

藻類連続培養装置による深層水を用いた 微細藻類の連続培養

Continuos Culture of Microalga With Deep Seawater by Photobioreactor

梅田 到¹・小善 圭一²・辰巳 勲³・中島 敏光⁴・本間 昭郎⁵

Itaru UMEDA, Keiichi SHOZEN, Isao TATSUMI, Toshimitsu NAKASHIMA and Akio HONMA

Abstract

The growth characteristics of the marine diatom, *Chaetoceros ceratosporum* OSTENFELD were examined using a photobioreactor (capacity:180l) in order to develop a continuous culture system with deep seawater collected from off Namerikawa City in Toyama Prefecture at a depth of 300m. *Ch. ceratosporum* is a very important microalgal species, preyed on bivalves and other invertebrates. Continuos culture was conducted under optimum temperatures (15–20°C). Long term culture for 131 days including 129 days of stable continuous culture, was successfully carried out using the culture system we developed. Specific growth rate (μ) was 1.08/day under batch culture conditions. The cell yield at 1.0/day dilution rate was similar to that at 1.2/day dilution rate. The maximum cell yield was 791×10^8 cells/day at a 1.2/day dilution rate. It is generally known that cells wash out from continuous culture system, if the dilution rate is higher than the specific growth rate.

Therefore this system should be operated below a 1.2/day dilution rate.

Key Words: Deep sea water, diatom, *Chaetoceros ceratosporum*, continuos culture, photobioreactor, dilution rate,

1. はじめに

深層水は表層水と比較し、富栄養性、清浄性、低温性などの特性があることが知られている。これまで、これらの特性の有効利用として微細藻類（植物プランクトン）を基底とする海洋の基礎生産力を強化する技術の概念¹⁾や浮遊性の微細藻類や付着珪藻についてのバッチ式培養^{2) 3) 4) 5)}や連続培養^{6) 7)}の研究がなされてきた。しかし、それらの多くはフラスコ等を用いた小容量での実験や、数日～数十日単位の短期間を対象にしたものであり、特に、深層水を利用した長期間の連続培養系における微細藻類の実験事例は少ない。キートセロス等の単細胞浮遊珪藻は海産の無脊椎動物等の種苗生産に必要な不可欠な餌料生物となっており^{8) 9)}、低コストで効率的な大

量培養が求められている。今回、深層水による珪藻類の連続培養における増殖特性の把握を目的に、藻類連続培養装置¹⁰⁾を用い、餌料生物として有用な *Chaetoceros ceratosporum* OSTENFELD の長期間の培養を行った。その結果について報告する。

2. 材料と方法

(1) 試験株

培養試験には海洋科学技術センターから分与された浮遊性珪藻類 *Chaetoceros ceratosporum* を用いた。本株は高温性の単細胞（細胞サイズ約 5 μ m）で二枚貝等の初期餌料として使用されている^{11) 12)}。試験株は、Guillard の f/2¹³⁾を用い、培養温度 15 °C、光の強さ 40 μ E $\cdot$ m⁻² $\cdot$ s⁻¹（連続照射）の条件下で継代培養したものを用いた。

¹⁾ 住原製作所総合事業統括システム計画室（〒108-8480 東京都港区港南 1-6-27）

²⁾ 富山県水産試験場栽培・深層水課（〒936-0011 富山県滑川市高塚 364）

³⁾ 清水建設㈱土木本部（〒105-8007 東京都港区芝浦 1-2-3 シーパンス S 館）

⁴⁾ 海洋科学技術センター海洋生態・環境研究部（〒235-0061 神奈川県横須賀市夏島町 2-15）

⁵⁾ マリノフォーラム 21 種苗生産システム研究会（〒110-0016 東京都台東区台東 4-8-7）

(2) 実験供試水

実験供試水としては富山県水産試験場の深層水取水施設¹⁴⁾で汲み上げられた深度 321 m の海水（未処理）を用いた。バッチ培養実験では 1998 年 9 月 2 日に汲み上げられた海水を供試水とした。また、連続培養実験では 1998 年 11 月 10 日から 1999 年 3 月 21 日の期間中に汲み上げられた海水を供試水とした。

(3) 藻類連続培養装置の概要

図-1 及び写真-1 に藻類培養装置のシステムと外観をそれぞれ示す。深層水はローラーポンプを用い培養槽内に投入され培養細胞を含む培養液を同量収穫するシステムとなっている。光の照射は培養槽内に設置されたハロゲンランプ 6 本を光源として用い、水温は冷却水を循環することにより制御し 15~20℃に保った。表-1 に本装置の仕様および主要構成機器の仕様を示す。

(4) 実験方法

① バッチ培養下での *Ch. ceratosporum* の増殖に対する温度の影響

Ch. ceratosporum の連続培養における最適な培養温度を決定するために、バッチ培養において本株

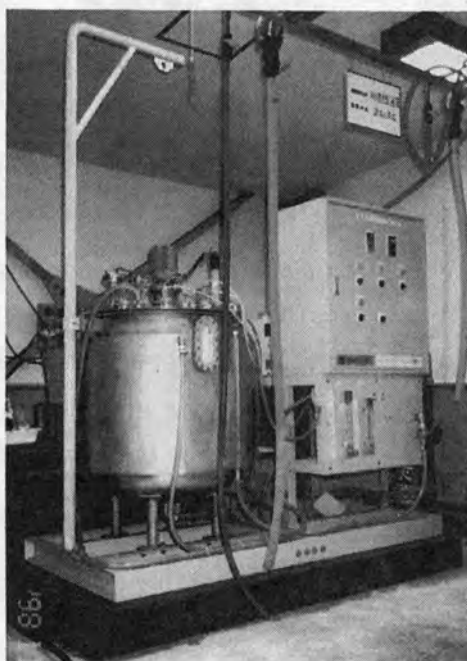


写真-1 藻類連続培養装置の外観

表-1 装置仕様と主要構成機器仕様

装置仕様	培養容量	180 L
	培養液 pH 調整	二酸化炭素添加による pH 一定制御
	培養液温度調整	クーラ冷却水による培養槽外面冷却
	外形寸法	培養槽 幅 1,000 mm, 高約 1,400 mm, 奥 1,000 mm
		操作部 幅 1,000 mm, 高約 1,700 mm, 奥 1,000 mm
	電源	動力 1.2 KW, 3 相 200/220 V, 50/60 Hz
		制御 1.5 KW, 単相 100/110 V, 50/60 Hz
	設置場所	屋内
培養槽	有効容量	180 L
	材料	SUS316L
pH 計	pH 電極	G・R・T 複合電極 (8,300)
	指示調節計	CP-480 型
ユニット クーラ	型式	RKS-400-D
	電源	3 相, 200 V, 50/60 Hz
	消費電力	380/460 W,
	電源容量	1.8 kVA
	冷却能力	0.89/1.02 kW
	循環水量	15~24 L/min
温度計	温度センサ	測温抵抗体
	温度指示計	AR24
光源	型式	JD100V130WN-EF
	定格	電圧 100V, 消費電力 140 W
	数量	6 本
散気用空気源	型式	200GJ-H (エアポンプ)
	電源	AC100 V, 50/60 Hz
	消費電力	220/260W,
	吐出風量	200/210L/min
散気管	標準吐出風量	30~40 L/min
	材料	SUS316
培養槽攪拌機	型式	パドル式
	減速機	小型 4,000 シリーズ サイクロ減速機

の温度依存性の予備試験を行った。培養は 200 ml 三角フラスコに深層水 100 ml を入れ、通気量 100

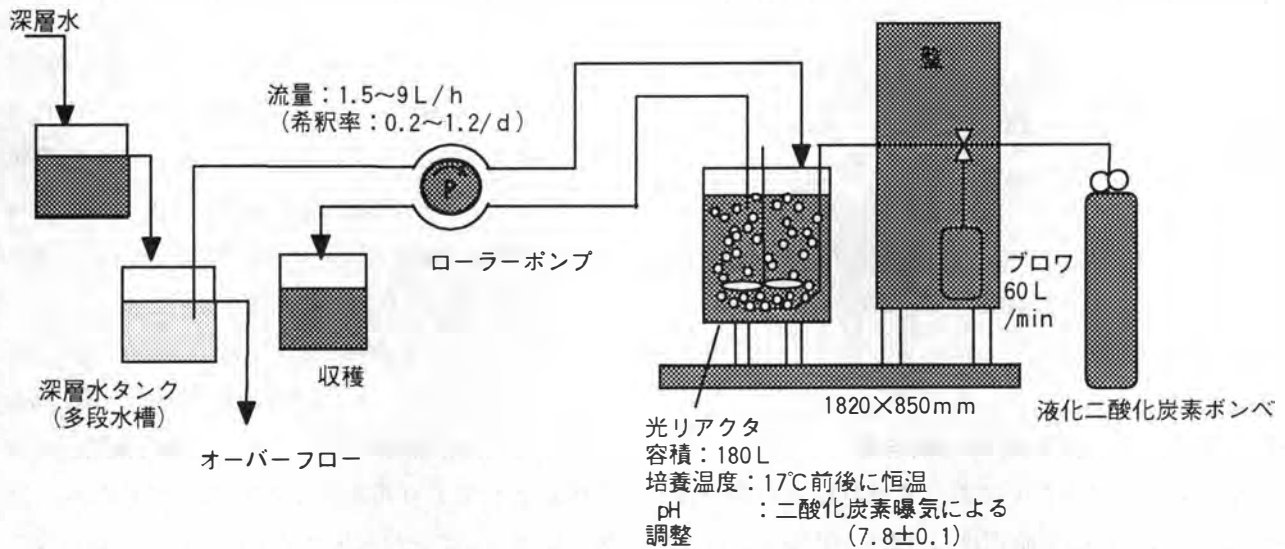


図-1 藻類連続培養装置のシステム

ml/分、光の強さ $80 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、培養温度 10°C 、 15°C 、 20°C および 25°C の条件下で行った。細胞密度の経日測定を行い、その増殖曲線から下式により比増殖速度（ μ ）を算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

ここで、 N_2 および N_1 はそれぞれ t_2 および t_1 時の細胞密度を示す。

② *Ch. ceratosporum* の連続培養

培養温度は 17°C 前後に調整した。pH は 7.8 ± 0.1 に制御した。制御方法はリアクタ内に設置したセンサにより pH が設定値より 0.1 高くなった時点で二酸化炭素を供給し、設定値より 0.1 低くなった時点で供給を止め調整した。通気量は 60 L/分、攪拌は 50 r.p.m. に設定した。外部からの栄養塩添加は行わず、深層水中の栄養塩でのバッチ培養を開始し、細胞密度 10×10^4 細胞/ml になった時点で連続培養にきり換えた。

3. 結果と考察

(1) バッチ培養下での *Ch. ceratosporum* の増殖に対する温度の影響

図-2 に細胞密度の経時変化を示した。培養温度 20°C および 25°C では、培養開始 3 日目で最大細胞密度はそれぞれ 14.4×10^4 細胞/ml および 17.5×10^4 細胞/ml に達した。その後、減少し、培養開

始 14 日目にはそれぞれ 2.0×10^4 細胞/ml および 1.6×10^4 細胞/ml となった。培養温度 15°C の時は培養開始 6 日目で最大細胞密度の 14×10^4 細胞/ml に達した。培養開始 6 日目から 14 日目の間も細胞密度は 9×10^4 細胞/ml 以上で安定していた。 10°C では、最大細胞密度は 3.6×10^4 細胞/ml であった。

表-2 に最大細胞密度、比増殖速度を示した。

Ch. ceratosporum は高水温下（ $28 \sim 30^\circ\text{C}$ ）で培養が可能であることが知られている¹²⁾。今回、比増殖速度（ μ ）は培養温度 20°C および 25°C でそれぞれ 1.12/日および 1.17/日であり、高温耐性であることが確認された。しかし、培養に用いる深層水の温度は年間平均で 3.0°C と低く、加温に必要なエ

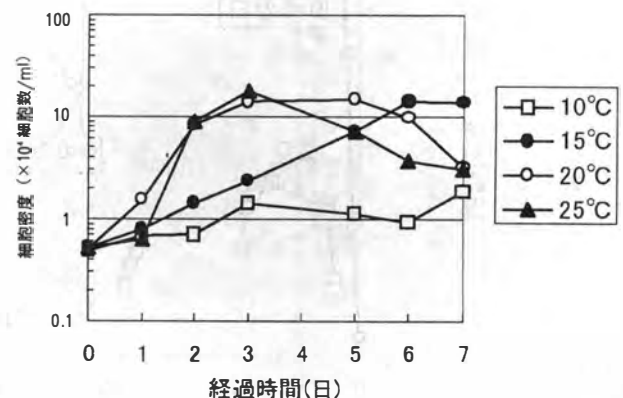
図-2 バッチ培養下での *Ch. ceratosporum* の増殖に対する温度の影響

表-2 各培養温度における最大細胞密度と比増殖速度

	10℃	15℃	20℃	25℃
最大細胞密度 ($\times 10^4$ 細胞/ml)	3.6	14.4	14.5	17.5
比増殖速度 (μ)	0.17	0.55	1.12	1.17

エネルギーを考慮し、エバラ光リアクタを用いた *Ch. ceratosporum* の培養温度は 15℃ から 20℃ で行うことに決定した。

(2) *Ch. ceratosporum* の連続培養

図-3 に連続培養下における細胞密度の経時変化を示した。初期細胞密度は 1.2×10^4 細胞/ml であった。バッチ培養において培養開始 2 日目で 10.1×10^4 細胞/ml に達した。この間の比増殖速度 (μ) は 1.08 であった。この時点から培養開始 20 日目まで、希釈率 0.2/日で連続培養を行った。連続培養開始後、細胞密度はいったん増加し 6 日目には 61.0×10^4 細胞/ml まで達したが、その後、安定しこの期間の平均細胞密度は約 45.0×10^4 細胞/ml であった。20 日目から希釈率を 0.5/日に上げ、44 日目まで運転した。平均細胞密度は約 36.5×10^4 細胞/ml であった。さらに希釈率を 0.7/日に上げ、78 日目まで運転した。細胞密度は希釈率を上

げた直後 7.8×10^4 細胞/ml まで減少したが、その後回復し 58 日目から細胞密度は安定した。58 日目から 78 日目間での平均細胞密度は 42.7×10^4 万細胞/ml であった。79 日目から 89 日目まで希釈率 1.0/日で、平均細胞密度は 40.5×10^4 /ml であった。その後、90 日目以降から希釈率 1.2/日で、 35.0×10^4 細胞/ml 以上の細胞密度で 27 日間維持することができた。その後 *Ch. ceratosporum* の細胞密度は急速に低下した。この原因は *Ch. ceratosporum* 以外の混入微細藻類や原生動物が連続培養開始時から確認されており希釈率 1.2/日に上昇した後、急激に増加したことに起因するものと考えられた。この間、合計 131 日間の培養（連続培養：129 日）を連続的に行うことができた。

表-3 には各希釈率における平均細胞密度と細胞収量を示す。細胞収量は収穫容量と平均細胞密度との積を 1 日当たりに得られる細胞数として示した。平均細胞密度は希釈率 0.2/日～1.0/日ではほぼ一定で $39.5 \sim 43.7 \times 10^4$ 細胞/ml であった。1.2/日に上げると約 13% 減少し、 36.7×10^4 細胞/ml となった。

図-4 に希釈率と細胞収量の関係を示した。希釈率が増大するほど細胞収量は増加した。

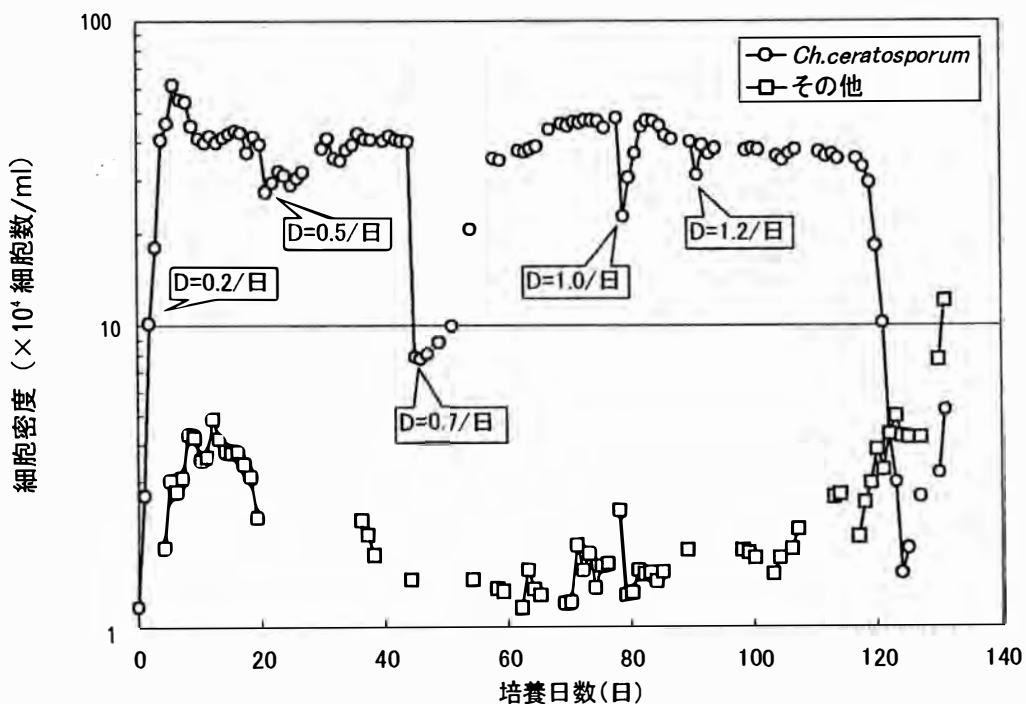


図-3 連続培養における細胞密度の経時変化

表-3 連続培養における希釈率と平均細胞密度および細胞収量の関係

希釈率 (/日)	収穫容量 (L)	平均細胞密度 ($\times 10^4$ 細胞/ml)	細胞収量 ($\times 10^8$ 細胞/日)
0.2	36	42.0	151.3
0.5	90	39.5	355.7
0.7	126	43.7	550.7
1.0	180	43.7	786.8
1.2	216	36.7	791.6

以上の知見から、藻類連続培養装置を用いた *Ch. Ceratosporum* の深層水連続培養系において、129 日間の長期間連続培養ができ、その安定的な増殖特性が把握できた。

また、希釈率 1.2/日の時平均細胞密度 36.7×10^4 細胞/ml、細胞収量 791.6×10^8 細胞/日を得ることが出来た。ここで収穫した細胞密度は二枚貝等の種苗生産に対応できる密度であった。

今後、他の餌料藻類の深層水連続培養についても本装置の応用の可能性が期待できる。

本研究は(社)マリノフォーラム 21・種苗生産システム研究会「深層水の多段利用のための基礎的研究」種目の中で平成 10 年度に実施された成果である。

参考文献

- 1) 中島敏光, 豊田孝義: 深層水人口湧昇-海洋生物生産への応用-, 月刊海洋, Vol. 21, 618-625, 1989
- 2) 中島敏光: 海産珪藻 *Skeletonema costatum* の増殖に及ぼす海洋深層水の影響, 日本プランクトン学会報, Vol. 35, 45-55, 1988
- 3) 中島敏光: 海洋深層水中での珪藻 *Skeletonema costatum* の誘導期を解消する諸因子 I. 有機物による解消, 日本プランクトン学会報, Vol. 38, 105-111, 1992.
- 4) 中島敏光: 海洋深層水中での珪藻 *Skeletonema costatum* の誘導期を解消する諸因子 II. 表層水による解消, 日本プランクトン学会報, Vol. 38, 105-111, 1992.
- 5) Fukami, K., T. Nishijima, and Y. Hata: Availability of deep seawater and effect of bacteria isolated from deep seawater on the mass culture of food microalga *Chaetoceros ceratosporum*. Nippon Suisan Gakkaishi, Vol. 58, 931-936, 1992.

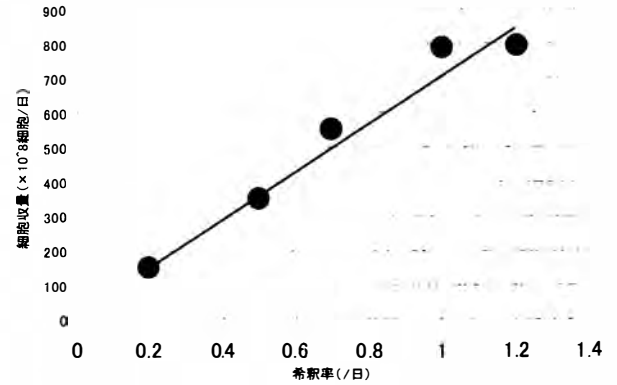


図-4 希釈率と細胞収量の関係

- 6) Fukami, K., S. Nishimura, and M. Ogusa: Continuous culture with deep seawater of a benthic food diatom *Nitzschia* sp. Hydrobiologia, Vol. 358, 245-249, 1997.
- 7) Fukami, K., A. Kawai, M. Okabe, T. Hotta, T. Moriyama, S. Doi, T. Nishijima, M. Yamaguti, and M. Taniguchi: Continuous and simultaneous cultivation of benthic food diatom *Nitzschia* sp. and abalone *Haliotis sieboldii* by using deep seawater. J. Mar. Biotech, Vol. 6, 237-240, 1998.
- 8) 岡内正典: 水産餌料としての利用, 微細藻類の利用(山口勝巳編), 水産学シリーズ 91, 恒星社厚生閣, 75-79, 1992.
- 9) 梅田到: 珪藻, 沿岸の環境圏(平野敏行編), フジテクノシステム, 1326-1331, 1997.
- 10) 梅田到, 上西敏夫: 光リアクタによる水産餌料の生産, エバラ時報, No. 176, 32-39, 1997-7.
- 11) 天神あきら, 石井孝幸: ウニ類と二枚貝の幼生飼育のための餌料生物, 福島種苗研報, Vol. 1, 29-34, 1984.
- 12) 田中彌太郎: 二枚貝類幼生餌料としての耐高温性珪藻 *Chaetoceros ceratosporum* OSTENFELD の有用性について. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, No. 3, 31-36, 1982.
- 13) Guillard, R.R.L., Ryther, J.H.: Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula convolvacea* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol. No.8, 229-239, 1962.
- 14) 松里寿彦: 富山県における深層水利用研究, 沿岸の環境圏(平野敏行編), フジテクノシステム, 1266-1279, 1997.
- 15) 合葉修一, 永井史郎: 増殖における反応速度, 生物化学工学, 化学工学シリーズ XI, 化学技術社, 153-192, 1975.

(2000. 2. 29 受付)