

## 資料

## 植物プランクトンのクロロフィル抽出法

馬場 信夫\*・加納 裕二\*・榎原 資嗣\*

## The Chlorophyll Extraction Method of Phytoplankton

Nobuo BABA\*, Yuji KANO\* and Suketsugu EBARA\*

## Abstract

The chlorophyll extraction method of phytoplankton in the ocean is investigated. It is important to mix acetone with water for enough extraction. The effect of grinding the glass fiber filter is not recognized contrary to C. S. Yentsch and D. W. Menzel(1963). The extraction in 80 to 90 % acetone for 20 to 30 minutes gives satisfactory results.

## 1. まえがき

現在海洋における植物プランクトンのクロロフィルの測定は C. S. Yentsch と D. W. Menzel の方法<sup>(1)</sup> が一般的である。試水の一定量をグラスファイバーフィルターでろ過し、乾燥保存する。実験室でアセトン抽出し、抽出液を蛍光光度計で測定する。アセトン抽出時において C. S. Yentsch らは単に溶媒中に放置抽出するのでは不十分で試水を濾過したフィルターをすりつぶすと抽出率がよくなると報告している。とくに *Nannochloris atomus* についてその効果が著しいと報告している。

しかし、すりつぶしの方法は、操作の手間（その後遠心分離を必要とする）、個人的なすりつぶし方の差によるデータの誤差などを考えるとあまりよい方法とは思えない。また、植物プランクトンの種類による差異は、現実にそのような種類が出現するかどうかの問題だし、たとえすりつぶしたとしてもそれによってもなお抽出できない種類が出現するかもしれない。今回我々が日本海で採取した試料で実験した結果、アセトン-水の混合溶媒中に放置抽出するだけでも十分な結果が得られることがわかった。その際、溶媒の成分比が抽出率に影響することがわかった。

## 2. 実験手続き

試料の採取は、下記のとおり行われた。

(a) 1978年1月11日 舞鶴湾の表面、

昭和53年10月9日受理  
\*舞鶴海洋气象台

Received 9 October 1978  
Maizuru Marine Observatory

- (b) 1978年2月25日 北緯37°43' 東経132°41' の表面,
- (c) 1978年5月16日 北緯39°47' 東経133°13' の30m深,
- (d) 1978年9月29日 舞鶴湾の表面.

試水は(a)では150ml, (b)・(c)では250ml, (d)では50mlを採取後すぐにグラスファイバーフィルターでろ過し, フィルターを乾燥冷蔵保存した. 実験室にもち帰り, 10mlのアセトン-水混合溶媒で抽出し, 抽出液は蛍光光度計で励起光434 m $\mu$ , 分析光659m $\mu$ として測定した. 標準液はウラニン溶液が用いられた. すりつぶしをした抽出液についてはその後3000 rpmで5分間遠心分離した.

### 3. 結果

(d)で採取した試料についてアセトン濃度(混合前の体積比)のちがいによる蛍光スペクトルの変化を調べた. 100%アセトンで抽出された液のスペクトルと, それに水を加え80%としたときのスペクトルが Fig. 1 に示されている. Fig. 2 には680m $\mu$ と660m $\mu$ におけるアセトン濃度の変化に対する蛍光値の変化が示されている. 水を加え濃度が薄くなったことによる蛍光値の減少分は補正されている. 結果はスペクトルの形状に変化はなく, 蛍光値の変化もアセトン濃度80%以上ではほとんどない. 以上のことからアセトン濃度を変えたときの蛍光値の違いは抽出率の違いによると考えてよい.

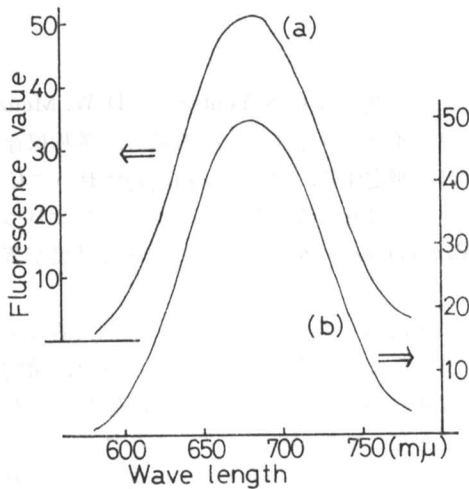


Fig. 1. Fluorescence spectra of 100% acetone extract (a) and 80% acetone extract (b). 1 mg/l of uranine corresponds to 50 of fluorescence value.

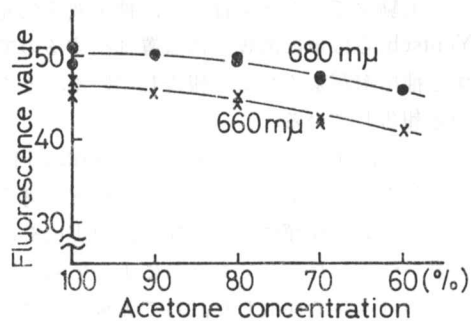


Fig. 2. Relation between fluorescence value and acetone concentration at 680m $\mu$  and 660m $\mu$ .

(b)で採取した試料を用い, アセトン濃度, 抽出時間を変えて抽出率を求めた. 結果を Fig. 3, 4 に示す. 抽出率は30分の放置抽出後さらにすりつぶし処理したものを100%とした. アセトン濃度100%では抽出率が低くすりつぶしをした後でも2割ほど低い. しかしアセトン濃度が95%以下になると値は一定し, よく抽出されていることがわかる. 抽出時間については95%以下では10分以上で値がほぼ一定しておりよく抽出されている. 次に試料(a), (b), (c)につ

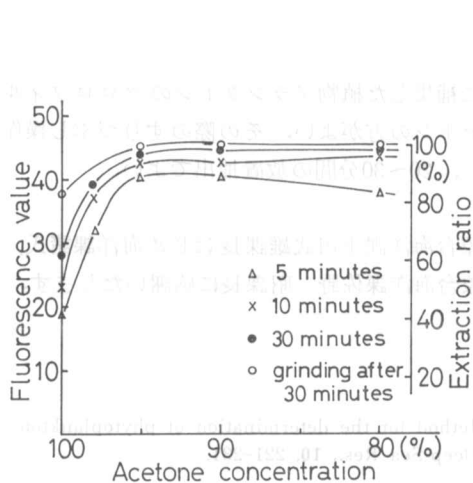


Fig. 3. Fluorescence value vs. acetone concentration curve. 1 mg/l of uranine corresponds to 100 of fluorescence value. Extraction time is also varied.

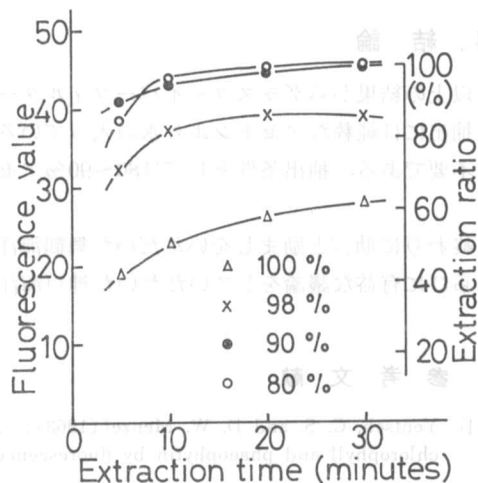


Fig. 4. Fluorescence value vs. extraction time curve. Acetone concentration is also varied.

いて80%アセトンによる30分の放置抽出とその後さらにすりつぶしをした時のそれぞれの蛍光値を Table 1 に示す. すりつぶしをしても蛍光値はほとんど増加していない. 両者の差の2乗平均は試料ごとの値の標準偏差と同程度である.

Table 1. Fluorescence value of 80% acetone extract.

A is the value after extraction for 30 minutes.  
B is the value after grinding besides. 1 mg/l of uranine standard solution corresponds to 25, 100 and 50 in the case of sample a, b and c respectively.

	sample a		sample b		sample c	
	A	B	A	B	A	B
	53.5	55.7	48.9	48.2	52.2	53.0
	54.9	57.0	50.8	51.0	48.0	48.5
	54.2	57.1	52.0	51.8	48.6	49.7
	51.7	53.8	52.8	53.8		
	54.1	56.7	46.0	46.5		
			46.1	46.0		
s. d.*	1.1	1.2	2.7	2.9	1.9	1.9
$\sqrt{(A-B)^2}$	2.4		0.6		0.6	

\*standard deviation

#### 4. 結 論

以上の結果からグラスファイバーフィルター上に補集した植物プランクトンのクロロフィルの抽出には純粋なアセトンより水の入っているアセトンの方がよい。その際のすりつぶし操作は不要である。抽出条件としては80~90%アセトン、20~30分間の放置抽出でよい。

終わりに助言と励ましをいただいた舞鶴海洋気象台海洋課土田武雄課長はじめ海洋課諸氏、ならびに有益な議論をしていただいた神戸海洋気象台海洋課佐野昭課長に感謝いたします。

#### 参 考 文 献

- (1) Yentsch, C. S. and D. W. Menzel (1963): A Method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.*, **10**, 221-231.