

# 波長変化によるクロレラの培養

田口耕輔, 田中謙太, 宮西嶺侍

Kosuke TAGUCHI, Kenta TANAKA, Reiji MIYANISHI

奈良県立奈良高等学校

## 1. 要約

淡水性単細胞藻類であるクロレラは他の植物や生物と比べてタンパク質の割合が多く、一般的な2分裂ではなく4分裂する。私たちはこの特長に着目し、クロレラを培養することに決めた。先行研究では、単色光において青色が最適であり、一方混合色では赤色と青色の比率 (R/B 比) が10のときに最適であると報告されている<sup>1)</sup>。しかし単色光において試料サンプルが少ないため、信頼性が低いと考えられる。そこで試料サンプルを増やしクロレラの培養に適する単色光の研究を行った。研究の結果、青色照射下でクロレラの増殖が最も効率的に進むことがわかった。

## ABSTRACT

Chlorella, a freshwater unicellular alga, has a higher protein content than other plants and organisms, and undergoes fourfold division instead of the typical binary division. Focusing on this characteristic, we decided to culture Chlorella. Previous studies have reported that blue light is optimal under monochromatic conditions, while in mixed light conditions, an R/B ratio of 10 is the most effective. However, due to the small sample size in monochromatic light studies, the reliability is considered low. Therefore, we increased the sample size and conducted a study on the optimal monochromatic light for Chlorella cultivation. As a result, we found that Chlorella proliferates most efficiently under blue light irradiation.

【キーワード】 クロレラ, クロロフィル, 波長

Key words Chlorella, Chlorophyll, Wavelength

## 2. はじめに

クロレラ (図1) は栄養密度が高く、特定の病気を予防したり緩和したりできる「スーパーフード」と呼ばれており、タンパク質、核酸、クロロフィル、ビタミンB12の含有量が植物界で最も高い<sup>2)</sup>。更に、人体で合成できない8種類の必須アミノ酸、食物繊維、クロロフィル、ルテイン、核酸、ビタミンB9、カロテノイド、多価不飽和脂肪酸などが豊富である。また、他の植物は根、葉などの食べるのに適さない構造体も多く持つのに比べ、クロレラは構造体が細胞壁のみであるため、面積当たりの収穫量が多く、爆発的な人口増加による食糧不足の解消が期

待され、クロレラの増殖に関して多くの研究がなされてきた。しかし、クロレラに単色光を照射し、クロロフィル a, b の増加量を測定した先行研究において、照射されたクロレラのサンプル数が少なく、十分性が見られなかった。そこで我々は、照射するクロレラの試料サンプル数を増やし、クロレラの増殖に適する単色光の特定を行った。

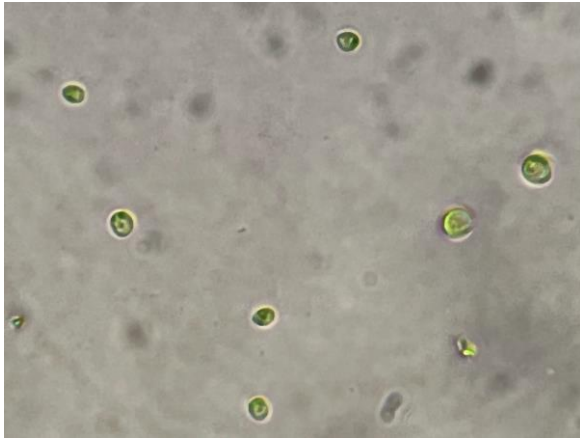


図1 クロレラの顕微鏡写真

### 3. 目的

クロレラの増殖が最も効率的に促進される単色光を特定する。

### 4. 研究内容

#### 4.1. 予備実験

##### 4.1.1 目的

実験 I, II の方法の有意性を示す。

##### 4.1.2 方法

クロレラを水に溶かした溶液 1 L に、液体培地として Planta Gainer Carbo を 50 μL 入れた水溶液（以下クロレラ水と呼ぶ）を作製した。クロレラ水を 10 mL ずつ入れた試験管を 10 本用意し、白色 LED で照射された恒温器（図 2）に入れた。1 日（24 時間）を周期として、照射期間を 16 時間、休止時間を 8 時間とし、開始日時を 1 日目として 5 日間行い、1 日おきに恒温器から試験管を取り出し、攪拌する。その後、恒温器を 25°C に保ち、試験管を培養容器として暗室内で培養した。クロロフィル含有量を計算するために、アセトンによってクロロフィルを抽出し、吸光度計（島津紫外可視分光光度計 UV-1280）による波長 646.6 nm と 663.6 nm の吸光度から求めた。式は R. J. Porra ら（1989）<sup>3)</sup>の式を使用した。

$$Chl\ a = 12.25 * \lambda_{663.6} - 2.55 * \lambda_{646.6}$$

$$Chl\ b = -4.91 * \lambda_{663.6} + 20.31 * \lambda_{646.6}$$

$$Chl\ total = 7.34 * \lambda_{663.6} + 17.76 * \lambda_{646.6}$$

ここで、 $\lambda_{663.6}$ 、 $\lambda_{646.6}$  はそれぞれ波長 663.6 nm

と 646.6 nm における吸光度である。

平均値の差異の有意性はウェルチの t 検定により検定した。



図2 恒温器

##### 4.1.3 結果

この実験におけるクロロフィル含有量は図 3 のようになった。

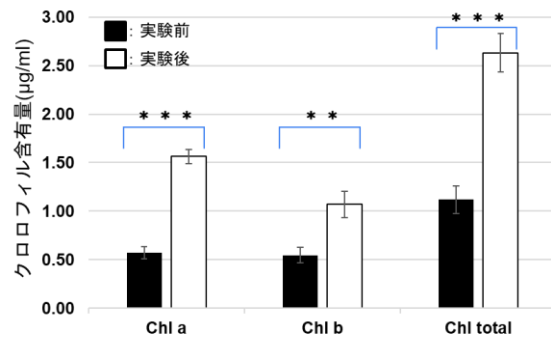


図3 白色光におけるクロロフィル含有量

\*\*\* : p<0.001  
\*\* : p<0.01  
\* : p<0.05

表1 白色光照射時の実験前後のクロロフィルの増加量

	Chl a	Chl b	Chl total
実験前	0.572	0.548	1.120
実験後	1.562	1.070	2.632

(単位はすべて  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

#### 4.1.4 考察

welch 検定により、恒温器を  $25^{\circ}\text{C}$  に保ち、試験管を培養容器とし、1日 (24時間) を周期として、照射期間を 16 時間、休止時間を 8 時間とする方法はクロレラの増殖に有効であると考えられる。

### 4.2. 実験 I

#### 4.2.1 目的

クロレラに赤色 LED ( $84.2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) を照射したときの増殖量を測定する。

#### 4.2.2 方法

クロレラ水を  $10\text{mL}$  ずつ入れた試験管を 20 本準備し、そのうち 10 本をアルミホイルで覆い、恒温器に入れ赤色 LED を照射した。1日 (24時間) を周期として、照射期間を 16 時間、休止時間を 8 時間とし、開始日時を 1 日目として 5 日間行い、1 日おきに恒温器から試験管を取り出し、攪拌する。その後、恒温器を  $25^{\circ}\text{C}$  に保ち、試験管を培養容器として暗室内で培養した。クロロフィル含有量は予備実験と同様に行った。

#### 4.2.3 結果

この実験におけるクロロフィル含有量は図 4 のようになった。

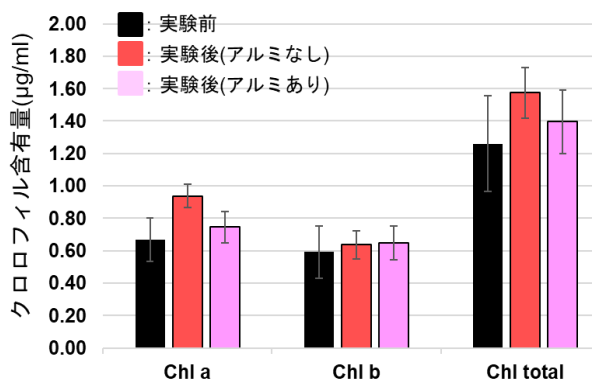


図4 赤色光におけるクロロフィル含有量  
 \* \* \* :  $p < 0.001$   
 \* \* :  $p < 0.01$   
 \* :  $p < 0.05$

(左から  $n=10, 10, 10$ )

表 2 赤色光照射時の実験前後のクロロフィルの増加量

	Chl a	Chl b	Chl total
実験前	0.667	0.592	1.260
実験後 アルミあり	0.938	0.637	1.575
実験後 アルミなし	0.747	0.649	1.396

(単位はすべて  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

### 4.3. 実験 II

#### 4.3.1. 目的

クロレラに青色 LED ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) を照射したときの増殖量を測定する。

#### 4.3.2 方法

照射する単色光を青色に変え、実験 I と同様の手順で行った。

#### 4.3.3 結果

この実験におけるクロロフィル含有量は図 5 のようになった。

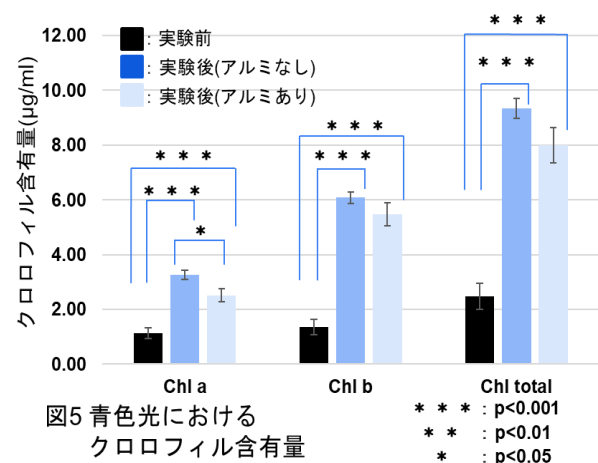


図5 青色光におけるクロロフィル含有量  
 \* \* \* :  $p < 0.001$   
 \* \* :  $p < 0.01$   
 \* :  $p < 0.05$

(左から  $n=10, 9, 10$ )

表3 青色光照射時のクロロフィル含有量

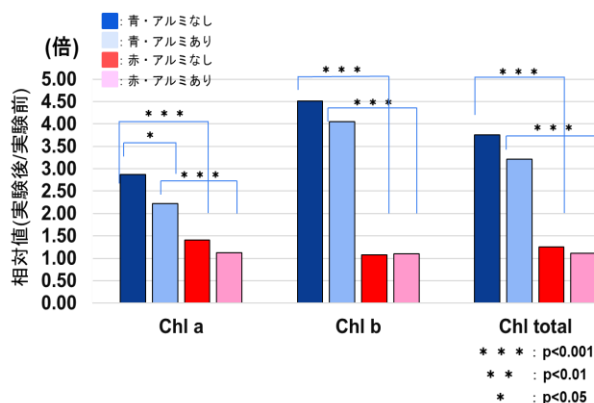
	Chl a	Chl b	Chl total
実験前	1.134	1.349	2.483
実験後 アルミあり	3.255	6.081	9.336
実験後 アルミなし	2.517	5.474	7.991

(単位はすべて  $\mu\text{g/ml}$ )

#### 4.4 考察

赤色 LED 照射下では、クロロフィル含有量は実験前と比べて有意な差が認められなかった。これは、赤色の波長とクロロフィル a, b の吸収スペクトルが一致しなかったためと考えられる。また、アルミありとなしでクロロフィル含有量の差が小さかった理由として、先行研究の Arpan Baidya ら (2021 年) <sup>4)</sup> の実験では培養期間が 14 日間以上であるが、本研究では培養期間が 5 日と短く、攪拌時の外光の干渉やアルミホイルで光が完全に遮断できていなかったことが考えられる。一方で、青色 LED 照射下では、クロロフィル含有量は実験前と比べて有意な差が認められた。これは、青色の波長とクロロフィル a, b の吸収スペクトルが一致しているためと考えられる。

#### 4.5 実験 I, II の比較



(すべて実験後 左から n=9, 10, 10, 10)

welch 検定の結果より、赤色 LED と青色 LED

には有意な差があり、クロレラの増殖には、赤色 LED に比べ、青色 LED のほうが適していると考えられる。また、Arpan Baidya ら (2021) <sup>4)</sup> によると、青色光のエネルギー含有量は他の光よりも高く、青色光の波長は、細胞物質の生成を可能にする高い量子効率と光合成効率を備えており、赤色光の波長はクロレラ属に損傷を与え細胞成長率を低下させているため、青色 LED 光は赤色 LED 光よりもクロレラの増殖に適しているという結果に一致している。

#### 5. まとめ

クロロフィル含有量の測定により、青色 LED がクロレラの増殖に適していることが明らかになった。

#### 6. 今後の展望

単色光の中心波長とクロロフィル a, b の吸収スペクトルの正確な相関を調べるために、分光測光計を用いて、単色光の中心波長の値を特定したい。また、実験方法における不備として、光が完全に遮断されていない空間での攪拌や、1日おきであったためクロレラの沈殿が見られたこと及びアルミホイルが光を完全に遮断できていない可能性があることが挙げられる。これらを踏まえて、実験器具の改善を行い、実験結果の信頼性を高めたい。

#### 7. 引用文献

<sup>1)</sup> 安部由晴, 油谷健吾, 西方伸吾, 平田陽一, 谷内利明, 谷辰夫. “光の波長変換を利用したクロレラの増殖に関する研究”. 1989 .

<https://www.jses-solar.jp/journal/backnumbers/j159/p35-40> , (参照 2024-10-24)

<sup>2)</sup> クロレラ・機能性植物研究会. “クロレラとは”, クロレラ・機能性植物. 2024.

<https://www.pharplant.org/plant/chlorella.html> , (参照 2024-10-16)

<sup>3)</sup> R. J. Porra, W. A. Thompson, P. E.

Kriedemann. “Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous

equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy” .Science Direct.1989 .<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0005272889803470> , (参照 2024-11-28).

<sup>4)</sup> Arpan Baidya, Taslima Akter, Md. Rabiul Islam, A. K. M. Azad Shah, Md. Amzad Hossain, Mohammad Abdus Salam, Sulav Indra Paul. “Effect of different wavelengths of LED light on the growth, chlorophyll,  $\beta$ -carotene content and proximate composition of *Chlorella ellipsoidea* . heliyon. 2021. [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(21\)02628-1](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(21)02628-1) , (参照 2024-07-20).