衛生工学研究論文集・第24巻・1988 (Proc. of Environ. & Sani. Eng. Research, Vol.24, 1988)

(2) 藍藻の連続培養と栄養塩類の代謝速度に関する研究

CONTINUOUS CULTIVATION AND NUTRIENT UPTAKE RATES OF BLUE-GREEN ALGA

村上定瞭*，深川勝之*，中西　弘**
Sadaaki MURAKAMI*, Masayuki FUKAGAWA*, Hiroshi NAKANISHI**

ABSTRACT; A blue green alga, Chroococcus sp., was cultivated continuously and the kinetics of metabolism were determined for major nurients.

Bottom mud from a small agricultural pond in Ube city was taken into a cultivation jar and algae were precultivated. Alga, Chroococcus sp., was transfered to a continuous cultivator which is of the net volume of 13.8 dm^3, thermostated at 30℃, and applied light with 8 white spotlights of 200W. The culture medium contained $NaHCO_3$, $NaNO_3$, KH_2PO_4, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $FeCl_3$ and EDTA. The pH value was kept at 8.0. The alga cell concentration was kept at 3,000 to 4,000 mg/dm^3. Under these condition, the alga growth rate was 11.4 g-dry biomass/m^2-light applied area/day.

The uptake rates, which were determined with batch method, for hydrogen carbonate, nitrate and phosphate ions in light were 3.4×10^{-2}, 5.3×10^{-3} and 5.8×10^{-4} g/g-dry biomass/day and the uptake rate for oxygen in the dark was 2.7×10^{-3} and the excreting rate for phosphate ion was 8.2×10^{-6}. The relative ratio of nutrient uptake rate with batch method was reasonably in agreement not only with that calculated from mass balance in continuous cultivation but with element content ratio of alga.

KEYWORDS; alga, continuous cultivation, nutrient uptake.

1. はじめに

著者らは富栄養化した池の生物学的浄化システムに関する研究を行っており，宇部市内の農業溜池においてプラント実験を実施してきた。[1] このシステムには数種の処理法を採用しているが，特に生物膜法を用いた浄化装置は池に発生した藻類の除去に極めて有効であることがわかった。しかし，野外実験では季節によって制約を受け，また浄化システムやその装置の処理特性等についていろんな観点から検討するためには，野外のみでなく室内規模でいろいろな実験を行う必要がある。このためには，年間を通じて安定した藻類の供給が必要となる。そこで今回は，上記溜池の底泥を植種源として培養を行い，この池で夏期から秋季にかけて優先的に発生するChroococcus sp. を取り出して，高濃度に藻類を維持する連続培養を試みた。併せて培養装置の設計や運転に必要な主要栄養塩類の代謝速度等について検討した。なお，この藍藻は塊状の群体を形成し遮光下において沈降速度が大きいため，藍藻と培養廃液の分離が容易であり，膜分離のような特殊な技術を用いなくても高濃度連続培養が可能であった。

藻類の動態に関する研究は古くより行われており，いろいろな条件下における藻類の増殖特性や栄養塩類の代謝速度等に関する研究は非常に多い。[2, 3, 4] しかし，Chroococcus sp. に関する知見は少なく，さらに藻類を供給する目的での連続培養実験に関する研究は，クロレラを除いては少ない。

*宇部工業高等専門学校　Ube Technical College,
** 山口大学工学部　Faculty of Engineering, Yamaguchi University

2. 実　　験

2.1　予備培養

宇部市の農業用溜め池"小路池"の底泥をFig.1に示すように，アクリル製円筒容器（直径20cm，高さ50cm）の底に厚さ10cmになるように移し，硝酸ナトリウム（0.5 g/dm³）およびリン酸二水素ナトリウム（0.5 g/dm³）を含む水道水10 dm³を培養液として，底泥が播き上がらないように細いチューブを用いて注いだ。この容器を30℃に保ったガラス製恒温槽（40×75×45cm）に浸し，底泥が播き上がらないように1rpm の速度で緩速攪拌しながら100Wの白色ランプ2本を用いて光照射した。2～3日すると藍藻の増殖が活発となり培養液が白濁してくる。10日ぐらいで，藻濃度がおよそ30mg/dm³となった。この予備培養混合液を連続培養装置に移した。

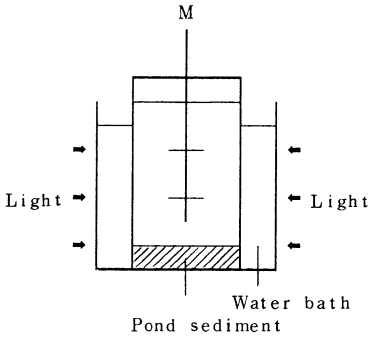

Fig. 1.　Pre-cultivation

2.2　連続培養

連続培養の概要をFig.2に示す。培養液保存槽，培養槽および分離槽より構成される。培養液や混合液などの液送は，すべてマイクロチューブポンプを用いて行ない，送液量は3～4日毎に測定して所定の値に保った。培養槽および分離槽はアクリル製円筒容器（直径20cm，高さ50cm）で，培養槽は30℃に保ったガラス製恒温槽（40×75×45cm）に浸した。培養槽の光照射は常時行い，200Wの白色ランプ4～8本用いて，恒温槽の外側4方向から照射した（7,000～15,000Lx）。照度の測定は，空の培養槽を恒温槽に浸し，培養槽の内壁面上の24箇所（円筒の円周方向8箇所×垂直方向上中下3箇所）の照度を測定して，被照射面の平均照度を求めた。培養槽内の培養混合液は13.8 dm³ で被照射面積は23,000cm²であった。分離槽の有効容積は培養槽と等しく13.8dm³とし，分離槽は遮光した。

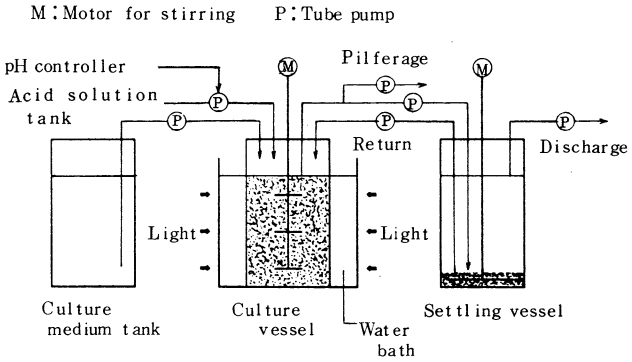

Fig. 2　Continuous cultivator of blue-green alga

培養液を培養槽に送り，培養混合液は分離槽に送られる。分離槽では，沈降法により藍藻と培養廃液を分離して，濃縮した藍藻は培養槽へ返送し，培養廃液は容積を測定して放流した。培養槽および分離槽の水位については，Fig.2に示すように垂直に垂らした送液用チューブの先端が所定の位置になるように調節し，水位を所定の値に保った（それぞれの槽内に流入する総量よりもやや高い流量値に設定したチューブポンプを常時可動した）。なお，培養槽からの送液チューブは，分離槽に取り付けた直径15mmの塩化ビニール製のパイプ（上端は水面上3cm，下端は分離槽の底から3cmの高さ）に差し込んだ。これは流入液の速度を低下させることと，さらに水位調節のため送液ポンプが空送りの時に空気抜きを行うためである。また，培養槽（30℃）と分離槽（室温）の温度差に起因して，送液された液が分離槽内で上昇して対流が起こるのを防ぐため，送液チューブを水道水温度で冷却した。沈降濃縮した藍藻は，返送用チューブの先端を底面まで垂らして吸引し，返送量は27.6 dm³/day（＝2V/day＝4.6Q；V：培養混合液量，Q：培養液の投入流量）とした。

培養槽に3枚の攪拌羽根を取り付け，藍藻が沈降しないように，また藍藻の群体が破壊されない程度に混合液を60rpmで攪拌した。分離槽には車のフロントガラスのワイパーを改造したゴム製の掻き寄せ羽根を取り付け，沈降した藍藻が播き上がらないように，1rpmで回転した。藻濃度が100～200 mg/dm³以下では，分離槽に沈降した藍藻が自動的に返送されないので，藍藻濃度が高くなるまで，分離槽の底に沈降した藍藻は返送用チューブの先端を操作して集め，培養槽に返送した。

培養槽内の藻濃度は毎日測定した。所定の藻濃度を保つため，つぎのようにして増殖分を毎日抜き取った。増殖量△W（乾燥重量換算）が含まれるように所定量の培養混合液（$V_X = \triangle W / X$；V_X：液量，X：藻濃度）をチューブポンプで抜き取った。抜き取り量は0.5～1 dm³ の範囲内であった。

培養液の成分は，炭素源として炭酸水素ナトリウム，窒素源として硝酸ナトリウム，リン源としてリン酸二水素カリウムを用いた。その他の成分として，硫酸マグネシウム，塩化カルシウム，塩化第二鉄および沈殿防止剤としてEDTAを加えた。各培養原液の組成をTable 1に示す。これらの原液を所定量とり，水道水を用いて希釈して培養液とした。Table 2に実際の培養液の組成を示す。培養液を2つに分けたのは，反応して沈殿を生じるのを防ぐためである。培養液1および2をそれぞれ3 dm³/day の流量で与えた。培養液の滞留時間（培養槽および分離槽を含む）は4.6日であった。pHはコントローラーを用いて，0.5N硫酸および0.5N水酸化ナトリウムを滴下してすべて8.0に設定した。

Table 1　Stock solutions for culture media

classification	component	concentration (g/dm³)
	$NaHCO_3$	powder
Solution A	$NaNO_3$	50.0
Solution B	KH_2PO_4	50.0
Solution C	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	15.0
	$CaCl_2$	5.0
	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	1.0
	EDTA	2.0

Table 2　Composition of culture media

classification	component	concentration (g/dm³)
medium 1	$NaHCO_3$	4.0 ～ 6.0
	$NaNO_3$	0.25 ～ 1.0
	KH_2PO_4	0.02 ～ 0.085
medium 2	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075
	$CaCl_2$	0.025
	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.005
	EDTA	0.010

2.3　藻類の同定

今回培養した藻類は，ほぼ単藻で球形の単細胞が塊状の群体をなすChroococcus sp.で，種まで同定できなかった。これに混じって，極く僅かに糸状の群体をなすLyngbya martensianaが存在した。細胞数の比較で，多い時でも1％以下であった。

2.4　培養生理実験

Fig. 2に示す連続培養装置の各ポンプを停止して連続運転を止めたのち，この装置の培養槽を利用して，直ちにバッチ実験を行い，速度論的な観点から培養生理を検討した。所定の初期濃度の培養液に対して，常時光照射下および暗条件下での藍藻の物質代謝による培養液の組成の経時変化を測定した。培養液の組成を変えた連続培養実験より，培養槽内の栄養塩類の濃度は経験的に分かっていたので，バッチ実験における栄養塩の初期濃度は次のようにして設定した。実験の1週間前に培養液の組成を所定の値になるように調節して，常時光照射下で連続培養した。実験の前日に培養槽内の分析を行い，栄養塩類が目的の値に達していることを確認した。このようにして初期条件を設定し連続培養を停止した後，バッチ実験を開始した。暗条件下での実験は，連続運転を停止すると同時に光照射も停止して遮光した後，経時変化を測定した。藻濃度はおよそ3,000～3,600mg/dm³の範囲に調節した。所定の時間ごとに，試料採取口よりチューブ付き注射器を用いて培養混合液を採取した。採取した試料は，2分して試験管に移し，一方はそのままで，他方は濾過して後に密封して3℃において分析するまで保存した。分析した項目は，溶存酸素，炭酸水素イオン，ケルダール窒素，アンモニア，亜硝酸イオン，硝酸イオン，リン酸イオン，総リンである。溶存酸素は隔膜型電極DOメーターを用いて測定した。炭酸水素イオンは滴定法によった。亜硝酸イオンお

よび硝酸イオンは吸光光度法およびカドミウム還元法により分析した。他の項目は衛生試験法によった。

3. 結果および考察

3.1 予備培養

予備培養液として，(A)硝酸ナトリウム，(B)リン酸二水素カリウム，(C)硝酸ナトリウムおよびリン酸二水素カリウムをそれぞれ添加したものについて検討した。A液については藍藻が発生したが，B液については発生しなかった。これは，リン源については底泥より補給されるが，窒素源については底泥中の脱窒菌の作用により窒素が除去されて，窒素源の補給がないためと思われる。A液とC液を比較すると，C液の方が藍藻の増殖が活発であった。また，他の無機塩類については，添加した場合としない場合との間に特に差異は認められなかった。したがって，予備培養液としてC液を用いた。

3.2 連続培養

連続培養が円滑に行なわれるようになってからの，藻濃度の経日変化をFig. 3に示し，藻濃度を3,000～4,000mg/dm³に維持するために，抜き取った藍藻の量（分析等のため，採取した量も含む）をFig. 4に示す。なお，光照射には100V，200Wの白色ランプを8本用いた。培養槽の内壁における平均照度は15,000Lxであった。Fig. 3に見られるように，藻濃度が200mg/dm³から培養して約一カ月間は直線的に増殖して3,000mg/dm³に達するが，その後藻濃度が少し減少している。連続培養を開始して，およそ2カ月後から抜き取りを開始した。抜き取りを開始してから再び藻濃度が増加し始めた。以後，3,000～4,000mg/dm³に維持されるように藍藻の増殖分を抜き取った。以上のことから，適当に増殖分を抜き取らないと藍藻が老化して増殖が停止することを示すものと思われる。事実，1カ月から2カ月の間は，培養槽内の一部の藍藻が白化した。また，3カ月以降において2,000mg/dm³まで藻濃度が低下しているのが時々見られるが，これはバッチ等実験を行ったためである。

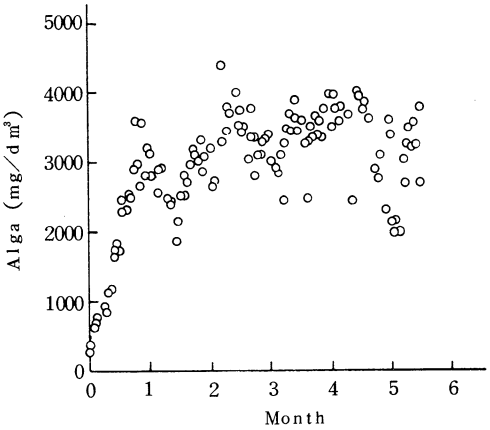

Fig. 3. Alga concentration in the culture vessel

バッチ実験等を行っていない，1カ月間の連続培養のデータを整理したものをTable 3に示す。藻濃度の平均値は3,652mg/dm³，培養槽内の藍藻の総量は50.4g−dry biomass/day，抜き取り量の平均値は2.54g−dry biomass/dayであった。藍藻の平均日令は19.8日であった。

Table 3 Data of continuos culivation of alga

Net volume of culture	13.8	dm³
Alga concentration	3,652	mg/dm³
Net biomass of alga	50.4	g−dry biomass
Pilferage of alga	2.54	g−dry biomass/day
Growth of alga	11.4	g−dry biomass/m²/day
Average alga age	19.8	day

Light intensity : 15,000Lx

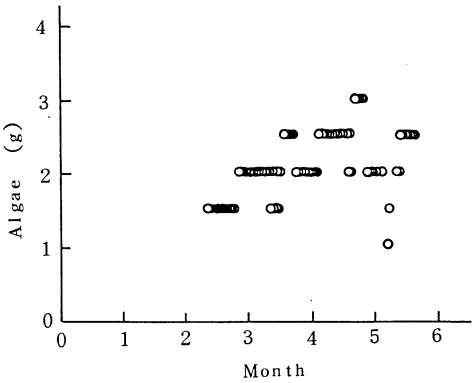

Fig. 4. Pilferage of algae from the culture vessel

培養槽の被照射面積に対する増殖率は11.4 g−dry biomass/m²/dayであった。

次に，系内の物質収支を検討するため前述の期間中の培養液中および培養廃液中の栄養塩類の分析値をTable 4および5にそれぞれ示す。培養液については，Table 2に示すように溶液1および2を同じく流量（それぞれ3 dm³/day，合計量6 dm³/day）で投与したので，溶液1および2を等量混合したものについて分析した。藍藻の摂取による塩類濃度の減少量をTable 5に括弧（ ）内の数値で示す。濃度の減少量に培養液の投与量を乗じて求めた摂取量をこの表に併せて示す。一方，藍藻の増殖分は藻濃度を保つための抜き取り量に等しい。Table 3に示す測定期間中の平均抜き取り量に藍藻中の含有率を乗じて求めた窒素およびリンの摂取量をTable 5の括弧〔 〕内に示す（炭素の含有率は今回測定しなかった）。窒素，リンともに，摂取量のほうが培養液からの減少量より大きい値（誤差＝P，＋16%；N，＋26%）である。窒素については培養液中に溶け込んだ窒素ガスの固定も考えられるが，リンについては説明が困難である。藍藻の分析は懸濁液を希釈して行ったが，分析値にバラツキが見られた。懸濁液の希釈の際，誤差が生じたものと思われる。今後，藍藻の元素分析を検討する必要がある。

Table 4 Nutrient concentration of culture medium

No.	HCO_3^- −C	NO_3^- −N	PO_4^{3-} −P
1	206	26.5	3.35
2	224	28.0	3.55
3	238	29.6	4.07
4	272	28.9	3.25

Analytical data for an equivalent amount mixture of culture midia 1 and 2.

Table 5 Nutrient concentration in waste medium and nutrient uptake by alga

No.	HCO_3^- −C	NO_3^- −N	PO_4^{3-} −P
1	53.6	1.75	1.25
	(152)	(24.8)	(2.10)
2	43.2	2.44	1.11
	(181)	(25.6)	(2.44)
3	92.7	2.90	1.20
	(145)	(26.7)	(2.87)
4	122	2.24	1.03
	(150)	(26.7)	(2.22)
Av.	(149)	(26.0)	(2.41)
Ratio	62	11	1
Uptake	894	156	14.5
(mg/day)	—	〔178〕	〔18.3〕

Figure in ( ) indicates the decrease by uptake.
Figure in 〔 〕 indicates the uptake calculated from alga growth and its content (N, 7.02%; P, 0.72%).
Unit : mg/dm³

3.3 物質代謝の速度

光照射および暗条件下での主要無機塩類の取り込みおよび放出速度を測定した。培養槽内のpHは8.0，温度は30℃ですべて一定とした。光照射は，200Wの白色ランプを8本用いて行った（照度15,000Lx）。

3.4 光照射実験

光照射下での培養槽内の各成分の経時変化の例をFig. 5およびFig. 6に示す。Fig. 5は，炭素，窒素およびリンの初期濃度（mg/dm³）をそれぞれ，132, 34.2, 3.81とした場合で，その相対取り込み速度はほぼ平行となっている。このことから，本条件下での培養液中の炭素，窒素およびリンの相対濃度比は，およそ40：10：1とすればよいことが分かる。

Fig. 6は炭素，窒素およびリンの初期濃度（mg/dm³）を139，1.13，0.95としたときの結果である。窒素源がすべて消費されて取り込みが停止すると，リン源の取り込みも停止している。この事実を確認するための，実験がFig. 7である。培養液中に窒素が全く存在しない場合には，リンが十分存在しても，リンの取り込みが行なわれないことを示している。逆に，リンが存在しない時の窒素の取り込みについての実験を試みたが，リンが不足すると藻類がリンを放出するために，このような実験を行えなかった。一方，炭素源については，Fig. 6に見られるように窒素源がなくても取り込みが行われ，今回行った実験時間内では光合成に何ら変化は認められない。なお，窒素源が存在しない条件での実験は次のようにして行った。培養液中の硝酸イオンの量をおよそ1週間前より調節して連続培養を行い，毎日培養槽内の窒素の分析を行

なって，窒素が検出されなくなった日の翌日にバッチ実験を行った。

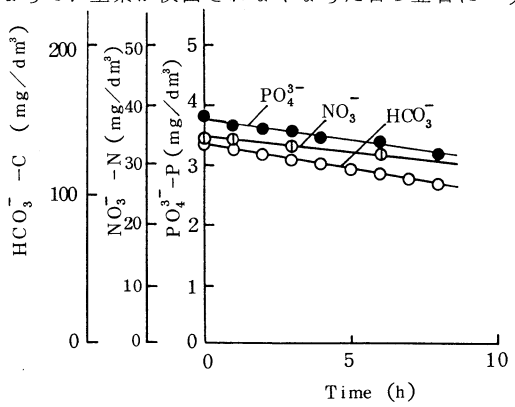

Fig. 5. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga：3570 mg/dm³

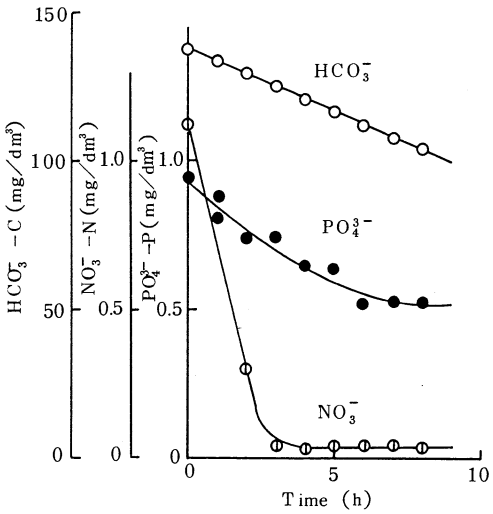

Fig. 6. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga：3049 mg/dm³

炭酸イオン，硝酸イオンおよびリン酸イオンの取り込み速度を測定した結果をFig. 8，Fig. 9，Fig. 10 に示す。Fig. 8 は実験中pHを8.0に維持するために加えた硫酸の量の経時変化を示す。光照射下では，炭酸イオンの取り込みが行なわれ光合成により次のように水酸化物イオンを放出するため培養液のpHが上昇する。

$$nHCO_3^- + nH_2O \rightarrow (CH_2O)n + nO_2 + nOH^-$$

したがって，pHを所定の値に保つために加えた酸の量は，光合成のために取り込まれた炭酸水素イオンの量に対応する。なお，炭素の取り込みを HCO_3^- の減少に置き換えたのは，次のような理由による。H_2CO_3 の電離定数は $pK_1 = 6.37$，$pK_2 = 10.33$ であり，この値を用いて計算すると，pH 8.0 における炭酸は100％ HCO_3^- として存在する。また，このようなイオン種は，CO_2 として空気中へ放散しないと考えられる。これを確認するため，pH 8.0 に調節した Na_2CO_3 を含む水溶液を窒素ガスで数時間曝気した後分析を行ったところ，炭酸イオンの減少は全く認められなかった。Fig. 8 の傾きより，藍藻の単位量当たりの炭素の取り込み速度を求めた。このようにして，各実験から得られた取り込み速度をまとめてTable 6に示し，平均値として 3.4×10^{-2} g−C／g−dry biomass／day が得られた。

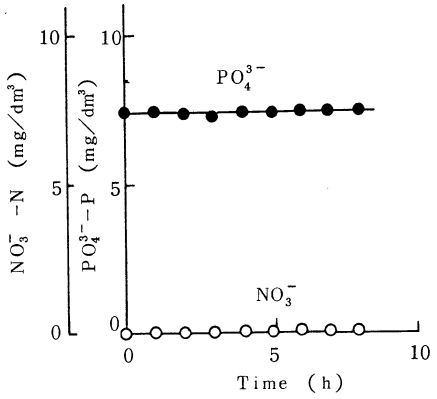

Fig. 7. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga：2785 mg/dm³

Fig. 9は藍藻の硝酸イオンの取り込み速度の濃度依存性を調べたものである。硝酸イオン濃度（窒素換算）が3 mg/dm³までは濃度依存性を示すが，この値以上では取り込み速度が飽和に達している。濃度依存性を示さない高濃度領域では，Fig. 5 に見られるように，培養混合液中の硝酸イオンの濃度は，時間の経過とともに直線的に減少する。この傾きより取り込み速度を求めた。このようにして各実験より求めた値をTable 6に示し，平均値として，5.3×10^{-3} g−N／g−dry biomass/day が得られた。

Fig. 10 はリンの取り込み速度を測定した結果である。傾きより取り込み速度を求め，Table 6に示す

ように平均値として5.8×10^{-4} g−P/g−dry biomass/day が得られた。なお，炭素およびリンについて，取り込み速度が濃度依存性を示す低濃度領域での実験は今回行っていない。今後行う予定である。

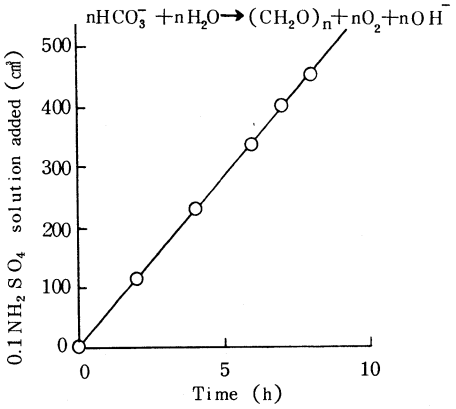

Fig. 8. Acid required to adjust at pH 8.0 by CO_2 uptake in light. Alga : 3575 mg/dm³

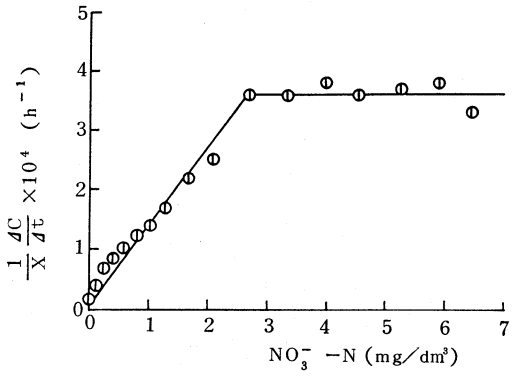

Fig. 9. Concentration dependence of NO_3^- −N uptake rate in light. Alga : 3414 mg/dm³

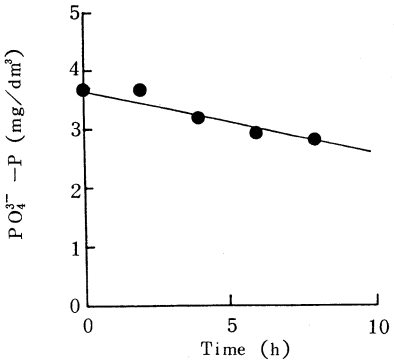

Fig. 10. PO_4^{3-}−P decrease by uptake as a function of time in light. Alga : 3575 mg/dm³

Table 6 Uptaking rates of nutrient by alga in light

	HCO_3^- −C	NO_3^- −N	PO_4^{3-} −P
	3.8×10^{-2}	3.4×10^{-3}	
	3.4×10^{-2}	8.6×10^{-3}	
	3.4×10^{-2}	1.2×10^{-3}	7.2×10^{-4}
	3.1×10^{-2}	3.4×10^{-3}	4.3×10^{-4}
	3.4×10^{-2}	3.1×10^{-3}	5.8×10^{-4}
		8.2×10^{-3}	
Av.	3.4×10^{-2}	5.3×10^{-3}	5.8×10^{-4}
Ratio	59 〔62〕	9.1 〔11〕	1 〔1〕
Ratio of alga content		9.7	1

Light intensity : 15,000 Lx for net area 0.23 m² of culture vessel containing 3,000〜3,600 mg/dm³.
Unit : g/g−dry biomass/day.
Figure in 〔 〕 indictes the uptake ratio calculated from mass balance in continuous cultivation.

炭素，窒素およびリンの取り込み速度の相対比は59：9.1：1である。一方，Table 5に示すように，連続培養実験での塩類摂取量の相対比は，62：11：1となっている。さらに，藍藻中の窒素およびリンの含有量の比は9.7：1であった。それぞれの塩類の取り込み速度，摂取量および含有量の相対比には，整合性が見られる。しかし，これらの相対比は若干異なっており，これが実験誤差によるものか，他の要因によるものか，炭素の含有量の測定と併せて，今後の検討を要する。

3.5 暗 実 験

暗条件下での，藍藻の物質代謝に伴う培養槽内の組成の経時変化を調べた結果の例をFig. 11に示す。連続培養で過飽和になっている溶存酸素濃度は，バッチ実験開始とともに急激に減少しており，初期濃度27 mg/dm³であったものが，4時間後には全て消費されている。これは藍藻の呼吸反応によるものである。

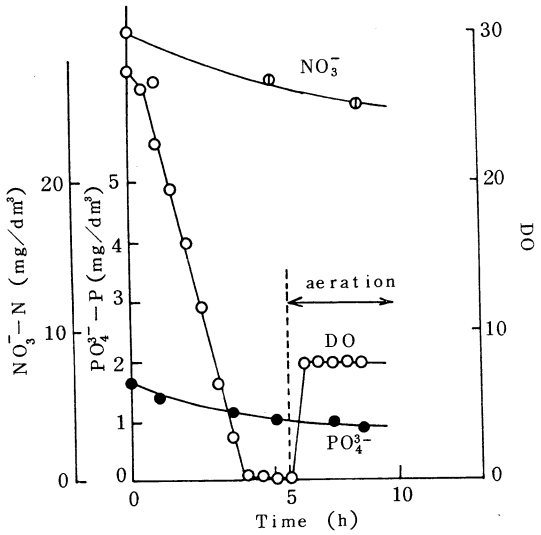

Fig. 11. Changes of principal nutrient concentrations in the dark. Alga : 3610 mg/dm³

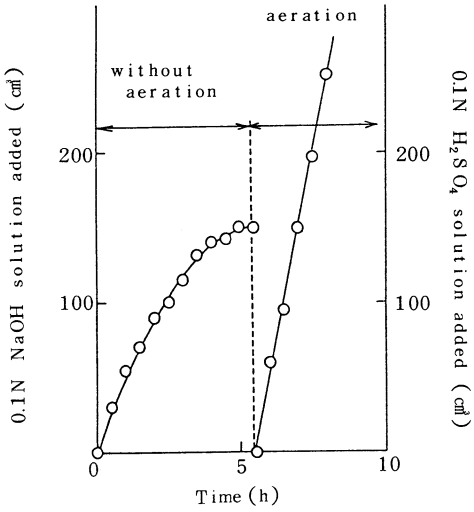

Fig. 12. Base and acid required to adjust pH 8.0 in the dark with and without aeration. Alga : 3609 mg/dm³

Table 7 Rate constants in the dark (g/g−dry biomass/day)

O_2 consuming rate	PO_4^{3-} − P releasing rate
2.7×10^{-3}	8.2×10^{-6}

5時間後からは曝気を行なって酸素を補給した。一方，この条件下では硝酸イオンが十分あり，硝酸イオン，リン酸イオンともに取り込まれてる。しかし，暗実験では取り込み速度が時間の経過とともに減少している。光照射実験では，Fig. 5 に見られるように塩類濃度が高い時には，直接的に減少する。暗条件下では，呼吸反応が進行するので，光合成と逆方向に反応が進行しpHが低下する。pHを8.0に保つために加えた水酸化ナトリウムの量をFig. 12に示す。この時のDOの消費速度より，暗条件下での酸素の取り込み速度 2.7×10^{-3} g−O/g−dry biomass/day がえられた。5時間後から曝気を行なったが，この時は硫酸を消費している。これは過飽和した炭酸ガスが曝気により除去されたからと思われる。

一方，Fig. 13 は，硝酸イオンが少量で，バッチ実験開始後，すぐに硝酸イオンが消費された例を示す。この場合には，リン酸イオンを放出している。この放出速度は 8.2×10^{-6} g−P/g−dry biomass/day であった。これを確認するために，硝酸イオンが存在しない条件で，暗条件での実験を行なった結果をFig. 14 に示す。この条件では，反応開始後3時間まではリン酸イオンが放出され，その後はリンを取り込んでいる。この図に示される挙動から，リンについては2つの因子が関与しているように思われる。以上の結果から，暗条件での藍藻のリンに関する代謝の挙動は極めて複雑であることが分かった。これらの挙動を明らかにするためには，今後の詳細な検討が必要であろう。

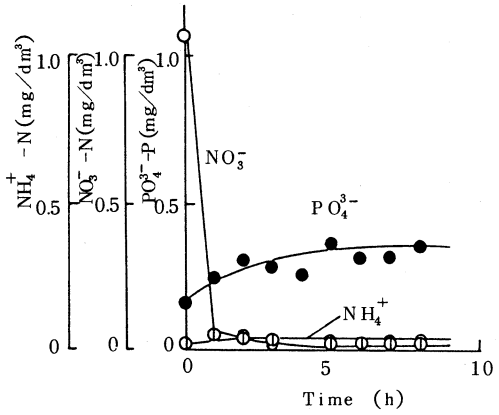

Fig. 13. Changes of principal nutrient concentrations in the dark with aeration.
Alga : 3366 mg/dm³

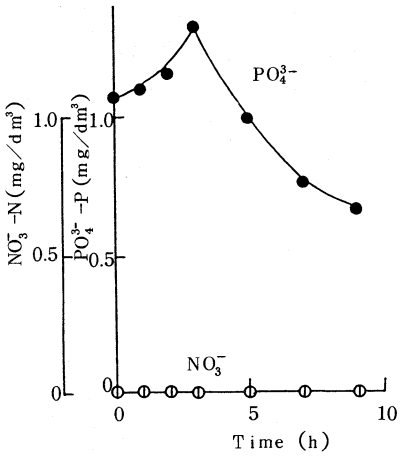

Fig. 14. Changes of principal nutrient concentrations in the dark with aeration.
Alga : 3576 mg/dm³

4. ま と め

池の浄化システムに関する室内実験用に藍藻を供給するため，溜池の底泥を種として得られた塊状の群体をなす藍藻Chroococcus sp. の高濃度連続培養を行った。さらに培養装置の設計や運転に必要な主要栄養塩類についての培養生理を検討した。得られた結果は，以下のとうりである。

(1) 連続培養において，培養廃液と藍藻の分離は沈降法を用い，増殖分は抜き取って藻濃度を3,000～4,000 mg/dm³ に維持した。

(2) 照度15,000Lx での連続培養における藍藻の増殖分は11.4 g-dry biomass/m²/day であった。

(3) バッチ実験より求めた明条件（15,000Lx）での炭素，窒素およびリンの取り込み速度（g/g-dry biomass/day）は，それぞれ 3.4×10^{-2}，5.3×10^{-3}，5.8×10^{-4} であった。また，暗条件下での酸素の取り込み速度は 2.7×10^{-3}，リンの放出速度は 8.2×10^{-6} であった。

(4) 塩類の取り込み速度，摂取量および含有率の相対比には整合性が見られたが，若干の差異が見られ今後の検討を要する。

(5) 窒素について取り込み速度の濃度依存性を調べたところ，3 mg/dm³ までは濃度依存性を示し，この値以上で速度は飽和した。

(6) リンの代謝は窒素依存性を示した。明条件では窒素が存在しない場合には，リンの取り込みが停止した。暗条件では，リンの取り込みと放出が見られその挙動が複雑であった。炭素については窒素依存性を示さなかった。

なお，今回検討した藍藻の連続培養は純粋培養ではなく，共存する細菌類の代謝反応が含まれている。

参 考 文 献

1) 村上定瞭，深川勝之，石川宗孝，中西 弘：池の生物学的浄化システムの開発に関する研究：京都大学環境衛生工学研究会第7回シンポジウム講演論文集，295－300（1985）.

2) Rhee, G.: A continuous culture study of phosphate uptake, growth rate and polyphosphate in Scenedesmus sp., J. Phycol., **9**, 495-506(1973).

3) Chisholm, S.W. and Stross, R.G.: Phosphtate uptake kinetics in Euglena gracilis (Z) (Euglenophyceae) grown on light/dark cycles. I. Synchronized batch cultures, J. Phycol., **12**, 210-217(1976).

4) Okada, M., Sudo R. and Aiba, S.: Phosphorus uptake and growth of blue-green alga, Microcystis aeruginosa, Biotecnol. Bioeng., **24**, 143-152(1982).

討　議　(2) 藍藻の連続培養と栄養塩類の代謝速度に関する研究

岡山大学農業生物研究所　青　山　　勲

本研究の目的は，研究材料としての藻類の安定な供給を目的として，Chroococus sp．の連続培養を行い，その際の栄養塩類の代謝速度に関する生理学的特性を明らかにすることにあったと思われる。目的と結果との関連が，明瞭に記述されていないので，安定した供試材料を連続培養で得るためにはどのような装置を用い，どのように培養すれば，どんな視点から良好であるといえるのか御教示願いたい。

以下論文に記述された順序に，分かりにくかった点について質問したい。

1）水中で，どんな藻類が優先種になるかは栄養塩濃度や，温度，光条件等によって異なるが，本研究において，Chroococcus sp. が供試材料に選ばれたのは，予備培養において，底泥中に含まれていた藻類の中から，実験の行われた条件下で優先的に増殖したのが Chroococcus sp．ということなのか。

2）実験によって，光の照度条件が異なっている（ランプのワット数，本数が異なっている）のは，特に意図されたものか。

3）藻類の連続培養法として，ケモスタット，タービドスタットの2法が一般的な方法であるが，本研究においては，分離槽から，沈降濃縮した藍藻をチューブにより，返送しながら，一方では培養槽から増殖分を毎日抜き取るという手間をかけられたのは何故か。Fig．3 で培養槽内の藻濃度が振動しているのは，上述の培養法が原因になっているのではないだろうか。通常のケモスタット法で，栄養塩濃度，供給液量，温度，光照度によって十分安定した藻濃度が得られるはずである。

4）Table 2 の Medium 2，$NaHCO_3$ の濃度がブランクになっている。

5）Table 3 の本文中の説明で，培養槽内の藍藻の総量の単位は誤り。「day」は不用。また増殖率を培養槽の被照射面積当りで表現されたのはどういう意図か。

6）通常，藻類は，培養液中に十分なリンが存在すると，生長に必要な量以上に体内に過剰のリンを貯蔵し，水中のリンが不足しても，しばらくは増殖を続ける。したがって，特に水中のリン濃度が不足しているときのリンの取り込み速度を計測するときは，それ以前の藻の経歴，状態に留意する必要があると思われる。

7）藻類の増殖速度の栄養塩濃度依存性は既知の事柄である。ここでの種々の物質代謝速度はかなり高い藻濃度（3000－4000 mg/dm^3）のもとで得られているが，藻類の生理活性度はその生長期によって変化すると考えられる。ここで求められた代謝速度定数の一般性についてどのように考えられているか。また，藻の増殖速度と代謝速度との関係についての解析があれば，お教え願いたい。

8）従来の知見との違い，また Chroococcus sp．固有の問題点についての知見があれば御教示願いたい。