, (1)海水等の塩分ストレスにより赤く変色した. また, (2) 強光による光ストレスにより, 赤く変色した. (3)赤く変色した藻は, アスタキサンチン等のカロテノイドを蓄積していた. (4)培地を工夫することにより, 抗酸化物質のアスタキサンチン等を産出し, 脂肪酸も藻体重量の 50%以上蓄積することがわかった. 以上より, 新規微細藻は, 有用な藻であることを確認した.