

北海道大学工学部 正会員 橘 治国
○ 東京設計事務所 正会員 石川 清

1. 研究目的

藻類の異常増殖—水の渾濁—などの自然生態系の変化を引き起こす富栄養化の機構を解明するには、まず富栄養化水域に流入する栄養塩の存在形態や挙動を明らかにしておく必要がある。特に都市排水の流入する停滞水域では、制限栄養塩となることの多いリンについての調査・研究が重要である。著者らは、自然水域におけるリン化合物の分画定量によってその存在形態を明らかにし、藻類増殖との関連についてもAGP試験等によって検討してきたが²⁾、本研究ではこれらを基礎に、各種リン化合物〔オルトリン酸（以下リン酸）、縮合リン、有機リン、下水中に含まれるもの〕の有機栄養細菌（以下細菌）、藻類（*Microcystis aeruginosa*）による分解と摂取機構について、室内実験によって再検討を加えた。実験時には、リン化合物の加水分解酵素であるホスファターゼの活性を測定し、それらと分解の状況や細菌や藻類の増殖との関連性についても考察を加えた。

2. 研究方法

(1) 実験条件 実験は、細菌培養（茨戸湖より分離）、藻類（藍藻類 *Microcystis aeruginosa*、東大IAM-176）および両者の混合培養の三条件で回分型装置（図1、3ℓフラスコ使用）を用いて行った。基礎培地としてGorham³⁾培地³⁾を用い、リン濃度を0.5 mg-P/ℓに、細菌培養時にはグルコースを20 mg/ℓに調整した。培養温度は25±1℃、連続して攪拌・通気した。細菌培養時は暗所で、藻類および混合培養時は1000±100 Luxで蛍光灯により連続照射した。細菌の接種量は約10³個/ℓ、藻類については約20万個/ℓとした。(2) 使用したリン化合物 リン酸のほか、溶存態リン化合物としてピロリン酸とトリポリリン酸、溶存態有機リン化合物としてフィテンを用いた。また実際の水中に存在するリン化合物を対象として下水流入水（札幌市創成川下水処理場）についても実験を行った。(3) 分析方法 リンの分画および分析方法は、Standard Methods⁴⁾に準拠した（表1）。その他の項目は水の分析⁵⁾に拠った。(4) ホスファターゼ（P-ase）活性の測定 P-ase活性は、反応基質をp-ニトロフェニルリン酸2ナトリウムとし、温度25℃、暗所保存で2〜3時間で生成するp-ニトロフェノールを測定し、1時間当りの生成量を活性値とした。pH条件は、代表試料のpHによる酵素活性プロフィールをもとめ、その結果得られた高い活性を示すpH4（酸性）、pH9（アルカリ性）の両者について調整し測定した。なお、試料は0.45μmのメンブレンフィルターでろ過後分析に供した。

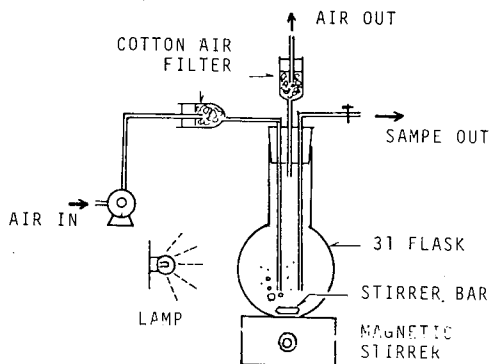


図1 実験装置

表1 リンの分画⁴⁾

懸濁態反応リン: PRP	---	$\{ \text{PO}_4^{3-} - \text{P(P)} \}$	---	懸濁態リン: PP
懸濁態縮合リン: PCP	---	$\{ \text{AHP(P)}^* - \text{PRP} \}$		
懸濁態有機リン: POP	---	$\{ \text{PP-AHP(P)} \}$		
溶存態反応リン: DRP	---	$\{ \text{PO}_4^{3-} - \text{P} \}$	---	溶存態リン: DP
溶存態縮合リン: DCP	---	$\{ \text{AHP(D)}^* - \text{DRP} \}$		
溶存態有機リン: DOP	---	$\{ \text{DP-AHP(D)} \}$		

* Acid-hydrolyzable phosphorus

3. 結果および考察

(1) ホスファターゼ活性について 実験に用いた細菌群と*Microcystis*の有するP-aseのpHによる変化を図2に示した。試料はフィテンを含んだもので、約50時間経過のものである。pH5と9に高い活性が認められる。一種類のP-ase活性の最適pH中は狭いので、この場合2種以上のP-ase

の存在することがわかる。またP-ase活性の測定は通常アルカリ性に限られるが、酸性での測定も重要であることがわかる。なお創成川下水処理場流入水(83. 11. 22, BOD 172 O₂ mg/l, TP 4.17 mg/l, DP 0.98 mg/l)で、酸性で30, アルカリ性で63 $\mu\text{mol/l/hr}$ と、一般の汚濁水域(＜10 $\mu\text{mol/l/hr}$)より著しく高い活性を示すことがあったが、このような条件では特にP-aseの存在に注意を払う必要があると思われる。

(2)リン化合物の分解について(図3に、リン酸とピロリン酸の分解過程を例として示した。)細菌培養時には、フィチンを除き、各リン化合物は速やかに分解・摂取された。P-ase活性は、リン酸とフィチンを除き分解時に高い活性が認められた。リン酸の場合は活性が認められないが、フィチンの場合は低い分解率に依らず活性の上昇が認められ、生理条件によ、て生産性や体外への排出状況の変化することかわかった。Microcystisによる場合も、フィチンを除き、細菌群同様の分解・摂取およびP-ase活性パターンであるが、酸性のP-ase活性が幾分高いようである。リン酸の場合、摂取完了後P-ase活性が高くなったが、フィチン同様に生理条件(この場合藻類の過剰摂取)と関連していると考えられる。混合培養では、フィチンについても容易に分解・摂取され、分解時のP-ase活性は特に藻類の場合に似て変化した。下水を用いた場合、リン化合物は三条件ともよく分解・摂取され、かつ生物の増殖も顕著で、リン以外の増殖促進物質の存在が示唆された。表2は各リン化合物の分解速度定数を示したが、細菌群、藻類によって容易に分解

され、混合型は各々の2倍以上となることの多いことがわかった。リン分解速度と生物増殖量やP-ase活性についてはここでは省略し、講演時に述べる。

本研究を実施するには、北大農学部松井博和ならびに工学部那須

義和両先生の御指導を得、また実験には院生井上隆信、森口朗彦両君他皆様の御協力を得、研究遂行上は日本生命財団の御援助を戴いた。記して謝意を表します。

(文献) 1)橘,石川他,第37回土木学会年次学術講演会, p.147, 1982, 2)橘,第20回慣性工学研究論文集, p53, 1984, 3)国立公害研究所研究報告 R-26-'81, 1981 4)APHA-AWWA-WPCF, 14th ED. 1975 5)日本分析化学会北海道支部, 1981 表2 分解速度定数(1次反応として) →

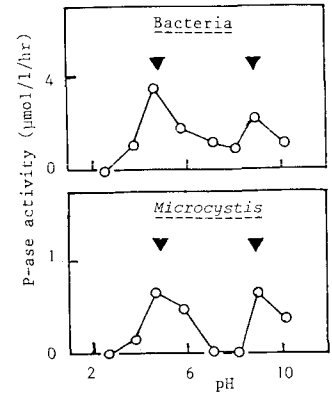
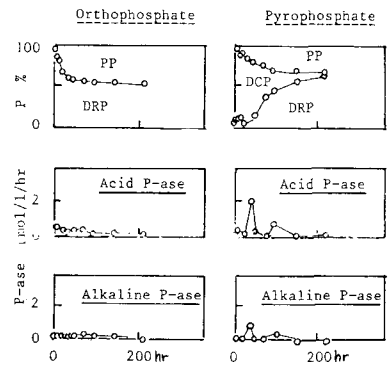
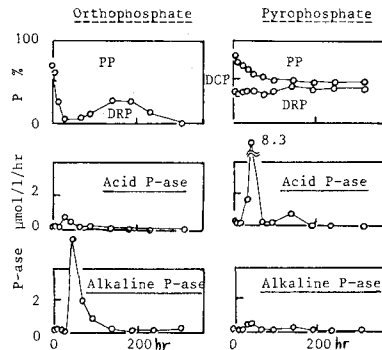


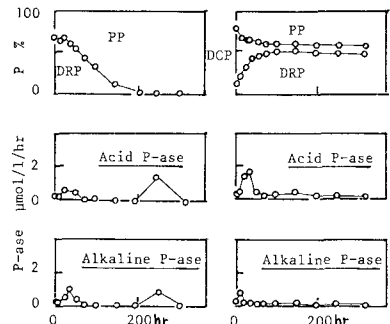
図2 P-ase活性のpHプロフィール



(1) Culture of bacteria



(3) Mixed condition



(2) Culture of algae(Microcystis)

図3 リン化合物の分解過程(オルトリン酸とピロリン酸の例)

unit:hr ⁻¹	Culture Condition		
	Bacteria	Algae	Mixed
Pyro Phosphate	-9.3x10 ⁻³	-1.4x10 ⁻²	-1.8x10 ⁻²
Tripoly Phosphate	-1.0x10 ⁻²	-4.1x10 ⁻³	-1.8x10 ⁻²
Phytin	-4.3x10 ⁻⁴	---	-8.8x10 ⁻³
Sewage	---	-6.0x10 ⁻³	-1.4x10 ⁻²