

浦ノ内湾海水中におけるビタミン B<sub>12</sub> 結合物質の分布と季節的消長

西島敏隆, 張 敬国, 深見公雄

(1995年1月25日受理)

Distribution of Vitamin B<sub>12</sub> Binder in the Water of Uranouchi Inlet, Japan

Toshitaka Nishijima,\* Jingguo Zhang,\* and Kimio Fukami\*

The method for analyzing vitamin B<sub>12</sub> binder in natural seawater was evaluated. Based on this evaluation, the distribution and seasonal variation of free and bound B<sub>12</sub> in the water of Uranouchi Inlet were investigated. Through these studies, the relationship between the content of B<sub>12</sub> compounds and other environmental factors in seawater is discussed.

The protein-coated charcoal method was found to be an applicable and reliable way to determine the B<sub>12</sub> binder in seawater samples. The water of Uranouchi Inlet is rather eutrophied, and the content of total B<sub>12</sub> in the water ranged from 1.5 to 15.2 ng/l. The concentration of free B<sub>12</sub> was 0.02-12.9 ng/l. The content of B<sub>12</sub> bound to B<sub>12</sub> binder (bound B<sub>12</sub>) ranged from 0 to 5.1 ng/l in the water. The ratio of bound B<sub>12</sub> to total B<sub>12</sub> averaged 35%. The content of bound B<sub>12</sub> correlated closely with the concentration of chlorophyll *a*, phosphorus, and COD, therefore some of the sources of B<sub>12</sub> binder in seawater seem to be produced by phytoplankton and/or organic substances.

The result reveals that the B<sub>12</sub> binder exists in eutrophic seawaters to some extent all year round, and that the B<sub>12</sub> binder in the water could influence the growth of organisms requiring B<sub>12</sub> and the succession of phytoplankton species.

キーワード: 浦の内湾, 水質汚濁, ビタミン B<sub>12</sub>, ビタミン B<sub>12</sub> 結合物質, 分布, 季節変化

赤潮の原因種を含む多くの植物プランクトンは必須の微量栄養物質として、ビタミン B<sub>12</sub> (以下 B<sub>12</sub> と略す) を要求することが知られ、海水中の B<sub>12</sub> は海洋の一次生産や赤潮発生を制御する因子の一つであると考えられている。<sup>1,2)</sup> 一方、ある種の植物プランクトンが、遊離態の B<sub>12</sub> と結合して B<sub>12</sub> を不活性化する物質、B<sub>12</sub> 結合物質 (vitamin B<sub>12</sub> binder) を細胞外へ排出することが明らかにされた。<sup>3,4)</sup> B<sub>12</sub> 結合物質の海水中における挙動や分布は不明であるが、B<sub>12</sub> 結合物質に結合した B<sub>12</sub> (結合態 B<sub>12</sub>) は微生物が直接利用できない形態であり、B<sub>12</sub> 結合物質が B<sub>12</sub> を要求する植物プランクトン群の動態や B<sub>12</sub> 要求・非要求種間の遷移等に関与していることが強く示唆される。<sup>2)</sup>

B<sub>12</sub> 結合物質は熱に不安定な糖蛋白質と考えられ、<sup>5,6)</sup> 従来の試水の加熱滅菌処理を伴う微生物定量法では、微生物が直接利用できない結合態 B<sub>12</sub> も利用可能な遊離態 B<sub>12</sub> に加算されて測定される。したがって海水中の B<sub>12</sub> の生態学的役割の全体を知るには、遊離態 B<sub>12</sub> の濃度が結合態から区別されて測定される必要がある。両形態の

分別には、従来、限外濾過法、<sup>4)</sup> ゲル濾過法、<sup>7)</sup> 透析法、<sup>8)</sup> DEAE セルロース吸着法<sup>9)</sup> および蛋白質被覆活性炭吸着法<sup>10,11)</sup> などが使用されているが、自然海水に適用された例は見られない。そこで、本研究では、沿岸海水中における B<sub>12</sub> 結合物質の生態学的役割を明らかにすることを目的として、まず海水に適用可能な結合態・遊離態 B<sub>12</sub> の分別定量法を確立し、これを用いて沿岸海水中の結合態・遊離態 B<sub>12</sub> の分布と季節的消長、並びにこれらと他の環境要因との関連を解析した。

## 材料および方法

**遊離態および結合態 B<sub>12</sub> の分別定量法の検討** 遊離態および結合態 B<sub>12</sub> の分別定量には、分離能および再現性に優れる蛋白質被覆活性炭吸着法<sup>11,12)</sup> を用いた。すなわち、5% Norit A 液と 1% 牛血清アルブミン水溶液を等量混合した、蛋白質被覆活性炭 (protein-coated charcoal, 以下 PCC と称す) を試料に添加して遊離態 B<sub>12</sub> を吸着・除去し、濾液中の結合態 B<sub>12</sub> をシアン化カリウムとの加熱処理後、<sup>13)</sup> 遊離した B<sub>12</sub> を *Euglena gracilis* Z

\* 高知大学農学部 (Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan)

株を用いる微生物定量法<sup>14)</sup>によって定量し、これを結合態 B<sub>12</sub> 量とした。PCC 未処理の試料をシアン化カリウムと加熱処理して同様に求めた値を全 B<sub>12</sub> 量、両者の差を遊離態 B<sub>12</sub> 量とした。本法を自然海水に適用するための、PCC 添加量および処理時間を検討するとともに、PCC 処理による遊離態および結合態 B<sub>12</sub> の分離能および再現性を評価した。

**調査水域の概要** 調査対象水域として、富栄養化が進行し、赤潮が多発している高知県の浦ノ内湾を選んだ。本湾は細長い狭湾で、湾口部が浅く、閉鎖性の強い内湾である。また、本湾には大きな河川の流入がなく、河川水による影響が小さい。湾中央付近では魚類の給餌養殖が行われ、高水温期には湾奥・湾中央部で赤潮が多発している。調査は Fig. 1 に示す湾内に設けた 3 地点（湾奥、湾中央および湾口部）において、1991 年 8 月から 1992 年 8 月まで 2 ケ月に 1 回の頻度で実施した。

**試料の採集と前処理** 試料は 3 地点のそれぞれ表層および水深 4 m 毎の水層から採取した。B<sub>12</sub> 測定には試料を孔径 0.22 μm の Millipore フィルターで、全窒素および全リン測定には Whatman GF/C グラスファイバー濾紙で、それぞれ濾過して濾液を -24°C で保存し、分析直前に解凍して用いた。全菌数計数用の試料は採取後

速やかにホルマリンを終濃度 2% になるように添加して細菌を固定した。

**調査水質項目と測定方法** 現場で水温、塩分および溶解酸素 (DO) を Ocean seven 401 型 (Idronaut 社製) で測定し、実験室に持ち帰った試料について、化学的酸素要求量 (COD)、全窒素、全リン、クロロフィル *a*、全菌数、遊離態 B<sub>12</sub> および結合態 B<sub>12</sub> を定量した。COD はアルカリ過マンガン酸カリウム法、<sup>15)</sup> 全窒素は酸性過硫酸カリウム-カドミウム還元法、<sup>16)</sup> 全リンは酸性過硫酸カリウム-マラカイトグリーン法、<sup>17)</sup> クロロフィル *a* は吸光光度法<sup>18)</sup> でそれぞれ測定した。全菌数は 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) で染色した後、落射蛍光顕微鏡で計数した。<sup>19)</sup>

**結果および考察**

**遊離態および結合態 B<sub>12</sub> 定量法の検討** 試験に先立って、200 ng/l の遊離態 B<sub>12</sub> を完全に吸着・除去するのに必要な PCC 液の添加量と処理時間を調べた結果では、試料の 10% 相当量の PCC 液の添加と 5 分間の処理によって、遊離態 B<sub>12</sub> を完全に除去できることが分かったので、自然海水に既知量の遊離態 B<sub>12</sub> を加えて、その除去効果と分離能を試験した。結果は Table 1 に示すとおり、加えた遊離態 B<sub>12</sub> は PCC にほぼ完全に吸着され (平均回収率 93.9%)、結合態 B<sub>12</sub> 画分 (濾液) には流出せず、本法は海水試料でも遊離態と結合態の B<sub>12</sub> の分離能に優れていることが明らかになった。次に自然海水を試料として、本法の再現性を試験した結果を Table 2 に示す。これから結合態 B<sub>12</sub> 量の変動係数は 4.3-7.2 であり、海水試料でも本法が再現性に優れていることがわかった。この結果から、PCC 処理は海水試料の遊離態および結合態 B<sub>12</sub> の分別定量に有効であることが示されたので、以下の B<sub>12</sub> 定量では PCC 液を試料の 10% 量添加して 5 分間処理する方法を用いた。

**浦ノ内湾の水温、DO、COD、栄養塩類、全菌数およびクロロフィル *a* の分布** 浦ノ内湾の水質分析の結果を Table 3 に示す。本湾の表層水温は 11.4-30.3°C であ

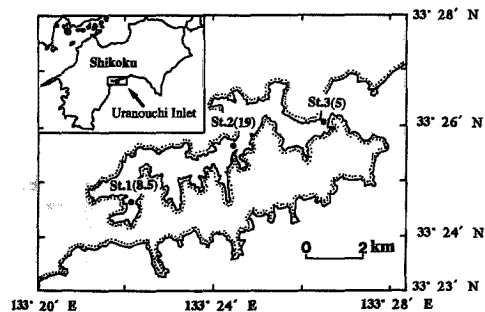


Fig. 1. Sampling stations set up in Uranouchi Inlet. Parentheses represent the water depth of station in meters.

Table 1. Separation of free B<sub>12</sub> from total B<sub>12</sub> by protein-coated charcoal treatment

Series	Sample		Sample + Free B <sub>12</sub> (100 pg)		Recovery of free B <sub>12</sub> *
	Total B <sub>12</sub> (A)	Bound B <sub>12</sub> (B)	Total B <sub>12</sub> (C)	Bound B <sub>12</sub> (D)	
1	45.9 pg	4.1 pg	141.0 pg	4.5 pg	94.7%
2	87.8	3.8	176.0	4.5	87.5
3	87.8	5.6	188.0	6.5	99.3

\* Recovery of free B<sub>12</sub> =  $\frac{(C-D) - (A-B)}{100} \times 100$ .

Table 2. Reproducibility of the determination of total and bound B<sub>12</sub> by protein-coated charcoal treatment

Series	Sample A		Sample B		Sample C	
	Total B <sub>12</sub>	Bound B <sub>12</sub>	Total B <sub>12</sub>	Bound B <sub>12</sub>	Total B <sub>12</sub>	Bound B <sub>12</sub>
1	5.6 ng/l	2.5 ng/l	7.0 ng/l	3.9 ng/l	6.3 ng/l	2.7 ng/l
2	5.3	2.2	7.8	3.9	5.4	2.6
3	4.8	2.5	7.0	4.2	5.7	2.9
CV*	7.7	7.2	6.4	4.3	7.9	5.6

\* Coefficient of variation (%).

り, その年較差は約 19°C であった。夏季には湾口部を除いて成層し, 表層と底層水の温度差が 2-3°C に達した。また, 底層水にはしばしば低酸素水塊が出現し, 溶存酸素が最低 0.04 ppm まで低下した。COD の年間変動は 0.19-2.6 O<sub>2</sub> ppm であり, 各地点とも冬季に最低値, 夏季に最高値が得られ, 特に夏季は全ての試料で 1 ppm を超えた。また, 概して湾口部より湾奥・湾中央部で高く, 給餌養殖による有機物汚染の進行が認められた。

全窒素含量は 0.9-54.8 μM の範囲であったが, 2 月の最低濃度 (平均 4.1 μM) に対して, 他の時期の全窒素濃度は各水深とも, 全て 10 μM を超えた。また夏季には (1992 年 8 月) 最高値 54.8 μM が測定された。全リンの濃度は 0.2-4.4 μM であり, 春に最低値になり夏に増加する傾向が認められた。また夏季の成層期には, 湾奥・湾中央部で表層より底層において顕著に高かった。全菌数は湾奥部の 8 月の表層水で 10<sup>7</sup> cells/ml の高い値が得られたが, 他の地点・時期は 10<sup>6</sup> cells/ml のほぼ類似の値を示した。表水層 (0-4 m 層) におけるクロロフィル a 含量は 1.2-20.5 μg/l の範囲で, 顕著な季節変動が認められ, いずれの地点でも夏季に最も高かった。しかし, 本調査時には赤潮の発生は認められなかった。

本調査で得られた浦ノ内湾の水質を水産用水基準<sup>20)</sup>の COD 1 ppm (海域) と比較すると, 湾口部を除いて夏季から秋季にはこの値を超えた。また環境基準<sup>21)</sup>で多様な水産生物がバランス良くかつ安定的に漁獲される水質 (表層の年平均) とされる全窒素 0.3 mg/l (21.4 μM 相当) および全リン 0.03 mg/l (0.97 μM 相当) と比べると, 全窒素については湾奥部で (表層年平均 25.4 μM), 全リンでは湾奥部 (同 1.3 μM) と湾中央部 (同 1.0 μM) で, それぞれこの値を上回った。これらの結果から, 本湾の有機物および窒素・リン濃度は全般に高く, 調査時期に赤潮が認められなかったものの, 本湾はかなり富栄養化していることがわかった。

全 B<sub>12</sub> 結合態および遊離態 B<sub>12</sub> の分布と季節的消長形態別の B<sub>12</sub> 濃度の分布および季節的消長を Figs. 2-4

に, これら B<sub>12</sub> 関連物質濃度と他の環境要因との相関関係を Table 4 に示す。

まず溶存態全 B<sub>12</sub> 濃度について見ると, 湾奥・湾中央部 (St. 1, 2) で 1.7-15.2 ng/l, 湾口部 (St. 3) で 1.5-9.1 ng/l の範囲であり, 概して湾奥・湾中央部で高かった。また湾奥・湾中央部では季節変動がみられ, 2 月と 4 月に

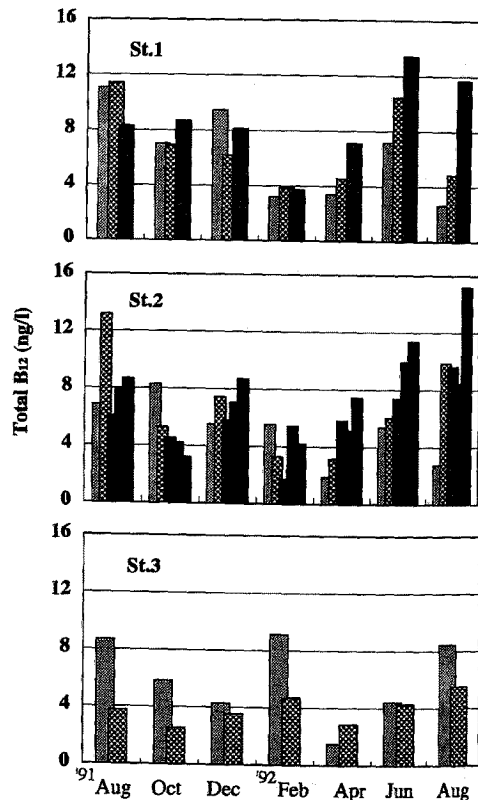


Fig. 2. Distribution and seasonal variation of total B<sub>12</sub> in the water of Uranouchi Inlet. Sampling depths: 0 m (□), 4 m (▨), 8 m (▩), 12 m (■), and 16 m (▤).

Table 3. Some physico-chemical properties of the water in Uranouchi Inlet

Sampling date	St.	Depth m	Temp. °C	Sal. ‰	DO O <sub>2</sub> ppm	COD O <sub>2</sub> ppm	Total nitrogen μM	Total phosphorus μM	Chl.a μg/l	Total bacteria × 10 <sup>6</sup> cells/ml	
'91.Aug.19	1	0	29.4	30.5	6.5	2.4	29.6	1.5	—	10.0	
		4	26.8	31.3	2.3	1.6	10.9	2.6	—	11.0	
		8	25.8	31.3	0.3	2.4	20.9	2.5	—	3.3	
	2	0	30.3	31.1	8.0	1.5	23.1	1.4	—	7.5	
		4	27.7	31.5	7.1	1.4	20.0	1.5	—	2.8	
		8	27.1	31.9	2.8	1.2	24.9	1.7	—	2.7	
	3	12	27.1	31.9	2.8	1.3	28.9	2.0	—	2.3	
		16	26.8	32.0	3.1	1.1	21.6	2.7	—	2.6	
		0	28.7	32.0	6.7	1.6	26.0	0.6	—	3.0	
	3	4	27.5	32.3	6.9	1.2	16.1	1.2	—	1.9	
		<hr/>									
'91.Oct.23	1	0	22.4	31.2	7.5	2.2	20.1	2.2	13.2	1.2	
		4	22.4	31.4	7.5	2.1	19.8	2.3	15.3	1.1	
		8	22.3	31.5	7.5	1.4	19.7	1.8	12.3	1.1	
	2	0	22.6	31.6	7.4	1.2	12.7	1.4	6.1	2.1	
		4	22.4	31.7	7.5	0.80	14.6	1.7	12.3	2.1	
		8	22.5	31.9	7.4	0.80	15.2	1.3	12.7	2.1	
	3	12	22.6	32.1	7.4	0.83	18.7	1.5	10.8	1.9	
		16	22.7	32.2	7.5	1.1	15.8	1.6	8.9	1.7	
		0	22.6	32.4	7.4	0.83	15.2	0.8	7.3	1.4	
		3	4	22.6	32.4	6.4	0.71	13.2	0.9	6.8	1.7
			<hr/>								
	'91.Dec.18	1	0	—	—	—	1.2	27.6	1.3	14.2	1.8
4			—	—	—	1.5	15.3	0.8	11.3	2.4	
8			—	—	—	0.39	19.7	1.2	7.4	1.0	
2		0	—	—	—	1.6	15.4	0.9	6.2	1.3	
		4	—	—	—	0.60	14.5	1.1	14.2	1.8	
		8	—	—	—	0.30	16.3	1.3	9.1	1.4	
3		12	—	—	—	0.42	14.2	1.6	5.5	1.1	
		16	—	—	—	0.54	18.6	1.3	6.6	1.6	
		0	—	—	—	0.30	11.8	0.9	1.2	7.6	
		3	4	—	—	—	0.48	11.9	0.8	1.3	4.2
			<hr/>								
'92.Feb.20		1	0	11.5	33.2	6.5	0.62	6.8	1.1	4.1	1.5
	4		11.5	33.3	6.6	0.74	6.8	1.1	4.3	1.8	
	8		11.5	33.3	6.6	0.81	3.8	0.9	4.7	1.7	
	2	0	12.8	33.6	8.0	0.84	5.1	0.9	5.5	1.5	
		4	12.9	33.7	7.4	0.49	4.5	0.9	6.0	1.7	
		8	12.8	33.7	6.6	0.74	2.2	1.0	5.6	1.3	
	3	12	12.9	33.7	6.7	0.42	1.3	0.9	5.6	1.4	
		16	12.9	33.7	6.6	0.42	6.7	0.8	4.8	1.4	
		0	14.4	34.0	5.1	0.78	3.4	0.7	2.9	1.6	
		3	4	14.4	34.1	5.0	0.19	0.9	1.1	2.6	0.9

最低, 6月と8月に最高となったが, 湾口部では明確な季節変動は見られなかった。溶存態全 B<sub>12</sub> の鉛直分布には, 全体として一定の傾向は見られなかったが, '92年夏季の表層では, 降雨による塩分の低下とともに, 溶存

態全 B<sub>12</sub> の濃度が顕著に低下した。また, 全 B<sub>12</sub> 濃度は COD, 全窒素および全リンと正に相関し, 特に有機物濃度の高い湾奥・湾中央部の夏季に高く, その給源として給餌養殖による自家汚染の寄与が示唆された。さらに,

Table 3. (continued)

Sampling date	St.	Depth m	Temp. °C	Sal. ‰	DO O <sub>2</sub> ppm	COD O <sub>2</sub> ppm	Total nitrogen μM	Total phosphorus μM	Chl. <i>a</i> μg/l	Total bacteria × 10 <sup>6</sup> cells/ml	
'92. Apr. 15	1	0	16.7	28.0	8.7	1.2	17.4	0.4	7.7	7.2	
		4	18.0	31.4	8.0	1.3	21.4	0.3	5.1	2.9	
		8	17.1	31.7	8.3	2.2	44.0	1.9	5.4	1.6	
	2	0	18.1	28.8	8.1	1.3	23.8	0.6	5.0	4.4	
		4	18.1	31.6	7.9	0.74	17.8	0.3	4.6	2.5	
		8	17.6	32.1	8.1	0.74	18.4	0.3	6.9	2.6	
		12	16.4	32.2	8.6	0.80	24.6	0.4	1.9	1.5	
		16	15.6	32.5	8.9	0.71	17.6	1.6	0.7	0.9	
	3	0	18.2	31.7	7.9	0.80	18.4	0.2	3.0	2.4	
		4	18.2	31.9	7.9	0.37	18.4	0.3	3.6	2.3	
'92. Jun. 10	1	0	22.8	22.5	10.8	1.7	27.2	1.1	20.0	4.8	
		4	23.3	32.1	5.6	1.8	30.8	1.0	20.5	3.5	
		8	22.1	32.8	0.42	2.6	22.3	1.2	7.6	2.7	
	2	0	23.5	25.5	10.8	1.8	18.7	0.5	6.5	4.3	
		4	23.1	32.5	7.2	1.2	18.2	0.7	20.4	2.5	
		8	23.1	32.5	5.7	1.2	18.2	0.6	9.0	2.1	
		12	22.1	32.5	3.2	1.3	17.5	1.1	2.9	1.8	
		16	22.1	32.5	2.5	1.2	22.5	1.8	1.5	2.2	
	3	0	23.1	31.2	8.9	1.3	21.3	0.6	6.5	2.2	
		4	23.0	31.8	6.6	0.83	21.8	0.6	4.9	2.1	
	'92. Aug. 26	1	0	25.3	4.7	8.7	1.2	49.0	1.6	7.6	3.1
			4	27.4	24.0	4.2	2.0	54.8	1.6	8.8	7.7
			8	27.2	27.1	0.8	1.4	41.6	2.9	7.0	8.1
2		0	26.9	8.3	8.8	1.6	39.3	1.2	3.5	2.7	
		4	26.4	24.9	4.0	1.6	41.7	0.9	7.0	4.9	
		8	26.9	30.1	1.5	0.83	35.5	1.5	7.3	3.5	
		12	26.5	31.6	0.14	1.3	38.3	2.1	6.2	5.2	
		16	26.4	31.6	0.04	1.3	46.3	4.4	5.1	5.8	
3		0	25.7	21.2	6.2	2.3	46.2	1.6	4.2	8.2	
		4	25.8	22.7	4.3	1.0	40.8	1.9	3.9	7.4	

得られた全菌数データの分布型には正規性が認められず、他の因子との相関関係の解析はできなかったが、概して全菌数の高い試料で、溶存態全 B<sub>12</sub> の濃度が高くなる傾向が認められた。このことは海洋細菌の多くが B<sub>12</sub> 生産能を有すること<sup>22,23)</sup>を反映したものと考えられ、本水域の溶存態全 B<sub>12</sub> の起源として、細菌群による生産の寄与も考えられる。本調査で得られた全 B<sub>12</sub> 濃度の範囲は、西島による本湾の測定結果<sup>24)</sup>と類似した。

次に遊離態 B<sub>12</sub> 濃度は湾奥・湾中央部では 0.4-12.9 ng/l、湾口部では 0.02-7.8 ng/l の範囲にあり、概ね全 B<sub>12</sub> と同様の季節的消長が認められた。植物プランクトンが直接摂取可能な B<sub>12</sub> は遊離態であり、多くの赤潮プランクトンの B<sub>12</sub> 要求量は 10-20 ng/l とされるが、<sup>25)</sup> 本湾

でこれをほぼ充たしたのは、6 月および 8 月 (1992 年) の湾奥・湾中央部の底層のごく一部に限られ、高水温期でも表層ではこの値に達しなかった。遊離態 B<sub>12</sub> 濃度も COD、全窒素および全リンと正の相関関係が認められたが、クロロフィル *a* との間には有意な相関関係は見いだせなかった。

結合態 B<sub>12</sub> の濃度は湾奥・湾中央部で 0.5-5.1 ng/l の範囲であり、湾口部では概してこれより低く、0-3.7 ng/l であった。結合態 B<sub>12</sub> も全 B<sub>12</sub> と類似の消長を示し、湾奥・湾中央部では冬季に低く夏季に高くなる傾向が見られた。また、結合態 B<sub>12</sub> の全 B<sub>12</sub> に占める割合は 0-98.6% (平均 35%) であり、多くの試料では 20-50% の範囲にあった。これらのことから、自然海中には結

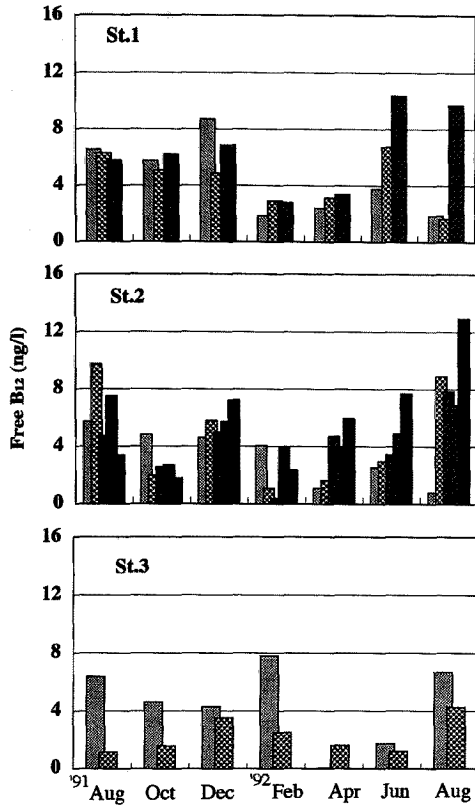


Fig. 3. Distribution and seasonal variation of free B<sub>12</sub> in the water of Uranouchi Inlet. Sampling depths: 0 m (□), 4 m (▨), 8 m (▩), 12 m (■), and 16 m (●).

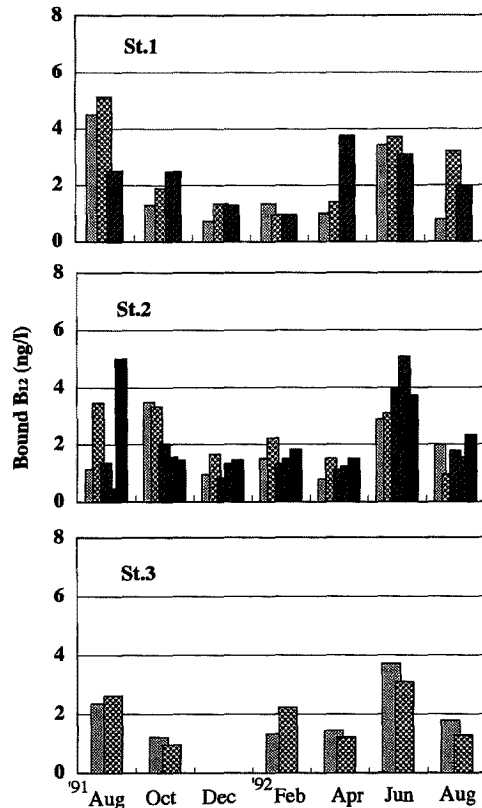


Fig. 4. Distribution and seasonal variation of bound B<sub>12</sub> in the water of Uranouchi Inlet. Sampling depths: 0 m (□), 4 m (▨), 8 m (▩), 12 m (■), and 16 m (●).

合態 B<sub>12</sub> が常時存在すること、すなわち溶存態全 B<sub>12</sub> 量のうちかなりの部分が植物プランクトンが直接利用できない形態であることがわかった。また、結合態 B<sub>12</sub> の含量は COD、全リンとともにクロロフィル a 含量との間に正の相関関係が認められ (Table 4)、B<sub>12</sub> 結合物質の起源の一部として有機物あるいは植物プランクトンによる生産が示唆された。一方、結合態 B<sub>12</sub> の分布と全菌数の間には、一定の傾向が認められなかった。

以上の結果、富栄養化した内湾の海中には溶存態 B<sub>12</sub> のうち微生物が直接摂取できない結合態 B<sub>12</sub> がかなりの割合で常時存在することがわかった。このことは結合態 B<sub>12</sub> を形成させる B<sub>12</sub> 結合物質が常時海水中に供給されていることを示し、B<sub>12</sub> 結合物質は B<sub>12</sub> を要求する微生物群の動態に重大な影響を与えていると考えられる。B<sub>12</sub> 結合物質の起源は明らかではないが、植物プランクトンにはその B<sub>12</sub> 要求性にかかわらずこれを生産す

Table 4. Correlation coefficients between the content of B<sub>12</sub> compounds and some environmental factors in the water of Uranouchi Inlet

	COD	Total N	Total P	Chl.a	Total B <sub>12</sub>	Free B <sub>12</sub>
Total B <sub>12</sub>	0.44 <sup>*2</sup>	0.34 <sup>*2</sup>	0.58 <sup>*2</sup>	0.19		
Free B <sub>12</sub>	0.31 <sup>*2</sup>	0.33 <sup>*2</sup>	0.54 <sup>*2</sup>	0.10	0.92 <sup>*2</sup>	
Bound B <sub>12</sub>	0.43 <sup>*2</sup>	0.15	0.26 <sup>*1</sup>	0.26 <sup>*1</sup>	0.44 <sup>*2</sup>	0.06

<sup>\*1</sup> Significant at the 5% level.  
<sup>\*2</sup> Significant at the 1% level.

るものがあること、<sup>4)</sup> 本調査でも結合態 B<sub>12</sub> の分布がクロロフィル a 含量と有意に正に相関したことから、結合物質の起源の一つとして植物プランクトンによる生産が重要であるものと考えられる。しかし、植物プランクトンによる結合物質生産の意義や海水中における結合物質

および結合態 B<sub>12</sub> の挙動は不明であり, これら B<sub>12</sub> 関連物質の生態学的役割と動態が注目される。

### 文 献

- 1) 西島敏隆, 畑 幸彦: ビタミン類, 「赤潮の化学」(岡市友利編), 第1版, 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp. 181-193.
- 2) A. F. Carlucci and P. M. Bowes: Vitamin production and utilization by phytoplankton in mixed culture. *J. Phycol.*, **6**, 393-400 (1970).
- 3) I. J. Pintner and V. L. Altmeyer: Vitamin B<sub>12</sub>-binder and other algal inhibitors. *J. Phycol.*, **15**, 391-398 (1979).
- 4) A. G. Davies and J. W. Leftley: Vitamin B<sub>12</sub> binding by microalgal ectocrines: dissociation constant of the vitamin-binder complex determined using an ultrafiltration technique. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **21**, 267-273 (1985).
- 5) M. R. Droop: Vitamin B<sub>12</sub> and marine ecology. IV: The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **48**, 689-733 (1968).
- 6) K. W. Daisley: The occurrence and nature of *Euglena gracilis* protein that bind vitamin B<sub>12</sub>. *Int. J. Biochem.*, **1**, 561-574 (1970).
- 7) K. W. Daisley: Gel filtration of seawater: separation of free and bound forms of vitamin B<sub>12</sub>. *Nature*, **191**, 4790-4791 (1956).
- 8) F. Watanabe, Y. Nakano, H. Ochi, and S. Kitaoka: Purification, some protein and possible physiological role of an extracellular cobalamin binding protein from *Euglena gracilis*. *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 1385-1389 (1988).
- 9) G. Tibbling: A method for determination of vitamin B<sub>12</sub> in serum by radioassay. *Clin. Chim. Acta*, **23**, 209-218 (1969).
- 10) J. L. Raven, M. B. Robson, P. L. Walker, and P. Barkhan: Improved method for measuring vitamin B<sub>12</sub> in serum using intrinsic factor, <sup>57</sup>CoB<sub>12</sub>, and coated charcoal. *J. Clin. Pathol.*, **22**, 205-211 (1969).
- 11) Y. K. Liu and L. W. Sullivan: An improved radioisotope dilution assay for serum vitamin B<sub>12</sub> using hemoglobincoated charcoal. *Blood*, **39**, 426-432 (1972).
- 12) 内山幸信: ビタミン B<sub>12</sub> の Radioassay. *臨床病理*, **21**, 312-319 (1973).
- 13) 虎谷哲夫: ビタミン B<sub>12</sub> の定量法. *ビタミン*, **57**, 529-538 (1983).
- 14) 林 光則, 上久保 正: *Euglena gracilis* z 株による海洋資源中ビタミン B<sub>12</sub> の定量法. *醸工*, **44**, 640-645 (1966).
- 15) 日本海洋学会編: 海洋環境調査法, 第1版, 恒星社厚生閣, 東京, 1979, pp. 295-296.
- 16) 日本海洋学会編: 海洋環境調査法, 第1版, 恒星社厚生閣, 東京, 1979, pp. 273-275.
- 17) 鷲 猛: リン化合物, 「沿岸環境調査マニュアルⅡ (水質・微生物篇)」(日本海洋学会編), 第1版, 恒星社厚生閣, 東京, 1990, pp. 76-78.
- 18) 日本海洋学会編: 海洋環境調査法, 第1版, 恒星社厚生閣, 東京, 1979, pp. 375-378.
- 19) 木暮一啓: 微生物の一般的計数法および計量法, 「海洋微生物研究法」(門田 元, 多賀信夫編), 第1版, 学会出版センター, 東京, 1985, pp. 33-38.
- 20) 日本資源保護協会: 水産用水基準 (改訂版), 日本資源保護協会, 東京, 1983, pp. 7-10.
- 21) 柳下正治: 水質環境保全としての富栄養化防止と窒素・リンの規制. *資源環境対策*, **129**, 718-727 (1993).
- 22) T. J. Starr, M. E. Jones, and D. Martinez: The production of vitamin B<sub>12</sub>-active substances by marine bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, **2**, 114-119 (1957).
- 23) 西島敏隆: 沿岸海域における B 群ビタミンの動態に関する研究. 高知大学農学部紀要, **43**, 85-94 (1985).
- 24) 西島敏隆, 畑 幸彦: 浦ノ内湾および野見湾におけるビタミン B<sub>12</sub>, チアミンおよびビオチンの分布. 高知大学学術研究報告, **27**, 81-92 (1978).
- 25) 西島敏隆: 赤潮発生とビタミン B<sub>12</sub>. *バイオサイエンスとインダストリー*, **47**, 389-394 (1989).