

藍藻類 *Microcystis* の莢膜成分の凝集阻害能評価

東北大学大学院 正会員 ○真砂佳史
東北大学 今江泰貴
東北大学大学院 佐藤有一
東北大学大学院 学生会員 石藤慎吾
東北大学大学院 正会員 高橋真司
東北大学大学院 正会員 大村達夫

1 はじめに

我が国では安定した水供給を目的とし、ダム・湖沼などの閉鎖性水域を水源として利用している。しかし、閉鎖性水域では栄養塩類が停滞し、富栄養化になりやすい。そのため、藻類の季節的大繁殖が発生し、浄水処理システムでしばしば問題となっている。それらの問題の中で特に凝集阻害はシステムの根幹を担う凝集プロセスにおいて起こり、システム全体の処理効率に影響する。凝集プロセスでは、凝集剤に含まれる Al^{3+} などのカチオンが表面電荷の中和作用及び架橋作用により懸濁粒子のフロックを形成させる。しかし、凝集阻害ではこの2つの作用が妨げられることにより、良好なフロック形成が妨害される。凝集阻害を引き起こす原因としては藻類由来有機物が考えられている¹⁾が、物質の特定には至っていないため、凝集阻害に対する効果的な対策は講じられていない。

本研究では、凝集阻害の原因藻類の代表種として挙げられる *Microcystis* 属に着目することとした。*Microcystis* は自然界では多くの場合、莢膜と呼ばれる細胞を覆う粘性物質に包まれた群体として存在している。莢膜の役割として、群体形成の維持、ウイルスや細菌からの攻撃のレセプターなどが考えられている²⁾。藻類の莢膜は実験室培養では殆どの場合産生されないとされており、そのため、藻類の莢膜に関する研究は少ない。本研究では凝集阻害誘引物質としてこの莢膜に着目し、まず自然水中で形成された *Microcystis* 群体より莢膜成分の分離及び回収を行った。また、莢膜成分の凝集阻害能を確認するため、莢膜の存在する藻体と除去後の藻体で凝集阻害能の比較を行った。続いて実際の凝集処理を行う際、莢膜成分が懸濁粒子に与える影響を評価するために凝集阻害能評価を行った。その後、莢膜成分の化学組成分析を行った。

2 実験方法

2.1 *Microcystis* 群体試料の回収

2008年9月10日にアオコの発生している千葉県印旛沼を水源とする柏井浄水場取水口の表層水をポリバケツにより採水した。続いて、採水した試料1Lを遠心分離 ($500 \times g$, 10 min) し、夾雑物を除去して上清を回収した。その後、回収した上清を遠心分離 ($8,000 \times g$, 10 min) し、得られたペレットの顕微鏡観察を行った。そ

の結果、藻体の9割以上が *Microcystis* であることを確認したため、ペレットを *Microcystis* 群体試料とした。

2.2 莢膜成分の分離

本研究で行った莢膜成分の分離方法は雨宮ら²⁾、中川ら³⁾の方法を参考とし、顕微鏡観察による検討の結果、以下の方法に決定した。はじめに、*Microcystis* 群体試料を超純水に懸濁させ、1Lの藻体懸濁水を作製した。続いて、藻体懸濁水を2分間 vortex することにより、群体を破壊した。その後一晩4°Cで静置して、藻体より莢膜成分を超純水に溶出させた。そして、藻体懸濁水を遠心分離 ($8,000 \times g$, 10 min) することにより、莢膜成分を除去した藻体と莢膜成分をそれぞれペレットと上清に分離し、回収した。回収した莢膜試料は、 $0.45 \mu m$ メンブレンフィルター (ADVANTEC) を用いて濾過し、夾雑物の除去を行った。その後、ロータリーエバポレーターおよび凍結乾燥機による濃縮を行い、乾燥莢膜試料を得た。

2.3 莢膜成分の化学組成分析

莢膜成分の組成分析は次のように行った。糖質はフェノール-硫酸法、タンパク質はDc Protein Assayキット (BIO-RAD) を用いたLowry法により測定した。核酸は分光光度計 (ND-1000, NanoDrop) で測定した。また、金属量は70% HNO_3 (関東化学) を用いて莢膜中の有機物の分解後、ICP-MS (Agilent 4500 ICP-MS, Agilent Technologies) で測定した。脂質はLab AssayTM Triglyceride kit (Wako) で測定した。

2.4 凝集阻害能評価の手順

凝集阻害能は凝集剤としてポリ塩化アルミニウム (Polyaluminum chloride : PAC) (大和薬品) を用いた凝集試験により評価した。凝集試験に使用する試験水はアルカリ度 50度となるように 100 g/L NaHCO_3 (関東化学) を、 $pH 7.00 \pm 0.05$ となるように 1 M NaOH (関東化学) または 1 M HCl (関東化学) を用いて調整した。凝集条件は、急速攪拌 (100 rpm, 2 min) の後、緩速攪拌 (50 rpm, 15 min)、静置 (10 min) とした。凝集試験後、上澄水の波長 660 nm の吸光度 (A_{660}) を分光光度計により測定し、 A_{660} より濁度の算定を行った。

2.5 莢膜成分の有無による藻体の凝集阻害能の比較

莢膜成分の凝集阻害能は、藻体試料を用いた凝集試験により評価した。2.1 及び 2.2 で得た莢膜成分の存

キーワード：凝集阻害, *Microcystis*, 莢膜

連絡先：宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06, TEL : 022-795-7483, E-mail : masago@water.civil.tohoku.ac.jp

在する藻体試料と存在しない藻体試料を、細胞数を 4.6×10^7 cell/L (濁度約40度)となるよう滅菌精製水に藻体試料をそれぞれ加え、アルカリ度及び pH を調整し、これを試験水とした。作製した試験水を用い、PAC注入率を0-20 mg/L として凝集試験を行い、処理後の濁度が5度以下となるPAC注入率を求めた。

2.6 莢膜成分による懸濁粒子の凝集阻害能評価

莢膜成分による懸濁粒子の凝集阻害能は、カオリンを懸濁粒子として用いた凝集試験により評価した。まず、滅菌精製水にカオリンを40 mg/L となるように加え、アルカリ度及び pH を調整し、これを処理原水とした。続いて、処理原水に0.0-6.4 mg-C/L の濃度で莢膜試料を添加し、試験水を作製した。そして凝集試験を行い、処理後の濁度が5度以下となる莢膜試料添加率を求めた。

3 結果及び考察

3.1 莢膜成分の定量

莢膜成分は、採水した試料 1L あたり 3.69 mg-C (乾燥重量 17.3 mg) 得られた。また、*Microcystis* の細胞数は、採水した試料 1L あたり 3.3×10^8 細胞 (乾燥重量 114.3 mg) であった。つまり、藻体 1 細胞あたり 1.1×10^{-8} mg-C (乾燥重量にして 5.2×10^{-8} mg)、また藻体 1mg あたり 0.032 mg-C (乾燥重量にして 0.151 mg) の莢膜成分が得られた。

3.2 莢膜成分の化学組成

莢膜成分の化学組成 (乾燥重量比) を測定した結果、莢膜成分には糖質が 57.3%と割合の半数以上をしめ、次いでタンパク質が 12.8%と多く含まれていた。脂質は 4.9 %と少ない含有率であった。核酸は 2.1 %以下と藻体と同等の含有率であったが、電気泳動法による確認を行った結果、核酸成分は確認されなかった。そのため、糖質など核酸以外の物質が多く含まれていたために分光光度計では正しく測定されなかったと推測された。また、金属が 8.6 %含まれていたことから、莢膜中の有機物は凝集剤中のカチオンと反応することにより、凝集阻害の一因を担っている可能性が確認された。

3.3 莢膜成分の有無による藻体の凝集阻害能の比較

莢膜成分の凝集阻害能を確認するため、莢膜の存在する藻体試料と除去した藻体試料で凝集試験を行った。その結果、それぞれ 11.3、6.0 mg/L の PAC 注入率で濁度が 5 度以下となると算出された (図 1)。PAC 注入率の差は 5.3 mg/L となり、この差を懸濁水に含まれる藻体数で除することにより、1 細胞分の莢膜が 1.2×10^7 mg の PAC を消費していたことが明らかとなった。また、採水を行った浄水場の原水中の藻体濃度は 1.4×10^8 cell/L であり、莢膜成分による処理後の濁度 5 度以下とするために必要な PAC 消費率は 16.8 mg/L であると推測された。

3.4 莢膜成分の凝集阻害能評価

莢膜成分が 3.6 mg-C/L 以上の含有率の際に濁度 5 度以上となることが示された (図 2)。この際、形成されたフロックは繊維状で、水中に分散していた。また、

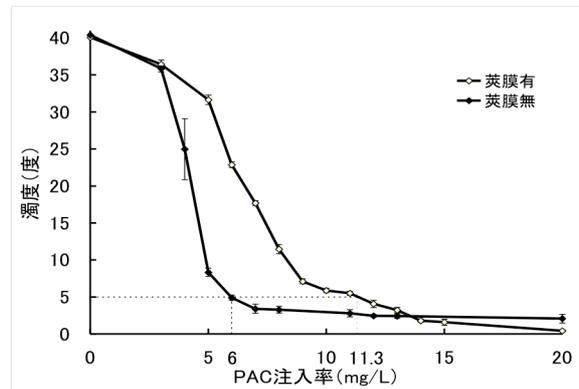


図 1. 莢膜の有無による藻体の凝集阻害能の比較

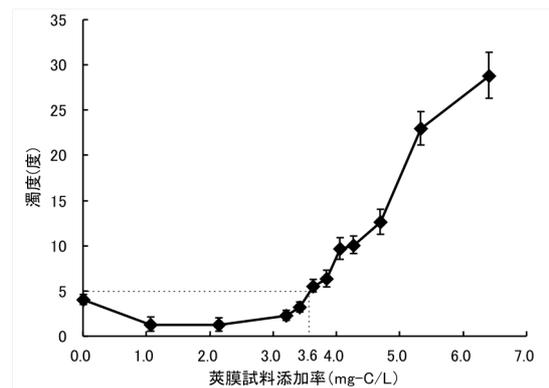


図 2. 莢膜による懸濁物質の凝集阻害能評価

莢膜成分の含有率が 1.1-2.1mg-C/L であるとき、カオリンのみの場合よりも良好なフロックが形成された。このため、莢膜成分は低濃度では助剤の性質を示すことが示唆された。この性質は細胞外有機物の性質と類似したものであり⁴⁾、莢膜成分中には細胞外有機物に含まれる物質と類似した物質を有していると考えられた。

4 まとめ

本研究では、採水した試料より回収した *Microcystis* 群体より莢膜成分の分離を行った。莢膜成分の組成割合 (乾燥重量比) は糖質が半分以上を占め、次いでタンパク質が多く含まれていた。そして、凝集試験により 3.6 mg-C/L 以上の莢膜含有率の際、阻害が確認された。また、莢膜の存在する藻体試料と除去した藻体試料での凝集試験より、採水を行った浄水場における莢膜成分の PAC 消費率は 16.8 mg/L であると示された。

参考文献

- 1) 佐藤 敦久, 真柄 泰基: 上水道における藻類障害, 技報堂出版, 1996.
- 2) 雨宮由美子, 中山大樹: 藍藻 *Microcystis* より単離した粘質鞘物質の化学的性質と金属類に対する吸着特性, 日本陸水学会雑誌, Vol.45, No.3, pp187-193, 1984.
- 3) Michihiko Nakagawa, Yoshichika Takamura, and Osami Yagi: Isolation and Characterization of the Slime from a Cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* K-3A, Agricultural and Biological Chemistry, Vol. 51, No.2, pp329-337, 1987.
- 4) 菅原 繁, 黒川 真弓, 胡 建英, 真柄 泰基: カオリン人工濁水の凝集沈殿に与える藻類由来有機物質の分子量の影響, 水道協会雑誌, Vol.66, No.8, pp9-18, 1997.