

[研究報告]

溜池におけるアオコの現況と毒素Microcystinの消長

伊田健司* 佐藤雄一** 川瀬義矩***

要 旨

水環境に対して重大な障害となるアオコ及びその毒素に注目して調査を行った。まず、溜池におけるアオコ発生に影響する水質を比較検討し、次に、アオコ毒素マイクロシスチン(MC-RR、MC-YR、MC-LR)と藻体保護成分である多糖類(細胞外シース、含有糖)と、各種環境因子(栄養塩等)との関係を実験的に検討した。更に、アオコの増殖防止に散布される硫酸銅と、上水処理で消毒に用いられる塩素の添加影響について、マイクロシスチンのアオコからの溶出と分解等について検討した。

アオコ発生の著しい大沼は窒素対リンの比率において、発生の少ない池よりリンの比率が高かった。

培養経過時のMCの減少の傾向は栄養塩等の多寡に係わず同じ傾向を示し、MC-RRとMC-LRは比較的大きく早く減少し、MC-YRは減少が遅かった。このことから、同じ*M. aeruginosa*のアオコでありながら、MC3種の存在比率が調査ごとに異なるのは、増殖傾向にあるアオコと、減少傾向にあるアオコが混在し、その比率がその時々で異なることがその一つの理由であると考えられた。

通常使用される硫酸銅添加濃度でも、MCの溶出が起こるが、溶出後、比較的速やかに生分解された。通常使用される塩素処理条件では、MCの溶出が起こるが、酸化分解はされないで残存する可能性が高い。緊急時等に簡易処理で対応する場合は、アオコの発生している原水を使用するべきではないと考えられた。

キーワード:アオコ、マイクロシスチス、マイクロシスチン、多糖類、硫酸銅処理、塩素処理

1 はじめに

県内の湖沼・調節池等の閉鎖性水域は、近年の都市化による生活排水の流入の増加等により栄養塩類の増加が激しく、富栄養化が進行してきている。そのため、藻類が異常増殖し、水環境が悪化すると共に、湖沼の水辺環境としての価値に対しても悪影響が顕在化してきている。特に、夏期には、アオコに代表されるような藍藻類の異常増殖による水辺環境の悪化のほか、水道における藻類由来のカビ臭、異臭味の発生やトリハロメタン生成能の増加が起こり、浄水処理の高度処理化が必要となってきた。小規模合併処理浄化槽の普及や下水道の普及、排水規制としての窒素、リンの総量規制も始まっているが、富栄養化防止、アオコ発生防止は十分とは言えないのが現状である。

さらに、近年は藍藻類マイクロシスチス等の産生する毒素マイクロシスチン(MC)等による被害が報告され、その有毒性、健

康影響等が懸念され調査研究が行われている。これについては、水道水源としての大きな湖沼はもとより、災害緊急時等に飲用水源として利用される可能性のある小さな池沼においても、毒素を産生するアオコ(マイクロシスチス等)の増殖については注意が必要である。

アオコの異常増殖とその減少は毎年のように繰り返され、また、1年の中でも何回も繰り返されており、季節変動や栄養塩、捕食圧等の環境因子によっても影響を受けると言われている。

そこで、これらの水環境に対して重大な障害となる有毒アオコ及びその毒素に注目して、下記のような調査検討を行った。

- ① 同一地域にありながら、アオコの発生状況に差のある3つの溜池について水質調査し、比較した。
- ② MCと、藻体保護成分の多糖類(細胞外シース、含有糖)、各種環境因子(栄養塩(窒素、リン)、水温、照度、

* 埼玉県環境科学国際センター 〒347-0115 埼玉県北埼玉郡騎西町上種足914

** 環境総合研究機構(株) 〒431-2102 静岡県浜松市都田町9165-2

*** 東洋大学工学部 〒350-8585 埼玉県川越市鯨井2100

水流)との関係を実験的に検討した。

- ③ アオコの増殖防止に散布される硫酸銅、上水処理で消毒に用いられる塩素の添加影響について検討し、毒素MCのアオコからの溶出と分解について検討した。

なお、MCの消長等については、まだ調査報告が少なく、県内においてはほとんど無い。

2 調査方法

2.1 溜池調査

アオコの発生状況に差異のある3つの溜池(大沼、天神沼、八丁湖)について水質を調査し、比較検討した。これらの3池沼は吉見町に点在し、灌漑用に作られた人工池で、立地条件が比較的似通った池沼であるにもかかわらず、アオコ発生状況が大きく異なっていた。

各池沼の水質、大沼の深度方向の水質調査を行い、アオコ発生の実況調査を行った。

分析項目:水温、pH、伝導度、SS、COD、T-N、T-P、クロロフィル、藻類、藻類細胞数、MC-RR、MC-YR、MC-LR(MCの分析にはHPLCを使用)等

2.2 毒素MCと細胞内・外糖類の経日変化調査

同じ*M. aeruginosa*のアオコでありながら、MC3種の比率が調査ごとに異なる場合が多い。また、アオコは毒素を産生すると共に細胞を保護するために群体を作り、その結合の材料等に細胞外多糖類を産生している。従って、群体の成長の度合いにより、それらの量、強度が異なる¹⁾ことが考えられる。これら2種類の藻類代謝産物の関連性について経日変化から検討した。

水槽を利用して、栄養塩、照度、温度等の環境因子の異なる条件を設定し、大沼等より採取した*M. aeruginosa*を培養し、産生される毒素MC、細胞内・外糖類²⁾の経日変化等を検討した。

初期設定として、培養水量はアオコを採取した池水20 lを使用し、アオコ細胞数を約2,000個/mlに希釈した。栄養塩(窒素8.1mg/l、リン1.0mg/l、流入水中には窒素6.5mg/l、リン0.6mg/l含む)等の添加は500ml/日とし、分析時に500mlを分取してMC等の分析を行った。

2.3 硫酸銅、塩素添加によるMCの溶出挙動調査

アオコの発生している池沼の管理や水利用において、藻類増殖防止に散布されることのある硫酸銅の影響や、上水処理で消毒に用いられる塩素の添加による藻体からのMCの溶出が考えられる。そこで、これらの添加効果、溶出挙動等を検討した。

2.3.1 硫酸銅処理

SSで約47mg/lのアオコ(*M. aeruginosa*)に、硫酸銅を銅と

して1、4、9、29mg/lになるように添加し、スターラーで攪拌しながら経時的に試料を分取し、MC等の経時変化を調査した。

2.3.2 次亜塩素酸ナトリウム処理

硫酸銅の場合と同様に、次亜塩素酸ナトリウムを7、11、16、36mg/l(残留塩素として1、5、10、30mg/l)になるように添加し、スターラーで攪拌しながら経時的に試料を分取し、MCの経時変化を調査した。

3 結果と考察

3.1 溜池調査

水質調査結果を表1に示す。

表1 3池沼の水質(2000年秋)

地点	単位	大沼	天神沼	八丁湖
pH	—	9.4	9.5	8.4
COD	mg/l	143	45.7	22.8
SS	mg/l	178	99	35.6
T-N	mg/l	35	13	3.3
溶存T-N	mg/l	2.0	1.3	1.0
T-P	mg/l	2.8	0.66	0.23
溶存T-P	mg/l	0.03	0.01	0.01
クロロフィルa	mg/l	1.5	0.59	0.19
MC-RR	mg/l	0.25	0.09	0.00
MC-YR	mg/l	0.03	0.00	0.00
MC-LR	mg/l	0.14	0.05	0.00
総MC	mg/l	0.42	0.14	0.00
アオコ細胞	個/l	75万	54万	0

秋の調査時期において、アオコ問題の起きている大沼と天神沼ではアオコのブルームが観測されたが、八丁湖ではアオコは観測されなかった。大沼と天神沼のアオコブルームは風による影響を強く受け風下に吹き寄せられるため、風向により1日の中でもアオコブルームの位置が変化するが、この時は、大沼では沼面全体を覆っていた。また、天神沼では周辺部の約1/3位をアオコのブルームが覆っていた。いずれも藍藻の*Microcystis aeruginosa*が優先種であった。

表1から計算した細胞1個当たりのデータを表2に示す。

表2 細胞1個当たりのT-N、T-P等とその比率

	大沼 µg/cell	天神沼 µg/cell	比率 大沼/天神
SS	237	183	1.3
T-N	44	22	2.0
T-P	3.6	1.2	3.0
クロロフィルa	2.0	1.1	1.8

表2の細胞1個当たりのSSから、*M. aeruginosa*の細胞1個当たりの重さで比較すると、大沼は天神沼の約1.3倍あり、より大きく成長していたのが分かる。各池沼の栄養塩の流入は、周辺集水域内の田畑からの施肥に由来する流出、生活雑排水と釣り人によるエサが原因と考えられている。

溶存T-Pについて考えると、溶存T-Pは3池沼とも少なく、藻類に利用され尽くされていると考えられる。天神沼の溶存T-Pはアオコの発生していない八丁湖と同じレベルであり、アオコがこれ以上増殖しない制限因子がリンであると推察される。また、T-N、T-P、クロロフィルaを比較すると、大沼のT-Nとクロロフィルaが天神沼の2倍になっているのに対し、T-Pは3倍となっており、天神沼のアオコに含まれるT-Pが少ないことが分かる。このことから、天神沼ではT-Pが不足していると考えられ、リンが不足してアオコ増殖が大沼より少ないと考えられた。

一方、アオコの発生していない八丁湖の特徴として、クロロフィルbが3池沼から唯一検出された。クロロフィルbは緑藻類、ユグレン藻類だけに含まれることから、八丁湖ではこれらの藻類が優先されていることと符合する。アオコとの関係については不明であるが、藻類間の競合が行われていると考えられる。

図1に、夏期の大沼の深度別の水質調査結果を示す。

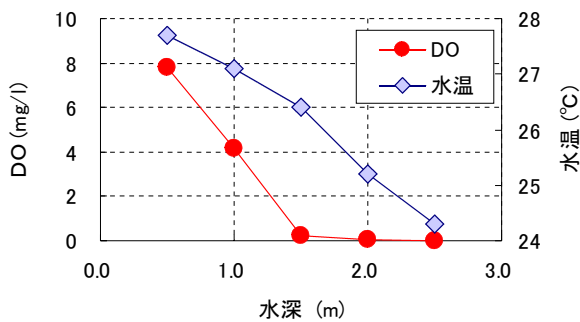


図1 大沼の水深別水質

大沼の水深は比較的浅く、深い所で約2.6mで、風による自然攪拌が良く行われるはずであるが、それでも、上層0.5m、中層1.5m、下層2.5mで大きく異なる水質を示した。特に、溶存酸素は中層1.5m以下ではほとんど0mg/lを示し、還元雰囲気になっていることが分かる。水温は徐々に低下し、上下で4℃程差があった。金属類、栄養塩の窒素、リン等にも差があった。

図2に大沼の深度別の金属類と栄養塩の濃度を示す。

ろ過水と総試料の比較において、金属類の中で、マンガン、鉄はろ過することによりほとんど減少し、Ca、Mg、Si、K、Naは余り変化しなかった。下層には鉄、マンガンが多いが、鉄はろ過すると減少し、コロイド状であり、マンガンはろ過で変化せず溶解していることが分かった。窒素、リンについては、アオコブルームが吹き寄せられていた大沼流入地点で総試

料中の窒素は非常に多く、溶解性窒素は少ないことから、アオコ藻体由来のものと考えられた。リンも同様であった。窒素、リンとも下層に多かったが、溶解性のものについては窒素は多いが、リンは少なかった。Ca、Mgは流入地点は多かったが、藻体由来ではなく、ほとんどが溶解性であった。また、上層下層の差はほとんど無く、溶解性であった。

大沼の容積と流入水の量から考えると、大沼は定常期で2~3ヶ月で水が入り替わる計算となり、比較的水循環が速いと思われるが、底層からの鉄、マンガン等の金属類、窒素、リンの栄養塩の回帰が考えられる結果であった。

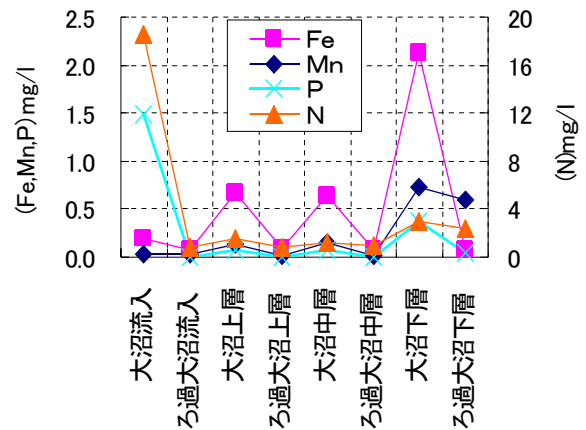


図2 大沼の深度別の金属類と栄養塩

3.2 毒素MCと細胞内・外糖類の経日変化

図3にMC3種の経日変化(流入水添加RUN)を、図4にMC3種の経日変化(リンのみ添加RUN)を、図5にMC3種の経日変化(無添加RUN)を示す。また、図6にMC3種の比率の経日変化(流入水添加RUN)を示す。

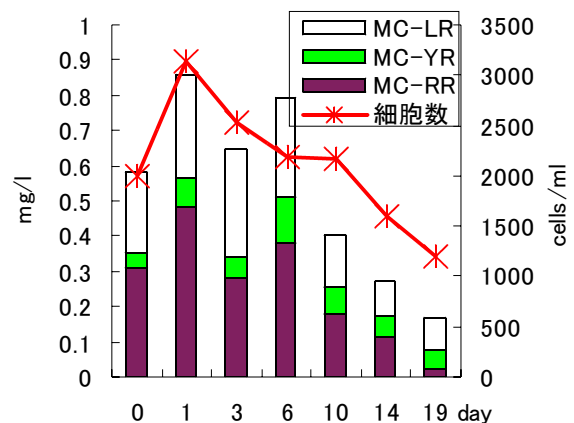


図3 MC3種の経日変化(流入水添加RUN)

図3、図4を見ると、栄養塩を添加したRUNでは*M. aeruginosa*の細胞数は最初増加した。これは、採取したときの沼の

水温は低かったが(約17℃)、培養温度は28℃と高くしたためと、栄養塩(特に、リン)が流入水や添加液中に含まれていたためと考えられた。しかし、無添加のRUNは増加しなかった。このことから、リンが不足してアオコの増殖が制限されていることが伺えた。この時の細胞数の増加と共に、MCの3種とも比例的に増加し、MCは増殖時に産生されていることが分かった。

代表的傾向を示す流入水添加RUNの図3、図6を見ると、MC3種の中では、RRとLRの濃度が高かった。YRはRRの約1/5程度と少なかった。増殖期には3種とも比例的に増加したが、減少期においては、RRとLRは比較的大きく減少し、YRは減少が遅かった。減少率は3種で異なり、MC-RR>MC-YR>MC-LRの順に大きく、最後には濃度が逆転し、LRが多く残った。この消長の傾向は培養条件の異なる他のRUN(図4、図5)等においてもほぼ近い傾向を示し、培養条件の違いに余り関係してはいなかった。

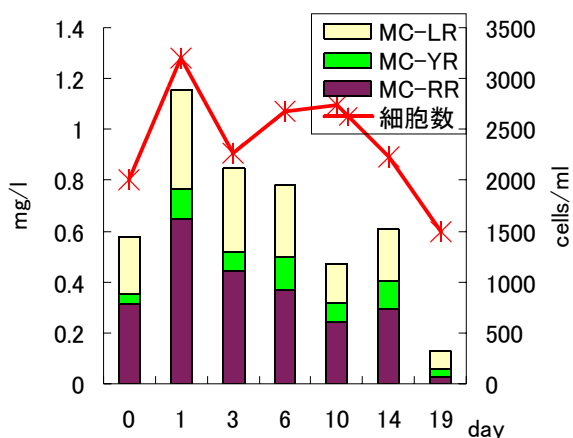


図4 MC3種の経日変化(リンのみ添加RUN)

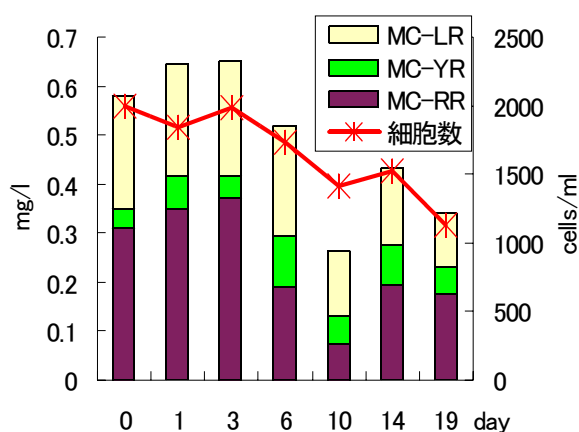


図5 MC3種の経日変化(無添加RUN)

また、大沼や天神沼のMCを時期を変えて調査したところ、MCの組成比率に違いがあり、YRが多く存在し初期には約30%を占めた場合でも、培養経過時のMCの減少の傾向

は同じであり、RRとLRは比較的大きく減少し、YRは減少が遅かった。同じ*M. aeruginosa*のアオコでありながら、MC3種の比率が調査ごとに異なるのは、今回の検討結果のように、活性度(増殖傾向にあるアオコか、減少傾向にあるアオコか)の異なるアオコが混在していることが、その一つの理由であると考えられた。

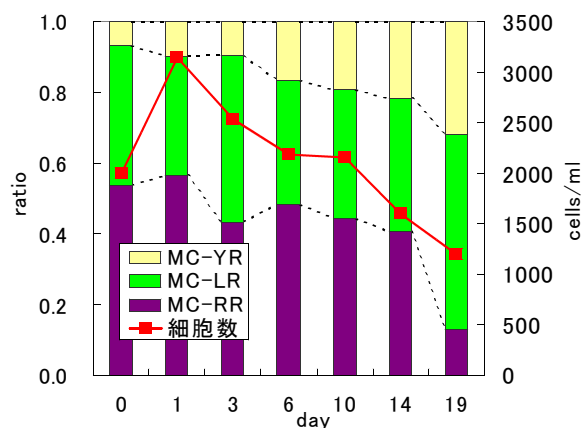


図6 MC3種の比率の経日変化(流入水添加RUN)

なお、藻類細胞から溶液中へのMCの溶出は培養中に見られず、MCは常時細胞中に存在した。MCの減少は、細胞数の減少とともに生じたが、1細胞当たりのMCの減少も同様に見られていることから、細胞外への溶出ではなく、細胞内での自己分解が起こっていると考えられた。

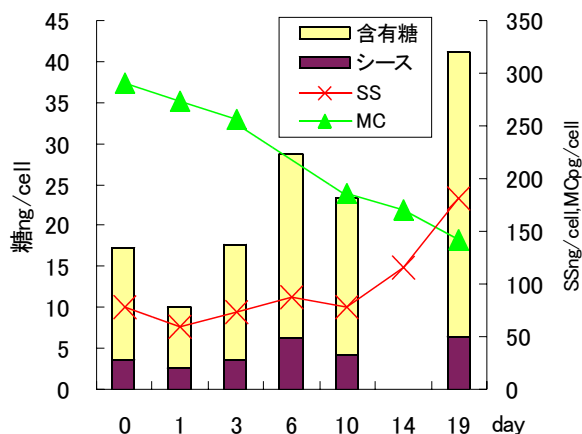


図7 1細胞中の濃度(流入水添加RUN)

一方、1細胞中の含有糖、細胞外シース、SSとMCの各濃度は図7のとおりであった。1細胞当たりのMCは培養日数の経過とともに暫減した。SSは2週間程までは変化なかったが、19日で少し増加し、40日ではまた減少した。細胞外シースは徐々に増加し、細胞内の含有糖も変動はあるが、増加した。これらの傾向から、MCと糖は別個の代謝系と考えられた。また、細胞外シースは群体を保護していると考えられて

いるが、量よりその強度が大きく関係しているのではないかと考えられた。なお、検鏡によって見られる強度は初期に高かった。

3.3 硫酸銅、塩素添加によるMCの溶出

図8に銅1mg/l添加時のMC溶出の経時変化を、また、図9に銅添加率とMC溶出の関係を示す。

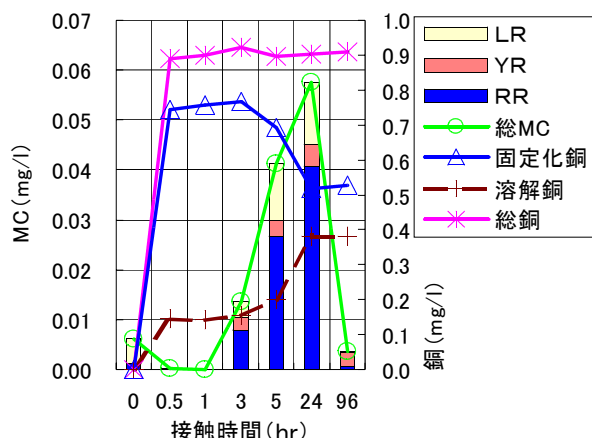


図8 銅1mg/l添加時のMC溶出の経時変化

図8に見るように、銅1mg/l添加時には、銅は初期に80%以上が藻体に固定化され、5-24時間でその一部が溶出した。これは、藻体に固定化した銅が藻体の解体に伴いながら溶出し、合わせてMCの溶出を起こしていると考えられた。MCは銅添加により藻体が解体し、24時間まで溶出量が増加した。しかし、96時間後には微生物等によりMCが生分解され³⁾ほぼ消失した。

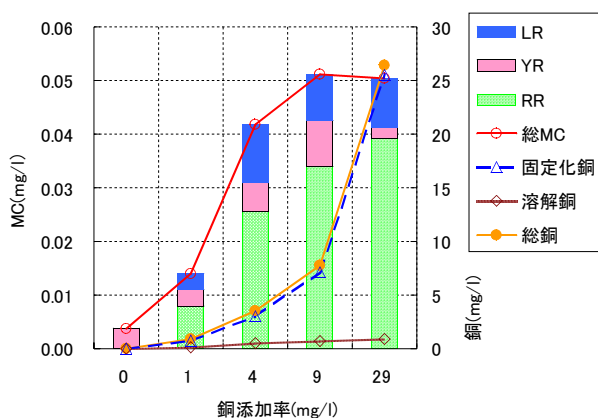


図9 銅添加率とMC溶出の関係

図9から、銅添加率の上昇に伴いMC溶出は増加するが、大差は無く微増であった。銅は低い濃度でもほぼMCの溶出を完了させていると考えられた。また、銅は大量に添加した場合においても、ほとんどが藻体に固定化され、いずれの場合も溶解した銅は1mg/l未満であった。

一方、塩素添加の場合で溶出したMCについて図10に、藻体に残存したMCについて図11に示す。

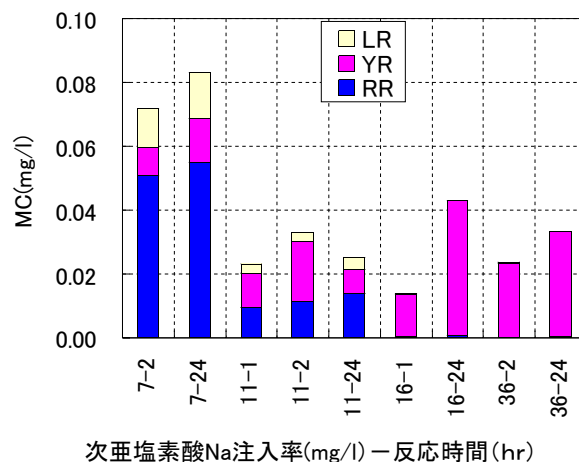


図10 次亜塩素酸ナトリウム添加による溶出MC

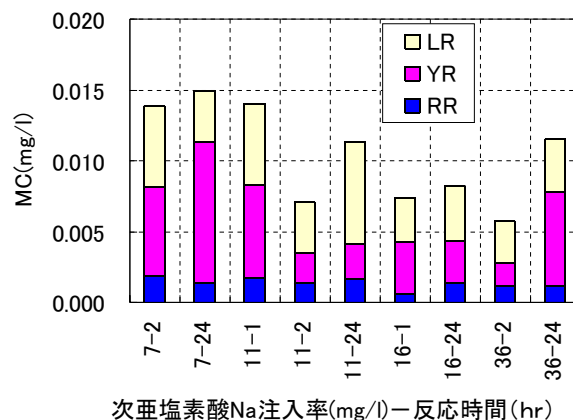


図11 次亜塩素酸ナトリウム添加による藻体残存MC

図10より、塩素添加7mg/l(残留塩素1mg/l)ではMC溶出が大きい、塩素11mg/l以上では溶出したMCも酸化されて減少した。通常の浄水処理においては、塩素の注入率は残留塩素として最大で2mg/l程度であり、MCは溶出しても酸化分解はされないで、残存する可能性が高い。従って、塩素の注入には注意が必要である。緊急時等の簡易処理が考えられる場合はアオコの発生している原水を使用すべきではない。

溶出MC3種の構成比率は、塩素注入率の低い時は、RRの比率が70%に達するほど大きい、塩素注入率が上がるとRR、LRの減少が大きく、相対的に、YRの比率が高くなった。塩素注入率を更に増加させると、RR、LRは分解し、YRが残存した。一方、図11から藻体内に残存している量は全体の15%程度以下で、大部分は溶出していた。特に、RRは藻体内での残存量が少なく、比較的速やかに溶出し、YRの残存性は高かった。

4 まとめ

- ① アオコ発生の著しい大沼は窒素リンの比率において、発生の少ない池よりリンの比率が高かった。
- ② 培養経過時のMCの減少の傾向は環境因子(栄養塩等)の多寡に係わらず同じ傾向を示し、MC-RRとMC-LRは比較的大きく早く減少し、MC-YRは減少が遅かった。このことから、同じ*M. aeruginosa*のアオコでありながら、MC3種の存在比率が調査ごとに異なるのは、増殖傾向にあるアオコと、減少傾向にあるアオコが混在し、その比率がその時々で異なることが一つの理由であると考えられた。
- ③ 通常使用される硫酸銅添加濃度でも、MCの溶出が起こるが、溶出後、比較的速やかに生分解された。
- ④ 通常使用される塩素処理条件では、MCの溶出が起こるが、酸化分解はされないで残存する可能性が高い。

緊急時等に簡易処理で対応する場合は、アオコの発生している原水を使用すべきではないと考えられた。

埼玉県内の各地の閉鎖性水域(上水水源である浦山ダム、彩湖、権現堂調節池等)でアオコ発生が報告されており、アオコ及びMC対策の更なる強化が必要である。アオコ発生の未然防止対策と発生時の応急対策との両方の調査研究が求められている。

文 献

- 1) 小林ら(1998)シアノバクテリア *Microcystis* 属の多糖質特性に及ぼす窒素、リン濃度の影響, 日本水環境学会年会講演集, 454
- 2) 小林ら(1998) *Microcystis* 属の細胞外多糖質の模擬湖沼を用いた季節変化の解析, 生物利用新技術研究シンポジウム論文集, 162-165
- 3) 原田ら(1994)アオコが産生する有毒ペプチドの化学と分析法, 水環境学会誌, 17, 545-550.

Status of Water Bloom in Ponds and Fate of Toxic Microcystins

Kenji IDA , Yuichi SATO and Yoshinori KAWASE

Abstract

An investigation was carried out focussed on the generation of water bloom and the fate of its toxins which cause serious obstacles to water environment and water use. At first, water qualities to influence the generation of water bloom were compared in three ponds. Then, some experiments were conducted to evaluate the relationships between Microcystins (MC:MC-RR, MC-YR, MC-LR) produced by water bloom and polysaccharides (sheath outside cells, sugars contained in cells) of protective matters for algal bodies, and various environmental factors such as nutrients (nitrogen, phosphorus). Furthermore, the elution of MCs from water bloom and their decomposition were examined by adding copper sulfate used for sprinkling to prevent algal growth in lakes and chlorine used for disinfection in water treatment.

The water of Onuma where remarkable water bloom was observed contained phosphorus at a higher ratio to nitrogen, compared with the other ponds with less water bloom.

The decreasing tendencies of MCs at the cultivation process of *Microcystis aeruginosa* were similar at any examined concentrations of nutrients, and the reduction of MC-RR and MC-LR was comparatively early and large, but that of MC-YR was slow. These results suggested that one of the reasons why composition ratio of each MC differed at each survey in spite that *M. aeruginosa* was the only causative algae of water bloom, was attributed to the different composition ratios of *M. aeruginosa* at the increasing phase and the decreasing phase.

Although copper sulfate concentration of normal use for algal control in lakes caused the elution of MCs, but decomposed relatively smoothly the eluted MCs. As for the effects of chlorine, the elution of MCs occurred at the normal concentration used for water treatment, but they remained without remarkable decomposition. When the simplified water treatment is applied at an emergency, etc., water with water bloom should not be used as a raw water.

Key word: Water bloom, *Microcystis*, microcystin, polysaccharide, copper sulfate processing, chlorination