

クロロフィルを増やそう！ ～藻類の培養と光周期の違いによるクロロフィル含有量変化の比較～

0415 川口市立高等学校 濱野ふう香 林真歩 山本奏 吉野日和

研究背景

- 本校のボート部が練習している漕艇場で藻の大量発生があった。
- この藻類を何かに活用できないかと調べたところクロロフィルの有用な活用例を知った。[1][2]
- 藻類を育てる条件を変えることで含まれるクロロフィルの量を増加させることができるのではないかと考えた。

漕艇場に生えていた藻類の同定

2024/06/06に採集した糸状藻類を光学顕微鏡を用いて観察

- 形が無分枝の線状
- 葉緑体のリボン形でらせん状
→緑藻アオミドロであると同定した(図1、2)

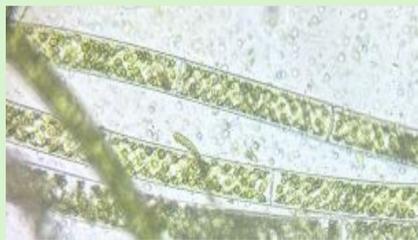


図1 採集した藻類

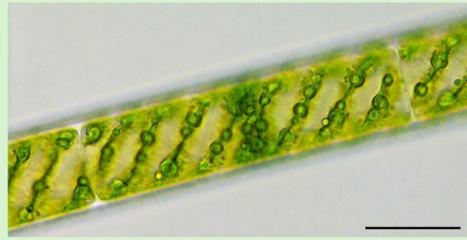


図2 緑藻アオミドロ [3]

藻類の培養方法

- 100mL三角フラスコ、ゴム栓、C培地を滅菌した
- フラスコにC培地50mLとアオミドロを0.5g入れ、ゴム栓をした
- 3台の人工気象器に、(2)で準備したフラスコを2株設置した(図3)



図3 培養中の人工気象器

実験1:培養条件

- 6時間ごとに明暗変化 (6:6 L/D)
- 12時間ごとに明暗変化 (12:12 L/D)
- 16時間明期、8時間暗期 (16:8 L/D)

図4 日照条件の図解

の3つの培養条件下(図4)で1週間の培養を2回行った。

抽出方法

培養後全量のアオミドロ

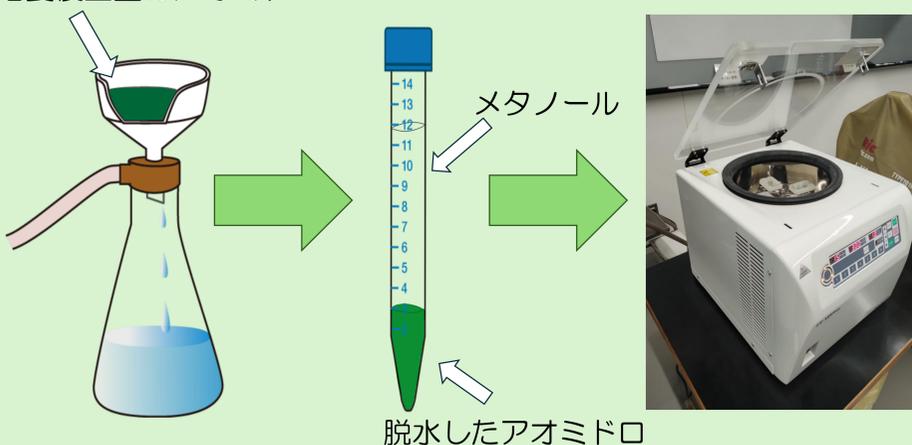


図5 色素の抽出方法

使用した分析機器

実験1ではデータの測定にe-HPLCを用いて分析し、実験2では光電比色計を用いた(図6)。



図6 e-HPLC(左)と光電比色計(右)

分析方法

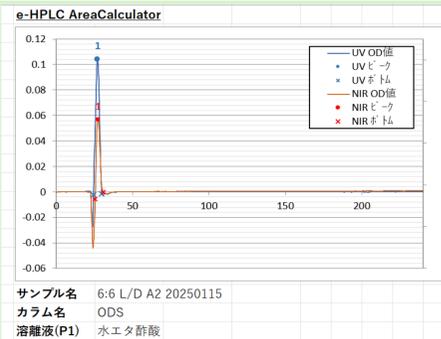


図7 6:6 L/Dのデータの一部

- 測定したデータを、専用Excelファイルを用いてグラフ化(図7)
- NIRボトムを設定しその間を積分
- 求めた面積を各培養条件で比較

実験1:結果

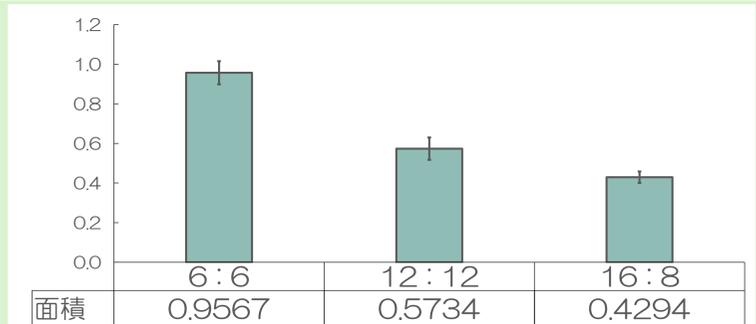


図8 ピーク面積の平均値

P値

- 6:6 L/Dと16:8 L/D 0.00033
- 6:6 L/Dと12:12 L/D 0.00001
- 12:12 L/Dと16:8 L/D 0.046208

※測定は1株につき2回行い、平均を求めて測定誤差を小さくした値を表示している。また、誤差範囲は標準誤差を用いた。
有意水準 $\alpha=0.05$ として、帰無仮説「光周期によってクロロフィル含有量は変化しない」とし、対応仮説を「光周期によってクロロフィル含有量は変化する」とし、t検定を行うことでデータに有意差があるとしている。

実験1:考察

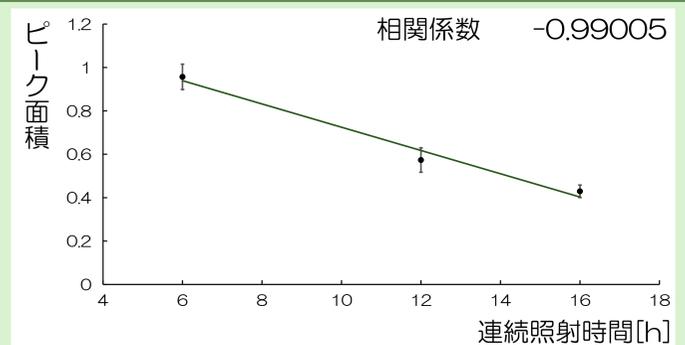


図9 散布図と近似直線

○連続照射時間が長くなるほどクロロフィル含有量が減少(図9)
→クロロフィル含有量と連続照射時間には負の相関がみられる

- 24時間あたりの日照時間が異なっていること
- 分析方法として積分区間を手動で決定していること
- 検出に用いた波長が970nmであったこと

上記の3点が、結果に影響している可能性がある。

実験2:培養方法

- (1)プラスチックカップにC培地とアオミドロを入れた
- (2)エアープンプでエアレーションをした(図10)



図10 培養の様子

実験2:培養条件

- (1) 4時間明期、2時間暗期
(4 : 2 L/D)



- (2) 8時間明期、4時間暗期
(8 : 4 L/D)



- (3) 16時間明期、8時間暗期
(16 : 8 L/D)

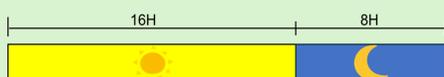


図11 日照条件の図解

の3つの培養条件下(図11)で3株ずつ1週間の培養実験を行った。

分析方法

ランベルト・ベールの法則^[7]

$$E = kcl$$

E: 吸光度 k: 比例定数 c: 溶液の濃度 l: 光路長

吸光度は溶液の濃度と光路長に比例する。今回の実験では用いた石英セルの長さが同じなので光路長が一定になることから、吸光度は溶液の濃度のみに比例する。

→この実験では溶液の濃度をクロロフィル含有量とする。

- (1) 実験1と同様の手順で、色素をメタノールで抽出
- (2) 光電比色計(図6)で抽出液の吸光度をクロロフィルの吸収波長である420nmで測定

実験2:結果

表1 各培養条件における吸光度

4 : 2	8 : 4	16 : 8
1.097	1.000	0.959
1.046	1.000	1.000
1.046	1.046	1.046
1.000	1.046	0.921
1.046	1.097	1.000
	1.097	
	1.046	

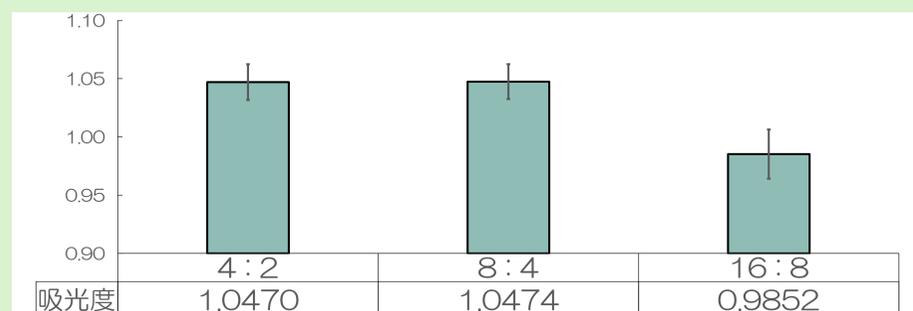


図12 吸光度の平均値

実験2:考察

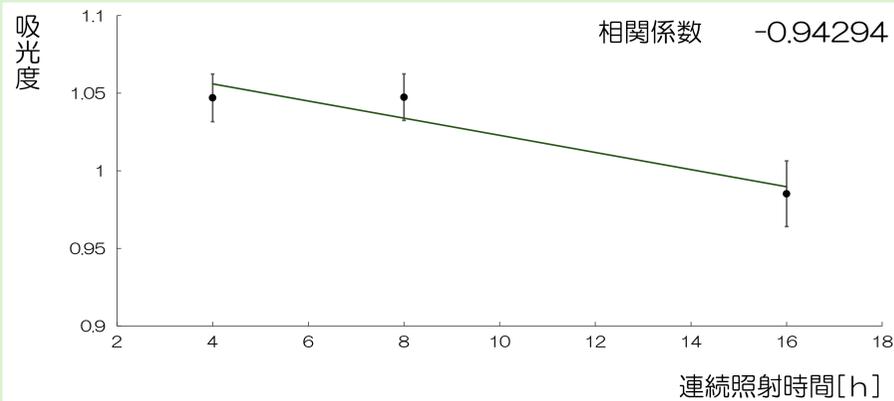


図13 散布図と近似直線

- 吸光度と連続照射時間に負の相関がみられる
- ランベルト・ベールの法則より、吸光度は物質の濃度に比例する
 - クロロフィル含有量と連続照射時間には負の相関がみられる

研究のまとめ

- 実験1で測定したデータ(970nm)と実験2で測定したデータ(420nm)、ともに同程度の相関がみられた。
- どちらも強い負の相関がみられた。
 - 連続照射時間が長くなるとクロロフィル含有量は少なくなる。
 - クロロフィルを増やすためには連続照射時間を短くすれば良い!
- ★ 吸光度と連続照射時間の関係を近似できる関数を調べたい。
 - より細かい区間での吸光度の変化を調べる。

謝辞

本研究・発表において、熱心なご指導・ご協力いただきましたお茶の水女子大学の嶋田先生、植竹先生、川口市立高校の福原先生、山本先生、吉岡先生をはじめとした先生方に感謝の意を表します。

参考文献

- [1] 緑葉抽出物で染色した綿布によるアンモニアの消臭性
<https://jissen.repo.nii.ac.jp/records/1214>
- [2] 光合成できるボールMBRの開発
<https://event.yomiuri.co.jp/jssa/storage/archives/68/HB001CE.pdf>
- [3] ストレプト植物アオミドロ (*Spirogyra*) の画像集
http://plankton.image.cocan.jp/c_algae3_10_2.html
- [4] 海藻に含まれている色素の新しい分析方法
https://drive.google.com/file/d/13QFLnEmkPy_t4yCe8RrHP63ti3_Bc6ME/view?usp=classroom_web&authuser=0
- [5] 培養関係/嶋田研究室(植物系統進化学)
https://www-p.sci.ocha.ac.jp/bio-shimadalab/ex_protocol/pr_01baiyo.html
- [6] e-HPLC ことりUNIFLOWS
<https://www.uniflows.co.jp/uniflowswp/e-hplc>
- [7] 公益社団法人 日本分析化学会 吸光光度法
<https://www.jsac.or.jp/bunseki/pdf/bunseki2008/200804nyuumon.pdf>

(最終閲覧日 2025/7/31)

使用素材サイト

- 研究ネット
<https://www.wdb.com/keno>
- 素材ラボ
<https://www.sozaillab.jp/>
- いらすとや
<https://www.irasutoya.com/>
- かがくイラスト
<https://science-illustr.com/>