

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25281011

研究課題名(和文) FT-ICRMS分析を用いた森林の溶存有機物の構成種とその変動メカニズムの解明

研究課題名(英文) Application of FT-ICR MS to see the variations in the molecular diversity of dissolved organic matter in forest ecosystems

研究代表者

大橋 瑞江 (Mizue, Ohashi)

兵庫県立大学・環境人間学部・教授

研究者番号：30453153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では高精度質量分析器FT-ICRMSを用いて、森林生態系におけるDOMの組成とその変遷を明らかにすることを目的とした。その結果、FT-ICR MSの分析のためのフィールドサンプルの取得、サンプルの前処理、スペクトル解析、分子の絞り込み、同一分子の抽出についての一連の作業をマニュアル化及び一部をプログラム化し、より精度の高い分析手法を確立した。確立した手法を用いて、まずフィンランドのドイツウヒ林における水循環に伴うDOMの変遷プロセスを明らかにした。その後、日本のスギ人工林及び広葉樹二次林において、降雨と林内雨の水質組成の違い、スギと広葉樹の林内雨の水質組成の違いをそれぞれ明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to clarify the composition and it's changes in DOM in forest ecosystems using FT-ICRMS. We made a protocol of FT-ICR MS analysis, which consists from (1) how to get water samples in field, (2) pretreatment of samples, (3) spectra analysis, (4) extraction of molecule peak, (5) extraction of common molecule. We applied the protocol to clarify the changes in water quality in Finland and Japan. In Finland, the changes in DOM according to the water cycling in a Norway spruce forest was clarified by this method. In Japan, the difference of throughfall depending on the different forest types was clarified with this method.

研究分野：森林科学

キーワード：質量分析 溶存有機物 森林生態系 分子種 水循環

1. 研究開始当初の背景

地球表層に存在する雨水・河川水・湖沼水・地下水などの天然水は、我々人間の生活にはなくてはならない資源であり、森林はこれらの水が循環する過程で水質と水量を調節する重要な役割を果たしている。一般に土壌は河川水の約 20 倍、地下水は約 1 万倍の水量を有するとされ、これらの水の大部分は森林地帯に蓄えられている。森林に降った雨は、林冠に受け止められ、樹幹をつたい、土壌に達した後、土壌内を浸透しながらさまざまな生物過程や化学過程を受け、最終的には地下水を経て渓流水として地表に滲出する。したがって渓流河川の水質は、森林生態系を流れる水循環の移動経路やそれを取り巻く環境、植生、生物集団等の影響を強く受けている。

水質を決定付ける最も重要な因子として挙げられるのは水中の溶存有機物(DOM)である。DOM は、全ての陸水に数百 $\mu\text{g/L}$ から数 mg/L 含まれるコピキタスな物質群で、その起源は、植物の一次生産で作られた炭水化物・たんぱく質・脂質のような炭素化合物である。しかし、陸上の動植物による生物作用、化学的な分解や合成、物理的風化など、様々な過程を経たのちに地下水や地表水に溶け込み、水中での分解・変質作用を受けるため、遥かに複雑で多様な形態へと変性している。しかし、水質形成における DOM の重要性にも関わらず、DOM の存在形態や存在量を把握することは技術的に難しく、これまでの研究の多くが、水中の DOC(溶存有機炭素)濃度の計測、有機物全体の蛍光スペクトルや元素組成比などの特徴を調べる、いわゆるバルクキャラクタリゼーションによるものであった。

近年開発されたフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型質量分析器(FT-ICRMS)は、極めて分解能が高く、検出された質量電荷比を基に得られる予想分子式からは、分子種の推定やデータベース検索による分子の特定を行うことが可能である。この装置を用いた研究は、これまでその多くが医療目的や動植物の生理実験であり、天然水の分析に FT-ICRMS を用いた例は少ない。

2. 研究の目的

そこで本研究は、日本の森林流域における水質の形成メカニズムを解明するため、FT-ICR MS 分析を用いて、DOM 構成種の変動プロセスの解明を行うことを目的とした。そのため、以下の三つの作業を行った

- (1) 森林における FT-ICR MS 分析のためのサンプルの取得、前処理、スペクトル分析などの一連の作業のプロトコル化
- (2) フィンランド東部の北方林を対象にした、森林内の水移動に伴う溶存有機物(DOM)の分子化合物の変化
- (3) 日本の広葉樹林の林内雨と針葉樹林の林内雨の DOM 分子の比較

3. 研究の方法

(1) サンプルの取得

フィンランドではカレリア地方のドイツトウヒが優占する人工林で実験を行った。対象試験流域において林外雨、林内雨、土壌水、地下水、河川水を 2 回採取した。土壌水は 0 層・E 層・B 層の 3 深度から採取した。地下水は、泥炭層および無機質層下の地下水 2 層を採取した。

日本の水サンプルは、兵庫県内 3 か所にて降雨、広葉樹林の林内雨、針葉樹林の林内雨を取得した。採水装置(口径 30cm、高さ 45cm)を各試験地の空き地、コナラ優占の広葉樹林、ヒノキ優占の針葉樹林に設置した。

(2) サンプルの処理

取得した水サンプルいずれも GF/F フィルターで濾過し、C18 固相抽出法により DOM の濃縮、無機塩の除去を行った。

(3) FT-ICR MS 分析

DOC 濃度測定を TOC(全有機炭素)計で行い、DOM のスペクトルデータ取得を質量分析計である FT-ICR-MS にて行った。

スペクトルデータから、個々の分子を表す m/z 値を取り出し、質量数をあてはめて分子式を予想した。また予想される炭素、酸素、水素の値から Hockaday et al.(2009)や Grannas et al.(2006)をもとに分子式を 7 つの機能群(脂質、タンパク質、炭水化物、炭化水素、リグニン、タンニン、縮合芳香族化合物)に分類した。H/C>1.2、O/C>0.5 の領域を生分解性と強く相関する分子群として抽出した(Ohno et al. 2014)。

4. 研究成果

(1) フィンランド北方林における水質変化

FT-ICR MS で同定できた DOM 分子化合物の種類数は 865-2194 個の範囲に及んだ。この結果は各試料水中に多種多様な DOM 分子化合物が含まれていることを示す。これらの分子種数の変化はリグニン分子種の種数変化と正の相関関係にあった。このことは、雨水が樹冠や森林土壌、地下水を通過し河川に到達する過程で雨水中の DOM 分子化合物の構成がリグニンなどの難分解性物質の変化によって制御されていることを示唆する。以上より、北方林における DOM の分子構成は空間的に変化することが明らかとなった。

(2) 日本の温帯林における水質変化

DOC 濃度は、平均値は降雨、広葉樹林内雨、針葉樹林内雨の順に高くなっていったが、有意な差はみられなかった。DOM 分子数は、降雨は平均 669 種となり、林内雨に比べて有意に多かったが、広葉樹林は平均 1989 種、針葉樹林は平均 2434 種となり両者の間に有意な差はみられなかった。DOM の機能群のうちリグニンは林内雨に多量に含まれており、リグニンと共にタンパク質の種数が降雨に比

べ林内雨に有意に多かった。二つの森林タイプ間にはいずれの機能群でも有意差はみられなかった。しかし、広葉樹林のみ、針葉樹林のみに共通する分子が存在し、そのうち広葉樹林は 37 個、針葉樹林は 102 種が機能群に分類された。広葉樹林では脂質(15 個)とリグニン(17 個)が多く、針葉樹林では脂質(28 個)、リグニン(45 個)に加え、タンパク質の共通分子(23 個)が多かったことが特徴的だった(図 1)。生分解性が高いとされる分子群は全ての機能群で降雨より林内雨に多い傾向にあった。

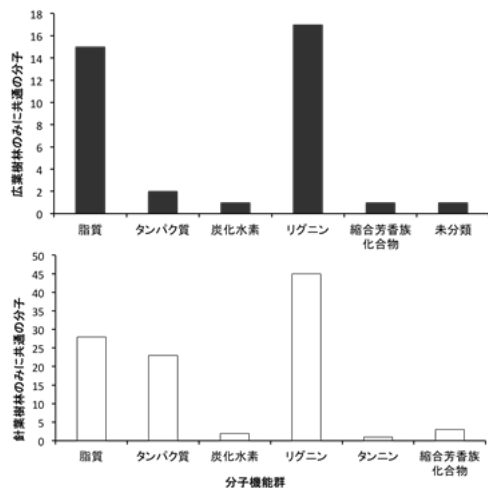


図 1. 森林タイプ別の共通分子

<引用文献>

Hockaday, W. C., Purcell, J. M., Marshall, A. G., Baldock, J. A. and Hatcher, P. G. Electrospray and photoionization mass spectrometry for the characterization of organic matter in natural waters: a qualitative assessment. *Limnol. Oceanogr. Methods* 7, 81-95 (2009).

Grannas, A.M., Hockaday, W.C., Hatcher, P. G., Thompson, L. G. and Mosley-Thompson, E. (2006): New revelations on the nature of organic matter in ice cores. *Journal of Geophysical Research*, 111. D04304 (2009).

Ohno, T., Parr, T. B., Gruselle, M. C. I., Fernandez, I. J., Sleighter, R. L., and Hatcher, P. G. Molecular composition and biodegradability of soil organic matter: a case study comparing two New England forest types. *Environmental science & technology*, 48(13), 7229-7236 (2014).

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)

[雑誌論文](計 3 件)

Ide, J., Ohashi, M., Takahashi, K., Sugiyama, Y., Piirainen, S., Kortelainen,

P., Fujitake, N., Yamase, K., Ohte, N., Moritani, M., Hara, M., Finér, L. 2017. Spatial variations in the molecular diversity of dissolved organic matter in water moving through a boreal forest in eastern Finland. *Scientific Reports*, 7, 42102, doi: 10.1038/srep42102.

Ohashi, M., Nakano, A., Hirano, Y., Noguchi, K., Ikeno, H., Fukae, R., Yamase, K., Makita, N., Finér, L. 2016. Applicability of the net sheet method for estimating fine root production in forest ecosystems. *Trees -Structure and Function-*, 30, 571-578. doi: 10.1007/s00468-015-1308-y.

[学会発表](計 9 件)

井手淳一郎・大橋瑞江・Kajar Köster, Frank Berninger・三浦郁実・牧田直樹・山瀬敬太郎・Jukka Pumpanen. 亜北極地域の北方林における森林火災後の土壌水中溶存有機物の質の時間変化について. 2017年3月26 - 29日. 第128回日本森林学会大会. 鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

三浦郁実・井手淳一郎・山瀬敬太郎・牧田直樹・大橋瑞江. 広葉樹林と針葉樹林の林内雨に溶存する有機物の分子構成比較. 2017年3月14 - 18日. 日本生態学会大64回全国大会. 早稲田大学(東京都新宿区).

Ide, J., Ohashi, M., Köster, K., Berninger, F., Miura, I., Makita, N., Yamase, K., Pumpanen, J. Changes in the quality of dissolved organic matter in soil water with time since last fire in a boreal forest. 17-22 April 2016, EGU General Assembly 2016. Vienna (Austria).

井手純一郎・大橋瑞江・高橋勝利・杉山裕子・Leena Finér・Sirpa Piirainen・Pirkko Kortelainen・藤嶽暢英・山瀬敬太郎・森谷美奈・原都・大手信人. フィンランド東部の北方林を通過する雨水中溶存有機物の構成分子種の変化について. 2015年3月26 - 29日. 第126回日本森林学会. 北海道大学(北海道札幌市).

大橋瑞江・高松綾子・大西千里. 竹林の根系と地下茎を介した炭素動態. 2016年3月27-30日. 第127回日本森林学会. 日本大学(神奈川県藤沢市).

森谷美奈・高橋勝利・大橋瑞江・大手信人・藤嶽暢英・山瀬敬太郎・中田靖・熊谷哲・杉山裕子. FT-ICR MS と 3DEEMs を用いた森林生態系を循環する溶存有機物の動態の解析. 2014年11月21日-22日. 第29回日本腐植物質学会. 佐賀大学(佐賀県佐賀市).

森谷美奈・原都・高橋勝利・大手信人・藤嶽暢英・山瀬敬太郎・中田靖・大橋瑞江・熊谷哲・杉山裕子. FT-ICR MS による森林生態系内溶存有機物の分布と特徴の解析. 2014年2月23日. 第25回日本陸水学会近畿支部会研究発表会. 摂南大学(大阪府寝屋川市).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大橋 瑞江 (OHASHI Mizue)
兵庫県立大学環境人間学部・教授
研究者番号: 30453153

(2) 研究分担者

杉山 裕子 (SUGIYAMA Yuko)
兵庫県立大学環境人間学部・准教授
研究者番号: 30453153

高橋 勝利 (TAKAHASHI Katsutoshi)
独立行政法人産業技術総合研究所・計測フロンティア研究部門・研究員
研究者番号: 00271792

藤嶽 暢英 (FUJITAKE Tomohide)
神戸大学・農学研究科・教授
研究者番号: 5024333

山瀬 敬太郎 (KEITARO Yamase)
兵庫県立農林水産技術総合センター・資源部・主席研究員
研究者番号: 90463413

牧田 直樹 (MAKITA Naoki)
信州大学・理学研究院・助教
研究者番号: 40723086

(3) 研究協力者

井手 純一郎 (IDE Junichiro)
九州大学・持続可能な社会のための決断科学センター・助教