

藻類の走光性を利用した光バイオリアクターに関する研究

建設省土木研究所 中島敏幸

(1) はじめに

処理水が環境中に放出された場合、そこで藻類が異常増殖しない程度に処理水の窒素やリンの濃度を低く制限することが要求されている。この目的で、処理系において藻類自身にこれらの除去を行なわせることは理にかなっているだろう。又、 CO_2 の増加による気候の温暖化が問題になっている昨今では、 CO_2 を同化する光合成を利用する処理システムは、この点でも利用価値を持つであろう。しかし、この方法では藻類体自身による汚濁が問題となる為、処理水と藻類の分離（固液分離）を工夫しなければならない。藻類をリアクター内に付着させたり、固まらせたりすることにより分離を行なうことは可能であろう。しかし、生物体と処理水との接触面積が大きい方が除去効率は良いだろうということを考えると、細胞が分散状態で増殖する事が望ましい。このように高効率の為に細胞を分散させ、しかも処理水との分離を効率良く行なうことを可能にする事は重要な課題である。本研究では、分散状態で増殖する単細胞藻類でしかも走光性を持つ鞭毛藻類を用いて、処理効率、及び処理水と微生物との分離の効率が良い窒素、リンの除去リアクターの基礎的研究を行なった。ここでは、第一段階として、藻類の走光性により固液分離を行なうことが可能かという点に焦点を当て、とくに細菌の存在しない条件での実験を行なった。

(2) 研究方法

走光性を持つ藻類として鞭毛藻類のミドリムシ、*Euglena gracilis* klebs NIES 48 を用いた。

2種類の培養装置を用いて、実験（実験1と実験2）を行なった。実験1で用いた培養装置（ミドリムシの走光性を固液分離に利用したリアクター）の構造を図1A（タイプA型）に示す。又、実験2で用いた培養装置を図1B（タイプB型）に示す。

タイプAとBとはミドリムシを光で集める槽（集光槽）の構造がそれぞれ縦型と横型という違いがあり、培養槽への培地供給はタイプAで150ml/day、タイプBで80ml/dayにした。これら以外は全て同じである。

両タイプとも以下に示す条件で実験を行なった。培地組成を表1に示す。

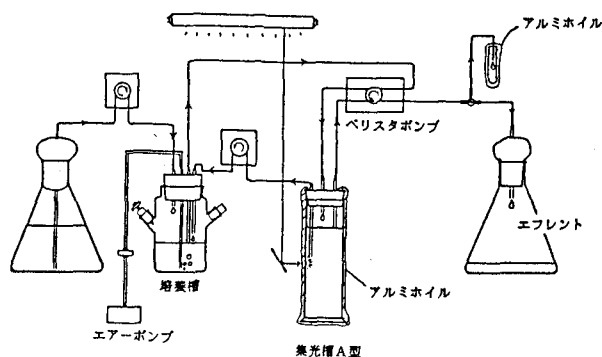


図1A タイプAの培養系の概念図

培養温度は $22.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ で行なった。光照射は12時間周期で明暗を繰り返した。これに同調するように、暗期には培養系のエアープンプ以外の全てのポンプを停止させ、明期に再開した。照度は培養槽付近が 4000lx となるようにした。ただし、鏡で反射した集光槽の光の窓付近では 2000lx であった。培養槽中の培地の容量は 250ml である。培養の開始に先立ち、 200ml の液体培地

を含むバッチ培養で前培養した。定常期に達した *E. gracilis* の培養浮遊液を 2ml とり、培養槽右側の口から接種して培養を行なった。

培養槽及びエフレントのミドリムシの生物量（個体群密度）の測定は、次のように行なった。培養槽のサンプルは培養槽右側の口から採った。エフレントのサンプルは、集光槽とエフレントフラスコの間にある三方コックの操作によりサンプル採取試験管側へ流方向を変え、初めの $3-4\text{ml}$ をチューブとコック内の洗浄用として流して棄てた。この後、 $1-2\text{ml}$ のサンプルを採った。それぞれ採ったサンプルを適当に希釈し、細胞をピクリン酸で固定したのち 1ml 容量の画線入りスライドグラスで細胞数を顕微鏡下で直接計数し求めた。

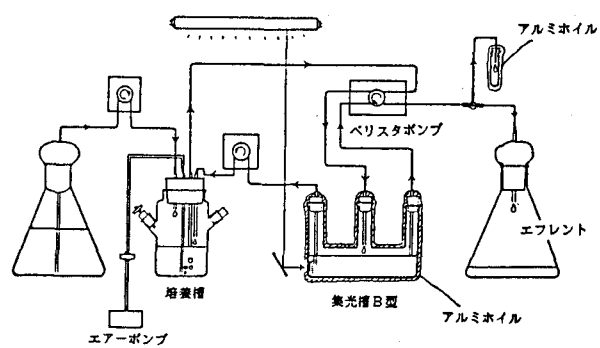


図1B タイプBの培養系の概念図

表1 培地組成

MgSO ₄	0.5	g
K ₂ HPO ₄	0.05	g
クエン酸	0.02	g
ペプトン	0.5	g
グルコース	0.2	g
純水	1000	l

(3) 研究結果

(3-1) 実験1の結果

接種後のミドリムシ密度の変化を図2に示す。培養槽及びエフレントにおいて共にミドリムシは増加し定常状態に至った。ミドリムシの各時点の密度及び増殖曲線の傾きは、培養槽においてより高かった。培養開始後38日のミドリムシの密度は培養槽では $6.77 \times 10^4(\text{cells/ml})$ であったのに対し、エフレントにおいては $3.26 \times 10^4(\text{cells/ml})$ であった。

(3-2) 実験2の結果

ミドリムシの個体群密度の変化を図3に示す。ここでは、タイプAの培養系に対し培養槽の密度はより高く、エフレントにおける密度は逆により低かった。表2にこ

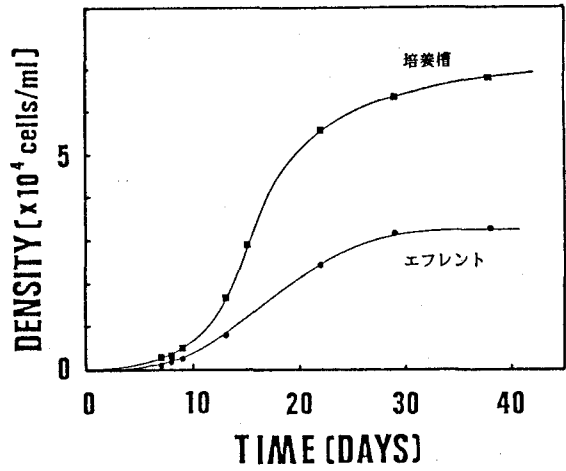


図2 タイプAにおける培養槽及びエフレント中の *E. gracilis* の個体群密度の変化

の結果のミドリムシ密度の比（エフレントの密度／培養槽中の密度）を示した。接種後十数日後をピークにして、エフレント中のミドリムシ密度は減少し培養槽の密度に対する比も0.9%となった。

（4） 考察

タイプA、Bともにミドリムシを含む培養液は、培養槽から集光槽に入りここで光に向う性質を持つ個体が再び培養槽に返送される構造になっている。タイプAでの分離がBより悪かったことは、集光槽のスポット光の当たる返送採取部位とエフレントフラスコへ流失させる採取部位の位置がAの場合のほうが互いに距離が近かった為であろうと考えられる。Bにおいては中央から入り左右に別れて分離するので分離の率が良かったのであろう（図1A、B）。

ミドリムシは、光に向う性質（走光性）を持つことが知られているが、本研究においてはこの性質を次のような方法で利用した。即ち、集光槽のスポット光で生物を集め培養槽に戻すことにより、1）走光性を持つ個体の系内における流失という死亡率（密度非依存的死亡率）を下げる、2）集光槽で水と生物体が分離されるのでエフレント中の生物量が少ない、3）集光槽での光による分離は、走光性能のより高い個体に正の淘汰をかけるので時間と共に系内のミドリムシの走光性能は高まると考えられる。タイプBの実験で、培養槽とエフレントにおける密度の比が次第に減少することが解った（表2）が、この結果が3）で述べたことによるのかは、この結果だけで判断することはできないが興味深いことである。今後より長期の培養実験で確かめる必要があるだろう。

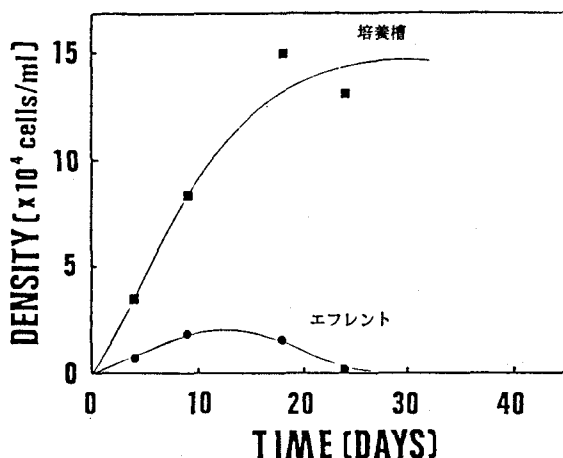


図3 タイプBにおける培養槽及びエフレント中の *E. gracilis* の個体群密度の変化

表2 タイプBにおけるエフレントと培養槽におけるミドリムシ密度の比の変化

接種後の日数	4	9	18	24
エフレントの密度/培養槽中の密度	0.191	0.221	0.100	0.009