

微細藻類の増殖速度に対する有機化合物の添加効果の検討

日大生産工(院) ○本井 慶史

日大生産工 岡田 昌樹, 佐藤 敏幸, 日秋 俊彦, 元日大生産工 矢木 修身

1.背景

近年、大気中の二酸化炭素濃度の上昇が危惧されており、カーボンニュートラルな資源の研究・開発が行われている。その候補の一つとして、植物などのバイオマス資源を原料に用いたバイオ燃料が挙げられ、植物の油脂を利用したバイオエタノールの生産が行われている。しかし、従来のバイオマス資源の場合、食糧との競合による価格高騰や農作物との水資源の競合、広大な栽培面積を必要とするといった課題を有していた。そこで、これらの課題に対する解決策として、微細藻類が注目されている。

微細藻類は、非食用由来であることや培養液中で培養するため生産を行う土地に対する制約が小さいことなどの利点に加え、従来のバイオマス資源よりも高い油脂含有量を有する。ここで微細藻類の生態代謝を利用した油生産を考えた場合、第一段階として微細藻類の増殖促進手法の開発が必要である。

既往の研究において G.Mujtabe¹⁾らは、環境要因(窒素やリン、炭素源を含む栄養素の種類・濃度、照度、通気量、CO₂濃度など)の変化によって増殖量や脂質含有量が向上することを報告している。また、D.Dittamart²⁾らは、炭素源に低濃度のグルコースを用いることで増殖速度の向上が見込めることを報告しているが、グルコースは高価な炭素源であるため、増殖速度と脂質含有量の増加を促進させる安価な炭素源の模索が必要であるとしている。

そこで本報告では、高い油生産能を有する微細藻類 *Scenedesmus* sp.を用いて、有機化合物の添加による増殖速度の変化について検討した結果を報告する。

2.実験方法および測定方法

2.1.使用菌株

山形県霞城公園内の河川水から採取、単藻化され、油生産能が認められている研究室保有の *Scenedesmus* sp.を使用した。Fig.1 に光学顕微鏡を用いて撮影した *Scenedesmus* sp.を示す。



Fig.1 *Scenedesmus* sp.

2.2.培養条件および培養方法

Scenedesmus sp.の培養にはベースとなる培地として Chu-No.10 改変培地を用いた。500mL 三角フラスコに培養液 300mL と藻類の分散液 5mL を加えた。有機化合物の添加効果の検討では、培地に対して所定濃度となるように各種の有機物(メタノール、エタノール、ギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム)を添加した。有機化合物の添加濃度の検討では、100, 300, 500, 1000mg/L になるよう各種の有機物(メタノール、酢酸ナトリウム)の添加量を調整した。培養環境は温度 25℃、蛍光灯を用いた明暗周期 12 時間照射の下、14~21 日間培養を行った。

また、比較のため有機化合物無添加のコントロール（以降、コントロール）および暗条件(有機化合物 500mg/L, 光照射無)での培養（以降、暗条件）を平行して行った。

2.3.分析方法

増殖量の評価には紫外可視分光光度計 (SHIMADZU 社製 UV-2550)を用い、波長 660 nm を用いて測定される光学密度 (OD 値) を使用した。なお、本研究では有機化合物の添加による効果を相対的に評価することのみを考え、OD₆₆₀ をそのまま増殖量の指標として

Examination of the addition effect of organic compounds on the growth rate of microalgae

Yoshifumi MOTOI, Masaki OKADA, Toshiyuki SATO, Toshihiko HIAKI and Osami YAGI

用いた。藻類より抽出した油成分はGC-MS(SHIMADZU 社製 GCMS-QP2010, カラム DB-5MS)を用いて定性を行った。

3.結果および考察

有機化合物の添加効果を検討した。Fig.2およびFig.3に各有機化合物の添加による増殖量およびpHの変化を示す。いずれの有機化合物の添加においてもコントロールの増殖量を上回ることが確認された。酢酸ナトリウムは、培養6日目までの増殖曲線の中で最も高い値を示した。既往の研究においても酢酸ナトリウムの添加による増殖効果が報告されている。D.Dittamart²⁾らは酢酸ナトリウムが代謝経路により他の有機物よりも取り込まれやすくなると報告しており、我々の系においても高い増殖曲線を示したと考えられる。しかし、培養後期には増殖が低下したが、これはpHの上昇によるものと考えられた。

アルコールの添加は、C.Wu³⁾らの研究により増殖および脂質含有量が増加すると報告されている。一方で我々のエタノールの系においてはその効果を確認することは出来ず、培養液内でバクテリアが繁殖してしまった。本実験では、バクテリアの共存が培養環境に作用したため、増殖が正確に測定できなかったと考えられた。メタノールは培養12日以降で最も高い増殖を示した。これは生態代謝により二酸化炭素に分解され、炭素源として利用されたと推測している。

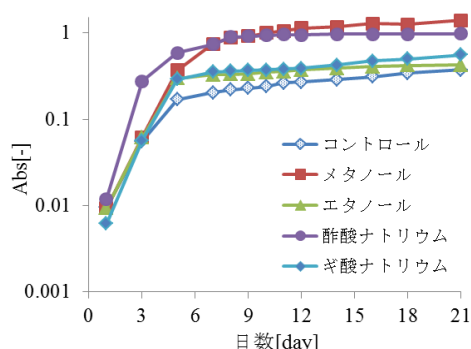


Fig.2 各有機化合物添加による吸光度変化

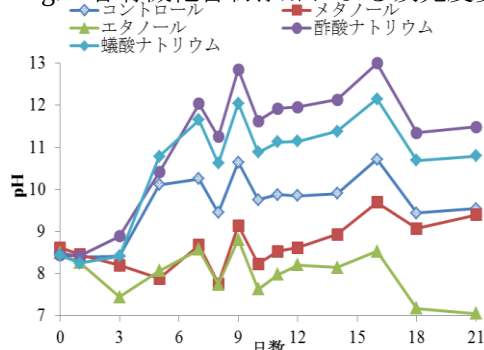


Fig.3 各有機化合物添加によるpH変化

コントロールの増殖量と比較した際、培養21日目で酢酸ナトリウムは3.5倍、メタノールは6.0倍に増大したことから酢酸ナトリウムとメタノールについて添加濃度の影響を検討した。Fig.4に各濃度の酢酸ナトリウムの添加による増殖量の変化を示す。各濃度においてもコントロールならびに暗条件の増殖量を上回ることが確認された。暗条件での培養において、バクテリアの繁殖が確認されたが、藻類の増殖は確認できなかった。300mg/L以上の酢酸ナトリウムを添加した場合、増殖ならびにpHに大きな変化を確認することは出来なかった。これにより、酢酸ナトリウムの添加では300mg/Lが有効であると推測された。

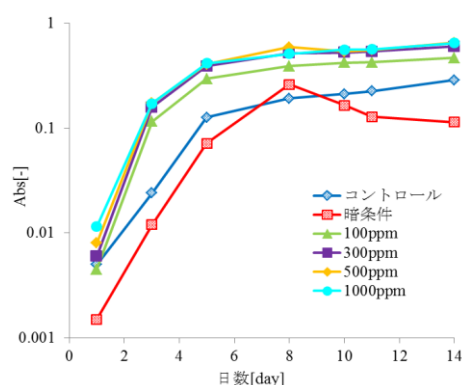


Fig.4 各酢酸ナトリウム添加による吸光度変化

一連の結果より、有機化合物の添加によって微細藻類の増殖が促進されることが明らかとなった。酢酸ナトリウムは代謝経路に作用しやすい物質に変化するものと考えられた。今後、メタノールの添加効果の検討を行い、増殖を促す濃度の最適化を行うとともに、増殖した*Scenedesmus* sp.より得られる油成分の変化を明らかにする必要があると考えられる。

【参考文献】

- 1)G.Mujtabe, W.Choi,C.Gyun Lee and K.Lee ,”Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions”*Bioresource technology*(2012)p279-283
- 2)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.Sci Technol*(2014) p.198-206
- 3)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 technology*(2013) p120-125