緑藻類による廃污水浄化の基礎的研究 (第1報)

強汚濁河川水による微細緑藻類の培養について¹⁾

杉山博夫

名古屋市衛生研究所²⁾

Fundamental Studies on Utilization of Micro Green Algae at
Treatments of Industrial Wastes or Polluted Waters. I.
Simple Cultivation of Micro Green Algae with
Hard Polluted River Water¹⁾

HIROO SUGIYAMA

Nagoya City Health Research Institute²⁾

(Received January 27, 1968)

The results of the experiment in cultivating micro planktonic green algae (especially *Chlorella*) with polluted river waters in Nagoya City are showed in this report.

- 1) The micro algae *Chlorella* can be simply cultivated with hard polluted river waters. (3,000 lux: in the sun light)
- 2) This cultivated algae suspension contains 10^5 - 10^6 cells of *Chlorella* per ml (this suspension is called as "algae water" by the author.)
- 3) The algae could live for more than a week in polluted water without dissolved oxygen, still retain activity, and increase.
- 4) As far as algae was cultivated under the anaerobic condition at the beginning, the growth, of algae-eating organisms were satisfactorily controlled and the algae species except *Chlorella* were very few.

In this experiment, neither sterilization nor separation of algae species was carried out. Algae species *Chlorella* was obtained as the dominant species from the polluted river water.

緒言

浮遊微細緑藻類を積極的に、また組織的に、汚濁水、廃水の浄化に用いるには、まず原藻種の培養方法が問題となる。その一手段として、筆者は、強汚濁河川水を用いて、クロレラ属を簡易に培養する方法について検討したので報告する。

筆者の研究の最終目標は、できるだけ費用、手間の要らない方法で、緑藻類を廃污水处理に組織的に利用する方向を探るにある。微細浮遊藻類は今世紀はじめから、光合成機構の研究材料として駆使されてきており、³⁾ こ

の場合純粋培養をたてまえとしているが、筆者の場合は、研究目的から、汚濁水に対する藻の耐性を維持するために、細菌や他の微細生物を特に排除しない条件で培養するのを原則とした。

酸化池での浄化作用で、自然に藻類が関係してくることは、古くから理解され検討されてきたが、浮遊藻類を組織的に培養して利用する研究が発展してきたのは比較的近年のことに属する。わが国の特殊事情から、特に脚光を浴びているのは、し尿処理への応用である。農家などで小規模で試みる例⁴⁾もあるが、し尿消化槽などと組

- 1) 本報告の一部は日本薬学会第86年年会で講演、富山、1966年4月。
- 2) Location: *Hagiyama-machi, Mizufo-ku, Nagoya* (名古屋市瑞穂区萩山町1-11)。
- 3) “生化学講座、9、植物の生化学” 共立出版、1960、p. 67。
- 4) 中村浩、“クロレラ飼料の実際” 富民協会、1964。

みあわせて、飼料としての藻類生産にまで持ってゆく研究^{5,6)}がさかんである。筆者がここに試みたのは、都市強汚濁河川水による藻類の培養であり、かなり不安定な組成変動をもつ原料を使うことになる。

実験方法

1. タネ藻液について

昭和36年春強汚濁河川水をビーカーに入れ、窓際に放置したところ、微細緑藻類のため、鮮緑色を呈するものがあつた。この液を脱脂綿でろ過し、ろ過中の藻種を鏡検するとクロレラ属 (*Chlorella*) であつた。これを名古屋市内強汚濁河川水 (主として、有機性生活廃水汚濁によって、黒くて悪臭を発生し、溶存酸素ゼロの強汚濁河川水) で、くりかえしうえつぐと、藻類はほとんどクロレラ属のみとなる。これをタネ藻液とし、外観が緑色となりクロレラの細胞数が、 10^5-6 /ml 程度に培養できたものを培養のための「もと液」(以下「藻液」と称する) とする。なお、本多ら⁷⁾のし尿消化槽でのし尿可溶化脱離液によるクロレラ属培養で、くりかえし培養した場合も、ほかの混在藻類の増殖は、ほぼ抑えられることを認めている。無酸素状態、高有機物含有状態を間けつにつくることで、ほかの藻類は、かなり淘汰されるものと思われる。

このクロレラ属は、季節適応では中温株と推測され

る。中温株の適応は $10^{\circ}-30^{\circ}$ で、最高温度は 25° 位とされているが⁸⁾、筆者の使用しているこのクロレラ属藻類も冬季の低水温では、やや増殖速度が減退する。

2. 室内実験の条件

500 ml, 1 liter のビーカーおよび共せん三角フラスコ、2—10 liter の角型ガラス水槽を用いて、窓際において培養した。照度は、晴天時、約 3000 lux あつた。

3. 野外簡易培養実験の条件

500—1000 liter 水槽 [A] および 100—300 トン水槽 [B] を用い、パッチ式培養実験を行なった。[A] は名古屋市の繁華街を貫流する堀川沿岸の狭い空地に設置された。[B] は、名古屋市北区黒川沿岸の用水路を土のうで締切って、幅 3 m, 深さ 1 m, 長さ 200 m の培養槽としたものである。

4. 試験方法

主に、日本水道協会「下水試験方法」(1964) を用いた。ただし、COD は 100°C 、水浴中 30 分法を用いた。また、溶存酸素 (DO) については、一部に東芝ベックマン製 777 型 DO 計を、藻類細胞数の計数は、0.5mm 界線付スライドガラスの部分をかこった手製の計数板を使用した。

5. 実験に用いた汚濁河川水質の概略

汚濁河川の性質上、変動の激しさはまぬがれないが、

TABLE I. Character of Polluted River Waters for Cultivation of Algae

Name of river and sampling station	Year	Transparency (cm)	pH	DO (Dissolved oxygen) ppm	COD (100°C $\frac{1}{40\text{N}}$ KMnO_4) ppm	BOD (5-days) (20°) ppm	$\text{NH}_3\text{-N}$ ppm	Coliform group MPN/100 ml	Cl- ppm
Horikawa River (Koshio Bridge)	1963	14.0 ± 5.9	3.5 ± 0.7	2.9 ± 1.3	17.9 ± 4.8	31.1 ± 4.8	1.87 ± 0.32	22,700 $\times 17.3$	26.0 ± 3.6
	1964	11.4 ± 4.6	4.8 ± 1.3	2.4 ± 1.3	31.1 ± 19.3	33.0 ± 31.0	2.93 ± 1.77	78,700 $\times 19.9$	
Nakagawa Canal (Matsushige Gate)	1963	8.6 ± 2.3	7.1 ± 0.2	0.0	34.0 ± 11.0		3.68 ± 2.06	1,190,000 $\times 3.3$	4,500 $\pm 2,800$
	1964	9.9 ± 2.2	7.2 ± 0.2	0	47.5 ± 13.2		2.32 ± 1.70	1,730,000 $\times 2.8$	6,600 $\pm 3,300$
Shinhorikawa River (Tateishi Bridge)	1963	12.6 ± 5.8	6.8 ± 0.1	0.2 ± 0.2	17.1 ± 5.5	38.9 ± 12.3	12.0 ± 4.3	2,000,000 $\times 3.0$	51.8 ± 10.5
	1964	9.1 ± 4.0	6.9 ± 0.2	0.1 ± 0.1	36.0 ± 15.7	59.6 ± 25.3	14.4 ± 5.7	1,430,000 $\times 4.0$	228 ± 54

Note: 1. Average value of samples at every other month.

2. $\pm$, $\times$ shows standard deviation.

5) 高橋和男, 鈴木肇, 水処理技術, **3** (5), 36 (1962).

6) 本多淳裕, 伊藤尚夫, 石井隆一郎, 南重康, 水処理技術, **5** (8), 17 (1964).

7) 本多淳裕, 伊藤尚夫, 井上善介, 石井隆一郎, 岡原国男, 南重康, 水処理技術, **8** (4), 5 (1967).

8) 中村浩, “クロレラ飼料の実際” 富民協会, 1964, p. 6.

大略の水質は TABLE I に示すとおりである。藻液をつくるには、主に松重ゲート付近または立石橋での河川水を使った。

実験結果および考察

1. 室内培養実験

1.1. 培養時の溶存酸素増加について

Fig. 1. The Increase of DO Saturated Rate at Adding of Algae Water to Polluted River Water

Condition: 1. Illumination; 2,000 lux (sunlight in the day time)
2. With no stopper in a conical flask (volume 1 liter)
3. Water temperature; 17°–20°C.
4. With hard polluted water; at Matsushige locke-gate in Nakagawa-canal.

Fig. 2. The Variation of Dissolved Oxygen by Adding of Algae Water in the Daytime

Note: 1. Polluted water; at Matsushige-gate on Nakagawa-canal.
2. Experiment-temp.; 20°C.
3. Illumination; 3,000 lux
4. Samples;
No. 1. polluted water : algae water... 1:1
No. 2. " " : " " ... 3:1
No. 3. " " : " " ... 10:1
No. 4. " " : " " ... 20:1
No. 5. polluted water only

TABLE II. Resistance of Micro Green Algae at Anaerobic Condition

Polluted River Water : Algae Water	after mixing		after 24 hours		after 5 days		after 2 weeks	
	External Appearances	Iodine Spending Value ppm	Dissolved Oxygen ppm	External Appearance	Iodine Spending Value ppm	Dissolved Oxygen	External Appearance	External Appearance
20 : 1 (Volume)	black-gray	b) 60.0 (7.8)	0	black-gray with white	b) 34.2 (4.3)	0	weak black-gray (mixed yellow-green)	half clear yellow-green (green-precipitate)
10 : 1	black-gray		0	black-gray with yellow	31.0 (3.9)	0	gray (mixed yellow green)	do above
a) Hard Polluted Water only	black-gray		0	black-gray		0	black-gray	black-gray half-clear (black-precipitate)

Note: 1. a) 1/15 volume tap water added.
2. Room temperature : about 15°, water temp : about 10°.
3. Figure in b) () : converted to H₂S from Iodine spending value.
4. Vessels for the experiment : 1 liter conical flask with a stopper.

松重ゲート付近での汚濁水に、1/3—1/20 の藻液を加えたときの 溶解酸素 (DO) 変化を、Fig. 1 に示す。はっきりした DO 増加をうるには、汚水量に対して 1/7 容量以上の藻液を添加する必要があることを示している。もっとも、Fig. 1 の実験では、藻液混合後、短時間で夜に入ったため、いったん DO が低下している。しかし、Fig. 2 に示すように、照度が維持されると、ただちに DO は増加する。

1.2 藻類の嫌気性状態での生存について

汚水による 藻類培養では、硫化水素を発生する強い嫌気性状態においても、藻種が耐えることが望ましい。TABLE II は、密せんして、長時間にわたり硫化物が存在し、DO ゼロの状態がつづいても、やがて生きかえって増殖することを示す。試料汚濁水は新堀川でのものである。

2 簡易野外培養実験

2.1 堀川沿岸での実験

昭和 40 年春、[A] 水槽で、500 liter、1 トンのバッチ式培養のくりかえしを試みた。Fig. 3 は、その一例である。藻液：汚濁河川水=1:2、あるいは、1:4 で、曇天であったが DO は増加している。藻液を 1/4 添加した場合、水深 70 cm の底部では DO が減っているが、これは、Fig. 3 に示した時間内では、光合成にともなう酸素放出と細胞呼吸による酸素消費の関係からの現象と思われる。なお、Fig. 3 の実験で使した藻液は、前の実験で十分藻の増殖した液に汚濁水を等量混合して、三日間培養したものである。

2.2 野外大量培養槽による実験

昭和 40 年および 41 年秋、各 1 カ月間、[B] 水槽で大量培養を試み、ほぼ良好な結果を得た。要点をつぎに示す。

[B] (長水路の一部を締切った 矩形型) 水槽中に投入した汚水 100 トンの一端に、藻液 100 liter を投入し、1 週間後、全面はほぼ緑色となった。その後、汚濁水の投入と漏水をくりかえしながら、300 トンまでの培養を経験した。一度、クロレラ属が十分に増殖して緑色となれば、数倍の汚水を添加しても 1—2 日で同じように緑色となり、DO は昼間で飽和率 200% に達することもある。

以上の 40 年度 [B] 槽に用いた汚水は、やや汚濁度が低く、COD, 15—20 ppm 程度であったので、41 年度は、下水幹線から、水中ポンプで生下水を 汲みあげ (COD, 30—40 ppm) で使用したが、ほぼ同じ結果を得た。

以上の大量培養実験の場合に、浮遊微細緑藻類の一種セネデスムス属 (*Scenedesmus*) もかなり発生した。クロレラ属 10^5 — 10^6 /ml のとき、セネデスム属、 10^{1-3} /ml (細

Condition : 1. Illumination ; 6,000 lux (cloudiness)
2. Water temperature ; 16.8°C.
3. Sample water ; polluted river water under Nayabashi-bridge at down stream of Koshio-bridge in Hori-kawa-river.

Fig. 3. The Variation of Dissolved Oxygen at Field Experiments

胞数で、藻体数では 1/4. 1 藻体 4 細胞) 程度であるので、汚水浄化への利用という研究目標からは、セネデスム属の混在は差支えないものと考えられる。

2.3 微細藻類捕食性生物について

先にふれたように、強汚濁水で、ときどき DO ゼロの状態にして培養をくりかえす場合は、ほとんどクロレラ属ばかりとなる。しかし幅 3m、長さ 200 m の細長い水槽で、一方から汚水を入れた実験では、DO ゼロの状態になるのは部分的であった。DO が存在する部分が持続すると、野外実験では、特に他の生物も増殖しやすい。しかし、繊毛虫類、ワムンなど、藻捕食性生物の発生は少く、影響はないと思われた。ミジンコ (*Daphnia*) は、一時部分的にかなり発生したが、300 トン水量に対し、500 g の 1.5% マラサイド粉剤を散布したところ、実験中ふたたび発生することはなかった。

結 語

実験結果から、つぎのことがいえる。

- (1) 主に有機性生活廃水流入による強汚濁河川水によるクロレラ属 (*Chlorella*) の培養は比較的簡単である。
- (2) 有機性強汚濁河川水にクロレラ属を十分増殖させると、藻細胞数は 10^5 — 10^6 /ml 程度となる。(この増殖させた液を筆者は「藻液」と称する)
- (3) 強汚濁河川水に藻液を 1/20—1/30 添加して密せんし、DO ゼロの嫌気性状態がつづいても、数日後には

再生したクロレラ属が増殖しはじめる(窓際放置で).

(4) この汚水性クロレラ属の汚水による大量培養をこころみ培養可能であることを知った.

しかし, なお培養に際しての問題点が多い. たとえば, 汚染有機物質と藻体のゆくえ, 汚水中の増殖妨害物質のことなどである. 順次検討を深めたい.

謝 辞 おわりにあたり, 本研究に対し, ご助言, ご校閲をたまわった岐阜薬大, 広瀬一雄教授に謝意を表します. また, ご激励とご助言いただいた名古屋市衛生研究所, 前所長, 大山保氏, 同現, 小川正夫課長, ならびに, 実験にご助力いただいた, 同技師, 津山明宣, 清水正信, 稲田勇の諸氏, ご協力いただいた名古屋市土木局治水課各位に深謝します.