

広島湾沿岸域における溶存態有機炭素の濃度

松山 幸彦・内田 卓志・本城 凡夫

Concentrations of Dissolved Organic Carbon in Coastal Location in Hiroshima Bay

Yukihiko Matsuyama, Takuji Uchida and Tsuneo Honjo

Concentrations of dissolved organic carbon (DOC) from surface samples in Hiroshima Bay, Seto Inland Sea, were determined by the high temperature oxidation method. The method gave reproducible results with a mean concentration (\pm S.D.) of 1.44 ± 0.04 mgC/l ($n=6$) on October 14, 1992. DOC concentrations of the samples collected from Hiroshima Bay ranged from 1.44 to 2.50 mgC/l. The highest concentration was detected in the sample from *Heterosigma akashiwo* bloom. This suggests that the high DOC value was caused by the excretion of metabolites of this species. Further, the DOC content of a sample was fractionated by microfiltration (pore size $0.1 \mu\text{m}$) and ultrafiltration (MW 3000). The fraction of less than MW 3000, MW 3000 $\sim 0.1 \mu\text{m}$, and $0.1 \sim 1 \mu\text{m}$ was estimated to contain 57%, 23% and 20% of total amount of DOC, respectively. The DOC concentrations of samples in Hiroshima Bay were similar or slightly higher than those determined previously in the other waters.

Key words: High temperature oxidation method, DOC, Hiroshima Bay,

海洋における有機物の存在形態には溶存態有機物と懸濁態有機物があり、両者は、一定の孔径を持つフィルターで濾過することにより区別されてきた。一般には孔径 $1 \mu\text{m}$ のグラスファイバーを用いるが、近年 $0.7 \mu\text{m}$ のものも用いられている (半田 1992)。

溶存態有機物は、その分子中に含まれる炭素を指標として、溶存態有機炭素 (DOC: Dissolved Organic Carbon) として定量的に扱われる。一般に海水中に含まれる DOC は、植物プランクトンの炭素量よりもはるかに多く、海洋における炭素循環の中で重要な位置を占めている (Parsons 1963)。特に、バクテリアなどの従属栄養生物にとっては、エネルギー代謝の重要な基質となっている (Cole *et al.* 1982)。

また、近年は海水中の DOC が金属元素と錯化合物を作ることにより、植物プランクトンの増殖に必要な鉄などの金属吸収能力を高めたり、また、銅など有害な重金属の毒性を和らげたりして、海洋の植物プランクトンの増殖や基礎生産をコントロールしていることも指摘されている (Barber and Ryther 1969, Steeman Nielsen and Wium-andersen 1970, 中島 1992)。従って、DOC が地球規模の炭素循環において果たす役割や、基礎生産等へ与える影響等を調べるためにも、海水中における濃度や組成を正確に把握する必要がある。

DOC の測定には、試水に含まれるすべての有機物を酸化分解し、生じた CO_2 濃度を非分散型赤外分析計で測定する方法が用いられてい

る。この測定法は、酸化分解における操作の違いから、大きく2つの手法に分けることができる。一つは酸化剤に過硫酸カリウムを用いる湿式酸化法 (Menzel and Vaccaro 1964) であり、もう一つは、白金触媒や酸化マンガンを充填した高温電気炉 (680–900°C) で分解する高温触媒酸化法 (Gordon and Sutcliffe 1973, Sugimura and Suzuki 1988) である。高温触媒酸化法は、湿式酸化に比べ難分解性の有機物に対しても酸化効率が高く、分析操作も容易なことから、近年多用されるようになってきている。しかしながら、DOC の測定は、ブランク測定に必要な有機物を全く含まない超純水の調製が難しいだけでなく、試料の前処理法がほとんど統一されていない。そのため、分析法や測定者により値が大きく異なるなどの問題が生じやすく、その測定は研究者に敬遠されがちである。こうしたことから、無機栄養塩などと比較して、正確な測定例が著しく少なくなっている。特に基礎生産が高く、DOC の生成、分解が活発であると言われる沿岸域や内湾での分析例はほとんど報告がない。

そこで、今回は広島湾海水中の DOC 濃度を高温触媒酸化法で測定するとともに、現場海水での再現性・有効性を検討した。また、微小孔径のフィルターによる濾過および限外濾過法により、DOC の粒径および分子量分画を行っ

て、それぞれの割合も同時に測定した。

実験方法

1. 試水の採水および調製

海水試料は、1992年6月10日、8月4日、10月7日、11日および14日の計5回、Fig. 1 に示した研究所前の浮棧橋において採水した。11容の手付ビーカーを用い、表層水を適量採水した。海水は直ちに実験室に持ち帰り、予め450°Cで3時間焼いて有機物を除いたガラスフィルター (GF/C: ポアサイズ約1 μ m, Whatman 社製) を装着した濾過器を用い、20 mmHg 以下で濾過して懸濁物を除いた。この濾液を DOC 測定用の試料とした。また、10月14日の試料については、採水直後、濾液を0.1 μ m のシリンジフィルター (マイレクスVV, ミリポア社製) および分子量3000の限外濾過膜 (アミコン社製, YM-3) を装着した濾過器 (アミコン社製, Model 8050) を用いて濾過し、分画試料とした。従って、それぞれの分画は、0.1~1 μ m, 0.1 μ m~MW 3,000, MW 3,000 以下となる。いずれの試料も分析まで、-20°C以下で凍結保存した。なお、採水や濾過に先立ち、器具や容器等はすべて1N-HClと脱イオン水による洗浄を行った。ただし、洗浄を施しても、フィルターや膜から溶出する微量の有機

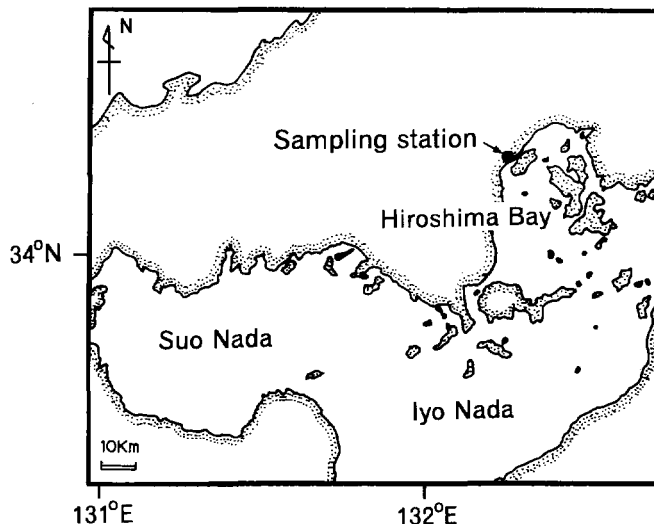


Fig. 1. Sampling location of seawater.

物汚染は避けられないので、 $0.1\ \mu\text{m}$ のフィルターおよび限外濾過膜については、脱イオン水による溶出液中の DOC 濃度も同時に測定した。

器具等の洗浄や、ブランクの測定に用いた脱イオン水は、すべて蒸留水作成装置（ヤマト，WG 25）で得られた蒸留水を，再度イオン交換樹脂（オルガノ社製，Model-R）を通過させて調製した。脱イオン水は空気中からの有機物汚染を避けるため，採水後 5 時間以上経過した水は廃棄し，新たに調製した。また，イオン交換樹脂で処理する場合においても，最初の流出液は汚染が比較的多いと思われるので，数百 ml 以上流出させた後に採水した。

2. 試水の前処理および測定

DOC の分析において障害となる溶存態無機炭素（Dissolved inorganic carbon: DIC）を予め除くため，Fig. 2. に示す操作によって，試水の前処理法を検討した。まず，5 ml の海水試料を，予め 450°C で 3 時間処理して有機物を除いた 10 ml 容ガラス瓶に移し，脱イオン水で調整した 2N-HCl（和光純薬，アミノ酸自動分析用）を $50\ \mu\text{l}$ （1% 濃度）添加して pH を 2 以下に下げた。この溶液を，先端にシリ

ジ針を装着したシリコンチューブを用い，流量 $80\ \text{ml}/\text{min}$ ，10 分以上 N_2 ガスを通気させて DIC を十分に除いた。また，1N-HCl 添加による同様の実験も試みた。

DOC の測定は，全炭素分析計（島津製作所，TOC-500）を用いて分析した。分析条件等については，Table 1 に一括して示した。酸化剤として白金触媒を充填したカラムを用い，塩酸や海水から発生する塩素ガスによるテーリング等を避けるため，流路に酸性化した飽和 Ag_2SO_4 を含むトラップ，およびハロゲンスクラバー（島津製作所社製）を装着した。キャリアーガスには， N_2 : 78%， O_2 : 22% を含む高純度空気をを用いた。検量線作成には，フタル酸水素カリウム（関東化学，特級）を用いた。 105°C で 4 時間乾燥させたものを，脱イオン水に既知の濃度に溶解し，標準試料とした。また，測定毎に脱イオン水を用いてブランク測定を行った。

標準試料，海水試料，ブランクのいずれも，前述の前処理を 10 分以上施し，無機炭素を十分に除いた後，全炭素の分析に供した。分析は同一試料について 4 ~ 6 回行い，値が小さい方から 3 つの分析値を平均して，試料中の DOC 濃度とした。

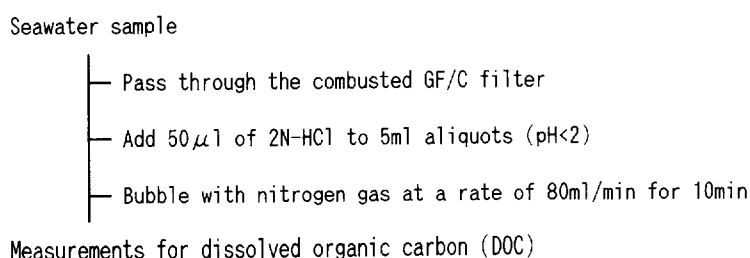


Fig. 2. Procedure for the determination of dissolved organic carbon in seawater.

Table 1. Instrumentation and operating conditions in the DOC analysis

Instrument	Shimadzu TOC-500 non-dispersive infrared detector
Column	$15 \times 110\ \text{mm}$ packed with platinumized asbestos
Column Temperature	680°C
Injection Volume	$40\ \mu\text{l}$
Chloride Trap	acidified Ag_2SO_4 solution (saturated)
Air Flow	$150\ \text{ml}/\text{min}$
Carrier Gas	N_2 : 78% O_2 : 22%

結 果

分析毎に脱イオン水を用いてブランク測定を行った結果、 $0.30 \pm 0.04 \text{ mgC/l}$ ($n=5$) という値が得られた。今回の場合、これらはすべて脱イオン水に含まれる有機炭素によるものとみなして、濃度計算を行った。

高温触媒酸化法による、現場海水中の DOC

測定の有効性を確かめるため、10月11日に得られた試料を用いて予備実験を行った。Fig. 3に、前処理による試水中の炭素含量の変化を示す。無処理の海水試料は約 23 mgC/l の炭素を含むが、酸性- N_2 ガス通気により溶液中から DIC が除かれ、その濃度は急激に減少する。そして、約10分程度で $1.64\text{--}1.71 \text{ mgC/l}$ の範囲で一定の値を示し、そのまま通気を続けることにより、30分程度は一定の値を示した。この値を試水中

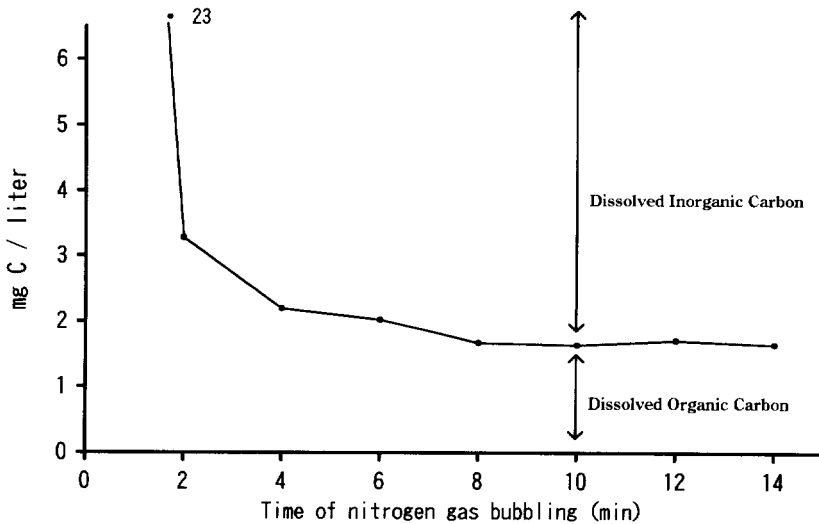


Fig. 3. Rare of the concentration decrease of dissolved inorganic carbon by bubbling nitrogen gas at a flow rate of 80 ml/min under $\text{pH} < 2$.

Table 2. Concentration of DOC in Hiroshima Bay and from previous studies at other locations.

Location	DOC (mgC/l)	Method* ¹	Sources
Western Indian Ocean	0.51–1.76	WO	Menzel (1964)
Arabian Sea	1.00–1.48	WO	Menzel (1964)
Woods Hole, Mass.	1.9	WO	Barber (1968)
Western North Atlantic Ocean	0.8	WO	Barber (1968)
Gulf of Mexico	0.64–1.42* ²	HTO	Pakulski and Benner (1994)
East China Sea	0.96–1.42	WO	Ogura (1975)
Sagami Bay	0.73–2.48	WO	Ogura (1975)
Tokyo Bay	0.88–7.00	WO	Ogura (1975)
Hiroshima Bay			
10 Jun. 1992	2.50	HTO	this study
4 Aug. 1992	1.58	HTO	this study
7 Oct. 1992	1.49	HTO	this study
11 Oct. 1992	1.66	HTO	this study
14 Oct. 1992	1.44	HTO	this study

*¹ WO: Wet Oxidation HTO: High Temperature Oxidation

*² $53\text{--}118 \mu\text{M C}$

の DOC 濃度とみなした。また、10月14日に得られた海水試料において繰り返し分析を行った結果、 $1.44 \text{ mgC/l} \pm 0.03$ ($n=6$) という値が得られた。分析に供したその他の試水においても、同様に高い再現性が得られた。

次に、Table 2 に今回の分析結果および既報の DOC 濃度とを比較した一覧を示す。計 5 回の分析の結果、採水地点における DOC 濃度は $1.44 \sim 2.50 \text{ mgC/l}$ の濃度であった。最高値の 2.50 mgC/l は、6月10日の試料から検出された。この時の海水中の優占プランクトンは、ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* で、微着色を呈する赤潮海水 ($10,400 \text{ cells/ml}$) であった。しかし、その他の採水日においては、過去に他海域で測定された濃度とほぼ同じ範囲にあり、DOC の値に大きな相違は認められなかった。

Fig. 4 に、10月14日の海水を $0.1 \mu\text{m}$ のフィルターおよび限外濾過膜で分画することにより得られた試料中の DOC 組成 (%) を示す。それぞれの画分の割合は、Table 3 に示す式に従って算出した。なお、それぞれのフィルターから、脱イオン水を通過させることによって溶出してきた DOC は、 $0.1 \mu\text{m}$ のフィルターで 0.24 mgC/l 、分子量3,000の限外濾過膜で 0.32 mgC/l であったので、これらを各測定値から差し引いた。結果として最も多く DOC を含

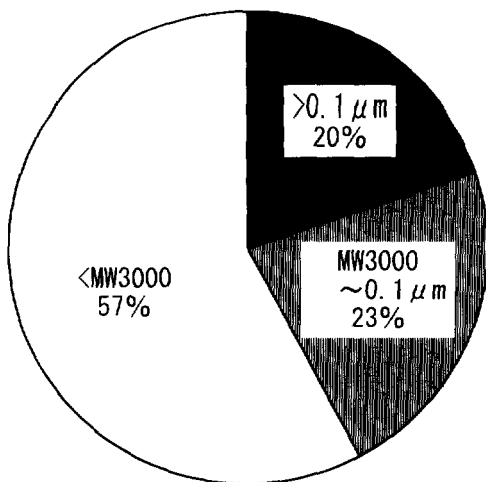


Fig. 4. Molecular size distribution of DOC (% of total amount) in the surface seawater of Hiroshima Bay on 14 Oct. 1992.

Table 3. Estimation of DOC composition in each fraction.

Treatments	Concentration
Pass through GF/C filter ($\approx 1 \mu\text{m}$)	DOC ₁
Pass through $0.1 \mu\text{m}$ filter	DOC ₂
Pass through MW 3,000 membrane	DOC ₃

Fraction	Composition (%)
0.1-1 μm	$\frac{\text{DOC}_1 - \text{DOC}_2}{\text{DOC}_1} \times 100$
MW 3,000-0.1 μm	$\frac{\text{DOC}_2 - \text{DOC}_3}{\text{DOC}_1} \times 100$
<MW 3,000	$\frac{\text{DOC}_3}{\text{DOC}_1} \times 100$

むのは分子量3,000以下の低分子画分であり、DOC 全体に占める割合は57%に相当した。続いて分子量3000~ $0.1 \mu\text{m}$ が23%、 $0.1 \sim 1 \mu\text{m}$ が20%の順であった。

考 察

Fig. 3 から明らかなように、海水試料を酸性条件下で10分程度 N_2 ガスを通気すると DIC は殆ど除かれることが判った。それ故、無機炭素を多く含む海水試料中の DOC を測定するには、この前処理を10分程度行えば十分と言えよう。また、繰り返し分析の結果から、平均的な海水中の DOC 濃度である 1 mgC/l 前後の分析においても、その濃度を精度高く定量することが可能であった。従って、沿岸水の DOC 定量に関して、本法は十分に有効であると判断した。

ただし、前処理の過程で湖沼や河川水の分析においてよく用いられる 1N-HCl 添加による通気を施した場合、同一条件下で繰り返し分析を行っても、 2N-HCl 添加の場合に比べ変動幅が若干大きくなる傾向が認められた。海水試料は、河川水や湖沼水に比べ緩衝作用が大きく、淡水に比べ pH の低下が鈍いこと、不十分な酸の添加では通気により HCl が除かれて pH が上昇し易くなるなどの現象が生じると思われ、空气中から二酸化炭素が溶解し易くなり、分析

値の変動に影響を及ぼしているものと考えられた。従って、海水試料における分析においては、試料の pH を十分に下げておく必要がある。

今回広島湾で測定された DOC の濃度は、1.44~2.50 mgC/l の範囲に及んでおり、これは周防灘において報告されている 1.58~2.08 mgC/l (今井・他 1986) とほぼ同じ範囲にあった。なお、6月10日の試料から得られた 2.50 mgC/l という値は、その他の調査日の値の約1.5倍ほど高かった。この時の海水は、*Heterosigma akashiwo* の赤潮海水であったことから、この高い値は本種の増殖による DOC の生産のためと考えられた。赤潮時に DOC 濃度が高くなる現象は東京湾などにおいて認められているし (小倉 1975)、外洋などにおいても、DOC 濃度は植物プランクトン現存量の多い有光層や沿岸域において、高い値を示すことも知られている (Barbar 1968, Menzel 1964, 小倉 1975)。従って、DOC の起源は植物プランクトンの増殖とそれに伴う有機物の細胞外分泌に負うところが大きいと考えられる。

しかしながら、赤潮のように植物プランクトンが異常に増殖した時期を除けば、広島湾における DOC 濃度は 1.44~1.66 mgC/l の範囲にあり、外洋で報告されている値とほぼ同じかやや大きい程度であった (Table 2 参照)。広島湾周辺には人口密度の高い都市や工場地帯が隣接し、しかも比較的大きな流入河川があるため陸上から負荷される無機・有機物の量が膨大である。そのため広島湾は富栄養化の進行が激しく、周年を通じて有機物の生産者である植物プランクトン現存量が多い (広島湾栄養塩収支挙動調査検討協議会 1982)。それにも拘わらず、観測したほとんどの期間で DOC 濃度が有機物の生産・負荷の貧弱な外洋域とほぼ同じ程度であった。

これは、内湾域においても、植物プランクトンから負荷された DOC のかなりの部分が易分解性で、一部の難分解性の DOC を除いて水中に留まらないためと考えられる。易分解性の DOC はすみやかに栄養塩を再生し、再び植物プランクトンに吸収利用されるので、これにより内湾域や沿岸域の高い生物生産能力が支えら

れていると言える。また、河川等を通じて負荷される有機物は微生物学的に安定であるものの、河口域で大量に発生する無機粒子に吸着・沈殿して水中からほとんど除かれてしまうので (半田 1992)、湾全体の DOC 濃度を大きく上昇させるには到っていないものと考えられる。

分子量分画の結果、DOC は分子量 3000 以下が 57% と半分以上を占めていた。東京湾表面海水における、分子量 10,000 以下の DOC はおよそ 30~60% であるという報告もある (小倉 1975)。ことから、海水中の DOC のかなりの部分は低分子物質から構成されているものと考えられる。実際に海水中からは、尿素 (McCarthy 1970) やアミノ酸 (Lindroth and Mopper 1979) などの低分子物質が多く検出されている。また、0.1 μm のフィルターを通過し、かつ分子量が 3,000 を越える DOC も 23% ほど見られた。DOC には炭水化物が 21% 前後含まれ、そのうちの大部分が多糖であるという報告がある (Pakulski and Benner 1994)。広島湾においてもこの画分に多糖がかなり含まれているものと推察される。

今回、高温触媒酸化法と限外濾過等を組み合わせ、前処理法を改良することにより、広島湾海水中の DOC の濃度とおおまかな組成を明らかにした。今後は DOC の濃度や組成が、地域や場所によって、あるいは季節によってどのように変化するか調べていく必要がある。

要 約

1. 高温触媒酸化法による広島湾海水中の DOC 測定を実施し、前処理法も含めてその再現性や有効性を検討した。その結果、本法によって現場海水中の DOC 濃度を正確に測定することが可能であることが判った。
2. 本法を用いて、5回の採水と DOC 測定を実施した。その結果、広島湾海水中の DOC は 1.44~2.50 mgC/l の範囲にあり、赤潮期間を除けば外洋等で報告されている濃度とほぼ同じか少し高い程度の値であった。
3. 微細濾過および限外濾過によって DOC の分画を行い、その分布も同時に調べた。その

結果, DOC の57%までが分子量3,000以下の低分子画分であった。分子量3,000を越えるような高分子有機物は23%, バクテリアなどを含む粒径が0.1~1 μm の有機物は20%であった。

文 献

- Barber, R. T., 1968: Dissolved organic carbon from deep water resists microbial oxidation. *Nature*, 220, 274-275.
- Barber, R. T., and J. H. Ryther, 1969: Organic chelators affecting primary production in the Cromwell upwelling. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 3, 191-199.
- Cole, J. J., G. E. Likens, and D. L. Strayer, 1982: Photosynthetically produced dissolved organic carbon: An important carbon source for planktonic bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, 27, 1080-1090.
- Gordon, D. C. and W. H. Sutcliffe, 1973: A new dry combustion method for the simultaneous determination of total organic carbon and nitrogen in seawater. *Mar. Chem.*, 1, 231-244.
- 半田暢彦, 1992: 海洋における有機物の動態, 海の研究, 1(5), 251-263.
- 今井一郎・伊藤克彦・寺田和夫・神園真人, 1986: 周防灘における *Chattonella* 耐久細胞の分布と夏季の赤潮. 日水誌, 52(9), 1665-1671.
- 広島湾栄養塩収支挙動調査検討協議会, 1982: 広島湾栄養塩収支挙動調査報告書, 4-9.
- Lindroth, P and K. Mopper, 1979: High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by pre-column fluorescence derivatization with *o*-phthaldialdehyde. *Anal. Chem.*, 51, 1667-1674.
- McCarthy, J. J., 1970: A urease method for urea in seawater. *Limnol. Oceanogr.*, 15, 309-313.
- Menzel, D. W., 1964: The distribution of dissolved organic carbon in the Western Indian ocean. *Deep-Sea Reserch*, 11, 757-765.
- Menzel, D. W. and Vaccaro R. F., 1964: The measurement of dissolved and particulate organic carbon in sea water. *Limnol. Oceanogr.*, 9, 138-142.
- 中島敏光, 1992: 海洋深層中での珪藻 *Skeletonema costatum* の誘導期を解消する諸因子 I. 有機物による解消. 日本プランクトン学会報, 38(2), 93-104.
- Ogura, N., 1975: Further studies on decomposition of dissolved organic matter in coastal seawater. *Mal. Biol.*, 31, 101-111.
- 小倉紀雄, 1975: 海水中の溶存有機物の生物地球化学的研究 日本海洋学会誌, 31, 219-226.
- Pakulski, J. D. and R. Benner, 1994: Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 39(4), 930-940.
- Parsons, T. R., 1963: Suspended organic matter in sea water, In "Sears, M. (ed.). Progress in Oceanography, 1". Pergamon Press, pp. 205-239.
- Steemann Nielsen, E. and S. Wium-Andersen, 1970: Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Mar. Biol.*, 6, 93-97.
- Sugimura, Y. and Y. Suzuki, 1988: A High-temperature catalytic oxidation method for the determination of non-volatile dissolved organic carbon in seawater by direct injection of a liquid sample. *Mar. Chem.*, 24, 105-131.

1994年12月1日受理 (Accepted December 1, 1994)

南海海区水産研究所業績A第37号 (Contribution No. A37 from the Nansei National Fisheries Research Institute)

松山幸彦・内田卓夫・本城凡夫: 南海海区水産研究所 〒739-04 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (Y. Matsuyama, T. Uchida, T. Honjo: Nansei National Fisheries Research Institute, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-04, Japan)