

# 蛍光光度計を用いた河川水中の付着性藻類濃度計測の試み

二瓶泰雄<sup>1</sup>・花山朋令<sup>2</sup>

<sup>1</sup>正会員 博（工） 東京理科大学助教授 理工学部土木工学科（〒278-8510 千葉県野田市山崎2641）

E-mail: nihei@rs.noda.tus.ac.jp

<sup>2</sup>非会員 学（工）（株）積水ハウス 埼玉西支店

都市河川における二次汚濁源となる河床に繁茂する付着性藻類の剥離状況を連続計測するために、河床より剥離し水中に懸濁している付着性藻類の水中濃度計測に対する浸水式蛍光光度計の適用性を室内実験と現地観測により検討した。現地河川より採取した付着性藻類と土砂を蒸留水中に混合・攪拌する室内実験や、現地都市河川における降雨時採水調査を行い、藻類の現存量の指標であるクロロフィルa（Chl.a）に対する蛍光光度計の計測値とアセトン抽出法による分析値を比較した。これらの結果、河川水中の付着性藻類濃度に対して、蛍光光度計によるChl.a計測値とアセトン抽出法による分析値は概ね良好な相関関係を有しており、付着性藻類濃度モニタリングに対する蛍光光度計の基本的な有効性が検証された。

**Key Words:** fluorometer, periphyton, chlorophyll-a, pollutant load, urban river

## 1. 序論

都市流域を抱える中小河川では、一般的に、水深が浅いゆえに日射量が底面に到達しやすく、また、栄養塩レベルが高いため、大量の付着性藻類が河床に繁茂している。河床に付着する藻類は剥離し下流へ流されるため、付着性藻類は河川水にとっては汚濁負荷源となる<sup>1)・2)</sup>。このことから、都市河川における汚濁負荷量を精度よく算定するためには、河床に繁茂する付着性藻類の河川水中への剥離量をモニタリングすることは重要な要素の一つである。

付着性藻類の剥離過程は流量が大きく増加する洪水時に顕著になるため、付着性藻類の剥離状況を適切に評価するには、洪水時の非定期的な変化を含めた形で長期連続的に、河川水中を浮遊する付着性藻類量をモニタリングすることが望ましい。このための一つの手段として、河川水を採水し、その後室内分析を実施し、付着性藻類の現存量としてクロロフィル a（以下、Chl.a と略す）を求めることが挙げられる。しかしながら、採水と室内分析は、一般的に多くの労力を必要とし連続計測には不向きである。

連続計測をする上では、湖沼や沿岸域の植物プランクトンに対する Chl.a 計測に用いられる蛍光光度計<sup>3)~6)</sup>が有効である。蛍光光度計とは、青色光を照射すると赤色光を放射するという Chl.a の蛍光特性を利用し、Chl.a を測定する機器である。蛍光光度計はメモリ内蔵型の浸水式測器として市販されて

おり、自然水域における Chl.a の連続調査に使われている<sup>4)~6)</sup>。蛍光光度計は、前述した計測原理より、河床から剥離した後の付着性藻類に含まれる Chl.a の計測にも適用できるものと期待される。

これまでに、河床より剥離し水中を懸濁している付着性藻類の水中濃度モニタリングに対する蛍光光度計の適用性を本格的に検討した例は皆無である。また、蛍光光度計を水中に長期係留した連続調査結果により、Chl.a の時間変化に対する底生藻類（付着性藻類）の影響を指摘している研究例<sup>6)</sup>はあるものの、そこでは、付着性藻類の水中濃度と蛍光光度計の計測値（蛍光強度）との相関性に関する定量的な議論は全く行われていない。

本研究では、河川水中における付着性藻類濃度計測に対する浸水式蛍光光度計の適用性を定量的に検討することを試みる。ここでは、室内実験と現地調査を行い、水中の付着性藻類濃度の指標と見なされる Chl.a に対して、蛍光光度計による計測値と一般的な抽出分析法であるアセトン抽出法による結果を比較し、蛍光光度計の付着性藻類濃度モニタリングへの適用性を把握する。

## 2. 室内実験及び現地観測の方法

### (1) 蛍光光度計の概要

植物プランクトンの現存量の指標である Chl.a は、

青色の光の照射により励起して赤色の蛍光を出す、という蛍光特性を有している。蛍光法は、この特徴に基づいて蛍光強度を測定することにより Chl.a を定量している。蛍光法を利用して Chl.a 計測を実施する蛍光光度計として、本研究では、**図-1**に示す測定器（COMPACT-CLW，アレック電子株式会社）を用いる。この測定器は、センサー周辺部の発光部と中央部の受光部及び長期連続観測を可能とするセンサー面清掃用のワイパーから構成され、水中設置可能なメモリ内蔵型測定器である。このセンサーによる蛍光強度の計測値はウラニン溶液により検定されて、Chl.a を出力している。なお、この機器の測定項目は Chl.a に加えて、濁度と水温である。

浸水式蛍光光度計による計測は、生きた植物プランクトンの細胞に存在するクロロフィル蛍光を直接測定する、という In-Vivo 計測に分類される<sup>7)</sup>。この方法は、特別な前処理や抽出操作を必要とせずに、連続測定を行うことが容易である。この点に関しては、サンプル水に対して有機溶媒を用いてクロロフィルを抽出するという抽出測定法よりも優れているものの、蛍光光度計の計測値は太陽光や濁度などの影響を受けるために、その測定精度は抽出測定法と比べると低くなる。また、水中を浮遊する植物プランクトンの種類等により、蛍光強度と Chl.a の関係は変化する。そのため、蛍光光度計を用いる場合には、Chl.a に関して抽出測定法による結果と蛍光光度計の測定値の検定を行う必要がある。

## (2) 室内実験

河川水中の付着性藻類濃度計測に対する蛍光光度計の適用性を調べるために室内実験を行う。ここでは、現地河川より採取された付着性藻類を水中に攪拌させて、そのときの Chl.a に対する蛍光光度計の計測値と抽出測定法による分析値の相関関係を検討する。また、高濁度状況となる洪水時では、土砂が蛍光光度計の Chl.a 計測値に何らかの影響を及ぼすものと推察されるので、ここでは、蛍光光度計の付着性藻類濃度計測に対する土砂濃度の影響も合わせて調べる。実際の作業手順は下記のとおりである。

- ① **図-2**に示す円筒容器内に蒸留水 1.0L と所定量の付着性藻類や土砂を混合し、スターラーにより攪拌する。
  - ② 蛍光光度計のセンサー面を円筒容器内の水中に浸水させ、蛍光光度計による Chl.a 計測を行う。
  - ③ ②と同期して、センサー近傍より 0.2L 採水し、その後、抽出測定法により Chl.a を求める。
- ここで、土砂としては、濁度計検定に一般的に用いられるカオリンを採用する。また付着性藻類のサン

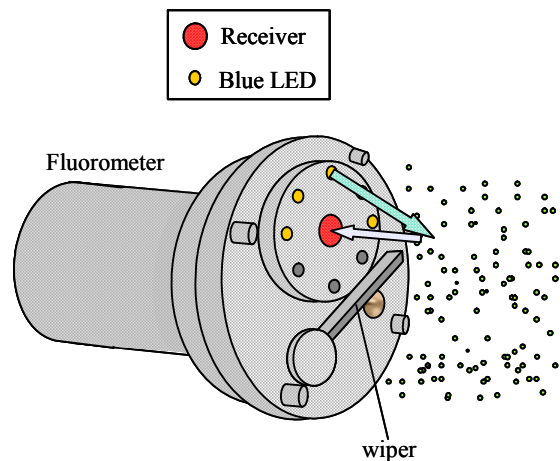


図-1 浸水式蛍光光度計の概略図

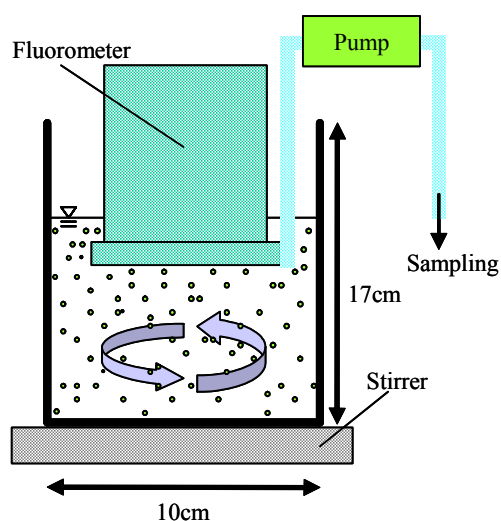


図-2 実験装置の概要

プルとしては、千葉県柏市を流れる都市河川（大堀川）の河床に人工プレートを設置し、そのプレート表面に付着した藻類をこそぎ落としたものを用いる。人工プレートの設置期間は 2~4 ヶ月であり、採取日は 2004 年 1 月 13 日である。採取された付着性藻類の顕微鏡分析を別途行った結果、付着性藻類の優占種は、珪藻類の *Navicula* spp. と藍藻類の *Aphanotheca* spp. であった。また抽出測定法としては、アセトン抽出法<sup>8)</sup>を採用する。手順としては、採水サンプルをガラス繊維濾紙により濾過し、濾紙上の沈殿物中の Chl.a をアセトンで抽出し、吸光光度計によりサンプル水の吸光度を計測し Chl.a を求める。なお、上記の実験では、外部光の影響を遮断するために、装置全体を暗幕により覆っている。

上記の①~③の手順に基づいて、水中に混入する付着性藻類や土砂の量を様々に変化させて実験を行う。本実験では、付着性藻類のみを混入する場合（CaseA）と土砂のみを混入する場合（CaseB）、

両者を付加する場合 (CaseC) , という三種類の実験条件を設定する. なお, 以下では,  $Chl.a$  に対する蛍光光度計の計測値を  $Chl.a(F)$ , アセトン抽出法による分析値を  $Chl.a(A)$  と表示する. また, 土砂混入条件としては, CaseB では濁度として 0~596ppm の範囲においてほぼ均等に分割して 11 ケースを, CaseC では同範囲にて 8 ケースを各々選定している.

### (3) 都市河川における現地観測

蛍光光度計による付着性藻類濃度計測の現地河川での適用性を検証するために, 都市域を流域とする X 市 Y 川 (流域面積 12km<sup>2</sup>) にて現地調査を行った. この河川は 3 面コンクリート張りとなっており, 春季から秋季にかけて河床に付着性藻類が繁茂し, 流量が増加する降雨イベント時にはその付着性藻類は剥離し下流へ流送される. 同河川中流部 (Stn.A, 平常時の水深 0.2~0.3m) と下流部 (Stn.B, 平常時の水深 0.6~0.7m) の 2 地点において, 蛍光光度計を 2003 年 6 月 23 日~7 月 14 日にわたり水中設置し,  $Chl.a$  を連続的にモニタリングした. 計測時間間隔は 5 分である. 蛍光光度計の設置方法としては, 水深の浅い Stn.A では河床に設置した単管上に蛍光光度計を取り付け, また水深が深い Stn.B ではブイを設置し表層に蛍光光度計を係留した. また, 降雨イベント時 (2003 年 6 月 24~25 日) において採水観測を同じ Stns.A, B にて行った. ここではバケツによる表層採水を実施し, アセトン抽出法により  $Chl.a(A)$  を求めた. 採水間隔は降雨中及びその直後では 15 分~1 時間, それ以外では 1 時間~数時間とした. また, 同時期に Y 川流域内の 3 地点にて雨量観測も行った. 本論文では, 採水観測を行った降雨イベント時における結果を示す.

## 3. 室内実験における $Chl.a(F)$ と $Chl.a(A)$ の相関性

### (1) 付着性藻類のみを混入する場合 (CaseA)

まず, 土砂を混ぜずに付着性藻類のみを混入した場合 (CaseA) での蛍光光度計の計測値  $Chl.a(F)$  とアセトン抽出法による分析値  $Chl.a(A)$  の相関図を図-3 に示す. これより,  $Chl.a(A)$  は  $Chl.a(F)$  とともに直線的に増加し, 以下に示す近似式が得られた.

$$Chl.a(A) = 11.979Chl.a(F) - 8.820 \quad (1)$$

ここで  $Chl.a$  の単位は ppb (もしくは  $\mu g/l$ ) である. 上記の結果では, 相関係数は 0.99 (サンプル数 18) となり,  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の良好な相関関係

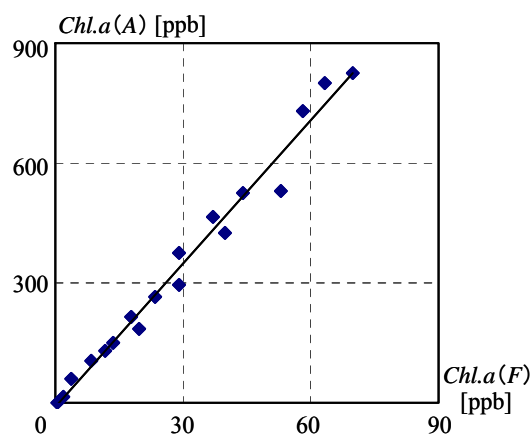


図-3 付着性藻類のみを混入した場合における  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  のキャリブレーション結果 (CaseA)

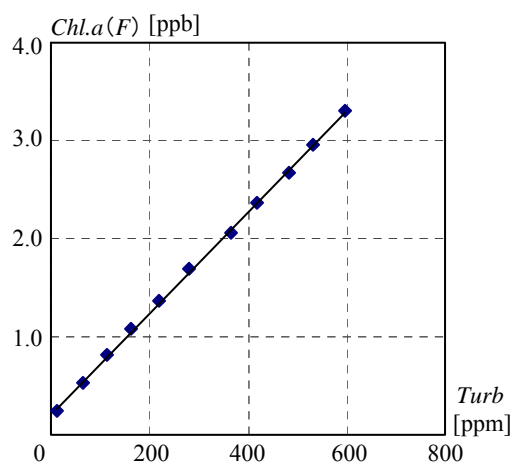


図-4 土砂のみを混入した条件における濁度  $Turb$  と  $Chl.a(F)$  の相関関係 (CaseB)

が示された. また,  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  に大きな差が生じているのは,  $Chl.a(F)$  の計測値がウラン溶液で検定された  $Chl.a$  値を用いているためである.

### (2) 土砂のみを混入する場合 (CaseB)

土砂濃度が蛍光光度計の  $Chl.a$  計測精度に及ぼす影響を見るために, 付着性藻類を混入せずに様々な量のカオリンを付加した場合 (CaseB) の実験結果を図-4 に示す. 図中には, 蛍光光度計により計測された濁度  $Turb$  と  $Chl.a(F)$  が示されている. これを見ると, 濁度とともに  $Chl.a(F)$  は増加しており, 水中に藻類が含まれずに土砂のみが浮遊する場合でも, 土砂の存在により蛍光光度計の  $Chl.a$  計測値に誤差が生じている. この場合における濁度  $Turb$  と  $Chl.a(F)$  の相関関係は, 次のように近似される.

$$Chl.a(F) = 0.0052Turb + 0.2115 \quad (2)$$

ここで,  $Turb$  と  $Chl.a(F)$  の単位はそれぞれ ppm,

ppb である。式 (2) より濁度と  $Chl.a(F)$  の関係を定量的に見ると、例えば、500ppm 程度の高濁度状態では  $Chl.a(F)$  は 3ppb 弱となる。4. にて後述する現地観測結果が示しているように、洪水中における  $Chl.a(F)$  が 100ppb 弱まで達することを考慮すると、数 ppb の程度の  $Chl.a(F)$  の計測誤差は、洪水時の都市河川での計測では無視できると考えられる。これより、土砂の存在に起因して蛍光光度計の  $Chl.a$  計測値には誤差が生じるものの、その計測誤差は、500ppm 程度の高濁度状態においても小さい。

### (3) 附着性藻類と土砂を混入する場合 (CaseC)

附着性藻類と土砂が混在する場合 (CaseC) における  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相関図を図-5 に示す。ここでは、土砂混入条件としてカオリン起源の濁度が 67ppm と 596ppm の時の結果を図示している。図中では、所定のカオリン量を混入したときの計測値  $Chl.a(F)$  (図中▲印) と、この結果に対して後述する濁度による  $Chl.a$  増加分を補正した結果  $Chl.a(F)'$  (図中◆印)、さらに、同じ附着性藻類混入条件下でカオリン混入条件 0ppm のときの結果  $Chl.a(F)_{turb=0}$  (図中■印) が各々示されている。 $Chl.a(F)_{turb=0}$  は、土砂の影響が加味されていないので、 $Chl.a(F)$  に対する真の計測値と見なせる。また、 $Chl.a(F)$  に対する濁度補正の方法としては、計測値から式 (2) により評価される濁度増加分に対応する  $Chl.a$  値を差し引くこととし、濁度補正後の値  $Chl.a(F)'$  は、以下の補正式により与えられる。

$$Chl.a(F)' = Chl.a(F) - (0.0052Turb + 0.2115) \quad (3)$$

CaseC の実験結果のうち、土砂混入量が相対的に少ない場合 (図-5 (a)) には、濁度補正前の計測値  $Chl.a(F)$  は補正後の結果  $Chl.a(F)'$  と比べてそれほど変化していない。また、この濁度補正前後の結果は、真値と見なせるカオリン混入量 0ppm の時の結果  $Chl.a(F)_{turb=0}$  と概ね一致している。一方、土砂混入量が相対的に多い場合 (同図 (b)) には、濁度補正前の結果  $Chl.a(F)$  は、真値  $Chl.a(F)_{turb=0}$  よりも全体的に大きい。しかしながら、濁度補正後の結果  $Chl.a(F)'$  は、補正前の値  $Chl.a(F)$  よりも約 3ppb 差し引かれたため、一部のデータを除いて真値  $Chl.a(F)_{turb=0}$  と大差ない結果となっている。

濁度補正の効果を様々な条件下で検討するために、CaseC における真値  $Chl.a(F)_{turb=0}$  と濁度補正後の結果  $Chl.a(F)'$  を図-6 に示す。図中の濁度補正後の結果は、各附着性藻類混入量にて、濁度 0ppm の場合を除いた 7 ケースの土砂投入条件の結果に対する平均値である。これより、真値  $Chl.a(F)_{turb=0}$  と

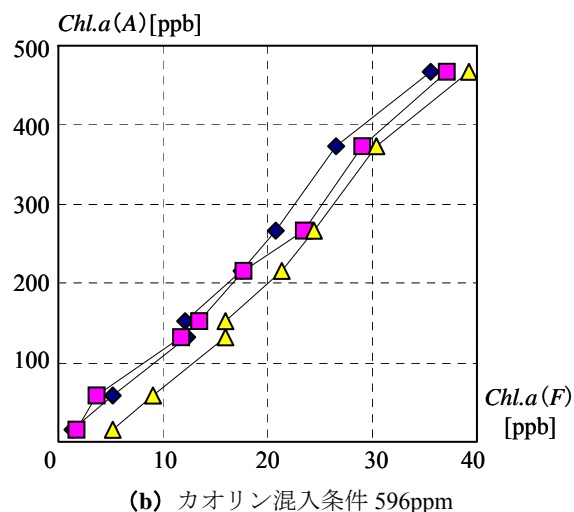
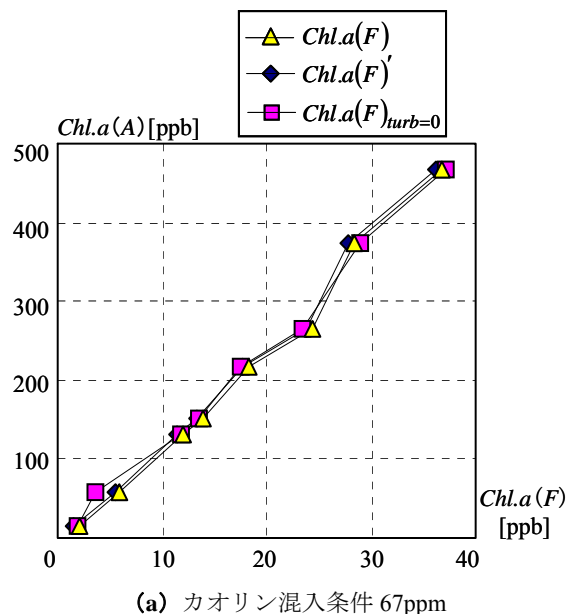


図-5 附着性藻類と土砂を混在した場合における  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相関図 (CaseC)

濁度補正值  $Chl.a(F)'$  は概ね一致しており、上述した濁度補正の方法が概ね良好であることが示された。なお、 $Chl.a(F)'$  が大きいところでは、真値  $Chl.a(F)_{turb=0}$  がわずかに濁度補正值  $Chl.a(F)'$  よりも大きくなっている。この理由としては、濁度補正を行うときに用いる式 (3) 中の濁度  $Turb$  には、土砂 (カオリン) のみならず、附着性藻類自身も影響しており、やや過大に濁度補正しているためであると考えられる。実際の現地河川においてモニタリングを行う際に、濁度の起源として附着性藻類分のみを除去し、土砂成分のみを抽出するのは難しいことから、ここでは、計測された濁度値をそのまま用いて、式 (3) により濁度補正值を算出した。

以上のように、土砂による  $Chl.a(F)$  の増加分を式 (3) により補正することにより、土砂と附着性藻類が混在する場合においても、 $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  は良好な相関性を有することが確認された。これら

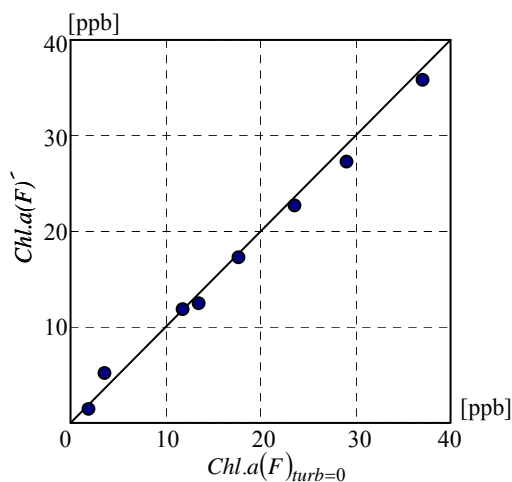


図-6 CaseC における真値  $Chl.a(F)_{urb=0}$  と濁度補正後の値  $Chl.a(F)'$  の比較

の結果より、蛍光光度計による水中の付着性藻類濃度計測に対する基本的な適用性が明らかとなった。

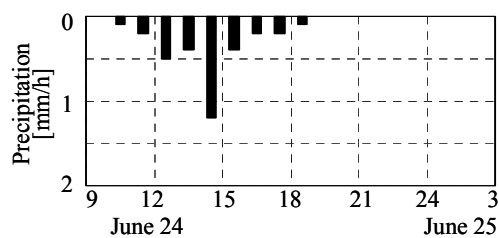
#### 4. 現地河川での付着性藻類濃度計測に対する蛍光光度計の適用性

現地河川における付着性藻類の水中濃度計測に対する浸水式蛍光光度計の適用性を検討するために、現地観測により得られた、降雨イベント時における  $Chl.a$  の時間変化を図-7に示す。ここでは、Stns.A, B における蛍光光度計の計測値  $Chl.a(F)$  とアセトン抽出法による分析値  $Chl.a(A)$ 、Y 川流域 3 地点にて計測された時間雨量の平均値を図示している。これより、最大時間雨量 1.2mm、総雨量 3.3mm の少ない雨量にも関わらず、 $Chl.a(A)$  の最大値は Stn.A では 475ppb、Stn.B では 81ppb と降雨前の値の 4~9 倍まで達している。この時の  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  を比較すると、両地点ともに、 $Chl.a(A)$  には見られない細かい時間変動が  $Chl.a(F)$  には確認されるものの、 $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  における時間変化の様子は概ね類似している。

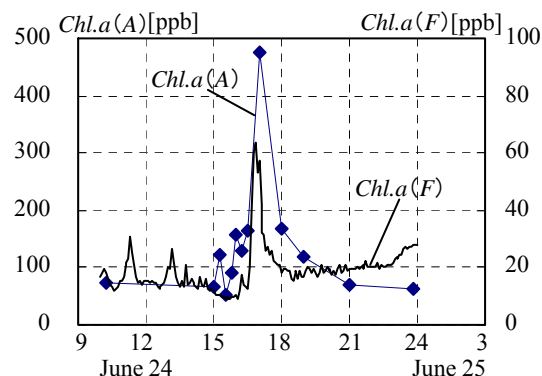
次に、両者の相関関係を調べるために、同じ降雨イベント時における  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相関図を図-8に示す。これより、3. で示している室内実験で得られた結果と比べると、 $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相関関係のばらつきは大きいものの、この両者の間には次のような近似式が得られた。

$$Chl.a(A) = 8.300Chl.a(F) - 3.562 \quad (4)$$

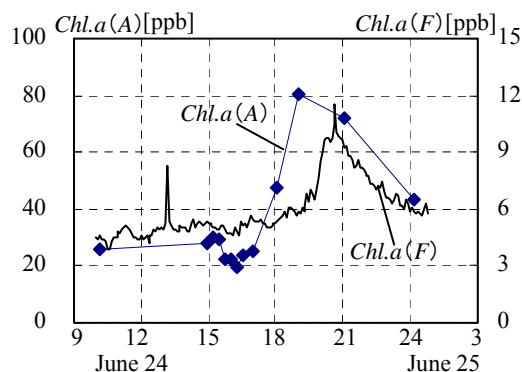
ここでの相関係数は 0.94 (サンプル数 11) であり、現地観測結果においても、 $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相



(a) 雨量 (流域平均)



(b) Stn.A

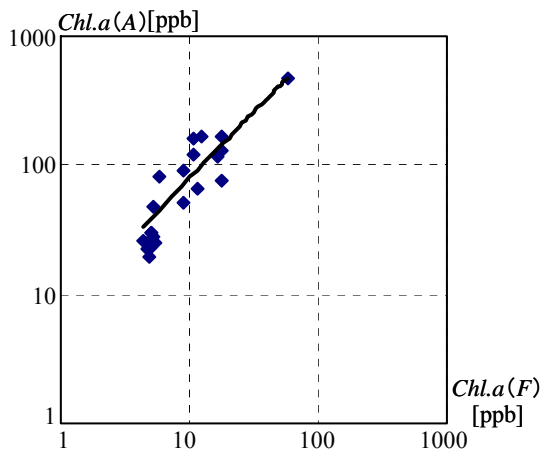


(c) Stn.B

図-7 現地都市河川における雨量と  $Chl.a(F)$ 、 $Chl.a(A)$  の時系列変化

関性は高いことが分かる。これより、現地河川における付着性藻類濃度モニタリングに対して浸水式蛍光光度計が有効な測定機器となり得ることが示された。また、観測データに基づく式 (4) 中の係数は、室内実験の CaseA において得られた式 (1) とは若干異なる。これは、水中を浮遊する付着性藻類の種類やサイズの違いの影響を受けているものと推察される。このため、 $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の間の検定を、対象とする河川毎に行うことが望ましい。

なお、図-7 (b) 中の  $Chl.a(F)$  を見ると、降雨終了後 4 時間経過した 6 月 24 日 23 時頃より、 $Chl.a(F)$  は増加している。類似した時間変化は、同じ測定器により計測された濁度にも確認されている。洪水イベント後には、大きなゴミや付着性藻類の大きな塊が蛍光光度計全体を覆っていたことが目視に



図—8 観測結果における  $Chl.a(F)$  と  $Chl.a(A)$  の相関関係

より確認された。このため、センサー面清掃用のワイパー機能が役立たなくなり、 $Chl.a(F)$  や濁度の計測値が増加したものと考えられる。これより、水中設置可能な蛍光光度計による連続計測を精度良い形で実現するためには、河川水中における蛍光光度計の設置方法について工夫する必要がある。

## 5. 結論

河床より剥離し浮遊する付着性藻類の水中濃度モニタリングに対する浸水式蛍光光度計の適用性について、室内実験と現地調査により検討を試みた。そこで得られた主な結論を以下に示す。

- (1) 室内実験により、蛍光光度計による計測値とアセトン抽出法の分析値の相関性が高いことが示された。
- (2) 土砂濃度が蛍光光度計の  $Chl.a$  計測値に及ぼす影響を検討した結果、 $Chl.a$  が大きい場合には土砂の影響は相対的に小さく、また、土砂濃度による  $Chl.a$  増加分を補正することでより精度

- の良い  $Chl.a$  計測値が得られることが示された。
- (3) 都市河川における降雨時観測結果においても、 $Chl.a$  に対する蛍光光度計の計測値とアセトン抽出法の分析値は有意な相関性を有しており、現地河川での付着性藻類濃度モニタリングに対する蛍光光度計の基本的な適用性が検証された。

**謝辞：**本研究を進めるにあたり、東京理科大学工学部土木工学科出口浩助教授には、アセトン抽出法による  $Chl.a$  分析や現地観測実施に際して様々な便宜を図って頂いた。同大学理学部第一部教養学科長島秀行教授には、付着性藻類の種分析について御教示頂いた。また、現地観測や分析の際には、今野篤君をはじめとして土木工学科水理研究室学生諸氏に大変お世話になった。ここに記して謝意を表する。

## 参考文献

- 1) 川島博之, 鈴木基之: 河川における自浄作用と自濁作用, 生産研究, Vol.34, No.7, pp.287-295, 1982.
- 2) 川島博之, 鈴木基之: 浅い富栄養化河川水質シミュレーションモデル, 化学工学論文集, Vol.10, No.4, pp.475-481, 1984.
- 3) 横山勝英, 石川忠晴, 正岡孝浩, 植木洋: セヶ宿貯水池における春期プランクトンブルームの時空間分布特性, 水環境学会誌, Vol.21, No.1, pp.23-28, 1998.
- 4) 八木宏, 鯉淵幸生, 日向博文, 灘岡和夫: 東京湾湾奥部の水環境に与える河川水の影響について, 海岸工学論文集, Vol.45, No.2, pp.986-990, 1998.
- 5) 二瓶泰雄, 山崎裕介, 谷脇大介, 大竹野歩, 西村司: 現地観測に基づく手賀沼における水温・ $Chl.a$  濃度・流動特性に関する検討, 水工学論文集, Vol.47, pp.1231-1236, 2003.
- 6) 田中勝久, 児玉真史, 熊谷香, 藤本尚伸: 有明海筑後川河口域における冬季のクロロフィル蛍光と濁度変動, 海の研究, Vol.13, No.2, pp.163-172, 2004.
- 7) 日本海洋学会編: 沿岸環境調査マニュアルII [水質・微生物編], 恒星社厚生閣, pp.57-61, 1990.
- 8) (社)日本水道協会: 上水試験方法—1985年版—, pp.529-533, 1985.

(2004. 4. 12 受付)

## ATTEMPT TO MEASURE A PERIPHYTON CONCENTRATION IN RIVER WATER WITH A FLUOROMETER

Yasuo NIHEI and Tomonori HANAYAMA

To continuously monitor the concentration of periphyton detaching from river bed, we attempt to confirm the applicability of a memory-type fluorometer to measure a periphyton concentration in river water with laboratory experiments and field observations. By using the experimental data and observed results, the concentrations of chlorophyll-a measured with the fluorometer,  $Chl.a(F)$ , are compared with those analyzed with a spectrophotometric method,  $Chl.a(A)$ . The results of the experiments and observations indicate that the results of  $Chl.a(F)$  have a good correlation with those of  $Chl.a(A)$ , demonstrating the fundamental applicability of the fluorometer to the continuous monitoring of the periphyton concentration in river water.