

藻類生産潜在力試験(簡易法) (Algal Growth Potential)

【藻類種】

- | | |
|---|------------|
| ① <i>Selenastrum capricornutum</i> Prints | 緑藻類 (標準種) |
| ② <i>Microcystis aeruginosa</i> Kutz | 藍藻類 (準標準種) |
| ③ <i>Anabaena flos-aquae</i> De Brebisson | 藍藻類 (準標準種) |
| ④ <i>Chlorella</i> sp | 緑藻類 |
| ⑤ <i>Scenedesmus acuminatus</i> | 緑藻綱 |

【前培養】

C培地にて標準種(準標準種)を室温にて4000Lux程度で培養し、クロロフィルa現存量として50 μ g-chl. a/L程度(見た目が青汁ぐらい)になるまで培養する。

【洗浄】

AGP試験を行う際、前培養の藻類をそのまま接種すると、培地もAGP試験用の試水に混入する。そのため、前培養した藻類をメスシリンダー等に入れてしばらく静置し、藻類を沈殿させ、上澄みをできるだけ捨てる。そこに、滅菌湖水(滅菌水道水)を入れて攪拌し、その後、静置して上澄みを捨てる。

これで、培地の混入はある程度防ぐことができる。

【試水の処理】

ろ過法、滅菌法、両者の組み合わせもあるが、簡便な滅菌法で行う。

200mLの三角フラスコ5個を用意し、100mLの試水をそれぞれの三角フラスコにいれ、アルミホイルでふたをして、オートクレーブ(無い場合は、蒸し器)で30分～60分程度、滅菌する。

【接種】

1000～10000細胞/mL程度の藻類を接種するのが標準であるが、洗浄した藻類(青汁程度の色)であれば、1滴ずつ5個の滅菌試水の入った三角フラスコに入れる。

【培養】

20℃～25℃程度、4000Lux程度にて1～2週間程度培養し、増殖が定常値になったときに培養を終了する。

【増殖率の測定法】

・コールターカウンター、検鏡による直接計数、濁度(660-750nmの吸光度)、クロロフィルa濃度を測定する。元々の試水に濁りのある可能性が考えられるので、クロロフィルa濃度を測定するのが簡便で、意味がある。

＜実際の処理手順 フロー＞

試水をWhatman GF/Fグラスファイバーフィルターでろ過する



ろ液を200～300mLのフラスコに100mL入れる（5本セット）



培養し，滅菌水で洗浄済みの藻類を0.1mL程度接種する



20℃～25℃，4000Luxの条件下で恒量となるまで培養する
（直射日光を避けた明るい場所で恒量となるまで培養する）



細胞数が一定量以上増えなくなったら培養を停止する。
（濁度，目視で増殖が一定になったら培養を停止する。
経験的に2週間～20日程度）



増殖した藻類の入った培養液(100mL)をWhatman GF/Fグラスファイバーフィルターで全量をろ過する。ろ紙が目詰まりしそうな時は，ろ紙を交換してろ過を行い，ろ紙はすべて風乾して冷凍保存する。



ろ紙入れ（ミリポアーメルクの47mmろ紙用ペトリディッシュ）に風乾したろ紙を入れて，-20℃以下の冷凍庫で冷凍保存する。

ろ紙入れが無い場合は，チャック付きポリ袋にろ紙を1枚ずつ入れて冷凍保存する。（数ヵ月は保存可能。）



ろ紙上に補足された藻類のクロロフィル量を測定する。
クロロフィルの定量は，有機溶媒抽出し吸光光度法で測定する。
（別途，分析法のフローあり。）

図一 AGP試験法（簡易法）の概要