

機関番号：12614

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20780135

研究課題名（和文）海産魚養殖により環境中へ負荷される物質を利用した餌料生物の生産

研究課題名（英文）Live food production using waste materials discharged from marine fish culture system

研究代表者

遠藤 雅人 (ENDO MASATO)

東京海洋大学・海洋科学部・助教

研究者番号：80397075

研究成果の概要（和文）：閉鎖循環式魚類飼育装置を用いてトラフグを飼育した際に排出される物質を利用して水産生物の餌料となる微細藻類の培養を行った。トラフグの排出物質には微細藻類を培養するために必要な栄養塩となるリンとマンガンが不足していたが、これらを添加することによってトラフグから排出される物質を利用して微細藻類を培養することができた。このことから、閉鎖循環式養殖における飼育排水の浄化と餌の生産が同時に可能な方式が実現できることが分かった。

研究成果の概要（英文）：The cultures of several microalgal species as live food for aquatic animals were conducted using waste discharged from closed recirculating fish culture system with tiger puffer. Tiger puffer waste was deficient phosphorus and manganese that are essential nutrients for microalgal growth. The algal culture with tiger puffer waste has been successful by adding the shortage nutrients. These results show that the method charred on waste water recycling and live food production simultaneously can be established for closed recirculating fish culture system.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 2009年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2010年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：水産学、農林水産物、バイオマス、微細藻類、魚類養殖

1. 研究開始当初の背景

近年、食料生産過程における環境への汚濁物質排出防止の法制化が環境汚染の防止を目的に進められている。それに伴い、環境負荷低減に関するさまざまな社会的取り組みや技術開発が行われている。農業および畜産では両者から排出される副産物を循環させることにより、環境への物質排出を防止する試みがなされている。一方、水産では養殖における水環境汚染が問題視されており、飼育水を浄化して再利用することにより自然環

境へ物質を直接排出しない循環式養殖が目されている。淡水養魚では農作物の水耕栽培と循環式養殖を連携させることで物質循環を行う複合システムの研究開発が進められており、実用化に至っている。また、近年、海産魚養殖では循環式養殖システムにおける数種の海産養殖対象魚種を用いた飼育研究が行われ、その技術開発の結果、沿岸から離れた山間部等においても海産魚が飼育可能な装置が実用段階に入っている。しかしながら、現在の海産魚の循環式養殖ではシステ

ムへ負荷された物質は高濃度に蓄積される。窒素除去については脱窒処理が可能であるが、その他の溶存態物質の有効な除去方法や固形物の処理法については未だ検討が不十分である。

我々は循環式魚類養殖において環境中に負荷される物質の除去と魚類の初期餌料となるプランクトンの生産を同時に行う餌料生物生産システムの構築に向けた基礎的研究を行ってきた。これまでに淡水魚養殖における同システムの有用性について検討を行い、ティラピア *Oreochromis niloticus* を飼育した際の養魚排水と堆積物に含まれる物質を栄養塩としてクロレラ *Chlorella vulgaris* およびセネデスムス *Scenedesmus quadricauda* の培養に成功した。さらにこのクロレラ藻体を餌としてタマミジンコ *Moina macrocopa* の培養が可能であることを実証した。循環式養殖システムから排出される物質を利用した生物餌料の生産についての知見は少なく、物質の移動効率を調査した例は我々の研究以外にほとんどない。

2. 研究の目的

本研究では海産魚循環式養殖における飼育水中の汚濁物質の除去と生物餌料の生産を同時に行う技術の可能性を検証し、さらにその有用性について検討を行う。

研究には魚類として海産魚循環式養殖において飼育技術が確立されているヒラメ *Paralichthys olivaceus* およびトラフグ *Takifugu rubripes* の飼育排水と沈殿槽に堆積した固形物を用いる。まず、これらの元素組成(窒素、リン、マグネシウム、カリウム、鉄、亜鉛、銅、ケイ素等)を把握する。

次に生物餌料として用いられる微細藻類を通常用いられる培地で培養し、藻体回収後、藻体の元素組成を把握する。培養する藻類は海産魚初期餌料ワムシの培養に広く用いられるナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata*、二枚貝の餌料として用いられるテトラセルミス *Tetraselmis tetrahele* およびキートセロス *Chaetoceros gracilis* の3種とする。それぞれの培養密度(乾燥重量)および藻体組成から培養に必要な各元素の濃度について算出する。算出した元素濃度と飼育排水および固形物の元素組成を比較し、それぞれ3種の微細藻類の培養に用いる量を決定する。また、絶対量が不足する元素についても特定を行う。培養液の作成は飼育排水および固形物を混合することで行う。固形物に関しては、申請者らの研究により考案した硫酸による可溶化を行った後、固形物分解液として使用する。作成した培養液を用いて実際に微細藻類の培養を行う。不足元素においては培養における無機塩添加の効果について検討する。培養終了後、それぞれの藻体を回収し、培養密

度(乾燥重量) および藻体元素組成、栄養組成を把握する。得られたデータより、培養液から吸収した元素の量について算出し、飼育水中より回収される物質の推定を行う。さらに餌料としての栄養価の観点から通常の方法で培養した藻体との比較を行う。

ナンノクロロプシスの藻体を用いてワムシ *Brachionus rotundiformis* および *B. plicatilis* の培養を行い、得られたワムシについても同様にそれぞれの組成を把握し、ヒラメ・トラフグ排出物質→ナンノクロロプシス→ワムシの物質移動効率(バイオマス、主要元素)について明らかにする。

最後に本方式により生産されたワムシ2種をヒラメ仔稚魚の餌として、テトラセルミスおよびキートセロスのアサリ *Ruditapes philippinarum* 稚貝の餌として使用し、それぞれの生残率と成長から本方式で生産された生物の餌料価値を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 閉鎖循環式魚類飼育装置を用いたトラフグ飼育

海産魚の閉鎖循環式養殖より排出された飼育排水および固形物を微細藻類の栄養塩として用いる際には排出される物質の組成およびその量を把握する必要がある。そこでトラフグの循環式飼育を行い、排出される物質の確保とその元素組成の把握を行った。

閉鎖循環式魚類飼育システム(総水量: 210L/システム)を用いてトラフグ(平均体重178g) 12尾/システムを無換水で10週間飼育した。試験区は浸漬式濾過装置および殺菌装置による循環濾過式飼育システム(SFUV)と泡沫分離装置および間欠式濾過装置(FFIF)による循環濾過式飼育システムの2試験区に設定した。

(2) トラフグ循環式飼育で排出される物質の把握

飼育終了後、飼育排水および固形物中の窒素およびミネラル類の元素組成を把握するため、FFUVシステムの飼育排水、堆積物、泡沫液体および泡沫固体に分けて試料を回収した。それぞれの試料について窒素およびミネラル(リン、マグネシウム、カリウム、カルシウム、鉄、マンガン、コバルト、銅、亜鉛)の濃度および含量を全窒素計および誘導結合プラズマ発光分析装置(ICP-AES)にて分析を行った。なお、固形物については前処理として酸分解による可溶化を行った後、分析に供した。

(3) 養魚廃棄物培地の組成検討および不足元素の特定

微細藻類に必要な元素を把握するため、一般的に広く用いられるF培地を用いてナンノ

クロロプシスを培養し、培地から吸収される元素、すなわち、ナンノクロロプシス藻体に蓄積された窒素およびミネラルの含量を把握し、その吸収率を算出した。さらに F 培地およびナンノクロロプシス藻体の元素組成を養魚廃棄物と比較するため、窒素を基準としたその他の元素の過不足について把握した。

(4) 養魚廃棄物培地を用いた微細藻類の培養と不足元素の添加効果の把握

養魚廃棄物を用いた微細藻類の培養を行った。試験区は養魚廃棄物培地、養魚廃棄物+鉄、マンガン培地、2倍濃度の F 培地の計3区とした。養魚廃棄物を用いた2種の培地は F 培地と窒素含量が等しくなるように濃度を調整し、鉄およびマンガンを追加した培地には F 培地と同等の鉄およびマンガン濃度となるように塩化鉄(III)および塩化マンガンを追加した。固形物分解に用いた硫酸および飼育排水の保存のために添加した塩酸を中和するため、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウムを海水の組成割合で混合したアルカリ溶液を調整して中和を行い、高圧蒸気滅菌を施したのち、藻類培養に用いた。

培養には、1Lフラスコを用い、培養液をそれぞれ 800mL 用いた。通気による細菌のコンタミネーションを防ぐため、吸気口に PTFE メンブレン装着フィルターユニット、排気口にシリコ栓を取付け、無調製空気を 500mL/min の割合で通気した。光源には白色蛍光灯を用い、平均光合成有効光量子束密度 $250\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で下方から上方へ向けて 12L:12D の光照射を行った。培養温度は 25°C に設定した。また、各藻体の接種密度はナンノクロロプシスで 10^6 細胞/mL、テトラセルミスおよびキートセロスで 10^5 細胞/mL とした。

4. 研究成果

(1) 閉鎖循環式魚類飼育装置を用いたトラフグ飼育

トラフグの成長および飼料効率には試験区間の有意差は認められなかった。水質については、アンモニア態窒素および亜硝酸態窒素濃度は飼育期間を通して FFIF システムで SFUV システムと比較し、常に低い値を示した。硝酸態窒素はどちらの試験区においても直線的に増加し、飼育終了時にはいずれのシステムも 400mg-N/L 以上蓄積した。オルトリン酸態リンも常に増加傾向を示したが、6週間目より、FFIF システムが SFUV システムと比較し、低い値を示した。これは泡沫分離液および固形物の回収により、飼育水中のリンが除去されたと考えられた。本結果より、トラフグの成長において両システム間にあま

り差はないが、FFIF システムは酸素供給および硝化能において SFUV より優れていることがわかった。また、沈殿物、泡沫分離固形物の凍結乾燥後の重量測定により、FFIF システムは SFUV より固形物の回収率が高いことがわかった。これにより、閉鎖循環式飼育の新しい装置構成の有用性が実証できたとともに、養魚廃棄物培地の基となる試料が得られた。なお、FFIF より得られた培地用試料は平均で飼育排水が 208.3L、泡沫液体が 1.9L、堆積物が 55.3g、泡沫固体が 66.4g となった。

(2) トラフグ循環式飼育で排出される物質の把握

飼育終了後の飼育排水、泡沫液体および固形物中の窒素およびミネラル類の元素組成を表 1 および 2 に示す。

それぞれの養魚廃棄物で異なる元素蓄積

表 1 トラフグの循環式養殖の際に排出された飼育排水と泡沫液体の元素濃度

| | | 飼育排水 | 泡沫液体 |
|--------|---------------------|--------|--------|
| 窒素 | (mg/L) | 381.9 | 237.7 |
| リン | (mg/L) | 18.8 | 41.9 |
| マグネシウム | (mg/L) | 1243.5 | 954.3 |
| カリウム | (mg/L) | 608.4 | 520.7 |
| カルシウム | (mg/L) | 851.7 | 443.2 |
| 鉄 | ($\mu\text{g/L}$) | 76.8 | 1859.8 |
| マンガン | ($\mu\text{g/L}$) | 106.0 | 149.2 |
| コバルト | ($\mu\text{g/L}$) | 84.8 | 89.3 |
| 銅 | ($\mu\text{g/L}$) | 154.3 | 38.7 |
| 亜鉛 | ($\mu\text{g/L}$) | 98.8 | 929.5 |

表 2 トラフグの循環式養殖の際に排出された堆積物と泡沫固体の元素組成

| | | 沈殿物 | 泡沫固体 |
|--------|---------------------|--------|--------|
| 窒素 | (mg/g) | 35.6 | 69.0 |
| リン | (mg/g) | 100.5 | 43.3 |
| マグネシウム | (mg/g) | 7.9 | 13.8 |
| カリウム | (mg/g) | 38.7 | 38.8 |
| カルシウム | (mg/g) | 188.7 | 73.7 |
| 鉄 | ($\mu\text{g/g}$) | 1490.0 | 2170.0 |
| マンガン | ($\mu\text{g/g}$) | 171.9 | 181.3 |
| コバルト | ($\mu\text{g/g}$) | 49.6 | 47.1 |
| 銅 | ($\mu\text{g/g}$) | 111.5 | 146.7 |
| 亜鉛 | ($\mu\text{g/g}$) | 580.8 | 675.2 |

の傾向を示した。飼育水では、窒素、マグネシウム、カリウム、カルシウムおよび銅、泡沫液体ではリン、鉄、マンガン、および亜鉛が多く含有していた。同様に、沈殿物では、リンおよびカルシウムが相対的に高い値を示し、泡沫固体では窒素、マグネシウム、鉄、銅および亜鉛が比較的高い値をであった。

(3) 養魚廃棄物培地の組成検討および不足元素の特定

F 培地の組成、最終的に得られた乾燥重量および藻体組成から算出した栄養塩吸収率において、鉄、マンガン、窒素およびリンが高い値を示した。微細藻類は必要とする元素のみを吸収し、組成に反映するため、鉄、マンガン、窒素およびリンが重要な元素であると推察された。

窒素を基準として算出したナンノクロロプシスの藻体組成に対する養魚廃棄物の各元素の割合を図1に示す。

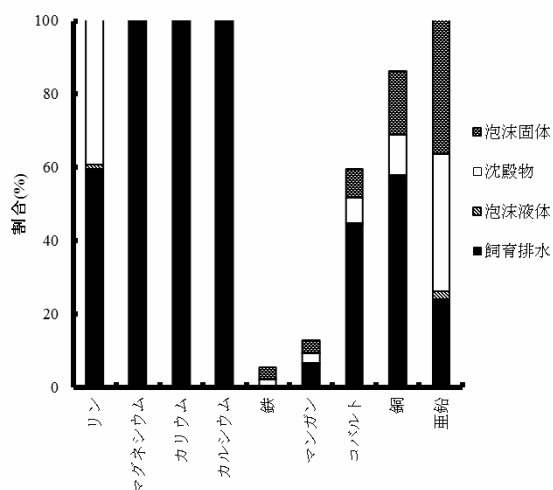


図1 窒素を基準としたナンノクロロプシス藻体組成に対する養魚廃棄物の各元素の割合

ナンノクロロプシス培養に飼育排水のみを使用した場合、リン、鉄、マンガン、コバルト、銅および亜鉛の不足が生じるが、その他の沈殿物や泡沫分離物を利用することでリン、コバルト、銅および亜鉛は補填できることが示唆された。しかし、養魚廃棄物における鉄とマンガンの絶対量は不足しており、さらに同元素は微細藻類の増殖に必須あることから、外部から鉄とマンガンの添加が必要であることが示唆された。

(4) 養魚廃棄物培地を用いた微細藻類の培養と不足元素の添加効果の把握

ナンノクロロプシス、テトラセルミス、キートセロスのいずれの種も養魚廃棄物に不足栄養塩を添加することにより、十分な増殖が得られることが明らかとなった。

本成果は海産魚の循環式養殖における廃棄物の処理、すなわち、飼育水の再生、飼育装置からは排出される固形物の再利用および餌料生物の生産を同時に行うことが可能であることを示し、環境に物質を一切排出しない物質循環型の海産魚養殖を実現に向けて端緒を開くことができた。

しかし、今回の研究開始当初の計画に含まれる藻体の栄養分析および水産生物の餌として培養藻類を用いる飼育実験は未達に終わった。今後は栄養組成を把握し、水産生物への給餌実験を進め、得られた藻体による物質の再利用を実証していく方針である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① 遠藤雅人、活かす水産研究最前線 - 生産現場と食につながるトピックス、第2回 閉鎖循環式養殖の新たな展開、月刊養殖、査読無、47、2010、66-69.
- ② Masato Endo and Toshio Takeuchi, Solubilization of solid waste discharged from freshwater recirculating fish culture system by chemical digestion for production of liquid fertilizer. Eco-Engineering, 査読有, 21, 2009, 103-109.
- ③ 遠藤雅人、竹内俊郎、閉鎖循環式養殖システムへの海洋深層水利用の可能性、海洋深層水研究、査読無、10、2009、41-47.
- ④ 遠藤雅人、シリーズ解説: 進化する水産養殖技術(第2回) 閉鎖循環式養殖システム. 食品と容器、査読無、49、2008、446-452.

[学会発表] (計14件)

- ① 金子義昂、古田岳志、菊池弘太郎、遠藤雅人、杉田治男、竹内俊郎、閉鎖循環式海産魚飼育における泡沫分離処理が水質に及ぼす影響、2010 生態工学会年次大会、2010年5月14日、沖縄県農業研究センター (沖縄県).
- ② 金子義昂、古田岳志、菊池弘太郎、遠藤雅人、竹内俊郎、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の閉鎖循環式飼育における水質変化、平成21年度日本水産学会秋季大会、2009年10月1日、いわて県民情報交流センター・アイーナ(岩手県).
- ③ 遠藤雅人、竹内俊郎、養魚廃棄物を用いた餌料生物培養の試み、農業環境工学関連学会 2009年合同大会、OS-3: 水産における物質循環と複合養殖、2009年9月16日、東京大学・駒場キャンパス(東京都).
- ④ 金子義昂、古田岳志、菊池弘太郎、遠藤雅人、竹内俊郎、閉鎖循環式海産魚飼育

における水質変化. 2009 生態工学会年次大会、2009 年 6 月 19 日、筑波大学 大学会館(茨城県).

- ⑤ 竹内俊郎、遠藤雅人、循環式養殖システムの最近の進歩、マリンバイオテクノロジー学会大会、2009 年 5 月 30 日、早稲田大学 西早稲田キャンパス(東京都).
- ⑥ 遠藤雅人、竹内俊郎、食料生産サブシステムとしての魚類養殖、第 52 回 宇宙科学技術連合講演会、2008 年 11 月 6 日、淡路夢舞台国際会議場(兵庫県).
- ⑦ 遠藤雅人、竹内俊郎、特別シンポジウム「水産分野における海洋深層水利用へのさらなる期待」 S3. 閉鎖循環式養殖システムへの海洋深層水利用の可能性、第 12 回 海洋深層水利用学会 全国大会 海洋深層水 2008 東京大会、2008 年 9 月 29 日、東京海洋大学 楽水会館(東京都).
- ⑧ 遠藤雅人、竹内俊郎、閉鎖生態系循環式養殖システムにおける物質循環の研究、日本地球惑星科学連合 2008 年大会、2008 年 5 月 30 日、幕張メッセ国際会議場(千葉県).

[その他]

ホームページ等

<http://www.s.kaiyodai.ac.jp/seibutsuHP/laboratory/seisan/2-4.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 雅人 (ENDO MASATO)

東京海洋大学・海洋科学部・助教

研究者番号：80397075