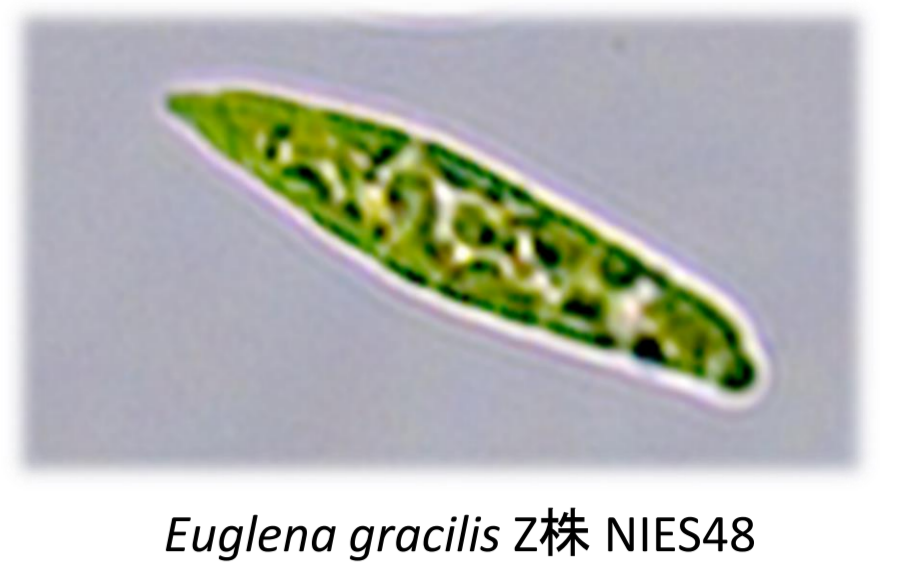


# 食品産業廃液を利用したユーグレナ(ミドリムシ)の光従属栄養培養

川野 祐美<sup>1</sup>, 末永 智幸<sup>1</sup>, 田岡 洋介<sup>1</sup>, 芝上 基成<sup>2</sup>, 林 雅弘<sup>1</sup> (1宮崎大・農・海洋生物, 2産総研)

## 目的

ユーグレナは栄養価が高く、独立栄養でも従属栄養でも増殖することができるユニークな原生生物であることが知られている。しかし、独立栄養培養では他の微細藻類と同じくバイオマス収量が低く、増殖速度が遅い事が確認されている。ユーグレナによる効率的なCO<sub>2</sub>固定によりバイオマスを生産するには、高密度での光従属栄養培養が必要である。本研究では食品産業廃液の例として廃ビールに注目し、ユーグレナの光従属栄養培養のための初発有機炭素源としてビールを利用した。



Euglena gracilis Z株 NIES48

## 予備実験

市販ビールをベースとした培地(ビール培地)とA培地で細胞密度を比較した(Fig. 1)。

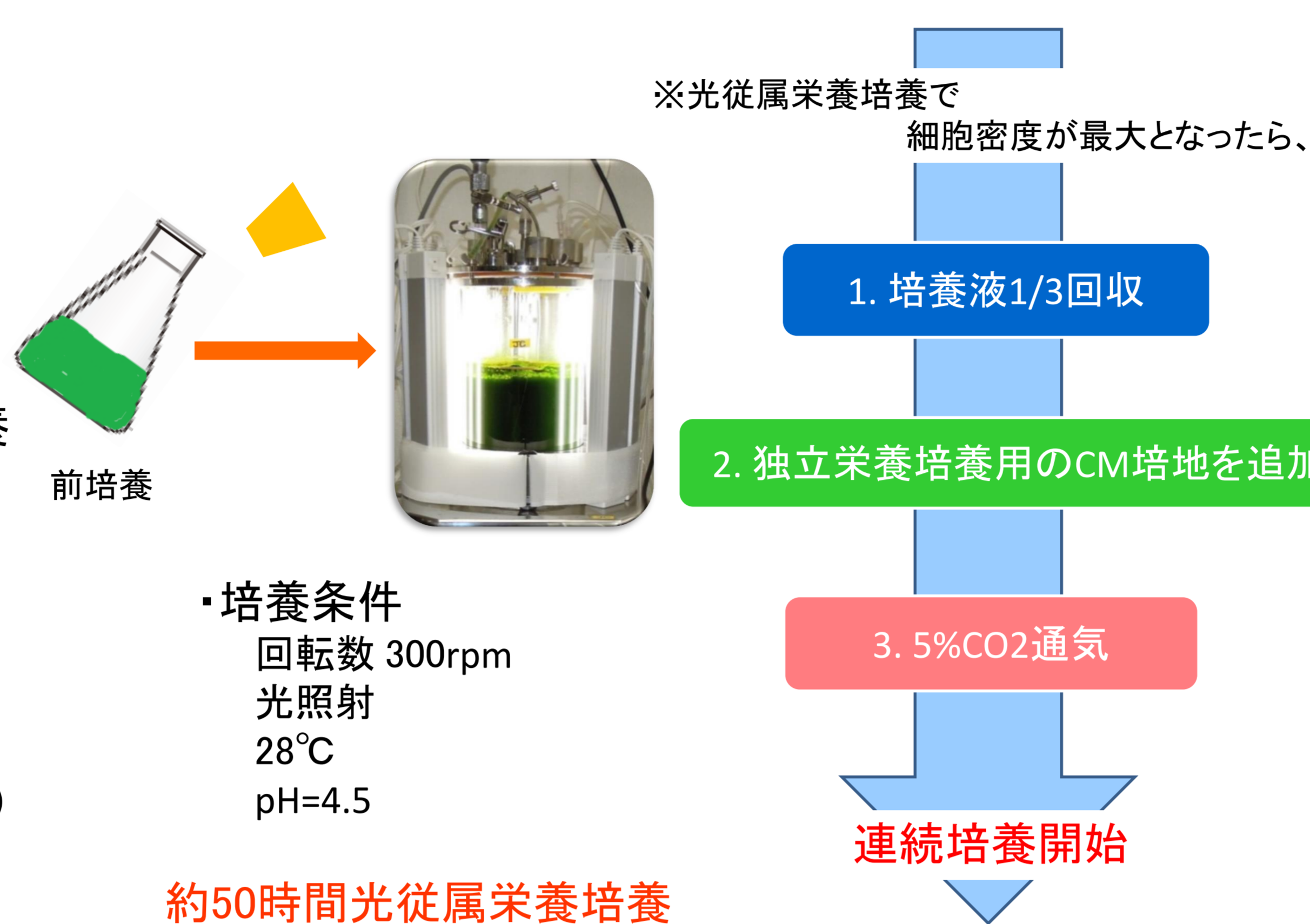
## 【方法】

使用株: *Euglena gracilis* Z株 NIES48  
前培養: A培地で48時間 (28°C 105 rpm)培養  
2ℓ ジャーファーメンター培養:  
培養液 (1.2ℓ) の10% (120ml) の種を植菌  
約50時間の光従属栄養培養の後、独立栄養  
条件で連続培養を行った。

## 【分析】

・1日2回細胞をエッペンチューブに回収し、乾燥菌体重量(DCW)  
パラミロン含量(フェノール硫酸法)  
上清液中の糖濃度(グルコースCII-テストキット)  
NH<sub>4</sub>-N濃度(イオンメーター)  
タンパク質含量(ケルダール法)を測定した。

## ・2ℓジャーファーメンターでの連続培養



・培養条件  
回転数 300rpm  
光照射  
28°C  
pH=4.5

約50時間光従属栄養培養

## 予備実験

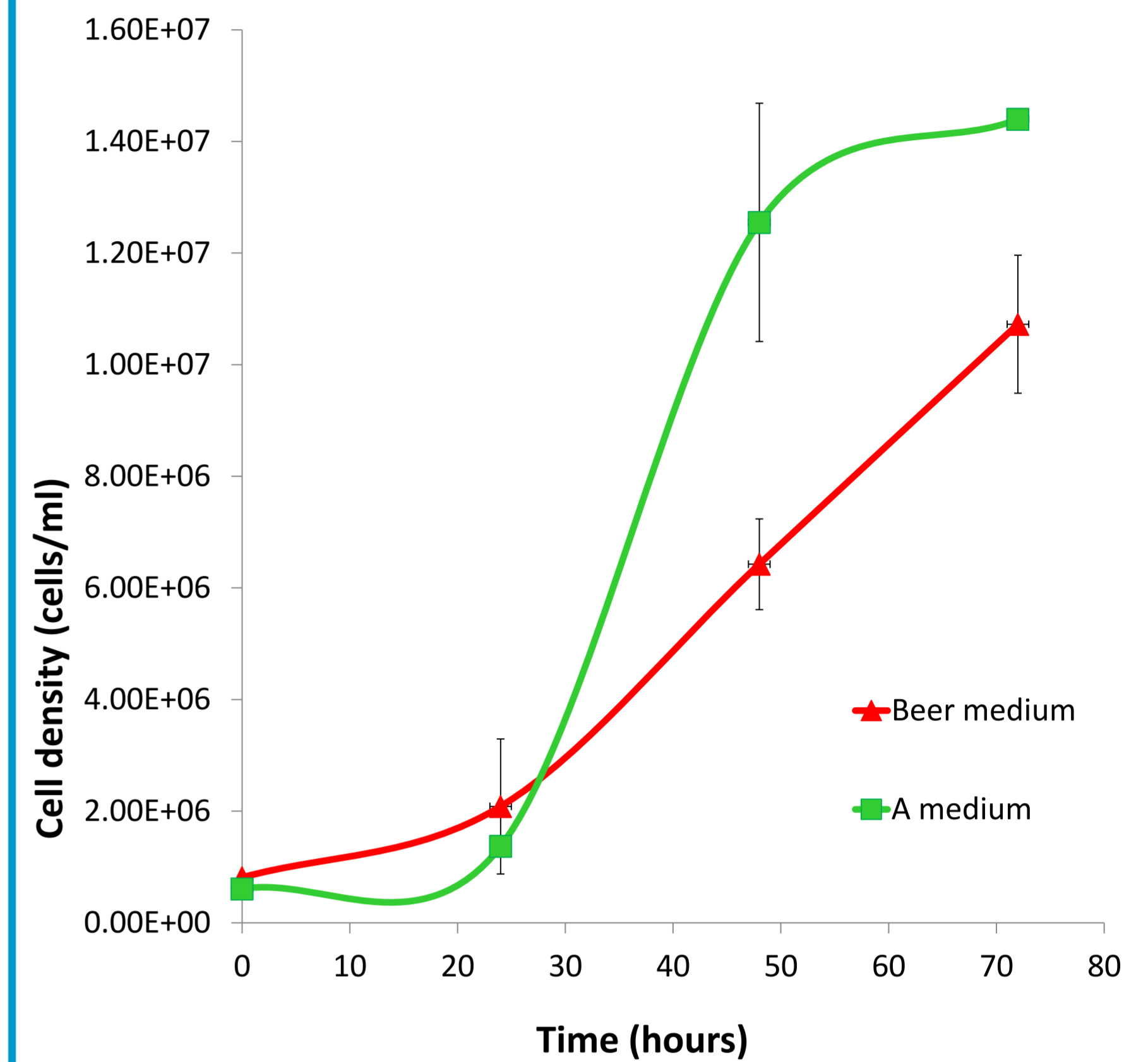


Fig. 1 Batch culture on A or Beer medium

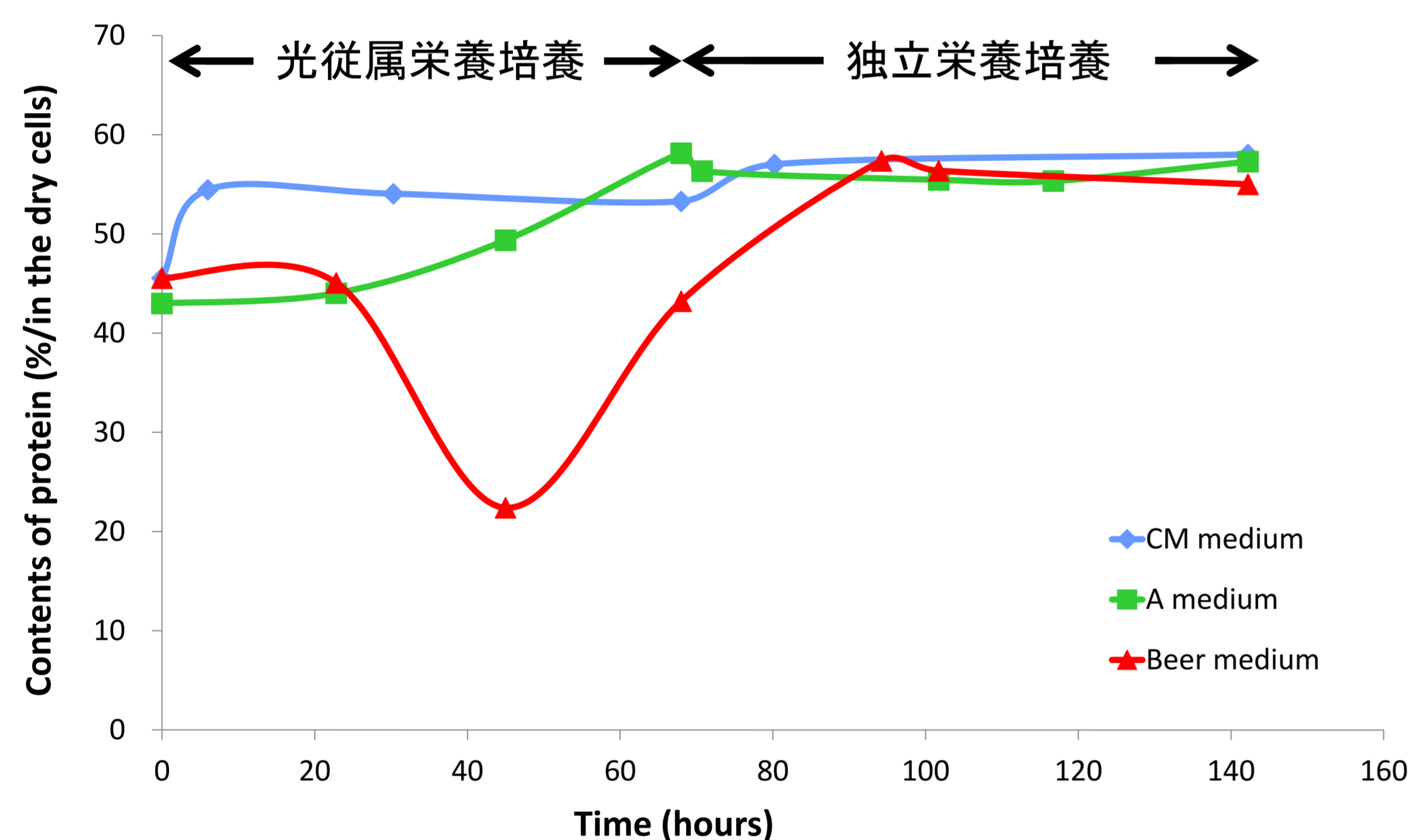


Fig. 2 Change of protein contents

アミノ酸	<i>Euglena gracilis</i> Z株 NIES48		
	GL	GD	独立栄養
イソロイシン	3.3	3.3	3.5
ロイシン	6.5	6.5	7.3
リジン	5.9	5.8	5.6
含硫アミノ酸	4.4	4.4	3.2
芳香族アミノ酸	7.2	7.2	7.6
トレオニン	4.1	4.4	4.3
トリプトファン	1	1	1.1
バリン	4.7	5.3	5
アミノ酸価	83	83	88

GL: 野生株光従属培養 GD: 野生株暗従属培養

Table. 1 Contents of amino acid and amino acid score\*

\*北岡, 細谷, 農化誌, 51(8), 477-482 (1977).

## 【Cramer-Myers 培地】

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10.0 g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10.0 g  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.0 g  
CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.2 g  
クエン酸 3Na·2H<sub>2</sub>O 8.0 g  
Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.03 g  
MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.018 g  
CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.015 g  
ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.004 g  
Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.002 g  
CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.0002 g  
Vitamin B1 1 mg  
Vitamin B12 0.005 mg  
DW 1000 ml pH=5.5

## 【A培地】

Glucose 20.0 g  
Peptone 5.0 g  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.2 g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g  
CaCO<sub>3</sub> 0.2 g  
MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g  
EDTA·2Na 0.05 g  
FeSO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.05 g  
MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.018 g  
ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.025 g  
Vitamin B1 25 mg  
Vitamin B12 0.001 mg  
DW 1000 ml pH=4.5

## 【ビール培地】

Yeast extract 2.0 g  
Vitamin B1 2.5 mg  
Vitamin B12 0.005 mg  
市販ビール 1000 ml  
pH=4.5

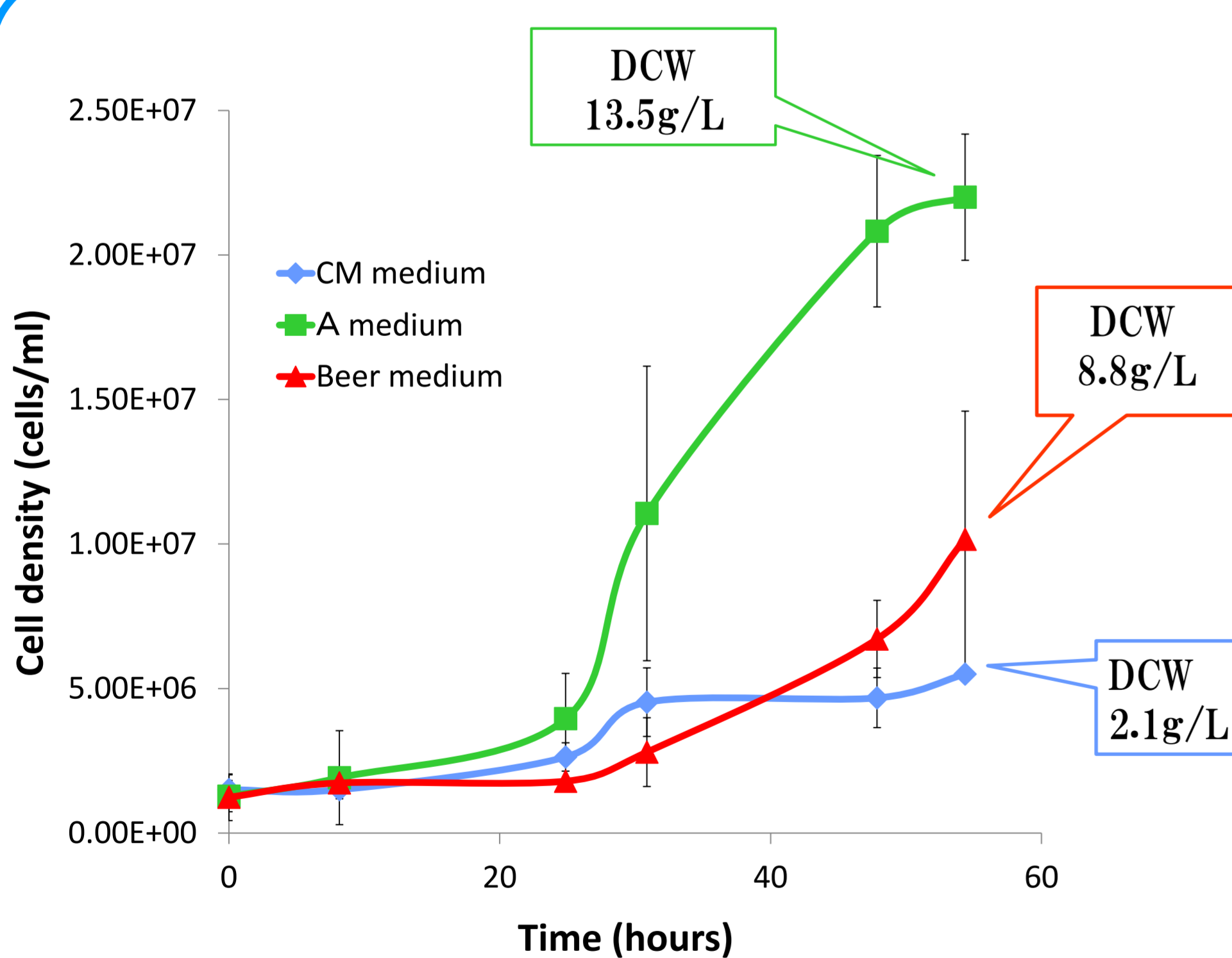


Fig. 3 Batch culture on A, Beer or CM medium

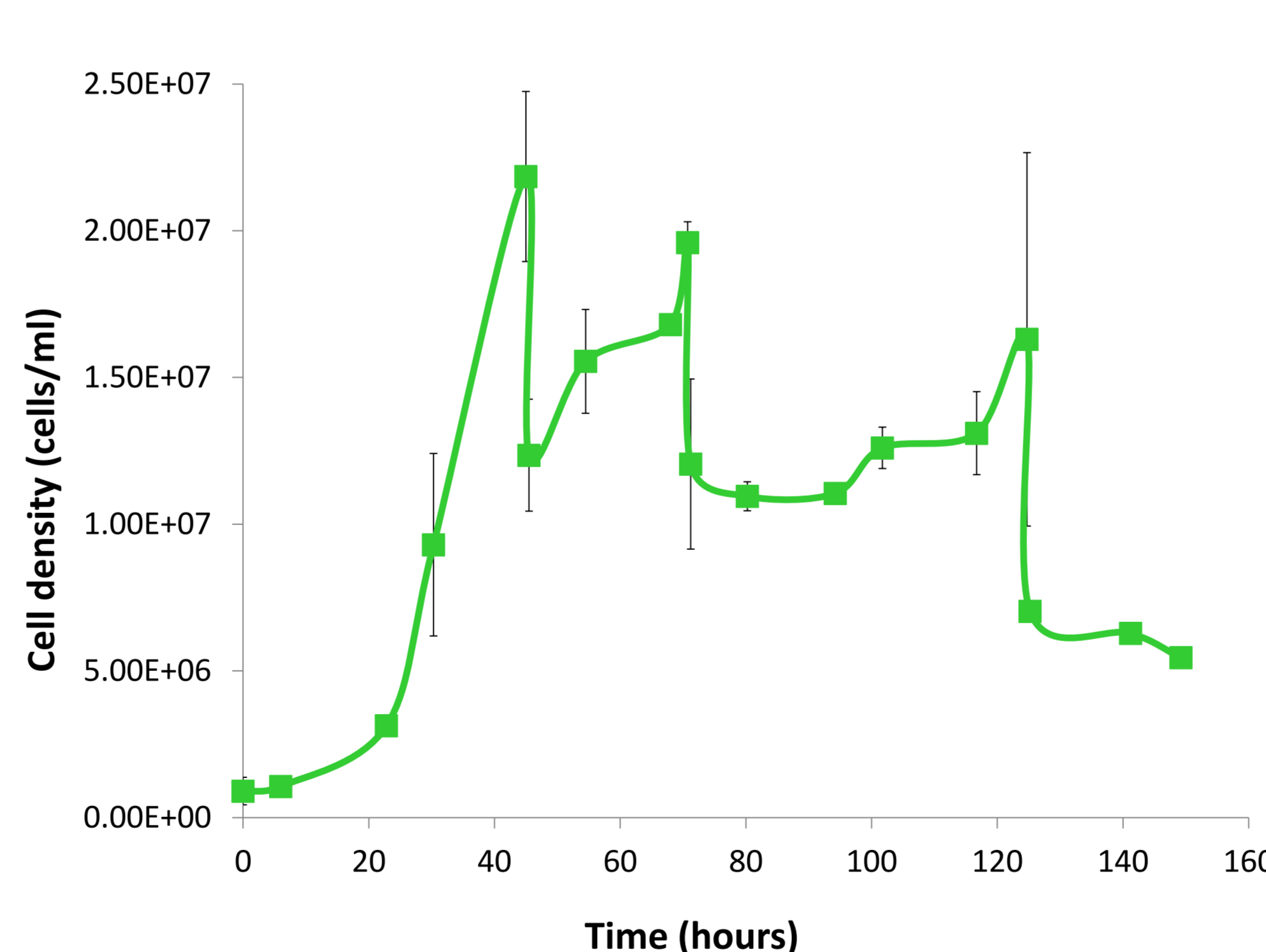


Fig. 4 Continuous culture on A medium

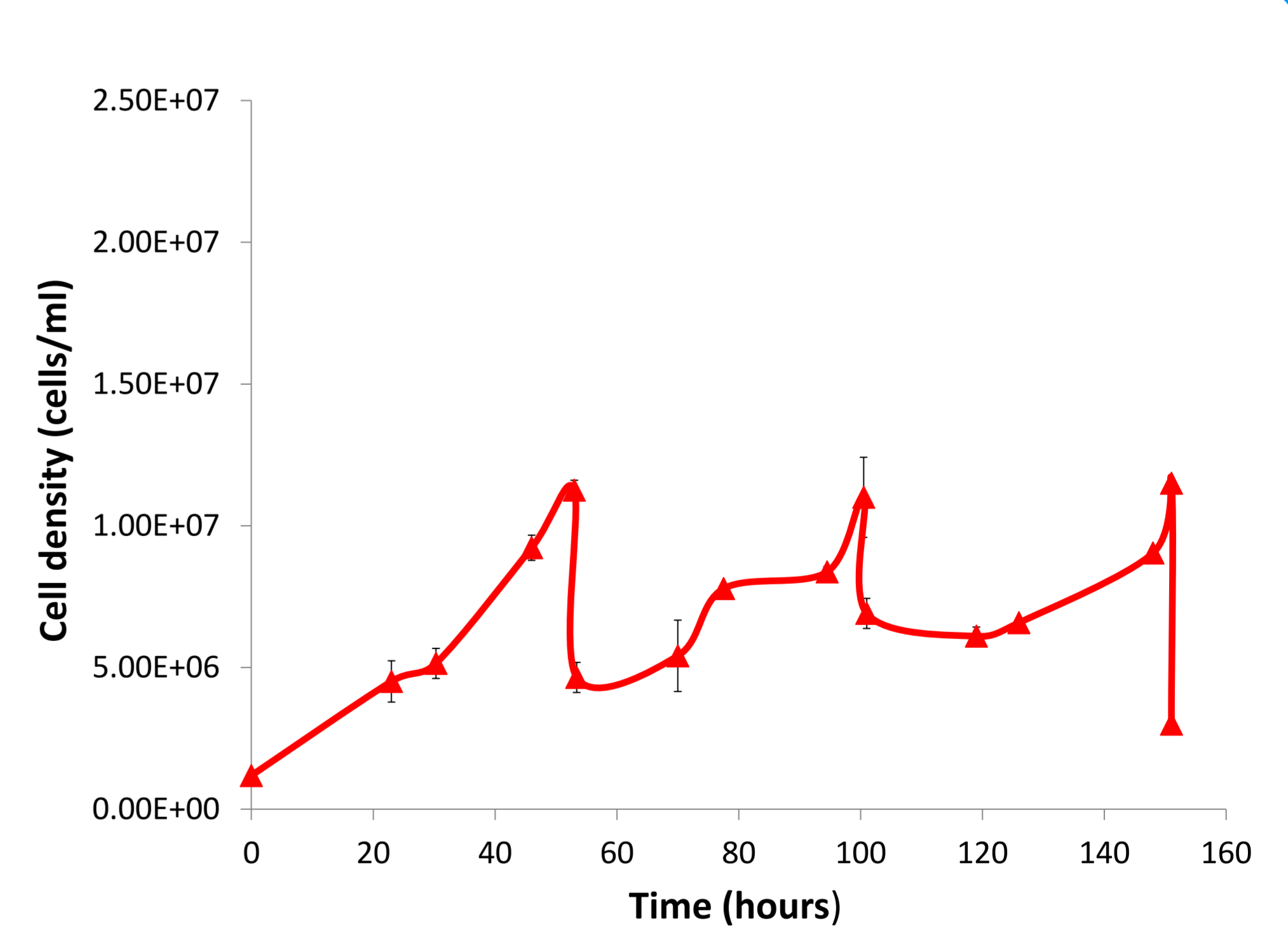


Fig. 5 Continuous culture on Beer medium

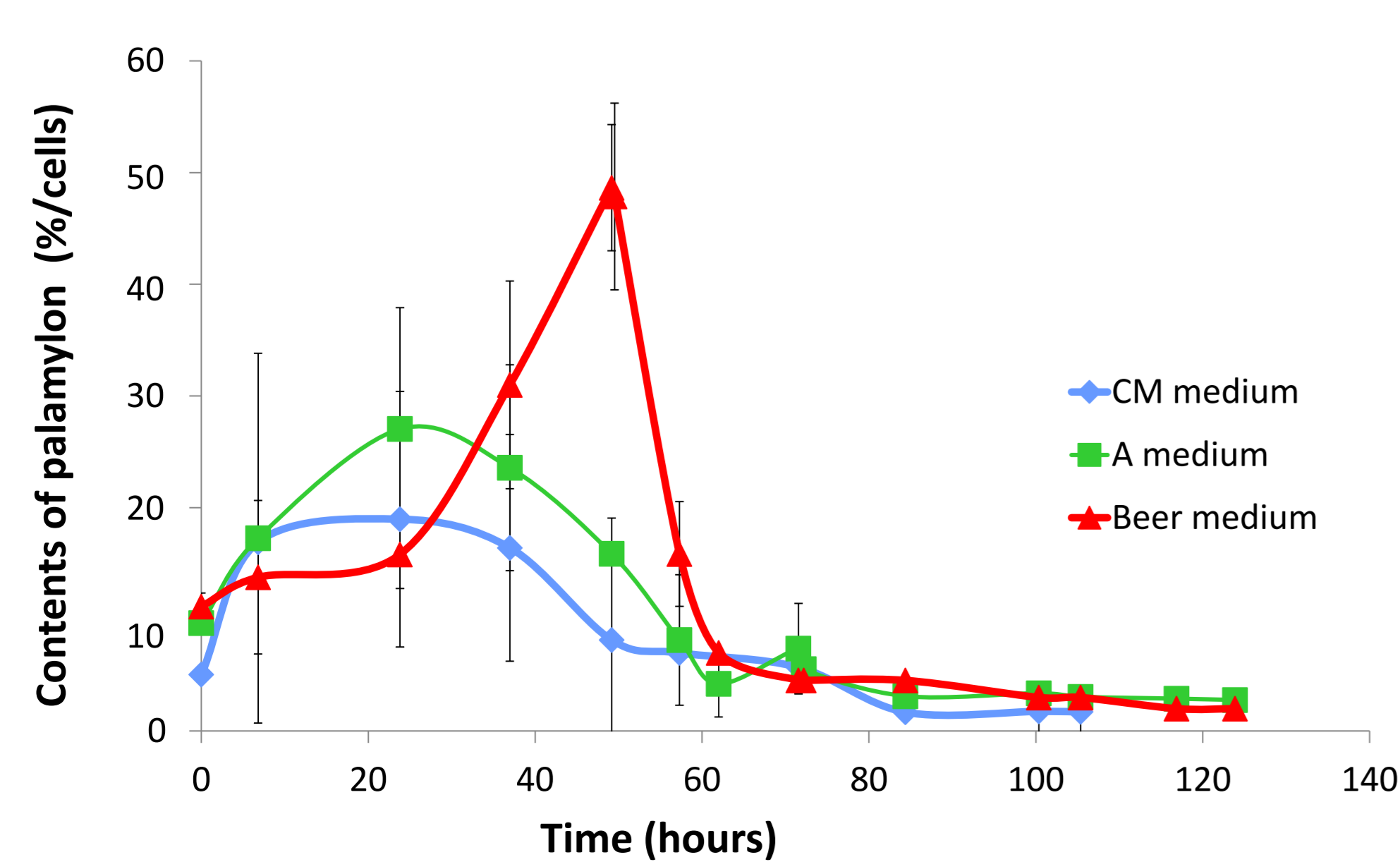


Fig. 6 Change of palamylon contents

## 【まとめ】

- ・フラスコ培養での予備実験の結果、ビールを用いた培地でも、グルコースを炭素源とする培地と同じく、ユーグレナの良い増殖が確認できた。( Fig. 1)
- ・いずれの培地で培養した際もタンパク質含量は50~60%を示した。( Fig. 2)
- ・独立栄養培養 (CM培地) と比較すると、光従属栄養培養 (A培地&ビール培地) の方が増殖が速く、高密度の培養が可能であった。( Fig.3)
- ・バッチ培養でユーグレナを高密度にした後に独立栄養条件で連続培養を開始した結果、効率的なバイオマス生産が可能で、光合成により動物性タンパク質を生産することができた。( Fig. 3, 4,5)
- ・独立栄養培養中はいずれの培地でもパラミロン含量は低い値を示した。( Fig. 6)