

蛍光分析による浮遊微細藻類と溶存有機物の定量化

Quantification of floating microalgae and dissolved organic matter by fluorescence analysis

北見工業大学工学部地球環境工学科
北見工業大学工学部社会環境系
北見工業大学工学部社会環境系

○学生員 及川拓馬(Takuma Oikawa)
正会員 駒井克昭(Katsuaki Komai)
正会員 早川 博(Hiroshi Hayakawa)

1. はじめに

北見工業大学のすぐ近くには、北見市が管理し、昨年100周年を迎えた道東で最も歴史のある野付牛公園がある。公園内には池があり、野生生物の観賞や貸出ボートなどを楽しめる市民の憩いの場所となっているが、この池では近年、微細な藻類が大量に発生し水面を覆う現象であるアオコが問題となっている。私の所属する研究室では、北見市と共同で野付牛公園の水質改善に関する研究を行っている¹⁾²⁾³⁾。既往の研究により野付牛公園における春季から冬季にかけての水質データの取得がなされ、また降水後に湖内の栄養塩が増加し、それに伴ってアオコが発生することがわかっている⁴⁾。一方、秋季には顕微鏡で観察される藻類が少ないにもかかわらず、クロロフィル a 濃度が高い地点が存在する⁵⁾ため、藻類と土壌に含まれる腐植物質を由来とする蛍光性溶存有機物とを判別できていない可能性がある。本研究ではこの課題の解決に向けて、改めて野付牛公園で採水調査を行い、採水したサンプルの蛍光性やプランクトンの数量といった観点からの分析を行っている。

2. 研究手法

a) 調査場所・期間

本研究では、2022年5月から12月にかけて毎月1回(11月は2回)野付牛公園の池の5つの地点(α,β,γ,out,wakimizu)で採水調査を行っている。採水時には、ポータブル機器(Aquafluor, TURNER DESIGNS 製等)を用いてクロロフィル a 濃度等を in-vivo 測定する。また、孔径 0.45 μm の濾紙を用いて濾過処理を行う。これらの処理を行った後に、以下の2つの分析を行う。

b) 分析項目

(1) 蛍光分析 この分析は、蛍光分光光度計(FP-6200, 日本分光製)で行う。原理としては、ある波長の光を当てた時に物質がエネルギーを持ち、基底状態から励起状態に遷移し、直後に基底状態に戻る際にさまざまな波長を有する蛍光を放出するという特性を用いたものである⁶⁾。この分析を行うことにより、各サンプルの蛍光のピークを測定することが可能であり、含有する蛍光性の有機物を区別することができる。

(2) 顕微鏡分析 この分析では、デジタルマイクロスコープ(KH-8700, HIROX 製)で撮影した画像からアナベナとミクロシスティスの2つの藻類の定量化を図る。この2つは

ともにアオコの原因となる藻類である。本研究では撮影した23枚の画像を目視で藻類の数を数えた。なお、藻類の計数作業は画像のアノテーションソフト(labelimg)でタグ付け作業も行いながら種類別の計数を行った。

3. 結果と考察

a) 植物プランクトン濃度の経時変化

5つの地点のクロロフィル a 濃度は、水の流入口である wakimizu を除いて9月から10月にかけてピークの値となっている(図-1)。

b) 蛍光特性

図-2は6月に行った蛍光分析の結果を示している。2つの図(a), (b)を比較すると、タンパク質固有のピークを表す P1(図中○)が、濾過前のサンプルに存在するのに対して濾

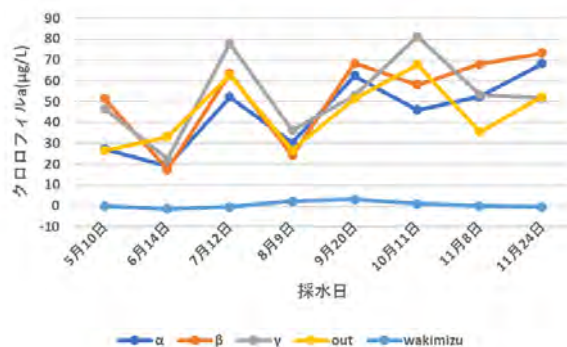


図-1 5地点におけるクロロフィル a 濃度の年間推移 (月別, 5月から11月)

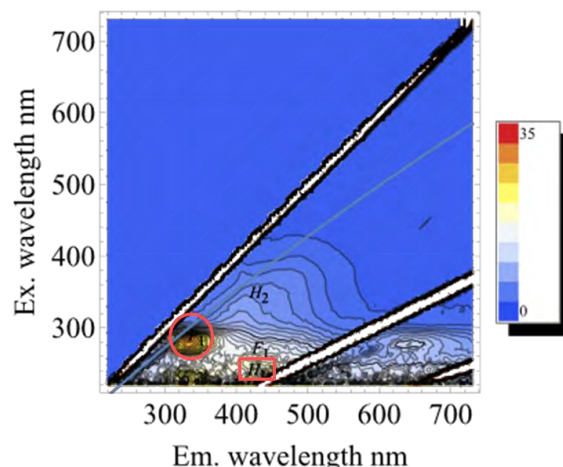


図-2 2022年6月14日γ地点における濾過前のサンプルの蛍光分析の結果

過後のサンプルにはそれが見られない。したがって、野付牛公園の池にはタンパク質に似た蛍光特性を持つ物質を含んだ、直径 0.45 μm 以上の藻類が多く存在することがわかった。

c) 植物プランクトン濃度と蛍光強度の関係

図-3 は、5月から11月にかけてのクロロフィル a 濃度と蛍光強度の関係について、 α 地点の結果を例に表している。H1(図-2□)は溶存有機物であるフミン質固有のピークを表している。グラフを比較すると、H1 のピークとクロロフィル a 濃度は同じような経時変化であるのに対し、P1 のピークとクロロフィル a 濃度は異なる経時変化となった。これは他の地点においても同様の結果を得られた。したがって、クロロフィル a 濃度はフミン質の存在量の影響も受けている可能性がある。

d) 藻類の経時変化

図-4 は、5月から11月のサンプルデータの中で、プランクトンの数量が5地点の中で平均的であると判断した γ 地点における、アナベナとミクロシステイスの数量を比較したものである。アナベナは初夏に数多く存在するのに対し、ミクロシステイスは数量に差はあれど、春季から秋季にかけて一定数存在することがわかる。

種類別のプランクトン数と蛍光強度との関係について重回帰分析を行うと以下のような関係式が求められた。なお、分析は夏季(6~9月)とそれ以外の冷涼な季節(5, 10, 11月)に分けて行い、H1 の決定係数は 0.99(夏季), 0.11(冷涼期), P1 の決定係数は 0.93(夏季), 0.47(冷涼期)である。

1) 夏季

$$h = -0.01Ca + 0.23Cm + 16.8$$

$$p = -0.19Ca + 0.01Cm + 34.7$$

2) 冷涼期

$$h = -3.87Ca + 0.20Cm + 25.1$$

$$p = -0.84Ca + 0.26Cm + 16.1$$

(h:フミン, p:タンパク質, Ca:アナベナ,

Cm:ミクロシステイス)

本研究では種類別のデータは 23 枚の画像によるデータのみである。また、现阶段では溶存有機物の影響についても分離できていない。このため、画像データと溶存有機物濃度の情報を増やすことで決定係数を向上できる可能性はあると考えられる。

4. おわりに

本研究により、濾過したサンプルとそうでないサンプルの蛍光強度の違いについて把握することができた。また、クロロフィル a 濃度とタンパク質や溶存有機物の蛍光強度との関係性について考察することができた。アナベナとミクロシステイスの定量化については、十分な決定係数が得られなかったため、画像データを増やすとともに溶存有機物濃度のデータを考慮することで推定式の精度向上ができるかどうか検討することが今後の課題となっている。これらを通して、蛍光法による浮遊微細藻類と溶存有機物の定量化を進める予定である。

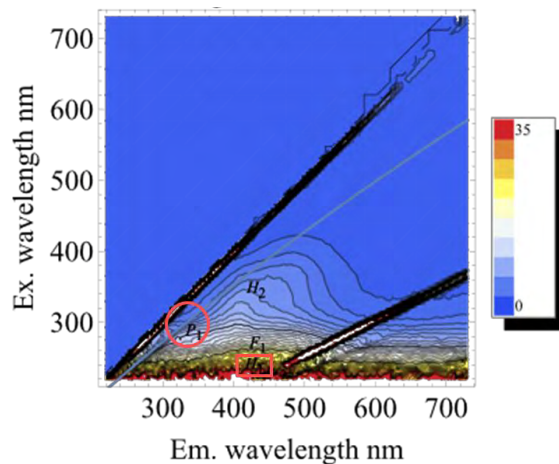


図-3 2022年6月14日 γ 地点における濾過後のサンプルの蛍光分析の結果



図-4 α 地点のクロロフィル a 濃度と蛍光強度の関係

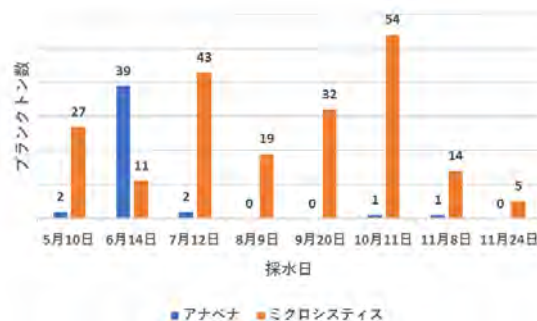


図-5 5月から11月の γ 地点における藻類の数量

参考文献

- 1) 高橋侑志:アオコ発生予測モデルの構築に向けた野付牛公園における連続水質調査, 2021
- 2) 菅野亜美:野付牛公園沼における水鳥類による栄養塩負荷の推定, 2021
- 3) 中原淳乃介:地下水を起源とする湖沼の鉄濃度の季節変動に関する実験的検討, 2021
- 4) 藤野佑:3次元励起蛍光スペクトル法による遡河性魚類からのタンパク質の溶出特性解析