

# 微細藻ナンノクロロプシスの特徴と食品等への利用

スマーブジャパン(株) 技術開発部 斎藤 安弘

## はじめに

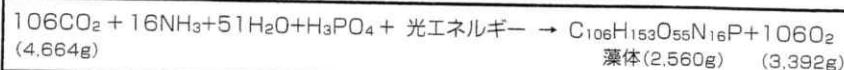
微細藻類は、約30億年前に地球の海に出現した最初の生物の一つで、葉緑素を持つ単細胞性藻類である。光合成によって二酸化炭素( $\text{CO}_2$ )から炭水化物、タンパク質、アミノ酸、脂質など様々な有機物が合成され、長い年月を掛けて、植物や動物が進化して現在の地球環境が形成された。

微細藻類は、含有する生理機能成分や栄養成分を医薬品、食品素材や稚魚用餌料として利用するほかに、地球温暖化対策やエネルギー獲得を目的として世界各国でバイオディーゼルエンジン用燃料(バイオディーゼル)やエタノールといったバイオ燃料の研究が進んでいる。微細藻を培養することにより、環境中に排出される $\text{CO}_2$ の削減が図ると同時に、脂質を溜める藻であればその中の脂肪酸についてメチルエステル化してバイオディーゼルにするほかに、熱分解やガス化などの熱化学的転換技術によりガソリンや軽油などの代替燃料を、炭水化物は酵母菌で発酵させエタノールを作ることができる。

スマーブジャパンは、農水省の助成を受け、レースウェイ方式の屋外大量培養で世界最先端の技術を有するイスラエルのシームビオティック社からライセンスインし、東日本大震災の被災地である宮城県石巻市十八成浜(くぐなりはま)に藻類培養施設「清崎モデルファーム」を建設した。試験操業を本年7月から開始し、開所式を8月2日に行った。

今回、弊社が培養するのは、真正眼点藻綱 *Nannochloropsis* 属 (*Nannochloropsis*) の微細藻で、8~18°Cの冷水域で生育し、各種栄養素がバランスよく含まれ、脂質、とりわけ多価不飽和脂肪酸オメガ3脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)を豊富に含

図1 藻類光合成の化学式



有していることが特徴である。

現在、EPA原料として最も使われているのが青魚のイワシの油である。魚由来のEPAは供給の不安定、PCB・重金属の海水汚染などの問題があり、新規の供給源として着目されているのがEPAを溜める微細藻である。

## ナンノクロロプシスの特徴

### 1. ナンノクロロプシスとは

ナンノクロロプシスは光合成をして増殖する独立栄養生物であり、二酸化炭素、窒素、リンから種々の有機物を合成し、酸素を発生させる。 $\text{CO}_2$ から藻体ができる化学式は図1の通りで、藻体1g当たり1.82gの $\text{CO}_2$ が必要である<sup>1)</sup>。

細胞は球形または楕円形、直径2~5ミクロン( $\mu\text{m}$ )ほどで細胞壁に覆われている(写真1)。

葉緑体を1個もち、その中に光を吸収するクロロフィルa(葉緑素)が含まれている。ナンノクロロプシスは他の微細藻類に比べ、比較的多量の脂質を含有することが知られており、他の脂質産生藻類と同じく、無機栄養(硝酸、リン酸、カリ)の豊富な間は急速に増殖し、定常期や低窒素培養下で脂質量が増加するが、EPA含量は、対数増殖期では多いが定常期になると減少する<sup>2)</sup>

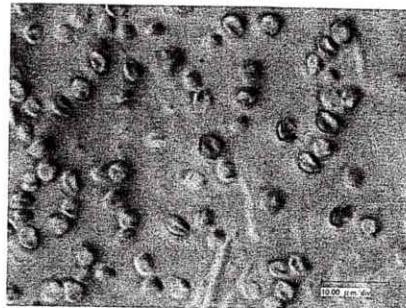
ナンノクロロプシス属として現在6種が知られており、その中から海水で生育し、生長が早く、脂質やEPAの含量が多い国産の株(*Nannochloropsis sp.*)を生産株とした。

### 2. ナンノクロロプシスの栄養成分

ナンノクロロプシス乾燥粉末の栄養成分含有量を表1に示す。

タンパク質含量は乾燥粉末当たり約

写真1 ナンノクロロプシス



40%である。タンパク質は、エネルギー源であるとともに、あらゆる生物にとってその体を構成する重要な成分である。タンパク質は消化器の中でアミノ酸にまで分解されてから吸収され、それぞれ特有なタンパク質に組み立てられる。タンパク質を構成するアミノ酸は、必須アミノ酸と非必須アミノ酸に分けられ、必須アミノ酸は、人間が体内で合成することが困難なため、食事より摂取する必要のあるアミノ酸である。必須アミノ酸は、イソロイシン、ロイシン、リジン、含硫アミノ酸(メチオニン+システイン)、芳香族アミノ酸(フェニルアラニン+チロシン)、スレオニン、トリプトファン、バリン、ヒスチジンの9種類である。タンパク質の栄養的効果は、その構成物質であるアミノ酸の量的、質的組み合わせによって決まり、特に必須アミノ酸の割合が重要である。アミノ酸のバランスを評価す

表1 乾燥粉末の栄養成分含有量(分析例)

| 成分名           | 含有量/100g        |
|---------------|-----------------|
| 水分            | 4.6g            |
| たんぱく質         | 49.4g           |
| 脂質            | 20.2g           |
| 灰分            | 6.3g            |
| 炭水化物(糖質+食物纖維) | 19.5(10.2+9.3)g |
| エネルギー         | 439kcal         |
| ナトリウム         | 232mg           |

分析:日本食品分析センター

# 微細藻ナンノクロロプシスの特徴と食品等への利用

スマーブジャパン(株) 技術開発部 斎藤 安弘

## はじめに

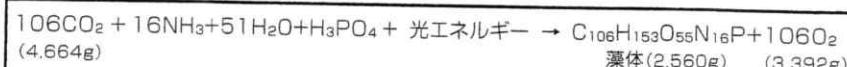
微細藻類は、約30億年前に地球の海に出現した最初の生物の一つで、葉緑素を持つ単細胞性藻類である。光合成によって二酸化炭素( $\text{CO}_2$ )から炭水化物、タンパク質、アミノ酸、脂質など様々な有機物が合成され、長い年月を掛けて、植物や動物が進化して現在の地球環境が形成された。

微細藻類は、含有する生理機能成分や栄養成分を医薬品、食品素材や稚魚用餌料として利用するほかに、地球温暖化対策やエネルギー獲得を目的として世界各国でバイオディーゼルエンジン用燃料(バイオディーゼル)やエタノールといったバイオ燃料の研究が進んでいる。微細藻を培養することにより、環境中に排出される $\text{CO}_2$ の削減が図ると同時に、脂質を溜める藻であればその中の脂肪酸についてメチルエステル化してバイオディーゼルにするほかに、熱分解やガス化などの熱化学的転換技術によりガソリンや軽油などの代替燃料を、炭水化物は酵母菌で発酵させエタノールを作ることができる。

スマーブジャパンは、農水省の助成を受け、レースウェイ方式の屋外大量培養で世界最先端の技術を有するイスラエルのシームビオティック社からライセンスインし、東日本大震災の被災地である宮城県石巻市十八成浜(くぐなりはま)に藻類培養施設「清崎モデルファーム」を建設した。試験操業を本年7月から開始し、開所式を8月2日に行った。

今回、弊社が培養するのは、真正眼点藻綱 *Nannochloropsis* 属 (*Nannochloropsis*) の微細藻で、8~18℃の冷水域で生育し、各種栄養素がバランスよく含まれ、脂質、とりわけ多価不飽和脂肪酸オメガ3脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)を豊富に含

図1 藻類光合成の化学式



有していることが特徴である。

現在、EPA原料として最も使われているのが青魚のイワシの油である。魚由来のEPAは供給の不安定、PCB・重金属の海水汚染などの問題があり、新規の供給源として着目されているのがEPAを溜める微細藻である。

## ナンノクロロプシスの特徴

### 1. ナンノクロロプシスとは

ナンノクロロプシスは光合成をして増殖する独立栄養生物であり、二酸化炭素、窒素、リンから種々の有機物を合成し、酸素を発生させる。 $\text{CO}_2$ から藻体ができる化学式は図1の通りで、藻体1g当たり1.82gの $\text{CO}_2$ が必要である<sup>1)</sup>。

細胞は球形または楕円形、直径2~5ミクロン(μm)ほどで細胞壁に覆われている(写真1)。

葉緑体を1個もち、その中に光を吸収するクロロフィルa(葉緑素)が含まれている。ナンノクロロプシスは他の微細藻類に比べ、比較的多量の脂質を含有することが知られており、他の脂質産生藻類と同じく、無機栄養(硝酸、リン酸、カリ)の豊富な間は急速に増殖し、定常期や低窒素培養下で脂質量が増加するが、EPA含量は、対数増殖期では多いが定常期になると減少する<sup>2)</sup>

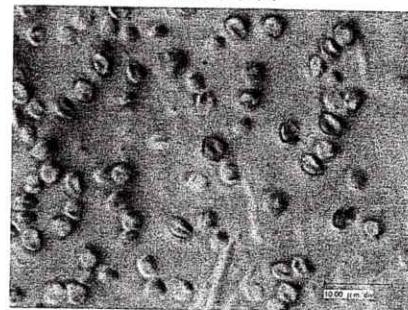
ナンノクロロプシス属として現在6種が知られており、その中から海水で生育し、生長が早く、脂質やEPAの含量が多い国産の株(*Nannochloropsis sp.*)を生産株とした。

### 2. ナンノクロロプシスの栄養成分

ナンノクロロプシス乾燥粉末の栄養成分含有量を表1に示す。

タンパク質含量は乾燥粉末当たり約

写真1 ナンノクロロプシス



40%である。タンパク質は、エネルギー源であるとともに、あらゆる生物にとってその体を構成する重要な成分である。タンパク質は消化器の中でアミノ酸にまで分解されてから吸収され、それぞれ特有なタンパク質に組み立てられる。タンパク質を構成するアミノ酸は、必須アミノ酸と非必須アミノ酸に分けられ、必須アミノ酸は、人間が体内で合成することが困難なため、食事より摂取する必要のあるアミノ酸である。必須アミノ酸は、イソロイシン、ロイシン、リジン、含硫アミノ酸(メチオニン+システイン)、芳香族アミノ酸(フェニルアラニン+チロシン)、スレオニン、トリプトファン、バリン、ヒスチジンの9種類である。タンパク質の栄養的効果は、その構成物質であるアミノ酸の量的、質的組み合わせによって決まり、特に必須アミノ酸の割合が重要である。アミノ酸のバランスを評価す

表1 乾燥粉末の栄養成分含有量(分析例)

| 成分名           | 含有量/100g        |
|---------------|-----------------|
| 水分            | 4.6g            |
| たんぱく質         | 49.4g           |
| 脂質            | 20.2g           |
| 灰分            | 6.3g            |
| 炭水化物(糖質+食物纖維) | 19.5(10.2+9.3)g |
| エネルギー         | 439kcal         |
| ナトリウム         | 232mg           |

分析:日本食品分析センター

るアミノ酸スコアは、ナンノクロロプシスの場合、理想のタンパク質である鶏卵、牛乳や大豆と同じ100で、栄養学的に非常に優れたタンパク質と考えられる。

脂質含量は乾燥粉末当たり約20%、脂肪酸含量は約14%である。各脂肪酸含有量を表2に示す。

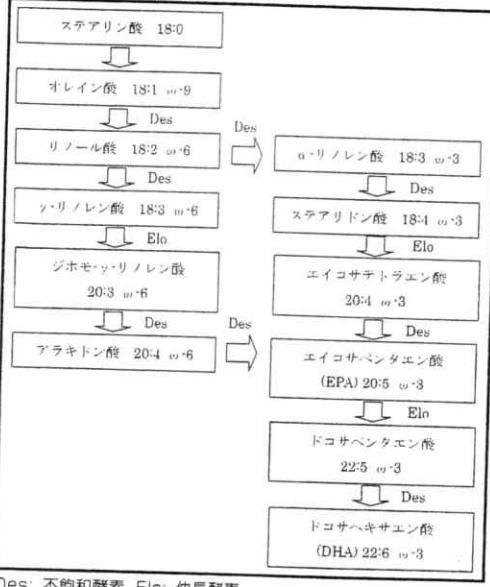
脂質は、エネルギー源、膜構成成分、代謝調節物質、絶縁物質として重要な機能を果たしている。生体内では脂質の多くは脂肪酸のエステルとして存在している。Hodgsonらは脂質の形態として、糖脂質、リン脂質などの極性脂質がそれぞれ20%程度、トリグリセリドなどの中性脂質が10~20%ほどと報告している<sup>2)</sup>。海産生物の脂質は、低温下でも流動性をもつため、多価不飽和脂肪酸（不飽和結合を2つ以上もつ脂肪酸）や非グリセリド脂質を多量に含有する。ヒトおよび動物にとってリノール酸系のω-6脂肪酸とα-リノレン酸系のω-3脂肪酸の2系列の多価不飽和脂肪酸が必須脂肪酸である。体内で炭素鎖の不飽和化と長鎖化が進み、ω-6脂肪酸はリノール酸、γ-リノレン酸、アラ

表2 乾燥粉末の各脂肪酸含有量(分析例)

| 脂肪酸名            | 含有量g/100g |
|-----------------|-----------|
| ミリスチン酸          | 0.75      |
| パルミチン酸          | 2.45      |
| パルミトレイン酸        | 3.09      |
| リノール酸           | 0.64      |
| γ-リノレン酸         | 0.06      |
| ジホモγ-リノレン酸      | 0.02      |
| アラキドン酸          | 0.85      |
| エイコサペンタエン酸(EPA) | 4.61      |
| その他             | 5.58      |

分析:日本食品分析センター

図2 藻類の脂肪酸合成経路



キドン酸、ω-3脂肪酸ではα-リノレン酸、EPA、DHA（ドコサヘキサエン酸）が必須脂肪酸である。藻体内でのステアリン酸からの脂肪酸合成経路を図2<sup>3)</sup>に示す。脂肪酸の種類は一般に、20:5 ω-3のように示される。20:5の数字の前が炭素数、後ろが二重結合数である。また、ω-3はメチル末端基から3番目の炭素原子が最初の二重結合をもつことを示す。

ナンノクロロプシスの場合、脂肪酸の中で含量が一番多いのがEPA（図3）で約5%、次がパルミトレイン酸の約3%である。EPAは、魚や海獣を常食とするイヌイットで、脂肪摂取量が多いにもかかわらず血栓症や心疾患が非常に少ないと注目された栄養素である。血液をサラサラにして血行を良くし、高脂血症を改善し、虚血性心疾患を予防する働きがある。アレルギー、アトピーなどの免疫賦活作用もある。高純度のEPAのエチルエステルは医療用医薬品の高脂血症・閉塞性動脈硬化症治療剤として長年販売されているが、本年4月にOTC（一般用）医薬品に転用したスイッチOTC薬が発売された。厚生労働省は、「日本人の食事摂取基準2010年版」でEPA+DHAを1g/日以上の摂取を推奨している。

パルミトレイン酸は、脳内血管に入りこめる数少ない脂肪酸の一つで、脳血管を丈夫にし、脳卒中の予防になる。また、肌のバリア機能を高める作用があるため皮膚の老化を防ぐといわれている。糖尿病を発症したマウスに4週間パルミトレイン酸を経口投与すると、高血糖・トリグリセリド血症を低減する効果がみられた<sup>4)</sup>。

ビタミンは、生体の調節因子として機能している栄養素で、体内で合成できないので食物を通して摂取しなければならない。脂溶性ビタミンとして、ビタミンA（カロテン）、E（α-トコフェロール）、ビタミンK<sub>2</sub>（メナキノン-4）、水溶性ビタミンとして、ビタミンB<sub>1</sub>（チアミン）、B<sub>2</sub>（リボ

フラビン）B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>、総ビタミンC（総アスコルビン酸）、葉酸、パントテン酸、ビオチン、イノシトール、ナイアシン（ビタミンB<sub>3</sub>）が豊富に含まれている。

ミネラルは、ナトリウム、鉄、カルシウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛が含まれている。

### 3.ナンノクロロプシスの食品や肥料としての利用

#### i) 食品への利用

ナンノクロロプシスの粉末およびペーストは、丸ごと使うことにより含有している栄養成分の総てが利用できる。添加する食品としては、サプリメント（粉末、顆粒、タブレット、カプセル）、菓子（バー、スティック、ビスケット、スナック）、一般食品（青汁などの粉末飲料、シリアル、パン類、麺類、ふりかけ、トッピング、水産練製品、惣菜）など継続的に日常摂取するものがよい。

将来的にはナンノクロロプシスから脂質を抽出・精製し、EPA含有藻油として商品化することを計画している。

#### ii) 飼料やペットフードへの利用

ナンノクロロプシスは、海産魚の種苗生産に不可欠なワムシの培養用餌料として使われていたが、生産の難しさから淡水クロレラに代替された。ナンノクロロプシスにはEPAなどの高度不飽和脂肪酸が含有し栄養学的に優れていることは明らかで、ナンノクロロプシスへの切り替えは十分に可能である。家畜用飼料としては、鶏卵でEPAの含量が高まるとの報告<sup>5)</sup>があり、さらに生活習慣病予防や改善を目的にしたペットフードとしての展開も考えられる。

### ナンノクロロプシスの安全性と食経験

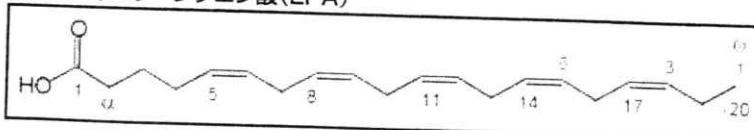
#### 1. 安全性

ナンノクロロプシス粉末について以下の試験を日本食品分析センターにて行った。

#### i) 急性経口毒性試験

検体を雌ラットに単回経口投与し、50%の動物が死亡すると予想される検体の量を求める試験（限度試験）を行った。

図3 エイコサペンタエン酸(EPA)



OECDガイドラインに準拠して行った。

試験群には2,000mg/kgの用量の検体を、対照群には溶媒対照として注射用水を雌ラットに単回経口投与し、14日間観察を行った。その結果、観察期間中に死亡例や異常は認められなかつた。以上のことから、ラットを用いた単回経口投与において検体のLD<sub>50</sub>値（半数致死量）は、雌では2,000mg/kgを超えるものと評価された。

### ii)細菌を用いる復帰突然変異試験

細菌を用いて被験物質のDNAに対する損傷性や突然変異誘発性の有無を検索する試験である。検体の変異原性について、ネズミチフス菌のヒスチジン要求性菌株であるTA100、TA98、TA1535、TA1537および大腸菌のトリプトファン要求性菌株であるWP2uvrA(pKM101)を用いて試験を行った。その結果、各菌株の被験物質群の復帰変異コロニー数の増加は認められなかつた。以上のことから、本試験条件下における検体の遺伝子突然変異誘発性は陰性と評価された。

### iii)フェオフォルバイト含有量

クロロフィルの分解物で皮膚障害（光過敏症）を呈するフェオフォルバイトの含有量について、昭和56年5月にクロレラ加工食品で定められた<sup>6)</sup>が、ナンノクロロプシスのそれは基準値以下である。

既存フェオフォルバイト量：100mg% (100mg/100g)以下

総フェオフォルバイト量：160mg% (160mg/100g)以下

### iv)重金属等

ヒ素(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として)：2ppm以下、鉛：2ppm以下、カドミウム：1ppm以下、総水銀：検出せず

### v)微生物数

一般細菌数：3×10<sup>3</sup>個/g以下、大腸菌群：陰性

## 2.食経験

海外の文献にはナンノクロロプシスを栄養改善のため麺類に入れて食しているとの記載<sup>7)</sup>がある。また、スペインのモンゾンバイオテック社のナンノクロロプシス粉末は、一般消費者向け食品として欧洲や米国で数年前から市販されている。

日本では、海産魚の種苗生産に不可欠なワムシ(rotifer)の栽培用餌料としてナンノクロロプシスが1970年頃から使われ始めた。EPAなどの多価不飽和

脂肪酸がサンマやイワシなど背の青い魚に含まれているが、EPAなどは元来これらの魚が体内で作ったものではない。多価不飽和脂肪酸を細胞内に溜めるナンノクロロプシスのような植物プランクトンが動物プランクトンの餌になり、動物プランクトンは小魚の餌に、小魚はサンマやイワシの餌に、最終的には人がサンマやイワシを食べて体内に取り込まれるという食物連鎖系ができる。日本人がナンノクロロプシスを直接食していたかは不明であるが、サンマやイワシから多価不飽和脂肪酸を長年摂取してきたことは事実であり、広い意味で食経験ありと考えている。

以上のことよりナンノクロロプシスの安全性・食経験は問題ないと思われる。

## 清崎モデルファームの概要、製造工程

### 1.清崎モデルファームの概要

敷地面積：約8,800m<sup>2</sup>

培養プール：大小合わせて7本、最長67m、幅10m、表面積2,500m<sup>2</sup>、海水量合計 約500トン

海水リサイクルタンク：8基、貯水量合計 約560トン

主要機器：遠心分離機、殺菌器、スプレードライヤー、液化炭酸ガス貯蔵設備、冷蔵コンテナー

生産品目：ナンノクロロプシス乾燥粉末(食品原料、サプリメント原料他)

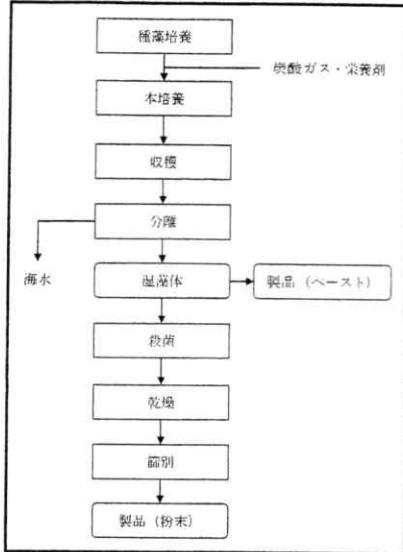
ナンノクロロプシスペースト品(食品原料、ワムシの餌料)

生産量：ナンノクロロプシス乾燥粉末換算で16トン/年

### 2.ナンノクロロプシスの製造工程

製造工程を図4に示す。種藻を生産池に入れて順次培養し、生産池では窒素、リン系の栄養を添加し、食品グレードのCO<sub>2</sub>を供給する。池の藻の細胞数が所定量に達したら池からスラリーを汲み上げ、遠心分離器で藻のペーストと清澄液に分離する。藻のペーストを市水で洗浄して減塩してから殺菌工程に送り、スプレードライヤーで乾燥粉末にする。藻のペーストを市水で洗浄して減塩したものは食品用のペースト品とし、また、市水で洗浄後、清浄海水で所定の濃度にしたものは稚魚用餌料とする。尚、遠心分離機で分離された清澄水の一部は海水リサイクルタンクに回

図4 ナンノクロロプシス製造工程



収し、再生して培養池に戻す。

## おわりに

日本が抱えている食糧とエネルギーの自給問題、それらと同じく重要な環境保全という大命題に「微細藻類」のキーワードで解決の一助を見出すべく研究・開発を進めている。戦後、ドイツをリーダーとして欧洲各国で食糧不足、栄養補充の本命としてクロレラ・スピルリナなどの微細藻類の研究が精力的に行われ、現在では世界各国で商業化が進み、ひとつの産業クラスターを形成する総合産業に成長しつつある。

マリンバイオマス資源を有効活用して地域経済発展に貢献できる産業を育成することで、地域経済の活性化、産業創出に貢献したい。

### 参考文献

- 1) 欧州における次世代型バイオ燃料への取り組み、Next Generation Biofuels 講演資料、2010.
- 2) Hodgson, P.A. et al., J. Appl. Phycol. 3, 169-181(1991)
- 3) Guedes, A.C. et al., Food Research International. 44, 2721-2729(2011)
- 4) Yang, Z et al., Lipids Health. Dis. 10, 120(2011)
- 5) 滝田聖親ら、栄養学雑誌. 53, 255-262, (1995)
- 6) フェオホルバイト等クロロフィル分解物を含むクロレラによる衛生上の危害防止について、厚生省環境衛生局長通知(環食第99号)(1981)
- 7) Kafafe, S et al., Afr. J. Res. 7, 1220-1225(2012)