

# 和歌山県産新規ユーグレナ Kishu 株の発見と食品への応用

和歌山県工業技術センター 食品開発部 中村 允 (株)ピオラボ 主任研究員 後藤 陽

## はじめに

近年、高齢者のフレイル対策素材や、運動能力の向上のための素材、あるいはダイエット素材などとして、タンパク質を豊富に含む食品原料への注目度が上がっている。

中でも藻類の一種であるユーグレナは、高タンパクかつ豊富な種類のアミノ酸を含むだけでなく、ビタミンやミネラルなどの栄養成分を多岐にわたりに含んでいることから、注目されている素材である。

本稿では、和歌山県工業技術センターが新規に発見し、株式会社ピオラボが食品原料として製品化に成功した、ユーグレナ Kishu 株の開発の経緯とその特徴について説明する。

## 1. ユーグレナ Kishu 株発見の経緯

和歌山県工業技術センターでは、これまで食品関連企業に対する技術支援の一つとして、工場排水の処理技術に関する取り組みを実施しており、特に微生物を用いた生物処理に関しては、余剰汚泥の減容化に寄与する ESCAPE 法やアナモックス法による窒素除去法など様々な技術を開発してきた。一方、近年では、食品系の工場排水を未利用資源と捉え、これらを栄養源として付加価値の高い微生物やその代謝物を生産させる新たなシステムの開発を検討してきた。これらのシステムの開発において、用いる微生物の候補として着目した一つがユーグレナであった。ユーグレナは、動物と植物の性質を併せ持つユニークな微生物であり、食品素材として利用されているが、我々が最も着目していたのは、

その従属栄養性である。ユーグレナは、クロレラのように光合成で生育するため、大きなプールで培養できることが特徴であり、環境改善にも貢献できることが知られているが、水中の栄養源を吸収し、従属栄養的に生育することも分かっている。つまり、廃糖蜜でホワイトリカーを生産させるように、従来、廃棄していた未利用資源から有価物を生産できる可能性があると考え、従属栄養培養によるユーグレナの培養技術について研究を開始した。研究としてユーグレナを用いる場合、一般的にはユーグレナ Z 株と呼ばれる株が用いられる。当センターでも当初は、国立環境研究所から Z 株 (NIES-48) を購入し、この株を用いて研究を行っていたが、より地域性を活かしていくため、和歌山県内から新規株をスクリーニングし、これらを地域資源として活用する取り組みを実施した。この取り組みでは、和歌山県内にある池や沼を中

心に、約 20カ所から水をサンプリングし、この中からユーグレナを重点的に探索した。その結果、7カ所からユーグレナが見つかり、単独培養を試みたが、そのうちの一つは、増殖が極めて早く、Z 株やその他のユーグレナとは、明らかに異なる特性を有していることが分かった。この株を単独培養し、遺伝子解析を行ったところ、Z 株と同種のユーグレナ・グラシリス種であるものの、これまでに報告されている株とは異なる新規株であることが分かった (図 1)。我々は、この新規株を和歌山県のオリジナル株とし、ユーグレナ Kishu 株と命名した (図 2)。Kishu 株の培養特性を詳細に調べていくと、増殖能や高温耐性、耐塩性などが既存の株よりも優れていることが分かり、Kishu 株は、後に特許として登録された (特許 6019305)。

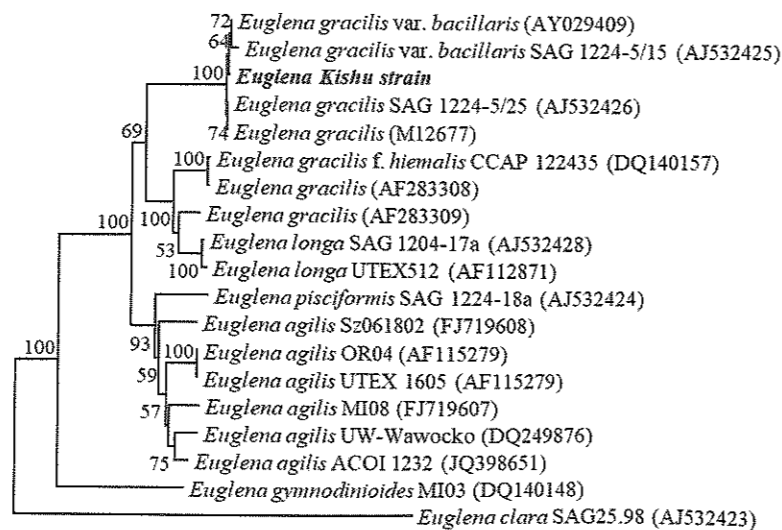


図 1 ユーグレナ Kishu 株の系統樹

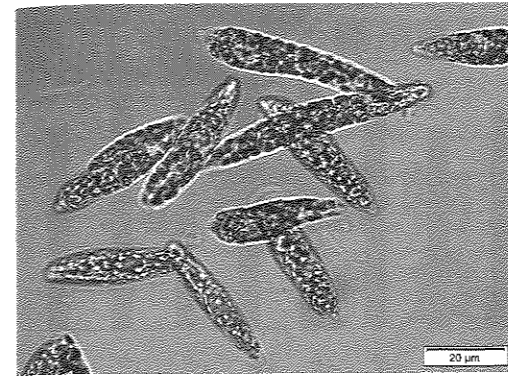


図 2 ユーグレナ Kishu 株の拡大写真

## 2. ユーグレナ Kishu 株の特徴

ユーグレナ Kishu 株は、既存の株と比較して、増殖の速度は、明らかに早く、高温耐性も優れている。例えば、ユーグレナ Z 株の 30℃、35℃における世代時間は、9.3 時間と 16.7 時間 (Koren-Hutner 培地、暗所、振とう培養) であるのに対して、Kishu 株のそれは、6.9 時間、5.8 時間となっている<sup>1)</sup>。一方、外見は Z 株などの他のユーグレナと区別は難しく、細胞サイズなども際立った違いは見当たらない。

## 3. 食品の利用が決まるまでの経緯

先に述べたように、一連のユーグレナの研究は、未利用資源の利活用を目的とした事業の中で進められ、様々な食品廃液での培養試験を実施した。しかしながら、実廃水をそのままの状態では培養液として用いるのは非常に難しく、希釈や不足栄養塩の添加、pH 調整など廃水の成分に応じた調整が必要となる。一方、これらの調整には、追加のコストがかかるため、必要最低限の調整、例えば、必要最低限の栄養塩の添加をすることでこのコストを削減することが必要となってくる。このため、工業培養を行うためには、Kishu 株の栄養要求性を解明し、必要最低限で培養できる「最少培地」やその培養条件を確立することが重要となってきた。特に Kishu 株は、既存株と栄養要求性が異なる可能性があるため、炭素源、窒素源、ミネラル源など、Kishu 株の増殖に必須の元素や必要量などを明らかにし、最少培地を完成した。この最少培地ができたことで、未利用資源を使う場合には、不足して

いる元素や調整すべき培養条件などが明らかになり、最低限の調整で効率よく培養できることが分かった。実廃水を用いたモデル実験では、廃糖液を用い、不足成分を添加することで、合成培地と同程度の効率で Kishu 株を培養することができた。

## 4. ユーグレナ Kishu 株を用いた食品原料の開発

和歌山県工業技術センターでの研究成果を背景に、株式会社ピオラボでユーグレナ Kishu 株を用いたヒト用の健康食品原料の開発を行うこととなった。最少培地や最適培地の情報をもとに、ヒトが口にしても問題のないものを起源材料とした食品原料用培地の作製に成功した。

株式会社ピオラボでは Kishu 株の培養の方法として、室内でのタンクを用いた純粋培養を選択した。培養タンクや培地は滅菌したものを用い、タンクにはフィルターを通した清浄な空気を送り込んでいる。均質な環境下で、Kishu 株のみを培養することができるため、年間を通して安定した品質のユーグレナを得ることができる。

また、食品原料用培地には Kishu 株が利用可能な有機炭素を含んだ組成のものを用いており、かつ培養時にはタンク越しに光を照射している。これは光従属栄養培養法という培養方法で、この環境下では光合成のみを行わせたときよりも細胞数が高密度となり、また光の存在により Kishu 株は光合成を行うため、クロロフィルの生産も行うこととなる。

株式会社ピオラボから提供する原料は上記の方法で培養した Kishu 株を凍結乾燥法にて粉末化したものである。そのため粉末は緑色となり、不純物や雑菌の混入のない、純粋なユーグレナ Kishu 株粉末を提供することが可能となる。

## 5. ユーグレナ Kishu 株の安全性

ユーグレナ Kishu 株を食品原料として開発するにあたり、安全性に関する

試験を実施した。

急性経口毒性試験としてはラットを用いる単回経口投与試験を実施した。2000mg/kg の用量の Kishu 株純粉末を雌雄ラットに単回経口投与し、14 日間観察を行った。その結果、観察期間中に異常及び死亡例は認められなかった。これにより、ラットを用いる単回経口投与において、検体の LD50 値は、雌雄ともに 2000mg/kg を超えるものと評価された。

また、変異原性のテストのために Kishu 株純粉末を用いた Ames 試験も実施した。その結果、Kishu 株純粉末の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定された。

これらの結果と、Kishu 株と同種である、ユーグレナ・グラシリスが広く摂食されているという事実から、適切に摂取される限りにおいては、ユーグレナ Kishu 株の安全性に問題はないと判断した。

## 6. ユーグレナ Kishu 株の栄養分析

株式会社ピオラボから販売しているユーグレナ Kishu 株の純粉末について栄養分析を行った際の結果を表 1 に示す。Kishu 株の純粉末のうち、おおよそ 40% がタンパク質、20% が食物繊維だった。また糖質はわずか 2.4g となっており、高タンパク、低糖質かつ、食物繊維を豊富に含んでいる素材となっている。

### (1) アミノ酸

またアミノ酸としては必須アミノ酸である BCAA (イソロイシン、ロイシン、バリン)、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、ヒスチジンの 9 種類を含んでいる。純粉末のアミノ酸スコアは 100 となっており、良質なタンパク質を含んでいることがわかる (図 3)。

ユーグレナのアミノ酸スコアとしては、ユーグレナ Z 株の報告がある<sup>2)</sup>。ユーグレナ Z 株を光従属栄養環境下で培養した場合、そのアミノ酸スコアは 83 となる。

Kishu 株のアミノ酸スコアはこれを上回っており、タンパク源としてより栄養価が高くなっているといえる。

この他、タンパク質を構成するアミノ

表1 ユーグレナKishu株の栄養成分

項目	結果
エネルギー (熱量)	426 kcal
水分	4.0 g
たんぱく質	44.5 g
脂質	21.4 g
炭水化物	25.5 g
糖質	2.4 g
食物繊維	23.1 g
灰分	4.6 g
ナトリウム	583 mg
食塩相当量 (換算値)	1.48 g

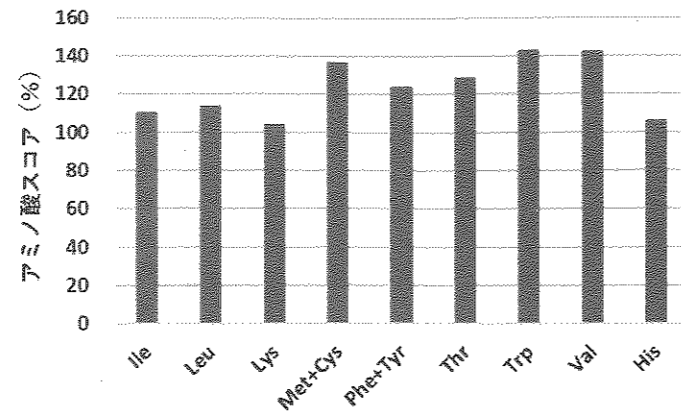


図3 ユーグレナKishu株のアミノ酸スコア

ノ酸としてはアラニン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、プロリン、システイン、チロシン、アスパラギン、グリシン、セリンを含むほか、GABA (γ-アミノ酪酸) やオルニチン、カルニチンなどを含んでいることも判明している。

(2) ビタミン、ミネラル、脂肪酸

ビタミンは特にβカロテンを豊富に含むほか、ビタミンB群、ビタミンE、K<sub>1</sub>、ナイアシン、パントテン酸、ピオチン、葉酸などを含有していることがわかって

いる。ミネラルも多く種類を含んでおり、マンガン、銅、鉄、亜鉛、カルシウム、マグネシウム、カリウム、リン、ナトリウムを含んでいる。

また、多様な不飽和脂肪酸を含むことも確認できており、EPA (エイコサペンタエン酸)、DHA (ドコサヘキサエン酸)、リノレン酸やリノール酸、アラキドン酸などの必須脂肪酸の他、オレイン酸やパルミトレイン酸などの一価不飽和脂肪酸も含有している。

(3) メタボローム解析

さらに、ユーグレナKishu株に対してはメタボローム解析を行い、その代謝産物の解析を実施した。Kishu株粉末はそれぞれCE-TOFMSとLC-TOFMSにより解析を行い、検出されたピークに対して候補化合物名の付与を行った。その結果、301ピークが検出され、うち221ピークに候補化合物が付与された。候補化合物名の付与されなかった80ピークについても、ペプチドリフト(2~4残基)との照合を行うことで、すべてに候補化合物名を付与することができた。この解析結果をまとめたものが図4である。ペプチド

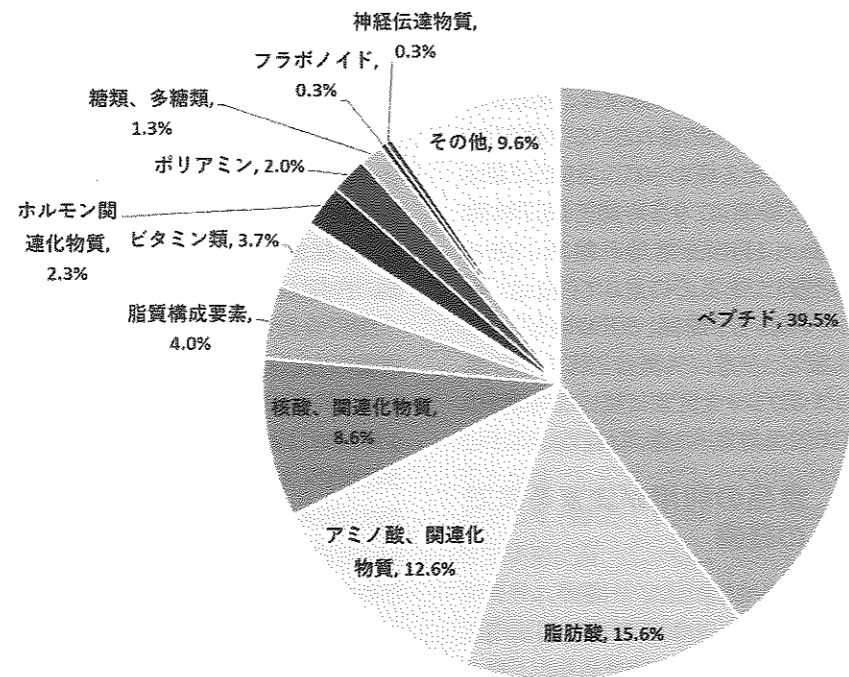


図4 ユーグレナKishu株のメタボローム解析結果

やアミノ酸類を多様に含んでおり、良質なタンパク源となることが期待できるほか、機能性ペプチドを含んでいることも考えられる。

また、健康機能に関与する成分として、これまでに延べてきた物質以外にも、N-アセチルグルコサミンやクエン酸などが含まれていることも判明しており、今後の機能性研究においては期待が持てる結果が得られた。

おわりに

ユーグレナKishu株は和歌山県工業技術センターと株式会社ビオラボの共同開発の結果販売に至った、発展の可能性を大いに秘めた新規の食品用素材である。

今後はこれまでに得られた結果をもとに、様々な機能性の研究に取り組ん

でいく予定である。さらなるデータの収集を進めるとともに、和歌山県工業技術センターと株式会社ビオラボの共同開発をさらに進めていき、ユーグレナKishu株を利用したいとお声掛けをくださる皆様のご要望にお応えしていきたい。

〈参考文献〉

- 1) 中村ら：日本水処理生物学会誌, 54 (1), 39-46 (2018)
- 2) 中野ら：Vitamins (Japan), 91 (5・6), 323-330 (2017)