

バッチ培養における植物プランクトンの消長にともなう 海水中のクロム溶存形の変化

一色 健司*

1. 緒言

海水中の微量元素の濃度や溶存状態は海洋環境を鋭敏に反映するため、海洋環境の指標として重要視されている。微量元素のうち酸素酸を形成する元素については、熱力学的平衡状態ではほとんど存在し得ないとされる低酸化状態の溶存種の存在と生物活動のかかわりが注目されている[1]。

無機Crは水溶液中ではCr(III)またはCr(VI)として存在し得るが、溶存酸素が存在する中性水溶液中では、熱力学的にはCr(VI)が安定な溶存種である。また、Cr(III)は錯形成により安定な錯体を生成する化学形であるのに対し、Cr(VI)は水溶性の高い酸素酸を形成しており、Crは低酸化状態と高酸化状態で化学的性質が大きく異なる元素である。外洋においては、溶存濃度が最も高いCr溶存種は熱力学的に安定なCr(VI)であり、その鉛直分布は弱栄養塩型である[2-5]。しかし、Cr(VI)以外に、Cr(III)や有機態Crが溶存していることが明らかとなっている[2-5]。Cr(VI)が弱栄養塩型の分布を示すことは、表層近傍でCr(VI)が生物に取り込まれているか、あるいは生物の活動によってCr(VI)が別の化学形に変えられていることを強く示唆する。このことから、表層におけるCrの溶存形の変化を含む海洋中でのCr溶存形の変化についてはFig.1に示すような過程が推定されているが[3]、その詳細は明らかにはされていない。また、

Crの海洋環境の指標としての意義ははまだ明らかではないが、このことを明らかにするためにはCrの溶存種変化が海洋のいかなる環境を反映しているのかを明らかにすることが必要である。

Cr(VI)の外洋での分布と生物活動の関わりを示す観測データとしては、三陸沖暖水塊や北西太平洋の有光層において、クロロフィルa濃度の極大層とCr(VI)濃度の極小層が一致する傾向や[5]、室戸岬沿岸表面水の連続観測において観測された、日中の植物プランクトンの活動が活発な時間帯にクロロフィル濃度とCr(VI)濃度に見られた負

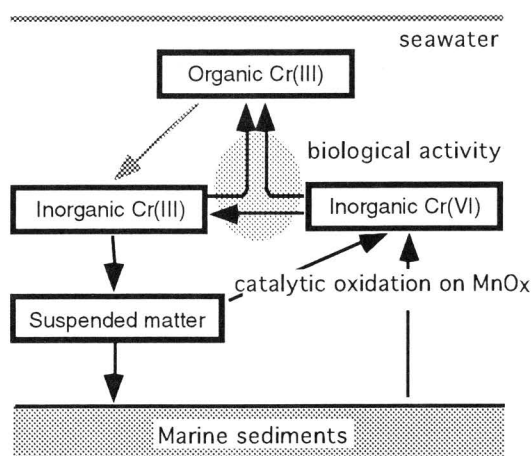


Fig. 1. A model for the circulation of chromium in the seawater [ref. 3, modified by the author].

* 高知女子大学生生活科学部環境理学科 〒780-8515 高知市永国寺町5-15

の相関がある[6]。これらの観測結果は、Cr(VI)の濃度の減少と植物プランクトンの活動に何らかの関連があることを示唆している。このような有光層におけるCrの溶存形変化とりわけCr(VI)からCr(III)への還元と植物プランクトンの活動の関係を明らかにするためには、培養実験を利用することが有効である[7]。そこで、本研究では、沿岸海水をバッチ培養し、培養液中の種々の溶存物質とCr溶存種の濃度の経時変化を観測して、Cr溶存種変化に影響を与えている要因の推定を行った。

2. 実験

試料：バッチ培養には、高知市鏡川の河口付近にある鏡川大橋中央より採取した表面水を使用した。試料水は何度かにわたって採取しており、その度に塩分は変化したが、塩分は20~25 psuであったので、培養に用いた水は河川水で希釈された海水である。

培養方法：バッチ培養は、採取した試料水を採水後できるだけすみやかにポリカーボネート製容器に入れて、照明付きインキュベータ内に置き、温度を20℃、明暗サイクルを明期16時間-暗期8時間、明期照度を10,000 Lxに設定して行った。大型培養槽(容量10 L)を用いた培養実験では、培養期間中、フィルタおよび水を入れた洗気びんを通した空気ですくき続けられることにより、空気の供給と試料溶液のかき混ぜを行った。培養液中の各成分の測定は、培養槽から試料の一部を分取して行った。また、小型培養槽(容量500 mL)を用いた培養実験では、多数の培養槽を照射がほぼ同条件になるようにインキュベータ内に配置し、適当な時期に培養槽を1個ずつ取り出してその全量を各成分の測定に用いた。なお、小型培養槽を用いた培養実験ではばっ気は行わなかった。

各成分の測定法：クロロフィル類はガラスファイバフィルタ(ワットマン社製GF/F)ろ過-DMF抽出-蛍光光度法で測定した。試料をヌクレポアフィルタ(孔径0.4 μm、野村サイエンス社製)でろ過した後、栄養塩類はJISに定める方法[8]で測定し、Cr(III)は8-キノリノール抽出-黒鉛炉原子吸光法(GFAAS)[4]で測定し、Cr(VI)はヒドロキシルアミン還元-8-キノリノール抽出-GFAAS[4]、または、ジフェニルカルバジドで錯形成させた後、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムを添加してベンゼン中に抽出するイオン対抽出-吸光光度法で定量した。粒子状Crは、ヌクレポアフィルタを湿式灰化分解した後にGFAASで測定して定量した。

3. 結果と考察

3.1. バッチ培養による植物プランクトンの消長とCr溶存形変化

大型培養槽を用いたバッチ培養における各溶存成分の濃度変化をFig.2に示す。Fig.2aは採取した試料水にCr(VI)を100 nmol/L標準添加した上でバッチ培養を行ったときのものであり、Fig.2bは採取後に何も処理を行わないでバッチ培養を行ったときのものである。栄養塩類については、初期濃度を1としたときの相対濃度を表示している。なお、個々の培養実験ごとに若干の違いはあるが、亜硝酸、硝酸、アンモニア、ケイ酸、リン酸の初期濃度はそれぞれ約2 μmol/L、35 μmol/L、15 μmol/L、80 μmol/L、5 μmol/Lであった。また、3.5日後に培養液の一部をとり顕微鏡で観察したところ、いずれの培養槽においても植物プランクトンの優占種はケイソウであった。ただし、種の同定は行わなかった。

まず、クロロフィルa量が植物プランクトンの個体数に対応するとして、簡単にこの培養系の特徴を概観する。誘導期にあた

る培養開始後1日後頃までは栄養塩類の濃度はほとんど変化しないが、対数増殖期にあたる2日後前後からアンモニアとリン酸の急激な減少が見られる。直線増殖期にあたる3~4日後にかけて硝酸の急激な減少とケイ酸のゆるやかな減少が見られ、定常期においては引き続きケイ酸の減少と亜硝酸の急激な減少が見られる。また、Fig.2には示していないが、培養開始後5日後頃から死滅期にはいる。以上のような植物プランクトンの消長と栄養塩類の濃度変化は、数回のバッチ培養に共通した傾向であり、本バッチ培養実験の再現性は良好であった。また、培養開始時にCr(VI)を100 nmol/Lあるいは1,000 nmol/L添加した場合でも、クロロフィル類および栄養塩類の濃度およびそれらの変化は無添加の場合とほとんど同じであり、Cr(VI)の1,000 nmol/Lまでの

添加は培養に影響を与えなかった。

次に、Cr(III)の濃度変化に注目する。Fig.2aおよびbの培養実験に共通して、培養開始4日後頃、植物プランクトンの直線増殖期の終わりから定常期の初めにかけての暗期にCr(III)濃度の極大が見られた。この培養系ではCr(III)の起源はCr(VI)の還元による生成以外には考えられないこと、若干不明瞭ではあるがCr(III)の極大の出現に対応してCr(VI)の減少が見られることから、この時期に最も活発にCr(VI)のCr(III)への還元が行なわれているものと考えられる。栄養塩類との関係で見ると、Cr(III)が極大濃度を示す時期は、亜硝酸イオンが急激に減少し始める時期に対応している。これらの傾向は、この実験で用いた水域の水に普遍的な傾向であると考えられる。以上のことは、Cr(VI)の還元が、植物プランク

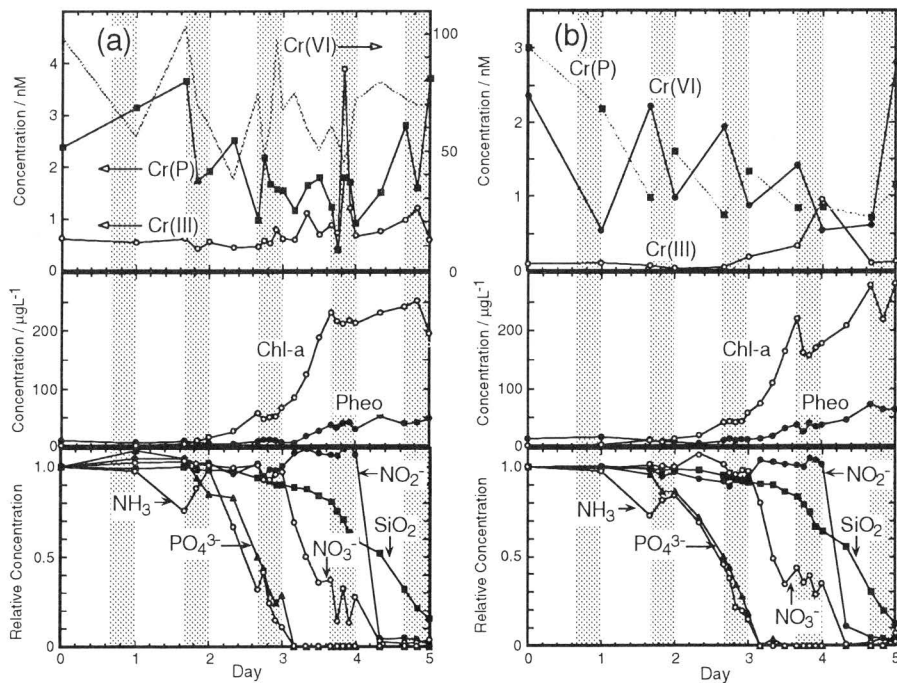


Fig. 2. Change of the concentration of Cr species, pheopigments and nutrients in batch culture experiment. (a) 100 nM Cr(VI) is added at the beginning of cultivation, (b) not added. Dotted areas indicate dark periods.

トンの特定の増殖段階における暗期の活動によって起こることを示唆している。

Cr(VI)については、いずれの培養実験においても、明期に増加し暗期に減少する変動を繰り返す傾向が見られた。一方、粒子状CrはCr(VI)とは逆に明期に減少し暗期に増加する変動を繰り返す傾向が見られた。この傾向は、Cr(VI)を100 nmol/L添加した培養実験ではやや不明瞭である(Fig.2a)が、Cr(VI)無添加の培養実験では顕著に現れた(Fig.2b)。このことは、粒子状Crと溶存Cr(VI)の相互の転換が比較的短時間の間に起こっていることを示唆するものである。培養実験中に測定した粒子状Crは植物プランクトン体内のCrを含むものであるが、Cr(VI)がそのままの形で植物プランクトン体内に摂取されたり、粒子状物質に吸着する可能性は小さいので、Cr(VI)と粒子状Crの間で逆相関を示すことの原因が、Cr(VI)のそのままの形での細胞内外の出入りあるいは粒子状物質への吸脱着であるとは考えられないが、その原因は不明である。

また、Cr(VI)無添加の培養実験では、培養の全期間を通じて、Cr総濃度(Cr(III)+Cr(VI)+粒子状Cr)は減少する傾向を示した。Cr(III)、Cr(VI)、粒子状Crのいずれでもない溶存種がどのような化学形となっているのかは明らかではないが、本研究で用いたCr(III)濃縮法では安定度定数の大きい水溶性Cr錯体が濃縮されないことを考慮すると[4]、Cr(III)が植物プランクトンに由来する安定度定数の大きい水溶性有機錯体として溶存している可能性が考えられる。

3.2. 定常期後のCr(VI)の還元

定常期後に見られたCr(VI)の還元はどのような現象が関係しているのかを明らかにするために、採取した試料水を大型培養槽で連続バッチ培養し、植物プランクトンの増殖が定常期にさしかかったときに培養液をろ過し、1 $\mu\text{mol/L}$ のCr(VI)を添加してこ

れを光照射下および遮光下において小型培養槽に入れて培養を続け、Cr(VI)およびクロロフィルa、フェオ色素の濃度変化を追跡した。また、未ろ過の培養液についても同様の操作を行った。その結果をFig.3に示す。

Fig.3aおよびbに示したように、ろ過によって植物プランクトンを除去した試料については、光照射、遮光のいずれの条件下においても、Cr(VI)の顕著な減少は見られなかった。このことは、Cr(VI)還元がろ過直前、すなわち、定常期までの間に植物プランクトンが細胞外に排せつした溶存物質によって起こるのではないことを示している。未ろ過のまま遮光して培養を続けたものの結果をFig.3cに示す。この条件においてもCr(VI)の顕著な減少は見られなかった。この試料については、クロロフィルaもフェオ色素も大きな増加や減少は示さなかったため、植物プランクトンは増殖も死滅もしない休眠状態にあったものと考えられる。一方、Fig.3dに示したように、未ろ過のまま光照射し続けた試料では、照射開始約0.5日後にCr(VI)の顕著な減少が見られた。この試料では、Cr(VI)の減少に対応してフェオ色素の急激な増加が見られ、これに少し遅れてクロロフィルaの急激な減少が見られた。一般に、フェオ色素は、植物プランクトンが死滅したり、動物プランクトンなどに捕食されたときに、クロロフィルaが分解して生成することが知られており、フェオ色素が増加してクロロフィルaが減少したことは植物プランクトンがこの時期に一斉に死滅したことを示している。Cr(VI)の還元が死滅した植物プランクトン細胞の内部で起こるのか、それとも、細胞の破壊に伴って細胞外に放出される物質によって起こるのかは明らかではないが、Cr(VI)の還元は植物プランクトンの死滅の過程の中で起こるものと推定される。

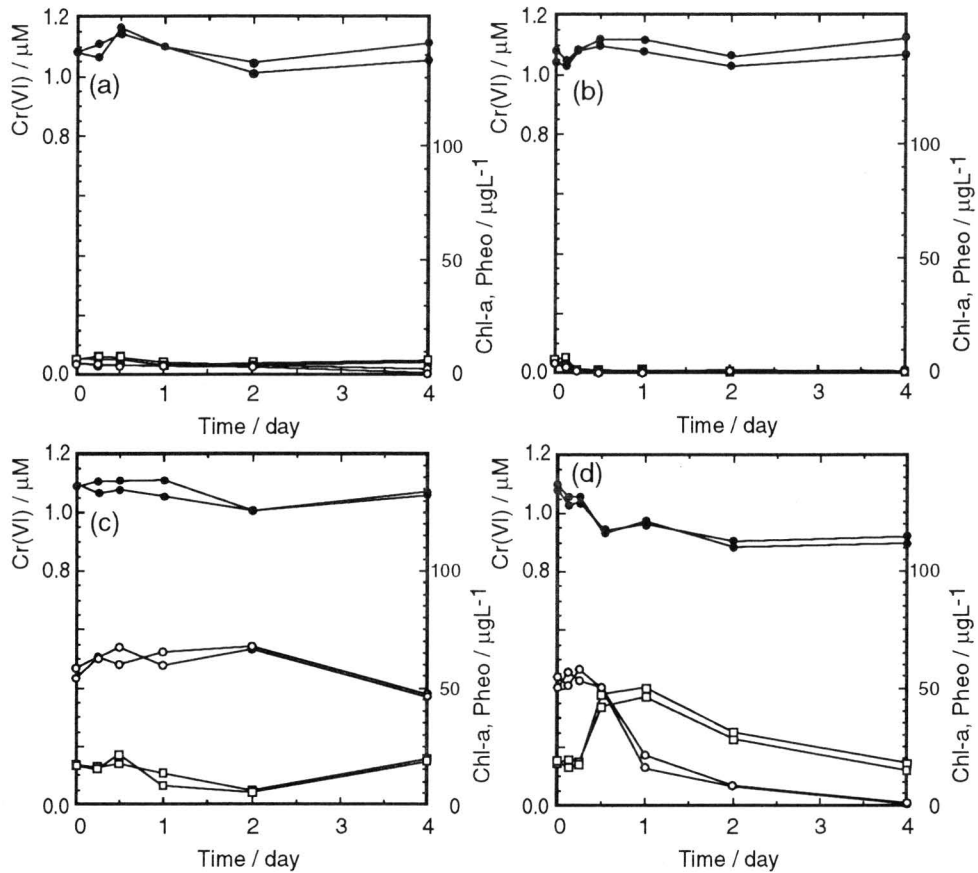


Fig. 3. Change of the concentration of Cr(VI), chlorophyll-a and pheo-pigments. (a) filtered, dark; (b) filtered, light; (c) unfiltered, dark; (d) unfiltered, light. Solid circle, Cr(VI); open circle, chlorophyll-a; open square, pheo-pigments.

海洋のような定常状態に近い状態となっていると思われる系では、クロロフィルaの極大層では植物プランクトンの増殖と死滅が同時に起こりながら定常状態に近い状態を維持していると思われるので、上の推定が正しいとすれば、外洋や沿岸で観測されたCr(VI)とクロロフィルaとの逆相関は、Cr(VI)の還元が植物プランクトンの増殖や光合成と直接関係しているためではなく、植物プランクトンの死滅の過程と関係しているためと解釈することが可能である。

4. 結言

本研究により、Cr(VI)の還元は植物プランクトンの消長の中の定常期および死滅期において起こるらしいことが明らかとなった。また、定常期においては、この還元に伴い、一時的に多量のCr(III)が生成することが明らかとなった。Crが海洋環境の指標としてどのような意義を持っているのかはいまだ明らかとはなっていないが、生物の活動により溶存形が変化する他の微量元素、とりわけ、酸化状態が変化する他の酸

素酸元素の観測結果と組み合わせることにより、有光層における海洋の生物化学的環境の指標のひとつとして利用可能となることが期待される。

謝辞

本研究の実験にご協力いただいた大西裕美子氏、木村裕美氏、紅露瑞代氏、田中庸子氏に感謝します。

本稿に述べた研究は、故中山英一郎先生が先駆的な成果をあげられた海洋中のCrをはじめとする微量元素のスぺシエーションに関する研究を基礎として行ったものです。中山先生には、海水中のCrに関する研究テーマを引き継ぎたいという著者の希望を快くお受け入れいただき、また、貴重な助言や様々なご支援、そして激励のことばをいただきました。ここに心から深く感謝いたします。先生のご冥福を心よりお祈りいたします。

参考文献

- [1] 月刊海洋, **17**, No.9 (1985); 同誌, **21**, No.3 (1989).
- [2] E. Nakayama, T. Kuwamoto, H. Tokoro, T. Fujinaga, *Anal. Chim. Acta*, **131**, 247 (1981).
- [3] E. Nakayama, H. Tokoro, T. Kuwamoto, T. Fujinaga, *Nature*, **290**, 768 (1981).
- [4] K. Isshiki, Y. Sohrin, H. Karatani, E. Nakayama, *Anal. Chim. Acta*, **224**, 55 (1989).
- [5] E. Nakayama, Y. Sohrin, K. Isshiki, "Deep Ocean Circulation", ed. T. Teramoto, P119 Elsevier, 1993
- [6] 高田理恵, 前田由美子, 高知女子大学家政学部卒業論文, 1991.
- [7] 一色健司, 海洋化学研究, **6**, 9 (1992).
- [8] JIS K0102 工業排水試験法, 日本規格協会.

[英文要旨]

Change of the Dissolved Form of Chromium in Seawater during Phytoplankton Growth Phases
in Batch Culture Experiments

Kenji Isshiki,

Kochi Women's University, Eikokuji-cho, Kochi 780-8515, JAPAN

Batch culture experiments using coastal seawater were carried out in order to investigate the relation between the change of chemical form of Cr and the activities of phytoplanktons. The concentration of Cr species such as inorganic Cr(III), inorganic Cr(VI) and particulate Cr, chlorophyll a, phaeo-pigments, and nutrients was monitored during the batch culture experiments. It was found that the reduction of Cr(VI) occurred in the dark period during the stationary phase and the death phase of phytoplankton growth phases. The results of the additional batch culture experiments suggested that the reduction of Cr(VI) is not caused by the extracellular materials released by phytoplanktons in the stationary phase, but is related to the death or decomposition process of phytoplanktons.