

B-25

異なる N/P 比及び光強度条件下における *Microcystis aeruginosa* 産生有機物の特性評価

東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻

○小松一弘

同上

中島典之

同上

古米弘明

1. はじめに

1980 年代の初めから、我が国の湖沼では各種排水の流入により富栄養化が進行し、藻類の異常増殖が観測されるようになった¹⁾。藻類の異常増殖は、水道水源として利用する上で異臭味問題・凝集障害・THM 前駆物質増加などをもたらすため、湖沼の水質管理上、大きな懸案事項となっている。

そのため、多くの研究者によって室内培養された藻類の産生有機物(AOM : Algogenic Organic Matter)について、各生育段階や藻類種の違いによる特性評価が行われてきた。しかし光強度・温度・湖沼中の栄養塩などの環境条件による藻類産生有機物の特性評価が行われた例は少ない。またこれまでの AOM の評価は DOC や E260 といった一般的な指標に留まっており、より多角的な評価が求められる。

そこで本研究では、異なる N/P 比・光条件下において藍藻類 *Microcystis aeruginosa* を培養し、その培養液を時系列的に採取した。測定項目は DOC、E260 だけでなく、励起・蛍光スペクトルを同時に測定し EEM(Excitation Emission Matrix)として図示する手法を用いた。

2. 方法

2.1. 培養方法

供試藻類は国立科学博物館 渡辺眞之博士より分与された *M. aeruginosa* である。培地は Chu 培地(無機培地)500mL を、pH8.6 に調整し、オートクレーブにて滅菌したものを用いた。培養は、3 パターンの異なる N/P 比条件下(N を 1.0mgN/L、1.5mgN/L、2.0mgN/L に変化させ、P は 0.1mgP/L で一定)、異なる光強度条件下(蛍光灯 2000lux、4000lux : 明暗条件はいずれも light-16hour + dark-8hour)を組み合わせ計 6 つの条件下で行なった。

濁度を O.D.660nm として測定することで増殖の様子を観察し、その結果に基づいて、誘導期・対数増殖期・定常期・死滅期と思われる時期に 50mL の培養液をサンプリングし、Whatman 社製 GF/F ガラス繊維濾紙によるろ過を行った。そのろ液を AOM として以下の分析に供した。

2.2. 測定方法

測定項目は、藻類量の指標として O.D.660nm、AOM を包括的に捉えることを目的として DOC、E260 を測定した。また AOM の特性を解析するために、励起・蛍光スペクトルを同時に測定し EEM として図示する手法を用いた。EEM は、ろ過のみの前処理だけで溶存有機物のキャラクタリゼーションが可能であり、フルボ酸様有機物特有のピークやインドール環を蛍光発色団とした蛋白質特有のピークが現れることが報告されている²⁾。

3. 結果及び考察

3.1. DOC と E260

藻類の増殖曲線を図 1 に示した。N/P 比について見ると定常状態における藻体量は、[N/P=20]>[N/P=15]>[N/P=10]となった。*Microcystis* の藻体は N/P=15 と言われているが³⁾、それとは関係なく窒素濃度の増加と共に藻体量が増加した。また比増殖速度は、4000lux において 0.29~0.39(1/day)であったのに対し、2000lux では 0.17~0.28(1/day)と低かった。

DOC についての結果を図 2 に示した。DOC については 4000lux において、6 日目以降、急激な増加が見られた。2000lux では、4000lux ほど急激な増加をしなかったため、16 日目の時点で 4000lux では 2000lux の 1.8~3.7 倍(Ave.2.7 倍)の DOC を生成していた。また 2000lux では[N/P=20]>[N/P=10]>[N/P=15]となったが、4000lux では[N/P=15]>[N/P=10]>[N/P=20]という全く逆の傾向を示した。

E260 についての結果を図 3 に示した。E260 は光強度や N/P 比の違いに関わらず、ほぼ一定の傾きで増加した。また 2000lux の条件下では[N/P=20]>[N/P=10]≒[N/P=15]となったが、4000lux では[N/P=15]>[N/P=20]>[N/P=10]となった。また DOC と同様、[4000lux]>[2000lux]となったが DOC ほどに大きな差は見られず、16 日目の時点で 4000lux では 2000lux の 1.3~2.8 倍(Ave.2.0 倍)の E260 発現物質を生成していた。

増殖期における、単位藻類増加量当たりの DOC 生成量及び E260 発現物質生成量を考察するために、(DOC もしくは E260 増加量)/(藻類増加量)/(増殖期の日数…4000lux では 3 日間、2000lux では 5 日間)を算定した結果を、表 1 に示した。単位藻類量当たりの DOC 生成量は[N/P=10]>[N/P=15]>[N/P=20]となったが、光強度の差による違いは見られなかった。E260 は[N/P=20]>[N/P=15]>[N/P=10]となり、[4000lux]>[2000lux]となった。E260 と THMF の高い相関性を考慮すると、増殖期における *M. aeruginosa* は N/P=10 において AOM を多く生成しやすいが、THM 前駆物質は 4000lux かつ N/P=20 の条件下において生成されやすいことが分かった。

3.2. EEM を用いた AOM の解析

EEM の結果は図 4 のように示され、ピークの出現波長域を調べることで、その蛍光発色団を含む有機物の由来や組成を、ある程度推測することができる。4000lux において、増殖期及び定常期における *Microcystis* 産生有機物は、励起波長 220nm/蛍光波長 330nm 付近にピークを有する有機物を含むことが分かった。

さらに死滅期では励起波長 280nm/蛍光波長 320nm 付近でもピークを有する結果となった。2000lux においても、上記のピークが見られたが、4000lux ほど明確ではなかった。単位 DOC 当たりの励起波

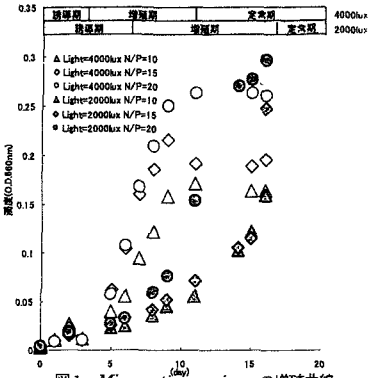


図 1: *Microcystis aeruginosa* の増殖曲線

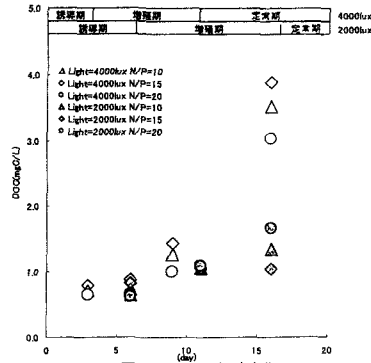


図 2: DOC の経時変化

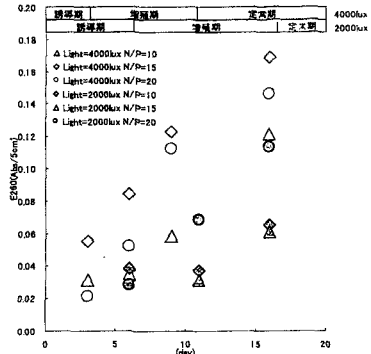


図 3: E260 の経時変化

表 1: 単位藻類増加量当たりの DOC 生成量及び E260 発現物質生成量(対数増殖期)

	照度(lux)	4000			2000		
	N/P比	10	15	20	10	15	20
単位藻類量当たりの DOC 生成量	((mgC/L)/(mgC/L))/(day) × 10 ⁻⁴	195	162	79	202	119	76
単位藻類量当たりの E260 発現物質生成量	(Abs/cm)/(mgC/L)/day × 10 ⁻⁴	1.5	2.3	2.7	-0.1	No Data	1.3

藻類量は $y=0.0097x+0.0379$
 [y: O.D.660nm(Abs/cm) x: POC(mgC/L)]
 の式を用い、POC 量として換算した。

□0-10 ■10-20 ■20-30 ■30-40 ■40-50 (単位: QSU)

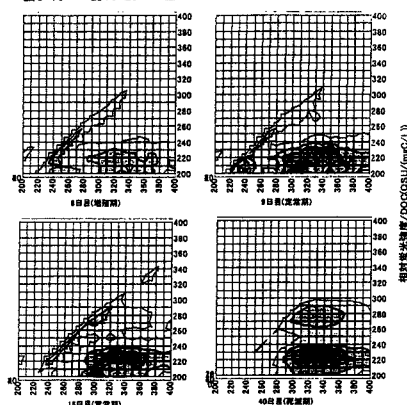


図4: EEM(励起蛍光スペクトル)の経時変化

(いずれも光強度 4000lux N/P=20)

縦軸: 励起波長(nm)

横軸: 蛍光波長(nm)

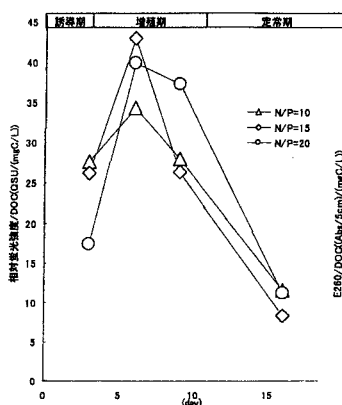


図5: 単位DOC当たりの蛍光強度

(ex: 220nm em: 330nm)の経時変化

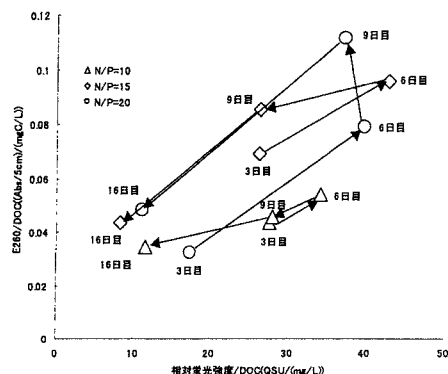


図6: 相対蛍光強度(ex: 220nm em: 330nm)/DOC

とE260/DOCの関係

6日目で最大になるものの、定常期に入ると220nm/330nmの蛍光を示す有機物が相対的に減少していることが分かった。AOMは増殖期と定常期とで組成が異なることを示していると言える。

増殖期と定常期におけるAOMの有機物組成の変化について、より深く考察するため、4000luxの結果について[励起波長220nm/蛍光波長330nm 蛍光強度]/DOCを横軸、E260/DOCを縦軸にとり、図6に示した。その結果、N/P=10とN/P=15では、[励起波長220nm/蛍光波長330nm 蛍光強度]/DOCとE260/DOCの両方について増殖期にあたる6日目で最大値を示していた。さらにN/P比に関係なく、定常期にあたる9日目～16日目では[励起波長220nm/蛍光波長330nm 蛍光強度]/DOCとE260/DOCの両方について減少を示していた。定常期で見られた220nm/330nm 蛍光強度のDOCにおける寄与が少なくなってきたことと、有機物組成の変化によるE260/DOCの減少の関連性が示唆された。220nm/330nmにおける蛍光発色団とTHM前駆物質との関係が推測される。

4. まとめ

- 増殖期における単位藻類量当たりのDOC生成量は[N/P=10]>[N/P=15]>[N/P=20]となったが、光強度の差による違いは見られなかった。E260は[N/P=20]>[N/P=15]>[N/P=10]となり、[4000lux]>[2000lux]となった。
- 4000luxにおいて、増殖期及び定常期における*Microcystis*産生有機物は、励起波長220nm/蛍光波長330nm付近にピークを有する有機物を含むことが分かった。また死滅期ではさらに励起波長280nm/蛍光波長320nm付近でもピークを有した。2000luxにおいても、上記のピークが見られたが、4000luxほど明確ではなかった。またDOCあたりの220nm/330nm 蛍光強度を算定することにより、増殖期と定常期における有機物組成の変化を示すことができた。またE260/DOCとの挙動の類似性が示唆された。

<参考文献>

- (1) 杉浦ら: 夏季の霞ヶ浦における異臭の発生と原因、用水と廃水 Vol.42 No.3、(2000年3月)
- (2) 亀田ら: 三次元励起・蛍光スペクトルを用いた溶存有機物のキャラクタリゼーション、環境工学研究論文集 Vol.36、(1999年)
- (3) 日本微生物生態学会編: 「微生物の生態 12」有機物負荷と環境浄化、学会出版センター、(1984年2月)