

海洋深層水を用いた高度不飽和脂肪酸の微生物生産に関する研究

生産システム課 九曜英雄^{*} 食品研究所 加藤肇一

1. 緒言

ドコサヘキサエン酸（DHA）に代表される高度不飽和脂肪酸は、サプリメント、食品添加剤、医薬品として注目を集めているが、近年、海洋性微生物であるラビリンチュラ菌に高度濃縮されることがわかってきている。ラビリンチュラ菌は、高度不飽和脂肪酸を細胞内に蓄積し、分離株によって脂肪酸組成は様々であるが、DHAが主要成分である。そのため、ラビリンチュラ菌を用いれば、通常魚油から多くの精製工程を経て製造されているDHAの製造工程を大幅に省くことができ、低コストでの精製が可能になると期待されている。

一方、ラビリンチュラ菌は海洋性であるために、培養するには、どうしても天然海水、人工海水あるいは食塩水を使用する必要がある。通常、天然海水を使用するほうが培養にはよいとされているが、採取される海水は表層海水であり、天候、季節変動があることから、実際には人工海水が使用されることが多い。そのために、培養液の製造に多大な費用がかかるのが現状である。一方、海洋深層水は、このような変動がなく培養液として優れており、かつ、海洋性生物の生長促進があるといわれているため、海洋性微生物の高速増殖の可能性がある。

そこで、本研究では、培養液に海洋深層水を使用した場合のラビリンチュラ菌の増殖性について検討した。

2. 実験方法

2.1 使用したラビリンチュラ菌

実験に用いたラビリンチュラ菌は、(独)産業技術総合研究所から譲渡を受けたN1-27、13-2、F3-1株である。

2.2 培養方法

ラビリンチュラ菌の培養液は、基本培地成分としてグルコース4g/L、ポリペプトン2g/L、酵母エキス1g/Lを含むGPY培地とし、3種類の塩水（海洋深層水、表層海水、3.4%食塩水）を用い、海洋深層水、表

層海水の場合はこれらの濃度が最終的に50%になるように、食塩水の場合は1.7%食塩水になるように培養液を調整した。なお、使用した海洋深層水は富山県滑川沖合から取水したものであり、表層海水は同じく滑川の沿岸から採水したものを使用した。

滅菌方法には、基本培地を121℃×20分で高压滅菌処理したもの（同時高压滅菌処理）、あらかじめ蒸留水で2倍の濃度にしたGPY培地を高压滅菌したもの、100%塩水を高压滅菌したものを等量混合したもの（2段高压滅菌処理）、蒸留水で2倍の濃度にしたGPY培地を高压滅菌したもの、0.2μmのメンブレンフィルターでろ過滅菌した100%塩水を等量混合したもの（ろ過滅菌処理）の3種類の処理法を用いた。

いずれかの方法で調整した培養液をL字型試験管に10mL加え、それに前培養したラビリンチュラ菌の菌液0.1mLを移植し、25℃で振とう速度150rpm（往復振とう）で培養した。所定日数経過後に培養液の660nmの吸光度を測定し、菌の増殖性を評価した。

2.3 DHAの分析

ラビリンチュラ菌のDHAの分析は、ガスクロマトグラフ質量分析器を用いて行った。培養液を遠心分離し、2回水洗いしたのち、105℃で3時間乾燥させ、10%のメタノール性HClと塩化メチレンを加え、脂肪酸のメチルエステル化を行った。これにヘキサンを加えて抽出し、ガスクロマト分析を行った。カラムはSP-2380（スペルコ製）を用い、分析条件は170℃から220℃で、昇温速度は2℃/minとした。

3. 結果と考察

ラビリンチュラ菌は、海洋性微生物であるものの汽水域でも生息しており、通常50%濃度海水から順調に生育する¹⁾。そこで、本研究では培養液の海水濃度を50%としている。この条件で、海洋深層水、表層海水、食塩水を用いたときのラビリンチュラ菌の増殖性について検討した。図1は、培養液を同時高压滅菌処理

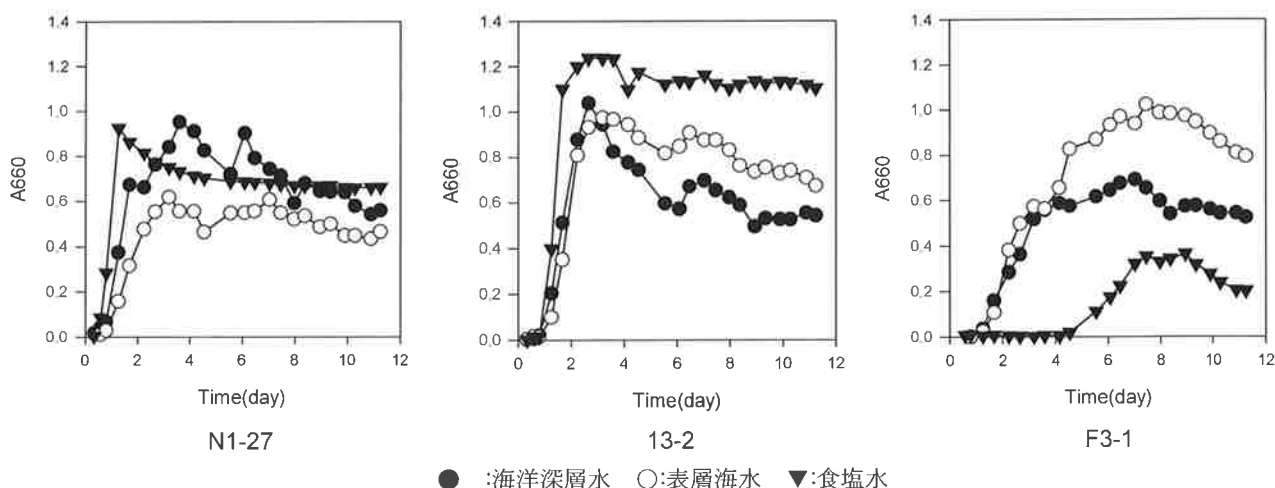


図1. ラビリンチュラの増殖に与える使用塩水の影響

した場合の結果を示したものである。N1-27、13-2は食塩水を使用した場合が最も増殖速度が速く、次に海洋深層水、表層海水の順であった。通常、菌の培養には、雑菌の殖防止のために培養液を滅菌する必要が生じるが、海水性の培養液を高圧滅菌する場合、培養液の成分と海水の成分が反応し、沈殿物を形成し、菌の発育に必要な成分が消失してしまうおそれもある。特に、これは栄養成分と海水を同時に高圧滅菌した時に生じやすい。そこで、栄養源のグルコース、ポリペプトン、酵母エキスと塩水を別々に滅菌する2段高圧滅菌やろ過滅菌処理した場合についても増殖性を調べた。

N1-27は、2段高圧滅菌、ろ過滅菌処理よりも食塩水を培養液に用いた場合の方が菌の増殖速度が大きかったが、13-2は差がほとんどなくなった。この結果から、同時高圧滅菌処理によって栄養成分が若干変性する可能性が示唆され、それによって菌の増殖速度が変化したものと考えられた。

F3-1については、食塩水を使用したとき、極端に培

養速度が低下した。この結果は、ラビリンチュラ菌の種類によっては、天然海水に含まれる成分によって菌の増殖性が著しく変化することを意味する。

また、DHAの生成量をガスクロマトグラフで調べたが、異なる塩水を用いたときでも、明確な差は認められなかった。

これらの結果から、ラビリンチュラ菌の種類、あるいは、培養液の滅菌方法によっては、表層海水より海洋深層水を利用した方が、培養速度が速くなるが、その影響はさほど大きくないことが分った。一方、培養液に食塩水を用いた場合は、極端に培養速度が低下する菌もあることから、培養には天然海水を使用することが望ましいと考えられた。

「参考文献」

- 1) T. Yokochi, D. Hondai, T. Higashibara: Appl Microbiol Biotechnol, **49** (1998) 72-76

キーワード：ラビリンチュラ、不飽和脂肪酸、ドコサヘキサエン酸、深層水

Production of polyunsaturated fatty acids by microorganism using Deep sea water

Hideo KUYO, Tadahito KATO

Effect of deep sea water on growing rate and docosahexaenoic acid content of labyrinthulids was investigated. The growing rate of Strain N-27 and 13-2 somewhat increased by use of culture made with deep sea water than surface sea water and NaCl solution was best constituent of medium for growing of labyrinthulid, N-27 and by contraries that of Strain F3-1 was very slow in medium made with NaCl solution. This results show that some ingredient of deep sea water was very effective in growth of strain F3-1 but N-27 and 13-2. But content of docosahexaenoic acid in labyrinthulids was not effected on by deep sea water.