

天然水中の有機物に関する研究-I

陸水の葉酸含量について

柏田 研一・柿本 大 啓

Studies on Organic Compounds in Natural Water-I

On the Folic Acid Content in Inland Water

Ken-ichi KASHIWADA and Daiichi KAKIMOTO

We have as yet very little information as to the appearance of vitamins in natural water. This paper deals with the folic acid content in inland water. The folic acid was determined by microbioassay method using *Streptococcus faecalis R* as the test organism. The water was applied to determination after concentrated to one fifth of the initial volume under reduced pressure. The results obtained are as follows;

1) Folic acid was contained in the river water at Kagoshima City in the range of 0 to 260 m μ /l in January, and it was found that the content was abundant in the polluted water. (Table 1)

2) In the water of Lake Ikeda, no vertical fluctuation in folic acid content was observed. And it was found that the folic acid content of the lake water was not less than that of the river water. (Table 2)

3) It was likely that in the river water the folic acid was contained mostly as dissolved state, not as a cell constituent of organisms such as bacteria. (Table 3)

4) As shown in Table 4 and 5, folic acid content in the river water increased in the early stage of storage, but it decreased gradually with the lapse of time. Striking fluctuation in folic acid content during storage was observed in the down stream water. (Table 5)

5) In the river water stored at a low temperature such as 5°C, the content of folic acid increased more slowly as compared with the water which was stored at a higher temperature such as 25°C. However, the folic acid reached to higher levels under the former storage condition than under the latter. (Table 6)

水中生物による有機物の生産を支配する要因としては、光線や温度のような物理的の環境条件と化学的的要因、即ち水中に溶存する諸種の物質に基く水の化学的性状の二つが主なものとしてあげられる。これら諸種の環境条件の下にあって行なわれている水中生物による物質代謝の真相を明らかにすることは、水界における生産の根幹に触れる重要問題であるが、前記化学的的要因の中、天然水中の化学成分については既に多くの人々によって広汎な研究が行なわれて来ている。しかし水質に関する既往の研究は成分を無機態又は元素として取扱ったものが多い。植物性プランクトンによる有機物の第一次生産が窒素、燐その他諸元素の無機化合態のものを出発点としていることは事実であるが、この場合にもたとえばある種のビタミンのような有機物が物質の合成に関与していることも見逃されてはならない。この点、従来、水中の化学成分中、とかく無機態のものを重視し、有機物に関する知見が極めて乏しいことはこの研究分野における一つの盲点と考えられる。この水中の有機物に関する

る研究の少なかった原因の一つは、一般にそれが極めて微量で、測定 of 困難という点にあったことも考えられるが、B群に属するビタミン類やアミノ酸に対してはバイオアッセイ法が考案されたので、これらの有機物についてはある程度研究の困難さが軽減された訳である。

天然水中の有機物に関する既往の研究は、さきに小山⁽¹⁾によってその概要が紹介されているが、それによっても判るように水中のビタミンとしては筆者らを含む内外の研究者数名によって取上げられた B₁₂ に関するものが最も多く、B₁₂ 以外ではチアミン⁽²⁾、ピオチン、ナイアシン⁽³⁾などの測定値の報告が見られる程度で、水中生物の代謝におけるビタミン類の役割についてもほとんど研究がない。よってまずバイオアッセイ法で定量可能な陸水中のビタミンB群につき、その分布、水中における起源、消長などを研究することとした。なおここに研究の対象を陸水としたのは、前記諸物質（ビタミン B₁₂ を除くビタミンB群のもの及びアミノ酸類）を定量するバイオアッセイ法は、海水のような塩分濃度の高い試料に対しては適用できないことと、陸水における環境条件は海洋ほど複雑でないため、事象の解明が一層容易であろうという二つの理由に基くものである。

ここに報告する河川水及び湖水の葉酸に関する研究の実施に当り所要経費の一部を北大水産学部黒木敏郎教授の昭和36年度文部省試験研究費「漁況要因の時空間微積分値表示とその応用」より支出し、かつ本学部製造学科学生前田宏寛君の熱心な協力を得た。記して深謝する次第である。

実 験 の 部

葉酸の定量は *Streptococcus faecalis* R を用いるバイオアッセイ法によったが、この菌による測定値はフオリン酸を含む値である。

採取した試水は日光による葉酸の破壊を防ぐため褐色瓶に入れ、直ちにトルエンを加え微生物による影響を阻止した。混濁していたり浮游物の認められた水は濾紙（東洋濾紙 No. 5C）によって濾過し、肉眼的に全く透明状態にしたものを試料とした。天然水中の葉酸は微量で、通常試水そのままでは定量の精度の下ることが予備実験によって判ったので、減圧下に濃縮した後、前記バイオアッセイの常法にしたがって葉酸量を測定した。

実験 1. 陸水における葉酸の分布

(イ) 鹿児島市内の河川水の葉酸含量

昭和37年1月31日、10時30分から13時25分に至る干潮時に鹿児島市内を流れる4つの河川につき2ないし数点で水面下約10cmの位置から採水し、1/5容に濃縮した後、前記の方法にしたがって葉酸量を測定した。Fig. 1に採水地点を、Table 1に測定結果を示した。

甲突川は鹿児島市の中心部を流れる最も大きい川である。最も上流の St. 1 附近は人家もまばらであるが、St. 2 以下は都市廃水も流れ込み、St. 4, 5 の水はやや混濁し綿状の浮游物が見られたが、葉酸含量は下流になるほど多くなっている。次に新川は市の西端部方面を流れている小川で、St. 6 では川中約1m、水深5cm程度の谷川で、水は最も清澄であったがここでは葉酸は殆んど検出されなかった。しかし両側に人家のある下流の採水点7, 8 では40~50 mg/l の如く増加している。なおこの川は周辺の人家がそれ程稠密では

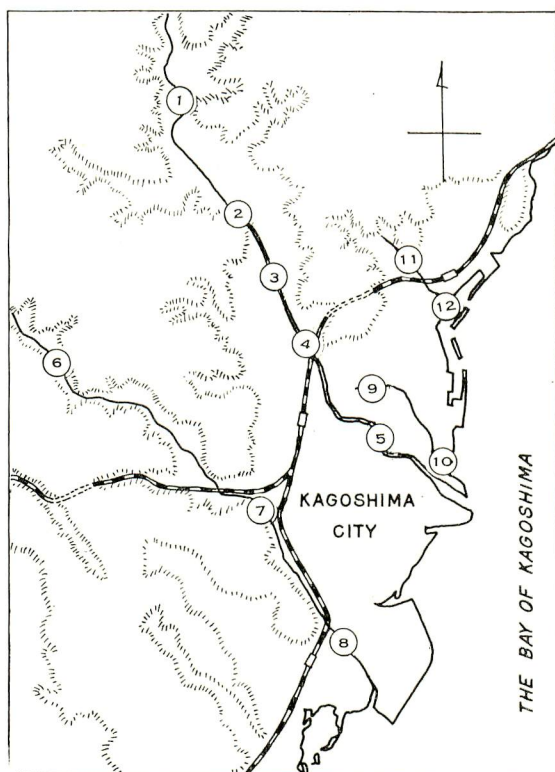


Fig. 1. A map of Kagoshima City, showing the station number.

Table 1. Folic acid content in river water at Kagoshima City.

Station	Folic acid (m μ /l)	Distance from river mouth
The River Kōtsuki No. 1	50	About 7300 m up
" No. 2	70	" 5300 "
" No. 3	80	" 4400 "
" No. 4	80	" 3520 "
" No. 5	180	" 1550 "
The River Shin No. 6	0	" 6700 "
" No. 7	40	" 2900 "
" No. 8	50	" 1100 "
The River Kiyotaki No. 9	200	" 800 "
" No. 10	260	River mouth
The River Name No. 11	40	About 800 m up
" No. 12	80	River mouth

なく、水は甲突川に比べると遥かに清澄であった。清滝川は市内の下水を集めて流れる最も汚れた小川であるが採水点 9,10 での葉酸含量は 200 m μ /l 以上に達し、市内の全河川中最大量を示した。滑川は市街の東北部を流れ、上流は市の水源地に通ずる巾 1~2 m の小川であるが、採水点 11 よりも人家の建込んでいる下流の 12 の方が葉酸量に富むことは他

の河川におけると同様である。

以上、1回の調査ではあるが、その測定結果によると比較的清浄と考えられる河川水には葉酸はほとんど含まれていないが、下水など汚れた水の流れ込んでいる河川水には葉酸が存在し、その量は汚染の程度が著しいと思われるものほど多く、すなわち同一の河川については下流ほど、又異なる河川については都市廃水の流入の多いと推定される河水ほど多量を示した。これは葉酸が廃水と共に川に流れ込んだものか、或は細菌その他の微生物によって水中で合成されたかの何れかによるものと考えられる。

(口) 池田湖における葉酸の垂直分布

昭和36年12月5日、池田湖の湖心(和田岬の沖約900m、水深約265m)附近(St. 1)と、湖の西北部の小浜沖約400m(水深25.5m)附近(St. 2)で採水し、葉酸の垂直分布を調べた。Table 2にその結果を示した。

Table 2. Vertical distribution of folic acid at Lake Ikeda.

Depth (m)	Station 1			Station 2	
	Water temp. (°C)	pH	Folic acid (mr/l)	pH	Folic acid (mr/l)
0	16.8	7.2	52	7.2	64
5	17.8	7.4	60	7.0	52
10	17.8	7.0	40	6.9	64
15	17.6	7.0	48	7.1	60
20	17.6	7.0	76	7.1	64
25	14.2	6.6	24	6.5	32
30	12.95	6.4	40	6.5	68*
35	12.8	6.4	104		
40	—	6.3	40		
50	—	6.3	28		

* Bottom (25.5 m).

過去行なった筆者らの調査によると、池田湖ではビタミン B₁₂ は水深 20 m 附近に最大量を示す垂直分布にはっきりした傾向が見られたが、葉酸においては深度による含量の差異が顕著でなく、B₁₂ について見られたような一定の傾向はないようである。その含量は 24 ~ 104 mr/l の範囲で、周囲には人家も極めて少なく、したがって廃水による汚染も極めて少ないであろうと考えられるが、葉酸含量は鹿児島市内を流れる河川水のそれと大差なく、特に乏しい量でないことが注目される。

実験 2. 河川水中における葉酸の形態

市街地の河川水中には冬季数十 mr/l 以上の葉酸が含まれ、その量は汚染程度が大きいと考えられる水ほど多いことが示されたが、この葉酸は水中に溶解して存在するものか、それとも細菌などの生物体内にあるものかを調べた。すなわちそのため、比較的含有量が多いと思われた甲突川下流の甲突橋附近の水をとり、No. 5C 濾紙で濾過して清澄としたものと、さらにこれから細菌などを除くため Chamberland 濾過器 L3 で濾過したものについて葉酸量を測定した。

その結果は Table 3 に示した通りで、細菌濾過管で濾過したものと濾過しないものとの間には大きな差のないことから見て、河川水中の葉酸は大体、水中に溶解して存在するものと考えられる。

Table 3. Folic acid content in bacteria free river water.

Sample	Folic acid (m γ /l)		
	June 20	August 6	August 10
River water filtered with Chamberland filter No. 3	124	560	60
Unfiltered river water	136	600	80

実験 3. 河川水中葉酸量の貯蔵による変化

河川水中の葉酸量は河川の汚染程度に応じて異なることが判ったが、水中細菌が水中の葉酸量に関係をもつか否かを知るために、河川水を貯蔵した場合における葉酸量の変動について二つの実験を行なった。

その一つとして8月10日、午前9時、甲突川の水を褐色瓶に採り20~25°Cに貯蔵した場合の葉酸量の変化を12時間おきに調べた。この場合、水に溶けている葉酸量を知るために、前の様に Chamberland 濾過器 L3 で濾過した水についても葉酸を定量した。Table 4 にその結果を示した。

Table 4. Change of folic acid content in the river water during storage at 20-25°C in the dark.

Time of storage (hrs)	Folic acid (m γ /l)		
	Total (T)	Dissolved form* (D)	Undissolved form (T-D)
0	30	30	0
12	160	100	60
24	170	110	60
36	210	170	40
48	200	180	20
60	210	160	50
72	330	280	50
84	250	210	40
96	200	170	30
108	210	—	—

* Filterable by Chamberland filter No. 3.

表に見られるように、河川水を貯蔵すればその中の葉酸総量は次第に増加し、この実験では3日後に最大量に達しているが、その後は減少の過程に入る。その増加は極めて顕著で、3日後の葉酸含量は貯蔵前の試水の10倍以上に達している。この葉酸の70~90%程度は Chamberland 濾過器を通過し、すなわち水に溶解して存在しているもので、少量が濾過器を通過しない状態、例えば細菌など微生物の体内に存在するものと見られる。葉酸総量が増加した場合でもこの後者の形態の葉酸量は増加せず、常にほぼ一定量を維持している。

次に葉酸が細菌によって合成されることは既に知られている所であるが、河水中の葉酸もその起源として水中細菌に負う所が多いと仮定すれば、細菌数の多い水ほど貯蔵した場合における葉酸量の変動が著しいと思われる。このことを確かめるために、甲突川について比較的上流の人家の少ない地点から河口近くまでの5点で採った水を、前実験と同様に貯蔵

した場合における葉酸量の変化を調べた。その結果は Table 5 に示した通りであった。

Table 5. Change of folic acid content in the stored water obtained from different points along the River Kōtsuki.

Time of storage (days)	Folic acid (mr/l)				
	1	2	3	4	5
0	50	70	80	80	180
1	90	90	70	220	300
2	130	50	150	290	320
3	160	150	120	330	310
4	130	80	210	310	280
5	—	70	220	470	230
6	—	90	160	490	290
7	—	70	110	340	90
8	—	130	250	250	110

* See Fig. 1 and Table 1.

水中の細菌数とその変動は調べなかったが細菌数の少ないと推定される上流の水は、これを貯蔵した場合、葉酸量はあまり増加しないのに反し、市街地を流れてきた下流の水は当初から葉酸量が多いばかりでなく、これを貯蔵した場合、葉酸量の増加およびその後における減少も概して著しいことが観察され、このことから水中の細菌が葉酸の消長に関与していることが推察される。

貯蔵温度と葉酸量の変化

水中における葉酸の消長に細菌の関与していることが推定されるに至ったが、これが事実とすれば貯蔵温度によって水中の葉酸の消長に影響の現われることが予測される。この関係を知るために、甲突川の水を褐色瓶に入れ 5°C 及び 25°C 附近の温度に貯蔵した場合における葉酸量の変動する状態を比較した。第1回目の実験は9月26日から24日間、第2回目は冬季12月19日から8日間にわたって実験したがその結果は Table 6 の如くであった。

両実験で葉酸量のやや異なっているのは時期の違いもその原因の一つかと思われるが、これらの水を異なる2つの温度に貯蔵した場合における葉酸量変遷の経過は相似しており、すなわち 25°C 前後の高温に貯蔵した場合の方が早く最高値に達する一方、減少の過程に入ることもまた早いものに対し、水を 5°C 前後の低温に貯蔵した場合にはその時期が何れも遅れて現われる。又高温に貯蔵するよりも低温に貯蔵する場合の方が、葉酸生成量の多いことは2回の実験で一致している興味深い点である。

摘 要

Streptococcus faecalis R を用いるバイオアッセイ法により陸水中の葉酸含量について研究し、次の事実を明らかにした。

- 1) 鹿児島市内の4つの河の水につき1月に葉酸量を測定した結果、その含量は0ないし260 mr/l の範囲にあり、下水などの混入で汚れた水ほど含有量が多かった。
- 2) 池田湖では葉酸の垂直分布を調べたが一定の傾向は認められなかった。12月の水では葉酸含量は24~104 mr/l であった。
- 3) 河水中の葉酸は大部分 Chamberland の濾過器を通過するので、水中に溶解して存在することが判った。

Table 6. Change of folic acid content in the river water stored at different temperature.

Time of storage (days)		Folic acid (m μ /l)	
		Stored at 5°C	Stored at 25°C
(Sept. 26)	0	200	200
	1	—	—
	2	260	220
	3	—	250
	4	320	270
	5	300	370
	6	—	—
	7	330	440
	8	360	460
	10	360	460
	11	410	470
	13	420	420
	14	470	390
	16	430	320
17	550	200	
18	—	240	
19	550	230	
20	600	—	
22	600	230	
23	500	—	
(Dec. 12)	0	140	140
	1	190	150
	2	270	200
	3	250	230
	4	220	270
	5	250	260
	6	310	180
	7	460	90
	8	430	160

4) 河水を貯蔵すると葉酸は増加し、数日後に最高値に達した後次第に減少する。この葉酸量の増減は同一の河川については上流の水よりも下流の水の方が著しいので、河水中における葉酸量の消長には水中の細菌類の関与していることが推定される。

5) 河水を低温 (5°C) と高温 (25°C) に貯蔵した場合における葉酸量の消長を比較すると、低温に貯蔵した場合の方が最高含量に達するのに長時間を要するが、葉酸含量の達する最高値は低温に貯蔵した場合の方が多い。

文 献

- 1) 小山忠四郎 (1960) : 化学と工業, **13** (4), 391—398.
- 2) HUTCHINSON, G. E. (1943) : *Arch. Biochem.*, **2**, 143—150.
- 3) HUTCHINSON, G. E. and J. K. SETLOW (1946) : *Ecology*, **27**, 13—22.