

深層水を利用した褐藻類の大量培養技術について

浜 田 英 之

1 目的

褐藻類に広く含まれる機能性成分であるフコキサンチンを大量かつ安定的に得るため、深層水によるハバノリやカヤモノリなどの陸上タンクを利用した周年大量培養技術を開発する。

2 方法

対象の海藻としては、フコキサンチンを含むことが確認されており、しかも成長が他の大型褐藻類と比較して速いことも判明しているハバノリとカヤモノリを選択した。

培養海水としては基本的に深層水を使用した。成長等の比較のため表層水の試験区を設定した場合もあった。

培養に使用したハバノリ種苗は2002年3月に千葉大学海洋バイオサイエンス研究センターより入手し、カヤモノリは2004年3月室戸市室戸岬町の研究所前の海岸に自生していたものから採種し、それぞれ維持培養していたものである。種苗の初期培養は室内に設置したインキュベーター（設定温度15～20℃、10時間明・14時間暗の短日条件に設定）内に設置した2Lフラスコ内で2～3週間行い、一定以上に成長した発芽体を屋外の100Lアルテミア水槽、1tアルテミア水槽、7t型FRP製水槽等に約2週間ずつ順次収容し、いわゆる拡大培養を行った。フラスコ内での培養には滅菌深層水にノリ糸状体培養用栄養剤を0.05%加えたものを培地とし、エアレーションを行うとともに、1週間に2回程度培地の交換を行った。

また、屋外の培養タンクの換水率は100Lタンクおよび1tタンクで約10回転/日、7t水槽で約6回転/日とし、ゴミや雑藻のタネの混入防止を目的と

してタンク上部には透明ビニールのカバーを被せたが、日覆いなどによる照度調整は行わなかった。また、屋外タンクにおけるハバノリおよびカヤモノリの培養には付着基盤等を使用せず、エアレーションによるいわゆる浮遊式培養法によった。

3 結果

3.1 ハバノリ

3.1.1 インキュベーター内における初期培養

ハバノリの初期培養用の種苗としては、2002年3月当時、当研究所で海藻培養の研究を行っていたNEDOフェロー研究員の平岡雅規氏が千葉大学バイオサイエンス研究センターから入手した盤状体で、2Lフラスコ内で月1回程度培養液の交換を行いながら2年以上維持培養されていたものを使用した。

まず2Lフラスコ内で維持培養されてきたハバノリ盤状体の一部（湿重量で1g程度）を新たな2Lフラスコに移して週に2回培養液を交換しながら2～3ヶ月培養を継続すると、盤状体が濃密に浮遊する褐色に濁った培養液が得られた。（この褐濁培養液はその後ハバノリの初期培養を開始する場合の「元ダネ」的なものとして月1回程度培養液を交換しながら維持している。）この褐濁した培養液をピペットで数cc採取し、250μmのふるいを使用して大型の塊状やマット状の集塊を除いた後、1～2ccを新たな2Lフラスコに注入して週2回程度培養液の交換を行いながら培養を続けると、褐濁液中の盤状体の濃度にもよるが、2～4週間後には径1mm前後の微小発芽体を数万個レベルで発生させることができた。培養の途中で大型の集塊が培養液中やフラスコ壁面に発育してきた場合には、0.5～1mm目のふるいを使用して取り除いたり、

フラスコの交換を行ったりして微小発芽体の発育を促した。

この方法は、ハバノリ拡大培養用の種苗としての多数の発芽体を効率良く確保するとともに、ハバノリ集塊のサイズを揃える上でも効果的であった。

3.1.2 屋外タンクにおける拡大培養

フラスコで培養した発芽体は、ふるいを使用し0.5mm～2mm程度のものを選別し、屋外に設置した100Lアルテミア水槽に2004年4月から2005年3月の間ほぼ毎週1回投入した。ふるいを抜けた0.5mm以下のものは稚魚ネットで受け、稚魚ネットに掛かったもののみ分量を調整して2Lフラスコに投入し、再び発芽体の培養を行った。屋外では100Lアルテミア水槽、1tアルテミア水槽、7tFRP水槽を順次使用し、成育が順調であれば各タンクで通常2週間ずつ培養を行った後、収穫した。屋外タンクでの約6週間の培養による収穫量（洗濯機の脱水槽で1分間脱水後の湿重量）は平均すれば3kg程度であった。

深層水を使用した屋外タンク培養によるハバノリの成長は日射量、水温、培養密度、換水率、ハバノリの成長段階、珪藻付着の程度など種々の要素が影響していると考えられる。屋外タンクの水温は夏季の日中でほぼ18～20℃、冬季の日中でほぼ12～14℃であった。平成16年度に実施した深層水を使用した野外陸上タンクによる1～2ヶ月間の培養では週間増重率に換算して約2～10倍の間であり、平均5倍前後であった（当研究所で同様に培養したスジアオノリの約2分の1）。100Lおよび1tアルテミア水槽の方が7t水槽より概して良く、夏季のほうが冬季より良かったが、これは主に受光量の違いによるものと考えられる。スジアオノリの陸上タンクによる培養では、3回転/日の換水率でスジアオノリの重量がタンク水量の1/1,000程度（1tタンクの場合でスジアオノリ約1kg）に達するまでは成長の大きな低下は見られないとの結果が出ているが、ハバノリにおいても珪藻付着が著しくないケースではほぼ似た傾向が見られた。

3.1.3 珪藻の付着について

屋外タンクによるハバノリの拡大培養を1年間実施してみて最も問題となったのは珪藻の付着であった。早い場合は100Lアルテミア水槽で屋外培養を開始して2週間後に、直径5mm前後に成長した発芽体が珪藻に巻かれて暗褐色となり、その後、葉先が縮れた状態となって週間増重率が2～3倍ぐらいまで低下することが度々あった。100L水槽での培養の末期や1t水槽での培養中に目立ち始めた珪藻付着がその後も進行し、7t水槽での培養を1週間程度で切り上げ、海藻を廃棄したこともしばしばであった。

ハバノリへの珪藻の付着は、水温が低く、日射量の少ない冬季にも夏季とほとんど同様に見られた。年間約40回行ったハバノリの拡大培養の中で、珪藻の付着が比較的少なく順調に成育したと感じられたのは1/3程度であった。

ハバノリに付着した珪藻を除去する目的で、深層水や水道水の水流ホースの先から稚魚ネットなどで受けたハバノリに勢いよく当てて、奔流の中で洗浄する方法を試みた。水道水を使用する場合はハバノリに対する悪影響を考慮して30秒以内にとどめた。この方法である程度珪藻は除去されたが、発芽体集塊の中心部に付着した珪藻に対する効果はあまり見られなかった。

また、珪藻を除去するためカートリッジ式フィルター（1μm）を使用してろ過した深層水と通常の無ろ過深層水によるハバノリの比較培養を2005年1月から2月にかけての2週間行った結果、ろ過深層水試験区のハバノリは珪藻付着量かなり少なかったが、成長（増重量）は無ろ過試験区のハバノリの方がわずかに良い結果が出た。

3.1.4 深層水と表層水による比較培養について

表層水と深層水によるハバノリの比較培養をやはり2004年から2005年にかけての冬季に数回行った。

1tアルテミア水槽を2基並べ、熱交換器を使用して水温に差が出ないようにして2週間程度培養

を行った。その結果、珪藻付着量は表層水試験区の方が明らかに少なかったが、ハバノリの成長（増重量）は深層水区がやや良い程度で大きな差は無かった。また、この比較試験で収穫したハバノリを徳島大学に送ってフコキサンチンの定量を依頼したところ、深層水試験区の方が表層水試験区よりも2～3倍多い結果が出たのは注目に値する。

3.2 カヤモノリ

3.2.1 インキュベーター内における初期培養

カヤモノリについては2004年3月、研究所前の海岸に自生するカヤモノリから採種し、保存培養していたものを用いてハバノリとほぼ同様の方法で初期種苗の培養を行った。すなわち、カヤモノリの場合も盤状体や発芽体を濃密に含む培養液から0.5mm目のふるいと稚魚ネットを使用して0.5mm以下の比較的小型の発芽体のみを取り上げ、これを2Lフラスコに薄く撒き、1週間に2回程度培養液を交換しながら培養することにより、2～4週間程度で0.5～2mm程度の多数の発芽体を得ることができた。

3.2.2 野外タンクによる拡大培養

フラスコで培養した発芽体のうち、ふるいを使用して0.5mm～2mm程度のものを取り上げ、これを野外に設置した100Lアルテミア水槽に2004年5月から2005年2月の間に平均月1回程度投入した。ふるいを抜けた0.5mm以下の発芽体は、量が多すぎると判断される場合は分量を調整後2Lフラスコに投入し、次回の拡大培養用の種苗として再び培養を継続した。野外100Lタンクでは2～3週間程度培養し、湿重量が100g前後を超えた段階で1tアルテミア水槽に移して培養を続けた。カヤモノリの週間増重率は2～18倍程度で、野外タンクに投入した直後のまだ十分発芽していない状態では増重率はあまり良くなく、その後発芽が進むと良くなる。

カヤモノリの野外タンク培養における最大の問題点は管状の葉体が長さ15～20cmぐらいに成長すると内部の気体の影響でタンクの水面に浮上し、

集まって互いに絡み合うことである。こうなると、エアレーションを強め、水流の勢いを強めてもほとんど効果は無く、カヤモノリの集塊を手で引きちぎってなるべく小さくし、タンク内で浮遊回転を図ったりした。ただ、このような状態となっても成長が極端に低下することはなく、100Lおよび1tタンクを使用した1ヶ月程度の培養で約2kgのカヤモノリを収穫できたこともあった。

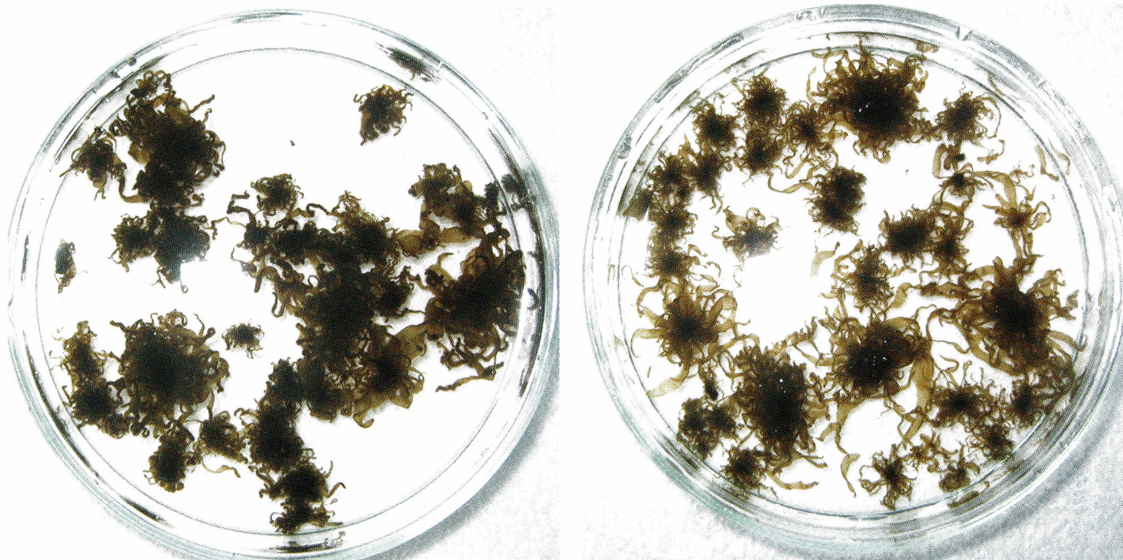
また、カヤモノリはハバノリに比較すると珪藻が付着しにくく、培養上の大きな障害にはならなかった。

写真1 成育順調なハバノリと珪藻が相当付着したハバノリ

(2004年10月、野外7tタンク)



成育順調なハバノリ



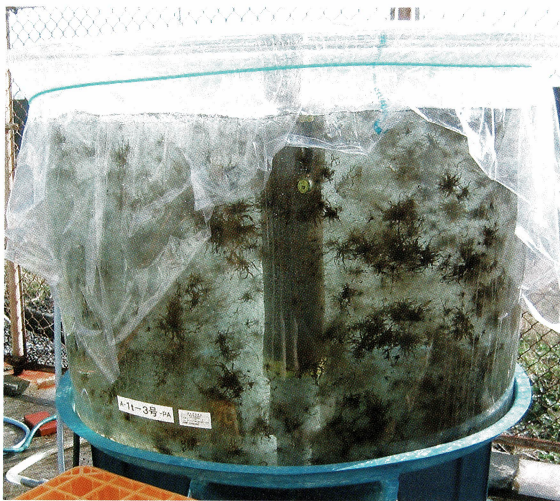
珪藻が相当付着したハバノリ

左のハバノリを深層水で1分程度洗浄後の状態

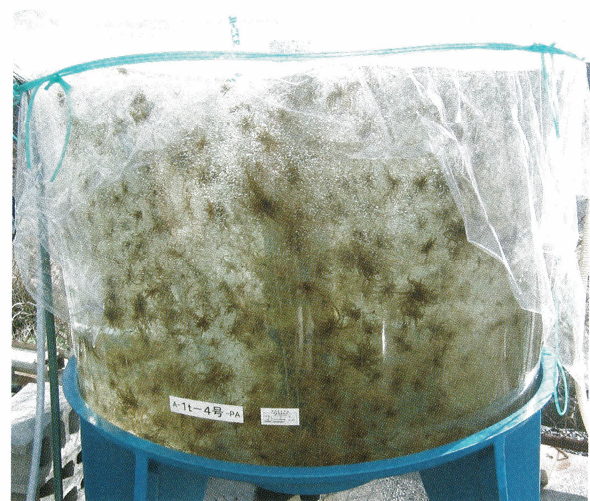
写真2 深層水および表層水によるハバノリの比較培養

2004.12.15

屋外1tアルテミア水槽



深層水試験区



表層水試験区

収穫時(20cm×15cmバット)



深層水試験区



表層水試験区

・珪藻附着が多く、葉の色も濃い(フコキサンチン量の多さを反映)

写真3 無ろ過深層水と精密ろ過深層水によるハバノリの比較培養

2005.1.27~2.10

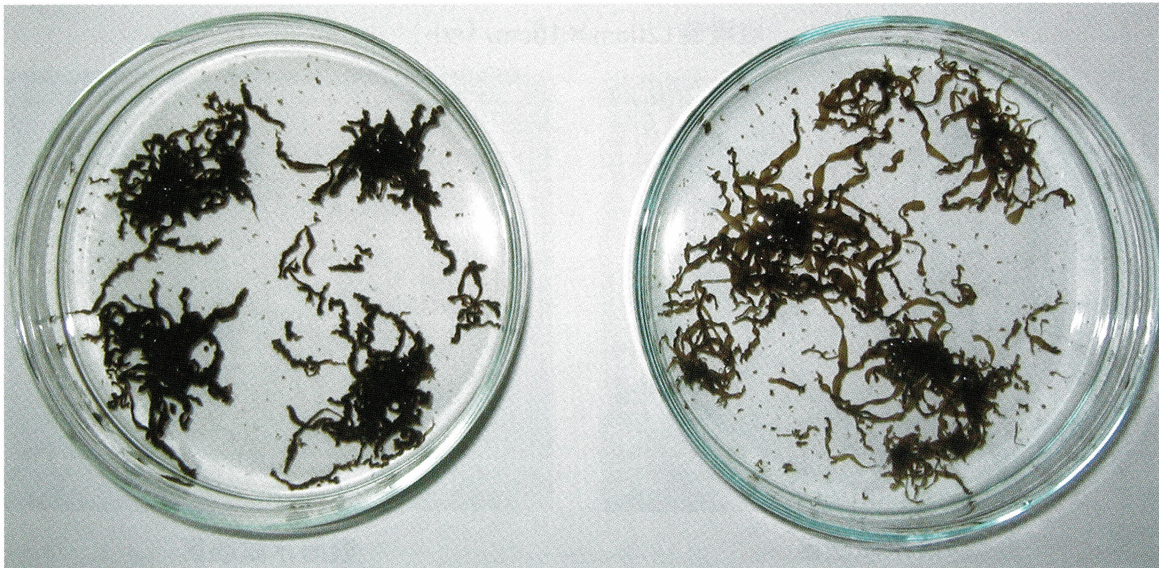


深層水のろ過に使用したカートリッジ式フィルター(1 μ m)



比較培養開始2週間後の200Lタンク中栓ネットの汚れ具合

上:精密ろ過深層水 下:無ろ過深層水



比較培養2週間後のハバノリの状態 2005.2.10

左:無ろ過深層水 右:精密ろ過深層水

増重状況:

	無ろ過深層水	精密ろ過深層水
1/27投入量	11.8g	11.8g
2/10収穫量	168.6g	135.3g

写真4 ハバノリ培養中の100Lタンクの珪藻附着量比較

2005.1.28



- ・左側のタンクのハバノリは集塊直径20~30mmに成長、右側タンクのハバノリは10mm以下
- ・両タンクとも掃除直後で中栓のネットも白い。

2005.1.31(3日後)



- ・3日後、タンク内のハバノリ現存量の多い左側のタンクは中栓ネットが珪藻附着のため濃い褐色に変化しているが、ハバノリ現存量の少ない右側のタンクは珪藻附着がほとんど目立たない。

写真5 ハバノリの初期培養で得られた発芽体の選別作業



発芽体のサイズ別選別に使用した「試験用網ふるい」

- ・直径8 cm、深さ4 cm、ステンレス製
- ・多用したのは0.5mm、1 mm、2 mm等の目合

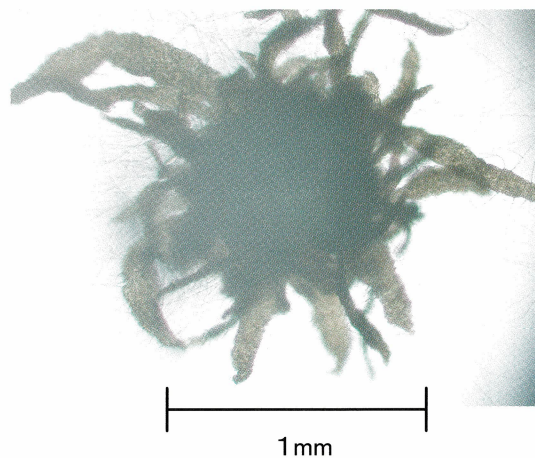


選別作業

- ・2Lフラスコ内の発芽体を培養液とともに0.5mm目のふるいに注ぐ。
- ・ふるいに残った発芽体は拡大培養用種苗として屋外タンクに投入し、ふるいより細目の稚魚ネットに残ったものは分量を調製してフラスコに戻し、再び培養を行う。



上記作業によりフラスコから取り出した発芽体
(20cm×15cmバットに収容、約20,000個)



発芽体の顕微鏡写真(×40)

平成15年度「機能性食品の開発」関連海藻サンプル送付実績

送付先	発送年月日	種類	状態	重量	備考
近畿大学・川村教授	H15.9.2	ハバノリ、ミル、ミリン	生(冷凍)	深10g 表10g	
	H15.10.6	ヤブレグサ	生(冷凍)	深10g 表10g	
	H15.11.10	マコンブ、アマノリ、カヤモノリ	生(冷凍)	深10g 表10g	
	H15.12.18	ワカメ、カズノイバラ、トゲキリンサイ	生(冷凍)	ワカメ 深10g 表10g カズノイバラ 深10g 表4.4g トゲキリンサイ 深10g	トゲキリンサイは深層水培養分のみ
	H16.2.2	スジアオノリ	生(冷凍)	深10g 表10g	
徳島大学・楠見教授	H15.9	ハバノリ	生	6kg	直渡し
	H15.11.14	カヤモノリ	生(冷凍)	1kg	定量分析実験用
	H16.3.23	カヤモノリ	生(冷凍)	12kg	
高知医大・富永教授	H15.9.3	トゲキリンサイ	生(クール)	1kg	
赤穂化成・中川部長	H15.10.1	トゲキリンサイ	生(クール)	1kg	
	H15.10.16	ハバノリ	乾	500g	
	H15.10.31	ミル	乾	1kg	
工技センター	H15.7	ハバノリ	乾	500g	
	H15.7	スジアオノリ	乾	500g	
	H16.1.8	ヤブレグサ、カヤモノリ、ミル、ミリン、アマノリ	乾	各100g	

平成16年度「機能性食品の開発」関連海藻サンプル送付実績

送付先	発送年月日	種類	状態	重量	備考
徳島大学・楠見教授	H.16.7.5	ハバノリ	生	2kg	6/30収穫分
	H.16.7.5	ハバノリ	冷凍	7kg	平成16年1月および3月収穫分
	H16.8.31	ハバノリ	生	LED培養4試料	単色LED光源使用
	H16.11.8	ハバノリ	生(水込み)	LED培養7試料	混合色LED光源使用
	H16.12.20	ハバノリ	冷凍	100g×3試料	深層水(幼)、表層水(幼)、深層水(成熟)
		ハバノリ	冷凍	100g×2試料	深層水、表層水
H17.2.2	ワカメ配偶体	冷凍	30g	インキュベーター内フラスコで数ヶ月培養	
高知大学医学部・富永教授 (大谷助教授)	H16.4.16	スジアオノリ、ヤブレグサ、カジメ、ハバノリ、ワカメ、ホソメコンブ、ミリン、アマノリ	生・冷凍	各100g	
	H.16.7.5	ハバノリ	冷凍	3kg	平成15年度培養分
	H16.7.5	ハバノリ	乾燥	100g	千葉県天津産(天然)
	H16.10.26	ハバノリ	冷凍	1.9kg	清水で洗浄後冷凍
		アマノリ	冷凍	350g	
		ミリン	冷凍	230g	
	トゲキリンサイ	生	2kg	大野先生採取分	
赤穂化成・中川部長	H16.7.5	ハバノリ	生	2kg	6/30収穫分
	H17.1.24	ハバノリ	生	2kg	1/24収穫分、比較的若い段階のもの
工技センター	H16.12.17	ハバノリ	生	計1kg	深層水培養500g、表層水培養500g
	H.16.12.24	ミル	冷凍	計1kg	深層水培養500g、表層水培養500g
		スジアオノリ	冷凍	計1.6kg	深層水培養680g、表層水培養900g

参考資料・海藻サンプル（乾製品）入手概要

海洋深層水研究所

種 名	入手年月	入手先	状態・購入量・価格	備 考
ハバノリ	平成16年1月	千葉県漁連販売部	乾燥品（1帖当り 15cm×30cm×12枚入り・重量約50g）2帖購入 価格：7,200 円/帖 （ 9.26mg/ ）	正月の雑煮に入れて賞味する。
		天津地区ハバノリ生産量・金額（千葉県農林水産部情報）： H14年12月 新ハバ 7,724 袋（10枚入） 24,708 千円 平均単価3,198 円/袋 H15年1月 旧ハバ 7,952 袋（10枚入） 15,060 千円 平均単価1,893 円/袋		
カヤモノリ	平成16年1月	徳島県日和佐町 浜宮海産	初期 1帖（5枚入り・約40g） 1,200 円 中～後期 1帖 600 円	地方名：ガネガス、ムギワラノリ 徳島県下では牟岐～阿南間の海岸で採れる。平成 15年冬は糟泊周辺でよく採れた。 あぶると緑色になり、それを揉んでご飯に振り掛けて食べる。日和佐町恵比須浜地区の漁協婦人部員に採り手が多い。
スジアオノリ	平成16年2月	高知市大橋通	四万十川産（製造者：四万十市・加用物産） 袋入り 14g 550円（税抜き）	
深層水青ノリ	平成16年1月	高知市大橋通 ひろめ市場	製造者：高岡漁協 販売者：（有）室戸エコ 袋入り 20g 500円（税抜き）	
ハバノリ	平成17年1月	千葉県天津小湊町 小湊漁協直売所	15cm×30cm5枚入り1袋（約45g）3,150 円 2袋購入	
カヤモノリ	平成17年1月	徳島県日和佐町 浜宮海産	21cm×21cm5枚入り1袋（約40g）1,050 円 5袋購入	