

大阪工業大学 学生会員 ○ 孫 晋
 大阪工業大学 正 会 員 古崎 康哲
 大阪工業大学 正 会 員 石川 宗孝

1. はじめに

我々の身近に存在している多くの湖沼などは、上水道の貴重な水源や水産・観光の場として、必要不可欠な国民的資産である。近年でも一部で富栄養化による水質悪化(アオコの異常発生等)問題が残っている。これに対処するために水質モニタリングは重要である。既存のアオコなど藻類のモニタリングはクロロフィル a を主とする。しかし、アオコは風の影響により容易に移動したり浮上沈降するため、実態を把握しにくい。そこで本研究では、直接アオコの代謝に関する補酵素であり、水に溶存している NADH(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)という物質に着目し、クロロフィル a に代わる代替指標として用いることができるかについて検討を行った。

2. 実験方法および実験条件

(1) 純粋培養実験 表 1 に MA 培地の組成を示す。滅菌した 1L 三角フラスコに滅菌処理した MA 培地 1L、国立環境研究所から取り寄せた *Microcystis* 株 (NIES-1082) を 50mL 投入した。図 1 に実験装置の概要を示す。恒温槽の中で 18W の植物育成用蛍光灯を一本で下から光を当て、照射時間は 6-18 時までの 12 時間とした。1 日 1 回 50ml サンプルングを行い減った分は培地で補った。表 2 に実験条件を示す。RunA は RunB の 2 倍の栄養塩となるよう設定した。測定項目は NADH を週 5 回、SS・クロロフィル a を週 3 回、T-P・T-N・TOC を週 1 回とした。

(2) 実湖沼の水質分析 大学付近の城北公園池で採水を行った。採水位置は岸から 5m、水深 30cm で行った。測定項目は NADH を週 5 回、SS・クロロフィル a・T-P・T-N・TOC を週 1 回とした。

どちらの実験も NADH の測定には、蛍光分光光度計(日本分光 FP-6200)を使用し、試料のろ液を励起波長 340nm、蛍光波長 460nm で測定した。

表 1. 培養実験の培地組成(MA 培地)

試薬	mg
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5
KNO_3	10
NaNO_3	5
Na_2SO_4	4
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2.343
$\beta\text{-Na}_2\text{glycerophosphate} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.5
ZnCl_2	0.05
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.2183
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.08
H_3BO_3	2
Bicine	50
Distilled water 100ml	
pH 8.6	

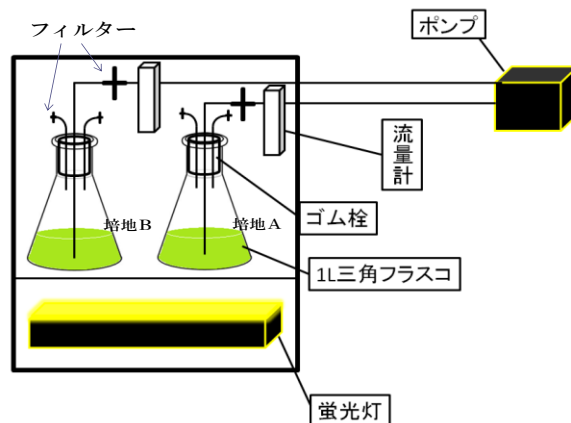


図 1. 実験装置図

表 2. 実験条件(培養実験)

項目	Run A	Run B
希釈倍率	1.0	0.5
初期栄養塩濃度 T-P(mg-P/L)	9.2	3.9
初期栄養塩濃度 T-N(mg-N/L)	64	31
初期栄養塩濃度 TOC(mg-C/L)	220	100
水温(°C)	25	
光強度($\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$)	60	
エアレーション(L/min)	0.20	
培地	MA培地	

3. 実験結果及び考察

(1) 純粋培養実験 図2にRunAとRunBのクロロフィルaとNADHの経日変化グラフを示す。RunAではクロロフィルaが14~41日目まで急増加し、41日目付近で3400 $\mu\text{g/L}$ となり、それ以降は横ばいとなった。NADHは48日目まで増加しており、それ以降は減少傾向となった。

RunBでもNADH、クロロフィルaともに8~40日目まで増加し、40日目付近で1500 $\mu\text{g/L}$ となり、それ以降は49日目まで横ばいで、その後急減した。急減は死滅によると考えられるが、この間もNADHは増加を続けていた。この原因としてアオコが死んでから生成したフミン質などがNADHの結果に影響したことが考えられる。この時のフミン質は水中有機物の大部分を占め、NADHの励起波長/蛍光波長(340nm/460nm)は、フミン質の波長(330nm/415nm)に近く、一部分重複しているため、死滅期にNADHはクロロフィルaとの相関関係が非常に低い原因になると考えられる。

(2) 実湖沼の水質分析 図3にクロロフィルaとNADHの経日変化を示す。全体の傾向として、NADHとクロロフィルaは概ね似たような挙動を示し、クロロフィルaは日による変動が大きい、NADHは安定した傾向を示した。特に急増期の両者は、ほぼ同じ挙動を示した。

(3) 相関関係 図4にクロロフィルaとNADHの相関関係を示す。純粋培養実験のRunAでは、急増期での相関係数は0.88、実湖沼では0.96となった。このことから、特に急増期でのクロロフィルaとNADHの相関関係が高くなることがわかった。

(4) 考察 純粋培養実験での結果から、液中のNADHはアオコ原因藻類 *Microcystis* の増加傾向と概ね一致することがわかった。また、特に急増期にその相関は高くなることがわかった。ただし、藻類の死滅期など、フミン質など他の有機物が生成する条件では一致しない場合があることがわかった。実湖沼での測定結果からもクロロフィルa濃度の変化とNADHは類似の傾向を示し、クロロフィルa濃度と違って日変動の小さい安定した値が得られることがわかった。また急増期の相関は特に高くなることがわかった。

4. おわりに

NADHはクロロフィルaの増減傾向とよく似ており、かつ日変動が小さいことから、藻類増殖のモニタリング指標として有効ではないかと考えられる。今後はデータの蓄積を行ってくとともに、減少期でのNADHをはじめとする蛍光特性とクロロフィルaの関係性を把握していきたい。

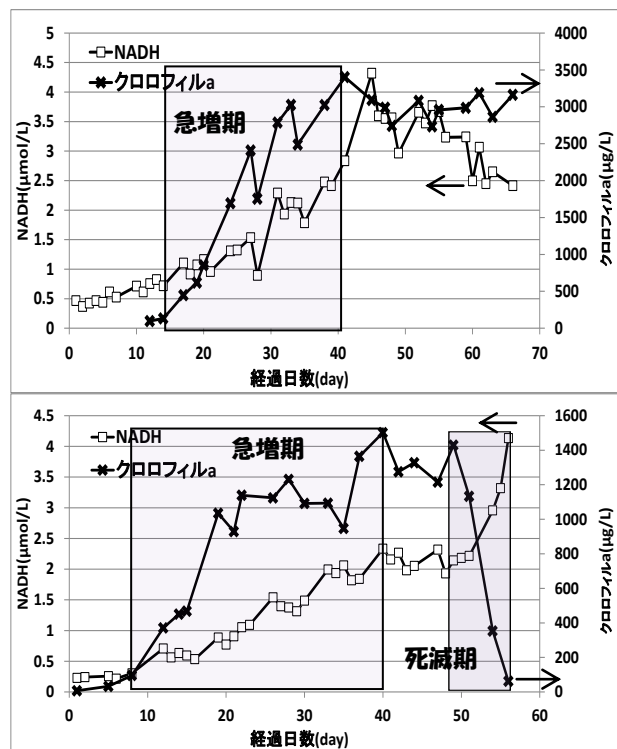


図2.クロロフィルaとNADHの経日変化 RunA(上)、RunB(下)

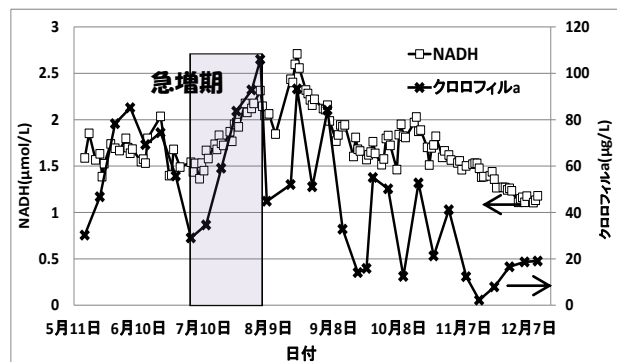


図3.クロロフィルaとNADHの経日変化 実湖沼

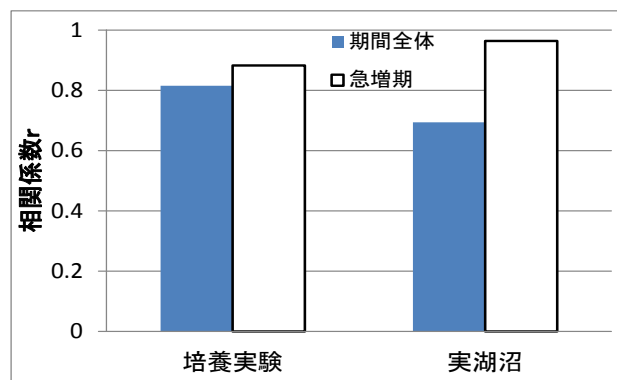


図4.クロロフィルaとNADHの相関関係 RunA(左)、実湖沼(右)