

簡便かつ迅速なサガラメ藻体の窒素含有量の測定

二 村 和 視^{*1}

Short paper

Simple and rapid determination of nitrogen content in *Eisenia arborea* sporophyte

Kazumi Nimura

キーワード：サガラメ *Eisenia arborea*, 紫外線吸光光度法 ultra-violet absorption method, 窒素含有量 nitrogen content

はじめに

コンブ科海藻において体内の窒素含有量は生長、末枯れや成熟と密接な関係があり、生理状態の指標として重要である^{1,3)}。一般に海藻の窒素含有量の測定には、ケルダール法や過硫酸分解後、銅・カドミウムカラムで還元し、比色定量する方法や^{3,5)}、元素分析計などの分析機器を用いる方法がある^{1,2,6)}。しかし、これらの方法は分析手順が煩雑であり、高価な分析機器が必要であるなどの問題点がある。一方、紫外線吸光光度法は排水中の総窒素量の測定に広く利用されており⁷⁾、分析手順が簡便かつ測定に要する時間が短い利点があるが、海藻の窒素含有量の測定には用いられていない。そこで本研究では静岡県沿岸に生育するコンブ科植物であるサガラメ *Eisenia arborea* を材料として、紫外線吸光光度法により窒素含有量を測定し、従来法での測定値と比較することで測定方法としての適用の可否について考察した。

材料及び方法

材料には、静岡県水産試験場駿河湾深層水水産利用施設で発芽・育成したサガラメ成体の側葉（8個体）を用いた。

紫外線吸光光度法は、JIS K 0102 45. 2⁷⁾に従った。試料は60℃で24時間乾燥させ、2~3mg dry weightを測定に供した。この試料と水酸化ナトリウム-ペルオキソ二硫酸カリウム溶液（40g/ℓ NaOH, 30g/ℓ K₂S₂O₈; いずれも窒素・リン測定用）10mlを耐圧ネジ口瓶に入れ、オートクレーブを用いて120℃で30分間加熱分解した。冷却後、分取した1mlの溶液に等量の希塩酸（1N HCl）を加え、この溶液の220nmの吸光度を吸光光度計で測定した。これにより得られた吸光度と乾燥重量から窒素含有量を算出した。

紫外線吸光光度法で測定した窒素含有量を従来法で測定した含有量と比較するため、上記と同一の試料を過硫酸分解後、銅・カドミウムカラムで還元し、比色定量する方法^{4,7)}（以下、比色定量法とする）により測定した。試料を上記と同様に加熱分解し、冷却後、分取した1mlの溶液に等量の希塩酸（1.5 N HCl）とホウ酸緩衝液（30.9g/ℓ H₃BO₃, 100ml/ℓ 1N NaOH; pH 8.0）を8ml加え、蒸留水で10倍に希釈した。この溶液中の硝酸態窒素濃度をParsons et al⁸⁾に従い測定し、測定値と乾燥重量から窒素含有量を算出した。また、上記とは別の試料を用いて、紫外線吸光光度法および比色定量法で同一の試料を繰り返して測定し、平均値の差を検定した。なお、両測定法の変動

2007年2月19日受理

静岡県水産試験場（本場）業績第1117号

*1 静岡県水産試験場利用普及部

係数は、窒素含有量約 $15 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ で 10% 以下 ($n=5\sim6$) であった。

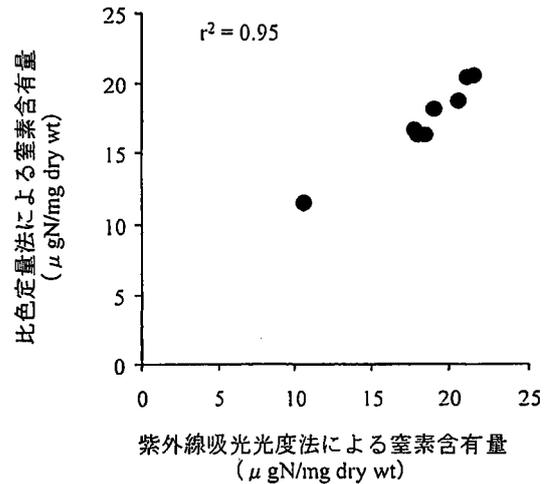
紫外部での吸光を調べるため、前述の側葉を水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウムで加熱分解した試料溶液と、 $1\text{mg}/\ell$ 硝酸態窒素溶液の $200\sim240\text{nm}$ における吸光度を測定した。

結果及び考察

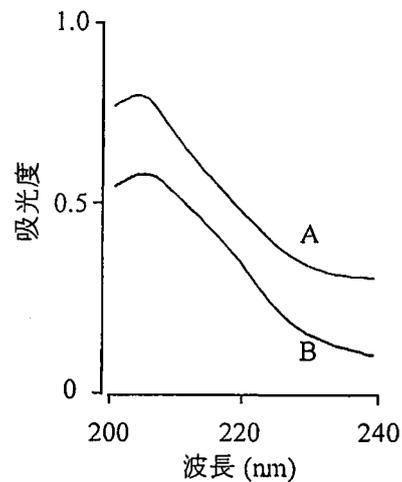
紫外線吸光光度法および比色定量法によるサガラメの窒素含有量測定値の関係を第 1 図に示す。紫外線吸光光度法による窒素含有量測定値は $10.6\sim21.6 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ であり、比色定量法による測定値は $11.4\sim20.5 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ の範囲であった。天然海域でのサガラメの窒素含有量は、 $9.3\sim24.5 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ (ケルダール法; タンパク質含有量から換算) の範囲であることが報告されており⁹⁾、本研究で測定した試料の窒素含有量の範囲とほぼ同じであった。上記とは別の試料を用いて、紫外線吸光光度法および比色定量法で同一の試料を繰り返して測定した結果、それぞれ $15.5\pm1.4 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ ($n=6$) および $16.1\pm1.5 \mu\text{g}/\text{mg dry wt}$ ($n=5$) となり、有意な差はなかった (t 検定, $p>0.05$)。

試料溶液および硝酸態窒素溶液における吸収曲線を第 2 図に示す。いずれの溶液も 205nm 付近に極大があり、波長が長くなるにつれて吸光度が緩やかに減少する傾向を示した。並木ら⁹⁾は、硝酸態窒素溶液での吸収曲線が、 205nm 付近に極大を持つことを報告している。このように試料溶液で、硝酸態窒素溶液と同様の吸収曲線を示したことから、測定波長付近において吸光度に著しい影響を及ぼす物質はないと考えられ、紫外線吸光光度法によるサガラメの窒素含有量の測定は可能であると考えられた。

紫外線吸光光度法での分析手順は、過硫酸分解後、分解液の分取および塩酸の添加、そして吸光値の測定となる。一方、比色定量法では分解後、分解液の分取、塩酸および緩衝液の添加、蒸留水での希釈後に、銅・カドミウム還元カラムでの硝酸態窒素の還元および比色定量となる。また、ケルダール法においても同様に分解後、蒸留、比色などの手順がある。両方法と比べて紫外線吸光光度法は、分析手順が少ないうえ、それぞれの手順に要する時間も短いため、簡便かつ迅速な方法である。また、元素分析計などの高価な分析機器を用いず、吸光光度計やオートクレーブなどの一般的な理科機器のみで窒素含有量を測定することができる利点がある。このように紫外線吸光光度法を用いることにより、簡便かつ迅速にサガラメの窒素含有量を測定することが可能であった。



第 1 図 紫外線吸光光度法および比色定量法によるサガラメ窒素含有量の関係



第 2 図 吸収曲線(A: サガラメ試料溶液; B: $1\text{mg}/\ell$ 硝酸態窒素溶液)

文 献

- 1) Mizuta, H., Y. Maita and M. Yanada (1992): Seasonal changes of nitrogen metabolism in the sporophyte of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae), Fisheries. Sci., 58, 2345~2350.
- 2) Mizuta, H., J. Hayasaki and H. Yamamoto (1998): Relationship between nitrogen content and sorus formation in the brown alga *Laminaria japonica* cultivated in southern Hokkaido, Japan, Fisheries. Sci., 64, 909~913.
- 3) Nimura, K., H. Mizuta and H. Yamamoto (2002): Critical contents of nitrogen and phosphorus for sorus formation in four *Laminaria* species, Bot. Mar., 45, 184~188.

- 4) Björnsäter, B. R. and P. A. Wheeler (1990) : Effect of nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales, Chlorophyta), J. Phycol., 26, 603~611.
- 5) 浅川明彦・大和田紘一・田中信彦 (1988) : 志摩半島甲賀周辺におけるアラメ, カジメの主要化学成分の季節変動, 養殖研究所研究報告, 13, 33~44.
- 6) Sjøtun, K., S. Fredriksen and J. Rueness (1996) : Seasonal growth and carbon and nitrogen content in canopy and first-year plants of *Laminaria hyperborea* (Laminariales, Phaeophyceae), Phycologia, 35, 1~8.
- 7) 並木博 (1982) : 全窒素, 工場排水試験方法 (並木博ほか編), 日本規格協会, 東京, 306~324.
- 8) Parsons T. R., Y. Maita and C. M. Lalli (1984) : Nutrients, A manual of chemical and biological methods for seawater analysis (ed. by T. R. Parsons, Y. Maita and C. M. Lalli), Pergamon Press, Oxford, 3~33.