

藻類増殖におよぼす窒素および磷濃度の影響に関する研究(第1報)

国立公害研究所 正会員 田井 慎吾
同 同 津野 洋
同 同 須藤 隆一
同 正会員 合田 健

1. はじめに

藻類の増殖においては窒素、磷のほか有機、無機の微量成分が制限因子になるといわれているが物理的、生理学的、生態学的条件などの複雑に関与しており、藻類増殖と栄養塩との関係が定量的に把握されるに至っていない。筆者らは富栄養化の制御という観点から水質工学、生物学および生態学的富栄養化の機構解明の研究に着手している。本報では水域における窒素および磷の許容限界を明らかにするとともに生物処理を中心とした窒素、磷の除去システムを確立するための基礎研究としてL字管テストおよびボトルテストによる窒素および磷の濃度が藻類増殖におよぼす影響について実験の結果を報告する。

2. 実験方法

1). 実験材料

試水としては藻類の増殖に必要な微量成分を含み、1ccも窒素、磷が含まれていないものを(藻類の増殖に)池水(クロロフィルa 174 $\mu\text{g/l}$)のろ過水(メンブランフィルター 0.45 μm でろ過)を用い、添加栄養塩としては硝酸カリウム(KNO_3)とリン酸二カリウム(K_2HPO_4)を用いた。

植種水としては池水を約5倍に沈殿濃縮したもの(クロロフィルa 980 $\mu\text{g/l}$)を用いた。藻類は *Cosmarium* が優占で、ほか *Scenedesmus*, *Golenkinia* が見られる。なお実験2における池水クロロフィルaは158 $\mu\text{g/l}$ であり植種水のクロロフィルaは870 $\mu\text{g/l}$ であって生物相は実験1と同様であった。

2). L字管テスト

表-1のように窒素濃度が5%に対して磷濃度を0.02%から1%までの5段階に変化させたもの(L字管番号1, 2, 3, 4, 5)、磷濃度を1%とし窒素濃度を0.2%から10%までの5段階に変化させたもの(L字管番号6, 7, 8, 9および5)および無添加のもの(L字管番号0)の10種類の試水を調整した。この試水を300mlのL字管に150ml添加して振とう培養を行なった。なお表-1の窒素および磷の濃度は植種直後の実測値である。また実験は後述のボトルテストと同時に2回行なった(1回目は実験1, 2回目と実験2とする)。

振とう培養槽は光照射が自動オン・オフ可能で、モノ式振とう型恒温槽であり、300mlのL字管24本が同時にセットできるように製作したものである。なお照度は自由に変えうる。

この培養槽に上記のL字管をセットし後述のボトルテストの

図-1. ボトルテスト水槽設置図

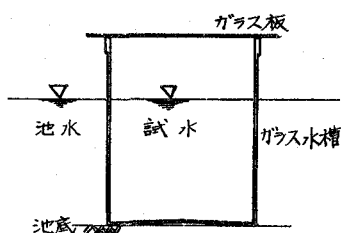


表-1. L字管, ボトルテスト栄養塩初期濃度

単位 = %

区 分	L字管, ボトル番号	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
L字管 ボトル テスト	実験1	$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度	0.0	4.7	4.6	4.6	4.8	4.9	0.2	0.5	0.9
		$\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度	0.00	0.02	0.06	0.14	0.67	1.20	1.28	1.18	1.25
	実験2	$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度	0.0	4.4	4.0	3.7	4.5	4.0	0.2	0.5	1.1
		$\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度	0.00	0.02	0.06	0.16	0.67	1.34	1.34	1.34	1.30

温度と合せ3℃の温度30℃(昼夜一定)とし、照度6000 lux(昼間14時間照射)、振とう回数40回(モ1式)に保ち実験1では7日間、実験2では9日間培養し、それぞれ7日目、9日目に水質測定と藻類(実験2のみ)を行なった。

表-2. ボトルテスト環境条件

区分	経過日数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
実験1	日射量(cal/cm^2)	530	450	500	450	320	450	440	470	470	270	190	480	470	
	気温($^{\circ}\text{C}$)		31.0			27.0		28.5		31.0			28.5		
	水温($^{\circ}\text{C}$)		33.0			32.0		32.0		31.5			30.5		
実験2	日射量(cal/cm^2)	430	440	360	420	410	410	470	460	390	360	360	190	190	
	気温($^{\circ}\text{C}$)		28.6			28.0		24.0		28.6			29.0		
	水温($^{\circ}\text{C}$)		31.0			30.5		28.0		30.0			29.5		

注)・気温、水温はサンプリング日の午前10時に測定

2). ボトルテスト

図-1に示したような15Lの水槽10個を用意し、これにL字管と同様に調整した試水10種類をそれぞれ8Lずつ入れ屋外の池(試水を採取した池)に設置し自然に近い状態で培養を行なった。

実験は昭和50年8月13日から8月25日までの12日間(実験1)と昭和50年9月3日から9月16日までの13日間(実験2)の2回行なった。サンプリングは0日目(植種直後)、2日目、7日目、9日目、12日目(実験2では13日目)に5回、サンプリング時に槽内を均一に攪拌して500 ml採取し、水質測定と藻類の検鏡を行なった。

表-3.

測定項目および測定方法

区分	測定項目	測定方法	備考
環境	日射量 cal/cm^2	ロビッチ日射計	
	気温 $^{\circ}\text{C}$	温度計	午前10:00
	水温 $^{\circ}\text{C}$	水温計	午前10:00
試水	TOD	カラム燃焼法	
	COD _{Cr}	重クロム酸カリ法	
	COD _{Mn}	過マンガン酸カリ法	
	クロロフィルa	アセトン抽出吸光法	
	SS	ガラス繊維フィルター法	
	pH	pHメーター	
	アルカリ度	総アルカリ度	
試水の 通過水	NH ₃ -N	ニールマン変法	メソフランブル(1000倍)
	NO ₂ -N	メソフランブル(1000倍)	"
	NO ₃ -N	ブルシソ法	"
	PO ₄ -P	モリブデン酸法	"

ボトルテストの環境条件は表-2に示したように実験1は気温が32℃前後、水温が30℃前後である。日射量は460 cal/cm²/日(10, 11日目は台風のため小さい)で、12日目迄の累計日射量は5020 cal/cm²/12日であった。実験2では実験1にくらべて多少温度が低く、気温が30℃前後、水温が28℃前後、日射量410 cal/cm²/日、そして累計日射量は4890 cal/cm²/13日であった。

3). 測定項目および測定方法

L字管テストにおいては試水量が少いため藻類が最も増殖した7日目(実験1)、9日目(実験2)に実験1では、クロロフィルa、pH、アルカリ度、PO₄-PとNO₃-Nも、実験2ではこれに加えてSSを測定した。

ボトルテストにおいては実験1ではCOD_{Cr}、TOD(12日目のみ)、クロロフィルa、pH、アルカリ度、pH、アルカリ度のNH₃-N、NO₂-N、NO₃-N、PO₄-Pを、実験2ではTOD、COD_{Mn}、SS、クロロフィルa、pH、アルカリ度のNH₃-N、NO₂-N、PO₄-Pを測定した。なお水質測定は表-3に示した方法による。

ボトルテストにおける環境条件は気温、槽内水温をサンプリング時(午前10時)に測定し、日射量はロビッチ日射計で継続して測定しプラメーターで計測した。

3. 実験結果

1)、L字管テスト

L字管テストの結果は実験1, 実験2とも同様の傾向のため図-2には実験2の結果を示した。この図からもわかるように初期磷濃度が0.02 mg/l以上で、窒素が5 mg/lでいどと十分ある場合(L字管番号1~5)には磷濃度に関係なく藻類が増殖している。一方初期磷濃度が1 mg/lでいど以上の場合に窒素濃度が1 mg/lでいど以下(L字管番号6, 7, 8)の場合はクロロフィルaの増加が著しく小さい。さらに初期磷濃度が1 mg/lでいどで窒素が5 mg/l(L字管番号5)と窒素が10 mg/l(L字管番号9)の場合のクロロフィルa量の差はほとんどなかった。

藻類の構成は表-4のように植種藻類の優占種が *Cosmarium* であったが9日間の培養後の優占種は *Scenedesmus* に移行していった。

2)、ボトルテスト

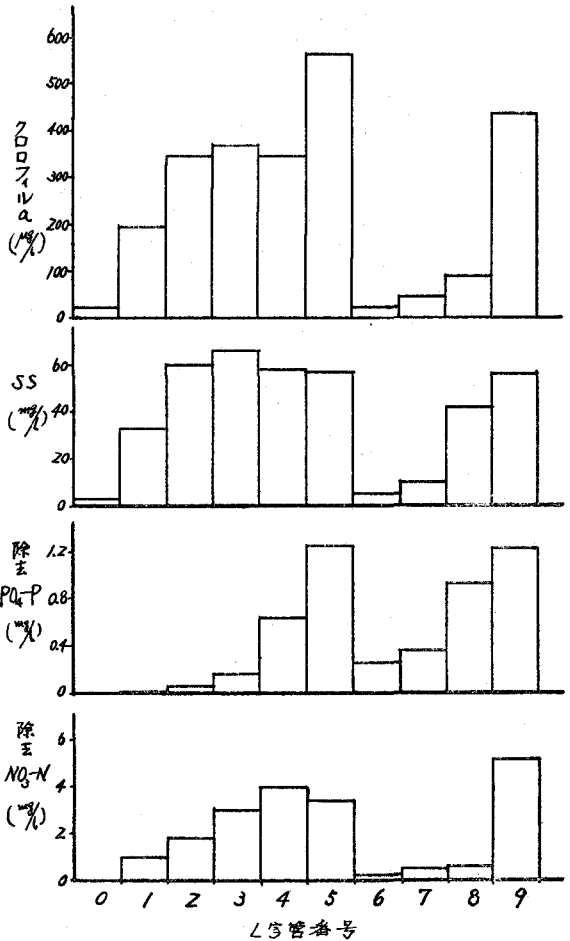
ボトルテストの結果も実験1, 実験2ともほぼ同様であった。図-3, 図-4には実験1の結果を示した。図-3には初期窒素濃度5 mg/lでいど、磷濃度を0.02 mg/lから1.2 mg/lまで変化させた場合(ボトル番号1~5)および無添加(ボトル番号0)の結果を示した。図-4には初期磷濃度1.2 mg/lで、窒素濃度を0.2 mg/lから10 mg/lまで変化させた場合(ボトル番号6, 7, 8, 9および5)と無添加の結果を示した。

図-3においてL字管テストの結果と同様に磷濃度が低い場合も高い場合も(0.02 mg/lに対して50倍の濃度)クロロフィルa, COD_{Cr}に著しい差は見られず、また試液中の磷がほとんど0になった5日目以降にもクロロフィルa, COD_{Cr}の増加が示されている。一方図-4においてもL字管テストの結果と同様に初期窒素濃度が1 mg/l以下の場合(ボトル番号6, 7, 8)は磷濃度が高くても藻類の増殖が小さいことを示している。

なお、pHは始め10.5でいどと高かったが2日目までは細菌の有機物酸化によるCO₂の放出で9.5でいどまで低下し再び藻類の増殖による炭酸の吸収で上昇し10.5~11.0でいどまで上昇した。なお無添加の場合は藻類の増殖がないため8.5でいどまで低下した。

ボトルテストにおける藻類の構成は表-4のようであり *Cosmarium* が優占種であったが実験1では *Golenkinia*, *Scenedesmus* が優占種となり、実験2では *Selenastrum*, *Golenkinia* が優占種となっていた。また藻類の増殖が進んだ段階で *Hydra* などの原生動物が多数出現し藻類を捕食したため、とくに実験2ではクロロフィルaの増加がおさえられ、TOD, SSは増加の傾向にあった。なおL字管テストにおけるクロロフィルaは400 mg/l(5番)でいどまで上昇したが、ボトルテストにおいては200 mg/lが最大でありL字管テストのクロロフィルaの増加はボトルのそれの2倍であった。しかし窒素、磷の除去量はほとんど差がなかった。

図-2, 実験2, L字管テスト(9日目)



4, 実験結果の考察

図-3. 実験1, ボトルテストの結果 ($\text{NO}_3\text{-N}$ 初期濃度固定)

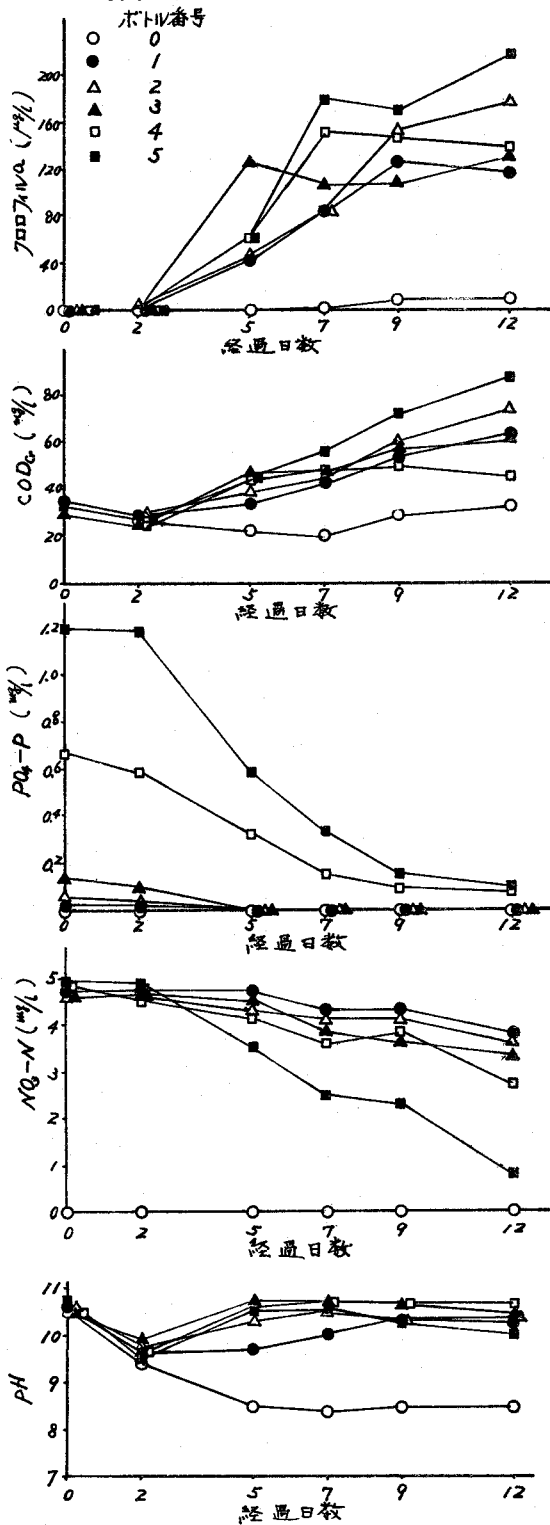


図-4. 実験1, ボトルテストの結果 ($\text{PO}_4\text{-P}$ 初期濃度固定)

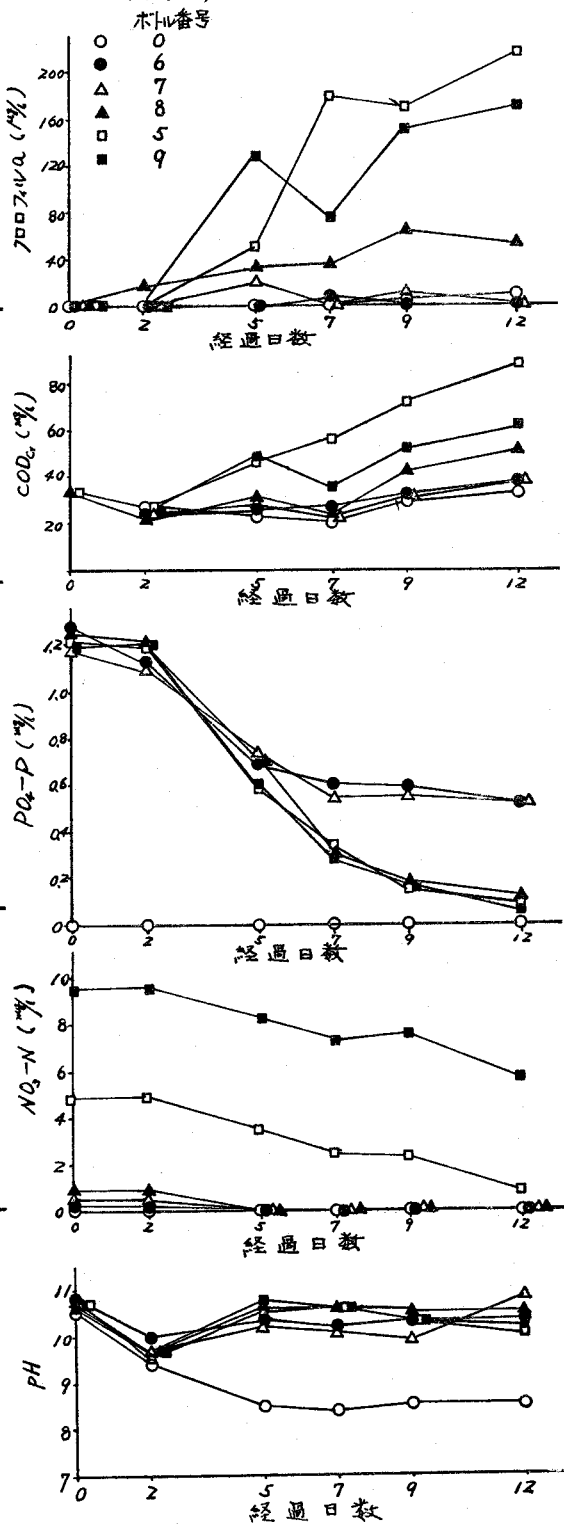


図-5, 図-6に示
 けように除去窒素と増加
 フロロフィルAとの間
 は直線的な関係にあるが
 磷については藻類の増殖
 の初期に高い磷の除去を
 示し, さらに試水中の磷
 濃度が0になった後もク
 ロロフィルAの増加が見
 られる。また, 例之は図
 -3のボトル番号5では
 除去窒素と除去磷の比が
 5日目, 7日目, 9日目
 および12日目迄では,
 それぞれ2.3:1, 2.8:1,
 2.5:1, 3.7:1と変化
 してあり試水中の磷濃度
 が低くなった後も窒素は
 消費されフロロフィルA
 も増加している。これらの
 のことから藻類の増殖の
 初期には磷の過剰摂取が
 起っており, 試水中に窒
 素が存在すれば, この
 窒素と過剰摂取した磷
 を利用して藻類が増殖
 するものと思われる。

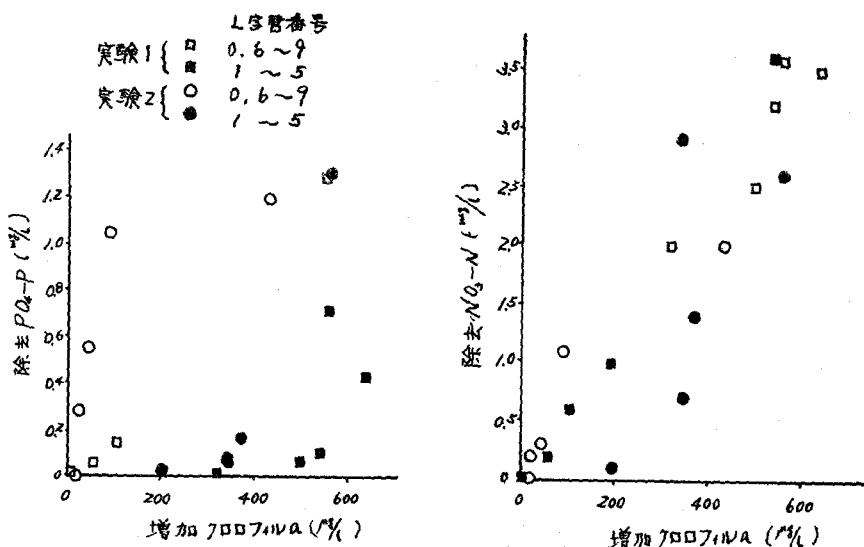
一方初期磷濃度が
 1mg/lと高濃度であ
 っても窒素が1mg/l以
 下ではフロロフィルA
 の増加は小さく, 0.5mg/l
 以下ではほとんど増加
 がなかったが, これは
 窒素が律速となつたか
 らと思われる。一般に
 富栄養化の起る限界濃
 度として窒素が0.1~0.3
 mg/lで, 磷が0.01~0.02
 mg/lといわれているが^{1), 2)}

表-4. 藻類構成

L5管 ボトル 番号	植 の 優占藻類	実験1 (7日目)		実験2 (9日目)	
		ボトルテスト		L5管テスト	
		優占藻類	備考	優占藻類	備考
0		—	—	—	—
1		<i>Cosmarium</i> +++++ <i>Golenkinia</i> +++ <i>Scenedesmus</i> +	—	—	—
2		<i>Golenkinia</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> +++++ <i>Cosmarium</i> +	—	<i>Cosmarium</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> ++ <i>Scenedesmus</i> ++ <i>Golenkinia</i> +	—
3		<i>Golenkinia</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> ++ <i>Cosmarium</i> +	—	<i>Scenedesmus</i> <i>Coelastrum</i> +++ <i>Golenkinia</i> ++ <i>Scenedesmus</i> +	<i>Uronema</i> 多数
4	<i>Cosmarium</i>	<i>Golenkinia</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> +++++ <i>Cosmarium</i> +	—	<i>Scenedesmus</i> +++++ <i>Golenkinia</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++	多数
5		<i>Golenkinia</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> +++ <i>Cosmarium</i> +	<i>Uronema</i> 多数	<i>Scenedesmus</i> +++++ <i>Golenkinia</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++	多数
6		—	—	—	—
7		—	—	—	—
8		—	—	<i>Scenedesmus</i> <i>Coelastrum</i> +++++ <i>Golenkinia</i> ++ <i>Scenedesmus</i> +	<i>Uronema</i> 多数
9		<i>Golenkinia</i> +++++ <i>Scenedesmus</i> +++ <i>Cosmarium</i> ++	<i>Uronema</i> 多数	<i>Scenedesmus</i> +++++ <i>Golenkinia</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++ <i>Coelastrum</i> ++	多数

図-5.

L5管テスト中の除去栄養塩とフロロフィルAの関係



実験から磷がこの濃度以下の低濃度(0.02mg/l以下)であっても窒素が十分あ

れば藻類の増殖は起ると思われる。逆に磷が高濃度であっても窒素の低濃度（本実験では0.5%以下）であれば藻類の増殖は起らないと思われ、それぞれの最低濃度とともに窒素と磷の濃度の割合が藻類増殖を左右するものと思われる。

5. まとめ

筆者らは今後、藻類増殖におよぼす栄養塩濃度の影響について、藻類増殖における磷の挙動、藻類増殖における窒素と磷の濃度割合と限界濃度、藻類増殖と細菌および原生動物との関係、藻類増殖におよぼす温度、日射量などの物理的条件の影響などについて研究を行なうとともに富栄養化の評価指標の検討などを行なう予定である。

本実験から得られた結論は

①、水中の磷は藻類の増殖によって過剰摂取され、水中の磷が吸収され尽く後も窒素が存在すれば貯蔵され磷によって藻類は増殖する。

②、磷濃度が1%の場合、窒素が制限因子となって藻類の増殖がおさえられぬ。この場合の窒素濃度は0.5~1%であった。逆に窒素が5%の場合には磷が制限因子となすが、その濃度は0.02%以下であった。

③、L字管テストではボトルテストにくらべてフロロフィルアが増加が2倍ほど高かったが、除去された窒素、磷の濃度には差がなく、これは静置培養と振とう培養による培養条件の違いによる藻類相の差と原生動物の存在の有無によるものである。

などである。

〔参考文献〕

- 1). M. Owens, et al. "Some Aspects of the Eutrophication of Water" W. R., Vol. 12, No. 2, pp151-159, (1968)
- 2). 須藤隆一 "都市下水の二次処理水が示す藻類生産の潜在能力", 下水協会, Vol. 12, No. 133, pp1-9 (1975)
- 3). E. J. Griffith, et al. Environmental Phosphorus Handbook, John Wiley and Sons (1973)
- 4). D. E. Francisco et al. "Algal Response to Detergent Phosphate" W.P.C.F., Vol. 45, No. 3, pp480-489 (1973)
- 5). J. D. Keenan et al. "The Influence of Phosphorus Luxury Uptake on Algal Bioassays" W.P.C.F. Vol. 46, No. 3, pp532-542, (1974)

図-6. ボトルテストによる除去栄養塩と増加フロロフィルアとの関係

