

原著論文

白色発光ダイオード (LED) を用いた餌料用微細藻類の培養

石川 卓^{*1,2}・磯和 潔^{*1}

Cultivation of Microalgae for Live Food under White Light-emitting Diodes (LEDs)

Takashi ISHIKAWA and Kiyoshi ISOWA

We grew *Pavlova lutheri* and *Chaetoceros neogracile* under white light-emitting diodes (LEDs) or fluorescent lamps as artificial light sources. Cell density and size were measured with a particle counter following culture in a 3-L flask or a 30-L water tank. There were no significant differences in cell density, maximum specific growth rate, or cell size between the cultures under the LEDs and those under the fluorescent lamps. However, the LED lasted longer and consumed less electricity than the fluorescent lamp. Because their low power consumption saves on electricity costs, LEDs are useful as sources of artificial light for cultivation of marine microalgae.

2011年7月15日受付, 2012年1月24日受理

アコヤガイやカキなどの二枚貝の餌料には、浮遊珪藻やハプト藻などの海産微細藻類が幼生飼育や成貝の成熟促進に利用されてきた^{1),2)}。これらの微細藻類は一般に室内で培養され、培養時間の短縮や省エネルギー化のために蛍光灯や高圧ナトリウムランプなどの人工光源による照射方法³⁾や光が効率よく照射される培養容器の形状が検討されてきた⁴⁾。また、これら餌料に用いられる微細藻類の至適培養水温は20～25℃が多く、培養液の水温が30℃を超えると増殖阻害や枯死が起こるため^{5),6)}、高水温耐性株の選抜育種も行われてきた²⁾。一方、大量培養には十分な光量が必要なため高圧ナトリウムランプと太陽光の併用などが行われている。しかし、十分な光量を照射することによって培養液の水温が上昇し増殖を抑制する要因となっている⁷⁾。近年、従来の人工照明に替わる新たな光源として発光ダイオード (light emitting diode) の利用による微細藻類の増殖が検討されるようになってきた^{7),8)}。特に白色発光ダイオードは近年の目覚ましい普及に伴い低価格化が顕著であり、従来の直管型蛍光灯に用いる照明装置を簡単な配線の変更だけで使

用できる商品も市販されるようになった。また発光ダイオードは蛍光灯に比べて低い電圧でも点灯し、赤外光を含まないため発光面からの輻射熱が少ないことなど、餌料に用いられる微細藻類の培養光源として発光ダイオードを導入することによって照明装置の使用電力を抑えるだけでなく、培養液の水温上昇の軽減効果も期待される^{9),10)}。野菜の栽培では発光ダイオードを使用した研究例は多く^{11),12)}、農業分野ではサラダナや四季成り性イチゴの栽培など、実用化も進められている^{13),14)}。しかしながら、餌料として使われる微細藻類 (以下、餌料用微細藻類) への利用には、波長域や光量に関する研究例があるものの⁷⁾、実用化に関する報告は少ない。発光ダイオードを用いた餌料用微細藻類の培養を実用化するには、価格が高く、専用の照明器具を必要とする植物培養用の発光ダイオードではなく、低価格で導入できる一般照明用の直管型発光ダイオード照明の利用が期待される。本研究では一般照明用の直管型発光ダイオードを光源として、三重県栽培漁業センターで実際に行っているアコヤガイの餌料生産方法¹⁾に即して微細藻類の培養を行い、

*1 財団法人三重県水産振興事業団 三重県栽培漁業センター

〒517-0404 三重県志摩市浜島町浜島 3564-1

Mie Prefectural Fish Farming Center, 3564-1 Hamajima, Shima, Mie 517-0404, Japan.

t-ishikawa0518@gmail.com

*2 三重大学大学院生物資源学研究所

細胞数, 比増殖速度, 細胞粒径について知見を得た。また蛍光灯を光源にして培養した従来法と比較することで, 発光ダイオードを用いた微細藻類培養の実用化の可能性について考察した。

材料と方法

光源 光源として白色発光ダイオード (20.1 W, 40形 LX-372RS-6400 株式会社 ESL 製, 発光ダイオード 372 個: 株式会社豊田合成製, 以下 LED とする) およびこれまで三重県栽培漁業センターで餌料用微細藻類の培養に利用してきた一般照明用の白色蛍光灯 (40形 3 波長形昼白色 FLR-40S-EX-N/M/36-H 36W 株式会社東芝ライテック製, 以下 FL とする) を用い, 両者の比較を行った。用いた LED は蛍光灯とほぼ同じ形状 (長さ 1198 mm, 直径 30 mm, 370 g) であり, 簡単な配線の変更のみで従来の照明装置を利用できること, 照射する光はほとんどが 700nm 以下の可視光であり, 赤外線輻射がほとんどないため培養液の温度上昇を抑える効果が期待されることから本製品を試験に用いた。培養は室温を 20°C に設定し, 24 時間連続照明し, 光源から培養容器までの距離を一定にして, 通気により培養液の攪拌を行った。ファイバマルチチャンネル分光器 USB4000 (Ocean photonics Inc. 製) にコサインコレクタ (CC-3) を接続し, OPwave+ (ver. 1.48, Ocean photonics Inc. 製) を用いて, ポリカーボネート水槽を設置した (図 1 B) 棚で LED, FL それぞれの照明装置の中央部の, 高さ 25 cm, 側面から 20 cm 離れた位置で 400 ~ 700 nm の波長範囲の放射照度と光子束密度を測定した。フラスコ (容量 3 l 直径 200 mm, 高さ 370 mm) を用いた培養試験では 2 本の LED もしくは FL を側面から照射した。ポリカーボネート水槽 (容量 30 l, 直径 360 mm, 高さ 307 mm) を用いた培養では側面から 4 本, 上面から 2 本, 合計 6 本の LED もしくは FL の光を照射した (図 1)。消費電力計 (ワットチェッカー Plus TAP-TST7 株式会社サンワサプライ) で LED, FL それぞれ 16 本の, 30 日間の消費電力量を測定した。供試藻類は三重県栽培漁業センターで単種培養中の *Pavlova*

lutheri (以下パプロバとする) と *Chaetoceros neogratic* (以下キートセロスとする) である。試験は 2010 年 10 月 8 日から 2011 年 1 月 6 日にかけて, フラスコ, パンライト水槽ともに LED と FL を対にして 2 水槽ずつを 3 回, 合計 6 水槽の繰り返し試験を行った。LED, FL の各 6 水槽の最大比増殖速度および測定最終日の細胞数を 2 標本 *t* 検定により比較した。また *F* 検定により 2 群が等分散とみなせない場合は Welch 法を用いて検定を行った。

フラスコによる培養試験 1 l フラスコで前培養した株を 2 分し, LED もしくは FL を光源にして, パプロバでは $3.5 \sim 4.2 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, キートセロスでは $4 \sim 6 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ となるように, 3 l フラスコにそれぞれ接種した。培地には, ろ過海水をオートクレーブ高圧滅菌 (121 °C, 20 min) した後に, 栄養塩として KW-21 (終濃度 $1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$: 株式会社第一製網製) を加えた。キートセロスには, さらにゲルカルチャー (終濃度 $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$: 株式会社富士シリシア化学製) を加えて, 総量を 3 l とした。1 ml あたりの細胞数と細胞径は培養開始日より 24 時間おきにコールターカウンター (マルチサイザー 3, 株式会社ベックマン・コールター製) で測定し, 最大比増殖速度 (day^{-1}) を求めた。測定した粒径範囲は, パプロバでは粒径 $3.4 \sim 7.0 \mu\text{m}$, キートセロスでは粒径 $4.0 \sim 8.0 \mu\text{m}$ とした。測定期間はパプロバで 7 日間, キートセロスで 5 日間とした。

ポリカーボネート水槽による培養試験 LED もしくは FL を用いて 3 l フラスコで前培養した株を 2 分し, LED もしくは FL を光源にした円形ポリカーボネート水槽 (容量 30 l) による培養試験を行った。また, 前培養に用いた光源別に増殖を記録し, 前培養に用いた光源の影響も調べた。試験は, 円形ポリカーボネート水槽にパプロバでは $2 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, キートセロスでは $2 \sim 3 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ となるように接種した。培地には, ろ過海水に KW-21 (終濃度 $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$) を加えた。また, キートセロスにはこれにゲルカルチャー (終濃度 $1.0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) を加え, 総量を 20 l とした。試験開始より 24 時間おきにパプロバでは 8 日間, キートセロスでは 7 日間, コールターカウンターで 1 ml あたりの細胞数および細胞径を測定し, 最大比増殖速度 (day^{-1}) を求めた。測定した粒径範囲は, パプロバ, キートセロス共に 3 l フラスコでの培養試験と同様とした。

結 果

光源 LED および FL の波長 400 ~ 700 nm の相対分光エネルギー比を図 2 に示した。照明装置の正面 20 cm における波長 400 ~ 700 nm の光子束密度は, LED で $86.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, FL で $76.4 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。LED および FL の 30 日間に使用した電力量は, LED で約 180

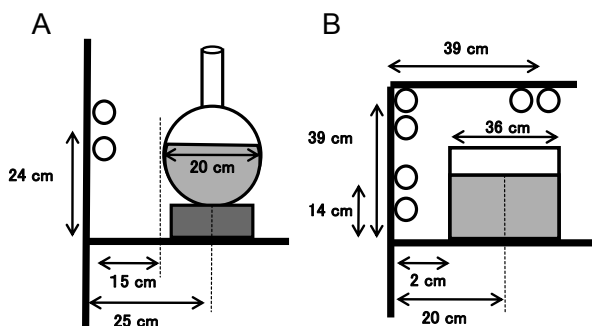


図 1. 白色 LED および FL の配置
A: 3 l フラスコ, B: 30 l ポリカーボネート水槽
○: 光源

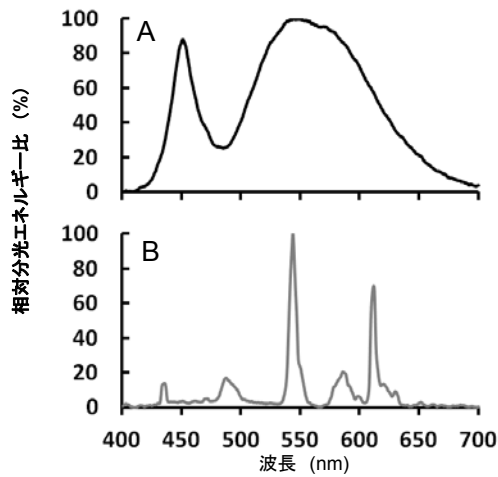


図2. 白色LEDおよびFLの波長特性
LED: A, FL: B

kWh, 蛍光灯で386 kWhであった。1日の平均使用電力はLEDで6.0 kWh, FLでは12.9 kWhと、LEDとFLでは6.9 kWhの差があった。照明装置の表面温度は、LEDで24~25℃, FLで30~40℃であった。

フラスコによる培養 パプロバの平均細胞密度は、7日目においてLEDで $15.8 \times 10^6 \pm 5.3 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, FLで $16.1 \times 10^6 \pm 12.4 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ となり、有意差はなかった ($p = 0.26$)。キートセロスの5日目の平均細胞密度はLEDで $17.6 \times 10^6 \pm 3.5 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, FLでは $17.4 \times 10^6 \pm 3.4 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ で、有意差は認められなかった ($p = 0.46$)。増殖率もパプロバ、キートセロス共にLEDとFL間で差はなかった (図3A, B)。

また粒径の最頻値は、パプロバでは1日目に最大となり、2日目以降は小さくなる傾向が見られた。一方、キートセロスでは試験期間中の細胞粒径の最頻値に明確な変化はなかった。パプロバ, キートセロス共にLEDとFLでは、増殖に対する差はなかった (図3C, D)。最大比増殖速度の平均値は、パプロバではLEDで $0.90 \pm 0.06 \text{ day}^{-1}$, FLで $0.85 \pm 0.04 \text{ day}^{-1}$, キートセロスではLEDで $1.30 \pm 0.07 \text{ day}^{-1}$, FLで $1.25 \pm 0.12 \text{ day}^{-1}$ であった。パプロバ ($p = 0.14$), キートセロス ($p = 0.20$) であり、共に最大比増殖速度に有意差はなかった。

ポリカーボネート水槽による培養 パプロバの平均細胞密度は、8日目においてLEDで $16.1 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, FLで $15.7 \times 10^6 \pm 1.7 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ であり、有意差はなかった ($p = 0.34$)。7日目のキートセロスの平均細胞密度は、LEDで $12.7 \times 10^6 \pm 2.1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$, FLで $14.3 \times 10^6 \pm 2.9 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ と有意差はなかった ($p = 0.15$)。ポリカーボネート水槽による培養においても、フラスコによる培養と同様に、パプロバ, キートセロス共に光源の違いによる細胞密度の差はなかった (図4A, B)。また、それぞれの粒径もパプロバ, キートセロス共にLEDとFLとの間に差はなかった (図4C, D)。最大比増殖速度は、パプロバでは、LEDで $0.66 \pm 0.15 \text{ day}^{-1}$, FLで $0.67 \pm 0.07 \text{ day}^{-1}$ であった。一方、キートセロスでは、LEDで $0.52 \pm 0.07 \text{ day}^{-1}$, FLで $0.60 \pm 0.14 \text{ day}^{-1}$ であった。ポリカーボネート水槽による培養でも、最大比増殖速度はパプロバ ($p = 0.37$), キートセロス ($p = 0.13$) であり、共に有意差はなかった。

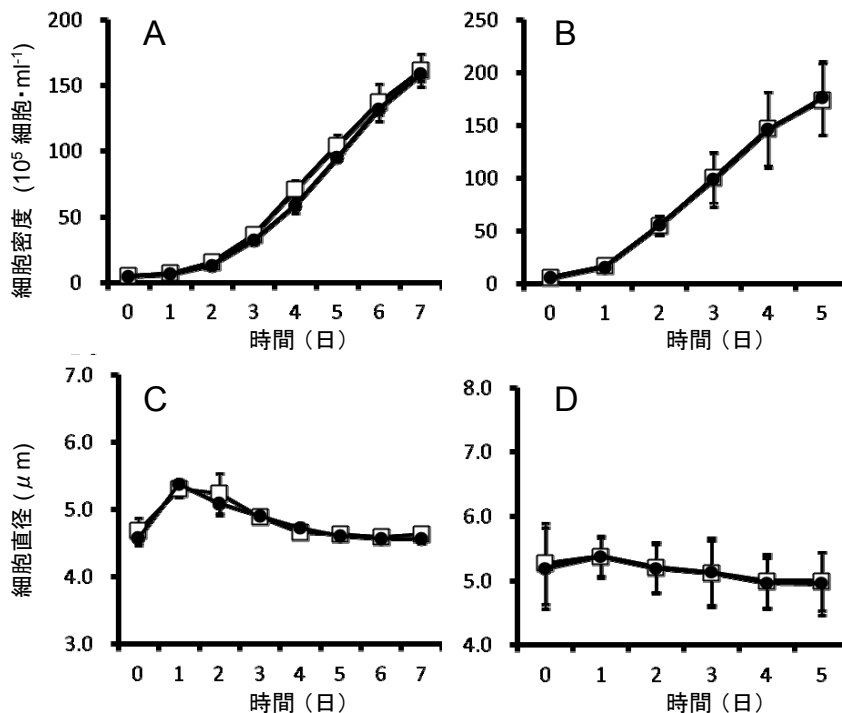


図3. 3ℓフラスコで培養したパプロバ (A) とキートセロス (B) の細胞密度およびパプロバ (C) とキートセロス (D) の細胞粒径
● LED □ FL

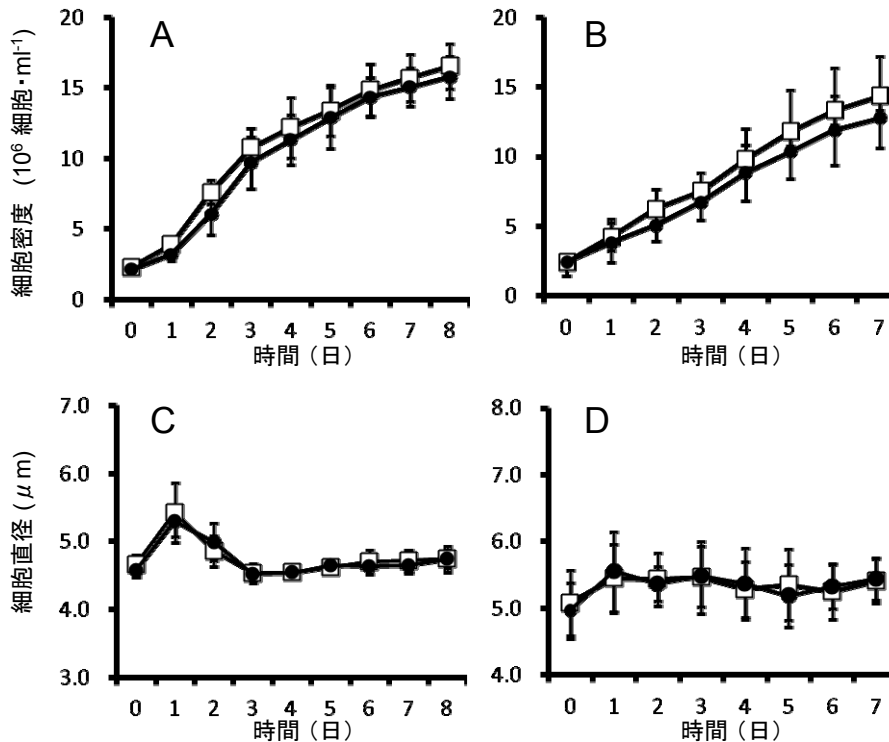


図4. 30ℓパンライト水槽で培養したパブプロバ (A) とキートセロス (B) の細胞密度 およびパブプロバ (C) とキートセロス (D) の細胞粒径
 ● LED □ FL

考 察

プランクトンや藻類の育成用の照明として発光ダイオードと蛍光灯を光源とした際の、植物体の成長比較や目的に応じて光質の異なる発光ダイオードを組み合わせること、および照射方法の改良も図られている¹⁵⁻¹⁷⁾。試験に用いたパブプロバやキートセロスは緑藻とは異なり青色側の400～450nmの波長帯と赤色側の600～650nmの波長帯で吸収効率が高いとされている^{7), 18)}。これに対して今回使用した発光ダイオードは植物育成用に開発されたものではなく、一般的な照明用の光源である。分光分布は490nm付近で分光放射照度が小さくなるが、従来使用していた蛍光灯に比べて、増殖速度や細胞の粒径において差がなかったことから、蛍光灯に代わる光源として実用化の可能性が示された。植物では、対象となる植物の成長に適した分光分布の照明が用いられる¹⁴⁾。しかし、赤色の発光ダイオードを照明に用いると付着珪藻の増殖が抑制されることが示されていること¹⁷⁾から、微細藻類の種によっては培養に適さない波長帯もある。二枚貝や仔稚魚の初期餌料を目的とした中小規模で餌料用微細藻類の培養を行う施設では、同じ施設で様々な種類を培養することが多く、特定の波長に特化した植物用の照明よりも低価格であり、広範囲の波長を持つ白色発光ダイオードは汎用性が高い。また、一般的な照明としての普及により今後の価格低下が期待できることなどを考慮すると、種苗生産施設における餌料用プランクトン

培養の光源として白色発光ダイオードの実用性が高いと考える。

パブプロバでは照度と細胞の増加量は比例することが知られている^{6), 19)}。餌料用微細藻類の培養に発光ダイオードを使用するにあたっては、効率的に光が培養容器に照射される形状の培養器や配置にすること、および照明器具の改良でより少数の発光ダイオードでも十分な光量を確保する技術の確立が望まれる。発光ダイオードは蛍光灯に比べて光が拡散しないため、光源と水槽の位置を最も効率的に光が照射できる位置に配置することなど、その配光特性を理解しておく必要がある。一般に種苗生産の現場ではプランクトン培養に用いる蛍光灯の管理は厳密に行われていないことが多く、点灯しなくなるまで使用される場合もある。発光ダイオードを用いた照明器具には設計寿命が表示されている。これは全光束が初期全光束の70%、または光度が初期光度の70%に低下するまでの時間である。この後も蛍光灯のように完全に点灯しなくなるのではなく、点灯し続けるが光量は穏やかに減少する。このため、発光ダイオードを植物プランクトン培養に利用する場合は、光量や点灯時間、プランクトンの増殖率などを指標にして、現場に応じた交換基準を設けておくことが必要であると考えられる。また、同じ青色でも蛍光灯と発光ダイオードでは分光分布が異なるため、キクの茎伸長に与える影響が異なることが報告されている²⁰⁾。微細藻類は、種によってクロロフィルが異なるため、光吸収スペクトルも異なる¹⁸⁾。白色発光ダイオード

は、蛍光灯との違いだけでなく、発光ダイオードのメーカーや機種間でも分光分布が異なるため、発光ダイオードを餌料用微細藻類の培養の光源として利用するには分光分布を十分に理解した上で利用することが重要である。さらに実際の二枚貝飼育における餌料価値の評価を通して、発光ダイオードで培養したプランクトンの栄養価についても評価を行う必要がある。課題はまだ残されているものの、発光ダイオードは長寿命であること、今回の試験では使用した電力量が約50%であったこと、さらに照射面への放熱が少なく、培養液の温度上昇を抑えられることなど、省エネルギー化を進めるには有効な光源であり、今後の活用が期待される。

謝 辞

本研究は国の緊急雇用創出事業に基づき（財）三重県水産振興事業団が実施した栽培・養殖業技術開発試験事業によって行われました。また、本論文をとりまとめるにあたり多大なるご指導、ご教授をいただきました。水産総合研究センター増養殖研究所、岡内正典博士に深く感謝いたします。

文 献

- 林政博・瀬古慶子（1986）アコヤガイの種苗生産について．三重県水産技研報，**1**, 39-69.
- 岡内正典（2002）海産魚介類の初期餌料用微細藻類の大量培養技術の開発．日水誌，**68**, 625-626.
- 向阪信一・加藤元一・増田篤稔・洞口公俊・村上克介（2005）餌料用微細藻類培養のための光放射法．松下電工技報，**53**, 20-25.
- 中島幹二・奥村裕弥（2000）人工光利用による餌料用微小藻類 *Pavlova lutheri* の培養器大型化に関する考察．照明学会誌，**84**, 502-506.
- UKELES R. (1961) The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species. *Biol. Bull.*, **120**, 255-264.
- CARVALHO A. P. and MALCATA F. X. (2003) Kinetic modeling of the autotrophic growth of *Pavlova lutheri*: Study of the combined influence of light and temperature. *Biotechnol. Prog.*, **19**, 1128-1135.
- 奥村裕弥（2008）水産種苗生産過程での餌料用海産性微細藻類の培養効率化に関する研究．北水試験報，**73**, 9-29.
- LEE C. G., PALSSON B. O. (1994) High-density algal photobioreactors using Light Emitting Diodes. *Biotechnol. Bioengner*, **44**, 1161-1167.
- 後藤英司（2005）LEDの植物育成分野への応用．照明学会誌，**89**, 142-144.
- 許雷・早坂拓之（2010）LED照明の発熱量に関する実測研究．日本建築学会大会学術講演梗概集，1159-1160.
- 菊川祥吉・森光尚廣・横山正春・河村友喜・光本真一（2008）カイワレダイコンの成長に及ぼすLEDとオゾンの影響．照明学会誌，**92**, 262-265.
- 松本拓也・伊藤博道・白居祐希・白石齊聖・宇野雄一（2010）光質がレタス成長と野菜中硝酸イオン濃度に及ぼす影響．植物光学，**22**, 140-147.
- 箕田充志・福島志斗・恒次秀起・栗原勇次（2007）植物育成用LED光源の制御法．電気学会論文誌，**127**, 1249-1250.
- 渡辺博之（1994）LEDで育てる野菜．照明学会誌，**85**, 222-224.
- 村瀬昇・銭志亮・水口昭弘・水口千津雄（2008）白色LED照射によるアマモ，ウミヒルモおよび不稔性アナアオサの成長．海苔と海藻，**74**, 19-33.
- 村瀬昇・水口昭弘・水口千津雄（2008）LED照明付き水槽によるアマモの成長．海苔と海藻，**74**, 34-37.
- 團昭紀（2003）発光ダイオードを使った藻類の培養．徳島県水産研究所事業報告，77.
- 海洋生物学2（1996）粒状物質の一次生成，東海大学出版会，89-97.
- 瀬古慶子（1985）*Pavlova lutheri* の培養における照度の影響について．三重県栽培漁業センター事業報告書，89-93.
- 清水浩・馬稚昱・田澤信二（2008）青色蛍光灯と青色LEDではキクの茎伸長に与える影響が異なる．植物環境工学，**20**, 98-101.