

# 新規微細藻の性能評価と培養法

山本 縁 千野 裕之  
緒方 浩基 大島 義徳

## Performance Assessment and Culture Methods for a Novel Microalgae

Yukari Yamamoto Hiroyuki Chino  
Hiroki Ogata Yoshinori Oshima

### Abstract

Microalgae have garnered interest in the production of useful substances because they reproduce faster than other plants, and the entire organism can be utilized. In particular, a wide variety of products can be produced—from health foods to animal feed, chemicals, and fuel—which extends their promise for practical applications. However, industrializing processes of algal culture will require technical advancements, such as selecting the most useful algae, determining optimal culture conditions, and reducing production costs. Owing to the recent health food popularization, a novel microalga has been isolated (strain AB-1C). This strain produces the antioxidants astaxanthin and lutein (both carotenoids). We analyzed the culture properties and assessed the performance of this new type of alga (strain AB-1C) and found that 1) it accumulates carotenoids and can be grown to a density of 5 g/L by adjusting the culture media; 2) it produces astaxanthin, lutein, canthaxanthin, etc.; 3) it can be cultivated stably for long periods (6 months), even in a field.

### 概要

微細藻類は、他の植物に比べて増殖が速く、生物全体を利用できることから、有用物質の生産などで注目されている。特に、生産できる製品が健康食品や飼料、化学品、燃料など多岐にわたっているため、応用利用が期待できる。ただし、藻類培養の工業化へのプロセスには、最も有用な藻類の選択、最適な培養条件の決定、および生産コストの削減などの技術的な検討が必要である。近年、健康への関心が高まっていることから、抗酸化作用があるアスタキサンチンやルテイン(カロテノイドの一種)等を生産する新規の微細藻(AB-1C株)を単離した。この新種の藻(AB-1C株)の性能評価を行った結果、新規微細藻は、1)培養液を工夫することにより高密度5g/Lで培養でき、かつカロテノイドを蓄積する。2)アスタキサンチン、ルテイン、カンタキサンチン等を生産する。3)屋外でも長期間(6ヶ月)安定的に培養できることがわかった。

## 1. はじめに

微細藻類とは、クロレラや夏場に池等で発生するアオコなどの植物プランクトンを指し、光学顕微鏡下で認識できる大きさの藻類の呼称である。この微細藻類は近年、他の植物に比べ増殖が速いことから、有用物質の生産などで注目されている。特に、微細藻類から生産できる製品は、健康食品、飼料、化学品、燃料など幅広いことから、産業への活用に期待されている。

微細藻類を用いた燃料等の生産が近年注目され、研究開発が進められているが、生産コストなど解決しなくてはならない課題がある。微細藻類を利用して製品を製造するには、生産する製品の組み合わせなどの検討も必要だと言われている<sup>1)</sup>。そのため、有用な藻の選抜と最適培養条件の決定が必要である。

近年、健康への関心が高まっていることから、筆者らは、富山大学との共同研究により、抗酸化作用があるアスタキサンチンやルテイン(カロテノイドの一種)等を生産する藻を探索し、富山湾の河口より新規の微細藻

(AB-1C株)を単離した。また、この藻類は、健康に良いとされる $\alpha$ -リノレン酸などの不飽和脂肪酸を産生することもわかった。

本稿では、単離した新規微細藻(AB-1C株)の培養条件や性能特性及び屋外培養について、その可能性を検討したので、報告する。

## 2. 新規微細藻の特徴

### 2.1 新規微細藻について

単離した新規微細藻は、18S rDNAの塩基配列を基に検索した結果、緑藻のScenedesmaceae科に属するScenedesmus属やCoelastrrella属と近縁種であった。Scenedesmaceae科のうち、Scenedesmus属やDesmodesmus属に分類される藻は、多くの日本の淡水池で生息が報告されている。その形状は、複数の細胞が連なった定数群体をつくる藻の報告が多い。これに対し、今回単離した藻はCoelastrrella属のような単細胞の藻であった。

Table 1 人工海水の組成  
Chemical Compositions  
of Artificial Seawater

| 組成              | (mg/L) |
|-----------------|--------|
| Cl              | 19250  |
| Na              | 10700  |
| SO <sub>4</sub> | 2660   |
| Mg              | 1320   |
| Ca              | 400    |
| K               | 400    |
| Br              | 2.3    |
| Sr              | 8.6    |
| I               | 0.2    |
| Zn              | 0.1    |

Table 3 培養条件  
Cultivation Method of Algae

| 項目  | 培養条件  |
|-----|---|
| 供試藻 | 新規微細藻 (AB-1C株)  |
| 光強度 | 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$<br>24h明条件 |
| 温度  | 25°C  |
| 曝気量 | 120~150mL/min   |

Table 2 試験ケース  
Method for Testing

|        | 栄養塩           | 溶液     |
|--------|---------------|--------|
| Case 1 | 海産用培地 (IMK培地) | ①超純水   |
| Case 2 |               | ②1/4海水 |
| Case 3 |               | ③1/2海水 |
| Case 4 |               | ④海水    |
| Case 5 | 淡水用培地 (BN培地)  | ①超純水   |
| Case 6 |               | ④海水    |

## 2.2 新規微細藻の特徴

増殖が比較的速く、培養が容易な藻を選抜し、新規微細藻(以下 AB-1C 株と示す)を単離した。

上記、AB-1C 株は、生育環境によって抗酸化作用があるアスタキサンチンやルテイン等のカロテノイドを生産し、かつ不飽和脂肪酸も多く含有していた。また、AB-1C 株は、含有するカロテノイドの成分の違いにより、藻の色に違いが生じ、赤色の藻はアスタキサンチンを含み、緑色の藻はルテインを多く含んでいた。

第3章では、目的の物質を生産するための培養条件を検討し、第4章では、含有するカロテノイドの成分と脂肪酸成分について調査した。

## 3. 新規微細藻の培養条件

### 3.1 塩分濃度と生育特性

新規微細藻 (AB-1C 株) は、河口域で単離した藻であることから、生育条件に海水の混入が影響すると想定し、海水の混入率を変化させた培養液を用いて、生育状況を観察した。

**3.1.1 試験方法** 海水は、市販されている人工海水を使用した。Table 1 に用法どおりに作製した人工海水の組成を示す。供試した人工海水は、天然海水と同等の化学組成である。

上記の人工海水を用いて、海水の混入率を4段階に変化させた溶液を作製した。試験ケースを Table 2 に示す。表中の 1/2 海水は、海水 1 と超純水 1 を、また 1/4 海水は、海水 1 に超純水 3 の割合で希釈した溶液である。これらの溶液に栄養塩を添加して、培養液を作製した。添

Table 4 培養液の変化  
Changes in Culture Solution

|        |        | 培養期間          |        |       |                 |
|--------|--------|---------------|--------|-------|-----------------|
|        |        | 2日目           | 7日目    | 26日目  |                 |
| case 1 | ①超純水   |               |        |       |                 |
|        |        | 薄い橙色に変化       |        |       |                 |
|        |        | 海産用培地 (IMK培地) | ②1/4海水 |       |                 |
|        |        |               |        | 緑色に生育 | 赤みを帯びた<br>橙色に変化 |
| case 3 | ③1/2海水 |               |        |       |                 |
|        |        | 藻の増加がみられなかった  |        |       |                 |
| case 4 | ④海水    |               |        |       |                 |
|        |        | 藻の増加がみられなかった  |        |       |                 |
| case 5 | ①超純水   |               |        |       |                 |
|        |        | 濃い緑色に生育       |        |       |                 |
| case 6 | ④海水    |               |        |       |                 |
|        |        | 藻の増加がみられなかった  |        |       |                 |

加した栄養塩は、海産用培地として市販されている IMK 培地と淡水用培地として Brányiková ら<sup>2)</sup> (以下、BN 培地と示す)が報告している成分とした。

培養は、容量 100 mL の三角フラスコを用いて、Table 3 に示す培養条件で実施した。

**3.1.2 試験結果及び考察** 培養液の色の変化を Table 4 にまとめた。

超純水に BN 培地<sup>2)</sup>の栄養塩を添加した Case 5 は、良好に生育して濃い緑色になった。

海水の混入率を4段階に変化させた溶液に IMK 培地を添加した Case 1 から Case 4 の結果によると、Case 3 の 1/2 海水及び、Case 4 の海水では、藻が全く生育しなかった。この現象は、海水に BN 培地組成の栄養塩を添加した Case 6 でも同様であった。以上のことから、AB-1C 株は、海水及び 1/2 海水では、生育できない藻であることがわかった。

Case 2 の 1/4 海水は、7日目まで緑色に生育し、その後 26 日目には、緑色の藻が赤みを帯びた橙色に変化した。これは、藻体内にアスタキサンチン等が蓄積したことによると考えられる。

Case 1 の超純水に IMK 培地を添加した培養では、Case 5 のような藻の増加が見られず、すぐに橙色に変化した。IMK 培地と BN 培地で藻の生育の違いが生じた理由として、海産用培地として市販されている IMK 培地は、海水中に存在する Ca<sup>2+</sup>や Mg<sup>2+</sup>が培地に含まれていないため、本来必要な栄養素が早い段階で枯渇し、橙色に変化したと考えられる。

Table 5 海水及び温泉水の溶存成分  
Dissolved Components of Seawater and Hot Spring Water

|        | 溶存成分量(mg/L)      |                |                  |                  |        |                 |                               |                               |                |                 |        |
|--------|------------------|----------------|------------------|------------------|--------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|-----------------|--------|
|        | Na <sup>+</sup>  | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> |        | Cl <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | I <sup>-</sup> | Br <sup>-</sup> |        |
| 海洋水平均  | 10760            | 390            | 410              | 1290             |        | 19350           | 2690                          | 140                           | 0.05           | 67.5            |        |
| 1/4海洋水 | 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            |        |
|        | 塩素に対する溶存比率(X/Cl) |                |                  |                  |        |                 |                               |                               |                |                 |        |
|        | Na/Cl            | K/Cl           | Ca/Cl            | Mg/Cl            |        | Cl              | SO <sub>4</sub> /Cl           | HCO <sub>3</sub> /Cl          | I/Cl           | Br/Cl           |        |
| 海洋水平均  | 0.556            | 0.020          | 0.021            | 0.067            |        | —               | 0.139                         | 0.007                         | 0.000          | 0.003           |        |
| 温泉水    | 0.567            | 0.048          | 0.082            | 0.031            |        | —               | 0.081                         | 0.058                         | 0.000          | 0.003           |        |
|        | 溶存成分量(mEq/L)     |                |                  |                  |        |                 |                               |                               |                |                 |        |
|        | Na <sup>+</sup>  | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | カチオン   | Cl <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | I <sup>-</sup> | Br <sup>-</sup> | 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               |        |
| 海洋水平均  | 468.03           | 9.98           | 20.46            | 106.15           | 604.62 | 545.79          | 56.01                         | 2.29                          | 0.00           | 0.84            | 604.93 |
| 1/4海洋水 | 117.01           | 2.49           | 5.11             | 26.54            | 151.15 | 136.45          | 14.00                         | 0.57                          | 0.00           | 0.21            | 151.23 |
| 温泉水    | 210.83           | 10.41          | 35.18            | 22.14            | 278.56 | 241.05          | 14.42                         | 8.15                          | 0.02           | 0.37            | 264.01 |
| 1/2温泉水 | 105.42           | 5.21           | 17.59            | 11.07            | 139.29 | 120.53          | 7.21                          | 4.08                          | 0.01           | 0.18            | 132.01 |

Table 6 試験ケース  
Method for Testing

|         | 栄養塩           | 溶液      |
|---------|---------------|---------|
| Case 7  | 海産用培地 (IMK培地) | ⑤1/2温泉水 |
| Case 8  |               | ⑥温泉水    |
| Case 9  | 海産用培地 (IMK培地) | ⑤1/2温泉水 |
| Case 10 | 淡水用培地 (BN培地)  | ①超純水    |

### 3.2 化石海水による培養

前述 3.1 節では、Case 5 は緑色のまま藻が生育したのに対し Case 2 では、赤みを帯びた橙色に変化した。藻が赤くなる理由として、混入した海水による塩分ストレスにより、赤い成分が蓄積して色が変化したのではないかと考えた。

本節では海水の代わりに化石海水由来の壱岐温泉水を用いて、藻の変化を観察した。化石海水とは、長い間地層の奥深くに閉じ込められていた海水で、その特長は、表層海水に比べて含有している微生物が少ない。また、取水場所が海岸に限らないことなどから、培養液の候補として検討した。

Table 5 に海洋水の平均濃度と壱岐温泉水(化石海水)の溶存成分量を示す。Table 5 に示すように、一般的に化石海水の組成は、海水と若干異なっている。塩素に対する溶存比率で比較すると、壱岐温泉水(化石海水)は、海水に比べ、Ca<sup>2+</sup>の比率が高く、Mg<sup>2+</sup>や SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の比率が低い。また、Table 5 より塩素濃度は、1/4 海洋水と 1/2 壱岐温泉水(化石海水)が同程度であることが確認できる。

そこで、海水と組成が違う壱岐温泉水(化石海水)を利用して、3.1 節の 1/4 海水の結果同様に、1/2 温泉水(化石海水)でも藻体に赤い色素が蓄積するかを調査した。

**3.2.1 試験方法** 3.1 節では、栄養塩として海産用培地の IMK 培地を利用したが、本節では、栄養塩として、IMK 培地に加え、養殖業者用に市販されている培養液 KW21 も使用した。上記、KW21 は、栄養塩の含有量が大きめにしか開示されていない。しかし、大量に藻を培養する場合、溶液である KW21 は使いやすいと判断したため、試験に供試した。この他、淡水用培養液として、3.1 節で使用した BN 培地も併せて試験に供試した。

試験ケースを Table 6 に示す。先の 3.1 節同様、容量 100 mL の三角フラスコを用いて Table 3 の条件で行った。

**3.2.2 試験結果及び考察** Table 7 に壱岐温泉水(化石海水)による培養結果を示す。

Table 7 培養液の変化  
Changes in Culture Solution

|         |                |         | 培養期間 |      |      |      |             |
|---------|----------------|---------|------|------|------|------|-------------|
|         |                |         | 5日目  | 10日目 | 24日目 | 31日目 |             |
| Case 7  | 海産用培地 (IMK培地)  | ⑤1/2温泉水 |      |      |      |      | 赤みを帯びた橙色に変化 |
| Case 8  |                | ⑥温泉水    |      |      |      |      | 赤みを帯びた橙色に変化 |
| Case 9  | 海産用培地 (KW21溶液) | ⑤1/2温泉水 |      |      |      |      | 赤みを帯びた橙色に変化 |
| Case 10 | 淡水用培地 (BN培地)   | ①超純水    |      |      |      |      | 緑色に生育       |

Table 7 より、1/2 温泉水及び温泉水に IMK 培地を添加した Case 7 と Case 8 は、ともに藻が緑色に生育したのち、赤みを帯びた橙色に変化した。また、1/2 温泉水に KW21 を添加した Case 9 も同様に緑から赤みを帯びた橙に変化した。

以上より、1/2 温泉水及び温泉水は、1/4 海水と同様に赤い色素を持つカロテノイドを蓄積させることがわかった。また、添加する栄養塩は、IMK 培地の他、KW21 も赤く変化させることを確認した。

淡水の BN 培地で培養した Case 10 は、良好に生育して、濃い緑色になった。

Fig. 1 に Table 7 で赤く変化した 1/2 温泉水及び温泉水に IMK 培地を添加した試験と 1/2 温泉水に KW21 を添加した試験の藻体濃度変化を示す。

Fig. 1 より、温泉水に IMK 培地を添加して培養した藻は、13 日目以降、藻体量に変化がなかった。これに対し、1/2 温泉水は時間の経過とともに増加していた。この結果より、温泉水は藻の色の変化が始まると、増加が止ま

るが、1/2 温泉水は色の変化が始まっても藻体量が増加することがわかった。30 日目以降の藻体量を比較すると、1/2 温泉水が温泉水より 2 倍以上増加しており、藻体の増加量は、1/2 温泉水>温泉水であることがわかった。

また、IMK 培地と KW21 の培養結果を比較すると、KW21 は、IMK 培地と同等以上に良好に生育することがわかった。

以上より、新規藻の AB-1C 株は、海水では 1/4 海水、化石海水の宍岐温泉水では 1/2 温泉水で培養すると良好に生育し、かつ赤みを帯びた橙色になることがわかった。

Fig. 2 に淡水の BN 培地で培養した藻の経時変化を示す。Fig. 2 より、AB-1C 株は条件が整えば、5 g/L 以上の高濃度に生育できる藻であることがわかった。

Table 5 に示す、溶液中の電解質量(mEq/L)を比較すると、1/4 海水が 150 mEq/L 程度、1/2 温泉水が 130~140 mEq/L 程度であった。このことから、電解質濃度で 100~200 mEq/L 程度に希釈された海水由来の溶液で培養すると、藻は良好に生育し、かつ赤みを帯びた色素を蓄積すると考えられる。

### 3.3 新規藻による 1L 培養試験

前節 3.1 及び 3.2 の試験では、容量 100 mL の三角フラスコで、藻の培養試験を行った。その結果、塩素濃度として、海水の 1/4 程度に希釈した海水或いは温泉水に IMK 培地や KW21 の栄養成分を添加して培養することで、藻が赤みを帯びた色に変化することがわかった。

本節では、容量を 1 L に増やして、同様の試験を実施し、100 mL 培養との比較を行った。

**3.3.1 試験方法** Table 8 に試験ケースを示す。1 L のメジューム瓶を用い、1/4 海水或いは 1/2 温泉水に IMK 培地を添加した条件で培養した。また、前述の Fig. 2 では、BN 培地で培養した緑色の藻が 5 g/L 以上に生育したことから、赤色の藻でも同様に生育させることができるか確認するため、KW21 を通常の用法の 5 倍濃度で作製し、試験に供試した。

培養条件は、前節 3.1 及び 3.2 と同様、Table 3 に示す条件で行った。

**3.3.2 試験結果及び考察** Fig. 3 に IMK 培地を用いた藻体増加量の経時変化を示す。また、Fig. 4 に KW21 ×5 倍の培養液を用いた結果を示す。

Fig. 3 より IMK 培地を用いた 1L 培養では、1/2 温泉水が 3~4 g/L、1/4 海水が 2~2.5 g/L に生育し、赤みを帯びた藻を得ることができた。また、Fig. 4 の KW21 ×5 倍の培養液を用いた結果では、1/4 海水と 1/2 温泉水がともに 5 g/L の高密度に生育した。

以上のことから、AB-1C 株は緑色の藻だけでなく、赤い色素を蓄積させた藻でも高密度に生育できることを確認した。

100 mL 培養の Fig. 1 と 1L 培養の Fig. 3 の結果より、IMK の培養液で培養した 1/2 温泉水は、100 mL 培養、1L 培養ともに 1 ヶ月で 2 g/L 以上に増加した。

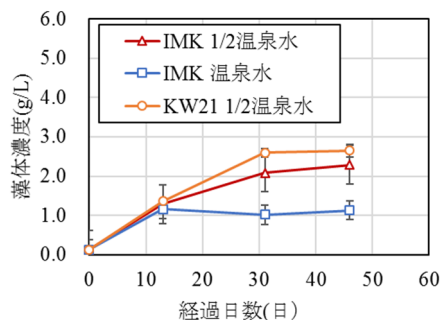


Fig. 1 IMK 培地及び KW21 による培養結果 (容量 100ml)  
Culture Test Result for IMK Medium and KW21 Medium

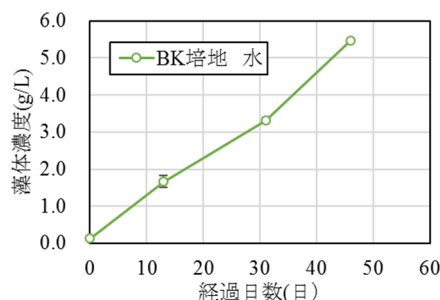


Fig. 2 BN 培地による培養結果 (容量 100ml)  
Culture Test Result for BN Medium

Table 8 試験ケース  
Method for Testing

|         | 栄養塩               | 溶液      |
|---------|-------------------|---------|
| Case 11 | 海産用培地 (IMK培地)     | ②1/4海水  |
| Case 12 |                   | ⑤1/2温泉水 |
| Case 13 | 海産用培地 (KW21×5倍濃度) | ②1/4海水  |
| Case 14 |                   | ⑤1/2温泉水 |

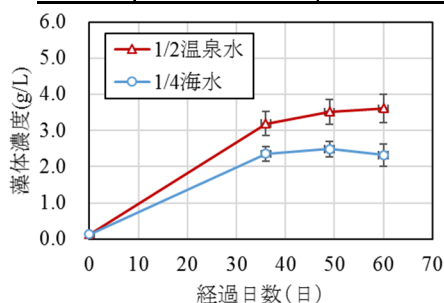


Fig. 3 IMK 培地による培養結果 (容量 1L)  
Culture Test Result for IMK Medium

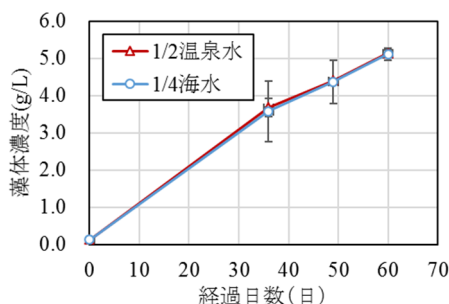


Fig. 4 KW21 ×5 倍濃度培地による培養結果 (容量 1L)  
Culture Test Result for Five-fold Concentration of KW21 Medium

藻の色の変化は、100 mL 培養が、20~30 日経過で、赤み帯びた橙色に変化したのに対し、ここでは示していないが、1 L 培養は、35~50 日目頃から橙色になり、時間を要する結果となった。この要因として、光強度の違いが影響したと推察される。100 mL 培養は、1L 培養に比べて液量が少ないため、強い光が直接透過する環境にある。このため、強光による光ストレスが色素の蓄積に関与したと考えられる。

この現象は、Che-Wei Hu ら<sup>3)</sup>が、報告している現象と類似していた。

#### 4. カロテノイド含有量及び脂肪酸含有量

第3章で AB-1C 株は、培養方法により、蓄積する色素に違いが生じることがわかった。そこで、橙色の藻と緑色の藻について、色素にどのような違いが生じているのかそれぞれの藻のカロテノイドの成分を比較した。

また、カロテノイドと同様に、体の健康に寄与するといわれている不飽和脂肪酸についても、どの程度含有しているのか調査した。

##### 4.1 試験方法

1 L のメジューム瓶を用いて、Table 3 の培養条件でそれぞれ培養した。橙色の藻は、1/4 海水に IMK 培地を添加し、38 日間培養して得た藻である。また、緑色の藻は、BN 培地で 40 日間培養して得た藻である。それぞれの藻を凍結乾燥した後、藻体中のカロテノイド量と脂肪酸量を分析した。なお、カロテノイドは高速液体クロマトグラフ (HPLC) で測定し、脂肪酸はガスクロマトグラフ (GC-FID) で測定した。

##### 4.2 試験結果

Fig. 5 に全カロテノイドに占める各成分の割合を示す。また、Fig. 6 に藻体中の脂肪酸含有量を示す。

Fig. 5 より、1/4 海水に IMK 培地を添加して培養した橙色の AB-1C 株は、抗酸化物質のアスタキサンチンやカンタキサンチンが蓄積していることを確認した。

また、BN 培地で培養した緑色の AB-1C 株は、目の健康に役立つとされるルテインを多く蓄積していることがわかった。

Fig. 6 より、1/4 海水に IMK 培地を添加して培養した橙色の AB-1C 株は、脂肪酸の含有量が藻体重量の 50 % 以上であり、このうち 68 % が、オレイン酸やリノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸等の健康に良いとされる不飽和脂肪酸であることがわかった。

以上により、新規微細藻の AB-1C 株は健康に寄与するアスタキサンチンやルテイン等を蓄積するとともに、人の体内では合成できない  $\omega$ 3 脂肪酸の  $\alpha$ -リノレン酸や  $\omega$ 6 脂肪酸のリノール酸など、多くの不飽和脂肪酸を生産する有用な藻であることがわかった。

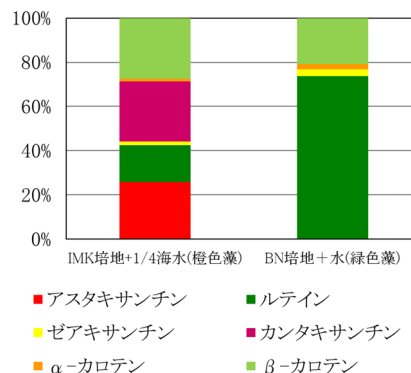


Fig. 5 カロテノイドの組成 (%)  
Composition of Carotenoid

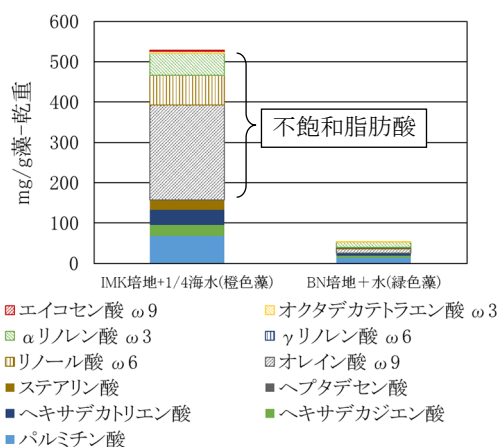


Fig. 6 脂肪酸の分析結果  
Analysis of Fatty Acids

## 5. 屋外培養試験

藻を選抜する際、コンタミネーション(雑菌、雑藻の混入)に強い藻であれば、簡易な設備で培養することが可能となり、コストの削減に繋がる。このため単離した AB-1C 株は、屋外でも培養可能な藻なのか、約半年間、継続培養を行いその性能を確認した。

### 5.1 培養方法

大林組技術研究所(所在地:東京都清瀬市)敷地内の屋外において、150 L タンクによる培養試験を行った。培養液は、ルテインを多く産生する BN 培地を用いた。培養条件は、Table 9 に示す。

期間は、9 月~12 月の第一期と翌年の 1 月~3 月の第二期の計約 6 か月間、継続的に屋外にて行った。培養状況を Photo 1 に示す。

なお、第二期の培養は、第一期で培養した藻を種菌とし、これに同量の培養液を添加して、種菌の 2 倍希釈の濃度から培養を開始した。

藻体の生育状況の観察は、吸光度(abs.680)における濁度の経時変化で、増加の有無の確認を行った。

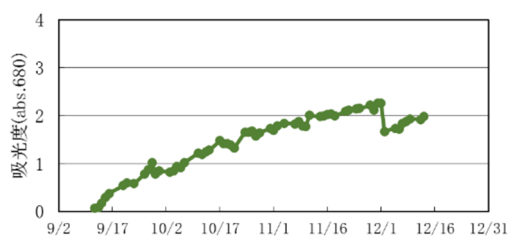


Fig. 7 屋外培養試験 (第一期)  
Field Test (Phase 1)

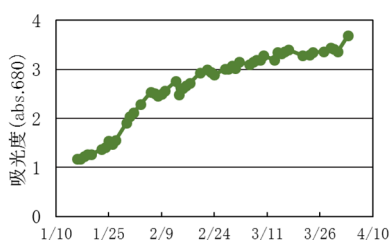


Fig. 8 屋外培養試験 (第二期)  
Field Test (Phase 2)

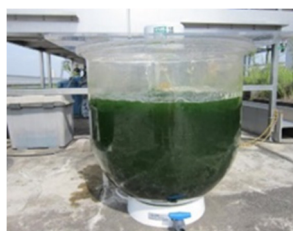


Photo 1 屋外試験

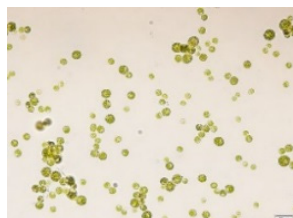


Photo 2 顕微鏡写真  
(培養最終日)  
Photomicrograph of Microalgae  
(The last day of Culture)

Table 9 培養条件  
Cultivation Method of Algae

| 項目     | 培養条件                  |
|--------|-----------------------|
| 供試藻    | 新規微細藻 (AB-1C株)        |
| 光      | 太陽光のみ                 |
| 温度     | 外気温                   |
| 液量     | 150L                  |
| CO2 供給 | 0.5mL/min (朝～夕)       |
| 期間     | 1期:9月～12月<br>2期:1月～3月 |

## 5.2 試験結果

Fig. 7 に第一期の9月～12月の結果を, Fig. 8 に第二期の翌年1月～3月の結果を示す。

Fig. 7 及び Fig. 8 より, AB-1C 株は, 屋外においても長期間安定的に生育することがわかった。特に, Fig. 8 の第二期試験は, 第一期で屋外培養した藻を種菌として使用したが, 他の藻類や細菌に汚染されることなく, 良好に生育した。Photo 2 に第二期の最終日に撮影した顕微鏡写真を示す。顕微鏡写真より試験開始6か月以上経過しても AB-1C 株が良好に生育していることがわかった。

以上のことから, AB-1C 株は, コンタミネーション(雑菌, 雑藻の混入)に強い藻であり, 屋外培養が可能な藻であることが分かった。また, 屋外で培養した藻を種菌として使用できることも確認した。

12月や1月は, 屋外の気温が氷点下になった日が数日間続いたが, 厳しい環境下でも生育していたことから, AB-1C 株は, 低温に耐性がある藻であることがわかった。

クロレラなど, 屋外で培養できる藻でも低温時は, 生育できなくなることから, 真冬においても生育できる AB-1C 株は, 優位性があると考えられる。

## 6. まとめ

本研究で以下のことが明らかになった。

- 1) 新規微細藻(AB-1C 株)の赤い藻は, アスタキサンチンやカンタキサンチンを含むし, 緑色の藻は, ルテインを多く含有していた。
- 2) 培養方法を工夫することにより, 抗酸化物質のアスタキサンチンや目の健康に役立つルテイン等の生産が可能な藻であった。

- 3) 脂肪酸は, 藻体重量の 50%以上蓄積し, このうち, 68%がオレイン酸や  $\alpha$ -リノレン酸等の不飽和脂肪酸であった。
- 4) 屋外においても安定的に培養できることがわかった。また, 屋外で培養した藻を種菌として使用できることも確認した。

以上より, 新規微細藻(AB-1C 株)は, 体の健康に役立つ, アスタキサンチンやルテインなどのカロテノイド及び  $\alpha$ -リノレン酸などの不飽和脂肪酸を蓄積することから, 有用な藻であると考えられる。

## 謝辞

研究に関して富山大学理学部中村省吾客員教授ならびに, 酒徳昭宏先生に多くのご助言をいただきました。ここに感謝の意を表します。

## 参考文献

- 1) ジェイ・フェニックス・リサーチ(株):藻から石油が取れるの 石巻専修大学共創研究センター主催シンポジウム, 2011
- 2) Brányiková I, Maršalková B, Doucha J, Brányik T, Bišová K, Zachleder V, Vítová M : Microalgae-novel highly efficient starch producers, *Biotechnol Bioeng.* Vol. 108, No. 4, p. 767, 2011
- 3) Che-Wei Hu, Lu-Te Chuang, Po-Chien Yu, Ching-Nen Nathan Chen : Pigment production by a new thermotolerant microalga *Coelastrella* sp. F50, *Food Chemistry*, Vol. 138, Issue 4. 15, pp. 2071-2078, 2013