

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19710019  
 研究課題名（和文） アミノ酸の光学異性体(D/L-体)を利用した溶存有機物の起源推定  
 研究課題名（英文） Estimation of the origins of dissolved organic matter using enantiomers of amino acids  
 研究代表者  
 川崎 伸之 (KAWASAKI NOBUYUKI)  
 独立行政法人国立環境研究所・水圏環境研究領域・NIES ポスドクフェロー  
 研究者番号：00446387

## 研究成果の概要：

本研究では霞ヶ浦湖水やそこに注ぎ込む河川、また沿岸域として相模湾における調査を行った。霞ヶ浦湖水や河川水の多くは海水と同じようにバクテリア起源の溶存有機物(DOM)が卓越していることがバクテリア起源のバイオマーカーであるアミノ酸の光学異性体を用いて明らかになった。また霞ヶ浦湖水は非生物起源のアミノ酸を多く含み、底泥からのDOMの溶出が非常に高いと考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	360,000	2,860,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：物質循環

## 1. 研究開始当初の背景

アミノ酸は、生物細胞内の炭素量の50~60%を占める生物内有機化合物として最も卓越している重要な物質である。海洋の溶存有機物(DOM: Dissolved Organic Matter)においても、アミノ酸は糖類と並んでDOM中の同定可能な有機化合物の大部分を占めている。アミノ酸の量や組成は、DOMの分解性や初期続成作用(early diagenesis)を知る上で重要な情報を提供してくれる。例えば、ある程度分解性のある海洋表層のDOM中ではアミノ酸が占める割合は3~4%程度で、その割合

は深度が増すほどに減り、ほとんど分解しない深層(1000m以深)のDOM中では1%以下になり、アミノ酸が炭素量に占める割合は、海洋DOMの分解性に非常に良く対応している。さらにアミノ酸組成を見ると、分解性の高い生物中のアミノ酸には、グリシンは10%程度しか存在しないが、海水表層DOMでは20%以上になり、深層DOMではグリシンが30%位まで増大する。

このようにアミノ酸からDOMの分解性などの情報を得ることができるが、海洋DOMに

おけるアミノ酸の最も興味深い特徴は、D-アミノ酸の存在である。グリシンを除くアミノ酸には光学異性体(鏡像異性体)が存在し、D-体とL-体と呼ばれている。全生物中のタンパク質はL-体のみで形成されているが、海洋DOMのアミノ酸にはD-アミノ酸が多数存在する。D-アミノ酸は、非生物過程のラセミ化と呼ばれる反応でL-体からD-体への置換によって生成されるが、ラセミ化の速度は温度に依存し、深海のような低温下では非常に遅いため、高濃度のD-アミノ酸の存在を非生物過程では説明ができない。バクテリアの細胞壁の一部であるペプチドグリカンにはD-アミノ酸が存在し、その他のバクテリア由来のバイオマーカーも海洋DOM中で見つかっていることから、バクテリアが海洋DOMの大部分を占める難分解性DOMの主要な起源ではないかという仮説が提唱されている。

陸水域である湖沼・河川でも、海洋と同様に、DOMの分解性や起源が注目されている。近年、我が国の多くの湖沼において難分解性DOMが漸増していると報告されている。湖水・河川水DOMは、浄水処理殺菌プロセスで生成されるトリハロメタン等の消毒副生成物の原因物質であり、その濃度上昇は健康リスクに係る懸念を増大させるため、難分解性DOMの起源や動態等を理解することが重要な課題となっている。湖水DOMに関する最近の研究では、従来難分解性と言われていた高分子サイズは分解しやすく、さらに分子サイズが小さくなるほど分解性が低下すると報告されている。DOMの分子サイズと難分解性に密接な関係があると示唆される。加えて、湖沼は海洋と異なり、河川や降雨などの外部由来DOMの占める割合が高く、海洋とは異なるDOMの化学組成が考えられる。従って、難分解性DOMの生成メカニズムが海洋とは異なる可能性がある。河川水DOMでは、D-アミノ酸が比較的少ない土壌起源のものが多いと報告されているが、湖沼などで増加している難分解性DOMと土壌起源DOMの因果関係は、未だ明らかにされていない。湖沼では、D-アミノ酸を含むバクテリア起源のバイオマーカーは全く測られていない。河川ではロシアの数河川とバルト海に注ぐ河川のわずか2つの研究例しかない。すなわち、陸水DOMと海洋DOMではD-アミノ酸に関する情報量において雲泥の差がある。

海洋においてバクテリアが難分解性DOMの主要な起源であると示されているにも関わらず、河川や湖沼では難分解性DOMについての研究がほとんどなされていない。地球規模の水循環を考えると、河川、湖沼、海は密接につながっており、DOMの起源や動態な

どを知る上で、バクテリアのバイオマーカーは非常に有用な手段であると考えられる。本研究ではこの点に着目し、D/L-アミノ酸を使って異なった水域でのバクテリア起源のDOM量を明らかにすることを提唱し、アミノ酸の量と質に関する情報とDOMの分解性や分子サイズなどとの関連性を明らかにする。

## 2. 研究の目的

本研究では、土壌、河川、湖沼、沿岸域におけるDOM(溶存有機炭素DOCとして)、D/L-アミノ酸を測定し、全炭素量に占めるアミノ酸量やD-アミノ酸量を用いて各水域のDOMの起源を同定する。またD-アミノ酸量から河川・湖沼のDOMの特徴を探り、難分解性DOMの生成との関係性を評価する。さらにバクテリア数、バクテリア生産量、その他の物理化学的パラメータ等も同時に測定して、それらの値とDOMの分解性や分子サイズなどとの関係を検討して、湖沼や河川における難分解性DOM生成の主要因はバクテリアであることを明らかにする。

## 3. 研究の方法

実際の土壌、湖沼水、河川水、沿岸海水に含まれるDOMと、バクテリアのバイオマーカーであるD/L-アミノ酸の測定を行う。国内の湖沼、河川、沿岸域におけるDOM中のD-アミノ酸を分析して、各起源のDOMのアミノ酸組成に係る基本的なデータセットの作成を試みる。

湖沼水、河川水及び海水の試料を採水後、450℃で4時間加熱処理したガラスろ紙(Whatman GF/Fフィルター:公称粒子径=0.7μm)を使い、実験室にてDOM画分を採取する。DOMは島津TOC-Vを使って、Benner and Strom (1993)の方法に準拠して測定する。D/L-アミノ酸は、HPLCを使いKarl and Benner (2005)の手法に従って行う。

## 4. 研究成果

霞ヶ浦湖水DOMについてであるが、2007年から2008年まで毎月一回の測定を行った。季節的变化は少なく、1.2~2.0mMであった。一方河川水においては0.6から1mMであった(図1)。このことから霞ヶ浦DOM中のアミノ酸は河川水からの供給だけではなく内部生産からの寄与も多くあると考えられる。内部生産で考えられるのは植物プランクトン由来であるが、植物プランクトン由来のDOMはアスパラギン酸やグルタミン酸などの酸性アミノ酸の割合が高く、グリシンが低いという特徴があるが、霞ヶ浦湖水にはそのような特徴はなかった。

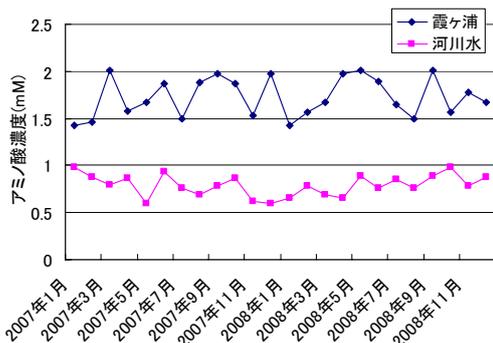


図 1.霞ヶ浦と河川水における溶存アミノ酸濃度

D-アミノ酸であるが、アスパラギン酸(Asp)、グルタミン酸(Glu)、セリン(Ser)、アラニン(Ala)が検出された。D-アミノ酸が検出された4つのアミノ酸でD-体が占める割合を図2に示す。河川水中もあまり変化がなかった。

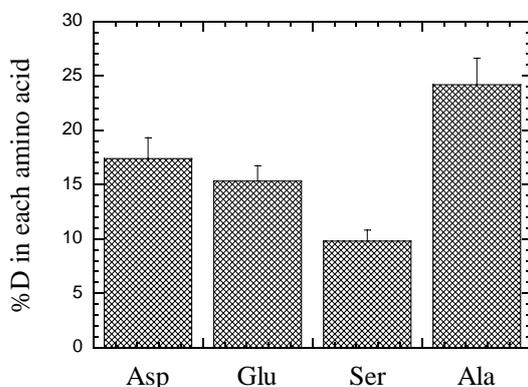


図 2.霞ヶ浦における D-アミノ酸が占める割合

それ以外の特徴として霞ヶ浦湖水の DOM 中には非生物起源といわれているアミノ酸である  $\beta$ -アラニンや  $\gamma$ -アミノ酪酸の占める割合が非常に高かった(8~11%)。河川水も高かったが、霞ヶ浦湖水に比べると割合は低かった(6~9%)。これらのアミノ酸の生成メカニズムは未だに明らかにされていないが、嫌気性の土壌において深さ方向に濃度が上昇しているという報告があるため、おそらく底泥からの溶出が考えられる。

一方、相模湾における溶存アミノ酸の深度方向の濃度変化を見ると表層で約 300nM で深層だと 100nM となり、霞ヶ浦と比べると非常に低かった。次に D-アミノ酸組成を見てみると(図 3)、D-アラニンがやはり高く、表層で 25% であり霞ヶ浦と酷似していた。しかしながら深層に行くにつれて D-アラニン比は 30% を超えていった。他のアミノ酸に関しては霞ヶ浦と相模湾は非常に似ていた。このことからバクテリア起源の DOM は霞ヶ浦や河川でも海洋と同じように非常に高いと考えられる。

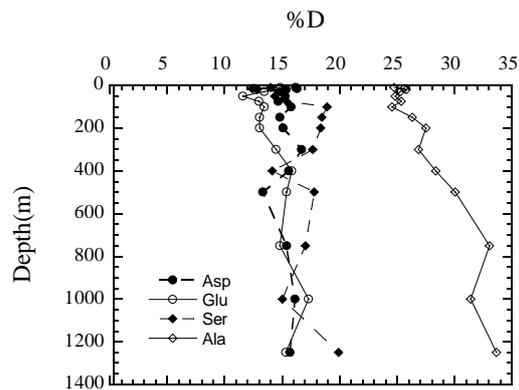


図 3.相模湾における D-アミノ酸が占める割合

また両者のアミノ酸組成を比べると霞ヶ浦湖水には非生物起源のアミノ酸が非常に卓越していた。存在比で比べると相模湾では全アミノ酸に占める非生物起源アミノ酸は 2% 前後あるのに対して、霞ヶ浦では 10% 近くを占めていた。これらの非生物起源アミノ酸は嫌気性の土壌で多いことがわかっており、霞ヶ浦湖水 DOM は嫌気性の底泥からの溶出からの起源が高いと考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 川崎伸之、松重一夫、今井章雄、小松一弘、大岸史和、矢幡雅人、三上博久、後藤武 ‘TOC検出器付サイズ排除クロマトグラフィーを用いた霞ヶ浦中DOCの分子量分布の検討’ 日本陸水学会 2007年9月13日 茨城大学
- ② Nobuyuki Kawasaki and Ronald Benner ‘異なった有機物に対する従属栄養バクテリアの反応と化学組成変化について’ 日本海洋学会秋季大会 2007年9月27日 琉球大学
- ③ Nobuyuki Kawasaki and Ronald Benner ‘Contributions of living bacteria and bacterial detritus to suspended POC in the North Pacific Gyre’ Ocean Science Meeting 2008年3月5日 Orlando, Florida
- ④ 川崎伸之、松重一夫、今井章雄、小松一弘、大岸史和、矢幡雅人、三上博久、後藤武 ‘サイズ排除クロマトグラフィーシステムにおけるカラムの種類および溶離液組成が及ぼす影響の検討’ 日本陸水学会 2008年10月13日 北海道大学
- ⑤ 川崎伸之、松重一夫、今井章雄、小松一弘、大岸史和、矢幡雅人、三上博久、後藤武 ‘全有機炭素検出器を組み込んだ

サイズ排除クロマトグラフィーによる  
様々な水環境下での溶存有機物の分子サ  
イズ分布の検討’ 日本水環境学会  
2009年3月16日 山口大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川崎 伸之 (KAWASAKI NOBUYUKI)  
独立行政法人国立環境研究所・水圏環境  
研究領域・NIES ポスドクフェロー  
研究者番号：00446387

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし