

ROLE OF HUMIC SUBSTANCES ON TRANSPORT OF TERRESTRIAL MATERIALS FROM RIVER TO OCEAN by NAGAO SEIYA

河川を通しての陸から海への物質輸送 —腐植物質の特性と錯形成能—

長尾誠也(北海道大学大学院地球環境科学研究科)

河川水の溶存有機物研究の意義

河川を經由して陸域から海洋へ輸送される物質は、陸上生態系の物質循環のアウトプットである。輸送される物質の中で、溶存有機物に着目した場合、河川水は温暖化の現象解明のために重要な炭素循環の中で、陸域から海洋への移行経路であり、陸域と海洋の接点として位置づけられる。また、河川を通して運ばれる陸上の有機物が沿岸域の生物生産に関与している。例えば、沿岸域のプランクトンの増殖には、陸からの栄養塩の供給が必要であり、その起源は陸上の有機物である。陸域から供給される鉄は、プランクトンの硝酸還元酵素や光合成色素の合成に大きく関与し、プランクトンの成長には欠かすことが出来ない成分である。この鉄を運ぶキャリアーとして、溶存有機物の大部分を占める腐植物質が重要であると考えられている(Sholkovitz and Copland 1981; Hunter 1983; 松永 1993)。そのため、アムール川からの陸水の供給量が大きく、湿地等からの溶存有機物と鉄の供給量が高いと考えられるオホーツク海沿岸での生物生産に影響を及ぼしている可能性が指摘されている。そのため、アムール川とその周辺海域でプランクトンの増殖に及ぼす鉄の効果、その鉄を運ぶ腐植物質の役割を詳細に検討する必要がある。

河川水腐植物質の特性

1)腐植物質とは？

腐植物質とは、植物残差や微生物、プランクトンの遺骸が微生物による分解を受け、その分解生成物から化学的、生物的に合成された暗色(黄色～褐色～黒色)の高分子有機酸の混合物であり、分子量、

酸性官能基の pK_a 値ともに極めて多様である(石渡 1995)。土壌や堆積物にはアルカリ溶液に可溶だが、 $pH2$ の酸性溶液では沈殿を形成するフミン酸、どの pH でも可溶なフルボ酸、及びアルカリに不溶なヒューミンが存在する。天然水ではフミン酸とフルボ酸が溶存している。

河川水の腐植物質の存在量は、地域の気候と流域特性により変動する。通常の色着していない河川水の溶存有機炭素濃度は $0.05\sim 5\text{mg/l}$ 、茶褐色に着色した河川水の場合には $10\sim 30\text{mg/l}$ で、腐植物質は溶存有機炭素の $70\sim 90\%$ を占める。また、腐植物質のうち、フルボ酸が 90% 前後の割合で存在する(Thurman 1985; Malcolm 1990)。

2)構造特性

Malcolm (1990)によると、河川水腐植物質は、土壌腐植物質に比べて分子量の範囲が狭く、より低分子である。河川水フルボ酸は、土壌フルボ酸に比べると炭素含量が高く、酸素と窒素含量は低い。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルによる分析結果では、河川水フルボ酸は芳香族とカルボキシル基炭素が卓越し、土壌フルボ酸は多糖類の割合が高い。土壌フミン酸の場合、窒素含量は 4% 程度で河川水フミン酸に比べて約2倍高い。土壌フミン酸のメキシ基のピークは比較的強く、リグニンの分解生成物の寄与を示している。一方、河川水フミン酸は、フェノール性水酸基のピークが土壌フミン酸に比べて明瞭である。

3)微量元素との錯形成能

腐植物質は、カルボキシル基やフェノール性水酸基に富むことから、多価の原子価(3価～6価)を持つ微量金属元素との親和性が強く、腐植物質錯体を形成するため、水圏における微量金属の移行挙

動の支配因子の1つと考えられている(Kim 1986: Stevenson and Fitch 1986)。pH4-6、イオン強度 0.1 Mの溶液における腐植物質の安定度定数(log β)は、Cu(II), Zn(II) < Np(V) < U(VI) = Eu(III), Am(III), Dy(III) < Th(IV)の順に大きくなる(長尾 2003)。この違いは、元素の溶存形態と腐植物質の解離度、3次元構造、及び元素の加水分解、炭酸塩との錯形成の競争関係等により変動する。

腐植物質は生成される環境等により、その構造や官能基特性が異なることから、これらに関連する特性を基にした錯形成に関する評価、定量化が必要である。Nagao et al.(2003)は、腐植物質の簡易な特性評価項目として利用され、微量元素との錯形成に関与していると考えられている腐植物質の分子サイズ分布に着目し、各種の特性を持つ腐植物質とAm(III)との錯形成実験を行った。その結果は図1に示す。フミン酸存在下では、淀川試料を除き、Amは分子サイズ10万-1万に80-90%が存在していた。淀川フミン酸の場合、Am(III)は分子サイズ10万以上の存在割合が卓越していた。フルボ酸共存下の場合、フルボ酸試料によりAmが卓越する分子サイズが異なっていた。以上の結果より、腐植物質とAm(III)との錯形成は、腐植物質の分子サイズの割合とそのサイズフラクションの構造・官能基特性に支配されていると考えられる(Nagao et al. 2003a)。

海洋での生物生産と腐植物質との関係

陸から河川を経由して沿岸海洋へ供給されるフルボ酸鉄(鉄-フルボ錯体)が、沿岸域でのプランクトンの増殖、海草類、貝類等の生育に関与していることが松永(1993)により報告されている。道東の湿原がある沿岸域では溶存有機炭素濃度と鉄濃度が日本海側に比べて高く、鉄-フルボ錯体の支配因子としての可能性が高い。また、栄養塩が豊富に存在するが、クロロフィル量が低く、鉄が不足している海域(HNLC)に鉄を添加するとプランクトンが増殖することが報告されている(Martin et al. 1990: Behrenfeld et

al. 1996: 津田ら 2002)。西岡ら(2002)によると、添加した鉄イオンは海水中で高分子フラクションに存在した状態で溶存していた。このことは、鉄が腐植物質のような高分子の有機物と錯体等を形成した可能性が考えられる。

腐植物質の特性分析の必要性

土壌腐植物質は、生成される環境等により、その構造特性、構成有機物含量、官能基特性等が異なることが知られている(Stevenson 1994)。そのため、土壌等の流域から腐植物質の供給を受ける河川水では、流域環境を反映して異なる特性を示すことが考えられる。図2には、その1例として、河川水、及び地下水フミン酸、フルボ酸の脂肪族成と芳香族成分の割合の関係をプロットした。フミン酸とフルボ酸は河川水と地下水ともに明らかに異なる領域にプロットされるが、それぞれの構成割合は、ある幅を有している。このような腐植物質の構造・分子サイズ等の流域による違いは、沿岸域での生物生産に影響を及ぼす鉄の供給量、溶存形態にも関連してくる。そのため、腐植物質の役割をより詳細に、しかも定量的に評価するためには、XAD樹脂等を用いて河川水から腐植物質を分離精製する必要がある。しかしながら、多くの労力と時間を必要とするため、これまではほとんど検討が進んでこなかった。そのため、実験海域及びその起源と考えられる河川水からの腐植物質の分離精製とその特性評価が必要である。

溶存腐植物質の簡易測定法の検討

陸起源腐植物質の沿岸域での拡散状況の把握は、沿岸域のどの範囲まで河川水腐植物質の影響を受けているのかを評価するために必要な基礎データである。この場合、多くの測点での採水と測定が必要となるため、樹脂等による分離精製操作による腐植物質の採取は、試料量、処理の時間と労力の点から全ての試料に適用することは困難である。その

ため、河川水および沿岸海水の腐植物質の濃度を簡易に測定できる分析手法を確立する必要がある。また、河川を経由して陸域から沿岸域に供給される腐植物質が年間を通してどの程度の量か、その供給量には季節的な変動についての知見が必要である。さらに、腐植物質の構造特性と鉄との錯形成との関係、腐植物質の錯形成能に関連する腐植物質の特性を測定できる方法が必要不可欠である。

そこで我々は、腐植物質の濃度と1部の特性に関する情報が得られる以下の2つの方法を選択し、腐植物質の分離精製を行わずに、ろ過したろ液の試料を用いた直接測定が可能かどうか、また、その分析法の妥当性についての検討を行った。

1) 3次元蛍光分光光度法

天然水中に溶存する腐植物質は、分子量が数百〜数百万と広い範囲を示し、その構造には不飽和脂肪族化合物、芳香族化合物等の蛍光物質を有している。腐植物質の化学組成・構造は、出発物質と生成機構を反映して、腐植物質が存在する環境により異なる多様性を持っている。そのため、腐植物質の蛍光スペクトルは、構成有機物や構造特性の違いが反映され、蛍光ピークの数、波長位置、相対蛍光強度が異なっている(Senesi 1990; Senesi et al. 1991)。

これまでは、上記の検討は、励起波長を固定した定常光での蛍光スペクトルを測定する方法により行われてきた。最近では、蛍光特性の全体像を把握できる3次元励起蛍光分光光度法が溶存腐植物質の特性評価手法として用いられ始めた(Coble 1996; Mobed et al. 1996; 長尾ら 1997)。3次元励起蛍光スペクトルは、サンプル間の僅かな検出ピーク位置、及びスペクトル形状の違いを見分けることが可能である。そのため、腐植物質のキャラクタリゼーションとして有効な測定手法である。長尾ら(1997)は、天然水中の腐植物質の濃縮操作を行わずに直接測定する場合の天然水への適用範囲(pH、イオン強度、腐植物質濃度)を検討した。また、淀川と久慈川河

川水に適用し、上流から下流にかけての溶存腐植物質の蛍光特性が異なることを明らかにした(鈴木ら 1997,1998)。

河川水試料の測定結果の1例として、琵琶湖を水源として都市域を流れる淀川、比較的に天然環境が維持され、褐色森林土地域を流れる久慈川、及び湿地帯を流れるサハン川河川水の3次元励起蛍光スペクトルを図3に示す(Nagao et al. 1998a; 長尾 2003)。淀川河川水には励起波長/蛍光波長 = 280nm/340nm 付近にタンパク質様物質のピークが検出され、淀川、久慈川及びサハン川河川水には、励起波長/蛍光波長 = 320nm/430nm にフルボ酸に相当するピークが検出される。また、サハン川河川水には、励起波長/蛍光波長 = 300nm/430nm、330nm/460nm、360nm/460nm にもフルボ酸に相当するピークが存在する。このような3次元励起蛍光スペクトルの特徴の違いは、河川流域から河川へ供給される腐植物質の特徴の違いを反映していると考えられる。

2) 高速液体サイズ排除クロマトグラフィー

有機物の分子サイズ分布は、天然水中の溶存有機物の物理化学的な特徴を理解する上において重要な検討項目の1つである。溶存腐植物質の分子サイズ分布は、流域の植生、機構、土壌等により異なり、微量金属元素との錯形成の支配因子の1つと考えられている(Thurman 1985; Hessen and Tranvik 1998; Nagao et al. 2003a)。

溶存有機物の分子量及び分子サイズ分布の測定には、サイズ排除クロマトグラフィーが広範に用いられている。この方法の利点は、分子サイズとその分布を測定できる点にあり、特に腐植物質のような多分散性の有機物の測定に適している。溶存腐植物質の分子サイズ分布は、通常、樹脂等により分離精製した腐植物質を溶液に溶解し、pH、イオン強度、腐植物質濃度を調整した試料に関して測定していた。

最近では、濃縮等の前処理を行わずに、ろ過し

た天然水試料をサイズ排除カラムに直接注入し、天然水中の腐植物質の分子サイズ分布を高速液体サイズ排除クロマトグラフィーにより測定し、その特徴を解析する簡易測定法が検討されている。Nagao and Senoo (1996)は、紫外検出高速液体サイズ排除クロマトグラフィーによる簡易測定法を様々な環境にある天然水中の腐植物質の特性分析として適用するため、腐植物質濃度、pH 及びイオン強度の影響を調べ、pH5-9、腐植物質濃度0.5-100mg/lの陸水及び海水試料には適用可能であることを明らかにした。また、Nagao et al.(2003b)は、蛍光検出高速液体サイズ排除クロマトグラフィーの簡易測定法としての妥当性を、分離精製した腐植物質、河川水を用いて検討した。さらに、紫外検出及び蛍光検出あるいは有機炭素検出を組み合わせ、河川水中の溶存有機物の特性を調べる試みも行われている(Huber and Frimmel 1991; Huber et al. 1994; Nagao et al. 1998b; Nagao and Muraoka 2001)。

図の4, 5には、それぞれ久慈川河川水から分離精製した腐植物質とGF/Fフィルターによりろ過した河川水の紫外検出と蛍光検出(溶存フルボ酸に相当する検出波長)の測定結果を示した(長尾ら 2001; Nagao et al. 2003b)。両者とも、分離精製した腐植物質と河川水のクロマトグラムの特徴はほぼ一致したことから、検出されるクロマトグラムの大部分が腐植物質により構成されていると考えることが出来る。このことは、樹脂等により分離精製した久慈川腐植物質の95%がフルボ酸であることと調和的である。この方法を久慈川に適用し、久慈川とその支流で腐植物質の特徴が異なることが明らかとなった。

まとめ

高分子電解質の有機酸であり、多価の原子価の微量金属元素との錯形成能が高い腐植物質は、鉄イオンと錯体を形成し、陸域から海洋への鉄イオンのキャリアーとして作用するため、沿岸海域の生物生産に重要な役割を演じていると考えられている。腐

植物質の役割を定量的に評価し、生物生産を増殖させる機構を明らかにするためには、陸域から河川を經由して供給される腐植物質の量、構造・官能基特性と鉄との錯体特性を検討する必要がある。そのためには、腐植物質の濃度と特性の両方を簡易に測定できる分析方法が必要不可欠である。本報告で述べた3次元励起蛍光分光光度法と高速液体サイズ排除クロマトグラフィーは、腐植物質の濃度、特性及び動態解明のための簡易分析法である。腐植物質の河川水からの分離精製操作を行わないことから、少量の試料(〜10ml)で比較的短時間に多くの試料を分析することが可能である。実際の河川水については、久慈川や淀川河川水に適用し、その有効性が実証されている。今後は、沿岸海水試料にこれらの方法を適用し、その有効性および問題点を整理する必要がある。

引用文献

- Behrenfeld M J, Bale A J, Kolber Z S, Aiken J, Falkowski P G (1996) *Nature* **383**: 508-511.
- Coble P G (1996) *Mar. Chem.* **51**: 325-346 (1996).
- Hessen D O, Tranvik L J (eds.) (1998) *Aquatic Humic Substances*. Springer, Berlin, p.346.
- Huber S, Frimmel F H (1991) *Anal. Chem.* **63**: 2122-2130.
- Huber S A, Balz A, Frimmel F H (1994) *Fresenius J. Anal. Chem.* **350**: 496-503.
- Hunter K A (1983) *Geochim. Cosmochim. Acta* **62**: 613-631.
- 石渡良志 (1995) *日本水環境学会誌* **18**: 251.
- Kim J I (1986) *Handbook on the Physics and Chemistry of the Actinides* (eds. A J Freeman and C Keller), Elsevier, Amsterdam, p.413-455.
- Malcolm R L (1990) *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings* (eds. P MacCarthy et al.), ASAI & SSSA, Madison,

- p.13-35.
- Martin J H, Gordon R M, Fitzwaters S E (1990) Nature **345**: 156-158.
- 松永勝彦 (1993) 森が消えれば海も死ぬ. 講談社 p.190.
- Mobed J J, Hemmingsen S L, Autry J L, McGown L B(1996) Environ. Sci. Technol. **30**: 3061-3065.
- 長尾誠也(2003) 日本土壤肥科学雑誌 **74**: 371-376.
- Nagao S, Senoo M (1996) *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments: Characterization, Transformations and Interactions* (eds. C E Clapp et al.), IHSS, pp.71-79.
- 長尾誠也、鈴木康弘、中口譲、妹尾宗明、平木敬三 (1997) 分析化学 **46**: 335-342.
- Nagao S, Matsunaga T, Fujitake N, Amano H (1998a) *Distribution and Speciation of Radionuclides in the Environment* (eds. J. Inaba et al.), IES, pp.162-168
- Nagao S, Suzuki Y, Matsunaga T, Amano H (1998b) *The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection* (eds. J Drozd et al.), IHSS, pp.611-616.
- 長尾誠也、松永武、鈴木康弘、平木敬三 (2001)地球化学 **35**: 107-120.
- Nagao S, Muraoka S (2001) *Understanding and Managing Organic Matter in Soils, Sediments, and Waters* (eds. R.S,Swift and K.M.Spark), IHSS, pp.407-414.
- Nagao S, Fujitake N, Kodama H, Yamazawa H (2003a) J. Radioanal. Nucl. Chem. **255**: 459-464.
- Nagao S, Matsunaga T, Suzuki Y, Ueno T, Amano H (2003b) Water Res. (in press).
- 西岡純、津旨大輔、芳村毅、武田重信、工藤勲、津田敦 (2002) 2002年度日本海洋学会春季大会講演要旨集 p.238.
- Senesi N (1990) Anal. Chim. Acta **232**: 77-106.
- Senesi N, Miano T M, Provenzano M R, Brunett G (1991) Soil Sci. **152**: 259-271.
- Sholkovitz E R, Copland D (1981) Geochim. Cosmochim. Acta **45**: 181-189.
- Stevenson F J (1994) *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. 2nd edition*, Wiley-Interscience, New York, p.512.
- Stevenson F J, Fitch A (1986) *Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes* (eds. P. M. Huang and M. Schnitzer), SSSA, Madison, pp.29-58.
- 鈴木康弘、長尾誠也、中口譲、松永武、村岡進、平木敬三 (1997) 地球化学 **31**: 171-180.
- 鈴木康弘、中口譲、平木敬三、長尾誠也、工藤充雄、木村宗人 (1998) 地球化学 **32**: 21-30.
- Thurman E M (1985) *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, p.497.
- 津田ら(2002) 2002年度日本海洋学会春季大会講演要旨集 p.236.

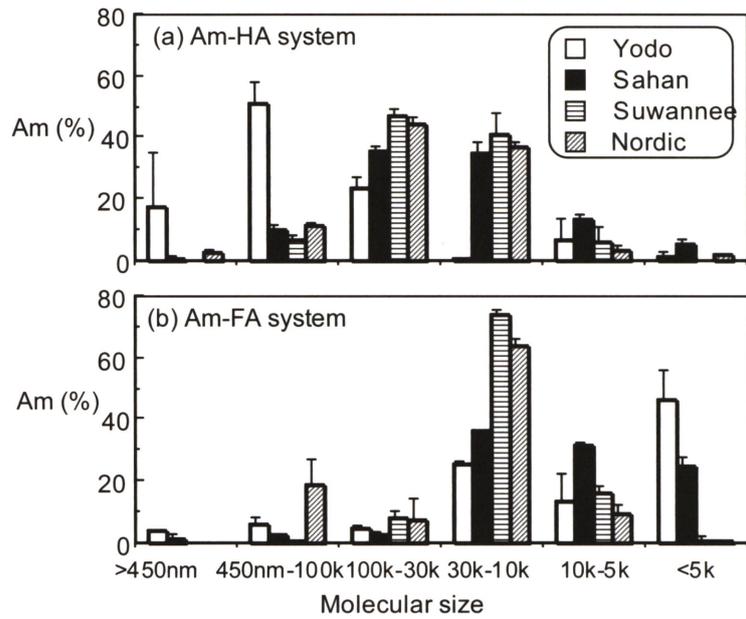


図1 河川水及び湖水から分離精製したフミン酸及びフルボ酸共存下におけるAm(III)の分子サイズ分布
 Yodo=淀川腐植物質, Sahan=サハン川腐植物質, Suwannee=スワニー川腐植物質(IHSS標準試料), Nordic=Nordic湖水腐植物質(IHSS標準試料)

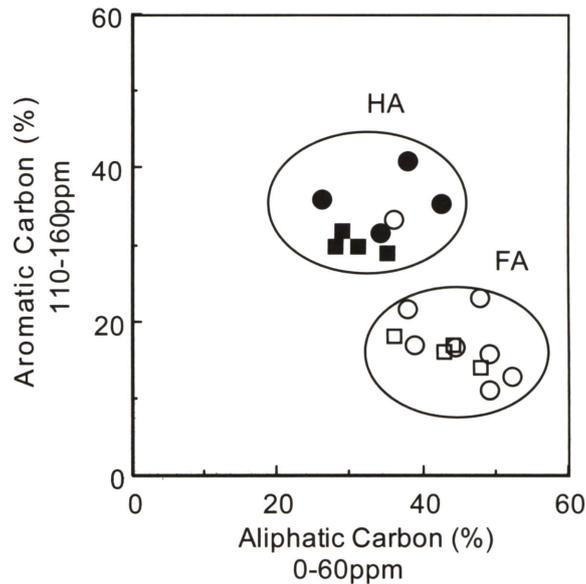


図2 河川水及び地下水腐植物質の脂肪族成分と芳香族成分の存在割合の関係
 ■河川水フミン酸、□河川水フルボ酸
 ●地下水フミン酸、○河川水フルボ酸

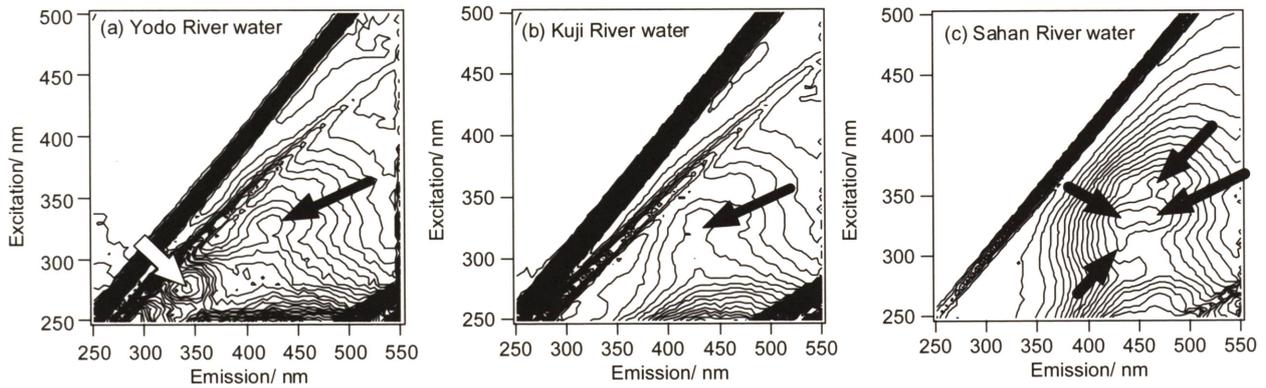


図3 淀川、久慈川及びサハン川河川水の3次元励起蛍光スペクトル
 河川水は、ガラスファイバーフィルターでろ過した試料について測定した。等高線間隔は、淀川河川水で16QSU、久慈川試料で8QSU、サハン川河川水では16QSUである。

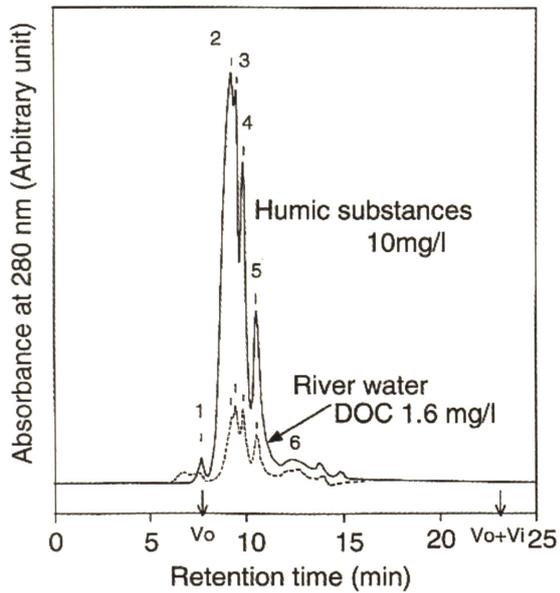


図4 久慈川腐植物質と河川水のクロマトグラム
 検出は紫外280nmで行った。

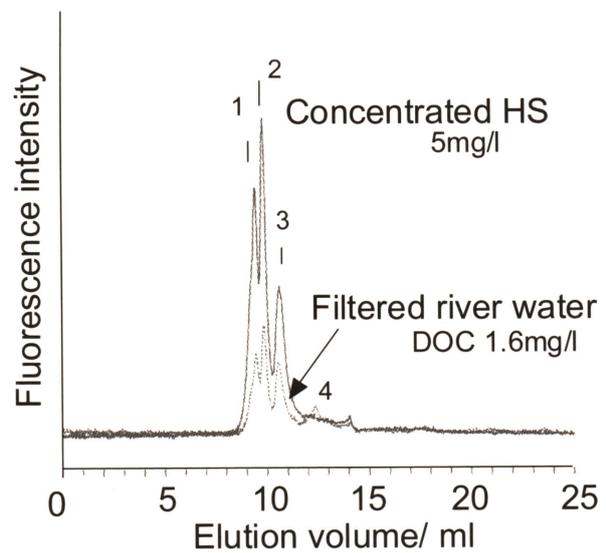


図5 久慈川腐植物質と河川水のクロマトグラム
 検出は励起波長/蛍光波長=320nm/430nmで行った。