

## ■特別報告■

# アオコ形成藻類の動態および毒素に関する調査\*

全国環境研協議会環境生物部会\*\*

キーワード ①アオコ ②植物プランクトン ③ミクロシスチン ④栄養塩類

### 要 旨

本調査は全国公害研協議会環境生物部会が企画提案した「アオコ毒素等水質動態調査」を環境庁水質保全局水質管理課の委託事業として平成10年度から12年度に実施したものである。

本調査の年度別受託機関は表1のとおりであるが、3カ年で6機関が調査に参加した。なお平成10年度の調査結果については、同会誌 Vol. 25, No. 2 で報告済であるが、今回は10年度の調査結果を含む3カ年分の調査結果について湖沼別の状況を報告する。

### 1. 調査目的

閉鎖性水域の富栄養化に伴うアオコの発生は、景観や水質を悪化させるだけでなく、アオコ毒素としてミクロシスチン等の有害物質を産生するといった問題を生じさせることが明らかとなっている。とりわけミクロシスチン-LRについては、平成10年3月に、WHO(世界保健機構)において飲料水水質ガイドラインが定められたところであり<sup>1)</sup>、その重要性が謳われている。

本調査は、ミクロシスチンの環境中の濃度動態

を調査し、かつミクロシスチンとアオコ形成プランクトン相などの関係を検討することによって、アオコの外見上の増減とミクロシスチンとの関係についての基礎的知見を得ることを目的とした。

### 2. 調査方法

#### 2.1 調査地点および採水方法

例年アオコの発生が確認されている湖沼を対象として、アオコがもっとも集積している地点とアオコが発生していない地点の2カ所をサンプリングポイントに設定して、アオコが発生している時期に、2～3日おきに最低5回以上の採水を行った。採水は、アオコがもっとも集積している表層の水をバケツ等で採取した。採水期間は調査機関および年度により異なるが、7月中旬から11月下旬の間であった。

#### 2.2 分析方法

分析項目はpH、DO(溶存酸素)、SS、全窒素(T-N)、アンモニア性窒素(NH<sub>4</sub>-N)、硝酸性窒素

表1 年度別の委託調査受託機関

年度	調査受託機関名
10	秋田県環境技術センター、奈良県衛生研究所、岡山県環境保健センター、広島県保健環境センター、山口県衛生公害研究センター(5機関)
11	秋田県環境技術センター、岡山県環境保健センター、山口県環境保健研究センター(3機関)
12	秋田県環境センター、福島県衛生研究所、山口県環境保健研究センター(3機関)

\*The Outline of Dynamic Characteristics of the Relationships between Microcystin and Water Quality Surveyed in Lakes and Marshes of Japan

\*\*Environmental Biology Sectional Meeting, Environmental Laboratories Association

(NO<sub>3</sub>-N), 全リン(T-P), リン酸態リン(PO<sub>4</sub>-P), クロロフィル a, ミクロシスチン-RR(MC-RR), ミクロシスチン-YR(MC-YR), ミクロシスチン-LR(MC-LR), 全ミクロシスチン(T-MC)とした。また, プランクトンの優占種を顕微鏡で観察した。

一般の水質項目は工場排水試験方法 JIS-K 0102<sup>2)</sup> および海洋観測指針<sup>3)</sup> に準じて測定した。

ミクロシスチンの分析は既存の分析法<sup>4-6)</sup> を参考に MC-RR, MC-YR, MC-LR は HPLC で, T-MC は GC/CI-MS で測定した。

ミクロシスチンの前処理は試料水を GF/C でろ過し; ろ液は直接 Sep-Pak C18Plus を用いて固相抽出し, その後 Sep-Pak Plus シリカゲルでクリーンアップして HPLC 測定用試料とした。ろ過物は, 凍結後 5% 酢酸で抽出・ろ過後, ろ液と同様の操作を行った。

GC/CI-MS 測定用試料は, Sano らの方法<sup>6)</sup> によりミクロシスチンを酸化剤により MMPB(Sodium-2-Methyl-3-methoxy-4-phenylbutyrate) とし, 14% 三フッ化ホウ素-メタノール溶液でメチルエステル誘導体化し, ヘキサンで抽出した。

### 3. 調査結果の概要

#### 3.1 調査対象湖沼等の概要

調査対象湖沼の湖面積および湖水利用状況は, 表 2 のとおりである。

#### 3.2 湖沼別および年度別調査結果

##### ① A 湖(10~12年度)

各年度ともアオコの発生が肉眼で観察されが, アオコ形成プランクトンの優占種は, 10年度および12年度は Anabena 属で, 11年度は Microcystis 属であった。

全ミクロシスチン濃度は, 10年度<0.1~3.2μg/l, 11年度0.5~5.0μg/l, 12年度0.1~0.3μg/l で, 3種類の異性体 MC-RR, MC-YR, MC-LR は11年度に MC-RR が2.7μg/l, 3.2μg/l の2回検出された以外はいずれも<0.1μg/l であった。

アオコ発生時には pH, DO, T-N, T-P, クロロフィル a の上昇がみられるが, N/P 比は平成9前後であるのに対し, アオコ形成プランクトンの優占種が Anabena 属であった平成10年度, 12年度はそれぞれ15, 13, 優占種が Microcystis 属であった11年度は6で, アオコ形成プランクトンの優占種によって大きな違いが見られた。

表 2 調査対象湖沼等の概要

湖 沼 名	A 湖	B 貯水池	C 池	D 湖	E 貯水池	F 湖
湖面積 (km <sup>2</sup> )	45.6	0.88	0.012	10.9	0.28	0.69
湖水利用状況	農業用水, 上水	農業用水, 水道水	公園池	農業用水	上水, 工業用水	上水, 工業用 水, 発電

表 3 A 湖における調査結果概要

年度	10年度	11年度	12年度
調査期間	9月2日~11日	8月26日~9月14日	7月24日~9月4日
プランクトン優占種	Anabena 属	Microcystis 属	Anabena 属
水温 (°C)	23.5~26.5	24.5~28.2	25.1~31.0
pH	7.1~9.2	7.4~9.3	7.9~9.4
DO (mg/l)	9.8~11	5.5~7.8	8.0~12
SS (mg/l)	6~12	7~12	2~25
全窒素 (mg/l)	0.58~1.3	0.90~1.2	0.60~3.3
アンモニア性窒素 (mg/l)	<0.05~0.42	<0.05~0.18	<0.05~0.10
硝酸性窒素 (mg/l)	<0.05~0.40	<0.05~0.34	<0.05
全リン (mg/l)	0.046~0.084	0.12~0.21	0.030~0.24
リン酸態リン (mg/l)	0.010~0.026	0.078~0.16	<0.003~0.074
クロロフィル a (μg/l)	16~67	9.1~43	18~109
T-MC (μg/l)	<0.1~3.2	0.5~5.0	<0.1~0.3
MC-RR (μg/l)	<0.1	<0.1~3.2	<0.1
MC-YR (μg/l)	<0.1	<0.1	<0.1
MC-LR (μg/l)	<0.1	<0.1	<0.1

SSをアオコ藻体の乾重量とみなしたアオコ藻体1g当たりの全ミクロシスチンの最大値は、10年度356 $\mu\text{g/l}$ 、11年度471 $\mu\text{g/l}$ 、12年度50 $\mu\text{g/l}$ であった。

ミクロシスチンと水質項目との相関については、ミクロシスチンが低濃度であるため、認められなかった。

## ② F湖(10~12年度)

F湖でのアオコ形成プランクトンは8月下旬より優占種となり、初期段階ではAnabena属とMicrocystis属が混在し、9月以降はMicrocystis属が優占種となっている。湖内のアオコ発生は、河川流入部で始まり、その後流入水の湖内中央部への流れに沿って拡大し、調査時の卓越風により堰堤付近でアオコの大発生が観察された。

アオコの発生に関係する最も重要な因子である栄養塩のうちの窒素については、河川流入部の調査地点において溶存態窒素、その中でもとくにNO<sub>3</sub>-Nとクロロフィルaの増減の間にタイムラグがある形で関係が認められ、アオコ発生の要因として、降雨に伴う河川からの栄養塩の供給が考えられる。また湖内中央部で大規模なアオコ形成プランクトンの発生が認められるためには、降雨によりいったん湖内全域NO<sub>3</sub>-Nの濃度が200 $\mu\text{g/l}$ 以上に増加する必要があると考えられる。

ミクロシスチンのHPLC法・GC/CI-MS法による検出値の間には調査期間を通じて高い相関があり、両方の値から次に示す回帰式が得られた。

GC/CI-MS ミクロシスチン=1.058×(HPLC ミクロシスチン)-0.1329

(n=81,  $\gamma=0.9739$ )

調査期間を通じてのT-MCおよびMC-RR, MC-YR, MC-LRの各濃度は、それぞれ<0.01~157 $\mu\text{g/l}$ , <0.01~99 $\mu\text{g/l}$ , <0.01~13 $\mu\text{g/l}$ , <0.01~50 $\mu\text{g/l}$ となっており、F湖のアオコ形成プランクトンが産生する全ミクロシスチン中の異性体RR, YR, LRの組成比は、おおむね67%, 10%, 23%と考えられる。

10年度に行った湖内中央部での表層および水温躍層直上層(水深10m前後)についての水質測定結果の比較では、データ間にほぼ2週間のずれが認められ、ミクロシスチン濃度については表層より水温躍層直上層の方が低くなっていた。

本調査では試料中のミクロシスチンがもっとも高濃度となる条件で採取したが、ミクロシスチン濃度はおおむね低濃度であり、風で吹き寄せられる地点の表層水以外では、利水に影響があるほどの高濃度は、生じていなかったものと考えられる。

ミクロシスチンと水質項目との相関については、アオコの藻体量として測定されたSS, T-N,

表4 F湖における調査結果概要

年度	10年度	11年度	12年度
調査期間	9月3日~10月21日	9月2日~11月5日	9月1日~11月27日
プランクトン優占種	Microcystis属	Microcystis属	Microcystis属 Anabena spiroides Anabena macrospora
水温(°C)	21.3~27.9	17.7~27.0	16.5~29.0
pH	6.3~10.1	7.4~9.7	7.0~9.9
DO(mg/l)	7.1~13	8.9~19.8	8.3~15.0
SS(mg/l)	2~945	1.6~120	1.8~226
全窒素(mg/l)	0.473~25.6	0.23~3.3	0.66~15
アンモニア性窒素(mg/l)	0.011~0.59	0.019~0.091	0.002~0.11
硝酸性窒素(mg/l)	0.007~0.37	0.000~0.39	0.018~0.48
全リン(mg/l)	0.020~6.01	0.019~0.48	0.015~0.21
リン酸態リン(mg/l)	0.001~0.014	0.003~0.008	0.001~0.005
クロロフィルa( $\mu\text{g/l}$ )	8.6~12,700	6.6~698	7.7~929
T-MC( $\mu\text{g/l}$ )	0.143~157	<0.01~54	<0.01~1.82
MC-RR( $\mu\text{g/l}$ )	<0.01~99	<0.01~28	<0.01~2.62
MC-YR( $\mu\text{g/l}$ )	<0.01~13	<0.01~5.8	<0.01~0.24
MC-LR( $\mu\text{g/l}$ )	<0.01~50	<0.01~17	<0.01~0.76

T-Pおよびクロロフィル a と相関が高く、ミクロシスチン量およびアオコ量の推計には有効であると考えられる。

### ③ D湖(10~11年度)

D湖では、11年度にアオコの発生は観察されなかったが、10年度には2回のピークが観察され、とくに1回目のピーク時には表層10数センチの厚さのマット状のアオコが確認された。アオコの出現ピークの間隔は約1カ月で、アオコの増加から減少の期間は約2週間であり、減少期には降雨や水温等の環境要因が大きく影響していた。

アオコの発生が観察された10年度の植物プランクトンは藍藻類 *Microcystis aeruginosa* が優占種で、アオコの発生が観察されなかった11年度は *Cyclotella sp.* や *Melosira* の珪藻類が優占種であった。

アオコ発生時の水質は、COD10mg/l以上、T-N1.5mg/l以上、T-P0.3mg/l以上、クロロフィル a 50 $\mu$ g/l以上であり、もっともアオコの発生が多かった日のこれらの水質項目は、アオコが発生していない平常時の数百倍の値であった。

アオコの大量発生が確認された10年度のT-MCおよびMC-RR, MC-YR, MC-LRの各異性体濃度は、それぞれ<0.1~30,900 $\mu$ g/l, <0.1~19,800 $\mu$ g/l, <0.1~27,600 $\mu$ g/l, <0.1~10,600

$\mu$ g/lであり、3異性体の組成割合は31.3%, 37.5%, 31.3%とほぼ同じ割合を示し、ミクロシスチンは乾燥藻体当たり最大で7.4 $\mu$ g/mg含有していた。またミクロシスチン濃度はアオコの増減とよく一致しており、ろ液中の割合は、0~4.5%であった。

T-MCが10 $\mu$ g/l以上検出された場合は、ミクロシスチン濃度とSS, COD, BOD, TOC, IL, T-N, NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, T-P, PO<sub>4</sub>-P, クロロフィル a との間に正の相関関係が認められた。

### ④ B貯水池(12年度), C池(10年度), E貯水池(10年度)

#### ア) B貯水池

アオコの増殖をクロロフィル a 量でみると、調査期間中3回のピークが観察され、3回目のピーク時には、表層10数cmのマット状の多量アオコが観察された。

アオコ形成プランクトンの優占種は *Microcystis aeruginosa* で、アオコのピーク間隔および増殖から減少までの期間は、約2週間であった。

アオコ発生時の水質は、COD4.8mg/l以上、T-N0.7mg/l以上、T-P0.05mg/l以上、クロロフィル a 15 $\mu$ g/l以上、平均pH9.5であった。

調査期間を通じてのT-MCおよびMC-RR, MC-YR, MC-LRの各濃度は、それぞれ0.4~28.4 $\mu$ g/l, <0.1~28.2 $\mu$ g/l, <0.1~9.5 $\mu$ g/l, <0.1

表5 D湖における調査結果概要

年度	10年度	11年度
調査期間	7月23日~9月17日	8月31日~11月1日
プランクトン優占種	<i>Microcystis aeruginosa</i>	アオコの発生なし 珪藻類 <i>Cylotella sp.</i>
水温(°C)	26.0~34.0	17.6~30.0
pH	6.2~9.8	7.4~7.9
DO(mg/l)	2.4~16	6.2~8.8
SS(mg/l)	8~9,000	9~46
全窒素(mg/l)	0.84~814	1.21~1.41
アンモニア性窒素(mg/l)	0.01~0.52	0.12~0.36
硝酸性窒素(mg/l)	0.04~0.73	0.29~0.49
全リン(mg/l)	0.149~59.6	0.115~0.265
リン酸態リン(mg/l)	0.033~0.518	0.047~0.176
クロロフィル a ( $\mu$ g/l)	12~109,000	10.5~28.9
T-MC( $\mu$ g/l)	<0.1~30,900	<0.1
MC-RR( $\mu$ g/l)	<0.1~19,800	<0.05
MC-YR( $\mu$ g/l)	<0.1~27,600	<0.05
MC-LR( $\mu$ g/l)	<0.1~10,600	<0.05

(注) 10年度の調査は、アオコが最も集積した箇所でミクロシスチン濃度を測定したものであり、同表の値がD湖を代表する値ではない

表 6 B 貯水池, C 池, E 貯水池における調査結果概要

湖沼名	B 貯水池	C 池	E 貯水池
調査期間	7月13日～9月5日	8月10日～9月17日	9月14日～10月26日
プランクトン優占種	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Microcystis viridis</i> <i>Microcystis ichthyoblabe</i>
水温(℃)	25.5～31.0	24.0～31.0	18.4～28.5
pH	6.9～10.3	6.9～9.9	7.6～9.0
DO(mg/l)	9～17	3.4～18	7.0～11.7
SS(mg/l)	4～1,400	27～110	5.0～398
全窒素(mg/l)	0.7～130	1.6～8.1	0.88～38.4
アンモニア性窒素(mg/l)	0.10～2.21	<0.05～0.37	0.015～0.188
硝酸性窒素(mg/l)	<0.01～0.54	<0.01～0.45	0.004～0.502
全リン(mg/l)	0.050～7.55	0.16～0.58	0.357～3.45
リン酸態リン(mg/l)	<0.003～0.029	<0.01～0.02	0.321～0.436
クロロフィル a(μg/l)	15～9,700	91～760	21.5～3,310
T-MC(μg/l)	0.4～28.4	0.38～4.45	0.6～151
MC-RR(μg/l)	<0.1～28.2	<0.02～1.36	0.4～99.5
MC-YR(μg/l)	<0.1～9.5	<0.02～0.20	<0.1～42.9
MC-LR(μg/l)	<0.1～25.8	<0.02～0.43	0.1～38.4

(注) E 貯水池の調査結果は、池内の2地点の結果をまとめたものであり、マイクロシスチンの最大値はアオコが風によって吹き寄せられ集積した箇所値である

～25.8μg/lであるが、3異性体の組成割合については、YR体が少ないことが多く8月下旬にはRR体とLR体がほぼ等量状態にあった。

各成分等間の相関関係については、MC-LRとMC-RR、全リンと全窒素が高い相関(相関係数0.9以上)を示し、MC-YRについてはT-N、T-P、クロロフィルaとの間に高い相関関係が見られた。

#### イ) C 池

調査期間中アオコの発生は少なくとも3回観察されたが、アオコ状態は持続せず高密度で集積することはなかった。

アオコ形成プランクトンの優占種は、藍藻類 *Microcystis aeruginosa* で、アオコが観察されないときの優占種は、珪藻類 *Melosira granulata* であった。

アオコ発生時の水質は、T-N、T-P、クロロフィルa、SSが高い値となったが、発生しないときと比較して大きく異なるものではなかった。

調査期間を通じてのT-MCおよびMC-RR、MC-YR、MC-LRの各濃度は、それぞれ0.38～4.45μg/l、<0.02～1.36μg/l、<0.02～0.20μg/l、<0.02～0.43μg/lであるが、3異性体の組成割合については、MC-RRがもっとも多く、次にMC-LRであった。MC-YRはアオコ発生の第2サ

イクルでのみ検出され、T-Mの1/10以下の濃度であり、C池のマイクロシスチンは毒性の高いMC-LR含有が低いタイプであった。

調査期間中マイクロシスチン濃度とSS、T-N、T-P、クロロフィルaはよく対応したが、これらが水質を正しく反映するものとはいえず、またアオコの産生する毒素が少量であったためマイクロシスチン濃度と水質との関係については、明確な結論を出すまでにはいたらなかった。

#### ウ) E 貯水池

調査期間中のアオコ形成プランクトンの優占種は、藍藻類の *Microcystis* 属で、9月は *Microcystis viridis* が、10月は *Microcystis ichthyoblabe* が優占種であった。

アオコの消長や集積には、降雨や風等の気象条件が大きく影響していると判断された。

主な水質測定項目の平均値は、SS10mg/l、TOC 3 mg/l、T-N 1 mg/l、T-P 0.4 mg/l、クロロフィルa 27～40μg/l程度であり、一般の湖沼に比べてN/P比が2.5程度と低いのが特徴的であった。

調査期間を通じてのT-McおよびMC-RR、MC-YR、MC-LRの各濃度は、それぞれ0.6～151 μg/l、0.4～99.5 μg/l、<0.1～42.9 μg/l、0.1～38.4 μg/lであるが、3異性体の組成割合は、MC-RR > MC-LR = MC-YRの順であった。

3 異性体を合計したマイクロシスチン濃度(最大値180 $\mu\text{g/l}$ :アオコの集積した箇所の測定値)はアオコの増減とよく一致しており、湖水ろ過水ではその0.5%程度と低濃度であった。またアオコ藻体当たりのマイクロシスチン量( $\mu\text{g/mg}$ )の平均値は、2調査地点とも1回目と2回目の調査に差が見られたが、この相違はアオコ形成プランクトンの優占種の違いによるものと判断された。

マイクロシスチン濃度はSS, T-N, T-P, クロロフィル a と高い相関が認められ、これら成分の大部分がアオコを形成するプランクトンに由来していることが示唆された。

#### 4. ま と め

全国6カ所の湖沼においてアオコの発生状況とアオコ形成プランクトンの藍藻類が生産するマイクロシスチンの環境動態調査を行った結果以下のことが明らかになった。

- (1) 調査を行った6湖沼は、湖水面積や湖水の利用状況、富栄養化の程度はさまざまで、アオコの発生状況も湖沼、調査年度により大きく異なっていた。
- (2) 発生したアオコ形成プランクトンの優占種は各湖沼により異なったが、Microcystis 属と Anabena 属であった。
- (3) マイクロシスチンの3種類の異性体 MC-RR, MC-YR, MC-LR は、A湖(11年度にMC-RRのみ検出)を除き全ての湖沼から検

出され、その濃度はアオコの増減とよく一致し、ほとんどが藍藻藻体内に存在していた。また、マイクロシスチンの各異性体の比率は湖沼により差が見られた。

- (4) 全窒素, 全リン, SS, クロロフィル a があまり高くない湖沼の場合、これらの項目の測定値が大きくなるとマイクロシスチン産生の可能性を示す状態であると考えられた。また、ある程度富栄養化した湖沼では、マイクロシスチンが数十 $\mu\text{g/l}$ 程度産生されるほどのアオコが集積した場合には、マイクロシスチン濃度と全窒素, 全リン, SS, クロロフィル a 間に高い相関が認められ、これらの項目がマイクロシスチンの代表指標となり得ると考えられた。

---

#### —引用文献—

- 1) WHO: Guidelines for Drinking-Water quality SECOND EDITION, 1998
- 2) 日本工業標準調査会:工場排水試験方法 JIS-K0102, 1998
- 3) 日本気象協会:海洋観測指針(気象庁編), 1990
- 4) 土屋悦輝, 渡辺真利代:環境中のマイクロシスチンのディスク型固相による抽出, 衛生化学, 43(3), 190-196, 1997
- 5) 日本薬学会:日本薬学会第117回年会, 公衆衛生協議会資料, 1997
- 6) Sano, T., Nohara, K., Shiraishi, F. and Kaya, K.: A Method for micro-determination of total Microcystin content in waterblooms of cyanobacteria (Blue-Green Algae), Int.J. Environm. Anal. Chem., 49, 163-170, 1992