

フェオダクチラムの濃縮と長期保存後の増殖について

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-04-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 小林, 真人
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014396

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.



フェオダクチラムの濃縮と長期保存後の増殖について

小林 真人^{*1}

(1992 年 12 月 16 日受理)

フェオダクチラム (*Phaeodactylum tricornutum*) は、フェオダクチラム科に属し、現在 1 属 1 種とされている。本種は比較的低水温で良く増殖することから、日本栽培漁業協会では厚岸、宮古、能登島、宮津、南伊豆事業場で培養を行っている。

日本栽培漁業協会能登島事業場では、ホッコクアカエビの餌料として 12~4 月に培養し、平均水温 4°C 前後での日間増殖率は約 20% と高い。しかし、3~4 月の水温上昇期に増殖の停滞が起こり、培養液中の細胞数の減少がみられる。このように低水温で良く増殖する反面、高水温ではしばしば培養が不調となり、餌料の供給に支障をきたすことがある。このため培養不調時の対応策として、保存用の株を確保することが不可欠であり、そのための濃縮や保存などの技術開発を日本栽培漁業協会では宮古¹⁾、能登島、宮津事業場²⁾で行っている。濃縮と保存方法を実用化するための条件は、大量の株が確保できること、保存スペースが小さいこと、長期保存が可能なこと、保存中にフェオダクチラムの増殖能力が低下しないことなどが挙げられる。

日本栽培漁業協会能登島事業場では、ナンノクロブシスの濃縮にノズルセパレーター式とデスラッジ式の大型遠心分離機を使用している。濃縮したナンノクロブシスを小型の容器に収容し、通気して冷蔵保存すると、保存後 9 ケ月目の株でも増殖がみられ³⁾、保存用の株として実用化されている。

このことから、フェオダクチラムでも大型の遠心分離機で濃縮し、保存用の株としての実用の可能性について試験を行い、2, 3 の知見が得られたので、ここに報告する。本報告の取りまとめに当たり、日本栽培漁業協会能登島事業場廣川潤場長をはじめ職員の方々の有益な助言、御指導をいただいた。ここに記して深謝の意を表する。

材 料 と 方 法

使用した機材

ノズルセパレーター式濃縮機^{*2} この機種はイーストセパレーターとも呼ばれており、回転数は 5,500 回転/分であり、分離された濃縮液は連続的に排出されるため、本体内に滞留する時間は極く短時間である。濃縮倍率は、原液量と排出される濃縮液量によって決定し、イーストでは 10 倍以上の濃縮が可能である。しかし、珪藻やナンノクロブシスの場合は細胞の浮力が大きいことから、イーストほど完全に分離されず、排液中に細胞が混入する現象—いわゆる流出が生じやすい。このため濃縮倍率も 2~3 倍と低い。しかし、原液処理量が 10 m³ 以上/時と大量処理が可能なことや濃縮液が連続的に排出されるため、濃縮した細胞が本体の高速回転で生ずる摩擦熱の影響をほとんど受けないなどの長所がある。

デスラッジ式濃縮機^{*3} 回転数は 7,500 回転/分と高速であり、濃縮液を本体内に任意の時間滞留させて排出する。したがって、濃縮倍率は、本体内に滞留させる濃縮時間と排出液量により変化させることが可能で、ナンノクロブシスでは 50~800 倍の高濃度濃縮ができる。しかし、本体内に濃縮液を滞留させるため、濃縮した細胞が高速回転による空気と本体の摩擦熱の影響を受けることや遠心加速度の影響を長く受けるなどの短所もある。

デスラッジ式濃縮機による試験

方法と測定項目 濃縮試験に供したフェオダクチラムは高濃度濃縮を行うため、培養水槽からノズルセパレーター式濃縮機で 1 次濃縮し、その濃縮液を使用した。試験はデスラッジ式濃縮機の濃縮時間の違いによる細胞への影響を調べるため、濃縮時間を 1, 5, 15, 30 分間に設定した。濃縮液量は 1.8 l/回として各濃縮時間で 3 回ずつ収

^{*1} 日本栽培漁業協会能登島事業場 (〒926-02 石川県鹿島郡能登島町曲 15-1-1)

^{*2} ノズルセパレーター式濃縮機: 型式 Y-250 型 (斎藤遠心機工業株式会社)

^{*3} デスラッジ式濃縮機: 型式 ADS3001CS 型 (斎藤遠心機工業株式会社)

獲し、これを1サンプルとした。なお、各試験区の濃縮は連続して行った。濃縮状況を把握するため、収獲直後の水温、pH、DO、細胞数を測定した。収獲、流失量は総細胞数で表し、得られた細胞数と水量をかけて換算し、細胞破壊量は原液総細胞数から収獲と流出の総細胞数を差し引いたものとした。

ノズルセパレーター式濃縮機による試験

方法と測定項目 濃縮倍率が低いという欠点を補うため、1～4回濃縮を繰り返すことにより、高濃度濃縮を行い、その時に細胞がどのような影響を受けるかを調べるために試験を行った。濃縮時の原液流量は $10\text{ m}^3/\text{時}$ とし、1回目は培養水槽から送水し、2～4回目は前回濃縮して得た濃縮液を水中ポンプで送水した。なお、濃縮は各回が完全に終了してから次の試験を行った。濃縮状況を把握するために、濃縮が終了する度に水温、pH、DO、細胞数を測定し、収獲量などの算出はデスラッジ式濃縮機の試験に準じた。

濃縮したフェオダクチラム株の培養試験 先の2台の遠心分離機によって濃縮したフェオダクチラム株の増殖の状況を調べるため培養試験を行った。試験に供した株は、先の二つの試験で得た濃縮液を、それぞれ容器に適量収容し、冷蔵庫内で $2\sim 3^\circ\text{C}$ に水温を維持して通気保存したのものである。試験は温室内に設置した100lパンライト水槽に、エアーストーン1個で通気して自然水温で培養を行った。株の接種はろ過海水に細胞密度が10万セル/mlとなるように行った。栄養塩は、100l当たり硝酸カリウム20g、リン酸ナトリウム2g、珪酸ソーダ1g、クレワット1gを1回分として添加し、5日毎に同量を追加した。細胞数の計数は毎日1回(AM 10:00)血球計数盤を使用して行った。また、対照区として通常培養しているフェオダクチラムを同様に培養して比較した。

増殖の状態の判定は、培養期間を14日間以内とし、この期間内に50万セル/mlを越えた場合は増殖良好と判定し、これに達しない場合は不良と判定した。また、試験期間中に50万セル/mlを越えた場合と細胞の減少が3日以上続いた場合はその時点で各々培養を終了した。

結 果

デスラッジ式濃縮機による試験

濃縮試験 試験結果を表1と図1に示した。1次濃縮時で405万セル/mlに濃縮されたものを、デスラッジ式濃縮機で濃縮したところ、1分間濃縮では8,800万セル/mlと21.7倍に、30分間濃縮では85,000万セル/mlと209.9倍にまで濃縮された。

収獲状況を見ると、1分間濃縮以外の3試験区では原液処理量に対し、43.8～61.6%と大きな損失がみられた。その内訳は流失と細胞破壊であり、前者は原液処理量に対して1%弱と少なく、ほとんどが後者によるものであった。また、各濃縮時に検鏡したところ、原形質が失われた細胞やその量が正常時より著しく減っている細胞が多く観察され、細胞の棘が欠損しているものも認められた。

各濃縮時の水質の推移を図2に示した。水温は1次濃縮時に 9.0°C であったものが、1分間の濃縮で 20.5°C と約 12°C もの急激な温度上昇がみられた。しかし、濃縮時間が長くなっても 20°C 以上に温度が上昇することはなかった。DOは濃縮前94.0%であったものが1分間濃縮で56.3%に低下し、ほかの3試験区では4%台にまで激減した。しかし、収獲後の濃縮液に通気を施すと24時間後には104.3～107.7%にまで上昇した。pHについても同様に急激な低下がみられ、濃縮前の8.99が6.40～5.88に低下した。これも通気を施すとpH値は上昇した。

濃縮したフェオダクチラム株の培養試験 保存後1日目と36日目の2回の培養試験を行い、その結果を図3に示した。対照区では培養後5～7日目までに50万セル/mlに達したが、デスラッジ式濃縮機で濃縮

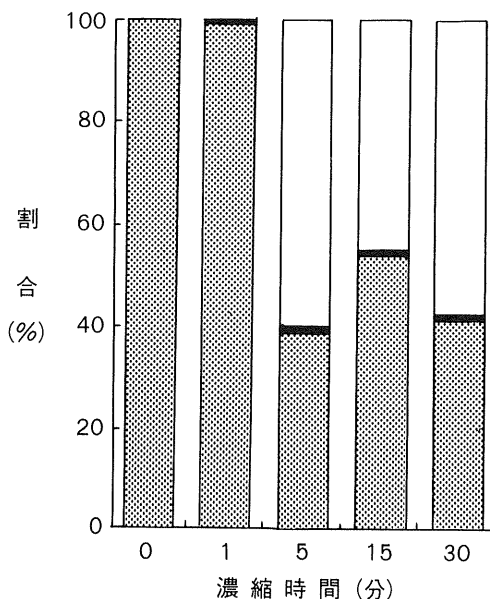


図1 デスラッジ式濃縮機による試験結果
 ■: 収獲, ■: 流出, □: 細胞破壊
 *: 濃縮時間0は濃縮前の原液処理量を表す。

表 1 デスラッジ式濃縮機による試験結果

濃縮時間	原液			収獲			損失				
	細胞数 (万セル/ml)	水量 (m ³)	総細胞数 ¹⁾ (×10 ⁶)	細胞数 (万セル/ml)	水量 (l)	総細胞数 ¹⁾ (×10 ⁹)	濃縮倍率 (倍)	収獲率 (%)	流出量 ²⁾ (×10 ⁹)	細胞破壊量 ³⁾ (×10 ⁹)	細胞破壊率 ⁴⁾ (%)
1分	405	0.10	405	8800	5.4	475.2	21.7	117.3 ⁵⁾	2.6	—	—
5分	405	0.50	2025	14400	5.4	777.6	35.6	38.4	13.0	1234.4	61.0
15分	405	1.50	6075	62500	5.4	3375.0	154.3	55.6	39.0	2661.0	43.8
30分	405	3.00	12150	85000	5.4	4590.0	209.9	37.8	78.0	7482.0	61.6

- 1) 総細胞数 = 細胞数 $\times$ 水量。
2) 分離後の排液に混入して流出したものを。
3) 細胞破壊量 = 原液総細胞数 - 収獲総細胞数 - 流失量。
4) 細胞破壊率 = 細胞破壊量 $\div$ 原液総細胞数 $\times 100$ 。
5) 機械内に付着していたフェオダクティラムが混入したためである。

表 2 ノズルセパレーター式濃縮機による試験結果

濃縮回数	原液			収獲			損失				
	細胞数 (万セル/ml)	水量 (m ³)	総細胞数 ¹⁾ (×10 ¹⁰)	細胞数 (万セル/ml)	水量 (m ³)	総細胞数 ¹⁾ (×10 ¹⁰)	濃縮倍率 (倍)	収獲率 (%)	流出量 ²⁾ (×10 ¹⁰)	細胞破壊量 ³⁾ (×10 ¹⁰)	細胞破壊率 ⁴⁾ (%)
1	131	32.00	4192.0	545	5.80	3161.0	4.2	75.4	49.9	981.1	23.4
2	545	5.80	3161.0	2475	1.21	2994.8	4.5	94.7	20.4	145.8	4.6
3	2475	1.21	2994.8	10900	0.27	2943.0	4.4	98.3	3.8	48.0	1.6
4	10900	0.23	2507.0	34200	0.07	2394.0	3.1	95.5	2.8	110.2	4.4
	131	32.00	4192.0	34200	0.07	2394.0	261.1	57.1	76.9	1285.1	30.7

- 1) 総細胞数 = 細胞数 $\times$ 水量。
2) 分離後の排液に混入して流出した総細胞数。
3) 細胞破壊量 = 原液総細胞数 - 収獲総細胞数 - 流失量。
4) 細胞破壊率 = 細胞破壊量 $\div$ 原液総細胞数 $\times 100$ 。

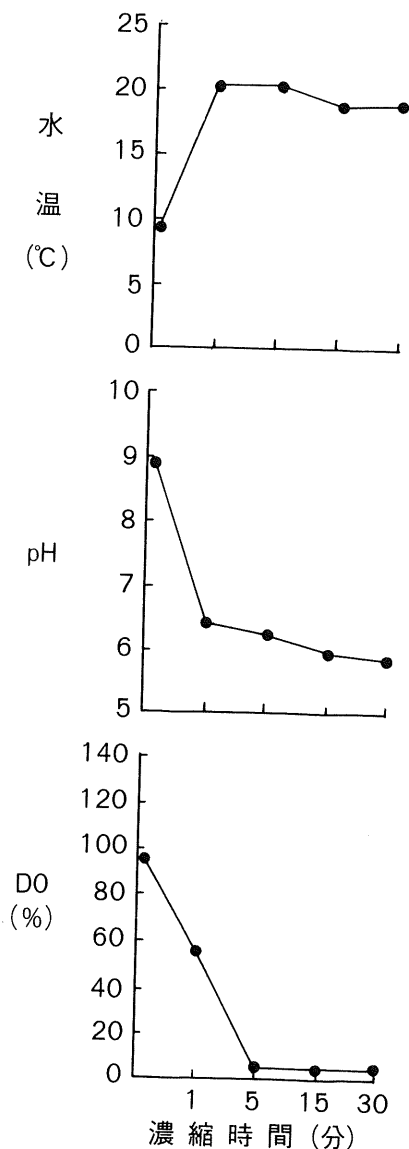


図2 デスラッジ式濃縮機による試験時の水質の推移

* 濃縮時間0は濃縮前の水質を表す。

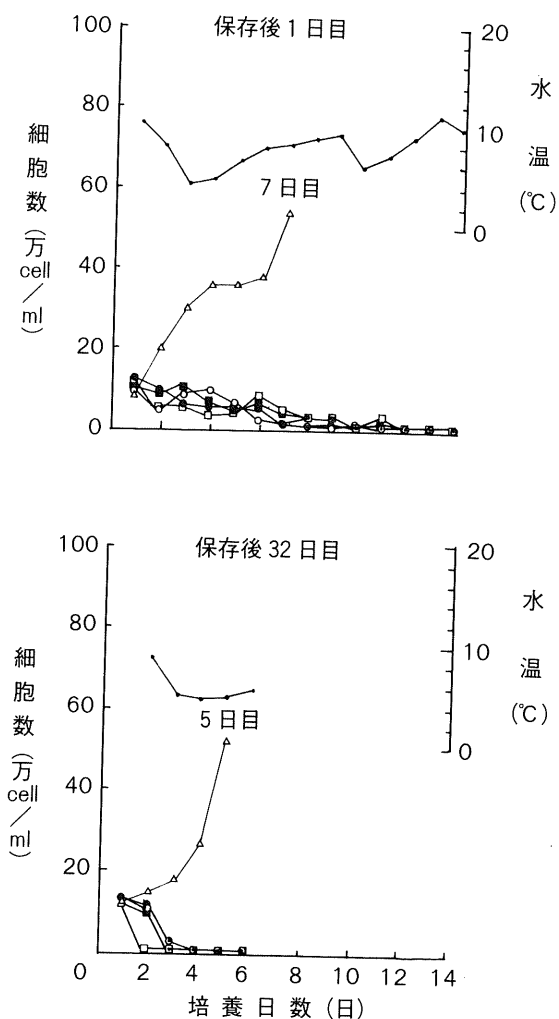


図3 デスラッジ式濃縮機によって得られた株の培養試験結果

○: 1分間濃縮, □: 5分間濃縮, ●: 15分間濃縮, ■: 30分間濃縮, △: 対照区, ・: 水温。

* 水温は各試験区ともほぼ同様であったことから対照区のみを記した。

したどの試験区においても増殖はみられなかった。

ノズルセパレーター式濃縮機による試験

濃縮試験 試験結果を表2と図4に示した。濃縮1回当たりの濃縮倍率は3.1~4.5倍と低いものの、濃縮前に131万セル/mlであったが、濃縮4回目には34,200万セル/mlとなり、通算濃縮倍率は261.1倍にまで達した。

収獲状況は濃縮前の 4192×10^{10} 個が、濃縮4回目で 2394.0×10^{10} 個となり、通算収獲率は57.1%とデスラッジ方式と比較して高い値を示した。この時の損失内訳は、流出量が通算 76.9×10^{10} 個(1.8%)で、細胞破壊量は通算 1285.1×10^{10} 個(30.7%)とデスラッジ方式に比較してかなり少なく、デスラッジ方式でみられたような原形質を失った細胞なども多くはみられなかった。

濃縮回ごとの水質の推移を図5に示した。濃縮1回当たりの水温上昇は約2°Cと低く、4回の濃縮でもわずか

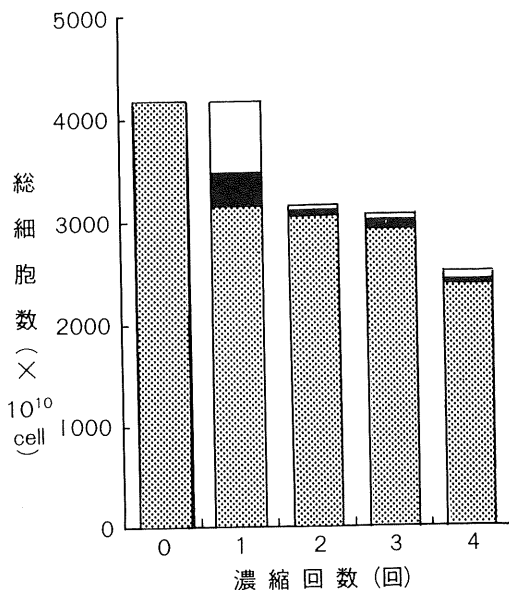


図4 ノズルセパレーター式濃縮機による試験結果
 ■: 収獲, ■: 流失, □: 細胞破壊.
 * 濃縮回数0は濃縮前の総細胞数を表す.

6°Cの上昇であった。DOは濃縮3回目までは87.8%と高い値で推移したが、細胞数が3億セル/mlを越えた4回目では2.8%と急激に低下した。pHは濃縮4回目でも8.52とデスラッジ方式のような大きな低下はみられなかった。

濃縮したフェオダクチラム株の培養試験 保存後1, 32, 72, 104日目の計4回培養試験を行った。そのときの細胞数と水温の推移を図6に示した。保存後32日目以降の培養試験では培養当初に増殖の停滞がみられたが、培養後8日目までに全試験区が50万セル/mlを越え、増殖が確認され、対照区と比較しても遜色なかった。また、試験区間の比較では濃縮回数が多いほど、増殖速度が遅れる傾向がみられた。

考 察

日本栽培漁業協会若狭湾宮津事業場ではフェオダクチラムに対する遠心加速度の影響を調べるため、小型遠心分離機により回転数を9,000回転/分まで高めて試験を行ったところ、外観上の破損は認められないが、培養をする回転数が高いほど培養初期の細胞数の低下が大きいと報告している²⁾。このことから遠心加速度による影響は、外部的な損傷よりも、細胞の内部に増殖を阻害するような影響を与えたと考えられる。また、宮津事業場でデスラッジ式濃縮機の回転数を変えて試験を行ったところ、7,300回転/分では細胞がほとんど増殖せず、5,500回転/分でも培養初期に細胞数が10分の1まで減少し、この方法で濃縮するメリットはないと報告している²⁾。この試験でも回転数を低くし、遠心加速度の影響を少なくしたにもかかわらず、増殖の状況はほとんど改善されていないことがわかる。

本研究のデスラッジ式濃縮機の試験では、結果でも述べたように、原形質が失われた細胞などが多く観察され、

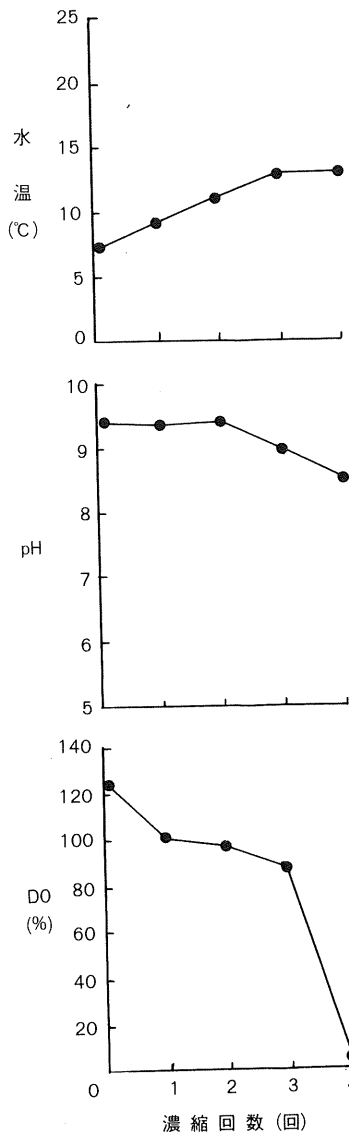


図5 ノズルセパレーター式濃縮機による試験の水質の推移
 * 濃縮回数0は濃縮前の水質を表す.

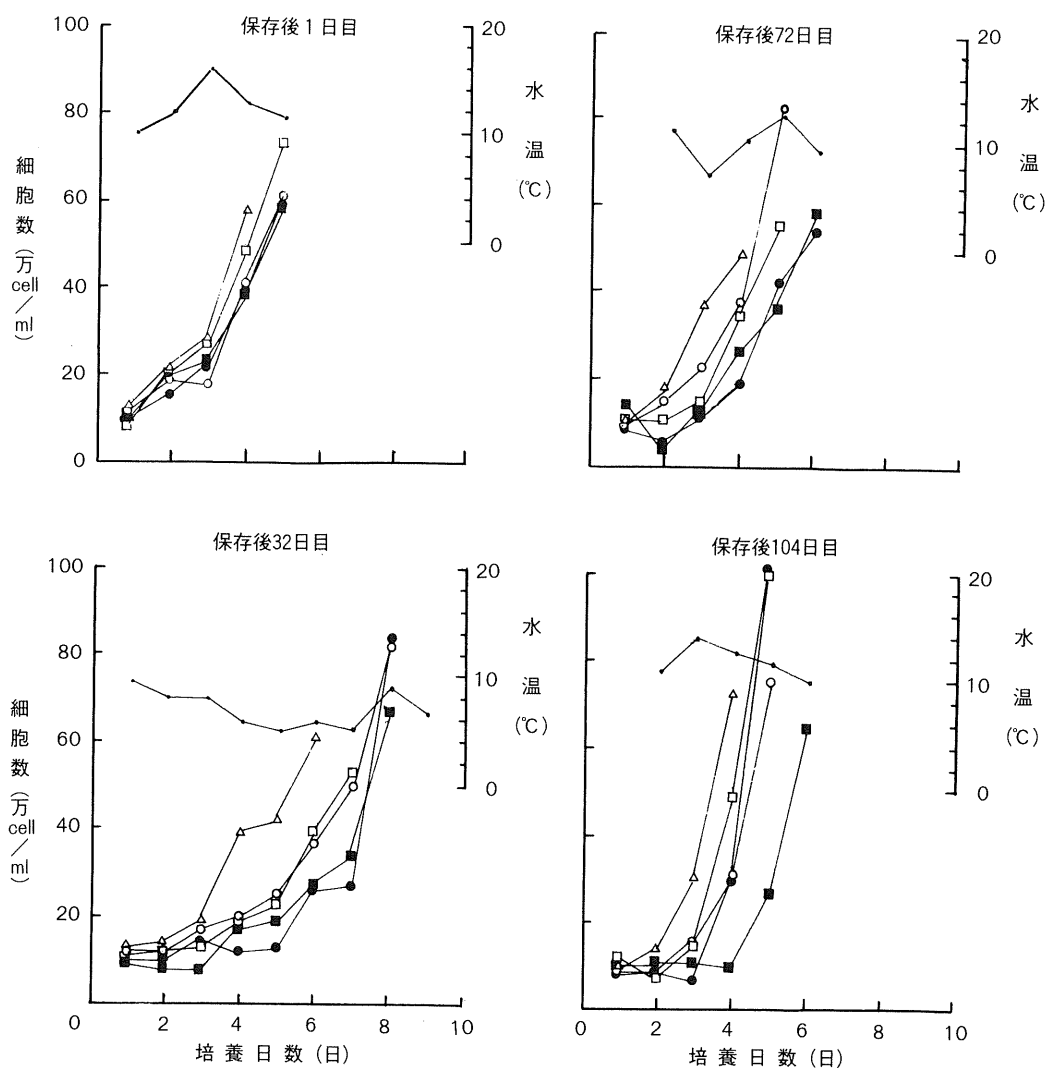


図6 ノズルセパレーター式濃縮機によって得られた株の培養試験結果
 ○: 1回濃縮, □: 2回濃縮, ●: 3回濃縮, ■: 4回濃縮, △: 対照区, ・: 水温.
 * 水温は各試験ともほぼ同様であったことから対照区のみを記した.

細胞の棘が欠損しているものも認められた。このようなことは、ノズルセパレーター式濃縮機でもみられ、大型遠心分離機では細胞内部のみでなく外部にまで損傷が及び、その原因のひとつに濃縮液排出時の物理的な衝撃が考えられる。また、これ以外にも濃縮時の水温の上昇、溶存酸素や pH の低下などがみられたことから、大型遠心分離機では、遠心加速度以外にも増殖に影響を与えるような様々な要因があると考えられる。これらの要因が濃縮したフェオダクティラムの増殖とどのような関係があるのか、どのような影響を及ぼすかについては、今回の試験のデータからだけでは明確な答えは得られない。ただ、両機種の構造や濃縮方式の違いにより、これらの要因に差が生じ、デスラッジ式濃縮機の方が細胞破壊が多く、水温の上昇も大きく、極度の低酸素状態にあった。このことからデスラッジ式濃縮機は、ノズルセパレーター式濃縮機よりも強い増殖阻害を受けたと推察され、結果的に増殖しなかったと考えられる。

一方、ノズルセパレーター式濃縮機は1回当たりの濃縮倍率は低いものの、これを数回繰り返すことにより3.42億セル/mlと高濃度化が可能であること、濃縮操作を4回繰り返しても十分に増殖し、104日間の長期保存が可能であった。このことから、保存用の株として使用するための条件は満たされるものと思われ、充分実用化できる

と考えられる。

また、このような方法で濃縮したフェオダクティラムは、保存用の株としてだけでなく、甲殻類の餌料や生物餌料の栄養強化等多方面での利用の可能性を検討していくことも必要であろう。

文 献

- 1) 日本栽培漁業協会 (1991) 日本栽培漁業協会事業年報 平成元年度, 87.
- 2) 日本栽培漁業協会 (1991) 日本栽培漁業協会事業年報 平成元年度, 110-111.
- 3) 日本栽培漁業協会 (1986) 日本栽培漁業協会事業年報 昭和 59 年度, 114.