

B-16

マイクロプレートを用いた AGP 試験の検討と河川水質に対する下水処理水の影響

土木研究所水循環研究グループ ○山下尚之, 田中宏明, 宮島潔  
環境科学コーポレーション 宮本宣博  
東京都下水道局 玉本博之

## 1. はじめに

近年, 人間活動の活発化により, 水域への栄養塩類等の負荷が増大し, 水域の富栄養化が著しく促進されている。その結果, 湖沼や河川等において藻類の増殖が促進され, 水質の悪化を引き起こしている。特に, 都市域から排出された下水処理水には, 窒素・リンなどの栄養塩類が豊富に含まれており, 下水処理水の放流先河川における富栄養化の問題が懸念される。このことから, 下水処理水が放流先河川の水質に与える影響を評価することは重要である。

水域の富栄養化の程度を測定する方法としては, AGP (Algal Growth Potential) 試験がある。これは, 検水に藻類を接種して一定の条件下で培養を行い, 検水の藻類増殖能力を観察するものであり, 窒素・リンなどの栄養塩類を含め, 検水の総合的な藻類増殖能力を測定するものである。この AGP 試験は, 水域の富栄養化の程度を測定する方法として有用な方法であり, 現在までに河川や湖沼から採取した試料に関して, いくつかの研究がなされている。大月ら<sup>1)</sup>は, AGP 試験により東京都西部を流れる南浅川の富栄養化について評価を行っている。流下に伴う窒素およびリン濃度の上昇とともに, AGP 値は高くなる傾向のあることを報告している。また, 竺ら<sup>2)</sup>は, AGP 試験により琵琶湖湖水および鴨川河川水の藻類増殖能力を調べている。琵琶湖湖水および鴨川河川水については AGP 値は低いこと, また河川水に下水処理水を添加した場合には, AGP 値の大きな上昇が見られることを報告している。さらに, AGP 試験は, 水域における藻類増殖の制限要因の検討にも用いられている<sup>3-5)</sup>。

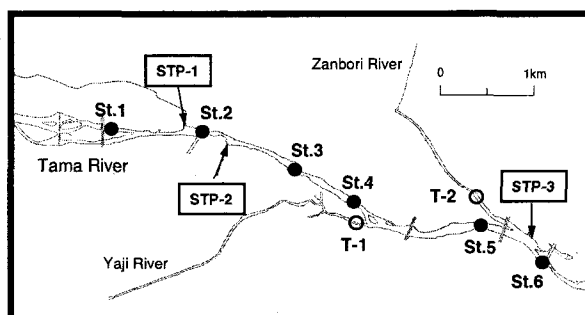
AGP 試験は, 水域の富栄養化の程度を測定する方法として有用な方法であるが, 機材と場所が多量に必要であり, 多数のサンプルを同時に処理することが困難であるといった問題がある。本研究では, 多数のサンプルを迅速に処理する手法として, マイクロプレートを用いた AGP 試験について検討を行った。はじめに, マイクロプレート使用による AGP 試験について, その基礎的検討を行うとともに, 都市河川である多摩川をケーススタディとして, マイクロプレートを用いた AGP 試験の適用を試み, 下水処理水が放流された場合における河川水質への影響について評価を行った。

## 2. 方法

AGP 試験の供試藻類としては, 藻類試験に一般的に用いられる緑藻類 *Selenastrum capricornutum* (NIES-35) を用いた。*Selenastrum* は藻類培養用の AAP 培地<sup>6)</sup>を用いて継代培養を行い, 植え継ぎ後 4~7 日後の対数増殖期のものを試験に用いた。AGP 試験は 96 穴のマイクロプレート (Falcon 社製) を用いて行った。マイクロプレートの各ウェルには, 200  $\mu$ L のサンプルと 40  $\mu$ L の *Selenastrum* の細胞懸濁液を入れ, 培養温度 24°C, 120rpm の振とう条件で培養を行った。光条件は, 照度 4000lux, 12 時間明暗周期とし, 藻類の初期細胞濃度は  $2 \times 10^4$  cells/mL とした。培養期間中, マイクロプレートリーダー (Wallac 社製, ARVO SX-1420 Multilabel Counter) を用いて藻類増殖量の変化を吸光度 (波長 450nm) により測定し, 藻類量がほぼ一定になった時点での藻類増殖量を AGP 値とした。

多摩川における調査は, 2003 年 2 月に実施した。調査地点を図-1 に示す。採取したサンプルは, 直ちに実験室に持ち帰り, ガラスファイバーフィルター (GF/B, Whatman) およびメンブレンフィルター (0.2  $\mu$ m,

Advantec) によりろ過を行った後、試験に供するまでの間、-30℃にて冷凍保存を行った。AGP 試験は、凍結保存しているサンプルを融解した後、希釈系列を作成しマイクロプレートを用いて行った。また同時に、採取した多摩川サンプルについて、オートアナライザー (Bran Lubbe 社製, TRAACS800) により、無機態の窒素およびリン濃度についても測定を行った。



St.1-St.6: Sampling stations in the Tama River  
STP-1, STP-2, STP-3: Sewage treatment plant effluents  
T1, T2: Tributaries flowing into the Tama River

図-1 調査地点

### 3. 結果と考察

#### 3.1 吸光度と細胞濃度との関係

マイクロプレートウェル内の細胞濃度を測定する方法としては、マイクロプレートリーダーによる吸光度を測定する方法が簡便である。そこで、藻類培養用の AAP 培地<sup>6)</sup>を用い、藻類の初期接種量を変化させて *Selenastrum* の培養を行い、マイクロプレートリーダーによる吸光度と *Selenastrum* 細胞濃度との関係を調べた。結果を図-2 に示す。*Selenastrum* 培養液の吸光スペクトルを分光光度計で測定したところ、450nm 付近にピークが見られたため、測定波長は 450nm とした。図-2 より、マイクロプレートリーダーによる 450nm の吸光度と *Selenastrum* 細胞濃度とは高い相関が認められ、両者の間には直線関係があることが分かった。この結果より、マイクロプレートリーダーを用いて 450nm の吸光度の測定を行うことにより、藻類細胞濃度の測定を行うことが可能であると考えられた。

#### 3.2 藻類細胞濃度の経時変化

ここでは、マイクロプレートウェル内における *Selenastrum* 細胞濃度の経時変化について調べた。実験には、AAP 培地および多摩川から採取した河川水を用い、マイクロプレートにより *Selenastrum* の培養を行った。結果を図-3 に示す。図-3 より、藻類細胞濃度は AAP 培地および多摩川河川水とも、培養開始から 10~12 日程度で増殖はほぼ横ばいとなり、その後数日間あまり変化が見られない傾向のあることが分かった。また、他の河川水サンプルを用いて培養した場合も、ほぼ同様な傾向が見られた。この結果より、培養開始より 10~12 日程度経過した時点での藻類増殖量を AGP 値とすることが妥当であると考えられた。

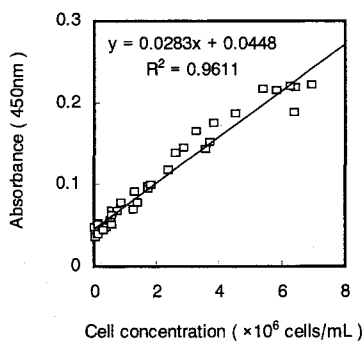


図-2 細胞濃度と吸光度 (450nm) の関係

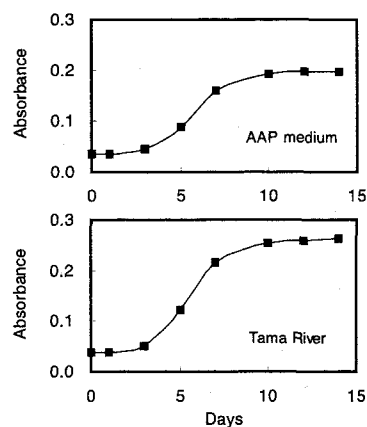


図-3 *Selenastrum* の増殖曲線

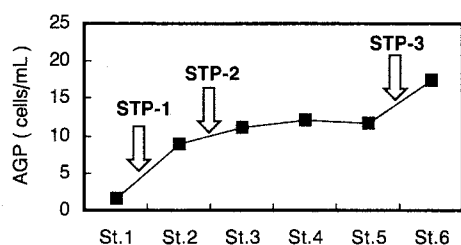


図-4 多摩川におけるAGPの変化

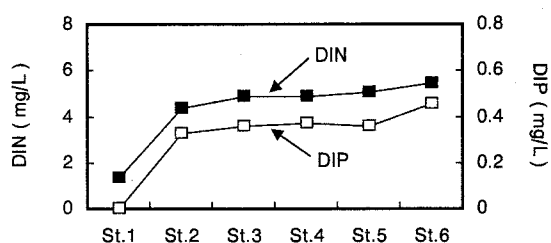


図-5 多摩川における無機態窒素(DIN)および無機態リン(DIP)濃度の変化

### 3. 3 多摩川における AGP の変化

多摩川における AGP の変化を図-4 に示す。また図-5 には、多摩川における無機態窒素 ( $\text{NH}_4\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$ , DIN) および無機態リン ( $\text{PO}_4\text{-P}$ , DIP) 濃度の変化も合わせて示す。調査地点の最上流部に位置している St.1 においては、下水処理場から放流される処理水の流入を受けていないため、窒素・リンといった栄養塩類濃度も低く、AGP 試験による藻類の増殖はほとんど見られなかった。しかし、下水処理水が合流する St.2 においては、栄養塩類濃度の急激な上昇とともに AGP 値は高くなり、藻類の活発な増殖が観察された。また、St.2 より下流側に位置している St.4 および St.5 においても AGP 値の低下はほとんど見られず、この区間において藻類の増殖を促す物質は低減せず、高い値が維持されることが確認された。また、調査地点の最下流部に位置する St.6 では、再度下水処理場からの処理水の放流を受け、AGP 値が再び上昇することが観察された。この結果より、下水処理水の流入により、河川における藻類の増殖が著しく促進されることが確認され、河川の富栄養化に関する下水処理水の影響は大きいことが示された。

### 4. まとめ

本研究では、マイクロプレートを用いた AGP 試験について検討を行うとともに、都市河川である多摩川を対象として AGP 試験の適用を試み、河川水質への下水処理水の影響について評価を行った。

- 1) マイクロプレートを用いた AGP 試験は、多数のサンプルを迅速に処理する方法として有用であった。
- 2) マイクロプレートリーダーによる 450nm の吸光度と藻類細胞濃度との間には高い相関が認められ、マイクロプレートリーダーによる吸光度の測定により、藻類細胞濃度の測定を行うことが可能であった。
- 3) マイクロプレート内において、*Selenastrum* は 10~12 日程度の培養でその増殖はほぼ横ばいとなることから、10~12 日程度経過した時点における藻類増殖量を AGP 値とすることが妥当であると考えられた。
- 4) 河川への下水処理水の流入により AGP 値の大きな上昇が観察され、河川の富栄養化に関する下水処理水の影響は大きいことが示された。

### 参考文献

- 1) 大月敏弘, 小倉紀雄: 藻類培養試験 (AGP の測定) による南浅川の富栄養化の評価, 用水と廃水, 22, 317-322, 1980
- 2) 笠文彦, 北尾高嶺, 岩井重久: 藻類増殖試験法に関する基礎的研究, 用水と廃水, 19, 325-334, 1977
- 3) Miller, W.E., Maloney, T.E., Greene, J.C.: Algal productivity in 49 lake waters as determined by algal assay, *Water Research*, 8, 667-679, 1974
- 4) Lee, Y.S., Seiki, T., Mukai, T., Takimoto, K., Okada, M.: Limiting nutrients of phytoplankton community in Hiroshima Bay, Japan, *Water Research*, 30, 1490-1494, 1996
- 5) 李英植, 向井徹雄, 瀧本和人, 岡田光正: 現場の植物プランクトンを用いた AGP 試験による制限栄養塩推定方法の検討, 水環境学会誌, 19, 373-380, 1996
- 6) 日本下水道協会: AGP 試験, 下水試験方法 上巻 (1997 年版), 554-562, 1997