下水処理水中のアナアオサ成長促進物質について

朝日向豊邦, 菅野俊克, 小野寺知幸, 斉藤 肇

(1998年4月20日受付)

Substances for Hastening the Growth of *Ulva pertusa* in Treated WastewaterToyokuni Asahina,^{*1} Toshikatsu Kanno,^{*2}
Tomoyuki Onodera,^{*1} and Hajime Saito^{*1}

Substances for hastening the growth of *Ulva pertusa* in treated wastewater were studied and the following results were obtained.

1) Cultivation tests were carried out adding treated wastewater to sea water. The quantitative ratio of treated wastewater to culture medium was varied from 0% to 100%. When this ratio was less than 20%, the growth of *Ulva pertusa* was hastened.

2) The composition of the treated wastewater was investigated with sephadex G-15. On doing so, it became clear that humic-like substances were in the treated wastewater.

3) Cultivation tests were carried out adding concentrated humic-like substances to sea water. It was found that concentrated humic-like substances that are obtained by using a concentration under reduced pressure and carrying out ultra-filtration are one of the agents that promotes the growth of *Ulva pertusa*.

キーワード：アナアオサ, 成長促進物質, 下水処理水, フミン質

気仙沼終末処理場は1984年3月から処理をはじめた。気仙沼市は水産都市であるため、処理場の流入水のうち50%近くが水産加工場由来の排水である。1997年度末現在における処理場よりの放流量は8000 m³/日である。

放流地先海域は、三陸有数の養殖漁場^{*3,*4}にたなり、コンブ、ワカメ、カキ、ホタテ等の養殖が盛んである。

処理開始当初は放流地先海域が養殖漁場に続くので、海域の富栄養化等の懸念が示された。しかし、現実において地先海域は海藻類の優良な養殖域になってきている。

これらのことから、1991年以後湾内に着生しているアナアオサを使って培養試験を行い、処理水がアナアオサの成長におよぼす影響、処理水中の成長促進物質を調べた。

その結果、培養液中の処理水濃度とアナアオサの成長に相関があること、処理水中の成長促進物質の1つが

分子量500以上のフミン質系統の物質であることが判明したので報告する。

実験方法

試料 気仙沼湾湾口で採取したアナアオサと海水、処理水、下水処理水脱塩濃縮液（以後、フミン質系統物質と表わす）を使用した。

方 法

培養方法 採取したアナアオサから吉田の方法¹⁻⁴⁾でコルクボーラを用いて直径2 cmの葉片を切り抜き、その葉片を各々の試料と組み合わせた培養液1 lを容する三角フラスコ中で培養実験を行った。

培養の方法は通気培養とし、通気の強さは葉片が30秒間に5回転する程度、培養温度15°C、照度は4000 Lx、照射時間は1日当り16時間、培養期間14~20日間、培養葉片は10枚とした。各々の組み合わせ方は次のとおりである。⁵⁾

*1 気仙沼終末処理場 (Kesennuma Wastewater Treatment Plant, Kawaguchicho, Kesennuma Miyagi 988-0033, Japan).

*2 気仙沼市生活環境課 (Kesennuma City Environmental Conservation Section, Yokamachi, Kesennuma, Miyagi 988-0084, Japan).

*3 東北農政局統計情報部：平成9年度宮城県漁業の動き, (1997).

*4 宮城県気仙沼水産試験場：平成5年度宮城県気仙沼水産試験場事業報告, 重要藻類増殖技術開発試験, 5-6 (1995).

1) 季節によりアナアオサの成長度は異なると考えたので、培養液 1 l 中の処理水濃度を 0%, 10%, 20%, 30%, 50%, 100% に調整し、年間を通して培養実験を行った。成長度の比較は、葉片の表面積、乾燥重量、クロロフィル含量の測定により行った。

2) 海水の低塩分化によるアナアオサ成長への影響を調べるため、⁶⁻⁸⁾ 海水へ蒸留水を添加した試験を行った。培養液中の蒸留水の比率は、0%, 20%, 30%, 40%, 50% とした。低塩分化による成長度の違いはクロロフィル含量を比較して行った。

3) 処理水は次亜塩素酸ナトリウム溶液で滅菌しているが、滅菌後処理水に残る残留塩素がノリ等の成長を抑制するとされるので、⁹⁻¹¹⁾ 滅菌した処理水と、滅菌しない処理水を用いて比較培養試験を行った。培養液中の各処理水の比率は、0%, 5%, 10%, 20% とした。処理水の滅菌の有無による成長度の違いは、クロロフィル含量を比較して行った。

4) フミン質系統物質のアナアオサへの成長促進作用を調べるため海水へフミン質系統物質、処理水を添加した培養試験を行った。培養液の組成は次のようにした。コントロール区は海水 1000 ml のみ、それ以外の区には処理水を一定量 50 ml 添加、フミン質系統物質を各 10, 20, 30, 50 ml 添加した。それと並行して、各区中の窒素、リン濃度が対応する培養試験区と同一になるように硝酸態窒素溶液、リン酸態リン溶液を加えて比較試験を行った。

成長促進作用の確認は、クロロフィル含量、フォルマザン量の測定により行った。

成長度の測定 「成長」の目安は次のとおりとした。成長度は培養後に葉片の表面積を測り成長度を求めた。成長度を求める式は次の通りである。

$$\text{成長度} = \frac{\text{培養 14 日} \sim \text{20 日後の葉片の平均面積}}{\text{培養開始時の葉片の平均面積}}$$

乾燥重量 培養後に葉片 1 枚当りの乾重量を求めた。

クロロフィル含量 培養後に葉片 5 枚をとり、常法¹⁾によりクロロフィルをエーテル抽出し 100 ml にメスアップした。そのエーテル溶液を 642.5 nm, 660 nm の 2 ヶ所で吸光度を測定した。クロロフィル濃度を求める式は

$$\text{全 Chl} = 7.12E_{660} + 16.8E_{642.5}$$

である。

TTC 反応によるフォルマザン量 葉片 5 枚をとり細胞の活性度の目安となる TTC 反応を常法¹²⁻¹⁵⁾により進行させトルエン層の紅色のフォルマザンを 500 nm で吸光度測定した。

フミン質系統溶液の作製 下水の好氣的処理により代謝排出される処理水中のフミン質系統の物質は、流入す

る水質に関係なくほぼ同一な物質となるとされるが、¹⁶⁻¹⁷⁾ さらに安定化させるため処理水 30~40 l を 3 週間曝気した。その処理水をアドバンテック社製東洋濾紙メンブランフィルター (Pore size 0.45 μm) で濾過し、濾液を 40°C にてロータリーエバポレーターを使用して減圧濃縮した。濃縮液は再びメンブランフィルターで濾過した。

その濾液を分画分子量 500 以上の限外濾紙アィアフローメンブレンを使用して繰り返し限外濾過を行い脱塩した。¹⁸⁾ 濾液に塩化物イオンが検出されなくなるまで脱塩を繰り返した。この脱塩された濃縮液をフミン質系統物質とした。

ゲルクロマトグラフィーによる組成の確認¹⁹⁻²⁴⁾ 前処理の方法は、フミン質系統溶液作製の際の前段の限外濾過を行う前までのプロセスと同じである。各試料 1 l を 10~20 倍に濃縮し、この濃縮液を試料とした。フミン質系統物質は、前述の方法で 100 倍濃縮したものである。標準用は蒸留水で硝酸塩溶液は 25 mg/l, フミン酸溶液は 50 mg/l とした。

一般に試料中の塩類濃度がピーク位置に影響するとされるが、処理水中の無機塩濃度 (塩素イオン濃度) が採取時期によって異なるので、本実験では塩類調整は行わず、その代り分画液中の総窒素、総リン、塩素イオンを測定し、そのずれを確認した。

ゲルクロマトグラフィーの条件は次のとおりである。使用ゲル Sephadex G-15, カラム 2.5×90(cm), 試料添加量 10 ml, 流出速度 50~90 ml/min, 流出液 蒸留水, 分画量 フラクションコレクターを用いて 15 ml, 検出因子 紫外外部吸光度 220 nm (E_{220}), 260 nm (E_{260}) とした。

結果および考察

1991 年度における処理水および海水水質は以下の如くである。

処理水水質: BOD 1.1~5.6 mg/l (av 2.6 mg/l), 総窒素 13.6~31.7 mg/l (av 25.8 mg/l), 総リン 1.7~9.4 mg/l (av 6.1 mg/l)

海水水質: COD 0.14~0.55 mg/l (av 0.37 mg/l), 総窒素 0.241~0.497 mg/l (av 0.334 mg/l), 総リン 0.007~0.027 mg/l (av 0.022 mg/l)

又、フミン質系統物質のアナアオサへの成長促進作用を調べるため行った培養実験の処理水、海水、フミン質系統物質および添加無機塩の水質は以下の如くである。

処理水水質: 総窒素 28.1 mg/l, 総リン 2.3 mg/l

海水水質: 総窒素 0.185 mg/l, 総リン 0.018 mg/l

フミン質系統物質: 総窒素 78.3 mg/l, 総リン 26.8 mg/l (これは処理水 40 l を 300 倍濃縮したものである)

る。)

添加無機塩の水質：硝酸態窒素 0.15 mg/ml, リン酸態リン 0.15 mg/l

海水へ処理水を添加した実験 湾口部で採取した海水へ滅菌処理された処理水を加え培養実験を行った。塩分調整は行わなかった。

当処理場では嫌気好気法により水処理を行っているため、気温の上昇する夏期と気温の低下する冬期では水質がかなり異なること、アナアオサの成長も季節により違いがあることを考慮して、実験は春夏秋冬に分けて行った。結果は次のとおりである。

成長度 (Table 1) 暖い時期 (8~10 月, 海水温度 18~25℃) に採取したアナアオサを使用した Test No 2~4, 処理水添加率 10~20% においては、海水のみで培養した試験区に比べて成長度が 1.7 倍、寒い時期 (12 月~2 月, 海水温度 5~12℃) に採取したアナアオサを使用した Test No 6~7 では 1.3 倍であった。暖い時期に採取したアナアオサの方が成長が良い傾向がみら

れた。年間を通してみると、処理水添加率 10~20% の試験区の方が、海水のみで培養した試験区に比べて成長度が 1.3~1.8 倍になっていた。なお、処理水のみ (添加率 100%) で培養した試験区の成長度は良くなかった。

乾燥重量 (Table 2) 処理水添加率 10~20% の試験区が、海水のみで培養した試験区に比べて乾燥重量が 1.7 倍程度になった。

クロロフィル含量 (Table 3) 処理水添加率 10~20% の試験区では、海水のみで培養した試験区に比べてクロロフィル量が 4.5~5.6 倍に増えていた。なお、処理水のみ (添加率 100%) で培養した試験区はクロロフィル量の増加はみられなかった。

フォルマザン量 (Table 4) 処理水添加率 10~20% の試験区が、海水のみで培養した試験区に比べてフォルマザン量が 1.6~1.8 倍になっていた。なお、処理水のみ (添加率 100%) で培養した試験区はフォルマザンの増加は、ほとんどみられなかった。

Table 1. Comparison between growth rate of *Ulva pertusa* and quantitative ratio of treated wastewater to culture medium

Test No. Ratio(%)	1	2	3	4	5	6	7	MAX.	MIN.	Ave.
0	2.11	2.33	3.06	2.40	1.96	1.56	1.89	3.06	1.56	2.19
10	3.93	4.73	4.62	5.64	3.90	2.81	2.40	5.64	2.40	4.00
20	3.13	4.10	2.72	2.89	2.48	2.89	1.89	4.10	1.89	2.87
30	2.98	4.10	5.29	2.25	3.24	1.89	2.40	5.29	1.89	3.16
50	2.04	3.52	4.62	3.06	4.62	2.33	2.81	4.62	2.04	3.29
100	1.91	1.89	3.61	2.13	2.56	1.82	2.48	3.61	1.82	2.34

Growth rate refers to the increase in surface area of the blades (after cultivation relative to before cultivation). This is expressed as a multiplication factor. Test numbers shows days of culture.

1: Jul 8.26 1991 2: Aug 5.26 1991 3: Sep 24, Oct 8 1991 4: Oct 16.30 1991 5: Nov 8.25 1991 6: Dec 3.17 1991 7: Feb 13.27 1992.

The cultivation samples of *Ulva pertusa* sheets consisted of ten sheets. Ratio (%) shows the quantitative ratio of treated wastewater to culture medium.

Table 2. Comparison between dry weight of *Ulva pertusa* and quantitative ratio of treated wastewater to culture medium

Test No. Ratio(%)	1	2	3	4	5	6	7	MAX.	MIN.	Ave.
0	14	15	22	15	19	13	13	22	13	16
10	29	39	35	29	29	15	16	39	15	27
20	31	50	21	20	25	21	16	50	16	26
30	26	47	30	20	27	15	16	47	15	26
50	23	46	25	19	36	20	19	46	19	27
100	20	—	19	10	20	13	15	20	10	16

Dry weight (mg) of the blades shows the mean value per sheet.

Table 3. Comparison between concentration as measured by the amount of chlorophyll extracted using an ether and ratio of treated wastewater to culture media

Test No. Ratio(%)	1	2	3	4	5	6	7	MAX.	MIN.	Ave.
0	2.3	1.6	3.7	3.4	3.8	4.5	3.1	4.5	1.6	3.2
10	15.6	7.9	11.6	15.0	26.7	8.8	14.3	26.7	7.9	14.3
20	26.8	20.2	13.6	16.7	22.0	14.0	12.0	26.8	12.0	17.9
30	24.4	24.2	23.7	15.6	20.7	9.6	11.7	24.4	9.6	18.6
50	21.4	27.9	15.4	14.6	34.9	15.3	18.2	34.9	14.6	21.1
100	7.1	—	8.9	2.0	8.8	4.4	8.7	8.9	2.0	6.7

Growth rate shows the increase in concentration (mg/l) as measured by the amount of chlorophyll of the blades. This is expressed as a multiplication factor.

Table 4. Comparison between absorbance at 500 nm (as measured by the amount of formazan) and ratio of treated wastewater to culture medium

Test No. Ratio(%)	2	3	4	5	6	7	MAX.	MIN.	Ave.
0	0.636	0.820	0.596	0.340	0.522	0.214	0.820	0.214	0.521
10	1.379	1.160	0.930	0.956	0.550	0.498	1.379	0.498	0.912
20	1.433	0.702	0.901	0.681	0.622	0.509	1.433	0.509	0.808
30	1.380	1.470	1.082	1.253	0.558	0.708	1.470	0.558	1.075
50	1.420	1.401	0.875	0.978	1.018	0.720	1.421	0.720	1.069
100	0.846	0.565	0.152	0.560	0.243	0.415	0.846	0.152	0.464

Growth rate shows the increase in absorbance as measured by the amount of formazan in the blades. The definition of Ratio (%) is the same as in table 1.

Fig. 1. Comparison of relative growth of *Ulva pertusa* as a function of dosage for different ratios of distilled water to culture medium 1: 0%. 2: 10%. 3: 20%. 4: 30%. 5: 40%. 6: 50%. The photographs were taken after a 14-day culture.

上述のことより、海水と処理水を加えたものに対する処理水の比率が20%以下であれば、次亜塩素酸ナトリウム溶液で滅菌された処理水はアナオサに対して成長促進作用があると考えられる。

この20%以下の値は、新田の拡散理論²⁶⁾によると、

Fig. 2. Comparison of relative growth of *Ulva pertusa* as a function of dosage for non-chlorinated treated wastewater and chlorinated treated wastewater.

B1: 0%. 1: 5%. 2: 10%. 3: 20%. "Ratio (%)" in the case of test Nos B1, 1, 2, 3 shows quantitative ratio of chlorinated treated wastewater. Concentration of residual chlorine in treated wastewater was 0.1 mg/l. 4: 5%. 5: 10%. 6: 20%. "Ratio (%)" in the case of test Nos 4, 5, 6 shows quantitative ratio of non-chlorinated treated wastewater.

Photograph was taken after a 15-day culture.

Fig. 3. Gel filtration and elution pattern of the samples.

排水量 8000 m³/日程度でその排水の影響をうける範囲は約 200 m 程度であり、密度差が一定に達するその先端では、ほぼ 100 倍に希釈されるとされるので、現実の処理水の海域での希釈状況に比べ高い比率である。

20% 以下でアナアオサの成長が良い結果は、実際の海域でワカメ等の成長が良くなっていることをも支持す

る。

海水に蒸留水を添加した実験 (Fig. 1) 海水を蒸留水で最高 2 倍まで希釈した希釈海水を用いてアナアオサを培養したが、希釈化による悪影響はみられなかった。クロロフィル含量は 3.0~4.3 mg/l の間であった。

海水へ滅菌した処理水、滅菌しない処理水を添加した

実験 (Fig. 2) 処理水中の残留塩素濃度は年間を通して $0.0 \sim 0.1 \text{ mg/l}$ であるが、次亜塩素酸ナトリウム溶液使用を通じての滅菌の有無によるアナアオサの成長の違いは見られなかった。クロロフィル含量は $4.1 \sim 5.1 \text{ mg/l}$ の間であった。

ゲルクロマトグラフィーによる組成の確認 処理水中には、栄養物質である窒素、リンの他に高分子系の栄養物質も存在するのではないかと考えた。そこで、ゲルクロマトグラムをもとめた。結果を Fig. 3 に示す。

1. 海水 ($\times 10$) のゲルクロマトグラム

E_{220} のクロマトグラムよりピーク 27 に硝酸根の存在がわかり、 E_{260} のクロマトグラムより有機物がほとんどないことがわかる。(濃縮前の海水の水質は COD 0.34 mg/l 、総窒素 0.334 mg/l 、総リン 0.018 mg/l であった。)

2. 硝酸塩溶液 (25 mg/l) のゲルクロマトグラム

ピーク 15 に硝酸根がみられる。上述のゲルクロマトグラムと硝酸根のピーク位置が違うのは、この溶液は蒸留水で作製したので塩類効果がないためと考えられる。

3. 処理水 ($\times 10$, $\times 20$) のゲルクロマトグラム

ピーク 15 付近がフミン質系統物質のもの、ピーク 23 付近が硝酸根のピークと考えられる (10 倍濃縮前の処理水の水質は BOD 8 mg/l 、総窒素 31.7 mg/l 、総リン 0.4 mg/l であった。) また、他の処理水 (濃縮前の処理水の水質は BOD 8.5 mg/l 、総窒素 27.4 mg/l 、総リン 0.8 mg/l) を 20 倍濃縮し、ゲルクロマトグラムを得た。フミン質系統物質がピーク 16 にやはりみられる。濃縮倍率の違いによるフミン質系統物質のピーク位置のずれはほとんどない。

4. フミン酸 (50 mg/l) のゲルクロマトグラム

処理水のゲルクロマトグラムのピーク 15 とほとんど同じであった。この物質は高分子物質であるため、ゲルの架橋の中に入っていがなく、電気的にもイオン強度が弱いこと等のため、処理水のように塩類濃縮された試料と同じ挙動をすると考えられる。

5. 培養後の海水 ($\times 10$) のゲルクロマトグラム

アナアオサ培養中に葉片よりフミン質系統物質が溶出する可能性があったので、試験を行ったものであるが、海水のゲルクロマトグラムと同じであった。培養中にアナアオサよりフミン物系統物質が海水中に溶出することはないと考えられる。(濃縮前の海水の水質は、海水 $\times 10$ のゲルクロマトグラム作製に使ったものと同じである。)

6. フミン質系統物質 ($\times 100$) のゲルクロマトグラム

15~16 にピークがあり、分画液の色調は黄色で、目視でも判別できた。処理水でみられた 23 前後のピーク

はなくなっていた。脱塩処理により硝酸根がなくなったと考えられる。この 15~16 のピークは上述の 15 ピークとはほぼ同じ位置にあり、 E_{260}/E_{220} 比も大きいので、処理水より抽出されたフミン質系統の物質と考えられる。(100 倍濃縮液の水質は、総窒素 20.9 mg/l 、総リン 10.1 mg/l であった。)

7. 濃縮処理水 ($\times 20$) の総リン、総窒素、塩素イオン組成のゲルクロマトグラム

23 に総窒素の大きなピークがみられる。大部分が硝酸性窒素であり、塩素イオン濃度もこのピークで $16,000 \text{ mg/l}$ であった。総リンのピークは、フミン質系統のピーク 16 とほぼ一致し、リンはフミン質系統物質の中に一部固定されているのかも知れない。(20 倍濃縮前の処理水の水質は、上述の処理水 $\times 10$ のゲルクロマトグラム作製に使ったものと同じである。)

以上の結果より、フラクション 15 のピークは、処理水由来のフミン質系統物質と判断した。

海水へフミン質系統溶液を添加したアナアオサの培養

Fig. 4. Comparison between growth rate of *Ulva pertusa* in Experiment B, and growth rate in Ex A. Ex B, Ex A are the same as in Table 5.

Photograph was taken after a 15-day culture.

Table 5. Composition of the culture medium

Experiment (B) Component	B1 (control)	B-1	B-2	B-3	B-4
sea water (ml)	1000	940	930	920	900
treated wastewater (ml)	0	50	50	50	50
Humic-like substances (ml)	0	10	20	30	50

Experiment (A) Component	B1 (control)	A-1	A-2	A-3	A-4
sea water (ml)	1000	940	930	920	900
treated wastewater (ml)	0	50	50	50	50
NO ₃ -N (ml)	0	5.2	10.4	15.7	26.1
PO ₄ -P (ml)	0	1.8	3.6	5.4	8.9
Distilled water (ml)	0	3.0	4.0	8.9	15.0

The media for the reference experiment (A) were formed by adding nitrate solution and phosphate solution to make the concentration of nitrogen and phosphorus the same as in the media used in experiment B. The chemical characteristics of the sea water, the treated wastewater and the humic-like substances are described in the text.

Table 6. Quantity of Chlorophyll and Formazan in Ex A, Ex B

Experiment (B) Item	B1 (control)	B-1	B-2	B-3	B-4
Chlorophyll (mg/l)	3.1	6.0	8.7	10.0	14.2
Formazan (abs)	0.8	1.1	1.4	1.6	1.9

Experiment (A) Item	B1 (control)	A-1	A-2	A-3	A-4
Chlorophyll (mg/l)	3.1	5.4	6.1	5.0	4.3
Formazan (abs)	0.8	1.4	0.9	1.0	1.0

実験 一般に農業において、無機質肥料として窒素、リン、カリを使用しただけでは作物の成長が長く続かないといわれており、腐葉土等の有機質の併用がすすめられている。アナアオサについても同じではないかと考え、²⁵⁾ 海水に処理水、フミン酸（和光純薬製）を添加した前試験を行った結果フミン酸の添加効果がみられた。しかし、試験のフミン酸と処理水中のフミン質系統物質とは同一とはいえないので、改めて前述した培養の方法4)で培養実験を行った。結果は次のとおりである。培養後の写真を Fig. 4 に示す。明らかに差があることがわかる。実験区別のクロロフィル濃度、フォルマザン吸

Fig. 5. Changes in the concentration on chlorophyll and the absorbance of Formazan at different amounts of humic-like substances added in Experiment B, or nitrate, phosphate added in Experiment A.

The concentration of chlorophyll and the absorbance of Formazan were increased by the addition of humic-like substances in Ex B.

On the other hand, these were decreased by the addition of nitrate and phosphate solution in Ex A.

Symbols; --- Chlorophyll in Ex B, — Formazan in Ex B, — Chlorophyll in Ex A, — Formazan in Ex A.

光度は表—6 のとおりである。これを図示して Fig. 5 に示した。試験区 B ではフミン質系統物質の添加量が増加するにつれてクロロフィル濃度、フォルマザン吸光度が明らかに高くなっている。それに反して、比較試験区 A では同じ窒素、リン濃度になるように無機塩を添加したにもかかわらず逆に減少傾向にある。

このことより、フミン質系統の高分子物質はアナアオサに対して成長促進作用があると考えられる。

以上の実験よりまとめとして、次のことがいえる。終末処理場処理水は、次亜塩素酸ナトリウム溶液による滅菌の有無にかかわらず水質が BOD 1.1~5.6 (av 2.6 mg/l), 総窒素 13.6~31.7 (av 25.8 mg/l), 総リン 1.7~9.4 (av 6.1 mg/l), 塩素イオン 3000~6000 mg/l のもので、海水と処理水を加えた量に対して処理水の比率が 20% 以下のとき、年間を通してアナアオサに対して成長促進作用を示す。

又、処理水を濃縮後脱塩処理により抽出した分子量 500 以上のフミン質系統物質も、アナアオサに対して成長促進作用を示す。

この物質は、終末処理場毎の特殊なものでなく好気性処理により生ずる普遍的な有機物である。

文 献

- 1) 吉田由紀子：海藻を用いた Bioassay 手法について。用水と廃水, **17**, 861-867 (1975).
- 2) 松井敏夫, 大貝政治：コンブ目植物数種の配偶体の成長, 成熟および胞子体の成長に及ぼす光質, 光量の影響。日本誌, **58**, 1257-1265 (1992).
- 3) A. Uchida, T. Yoshikawa, Y. Ishida, and N. Saga: Stable Protoplast isolation and its Regeneration into Thallus of the Marine Green Alga *Ulva pertusa*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 153-157 (1992).
- 4) 大貝政治, 松井敏夫：海産微細藻類 4 種の増殖に及ぼすカルボン酸とその塩の影響。日本誌, **59**, 647-652 (1993).
- 5) W. Marshal Darley 藻類の生理生態学 (渡辺泰徳), 培風館, 東京, 1987, pp. 165-172.
- 6) 丸山俊朗, 三浦昭雄, 吉田多摩夫：養殖ノリの生育に及ぼす下水処理場処理水の影響評価のための採水時間。日本誌, **53**, 2235-2241 (1987).
- 7) 丸山俊朗, 三浦昭雄, 吉田多摩夫：養殖ノリの生育に及ぼす都市下水処理水の影響評価のための培養法について。日本誌, **53**, 2228-2234 (1987).
- 8) 丸山俊朗, 三浦昭雄, 吉田多摩夫：静置培養における養殖ノリの生育に及ぼす都市下水道処理水の影響。日本誌, **51**, 315-320 (1985).
- 9) 丸山俊朗, 三浦昭雄, 吉田多摩夫：養殖ノリの生育に及ぼす塩素殺菌都市下水処理水の影響。日本誌, **53**, 465-472 (1987).
- 10) 藤田直二：塩素処理水の水生生物に与える影響。用水と廃水, **30**, 530-539 (1988).
- 11) T. Maruyama, K. Ochiai, A. Miura, and T. Yoshida: Effects of chloramine on the Growth of *Pophyra yazoensis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1829-1834 (1988).
- 12) 尾形英二：テトラゾリウム塩によるコンコセリス系状体の傷害, 生死の判定について。日本誌, **22**, 94-95 (1956).
- 13) 尾形英二：テトラゾリウム塩によるオゴノリの傷害生死の判定について。日本誌, **22**, 400-403 (1956).
- 14) 尾形英二：ヒトエグサの傷害生死の徴候について。日本誌, **22**, 400-403 (1956).
- 15) 尾形英二：アサクサノリおよびヒトエグサの傷害度と TTC 還元能との関係。日本誌, **22**, 404-407 (1956).
- 16) 丹保憲仁, 亀井 翼, 高橋正宏：好気性生物化学プロセスの代謝成分の挙動と性質(Ⅳ), 下水道協会誌, **18**(213), 32-41 (1982).
- 17) 丹保憲仁, 亀井 翼, 高橋正宏：好気性生物化学プロセスの代謝成分の挙動と性質(Ⅲ). 下水道協会誌, **18**(212), 18-31 (1982).
- 18) 松原英隆, 榎松洋一：下水処理水中の有機物のゲルクロマトグラフィーにおよぼす無機塩の影響。水質汚濁研究, **11**, 783-789 (1988).
- 19) 亀井 翼, 丹保憲仁：水質のマトリックスの評価のためのゲルクロマトグラフィー。水道協会誌, (519), 25-41 (1977).
- 20) 丹保憲仁, 亀井 翼, 高橋正宏：好気性生物化学プロセスからの代謝成分の挙動と性質(Ⅰ), 下水道協会誌, **18**(210), 48-57 (1981).
- 21) 丹保憲仁, 亀井 翼, 高橋正宏：好気性生物化学プロセスからの代謝成分の挙動と性質(Ⅱ). 下水道協会誌, **18**(211), 25-32 (1981).
- 22) 中島敏博, 佐藤芳生：フルボ酸の分子量の測定方法。水質汚濁研究, **11**, 639-646 (1988).
- 23) 松井佳彦, 亀井 翼：フミン質の成分分類と活性炭吸着特性。水環境学会誌, **16**, 497-506 (1993).
- 24) 松原ら：フミン質を構成する芳香族成分の分析方法の検討。水環境学会誌, **17**, 50-59 (1994).
- 25) 岩崎英雄：海水中の栄養塩組成と海藻の生長及び窒素, 磷含有量の関係。日本誌東北支部会報, **9**, 33-35 (1958).
- 26) 新田忠雄：新編, 水質汚濁調査指針, 日本水産資源保護協会, 恒星社厚生閣東京, 1980, pp. 5-7.