

バイカル湖に溶存する有機物の 三次元励起蛍光測定・質量分析によるキャラクタリゼーション

○鈴木智代・杉山裕子・和田千弦・熊谷哲（兵庫県立・環境人間）、片野俊也（漢陽大）、中野伸一（愛媛大・農）、三田村緒佐武・松浦嘉樹（滋賀県立大・環境科学）、Drucker V.V（ロシア科学アカデミー・陸水研）、Fialkov V.A（ロシア科学アカデミー・バイカル博物館）、杉山雅人（京都大学 人間・環境研究科）

1. はじめに

世界最大の水深（1643m）と、貯水量（23000km³）を有するバイカル湖は、貧栄養湖であり、近年まで非常に高い透明度の水質を保ってきた。しかし最近では集水域の開発により、水系生態系の変化が観測され、富栄養化の進行が心配されている。

溶存有機物は、水中の有害化学物質の形態や安定性に強い影響を及ぼすだけでなく、バクテリアの主要エネルギー源であり、生態系をも支配する重要な因子である。その構成成分は、河川から流入する陸上植物起源の腐植物質や、湖内の生物活動によって生成する炭水化物やタンパク質、湖内プランクトン起源の腐植物質など、様々である。

本研究は、湖での陸起源溶存有機物や湖内自生性有機物の動態を知るため、溶存有機物の化学的特徴付けを行うことを目的とした。

2. 操作方法

2-1 サンプリングと試料の処理

2005年8月に、北湖バルグジン湾にて2大流入河川のひとつであるバルグジン川河口から沖合にかけて7地点（STA0～STA6）の表層水を採取した。またバイカル湖最深部（DEEP/最深深度 1600m）において5m～950mの鉛直試料を採取した。

2006年8月に、最大の流入河川であるセレンガ川河口から沖合にかけて7地点の表層水を採水した。また鉛直試料として南湖最深部 Drucker Point（最深深度 1400m）において0～1000mの鉛直試料を採水した。

採取した試料は予め1M HCl・1M HNO₃で洗浄した孔径0.2μmのヌクレポアフィルタにより濾過した。濾過試料はポリカーボネート保存瓶に冷凍保存して日本に持ち帰った後、解凍して溶存有機炭素（DOC）濃度測定を行った。

2-2 溶存有機物の分離・濃縮方法

物理的分離方法として、Millipore-Pellicon-2 mini Cassetteを用いた限外濾過を行った。試料は、5kDaのBio-max濾過膜によって濾過し、高分子量分画（>5kDa）、低分子量分画（<5kDa）に分画した。高分子量分画の濃縮倍率は5倍とした。

化学的濃縮方法として、Sep-Pack C18 カートリッジを用いた固相抽出を行った。濃塩酸を添加しpH2.2に調整した濾過試料200mlを、吸引しながら毎分3.0ml程度で通水し、C18固相抽出カートリッジに担持させた。その後80%無蛍光メタノール10mlで溶離し、これを濃縮試料とした。

2-3 三次元励起蛍光スペクトル測定

各分画・濃縮試料を、日立F2500型分光蛍光光度計を用い、励起波長220～500nm、蛍光波長220～450nmの蛍光強度を測定した。サンプルの蛍光強度は、10μg l⁻¹の硫酸キニーネ（Ex/Em:345/450nm、0.1M硫酸溶液）を10QSUとして規格化した。

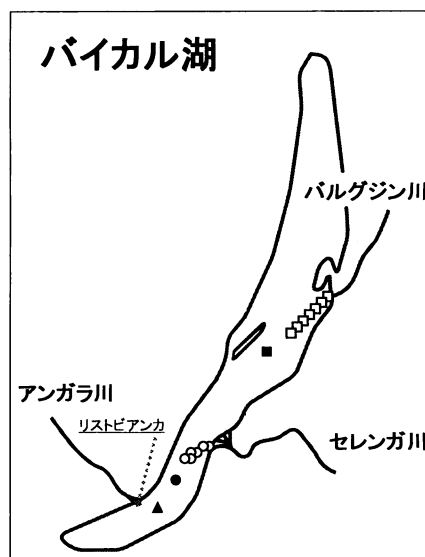


図1 バイカル湖採水地点[※]

※ □はバルグジン湾の表層試料採水地点、■はバイカル湖最深部 DEEP、○はセレンガ川沖の表層試料採水地点、●はセレンガ川リストビアンカ、▲は南湖最深部 Drucker Point を、それぞれ表している。

2-4 LC/MS 分析

濃縮試料は、逆相 HPLC-MS により分析した。測定条件は以下のとおりである。

表 1 LC/MS 分析条件

HPLC	Shimadzu, SPD-10A		
分析モード	Gradient	移動相 A	水+1mM 酢酸アンモニウム
検出波長	254 nm	移動相 B	100%アセトニトリル
カラム	Atlantis C18 2.1×150mm 3μm		
MS	Shimadzu, LCMS-2010		
イオン化モード	ESI 法	イオンモード	Negative

グラジエント条件:0分(B: 0%)→5分(B: 15%)→10分(B: 30%)→12分(B: 100%)→30分(B: 100%)

3. 結果と考察

バイカル湖最深部において、DOC 濃度は 1.24~1.43 mgCl⁻¹ を示し、鉛直方向の大きな変化は見られなかった。南湖最深部では水深 0~20m で 1.30~1.47 mgCl⁻¹、50m 以深で 1.08~1.22 mgCl⁻¹ の濃度を示した。バルグジン湾表層においての DOC 濃度は河口 (STA0) で 4.22mgCl⁻¹ を示し、沖合に向かうにつれて減少し、STA6 では 2.01mgCl⁻¹ であった。河川流入域表層水試料の DOC と EC が相関関係を示したことより、河川から流入する外来性の有機物がバイカル湖表層水の DOC 濃度を支配していることが判明した。

三次元励起蛍光スペクトル測定の結果、2種のタンパク質様ピークと、2箇所腐植物質様ピークが検出された。腐植物質様蛍光ピークと DOC が正の相関を示したことから、陸上起源の腐植物質が、表層水 DOC を支配していることが示唆された。

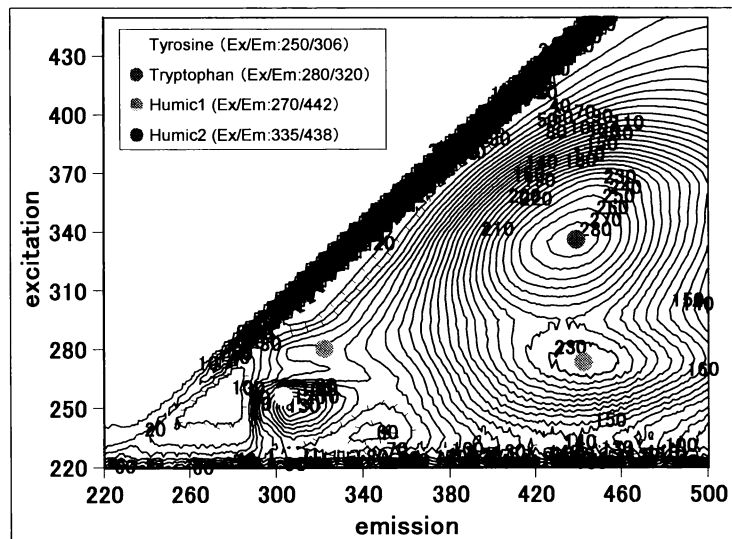


図2 バルグジン湾表層 STA0 C18固相抽出による濃縮試料の三次元励起蛍光スペクトル

LC/MS の結果からは、親水性物質ピーク 1つ (A) と疎水性有機物ピーク 2つ (B,C) がすべての試料で観測された。疎水性物質ピーク C は、バルグジン川河口 (STA0) で、バルグジン湾表層 STA1、STA6 の試料よりも高い紫外吸光度を示し、河川から流入してきた腐植性の有機物がこのピークに含まれていると考えられた。

最深部における各 MS スペクトルでは、底層(水深 950m)で低分子量の分子イオンピークが多く検出され、表層(5m)では高分子量のものが多く検出された。バルグジン湾では、沖合(STA6)で低分子量の分子イオンピークが、河口部(STA0)で高分子量のものが多く検出された。

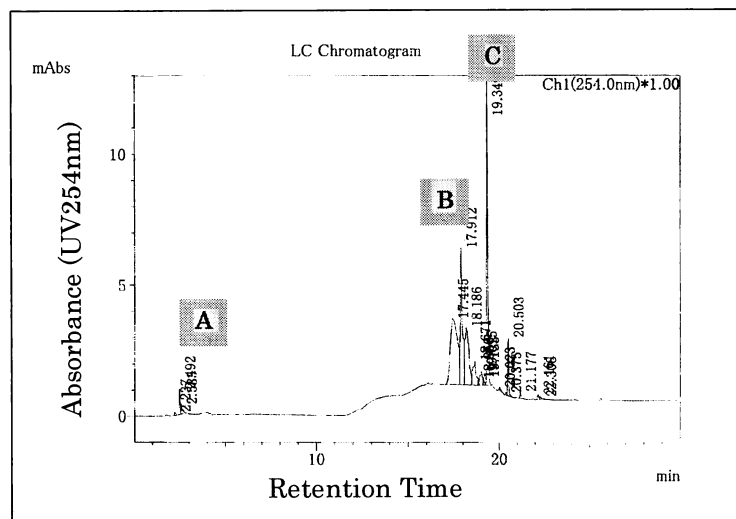


図3 バルグジン湾表層 STA0 C18固相抽出による濃縮試料の LC クロマトグラム