



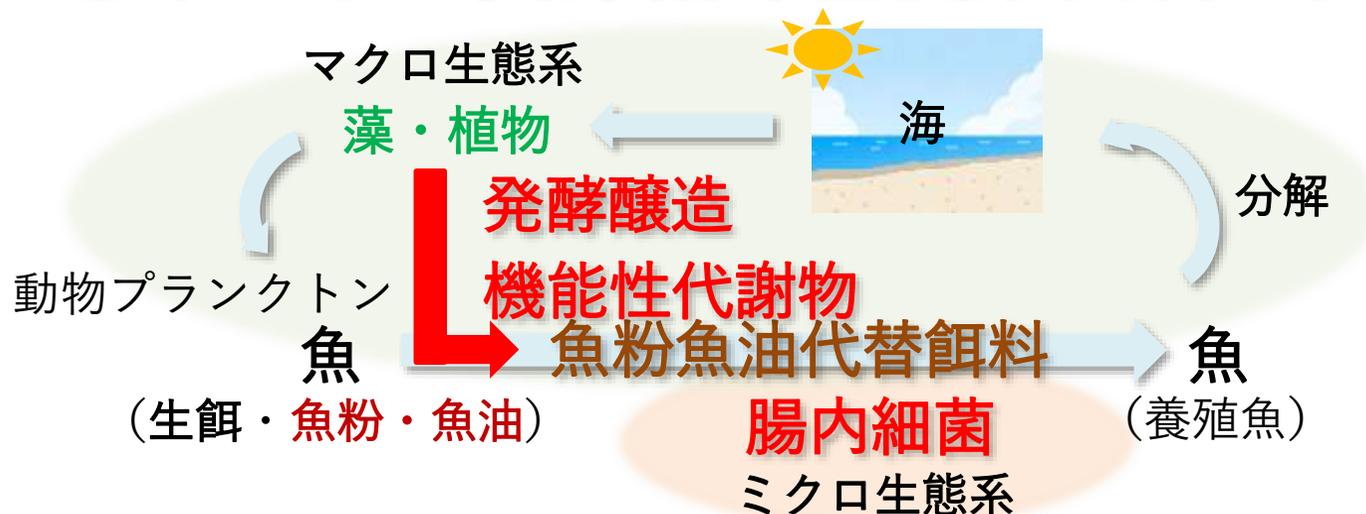
発酵技術を利用した 資源循環型養殖餌料の開発

- 小川 順、安藤晃規、岸野重信（京大院農・応用生命）
有田 誠（慶應大学薬学部・理研）
畑中晃昌（日本水産株式会社）

養殖業が抱える問題点

- 1、非循環型養殖（魚を魚で育てる状態）
- 2、餌料代の割合が高い（7-8割）養殖業者への高い経済的負担
- 3、環境付加低減、食品安全性、動物福祉への対応の遅れ

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発



現状の科学的課題

- ・ 魚の必須栄養素を魚で供給。
- ・ 魚の必須栄養素に由来する機能性代謝物が特定されていない。
- ・ 魚の消化管研究は極めて少なく腸内細菌機能の解明や活用が不十分。

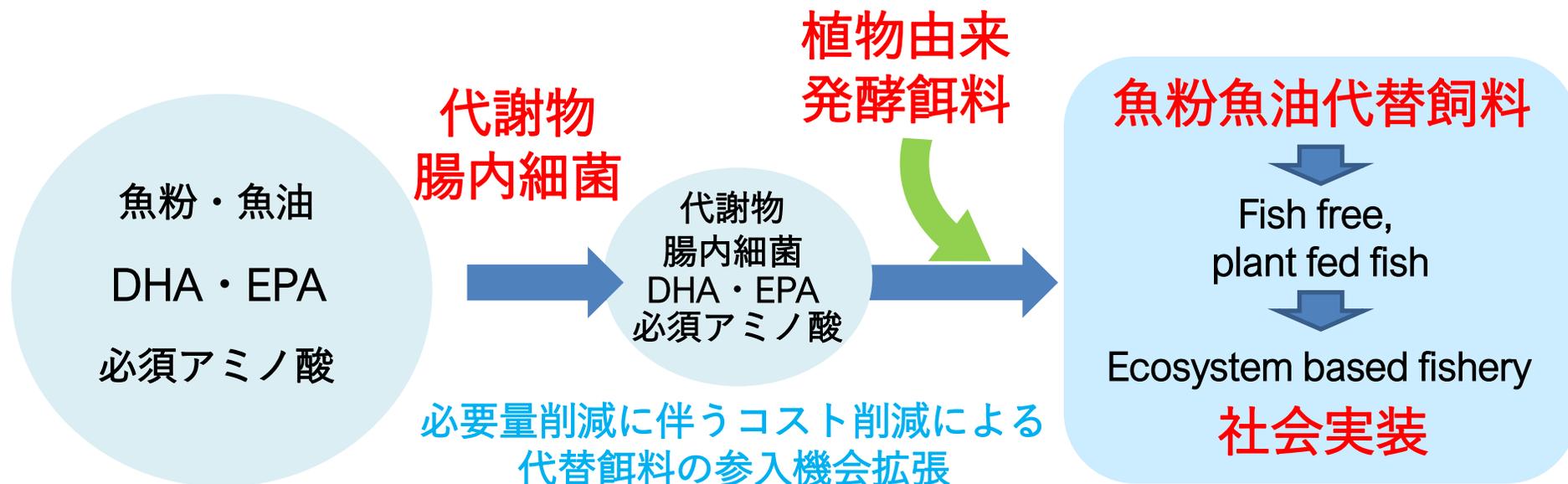
解決手段

- ・ 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵飼料を生産する。
- ・ 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。
- ・ 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

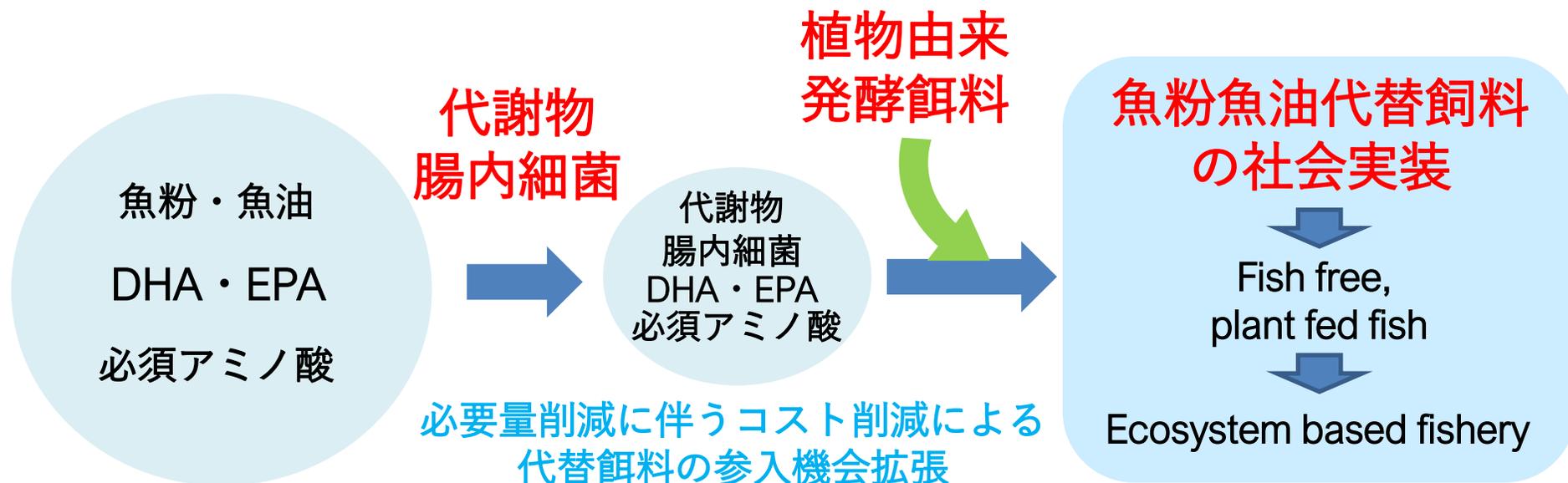
- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。 **植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産**
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。 **新規代謝物の検討**
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。 **腸内細菌の検討**



生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

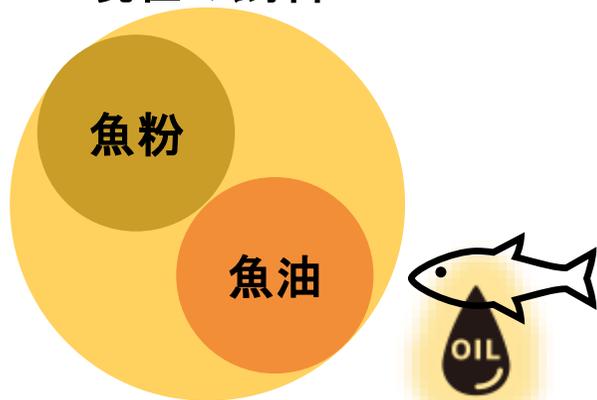
解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。 **植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産**
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。
新規代謝物の検討
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。
腸内細菌の検討

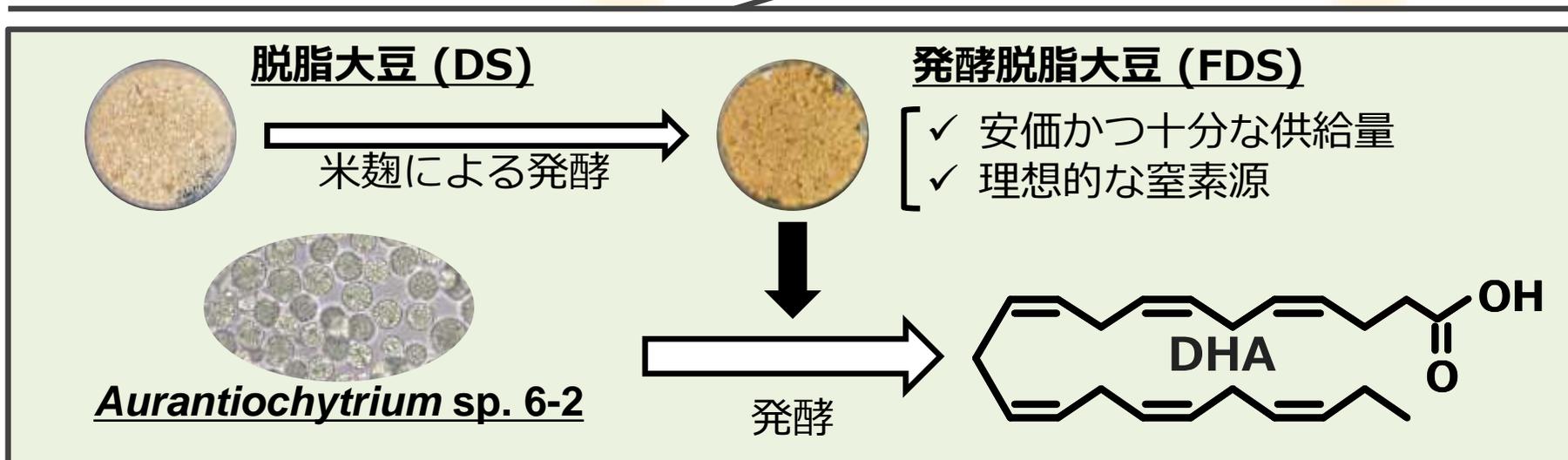
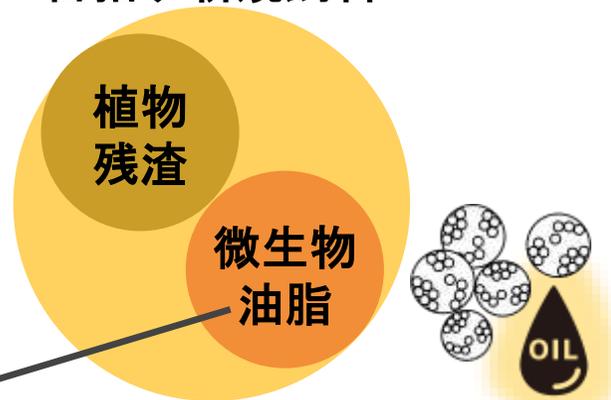


- 植物残渣と微生物を活用した，魚油を使用しない新規飼料の開発による持続性が高い養殖業の実現

現在の飼料

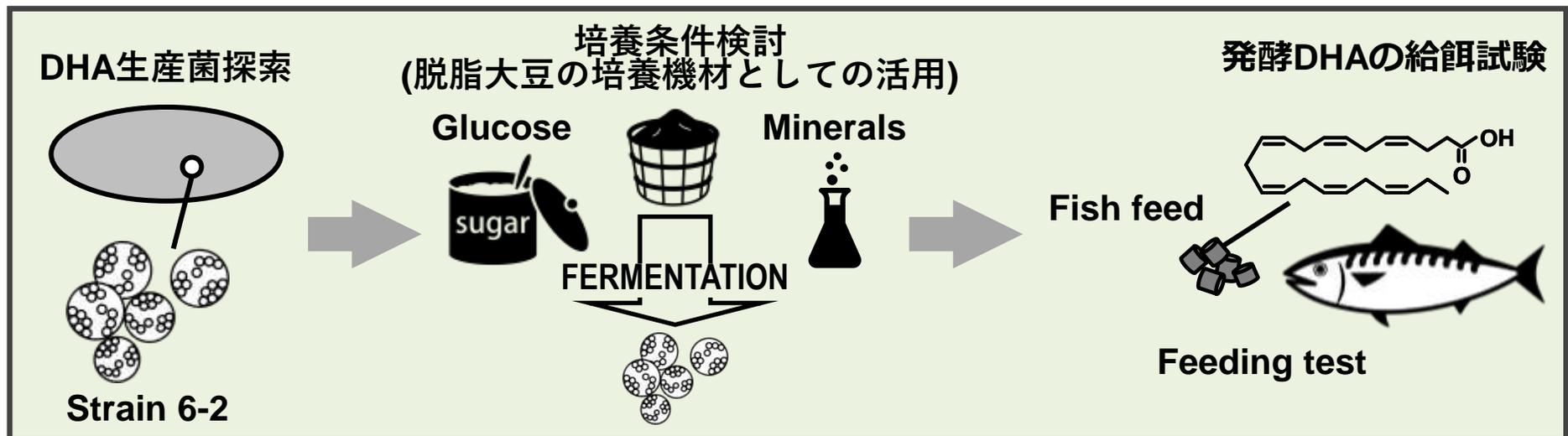


目指す新規飼料

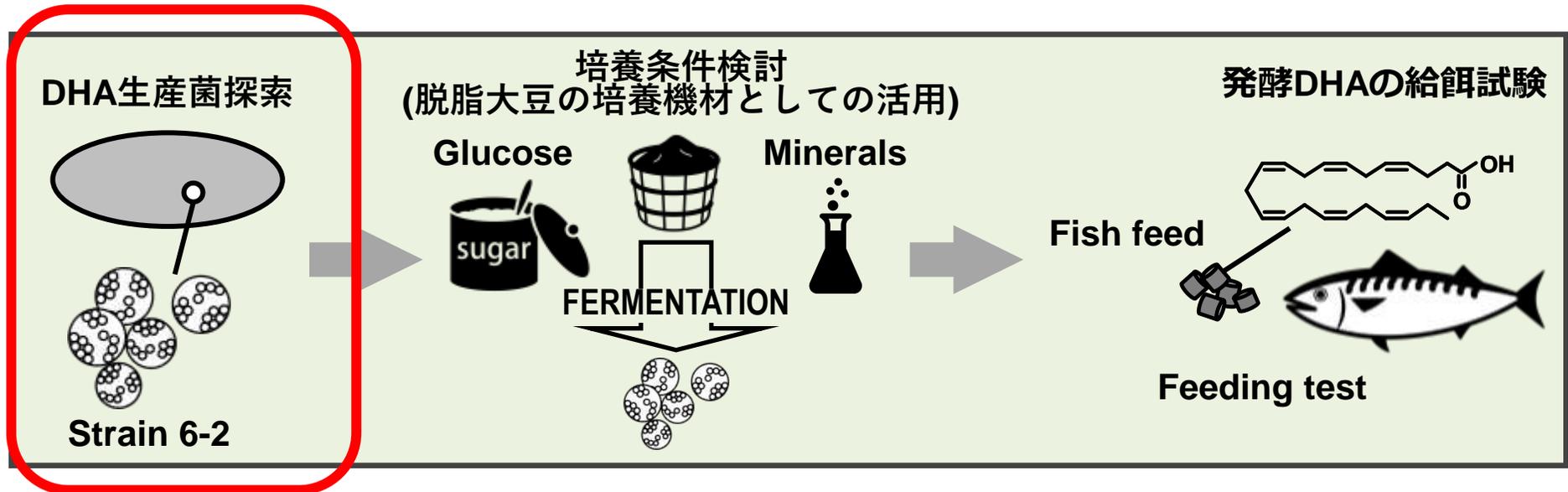


OVERVIEW

- ① DHA高生産菌の単離およびスクリーニング
- ② DHA発酵生産における，植物残渣の窒素源としての利用可能性
- ③ DHA発酵生産に対し，無機栄養成分が与える影響
- ④ マサバ (*Scomber japonicus*) を対象とした給餌試験

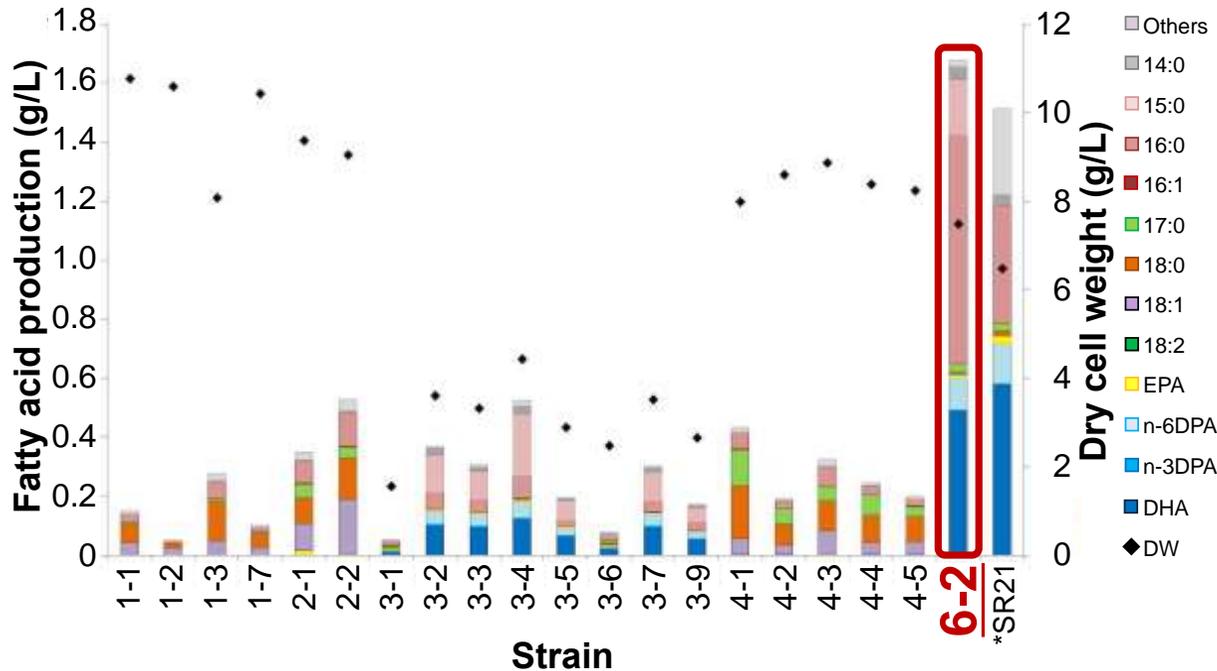
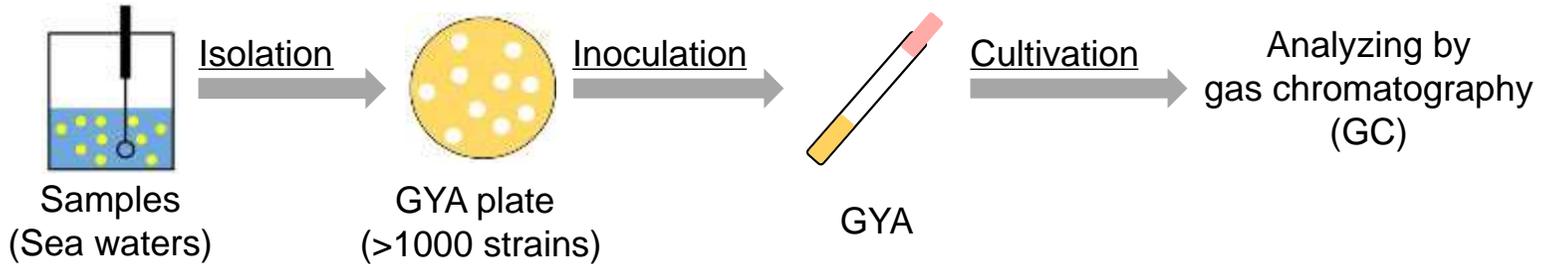


① DHA高生産菌の単離およびスクリーニング



1. DHA高生産菌の単離およびスクリーニング

Methods:



GYA medium:

Glucose	20 g/L
Yeast extract	10 g/L
Artificial sea salts	18 g/L

in 10 mL deionized water

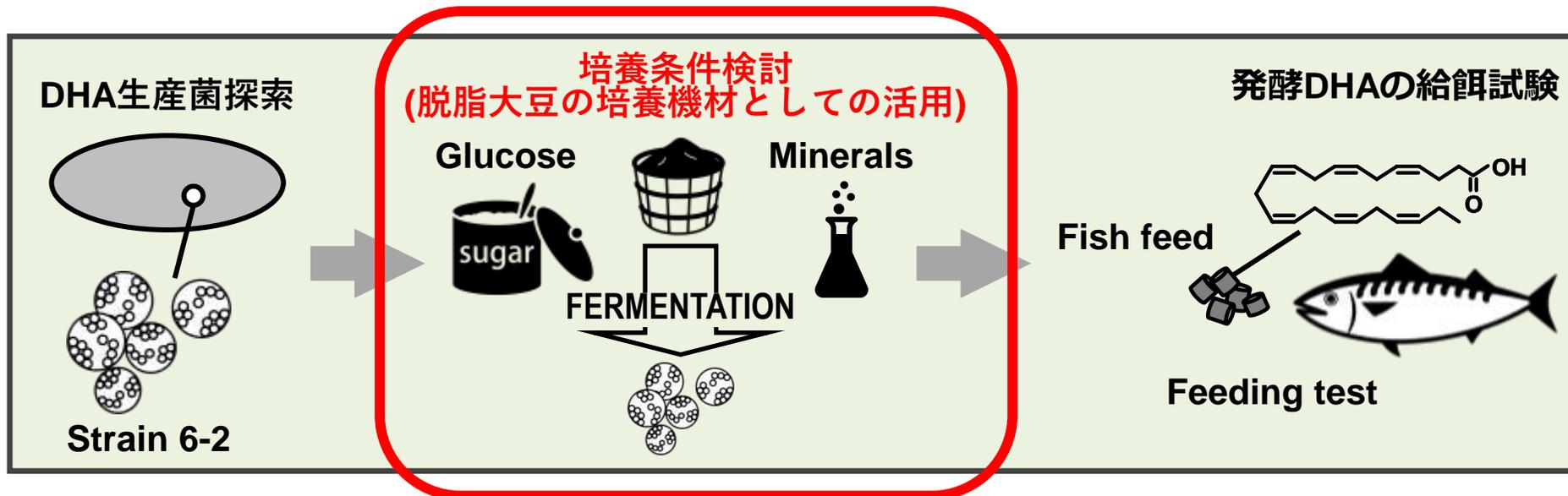
Cultivation condition:

28 °C, 300 strokes/min,
4 days

➤ *Aurantiochytrium limacinum* SR21 was used as a reference strain

- 既存の株よりも多く油脂を生産し、活発に生育する有望株 (6-2株) を単離

② DHA発酵生産における，植物残渣の窒素源としての利用可能性

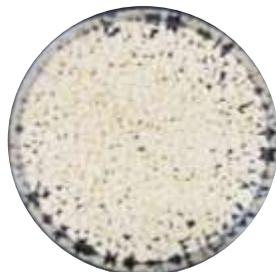


FDSの作成方法

① 脱脂大豆, 米麴, 水を混ぜる



脱脂大豆



米麴



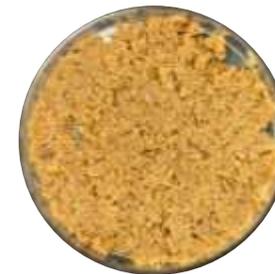
② ①を袋に詰め, 2時間浸漬させる



③ グライNDERで挽く



④ 40 °Cで7日間発酵する
発酵後は4 °Cで保管する



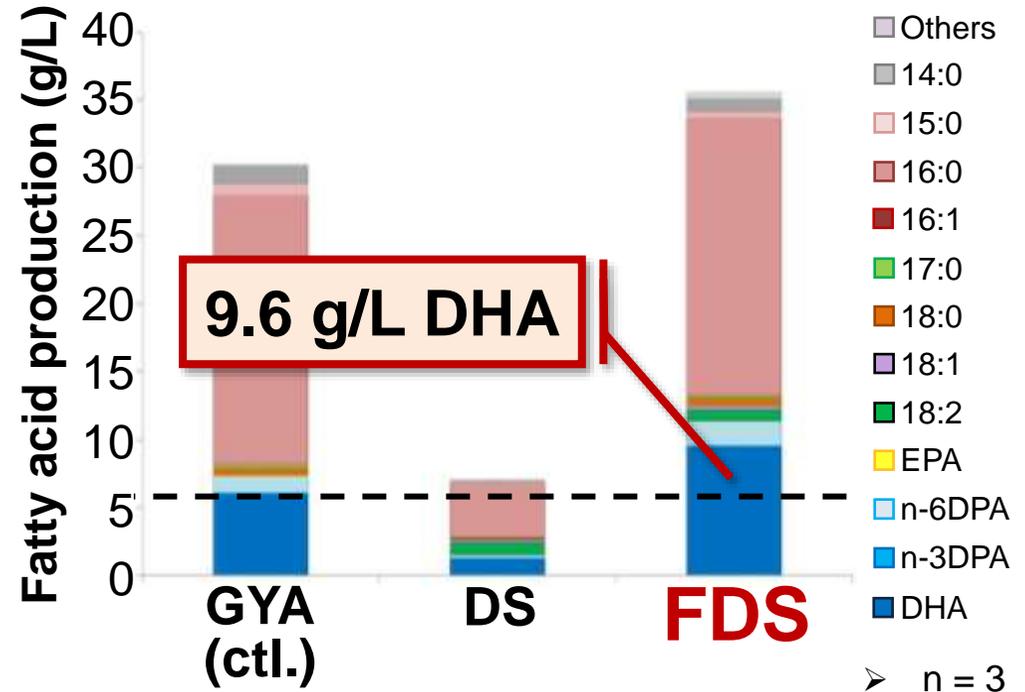
発酵脱脂大豆

2 .DHA発酵生産における，植物残渣の窒素源としての利用可能性-

■ FDS培地におけるDHA生産量

Medium:	FDS/DS medium	GYA medium	
Glucose	150	150	g/L
FDS/DS	200	-	g/L
Yeast extract	-	20	g/L
Artificial sea salt	-	18	g/L
KH ₂ PO ₄	3	-	g/L
Na ₂ SO ₄	3	-	g/L
MgCl ₂ ·6H ₂ O	2.1	-	g/L
CaCl ₂	0.3	-	g/L

in 5 mL deionized water

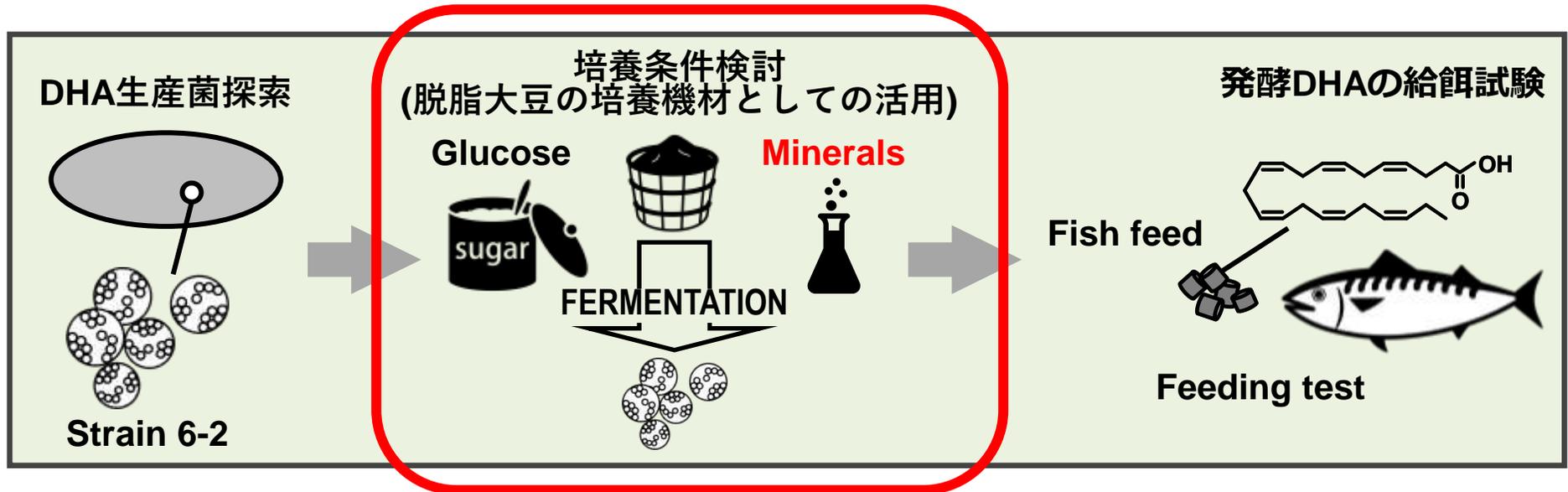


Cultivation conditions:

28 °C, 250 strokes/min, 4 days

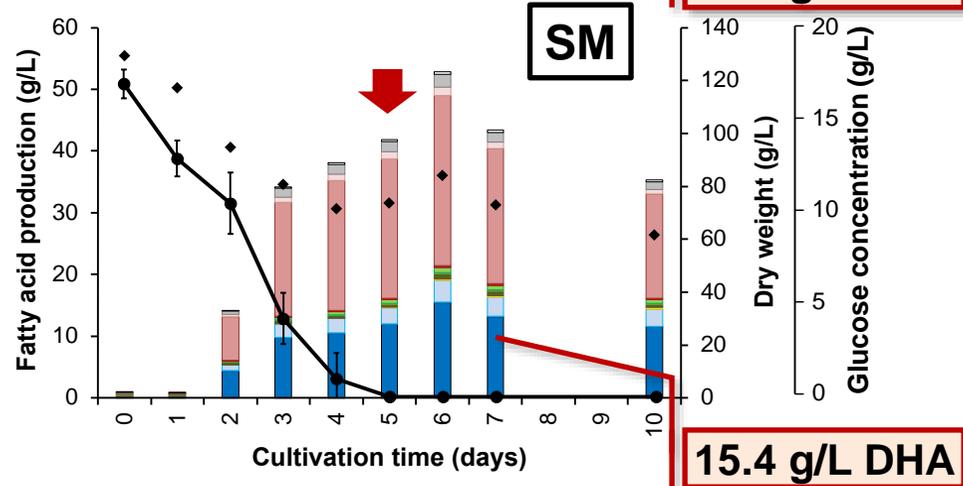
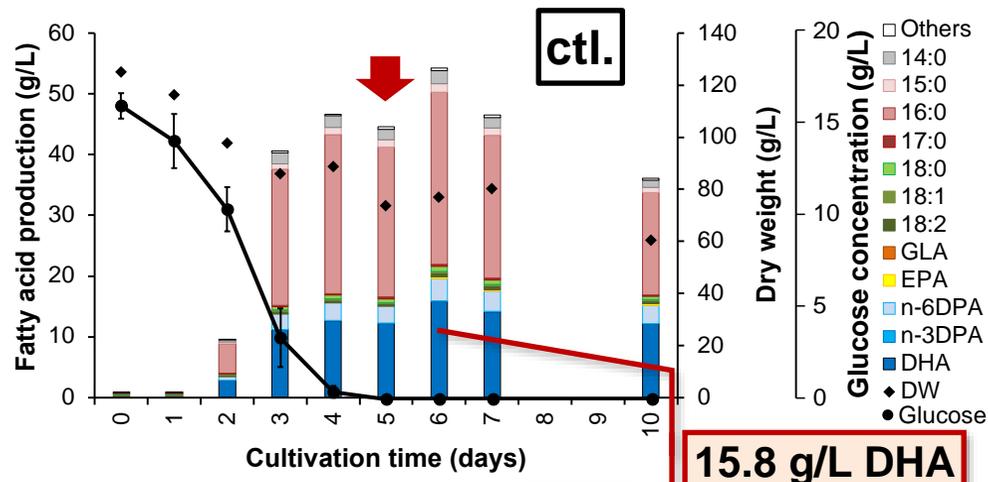
- FDSは6-2株にとって優れた窒素源として機能した

② DHA発酵生産における，植物残渣の窒素源としての利用可能性



3 -DHA発酵生産に対し，無機栄養成分が与える影響-

■ 坂口フラスコを用いた1 LスケールでのDHA発酵生産



FDS medium:	ctl.	Simplified medium (SM)	
Glucose	150	150	g/L
FDS	200	200	g/L
KH_2PO_4	3	-	g/L
Na_2SO_4	3	3	g/L
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2.1	2.68	g/L
CaCl_2	0.3	-	g/L

in **1000 mL** deionized water

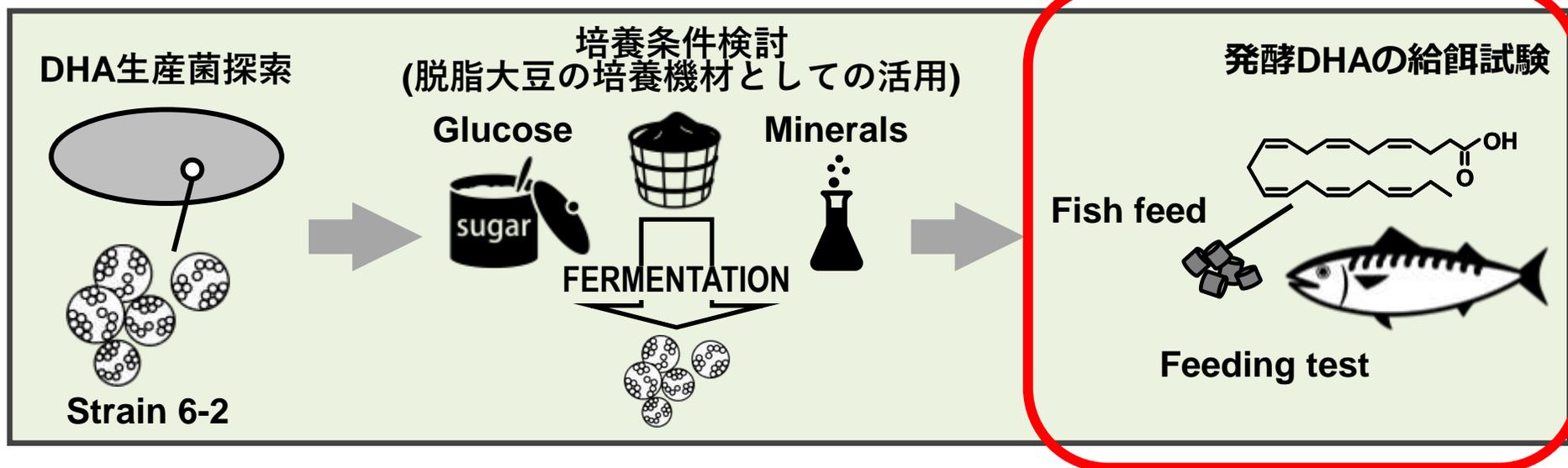
Cultivation conditions:

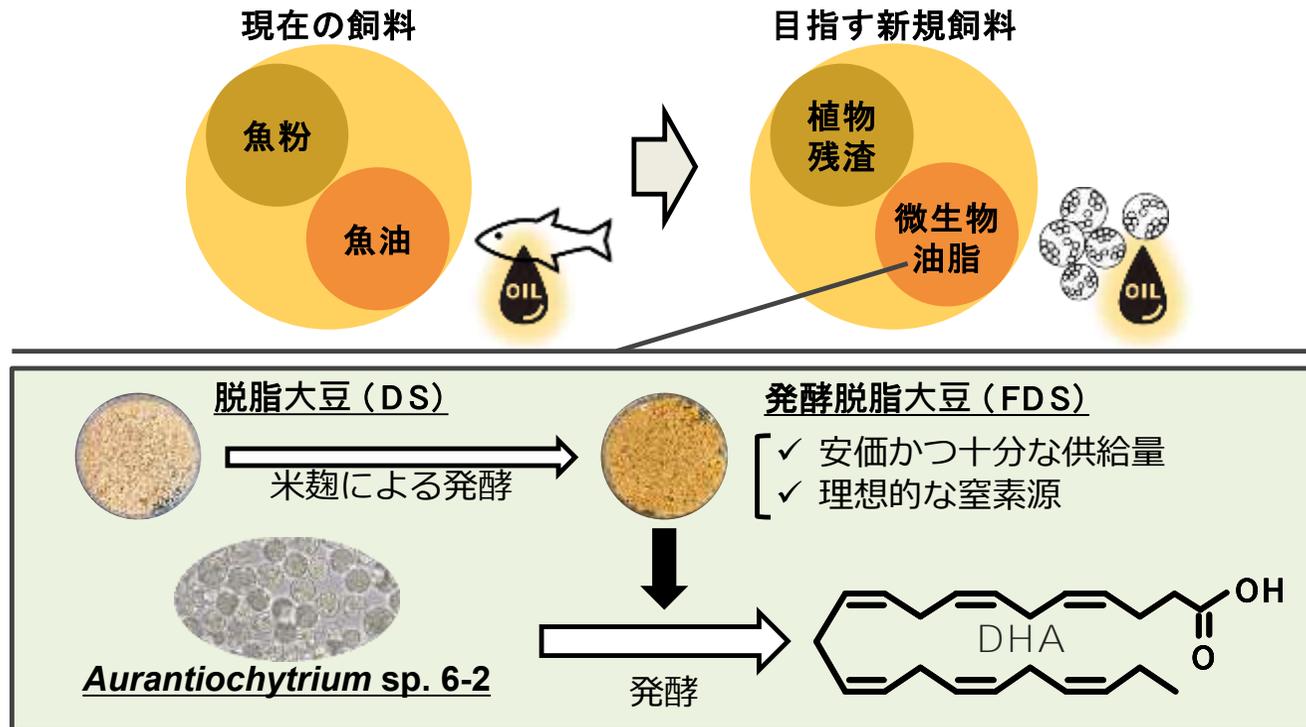
28 °C, **120 strokes/min**, 10 days

- n = 3
- Glucose depletion point is shown with a red arrow
- mean ± SD

- 標準FDS培地と単純化FDS培地におけるDHA生産量とグルコース消費量に有意な差は見られなかった (T-test, $p < 0.05$)

① DHA高生産菌の単離およびスクリーニング





- 発酵脱脂大豆 (FDS) は *Aurantiochytrium* sp. 6-2 株による DHA 発酵生産において優れた窒素源として機能した
- 6-2 株にとって、硫化物イオンは必須無機栄養成分であり、同時に塩化物イオンは重要な無機栄養成分である
- 発酵 DHA は飼料中の魚油 DHA の一部を代替可能である

魚油以外のEPA/DHA開発状況

No.	製品名	開発企業名	起源	商品形態	脂質含量(%)	EPA(%)	DHA(%)
1	<i>Yarrowia Lipolytica</i>	DuPont	GM 酵母 <i>Yarrowia Lipolytica</i>	酵母バイオマス、 オイル	<50	<50	0
2	DHAgold	DSM Nutritional Products	微細藻類 <i>Schizochytrium</i>	藻類バイオマス	49	1	44.4
3	Life's DHA	DSM Nutritional Products	微細藻類 <i>Schizochytrium</i>	オイル	100	< 2	>35
4	DHA Natur	ADM Animal Nutrition	微細藻類 <i>Aurantiochytrium</i>	藻類バイオマス	50-60	0.25	34
5	ForPlus	Alltech Coppens	微細藻類 <i>Schizochytrium</i>	藻類バイオマス	61	0.3	29
6	Veramaris Oil	Veramaris(DSM/Evonik)	微細藻類 <i>Schizochytrium</i>	オイル	100	<16	<43
7	<i>Camelina sativa</i> (開発段階)	Rothamsted Research/UoS	GM camelina 遺伝子組み換えアマナズナ	オイル	100	20	0
8	<i>Camelina sativa</i> (開発段階)	Rothamsted Research/UoS	GM camelina	オイル	100	9	11
9	Latitude(開発段階)	BASF/Cargill	GM canola 遺伝子組み換えキャノーラ	オイル	100	7	1
10	Aquaterra/Nutrierra (商業化段階)	Nuseed	GM canola	オイル	100	0.5	10

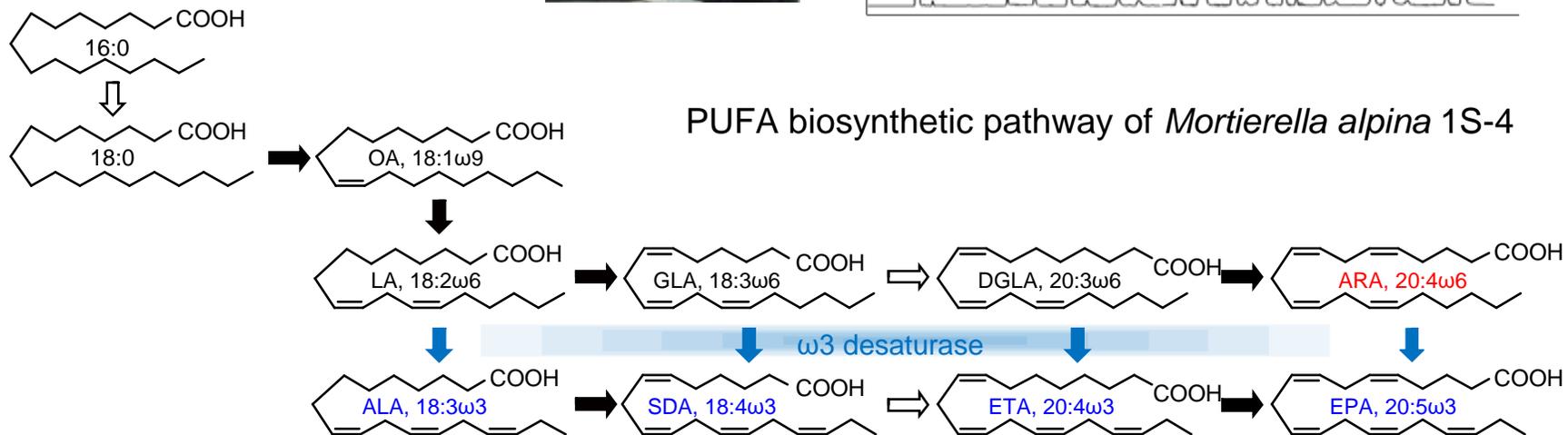
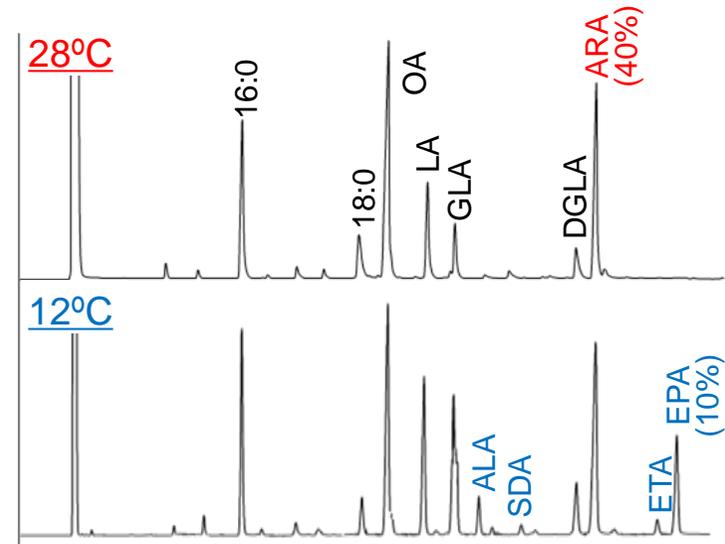
Tocher et al. (2019) Nutrients

各国で魚油に依存しないDHAやEPA商業生産の研究開発が進んでいる
しかし、液体培養であること、油の抽出が必要なことなど、コスト面で問題あり。

**日本型発酵技術を駆使し、植物原料から固体培養にて直接摂取可能
(抽出不要) な魚粉魚油代替餌料を発酵生産する。**

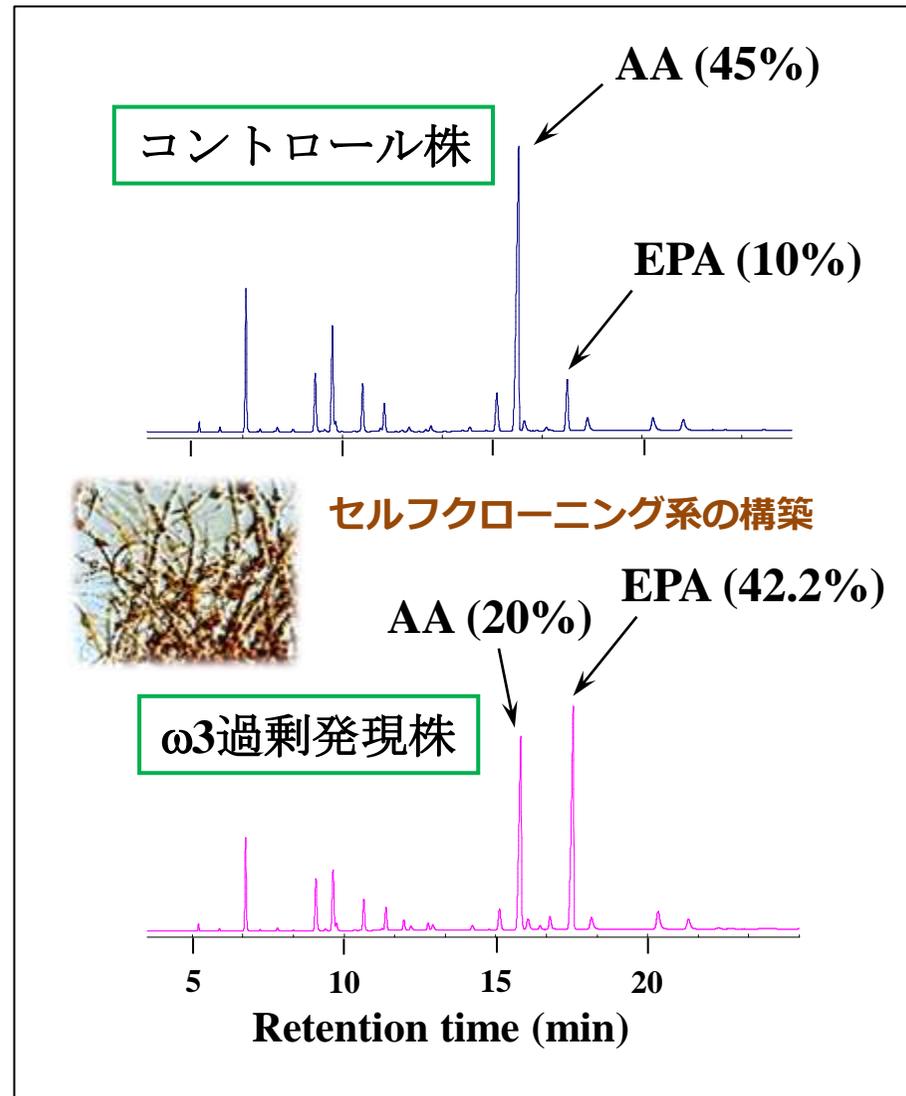
必須脂肪酸を発酵生産する微生物の開発：EPA高生産菌の開発

PUFA-producing fungus
Mortierella alpina 1S-4



OA, oleic acid; LA, linoleic acid; GLA, γ -linolenic acid; DGLA, dihomogamma-linolenic acid; ARA, arachidonic acid; ALA, α -linolenic acid; SDA, stearidonic acid; ETA, ω 3 eicosatetraenoic acid; EPA, eicosapentaenoic acid.

Mortierella alpina 野生株ならびに セルフクロニング株による EPA 生産



Ando, A., et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(17), 5529-5535 (2009)

Mo, B. K.-H., et al., *Biosci Biotechnol Biochem*, 85(5), 1252-1265 (2021)

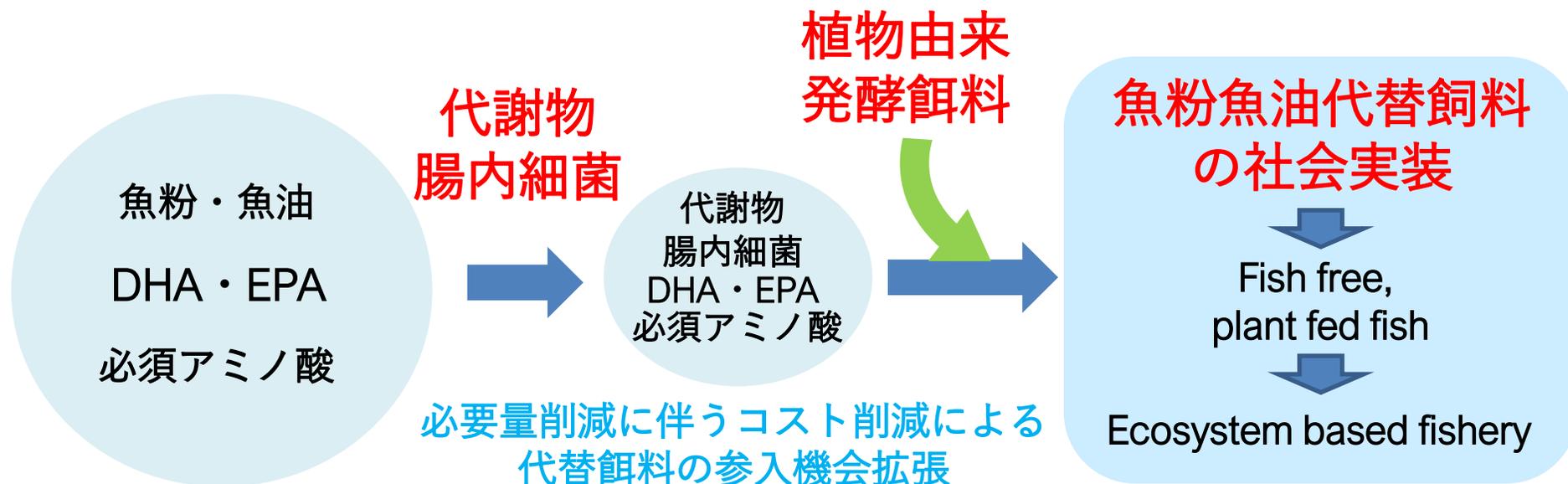
生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

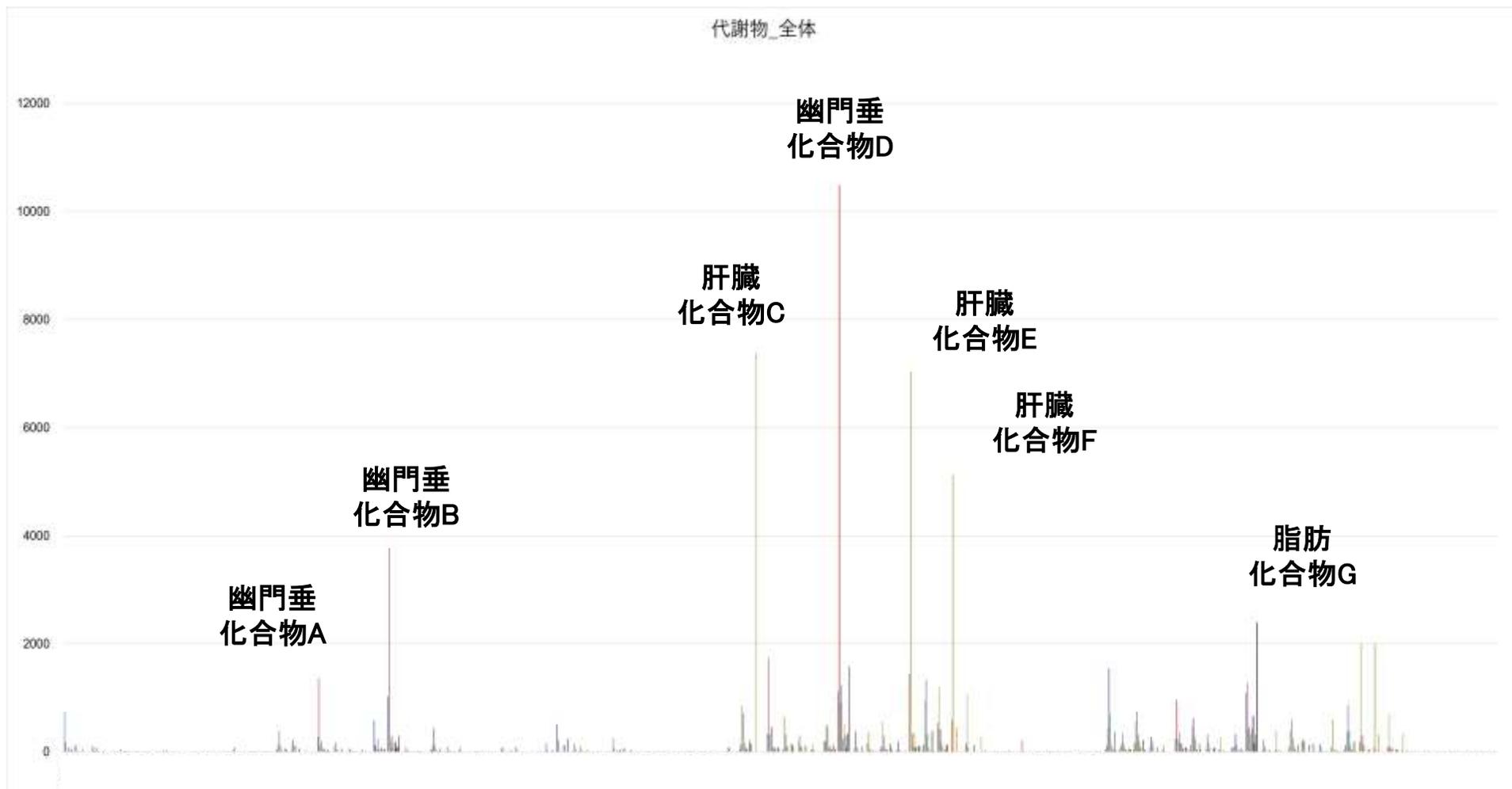
解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。 植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。

新規代謝物の検討

- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。 腸内細菌の検討

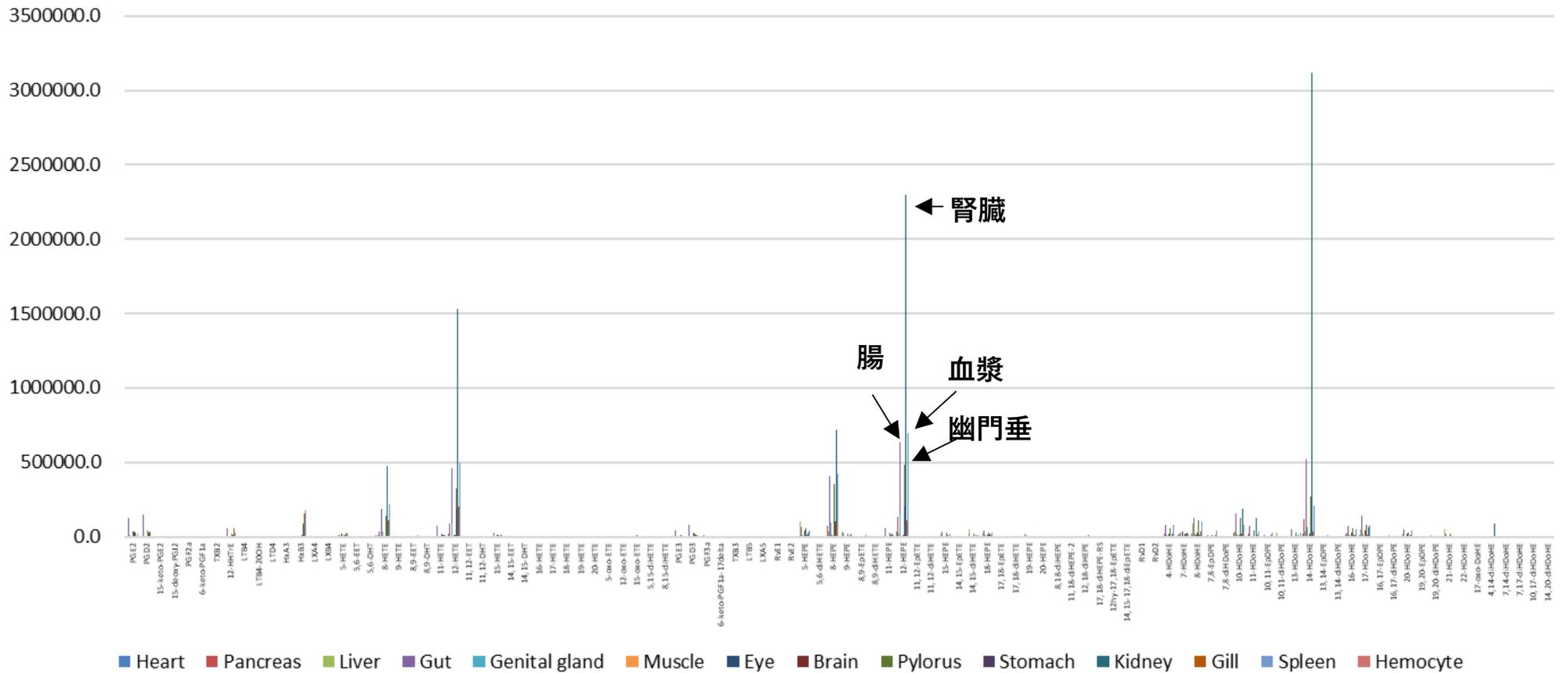




ブリ各組織中の代謝物

サバ各組織中の代謝物

代謝物全体



アラキドン酸由来

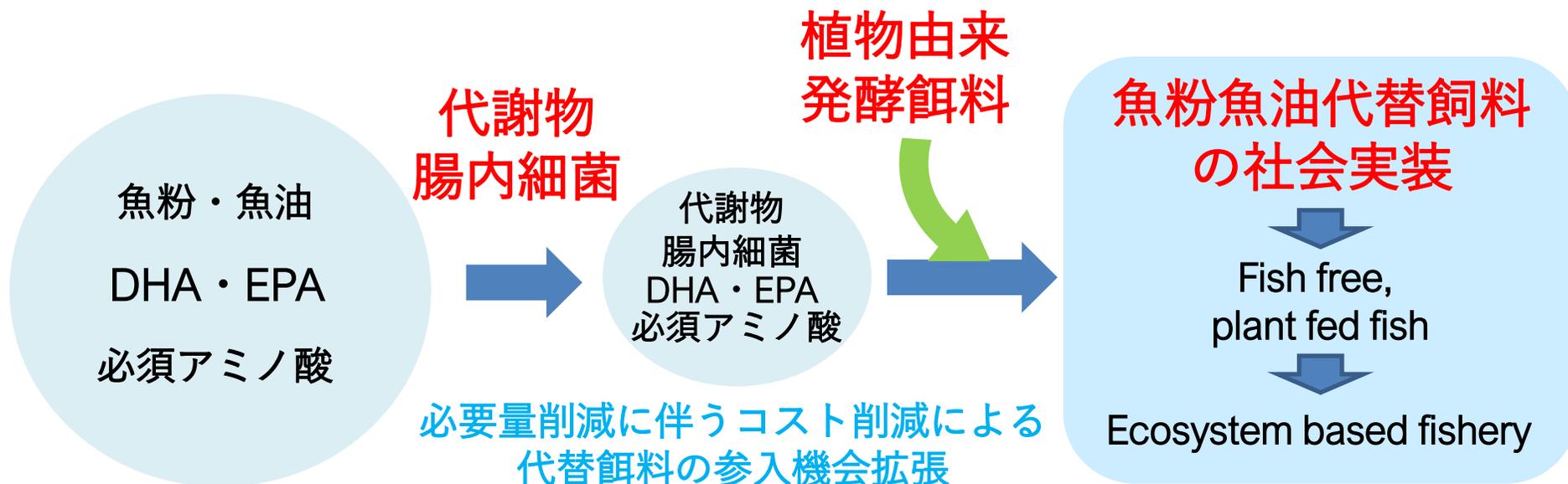
EPA由来

DHA由来

生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。 植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。 新規代謝物の検討
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。 腸内細菌の検討



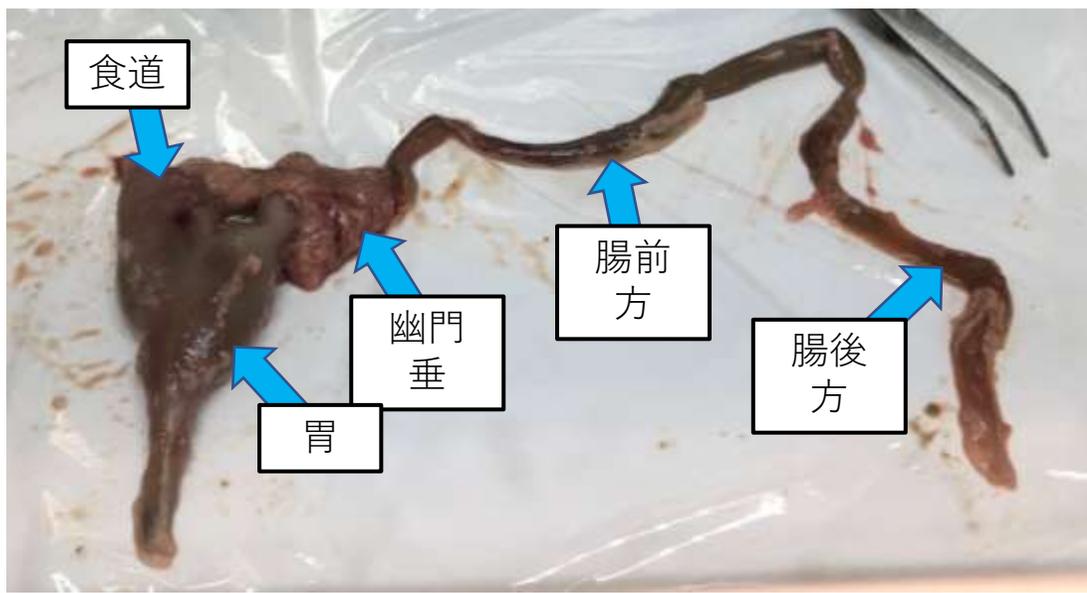
新規代謝物を誘導する腸内細菌を活用した新規飼料の開発

サバ消化管由来微生物の単離

幽門垂は内容物を掻き出すのが難しかったので、たたいて細かくして液体培地に植菌した。

<採取部位例・大マサバ②>

□
写真なし



生態系に学ぶ資源循環型養殖餌料の開発

解決手段

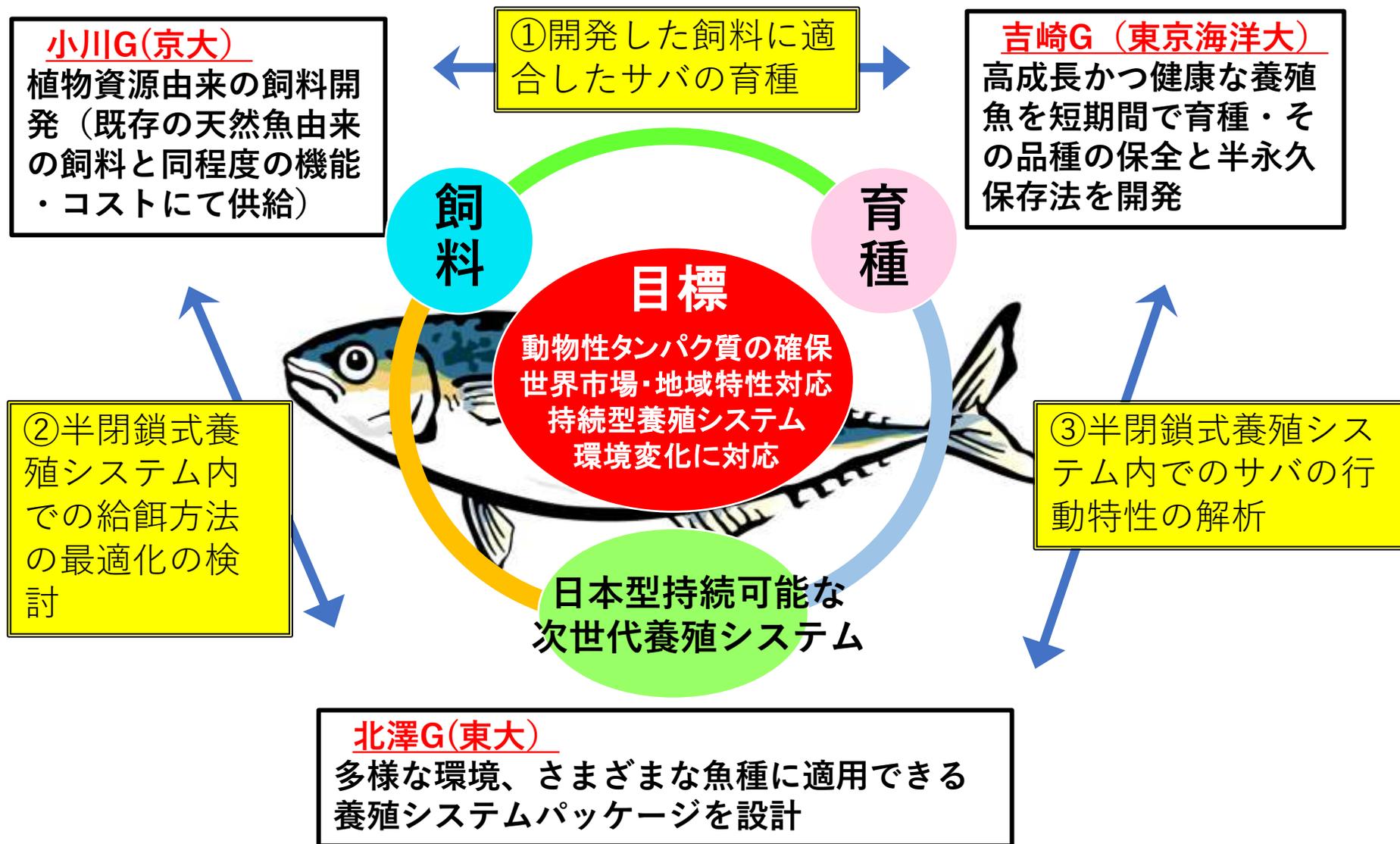
- 植物素材から必須栄養素（脂肪酸・アミノ酸）を充分量含有する発酵物を生産する。
植物資源を活用したEPA・DHA含有餌料の生産
→脱脂大豆からの発酵DHA生産を達成
飼料中の魚油由来DHAの20%代替を達成
- 必須栄養素に由来する代謝物を同定し、その生理機能を活用する。
新規代謝物の検討
- 必須栄養素を産生・変換する腸内細菌を単離し、そのプロバイオティクス機能を活用する。
腸内細菌の検討



JST未来社会創造事業：日本型持続可能な次世代養殖システムの開発

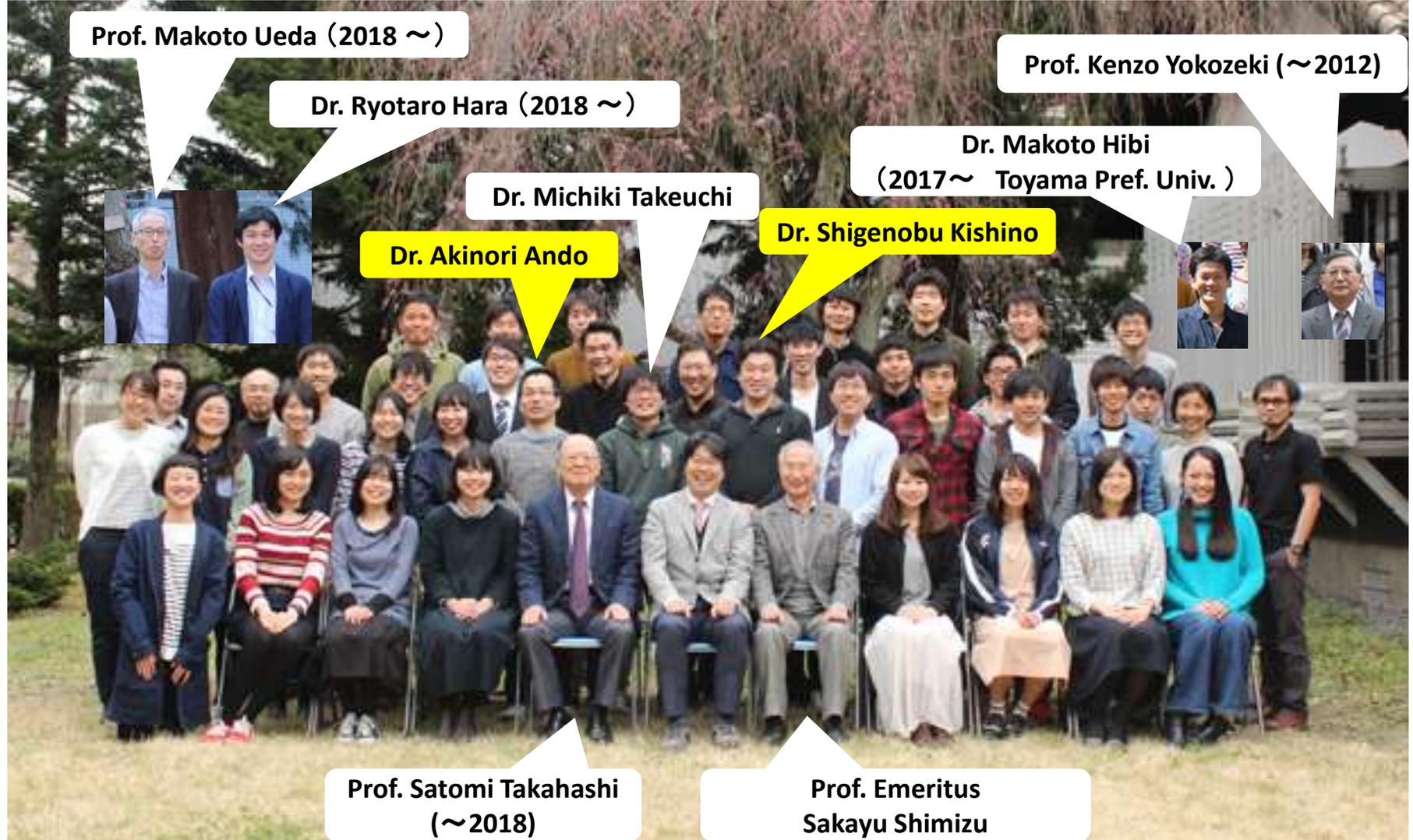
国立研究開発法人 水産研究・教育機構

中山一郎



Acknowledgments

Hakko Lab. (Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric. Kyoto Univ.)



Prof. Makoto Ueda (2018 ~)

Dr. Ryotaro Hara (2018 ~)

Dr. Michiki Takeuchi

Dr. Akinori Ando

Dr. Shigenobu Kishino

Prof. Kenzo Yokozeki (~2012)

Dr. Makoto Hibi
(2017~ Toyama Pref. Univ.)

Prof. Satomi Takahashi
(~2018)

Prof. Emeritus
Sakayu Shimizu

