汽水湖中海における溶存有機物の変動

近藤 邦男*

* 島根大学環境分析センター

〈水質汚濁研究 Vol.9 No.5 (1986) pp.307~313〉

汽水湖中海のうちで、最も水質汚濁が進行している米子湾水域における、溶存有機物の挙動に着目し、以下の内容について調査を行なった。

- i) Chl-a, POC および DOC の縦直分布について調査を行ない、さらにその三者間の関係を検討した。
- ii) 水深 1 m の試水中の溶存有機物の分子組成変化を、ゲルクロマトグラフィーにより追跡した。
- iii) 植物プランクトン種の違いによる分泌物の差異を、中海の代表植物プランクトンについて検討した。
- iv) 赤潮プランクトン (*Prorocentrum minimum*) の分解過程における SS, 炭水化物, タンパク質および脂質の挙動を、室内実験により検討した。

全国アンケートによる大腸菌群測定法の評価

金政 泰弘* 友近 健一* 片山 靖夫* 板谷 勉* 国府島 泉**

* 岡山大学医学部細菌学教室 ** 就実短期大学

〈水質汚濁研究 Vol.9 No.5 (1986) pp.314~318〉

公共用水の水質調査の一つに大腸菌群測定が行なわれている。われわれは全国水質調査機関に依頼して、1975年から1982年に互っての本測定法の結果の概要と、本測定法に対する評価についての意見を求めた。

全国的な傾向として、BOD の期準達成率は極めて良好であるが、大腸菌群測定結果の基準達成は、約 8 割の機関で 50% に達しないと報告して来た。概約まとめて見ると特に市街地・農村・山間部の順に達成率が悪いことが判った。この大腸菌群の汚染指標性に関する意見としては、約半数の調査機関が、不合理な点の多いことを指摘して来た。したがって、更によりよき汚染指標微生物を試行する機関が近年増加しており、糞便性大腸菌あるいは腸球菌が指標性の高いことを指摘する声が多かった。

汽水湖中海における溶存有機物の変動

Fluctuation of dissolved organic materials in the brackish lake Nakanoumi

近 藤 邦 男*
Kunio KONDO

1. 緒 言

自然水中には化学的に極めて多種多様の有機物が溶存している¹⁾²⁾。これらの有機物は水域外起源のものと、水域内で生産される内性的なものから構成されている。

この内、外来性の有機物は人為的に生産されるものがその大部分を占め、都市下水や産業排水中に高濃度含有されている。これが閉鎖性の強い水域に流入することによって、自然水中に生息する藻類の増殖を促進し、時には赤潮現象をもたらす要因の1つとなっていることを岡市(1969)³⁾、岩崎(1972)⁴⁾らは指摘している。

一方、内性的な有機物は植物プランクトン、動物プランクトンおよび細菌等の生活活動の中で水中に供給される。たとえば、植物プランクトンは代謝過程で代謝副産物や代謝余剰物質を生体外へ分泌する。さらに自己消化過程や細菌による分解作用を通じて、細胞内容物が水中に放出される⁵⁾⁶⁾。

これらの溶存有機物は共存生物や自己の増殖に対して促進あるいは抑制作用を示し⁷⁾、生物群集の遷移を内的にコントロールする働きを有し、水域生態系の重要な位置を占めていると坂本(1973)⁸⁾は指摘している。

しかし、汽水湖中海における溶存有機物に関する情報は極めて少ない。従って、本研究では植物プランクトンの動態を知る研究の一環として、水中の溶存有機物の現存量およびその挙動について検討を行なった。

2. 調査地点と方法

2.1 調査地点と採水方法

調査はFig. 1に示した米子湾中央部地点(St.11)において、1983年5月から1984年4月にかけて行なった。

Fig. 1 Map of Lake Nakanoumi and showing investigated stations.

米子湾中央部地点は水深が約4 mと浅く、中海の内でも最も富栄養化が進行し⁹⁾、植物プランクトンの現存量が多く、赤潮の発生頻度も高い¹⁰⁾¹¹⁾。

試水は、北原式採水器を用いて、水深0, 0.5, 1, 2 mおよび3 mの各深度から採取した。

2.2 溶存有機物のゲルクロマトグラフィー

水深1 mから採取した試水は、直にメンブランフィルター(0.45 μ m)を用いて濾過した後、37 $^{\circ}$ Cの条件下でロータリーエバポレーターにより100倍に減圧濃縮した。

濃縮試料中の溶存有機物の組成を知るため、Sephadex G-15 (Pharmacia Fine Chemicals 社)を用いたゲルクロマトグラフィーにより、有機物の分離を行なった。蒸留水で充分膨潤させたGelをカラム(16 $\times$ 700mm) (Pharmacia Fine Chemicals 社, K-16)に充填し、溶離液には再蒸留水を用い、ペリスタポンプ(アトー, SJ-1211)により定流量(2.5ml. min⁻¹)で分離を行なった。

2.3 分析方法

* 島根大学環境分析センター 〒690 島根県松江市西川津町1060, Environmental analysis center, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue-shi, Shimane-ken 690 Japan

TOC (全有機炭素) はメンツェル法¹²⁾ (TOC 分析計, 日本分光 524型) により定量した。

DOC (溶存性有機炭素) は試水をメンブランフィルター (0.45 μ m) を用いて濾過し, 濾液を TOC と同様の方法で定量した。

POC (懸濁性有機炭素) は TOC と DOC の差から求めた。

タンパク質はニンヒドリン法¹³⁾, 脂質は過ヨウ素酸酸化法¹³⁾, また炭水化物はフェノール硫酸法¹³⁾ により定量した。なお, 検量線はそれぞれグルタミン酸, グリセリンおよびグルコース (キシダ化学) を標準物質として作成した。

また, Chl-a 量は Strickland and Parson (1968)¹⁴⁾ の方法によった。

2.4 植物プランクトンの培養

植物プランクトンが分泌する有機物の組成の違いを知るために, 中海に出現する代表的な 4 種を選び無菌培養を行なった。その 4 種は *Skeletonema costatum*, *Prorocentrum minimum*, *Planktonema lauterbornii* および *Cyclotella nana* である。

培養は Table 1 に示した培地を用い, 23 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 3000lux (三菱ルミグリーン, FL-30) の連続光照射条件下で行なった。

15日間培養後, メンブランフィルター (0.45 μ m) を用いて濾過し, 濾液を 37 $^{\circ}$ C の温度条件下でロータリーエバポレーターにより, 約 100 倍に減圧濃縮した。濃縮操作段階で生じた沈殿物は, 再びメンブランフィルター (0.45 μ m) を用いて濾過することにより除去し

Table 1 Culture medium for phytoplanktons

NaCl	12	g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4	g
KCl	0.35	g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.2	g
NaNO ₃	0.1	g
NaHPO ₄ · 12H ₂ O	0.013	g
NaHCO ₃	0.15	g
Na ₂ SiO ₃	0.008	g
Thymine	0.03	μ g
Vitamin B ₁₂	0.02	μ g
Citric acid	10	mg
EDTA	3	mg
FeCl ₃	0.08	mg
MnCl ₂	0.12	mg
ZnCl ₂	0.015	mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.003	mg
CuSO ₄	0.0012	mg
H ₃ BO ₃	0.6	mg
Na ₂ MoO ₄	0.05	mg
Distilled Water	1000	ml

た。

有機物の分離は Sephadex G-15 を用いたゲルクロマトグラフィーによって分離を行なった。

2.5 赤潮プランクトンの分解

分解実験に使用した赤潮プランクトンは *P. minimum* であり, 1983年10月に米子湾において単一赤潮として出現した際, プランクトンネット (NXXX25) で採取し, さらにフルイを用いて 100 μ m 以上の大形の動物プランクトンおよびデトリタスを除去したものである。メンブランフィルター (0.45 μ m) を用いて濾過した赤潮発生地地点の水に, 先の赤潮プランクトンを懸濁し, 7 $^{\circ}$ C および 30 $^{\circ}$ C の暗条件下で通気 (200ml $\cdot$ min⁻¹) し, 好気分解を行なった。

SS, 懸濁性の炭水化物, 脂質およびタンパク質はグラスファイバー フィルター (Whatman GF/C) を用いて濾過し, 濾紙に残った物について前記の方法により, それぞれ定量分析を行なった。なお, 濾過に用いたグラスファイバー フィルターはあらかじめ 450 $^{\circ}$ C で一昼夜空焼したものを使用した。

3. 結果と考察

3.1 有機物の鉛直分布

St.11において1983年5月から1984年4月までの間に調査した Chl-a, POC および DOC の鉛直分布を Fig. 2 に示した。

Chl-a の分布をみると, 水深が深くなるに従い, その濃度が低くなる傾向が観察される。水深 0, 0.5, 1, 2 m および 3 m における平均値はそれぞれ 31.5, 32.1, 30.6, 27 μ g $\cdot$ l⁻¹ および 16.7 μ g $\cdot$ l⁻¹ であった。

1983年10月には *P. minimum* による赤潮のため, 水深 0—0.5m において 70 μ g $\cdot$ l⁻¹ 以上の高い値が観察された。

POC の分布状況は Chl-a と極めて類似しており, 上層に高く下層に低くなる傾向が認められた。水深 0—2 m および 3 m における平均値はそれぞれ 2.5 mgC $\cdot$ l⁻¹ および 1.4 mgC $\cdot$ l⁻¹ であった。

また, DOC の分布は Chl-a および POC とほぼ同様, 上層に高く下層に低くなる傾向が認められた。しかし, 水温の高い 7, 8 月および 9 月に水深 3 m (湖底上 1 m) において 8 mgC $\cdot$ l⁻¹ 以上の高い値が観察された点が, Chl-a および POC の分布状況とは異なっていた。

POC と DOC の濃度を全水深にわたって比較した場合, DOC の濃度の方が高く, TOC の内の約 72.9% を DOC が占めていた。このことから, St.11 における水中の有機物の過半数以上は溶存状態にあることが判った。

Fig. 2 Vertical distribution of Chl-a, POC and DOC in Lake Nakanoumi (St. 11).

Chl-a ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), POC and DOC ($\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$)

次に、Chl-a、POC および DOC の 3 者相互の関係を水深 0 m、0.5–2 m および 3 m に分けて検討し、その結果を Fig. 3 に示した。

Chl-a と POC との間は直線関係にあり、水深 0 m および 0.5–2 m における相関係数はそれぞれ 0.94 および 0.86 と高い。しかし、水深 3 m の場合は相関係数は 0.43 と低い。このことから、水深 0–2 m の生産層¹⁰⁾における POC は植物プランクトン起源のものが大部分を占めているものと考えられる。

次に、DOC と Chl-a との関係をみると、両者間は直線関係にあり、水深 0 m および 0.5–2 m では相関係数はそれぞれ 0.87 および 0.90 と比較的高い。しかし、水深 3 m では相関係数は 0.05 と極めて低い結果となった。このことから、水深 0–2 m すなわち生産層では DOC 濃度は Chl-a 量で代表される植物プランクトンの現存量に大きく依存していることが判った。換言すれば、St.11 における生産層中の溶存有機物量の変

Fig. 3 Relationships between Chl-a and POC (A), POC and DOC (B) and Chl-a and DOC (C).

U; Upper layer (0–1m) M; Middle layer (2m) B; Bottom layer (3m)

動は、植物プランクトンの代謝活動や自己消化過程で水中に供給される有機物量の変動に起因することを示唆するものである。

さらに、溶存有機物中の炭水化物の濃度を測定した結果 (Table 2) から、グルコース態炭素に換算して DOC の内の 37–64% が炭水化物であることも判った。

3.2 溶存有機物のゲルクロマトグラフィー

St.11 の水深 1 m における溶存有機物を Sephadex G-15 を用いたゲルクロマトグラフィーにより分離した際のクロマトグラムを Fig. 4 に示した。横軸に溶出容量を、縦軸に UV254nm における吸光度を示した。

この図からも明らかのように、いずれの試料中の有機物も 3–5 つのピークが観察された。しかし、調査時毎にピークの位置や組成比が異なり、結果として分離パターンに相違が生じている。このパターンの相違から有機物の組成の変化を知ることができる。

Tale 2 Percentage of Carbohydrate-carbon in the Total Organic Carbon (TOC). Samples were collected at the water depth 0, 0.5, 1, 2m and 3m (St.11)

Month	Carbohydrate-C	
	TOC	(%)
1983, May.	44—56	
Jun.	46—62	
Jul.	37—63	
Aug.	41—64	
Sept.	38—64	
Oct.	41—57	
Nov.	42—58	
Dec.	52—62	
1984, Jan.	47—63	
Feb.	39—63	
Mar.	46—64	
Apr.	46—60

Fig. 4 Sephadex G-15 column chromatograms on the organic materials in Lake Nakanoumi (St. 11).

1983年10月の *P. minimum* の赤潮発生時の溶存有機物量は他の時期のもの比べて多く、しかも見掛けの分子量800以上¹⁰⁾の高分子画分の割合が極めて多いのが特徴的である。この試料は *P. minimum* による単一赤潮で、その最盛期に赤潮のパッチの中心から採取したものである。

このように、分離パターンに相違が生じる原因には、i) 細菌による水中溶存有機物の分解状況の違い、ii) 生物による溶存有機物利用の選択性および効率の違い、iii) 水質環境の変化や季節の変化によって起きる植物プランクトン相の変遷によって、分泌される有機物が異なることなどが考えられる。

そこで、iii)の原因を確認するために、中海に出現する代表的な植物プランクトンである *S. costatum*, *P. minimum*, *P. lauterbolnii* および *C. nana* を同一条件下で無菌培養を行ない、培養後上清中の溶存有機物の組成を比較した。

Fig. 5 に4種の植物プランクトンの培養後上清中の溶存有機物のゲルクロマトグラムを示した。全く同一条件で培養したにもかかわらず、有機物の分離パターンは植物プランクトンの種により異なっている。*P. minimum* の分泌物質の分離パターンは、先に示した本種の赤潮パッチから採取した試料 (**Fig. 4**) のそれと極めて類似している。このことから、St.11における溶存有機物の組成が植物プランクトンの分泌する有機物によっても変化することが判った。

ちなみに、調査期間中の水深1mにおける植物プランクトンの優占種の変遷の状況 (**Table 3**) をみると、月毎に種の変遷が起っている。従って、St.11における溶存有機物の組成の動態を知るためには、植物プランクトン種の違いによる生体内の有機物組成やその代謝等の差異を充分把握する必要がある。

3.3 赤潮プランクトンの分解

植物プランクトンから水中への有機物の供給過程の1つに、自己消化および細菌による分解がある。そこで、植物プランクトンの分解過程で生体内の有機物の主成分である炭水化物、脂質およびタンパク質が如何なる挙動を示すのかそれを知るために、赤潮プランクトンを用いて実験を試みた。赤潮プランクトンは1983年10月に米子湾内で異常増殖した際に、プランクトンネットを用いて採取した過鞭毛藻 *P. minimum* である。単一赤潮であったため、顕微鏡観察の結果では他の植物プランクトンおよび動物プランクトンは発見されなかった。

分解実験期間中のSS、懸濁態の炭水化物、脂質およびタンパク質濃度の経日変化を **Fig. 6** に示した。分解速度定数 k は、以下に示す式に従って算出した。

Fig. 5 Sephadex G-15 column chromatograms on the organic materials secreted by phytoplanktons. (A) *Cyclotella nana* (B) *Skeletonema costatum* (C) *Prorocentrum minimum* (D) *Planktonema lauterbornii*

Table 3 Dominant phytoplanktons at the St. 11 in Lake Nakanoumi

Month	Dominant phytoplankton species
1983, May	<i>Prorocentrum minimum</i>
, Jun.	<i>Prorocentrum minimum</i>
, Jul.	<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Prorocentrum minimum</i>
, Aug.	<i>Nitzschia closterium</i>
, Sept.	<i>Nitzschia closterium</i>
, Oct.	<i>Prorocentrum minimum</i> (Red tide)
, Nov.	<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Prorocentrum minimum</i>
, Dec.	<i>Skeletonema costatum</i>
1984, Jun.	<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Ditylum</i> sp.
, Feb.	<i>Cyclotella</i> sp., <i>Skeletonema costatum</i>
, Mar.	<i>Cyclotella</i> sp., <i>Navicula</i> sp.
, Apr.	<i>Thalassionema nitzschioides</i> , <i>Cyclotella</i> sp.

Fig. 6 Decomposition rate of red tide phytoplankton. (○) SS, (●) Carbohydrate, (△) Peptide, (■) Lipid.

$$k = \frac{2.303}{t} \log \frac{C_0}{C_t}$$

t : time (days)

C_0 : 分解開始時の濃度

C_t : 分解開始後 t 日目の濃度

濃度の変化は、対数紙上で直線となり、 $C_t = C_0 e^{-kt}$ で表すことができる。炭水化物の 7℃ の場合を除き、いずれの場合も 1—3 日後に変曲点が認められ、初期および後期分解に分かれる。

SS および炭水化物について、7℃ と 30℃ における初期分解速度定数 k_1 および後期分解速度定数 k_2 を比較すると、分解速度の温度依存性が極めて高いことがわかる。

30℃ で分解した場合の炭水化物、タンパク質および脂質の k_1 についてその値を比較すると、炭水化物の値が 0.279 と最も小さく、続いてタンパク質、脂質の順に値が大きくなっている。これに対し、 k_2 は脂質の値が 0.095 と最も小さく、炭水化物とタンパク質はほぼ同程度であった。

この結果をみる限りにおいては、*P. minimum* の生体内に含まれる炭水化物、タンパク質、脂質の 3 つの形態の有機物の中では、脂質は比較的分解し易い状態で含有されていることが判る。

このような分解過程からも有機物が水中に供給され、米子湾水域生態系の中で複雑な挙動をしているものと考えられる。

4. 摘 要

中海の内でも最も水質汚濁が進行している米子湾中央部地点における、水中溶存有機物の鉛直分布、ゲルクロマトグラフィーによる有機物の分離および赤潮プランクトンの分解について、調査ならびに室内実験によって検討した結果、以下に示すことが明らかになった。

1) St.11 における DOC 濃度は $1.8-11.2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ の範囲にあった。水深 0—2 m における DOC 濃度は Chl-a 量と直線関係にあり、その相関係数は 0.87—0.90 と比較的高いことから、St.11 における溶存有機物は植物プランクトンからの供給と関連が深いことが推察された。

2) DOC の内、グルコース態炭素の占める割合は約 37—63% であった。

3) St.11 における溶存有機物の組成の変化をゲルクロマトグラフィーにより比較した結果、いずれも 3—5 つのピークを有するクロマトグラムが得られた。しかし、ピークの位置および組成比に違いが観察された。

4) 4 種の植物プランクトンを同一条件で無菌培養した培地中の溶存有機物について、ゲルクロマトグラフィーにより分離した結果、プランクトン種によって分泌される有機物の組成が異なっていた。

5) 赤潮プランクトン *P. minimum* の分解実験の結果、生体内の有機物の溶脱速度は、初期分解では炭水化物 < タンパク質 < 脂質の順であり、後期分解では脂質 < 炭水化物 < タンパク質の順であった。

5. 謝 辞

本研究を進めるに当り、御指導下さいました元島根大学農学部教授伊達善夫先生に深謝致します。また、本稿をまとめるに当り、適切な御助言を頂いた京都大学理学部教授手塚泰彦先生、島根大学理学部化学科助教教授宅和暁男先生ならびに環境分析センターの清家泰氏に心から御礼を申し上げます。

(原稿受理 昭和60年1月10日)

引 用 文 献

- 1) Jeffrey, L. M. (1970) Lipids in marine waters, In Hood, D. W. (ed), Organic matter in natural waters, Institute of Marine Science, Univ. Alaska, 55-76.
- 2) Trussel, A. R. and Umphres, M. D. (1978) An overview of the analysis of trace organics in water *J. AWWA*, **70**, 595-603.
- 3) 岡市友利, 柳生昭孝 (1969) 海産植物プランクトンの増殖に及ぼす亜硫酸パルプ廃液の影響, 日本プランクトン学会報, **16**, 126-132.
- 4) 岩崎英雄 (1972) 赤潮鞭毛藻の生理生態, 内湾赤潮の発生機構, 日本水産資源保護協会, 東京.
- 5) Hellebust, J. A. (1965) Excretion of some organic compounds by marine phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.*, **10**, 192-206.
- 6) Fogg, G. E. (1966) The extracellular products of algae, *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **4**, 195-212.
- 7) Pratt, C. M. (1966) Competition between *Skeletonema costatum* and *Olithodiscus luteus* in Narragansett Bay and in culture, *Limnol. Oceanogr.*, **11**, 447-455.
- 8) 坂本 充 (1978) 生態遷移 II, 共立出版, 東京.
- 9) H. Ohtake, K. Kondo, Y. Seike and Y. Date (1982) Seasonal and aerial features of the lagoonal environment in Japan, *Hydrobiologia*, **97**, 15-26.
- 10) H. Ohtake, K. Kondo, N. Hayashi, S. Kawata and Y. Date (1980) Phytoplankton studies in the

- brackish Lake Nakanoumi, Japan, 1, Phytoplankton in Lake Nakanoumi, 1974-1978, *Archiv für Hydrobiol.*, **90**, 309-323.
- 11) 伊達善夫, 近藤邦男, 川田修一, 林 伸行(1980) 中海における植物プランクトン動態に関する研究, 中海における植物プランクトン相, 山陰文研紀要, **20**, 159-179.
- 12) Menzel, D. W. and R. E. Vaccaro (1964) The measurement of dissolved and particulate organic carbon in sea water, *Limnol. Oceanogr.*, **9**, 138-142.
- 13) 小山忠四郎, 半田鴨彦, 杉村行勇 (1978) 湖水・海水の分析, 講談社, 東京.
- 14) Strickland, J. D. and Parson, T. R. (1968) A practical handbook of seawater analysis, *Fish. Res. Bd. Canada, Bull.*, **167**, 311.
- 15) 近藤邦男 (1985) 汽水湖中海における一次生産に関する研究, 水質汚濁研究, **8**, 744-751.
- 16) Fisher, L. (1969) Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, An introduction to gel chromatography, North-Holland.