

藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* 完成

～淡水藍藻赤潮の効率的なモニタリング実現を目指して～

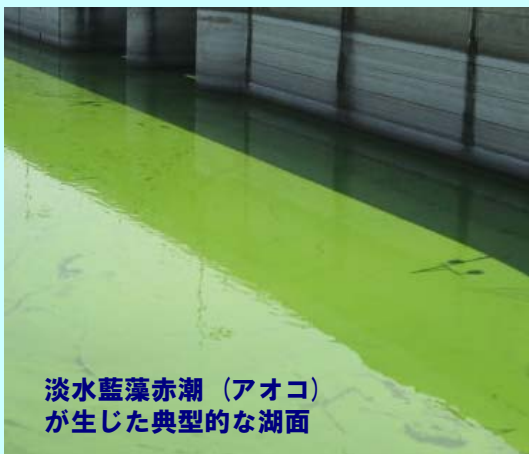


藍藻蛍光光度計
Cyanosens

藍藻現存量をモニタリングしたい。
藍藻の異常増殖、いわゆるアオコは、高度経済成長期以降、日本各地で社会問題となった現象です。世界的に見ても富栄養化の進んだ陸水域で頻繁に生じることが知られています。

アオコのモニタリングは、水質管理や陸水域の物質循環を明らかにしていく上では、必要不可欠な測定項目であります。しかしながら、標準的な顕微鏡測定だけで、その現存量を時空間的に高密度に測定することは困難でありました。この課題を克服するため、藍藻現存量を連続的にモニタリング可能な自動測定技術への期待は非常に高いものでありました。

そこで、弊社が有する蛍光光度計開発技術を応用し、藍藻の光学特性を原理とした藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* を完成しました。藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* が、淡水藍藻赤潮の消長を効率的にモニタリングする一助となることが期待されます。



淡水藍藻赤潮（アオコ）
が生じた典型的な湖面



淡水藍藻赤潮を引き起こす藍藻種

Phormidium sp.

Anabaena sp.

培養株を独自で維持し、
技術開発や性能評価に利用しています

1. はじめに

藍藻は約 30 億年前に地球上に誕生したと考えられ、この地球に酸素を供給した最古の微細藻類です。現在でも淡水・海洋を問わず普遍に存在し、光合成により無機物から有機物を合成し、生態系を底辺から支える重要な一次生産者です。しかしながら、水源地となるような淡水では、その異常増殖(淡水藍藻赤潮)が社会問題となっています。その一つは、夏季に淡水表面を覆う「アオコ(青粉)」です。アオコは *Microcystis* sp. *Anabaena* sp.が異常増殖し、その名の通り、水面に青い粉を塗した様に見える現象です。見た目が悪いだけでなく、浄水作業に支障をきたします。また、これら藻類はミクロキスチン、アナトキシンと呼ばれる毒素(肝臓毒・神経毒、藍藻が作る生物毒はシアノキシンと総称される)を生成し、世界各地で被害も発生していることから、藍藻赤潮の監視は水源管理にとって必須となっています。また、*Phormidium* sp.は、ジオスミンを生成し、水道水の「カビ臭」の原因とされ、水源地ではやはり注意深く監視されています。現在まで、これら監視のためのモニタリングには、顕微鏡による種同定、計数が手段となっています。この手法は、種によって異なる生成毒、カビ臭の原因を特定するには最適であり、必要不可欠な計測手段です。しかしながら、顕微鏡による種同定には高度な技術を、計測には過大な時間を要することも事実です。そのため、時空間的に変動の大きな藍藻現存量の変動を十分な観測密度で測定することは困難でした。したがって、藍藻を特定し、その現存量を自動で連続的に測定できる装置の開発が切望されていました。そこで弊社は、藍藻の光学特性に注目し、これまでにクロロフィル蛍光光度計、多波長蛍光光度計の開発で培ってきた技術を応用して、藍藻蛍光光度計「Cyanosens」を開発しました。

2. 藍藻の光学特性

藍藻は固有の光学特性を持ちます。光学特性は、藍藻が持つ光合成色素組成に起因します。藍藻は光合成色素として、クロロフィル a(Chla)の他に、フィコビリタンパクを持ちます。フィコビリタンパクは「フィコエリスリン(PE)」「フィコシアニン(PC)」「アロフィコシアニン(APC)」の総称です。この内、特に PC および PE の含有比は光学特性に大きく影響し、藍藻細胞の色を決定します。図 1 は、淡水で一般的な *Anabaena affinis* の吸収スペクトルと励起蛍光スペクトルです。吸収スペクトルは「どの波長(色)の光を吸収しやすいか?」、励起蛍光スペクトルは「吸収したどの波長の光を蛍光として出し易いか?」を示します。この図から明らかなのは、1) 440nm 近傍の光は Chla によって良く吸収されるが、蛍光は出し難いこと、2) 550nm より長波長側の波長域の光は 440nm 近傍と比較して、光吸収は弱いものの、蛍光は非常に出しやすいことです。他の植物プランクトンは藍藻同様に 440nm 近傍で最も吸収効率が高く、この波長域で最も蛍光を出し易いのですが、藍藻は上記のように蛍光を出し易い波長が長波長側にシフトするのです。図 2 は同種の蛍光(発光)特性を示します。藍藻の特徴は、藻類であれば必ず放出する 680nm 近

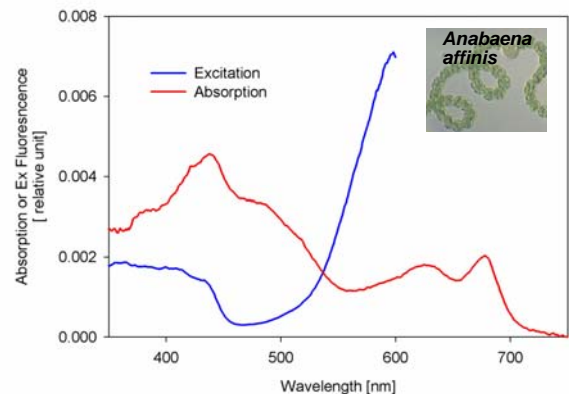


図 1. 藍藻 *Anabaena affinis* の光吸収(赤線)および励起蛍光特性(青線)。吸収した 600nm 近傍の光を蛍光として放出しやすいことを示す。

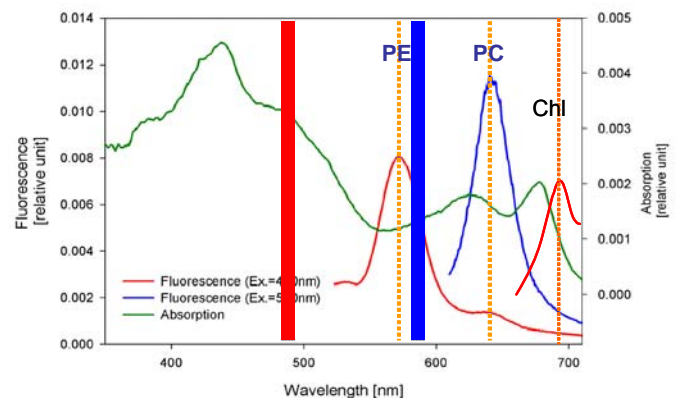


図 2. *Anabaena affinis* の蛍光(発光)特性。Chl 蛍光極大よりも短波長側に極大を持つ。それぞれ、フィコエリスリン(PE:赤線)、フィコシアニン(PC:青線)に起因する。緑線は吸収特性、680nm 近傍の赤線は Chl 蛍光を示す。

傍の Chl 蛍光の他に、Chl 蛍光放出波長の短波長側に明瞭な蛍光極大が確認できることです。これらの特性は、全て、藍藻が有するフィコビリタンパクに起因するものです。フィコビリタンパクである PE, PC は Chla の長波長(赤色光)側の吸収極大よりも短波長側に吸収極大があり、それら色素が吸収した光は蛍光を出し易く、且つ、それら色素の吸収極大よりも長波長側に特有のフィコビリタンパクの蛍光極大が現れるのです。藍藻を特定し、その現存量を測定するには、これらの光学特性を利用することが非常に有効であるということが理解できます。

3. 藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* の特徴

開発した藍藻蛍光光度計 *Cyanosens*(図 3)の最大の特徴は、非常にコンパクトでありながら、藍藻をはじめとした微細藻類および懸濁物の光学特性を基にして、1) 藍藻から放出されるフィコシアニン (PC) 蛍光測定による現存量(細胞数)推定、2) 微細藻類群集から放出される Chl 蛍光測定による Chl 濃度推定、3) 水中懸濁物の濁度測定を同時に実行できることです(特許出願準備中)。これにより、観測水域の微細藻類群集に占める藍藻現存量の変動をモニターすることができます。また、他の微細藻類群集から、藍藻優占の群集構造への変化のトリガーとなり得る淡水流入負荷は濁度を指標としてモニターすることが可能です。これらを同時に測定することで、「アオコ」の発生開始、消長だけでなく、その発生原因の特定にも貢献できると考えられます。



図 3 開発した藍藻蛍光光度計(*Cyanosens*)。

時空間的に著しい変動を示す藍藻を含む微細藻類の観測では、長期連続モニタリングが重要となります。この際、光学面への藻類付着による測定不良が問題となります。そこで藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* は、藻類付着防止用のワイパーを装備し、長期連続モニタリングを実現します。

時空間的に著しい変動を示す藍藻を含む微細藻類の観測では、長期連続モニタリングが重要となります。この際、光学面への藻類付着による測定不良が問題となります。そこで藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* は、藻類付着防止用のワイパーを装備し、長期連続モニタリングを実現します。

4. 藍藻蛍光光度計 *Cyanosens* の性能検証

図4-(a)は培養株の藍藻 *Anabaena affinis* の細胞密度[cell/ml]と蛍光強度の関係です。細胞密度と二つの励起光で放出される蛍光強度には非常に良い正の相関が確認できます($r^2=0.99$)。しかし、近似直線の傾きは大きく異なり、PC励起用光源を照射した場合の蛍光強度と細胞密度の関係は、Chl励起用光源を照射した場合の約3倍の傾きを示します。

一方で、図4-(b)は、アセトン抽出蛍光法により測定した珪藻 *Skeletonema costatum* の Chla 濃度と各蛍光強度との関係です。Chl励起用光源を照射した場合は、濃度に依存して明確な蛍光強度上昇が確認できたのに対して、PC励起用光源を照射した場合には蛍光上昇は著しく低いものでした。結果として、PC励起用光源を照射した際の Chl 濃度との関

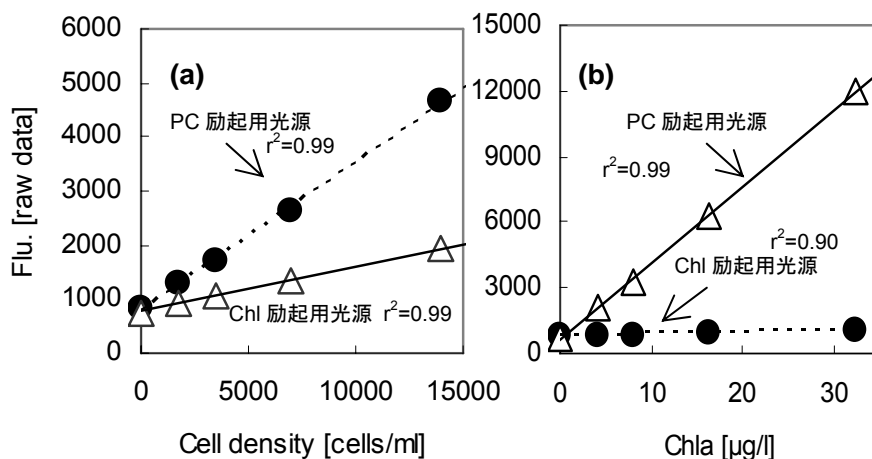


図 4. PC, Chl 励起用光源を照射した時の蛍光強度と (a) 藍藻 (*A. affinis*) 細胞密度、および、(b) 珪藻 (*S. costatum*) Chla 濃度との関係。

係は、Chl励起用光源と比較して1/40未満の傾きしか示しませんでした。これらの結果は、Chl励起用光源はプランクトン群集からのChl蛍光の測定が可能であること、また、PC励起用光源を照射した場合には、藍藻がもつPCからの蛍光だけを測定することができることを示します。この結果から、開発センサーはChla濃度と藍藻細胞数の同時推定が可能であることがわかります。

図5は琵琶湖で藍藻蛍光光度計Cyanosensを用いて測定した蛍光強度(青丸)と、同時に採水し顕微鏡で測定した藍藻細胞密度の比較です。

検鏡した結果、*Microcystis* sp.の細胞数が50%以上を占めていました。PC励起用光源を照射した場合、蛍光強度と細胞密度には非常に良い相関が確認されました(岸と沖での細胞密度比、蛍光強度比は、それぞれ1.59, 1.52とほぼ一致)。このように、現場測定においても、開発した藍藻蛍光光度計Cyanosensが藍藻現存量測定に適していることを検証しています。

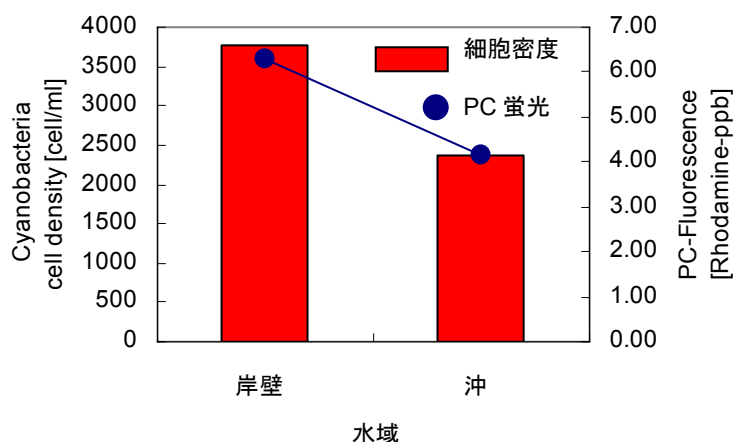


図5 琵琶湖における藍藻蛍光光度計CyanosensのPC蛍光と藍藻細胞密度の比較。

5. おわりに

このように、開発した藍藻蛍光光度計Cyanosensは、藍藻現存量(細胞密度)をフィコシアニン(PC)蛍光、微細藻類現存量(Chla濃度)をChl蛍光、そして後方散乱から濁度を同時に測定することができます。同時測定により、淡水藍藻赤潮(アオコ等)の消長、そして、微細藻類群集内における藍藻優占の時空間変動、藍藻優占の群集構造への変化のトリガーとなり得る淡水流入負荷との関係を、濁度を指標としてモニタリングすることが可能です。今回は、淡水藍藻赤潮(主にアオコ)に焦点をあててご紹介させて頂きましたが、海洋でも*Trichodesmium* sp.等が、貧栄養海域で窒素ガスを栄養源として活発に増殖し(窒素固定能)、生物-地球化学的循環の中で重要な役割を担っていることもわかってきています。我々は、藍藻蛍光光度計Cyanosensが水源地での水質管理、浄化業務の一助となるだけでなく、陸水、海水での藍藻の消長要因の解明や物質循環研究にも貢献できると確信しています。

なお、Cyanosensの納入開始は本年3月13日以降となり、販売価格は以下の予定です。
内蔵メモリータイプ ¥1,180,000-、ケーブルモデル(20m, I/F付) ¥1,430,000-

アレック電子株式会社

神戸本社 : 〒651-2242 神戸市西区井吹台東町7丁目2番3号
☎(078)997-8686 Fax(078)997-8609
東京営業所: 〒180-0006 東京都武蔵野市中町1丁目20番9号・上内ビル3F
☎(0422)56-2181 Fax(0422)56-2182

URL: <http://www.alec-electronics.co.jp>

e-mail: info@alec-electronics.co.jp (e-mail 配信希望の方はこちら)

販売代理店