発酵処理による褐藻、緑藻の単細胞化技術

内 田 基 晴

(佃)水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所

Fermentative preparation of single cell material from brown and green macroalgae

MOTOHARU UCHIDA

*Coastal Productivity and Environment Division, National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea,
Hiroshima 739-0452, Japan*

海藻組織を微生物や酵素を利用して分解させると、細胞単位で壊れ易い性質があり、直径が5~10 μm 程度の単細胞性の海藻粒子が得られる。このようにして得られた単細胞性の海藻粒子は、例えば水産分野において懸濁物フィーダーの餌として利用されたり、消化性の向上した新しい食品素材として利用されたりすることが期待される。本講演では、微生物発酵を利用した海藻の単細胞化技術として、活性の強い海藻分解菌を利用して好気分解（広義には発酵）させる方法と、糖質分解酵素と乳酸菌を添加して嫌気発酵させる方法について紹介するとともに、産業利用の取り組みを紹介する。

1) 海洋細菌を利用した好気分解型の単細胞化技術

神奈川県海水試料から分離された細菌 *Pseudoalteromonas atlantica* AR06 株 (FRA000002) は、海藻藻体に対する分解力が強く、マコンブ (*Laminaria japonica*, 褐藻類) やアオサ (*Ulva* spp., 緑藻類) を分解して、単細胞化させる能力を有する。この菌を利用して、海藻を単細胞化させることで、アルテミアの飼料に変換することを検討した。最初にミキサーによる粉碎処理と篩分画とにより単細胞性の海藻粒子を多く含むと考えられる海藻微粒子画分を分取してアルテミアに投与したところ、高い飼料効果を有することがマコンブ¹⁾とアオサ²⁾の両方の場合で示された。即ち、細菌の関与はなくても、海藻は、捕食に適切なサイズに変換されれば、高い飼料価値を有していると考えられた。次にアルテミアが捕食できない大きなサイズ (105~177 μm) のマコンブ懸濁液を AR06 株で分解処理したところ、細菌のはたらきにより単細胞性粒子が産生され、飼料効果が約5倍に増大することが示された。³⁾ 一方、始めから捕食できるサイズの海藻粒子を多数含むマコンブ懸濁液 (< 44 μm) を、AR06 株で分解処理した場合には、飼料効果が逆に低減することが観察された。この実験で利用した海藻粒子の粒度分布の変化を解析した結果、後者のケースでは、アルテミアの飼料として重要な単細胞性粒子の数が、細菌による消費のために減少していることが

判明した。AR06 株は、海藻を単細胞化する能力を有するが、分解消費する性格も併せ持っており、トータルとして単細胞性粒子の数が減ったことで、アルテミアに対する飼料効果が低減したものと理解された。AR06 株と分類学的に近縁で、菌体サイズも似ている同じマコンブ藻体分解菌であるが、藻体の単細胞化能は示さない *Alteromonas* sp. TO01 株を同様にマコンブ藻体懸濁液に接種して分解させた場合には、単細胞画分の粒子数が AR06 株の場合に比べてさらに顕著に減少し、結果としてアルテミアへの飼料効果も大きく減少した。これら一連の知見は、海藻が微生物分解する過程に、ヒトが積極的に関わることで食物連鎖の効率（転換効率）を向上させることができることを例証したものである。上記の知見に基づけば、餌として好適なサイズのデトリティス粒子をできるだけ多く産生するように分解過程をコントロールすることが重要であり、そのための一技術要素として、好適な菌株を選択することが考えられた。海藻を海洋細菌で分解させて水産飼料とする試みが実用化されるには、単細胞化粒子の収量の向上と生態系に対する影響調査などが必要であるが、一方で同じ細菌で処理して得られたマコンブ分解産物に、善玉土壌微生物 (VA 菌根菌) に対する成長促進効果が認められ、民間会社から液状化肥料として製品化されている。

2) 糖化酵素と乳酸菌を利用した嫌気発酵型の単細胞化技術

海藻類の細胞壁や細胞間に存在する構造多糖を、糖質分解酵素で分解処理することによって、微生物を使用する場合よりはるかに高い効率で海藻の単細胞化を行うことができる。この酵素処理により産生されてくる低分子の糖質に対して、乳酸菌や酵母を作用させることで、乳酸発酵やエタノール発酵をおこさせることができる。即ち、酵素を使用して海藻を単細胞化させるという分解行為は、発酵学の観点からみると糖化処理とみなすことができる。演者は、セルラーゼを使用して組織を糖化処理し、グルコースを産生させ、さらに乳酸・酵母をスター

ター（種菌）として添加しておくことで、海藻を発酵させる技術をまず開発した。⁴⁾ 褐藻類、紅藻類、緑藻類、海藻類を含む様々な海藻に対して試した結果、試験に供した全ての試料で、乳酸やエタノールの産生が確認されている。尚、最近では細胞内にあらかじめ存在する貯蔵糖系の物質も発酵の際の基質として利用され、発酵成績に大きく影響する場合があることがわかってきている。スターターとして使用する微生物を選択することでエタノール発酵も乳酸発酵もおこさせることが可能であるが、エタノールの収量がそれ程高くないことを考慮し、現在のところ演者らは乳酸発酵に焦点を絞って、研究開発を進めている。海藻の単細胞化については、育種の分野で、様々な海藻について単細胞化（プロトプラスト化）の報告がなされており、これらの種類については、基本的に単細胞化しながら発酵させることが可能と考えられる。しかし、育種研究の分野での検討では、一般に大量の酵素が使用されており、産業利用の視点を加えると、酵素の使用量を従来の数十分の一以下にしてコストを抑制する必要がある。様々な海藻について試した結果、褐藻類であるワカメの場合には、少量のセルラーゼを単独で使用することで、組織を高い効率で単細胞化させることができることを認めた。⁵⁾ その後、内湾域で大量発生することで有名なアオサについても、分解酵素としてセルラーゼと共にマセロザイムを併用することで単細胞化しながら乳酸発酵させることが可能となっている。

海藻の乳酸発酵素材及び単細胞化乳酸発酵素材の特徴は、まず L-乳酸を主体とする乳酸を 0.5~1% 程度含み、pH 値が 4 前後であること、上清中にオリゴ糖や中分子量糖を豊富に含むこと、乳酸菌菌体を含むこと、藻体が単細胞化した場合には、粒子直径が約 10 μm となり、滑らかな物性を有することなどが挙げられる。また、20°C 静置下において 1 年以上にわたり雑菌の生育がみられず、単細胞化した粒子も安定であって長期保存が可能であることも長所といえる。

発酵素材の産業利用については、様々な可能性が考え

られる。水産飼料素材としての利用については、別演者による報告のようにペレット飼料に配合して使用する方向と単細胞化して微細藻餌料の代替品として使用する方向がある。また本学会別シンポジウムで報告のように漂着海藻を粗放的に発酵させて水産飼料（マリンサイレージ）として利用する方向も考えられる。食品素材としての利用については、ラット試験により脂質代謝改善作用が認められているなど様々な健康機能性が期待され、機能性食品あるいは機能性飼料としての利用が期待される。また、海藻多糖の保水性が高いことを利用して、高水分で流動性のある漬け物床が開発されている。オリゴ糖やミネラル成分を豊富に含むことから、肥料としての利用も期待されるが、現在、試験評価している段階であり、その価値は未知数である。その他、保水力に富む滑らかな物性であることなどから化粧品素材としての利用も有望と考える。今後の課題として、単細胞化が可能な海藻の種類を増やすために、海藻多糖分解酵素が安価に提供される環境が整うことが重要である。

文 献

- 1) Uchida M. Formation of single cell detritus densely covered with bacteria during experimental degradation of *Laminaria japonica* thalli. *Fish. Sci.* 1996; **62**: 731-736.
- 2) Uchida M, Numaguchi K. Formation of protoplasmic detritus with characteristics favorable as food for secondary animals during microbial decomposition of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) frond. *J. Mar. Biotechnol.* 1996; **4**: 200-206.
- 3) Uchida M, Nakata K, Maeda M. Introduction of detrital food webs into an aquaculture system by supplying single cell algal detritus produced from *Laminaria japonica* as a hatchery diet for *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 1997; **154**: 125-137.
- 4) Uchida M, Murata M. Isolation of a lactic acid bacterium and yeast consortium from a fermented material of *Ulva* spp. (Chlorophyta). *J. Appl. Microbiol.* 2004; **97**: 1297-1310.
- 5) Fermentative preparation of single cell detritus from seaweed, *Undaria pinnatifida*, suitable as a replacement hatchery diet for unicellular algae. *Aquaculture* 2002; **207**: 345-357.