

(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

村上定暉*, 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 nutrients.

Bottom mud from a small agricultural pond in Ube city was taken into a cultivation jar and algae were precultivated. Alga, *Chroococcus* sp., was transferred to a continuous cultivator which is of the net volume of 13.8 dm³, thermostated at 30°C, and applied light with 8 white spotlights of 200W. The culture medium contained NaHCO₃, NaNO₃, KH₂PO₄, MgSO₄, CaCl₂, FeCl₃ and EDTA. The pH value was kept at 8.0. The alga cell concentration was kept at 3,000 to 4,000 mg/dm³. Under these condition, the alga growth rate was 11.4 g-dry biomass/m²-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ので、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/dm^3 ）およびリン酸二水素ナトリウム（ 0.5 g/dm^3 ）を含む水道水 10 dm^3 を培養液として、底泥が掻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°C に保ったガラス製恒温槽（ $40 \times 75 \times 45 \text{ cm}$ ）に浸し、底泥が掻き上がらないように 1 rpm の速度で緩速攪拌しながら 100 W の白色ランプ2本を用いて照射した。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、藻濃度がおおよそ 30 mg/dm^3 となった。この予備培養混合液を連続培養装置に移した。

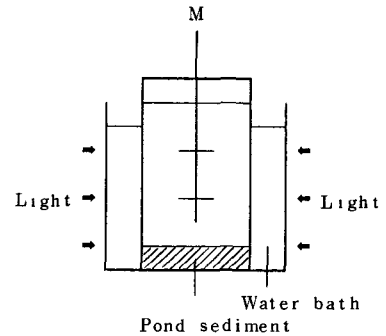


Fig. 1. Pre-cultivation

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°C に保ったガラス製恒温槽（ $40 \times 75 \times 45 \text{ cm}$ ）に浸した。培養槽の光照射は常時行い、 200 W 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

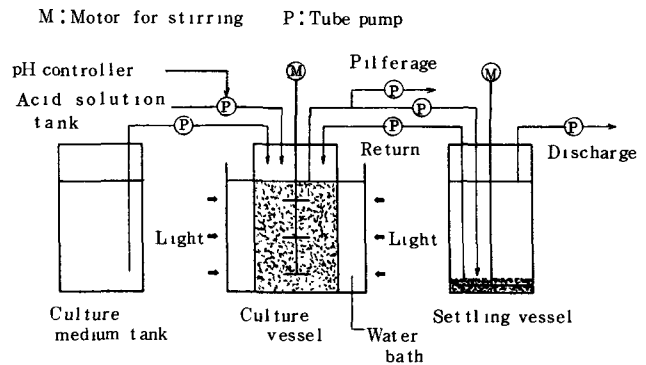


Fig. 2 Continuous cultivator of blue-green alga

（ $7,000 \sim 15,000 \text{ Lx}$ ）。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 dm^3 で被照射面積は $23,000 \text{ cm}^2$ であった。分離槽の有効容積は培養槽と等しく 13.8 dm^3 とし、分離槽は遮光した。

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°C ）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 $2.76 \text{ dm}^3/\text{day}$ （ $=2\text{V}/\text{day} = 4.6\text{Q}$ ；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、沈降した藍藻が掻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、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ΔW(乾燥重量換算)が含まれるように所定量の培養混合液($V_x = \Delta W / X$; 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46日であった。pHはコントローラーを用いて、0.5 N 硫酸および0.5 N 水酸化ナトリウムを滴下してすべて8.0に設定した。

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3,000～3,600 mg/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、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

Table 1 Stock solutions for culture media

classification	component	concentration (g/dm ³)
	NaHCO ₃	powder
Solution A	NaNO ₃	50.0
Solution B	KH ₂ PO ₄	50.0
Solution C	MgSO ₄ · 7H ₂ O	15.0
	CaCl ₂	5.0
	FeCl ₃ · 6H ₂ O	1.0
	EDTA	2.0

Table 2 Composition of culture media

classification	component	concentration (g/dm ³)
medium 1	NaHCO ₃	4.0 ~ 6.0
	NaNO ₃	0.25 ~ 1.0
	KH ₂ PO ₄	0.02 ~ 0.085
medium 2	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.075
	CaCl ₂	0.025
	FeCl ₃ · 6H ₂ O	0.005
	EDTA	0.010

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 $3,000 \sim 4,000 \text{ mg/dm}^3$ 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 $15,000 \text{ Lx}$ であった。Fig. 3に見られるように、藻濃度が $2,000 \text{ mg/dm}^3$ から培養して約一カ月間は直線的に増殖して $3,000 \text{ mg/dm}^3$ 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、 $3,000 \sim 4,000 \text{ mg/dm}^3$ 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 $2,000 \text{ mg/dm}^3$ 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。

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 $3,652 \text{ mg/dm}^3$ 、培養槽内の藍藻の総量は $50.4 \text{ g-dry biomass/day}$ 、抜き取り量の平均値は $2.54 \text{ g-dry biomass/day}$ であった。藍藻の平均日令は19.8日であった。

Table 3 Data of continuous cultivation of alga

Net volume of culture	13.8	dm^3
Alga concentration	3,652	mg/dm^3
Net biomass of alga	50.4	g-dry biomass
Pilferage of alga	2.54	g-dry biomass/day
Growth of alga	11.4	$\text{g-dry biomass/m}^2/\text{day}$
Average alga age	19.8	day

Light intensity : $15,000 \text{ Lx}$

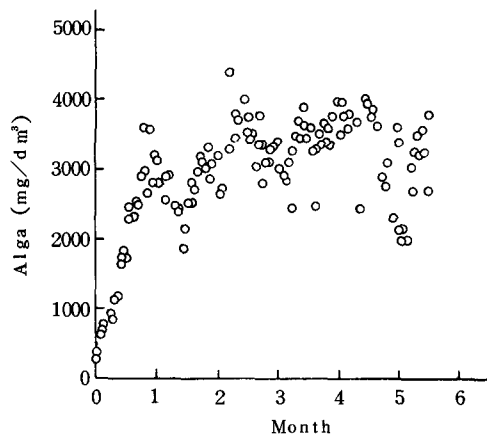


Fig. 3. Alga concentration in the culture vessel

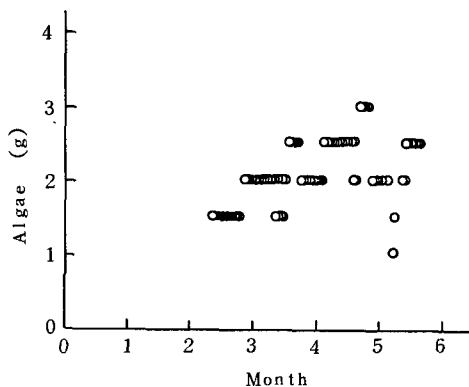


Fig. 4. Pilferage of algae from the culture vessel

培養槽の被照射面積に対する増殖率は $11.4 \text{ g-dry biomass/m}^2/\text{day}$ 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 $3 \text{ dm}^3/\text{day}$ ，合計量 $6 \text{ dm}^3/\text{day}$ ）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。

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°C ですべて一定とした。光照射は、200 W の白色ランプを 8 本用いて行った（照度 $15,000 \text{ Lx}$ ）。

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/dm^3 ）をそれぞれ、132, 3.42, 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/dm^3 ）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

Table 4 Nutrient concentration of culture medium

No.	$\text{HCO}_3^- - \text{C}$	$\text{NO}_3^- - \text{N}$	$\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$
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 media 1 and 2.

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

No.	$\text{HCO}_3^- - \text{C}$	$\text{NO}_3^- - \text{N}$	$\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$
1	53.6 (152)	1.75 (24.8)	1.25 (2.10)
2	43.2 (181)	2.44 (25.6)	1.11 (2.44)
3	92.7 (145)	2.90 (26.7)	1.20 (2.87)
4	122 (150)	2.24 (26.7)	1.03 (2.22)
Av.	(149)	(26.0)	(2.41)
Ratio	62	11	1
Uptake (mg/day)	894 —	156 [178]	145 [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/dm^3

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。

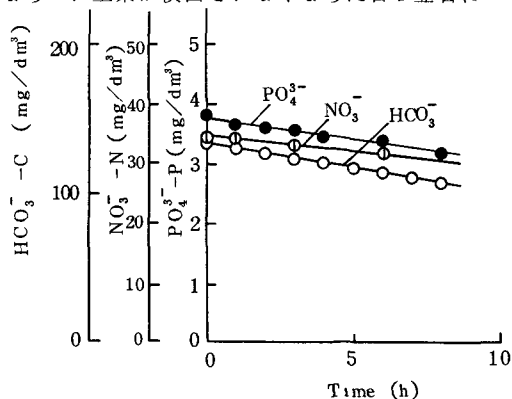
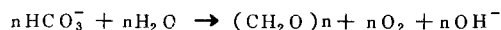


Fig. 5. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga: 3570 mg/dm³

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。



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 $\text{pK}_1 = 6.37$, $\text{pK}_2 = 10.33$ 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 として空气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 $3.4 \times 10^{-2} \text{ g-C/g-dry biomass/day}$ が得られた。

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/dm^3 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、 $5.3 \times 10^{-3} \text{ g-N/g-dry biomass/day}$ 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

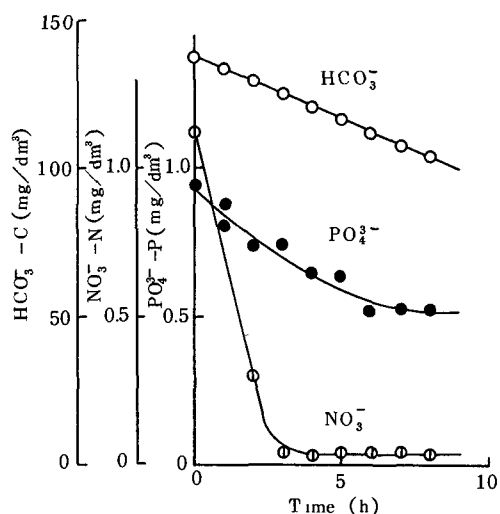


Fig. 6. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga: 3049 mg/dm³

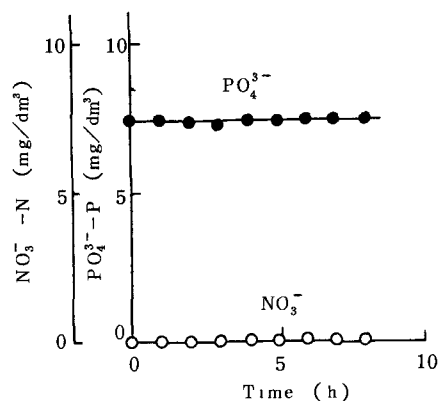


Fig. 7. Changes of principal nutrient concentrations as a function of time in light. Alga: 2785 mg/dm³

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。

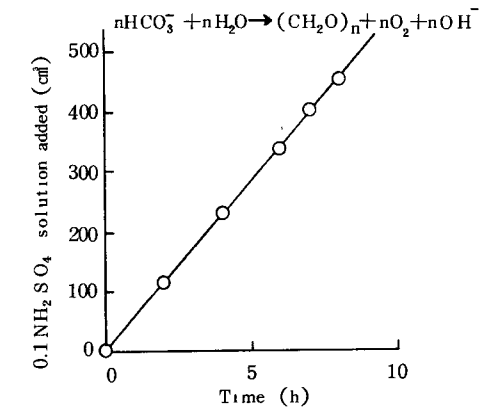


Fig. 8. Acid required to adjust at pH 8.0 by CO₂ uptake in light. Alga: 3575 mg/dm³

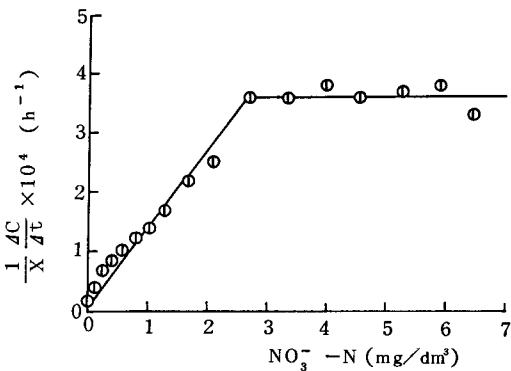


Fig. 9. Concentration dependence of NO₃-N uptake rate in light. Alga: 3414 mg/dm³

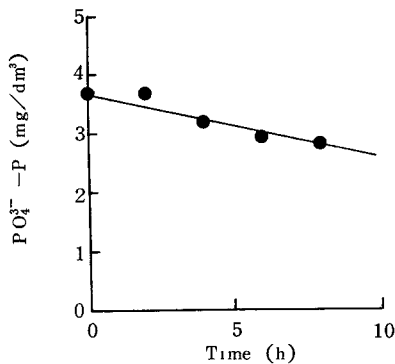


Fig. 10. PO₄³⁻-P decrease by uptake as a function of time in light. Alga: 3575 mg/dm³

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	9.1	1
[62]	[11]	[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 [] indicates 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。

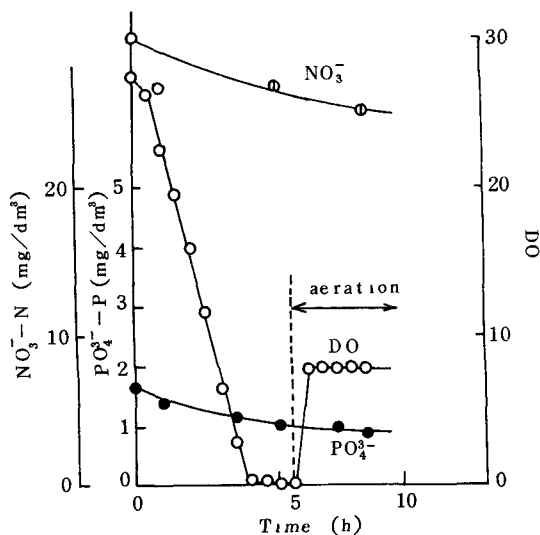


Fig. 11. Changes of principal nutrient concentrations in the dark.
Alga: 3610 mg/dm³

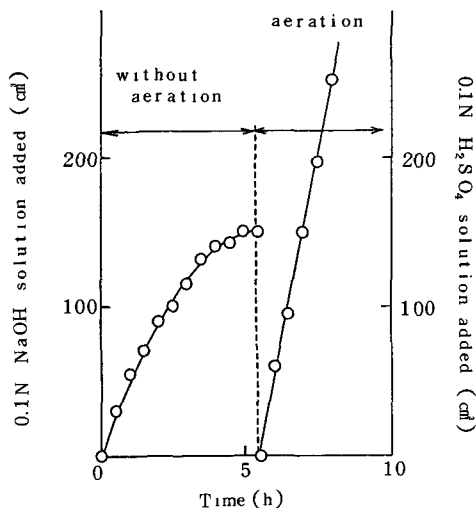


Fig. 12. Base and acid required to adjust pH 8.0 in the dark with and without aeration.
Alga: 3609 mg/dm³

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、暗条件下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、暗条件下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。

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}

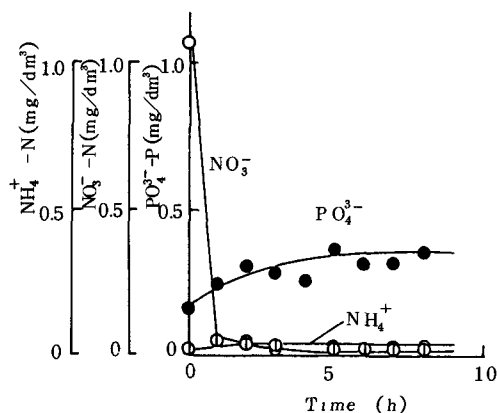


Fig. 13. Changes of principal nutrient concentrations in the dark with aeration.
Alga: 3366 mg/dm³

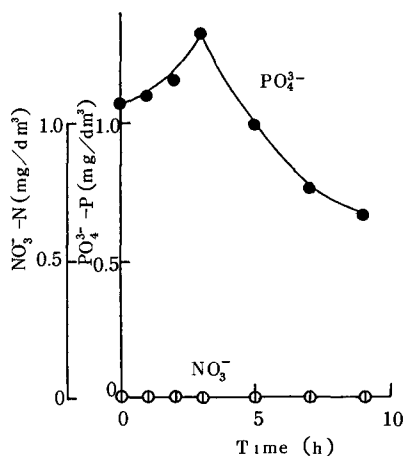


Fig. 14. Changes of principal nutrient concentrations in the dark with aeration.
Alga: 3576 mg/dm³

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、以下のとおりである。

- (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 15,000 Lx 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 (15,000 Lx) 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) 村上定昭, 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. : Phosphate 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*, Biotechnol. Bioeng., **24**, 143-152(1982).