

3) 考 察

A. biceps の増殖にたいするメタ珪酸ナトリウムの添加量初期の増殖とその後の推移から1ℓ当たり0~300mgの範囲では15~120mgが適正な添加量であると推察された。このことから、現在使用している1ℓ当たり150mgでは増殖を抑制すると考えられた。

珪藻類は珪酸質の殻を有することから、その培養には窒素、磷に加え珪素を添加することが一般的であり、^{19,28,29,44-46)} ウニ類や甲殻類の餌料として広く利用されている浮遊珪藻類の *C. gracilis* の培養には1ℓ当たり90~150mg、^{41,42,48)} 付着珪藻類の *N. ramosissima* には90mg⁴⁹⁾ のメタ珪酸ナトリウムが使用されており、本試験の適正添加量の範囲とほぼ一致した。

9. クレワット32の適正添加量

1) 方 法

拡大培地2の組成からクレワット32以外の栄養塩類を滅菌海水に規定量添加した後、クレワット32を1ℓ当たり0、5、15、30、45及び60mgを添加した。元種に *A. biceps* を500万 cells ずつ接種し、その後のクロロフィル a 量の推移を比較した。

2) 結 果

試験の結果を表15、図12に示した。培養8日目のクロロフィル a 量は0mg区で54 $\mu\text{g}/\ell$ 、5mg区で98 $\mu\text{g}/\ell$ 、15mg区で472 $\mu\text{g}/\ell$ 、30mg区で1,081 $\mu\text{g}/\ell$ 、45mg区で1,319 $\mu\text{g}/\ell$ 、60mg区では1,480 $\mu\text{g}/\ell$ と添加量の増加に伴って上昇した。クロロフィル a 量の最高値は0mg区で培養4日目の80 $\mu\text{g}/\ell$ 、5mg区で11日目の195 $\mu\text{g}/\ell$ であったのに対し、15mg区以上では順調に増加し、終了時の18日目に15mg区で4,720 $\mu\text{g}/\ell$ 、30mg区で5,413 $\mu\text{g}/\ell$ 、45mg区で5,755 $\mu\text{g}/\ell$ 、60mg区で5,223 $\mu\text{g}/\ell$ に達した。また、15mg区では培養から15日目、30~60mg区では8日目にクロロフィル a 量が1,000 $\mu\text{g}/\ell$ 以上に達したのに対し、5mg以下の区では195 $\mu\text{g}/\ell$ 以下の増殖にとどまった。

表15 クレワット32の添加量とクロロフィル a 量の推移

(単位は $\mu\text{g}/\ell$)

1ℓ当りの 添加量(mg)	経 過 日 数					
	0	4	8	11	15	18
0	17.4	80	54	73	64	14
5	17.4	94	98	195	158	131
15	17.4	182	472	571	1767	4720
30	17.4	518	1081	1864	1522	5413
45	17.4	685	1319	2603	2976	5755
60	17.4	582	1480	1318	2754	5223

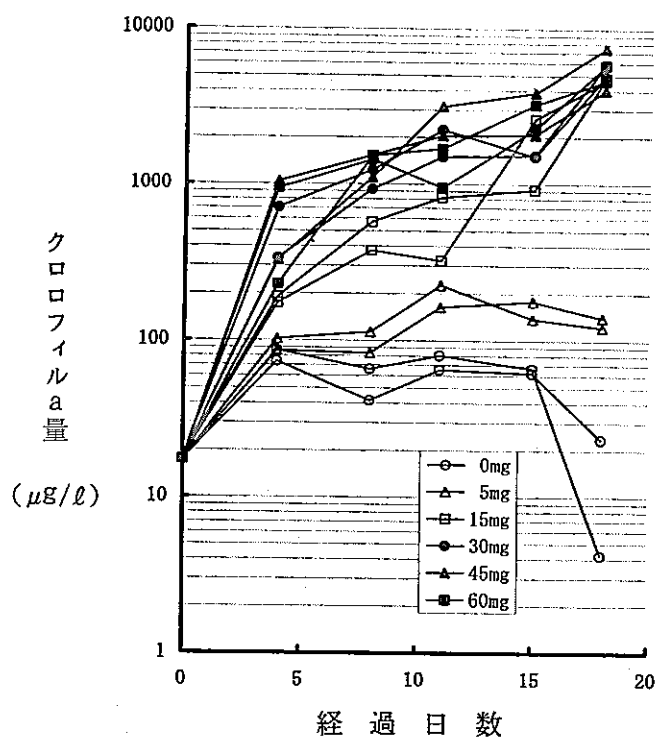


図12 クレワット32の添加量とクロロフィルa量の関係

3) 考 察

今回の試験では1ℓ当たり30～60mgの範囲が*A. biceps*の増殖に対するクレワット32の適正な添加量であると推察された。このことから、現在使用している1ℓ当たり30mgは妥当な添加量であることがわかった。

クレワット32はEDTAに数種の金属を結合させた有機金属錯塩であり、³⁰⁾ 微小藻類の大量培養に広く利用されている。その添加量は*T. tetrahele*、で1ℓ当たり4mgが良く、³²⁻³⁴⁾ *I. aff. galbana*では2mg程度は必要であることが報告されている。⁴⁰⁾ その他の微小藻類の培養では*P. lutheri*で1ℓ当たり500mg、³⁷⁾ *U. lens*では50mg、³⁵⁾ *C. calcitrans*では15～30mg、^{41,42,48)} *N. oculata*では5mg、⁵⁰⁾ 及び*N. ramosissima*では15mg⁴⁹⁾が利用されている。よって本試験で得られた*A. biceps*の増殖に対するクレワット32の適正添加量の1ℓ当たり30～60mgは珪藻類の*C. calcitrans*とほぼ同じ添加量である。

10. 栄養塩類の組成

1) 目 的

*A. biceps*の増殖に対する栄養塩類の添加量は1ℓ当たり硝酸カリウム200～400mg、磷酸水素二ナトリウムは30～120mg、メタ珪酸ナトリウムは15～120mg、クレワット32は30～60mgの範囲が適正であると判断されたことから、*A. biceps*の培養に適した栄養塩類の組成について検討を行った。

2) 方 法

硝酸カリウム、磷酸水素二ナトリウム、メタ珪酸ナトリウム及びクレワット32を用いた。フラスコに1ℓ当たりビタミンB₁₂0.2μg、L-シスチン0.1mg

を入れ、硝酸カリウムは120~400mgの範囲、磷酸水素二ナトリウム、メタ珪酸ナトリウム及びクレワット32は適正量の範囲で量を変えて添加した(表16)。対照区には拡大培地2を用い、元種に *A. biceps* を試験1では1,014万、試験2では2,379万、試験3では730万 cells ずつ接種し、その後のクロロフィル a 量の推移を比較した。各試験ともクロロフィル a 量の測定を5回行い、対照区に対する増加比を次式から算出した。

$$\text{増加比 (\%)} = \frac{\text{試験区のクロロフィル a 量の平均}}{\text{対照区のクロロフィル a 量の平均}} \times 100$$

表16 栄養塩類の組成と経費

試験区	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	対照
栄養塩類の種類	添加量 (mg/l)																							
KNO ₃	120	120	120	120	200	200	200	200	200	200	200	200	300	300	300	300	300	300	400	400	400	400	400	300
Na ₂ HPO ₄	15	30	30	45	45	45	60	45	15	30	30	30	15	30	45	45	60	45	45	45	60	45	60	30
Na ₂ SiO ₃	15	30	60	120	120	60	60	60	15	15	60	120	15	60	60	120	60	60	60	120	60	60	120	150
クレワット32	30	30	30	30	45	45	45	60	30	30	30	30	30	30	45	45	45	60	45	45	45	60	60	30
	窒素、磷及び珪素の成分含有量 (mg/l)																							
KNO ₃	17	17	17	17	28	28	28	28	28	28	28	28	41	41	41	41	41	41	55	55	55	55	55	41
Na ₂ HPO ₄	3	7	7	10	10	10	13	10	3	7	7	7	3	7	10	10	13	10	10	10	13	10	13	7
Na ₂ SiO ₃	1	3	6	12	12	6	6	6	1	1	6	12	1	6	6	12	6	6	6	12	6	6	12	15
	窒素に対する磷と珪素の成分含有量の比																							
KNO ₃	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Na ₂ HPO ₄	2	4	4	6	4	4	5	4	1	2	2	2	1	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2
Na ₂ SiO ₃	1	2	4	7	4	2	2	2	1	1	2	4	0.4	1	1	3	1	1	1	2	1	1	2	4
11当たりの経費(円)	241	277	282	325	443	433	467	490	302	335	343	352	378	419	509	519	543	566	585	595	619	642	685	433

3) 結果

試験に用いた栄養塩類の組成と経費を表16、結果を表17~19、組成別のクロロフィル量の推移を図13~16に示した。試験1の1~3区のクロロフィル a 量は培養期間中25~336 μg/l の範囲で増殖が停滞し、4区は培養4日目の1,698 μg/l をピークに減少したのに対し、5区と対照区では培養4日目に1,318~1,916 μg/l、8日目に2,560~3,081 μg/l、11日目には3,239~5,223 μg/l に達した。増加比は5区で82%、その他の区では2~25%と窒素源の硝酸カリウ

表17 栄養塩類の組成とクロロフィル a 量の関係 (試験1)

(単位は μg/l)

試験区	経過日数						増加比 (%)
	0	4	8	11	14	18	
1区	35.3	127	25	31	25	25	2
2区	35.3	130	88	336	274	274	6
3区	35.3	104	47	46	50	36	2
4区	35.3	1698	759	601	207	117	25
5区	35.3	1916	2560	3239	3226	689	82
対照区	35.3	1318	3081	5223	3670	730	100

表18 栄養塩類の組成とクロロフィルa量の関係(試験2)

(単位は $\mu\text{g}/\ell$)

試験区	経過日数						増加比 (%)
	0	3	7	10	14	17	
6区	82.8	1011	3530	1368	770	1949	41
7区	82.8	1073	4119	1285	1106	1708	47
8区	82.8	1071	2739	765	1440	1562	37
15区	82.8	1014	2773	3763	1682	2584	57
16区	82.8	1098	4073	6321	2257	2399	84
17区	82.8	1124	4946	5175	1828	1487	80
18区	82.8	955	4604	3469	3973	1757	80
19区	82.8	1174	6917	5130	6822	2511	123
20区	82.8	1179	3831	5113	4692	2094	91
21区	82.8	1081	3432	5159	8141	3128	109
22区	82.8	1109	3276	1567	5681	1904	71
23区	82.8	1070	3875	2109	6887	2083	85
対照区	82.8	1096	3927	2231	9068	3178	100

表19 栄養塩類の組成とクロロフィルa量の関係(試験3)

(単位は $\mu\text{g}/\ell$)

試験区	経過日数						増加比 (%)
	0	3	6	9	13	17	
9区	25.4	529	973	3244	2120	1586	183
10区	25.4	674	1670	3412	1033	760	181
11区	25.4	372	1326	3435	2691	1599	209
12区	25.4	117	362	463	429	1240	37
13区	25.4	639	1668	3837	3078	1553	246
14区	25.4	468	831	2100	2585	974	160
対照区	25.4	321	626	1303	1486	1601	100

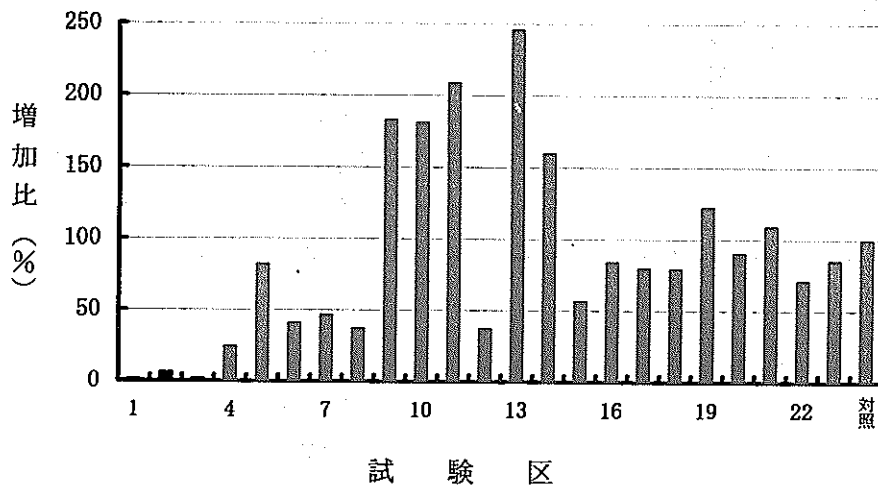


図13 対照区のクロロフィルa量に対する各区の増加比

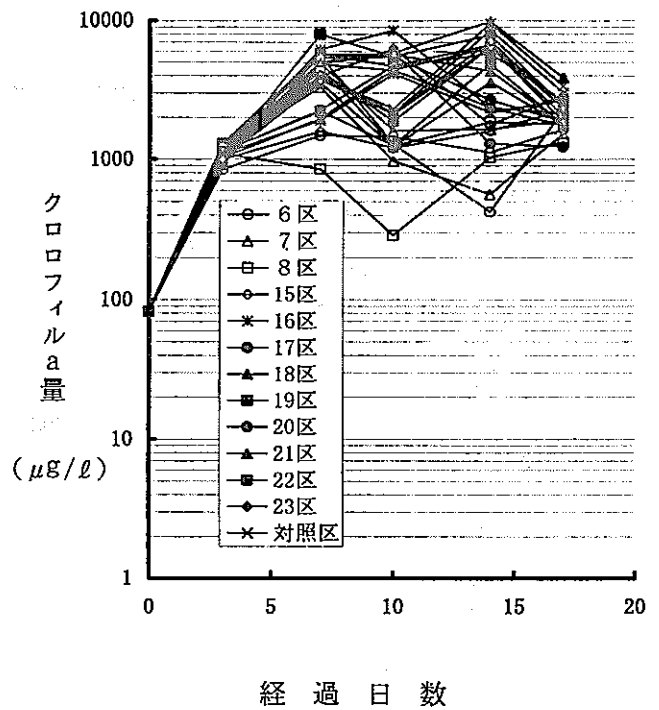
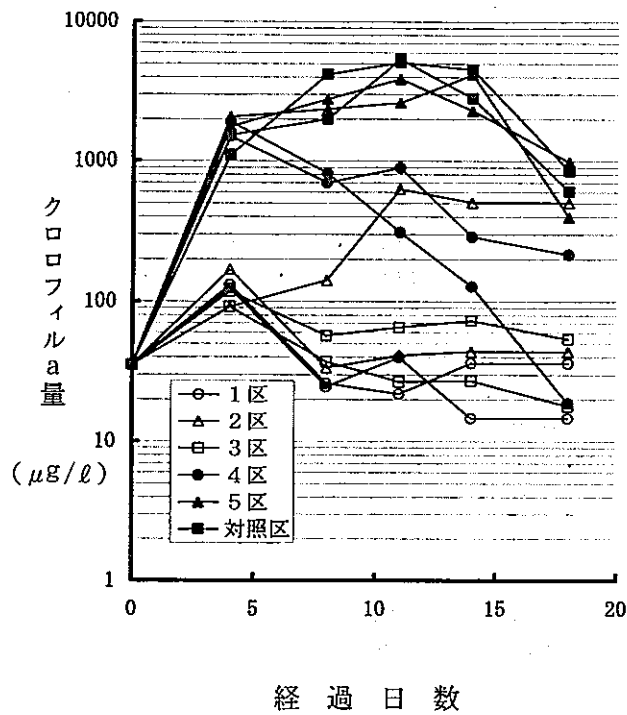


図14 組成別のクロロフィル a 量の推移 (試験1) 図15 組成別のクロロフィル a 量の推移 (試験2)

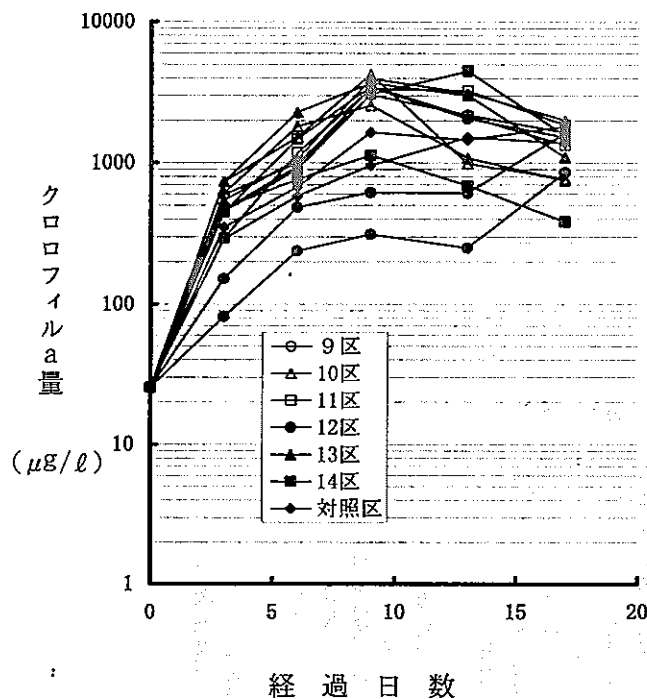


図16 組成別のクロロフィル a 量の推移 (試験3)

ムが適正添加量より少ない区で著しく低い値を示した。

試験2の各区のクロロフィル a 量は培養3日目に955~1,179 $\mu\text{g}/\ell$ 、7日目に2,739~6,917 $\mu\text{g}/\ell$ の範囲と順調に増加した。その後は6区が14日目、8区が10日目に1,000 $\mu\text{g}/\ell$ 以下の値を示したが、その他の区では高い値で推移した。増加比は6~8区で37~47%、15~18区、22区及び23区で57~85%、20区では91%であったが、19区と21区ではそれぞれ123%、109%と対照区より高い値を示した。

試験3では培養3日目のクロロフィル a 量は117~674 $\mu\text{g}/\ell$ の範囲であったが、6日目に10区、11区及び13区、9日目に9区、14区及び対照区、17日目に12区が1,000 $\mu\text{g}/\ell$ 以上に達した。増加比は12区が37%

と低い値であったが、その他の区では160~246%の高い値を示した。

本試験で対照区より高い増加比を示したのは9~11区、13区、14区、19区、21区の7試験区で、13区、11区、9区、10区、14区、19区、21区の順に良かった。

4) 考 察

培養には対象とする藻類の増殖に適した栄養塩類の種類、添加量及びバランスが重要であると考えられる。試験に用いた栄養塩類のクレワット32添加量別の窒素、磷及び珪素の成分含有量比と増加比の関係を表20に示した。今回の試験で増加比が100%以上の値を示したのは硝酸カリウムが適正添加量の

表20 クレワット32添加量別の窒素、磷、珪素の成分含有量比と増加比の関係

クレワット32の添加量 1ℓ 当たり 30mg の場合											
試験区	1	2	3	4	9	10	11	12	13	14	対照
栄養塩類の種類	添 加 量 (mg/ℓ)										
KNO ₃	120	120	120	120	200	200	200	200	300	300	300
Na ₂ HPO ₄	15	30	30	45	15	30	30	30	15	30	30
Na ₂ SiO ₃	15	30	60	120	15	15	60	120	15	60	150
	窒素に対する磷と珪素の成分含有量の比										
KNO ₃	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Na ₂ HPO ₄	2	4	4	6	1	2	2	2	1	2	2
Na ₂ SiO ₃	1	2	4	7	1	1	2	4	0.4	1	4
増加比 (%)	2	6	2	25	183	181	209	37	246	160	100
クレワット32の添加量 1ℓ 当たり 45mg の場合											
試験区	6	5	7	15	16	17	19	20	21		
栄養塩類の種類	添 加 量 (mg/ℓ)										
KNO ₃	200	200	200	300	300	300	400	400	400		
Na ₂ HPO ₄	45	45	60	45	45	60	45	45	60		
Na ₂ SiO ₃	60	120	60	60	120	60	60	120	60		
	窒素に対する磷と珪素の成分含有量の比										
KNO ₃	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Na ₂ HPO ₄	4	4	5	2	2	3	2	2	2		
Na ₂ SiO ₃	2	4	2	1	3	1	1	2	1		
増加比 (%)	41	82	47	57	84	80	123	91	109		
クレワット32の添加量 1ℓ 当たり 60mg の場合											
試験区	18	22	8	23							
栄養塩類の種類	添 加 量 (mg/ℓ)										
KNO ₃	200	300	400	400							
Na ₂ HPO ₄	45	45	45	60							
Na ₂ SiO ₃	60	60	60	120							
	窒素に対する磷と珪素の成分含有量の比										
KNO ₃	10	10	10	10							
Na ₂ HPO ₄	4	2	2	2							
Na ₂ SiO ₃	2	1	1	2							
増加比 (%)	37	80	71	85							

200mg/l 以上で、かつ栄養素の成分含有量の比が窒素10：燐1～2：珪素0.4～2の範囲の組成である。このことから、*A. biceps* の培養には窒素成分含有量28mg/l 以上が必要であり、栄養素のバランスは窒素10：燐1～2：珪素0.4～2が良いと推察される。

一方、微小藻類の培養には経費が安く、効率の良い組成の栄養塩類を用いた方が良い。今回の試験で増殖の良かった栄養塩組成で1t規模の培養をした場合の経費は9～13区で302～378円、14区で419円であったが、19区と21区はそれぞれ585円、619円と対照区の433円より高いことから、9～14区の栄養塩組成が良いと考えられた。今後は最も増殖の良かった13区の1ℓ当たり硝酸カリウム300mg、燐酸水素二ナトリウム15mg、メタ珪酸ナトリウム15mg、クレワット32 30mgにビタミンB₁₂とL-シスチンを加えた組成で *A. biceps* の培養を行う方針である。