

2020年度 新産業創出研究会「研究成果報告書」

「アスタキサンチン生産菌を用いた酒粕バイオマスの高度利用法の開発」

[山口大学・准教授] [通阪栄一]

[山口 TLO ・ 技術移転コーディネーター] [二階堂正隆]

1. はじめに

本研究では、海洋性微生物を用い、日本酒製造過程で産出する酒粕からアスタキサンチンを高効率生産するプロセスを開発する。使用する微生物の好塩性、細胞壁脆弱性を利用することで、簡易な反応器による微生物変換で抗酸化生理活性物質を生産でき、また、その発酵物をそのまま機能性飼料及び食品として加工が可能となる。

2. 概要

酒粕は、米を麹菌や酵母で発酵させた発酵生成物であり、近年では、その生理機能の解明が進み、その機能を利用した化粧品や機能性食品が開発されている。しかし、酒粕の利用の現状は、日本酒製造の副産物としての扱いにとどまっている。特に、醸造プロセスの効率化に大きく貢献する液化仕込みにより産出される酒粕は、栄養的には優れているにも関わらず、食味の違いにより有効な利用がされていない。このような現状を変え、酒粕の付加価値を高めるためには、微生物合成などを取り入れて機能性を高め、新しい素材として応用することが重要と考えた。

そのために酒粕を海洋性微生物スラウストキトリウムの栄養源として用い、抗酸化物質として生理活性が確認されているアスタキサンチンの高効率生産を目指している。スラウストキトリウムの細胞壁は脆弱であるため、アスタキサンチンが容易に抽出できる。この特性により、現在天然アスタキサンチン生産で主流のヘマトコッカス藻では困難である菌体自体の飼料化や食品化が可能となる(図1)。この方法により、酒粕自体の栄養成分にアスタキサンチンが加わった高機能性食品と飼料を開発する。本手法では、海洋性微生物を高塩濃度下で培養するため、コンタミネーションが起きにくい培養条件の設定が可能となる。そのため、原料を無滅菌で利用することや、開放系(他の微生物の混入を厳密に防ぐ閉鎖系と異なり、設備・運用コストが安価で維持管理も容易)での培養も可能と考えられる。シンプルな加工処理で廃棄物が出ないアスタキサンチン製造プロセスを確立することで、酒粕製品の普及に貢献できると考える。

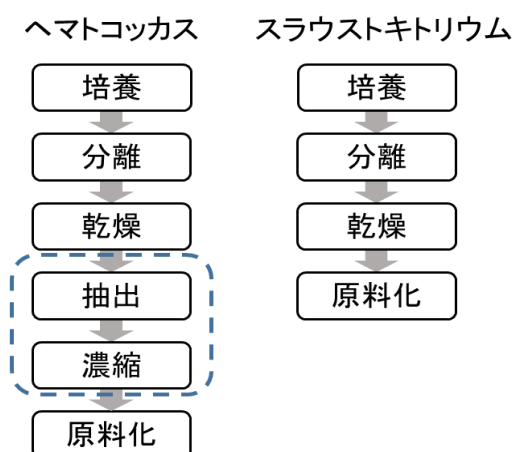


図1 アスタキサンチン生産プロセスの比較

3. 研究成果および今後の課題

《研究成果概要》

本研究期間ではアスタキサンチン生産濃度 1.5 mg/L 以上となる生産条件の確立を目標とした検討を行った。その結果総カロテノイド生産濃度では、1.5 mg/L 以上となる生産条件が得られたが、複数含まれるカロテノイド中のアスタキサンチン濃度としては、最大 1.3 mg/L となり目標にわずかに及ばなかった。しかし、抗酸化作用を有するカロテノイド生産を効率化できる培養条件の設定や前処理方法といった知見が得られたことから、更なる検討により目標達成は十分に可能なポテンシャルはあると考えられる。従って、今後は継続して生産条件の最適化を行うとともに、当初計画に基づき、実用化に向けた検討を進めてい

く予定である。

《検討内容》

【実験操作】

300 mL 三角フラスコに蒸米仕込み酒粕もしくは液化仕込み酒粕 35.7 g/L, 蒸留水 140 mL を加えスターラーで攪拌した(1 h)。遠心分離機(9000 rpm, 5 min)で酒粕固形物を沈殿させ、上清を 100 mL 三角フラスコに 50 mL 加え, KH_2PO_4 1.0~4.0 g/L, ダイゴ人工海水 SP 36 g/L を添加した。その後必要に応じて 1.0 mol/L NaOH で pH 調整を行い, オートクレーブで滅菌処理をして, 酒粕固液分離上清培地を調製した(121°C, 30min)。その後, *Thraustochytrium* sp.CHN-1 を植菌し, インキュベーター内で振とう培養(23°C, 150 rpm, 青色光 600 lx, 7 days)した。培養終了後に遠心分離(9,000 rpm, 5 min)で菌体を回収し, 凍結乾燥後(1 day)クロロホルムで抽出し, HPLC でカロテノイドを定量した。

【結果と考察】

3. 1 蒸米仕込み酒粕培地(上清培地)への KH_2PO_4 の添加がカロテノイド生産に与える影響

液化仕込み酒粕での培養における特性を把握するため, 始めに一般的な蒸米仕込み酒粕を用いてアスタキサンチンの効率的生産法について検討した。酒粕固形物を含む懸濁液培地ではカロテノイドの生産量が大きく減少したことから, 本研究では上記の操作で調製した固液分離上清培地を用いた。酒粕濃度は 35.7 g/L に設定し, 一般的な基礎培地に用いられる KH_2PO_4 濃度を最適化し, カロテノイド生産の比較を行った。図2に KH_2PO_4 を添加した蒸米仕込み酒粕培地(上清培地)におけるカロテノイド生産性を示す。 KH_2PO_4 の添加によりカロテノイド量の増加が確認された。また, 乾燥菌体重量はどの KH_2PO_4 濃度の条件においても大きく変化しなかったことから, KH_2PO_4 の適度な添加は菌体中のカロテノイドの蓄積を促進する効果があることが示された。

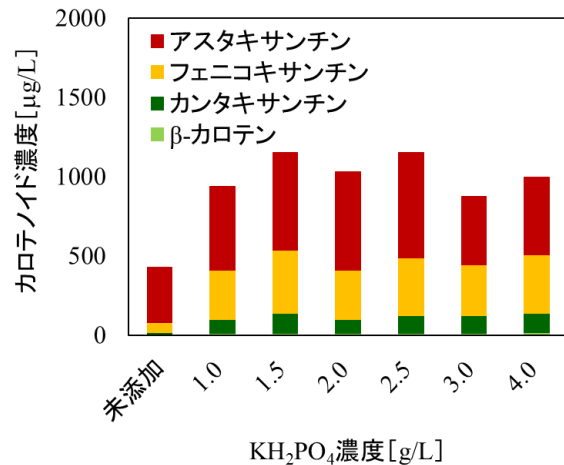


図2 KH_2PO_4 を添加した蒸米仕込み酒粕培地(上清培地)におけるカロテノイド生産性

3. 2 蒸米仕込み酒粕培地(上清培地)の pH がカロテノイド生産に与える影響

最もアスタキサンチンを生成した KH_2PO_4 2.0 g/L に調整した培地の pH がカロテノイド生産性へ与える影響を評価した(図3)。pH を中性付近に調整することでカロテノイド濃度の増加が確認され, pH7 の培地において総カロテノイド 1,566 µg/L, アスタキサンチンのカロテノイド中割合は約 85%と高い生産性を示した。酒粕には様々な有機酸を含有しており pH が弱酸性を示すため, *Thraustochytrium* sp.CHN-1 の至適 pH である 7~8 付近に調整したことで増殖が促進し, カロテノイド生産量も向上したと考える。蒸米仕込み酒粕培地は一般的な GPY 培地と比較してアスタキサンチン割合が非常に高いことから, 微生物の栄養源として極めて有効である可能性が示された。

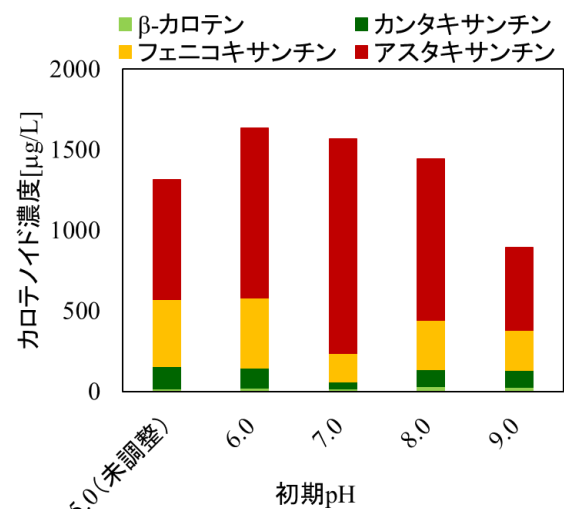


図3 蒸米仕込み酒粕培地(上清培地)の pH がカロテノイド生産に与える影響

3.3 液化仕込み酒粕培地(上清培地)の初期糖濃度がカロテノイド生産に与える影響

液化仕込み酒粕を用いてアスタキサンチンを高効率に生産する培養プロセスを検討するため、はじめに酒粕濃度を変えることで初期糖濃度を調整して、 KH_2PO_4 、 NaOH 未添加の上清培地でカロテノイド生産を比較した。図4に液化仕込み酒粕培地(上清培地)の初期糖濃度のカロテノイド生産を示す。液化仕込み酒粕培地におけるカロテノイド濃度は蒸米仕込み酒粕培地(図4. 5.2(蒸米))よりも大きく減少した。糖とタンパク質濃度の分析から C/N 比が大きく異なったため、カロテノイド生産が促進しなかったと推測する。これより、液化仕込み酒粕培地におけるカロテノイド生産量は炭素(C)量と窒素(N)量の C/N 比が大きく影響する可能性があることが示された。

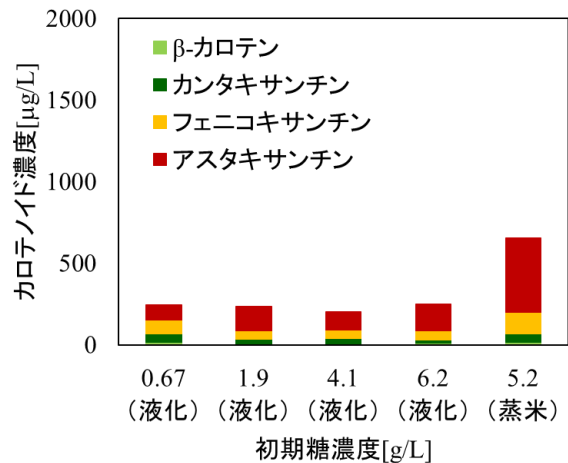


図4 液化仕込み酒粕培地(上清培地)の初期糖濃度がカロテノイド生産に与える影響

3.4 液化仕込み酒粕培地(上清培地)の C/N 比と pH がカロテノイド生産に与える影響

培地中の糖濃度とタンパク質濃度から C/N 比を算出し、蒸米仕込み酒粕は 22.4、液化仕込み酒粕では 4.2 と低い値を示した。そこで液化仕込み酒粕培地にグルコースで C/N 比 22.4 まで添加し、さらに pH の最適化を検討した。図5に液化仕込み酒粕(上清培地)の C/N 比と pH 調整後のカロテノイド生産を示す。C/N 比を調整後の pH8 において培養をした時に最大のカロテノイド濃度が得られ、pH9 で最大のアスタキサンチン濃度を示した。この結果より、液化仕込み酒粕は *Thraustochytrium* sp. CHN-1 培養における優れた窒素源として有効利用が期待できる。

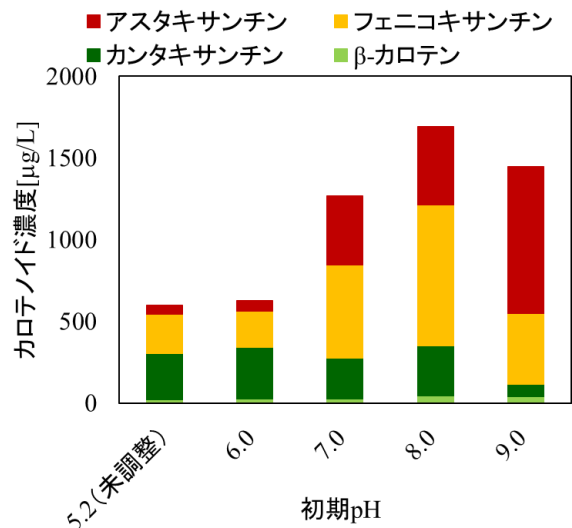


図5 液化仕込み酒粕(上清培地)の C/N 比と pH 調整後のカロテノイド生産性

4. おわりに

蒸米仕込み酒粕での培養は高いアスタキサンチン濃度を示したことから、*Thraustochytrium* によるアスタキサンチン生産に有効であると考えられる。また、液化仕込み酒粕は培養における炭素源が不足しているため、*Thraustochytrium* 培養の窒素源としての利用が有効的だと考えた。

5. 本研究の今後の計画

蒸米仕込みの酒粕については、小スケールでの生産条件については十分な検討が進められた。今後は、前処理技術の効率化や反応器の設計・スケールアップについて検討を行い更なるプロセスのブラッシュアップを行うとともに、飼料としての機能性の評価も進めていくことが必要だと考える。

液化仕込みの酒粕は、窒素源としての有効性が確認されたものの、有効利用のためには別途炭素源が必要となることも明らかとなった。そのため、液化仕込みの酒粕の利用にあたっては、今後、炭素源の

選択と、その組み合わせに適した生産条件の設定といった検討が必要となる。一方で、炭素源の選択や、プロセスの効率化により、より効率的で付加価値の高いアスタキサンチン生産が可能となることも考えられる。

上記検討を進めながら製品化に向け、安全性の評価、および成分の保存安定性など品質保持の検討を行う予定である。また、難水溶性であることから消化管で吸収性が低いアスタキサンチンの吸収促進を目指した製剤化技術の検討も行う予定である。

6. その他

(1) 出願特許(タイトル・出願番号・発明者・特許権者など)

なし

(2) 投稿論文(タイトル・学会名等)

なし

(3) 本研究会の参加企業・団体名

1社



この報告書は、競輪の補助により作成しました。

<https://jka-cycle.jp>