

## 論文の内容の要旨

論文題目 「紫外線照射による藍藻類の増殖抑制と藍藻毒発生抑制に関する研究」

氏 名 酒井 宏治

### ＜研究の背景－藍藻類の異常発生による水道システムへの影響と紫外線処理の利点－＞

湖沼、貯水池の富栄養化は、古くから知られる環境問題の一つであり、富栄養化した湖沼で *Microcystis* や *Anabaena* などの藍藻類が異常増殖することが問題となってきた。藍藻類の異常増殖は、その場を水源とする水道事業体にも影響を与える。浄水工程においてろ過閉塞や凝集阻害などの利水障害を引き起こすことのみならず、細胞内に毒性物質を保持することからも問題となっている。*Microcystis* などが産生する毒性物質であるミクロキスティンは、マウスにおける LD<sub>50</sub> 値として 50 µg/kg を示し、青酸カリよりも高い毒性を持つ。ミクロキスティンによる最大の被害は、1996 年のブラジルの例であり、人工透析患者の施設にミクロキスティンを含む水道水が供給されたことで、88 人の患者が死亡した。

藍藻類が異常増殖する湖沼、貯水池を水源としている水道事業体では、当該湖沼において湖水攪拌によって水質改善を行う対策、硫酸銅の散布による殺藻処理を行う対策を取っている。浄水場での対策、取水段階での対策を取る場合もあるが、それぞれに限界を抱えることから、水源となるダム湖における発生抑制対策が強く求められている。湖水攪拌による水質改善は、一定の深さが必要であることから全ての湖沼に適用できるわけではなく、硫酸銅の散布では、魚が浮いてしまうなど、生態系への影響が懸念される処理方法である。

本研究で検討する紫外線処理は、光を照射するだけの処理方法であり、処理の残留性や副生成物が少なく、生態系への影響も少ない処理であると考えられる。特に浮上性を持つ藍藻類を処理する場合には、藍藻類が優占する湖水表層のみを処理すればよいと考えられ、生態系への影響を最小限に抑えられると考えられる。ダム湖における実際の処理装置としては、紫外線処理装置を小型船に搭載し、そこへ藍藻類を含む湖沼水を通水して処理を行えばよいと考えられる。淡水赤潮に対しては、既に同様の装置が実用化されている。船に搭載することで、ダム湖内を移動して処理できる利点もあると考えられ、移動性の点で湖水攪拌装置よりも優れていると考えられる。

## ＜研究の内容－紫外線照射による藍藻類の増殖抑制と藍藻毒発生抑制－＞

紫外線処理を藍藻類の増殖抑制に用いるためには、2つの点で検討が必要である。紫外線による増殖抑制効果と細胞内マイクロシスチンの放出の2点である。マイクロシスチンは、通常 *Microcystis* 細胞内に保持されており、細胞壁が破壊されて死滅するときに初めて水中へ放出される。紫外線処理に限らず、何らかの増殖抑制処理を行う場合には、藍藻類の異常発生は抑制されるものの、毒性物質の放出による新たな健康被害をもたらす可能性がある。実際に、硫酸銅処理は細胞壁を破壊する処理であるため、処理後一時的にはあるが水中のマイクロシスチン濃度が急激に上昇することが報告されている。

## ＜内容(1)－紫外線処理後の細胞内マイクロシスチンの放出特性(第4章)－＞

増殖抑制及び藍藻毒の動態の2点に関して基礎的な検討を行った。紫外線によって *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 株を処理した。紫外線処理には低圧、中圧ランプを用いて 0, 180, 600, 1800 mJ/cm<sup>2</sup> の4段階の照射量で紫外線を照射した。紫外線処理直後、1, 3, 6, 10, 14 日後に試料を採取し、細胞数と細胞内外のマイクロシスチン濃度を測定した結果、以下の知見を得た。

- (i) *Microcystis aeruginosa* PCC7806 株の増殖は、紫外線処理によって抑制された。
- (ii) 細胞数の増加が抑制されたために、水中のマイクロシスチン濃度の上昇も抑えられた。14日後の水中のマイクロシスチン濃度は、Control 試料で 65 µg/l であったのに対し、紫外線処理試料では、21 µg/l 以下であった。また、紫外線処理をした試料では、一時的に対照試料よりも水中のマイクロシスチン濃度が高い場合が見られたが、有意な差ではなかった。
- (iii) 紫外線処理によって、細胞内マイクロシスチン量が減少した。600 mJ/cm<sup>2</sup> の紫外線照射量では、24.6 fg/cell の細胞内マイクロシスチン濃度が、7.06 fg/cell(低圧ランプ)、7.16 fg/cell(中圧ランプ)まで減少した。紫外線による分解が起こったことで細胞1個当たりの放出量が減少したと考えられ、結果的に水中へのマイクロシスチン放出総量の減少につながった。
- (iv) 本章では、培養系内の増殖細胞の挙動を無視できる、180 mJ/cm<sup>2</sup> 以上の高照射量で検討を行った。より低照射量での検討を行うため、培養系内の増殖細胞を考慮できる手法を確立する必要があることが分かった。

## ＜内容(2)－セファロスポリンを用いた増殖能評価手法の確立と適用(第5章)－＞

紫外線処理を受けた藍藻類は、その多くが死滅するが、一部が生残する。生残した細胞は、条件を整えば再び増殖を行う。従って、生残した細胞、死滅する細胞の数を的確に算出する必要がある。前章では、培養系中の増殖細胞の数は少ないため結果に影響しないと仮定したが、そのままでは紫外線照射量が低い場合の検討を行うことが難しかった。

生残した細胞は増殖能を持っている。これを判定するために、細胞分裂を行うかどうかを基準とし、細胞壁合成阻害剤を用いた判定法を確立した。紫外線処理後の細胞に細胞壁合成阻害剤を作用させ、増殖能を持つ細胞を消失させ、増殖能を持たない細胞が残存する系を作り出し、増殖能を評価した。セファロスポリンは、代表的な細胞壁合成阻害剤として用いた。

低圧、中圧ランプを用いて紫外線を照射した。紫外線照射量は 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 600, 1800 mJ/cm<sup>2</sup> の 10 段階とした。紫外線処理後は光回復が起こりうる白色光、起こらない黄色光で培養を行った。紫外線処理直後、1, 3, 6, 10, 14 日後に試料を採取し、細胞数と細胞内外のマイクロキスティン濃度を測定した。半数の試料にはセファロスポリンを添加し、増殖抑制効果の評価と細胞 1 個当たりのマイクロキスティン放出量を検討した結果、以下の知見を得た。

- (i) 紫外線による *Microcystis aeruginosa* PCC7806 株の不活化を検討した結果、120 mJ/cm<sup>2</sup> の照射量で 2 log の効果があること、この程度の照射量までが効率的であることが分かった。
- (ii) 細胞 1 個当たりのマイクロキスティン放出量は、概ね初期含有量と同等であると推定された。一部試料では、増殖細胞からの放出量をさらに考慮する必要があることが分かった。
- (iii) 光回復が生じない場合は、30 mJ/cm<sup>2</sup> の照射量で 2 log の不活化効果があることが分かった。細胞 1 個当たりのマイクロキスティン放出量が多くなる場合があり、細胞分裂と関連している可能性があることが分かった。

### <内容(3)ー水中のマイクロキスティン濃度のモデル化(第6章)ー>

紫外線処理後の水中のマイクロキスティン濃度をモデル化し、実際の処理における情報として提供できることを試みた。紫外線処理後の水中のマイクロキスティン濃度をモデル化するために、処理後の細胞数の変化をまずモデル化し、作成した細胞数モデルをマイクロキスティン濃度モデルへ拡張した。細胞数モデルでは、紫外線処理後の細胞を、増殖能を持つ細胞と、増殖できずに消失する細胞の 2 つに分類し、それぞれの数と増殖能を持つ細胞数の増殖速度を、セファロスポリンを用いた培養法の結果から算出した。消失する細胞数の消失速度は、細胞数の経時変化の結果に見合うように、設定した。

作成した細胞数モデルをマイクロキスティン濃度モデルへ拡張した。消失する細胞からはマイクロキスティンが放出されることとした。増殖する細胞からは、理論上マイクロキスティンは放出されないが、実際には一部死滅する細胞が存在するため、マイクロキスティンは放出される。細胞数モデルで用いた見かけの増殖速度を、正味の増殖速度と死滅速度を含んだ項へと拡張し、増殖する細胞群からのマイクロキスティンの放出を記述し、最終的にマイクロキスティン濃度を表現できているかを確認した。モデルの結果を用いることで、増殖細胞からの放出を考慮できなかった前章の結果を改善して細胞 1 個当たりのマイクロキスティン放出量を考察し、以下の知見を得た。

- (i) 実験結果を記述するための細胞数及びマイクロキスティン濃度に関するモデルを構築し

た。死滅細胞からの放出と増殖細胞からの放出で構成したモデルの枠組みで概ね実験結果を再現できた。

(ii) 細胞 1 個当たりのマイクロキスティン放出量について、増殖細胞からの放出量を考慮して再度検討したところ、白色光培養下では紫外線分解による放出量低下のみが影響することが分かった。

#### <まとめ>

紫外線処理による *Microcystis aeruginosa* の増殖抑制及びマイクロキスティンの放出抑制について検討した。紫外線処理では、 $120 \text{ mJ/cm}^2$  程度の紫外線量を照射することで増殖抑制を効率的に行うことができ、かつマイクロキスティンの放出による新たな健康被害も生じないと考えられることが分かった。本研究で構築したモデルを実現場へ適用し、モデル変数の値についての知見を蓄積することが今後の課題である。