

特集／環境修復

有害藻類発生湖沼の有機物, 栄養塩類, 生物群集の 動態解析と修復効果に関する研究*

稲森 悠平*¹・今井 章雄*¹・横川 善之*²

1. はじめに

水環境修復が強く要望されている富栄養化湖沼における水質悪化の原因は、ラン藻類の異常増殖によるものである。いわゆるアオコの増殖原因および有機物濃度の上昇要因は、発生源からの流入負荷、底泥からの溶出負荷に由来する有機物、栄養塩類としての窒素、リン等が重要な要因としてあげられ、これらが密接に関連して湖内生態系の群集構造が大きく変化することが指摘されている¹⁾。しかしながら、そのメカニズムについては現在のところ解明されておらず、富栄養化制限因子、湖沼環境基準評価因子等と湖内生態系構成生物の群集構造変化との関係を明らかにすることが必要不可欠と考えられている²⁾。また、WHO(世界保健機関)において富栄養化湖沼で発生する有害藻類の産生する毒性物質マイクロキスチンに対し、 $1\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ というガイドラインが設定されたことから、毒性物質に着目した藻類の増殖抑制と分解機構に関する研究を推進する必要がある。

このような研究を必要としている対象有害藻類発生湖沼としては、茨城県霞ヶ浦、福井県三方五湖、神奈川県相模湖、岡山県児島湖、石川県河北潟、東京都内池沼等があげられることから、地方公設試験研究機関との連携により上記研究課題の解決に資する研究が推進可能と考えられる。これらの湖沼の不健全な生態系への遷移を食い止め、かつ修復していく上では、湖内にける溶存有機物の分画パターンとの相違性、窒素・リン濃度、生

物群集構造等と発生源等からの負荷削減効果、さらには有害藻類と発生・動態との比較解析がきわめて重要と考えられる。

本研究では上記の点を鑑み、健全な湖沼生態系への修復を目的に位置づけ、有害藻類発生湖沼の有機物、栄養塩類、生物群集の動態解析と修復効果の評価に関する研究を行ったが、この中でとくに本報では、汚濁湖沼の修復に関わる対策案のうち、①難分解性溶存有機物の蓄積とその除去対策、②有害藻類の発生とその除去対策に焦点を絞り、その成果を述べることにする。

2. 富栄養化湖沼内溶存性有機物の特性把握および物理化学的手法による分解除去

(1) 富栄養化湖沼内難分解性溶存有機物の特性把握に資するDOM分画手法

天然水中の溶存有機物(DOM, Dissolved Organic Matter)は複雑で不均質な混合体であり、過去20年間、陸水および海水中でDOMの研究が行われてきたが³⁾、いまだにその中身はよくわかっていない。湖沼中の溶存性有機物の除去・削減対策を図る上で、研究の第一歩としてDOMの特性の把握にならざるを得ない。そこで可能な限り明白な切り口でDOMをマクロ的に分画して、各画分の分布および特性を評価することとした。このマクロ分画の参照となる物質として溶存フミン物質(Aquatic Humic Substances)を選択した。フミン物質は疎水性の有機酸で、天然水中のDOMの

*The Research about the Analysis of Water Environment Ecosystem and the Evaluation of the Restoration Effect Based on the Organic and Nutrient Salts in Lakes and Marshes

*¹Yuhei INAMORI, Akio IMAI (独国立環境研究所, *²Yoshiyuki YOKOGAWA (独産業技術総合研究所

30~80%を占める典型的な難分解性DOMである⁴⁾。フミン物質は、土壌有機物、陸上・水生植物、プランクトン由来といわれ、湖水に流入する主要な外来性DOMと考えられる^{5)~7)}。湖水中のDOMを分画する場合に、分離・分画の基礎となる物質として適切といえる。

フミン物質はまた難分解性でもあるため、DOM分画の切り口は、易分解性-難分解性、疎水性-親水性、酸性-塩基性とした。この3つの切り口を使い、フミン物質の分離に基礎を置くDOM分画手法を開発した(図1)。この分画手法は、長期間(100日間)分解試験(易分解性-難分解性の違いによる分画)と樹脂吸着分画手法(疎水性-親水性、酸性-塩基性の違いによる分画)からなる。分画後に各画分の物理化学的特性(溶存有機炭素[DOC, Dissolved Organic Carbon]濃度、紫外部吸光度、分子量分布等)を測定することによりDOMの特性の評価をめざした。

樹脂吸着分画手法では、非イオン性マクロ網状アクリル樹脂(XAD-8)、強酸性マクロポーラス陽イオン交換樹脂(Bio-Rad AG-MP-50)、強塩基性マクロポーラス陰イオン交換樹脂(Bio-Rad AG-MP-1)を用いて、DOMを5つに分画する。すなわち、フミン物質、疎水性中性物質、親水性酸、

塩基物質(≒親水性塩基物質)、親水性中性物質である。

フミン物質はXAD-8樹脂によるカラム容量ファクター50の条件における吸着と0.1 M NaOH溶液による脱着によって分離される。樹脂吸着分画手法によるDOM分画に関しては、当初同様に3種類の樹脂を用いて、DOMをフミン物質、疎水性塩基物質、疎水性中性物質、親水性酸、親水性塩基物質、親水性中性物質の6つに分画する手法を開発した。しかし、多くの天然水および排水サンプルに適用した結果、疎水性塩基物質はほとんど存在しないことが判明し、加えて6分画手法は手順が煩雑で汚染されやすいため、上記の5分画手法に変更した。

XAD-8樹脂は0.1 M NaOH溶液に24時間浸漬した後上澄み液を捨てる操作を連続5日間、次に24時間ソックスレー抽出洗浄をメタノール、ジエチルエーテル、アセトニトリル、メタノールの順序で行い精製したThrumann&Malcolm, 3 mlのXAD-8樹脂をガラスカラムに充て込んで、約200mlのMilli-Q水を洗浄した後に、0.1 M NaOH溶液次いで0.1 M HCl溶液の順序で各々約10ml通水する操作を3回繰り返した。0.1 M HCl溶液の最終通水の際にブランクサンプル(B1)を採取した。陽イオン交換樹脂と陰イオン交換樹脂は、まずメタノールで24時間ソックスレー抽出洗浄した。陽イオン交換樹脂はMilli-Q水で洗浄し、塩素イオン形で市販されている陰イオン交換樹脂は樹脂量の約10倍量の1 M NaOHで水酸基イオン形に置換後、溶出水のpHが中性になるまでMilli-Q水で洗浄した。次に、陽イオン交換樹脂6 mlと陰イオン交換樹脂12 mlを各々ガラスカラムに充て込んで、陽イオン-陰イオン交換樹脂カラムの順序に連結し約1 lのMilli-Q水を通水した。通水後、各々のカラムからブランクサンプルを採取した(B2, B3)。

樹脂吸着分画手法の手順は図2に示すとおりである。まず、HClでpH2に調整した濾過サンプル約200mlをXAD-8樹脂カラムに約1 ml/分の流速で通水した。次に1~2ベッド容量の0.1 M HClで樹脂カラムを洗浄した後、約3ベッド容量の0.1 M NaOHを逆方向に0.5 ml・分⁻¹以下の流速で通水し、溶出量を測定した。最後に、XAD-8樹

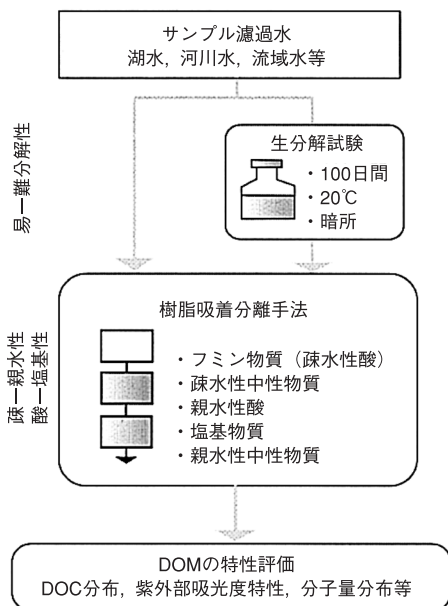


図1 DOM分画手法の概要

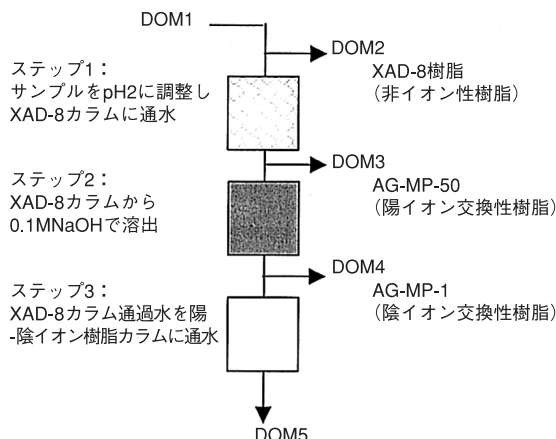


図2 樹脂吸着分画手法の概略図

脂カラム通過溶液を陽イオン-陰イオン樹脂カラムに約 $1 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ の流速で通水し、約 1～2 ベッド容量を流出後に、陽イオン交換樹脂および陰イオン交換樹脂カラムの通過液を採取した。

これらの樹脂吸着による DOM 分画実験は同一サンプルについて 2 回行った。分画終了後に、DOM 1～5 および B 1～B 3 の DOC 濃度を測定した。

各々の DOM 分画の DOC 濃度は以下のように算出した。

$$\text{フミン物質} = \text{DOM 2} \times (\text{elutant volume}) / (\text{sample volume})$$

$$\text{疎水性中性物質} = \text{DOM 1} - \text{AHS} - (\text{DOM 3} - \text{B 1})$$

$$\text{塩基物質} = (\text{DOM 3} - \text{B 1}) - (\text{DOM 4} - \text{B 2})$$

$$\text{親水性酸} = (\text{DOM 4} - \text{B 2}) - (\text{DOM 5} - \text{B 3})$$

$$\text{親水性中性物質} = \text{DOM 5} - \text{B 3}$$

1 M NaOH 通水による XAD-8 樹脂ブランクの DOC 濃度は $0.7 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下であり、そのフミン物質への寄与は $0.03 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下となった。この blanks DOC 濃度はフミン物質の濃度に比較してきわめて低いため、フミン物質濃度算出の際には無視した。Milli-Q 水を HCl で pH 2 に調整した後、XAD-8 樹脂カラム、次に陽イオン樹脂+陰イオン樹脂カラムを通水させたところ、B 2 ブランクの DOC 濃度は B 1 ブランクの DOC 濃度以上になることはなかった。これは、陽イオン交換樹脂が XAD-8 樹脂から溶出する blanks DOC の大部分を除去したか、あるいは陽イオン樹脂カラムからの blanks DOC が、XAD-8 樹脂カラム通過サ

ンプルが陽イオン交換樹脂カラムを通過する際に、その陽イオンカラムからの DOC の溶出が抑制されたことを意味する。結果として、XAD-8 樹脂からの DOM 4 および DOM 5 への blanks DOC 寄与は無視されるものとみなした。DOC 濃度は、濾液に 2 M HCl を添加し pH を 2 に調整したサンプルにキャリアガス(純空気)を通気し無機炭素を除去した後、高感度白金触媒を搭載した Shimadzu TOC-5000 により測定した。分析精度はおおむね 2 % 以下であった。

(2) DOM 分画手法による水質特性把握

DOM 分画手法を用いてさまざまなサンプルの DOM 特性の把握を行った。まず、湖沼流域の水質特性把握を行うために、茨城県の霞ヶ浦湖水、流入河川水および流域の発生源水中の DOM をフミン物質、疎水性中性物質、親水性酸、塩基物質、親水性中性物質の 5 つに分画した。DOM 分画分布は、サンプルの起源によって顕著に異なっていた。有機酸画分、すなわちフミン物質と親水性酸は湖水や河川水で優占していた。湖水では親水性酸が卓越しており、河川水ではフミン物質が親水性酸よりわずかに多く存在していた。フミン物質と親水性酸は流域 DOM 発生源水においても優占していた(図 3)。森林渓流水や畑地浸透水ではフミン物質が圧倒的に存在していた。田面流出水、生活雑排水や下水処理水では親水性酸がフミン物質よりも優占した。生活雑排水のみが相当量の疎水性中性物質を含んでいた。この画分は洗剤由来と推測された。

ここで、難分解性物質の指標ともなる E260 (UV) 値と溶存性有機炭素(DOC)の比率を各水域のサンプル間で比較した。DOM、フミン物質、親水性酸の UV : DOC 比もサンプル起源により顕著に異なった。湖水や河川水では、UV : DOC 比はフミン物質 > DOM > 親水性酸の関係を示した。河川水の UV : DOC 比は湖水よりも大きな値を呈した。フミン物質が圧倒的に優占する森林渓流水や畑地浸透水のフミン物質 UV : DOC 比は河川水のそれよりも小さかった。田面流出水フミン物質の UV : DOC 比がサンプル中で最大であり、田んぼがフミン物質の有力なソースであると思われた。生活雑排水の UV : DOC 比は全サンプル中でもっとも低い値を示した。このようにして DOM 分画

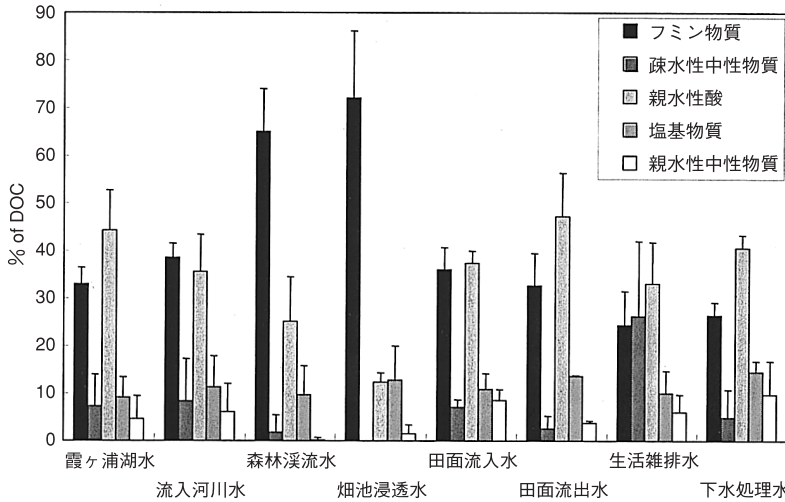


図3 霞ヶ浦湖水、流入河川水、流域の発生源水のDOM分画分布

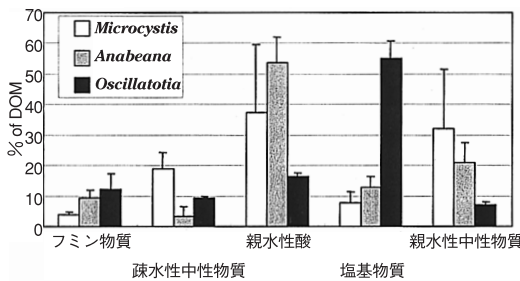


図4 ラン藻由来の溶存有機物の特性

分布とUV:DOC比のデータを用いて段階的2分割法によりサンプルの類別化を実施したところ、サンプル起源によってサンプルを分類することができた。DOM分画分布(樹脂吸着分画による)と各分画のUV:DOC比という情報は、DOMサンプルの特性を評価する上できわめて有用なパラメータであることが示唆された。

一方、湖水中の代表的なDOM内部生産源である植物プランクトンからのDOMの特性を評価するために、ラン藻類 *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae*, *Oscillatoria agardhii* を無菌培養した後、その培地濾液をDOM分画(樹脂吸着分画)に供した(図4)。ラン藻由来DOMのほとんどは親水性DOMであった。また、同じラン藻類でも種によってDOM分画分布は顕著に異なった。*M.aeruginosa* や *A.flos-aquae* 由来DOMでは親水性酸が、*O.agardhii* 由来DOMでは塩基物質の存在比が顕著に高かった。ラン藻類由来DOM

においてフミン物質はきわめて少ないことが判明した。湖水の水柱にはラン藻由来のフミン物質はほとんど存在しないことが示唆された。

以上のように、DOM分画手法を用いることにより、汚濁湖沼内で優占化する有機物の特性を詳しく評価することができた。とくに、湖内の汚濁源とみなされている難分解有機物であるフミン物質は、森林渓流水や畑地浸透水などの面源負荷源に多く存在しており、ラン藻由来など内部負荷源からはあまり多く検出されていないことが明らかとなった。DOM分画手法を用いて得られたこれらの知見をもとに有機物負荷源を特定化することにより、適切な除去対策を構築することができると考えられる。

(3) 光触媒を応用した物理化学的手法による湖内溶存有機物(DOM)の分解除去システムの開発

難分解の溶溶性有機物が多く含まれる場合や環境毒性物質が顕著に含まれる場合など、その浄化手法として物理化学的手法を用いることは不可欠である。本研究では光酸化分解を用いて溶溶性有機物を高効率に削減することを目標とし、新たにオゾン、光触媒、紫外線を組み合わせた溶存有機物分解試験装置を試作した。

本試作装置は原水槽、光触媒、オゾン反応槽、紫外線反応槽、オゾン処理部よりなり、処理はプログラマブルシーケンサーにより自動的に行うことができる(図5)。各水槽は20lあるいは18lであり、処理水は19l分⁻¹あるいは12l分⁻¹の送

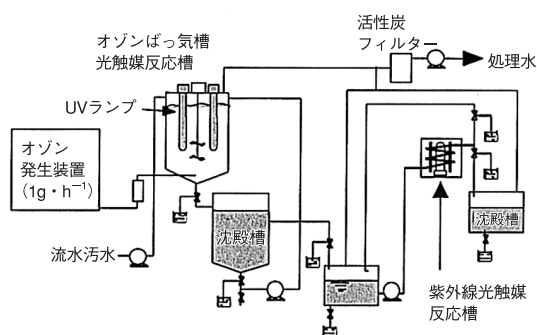
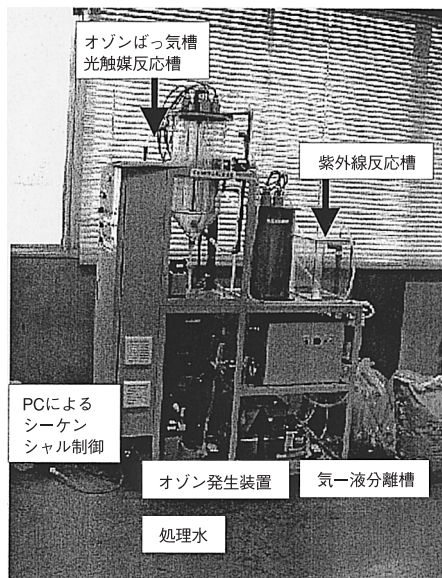


図5 光触媒を応用した溶存有機物分解装置の概観と構成図

液ポンプで次の処理槽へ送られる。オゾン処理部は気液分離槽、活性炭フィルターよりなる。オゾン発生機では毎時1.0gまでオゾンが発生し、オゾンばっ気槽にオゾンを導入することができる。オゾンは強い酸化剤であるが、難分解性有機排水に対しては限界があるとされる。そこでオゾンを含む汚水を紫外線反応槽に移送する。紫外線反応槽には30W低圧水銀ランプが4つ備えてあり、導入したオゾンとともに用いることにより、酸化力の強いヒドロキシラジカルが生成し酸化効果を促進すると期待される。和田、直井によると、COD値 $125\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の汚水を $2\text{l}\cdot\text{分}^{-1}$ でオゾン単独酸化すると1.5時間で $60\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ にまで低下するが、その後は定常状態となりほとんどその低下はみられ

ない。一方、40W低圧紫外線ランプ1本とオゾンを組み合わせると、COD値が1.5時間で $35\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 、3時間後には $25\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ となり、処理効率が向上することが報告されている。本装置は30W紫外線ランプを2本と4本備え、オゾンは $10\text{l}\cdot\text{分}^{-1}$ で導入できるしくみになっている。したがって、同等の高いCOD値を示す汚水でも本装置で十分に処理可能であると考えられる。

また、本装置の紫外線反応槽に充てんした光触媒である二酸化チタンの固定化・製膜手法は以下のとおりである。溶媒としてエタノール、イソプロパノール、ブタノールを使用し、チタン源としてチタンエトキシド、チタンイソプロポキシド、チタンブトキシドを使用した。溶媒は使用前に充分脱水し、0.22mmのフィルターで濾過した。反応条件の制御にはインキュベーターシェイカー（ジオサポート製）を使用し、製膜の際には反応温度 20°C 、震盪速度140rpmを保った。所定の反応時間を経過した後、基板を引き出して溶媒と水の混合液ですすぎ、室温で1日乾燥した後 70°C で2時間乾燥した。

一方、チタニアチューブセラミックスは静電場中で一方向に配向させた絹糸にチタンアルコキシドを加え、反応後 700°C で焼成することにより調製した。このチタニアチューブの作成手法としては、まず通常の絹糸をホモジナイザー中で攪拌し、絹糸を約1mmに切断した。次いで、絶縁性液体（フロリナート、住友3M製）に分散し、静電配向法により一方向に配向させた。直流電界は $E=10\text{kV}\cdot\text{cm}^{-1}$ とした。さらに、酸化チタン前駆体としてチタニウムテトライソプロポキシド、アセチルアセトン、エタノールをモル比で1:0.5:90とした溶液中に浸漬した。浸漬後 70°C で30分乾燥し、 650°C で1時間焼成した。

このように作成されたチタニアチューブは光触媒作用を示し、接触表面での酸化作用による有機物の分解が可能である。また、オゾンと紫外線による有機物の分解は光触媒により促進されるとされ³⁾、この3つの組合せがより効率的な処理を可能にすると考えられる。

この二酸化チタンは粉体で用いると接触効率が大きくなり高い効果が得られるものの、その処理後に回収するという煩雑さが伴う。そこで、次に

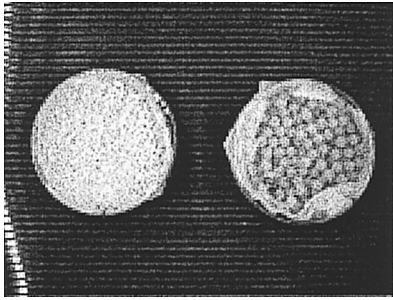


写真 チタンを含有した光触媒担体(チタニアボール)
左:ハイブリッド1, 右:ハイブリッド2

広い接触面積を確保し、かつ回収不要な酸化チタン充てん材を調製した。すなわち、水槽内紫外線ランプから良好に紫外線を受光させるため、攪拌子により処理水中を攪拌させ、そのときにうまく攪拌される形状のものを考案した。つまり、直径8mmのナイロン6,6ビーズにアナターゼ型酸化チタン粉末をハイブリダイゼーションにより酸化チタンを中に練り込んだもの(ハイブリッド1)および表面にコーティングしたもの(ハイブリッド2)について開発した(写真)。

これらのハイブリッドと称する2つの担体と従来の粉状の担体との有機物除去能力を比較すると、その能力は粉体<ハイブリッド1<ハイブリッド2の順となった。これは、ハイブリッド2がもっとも攪拌効果が高いため紫外線を受光がもっとも効果的であると考えられる。前述したように、粉体の場合、水槽内に分散するが、紫外線ランプの光がランプ付近でほとんど遮断され、紫外線を受けているのはごくわずかであると思われる。また、粒体は水槽内ではほとんどが底に沈んだままであり、水槽中を攪拌しているのは1割にも満たない量であった。ハイブリッド1の場合、粒体よりはよいが攪拌により流動しているビーズは2割程度であった。一方、ハイブリッド2はすべてのビーズが攪拌子により十分に攪拌していることが確認できた。

オゾン、UV、光触媒担体を併用した物理化学的手法は現在試作段階にあるが、この手法を応用することにより湖内に蓄積する難分解とされるフミン物質等の易分解化が促進できるものと期待できる。本手法は今後、コスト面、処理効率の面で改善が図られる必要があるため、触媒担体等の更

なる開発が必要とされる。また、今後は生体触媒(酵素固定化)等も視野に入れ難分解性の有機物に特異的に作用する除去システムの開発も重要であると考えられる。

3. 富栄養化湖沼で発生する有害藻類の生物学的的手法による除去

(1) かび臭物質 2-MIB, 有毒物質ミクロキスチンを産生するラン藻の分解に貢献する生物種のスクリーニングと特定化

富栄養化湖沼では、有害な物質を産生するラン藻が多く出現する^{8),9)}。とくに、近年では冒頭でも述べたように肝臓毒ミクロキスチンを産生するラン藻 *Microcystis* 属のほかに2-MIBやジオスミンなどのかび臭物質を産生するラン藻 *Phormidium* 属なども多く知られており、これらが上水事業体で大きな問題となっている^{10),11)}。厚生労働省の定める飲料水質基準では、2004年4月からミクロキスチンは要検討項目として、かび臭物質である2-MIBおよびジオスミンは快適水質項目としてそれぞれ位置づけられている。これらの有害物質はラン藻が産生するものであることから、その処理はラン藻細胞自体の除去も考慮して開発しなければならない。そのため、溶存性有機物の除去に多用されるような塩素や活性炭などの物理化学的手法ではコスト面に問題があり、さらに塩素処理の場合は添加する量によってはトリハロメタン類の発生が懸念されているため、これらの方法はラン藻の除去には適していない^{12),13)}。一方、自然界では有用微生物群集の食物連鎖の中で、原生動物が細菌類はもとより小型から大型の藻類に至るまで広範な捕食能をしており、水域の食物連鎖系では重要な鍵を担っていることが明らかとなっている^{14)~16)}。本研究では、これら有用微生物を用いた生物学的な除去手法に着目し持続可能な有害藻類の処理手法を開発することとした。そこで、まず有害物質を産生するラン藻を高効率に捕食分解する有用微生物種をスクリーニングしその特性把握を行った。

なお、霞ヶ浦に設置された浄水場の生物膜処理システムから、かび臭物質を産生するラン藻 *Phormidium* 属を高効率に捕食分解できる繊毛虫類の *Trithigmostoma* 属^{17),18)}、またミクロキスチンを

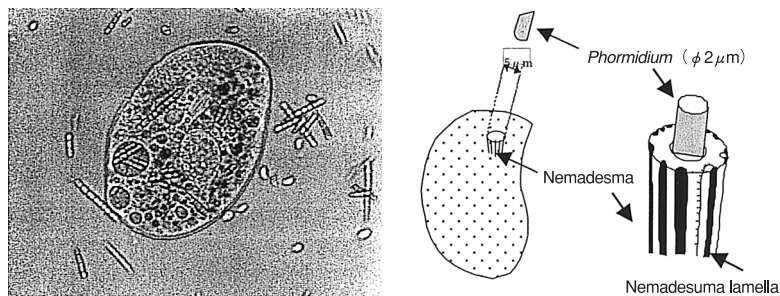


図6 *Phormidium* 属を捕食する原生動物 *Trithigmostoma* 属

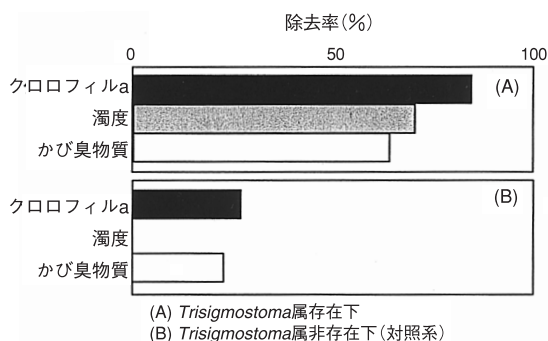


図7 *Trithigmostoma* 属による有害藻類およびかび臭物質の分解除去

産生するラン藻 *Microcystis* 属を高効率に捕食分解できる *Monas* 属¹⁹⁾の単離・培養にそれぞれ成功した(図6, 8)。

食物源をかび臭産生ラン藻 *Phormidium* 属、捕食者を *Trithigmostoma* 属とした系において二者培養を行った結果、*Trithigmostoma* 属は *Phormidium* 属を速やかに捕食しながら増殖することが観察された。その最大比増殖速度は $1.61 \cdot \text{日}^{-1}$ であり、最大 $1,200 \text{N} \cdot \text{ml}^{-1}$ の個体数まで増殖可能であった。なお藻類の微小動物による捕食の程度はクロロフィル a の減少量から評価できることから、クロロフィル a 量を *Trithigmostoma* 属を接種した系と接種しない系に分けて調べた。その結果、6日後におけるクロロフィル a 量の除去率は *Trithigmostoma* 属を接種しない系では約25%であったのに対し、接種系では約80%と非常に高い値を示した。このことから *Trithigmostoma* 属は糸状藻類の *Phormidium* 属の捕食・分解に貢献しているものと考えられた。また、水質の浄化の程度は濁度や有機物などの減少量から評価できるこ

とから、ここでは濁度の変化を *Trithigmostoma* 属を接種する系と接種しない系に分けて調べた。濁度の除去率は *Trithigmostoma* 属を接種しない系では0%とまったく除去されていなかったのに対し、接種系では約70%と高い値を示した。また、*Trithigmostoma* 属を接種した系ではフロックの形成が多く認められた。これらのことから微小動物が存在する系では微小動物による捕食・分解および *Trithigmostoma* 属が分泌すなわち、フロック形成能により水質が向上したものと考えられた(図7(A))。

かび臭除去の程度も同様に *Trithigmostoma* 属を接種した系と接種しない系に分けて調べたところ、接種しない系ではかび臭の除去率は約23%であったのに対し、接種した系では約65%であった。また、このとき同時に生菌数の測定を行った。*Trithigmostoma* 属を接種しない系では $1.9 \times 10^8 \text{N} \cdot \text{ml}^{-1}$ であったのに対し接種した系では、 $1.8 \times 10^8 \text{N} \cdot \text{ml}^{-1}$ であった。これらのことから細菌のみではかび臭除去能は小さく、*Trithigmostoma* 属が捕食・分解することによってかび臭除去能が著しく向上するものと考えられた。また、*Trithigmostoma* 属の *Phormidium* 属に対する捕食速度を測定した結果1秒間に $10 \sim 30 \mu\text{m}$ 程度の速度で捕食することが明らかとなり、きわめて効果的に捕食分解する能力を有することがわかった(図7(B))。

一方、ミクロキスティンを産生するラン藻 *Microcystis* 属は *Phormidium* 属と異なり球形である。本研究では、このラン藻を捕食分解するべん毛虫 *Monas* 属を生物膜処理システムから分離した。本種の細胞は無色で球形または卵形であり、直径は $14 \sim 16 \mu\text{m}$ のべん毛虫類に属する。2本のべん毛は、不等長であり長べん毛は $15 \sim 30 \mu\text{m}$ 、短べん

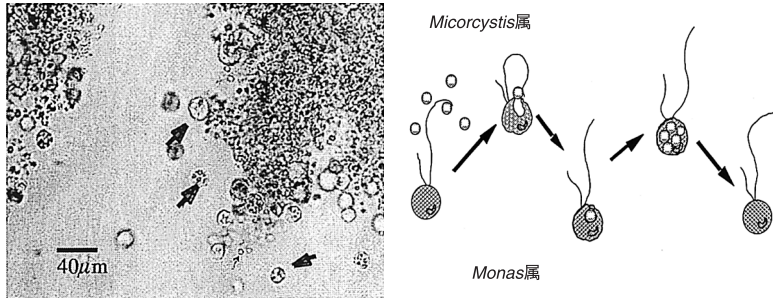


図8 *Microcystis* 属を捕食する原生動物 *Monas* 属

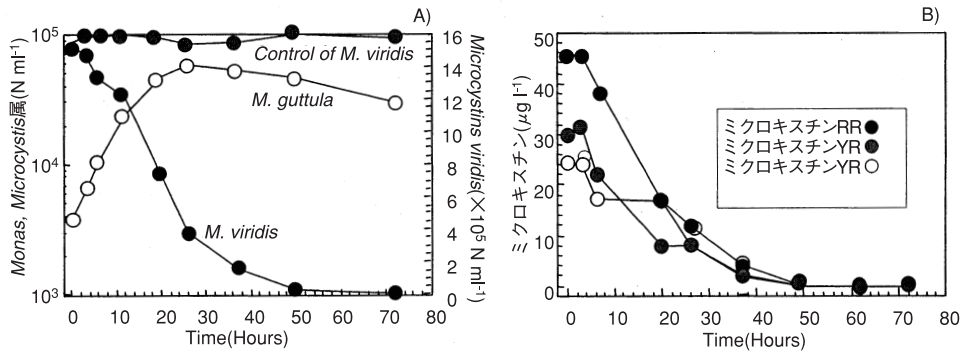


図9 *Monas* 属による A) *Microcystis* 属および B) ミクロキスチンの分解

毛は8~10 μm であり、*Microcystis* 属の細胞を不等長のべん毛により作り出した水流により引き寄せ、それと同時に *Monas* 属の細胞に大きな陥入部が形成され、*Microcystis* 属がこの部分から細胞内に取り込むという捕食形態を示している。汚濁の進んだ池沼等でアオコの発生後の晩夏から秋季にかけて、湖岸の中層および底層部にしばしば浮遊している水草に付着しており、アオコの捕食分解に貢献しているものと考えられる。この *Monas* 属による *Microcystis* 属細胞の捕食分解能については図9 (A) に示すとおりである。培養を開始して間もなくの試料を顕微鏡観察したところ、*Monas* 属が *Microcystis* 属の細胞を数個~10個ほど取り込んでおり、さらに48時間後には、*Microcystis* 属の細胞は初期の90%以上が捕食され消滅した。この過程では、クロロフィル a も *Microcystis* 属の細胞と同様に減少しているので、藻体は捕食後に速やかに分解されているものと考えられる。また、*Monas* 属を接種しない対照系では、*Microcystis* 属はほとんど減少しないことがわかる。このとき *Monas* 属の比増殖速度は4.1day⁻¹、

倍加時間は4.0hrであった。この増殖速度は、繊毛虫類の2~4倍であり、原生動物のなかではかなり高い値である。また、*Monas* 属の *Microcystis* 細胞捕食分解に伴うミクロキスチンの消滅は図9 (B) に示すとおりである。このとき、初期ミクロキスチン濃度はミクロキスチン RR, YR, LR がそれぞれ48 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 、30 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 、24 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ であったが、いずれのミクロキスチンも細胞の分解消滅に伴い速やかに減少した。このとき、細胞外(溶存態)のミクロキスチンはほとんど検出されなかったことから、ミクロキスチンは細胞の分解とほぼ同時に分解されているものと考えられた。このような、*Monas* 属、*Microcystis* 属および細菌類の混合系におけるミクロキスチンの分解機構としては、① *Monas* 属の分解酵素により分解、②捕食後に代謝されたミクロキスチンが細菌類により分解、③両者の相乗作用による分解能の強化、などが想定される。いずれにしても、このような分解機構においてミクロキスチンの分解促進には、*Monas* 属の捕食作用が大きく貢献している。

(2) 有用微生物活用型濾過浄化装置の開発

Microcystis 属や Phormidium 属等の有害藻類が異常発生した湖水の浄化装置の開発を行うためのプロトタイプとして有用微小動物活用型生物濾過浄化装置の開発を行った。本法の原理は、充てんされた濾過担体に有用微生物を効率的に捕食・分解する有用微生物と担体表面に形成される生物膜の浄化力を有効に活用して有害藻類を低減化し、その産物であるかび臭物質、マイクロキスティンを分解し、水質浄化を図るものである。本試作

においては、ターゲットとなるラン藻類の分布は風向や気象条件に左右されるので、適正な場所に容易に移動可能とするためにフロート式とした。このように、実際の現場に設置することを想定した試作機を用いて実証研究を行い、浄化性能、動力性能のみならずトラブル対策、耐久性能、エネルギー試算などの装置システム全体としての実用化のための最適評価を行うものである。有用微生物活用型生物濾過装置はカートリッジ、空気圧縮機、制御盤・ターミナルボックス、フロートの各パーツに分けられ、定格処理水量は220l・分⁻¹である。

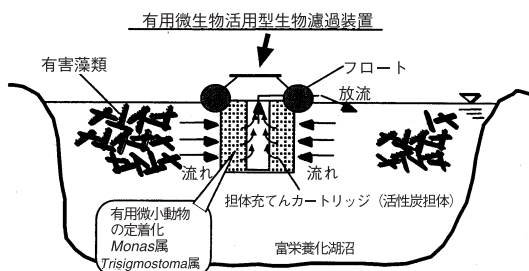


図10 有用微生物を活用したオンサイトでの有害藻類除去システム

生物濾過浄化装置のシステム構成は図10に示すとおりである。現在は濾過浄化装置にサンプリング装置を取りつけ、濾過直後の処理水の採水ができるように改良を行い、試運転を行っているところである。また、原水池を2分割し、実験区と対照区の比較ができるようにし実験に供している。

今後の本法を活用した検討は以下に示すとおりである。①糸状性ラン藻類捕食性の有用微小動物

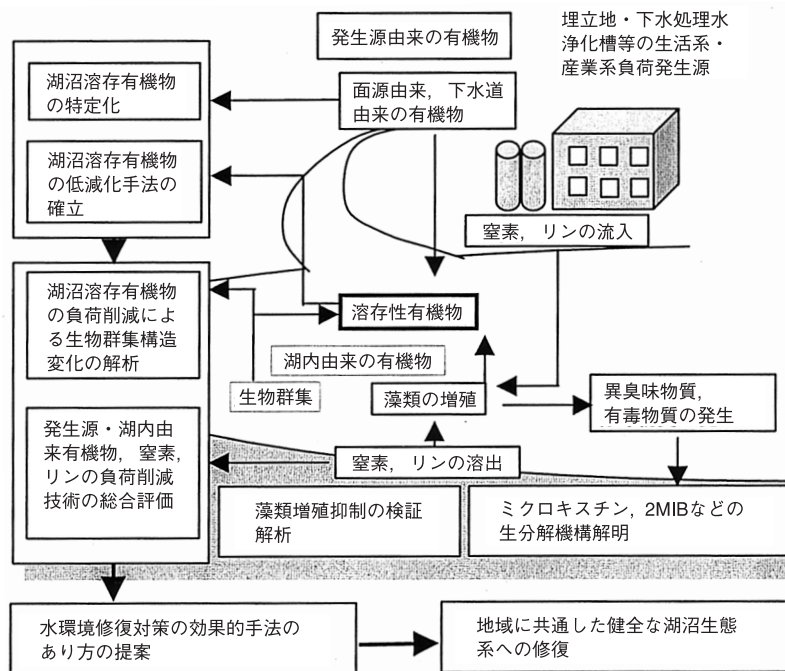


図11 有害藻類発生湖沼の有機物、栄養塩類、生物群集の動態解析と修復効果の研究開発フロー

共同研究参画機関：(独) 国立環境研究所, (独) 産業技術総合研究所, 茨城県公害技術センター, 福井県環境科学センター, 岡山県環境保健センター, 神奈川県環境科学センター, 東京都環境科学研究所

を生物濾過装置に安定して高密度定着可能な担体として木炭、ヘドロセラミックス等をあげているが、その中から適正な担体の選定を行い、以降その担体を充てんした生物濾過装置で *Oscillatoria* 属を含んだ霞ヶ浦湖水の浄化試験を行う。なお、適正担体の性能は有用微小動物の定着性、*Oscillatoria* 属をはじめかび臭等の分解性から評価する。

②選定された担体を充てんした試作機の浄化性能を *Oscillatoria* 属の除去量(装置の流入水と流出水の差)および実験池内の *Oscillatoria* 属の現存量、同様にクロロフィル a 濃度、透視度、窒素濃度、リン濃度、COD、さらに、装置内(生物濾過槽)の微小動物の個体数、生物相を経日的に調べその結果から評価する。

③実験池による実証試験を補助するための有用微小動物の大量培養、新たな有用微小動物の探索・分離等の室内実験を並行して行う。以上のことを調査研究することで浄化性能、運転操作条件等を明らかにし、これらのデータを基に実装置の運転管理方法と設計指針を立案し、有害糸状藻類の直接浄化手法として確立する。

このような微生物を活用した有害藻類の除去システムを図 11 のフローを基に研究開発・実用化させることにより、安全な水利用の供給が実現できるものと考えられる。

4. 総括および展望

21世紀は環境の世紀といわれており、その中でも枯渇化の著しい水環境修復保全対策が重要な位置づけにある。とくに飲料水源としての湖沼の安全な水資源の確保および汚濁湖沼の修復は、有害藻類が顕在化する現況においては緊急を要している。これまでの取組みを踏まえ、今後の富栄養化湖沼の修復に関する研究課題として以下にあげる。

- ① 水中の有機物の由来および特性の把握を継続して行うことにより有機物動態評価に資するデータの蓄積が必要である。また、難分解性溶存有機物の分解手法のあり方を見出す必要がある
- ② 発生源・湖沼由来の有機物の低減化については、繊維状チタニアやチタニアボールなど水処理に適した安価な担体の開発が重要であると同時に、オゾン、紫外線、光触媒の相乗

的な分解効果から有機酸、フミン、非フミン系物質が効率的に分解できるような最適操作条件を解明する必要がある。また、微生物の固定化においては、処理対象物質に応じた適切な細菌の選択を行い、本技術の汎用化をめざす必要がある

- ③ 有害藻類の抑制対策としては、有害藻類の捕食能を有する微小動物等の捕食活性がもっとも高まる条件をそれぞれ明らかにし、有害藻類捕食微生物の大量培養手法と制御因子の解明により有害藻類ならびにそれが産生する有害物質に対する分解能を向上させるための環境条件を明らかにする必要がある。また、本研究で作成したパイロットスケールの生物濾過装置の実証試験をつづけるとともに、処理効果の向上のための諸因子の解明が必要である
- ④ 有害藻類の産生する有害物質、とくにミクロキスチンの生分解機構については、藻類捕食性原生動物およびミクロキスチン分解細菌の相互関係の解明がきわめて重要である。今後、藻類産生有害物質の分解・消滅に資する細菌類の働きについても視野を広め、それらの生物処理槽内やアオコ発生水域内における挙動とミクロキスチンの消滅との関係性を明らかにするとともに、ミクロキスチン分解酵素の特定化を行うことにより、どのようなメカニズムでミクロキスチンが分解されるのかについて分子生物学的な観点から明らかにすることが必要である
- ⑤ 富栄養化湖沼における有機物の動態および有害藻類の発生には、湖沼の内部1次生産の源となる窒素、リンの動態が密接に関係しているため²⁰⁾、これからは栄養塩である窒素、リンの動態解析および発生源対策、直接浄化を組み合わせ湖沼修復に資するシステムを構築する必要がある

謝 辞

本研究は、地域密着型研究「有害藻類発生湖沼の有機物、栄養塩類、生物群集の動態解析と修復効果に関する研究」(平成12~14年度)において得られた成果を取りまとめたものである。

— 参 考 文 献 —

- 1) 滋賀県：琵琶湖の有機汚濁に関する検討委員会資料, 1996
- 2) 須藤隆一：湖沼環境保全の現状と展望—霞ヶ浦を対象として—, 東北大学工学部受託研究報告書(茨城県), 1996
- 3) Perdue E. M.: Gjessing E. T.: Introduction. In *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*, 1-3, Wiley, Chichester, 1990
- 4) Thurman E.M.: *Organic Geochemistry of Natural Waters*, Junk Pub, Dordrecht, 1985
- 5) Wetzel R.G.: *Limnology*, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1983
- 6) Malcolm R. L., Aiken G. R., Bowles E. C., Malcolm J. D.: Isolation of fulvic and humic acids from Suwannee River. In *Humic substances in the Suwannee River Georgia: Interactions, Properties, and Proposed Structures*, 23-35, Open-File Report 87-557 US Geological Survey, Denver, 1989
- 7) Thurman E. M., Malcolm R. L.: Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, **15**, 463-466, 1981
- 8) Carmichael, W. W., Beasley, V. R., Bunner, D. L., Eloff, J. N., Falconer, I. R., Gorham, P., Harada, K., Krishnamurthy, T., Yu, M. J., Moore, R. E., Rinehart, K., Runnegar, M., Skulberg, O. M., Watanabe, M. F.: Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae), *Toxicon*, **26**, 971-973, 1988
- 9) Sivonen, K., Namikoshi, M., Evans, W. R., Chrmichael, W. W., Sun, F., Rouhiainen, L., Luukkainen, R. R., Rinehart, K. L.: Isolation and characterization of a variety of microcystins from seven strains of the cyanobacteria genus *Anabaena*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2495-2500, 1992
- 10) Pouria, S., de Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R. L., Barreto, V. T., Ward, C. J., Preiser, W., Poon, G. K., Neild, G. H., Codd, G. A.: Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, **352**, 21-26, 1998
- 11) 齊藤昭二：藻類による浄水処理障害—かび臭, 濾過閉塞, 着濁. 水道協会雑誌, **62**(6), 2-16, 1993
- 12) Lambert: Absorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment, *Water Res.*, **30**, 1411-1422, 1996
- 13) Nicholson B. C., Rositao J., Burch M. D.: Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine, *Water Res.*, **28**, 1297-303, 1997
- 14) Sugiura, N., Sudo, R: Degradation of Cyanobacteria Microcystin by Microflagellate *Monas guttata*, *Wat. Sci. Tech.*, **26**, 9-11, 2173-2176, 1992
- 15) M. M. Watanabe, Kaya, K: Fate of toxic cyclic heptapeptides, microcystin, in toxic cyanobacteria upon grazing by the mixotrophic flagellate *Poteroiochromonas malhamensis*. *Phycologia* **35** (6 Supplement), 203-206, 1996
- 16) 稲森悠平, 国安祐子, 須藤隆一：生物処理における微小後生動物の役割に関する研究. 日本水処理生物学会誌, **23**, 15-23, 1987
- 17) 稲森悠平, 大内山高広, 杉浦則夫, 須藤隆一：霞ヶ浦における付着微小動物の季節的消長. 日本水処理生物学会誌, **23**, 7-15, 1987
- 18) 杉浦則夫・大内山高広・稲森悠平・須藤隆一：霞ヶ浦における繊毛虫緑毛類の季節的消長. 日本水処理生物学会誌, **26**, 28-35, 1990
- 19) Saito T., Sugiura N., Itayama T., Inamori Y., Matsumura M., Biodegradation of *Microcystis* and Microcystins by Indigenous Nanoflagellates on Biofilm in a Practical Treatment Facility. *Environ. Technol.*, **24**, 143-151, 2003
- 20) 稲森悠平, 斎藤猛, 稲森隆平, 水落元之：有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除(共著), 恒星社厚生閣, 東京, 2002