

岩手大学工学部 学生員 ○石崎正志 大平知秀

正員 大村達夫 海田輝之 相沢治郎

1. はじめに

藻類は増殖あるいは自己溶解の間に水環境中に多種多様の代謝生産物を放出することが知られている。この代謝生産物は、共存生物や自己の増殖に対して多大な影響を与えられていると言われており、水域生態系をコントロールする重要な因子の1つであると考えられている¹⁾。そこで本研究においては、緑藻類の*Chlorella vul.*と藍藻類の*M. aeruginosa*を実験室内において無菌的に連続混合培養を行ない、培養液のゲルクロマトグラム、T O C (総有機炭素量)、不揮発性有機酸などから様々な特性の検討を行なった。

2. 実験装置および方法

2.1 藻類培養装置および培養条件

藻類の培養は、*Chlorella* vul. および *M. aeruginosa* をそれぞれ10mlずつ植種した後、図-1に示すような装置内でかつ表-1に示される条件のもとに行なわれた。また、基質はMA培地を用いた。

2.2 分析装置および分析条件

- (1) 藻類量：クロロフィル-aを藻類量の指標として用いた。また、*Chlorella vul.* に関してはThomaの血球盤を用いて計数も行なった。
- (2) ゲルろ過：ゲルカラムは内径25mm、高さ60cmで、ゲルは本実験における代謝物の分子量を考慮して低分子領域を良く分画し得るSephadex G-15を用いた。展開流量は60ml/hrで1fractionを10mlとして50fractionの分画を行ない、それぞれのろ液の吸光度(E_{220} 、 E_{260})を測定しゲルクロマトグラムを描いた²⁾。さらに分画されたfractionごとにT O Cも測定した。また、カラムに添加する試料は培養液の25倍濃縮液10mlとした。
- (3) 不揮発性有機酸：培養液を0.45 μ mのガラスフィルターでろ過した後、減圧乾固しエステル化³⁾の前処理を経てガスクロマトグラフィーで定量した。

3. 結果および考察

3.1 增殖過程

図-2は藻類の増殖曲線を示しているが、培養期間中での検鏡において*M. aeruginosa*の存在が認められず*Chlorella vul.*が優占した。またこの図より、植種後約7日までに初期増加が行なわれ、それ以降はほぼ定常状態になった。

3.2 不揮発性有機酸について

藻類から放出される不揮発性有機酸には様々なものが確認されているが、本研究においてはビルビン酸、乳酸、グリコール酸、しゅう酸、およびフマル酸の5種類に

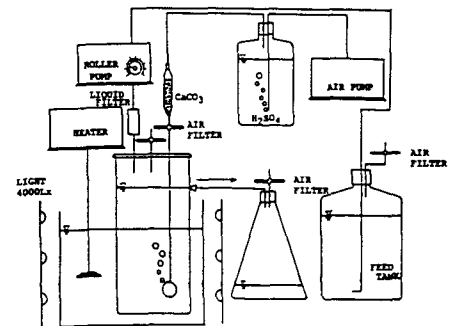


圖-1 藻類培養裝置

表-1 培養條件

培養槽 照度 温度 混合	容量9.6(l)の混合培養槽 4000(lux)で12/12明暗培養 恒温槽により25(℃)に保持 無菌空気ではっ気
-----------------------	---

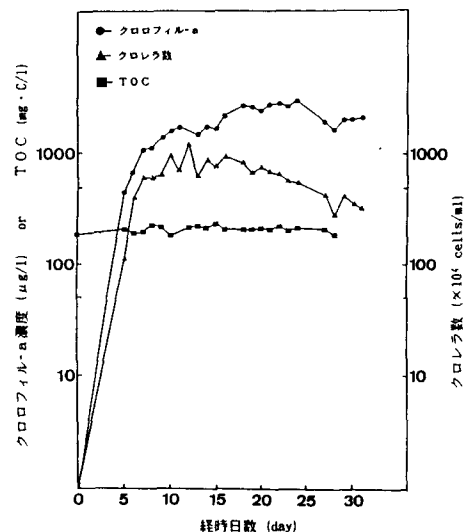


圖-2 混合藻增殖曲線

ついて測定した。そして、これらの不揮発性有機酸の総量を総有機酸量とみなした。

表－２は経時日数における各有機酸濃度を示したものである。この表から槽内の藻類が増加する時期に有機酸が研究期間を通して最も多く放出されているのがわかり、特にビルビン酸が増加初期における主要な有機酸であるのが見られる。また期間を通して乳酸としゅう酸が総有機酸の中で高い割合を示しており、フマル酸は検出されなかった。

3.3 ゲルクロマトグラムによる放出代謝有機物の検討

図－３は培養液をゲルろ過によって分画した一例を示したものであるが、この図からわかるように、3つのピークが生じ、代謝物の成分が3つの画群に分画された。そこで分画された画群を分子量の大きい順にそれぞれ画群Ⅰ、画群Ⅱ、画群Ⅲとする。

図－４は各経時日数における3つの画群のそれぞれのTOC値を示したものである。この図より、画群Ⅰが培養日数が経つに連れて増加した。

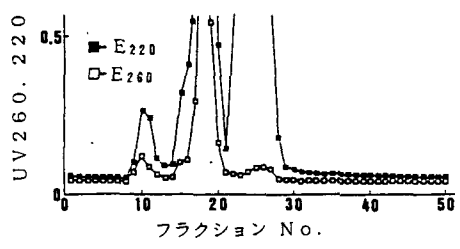
4. おわりに

Chlorella vul. とM.aeruginosaの混合培養において、M.aeruginosaの適合培地であるMA培地を使用したにもかかわらずChlorella vul. だけが終始増殖したことから本研究の培養条件における2藻の間においてはChlorellavul. が優占種であることがわかった。また、藻類からの不揮発性有機酸は増加初期において最も多く放出され、研究期間を通してビルビン酸、乳酸、しゅう酸が主要なものであった。さらに、ゲル分画においては3つの画群に分れ、培養日数が経つに連れて画群Ⅰの比較的高分子量の物質が増加したのが見られた。

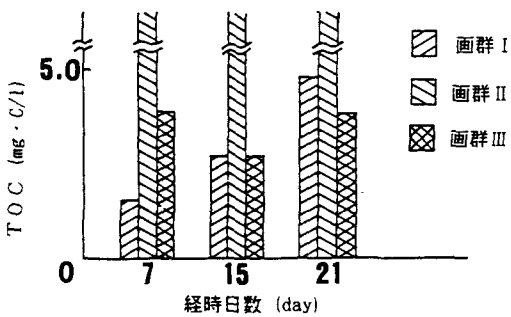
今後、滞留時間等の培養条件を変化させた場合における混合藻類の様々な特性を検討する必要があると思われる。

表－２ 各有機酸濃度と総有機酸に占める割合

経時日数	増加初期	定常期			
	7 day	15 day	21 day	28 day	
ビルビン 酸	18.73 (62.4%)	—	—	—	
乳 酸	3.64 (19.9)	5.52 (75.9%)	4.14 (48.5%)	3.50 (64.8%)	
グリコール酸	1.07 (5.8)	0.52 (7.2)	0.91 (10.6)	0.66 (12.2)	
しゅう 酸	2.19 (11.9)	1.23 (16.9)	3.49 (40.9)	1.24 (23.0)	
フマル 酸	—	—	—	—	
総有機酸量	25.63 mg/l	7.27 mg/l	8.54 mg/l	5.40 mg/l	



図－３ 藻類培養液のゲルクロマトグラム



図－４ 各画群のTOCの変化

参考文献

1) 坂本充：生態遷移Ⅱ，共立出版，東京(1978)
2) 亀井翼，丹保憲仁：水質のマトリックス評価のためのゲルクロマトグラフィー，水道協会雑誌，第516号(1977)
3) 山田市二ら：有機酸のガスクロマトグラフィーのためのブチルエステル化，Japan Analyst vol.22(1973)