

## 有機物添加が微細藻類の生長に与える影響の調査

日大生産工(院) ○菅家 雅史

日大生産工 矢木 修身 佐藤 敏幸 日秋 俊彦

### 1 緒言

微細藻類は、バイオディーゼル燃料 (BDF) やサプリメント、飼料等様々な分野で注目されているものの、依然としてバイオマス生産性の低さに課題があり、生産性向上を目的として微細藻類の増殖を促進させる培養手法が求められている。藻体増殖促進法として培地への有機物添加が報告されているが、そのメカニズムには未解明な点が多く、同属の藻類間において促進効果を示さない場合もある<sup>3, 4)</sup>。この原因として、藻類と共生する細菌群の存在が考えられる。既往の有機物添加培養の研究において、共生細菌による影響の調査は少なく、藻類自身が有機物を資化しているのか、もしくは共生細菌を含む外部からの影響を受けて資化されているのか不明確であり、知見が少ない。そこで、本研究では *Scenedesmus* sp. YK への有機物添加による増殖促進について、種々の有機物を添加した際の藻体増殖へ与える影響を、共生細菌の有無に着目して調査を行った。

### 2 実験

#### 2-1 培養条件

500 mL 三角フラスコに Chu-No.10 改変培地を 300 mL 加え、オートクレーブ滅菌後、藻類前培養液 3 mL を接種した。培養環境は温度日中  $25 \pm 0.5$  °C、夜間  $20 \pm 0.5$  °C、植物培養用蛍光灯を用いた 12 時間周期の明暗光照射条件下での静置培養とし、すべての培養は 3 回行った。研究室保有藻類株 *Scenedesmus* sp. YK は山形県霞城公園にて採取したものを継代培養したものであり、単一藻類の純培養 (Axenic 培養)、共生細菌群を維持した培養 (Xenic 培養) を実験に使用した。藻体増殖の評価は、吸光度測定(波長 680 nm)、クロロフ

イル a 濃度測定、検鏡にて行った。さらに、培養終了後の藻体を 3000 rpm にて 5 分間遠心分離し、乾燥試料とした。藻体乾燥試料中脂肪酸をナカライテスク社製脂肪酸メチル化キットにて抽出、メチルエステル化し、GC-MS(島津製作所製 GCMS-QP2010, 使用カラム Agilent 社製 DB-5ms)を用いて脂肪酸組成分析を行った。

#### 2-2 有機物添加培養

*Scenedesmus* sp. YK (Axenic 株, Xenic 株) に対し、培養液中の全有機炭素量メタノール濃度 1000 mg/L を基準としてメタノール、エタノール、ヘキサンを植菌直前に添加、酢酸ナトリウム、グルコースをオートクレーブ滅菌前にそれぞれ添加し、培養を行った。

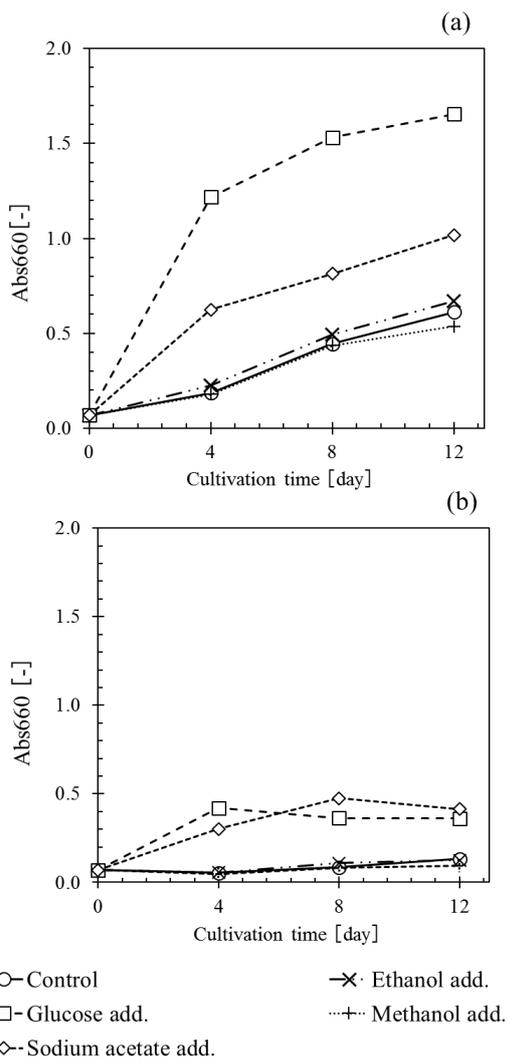
### 3 結果および考察

各種有機物添加条件にて培養した *Scenedesmus* sp. YK (Axenic 株, Xenic 株) の増殖曲線を Fig.1 に示す。グルコース、酢酸ナトリウムは共生細菌群なしに、藻体増殖促進効果を示した。一方メタノール、エタノールの増殖促進効果は無菌培養では確認されず、有機物無添加での培養と同程度の増殖であった。

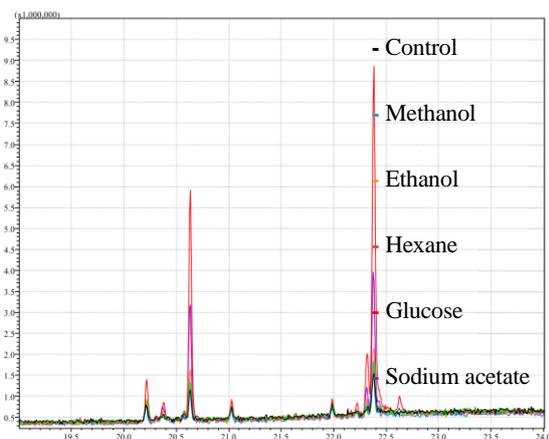
*Scenedesmus* sp. YK 藻体より抽出した脂肪酸は、Fig.2, Table1 に示すように主に 2 つのピークが検出され、一方はパルミチン酸、もう一方は C18 脂肪酸群であり、有機物添加は藻体内脂肪酸組成に大きな変化を与えなかった。

Investigation of the effect of organic compounds addition on the growth of microalgae

Masafumi KANKE, Osami YAGI Toshiyuki SATO and Toshihiko HIAKI



**Fig.1** Growth curve of *Scenedesmus sp. YK* at organic compounds addition  
(a)Xenic cultures, (b)Axenic cultures



**Fig.2** TIC Chromatogram of Extracted oil by *Scenedesmus sp. YK*

**Table1** Extended fatty acids derived from *Scenedesmus sp YK* at different culture conditions

Culture conditions	Peak area A	Similarity [%]
Added Organic compound		
Control	Palmitic acid methyl ester	80
Methanol	Palmitic acid methyl ester	84
Ethanol	Palmitic acid methyl ester	85
Hexane	Palmitic acid methyl ester	85
Glucose	Palmitic acid methyl ester	94
Sodium acetate	Palmitic acid methyl ester	93

	Peak area B	Similarity [%]
	8,11,14-Docosatrienoic acid methyl ester	76
	$\alpha$ -linolenic acid methyl ester	78
	8,11,14-Docosatrienoic acid methyl ester	79
	$\alpha$ -linolenic acid methyl ester	81
	8,11,14-Docosatrienoic acid methyl ester	89
	8,11,14-Docosatrienoic acid methyl ester	85

#### 4 結言

増殖促進効果が報告されているグルコース、酢酸ナトリウムは共生微生物なしに *Scenedesmus sp. YK* の増殖を促進した。一方エタノールの増殖促進効果は無菌培養では確認されず、またメタノール添加も同様であった。今後各有機物を資化する共生微生物との関係を解明することにより、有機物、微生物を利用した増殖促進培養系の提案が可能だと考えられる。

#### 参考文献

- 1) 倉橋 みどり, 小柳津 広志, 応用微細藻類学-食料からエネルギーまで-, p.1-42, 成山堂書店, 2013.
- 2) C. Wu, W. Wang, L. Yue Z. Yang, Q. Fu, and Q. Ye., "Enhancement effect of ethanol on lipid and fatty acid accumulation and composition of *Scenedesmus sp.* " *Bioresource Tech.*, 8, (2014) p.198-206.
- 3) D. Dittamart, C. pumas, J. pekkoh and Y. peerapornpisal, "Effects of organic carbon source and light-dark period on growth and lipid accumulation of *Scenedesmus sp.* AARL G022" *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 8, (2014) p.198-206.
- 4) B.-H. Kim, R. Ramanan, D.-H. Cho, H.-M. Kim, "Role of Rhizobium, a plant growth promoting bacterium, in enhancing algal biomass through mutualistic interaction" *Biomass Bioener.*, 69, (2016) p.95-105.