

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15123

研究課題名(和文)ヘマトコッカスを核とした非滅菌下水処理水からのアスタキサンチン生産技術の開発

研究課題名(英文) Astaxanthin production by Haematococcus microalgae using unsterilised treated effluent

研究代表者

高部 祐剛 (Takabe, Yugo)

鳥取大学・工学研究科・准教授

研究者番号：70625798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：青色から赤色領域までの種々の特定波長光を照射し、非滅菌下水処理水を利用したヘマトコッカスの優占培養によるアスタキサンチン生産の実現性を評価した。625 nm(赤色)の光波長を照射することで、ヘマトコッカスにおけるアスタキサンチン蓄積を促進することが分かった。また、非滅菌下水処理水を用いたヘマトコッカスの培養においても、625 nm波長を照射することで、増殖した全微細藻類細胞に対するヘマトコッカス細胞が高い割合を維持できることを明らかとし、単位培養液当たり2,000 µg/Lのアスタキサンチン生産を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人口減少等に伴う厳しい経営環境、また、将来の資源枯渇の懸念および地球温暖化防止を背景に、下水道施設では「排除・処理」から「活用・再生」への早急な転換が求められており、下水を用いて微細藻類を培養することで、下水中の窒素、リン等栄養塩の有効活用、CO₂固定が達成される。微細藻類を培養し有効利用する際、コストが大きな問題となるが、赤色色素であるアスタキサンチンは、化粧品や着色剤として高値で取引される。微細藻類による高付加価値物質の生産を達成することでコストの問題が解消され、微細藻類を用いた下水中資源利用技術の現場への導入が加速するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Haematococcus microalgae were cultivated with a specific wave length (from blue to red) light using unsterilised treated sewage effluent, and astaxanthin productions by the dominant cultivation of Haematococcus microalgae were demonstrated. The irradiation of 625 nm wave length enhanced astaxanthin accumulation in Haematococcus microalgae. In addition, Haematococcus microalgae were dominantly grown in the unsterilised treated effluent by the irradiation of 625 nm wave length, which resulted in 2,000 µg of astaxanthin productions per 1 L culture.

研究分野：環境工学

キーワード：アスタキサンチン ヘマトコッカス 微細藻類 下水 資源

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人口減少等に伴う厳しい経営環境、また、将来の資源枯渇の懸念および地球温暖化防止を背景に、下水道施設では「排除・処理」から「活用・再生」への早急な転換が求められている。そういった中、近年、下水道に集約される資源を活用した微細藻類培養に関する研究が盛んに実施されている。微細藻類を培養することで、下水中の窒素、リン等栄養塩の有効活用、CO₂固定が達成されるだけでなく、培養した微細藻類のバイオ燃料、肥料、医薬品といった多岐の分野への利用が見込まれる。

本研究では、下水処理水を利用した藻類培養によるアスタキサンチン (AX) 生産に着目する。赤色素である AX は、化粧品や着色剤として高値で取引される。数多くの研究事例を有する微細藻類のバイオディーゼル利用がコストの問題で実現しない中、微細藻類による高付加価値物質の生産を達成することでコストの問題が解消され、微細藻類を用いた下水中資源利用技術の現場への導入が加速するものと期待される。

AX は、全ての微細藻類が体内で蓄積する訳ではなく、ヘマトコッカスに代表される特定の微細藻類種のみ、ストレス条件下で AX を蓄積する。処理水を用いた特定種の培養においては、処理水から自然に増殖する土着藻類が優占してしまうことが大きな障壁である。AX に限らず、エネルギー利用を想定した脂質含有率が高い特定種の培養でも同様の問題が発生する。多くの研究で、滅菌処理を処理水に施した上での特定種の培養が試みられているが、コストがかかる滅菌操作を組み込んだフルスケールの藻類培養システムの現場への導入は現実的ではない。そのため、非滅菌処理水を利用した AX 生産技術が求められるが、成功事例はほとんど報告されていない。処理水という複雑系における AX 蓄積藻類ならびに土着藻類、双方の増殖特性を考慮した、新たな培養技術開発が必要となる。

2. 研究の目的

青色から赤色領域までの種々の特定波長光をヘマトコッカスおよび土着藻類それぞれに照射し、その増殖特性を把握する。その上で、非滅菌下水処理水を用いたヘマトコッカスの優占培養・AX 生産を可能とする照射条件を探索する。

3. 研究の方法

処理水は、鳥取県内の A 下水処理場より採取した。本処理場では標準活性汚泥法により下水が処理され、最終沈殿池より処理水を採取した。土着藻類の培養、また、ヘマトコッカスと土着藻類の混合培養においては、採取した処理水をそのまま (非滅菌) 用いた一方で、ヘマトコッカスを純粋培養する際は、処理水をろ過滅菌した。

培養装置として容量 2 L のビーカーを利用し、温度 25 に設定したインキュベータ内に、培養装置を設置した。微細藻類への炭素源供給および培養液の pH 維持を目的に、培養液の pH8.0 を指標として、培養装置に CO₂ ガスを間欠添加した。培養装置に照射する光波長は、470 nm (青色)、525 nm (緑色) または 625 nm (赤色) として、光量子束密度は 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に設定した。培養は回分式で行った。ヘマトコッカスの純粋培養およびヘマトコッカスと土着藻類の混合培養では、継代培養したヘマトコッカス 10 mg-SS (SS: 浮遊性物質) を処理水に添加し、培養を開始した。

上記の装置を用いた微細藻類培養において培養液中の無機態窒素 (IN) が枯渇した後、装置内の培養液 500 mL を 0.5 L ビーカーに移し、AX を蓄積させた。AX 蓄積期間は、光量子束密度 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の白色光ライト 2 台を用いて光を照射した。また、装置に NaCl を 0.5 g 添加し、微細藻類にストレスをかけることで、AX 蓄積を促した。

4. 研究成果

470 nm、525 nm および 625 nm の各波長を照射し土着藻類を培養した際の SS および培養液中の IN の推移を図-1 に示す。470 nm および 625 nm の光波長

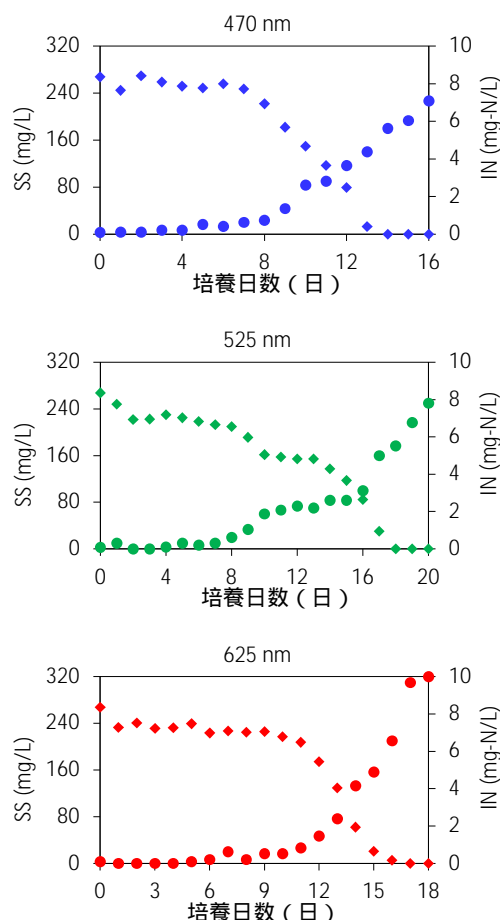


図1 土着藻類培養におけるSSおよびINの推移 (丸印: SS、ダイヤ印: IN)

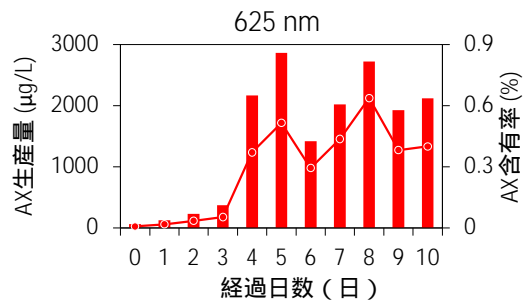
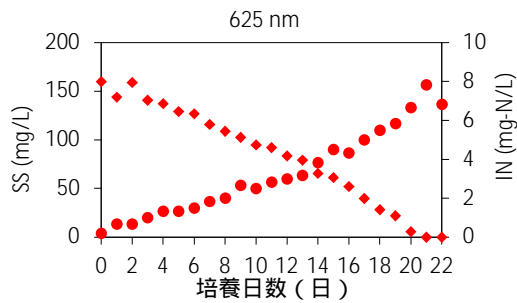
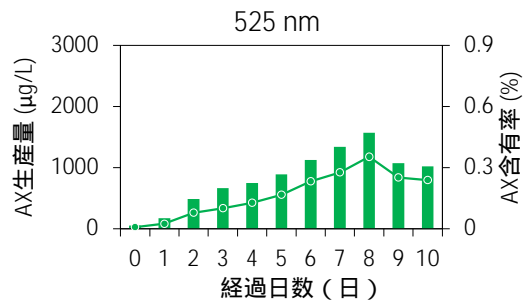
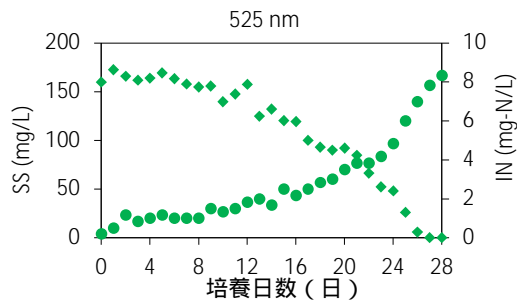
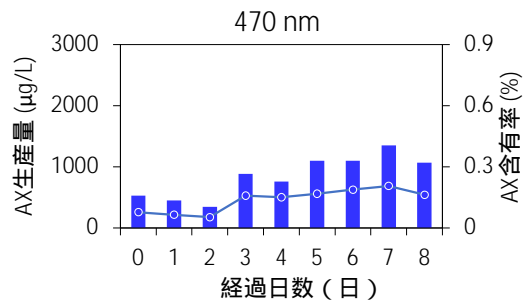
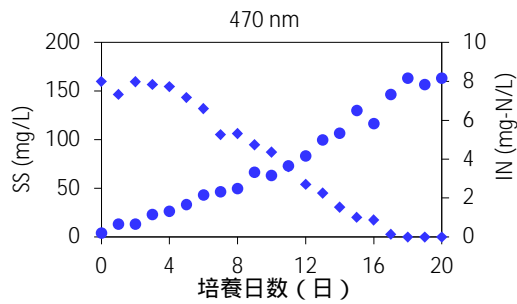


図2 ヘマトコッカス培養におけるSSおよびINの推移 (丸印：SS、ダイヤ印：IN)

図3 AX生産量および含有率 (折れ線グラフ：生産量、棒グラフ：含有率)

を照射した系では、増殖開始後、連続的に土着藻類の培養が確認された。また、それぞれの系において、セネデスムス科に属する微細藻類を含む緑藻が優占した。525 nmの光波長を照射した系では、ニッチア科に属する微細藻類を含む珪藻が優占的に増殖し、INが豊富に存在する状態で処理水中の珪素が枯渇した。その後、土着藻類の顕著な増殖が確認されない期間が数日間続き、最後にINが枯渇するまで、セネデスムス科に属する微細藻類を含む緑藻が連続的に増殖した。各光波長の照射で増殖した土着藻類におけるAX蓄積は確認されなかった。

ヘマトコッカスの純粋培養における、SSおよび培養液中のINの推移を図-2に示す。各光波長を照射した系において、ヘマトコッカスの増殖、それに伴うINの減少が確認された。470 nmおよび625 nmの波長を照射した系に比べ、525 nmの波長を照射した系でのヘマトコッカスの増殖は緩やかであった。各光波長の照射で増殖したヘマトコッカスによる単位培養液 (1 L) 当たりのAX生産量およびヘマトコッカスのAX含有率を図-3に示す。ヘマトコッカスは、ストレス条件下での培養日数が経過することでAXを蓄積した。一方で、470 nm、525 nmおよび625 nmの各波長を照射したヘマトコッカスによるAX生産量およびAX含有率は、それぞれ最大で、688 μg/Lおよび0.41%、1,180 μg/Lおよび0.47%、ならびに2,120 μg/Lおよび0.86%となり、培養する際に照射した波長の違いがヘマトコッカスにおけるAX含有率に影響を与え、結果としてAX生産量に差異を生じることが明らかとなった。

ヘマトコッカスと土着藻類の混合培養における、SSおよび培養液中のINの推移を図-4に示す。470 nmおよび625 nmの波長を照射した系に比べ、525 nmの波長を照射した系での微細藻類の増殖は緩やかであった。培養初期段階では、各実験系での微細藻類細胞全体に占めるヘマトコッカス細胞は70~90% (体積ベース) であり、ヘマトコッカスが優占していた。しかし、470 nmおよび525 nmの波長を照射した実験系での培養終了時においては、微細藻類細胞全体に占めるヘマトコッカス細胞は、土着藻類の増殖によりそれぞれ5.7%および1.5%にまで低下した。一方で、625 nmの波長を照射した系では38%であり、他の2つの系に比べ、ヘマトコッカスが高い割合で存在しており、また、ヘマトコッカスはシスト化していた。次に、各光波長の照射で増殖した微細藻類による単位培養液当たりのAX生産量およびAX含有率を図-5に示す。470 nmの波長を照射した系ではAXは不検出、525 nmの波長を照射した系でのAX生産量は38 μg/Lであった一方で、625 nmの波長を照射した系で最大で2,000 μg/Lと高い生産量を示した。微細藻類のAX含有率は0.51%と、ヘマトコッカスの純粋培養系での含有率より低く、これは、土着藻類の増殖による影響が考えられる。以上のことから、非滅菌下水処理水におけるヘマトコッカスの

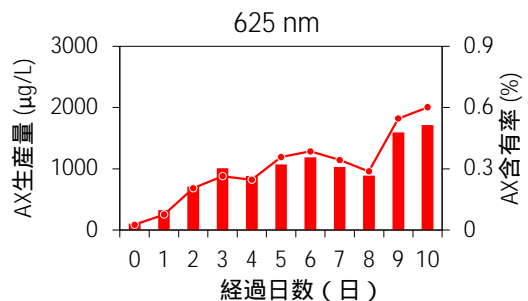
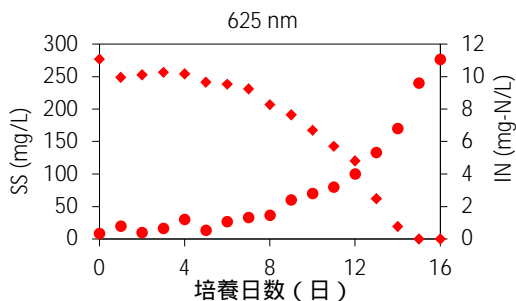
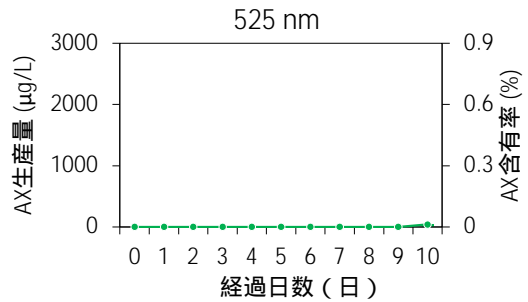
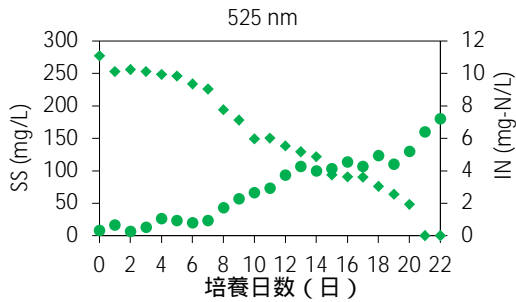
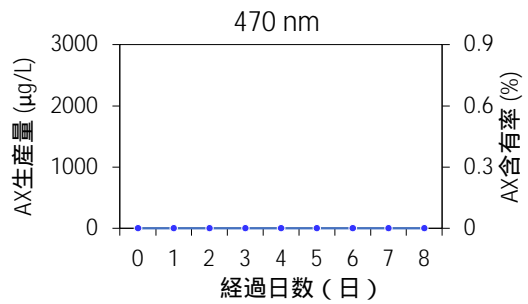
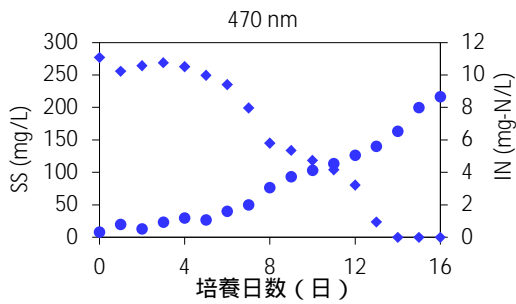


図4 混合培養におけるSSおよびINの推移
(丸印：SS、ダイヤ印：IN)

図5 AX生産量および含有率
(折れ線グラフ：生産量、棒グラフ：含有率)

優占培養ならびに AX 生産の観点から、625 nm の波長を光源とした培養が適切であることを明らかとした。

光量子束密度を $800 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に設定し 625 nm の波長を照射した混合培養においては、培養を通じて、微細藻類細胞全体に占めるヘマトコッカス細胞は 84%以上を維持しており、光量子束密度を 500 から $800 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に強めることで、ヘマトコッカスの優占が促進されることが明らかとなった。一方で、単位培養液当たりの AX 生産量は、光量子束密度を 500 から $800 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に強めることで、 $2,000 \mu\text{g}/\text{L}$ から $1,500 \mu\text{g}/\text{L}$ にまで低下した。この AX 生産量の低下については、光量子束密度を強めることで、ヘマトコッカスの単位細胞に含有される AX 量が減少したことに起因するものと推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takumi Uemura, Yugo Takabe, Hironori Okazaki, Nobuhiro Matsumura, Takanori Masuda, Yoshiko Hoshikawa	4. 巻 Published online
2. 論文標題 Influences of changing inorganic nitrogen concentration on accumulation and degradation of organic components in indigenous microalgae cultivated with secondary effluent	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Environmental Technology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09593330.2022.2034977	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yugo Takabe, Takumi Uemura, Takanori Masuda
2. 発表標題 Accumulation and degradation of total lipid and carbohydrate in indigenous microalgae corresponding to changes in inorganic nitrogen concentration of secondary effluent
3. 学会等名 WET2021-online（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------