

7. 紫外線が琵琶湖の水質へ及ぼす影響評価

紫外線環境と溶存有機物および光反応の検討

早川和秀・杉山裕子¹⁾・和田千弦¹⁾・鈴木智代¹⁾²⁾・
丸尾雅啓³⁾・楯敬介³⁾・松本真理子³⁾・大田啓一³⁾

要約

琵琶湖水中の紫外線及び可視光を1年半にわたり毎月計測した。紫外線が表層光の1%になる深度は、沖帯でUV-Aで4.0-5.5m、UV-Bで2.7-3.6mであった。また、水中の紫外線及び可視光の透過性は、懸濁粒子と溶存有機物によるものであり、それらによって全観測点における水中光減衰係数の変動の70%以上を説明できた。懸濁粒子と溶存有機物の減衰係数に対する寄与率は、紫外吸収溶存有機物が紫外線313nmの減衰要因の63%を占め、濁度が可視光550nmの減衰要因の74%を占めた。

紫外線吸収作用の大きい溶存有機物の分画と化学的同定を試みたところ、高速液体クロマトグラフィー/質量分析器(LC/MS)により分離された親水性有機物と疎水性有機物のそれぞれの分画で254nmにおける紫外吸収の大きいピークが観測された。前者は水深が増すと消滅し、表層で生産されている有機物であると推測された。一方、後者は水深が増すとつれ増大したことから、底層で生産されているリグニンや腐植物質に関連する物質と推定された。

紫外線の光反応に関して、鉄イオンの反応を検討した。好氣的環境の水圏では極微量と考えられてきたFe(II)について、夏季の琵琶湖北湖の表層水で測定したところ、水深1m以浅では下層に比べ、Fe(II)が明らかに高濃度で確認された。湖水を用いた光照射実験によって、日射量に応じたFe(II)の濃度変化が確認され、表層水での腐植物質の濃度低下と合わせて考えると、有機物を介する間接的な光還元反応によってFe(II)の還元が起きていることが示唆された。

1. はじめに

本研究プロジェクトでは、地球規模の環境変動の一つとして、大気オゾン層の減少によって懸念される紫外線増加が琵琶湖へ及ぼす影響について総合的に研究を展開している。現状での紫外線環境について科学的知見を集約しながら理解を深め、一方で観測や実験から琵琶湖の紫外線照射の実態や水質などへの影響について検討している。プロジェクトでは大きく3つの取組みとして、1) 湖水中の紫外線データの収集と光環境モデルの構築、2) 湖水溶存有機物と光反応との関係性の検討、3) 湖内での微量有害有機化学物質の光分解評価を行っている。本稿では、昨年度までに成果が得られたいくつかの取り組みについて報告する。全体総括および2章は早川が担当し、3章及び4章は、それぞれ兵庫県立大学、滋賀県立大学との共同研究により実施され、3章は杉山、4章は丸尾が主に執筆を担当した。

2. 水中紫外線量の測定

2.1 はじめに

水中での紫外線は、水分子、懸濁粒子（例えば植物プランクトンや土壌粒子など）、溶存物質（その多くは有機物）によって吸収、散乱するため、水中で紫外線が到達す

る深度は、それらの物質の存在量によって変動する。したがって、湖沼への紫外線の影響は、地上へ到達する紫外線量よりも湖水の水質に依存するといえる。琵琶湖では、短期での琵琶湖水中を透過する紫外線量はすでに報告があるものの(Vincent et al., 2001, Belzile et al., 2002)、整理された形での紫外線の水中透過性や長期での継続データがない。オゾン層減少による紫外線増加は長期的な曝露を想定するため、長期的な観点からみた水質や生態系への影響を検討することが必要である。そこで、本研究では、琵琶湖水中の紫外線量を継続的に調査し、紫外線と琵琶湖水質との関係について検討し、紫外線増加による将来の水質変化の予測につながる基礎的な情報を収集整理した。

2.2 観測方法

観測は、2005年4月から2006年7月にかけて、月1回の定期観測を行った。観測点は図2-1に示した。観測項目は、水温、電気伝導度、水中紫外線量、空中紫外線量、濁度、懸濁粒子濃度、懸濁態有機炭素濃度、溶存態有機炭素濃度、有色有機物濃度（紫外線吸光度）、蛍光強度、クロロフィル濃度とした。一般物理項目は、水温プロファイラー(F-probe及びOcean Seven)により、紫外線量と濁度は

1) 兵庫県立大学人間環境学部、 2) 北海道大学大学院環境科学院、 3) 滋賀県立大学環境科学部

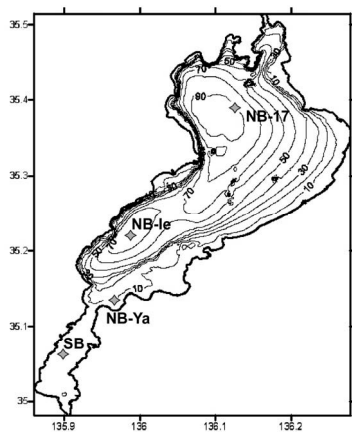


図2-1 観測地点

Biospherical Instruments社製 水中紫外線放射計PUV-545/546、その他の項目はニスキン採水器により湖水を採水して研究室に持ち帰り分析を行った。懸濁粒子濃度は試水をガラス繊維フィルターWhatman GF/Fでろ過後に重量測定で、懸濁態有機炭素濃度はそのフィルター試料をFlash EA1112元素分析計で、溶存態有機炭素濃度は、GF/Fろ液を島津製TOC-V全有機炭素計で、有色有機物濃度（CDOM、または紫外線吸光度）は日立U-2001紫外・可視光吸光度計で、蛍光強度は日立F-4500蛍光分光計で、クロロフィルa濃度はアセトン-ジメチルホルムスルホキシドでフィルター試料からクロロフィルを抽出した後、ターナー蛍光計TU-10Aで分析を行った。

2.3 水中紫外線量の減衰

水中紫外線の鉛直分布及び濁度、水温の鉛直分布の一例を図2-2、2-3に示す。水中紫外線量UV313nm、340nmは、水深とともに指数関数的に減衰する分布であり、表層から数mまで到達した。図中の 10^{-2} における深度が1%光到達深度を示すが、紫外線340nmで5m程度であり、可視光（PAR）は紫外線よりも水中での透過性がよく、14m付近まで届いていた。今津沖中央では、成層期に水温躍層付近に懸濁粒子が集中する分布がたびたび見られたが、それによる紫外線や可視光の減衰は数%程度であり、大きな影響はなかった。一方、野洲川河口沖では、1%光到達深度は紫外線340nmについて3m程度で、可視光（PAR）は水深9mの湖底まで届いていた。水湖底付近には高濁度層がたびたび観測されたが、光環境に影響を与えることはなかった。

水中の紫外線と可視光が減衰する様子は、次のモデル式によって表される（Hargreaves, 2003）。

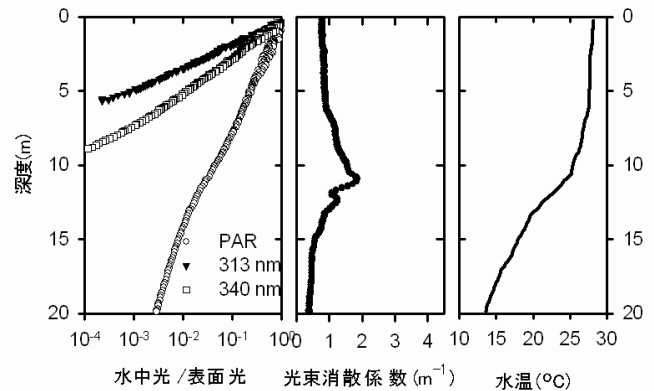


図2-2 北湖今津沖中央 9月における水中紫外線及び可視光の減衰（左：紫外線及び可視光の鉛直分布、中央：光束消散係数[濁度を反映]、右：水温分布）

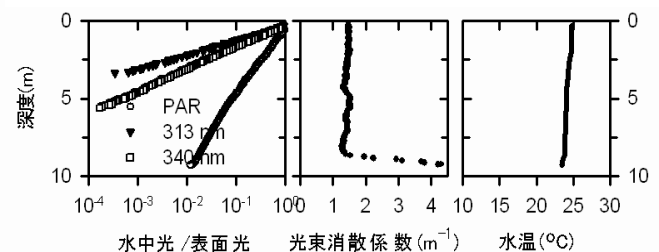


図2-3 野洲川河口沖9月における水中紫外線及び可視光の減衰（グラフの説明は図2-2に同じ）

$$I = I_0 \exp(-kz)$$

I : 水中の光強度、 I_0 : 水面での光強度、

k : 減衰係数、 z : 水深

各観測点で得られた減衰係数 k を図2-4に示した。北湖の今津沖中央、和邇沖は、沖帯の観測点であり、これらの場所では紫外線（313、340nm）の減衰係数はあまり変動しなかった。すなわち、水中紫外線の減衰は季節によらず一定であった。観測期間を通して紫外線が表層光の1%になる深度は、UV-Aで4.0-5.5m、UV-Bで2.7-3.6mであった。

可視光（443、550nm、PAR）は植物プランクトン現存量が増加する時期に減衰が強くなる（ k 値が高くなる）傾向が見られた。浅水域である野洲川河口沖、南湖中央では、紫外線、可視光ともに経時的に変動した。特に野洲川河口沖の2006年4月から6月にかけて減衰が強くなることが観察された。この原因については後述する。野洲川河口沖での観測期間を通しての1%光到達深度は、UV-Aで1.2-4.6m、UV-Bで0.8-3.5mであった。

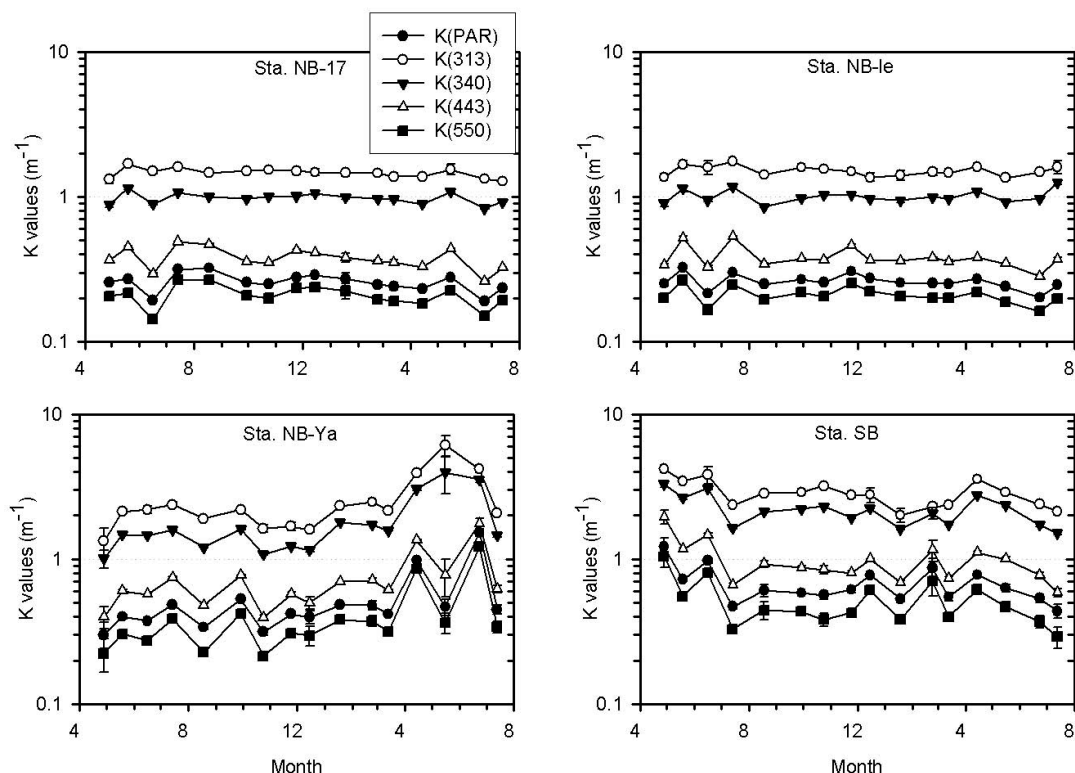


図2-4 4観測点における紫外線と可視光減衰係数の変動

(NB-17: 今津沖中央、NB-le: 和邇沖、NB-Ya: 野洲川河口沖、SB: 南湖中央、場所は地図参照、K値: それぞれの波長(カッコ内の数値nm)での減衰係数、PAR: 可視光400-700nm)

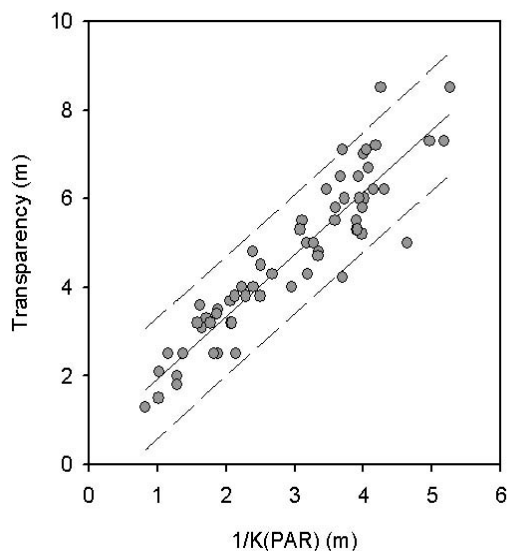


図2-5 K(PAR)と透明度の関係
(実線は回帰直線、破線は回帰に基づく95%信頼区間)

2.4 水質項目と光環境の関係

水中での紫外線が減衰する主な要因は、1) 水分子による吸収、散乱、2) 懸濁粒子による吸収、反射、散乱、

3) 溶存態有機物による吸収、散乱が理論上考えられている。まず、光学的パラメータを示す水質項目について観測結果より整理した。

まず、PUVの測定と同時にを行った透明度の測定から、全観測での透明度とPARの関係について調べた(図2-5)。透明度の測定では、PUVの測定に比べ、波面による透視誤差や測定者による誤差がある。両者の比較から透明度の測定による誤差がわかる。図2-5に見られるように透明度とK(PAR)の関係性は比例関係が見られるが、誤差として透明度で2m程度の幅がある。

次に、懸濁粒子の性質について検討した。全観測でのフィルター重量から求めた濁度(TSS)と吸光度660nmより求めた濁度(Turbidity)を比較した(図2-6)。TSSは光学的に求めた値と比例関係が見られ、重量で求めた濁度を光学的に換算することが可能であることが明らかとなった。ただし、ある程度の誤差幅があり、濁度の変動が狭い範囲(例えば沖帯のみ)では、この関係を適用できないことがある。また、濁度とクロロフィルa濃度の関係を見ると、沖帯では濁度とクロロフィルa濃度の間に比例関係が見られた。沖帯の濁度の増減は植物プランクトンの増減とよい相関がある。しかし、沿岸帯(浅水域)では両者に比例関係は見られず、濁度の上昇は植物プランクトンと

関係がない場合がある。

次に溶存有機物の性質について検討した。溶存有機物は量的には溶存有機炭素濃度DOCで表すことができるが、特に紫外線を吸収する有機物について着目するには、紫外吸収スペクトルの強度から評価する方法がある。琵琶湖水中の溶存物質の紫外吸収スペクトルを図2-7に示した。紫外吸収スペクトルは図2-7に見られるように短波長側へ指数的に大きくなるとともに、250-300nm付近に極大が見られた。この特徴は全観測点で類似していた。この紫外吸収は溶存有機物によるものであり、この部分をChromophoric Dissolved Organic Matter (CDOM) として、見かけ上の物質として取り扱う。本研究では、320nmにおける吸光係数を次式により求め、強度を見かけ上の物質濃度 $a_{CDOM}(320)$ として取り扱った。

$$a(\lambda) = 2.303 A(\lambda)/l$$

$$a_{CDOM}(320) = a(\lambda_0) \exp(-S(320 - \lambda_0))$$

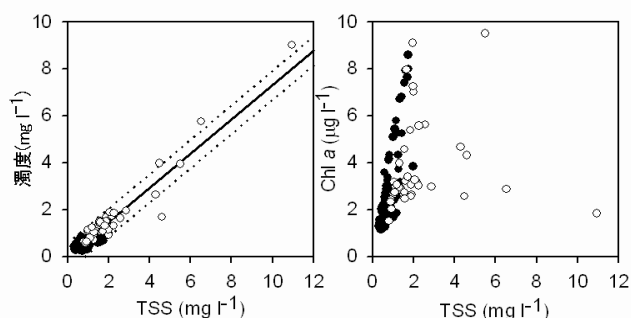


図2-6 [左] 濁度重量濃度TSSと光学的濁度Turbidityの関係(黒丸は沖帯データ、白丸は沿岸帯データ、実線は回帰直線、破線は回帰に基づく95%信頼区間)

[右] 濁度重量濃度TSSとクロロフィルa濃度Chl.aの関係(黒丸は沖帯データ、白丸は沿岸帯データ)

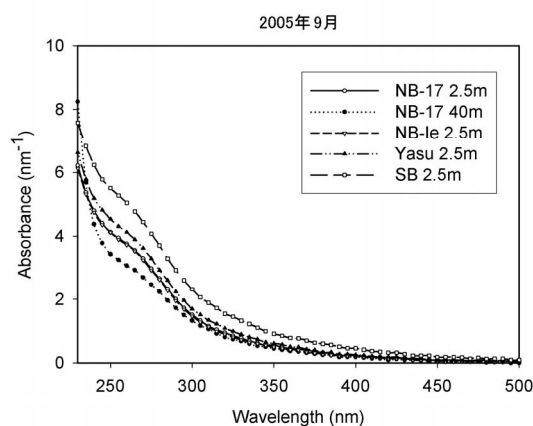


図2-7 湖水ろ液の紫外吸収スペクトル

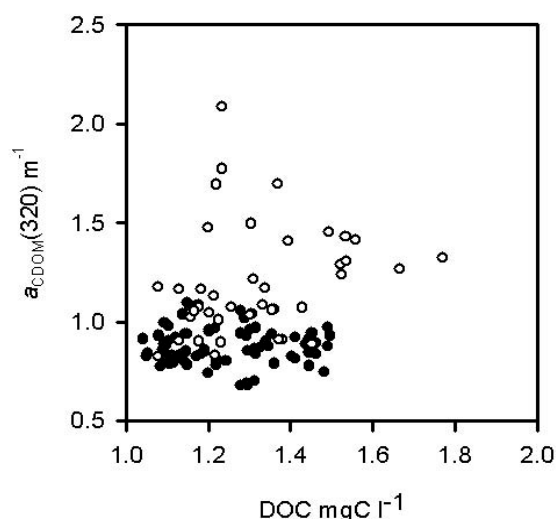


図2-8 溶存有機炭素DOCと紫外吸収溶存有機物 $a_{CDOM}(320)$ (黒丸は沖帯データ、白丸は沿岸帯データ)

$A(\lambda)$ は吸光度であり、 l はセル長、 λ は波長、 S は320-450 nm範囲での吸収スペクトルの傾きであり、 λ_0 は任意の波長である(Laurion et al., 1997)。

DOCと $a_{CDOM}(320)$ の関係を図2-8に示した。両者の間には、沖帯、沿岸帯の試料にかかわらず、相関関係は見られない。したがって、琵琶湖では、紫外吸収する溶存有機物は、溶存有機炭素濃度と関係がないといえる。

2.5 紫外線減衰の要因

さて、以上のような情報をふまえ、水中紫外線の減衰要因について考察するため、水中紫外線観測時の各種水質項目を図2-9に示した。北湖今津沖中央における水中の紫外線減衰係数(図2-4)と濁度他各項目を比較すると、クロロフィルa濃度の増加による濁度の増加、そして可視光での減衰係数の増大があることがわかる。紫外吸収溶存有機物は観測期間中、変動に乏しく、それは紫外線の減衰係数の変動と似ている。野洲川河口沖における紫外線減衰係数と各項目の比較を行うと、野洲川河口ではクロロフィルa濃度の増加をともなわない濁度の増加があることがわかる。また、可視光での減衰係数の増加は濁度の変動に似ていること、紫外線減衰係数は2006年4月から6月にかけて増大があり、紫外吸収溶存有機物も同期間で高いことがわかる。2006年4月、5月の観測は、河川上流での代掻き田植えの時期に重なっていること、6月は大雨の翌日であったことから、いずれも河川より供給された高濁度及び高濃度の紫外吸収溶存有機物が、水中の光環境に影響を及ぼしたものと考えられる。

紫外線と可視光の水中減衰係数と水質パラメータの

相関を調べた（表2-1）。紫外線減衰係数（K(313), K(340)）と紫外吸収溶存有機物 $a_{CDOM}(320)$ は、沖帯、浅水域いずれもよい相関があり、水中の紫外線透過性にはこれらの溶存有機物が関与していることが確認された。

一方、浅水域の可視光の減衰係数（K(443), K(550), K(PAR)）は、濁度TSSと強い相関を示し、浅水域の光透過

性が懸濁粒子に強く依存していることが表れた。また、溶存有機炭素DOCは、水中光減衰と関係がないことも確認された。

さらに全観測点における紫外線と可視光の減衰係数について、紫外吸収溶存有機物 $a_{CDOM}(320)$ と濁度TSSから重回帰分析を行い、それぞれの寄与について推定した

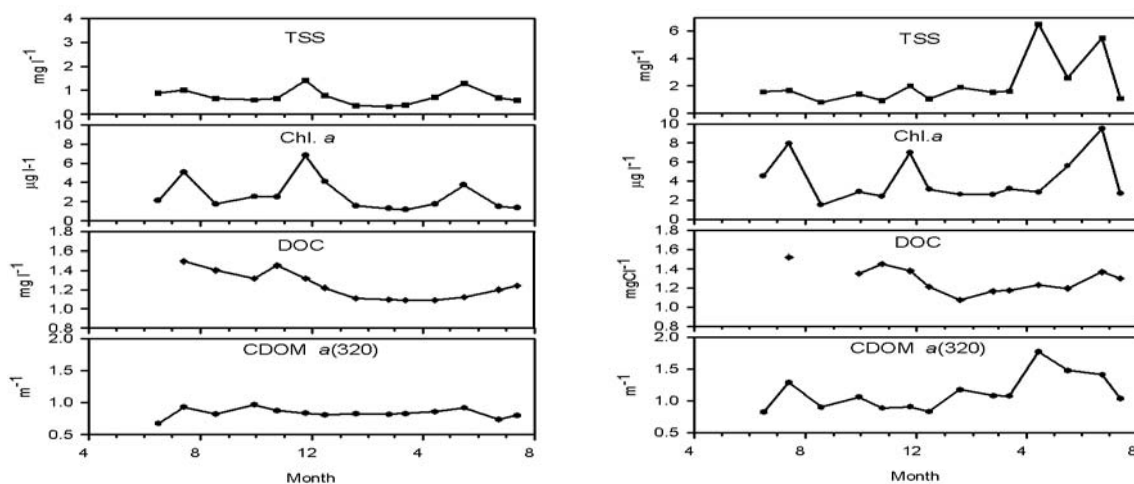


図2-9 [左] 北湖今津沖中央における濁度(TSS)、クロロフィル a 濃度(Chl. a)、溶存有機炭素濃度(DOC)、有色溶存有機物濃度($a(320)$)の変動、[右] 北湖野洲川河口沖における同項目

表 2-1 水中光減衰係数と水質パラメータとの相関

	沖帯 (NB-17, NB-1e)				浅水域 (NB-Ya, SB)			
	$a_{CDOM}(320)$	DOC	TSS	K(PAR)	$a_{CDOM}(320)$	DOC	TSS	K(PAR)
K(313)	0.65	0.60	0.43*	0.38	0.74	0.06**	0.61	0.53
K(340)	0.70	0.44*	0.34**	0.56	0.79	0.05**	0.73	0.72
K(443)	0.49	0.53	0.51	0.93	0.71	0.13**	0.81	0.97
K(550)	0.40*	0.51	0.40*	0.99	0.63	0.02**	0.84	0.99
K(PAR)	0.40*	0.47*	0.39*	-	0.64	0.07**	0.80	-

*: 統計上相関なし ($P < 0.05$, $n=28$), **: 統計上 相関なし ($P < 0.01$, $n=28$)

表 2-2 全観測点における水中光減衰係数の変動に対する重回帰

波長	式	r^2	標準部分相関係数	
			$a_{CDOM}(320)$	TSS
313 nm	$K(313) = 2.216 \cdot a_{CDOM}(320) + 0.212 \cdot TSS - 0.583$	0.74	0.625	0.287
340 nm	$Kd(340) = 1.613 \cdot a_{CDOM}(320) + 0.228 \cdot TSS - 0.555$	0.81	0.575	0.391
443 nm	$K(443) = 0.471 \cdot a_{CDOM}(320) + 0.152 \cdot TSS - 0.119$	0.81	0.377	0.585
550 nm	$K(550) = 0.127 \cdot a_{CDOM}(320) + 0.122 \cdot TSS + 0.018$	0.78	0.235	0.744
PAR	$K(PAR) = 0.243 \cdot a_{CDOM}(320) + 0.135 \cdot TSS - 0.028$	0.76	0.252	0.672

(表2-2)。全観測点における水中光減衰係数の変動は、紫外吸収溶存有機物 $a_{CDOM}(320)$ と濁度TSSから70%以上を説明できた。それぞれの減衰係数に対する寄与は標準部分相関係数で表され、紫外線では溶存有機物、可視光では濁度の影響が大きいことが明らかとなった。その寄与率は、紫外吸収溶存有機物が紫外線313nmの減衰要因のうちの63%を占め、濁度が可視光550nmの減衰要因のうちの74%を占めることがわかった。

2.6 まとめと今後の課題

これまでの結果は以下のとおりにまとめられる。

- 1) 水中の紫外線と可視光の減衰の様子は、文献等にみられるモデル式によって表されることを確認した。
- 2) 紫外線が表層光の1%になる深度は、北湖沖帯でUV-Aで4.0-5.5m、UV-Bで2.7-3.6mであった。浅水域である野洲川河口沖での観測期間を通しての1%光到達深度は、UV-Aで1.2-4.6m、UV-Bで0.8-3.5mであった。
- 3) 沖帯では水中紫外線の減衰は季節によらず一定であったが、沿岸帯では変動が見られた。
- 4) 透明度とK(PAR)の関係性は比例関係が見られたが、透明度で2m程度の誤差幅があった。
- 5) 重量で求めた濁度を光学的に換算することが可能であった。
- 6) 溶存有機物の紫外吸収スペクトルは短波長側へ指数的に大きくなるとともに、250-300nm付近に極大が見られた。
- 7) DOCと $a_{CDOM}(320)$ の間には、沖帯、沿岸帯の試料にかかわらず、相関関係は見られなかった。
- 8) 紫外線減衰係数(K(313), K(340))と紫外吸収溶存有機物 $a_{CDOM}(320)$ は、沖帯、浅水域いずれもよい相関があり、水中の紫外線透過性にはこれらの溶存有機物が関与していることが確認された。
- 9) 浅水域の可視光の減衰係数(K(443), K(550), K(PAR))は、濁度TSSと強い相関を示し、浅水域の光透過性が懸濁粒子に強く依存していることが表れた。
- 10) 溶存有機炭素は、水中光減衰と相関関係がないことが確認された。

今後は、さらに粒子の光吸収の詳細、溶存有機物の内容物の詳細、湖水中で光分解反応をする溶存有機物量について研究をすすめる。

3. 琵琶湖水中に溶存する紫外線吸収物質

3.1 はじめに

琵琶湖水中に溶存する有機物のなかには、紫外光を強く吸収するものが含まれている。例えば、ある種のアミノ酸群(Cockell and Knowland, 1999)や腐植物質(長尾誠也他, 2001)はそのような化合物として知られている。

これらの有機物群は、個々の化合物がたとえ低濃度であっても、湖水に入射する太陽エネルギーを調整することにより、湖水環境に対して大きな影響をもつと考えられる。今までに琵琶湖においてそれらの有機物群を同定した例は無く、その物質群の分布や起源についての情報は皆無である。しかしながら、その物質の起源や構造を探り、湖水中における分布の特徴を知るとは、紫外線が琵琶湖の今後に及ぼす影響を検討する上でたいへん重要である。

本研究課題の目的は、この紫外線吸収物質及び腐植物質を化学的に分画して同定することである。我々は、2005年度から行われている「紫外線が琵琶湖の水質へ及ぼす影響評価」プロジェクトの中で、アミノ酸類・腐植物質はともに C_{18} 固相抽出により選択的に吸着分離できることを確かめた(杉山裕子, 2006)。本研究ではこの成果に基づき、 C_{18} 固相抽出を濃縮分離法として用い、濃縮湖水溶存有機物試料を液体クロマトグラフィー-質量分析器(LC/MS)あるいは超高分解能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)によって分析した。LCの分離には C_{18} 逆相カラムを用い、UV検出器によるクロマトグラムを元に、紫外吸収の大きい有機物ピークの質量分析を行い、その結果とFT-ICRMS分析の結果より紫外線吸収有機物を同定することを試みた。

3.2 サンプリングと試料の処理

図3-1に採水地点を示す。試料の採取は、琵琶湖において2006年10月12日、北湖NA地点(水深 52.2 m) 水深0.5、1、2、5、7、10、15、20、25、30、40、50 m、流入河川である野洲川河口(Yasu)地点、南湖中央(SB)地点、それぞれ水深2.5mで行った。すべての湖水は、滋賀県琵琶湖環境科学研究センターの実験調査船「はっけん号」において、ニスキン採水器を用い採取した。採取した試料は、ポリカーボネート製採水瓶に保存し、氷冷下で同センター研究室に持ち帰った。使用したポリカーボネート瓶は、予め10%界面活性剤溶液(シカクリーン LX-III)と1M HClに、6時間、2時間と順に漬け置き、超純水で洗浄を行ったものを使用した。持ち帰った試料は、予め1M HCl-1M HNO_3 混酸で煮沸洗浄した孔径0.2 μm のヌクレポアフィルターでろ過した。ろ過試料は、次の測定まで4℃以下の冷暗所で保存した。

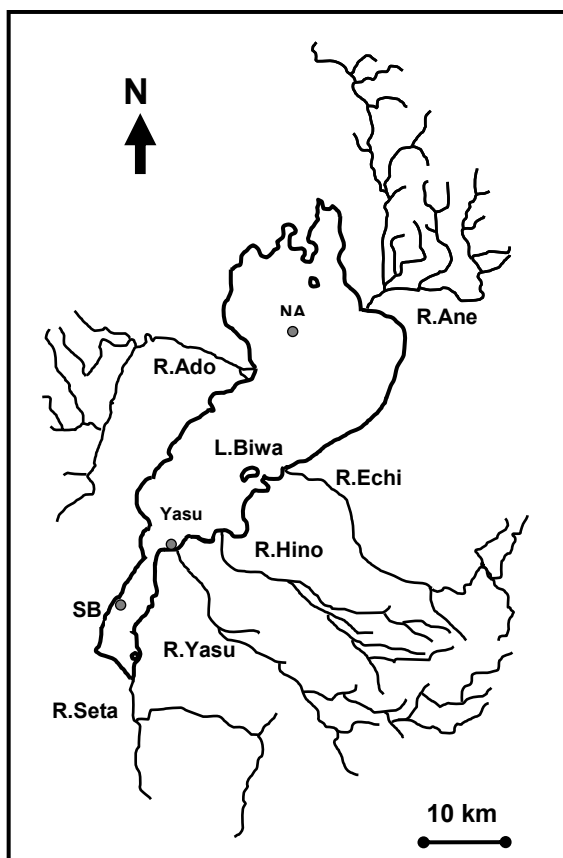


図3-1 試料採取地点

3.3 実験

ろ過試料のDOC濃度は、採取後直ちにSHIMADZU TOC-5000を用いて測定した。測定はバイアル1本当たり3回行い、その平均値を取った。変動係数が2%に収まらない場合には、最大5回測定した。検量線作成には、フタル酸水素カリウム(0、1、3、5 mgC/l)標準溶液を用いた。

ろ過試料の三次元励起蛍光測定には、HITACHI F-4500を用い、ホトマル電圧400V、スキャンスピード1200nm/min、励起側サンプリング間隔5nm、蛍光側サンプリング間隔2nmに設定し、励起波長220～450nm、蛍光波長220～500nmで蛍光強度を測定した。サンプルの蛍光強度は、10 μ g/l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。検量線作成には、硫酸キニーネ (0、10、20、50 ppb) 標準溶液を用いた。

C₁₈固相抽出には、C₁₈固相抽出ディスク(3M Empore High Performance Extraction Disk)を使用した。試料をディスクに担持させる前に、ディスクのコンディショニングを行った。コンディショニングは、3Mの推奨する方法に従い、以下の手順で行った。まず、ディスクに80%メタノールを10ml通した。そして、100%メタノール、超純水を10mlずつ通した。この作業を2回繰り返した。そして、ろ過試料10mlに濃塩酸を添加してpH2.2に調整し、C₁₈固

相抽出ディスクに担持させ、その後80%メタノール20mlにより溶離した。つづいて、窒素吹き付け濃縮により2mlになるまで濃縮を行った。

C₁₈固相抽出試料のLC/MS測定は以下の条件で行った。測定には、Shimadzu LCMS-2010 システムを用いた。LC分離カラムは、C₁₈逆相カラム(粒子径3 μ m, 2.1×150mm; Atlantis, Waters)を用いた。移動相には、pH5に調整した1mM 酢酸アンモニウム溶液 (A液)、100% アセトニトリル (B液)を用い、移動相組成を連続的に変化させるグラジエント溶離法で分離を行った。グラジエント条件を、表3-1に示す。試料注入量は10 μ l、カラム温度は40℃、流速0.2ml/minの条件で分離した。

表3-1 LCにおけるグラジエント件

min	% A	% B
2	100	0
10	85	15
13	70	30
15	0	100
30	0	100

検出器には、UV検出器(検出波長 254nm)および、質量分析器を接続して用いた。MS部のイオン化法として、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を用い、CDL温度250℃、ブロック温度200℃、検出器電圧1.8kV、ガス流量4.5l/minに設定し、負イオン化モードでマススペクトルを記録した。

また、LC/MS測定に用いたものと同じ試料をアメリカ合衆国Old Dominion University 所有の12テスラの超伝導マグネットを備えたFT-ICRMSにより分析した。測定はESIネガティブモードで行い、インフュージョン分析を行った。

3.4 2006年10月に採取した琵琶湖水試料の特徴

2006年10月12日に行った観測で得られたDOC濃度、クロロフィルa濃度および腐植様物質蛍光ピーク強度(Ex/Em 265/432)を表3-2に、NA地点におけるDOC濃度、クロロフィルa濃度および腐植様物質蛍光ピーク強度(Ex/Em 265/432)の鉛直分布を図3-2に示す。縦軸は深度(m)を示し、横軸はそれぞれ、DOC濃度(mgC/l)、クロロフィルa濃度(μ g/l)、腐植様物質蛍光ピーク強度(QSU)を示している。

NA地点において、DOC濃度は、表層で高値を示し、最大値は水深5mで1.32mgC/lであった。また、水温躍層である25mを境に減少(1.27mgC/l～1.00mgC/l)した。水温躍層以深ではDOC濃度は、ほぼ一定値(0.98～1.00mgC/l)を示した。

表3-2 2006年10月12日におけるDOC濃度, クロロフィルa濃度, 腐植様物質蛍光ピーク強度 (Ex/Em265/432) の鉛直変化

site	depth (m)	DOC (mg/L)	Chl.a (□g/l)	FA-like peak (QSU)
NA	0.5	1.29		37.7
	2.0		5.9	
	2.5	1.3		37.1
	4.0		6.7	
	5.0	1.32		37.1
	6.0		7.0	
	7.5	1.28		36.6
	8.0		6.7	
	10	1.3	8.1	36.7
	12		8.1	
	14		8.6	
	16		7.5	
	18		7.4	
	20	1.27	6.8	36.2
	22		7	
	24		5.4	
	26		2.7	
	28		2.4	
	30	1	2.4	35.2
	40	0.98	1.7	33.9
	50	1	1.0	31.6
Yasu	2.5	1.33		38.3
SB	2.5	1.37		39.6

このようなDOCの鉛直分布は、琵琶湖の他の地点でも、暖期には一般的に見られているものである(Sugiyama et al., 2004; 2005)。野洲川河口と南湖中央地点の表層水では、1.33、1.37mgC/lとNA地点表層水と比べ高値を示した。

クロロフィルa濃度は、アセトノーDMSO溶液でフィルター試料から色素を抽出した後、ターナー蛍光計 TU-10Aで測定された。NA地点におけるクロロフィルa濃度は、水深15m付近で最大値8.6μg/lを示し、水温躍層を境に劇的な減少(8.6～2.7μg/l)を示し、水温躍層以深ではほぼ一定(1.0～2.4μg/l)であった。

腐植様物質蛍光ピークは、すべての水域において1種類のみ(Ex/Em 265/432)観測された。NA地点については、

表層0.5mで最大値37.7QSUを示した。そして、深度が増すにつれて、底層50mまで緩やかな減少(31.6QSU)が見られた。野洲川河口や、南湖中央地点表層水においては、38.2～39.6QSUと、NA地点表層水に比較して、高い値を示した。また、クロロフィルa濃度が最大値を示した水深15mにのみ明瞭なタンパク様物質蛍光ピーク36.4QSU (Ex/Em265/328)が観測された。

以上の結果より、2006年10月NA地点におけるDOC濃度とクロロフィルa濃度の鉛直分布は、表層で高値を示し、水温躍層を境に劇的に減少し、水深が増すにつれて減少を示すという類似した変化を示すことが分かった。

一方腐植様物質蛍光ピーク強度は、表層で高い値(37.7QSU)を示し、そこから深度が増すにつれ徐々に減少して、底層で最低値(31.6QSU)に達するという分布を示し、水温躍層付近での急激な低下の傾向はみられなかった。また、クロロフィルa濃度が極大を示した水深15mにおいてのみタンパク様物質蛍光ピークが見られた。このタンパク様物質蛍光ピークは、水深15m付近に存在した植物プランクトンの活発な活動により生成された有機物によるものであると推測された。

これらのことから、NA地点における水温躍層以浅におけるDOC濃度増加は、腐植様物質でなく、現場の植物プランクトンによる生物活動の寄与が大きいと推測された。

3.5 LC/MSによる紫外線吸収物質の分離

2006年10月 NA地点水深25mの湖水のC₁₈固相抽出試料をLCで分離した結果、図3-3に示すようなクロマトグラムが得られた。縦軸はUV 254nmにおける紫外吸光度(mAbs)、横軸は保持時間を示している。LCクロマトグラムには、水深25mの試料では、保持時間1.7分、3.0分、9.8分、14.2分にピークが検出された。また、水深40mの試料では、保持時間2.0分、10.0分、14.2分に検出された。

水深25mの試料においては、親水性と疎水性有機物分画の両方で、紫外吸光度の大きいピークがみられた。最も早く溶離された親水性物質が含まれる保持時間1.7分のピークでは、ピーク高さが42.97を示し、疎水性物質が含まれる保持時間14.2分のピークは、ピーク高さ44.61を示した。

水深40mの試料においては、親水性分画に大きなピークは見られず、小さなピーク群も水深25mとは異なった保持時間に現れていることから、親水性の紫外線吸収有機物は、水深によって組成や濃度に大きな違いがあることが示唆された。一方保持時間14.2分のピークに代表される疎水性有機物は、水深40mで、水深25mの試料よりも大きいピーク高さを示し、底層付近で生産された腐植性の有機物の寄与が大きいと考えられた。

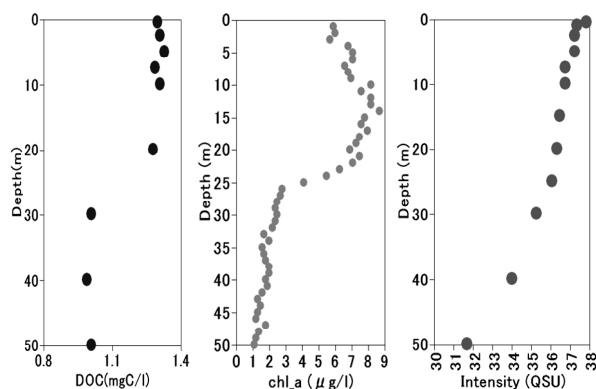


図3-2 NA地点におけるDOC濃度, クロロフィルa濃度, 腐植様物質蛍光ピーク強度 (Ex/Em 265/432) の鉛直変化

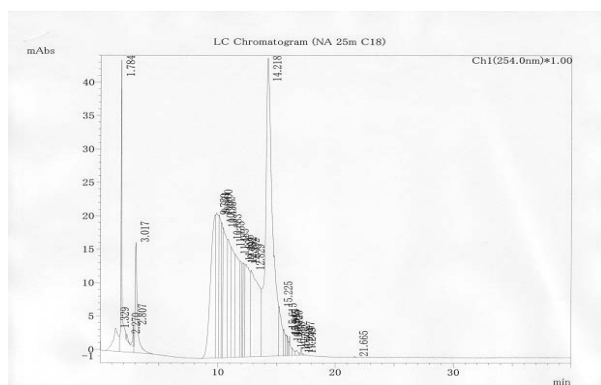


図3-3 NA地点水深25m試料のLCクロマトグラム

3.6 質量分析による紫外線吸収有機物の同定

NA地点における25m, 40mの水深で高い紫外吸光度を示した保持時間14.2分(水深25m)のピークのMSスペクトルを図3-4に示す。保持時間14.2分の疎水性物質のピークにおいては、多数の分子イオンピークが検出された。検出された分子イオンピークは、 m/z 値が150～750の範囲で山形に分布していた。また、 m/z 値が1000～2000の高分子量の範囲にも分子イオンピークが検出された。

一方、水深25mの試料において紫外吸光度が高い値を示した保持時間1.7分の親水性物質のピークのMSスペクトル(図3-5)では、分子イオンピークが m/z 値100～700の範囲に山形に分布し、 m/z 値1000～2000の範囲にも分子イオンピークが検出された。疎水性物質のピークのMSスペクトルと異なり、高分子量の範囲にもイオン強度の大きい分子イオンピークが見られた。これらのことから保持時間14.1分のピークに含まれる疎水性物質は、主に分子量800以下の多数の分子から構成されることが分かった。

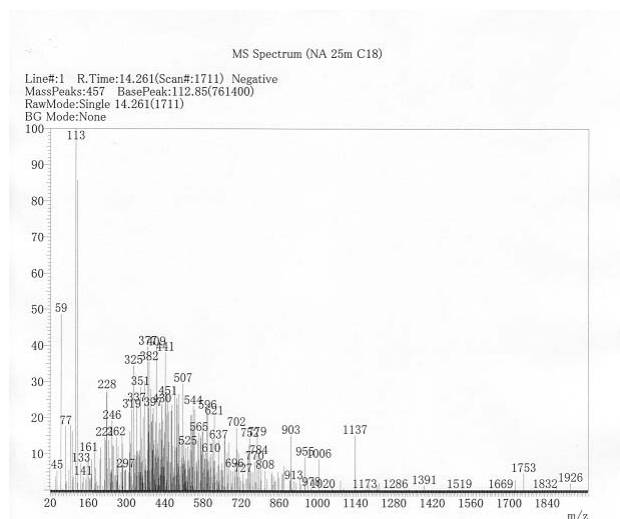


図3-4 NA地点水深25 m試料で得られた保持時間14.1分の紫外吸収ピークのMSスペクトル

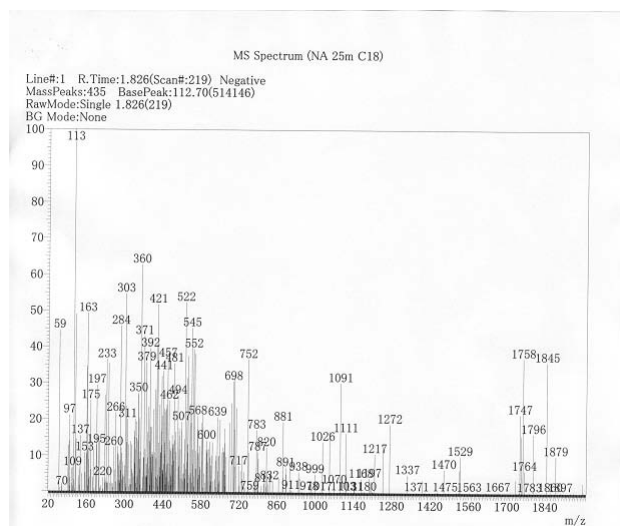


図3-5 NA地点水深25 m試料で得られた保持時間1.7分の紫外優秀ピークのMSスペクトル

また、親水性物質のピークについては、低分子量の範囲以外に、高分子量の範囲にも分子イオンピークが見られたことから、親水性物質には、高分子量の成分が多く含まれていると考えられた。

保持時間14.1分のピークに含まれた分子イオンピークのうちで、大きいイオン強度を示したもの(相対イオン強度>10%)をピックアップし、FT-ICRMSで得られた高分解能分析の結果と比較して物質の同定を試みた。LC/MS分析の結果得られたピークリストとFT-ICRMS分析の結果から得られたピークリストから、0.02%以内の誤差範囲(たとえば、 $m/z=500$ のピークについてであれば、 $m/z=500 \pm 0.1$ の範囲)の m/z を有するピークを同一の有機分子のものであると考えて、LC/MSで得られたピークの同定を行った。分子式の計算にはFT-ICRMSで得られた $m/$

表3-3 LC/MS(保持時間14.2分)で得られたピークの
同定結果

A m/z from LC/MS	B m/z from FTICRMS	Error of B from A (%)	Expected Formula	Error between observed and theoretical (%)
269.1	269.10303	0.0011	C13H17O6	-0.1
283.05	283.0823	0.0114	C13H15O7	-0.1
287.05	287.05608	0.0021	C15H11O6	-0.1
311.4	311.29554	0.0335	C20H39O2	0
319.05	319.08226	0.0101	C16H15O7	-0.2
337.15	337.16567	0.0046	C18H25O6	0
338	337.94065	0.0176		
341.15	341.13945	0.0031	C20H21O5	0
341.15	341.16057	0.0031	C17H25O7	0
345	345.06162	0.0179	C17H13O8	0.1
361.05	361.09289	0.0119	C18H17O8	0
365.1	365.12417	0.0066	C18H21O8	-0.1
377.05	377.12416	0.0197	C19H21O8	-0.1
379.25	379.24901	0.0003	C22H35O5	0
383.1	383.11359	0.0035	C21H19O7	-0.1
389.05	389.12414	0.0191	C20H21O8	-0.1
392.25	392.21592	0.0087	C16H34N5O2S2	-0.1
394.2	394.19514	0.0012	C15H32N5O3S2	-0.2
395.25	395.24382	0.0016	C22H35O6	-0.2
399.1	399.10852	0.0021	C21H19O8	-0.1
401.2	401.20031	0.0001	C20H33O6S1	-0.1
407.1	407.13458	0.0085	C20H23O9	-0.4
408.2	408.21069	0.0026	C16H34N5O3S2	-0.4
412.05	412.07405	0.0058	C14H22N1O9S2	-0.2
419.05	419.09825	0.0115	C20H19O10	-0.3
429.15	429.1554	0.0013	C23H25O8	-0.2
435.15	435.14478	0.0012	C25H23O7	-0.3
437.1	437.10855	0.0020		
439.25	439.24878	0.0003	C27H35O5	-0.5
441.05	441.11892	0.0156	C23H21O9	-0.4
447.15	447.16576	0.0035	C23H27O9	-0.7
453.1	453.11894	0.0042	C24H21O9	-0.4
455.15	455.15564	0.0012	C21H27O11	-0.5
463.15	463.16083	0.0023	C23H27O10	-0.3
464.1	464.16402	0.0138		
465.15	465.14004	0.0021	C22H25O11	-0.4
483.1	483.12918	0.0060		
493.15	493.17111	0.0043	C24H29O11	-0.9
500.35	500.27312	0.0154	C23H42N5O3S2	-0.7

z値を用い、分子式の決定にはNational High magnetic Laboratory (Florida, USA)によって開発されたMolecular Formula Calc v. 1.0 ©NHMFLを使用した。結果を表3-3に示す。

LC/MSの結果からピックアップされた分子イオンピークは119本であったが、このうちFT-ICRMSで得られたピークと0.02%以内の誤差範囲に収まったものは39本であり、そのうち35本のピークについて1ppm以内の精度で分子式を予想することができた。

予想された分子式からは、炭素数13～25、水素数1139、酸素2～11を有する有機物が紫外吸収の大きい14.2分のピークに含まれていることがわかった。水素／炭素は多くの分子で1～1.5の範囲、酸素／炭素は0.2～0.4の範囲であり、天然有機物ではリグニンや腐植物質に類似した物質が主な構成物質である(Mopper et al., 2007)ことが推測された。

4. 琵琶湖水中のFe(Ⅱ)鉛直分布と光反応の影響

4.1 はじめに

好氣的条件下ではFe(Ⅲ)が鉄のほとんどを占めるが、その溶解度はきわめて低く、水酸化鉄(Ⅲ)の溶解度積は $10^{-37.4}$ ($\text{mol}^4\text{l}^{-4}$)である。しかし、陸水中に溶存する鉄濃度は、理論上の溶解度をはるかに上回る。これは腐植物質はじめ溶存有機物との錯生成によって鉄が可溶化しているためと考えられるが、錯生成している鉄は有機物と強く結びつくとかえって利用しにくい。霞ヶ浦における溶存鉄と結合する有機配位子の鉄錯体の安定度定数は $K_{\text{ML}}=10^{25.9}$ であり、溶存鉄濃度 $4.8 \times 10^{-8} \text{mol/l}$ に対し、溶存無機態鉄濃度は $4.0 \times 10^{-11} \text{mol/l}$ と極めて低い。植物プランクトン種の間で鉄利用度が異なるため、優占種の変遷に影響を与えることが指摘されている。

しかし、対象とされる鉄の酸化数はほとんどの場合Fe(Ⅲ)であり、Fe(Ⅱ)については測定例が少ない。特に好氣的環境では極低濃度となるため測定そのものが困難である。Fe(Ⅱ)は水溶性が高く、錯体の安定度も低く生物利用度は高いとされるが影響は未知数である。大気反応や表面水での光還元によって、Fe(Ⅱ)が生じることがわかっている(Sivan et al., 1998; Emmenegger et. al, 2001)ので、昨年はフェロジーン-Fe(Ⅱ)錯体濃縮法(Yi et al., 1992)を改良し、琵琶湖表層および流入河川におけるFe(Ⅱ)の現存量を測定した。この結果琵琶湖最深地点における全Fe(Ⅱ)は0mがもっとも低く、5～20mはほぼ同程度の値であった。今年度は光還元の影響を見積もるため、夏季に測定を行い、強光条件下での溶存態濃度を測定した。

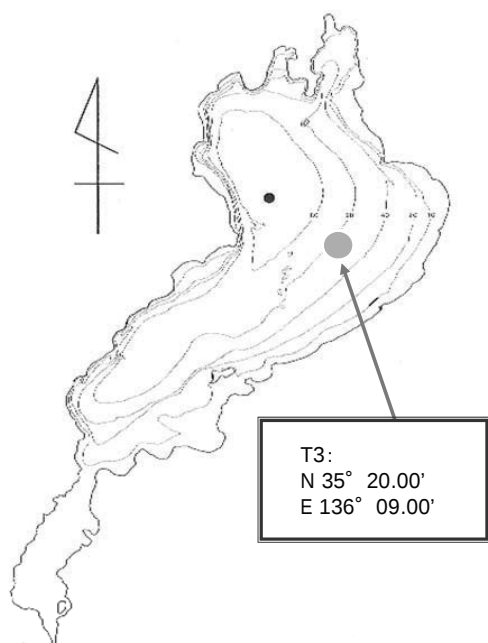


図4-1：採水地点

4.2 採水地点、測定法

採水は滋賀県立大学実習調査船「はっさか」にて、琵琶湖北湖の多景島沖T3地点 (N35-20'00 E136-09'00) で7月14日、8月2日、9月8日、9月25日の計4回行なった。10m以深の層はバンドーン採水器で、10m以浅の層は採水ポンプで採水した。試水にふれる器具はすべて塩酸洗浄を行っている。試水は500ml褐色ポリエチレン瓶にて氷冷保存し、試水のうち200mlを採水後に船上にて速やかにろ過（酸処理済Nuclepore filter：孔径0.4 μ m）した。

ろ過後の試水200mlを褐色ポリエチレン瓶に移し、1mmol/LのFerrozine10ml、1mol/LのMOPS-NH₃緩衝液（pH6.8）10mlを添加し試水中のFe（II）を固定した。

研究室でペリスタポンプを用い、試水中のFe（II）-Ferrozine錯体をSep-pak PS-1（スチレンジビニルの共重合体）に吸着させた。Sep-Pakはポンプチューブの前に接続し、試水を吸入する形で用いた。濃縮後、逆方向からメタノール1ml、純水3mlを順次通じて錯体を溶離、562nmにおける吸光度からFe（II）濃度を求めた。セルは光路長50mmのマイクロガラスセル（容量3ml）を用いた。ブランク吸光度は0.006であった。濃度50nmol/lの標準溶液を50倍濃縮した際の吸光度は0.135で、検量線はこれ以下の濃度でよい直線性を示した。この結果、1nmol/l程度まで測定可能となった。

4.3 結果

1) 最表層について

7月14日の表水層におけるFe（II）の測定結果を図4-2

に示す。水深0.5m、1mでは下層に比べて明らかに高濃度のFe（II）が検出された。表層と下層との濃度差は、測定時期によって異なったが、全体として、最表層におけるFe（II）増加が確認できた。9月初旬の調査においても7月14日（図4-2）と同様に、最表層がその直下の深度と比べて、Fe（II）濃度が高くなっていることが確認された。この機構は、太陽光中の紫外線が照射されたことにより表層中の溶存有機物が酸素と反応し、発生したラジカルによるFe（III）の間接的還元反応と、有機配位子と錯形成しているFe（III）が紫外線の影響により分解し、有機配位子から電子を受け取ることで発生する直接的還元反応の影響と考えられる。7月14日の同地点、同日時の腐植物質の鉛直濃度分布（図4-3）と比較すると、最表層において腐植物質濃度がその直下より低くなっていた。Fe（II）の

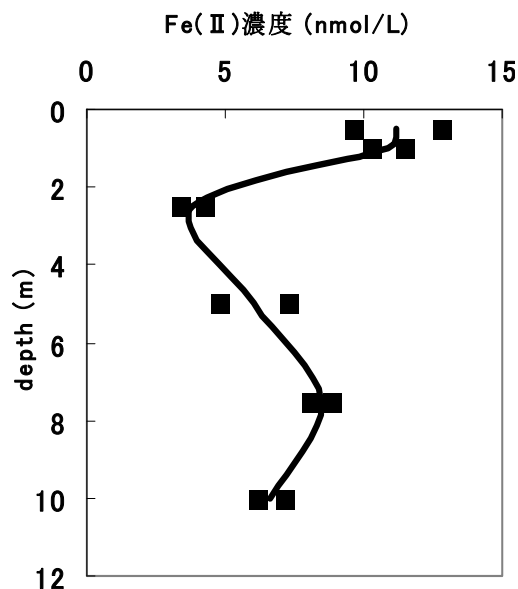


図4-2 7月の表水層でのFe（II）鉛直分布

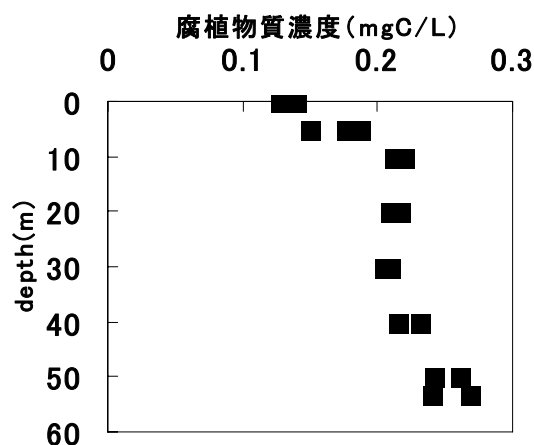


図4-3 7月の腐植物質濃度の鉛直分布

生成機構として間接的、直接的光分解の両方を考慮する必要があるが、腐植物質を介する間接的光分解反応が起きている可能性が示された。

2) 光還元によるFe(II)生成反応の再現

太陽光中の紫外線による影響を確認するため、2006年10月17日(晴天)に太陽光照射実験を行った。9月25日に琵琶湖T4地点にて採取した水深5mの湖水を濾過し、100ml石英瓶に移した。大学の環濠の浅瀬に浸して日中太陽光に暴露し、同様の方法にてFe(II)濃度を測定、変化を調べた。結果を図4-4に示す。

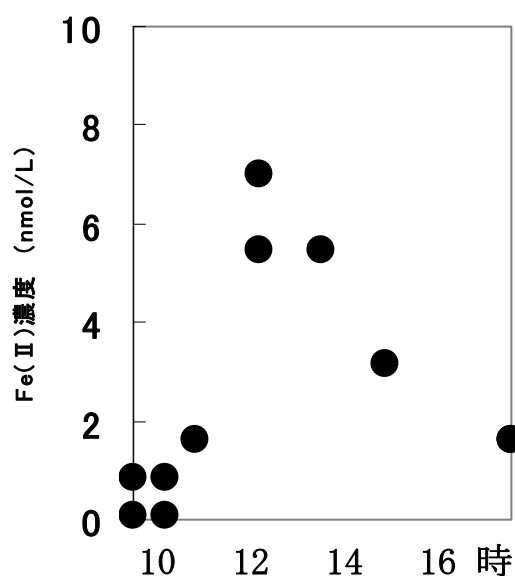


図4-4 太陽光照射実験でのFe(II)濃度変化

太陽光照射実験時の日射量は彦根気象台の1時間の積算日射量のデータである。日射量は実験開始時から徐々に上昇し、正午に最高値を、それから徐々に下降していく典型的な晴天の日の値を示した。10時から10時半にかけてはFe(II)濃度の変化はなく、11時で上昇し、1日の間で最も日射の強くなる正午にて最大のFe(II)生成を確認した。その後Fe(II)濃度は徐々に下降していくという結果が得られた。溶存酸素により常にFe(II)は酸化を受けると考えられ、日射中の紫外線は常に当てられているので、Fe(II)濃度が上昇する際は還元が酸化を上回り、それとは逆に濃度下降の際は酸化が還元を上回ると考えられる。

このことから日射の強い夏の昼間ではこの機構がFe(II)の濃度上昇に大きく寄与していると考えられる。

3) クロロフィル極大層直下について

7月(図4-2)、8月(図4-5)では、Fe(II)クロロフィル極大層の直下にて、Fe(II)濃度極大が見られた。こ

れは他の湖沼においても指摘されていた(Aldrich et al., 2001)が、植物プランクトンの死骸や残渣が微生物に分解される際に放出される還元性物質や、鉄還元酵素の影響によりFe(II)が安定に存在することを示している可能性がある。生分解実験などで検証を行っていないが、この機構が存在する可能性は高いと考えられる。

また、クロロフィル極大直下におけるFe(II)の増加も確認され、これまでの陸水におけるFe(II)測定で示されたのと同様に、琵琶湖でも表層での光還元、生物活動によるFe(II)の生成が示唆された。

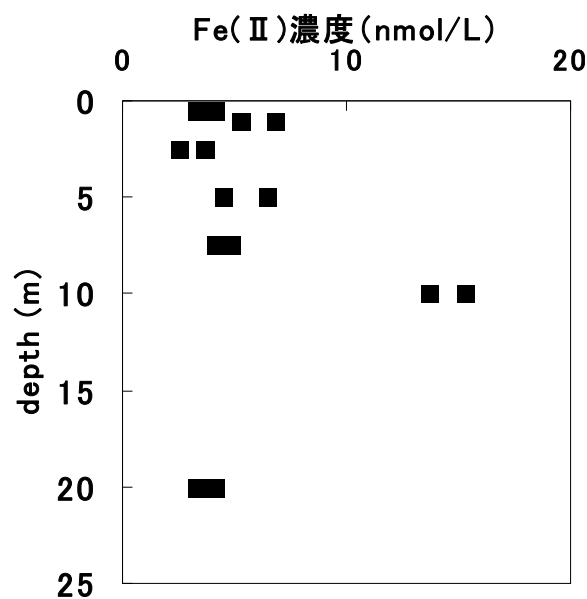


図4-5 8月の表水層のFe(II)鉛直分布

4.4 まとめと今後の課題

表層におけるFe(II)濃度上昇の原因は、光照射実験の結果から考えると、有機物を介する光還元反応であることがほぼ確実である。今回は秋期に行った実験結果のみであり、年間を通じて同様の還元が起こっているかどうかは明らかではない。また、有機物を介する間接的光還元かどうか確認できていない。これについては次年度、大きな日射の得られる夏期に光還元実験を行う予定である。同時に、有機物濃度を变化させた場合のFe(II)生成量を測定する検討する。これによって生成機構が明らかになると考えられる。一方生成したFe(II)の生物利用性、化学形態の変化についても追跡する必要がある。

光の強い夏期には多くのFe(II)が生成すると期待されるが、一次生産の盛んな時期の琵琶湖水はpHが高いため、生成したFe(II)の寿命は非常に短いと考えられる。

しかし酸化を受けたのちも、低分子量のFe(III)コロ

イドとして存在するとすれば、生物利用度の上昇に十分寄与すると考えられる(Shiller et al., 2006)ので、サイズ別の鉄スペシエーションについても検討する必要がある。

5. 今後の課題

プロジェクト開始から2年を経過して、地表紫外線データを1年、水中の光環境データを1年半にわたり蓄積した。水中の紫外線量の照射量についておおよそが明らかとなり、水中の紫外線量を紫外線吸収溶存有機物量と濁度から推定可能な段階までできているが、将来予測のためには、湖水中で光分解反応をする溶存有機物量を求める必要があり、次年度にはそれを明らかにする。

腐植物質を代表とした溶存有機物の詳細研究についても少しずつ知見を蓄積している。高速液体クロマトグラフィー質量分析を利用した詳細な化学分析の目処が立ったことから、次年度以降に具体的な成果が期待され、腐植物質の起源や構造、機能についての有用な情報が得られるものと思われる。腐植物質の錯化容量の把握とともに、湖表層で光反応をする鉄イオンの挙動についてもさらに検討を進める。

参考文献

Aldrich, P. van den Berg, C. M. G. (2001): Redox speciation of iron in two freshwater lakes, *Marine and Freshwater Research*, 52: 885-890.

Belzile, C., Vincent, W. F., Kumagai, M. (2002): Contribution of absorption and scattering to the attenuation of UV and photosynthetically available radiation in Lake Biwa. *Limnol. Oceanogr.* 47: 95-107.

Cockell, C. S., Knowland, J. (1999): Ultraviolet radiation screening compounds, *Biol. Rev.*, 74: 311-345.

Emmenegger, L., Schönenberger, R., Sigg, L., Sulzberger, B. (2001): Light-induced redox cycling of iron in circumneutral lakes. *Limnology and Oceanography*, 46: 49-61.

Hargreaves, B. R. (2003): Water column optics and penetration of UVR. In: *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. (eds) Helbling, E. W. and Zagarese, H. *Advancing chemical sciences*: 59-106.

早川和秀・杉浦嘉一・和田千弦・鈴木智代・杉山裕子・石川可奈子 (2006): 琵琶湖における紫外線の水中透過性について. *日本陸水学会第71回大会要旨集*: 286.

Laurion, I., Vincent, W. F., Lean, D. R. S. (1997): Underwater ultraviolet radiation: development of spectral models for northern high latitude lakes. *Photochem. Photobiol.* 65: 107-114.

長尾誠也・松永武・鈴木康弘・平木敬三 (2001): 高速液体ゲルクロマトグラフィーによる河川水紫外線吸収有機物の簡易測定法, *地球化学*, 35: 107-120.

Mopper, K., Stubbins, A., Ritchie, J. D., Bialk, H. M., Hatcher, P. G. (2007): Advanced instrumental Approaches for characterization of marine dissolved organic matter: extraction techniques, mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Chem. Rev.*, 107, 419-442.

Shiller A. M., Duan, S., van Erp, P., Bianchi T. S. (2006): Photo-oxidation of dissolved organic matter in river water and its effect on trace metal speciation. *Limnology and Oceanography*, 51: 1716-1728.

Sivan, O., Erel, Y., Mandler, D., Nishri, A. (1998): The dynamic redox chemistry of iron in the epilimnion of Lake Kinneret (Sea of Galilee). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62: 565-576.

杉山裕子 (2005): 腐植物質の化学分画と3次元蛍光測定による簡易モニタリング手法の開発. 平成17年度滋賀県琵琶湖・環境科学研究センター委託研究報告書.

Sugiyama, Y., Anegawa, A., Kumagai, T., Harita, Y., Hori, T., Sugiyama, M. (2004): Distribution of dissolved organic carbon in lakes of different trophic types, *Limnology* 5: 165-176.

Sugiyama, Y., Anegawa, A., Inokuchi, H. (2005): Distribution of dissolved organic carbon and dissolved fulvic acid in mesotrophic Lake Biwa, Japan, *Limnology*, 6: 161-168.

Vincent, W. F., Kumagai, M., Belzile, C., Ishikawa, K., Hayakawa, K. (2001): Effects of seston on ultraviolet attenuation in Lake Biwa. *Limnology* 2: 179-184.

Yi Z., G. Zhuang, P. R. Brown and R. A. Duce (1992): High performance liquid chromatographic method for the determination of ultratrace amounts of iron(II) in aerosols, rainwater and seawater. *Analytical Chemistry*, 64: 2826-2830.