

運輸省港湾技術研究所

港湾技術研究所 報告

REPORT OF
THE PORT AND HARBOUR RESEARCH
INSTITUTE

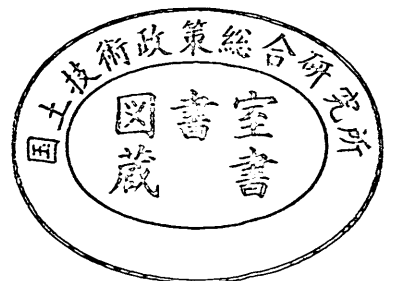
MINISTRY OF TRANSPORT

VOL. 17

NO. 2

JUNE. 1978

NAGASE, YOKOSUKA, JAPAN



港湾技術研究所報告 (REPORT OF P.H.R.I.)

第17巻 第2号 (Vol. 17, No. 2), 1978年6月 (June. 1978)

目 次 (CONTENTS)

1. 水平版に働く揚圧力に関する研究
..... 谷本勝利・高橋重雄・和泉田芳和..... 3
(A Calculation Method of Uplift Forces on a Horizontal Platform
.....Katsutoshi TANIMOTO, Shigeo TAKAHASHI, Yoshikazu IZUMIDA)
2. 海水の A.G.P. 試験法とその適用
..... 堀江 毅・細川恭史・三好英一.....49
(A.G.P. (Algal Growth Potential) Test and its Application to Seawater
.....Takeshi HORIE, Yasushi HOSOKAWA, Eiichi MIYOSHI)
3. 集中荷重をうける鉄筋コンクリートスラブの設計法に関する研究
..... 関 博.....81
(Ultimate Strength of Reinforced Concrete Slabs Subjected to Concentrated Loads
.....Hiroshi SEKI)
4. 車止めの塗装の標準化について
..... 伊藤隆夫・阿部正美・久保清志・石塚修次... 171
(Standardization of Painting System Applied on Steel Curbing
.....Takao ITO, Masami ABE, Kiyoshi KUBO, Shuji ISHIZUKA)
5. 有限要素法と最適分割法について..... 東海林秀幸... 193
(On the Finite Element Method and Optimum Mesh Grid
..... Hideyuki SHOJI)

海水の A.G.P. 試験法とその適用

堀江 毅*・細川 恭史**

三好 英一**

要 旨

植物プランクトンの光合成作用による有機物の生産は栄養塩に富む海湾で水質上の大きな問題となっている。海域の富栄養化を評価するための新たな水質指標として A.G.P. (Algal Growth Potential 藻類潜在生産力) 試験を検討した。海産緑藻の1種である *Danaliella tertiolecta* を用い、培養方式、培養条件、栄養要求性などの基礎培養実験を行なった。その結果、栄養塩特に窒素、リンに対して敏感に精度良く検出できる A.G.P. 試験法を定めた。

この試験法を用いて大阪湾の A.G.P. 分布を夏期と冬期に測定した。夏期には温度成層が発達し、底層貧酸素水塊が出現し、主たる栄養供給源は陸域からの流入水と嫌氣的底泥であると判断できる。冬期にはよく鉛直混合が起り、陸域からの流入栄養塩が希釈拡散して広がる。A.G.P. 試験は栄養レベルを表わす総合的指標であり、自然水の水質評価上も合理的かつ有効な試験であることを確認した。

* 海洋水理部 海水浄化研究室長

** 海洋水理部 海水浄化研究室

A. G. P. (Algal Growth Potential) Test and its Application to Seawater

Takeshi HORIE*

Yasushi HOSOKAWA**

Eiichi MIYOSHI**

Synopsis

Biomass production by phytoplankton, which depends on the nutrient concentration, is regarded as the principal source of the organic pollution in eutrophic bays.

The A. G. P. (Algal Growth Potential) test is examined in this investigation to deal with the problems of assessment of eutrophication in estuarine and marine coastal situations. A green alga, *Dunaliella tertiolecta*, is chosen as the test specie. After some basical cultivation tests, an assay procedure, which has good sensitivity and reproducibility to nutrient status, is proposed.

This procedure is applied to obtain the spatial and seasonal distribution of A. G. P. in the Bay of Osaka, which is known to be very eutrophic. It is confirmed that nutrients are loaded into the Bay mainly through rivers and anaerobic sediments in summer, and that vertical mixing is developed in winter.

By this A. G. P. test, organic productivity of seawater is estimated comprehensively and rationally.

* Chief of the Purification Hydraulics Laboratory, Marine Hydrodynamics Division

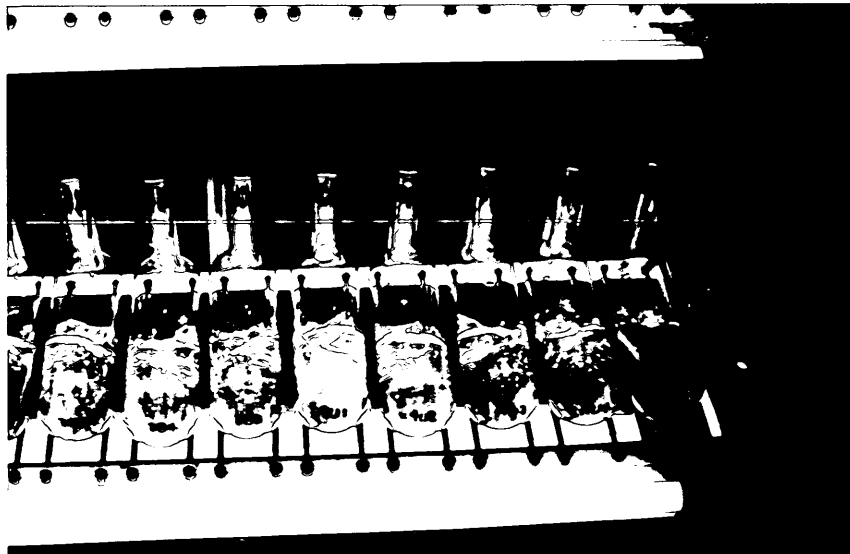
** Member of the Purification Hydraulics Laboratory, Marine Hydrodynamics Division



写真一 1 *Skeletonema costatum* (×400)



写真一 2 *Dunaliella tertiolecta* (×400)



写真一 3 瓶とう培養装置

目 次

要 旨

1. ま え が き	53
2. A.G.P. 試験の水質的意義	53
2.1 富栄養化による水質悪化	53
2.2 富栄養化指標	53
2.3 A.G.P. 試験の意義	55
3. 藻類の培養試験法	55
3.1 生物検定手法に要求される条件	56
3.2 A.G.P. 試験例	56
4. <i>Dunaliella</i> を用いた A.G.P. 試験法の検討	57
4.1 藻 種	57
4.2 増殖量指標の選定	57
4.3 培養方式	59
4.4 <i>Dunaliella</i> の塩分特性	61
4.5 <i>Dunaliella</i> の栄養要求性と接種前処理	62
4.6 照射光量	67
4.7 試料水の子備処理	67
4.8 <i>Dunaliella</i> を用いた培養試験法	68
5. 大阪湾 A.G.P. 分布測定例	70
5.1 採水, 分析方法	70
5.2 大阪湾の水質と A.G.P. 分布	70
5.3 A.G.P. 試験適用上の問題点	74
6. む す び	75
参 考 文 献	76
付録A 水質指標測定方法一欄	77
付録B 藻の増殖生理概要	77

1. まえがき

湾内および内海に建設される各種海洋構造物や埋立による海湾内の水質変化を予測することは、港湾整備計画に極めて重要である。また、水質に及ぼす底質の影響と、底質除去または封じ込めの効果の予測は、海湾環境の改善にとっても軽視し得ない。特に閉鎖性の強い湾、内海においては、陸上からの有機物流入に対する強い規制にもかかわらず、C.O.D. で表示される有機物濃度が低下しないという現象が起きている。これは、主として植物プランクトンの光合成活動によるものであり、各種無機栄養塩類がこれに関与している。

栄養塩に富むこのような海域では、植物プランクトンの挙動を包含した水質変化予測が必要となってくる。しかし、生物活動の複雑さや生物活性と外部諸条件との錯綜した関係のため、従来の水質変化予測の各手法においてはいずれも生物活動の影響が無視又は省略されてきた。個々の諸条件と生物活動との詳細な対応づけの研究は、生理学として重要な意味を有するが、生物活動の「場」としての海域の環境評価にとっては断片的で適切さを欠くこともあり、予測の難しさを強調することに終始する場合も多い。

このような理由から、植物プランクトンの活性に対する新たな水質指標を開発、確立する要請が生じた。本研究では藻類培養を基礎に、ピーカー内で増殖活動を保証し、錯綜した諸関係を内に含ませる Algal Growth Potential (藻類潜在生産力) 試験——以下 A.G.P. 試験と略す——を取りあげた。

本文では、2.において閉鎖性海湾の水質特性における植物プランクトンの位置づけを行ない、3.において生物検定手法の条件と A.G.P. 試験手法について紹介し、4.において緑藻の一種を用いた A.G.P. 試験方法を検討し、5.においてその適用例を示した。

2. A.G.P. 試験の水質的意義

2.1 富栄養化による水質悪化

植物プランクトンは、適当な光の下で無機栄養塩類を合成して細胞有機物を作り増殖する。有機物を合成するこの活動を光合成という。水域での無機栄養塩濃度の上昇は富栄養化と呼ばれ、富栄養海域では植物プランクトンの光合成活動によりかなりの量の有機物が合成される。光及び温度の条件がととのう夏期には、光合成活性が特に高まり有機物生産量が增大する。

海域内の有機物は、各種バクテリアの働きにより分解される。この分解は溶存酸素を消費する酸化分解が主で

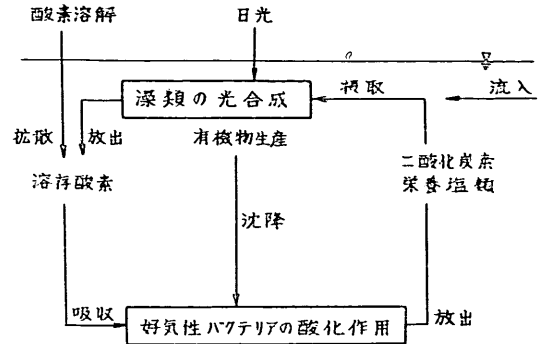


図-1 有機物の生産と分解メカニズム

あり、最終的に安定した無機物となる。海域内での生産と分解は、植物プランクトン、分解バクテリアなどの生物活動を介して、図-1 のように結びついている。

海域の水質を考える際、富栄養化は、次のような問題を生じさせる。

a) 海域内の有機物生産が大きくなり、C.O.D. などで測定される有機物濃度が上昇する。

b) 植物プランクトン体又はその分解物として、粒状の非溶解有機物の占める割合が大きくなり、この粒状有機物は容易に沈降し底層に集まりやすくなる。

c) その結果、底層での有機物分解のため溶存酸素消費が進み、底層付近での貧酸素化が起こる。

d) 貧酸素化のため底層付近での生物の存在が難しくなり、底生生物生態系が破壊される。又、貧酸素化のため底泥の嫌氣的腐敗がすすみ硫化水素などの有臭、有害ガスが発生する。

e) 底泥の嫌気化は底泥から水域への栄養塩の溶出速度を大きくし、より一層富栄養化を促進する^{2),3)}。

夏期の成層時における各海域の水質について、表-1⁴⁾ のような特徴がある。富栄養化による水質悪化は、豊富な栄養塩に支えられた光合成活動を主たる原因としているが、特に流れの停滞した水深の浅い閉鎖的海湾で著しい。

2.2 富栄養化指標

従来富栄養化を判断し比較する方法としては、次の3方法があった。

a) 富栄養化の原因もしくは結果として現われる水質指標を用いる方法、

b) 現場海域での基礎生産量の測定、

c) 現場海域で採水した試水を現場に近い条件で室内培養し、その際合成された生産量を測定する擬似現場法、である。

a) の方法として、原因となる栄養塩特に生産量を左右する無機窒素、無機リンの濃度、結果として生産され

表-1 海域の栄養階級区分とその特徴¹⁾ (夏期)

特 徴	腐 水 域	過 栄 養 域		富 栄 養 域	貧 栄 養 域
		数m以深域	数m以浅域		
<水質・生産量> 透明度 (m) 水 色	3以下 黒味をおびる	3以下 黄色, 黄緑色, 赤褐色などに着色		3~10 短期間, 局部的に着色のみられる場合がある	10以上 着色はみられない
COD (O ₂ mg/l)	10以上	3~10		1~3	1以下
BOD (O ₂ mg/l)	10以上	3~10		1~3	1以下
無機態N化合物 (μg-at N/l)	100以上	10~100		2~10	2以下
溶存酸素	表層近くまで低または無酸素状態 (0~30%)	表層は過飽和, 底層は無(低)酸素状態 (0~30%)	表層は過飽和状態 (100~200%)	表層, 中層は飽和状態数m以深の底層は不飽和状態 (30~80%)	表・中・底層とも飽和状態 (80~100%)
硫化水素	表層近くまで認められる	底層に認められる	認められない	認められない	認められない
植物プランクトン極大層	—	3m以浅, 時には0.5m以浅になる。中層または低酸素域に形成される場合もある		数m~+数m層に形成	数+m層に形成
クロロフィル (mg/m ³)	—	10~200		1~10	1>
クロロフィル (g/m ²)	—	0.1~1		0.05~0.1	0.05>
基礎生産量 (mgC/m ³ /hr)	—	10~200		1~10	1<
基礎生産量 (gC/m ² /hr)	—	1~10		0.3~1.0	0.3>
<底 質> 泥 色	黒色, 表層に褐色の酸化層なし	黒色, 酸化層なし	やや黒味をおび, 酸化層あり	時に黒味をおび, 酸化層あり	黒味なく, 酸化層あり
硫化物 (mg/g)	1.0<	0.3~3.0		0.03~0.3	0.03>
COD (mg/g)	—	30<		5~30	5>
<生物相> 微生物バクテリア* (細胞数/ml)	10 ⁵ 以上	10 ³ ~10 ⁵		10 ² ~10 ⁴	10 ² 以下
植物プランクトン (細胞数/ml)	10 ³ 以下, 少種	10 ³ ~10 ⁵ , 少種		10 ¹ ~10 ³ , 多種	10 ¹ 以下, 多種
原生動物	多数	やや多数		少数	少数
動物プランクトン (甲殻類)	—	少数, 少種 (多数みられる場合もある)		多数, 多種	少数, 多種
<底棲生物> 多毛類	少数, 少種	少数, 少種	最も多数, 多種	多数, 多種	少数, 少種
甲殻類	—	少数, 少種		多数, 多種	少数, 少種
例	河口, 汚水流入域	内湾奥部, 汽水湖, 湾口の非常に狭い内湾		内湾, 水30m深以浅の沿岸海域, 沖合海域の湧昇域	水深が30m以上ある沿岸海域, 沖合海域**

* 生菌計数法による

** 水深が100m以深の層を除く

た有機物を表わす C.O.D. 濃度, T.O.C. 濃度, また生産にあずかるプランクトン量を表わすクロロフィル濃度⁹⁾, 透明度, 懸濁物濃度などの各指標が用いられている。又, 有機物の分解や, 光合成活動の際に消費もしくは生成される溶存酸素濃度の分布も重要な指標になる。b) の方法としては, 光合成活動に光が不可欠であることを利用した明ビン—暗ビン法^{9) 7)} が代表的である。光の存在下で植物プランクトンは光合成を行ない無機の炭素等を摂取し酸素を放出すると同時に呼吸も行ない酸素を利用消費し無機の炭素を放出している。遮光された暗所では呼吸のみを行ない, 光合成を行なわない。従って, 遮光した暗ビン内封入水と, 透明な明ビン内封入水との酸素量の変化より光合成量を知ることができる。現場での採水試水を明ビン, 暗ビンに封入後再び採水位置に垂下すれば, 水質変動の他に, 水温や水中での光の減衰などの影響も加味した現場生産量が測定できる。c) の方法は b) の現場法の便法として用いられており, 明ビン—暗ビンを室内に置き, 光や温度条件をコントロールして光合成活動を行なわせる方法である。

表-1にまとめられているように, 化学分析を主とする a) の方法の各指標に b) もしくは c) の指標を加えて総合的に見れば, その海域での基礎生産の特性が把握できるとされている。しかし, a) の各指標はある時刻での現存濃度を教えるのみであり, 1日を単位として増殖する植物プランクトンの特性や, 季節的に大きく変化する基礎生産量に対する十分な理解が必要である。また直接生産量を測定する b) c) の方法は, 種々の改善方法が考えられているが, 精度, 再現性などの点で問題が残っており, 十分な栄養塩を含んでいるが植物プランクトンを含まない試水, 例えば工場排水などの影響評価にはそのまま用いるわけにはいかない。

近年, 各海湾での水質データの蓄積が行なわれ, これらのデータから海域内で生産される内部生産量の見積りが様々に試みられている。

中西⁸⁾及び西村⁹⁾は, 海域の C.O.D. 季節変化, 栄養塩濃度などよりプランクトン生産量を試算し, 各海域の内部生産 C.O.D. 負荷を求めている。港湾の環境改善のための調査検討の中でも試算がなされ, 東京湾¹⁰⁾, 伊勢・三河湾¹¹⁾でも表-2のような内部生産 C.O.D. 負荷が示されている。表-2を見ると, 内部生産負荷は, 流入負荷と同程度あるいはそれ以上の割合を占め, 水質上無視し得ないことがわかる。また, 試算方法や諸係数の設定の差異により, 推定値もかなりばらつくこともわかる。

2.3 A.G.P. 試験の意義

内部生産の定量的な見積りが容易でないことは, 富栄養

表-2 各水域の内部生産 C.O.D. 負荷

水 域	流入負荷	内部生産負荷	総負荷
東京湾	t/日	t/日	t/日
(中西 ⁸⁾ ・1975)	1128	675	1803
(二建 ¹⁰⁾ ・1976)	741	822	
(二建 ¹⁰⁾ ・1977)	415	2960	
瀬戸内海			
(中西 ⁸⁾ ・1975)	1700	1247	2947
(西村 ⁹⁾ ・1975)	1700	冬期1211 夏期1864	
伊勢・三河湾			
(五建 ¹¹⁾ ・1977)	527	14762	
徳山湾			
(中西 ⁸⁾ ・1975)	21	6.9	28

養化した海湾での水質の評価・予測の難しさを意味する。

この見積りが困難な理由としてはいくつか考えられる。水質各指標の時間的, 場所的なばらつきも大きな原因であろうし, 測定精度も考える必要がある。また, 生産のメカニズム自体が有する増殖の時間スケールに対して水質指標がある瞬間の値であること, 生産に関与する各因子, 個別各栄養塩などが共存関係によってその関与のしかたを変えること, などの生物活動の特性にも依っている。

これら複雑な生物活動, 特に光合成活動自体を表わす水質指標としては, 2.2 で述べた指標のうち明ビン暗ビン法あるいはその擬現場法がある。この方法は, 検水を小体積のビンに封入するという点や, これに付随した垂下時間(光合成活動を行なわせる時間)などに問題がある⁹⁾といわれているが, ビン内では錯綜した光合成メカニズムがそのままの形で保存され活動しているため, 生物活動を総合的によく表わしている。

水質変化予測あるいは評価のためには, 上記現場法に欠けている再現性や, 日照, 水温などの統一性などが求められ, これらの要件を満たし相互に光合成活動を比較し得る実験方法と指標が必要となってくる。さらに, 対象試水や栄養塩の海域への流入がどれだけの影響を海域水質に与え得るかの判断には, 内部生産を増大させる潜在力(ポテンシャル)を測定する必要がある。このような意味から, 藻類培養試験による藻類の潜在生産力(Algal Growth Potential)の測定が内部生産にかかる合理的総括的試験¹²⁾として注目されるようになった。

3. 藻類の培養試験法

3.1 生物検定手法に要求される条件

環境汚染がしばしば生物活動に対する抑圧、異常促進等を介して表面化することから、環境評価に生物検体を用いることがしばしばある。生物を用いた各種物質の影響試験は、生物検定 (Bioassay) と呼ばれており、水環境に関しても、重金属、有機塩化物、油分などの化学物質の毒性試験の他、栄養塩、増殖刺激物などの生長促進試験などもこれに含まれる。対象生物も、魚やベントス (底生生物) からウニの受精卵、植物プランクトン、バクテリア、細菌類など様々である¹³⁾。B.O.D. 試験もバクテリアの酸化活動を測定している点で生物を用いた代表的な水質指標の一つである¹⁴⁾。

生物を用いたこれら水質評価試験は、選定された対象生物に対する影響因子を変化させて培養した時に、生物活動の変化を観察する形式のものが多い。生物検定試験は生物の関与する水質メカニズムを再現し得ていても、化学分析よりも正確度、精度、再現性に劣る場合が多い。また試験法の設定次第では、対象生物の挙動が著しく特異になり、結果が一般性を持たない断片的な観察に終わってしまう危険性もある。

従って、生物を用いた水質試験として具備すべき要件として、

a) 現実の汚染に対する評価のためには添加濃度、接触時間の他に対象生物種、培養方法の選定が現実的であり不自然でないこと、

b) 異なった水域、異なった季節相互の比較ができるためには、試験法が広範な水質状態に対して適用できること、

c) 結果が水質評価にとって有効であること、

d) 誰がどこで行なう時にも同一の手法で行なえるだけの検定手続の単一性と再現性があることがあげられる¹⁵⁾。

3.2 A.G.P. 試験例

藻の培養試験の多く^{16)~21)}は、試料水に藻種を接種し、適当な期間培養し、藻の増殖率や増殖量を求めるものである。この試験により、藻増殖を促進する栄養塩、栄養塩の摂取し易さ、栄養塩の濃度変化に対する生物的応答の定量化、種々の物質の毒性などの検討に利用できる。現地規模での模型試験による生物相の変化や生産量変化の試験も行なわれたことがあるが^{22), 23)}、精度、安定性、再現性の観点から室内培養がほとんどであり、しかも複数種の共存培養例はほとんど無く培養は単一藻種であることが多い。

試水の栄養レベルとして潜在的な生産力を測定する場合には、試水での培養による最大増殖量が指標となり、

増殖速度は栄養塩の利用速度に関係した指標となる。

以下に淡水での A.G.P. 試験例を概観し、生物を用いた試験としていかなる問題点があるのかを指摘する。

まず、須藤ら²⁰⁾は、淡水についての A.G.P. 試験を大略次のように行なっている。試料水中の浮遊物質 (S.S.) 除去と、接種藻以外の藻の混入や藻の汚染を防ぐため、メンブレンフィルターでのろ過、もしくはオートクレーブ (121°C 15分間) による加熱滅菌を行う。場合によってはオートクレーブ後にろ過を行ない、S.S. を除去する。

このような処理をした試料水を 1l 容の L 型培養管に 500 ml 注入し、藻を 1 種接種する。その後これを毎分 30 回の往復振とう器にかけ、20°C、4000~6000 lx (14 時間明、10 時間暗の明暗サイクル) の照度で培養する。予備実験で予め定常期に至るまでの期間を定め、最大増殖量を測定する。定常期は、汚濁の少ない試料水で 7 日目以降、下水処理水で 20 日目以降であるとされ、培養期間もこれを目途にしている。最大増殖量は、培養完了後の試料水をミリポアフィルターにてろ過し藻の乾燥重量 (S.S. mg/l) をもって表示する。この乾燥重量が 200 mg/l 以上の場合、栄養塩以外の培養条件が制限因子となり易いので、試料水を脱イオン水で 2 倍から 10 倍程度希釈して培養する。また 1~2 mg/l 以下と推定される場合は、顕微鏡による検鏡から細胞数濃度 (cells/ml) を計数し、予め測定してある 1 細胞当りの重量より乾燥重量に換算している。

接種する藻種としては、貧栄養から富栄養までの広範囲の栄養条件で増殖でき、培養条件によって大きさ等の形態があまり変化せず、凝集しにくいものを選ぶべきとし *Chlorella sp.* *Selenastrum capricornutum* などの中より選択している。接種濃度は接種後の試料中に細胞数として 1×10^3 cells/ml 前後となるようにしている。

以上の操作を経、希釈の補正を行なった後の最大増殖量 (乾重量) をもって試水の栄養レベルを表わす A.G.P. 値としている。

この方法に対して、その問題点について種々の検討が行なわれている²⁴⁾。

まず、予備処理法として、試料の希釈の影響、滅菌処理法の差の影響の 2 点について検討されている。

栄養塩濃度のかなり高い下水 2 次処理水試料の場合、希釈率の補正を行なった A.G.P. 値では希釈率 10 倍付近で極大を示す。このことから栄養塩濃度が希薄になってゆくと、ある点より A.G.P. が急に低下する傾向があるようである。

試料の予備処理法として、ろ過法、加圧加熱分解法 (オートクレーブ法) の 2 法についての比較例では、

A.G.P. 100 mg S.S./l 以下の自然水、三次処理水では、おおむね加熱分解法の方が高い値を示している。夏期の自然水のようにすでに藻類が多量に増殖している試水の場合、加熱分解により藻体有機物を分解、無機化し、栄養塩を溶解させた後に培養を開始する方が適している。

さらに、藻種の相違による最大増殖量の差が比較されている。汚濁に強い *Chlamydomonas* sp. *Stigeoclonium tenue* などは汚濁した試水では大きな増殖量を示すが、汚濁の進んでいない試水では不相当であったとされている。貧栄養から富栄養まで広い範囲に適應する *Selenastrum capricornutum* は、水処理剤に含まれる微量 Al (アルミニウム塩) などにより阻害を受けやすく、処理水の培養試験に使用できないこともあったと報告されている。

再現性について同一試料水 5~10本ずつの同時培養により調べた結果、増殖量の低い試料ほどばらつきが大きくなり、最大増殖量 S.S. 300 mg/l 程度で 10%、30 mg/l 程度で 20%前後の変化率 (σ/\bar{x}) があるとしている。精度向上のために一つの試料に対して 2~3本ずつの同時培養が望ましいとしている。

一方、米国環境保護庁の淡水試料に対する試験法²⁵⁾では、淡水に対して *Selenastrum capricornutum*, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae* を培養種藻種として推奨している。培養法は三角フラスコによる静置培養を基本としているが、その場合も 500 ml 容フラスコに試水 100 ml と、試水量を小さくし水表面積を大きくとり炭酸ガスの交換を保証すべきであるとしている。照度は藻種により 4000~2000 lx 程度としている。

また、竺ら²⁶⁾は少試料 (10 ml) による琵琶湖、鴨川水系試水による培養試験を行ない、3本の同一試料に対する吸光度のばらつきを計算している。吸光度で測定した増殖量のばらつきは、変化率 (σ/\bar{x}) 10~40%であった。下水処理水の微量添加でも増殖量が大きく増加するが、湖沼、河川水試料では増殖量に有意の差が認められなかったとしており、試料中の栄養塩濃度が低い自然水の場合、増殖量は水質の相異を反映せずこの試験法の限界を示すものと結論している。

従って、A.G.P. 試験法として検討すべき項目には、単一藻種培養のための藻種の選定、接種方法、再現性ある結果を得るための培養法および増殖量指標測定法、試料の予備処理法などがあり、試験法自体の精度、栄養塩に対する感度の確認も必要となってくる。

4. *Dunaliella* を用いた A.G.P. 試験法の検討

海域における A.G.P. 試験は、東京湾、大阪湾、伊勢

・三河湾などで、*Skeletonema costatum* を接種して測定した例^{10), 11)}がある。しかし、大学、水産研究所などで行なわれているプランクトン生理の研究²⁷⁾を除いて、藻の潜在生産力を測定した例は、淡水に比して少ない。ここでは米国の Marine Algal Assay Procedure: Bottle Test²⁸⁾ (「海洋藻類培養試験方法：回分試験」—以後 M.A.A.P. と省略する—) を参考に、若干の基礎的実験を行なった結果と、その結果に基づいて当研究室で実施している培養試験法とについて述べる。以下の試験は、単一種であるが無菌的培養ではない。

4.1 藻 種

種の選定基準としては、対象物質に対する感度の良さと同時に広範囲の水質条件に適應できる強さが必要であり、できれば水質的に重要な種であることが望ましい。

沿岸域では *Skeletonema*, *Coscinodiscus*, *Nitzschia*, *Chaetoceros* などの珪藻類が優占しており、水質上有意でありかつ採取が容易である。特に、*Skeletonema* については、その栄養要求性や増殖生理について比較的良く調べられており、実験計画上からも結果の解析面からも便利である。自然界では直径 18~35 μ 程度の楕円またはレンズ型²⁹⁾で、細い周縁棘にて隣の細胞と相会し鎖状になっている。室内でうえ継ぐと径 5 μ 程度になり、以後細胞の大きさはあまり変らなくなり安定する (写真-1)。

Chlorella は淡水域 A.G.P. 試験で最も頻繁に用いられる緑藻であり、この耐塩性種は海中中でも増殖を行う。栄養要求性についても良く調べられているが、塩分濃度により増殖が一様でなく、独特の生活環³⁰⁾ (life cycle) によりその形態を変化させる。

写真-2 に示す *Dunaliella tertiolecta* は、M.A.A.P. の推奨種であるが、その理由はあまりはっきり述べられていない。細胞径 7~9 μ 程度の緑藻である。生理特性についてあまり詳しくは知られていないが、P.C.B., D.D.T. などの阻害物質に対しても強く³¹⁾、油分の影響も受けにくい³²⁾。球状の単細胞種で鎖状にならず、遠心分離操作などの物理的作用にも強い。

ここでは培養に際しての取扱い易さ、細胞数の計測の便利さ、塩分変化や溶存各種物質に対する強さ、適応水質の広範囲さなどから *Dunaliella* を用いて検討した。使用した *Dunaliella tertiolecta* 及び *Chlorella* sp. (耐塩性) は東京大学応用微生物研究所第10研究室より分株を受け、*Skeletonema costatum* 等の珪藻は久里浜湾海水より分離した。

4.2 増殖量指標の選定

藻の生体量 (Biomass) を測定する指標及び単位は、細胞数 (cells/ml), 細胞乾重量 (mg-S.S./l), プランク

トン懸濁液の吸光度（無次元）ないし濁度（°または mg/l）、クロロフィル濃度（ $\mu\text{g-chl./l}$ ）、有機炭素濃度—P.O.C. ないし T.O.C.（mg-C/l）などがある。

増殖量指標は、増殖の様子をモニターする、最大増殖量を知る、の目的から、培養液から採水する液量が少なく培養条件を変えないこと、操作が迅速かつ簡単であること、および、精度がよく安定した値が得られること、が要件となる。淡水域での培養試験例などでは、分析に要する液量や分析の容易さから吸光度により増殖の様子や経日変化を観察し、最大増殖量は培養完了後ろ過法により乾重量にて表わすことが多い。

ここでは細胞数、吸光度、C.O.D., T.O.C., S.S., クロロフィル a の 6 指標について検討した。細胞数は顕微鏡により直接目で見て計数することも多いが、短時間に多検体について精度良く処理するために、電気的な粒子測定装置（コールター社製コールターカウンター）によった。予め *Dunaliella tertiolecta* の粒径分布を測定しておき、該当径の粒子数（2回測定した平均値）を細胞数とした。単細胞で存在し鎖状とならないため図-2のように粒径分布範囲が狭く、測定 1 粒子を 1 細胞とみなせる。鎖状をなす藻種についてもコールターカウンターによる細胞現存量測定例³³⁾がある。吸光度は 1 cm 石英セルを用い、ダブルビーム分光光度計を用いて測定した。測定時に使用する波長は、藻の色調に左右されず濁りとして藻濃度を測定するために 550nm（ナノメータ、 10^{-12} m）もしくは 700 nm 以上が用いられる。ここでは 600 nm, 660 nm について測定したが同一状態の藻に対しては両波長による大きな変化はないようである。C.O.D. は、J.I.S. K 0102 に定めるマンガン酸性法により、塩分の影響を除くためセミマイクロ分析とした。T.O.C. は、乾式酸化法によった。S.S. は 0.45 μm メンブランフィルターを用いた方法、クロロフィル a は海洋観測指針の吸光度による方法によった。

まず同一試料水について同一条件で同時培養した 8 本

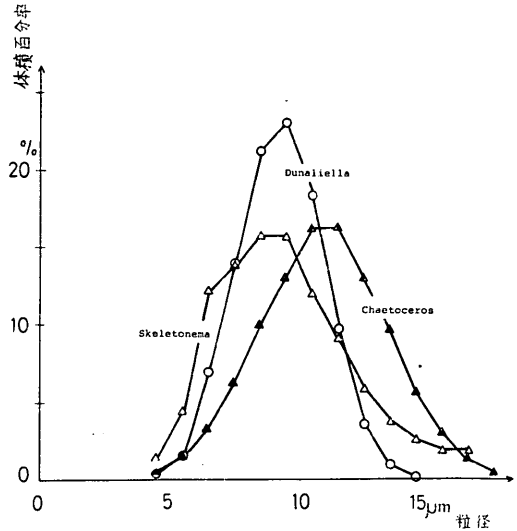


図-2 各藻種の粒径分布

の培養器の藻現存量について各指標で測定し、ばらつきについて比較した。C.O.D., S.S., クロロフィルの各指標は、分析上の精度、分析テクニックや熟練度、測定に使用できる培養液量の制約なども加味されたばらつきである。表-3に見られるように、精度上からは、細胞数、吸光度、T.O.C. などがばらつきは小さく安定した指標であり、測定も容易で要する時間、液量も小さい。

つぎにこの 3 指標を用いて、*Dunaliella* の増殖をモニターしてみる。試料水には、Erdschreiber 培養液（組成は表-4 に示すもので、一般的な海産藻の培養液として知られている。）及び久里浜湾奥海水のろ過液を用いた。図-3 の各増殖曲線*を比較すると、初期の藻濃度の低い時には藻濃度変化に対し T.O.C., 吸光度ともに敏感ではなく、定常期には吸光度がややばらつくとともに T.O.C. は増加を続け安定しないことがわかる。これは T.O.C. が厳密には藻の現存量を意味しておらず、生産された溶解性有機物をも含んで測定されるためと思われる。

表-3 藻現存量各指標のバラつき (n=8)

指 標	必要液量	平均 \bar{x}	標準偏差 σ	変化率 σ/\bar{x}
細胞数	約 20 ml	$2.85 \times 10^5 \text{ cell/ml}$	0.18×10^5	0.087
吸光度(600nm)	約 4 ml	.182	.014	0.077
C.O.D.	10 ml	14.3mg/l	4.1	0.287
T.O.C.	1 ml	22.7mg/l	3.1	0.137
乾重量(S.S.)	200~500ml	34.8mg/l	11.1	0.319
クロロフィル a	200~500ml	106.5 $\mu\text{g/l}$	56.5	0.53

* 流入、流出のない一定容積の培養液中で培養する事を回分培養（バッチ培養）という。回分培養の際の藻の増殖の一般的特徴は、付録を参照されたい。

表-4 Erdschreiber 液組成

NaNO ₃	0.1 g
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	0.02 g
Soil Water	50 ml
Sea Water	to 1000 ml
pH Free	

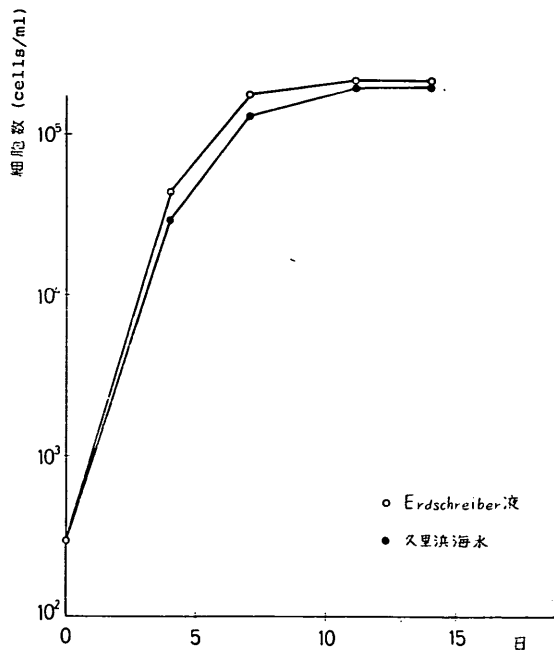


図-3 (a) 細胞数指標による増殖曲線

る。細胞数は接種から増殖完了時まで2~3けた程度の大きな変化を示し、他の2指標に比して敏感であり増殖曲線も適切である。当所所有の測定装置モデル(コールターカウンターZB型)では、測定に要する液量がやや多い傾向にはあるが、最も有効な指標である。

連続培養による *Dunaliella* の生理特性の研究例³⁴⁾でも、増殖指標として、コールターカウンターによる細胞数、P.O.C., P.O.N., クロロフィルaなどを比較したところ細胞数が最も容易に分析でき安定していたとされている。同時に3回測定した定常状態の細胞数のばらつきは、この例では、3%以下の変化率(σ/\bar{x})であったとされている。

計3回の培養実験より求めた定常期の各指標間の関係を表-5に示す。細胞数とS.S.とはよい相関を示している。増殖にともなう細胞径の分布の変化は、例えば図-4のようである。増殖が定常期に達した後最大増殖量となる。定常期は貧栄養試水で早く表われるが6~12

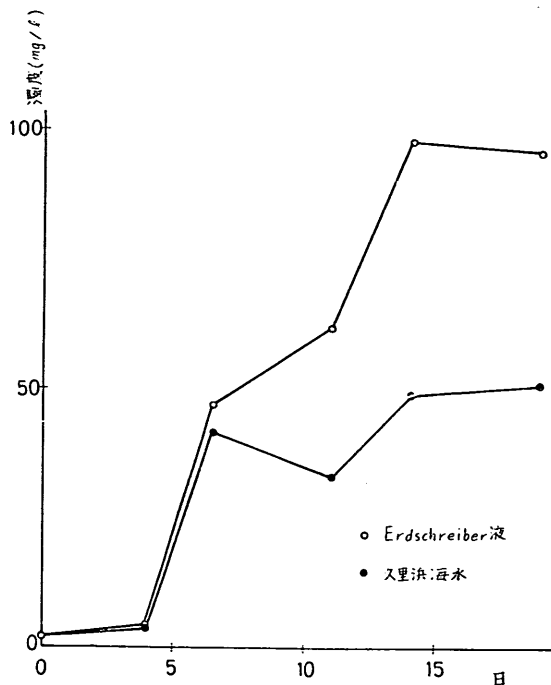


図-3 (b) 吸光度濁度換算指標による増殖曲線

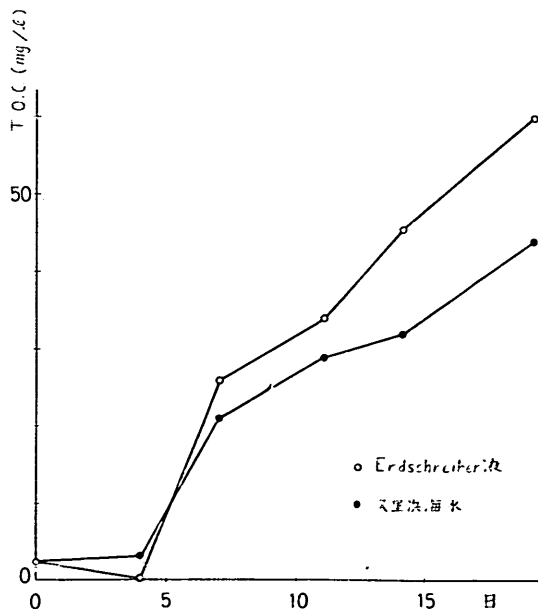


図-3 (c) T.O.C. 指標による増殖曲線

日後に達することが多く、培養期間は15日程度を見込めば十分である。一般には、対前日比増加率5%を下回る時に定常期にはいったと判断されるが、定常期開始後も藻の現存量モニターを続ける方がよい。定常期は、*Dunaliella* の場合比較的安定して続く。

4.3 培養方式

表-5 各指標間の関係 *Dunaliella* 乾重量
1 mg S.S. に対して

指 標	測 定 値	文 献 例
細 胞 数 (cells)	3.1~3.6×10 ⁶	3.3 ^{*)} ×10 ⁶
クロロフィル a (μg)	3.2~4.3	5.56 ^{**)}

*) (M.A.A.P.)²⁸⁾ **) (Jeffrey)²⁹⁾

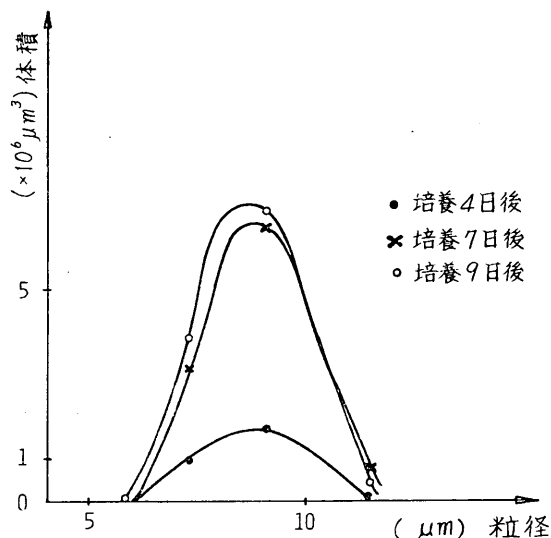


図-4 *Dunaliella* の増殖ともなう粒径分布変化例

藻の回分培養を行う際、培養容器、培養方式は重要である。多くの A.G.P. 試験例では、エルレンマイヤーフラスコ（三角フラスコ）を用いた静置もしくは振とう培養方式が多く、小容量の試験管を用いた培養例もある。A.G.P. 試験としては、増殖が水質以外の要因で阻害されることなく、増殖量が精度良く再現性良く計測できることが必要となってくる。培養容器としては

a) CO₂ の供給不足およびそれに起因する溶液 pH の上昇が増殖を制限しないこと、そのため CO₂ の大気よりの溶解を保障するガス交換能が十分あること

b) 光の照射量不足、特に藻が高密度に増殖した時に藻自体の光散乱による照度減衰で増殖を制限しないこと。そのため十分な照度が得られると同時に光の透過距離を小さく培養液厚をうすくすること

c) 微量の栄養素について試験を行なう際は無論のこと、通常の培養においても、容器壁よりの溶出による影響を防ぐための容器の材質がそろっていること

d) 指標の測定精度の向上のため、増殖指標分析に用いる培養液量なるべく大きいこと（特に S.S. クロロフィルにとっては液量が多いほど精度が上がる）

e) 増殖の様子を経時的にモニターするためのモニタ

ー採水が培養条件に与える影響、培養開始時の接種の際の混入物質や持ち込み栄養塩の影響などを軽減し、再現性を改善するためには培養液量なるべく大きいこと

f) 培養前後の洗浄、滅菌操作が容易なこと
などが必要な条件となる。

このうち a), b) の条件と d), e) の条件とは相対立する要件である。振とう培養方式は、気液の接触部分を断えず更新するため静置培養方式に比してガス交換能が大きくなり、同一容器でも試料水の水量を大きくとることができる。また液の均一性の点からも振とう方式が望ましいとされている²⁸⁾。

そこで以下に示す3種の培養方式により同一試料水で培養実験を行ない比較した。培養方式の概念図を 図-5 に示す。

a) 500 ml 容三角フラスコ内に 100 ml の試水、静置方式

b) 500 ml 容 L 型培養管内に 200 ml の試水、振とう方式

c) 1000 ml 容 L 型培養管内に 500 ml の試水、振とう方式

振とうは、いずれも毎分30回往復振とうとした。

使用試水は、無機態窒素 110 μg-at/l、無機態リン 15 μg-at/l 程度の富栄養自然海水もしくは無機態窒素 11 μg-at/l の貧栄養自然海水の各ろ液である。温度は 20°C ± 2°C、光の照射は照度 10000 lx を 12 時間明、12 時間暗のサイクルでくり返した。ただし静置培養では照度 2500 lx を用いた。これらの結果を表-6 に示す。表-6 (a) によれば、サンプル数がちがうため厳密に比較できないが、同一振とう培養方式内では、培養器の容量による最大増殖量の差はないとみなせる。また表-6 (b) より、振とう培養と静置培養とでは、照度条件が異なるが振とう培養法が概してばらつきが小さいことがわかる。pH の点では両培養法とも 8.3~8.2 を示し問題なかった。モニター採水等の影響を考え、液量の大きな 1000 ml 容 L 型培養管を用いた振とう方式（写真-3）

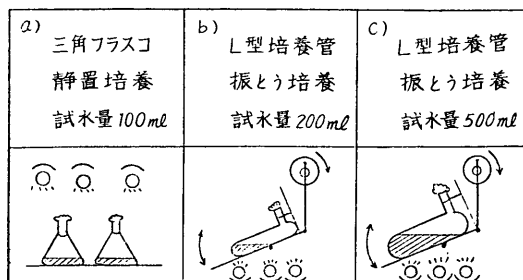


図-5 検討培養方式

表-6 最大増殖量(細胞数)のばらつき
表-6-(a) 振とう培養方式における液量の差

液量	最大増殖量(cells/ml)		σ/\bar{x}
	\bar{x}	σ	
500 ml/1000 ml 容 振とう培養	2.05×10^5	0.128×10^5	0.087(n=8)
200 ml/500 ml 容 振とう培養	2.18×10^5	0.048×10^5	0.022(n=3)

表-6-(b) 振とう培養方式と静置培養方式の差

方式	\bar{x}	σ	σ/\bar{x}
500 ml/1000 ml 容 振とう培養	0.41×10^5	0.115×10^5	0.28 (n=8)
200 ml/500 ml 容 静置培養	0.17×10^5	0.105×10^5	0.62 (n=8)

表-6-(c) 栄養状態の差

栄養状態	\bar{x}	σ	σ/\bar{x}
富栄養海水	2.05×10^5	0.178×10^5	0.087(n=8)
貧栄養海水	0.41×10^5	0.115×10^5	0.28 (n=8)

が3方式の中で良いことがわかる。この培養方式を用いて海水の栄養状態による増殖量のばらつきを調べた。表-6(c)より、貧栄養海水での最大増殖量がややばらつき30%の変化率となっているものの、富栄養海水に対しては10%前後の変化率で藻の潜在生産力を見積れることがわかる。同一試水に対しては2~3本程度の同時培養を行なってばらつきに対処するようにすべきである。

4.4 Dunaliella の塩分特性

かなり広域にわたって自然海水の A.G.P. を測定する際に、培養藻種の塩分に対する特性を知っておく必要がある。外洋性の藻種は、低塩分の沿岸海水での培養の際外海水に比して同一栄養レベルでも低い増殖量を示す傾向があり、汽水性の藻種では、ある塩分範囲ではよく増殖するが、それより高塩な外洋水や低塩な沿岸水ではあまり増殖しないものもある。塩分濃度に特に敏感な藻種では、培養試験で示される最大増殖量が、そのまま栄養レベルを示す指標とはみなせないこともある。このため河川流入量が大きく水域の塩分分布が大きく変化する海灣では注意が必要である。

ここでは同一栄養レベルの試水についてその塩分濃度のみを変え、増殖の様子を観察し、Dunaliella tertiolecta の塩分適応性を次のようにして調べた。

まず、栄養塩類を含まない人工海水を作成する。人工海水としては改変 Burkholder 人工海水(塩分濃度 35‰)を用いる。その組成は表-7に示すとおりである。つぎに、イオン交換処理をした脱イオン水を更に蒸溜し

表-7 改変 Burkholder 人工海水組成

NaCl	23.48 g
Na ₂ SO ₄	3.92
NaHCO ₃	0.19
KCl	0.66
KBr	0.10
H ₃ BO ₃	0.03
MgCl ₂ ·6H ₂ O	10.61
SrCl ₂ ·2H ₂ O	0.04
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.47
H ₂ O	to 1000 ml

た再蒸留水でこの人工海水を希釈し、塩分濃度の異なる5種(35‰, 31.5‰, 28‰, 21‰, 14‰)の人工海水を作る。さらに、この人工海水に、東京湾、大阪湾等の栄養レベルを考慮し、無機態窒素、無機態リンを添加する。無機態窒素としては NaNO₃、無機態リンとしては K₂HPO₄ を用い、予め高濃度に溶解させた原液を、500ないし1000倍に希釈添加する。その結果添加後の人工海水の濃度は、(無機態窒素、無機態リン)としそれぞれ(200 μgN/l, 20 μgP/l) (100 μgN/l, 10 μgP/l) の2段階のものが作成できる。500 ml の人工海水培養液に対し添加栄養原液は 0.5 ml~1.0 ml であるので、栄養塩添加による塩分濃度の変化は無視できる。このようにしてできる塩分濃度5種、栄養レベル2段階の10ケースについて、各ケース同一試水3本づつ培養する。接種用の藻は、予め培養増殖させた定常期初期(培養7日目のもの)のものをを用いる。遠心分離器を用い、3000 r.p.m. 10分間の遠沈操作で藻体を沈降濃縮する。上澄液のみを捨て、残った藻体を栄養無添加の35‰人工海水に再懸濁させ、再び遠沈濃縮する。このような人工海水による藻の洗浄により、接種の際に接種液中に含まれる栄養塩をへらし、栄養塩の持ち込みによるばらつきを防ぐ。接種量は、接種後細胞数が 3×10^2 cells/ml となるようにする。接種液量は 500 ml に対し 1 ml で、塩分変化は無視できる。

培養は、1000 ml 容のL型培養管内に試水 500 ml を入れ、毎分30回の振とう培養とする。温度は 19°C±2°C 照度は 8000 lx とし、16時間明、8時間暗の状態をくり返す。2~3日毎に 20 ml 程度サンプリングし、細胞数を計測する。

その結果、図-6のような増殖がみられた。Dunaliella は、35‰で最もよく増殖し外洋性種の挙動を示している。14‰の汽水でも増殖するが、その際に最大増殖量がおさえられる。最大増殖量と塩分濃度との関係は、図-7のようになる。図-7には3本ずつのサンプルの平均値と

標準偏差の中とを图示してある。また最大増殖量のばらつきや、栄養添加による増殖のびは、表-8のようになり、塩分濃度にかかわらずほぼ安定している。

従って、塩分濃度15~35%程度の築囲内で、最大増殖量より求めた A.G.P. 値は、栄養レベルを表わす指標と

して利用できることがわかる。1%の塩分濃度差では、600~700 cell/ml の増殖量差をもたらし、汽水域で増殖がおさえられる。栄養レベルは沿岸域が高く、外海域で低い状態が一般的であり、Dunaliella の塩分特性はこのレベルの差を縮小する方向に作用する。広い海域や河川流入量の大きい海域では、塩分濃度をも同時に測定し、チェックすることが必要である。

4.5 Dunaliella の栄養要求性と接種前処理

富栄養化の主要な因子である窒素、リン等の栄養塩に対する増殖量の感度^{*)}を調べた。Dunaliella の栄養要求についての測定例は少ないようである。窒素の利用についての実験例³⁾では、硝酸態の窒素よりアンモニア態の窒素を摂取しやすいが、窒素が制限因子となっている時には硝酸態窒素を利用し残すことはなかったとされている。ここでは無機態窒素、無機態リンについて種々の

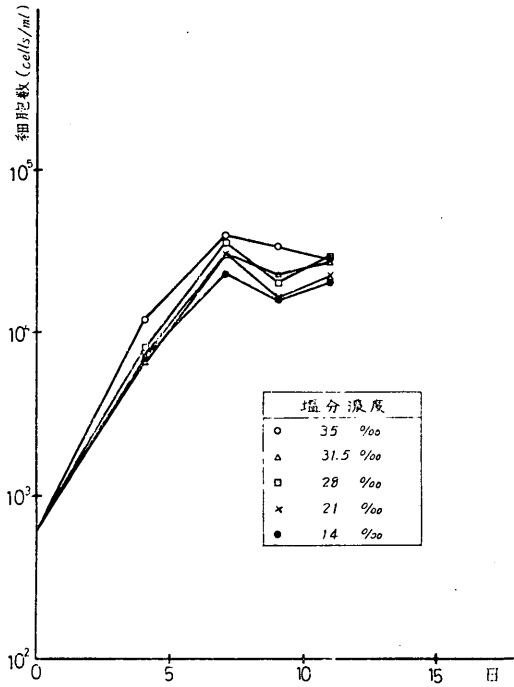


図-6 Dunaliella の塩分特性 (1)

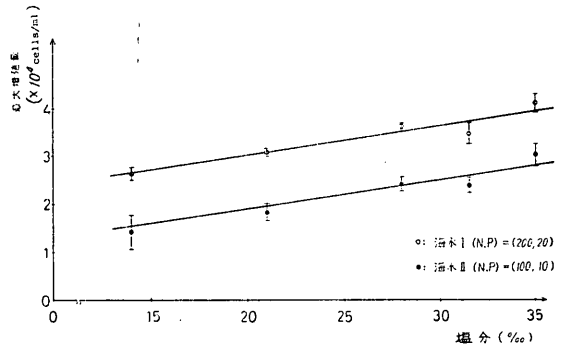


図-7 Dunaliella の塩分特性 (2)

表-8 塩分濃度による最大増殖量の特性格化

塩分濃度 S	栄養レベル (N, P) 濃度 (単位; μg/l)	最大増殖量			栄養レベルに対するのび率
		平均 \bar{x} (n=3)	標準偏差 σ	変化率 σ/\bar{x}	
35‰	(200, 20)	41.5×10^3	2.01×10^3	0.05	10.9×10^3
	(100, 10)	30.6	2.32	0.08	
31.5‰	(200, 20)	34.7	2.25	0.07	10.7
	(100, 10)	24.0	1.71	0.07	
28‰	(200, 20)	36.4	0.59	0.02	12.1
	(100, 10)	24.3	1.49	0.01	
21‰	(200, 20)	30.9	0.87	0.03	12.5
	(100, 10)	18.4	1.85	0.10	
14‰	(200, 20)	26.4	1.30	0.05	12.2
	(100, 10)	14.2	3.63	0.26	

*) 栄養塩に対する藻の一般的生理については付録 B を参照のこと。

濃度で添加した海水試料例を作製し、増殖量の変化を調べ、感度の定量化を試みた。

窒素(N), リン(P)の添加培養試験の繰り返し実験から、次のことがわかった。

a) N, P 濃度の高い試料では高密度に増殖するため、培養照度、自己分泌物、ガス交換能などが増殖の制限になる可能性があり、N, P 等の栄養塩に対する増殖量の対応変化が不明になる傾向があること。N, P 濃度にかかわらず増殖量が頭打ちになる限界は、細胞数で $15 \sim 20 \times 10^4$ cells/ml 程度であること。

b) 接種液量が多いと、種保存液中の N, P が試水液中に持ち込まれる可能性があること。

c) 接種前の藻の保存培養条件によっては藻の細胞内に P の貯蔵が起きている可能性があり、試水液 P 濃度に対応しない大きな増殖を示す場合があること。

そこで添加培養実験として次の方針で実験を行った。

a) 表-9 に示す組成を有する M.A.A.P. 指示の Dunaliella 培養液を必要栄養が適正比率で含まれている完全培養液とする。

b) この培養液の N, P, 微量元素類 (Trace Metal), キレート剤 (Na_2EDTA) を対象として、これらの添加濃度を変えて増殖量の変化をみる。

c) 接種用の藻について、対象各栄養素に対して飢えた状態を作り出すこと (starvation) を前処理として行ない、貯蔵栄養を予め消費させる。starvation 処理として表-10 に示すような対象栄養素 1 種のみを除いた培養液にてうえ継ぎ培養をする。

d) starvation 処理後に接種培養する培養栄養条件は表-11 に示す 21 ケースとし、各ケース毎に 2 ~ 3 本の培養管を用いて同時培養し、ばらつきに対する精度向上をはかる。

その結果、次のようなことが明らかになった。

a) starvation 処理での増殖は 図-8 に示すようになり、保存種を N 欠乏液、P 欠乏液、などに接種しその増殖を調べると、N 欠乏液での増殖量は小さいが、P 欠乏液では細胞内貯蔵 P を利用しての増殖がかなり大きい。この増殖した藻を更にもう一度 P 欠乏液にうえ継ぐと、増殖は小さくなり、細胞内貯蔵 P は第 1 回目の starvation 処理でほぼ消費されている。キレート剤欠乏液、微量元素類欠乏液では 2 回の starvation 処理でも各々増殖量が大きく対照液との差ははっきりしない。

b) N, P 添加による増殖量の伸びは 図-9(a) ~ (f) のとおりである。微量元素類欠乏、キレート剤欠乏に対する土壌抽出液の添加効果ははっきりしない。これにつ

表-9 M. A. A. I. の培養液組成^{2B)}

NaNO_3	25.5 mg
K_2HPO_4	1.05
Na_2EDTA	0.300
N. A. A. M. Trace Metal*	1 ml
変更 Burkholder 人工海水**	to 500 ml
* N. A. A. M. Trace Metal 液	
H_3BO_3	92.8 mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	208.
ZnCl_2	16.
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.714
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.0107
$\text{Na}_2\text{MgO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	3.63
純水	to 500 ml

** 変更 Burkholder 人工海水 表-7 を見よ。

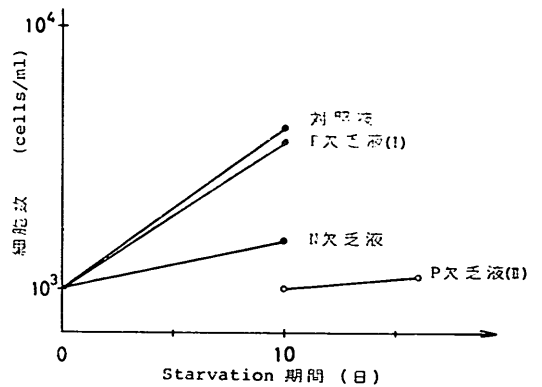


図-8 starvation 前処理用培養液での増殖量

いては両者に対する Dunaliella の要求性が低い、試薬自体に含まれる混入金属の影響、無菌培養でないことなどの原因が考えられる。

従って、接種前処理法および栄養に対する感度として次のように考えてよい。

a) N の細胞内貯蔵は小さく、貯蔵 P も 1 回の starvation 処理でほぼ消費される。接種前処理としては P 欠乏液にて 10 日間程度の培養が良い。接種の際試料水中に持ち込まれる栄養塩をできるだけ小さくするために、starvation 後の藻は N, P を含まない人工海水で洗浄し、人工海水中の懸濁液を接種すると良い。接種量によって最大増殖量が変化することは小さく、M.A.A.P. によれば接種細胞数が 10 倍程度異なっても同じ最大増殖量が得られている。接種量は増殖に支障がない限り小さい方が好ましく、ここでは接種後の試料水中に $500 \sim 1000$ cells/ml 程度となるように接種して特に問題は

表-10 Starvation 前処理用培養液

培 養 液	基 礎 液	N ($\mu\text{g-N/l}$)	P ($\mu\text{g-P/l}$)	EDTA ($\mu\text{g/l}$)	微 量 金 属
N 欠 乏 液	人 工 海 水	0	20	300	NAAMレベル
P 欠 乏 液	人 工 海 水	200	0	300	NAAMレベル
EDTA 欠 乏 液	人 工 海 水	200	20	0	NAAMレベル
微量金属塩欠乏液	人 工 海 水	200	20	300	0
対 照 液	人 工 海 水	200	20	300	NAAMレベル

表-11 培 養 実 験 ケ ー ス

ケース	対象栄養素	基 礎 液	添 加 栄 養 塩			接種前処理	培養本数
			N	P	土壌抽出液		
P 11	P	人 工 海 水	$\mu\text{g-N/l}$	$\mu\text{g-P/l}$	ml/l	P 欠乏液 培 養	2
12			+1500	0	+20		3
13			+1500	+10	+20		3
14			+1500	+30	+20		3
P 21			+1500	+100	+20		3
22			+1000	0	+20		2
23			+1000	+10	+20		3
24			+1000	+30	+20		3
N 11	N	人 工 海 水	0	+100	+20	N 欠乏液 培 養	2
12			+100	+100	+20		3
13			+300	+100	+20		3
14			+1000	+100	+20		3
S 01	対 照	人 工 海 水	+1000	+30	0	微量金属 欠乏液培 養	3
02		+微量金属	+1000	+30	+2		3
03		+EDTA	+1000	+30	+20		3
S 11	微 量 金 属	人 工 海 水	+1000	+30	0	微量金属 欠乏液培 養	3
12		+EDTA	+1000	+30	+2		3
13		+EDTA	+1000	+30	+20		3
S 21	キレート剤 (EDTA)	人 工 海 水	+1000	+30	0	EDTA 欠乏液培 養	3
22		+微量金属	+1000	+30	+2		2
23		+微量金属	+1000	+30	+20		3
計 21ケース							60本

表-12 N, P $1\mu\text{g/l}$ 添加による最大増殖量の増加率

添 加 栄 養 塩	細胞数の増加	乾重量の増加	M.A.A.P. の実験例 乾重量の増加
$\text{NO}_3\text{-N } 1\mu\text{g-N/l}$	$0.3\sim 0.2\times 10^3\text{ cell/ml}$	$0.08\sim 0.07\text{ mg SS/l}$	$0.0315\pm 0.0361\text{ mg SS/l}$
$\text{PO}_4\text{-P } 1\mu\text{g-P/l}$	$3\sim 2.5\times 10^3\text{ cell/ml}$	$0.9\sim 0.75\text{ mg SS/l}$	$1.129\pm 0.232\text{ mg SS/l}$

ない。接種する藻の洗浄、濃縮には遠心分離操作を用いることが望ましい。

b) N, P 添加による最大増殖量の伸びは、図-10 の

ように大きく、一定の傾きに乗ることがわかる。N, P 各 $1\mu\text{g/l}$ 添加による最大増殖量の伸びは、表-12 のとおりである。M.A.A.P. の実験例ともかなり合致してい

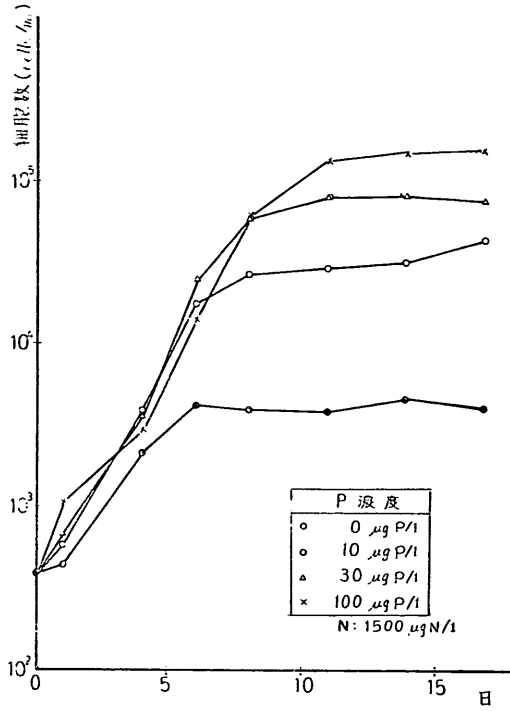


図-9-(a) P添加による増殖量ののび

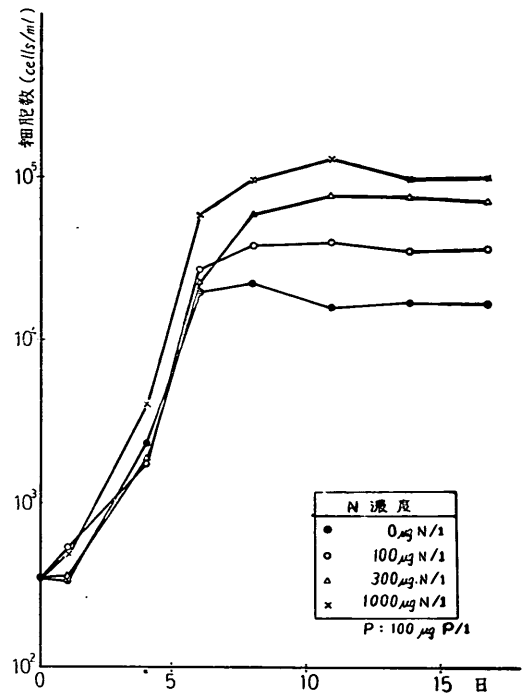


図-9-(c) N添加による増殖量ののび

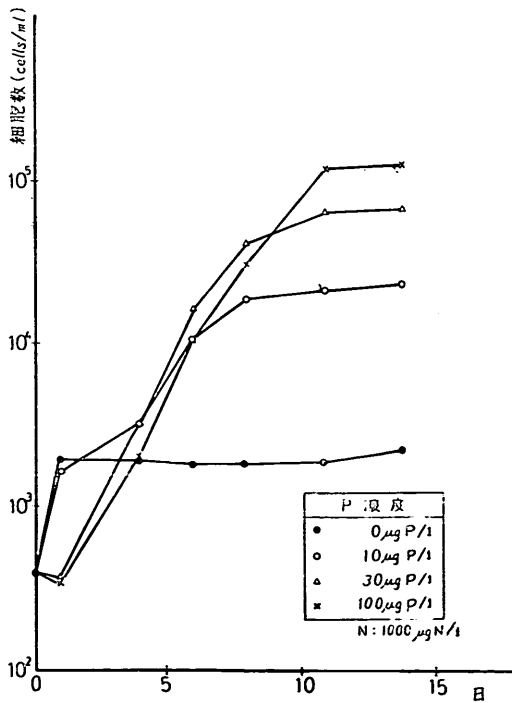


図-9-(b) P添加による増殖量ののび

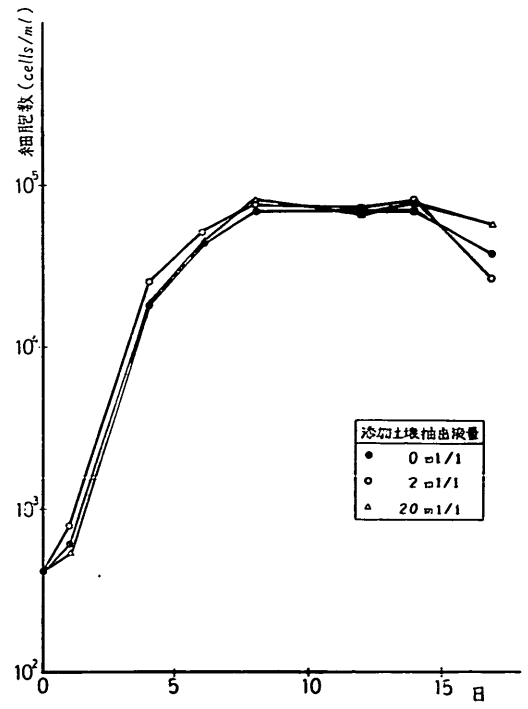


図-9-(d) 土壌抽出液による増殖量ののび

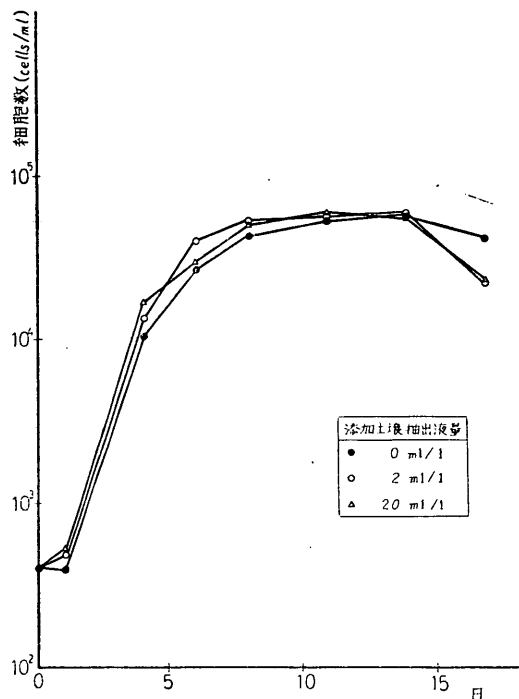


図-9-(e) 土壌抽出液による増殖量ののび

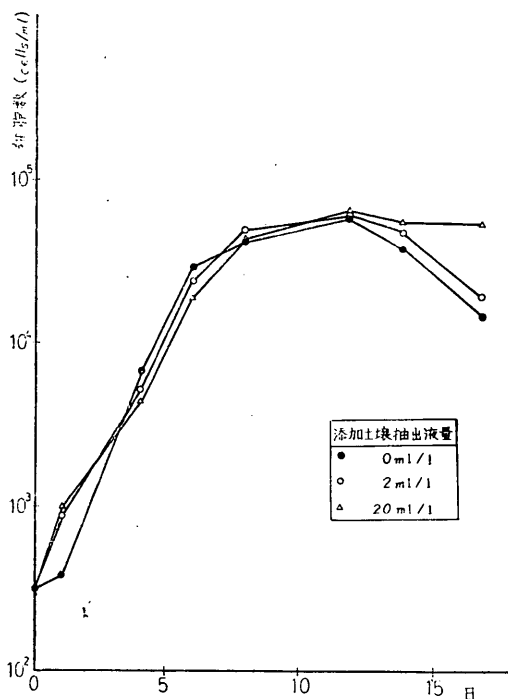


図-9-(f) 土壌抽出液による増殖量ののび

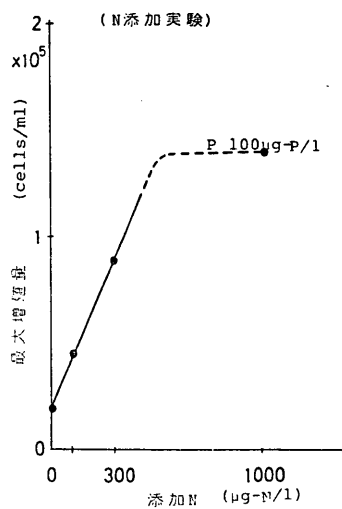
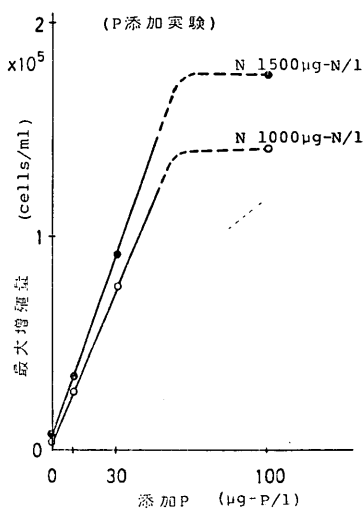


図-10 栄養塩添加による最大増殖量ののび

表-13 *Dunaliella t.* の要求 N/P 比

乾重量 1 mg を増大させる N/P 比		
今回の実験 (NO ₃ -N/P)	M.A.A.P. の実験例	
	NH ₄ -N/P	NO ₃ -N/P
11.	35.8	14.8

る。*Dunaliella* の要求 N/P 比は表-13のようになる。

微量元素類やキレート剤に対する感度、土壌抽出液添加感度はこの実験でははっきりしない。試薬等の精度改善や無菌的な培養方法の検討が必要であろう。

N, P 濃度が各々 500 μg/l, 50 μg/l 程度以上ある試料については増殖が頭打ちになる可能性があるので試料の希釈が必要となる(図-10)。

4.6 照射光量

Dunaliella 培養の際の設定照度について検討する。M.A.A.P. では $19^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ の設定温度で $4300\text{lx} \pm 10\%$ が望ましいとしているが、その選定根拠は不明である。光の強さは増殖速度を左右する。A.G.P. 試験を行う際の光の条件としては、次のようなものが考えられる。

- a) 強光、弱光による生長阻害が起こらないこと。藻に対し無理な生理的負荷をかけないこと、
- b) 培養期間はできるだけ短い方が混入や培養上のトラブル（停電等）を避ける意味で好ましい。自然な照度のうちでなるべく明るい照度が良い、
- c) 接種直後の藻濃度の低い時には特に強光阻害を受けやすく、その恐れのある場合には一定期間低照度の培養を行う必要がある。

ここでは設定温度 $19^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ で 5000, 10000, 14000 lx の照度により培養を行ない、その最大増殖速度の変化を観察した。試水は無機態窒素 $180 \mu\text{g-N/l}$ 無機態リン $20 \mu\text{g-P/l}$ 程度の栄養塩添加自然海水を用い、土壌抽出液を添加した場合と、しない場合の両者について培養を行なった。

この結果、上記の実験範囲の照度では Dunaliella に

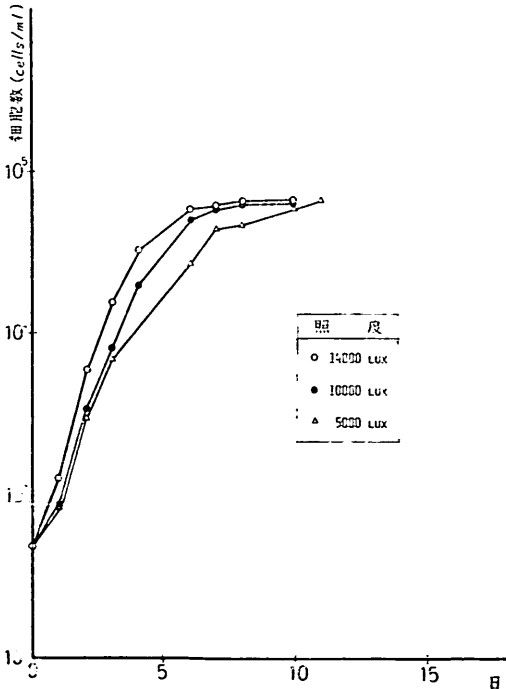


図-11 照度による増殖曲線の変化

ついてつぎのことがいえる。

- a) 図-11 の増殖曲線から、照度の上昇に伴い増殖速度 (μ) が大きくなることわかる。各ケースの最大増殖速度 (10を底にした) と照度とは、図-12 のように Monod 型^{*}の関係があることがわかった。飽和照度は 10000 lx 前後と思われる。
- b) 最大増殖量は、この範囲の照度には左右されない。すなわち強光阻害はみられない、
- c) 土壌抽出液の添加は、この海水に対して増殖速度をやや上昇させたらしい、
- d) 藻細胞数を N として $\ln [N/(N_{\text{max}}-N)]$ を培養日数に対してプロットすると 図-13 のようになり、培養初期、定常期を除いてほぼ直線にのる。すなわち、細胞数を指標とした増殖曲線がロジスチックカーブ^{**}で近似できることが確認できた。

栄養条件の悪い自然海水では、照度の条件についてもきびしく、弱光・強光の阻害が出やすい。飽和照度が栄養条件の変化にどう対応するのか不明であるが、A.G.P. 試験には 10000 lx 弱の照度を用いて良いと思われる。6000~10000 lx 程度の照度では、無機能窒素 $50 \mu\text{gN/l}$ 程度の自然海水で藻濃度 1000 cells/ml 弱の接種後でも阻害は認められず、問題はなかった。

4.7 試料水の予備処理

試料の滅菌を行なう予備処理の過程で、試料中に含まれている栄養塩量がどの程度変化するかを知る必要がある。オートクレーブの方がろ過に比してより大きな増殖量を示す傾向があるけれども試水によってかなり変化するとと思われる。

一般に水溶液中の P は、土粒子に吸着される³³⁾と言われ、ろ過処理では、ろ紙もしくはろ紙上の土粒子に吸

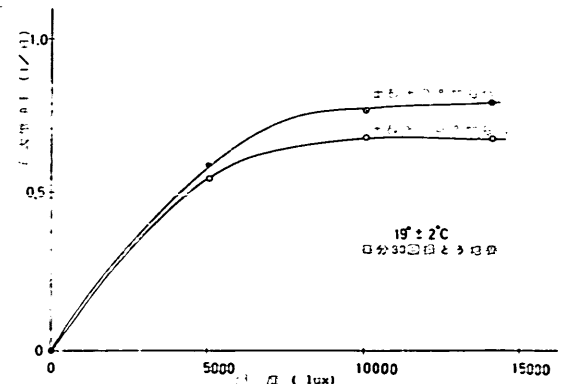


図-12 照度による最大増殖率の変化

*)**, 増殖速度, 増殖曲線については 付録 B 参照。

表-14 ろ過による PO₄-P 損失例

対象水	PO ₄ -P 濃度 (μg-at/l)			
	K ₂ HPO ₄ 溶液 + 土 砂 混入液		久里浜 海水 + 土 砂 混入液	
ろ過前	23.2		4.2	
ろ過後	23.6	21.3	4.2	3.0

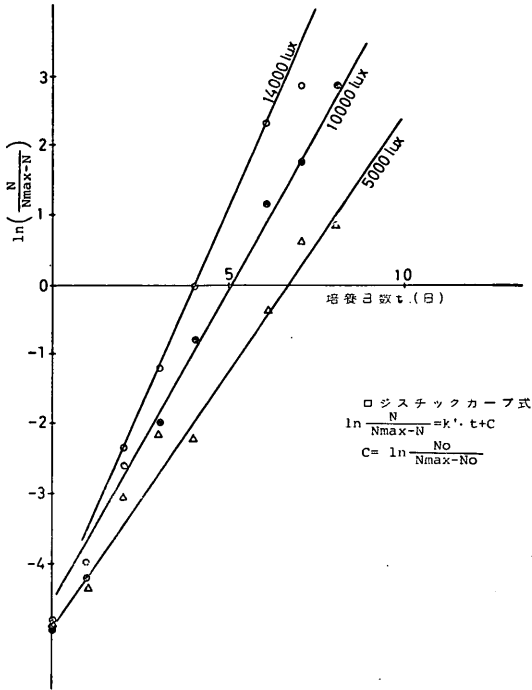


図-13 ロジスティックカーブあてはめ検定グラフ

着、抑留される。表-14 に示す PO₄-P 損失実験では、けん濁質の少ない海水に対しろ過後も 100% 近い無機 P の回収があるが、この海水に土粒子を混在させると、P の濃度によっては 6 割程度しか回収できないことがあった。

土砂よりの P 以外の溶出物の添加を試みる時は、非常に高濃度の土砂を用いて溶出させ、溶出液を少量ずつ各試料に希釈添加するなどの工夫が必要である。どうしてもろ過を避けたい時には、土粒子の混在するままの液にて培養することも検討する必要がある。その際には、増殖指標に工夫が必要となる。

また嫌氣的な試水を好氣的状態にすると、それまでの

溶解 P が非溶解化し溶存 P 濃度が変化する可能性もある²⁾。このような試水に対しては嫌氣的状態での予備処理法、例えば N₂ ガスによる加圧押し込みろ過などを検討する必要が生じてくる。

プランクトンがすでに発生している海域の水については、これを分解、無機化して初めて潜在生産力が測定できる。無機化は、普通オートクレーブが用いられているが、分解を完全に行うために、目的によっては別の方法も考えられる。

20°C 暗所に放置し、バクテリアによるプランクトンの分解、無機化をはかる方法を検討するため、放置海水の栄養塩の損失を調べた。対象海水は、プランクトン、けん濁土砂等をほとんど含んでいない自然海水である。その結果は表-15 にとおりであり、10日間程度のガラスビン、暗所放置で、それほど大きな損失はなかった。プランクトンを含んだ場合については別途検討を要するが、海水によってはこの期間程度でバクテリアの分解、栄養塩の溶出の効果が期待できそうである。

試料の予備処理は、単一種の藻種培養の際には、避けられない。各処理法の特質を把握し、試水の状態を考慮して目的に合った方法を選ぶようにすべきである。

4.8 Dunaliella を用いた培養試験方法

以上の基本的な実験での知見をふまえて、Dunaliella tertiolecta を用いた A.G.P. 測定のための培養法を以下のように定めた (図-14)。

表-15 暗所放置による栄養塩の損失

前 処 理 法	海 水 ケ ー ス I			海 水 ケ ー ス II		
	PO ₄ -P	無機態 N*	最大増殖量	PO ₄ -P	無機態 N*	最大増殖量
原 水	μg-at/l 2.4	μg-at/l 6.1	cell/ml	μg-at/l 21.4	μg-at/l 285	cell/ml
ろ 過	2.2	7.9	6.3×10 ⁴	20.9	276	15.6×10 ⁴
オートクレーブ	1.9	4.7	5.0	21.5	251	16.1
5 日 間 放 置	1.9	14.6	8.2	21.5	249	14.7
10 日 間 放 置	2.4	42.4	10.2	16.0	239	—

* 無機態 N = (NH₄-N) + (NO₂-N) + (NO₃-N)

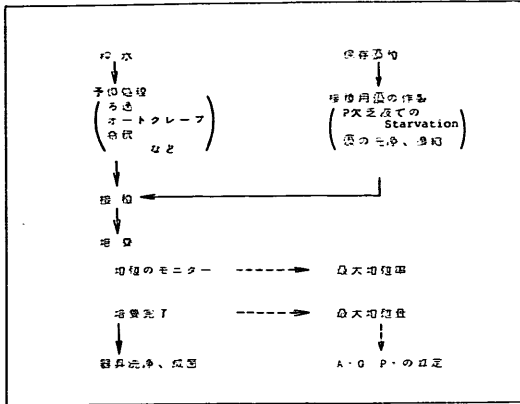


図-14 A.G.P. 試験フロー

(1) 試水

試水は、金属を含まない採水装置により採水し、冷蔵状態で運搬する。運搬、保存にはガラス容器を用い、ポリエチレン容器は栄養塩のうちPを壁に吸着させると言われ、好ましくない。採水後すみやかに培養試験を始める必要がある。貯蔵が避けられない場合は、なるべく短期間とし、後述の予備処理滅菌を行った後の状態で貯蔵する。

(2) 試水の予備処理

試水に対し単一種の藻を接種するために、何らかの滅菌処理を要する。滅菌方法は

- 1) ろ過 (0.45 μ m 径又は 1.2 μ m 径メンブランろ紙)
- 2) オートクレーブ (121°C 10~20分間)
- 3) 両者の組合せ

のいずれかの方法による。これらは、目的、試水の状態によって選択すべきであり、藻がすでに大量に発生している試水では、オートクレーブ等による藻の分解が必要であり、著しく濁った試水では、ろ過処理を欠くことができない。栄養塩の濃い、A.G.P. の高い試水は、希釈をして、最大増殖を低くして培養を行う必要がある。希釈には、A.G.P. の低い人工海水又は外洋海水を用いるが、外洋海水を用いる時は、含有 N, P 栄養塩量、最大増殖量のチェックが必要である。潜在藻類増殖能力として評価する際には、希釈率の補正を行う。

$$A.G.P. = \frac{C - (1-a)C_0}{a} \quad (1)$$

- a : 希釈率 (無希釈を 1 とする)
- C : 希釈後試水の最大増殖量
- C₀ : 希釈用海水の最大増殖量

(3) 藻の接種

単一種の接種を行なう。接種する藻は、十分に増殖能

力のあることが必要であり、又藻内に P の貯蔵がないことが望ましい。Dunaliella t. の場合、Erdschreiber 液 (1/10~1/5) で増殖、保管を行い、接種に際しては P を除いた Erdschreiber 液 (1/10~1/5) で 6~9 日間程度の starvation を行う。starvation を行なった後、N, P を含まない人工海水にて藻を洗浄し、Erdschreiber 液に含まれている栄養塩の試水への持ち込みを避ける。

藻の接種量は、接種後の藻濃度が、試水中に 500~1000 cells/ml 程度となるようにする。接種は、遠心分離器 (3000 r.p.m. 5~10分) で濃縮した懸垂液を滅菌したピペットで添加する。添加液量は、試水 500 ml に対し 5~0.5 ml とし、試水の栄養条件を変化させないようにする。従って添加液には、500 \times (500 ml/添加液量 ml) (cells/ml) 以上の細胞を含むことが必要となる。

(4) 培養方法

Dunaliella t. は、振とう培養、静置培養いずれでも増殖する。培養液量を増加させるため、ここでは以下の容器による毎分30回程度の振とう培養を採る。

1000 ml 容 L 字型培養管中に試水 500 ml, 500 ml 容 L 字型培養管中に試水 200 ml。この方法によれば、ガス交換による CO₂ の供給は十分であると考えられる。pH の上昇による増殖阻害はほとんど問題にならないようである。温度、照度は、19°C \pm 2°C°, 6000~8000 lux とし、照明は白色蛍光灯を用い12時間又は16時間の明、12時間又は8時間の暗状態をくり返す。同一試水について3本程度同時に培養を行ない、培養時のばらつき等に対処できるようにする。

(5) 増殖量のモニター

経目的に 20~30cc 程度のサンプリングを行い、コーンターカウンタにて、細胞数の変化をモニターする。サンプリング試水量が、少なくないので初期には 2~3 日毎、定常期には 1~2 日毎にモニターをする。細胞数の増加が 5%/日程度になったら、定常期と判定される。しかし予め培養実験で、最大増殖量に達するまでの日数を調べておくことが望ましい。又、なるべく増殖曲線をプロットし、増殖に不都合が起きたか否かを確認することが望ましい。最大増殖率を知る必要がある場合には、対数増殖期終了まで細胞数を連日測定する。対数増殖期は、接種後ほぼ 9~10 日目までには終了し、定常期となることが多い。

最大増殖量は、細胞数の他に、藻乾燥重量 (S.S.), 種子態の有機炭素量 (P.O.C.), クロロフィル量などで測定できる。試水の培養終了後に、十分な液量があれば、これらの指標を測定しておくことが望ましい。試水の

A.G.P. 値比較のためには、細胞数による最大増殖量を知らば算定できる。

(6) A.G.P. (藻類潜在生産力) の算定

最大増殖量から希釈率等の補正を行ない試水の有する潜在生産力を算定する。生産力は、細胞数、細胞体積、S.S. などに表示される。一般には、S.S. で表示されることが多く、*Dunaliella t.* では $10^3 \text{ cell/ml} = 0.3 \text{ mg-S.S./l}$ により細胞数データから容易に換算できる。

同一試水に対する潜在生産力のばらつきを、統計的に処理し、試水間の差を評価する。通常、富栄養海水ではばらつきが小さく10%以下であり、貧栄養海水では20~30%程度と思われる。

同一試水について同時に複数本培養し、結果を統計的に処理することは、相互比較の際に重要となる。同一試水中で、特に小さな潜在生産力を示す培養容器については、増殖阻害物の混入を疑ってみる必要があり、以後の培養にその容器を用いないことが望ましい。

(7) 容器の洗浄等

容器は、同一メーカーの同一規格の透明ガラス容器を用いることとする。ガラス容器からは、Si 等の溶出があるとされており、これらの項目についての定量評価には、容器の改良が必要である。

培養終了後、直ちによく洗浄する。洗浄は、合成洗剤を使用し、タワシによる洗浄後水道水でよく合成洗剤を洗い流し、最後に蒸留水で洗浄する。その後10%希塩酸にて一晚洗浄後水道水と蒸留水で付着塩酸を洗い流し、 100°C で乾燥させる。

使用に際しては、 200°C で2時間程度の乾熱滅菌を事前に行うか、オートクレーブ滅菌を行う。

L字管内部の洗浄は、タワシを使用しても不完全になることがあり、沈殿物や析出塩の付着の起こらないように培養完了後ただちに洗浄することが望ましい。合成洗剤中には高濃度のPが含まれているため、付着洗剤の洗い流しは十分行うとともに、洗剤は10~100程度に希釈して使用する。滅菌後の容器には綿栓等をして雑菌の混入を避けるようにする。

(8) A.G.P. 値の評価

算定されたA.G.P. 値は試水培養液中の増殖制限栄養塩濃度によって決ってくる。同一制限因子であっても、A.G.P. 値はその因子の濃度と比例しないこともあり³⁹⁾、生産力指標と栄養塩濃度との意味の差をふまえてA.G.P. 値の取り扱いには十分注意する必要がある。栄養塩各指標の化学分析を同時に行なっておくことは、結果の解析上必要である。

なお、かなり広範囲の自然海水について調査する際に

は塩分測定が不可欠である。

制限因子を知るためには、試料水自体のほかにN、P及び両者を添加した試料、他の栄養塩の添加試料について同時に培養を行う。

5. 大阪湾 A.G.P. 分布測定例

大阪湾の海水の有するA.G.P. 分布パターンを *Dunaliella tertiolecta* を用いて測定した。測定は夏期、冬期について行った。

5.1 採水、分析方法

採水時期は、夏期として昭和52年8月2~4日に、冬期として昭和52年12月8~9日を選んだ。

採水地点は、夏期に 図-15 に示す湾内15地点の各5点層より採水した。これに対し冬期は、St. 11, St. 14, St. 15の3地点を除いた12地点の各点3層より採水した。

採水はバンドーン式採水器により各層20lずつ採水し、採水によるばらつきを小さくした。

採水した水は20lガラスビンに空隙が残らぬように満たし、冷暗状態で運搬して24時間以内に試水の予備処理を行った。

採水と同時に現場にて溶存酸素(D.O.)、水温、塩分、pH等を測定すると共に、現場処理をし、冷暗状態で運搬した試水について有機物濃度、栄養塩濃度、クロロフィルa濃度、プランクトン数等を測定した。

試水の予備処理として、夏期試水については2週間 20°C 暗所放置処理及びオートクレーブ滅菌処理について検討した。冬期試水については現存プランクトン量の少ない点を考慮してオートクレーブ滅菌処理のみで行った。

このようにして得られた試水に対して4.7述べた方法によりA.G.P. 試験を行った。なおこの際試水の希釈は行わなかった。

対象水域の水深は、湾奥部で10m、湾口部で40m、平均20m前後であった。図-15~25には、各採水点表層の水質平面分布とともに、湾の長軸方向の水質鉛直分布(湾口から湾奥まで)を示してある。

5.2 大阪湾の水質とA.G.P. 分布

今回は、採水が2~3日にわたり、潮の干満に対して同一位相時ではなかったため水質分析値はややばらつき可能性が考えられる。

数種の基本的な水質指標により大阪湾の水質構造を考える。図-15, 16に示すように大阪湾の塩分は大阪湾湾奥部に流入する河川の影響を受けて、湾奥より湾口に向かって徐々に高くなっていることがわかる。さらに 図-17より水温D.O. 分布より夏期には温度成層をなし、表層

に低塩・高温の水塊が 3~5 m 程度の厚さで存在していることがわかる。この表層では、夏期に D.O. が過飽和に近く、底層下部では貧酸素水塊が形成されている。これは富栄養海域で特徴的な D.O. 鉛直分布である。

図-18, 19 の C.O.D. 分布を見ると冬期に比して夏期の値がやや高く夏期では表層近くで高い値となっている。夏期と冬期の C.O.D. の差は、ばらつきながらも、沿岸部湾奥部で大きく、湾口部で小さい傾向がみられる。T.O.C., P.O.C. についても同様の分布、傾向がみられた。夏期表層で有機物濃度が高まるのは、植物プランクトンによる有機物生産に起因しているものと考えてよい。植物プランクトン量を示す指標の一つである 図-20 のクロロフィル a 分布もこのことを示している。

栄養塩分布を、図-21, 22, 23 に示されるリン酸態リン (PO₄-P)、無機態窒素 (I-N) について考えてみる。両者ともプランクトン増殖に直接利用される。図-21, 23 に示されるように夏期には、湾奥表層、底層下部に比較的高い値がみられ湾口に向かって濃度が低下するが、一部表層で濃度の増減がみられる。一方冬期には 図-22 に示されるように湾奥表層での高い値が、湾口に向かって鉛直方向に一様化しながら低下していく様子がみられる。栄養塩分布は栄養の供給とプランクトンによる消費

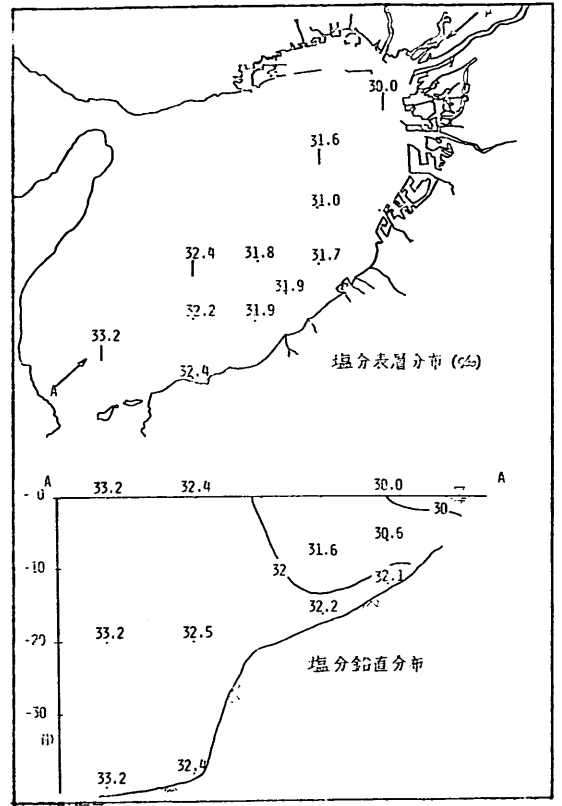


図-16 塩分分布 (冬期)

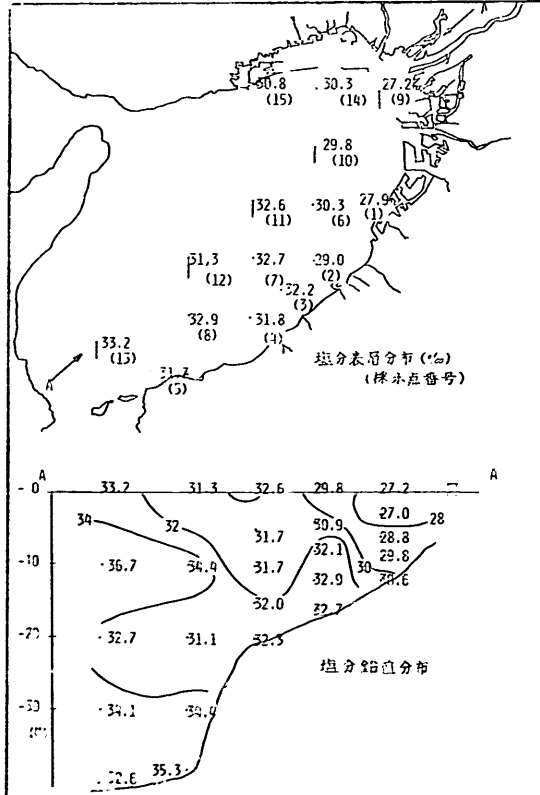


図-15 塩分分布 (夏期)

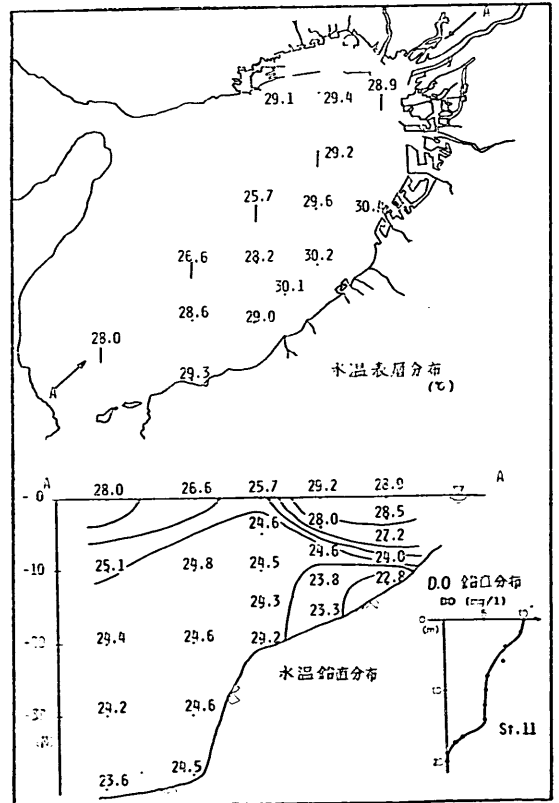


図-17 水温・溶存酸素量分布図 (夏期)

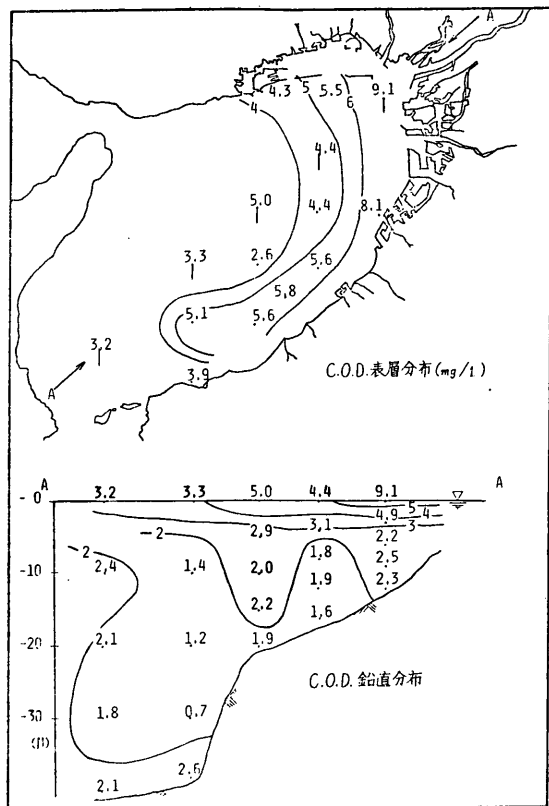


図-18 C.O.D. 分布図 (夏期)

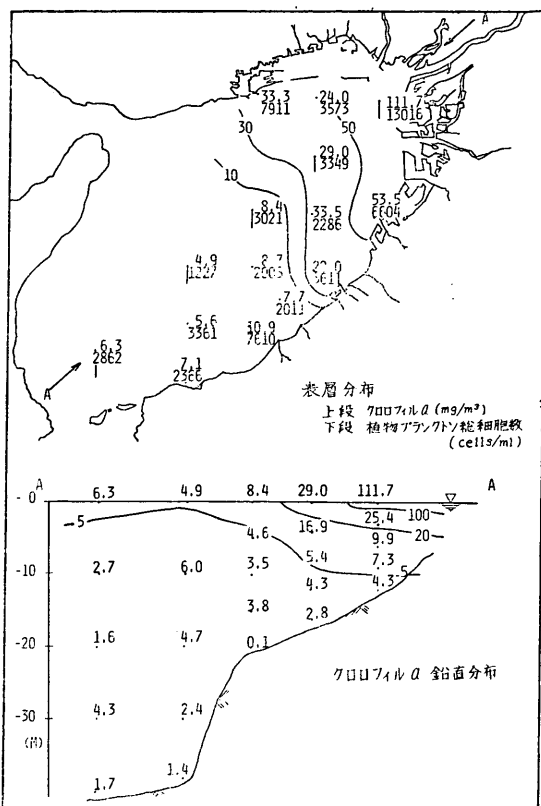


図-20 植物プランクトン現存量分布図 (夏期)

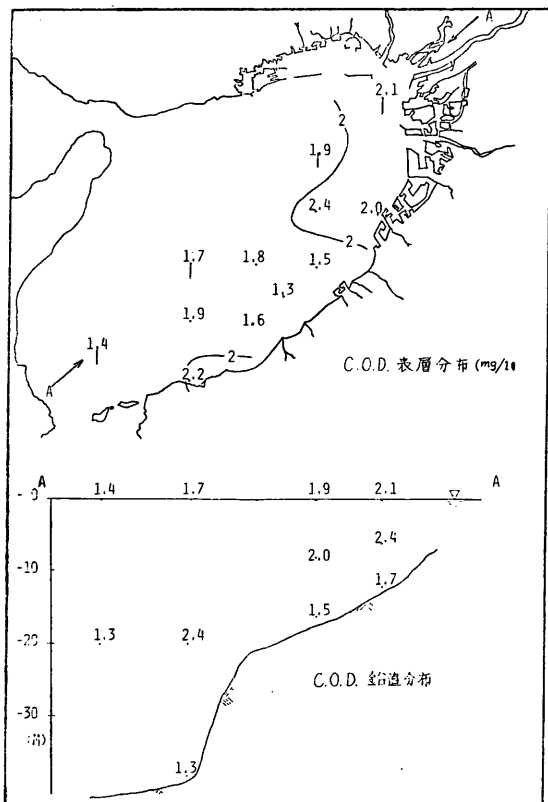


図-19 C.O.D. 分布図 (冬期)

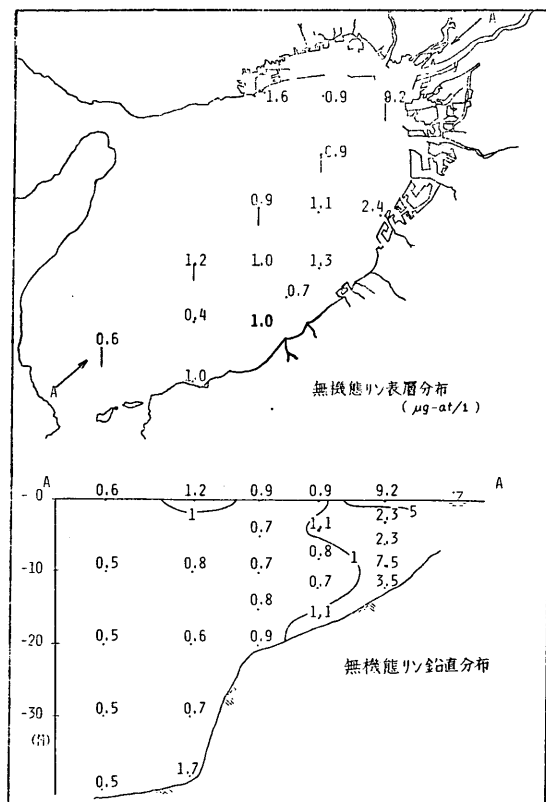


図-21 無機態リン濃度分布図 (夏期)

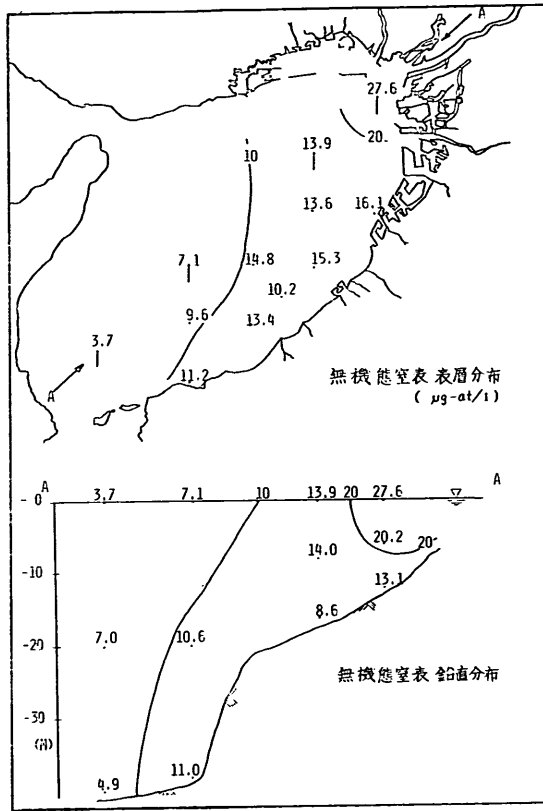


図-22 無機態空素濃度分布図 (冬期)

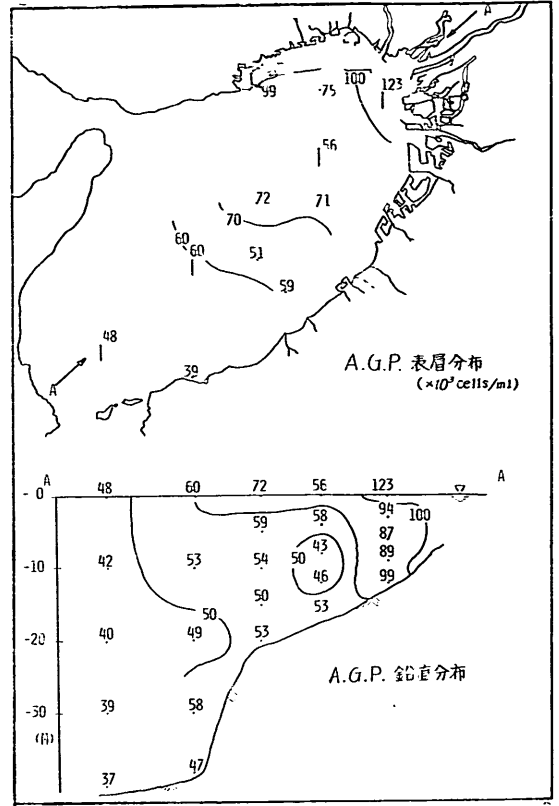


図-24 A.G.P. 分布図 (夏期)

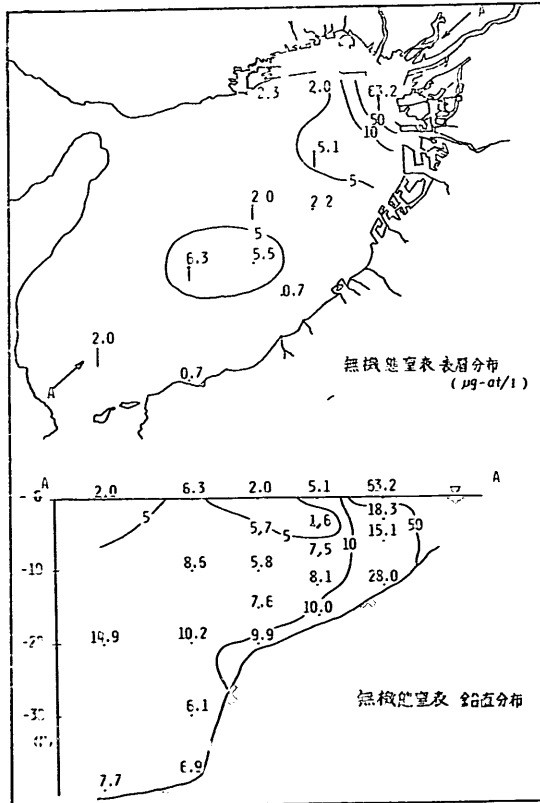


図-23 無機態リン分布図 (夏期)

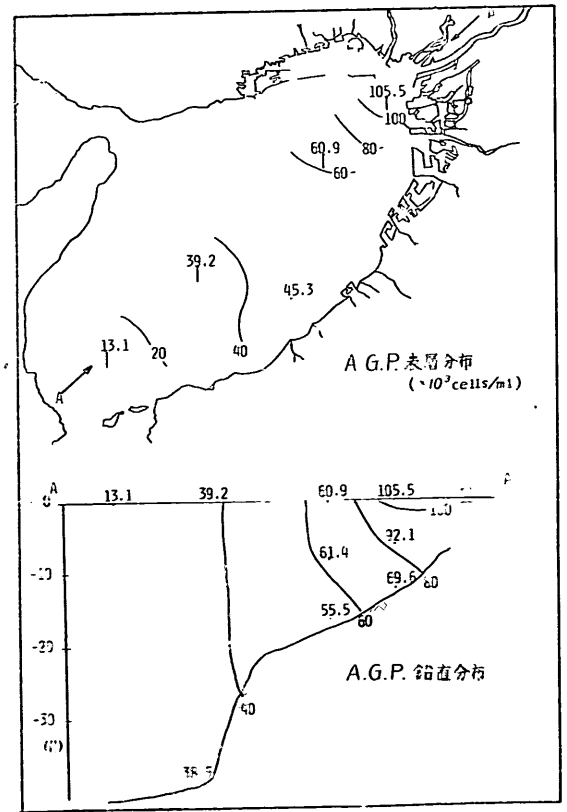


図-25 A.G.P. 分布図 (冬期)

とのバランスの上に成り立っている。湾奥からの河川水に含まれている高濃度の栄養塩が、夏期は成層した表層部を、冬期は鉛直混合しながら、それぞれ湾口へ希釈しており、夏期表層では、植物プランクトンの活発な利用消費により栄養塩濃度の減少がおこっていると思われる。又夏期底層貧酸素化に伴い、底泥からの栄養塩の溶出が起っているものと思われる。

これらのメカニズムは、図-24、25 の A.G.P. 分布図に、よりはっきりと現われる。夏期では、表層を湾奥から湾口に向かって希釈され、底層下部特に底泥泥質の悪化している湾奥底層で、高いポテンシャルが見られる(図-24)。一方冬期では、鉛直の混合が良く、湾口へ向かって一様に希釈拡散している(図-25)。

水質化学的分析および A.G.P. 試験結果より、大阪湾はかなり、富栄養化していることがわかる。表-1に示されている夏期の特徴からも、富～過栄養域の値であることがわかる。

5.3 A.G.P. 試験適用上の問題点

A.G.P. 試験を大阪湾に適用する際の問題点について考察する。

(1) 塩分の影響

大阪湾の塩分分布は、夏と冬で若干異ったパターンを示しているが、湾奥部と湾口部で最大 8‰ 程度の差がある。Dunaliella tertiolecta は 4.4 で既述の如く高塩ほど増殖する外洋性種で、上記塩分差では、同一栄養レベルでも 5×10^3 cells/ml 程度湾口部が高くなると思われる。逆に A.G.P. 分布は、夏・冬いずれも湾口部で最も低く、塩分よりも栄養塩により A.G.P. の分布が決めてくることかわかる。湾内ではほぼ 5×10^4 cells/ml 以上の A.G.P. 値であり、塩分差による A.G.P. 値の差は比較的小さい。

(2) 試水の予備処理法

夏期の試水について、湾奥、湾奥の代表的な地点について予備処理の差による A.G.P. の差を調べた。対象とした予備処理法は、2週間 20°C 暗所放置法と、オートクレーブ法である。両者を比較すると表-16のように湾奥表層を除いて2週間放置処理法が高い値を示し、分解・無機化による栄養塩の可利用化にとって、場合によっては、この処理法が有効であることを示している。図-24 は、こうして処理した A.G.P. 試験値である。冬期の有機物濃度の低い場合には、両者の差が小さいと思われたので、オートクレーブ処理した A.G.P. 試験のみを行なった。厳密な比較のためには処理法をそろえる必要がある。

(3) 現場プランクトンとの関連

表-16 試水予備処理法の差による増殖量の差

地点 水深	オートクレーブ処理	2週間放置処理
St. 9 ~ 0 m (湾奥) ~ 3	202×10^3 cells/ml	123×10^3 cells/ml
~ 6	84	94
~ 9	70	87
~ 12	—	89
	84	99
St. 12 ~ 0 m (湾奥) ~ 10	30×10^3	60×10^3
~ 20	26	53
~ 30	14	49
~ 38	30	58
	14	47

大阪湾では、夏期・冬期ともに植物プランクトンとしては、Chaetoceros, Skeletonema, Thalassiosira などの珪藻類が卓越している。優占種ではない Dunaliella を用いた A.G.P. と、現存プランクトンとの関連を考える。A.G.P. は照度、温度等の最適条件下での増殖量を増殖ポテンシャルとして表現したものである。実際の海域で比較的照度、温度の条件に恵まれている表層のプランクトン量と A.G.P. を各測定点毎に比較したのが表-17 である。ここでクロロフィル a は、光合成色素であり光合成活動の大きさを示し、P.O.C. は、粒状有機炭素 (Particulate Organic Carbon) であり藻体として合成された有機物量を示し、総細胞数は各種珪藻を中心とする現場指物プランクトン量を示す指標である。冬期においては水温、照度の低下により表層でもプランクトンの活動は小さく、ポテンシャルとして夏と同程度の水でも、現存プランクトン量は 1 ~ 2 桁小さい。

条件の恵まれた夏期においてはクロロフィル a、総細胞数とともに、A.G.P. 値とよい相関を示す。P.O.C. は、St. 9 での低い値の影響で相関が悪い。珪藻を中心とした現場プランクトン指標との相関性から判断して、Dunaliella を用いた A.G.P. 分布も、現場プランクトン活動のポテンシャル分布として無理なく適用できる。ただし、冬期の相関は、サンプル数 ($n=5$) が小さいこと、プランクトン活動が不活発でプランクトン量も小さくばらつくことにより、A.G.P. 値との相関は、総細胞数を除いて悪い。

(4) 栄養塩濃度との相関

栄養塩濃度と A.G.P. 値との相関を表-18 に示す。ここで栄養塩濃度とは現場海水の濃度についてであり、試料の予備処理後の値ではない。T-N は総窒素、I-N は、無機態窒素、T-P は総リン、I-P は無機態リン

海水の A.G.P. 試験法とその適用

表-17 表層プランクトン量指標と A.G.P. 値との関係

指標 地点	夏 期				冬 期			
	A.G.P.	クロロフィ ル a	P.O.C.	総細胞数	A.G.P.	クロロフィ ル a	P.O.C.	総細胞数
	cells/ml	μg/l	mg/l	cells/ml	cells/ml	μg/l	mg/l	cells/ml
St. 1	/	53.5	3.8	6604	/	2.2	0.248	131
St. 2	/	29.0	5.1	3611	/	1.6	0.226	114
St. 3	58800	7.7	0.8	2011	45300	3.3	0.265	151
St. 4	/	10.9	3.2	7610	/	3.6	0.244	326
St. 5	39100	7.1	0.8	2366	/	3.3	0.404	174
St. 6	70700	33.5	1.6	2286	/	2.7	0.409	102
St. 7	50700	8.7	4.4	2005	/	2.9	0.360	453
St. 8	/	5.6	2.5	3361	/	2.6	0.278	302
St. 9	122500	111.7	3.6	13016	105500	1.9	0.257	1262
St. 10	55900	29.0	1.5	3340	60900	3.6	0.281	555
St. 11	72400	8.4	0.6	3021	/	/	/	/
St. 12	59500	4.9	1.3	1227	39200	1.9	0.274	88
St. 13	48400	6.3	0.8	2862	13100	2.7	0.366	68
St. 14	74900	24.0	2.1	3573	/	/	/	/
St. 15	98900	33.3	2.4	7911	/	/	/	/
A.G.P. との相関	r (n=11)	0.953	0.448	0.900	r (n=5)	-0.267	-0.733	0.951

を表わす。

夏期においては、プランクトンの利用による無機栄養塩の減少が大きく、溶存無機栄養塩濃度は水塊の栄養レベルを表わしていないことから、A.G.P. との相関も落ちている。総窒素と総リンとでは、リンの方が A.G.P. と相関が良い。

一方、冬期においては、いずれの栄養塩に対しても良い相関を示す。窒素、リンを添加しての成長制限栄養塩を調べる実験からは、現存藻種にとっても *Dunaliella* にとっても、窒素及びリンの両者である例が多く、この相関性を説明している。この調査例から冬期大阪湾にては、窒素もしくはリンの一方が卓越している状態ではな

いことがわかる。溶存無機態の窒素、リンについての N/P 比も10前後でありこれを支持している。

化学分析上のリンの定量限界は $\pm 0.03 \mu\text{g-at/l}$ 程度⁷⁾ であり、硝酸態窒素の分析は再現性、精度が悪くなるなどを考慮すると、A.G.P. 値は他栄養塩分析値に比して精度が悪いわけではない。A.G.P. 値は、他の水質指標とともに考えると、水塊の有する栄養レベルをポテンシャルとして評価でき、温度、照度などの条件がととのった際に発生するプランクトン量についての相対的評価にとっても感度よく有効である。

6. む す び

富栄養化の進行した閉鎖的な海湾では植物プランクトンの光合成活動による有機物の基礎生産が有機物汚染の大きな要因となっている。環境影響評価としては、基礎生産潜在力を指標とすることが合理的である。生産潜在力を表現するために植物プランクトンによる内部生産機構を内に含んだ A.G.P. 試験が最適である。そこで淡水

表-18 A.G.P. と栄養塩濃度との相関係数

	T-N	I-N	T-P	I-P	サンプ ル数
夏 期	0.586	0.279	0.845	0.798	n = 45
冬 期	0.896	0.930	0.975	0.979	n = 12

の試験例などを参考に、*Dunaliella tertiolecta* を用いた A.G.P. 試験法について検討した。基礎的な培養実験より、次のことがわかった。

1) 藻の増殖指標としては、電気的な粒子数測定装置による細胞数指標が精度良く適当である

2) 培養液量を増やすため振とう培養法が良い

3) 塩分特性は外洋藻種であるが汽水でも十分適用できる

4) 栄養塩濃度に敏感で最大増殖量は栄養レベルに比例するが栄養塩濃度が高くなりすぎると希釈の必要がある

5) 過剰摂取リンはリン欠乏液にての培養で容易に消費され、この前処理を行えば接種時のリンの持ち込みを防ぐことができる

6) 19°C ± 2°C での培養で照度 10000 lux 前後でも問題ない

7) 試水の滅菌処理の過程で栄養塩濃度が変化することがあり、吸着やイオン交換能のある土粒子が混在している試水の取り扱いには注意を要する

これらの知見をもとに海域の A.G.P. 試験法を定めた。

この試験法を用いて大阪湾の A.G.P. 分布パターンを夏期冬期について調査した。他の水質化学指標とともに考え、大阪湾の水質構造として次のことがわかった。

8) 夏期には温度成層が発達し、栄養塩の供給源は流入河川及び嫌氣的底泥である

9) 冬期には鉛直混合がよく湾奥から湾口に向かって栄養塩が希釈拡散している

10) 夏期には活発なプランクトン増殖活動が起こり、冬期に比べて1けた程度大きなプランクトン量となる。そのため栄養塩分布は、栄養レベルを表示しなくなるが、A.G.P. 値では、安定して栄養レベルを知ることができる。

11) 夏期の増殖条件に恵まれた地点では、発生プランクトン量と、A.G.P. 値とに比較的良好な相関があり、A.G.P. 試験による栄養レベル指標が夏期表層のプランクトン増殖と結びつく。

A.G.P. 試験は植物プランクトン活動に対する総合的な試験法である。手法の改善によりかなり感度よく栄養レベルを知ることができ、水質評価上有効であることがわかった。これにより対象とする海域の栄養状態を、潜在生産力として評価できる他、工事等による水域流入物質の生産力への影響予測にも適用できる。

ここでは、緑藻の1種を培養藻種として検討し、良好な結果を得たが、各海域で卓越する藻種、もしくは特定

の赤潮種などについても同様な検討を行うことも重要であろう。より現実の機構に近い培養方法として、複数種のプランクトンを含んだ培養法³⁶⁾についても検討が残されている。

また、水温、日射量などに大きく左右される現場生産量や内部生産 C.O.D. 値などとの定量的関係づけについて更にデータを積み重ねる必要がある。

最後に、本研究をすすめるにあたって、国立公害研究所水質土壌環境部長合田健工学博士はじめ陸水環境研究室長須藤隆一理学博士、岡田光正研究員の各位より、A.G.P. 試験の基礎から様々な面にわたって御指導とごまじをいただいた。さらに大阪大学工学部教授末石富太郎工学博士には環境評価法としての A.G.P. 試験の考え方を、国立公衆衛生院衛生工学部長南部祥一工学博士には、A.G.P. 試験の工学的取り扱い方について、東亜建設大槻忠農学博士には、藻の生理特性と A.G.P. 試験の利用について、それぞれ御指導をいただいた。試験経過について三氏と討議をする機会に恵まれたことは、試験法の検討にとって不可欠であったと思われる。また、下水道事業団森忠洋氏が主唱する A.G.P. 研究会の各位から、藻の培養に関する豊富な経験を紹介いただき、非常に有益かつ示唆に豊んだ助言を頂戴した。当港湾技術研究所次長佐藤昭二工学博士には、研究経過や、研究方針についての御指導をいただいた。ここにこれの方々へ深く感謝いたします。

また、大阪湾採水をはじめとして、水質分析値の利用にいつて便宜をはかっていただいた第三港湾建設局神戸調査設計事務所、*Dunaliella tertiolecta* の分株に快諾いただいた東京大学応用微生物研究所に対し心から感謝いたします。

(1978年3月31日受付)

参 考 文 献

- 1) 佐藤昭二：海域浄化工法開発の現状と課題，埋立と浚渫，No. 71，1976年，pp. 24~33
- 2) 村上 健：底泥中の有機物質と水質汚濁，公害と対策，Vol. 11，1975年6月，pp. 623~629
- 3) 浮田正夫・中西 弘・天谷満徳：富栄養水域における底質評価に関する研究（その2），第11回土木学会衛生工学研究討論会論文集，1975年，pp. 63~68
- 4) 吉田陽一：低次生産段階における生物生産の変化水産学シリーズ1，恒星社厚生閣，1973年
- 5) 服部明彦海：海洋科学基礎講座11，海洋生化学，東海大学出版会，1973年
- 6) 気象庁編：海洋観測指針，1970年

- 7) Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons : A practical handbook of seawater analysis 2nd Ed., Fish. Res. Board Can., 1972, pp. 261~278
- 8) 中西 弘・浮田正夫・宇野良治 : 海域における生産量について, 用水と廃水, Vol. 17, 1975年6月, pp. 725~735
- 9) Hajime Nishimura : Industrial ecology and its application to environmental assessment the Seto Inland Sea as example, International Congress of Scientist on the Human Environment, Kyoto, 1975
- 10) 運輸省第二港湾建設局 : 東京湾底質浄化調査報告書, 1977年3月
- 11) 運輸省第五港湾建設局 : 伊勢湾水理模型実験場報告, No. 10, 1977年3月
- 12) 末石富太郎 : 環境学研究の展望——アセスメントを中心として——, 用水と廃水, Vol. 18, 1976年8月, pp. 815~828
- 13) 例えば, G.E. グラス編 : 生物指標実験法, 講談社, 1974年
- 14) 萩原耕一 : B.O.D. 試験法解説, 積文堂, 1964年
- 15) Standard methods for the examination of water and wastewater 14th Ed, A.P.H.A., A.W.W.A., W.P.C.F., 1976
- 16) 大垣真一郎 : 下水処理水の藻類生産力に関する実験, 土木学会第25回年次学術講演会講演集, 1971年, pp. 553~554
- 17) Maloney, T.E., et. al. : Use of algal assays in studying eutrophication problems, Advances 6th Int. Water Poll. Res., 1972, pp. 205~215
- 18) 須藤隆一・森 忠洋・大竹久夫・合葉修一 : 都市下水の2次処理水が示す藻類生産の潜在能力, 下水道協会誌, Vol. 12, 1975年6月, pp. 34
- 19) 森 忠洋ら : A.G.P. 法による富栄養化の評価, 第10回下水道研究発表会講演集, 1973年, pp. 313~315
- 20) 須藤隆一・森 忠洋・岡田光正 : 藻類培養試験による富栄養化の評価, 用水と廃水, Vol. 15, 1973年, 1月, pp. 107~116
- 21) 国包章一ら : 富栄養化した湖沼の懸濁成分に関する検討, 第12回下水道研究発表会講演集, 1975年, pp. 440~442
- 22) 森 忠洋ら : 富栄養化に与える2次または3次処理水の影響に関する調査——マイクロコスムによる検討——, 第13回下水道研究発表会講演集, 1976年, pp. 485~487
- 23) 村上 健 : 芦田川河口堰壅水区間の水質予測——現地模型試験による解析——, 土木学会第13回衛生工学研究討論会講演論文集, 1977年, pp. 1~6
- 24) 日本下水道事業団試験部 : 富栄養化防止のための指標の開発と実用化, 1976年10月
- 25) National Eutrophication Res. Program U.S. E.P.A. : Algal assay procedure : Bottle test, Aug. 1971
- 26) 笠 文彦ら : 藻類増殖試験に関する基礎的研究, 用水と廃水, Vol. 19, 1977年3月, pp. 53~62
- 27) 花岡 資・入江春彦・上野福三・飯塚昭二・岡市友利・岩崎英雄 : 内湾赤潮の発生機構, 日本水産資源保護協会, 1972年
- 28) National Environmental Res. Center U.S.E.P.A. : Marine algal assay procedure. : Bottle test, Dec. 1974
- 29) 山路 勇 : 日本海洋プランクトン図鑑, 保育社, 1966年
- 30) 田宮 博・渡辺 篤 : 藻類実験法, 南江堂, 1965年
- 31) 堀部純男編 : 環境科学としての海洋学, 7章異常増殖—赤潮—, 東京大学出版会, 1977年, p. 128
- 32) Prouse, N.J., et. al. : Effects of low concentrations of oil accommodated in sea water on the growth of unialgal marine phytoplankton cultures, J. Fish. Res. Board Can. Vol. 33, 1976, pp. 810~818
- 33) Sheldon, R.W. and T.R. Parsons : A practical manual on the use of the Coulter Counter in marine science, Coulter Electronics Sales Company, 1967
- 34) Bienfang, P.K. : Steady state analysis of nitrate-ammonium assimilation by phytoplankton, Limnol. Oceanogr., Vol. 20, No. 3, May. 1975, pp. 402~411
- 35) Overman, A.R. and R.L. Chu : A kinetic model of steady state phosphorus fixation in batch reactor-I, II, III, Water Research, Vol. 11, 1977, pp. 77~78
- 36) 微生物生態研究会編 : 微生物の生態1 方法論をめぐって, 東京大学出版会, 1974年, pp. 1~15
- 37) 條崎吉郎 : 生長の理論, 数理科学, No. 169, 1977, pp. 54~61
- 38) 浮田正夫ら : N,P からの COD の変換について——換算係数に関する検討, 土木学会第30回年次学術講演会講演集, 1976年, pp. 581~582
- 39) 西條八東 : 内湾の富栄養化—三河湾の場合—, 用水と廃水, Vol. 15, 1973年1月, pp. 9~24
- 40) 横畑 明ら : 瀬戸内海の有機汚濁特性, 中国工業技術, No. 3, 1974年, pp. 4~15

付録A 水質指標測定方法一欄

水質各指標の分析方法については種々の成書があるが、ここでは本論中に述べられた指標の測定法、単位、主たる使用機器などをまとめた。海域での分析には主として海洋観測指針⁶⁾、J.I.S. K 0102 などに依り、米国の標準試験法¹⁾、カナダ水産調査庁のハンドブック⁷⁾などを参考にした。主たる使用機器はすべて当研究所現有のものを挙げた(表-A.1)。

付録B 藻の増殖生理概要

ここでは、本論中に述べられている増殖曲線、増殖速度など増殖生理の基本的な概念と特徴について概説し、A.G.P. 試験理解の参考とする。

表-A. 1 主たる水質指標測定方法一覧

分類項目(略号)	単 位	測 定 方 法	主たる使用機器
有機物			
生物化学的酸素要求量 (B.O.D.)	mg/l	J I S K0102・16	20°C 恒温庫ふらんびん
化学的酸素要求量 (C.O.D.)	mg/l	J I S K0102・13 備考	ウォーターバス・セミミクロビュレット
全有機炭素量 (T.O.C.)	mg C/l (mg/l)	J I S K0102・15 参考	T.O.C. アナライザー
懸濁物			
浮遊懸濁物量 (S.S.)	mg SS/l (mg/l)	J I S K0102・10.2.1	0.45μm メンブレンフィルター
粒子数/細胞数	個/ml cells/ml	粒子数分析装置による 顕微鏡による検鏡	コーンターカウンター Z B 生物顕微鏡
吸光度	—	分光々度計による (1~10 cm セル)	ダブルビーム分光々度計
粒状有機炭素量 (P.O.C.)	mg C/l (mg/l)	0.45μ フィルターろ過液と原 液との T.O.C. の差	T.O.C. アナライザー
栄養塩			
アンモニア態窒素 (NH ₄ -N)	μg N/l ※ (μg at/l)	海洋観測指針 8.9	分光々度計
亜硝酸態窒素 (NO ₂ -N)	μg N/l (μg at/l)	海洋観測指針 8.10	分光々度計
硝酸態窒素 (NO ₃ -N)	μg N/l (μg at/l)	海洋観測指針 8.11	分光々度計
無機態窒素 (I-N)	μg N/l (μg at/l)	アンモニア態, 亜硝酸態, 硝 酸態窒素の和	
有機態窒素 (T-N)	μg N/l (μg at/l)	下水試験法	
総窒素 (T-N)	μg N/l (μg at/l)	無機態窒素と有機態窒素の和	
リン酸態リン (PO ₄ -P)	μg P/l (μg at/l)	海洋観測指針 7.7	分光々度計
無機態リン (I-P)	μg P/l (μg at/l)	海水では通常 PO ₄ -P と近 い値とみなしている	
総リン (T-P)	μg P/l (μg at/l)	海洋観測指針 8.8	分光々度計
その他			
溶存酸素 (D.O.)	mg/l	J I S K0102・24 D.O. メーター (塩分補正)	ふらんびん D.O. メーター
塩分 (S)	‰	海洋観測指針 8.2 サリノメーター	
クロロフィル a (chl. a)	μg chl. a/l (mg chl. a/m ³)	海洋観測指針 9.6.3	分光々度計
pH	—	pH メーター	

(※ 1 μg at N/l = 14 μg N/l, 1 μg at P/l = 31 μg P/l)

(1) 増殖曲線

一定容量の培養液に接種された植物プランクトンは光温度の条件が適度であると、図-B. 1 のような曲線を描がいて増殖する。これを増殖曲線とよぶ。増殖過程は、誘導期、対数増殖期、定常期を経て死滅期へ向かうのが普通である。誘導期は細胞の増殖がなく、新しい培

養液への適応準備期と解される。対数増殖期は、細胞分裂による活発な増殖により細胞数が指数的に増殖する時期で、増殖速度は次式 (B. 1) のような一次反応式で表現される。

$$\frac{dN}{dt} = kN \quad (\text{B. 1})$$

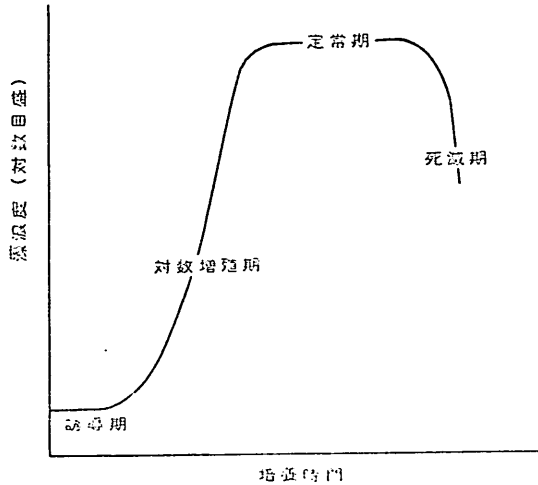


図-B.1 藻の生育曲線

N : 藻の細胞数

t : 時間

k は速度を表わす比例定数で、(B.1) 式を変形し 10 を底とした時の値、

$$\mu = \frac{\log N_{T+t} - \log N_T}{t} \quad (\text{B.2})$$

N_T : 時刻 T の細胞数

N_{T+t} : 時刻 $T+t$ の細胞数

を増殖速度定数と呼んでいる。分裂速度はその細胞の光合成率と密接な関係があり、栄養塩摂取や酵素活性に左右される³⁾。そのため μ は栄養条件、温度、照度に支配される。定常期では栄養塩の不足、生産活動による代謝産物の蓄積などにより、増殖速度が低下し死滅細胞もふえる。この結果、藻の見かけ上の細胞数が変化しない時期である。この時期に最大増殖量に達する。最大増殖量は利用可能な栄養塩量に左右される。更に培養を続けると死滅細胞がふえ、活性を失い、やがて死滅期となる。

この一定容量での回分培養では、増殖曲線は次式で示されるロジスチックカーブで表わせるとされている³⁷⁾。

$$\frac{dN}{dt} = \frac{k'}{N_{\max}} \cdot N \cdot (N_{\max} - N) \quad (\text{B.3})$$

または

$$\left. \begin{aligned} \ln \frac{N}{N_{\max} - N} &= k' \cdot t + C \\ C &= \ln \frac{N_0}{N_{\max} - N_0} \end{aligned} \right\} \quad (\text{B.4})$$

N_{\max} : 藻の最大増殖量

k' : 速度に関するパラメーター

N_0 : 初期 ($t=0$) の藻量

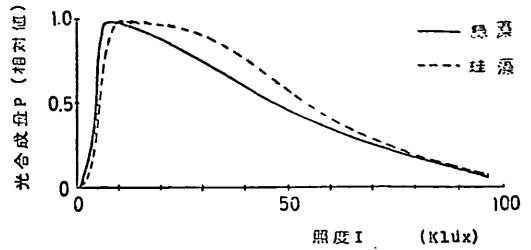


図-B.2 照度光合成曲線

(2) 照度、温度の影響

一般に光の強さと光合成量との関係は 図-B.2 のような曲線をえがく、他の条件が適当であれば、弱光部では照度の増大とともに光合成速度が増大し、ある照度で光合成速度最大に達しその値がしばらく続く。この照度を飽和照度とよぶ。更に照度が増大すると光合成は徐々に阻害される。これを強光阻害とよぶ。飽和照度は、緑藻で 5000~7500 lux, 珪藻で 10000~20000 lux 渦鞭毛藻で 25000~30000 lux ともいわれている³⁾ が、その藻種の履歴や栄養条件でかなり変化するらしい。飽和光下の光合成速度は、酵素の関与する過程の速度即ち温度によって支配されているとされ、ある温度 (20~25°C 程度が一般である。) までは、温度の上昇とともに速度が増大する。

増殖に対しても光合成に対すると同様な影響を与える。対数増殖期の増殖速度定数 (μ) について照度の影響を次のように表わした例³⁰⁾もある。

$$\mu = \frac{aKI}{K+I} \quad (\text{B.5})$$

I : 照度

K, a : 培養条件、藻種などで決まる係数

(3) 栄養塩の影響

植物プランクトンの生育に必要な無機栄養元素の構成と量を知るには、藻体に含まれている元素の分析によることが多い。一般に必須元素は、C, N, P, K, Mg, Ca, S, Si, Fe, Mn, Zn などである。最も量比の大きいものは C, N, P の 3 種である。必要とする C, N, P の比は藻種によりやや異なるようである。(表-B.1)。必要な各元素は、そのうちひとつでも適正な量に欠けると、その不足元素の量のレベルで増殖がとまり、他の元素で代替されない。これをリービッヒの最小律とよぶ。増殖を制限し支配する因子を制限因子とよぶ。海域で制限因子となりやすい栄養元素は、要求量比の高い N, P であり、珪藻では Si, 鞭毛藻ではビタミン類や金属類も重要となってくる。C は要求量の最も高い元素であるが、水中では大気よりの溶解、溶存有機物の酸化分解に

表-B.1 代表的な藻の主要成分元素比³⁾

藻種	C/P	C/N	N/P
緑藻類			
Tetraselmis moclata	11	4.4	5.5
Dunaliella salina	12	4.3	6.1
珪藻類			
Chaetoceros sp.	21	5.5	8.3
Skeletonema costatum	15	4.4	7.7
Coscinodiscus sp.	40	5.9	15.0
渦鞭毛藻類			
Exuviella	34	8.9	12.3

よる生成などにより十分な量存在しており、制限因子になりにくいとされている。

N, Pともに無機態の溶解塩が摂取され合成に利用される。Pは、天然水中のかなり低濃度のものも摂取でき、過剰のリン酸を含む液中では、必要とされている量比以上のPを体内に取り込む(リンの過剰摂取)。体内に貯蔵されたPは、不足時には合成に利用される。リンの利用されやすさは、摂取一合成一分解一溶出の回帰速度をはやめ、現存リン濃度のみでは測り得ない合成量が現われることがある。浮田らの試算³⁸⁾ではリンの利用率が100%を超える海域もある。

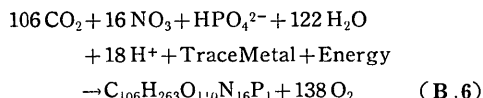
N, Pのいずれが制限因子になるかは、無機態のN, P濃度の化学分析である程度知ることができるが、一方この分析値とは異なる場合も報告されている。三河湾の珪藻を優占種とする試料に対する坂本らの実験では、Nの添加により著しい増殖が観察されNが制限因子となっていると判断された。一方、化学分析では無機態N/P比は40以上を示しむしろP不足の傾向を示していた。こ

れらより西條³⁹⁾は、無機栄養物質の測定結果のみから植物プランクトンにとっての栄養条件を考えることがむずかしいとしている。

植物プランクトンの要求するビタミンは、B₁₂ コバラミン、チアミン、ビオチンであるが、緑藻ではビタミン要求性の低いものが多く、鞭毛藻では要求性の高いものも多い。微量元素類では、Feが不足となることがあるといわれているが、利用できる状態の金属濃度が重要である。溶存有機物や海水自体のキレート作用による金属の可利用化効果に負うところが大きい。ビタミンや金属類の添加により人工培養液でもかなりの培養、増殖が可能であるが、これに土壌抽出液を添加すると更により結果が得られる。必要栄養塩中の未同定のものあるいは栄養塩の摂取、利用にとって有効な促進物質が自然水、土壌抽出液には含有されているらしい。

(4) 増殖プランクトンの水質負荷

増殖したプランクトンが有機物としてどの程度水質に影響するか見積もる。プランクトンの組成を、C, N, Pを中心として Stum ンの式で仮定する。



Pが制限になっている海域へのP 1mgの流入は、有機態合成C 41mg, 有機態合成N 7.2mgの増加となる。この合成藻体が完全に酸化分解されCO₂, H₂O, NO₃⁻などになるには、理論的には143mgの酸素が必要となる。海域でのC.O.D.指標の酸化率^{38), 40)}を考慮すると、C.O.D.として60mg以上の増加に等しくなる(表-B.2)。Pが再利用されれば、この値は更に大きくなる。

表-B.2 合成藻体の有機物負荷換算表

栄養塩	合成有機炭素 C	合成有機窒素 N	合成有機リン P	合成藻乾重量 S.S.	生産有機物理論酸素消費量 T.O.D.	生産有機物C.O.D.量
N 1mg	5.7mg C	1mg N	0.14mg P	13.1mg SS	20mg O ₂	8.8mg O ₂
P 1mg	41mg C	7.2mg N	1mg P	94mg SS	143mg O ₂	63mg O ₂

(C:N:P=41:7.2:1とし T.O.D./C.O.D.=2.26とする)