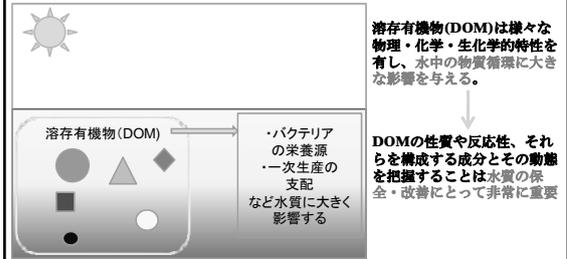


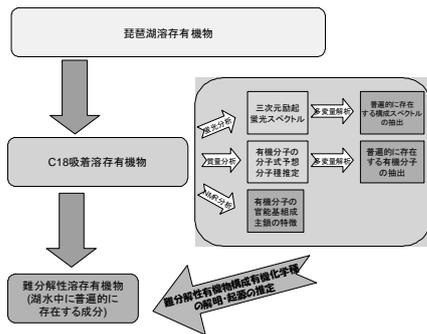
# 琵琶湖に溶存する難分解性溶 存有機物の蛍光スペクトル解析 および超高分解能質量分析による 特性把握と起源の推定

兵庫県立大学環境人間学部 杉山裕子  
同 環境人間学研究所 小島礼慈

## 研究の背景

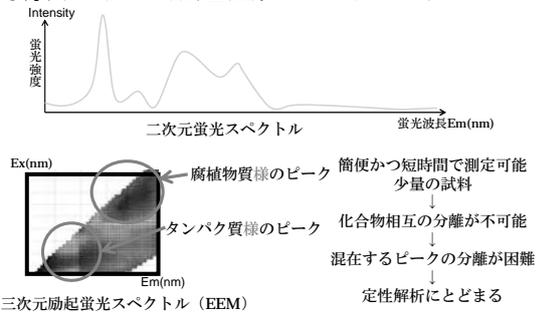


## 研究スキーム

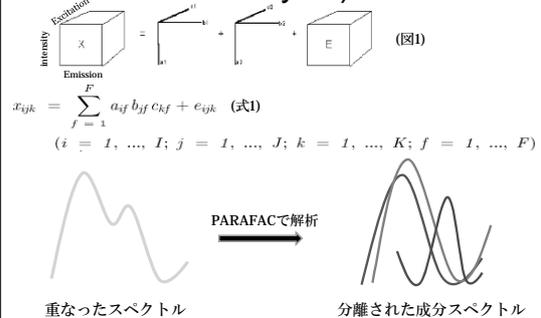


## 1. 蛍光スペクトル解析による琵琶湖 溶存有機物の特性把握と起源の推定

## 背景 (三次元励起蛍光スペクトル)



## PARAFAC(Parallel Factor Analysis)



## サンプリング

サンプリング地点  
滋賀県の琵琶湖より採取。

サンプリング期間  
2004～2006年

- サンプルの種類
- 鉛直採水 (17B, NA地点など)
  - 表層採水 (沿岸部の影響がない地点)
  - 沿岸 (Yasu地点など)
  - 河川 (野洲川、姉川など)

### 前処理

・試料は孔径0.7μmのGF/F フィルターでろ過を行った。



サンプリング地点

## EEM測定条件

- ・ 装置: 日立 蛍光分光光度計 F-4500
- ・ 波長範囲 励起: 225～400nm  
蛍光: 260～500nm  
- PARAFAC解析のため、測定後に統一
- ・ 励起・蛍光バンド幅: 5nm, 2nm
- ・ 蛍光強度の規格化: ラマン標準補正  
- ラマン散乱光のピーク面積で蛍光強度を割ることで標準化を行った。

$$\text{Raman peak position } \lambda_{\text{em}} (\text{nm}) = 1 \times 10^7 \left( \frac{\lambda_{\text{ex}} \lambda_{\text{em}}}{\lambda_{\text{ex}}} - 3400 \right)^{-1} \text{ 式(2)}$$

## PARAFAC解析

- ・ データをそれぞれの採取地点別に4つに分類し、採取地点ごとの特徴把握を行った。

沖合い鉛直・・・34サンプル (NA地点など)  
沖合い表層・・・31サンプル (沿岸部の影響を受けていないもの)  
沿岸部・・・10サンプル (Yasu地点など)  
河川水・・・30サンプル (野洲川、安曇川など)

- ・ 解析に使用したソフト

- Mathworks社 matlab 2009a student version
  - ・ DOM Fluor
  - ・ Parafac algorithm
  - ・ Nway の3つのツールボックスを使用した。

## PARAFAC解析の条件

- ・ Non negativity  
- 解析結果にマイナスの値を出さないため
- ・ 収束条件  $1.0 \times 10^{-7}$   
- 最小二乗法における収束の基準値
- ・ Iteration(最小二乗法の計算回数)  
- 最大2万回で計算を行った。

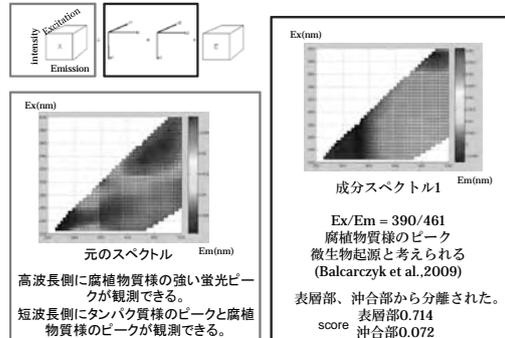
## Scoreの算出

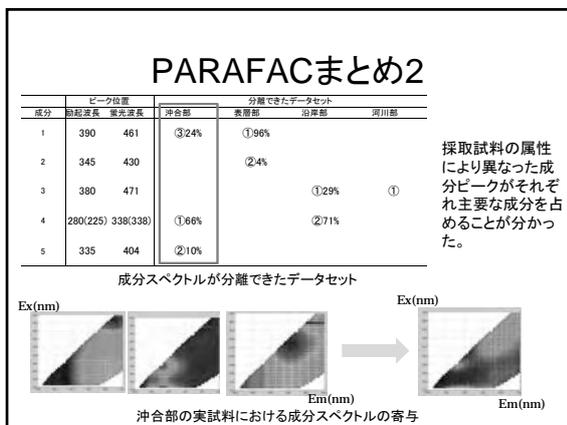
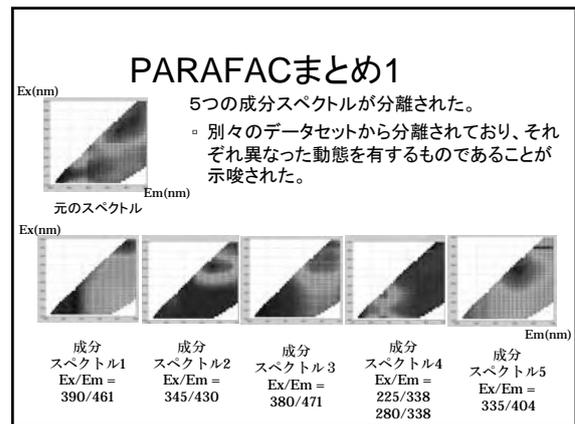
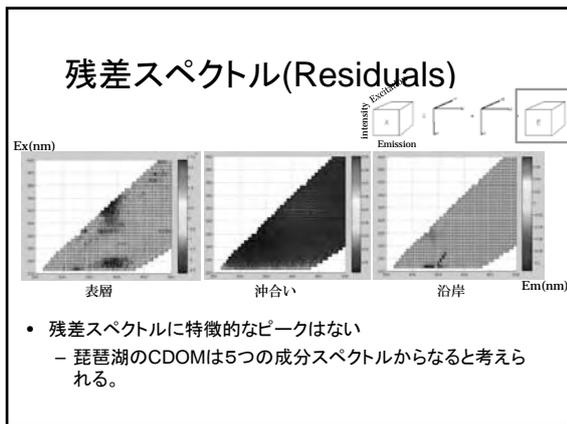
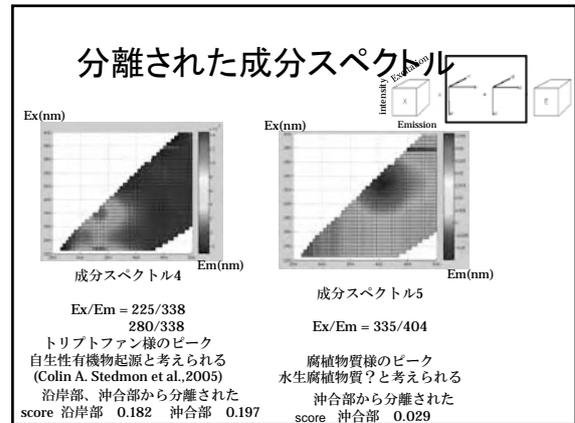
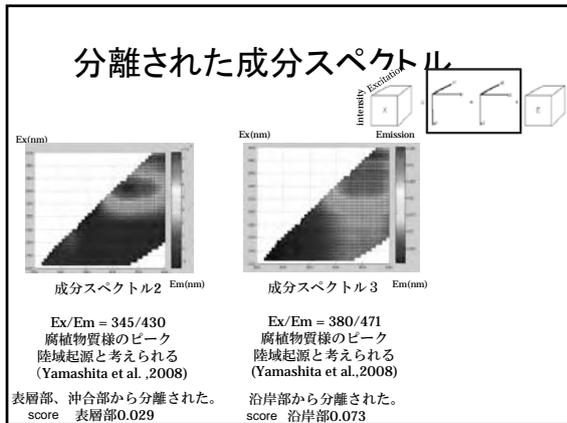
- ・ PARAFAC解析では各因子(励起波長、蛍光波長、サンプル)ごとに負荷量(Loading)が得られる

$$\frac{\text{ExLoading} \times \text{EmLoading} \times \text{SampleLoading}}{\text{SampleLoading}} = \text{Consistency (Score)}$$

Scoreを計算することによって定量解析が可能

## 分離された成分スペクトル





## 2. 超高分解能質量分析による琵琶湖溶存有機物の特性把握と起源の推定

## FT-ICRMS 分析

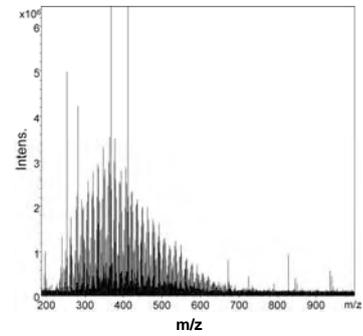
**前処理:** さまざまな試料のDOMをC<sub>18</sub> 固相抽出ディスクを用いて濃縮分離 (Kim et al., 2003)

**装置:** 12T FT-ICR 質量分析器  
(Old Dominion University, VA, USA)

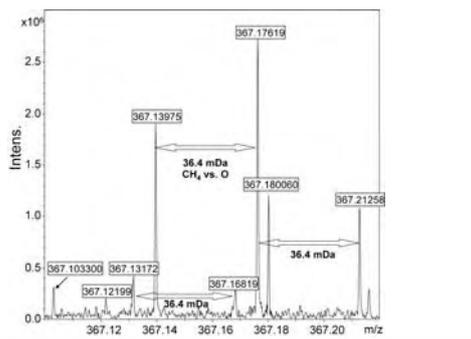
**条件:** negative ionization mode with a needle voltage of -2.0 kV

### FT-ICRMS 結果

—琵琶湖水DOM マススペクトル  
NA, 25m—

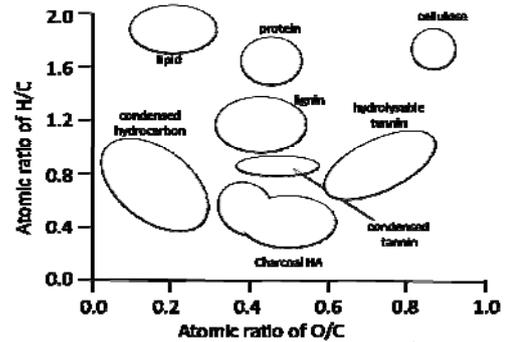


### ESI-FT-ICR 質量スペクトル(拡大) NA, 25m



### FT-ICRMS 結果

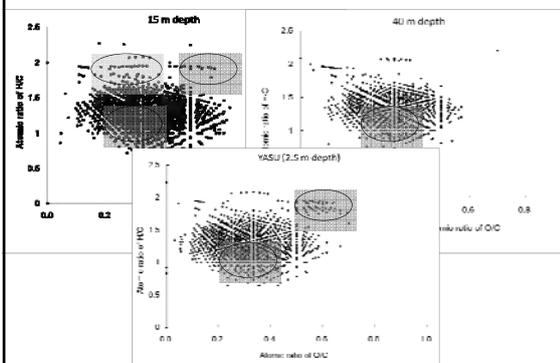
Van Krevelen Diagram



(Kim et al., 2003)

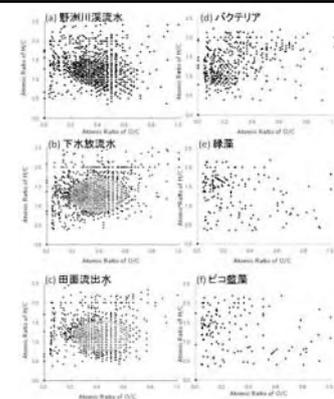
### FT-ICRMS 結果

Van Krevelen Diagram



### FT-ICRMS 結果

Van Krevelen Diagram2  
様々な起源を有する試料の分析結果



### 琵琶湖への有機物負荷源と考えられる各試料中のピークと琵琶湖水試料のピークとの一致

試料	総検出ピーク数 (S/N>4, m/z<500)	琵琶湖水(北湖NA地点 40 m)試料との一致 ピーク数
野洲川河川水	4770	319
下水放流水	5648	435
田面流出水	6483	302
バクテリア培養	3318	86
緑藻培養	2371	10
ピコ藍藻培養	2032	9

### FT-ICR MS 解析まとめ

- 湖水C<sub>18</sub>DOMIは、分子量200~800の多数の分子を含み、水深により異なる有機物群の付加があるが、どの試料にも共通して存在するピーク領域として、リグニン様物質が挙げられた。
- さまざまな起源を有する試料の測定結果より、田面流出水や下水放流水などが、湖水で顕在していたリグニン様物質ピークを多く含んでいることが分かった。
- 湖水に存在しているピークと同じm/z値を示すピークの数には下水放流水(435)・河川水(319)・田面流出水(302)の順であり、これらが難分解性有機物のソースとなっている可能性が示された。

### 全体まとめ

- 蛍光- PARAFAC解析から、難分解性有機物としては、微生物起源の腐植様物質(成分ピーク1)の可能性が高いことが示唆された。
- FT-ICR MS分析の結果からは、リグニン様物質の領域に検出される物質であることが示唆され、これらはプランクトンやバクテリアの培養試料には検出されず、田面流出水や下水放流水に多く検出された。

### 謝辞

琵琶湖水の採取は、琵琶湖環境科学研究センターはっけん号および滋賀県立大学はっさか号の協力を得て行った。また、PARAFAC解析に使用したEEM測定データの一部は、琵琶湖環境科学研究センター早川和秀主任研究員・龍谷大学工学部藤原学教授・総合地球環境研究所吉岡崇仁教授に提供していただいた。

FT-ICR MS測定に当たり、Old Dominion University (VA, USA)のPatrick Hatcher教授・(独)産業技術総合研究所の高橋勝利研究員の協力を得た。