


湿原水溶存有機物の 分子サイズ分布における 地域差と季節変化

筒木 潔（帯畜大） ・ 吉田恵美（帯畜大）
渡辺 彰（名大農） ・ 真家永光（北里大獣医）



湿原の溶存有機物

- 湿原から供給された溶存有機物は、
河川を経て海域まで運ばれる。
- 溶存有機物は
水生生物や微生物の養分源
錯体形成による微量金属の溶解と運搬
pHに対する緩衝能
などの重要な機能を担っている。
 しかし
- 機能は組成・構造特性によって大きく異なり、溶存有機物に関する情報は不足している。

研究目的

- 各気候帯(熱帯、冷温帯)に属する湿原から供給される水溶性有機物の組成・化学構造を明らかにし、機能および安定性との関係を明らかにする
- 溶存有機物中の各種成分は異なった分子サイズを持っている。各種成分の分子サイズ分布を測定し、その地域差と季節間差を明らかにする。

試料

- マレーシア・サラワク州ムカ（熱帯）
 - Bakong（開発が始まった湿地林）
 - Lebang（自然状態に近い湿地林）
- 日本（冷温帯）
 - 霧多布湿原 泥川
 - 別寒辺牛湿原 チライカリベツ川
 - 十勝川河口域湖沼群 紀文沼橋
 - 十勝川河口域湖沼群 沼川橋

マレーシア・サラワク

Lebang、Bakong

2007採取地点 2008. 8(乾季)
採取地点





Bakong
切り開かれた湿
地林

Lebang
自然の状態に近い
湿地林

別寒辺牛湿原
チライカリベツ川
霧多布湿原
泥川
採取地点

別寒辺牛湿原

チライカリベツ川(2008.9.25)

採取日

2007.8

2007.11

2008.6

2008.9



霧多布湿原 泥川(2008.9.25)



十勝川河口域湖沼群
紀文沼橋
沼川橋
採取地点

採取日

2007.8

2007.11

2008.4

2008.9

紀文沼橋 (2008.9.15)





大樹町 紀文沼橋 (2007. 7.29)



大樹町 沼川橋 (2008. 4.27)

濃縮・精製方法

- 湿原水試料 60 L
- グラスファイバーろ紙(Advantec GB-140)でろ過 (>0.5 μm 画分の除去)
- TFFシステム (ミリポアPellicon Mini2)
 - <0.22 μm 画分の捕集
 - 1 kD 画分(分子量1000以上)の濃縮
(すべて氷冷しながら)
- 凍結乾燥

濃縮精製操作



グラスファイバーろ紙
GB140 によるろ過



1kD モジュールによる濃
縮



濃縮されたDOM試
料溶液

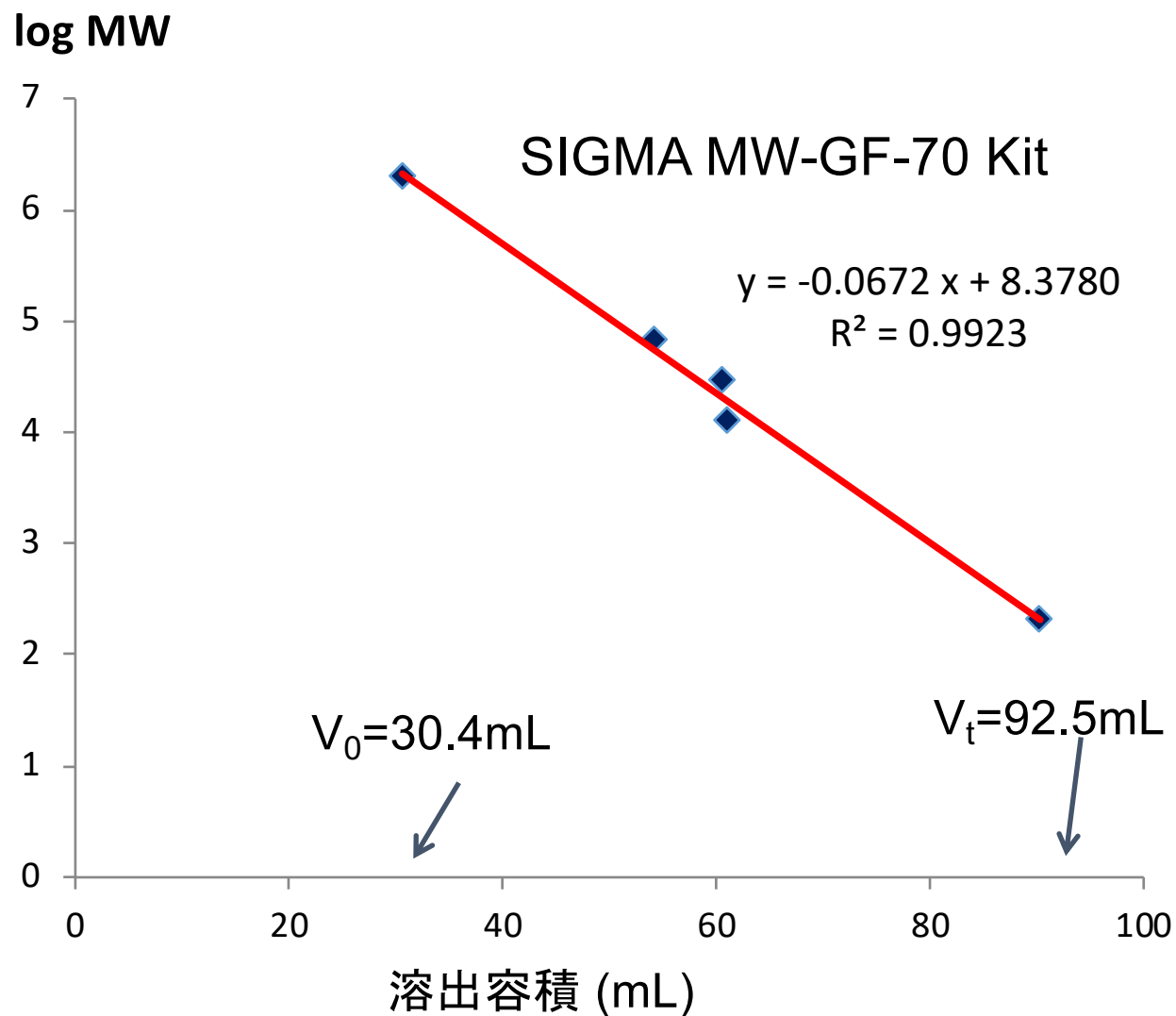
ゲル浸透クロマトグラフィー

- **ゲル:** Toyopearl 2種類
 - HW-50F 分子量500~8万相当
 - HW-65S 分子量4万~500万相当
- **カラム:** 内径15mm 長さ460mm
- **試料:** 約1mg/mL を 1 mL 注入
- **溶離液:** 0.033M $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (イオン強度 0.1)
- **流速:** 1.0 mL min⁻¹ (ペリスタポンプ)
- **検出器:** UV254nm (0.5mL ごとに記録)
- **フラクションコレクター:** 2.5mL ずつ分取

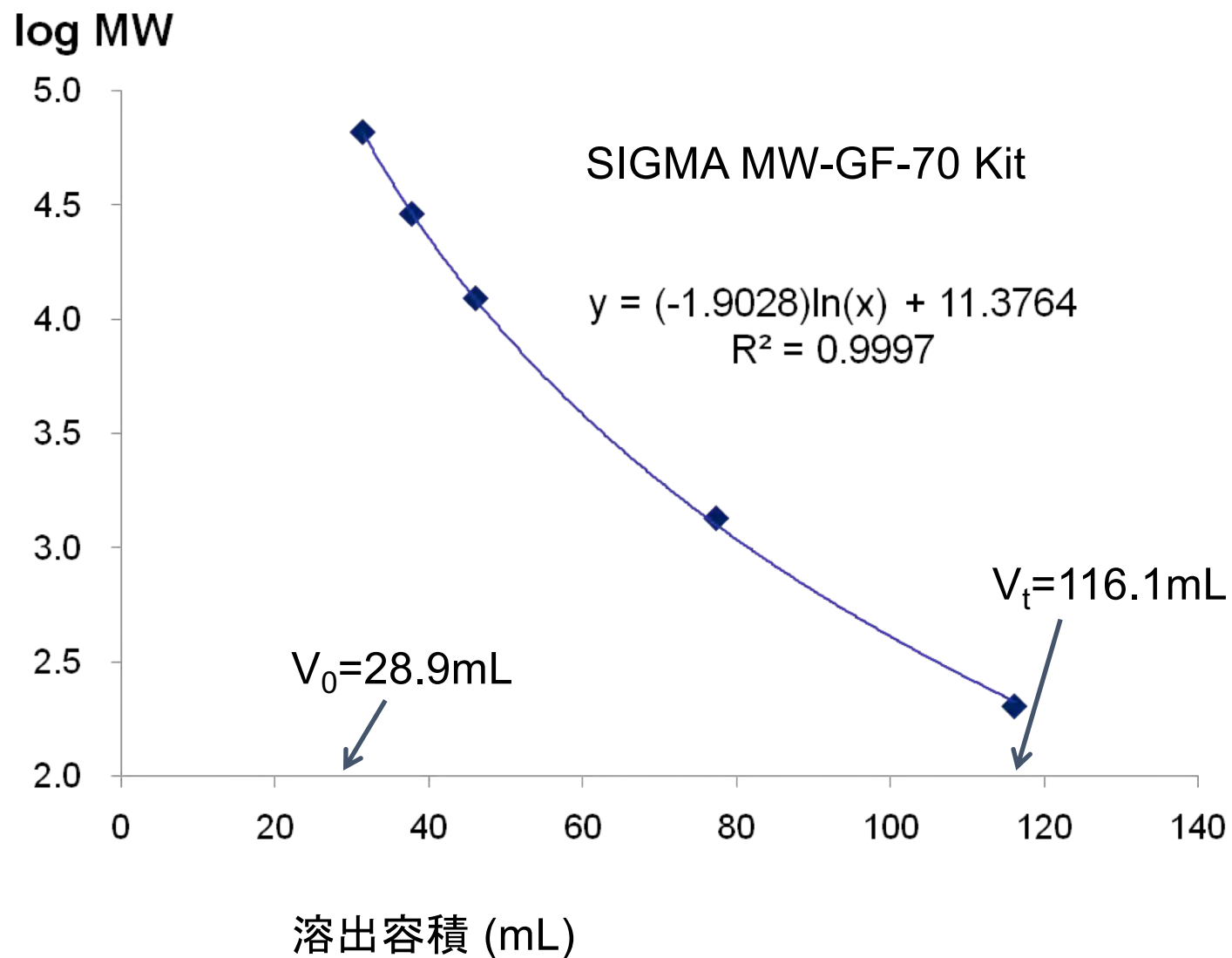
トヨパールHWゲルの特長

- 親水性ビニルポリマーを基材とした中速ゲル濾過クロマトグラフィー用充てん剤
- 基材に糖を含まないため、特にオリゴ糖やポリフェノールの分析に適す。
- 強固なゲルで耐圧性に優れる。
- 微小粒径のため分離が良い。
- 体積変化が少なく安定
- 強酸・強アルカリで洗浄可能
- 腐植物質への適用例も多い

Toyopearl HW-65S 検量線



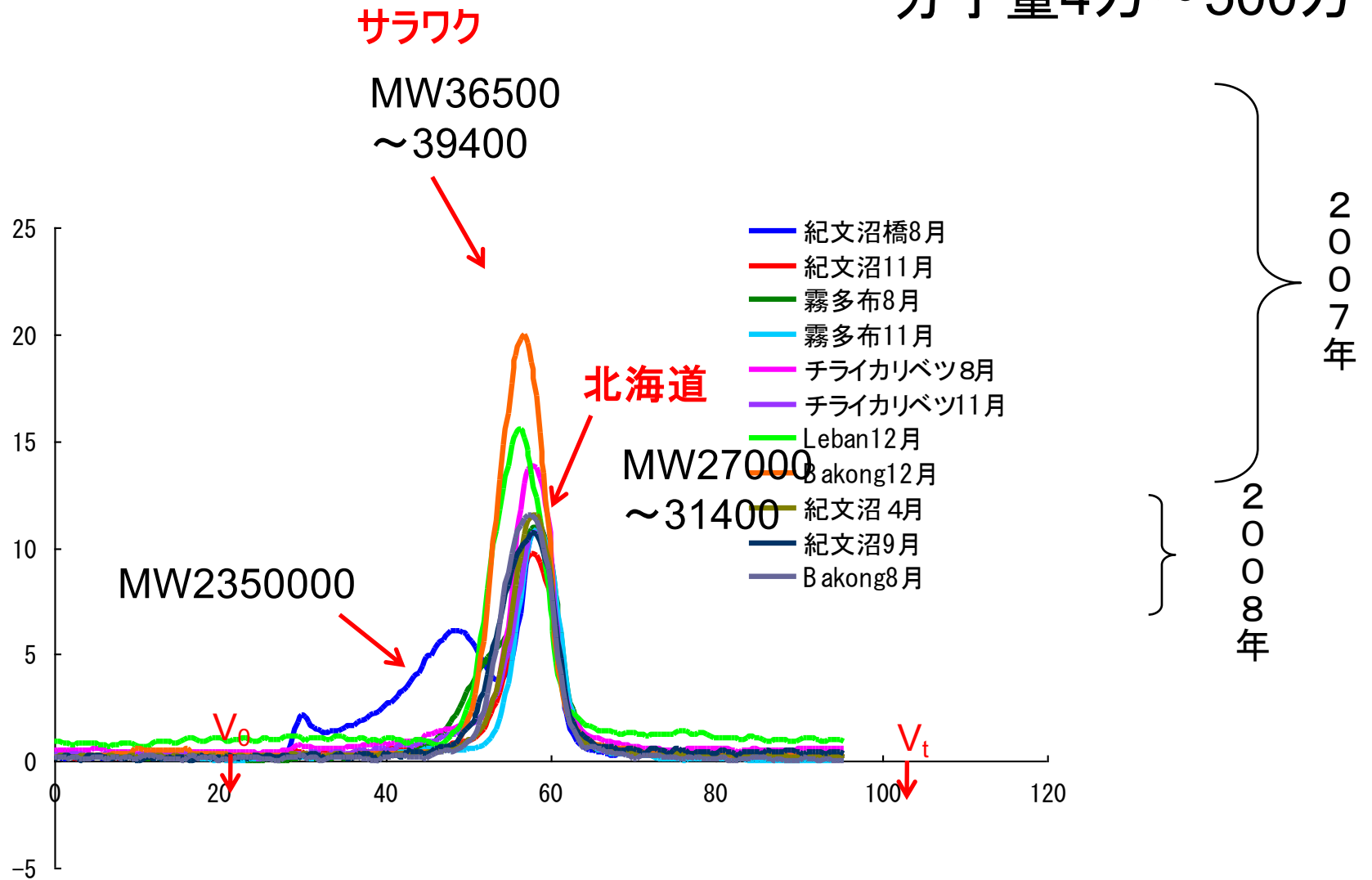
Toyopearl HW-50F 検量線



Toyopearl HW65Sカラム 比較

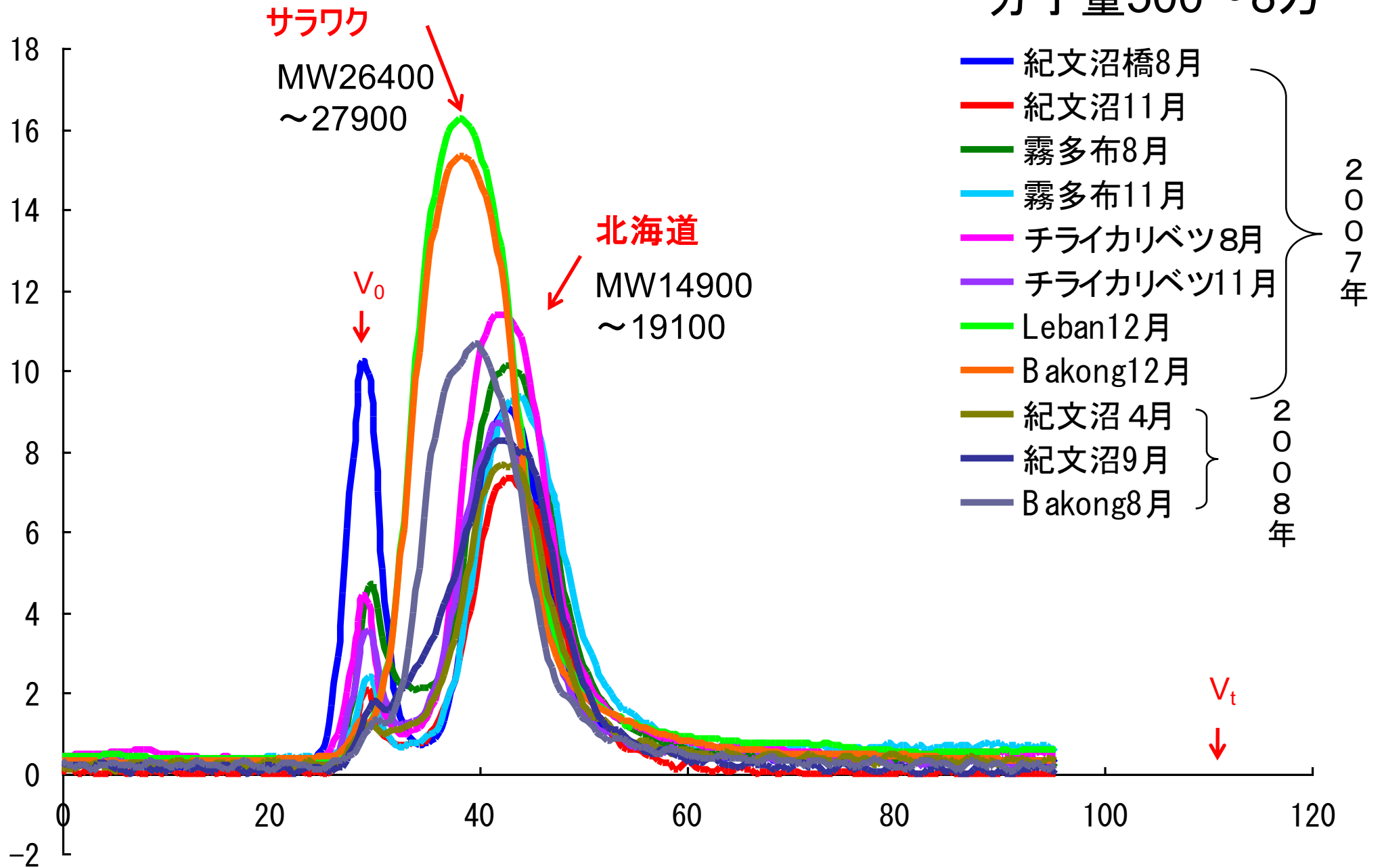
OD254nm検出

分子量4万~500万



Toyopearl HW50Fカラム 比較

OD254nm検出

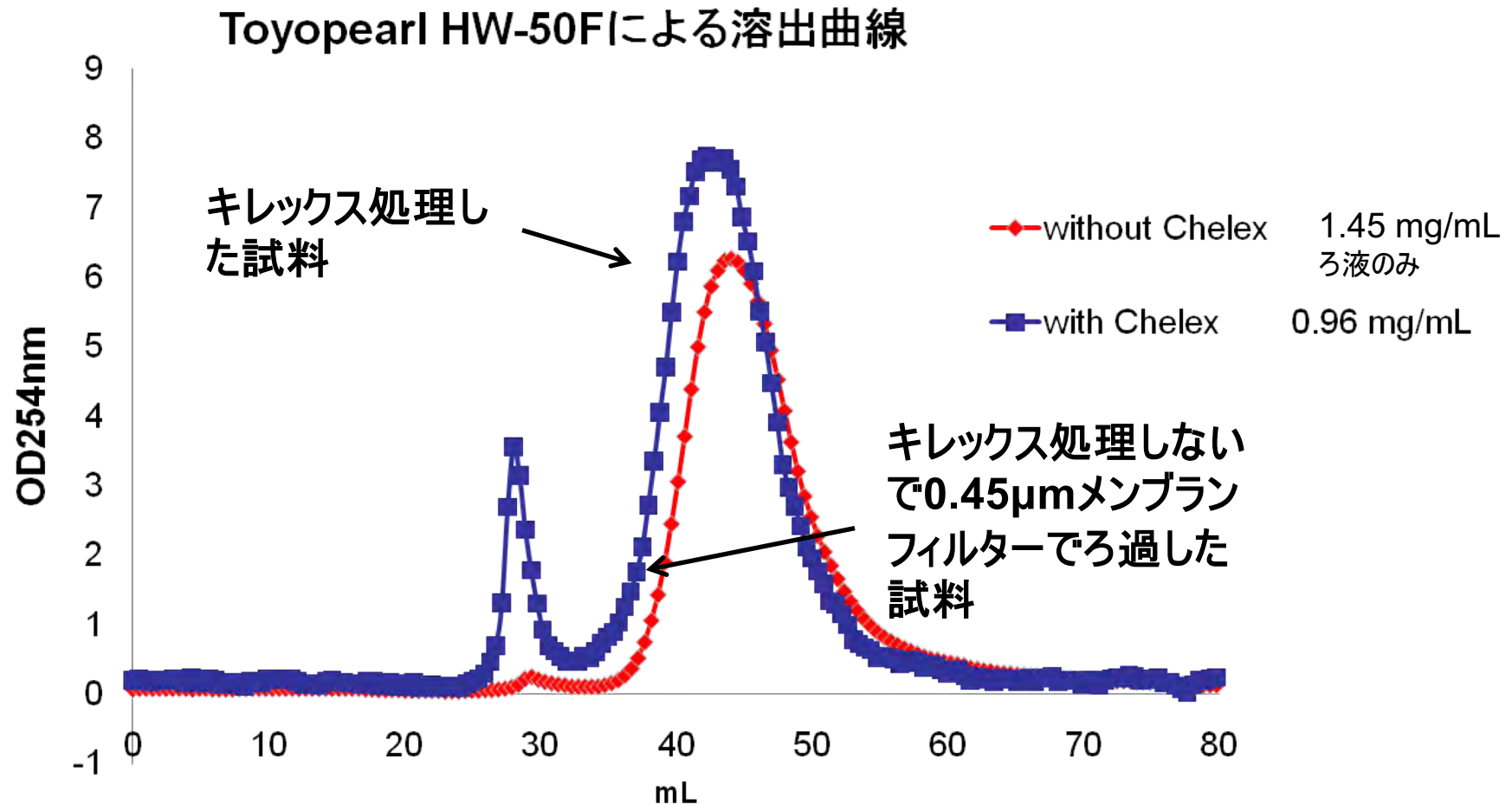


溶存有機物分子サイズ分布の特徴

- サラワク試料の分子サイズのピークは26,000～28,000にあり、シャープな分布を示した。
- 北海道試料の分子サイズのピークは15,000～19,000にあったが、大きな分子サイズ側の裾野が大きく、メインピークとは独立した巨大な分子サイズピークを含む場合もあった。

紀文沼2007年11月DOM試料

キレックス100 で処理した場合と処理していない場合の比較

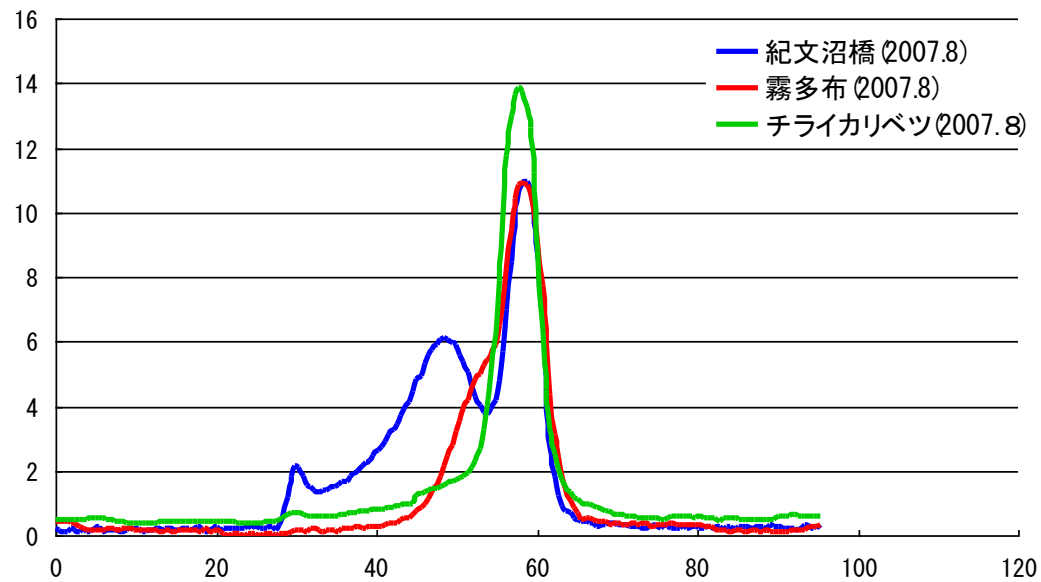


キレックス100処理により試料の溶解性が高まり、高分子サイズ画分が現れた。

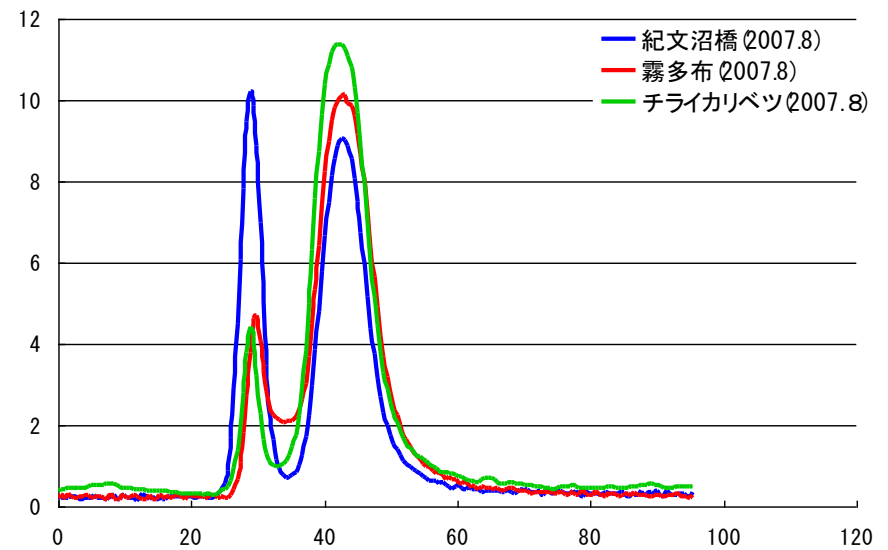
日本 8月試料 比較

OD254nm検出

Toyopearl-HW65S



Toyopearl-HW50F



日本 8月試料の特徴

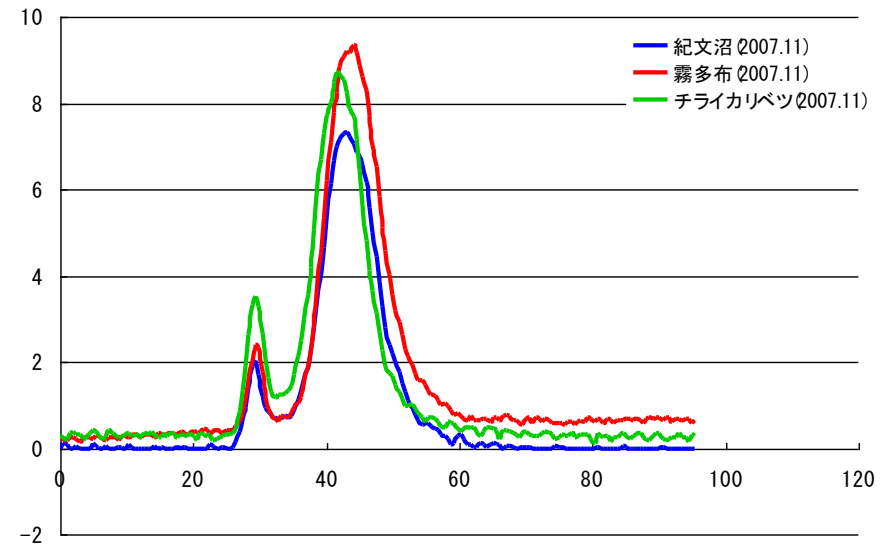
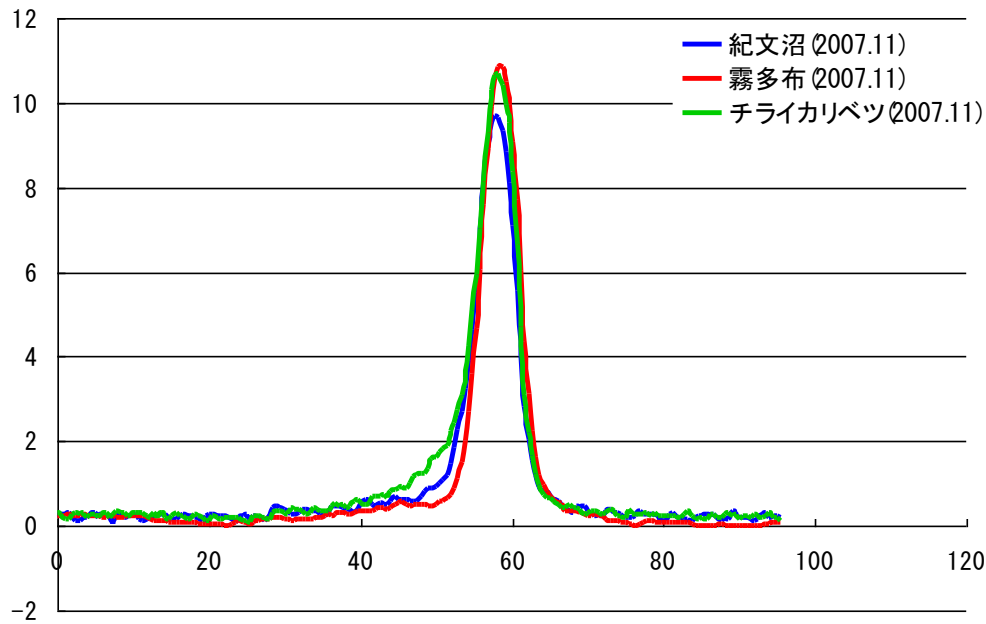
- 紀文沼試料には分子量235万にも相当する巨大な分子サイズ画分が含まれた。ミセルの可能性もある。
- 霧多布試料にも大きな分子サイズ画分が含まれた。
- チライカリベツ試料の分子サイズ分布はシャープであった。

日本 11月試料 比較

OD254nm検出

Toyopearl-HW65S

Toyopearl-HW50F



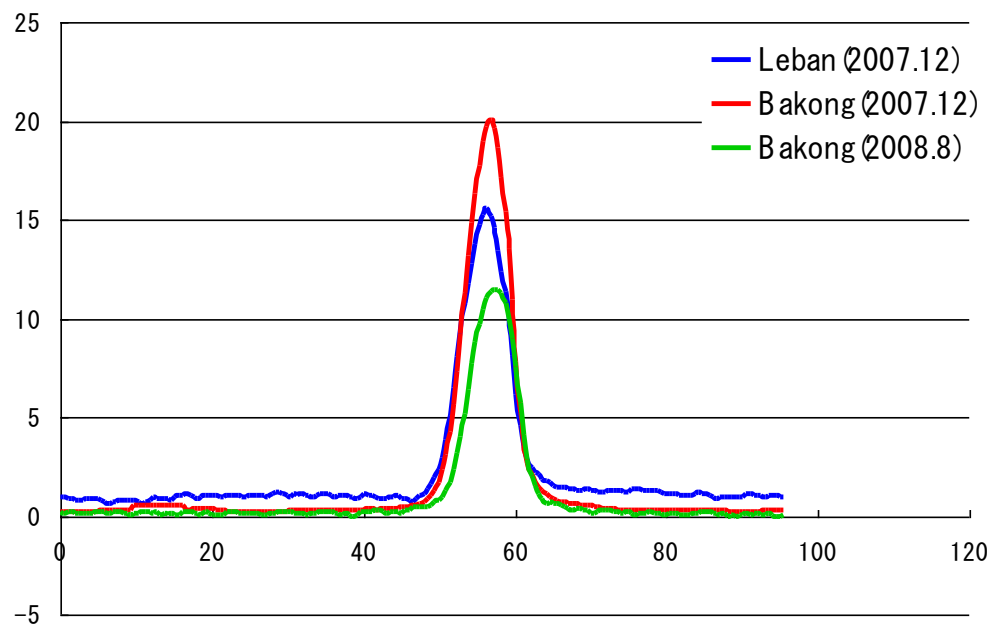
日本 11月試料の特徴

- 11月試料では、紀文沼および霧多布の巨大な分子サイズ画分は消失していた。
- かえって、チライカリベツ川試料の方が高分子側の裾野が大きくなった。

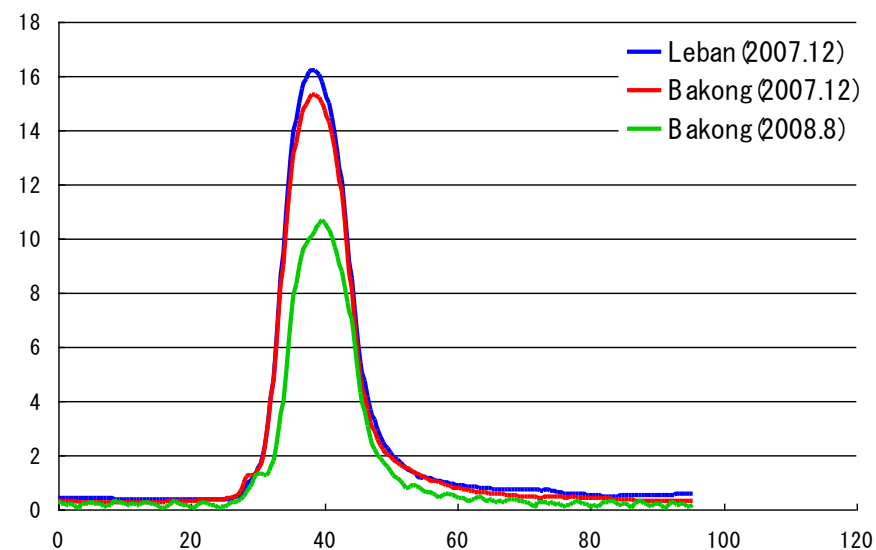
マレーシア・サラワク試料 の分子サイズ分布

OD254nm検出

Toyopearl-HW65S



Toyopearl-HW50F



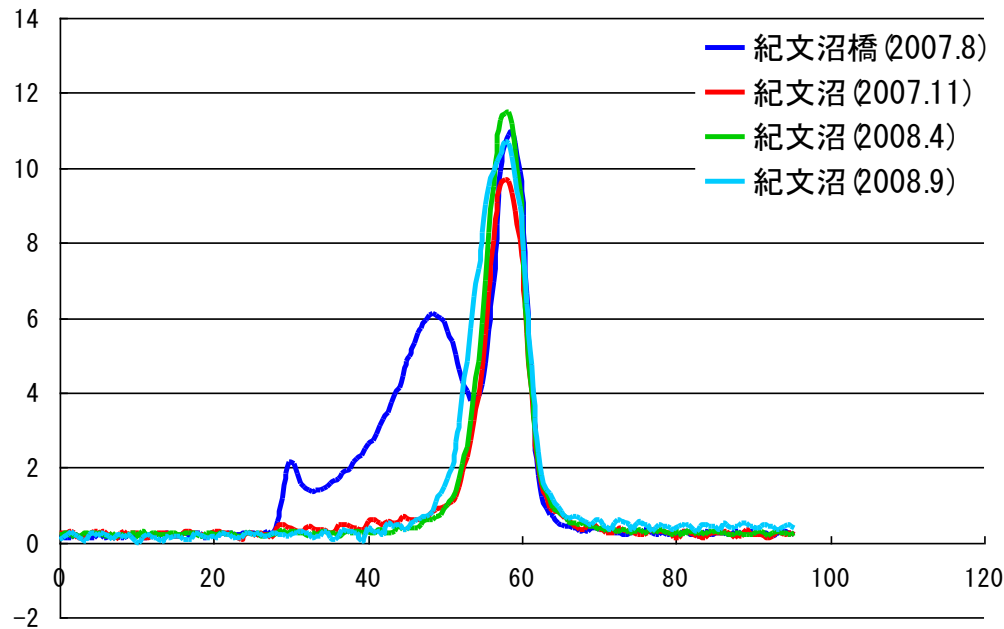
マレーシア・サラワク試料の特徴

- 分子サイズ分布が非常にシャープ
- 分画範囲がMW80,000以下のToyopearl HW-50Fにおいても、排除画分のピークは非常に小さいか、ほとんど検出されなかった。
- メインピークはMW26,000～28,000であった。
- 地域差、季節間差に乏しかった。

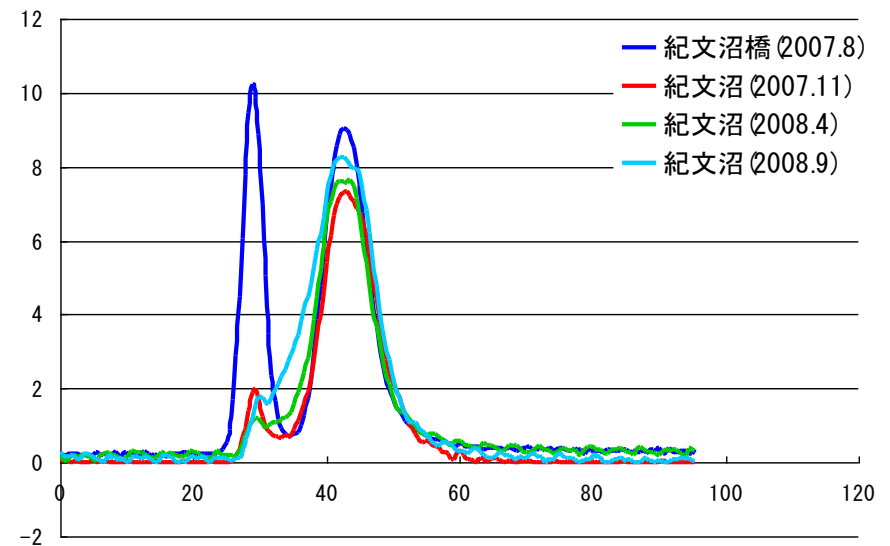
季節変化 紀文沼橋 比較

OD254nm検出

Toyopearl-HW65S



Toyopearl-HW50F



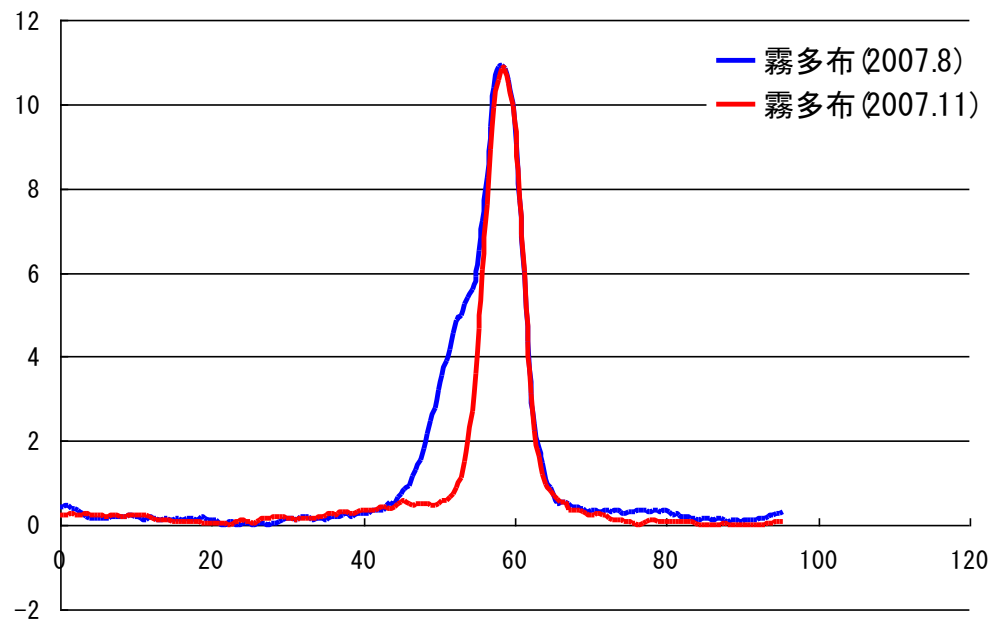
紀文沼試料の季節変化

- 2007年8月に認められた巨大な分子サイズ画分は11月にはかなり小さくなった。
- 2008年4月および9月の試料では、HW50Fにおける排除画分がさらに小さくなり、浸透画分内の高分子側の裾野として現れた。

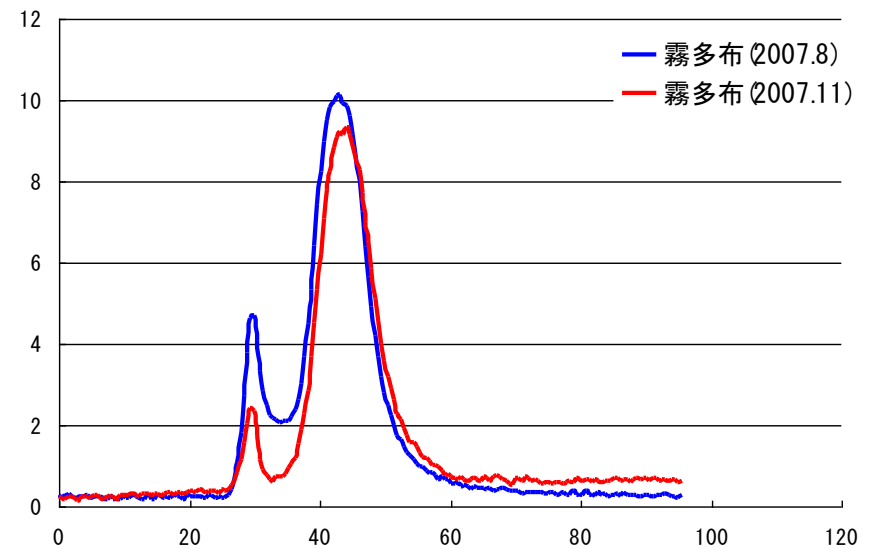
季節変化 霧多布 比較

OD254nm検出

Toyopearl-HW65S



Toyopearl-HW50F



巨大分子画分は 8月 > 11月

DOM構成成分の分析

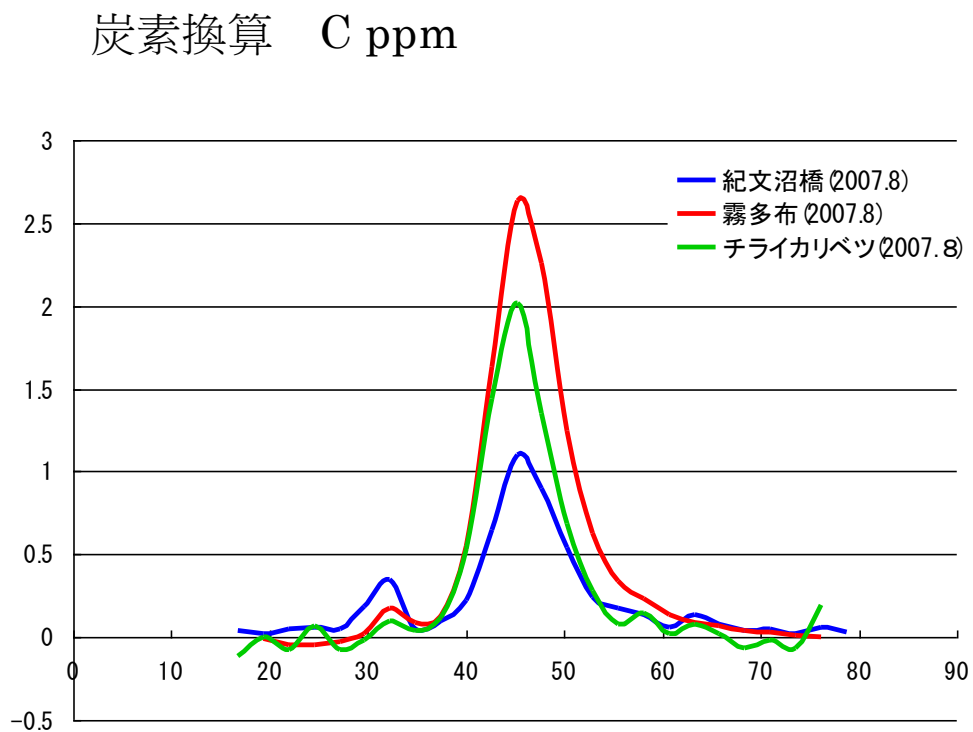
- UV(250nm,280nm,400nm, OD₄₀₀/OD₂₅₀)
- フェノール (Folin-Ciocalteu 760nm)
- タンパク質(Bio-rad protein assay 595nm)
- 糖
 - フェノール硫酸法(490nm)
 - アンスロン法(625nm)
- 有機炭素
 - 立川法(645nm)

地域差

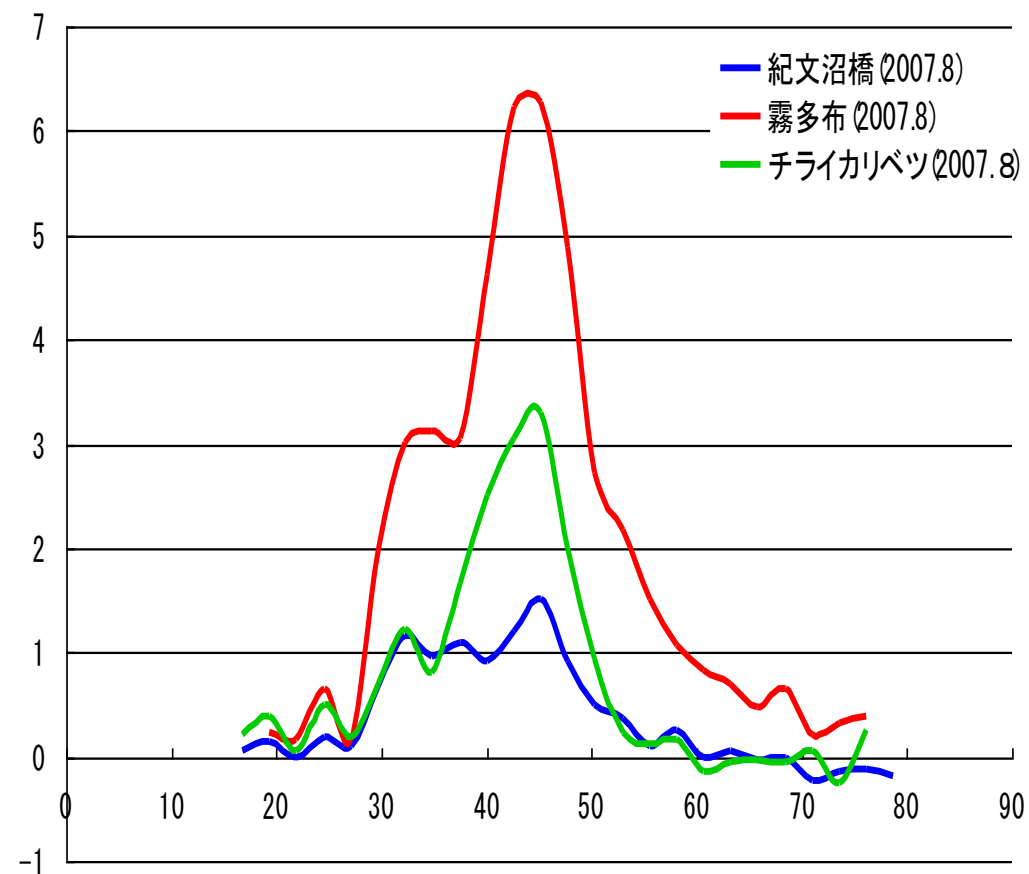
フェノールとタンパク質炭素 8月試料

Toyopearl-HW50F

フェノール



タンパク質炭素



フェノール成分とタンパク質成分の分子サイズ分布

- フェノール成分の方がタンパク質成分よりも分子サイズ分布がシャープ
- タンパク質成分 >> フェノール成分
- 排除画分中にはフェノール性成分はあまり含まれず、タンパク質成分の量が多かった。
- 巨大分子サイズ画分を含んだ紀文沼試料中のタンパク質成分の量は少なかった。
- 霧多布試料はフェノールおよびタンパク質成分を、ともに最も多く含んでいた。

地域差

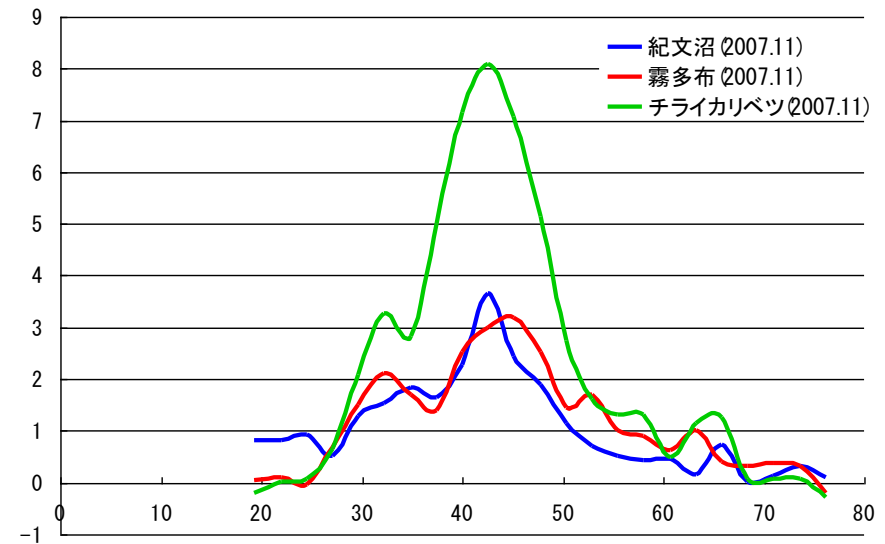
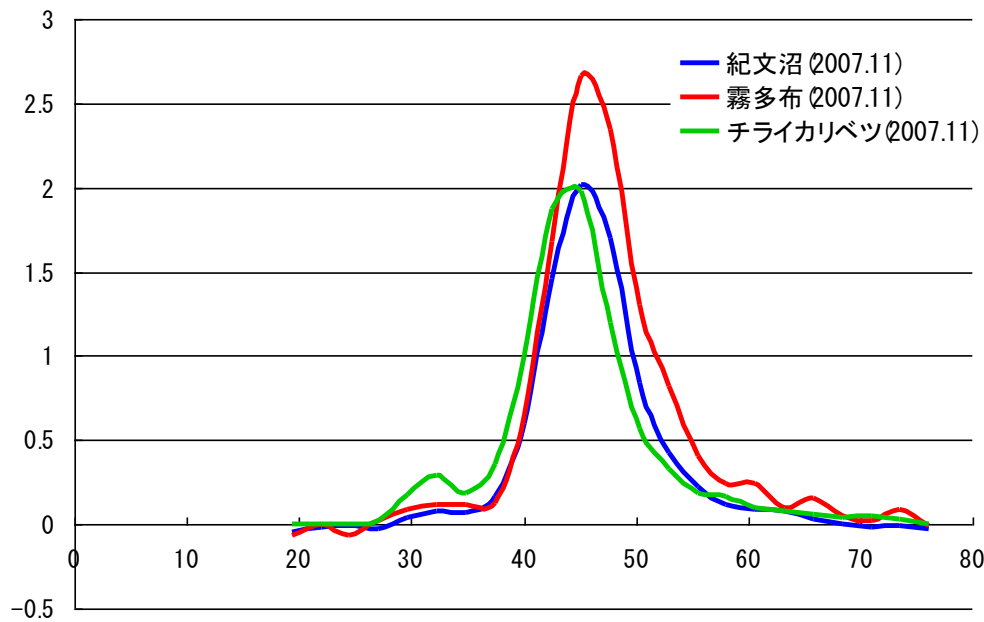
フェノールとタンパク質炭素 11月試料

Toyopearl-HW50F

フェノール

タンパク質炭素

炭素換算 C ppm



11月のフェノールおよび タンパク質成分

- フェノール性成分は、紀文沼で11月に増加したが、その他の地点では8月と11月でほとんど変化していなかった。
- 11月のタンパク質成分は、8月と比較して霧多布では減少し、チライカリベツでは増加した。
- 紀文沼のタンパク質成分は8月・11月ともに低かった。

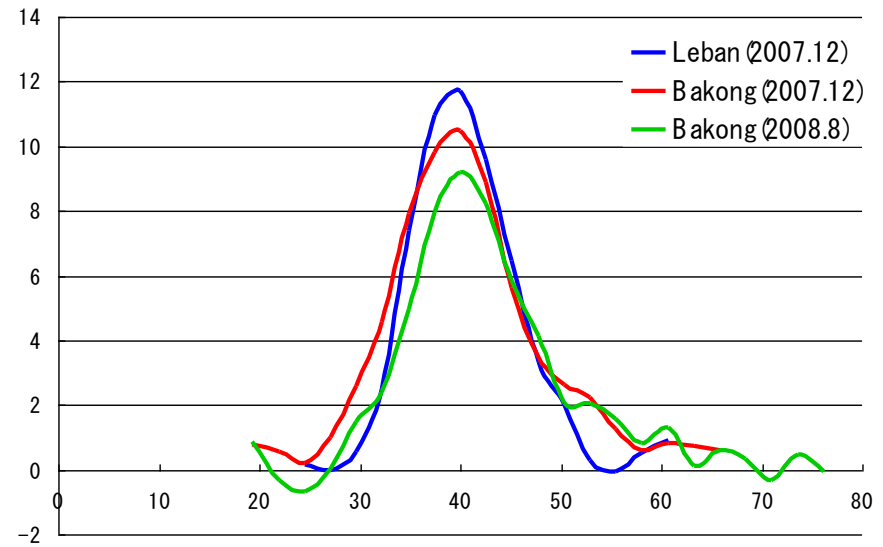
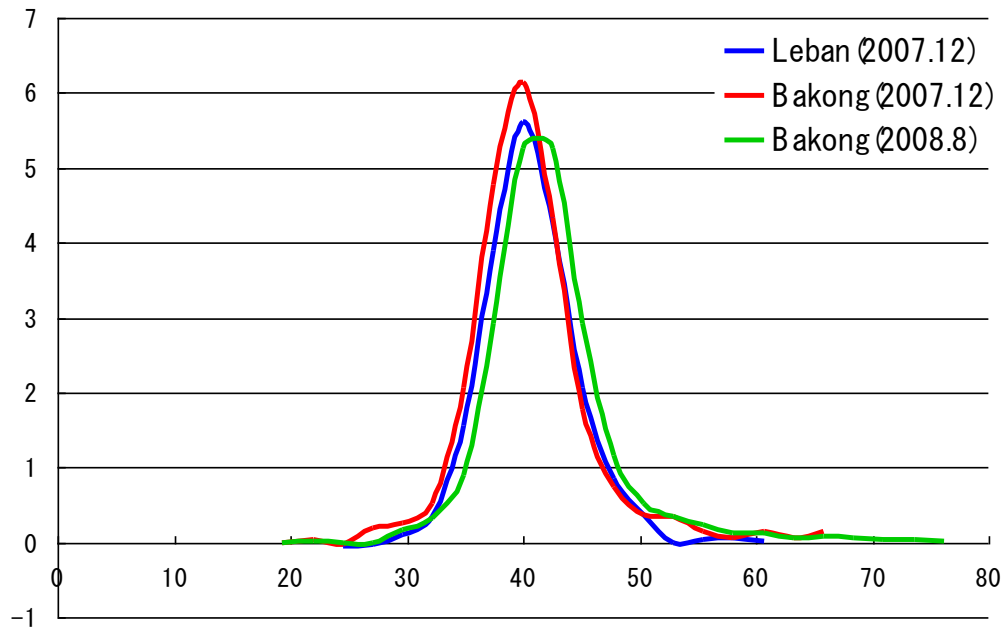
マレーシア・サラワク フェノールとタンパク質炭素 比較

Toyopearl-HW50F

フェノール

タンパク質炭素

炭素換算 C ppm



サラワク試料のフェノール性成分とタンパク質成分

- タンパク質成分の方がフェノール性成分よりも、分子サイズ分布が広い。
- フェノール性成分の量は北海道の試料よりも多かったが、タンパク質成分よりも少ない傾向は同じであった。
- 地点間差および季節間差は非常に少なかった。

季節変化

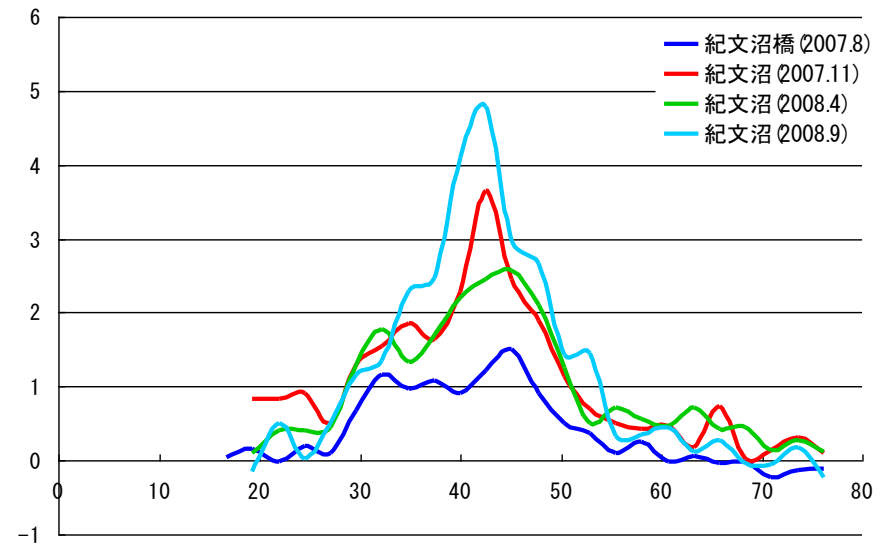
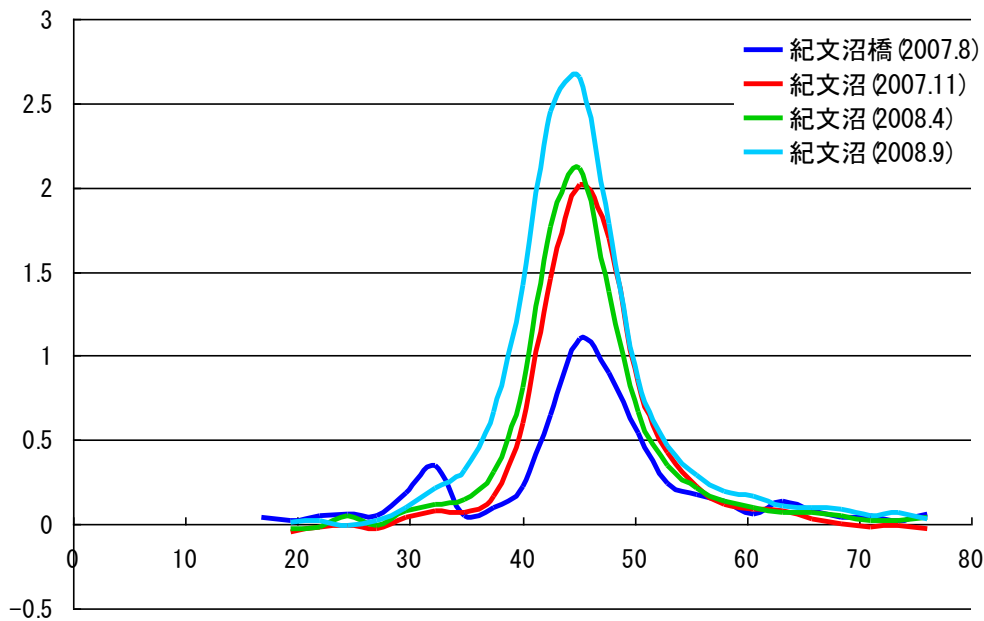
フェノールとタンパク質炭素 紀文沼 比較

Toyopearl-HW50F

フェノール

タンパク質炭素

炭素換算 C ppm



紀文沼におけるフェノール性成分とタンパク質成分の季節変化

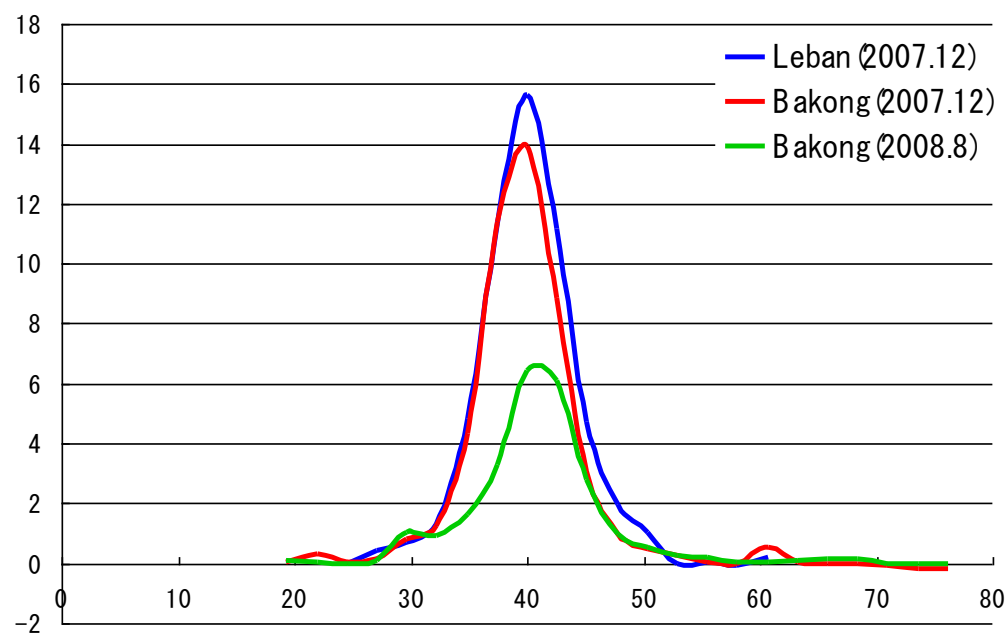
- フェノール性成分およびタンパク質成分ともに、2007年11月＞8月、2008年9月＞4月の傾向が認められた。
- 夏が過ぎた頃、非腐植物質成分の供給が多くなるのかもしれない。

マレーシア・サラワク 多糖類炭素 比較

Toyopearl-HW50F

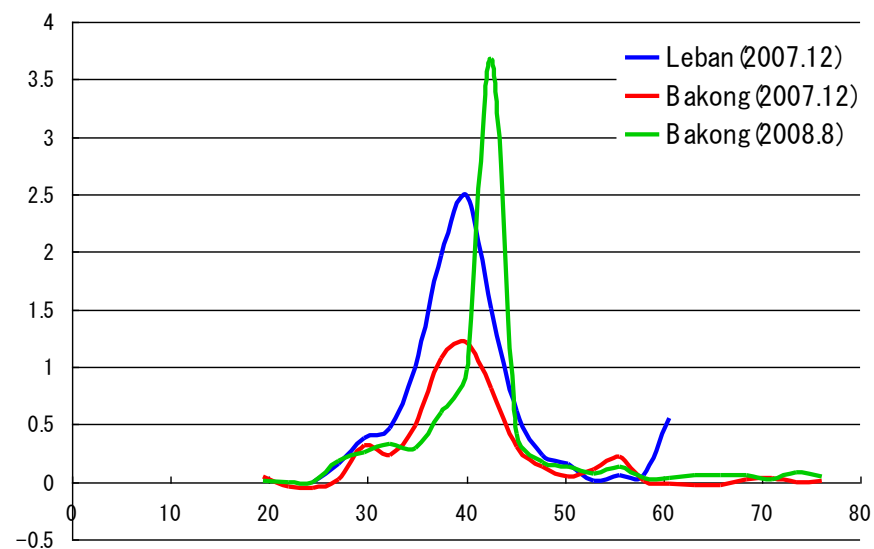
フェノール硫酸法

炭素換算 C ppm



アンスロン法

炭素換算 C ppm



サラワクにおける多糖類成分の分子サイズ分布

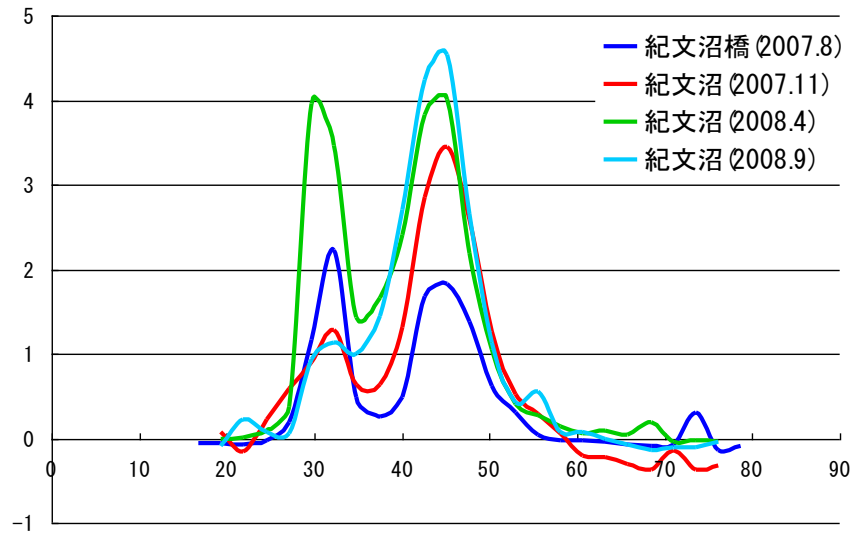
- フェノール硫酸法の糖 >> アンスロン法の糖
- 2007年12月(雨季)においては、フェノール硫酸法糖の地点間差は非常に少なかったが、アンスロン糖はBakong(開発地点)の方が少なかった。
- 2008年8月試料(乾季)においてはBakongのフェノール硫酸糖が著しく減少し、アンスロン糖のピークは低分子側にシフトしていた。

多糖類の季節変化

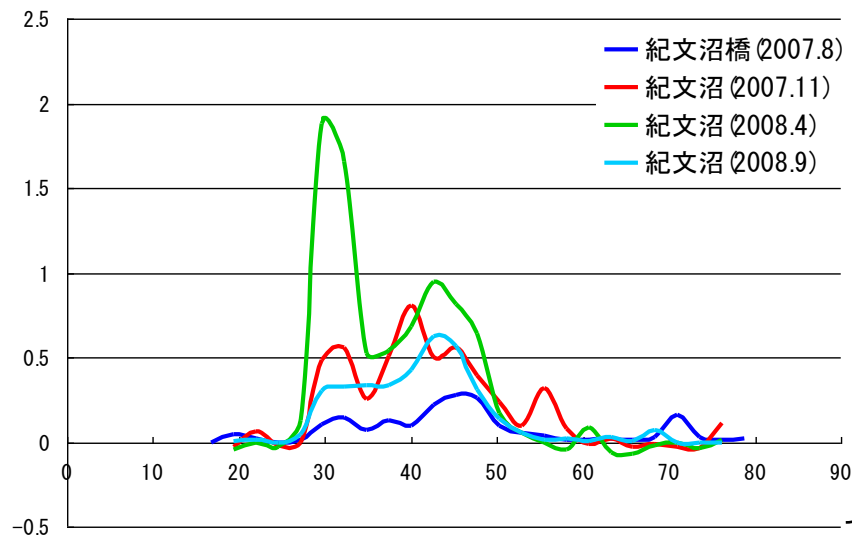
HW50F 紀文沼 比較

多糖類炭素

フェノール硫酸法

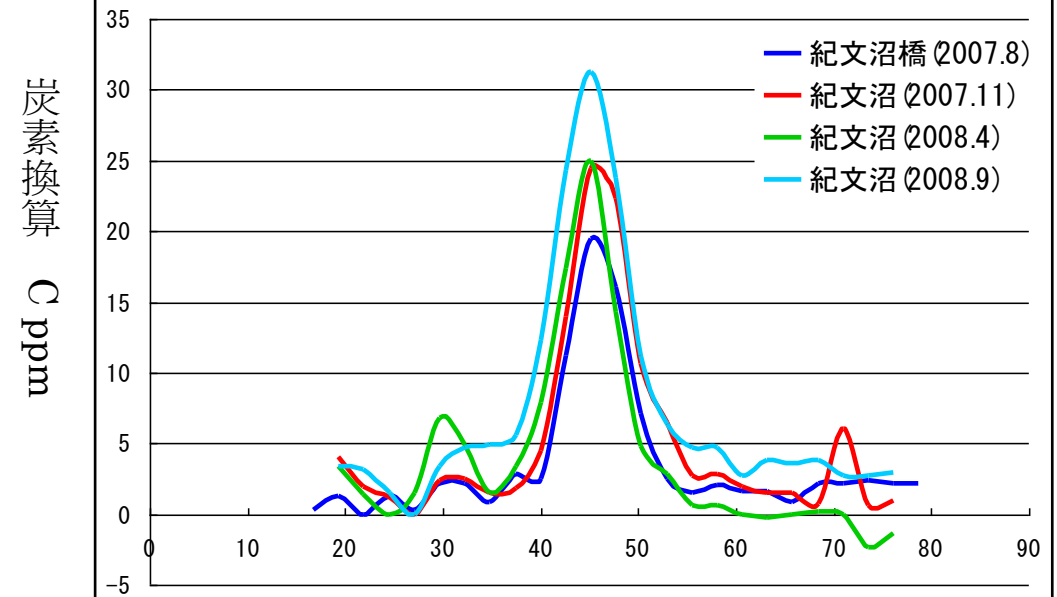


アンスロン法



全有機炭素

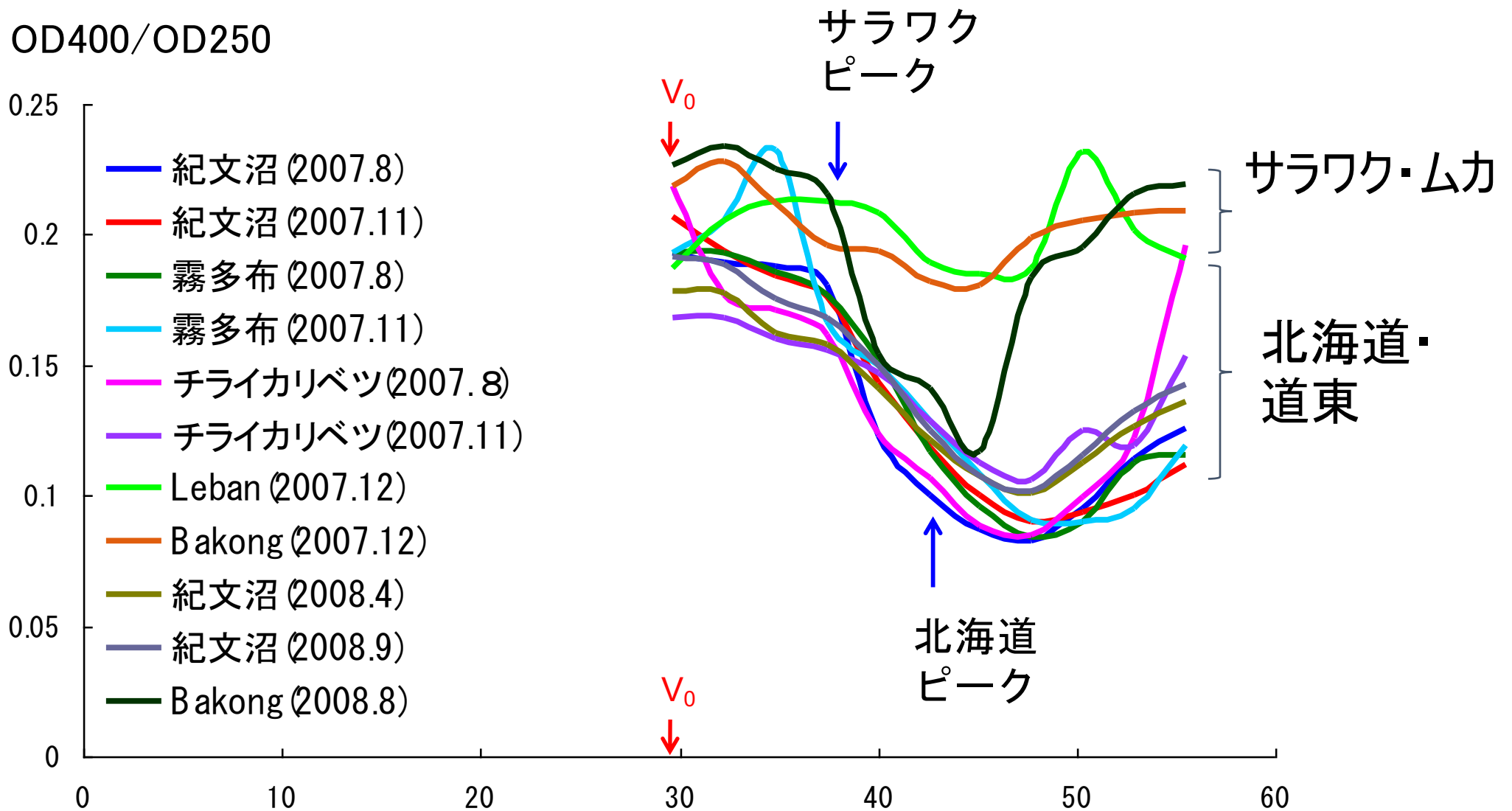
立川法



紀文沼における全有機炭素、フェノール硫酸糖、アンスロン糖の分子サイズ分布

- 糖成分は、いずれも高分子側(排除画分)の比重が大きい。
- 全有機炭素の分子サイズ分布のパターンは変化に乏しかったが、糖成分は季節ごとに大きな変化を示した。
- アンスロン糖は最も分解されやすい成分であるため、季節変化が大きかったと考えられる。

OD₄₀₀/OD₂₅₀の変化 (Toyopearl HW50F)



OD400/OD250の変化 (腐植化度のめやすとして)

- OD400/OD250(腐植化度)は分子サイズと伴に変化した。
- サラワク試料では、北海道試料より値が高く、分子サイズと対応した変化に乏しかった。ただし、Bakongの8月試料では、メインピーク以降に値が低下した。
- 北海道試料では、分子サイズが低下するほど、値が低下する傾向が認められた。

まとめ

- ☞ キレックス100処理によりDOMサンプルのホウ酸リチウム溶解液への溶解性が高まった。
- ☞ 北海道の一部の試料には、MW235万相当の巨大な分子サイズ画分が含まれた。金属イオンの関与について研究が必要。
- ☞ フェノール性成分は非常にシャープな分子サイズ分布を示したが、タンパク質成分はブロードで高分子側に偏った分布を示した。
- ☞ 多糖類（特にアンスロン糖）は季節変動が著しかった。また高分子画分に多く含まれた。
- ☞ サラワクの湿原のDOMは均一でシャープな分子サイズ分布を示し、腐植化の程度も高かった。ピークの分子量は、サラワクの試料の方が、北海道の試料よりも大きかった。
- ☞ サラワクの試料では、雨季と乾季に、腐植化度および糖成分において差が認められそうである（分析進行中）

謝辞



☞ To: **Dr. Lulie Melling**

☞ Dept. of Agriculture Sarawak,
Soil Management Branch

☞ サラワク・ムカでの試料採取と試料調製作業において多大なご便宜を頂きました。

