

Review

琵琶湖およびバイカル湖とその集水域における溶存有機物の動態*

吉岡崇仁¹・K. M. G. Mostofa²
(名古屋大学 大気水圏科学研究所)

Abstract

Dynamics of dissolved organic matter (DOM) in Lake Biwa (Japan), Lake Baikal (Russia), and their watersheds were investigated using a three-dimensional fluorescence spectrophotometry (Excitation-Emission Matrix, EEM). The significant relationship between the concentration of dissolved organic carbon (DOC) and the fluorescence intensity of humic-like substances was found in the upstream regions. However, such the relationship was not observed in the lake, suggesting the alteration in the properties of DOM via the photodegradation. The changes in the fluorescence properties for fractions based on molecular size were allowed to understand the changes in the characteristics of DOM in the lacustrine watershed. Assuming the first-order kinetics of the DOM photodegradation, the relative contribution of allochthonous source to the lake DOM was estimated to be 50% in the surface layer and 75% in the deep layer of Lake Biwa. The source of DOM, which was determined by the carbon isotopic analysis, was consistent with the results from the analysis of fluorescent properties.

Key words: Dissolved organic carbon; Humic-like fluorescence; Carbon isotope composition; Lacustrine watershed; Photodegradation.

はじめに

海洋の溶存有機物では、植物プランクトンの一次生産に由来する自生性のものが大半を占めるといわれているが (Nissenbaum and Kaplan, 1972; Fry et al., 1996)、陸上とのつながりが強い陸水域 (河川・湖沼) では、自生性と外来性が混在しながら物質動態が駆動しているものと考えられる。外来性溶存有機物の中でも量的寄与が大きいといわれている腐植物質 (Humic Substances, HS) を対象とすることで、河川・湖沼での溶存有機物の動態を解析することが可能である (Peuravuori and Pihlaja, 1999)。琵琶湖の溶存有機態炭素 (Dissolved Organic Carbon, DOC) 濃度には季節変化があり、表水層では夏季にピークが見られ、深水層では成層期間中減少する。Makiら (2010) は、琵琶湖の DOC を季節的、鉛直的変動から、夏季成層期の表層で植物プランクトンによって生産される自生性 DOC、夏季成層期間中に分解される DOC、難分解性の DOC などのプールにわけ、さらに炭素同位体組成による解

析を行っている。バイカル湖の DOC においても、夏季成層期に深水層よりも表層で濃度が高いこと、流入河川の河口から湾・湖央に向かったの DOC の水平的な分布の様子が報告されている (Yoshioka et al., 2002; Sugiyama et al., 2004)。このような季節的、鉛直・水平的な DOC 濃度の変化には、集水域からの溶存有機物の流入、湖内での生成と分解が関わっているが、その詳細を知るためには、溶存有機物の起源や変質を明らかにする必要がある。湖沼および集水域における溶存有機物の動態解析において、HS が示す三次元蛍光特性 (励起蛍光マトリックス、Excitation-Emission Matrix: EEM) は非常に有効な指標である。我々は、日本最大の湖沼である琵琶湖と世界最深であり最大の淡水を湛えるバイカル湖における溶存有機物の動態について、DOC 濃度と HS の蛍光強度、さらには、光分解のメカニズムとの関連性を解析してきた (Mostofa et al., 2005; Mostofa et al., 2007a and b; Yoshioka et al., 2007)。また、限外ろ過法を用いて DOM を分子サイズで分画し、琵琶湖集水域内での動態についても考察した (Yoshioka

* Dynamics of dissolved organic matter in Lake Biwa, Lake Baikal and their watersheds. T. Yoshioka, K. M. G. Mostofa; E-mail address yoshioka@kais.kyoto-u.ac.jp

¹ 現在：京都大学フィールド科学教育研究センター

Field Science Education and Research Center, Kyoto University

² 現在：State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences

et al., 2007)。これらの研究から、森林集水域由来のHSが流下過程および湖沼内で光分解による変質を受けながら湖沼に流入し、さらに湖内での自生性溶存有機物生産と分解が起きていることが示唆されている。

本稿では、これらの結果に新たなデータを加えて解析した湖沼DOMの起源に対する解明と動態に関する最近の著者らの研究を紹介する。

方法の概略

試料は、琵琶湖、バイカル湖および流入河川において採取した (Figure 1)。採取地点および測定方法については、既報の通りであるが (Yoshioka et al., 2002; Mostofa et al., 2007a and b; Yoshioka et al., 2007)、DOC濃度、蛍光強度、限外ろ過、炭素同位体組成分析手法について、その概略を以下に記述する。

DOC濃度および蛍光測定のための試料は、ガラス繊維ろ紙 (GF/F, Whatman) でろ過し、褐色バイアルビンに入れて、分析まで凍結保存した。DOC濃度は、HCl酸性下で無機態炭素を除去した後、全有機炭素計 (TOC5000A, 島津製作所) で、蛍光特性は、三次元蛍光分光光度計 (F-4500, 日立製作所) で測定した。蛍光強度 (FI) は、ラマン標準化 (Determann et al., 1994) するために、各励起波長で得られる水のラマン散乱のピーク面積をソフトウェア (LabView, National Instruments) によって計算し、これで蛍光強度を除いたラマン単位 (RU, 単位は nm^{-1}) で表した。ラマン散乱のピーク面積は長波長の励起光に対して小さくなるため、三次元蛍光分光光度計で測定したEEMのパターン (一般的な硫酸キニーネによって標準化されたキニーネ単位 QSU のパターン

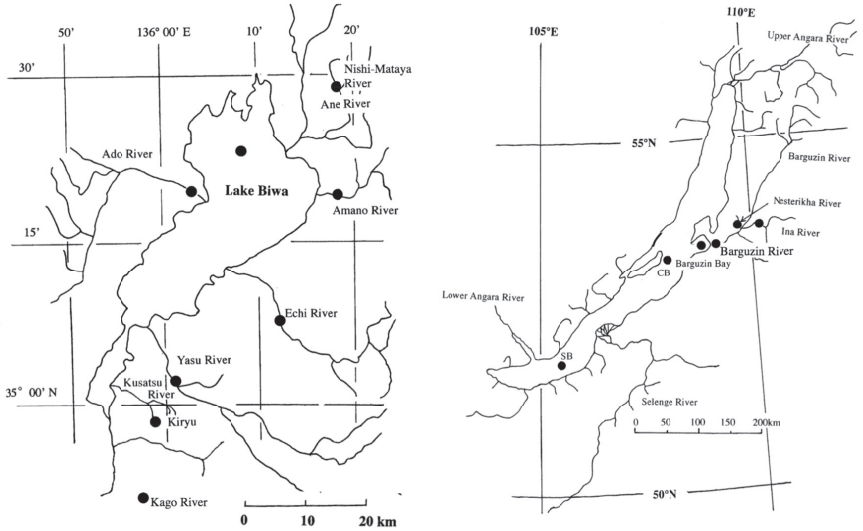


Fig. 1. Maps of Lake Biwa (left panel) and Lake Baikal (right panel) watersheds. All sites, where water samples collected, are not indicated in these maps.

も同じ) とはかなり印象が異なるが (Figure 2)、各励起波長における蛍光強度ピークの位置 (蛍光波長) は変化せず、長波長域の蛍光ピークについては、ラマン標準化することで識別しやすくなる。蛍光強度の標準化においては、溶存有機物による励起光と蛍光の自己吸収が問題となるが、硫酸キニーネによる標準化よりもラマン標準化の方が自己吸収の問題等を軽減するのに有効である (Yoshioka et al., 2007)。

分子サイズによるDOMの分画には、Millipore製のミニタンIIシステムによるクロスフロー型限外ろ過装置

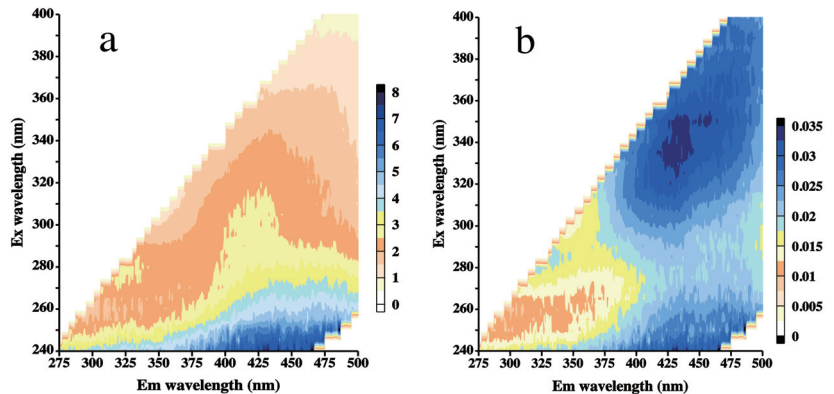


Fig. 2. Comparison of the original (a) and Raman (b) normalized excitation-emission matrices (Yoshioka et al., 2007).

Sample was collected from the north basin of Lake Biwa (2.5 m depth) in June 1999. Bars beside graphs indicate contour intervals of the fluorescence intensity in the quinone sulfate normalization (a) and the Raman unit (b).

を用いた。分画には、デュラポア (Durapore, 孔径 $0.1 \mu\text{m}$) とバイオマックス (Biomax, 排除分子量 5kDa) メンブレンを用いた。溶存有機物を 5kDa 以下($<5\text{kDa}$)、 5kDa から $0.1 \mu\text{m}$ ($5\text{kDa}-0.1 \mu\text{m}$)、 $0.1 \mu\text{m}$ から $0.7 \mu\text{m}$ ($0.1 \mu\text{m}-\text{GF/F}$) の3画分に分けた。GF/Fろ液($<\text{GF/F}$)とあわせて4試料のDOC濃度と蛍光強度を測定した。炭素同位体組成測定には、GF/Fろ過試料をHCl溶液にて酸性化した後、ガラス製真空ラインを用いた凍結乾燥にて濃縮した試料を用いた。同位体組成は、元素分析計付同位体比質量分析計 (EA-MAT252, Thermo Scientific) にて測定し、 $\delta^{13}\text{C}$ 値 (‰) で表した。DOMの光分解は、GF/Fろ過試料を石英ガラス瓶に入れ、アルミホイルおよび黒のビニール袋で覆った暗条件の対照実験とともに、水槽内にて太陽光を照射して、DOC濃度と蛍光強度の時間変化を追跡した (Mostofa et al., 2005 and 2007a)。

集水域および湖沼のDOMの蛍光特性

淡水・海水中で見いだされる溶存有機物の蛍光として、タンパク質様蛍光とHS様蛍光のあることが知られている。これらの蛍光は、その蛍光ピークの位置 (励起波長と蛍光波長の組み合わせ、Ex/Em) で特徴づけられ、タンパク質様蛍光ピークは $220-275\text{nm}/300-350\text{nm}$ で、HS様蛍光ピークでは $310-340\text{nm}/420-450\text{nm}$ と $360-395\text{nm}/450-490\text{nm}$ で検出されることが報告されている (Senesi, 1990; Coble et al., 1993; 鈴木ら, 1997)。琵琶湖に流入する河川水中のDOMの蛍光特性を見ると、複数の蛍光ピークが検出された。そのうち、Ex/Em

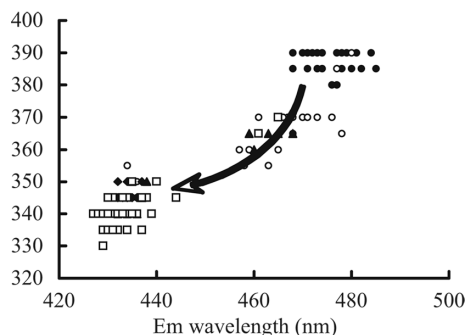


Fig. 3. Changes in the fluorescence peak position of humic-like substance in water samples collected in Lake Biwa and its watershed (Mostofa et al., 2005).

Arrow shows the trend of the change in the peak position from upstream to the lake, via mid- and downstream (Mostofa et al., 2005).

●: upstreams, ○: downstreams, ▲: midstreams, ◆: channels, □: Lake Biwa

$=278-283\text{nm}/322-351\text{nm}$ の位置に見いだされた蛍光ピークは、タンパク質様蛍光に相当すると考えられるが、測定された試料数の2割程度であり、大半の試料では検出されなかった (Mostofa et al., 2005)。最大の蛍光強度を示すピークは、琵琶湖集水域の上流で採取した試料では $385-388\text{nm}/475-477\text{nm}$ 付近に、下流で採取した試料では $345-350\text{nm}/430-440\text{nm}$ 付近に見られ、いずれもHS様の蛍光と考えられる。しかしながら、上流と比較して下流ではピークの位置が短波長側に移動 (ブルーシフト) することが示された (Figure 3)。一方、琵琶湖湖水のDOMの蛍光特性を見ると、多くの試料、特に表層の試料でタンパク質様蛍光ピークが検出され (データは示さない)、HS様蛍光ピークは、河川下流に比べてさらに短波長側 ($330-350\text{nm}/430-440\text{nm}$) にシフトしていた (Figure 3)。

琵琶湖集水域においては、DOC濃度とHS様蛍光ピークの強度 (FI) との間に明瞭な比例関係が認められた (Figure 4)。DOC濃度 $1 \mu\text{M}$ あたりの蛍光強度 (FI/DOC値) の平均値 (\pm 標準偏差) を求めると、上流と下流の試料では、それぞれ、 $1.3 (\pm 0.24) \times 10^{-3} \text{nm}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ 、 $1.3 (\pm 0.39) \times 10^{-3} \text{nm}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ とほとんど同じ値であった。回帰直線を求めると、上流で $\text{FI} = 0.0012 \times \text{DOC} + 0.00059$ ($r^2 = 0.89$)、下流で $\text{FI} = 0.0013 \times \text{DOC} + 0.0036$ ($r^2 = 0.79$) と強い相関が見られた。中流域の支流や農業用水路で採取した試料のFI/DOC値は、それぞれ

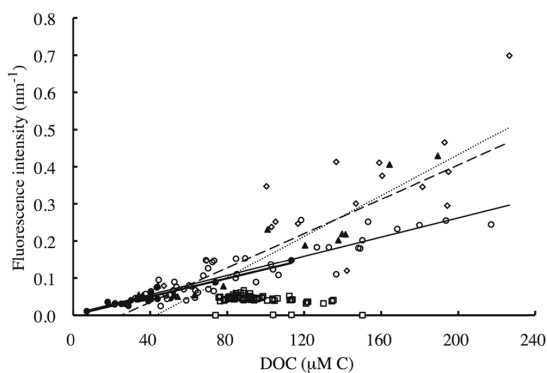


Fig. 4. Relationship between DOC concentrations and fluorescence intensities (FI) of the humic-like substances in water samples collected in Lake Biwa and its watershed (modified from Mostofa et al., 2005).

●: upstreams, ○: downstreams, ▲: midstreams, ◇: channels, □: Lake Biwa

Regression lines are as follows.

Thick solid line ($\text{FI} = 0.0012 \times \text{DOC} + 0.00059$, $r^2 = 0.89$) is for upstreams, solid line ($\text{FI} = 0.0013 \times \text{DOC} + 0.0036$, $r^2 = 0.78$) for downstreams, broken line ($\text{FI} = 0.0023 \times \text{DOC} - 0.0576$, $r^2 = 0.86$) for midstreams, and dotted line ($\text{FI} = 0.0028 \times \text{DOC} - 0.12$, $r^2 = 0.49$) for channels.

$1.6 (\pm 0.51) \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$, $2.2 (\pm 0.64) \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$ と上・下流と比べて大きく、農地からDOC濃度あたりのHS様蛍光が高い溶存有機物が河川(水路)に流出している可能性が示唆された。また、回帰直線のx切片が大きく、HS様蛍光を示さないDOC(中流域支流で約 $25 \mu \text{ MC}$ 、用水路で約 $45 \mu \text{ MC}$ に相当)が存在する可能性も示唆された。しかしながら、流量を考慮すると琵琶湖に流入する溶存有機物への寄与は高くないと考えられる。一方、琵琶湖の湖水では、DOC濃度とHS様蛍光強度との間には、表層2.5m層で弱い負の相関が見られたが、それ以深の層では有意ではなかった。また、Figure 4で示されるように、琵琶湖の湖水試料ではDOC濃度とHS様蛍光ピークの強度の間には相関は見られず、またFI/DOC値は $0.50 (\pm 0.11) \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$ と河川試料の3分の1から4分の1の小さい値であった。DOC濃度に対してHS様蛍光ピークの強度が低い、あるいはHS様の蛍光を持たない溶存有機物が多いものと考えられる。一方、琵琶湖の表層2.5mと10m層では、DOC濃度とタンパク様蛍光ピークの強度の間に有意な正の相関が見られた(Mostofa et al., 2005)。一般に溶存有機物の中でタンパク様の蛍光を持つ物質は、植物プランクトンによって生産される自生性の溶存有機物と考えられており、琵琶湖表層で見いだされたDOC濃度とタンパク様蛍光ピークの強度との正の相関は、自生性溶存有機物の生産を示唆している。外洋域に存在するHSの起源は、自生性有

機物であると考えられているが(Nissenbaum and Kaplan, 1972)、数千年という非常に古い有機物であることも知られている(Amon and Benner, 1994)。湖沼では、水の滞留時間(琵琶湖では約5.5年)が短く、自生性溶存有機物の腐植化が海洋ほどには進まないと考えられるため、HSを主とする外来性溶存有機物に湖内で生産されるHS様蛍光物質を持たない(タンパク様蛍光物質を持つ)自生性溶存有機物が付加されることによって琵琶湖湖水中の溶存有機物の蛍光特性を定性的に説明することが可能である。

バイカル湖とその集水域の河川でも、琵琶湖とほぼ同様の結果が得られた。バイカル湖への流入河川(セレンガ河、バルグジン河)で見いだされたHS様蛍光ピークは $345\text{--}370\text{nm}/460\text{--}480\text{nm}$ 付近に見いだされ、琵琶湖流入河川より短波長側に位置していた(Figure 5)。バイカル湖湖水においては、表層でのみタンパク様の蛍光ピークが検出された。HS様蛍光ピークは、 $335\text{--}340\text{nm}/430\text{--}440\text{nm}$ と $350\text{--}370\text{nm}/460\text{--}480\text{nm}$ の二つのピークがあり、バイカル湖の中央湖盆(CB)では長波長側のピークを示す試料が多かったが、バルグジン湾や南湖盆(SB)では短波長側のピークを示す試料が多いという特徴が見られた(Figure 5)。

Figure 6は、バイカル湖流入河川、沿岸、沖帯におけるDOC濃度とHS様蛍光強度の関係を見たものである。河川水試料では、琵琶湖流入河川で見られたような正の相関があり、FI/DOC値は、 $1.1\text{--}1.5 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$ と

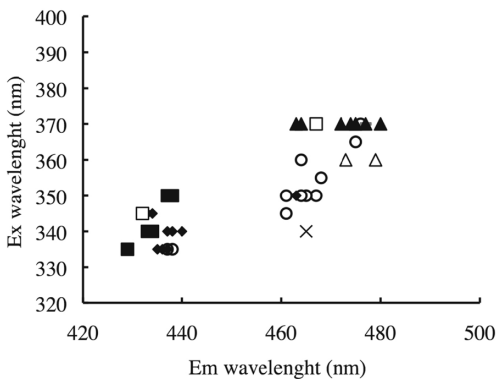


Fig. 5. The changes in the fluorescence peak positions of humic-like substances in water samples collected in Lake Baikal and its watershed.

×: downstream of Selenga River, ○: upstream of Barguzin River, ●: downstream of Barguzin River, ◆: Barguzin Bay, △: surface layers (<10m) of the central basin of Lake Baikal (CB), ▲: deep layers (>100m) of CB, □: surface layers of the south basin of Lake Baikal (SB), ■: deep layers of SB.

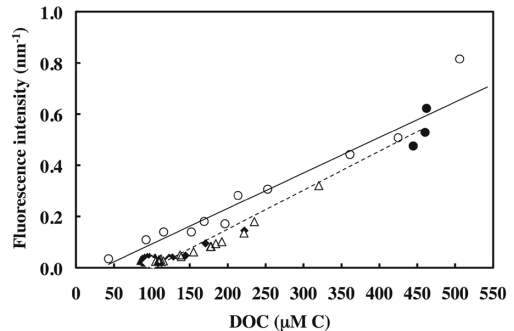


Fig. 6. Relationship between DOC concentrations and fluorescence intensities of the humic-like substances in water samples collected in Lake Baikal and its watershed.

○: rivers, ●: downstream of Barguzin River, △: surface (2m) layer in Barguzin Bay, ◆: surface layer in coastal zones, ◇: surface layer in pelagic zones, ▲: deep layers (>100m) in pelagic zones of Lake Baikal.

Solid line shows the regression for the river samples, $FI = 0.00139 \times \text{DOC} - 0.0455$, $r^2 = 0.93$. Broken line shows a possible mixing line for Barguzin River and surface pelagic waters.

琵琶湖流入河川とほぼ同じ値であった。Figure 6 の△のシンボルで示されるデータは、バルグジン川河口からバルグジン湾内の表層 2 m 層の試料である。この表層 2 m 層の湖水試料は、バルグジン川下流の高 DOC 濃度・高 FI (●) の河川水とバイカル湖沖帯表層の低 DOC 濃度・低 FI の湖水 (◇) との 2 ソースモデルに当てはまる混合の様子を示唆していた (Figure 6 の破線)。バイカル湖沖帯の溶存有機物は、琵琶湖試料と同様に HS 様蛍光強度が低く、FI/DOC 値の平均は表層 2 m 層で $21 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$ 、深水層 (>100m) で $33 \times 10^{-5} \text{ nm}^{-1} \mu \text{ M}^{-1} \text{ C}$ であり、琵琶湖よりさらに蛍光強度の低い溶存有機物で構成されていることが示唆された。

以上のように、琵琶湖およびバイカル湖の湖水と流入河川水との間で、溶存有機物の特性が DOC 濃度と HS 様蛍光の強度との関係や蛍光ピーク的位置に関して大きく異なっていることが明らかとなった。これら 2 つの湖沼集水域内において見いだされた HS 様蛍光ピーク位置の変化は、その他の湖沼集水域でも報告されている (Hayakawa et al., 2004)。また、河口・沿岸域でも知られている一般的な現象であり、河川から沿岸、海洋表層に向けて HS 様蛍光ピークが短波長側にシフトし、海洋深層水では表層よりも長波長側にピークが検出されることが報告されている (Coble, 1996; Parlanti et al., 2000)。このピーク位置の水平・鉛直的変動パターンは、バイカル湖で観測されたピーク位置の変動とよく一致している。

DOM の分子サイズと蛍光特性の関係

琵琶湖とその流入河川 (安曇川、草津川)、バイカル湖とその流入河川 (バルグジン河とその支流) の試料を用いて分子サイズによる溶存有機物の分画を行い、サイズごとの DOC 濃度と蛍光特性を調べた (Yoshioka et al., 2007)。DOC 濃度では、0.1 $\mu \text{ m}$ -GF/F の画分は最も少なく全 DOC の 0.1% 以下から 16% 程度、5 kDa-0.1 $\mu \text{ m}$ 画分では 21-56%、< 5 kDa 画分は 44-79% であった。河川水と湖水の試料を比較すると、湖水の方で分子サイズが小さい傾向が見られた。すなわち、< 5 kDa 画分の DOC の割合は、河川水で 44-68% であったのに対し、湖水では 68-79% と高く、5 kDa-0.1 $\mu \text{ m}$ 画分では、それぞれ、21-56%、22-32% であった。一方、蛍光特性としては、試料全体で 4 つの HS 様蛍光ピークが検出された (Table 1)。分子サイズごとに、4 つの HS 様蛍光ピークの強度を比較したところ、5 kDa 以上の画分には長

Table 1. Peak positions of humic-like fluorescence found in ultra-filtrated water samples.

Peak position	A	B	C	D
Ex (nm)	350	370	385	395
Em (nm)	449	474	486	497

modified from Yoshioka et al. (2007)

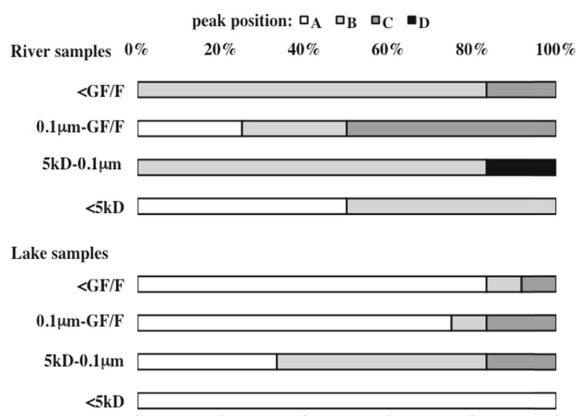


Fig. 7. Size distribution of the maximum peak position of humic-like substances (Yoshioka et al., 2007).

Peak positions: □, peak A; ■, peak B; ■, peak C; ■, peak D.

波長側の HS 様蛍光が濃縮され、短波長側の蛍光は < 5 kDa 画分に多く見られることが分かった (Figure 7)。湖水試料では、< 5 kDa 画分での最大蛍光ピークは、12 試料すべてが最も短波長側の蛍光特性を示す HS 様蛍光ピーク A (350nm/449nm) であり、河川試料では、6 試料のうち 3 試料で HS 様蛍光ピーク B (370nm/474nm)、残り 3 試料で HS 様蛍光ピーク A であった。Mopper ら (1996) は、海水中において、分子量 1 kDa 以上の溶存有機物の HS 様蛍光のピーク位置が 1 kDa 以下のものよりも 10nm 長波長側に存在することを報告している。琵琶湖・バイカル湖で見いだされた分子サイズによる HS 様蛍光ピークの変動幅 (約 20nm) は Mopper らの報告より大きい。HS は、河川を流下する間または湖沼 (あるいは海洋) に入った後に変質し、分子サイズが小さくなるとともに、HS 様蛍光ピークが短波長側に移動する現象が広く見られるものと考えられる。微生物による溶存有機物の分解によって、その分子サイズが小さくなることが考えられている (Amon and Benner, 1996)、蛍光ピーク位置に変化を与える光分解によっても溶存有機物の分子サイズが小さくなることが光分解実験によって確かめられている (Köhler et al., 2002; Wu et al., 2005)。

溶存有機物の光分解

天然水中の溶存有機物、とくに陸水中で寄与の大きい陸上起源のHSについては、光分解とそれに続く微生物分解がシンクとして重要であると考えられている (Skoog et al., 1996; Moran and Zepp, 1997; Moran et al., 2000)。溶存有機物の光分解は、HS 様蛍光ピークのブルーシフト、分子サイズの減少などを引き起こすが (Coble, 1996; Parlanti et al., 2000; Köhler et al., 2002; Wu et al., 2005)、琵琶湖およびバイカル湖の集水域におけるDOC濃度とHS様蛍光ピーク強度およびピーク位置の変化は、これらの流域において、溶存有機物の動態に光分解が大きく影響していることを示唆している。そこで、琵琶湖集水域から採取した試料を用いて行われた光分解に関する研究結果 (Mostofa et al., 2007a) を用いて、琵琶湖湖水中の溶存有機物の起源推定と動態を解析することにした。なお、Mostofaらの実験では、蛍光強度をラマン標準化ではなく、硫酸キニーネによる標準化 (単位はQSU) を用いているが、光分解の反応速度論的解析 (比分解速度定数による議論) においては標準化方法の違いは影響しない。

琵琶湖流入河川の姉川上流の西俣谷川で採取した渓流水を用いた光分解実験では、太陽光を13日間照射した明条件の場合 (照射した全光エネルギー量は 176MJm^{-2})、DOC濃度は32%減少したのに対して、暗条件下では8%の減少であった (Figure 8)。一方、実験開始前のHS様蛍光ピーク (340nm/458nm) の蛍光強度は、明条件では84%減少し、暗条件下ではわずかに増加した (Figure 9)。また、HS様蛍光の最大強度の位置は、暗条件下では345nm/473nmとやや長波長側に移動し、明条件では312nm/418nmと大きく短波長側に移動した。Mostofaら (2007a) は、姉川上流の渓流水のほかに加河川 (Kago River) 上流の渓流水と野洲川 (琵琶湖流入河川中で最長) の下流地点の河川水試料も用いて光分解実験を行っているが、光分解に関して共通して見られた変化は、以下の通りである。

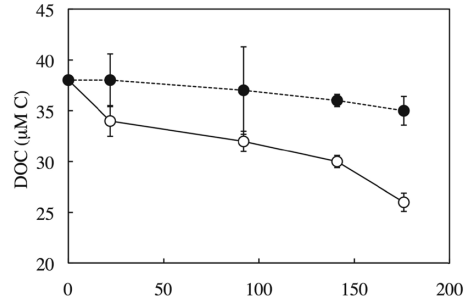


Fig. 8. Changes in the DOC concentration in the upstream water of Nishi-Mataya River under light (○) and dark (●) conditions (modified from Mostofa et al., 2007a).

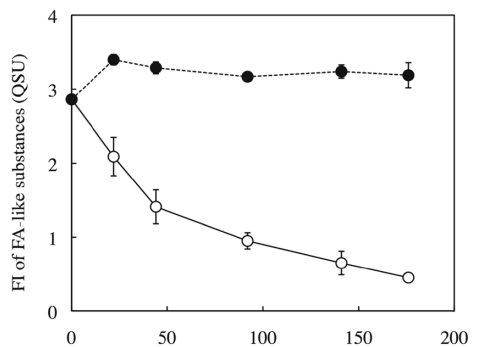


Fig. 9. Changes in the fluorescence intensity of humic-like substance in the upstream water of Nishi-Mataya River under light (○) and dark (●) conditions (modified from Mostofa et al., 2007a).

The unit of Y-axis is not Raman unit but Quinine sulfate unit (QSU).

1. HS様蛍光強度は明条件で大きく減少 (72–84%) し、暗条件下ではわずかに増加 (6–15%) した。
2. 明条件下では、HS様蛍光のピーク位置が短波長側に移動する。
3. DOC濃度の減少はHS様蛍光強度と比べて小さい (32–36%)。

また、野洲川下流の試料の場合は、明条件と暗条件とでDOC濃度の減少は全く同じ (16%) であった。また、野洲川試料では、タンパク様蛍光ピークが検出さ

Table 2. Summary of specific degradation rates for the photodegradation experiment.

Parameters	a: HS-like fluorescence		a: protein-like fluorescence		b:DOC	
	First step	Second step	First step	Second step	Light	Dark
Upstream						
Nishi-Mataya River	0.016	0.0085	–	–	0.0018	0.00046
Kago River	0.0089	0.0066	–	–	0.0026	0.000066
Downstream						
Yasu River	0.020	0.0056	0.0049		0.00095	0.0011

(Mostofa et al., 2007a)

れたが、HS 様蛍光ピークと同様に、明条件で大きく減少 (59%) し、暗条件ではやや増加 (6%) した。

蛍光強度と DOC 濃度の光分解過程を一次反応 (式 1、2) と仮定して 2 つの渓流水における比分解速度定数を求めた。

$$\ln(FI/FI_0) = -aS \quad (1)$$

$$\ln(DOC/DOC_0) = -bS \quad (2)$$

ここで、 FI_0 と FI は光照射前後の蛍光強度、 DOC_0 と DOC は光照射前後の DOC 濃度、 S は積算照射光エネルギー量、 a と b はそれぞれ蛍光強度と DOC 濃度の比分解速度定数を表わす。

HS 様蛍光物質の場合、約 50MJm^{-2} の光照射量の前後で比分解速度定数に変化する 2 段階の分解過程が見られた (Mostofa et al., 2007a)。溪流・下流を問わずどの試料においても、HS 様蛍光物質の比分解速度定数は、光照射の初期 ($< 50\text{MJm}^{-2}$) に大きく、後期 ($> 50\text{MJm}^{-2}$) では初期の約 25-75% 程度にまで低下した (Table 2)。一方、DOC の比分解速度定数においては、2 段階の分解過程は見いだされず、渓流水試料 (西俣谷川と加河川) では、西俣谷川試料で $0.0018\text{MJ}^{-1}\text{m}^2$ 、加河川試料で $0.0026\text{MJ}^{-1}\text{m}^2$ となり、暗条件下での値と比較すると、それぞれ、4 倍と 40 倍に増大した。野洲川下流の試料の場合は、明・暗どちらの条件でも DOC の比分解速度定数はほとんど変わらなかったことから、DOC の分解において光分解はほとんど関与しておらず、微生物による分解が卓越していたものと考えられる。タンパク様蛍光ピークは、野洲川下流試料のみで検出され、明条件でのみ減少したが、その比分解速度定数は光照射期間中一定であった。これらのことから、野洲川下流の河川水中に含まれる溶存有機物は、渓流水に含まれるものとは、蛍光特性も分解特性も異なることが示され、起源の異なる溶存有機物が下流域で付加されている可能性を示唆していた。

Mostofa らの実験では、光分解と生物分解を区別することができないが、Moran ら (2000) などが示しているように、もともと生物的に難分解性の溶存有機物が光分解を受けることで易分解性の物質に変化し、生物分解が促進されるという現象が流域環境では起こっていると思われる。

光分解過程のモデルを用いて、DOC 濃度と HS 様蛍光ピーク強度の変化を示すことができる (Figure 10)。ここで、琵琶湖に流入する主な河川 (野洲川、姉川、安曇川、天野川、愛知川) における月ごとの DOC 濃度のデータを河川流量で重み付けして、琵琶湖に流入す

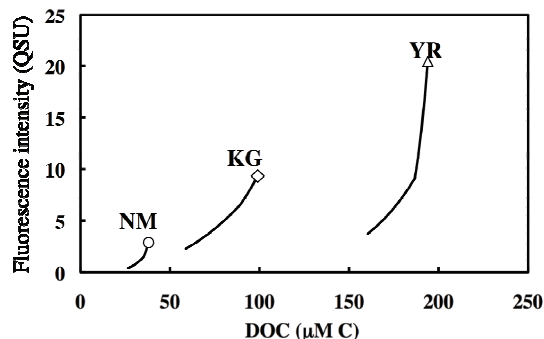


Fig. 10. Changes in DOC concentration and humic-like fluorescence intensity during photodegradation (Mostofa et al., 2007a).

NM, Nishi-Mataya River; KG, Kago River; YR, Yasu River.

The unit of Y-axis is not Raman unit, but Quinine sulfate unit (QSU).

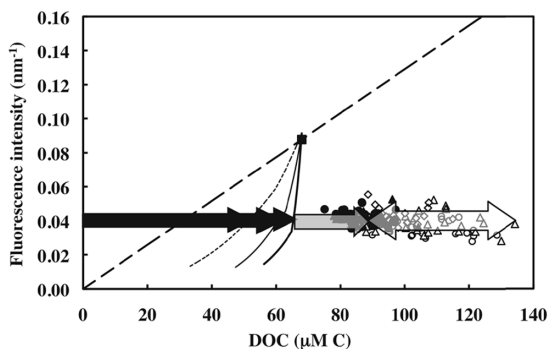


Fig. 11. Schematic diagram for the dynamics of the dissolved organic matter in Lake Biwa including photodegradation model.

■, estimated river water flowing into Lake Biwa; ○, 2.5m; △, 10m; ◇, 20m; ▲, 40m; ●, 70m depth in Lake Biwa. Lake Biwa samples have been collected and analyzed during 1997 and 2000.

Broken line shows the relationship between DOC concentration and humic-like fluorescence intensity found in stream waters. Dotted, solid and thick solid lines show photodegradation models for Kago, Nishi-Mataya and Yasu Rivers, respectively. Black arrows are the estimated allochthonous DOC. Gray arrow is the refractory fraction of the autochthonous DOC estimated from Yasu River model (those fractions estimated from photodegradation models for other rivers are not presented). White arrow is the labile fraction of the autochthonous DOC seasonally produced and degraded in the surface layers of Lake Biwa.

る河川水中の平均の DOC 濃度を求めると 0.81mgCl^{-1} ($68\ \mu\text{M C}$) と推定された (大手ほか, 2006)。この DOC 濃度に相当する HS 様蛍光ピーク強度を Figure 4 にある琵琶湖流入河川の下流の回帰直線から推定すると

Table 3. Contribution of allochthonous DOC to Lake Biwa DOC estimated from photo-degradation models.

Degradation parameters used	Allochthonous DOC	Autochthonous refractory DOC (μMC)	Relative contribution of allochthonous DOC (%)	
			2.5m & 10m	> 40m layers
Nishi-Mataya River	63	24	56	73
Kago River	54	33	48	62
Yasu River	66	21	58	76

(Mostofa et al., 2007a)

0.091nm⁻¹となった。この平均のDOC濃度とHS様蛍光強度を持つ河川水が、琵琶湖に流入し、湖内において光分解を受けるものと考え、Table 2にあげた明条件におけるHS様蛍光とDOCの比分解速度定数を使って、琵琶湖の溶存有機物の起源と動態について推定した (Table 3, Figure 11)。用いる比分解速度定数の違いによって結果はやや異なるが、琵琶湖湖水中のDOCのうち、54-66 μMC は、光分解を受けた後に残った外来性DOCであると推定された。この濃度と、水深20m以深の深水層のDOC濃度 (平均87 μMC) との差、21-33 μMC は、琵琶湖で生産された自生性のDOCのうち難分解性の画分であると推定された。そして、表層 (水深2.5mと10m) で季節的に変動する部分 (40 μMC 程度) は、琵琶湖内で生産された易分解性のDOCと推定された。光分解過程を考慮して推定された琵琶湖湖水中におけ

る外来性DOCの寄与は、表層 (2.5mと10m) で48-58%、深水層 (40m以深) で62-76%と推定された (Table 3)。

DOCの炭素同位体組成 ($\delta^{13}\text{C}$ 値)

DOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値は、琵琶湖で-25.9 - -24.8‰、流入河川で-27.5 - -22.4‰であった (Table 4)。琵琶湖内では変動が小さいが、表層で高い $\delta^{13}\text{C}$ 値をとる傾向があった。Table 4にはないが、琵琶湖の西岸に流入する安曇川のDOCでは、-27.2 - -25.5‰という値が得られている (占部・吉岡, 2006)。河川のうち天野川、愛知川、野洲川は下流地点であり、河川内での一次生産や周辺の人間活動からの影響によって、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が高くなったのかもしれない。

ここで、外来性溶存有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値として-27‰を、琵琶湖の自生性溶存有機物の値としては、一次生産が活発な時期の懸濁態有機炭素 (POC) の値としてMakiら (2010) が報告している-22.7‰という値をエンドメンバーとした混合モデルによって琵琶湖の溶存有機物の起源を推定した。その結果、琵琶湖のDOCの49-74%が外来性であると推定された (Table 5)。季節

Table 4. Carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$ value, ‰) of DOC in Lake Biwa and its watershed.

Samples	1999			2000				
	June	August	December	April	May	June	August	October
Lake Biwa								
2.5m	-25.1	-24.8	-25.1	-25.5	-25.0	-25.3	-25.3	-25.5
10m		-25.1		-25.8	-25.4	-25.4	-25.3	
20m	-25.6		-25.2					-25.8
40m		-24.8	-25.5	-25.7	-25.8	-25.5	-25.6	
70m	-25.5		-25.5	-25.0	-25.9	-25.6	-25.8	-25.6
80m		-25.9	-25.7					
Rivers								
Nishi-Mataya							-27.5	
Amano							-24.5	
Echi							-25.4	
Yasu							-22.4	

占部・吉岡 (2006) より

Table 5. Relative contribution (%) of allochthonous DOC to the Lake Biwa DOC estimated from the carbon isotope composition.

Samples	1999			2000				
	June	August	December	April	May	June	August	October
Lake Biwa								
2.5m	56	49	56	65	53	60	60	65
10m		56		72	63	63	60	
20m	67		58					72
40m		49	65	70	72	65	67	
70m	65		65	53	74	67	72	67
80m		74	70					

変化、鉛直分布は顕著ではないが、5-8月の表層(2.5mと10m)で外来性DOCの寄与は49-63%であり、40m以深の深水層では1999年8月の40mと2000年4月の70mを除いて65-74%と表層よりも高い傾向が見られた。先に、外来性溶存有機物の光分解を考慮した推定を行ったが(Table 3)、 $\delta^{13}\text{C}$ 値による推定値はこれとほぼ一致した。

琵琶湖集水域における溶存有機物の動態

Makiら(2010)は、琵琶湖のDOC濃度およびその $\delta^{13}\text{C}$ 値の季節変化から、溶存有機物を準易分解性(semi-labile)と難分解性(refractory)のプールに識別し、さらに準易分解性画分を成層期間中に表層で新たに生産される画分と深水層で分解される画分などに分けて考察した。その結果、表層において成層期に新たに生産されるDOCは、量として $10.2\mu\text{MC}$ 、同位体組成で -22.4‰ 、成層期間中に深水層で分解されるDOCは、 $6.5\mu\text{MC}$ 、 -21.6‰ 、難分解性のDOCは、 $81.5\mu\text{MC}$ 、 -26.0‰ と推定されている。Makiら(2010)は外来性有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値と秋から春にかけての自生性有機物の $\delta^{13}\text{C}$ 値が近いことから、難分解性DOCの起源推定が困難であるとしている。HS様蛍光ピークを用いた今回の推定からは、琵琶湖深水層に存在するDOCのうち約4分の1は、自生性の難分解性溶存有機物であることが示唆された(Table 3)。成層期深水層のDOCと外来性難分解性DOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値をそれぞれ -26‰ と -27‰ として、自生性難分解性DOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値を推定すると -23‰ 程度となる。この値は、Makiら(2010)らが報告している一次生産の活発な成層期における植物プランクトンの値(-22.7‰)に近い値である。外来性難分解性DOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値に不確実性があるが、琵琶湖に長期にわたって残存する自生性有機物は、夏季成層期の活発な一次生産に由来しているのかも知れない。

まとめ

琵琶湖とバイカル湖を例として湖沼集水域における溶存有機物動態の解析例を示した。溶存有機物の大半を占めるHSの化学的な属性についてはまだまだ不明な部分が多いが、三次元蛍光測定と炭素安定同位体組成分析が有益であることは今後も変わらないであろう。今回は、ラマン補正した三次元励起蛍光マトリックスで蛍光ピークを特定し、河川と湖沼の溶存有機物の違いを検討

したが、今後はより客観的にピークを特定できるPARAFAC分析(Stedmon et al., 2003)の利用が拡大すると思われる。精密な蛍光ピークの識別によって、自然界における溶存有機物の動態が詳しく解析できるようになると期待できる。

謝辞

本研究は、科学研究費補助金(No.10640474、21380096)、特定領域研究B(No.11213101)、大学等における地球圏生物圏国際協同研究計画(IGBP)および滋賀県琵琶湖研究所共同研究の補助を受けて実施されたものである。

引用文献

- Amon, R.M.W. and Benner, R. (1994) Rapid cycling of high-molecular-weight dissolved organic matter in the ocean. *Nature* **369**, 549-552.
- Amon, R.M.W. and Benner, R. (1996) Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **41**, 41-51.
- Coble, P.G. (1996) Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* **51**, 325-346.
- Coble, P. G., Schultz, C. A. and Mopper, K. (1993) Fluorescence contouring analysis of DOC intercalibration experiment samples: a comparison of techniques. *Mar. Chem.* **41**:173-178.
- Determann S, Reuter, R., Wagner, P. and Willkomm R. (1994) Fluorescent matter in the eastern Atlantic Ocean. Part 1: Method of measurement and near-surface distribution. *Deep-Sea Res. I*, **41**, 659-675.
- Fry, B., Hopkinson Jr., C.S., Nolin, A., Norrman, B. and Zweifel, U.L. (1996) Long-term decomposition of DOC from experimental diatom blooms. *Limnol. Oceanogr.* **41**, 1344-1347.
- Hayakawa, K., Sakamoto, M., Kumagai, M., Jiao, C., Song, X., and Zhang, Z. (2004) Fluorescence spectroscopic characterization of dissolved organic matter in the waters of Lake Fuxian and adjacent rivers in Yunnan, China. *Limnology* **5**, 155-163.
- Köhler, S., Buffam, I., Jonsson, A. and Bishop, K. (2002) Photochemical and microbial processing of stream and soil water dissolved organic matter in a boreal forested catchment in northern Sweden. *Aquat. Sci.* **64**, 269-281.
- Maki, K., Kim, C., Yoshimizu, C., Tayasu, I., Miyajima, T. and Nagata, T. (2010) Autochthonous origin of semi-labile

- dissolved organic carbon in a large monomictic lake (Lake Biwa): carbon stable isotopic evidence. *Limnology*. **11**, 143-153.
- Mopper, K., Feng, Z., Bentjen, S. B. and Chen, R.F. (1996) Effects of cross-flow filtration on the absorption and fluorescence properties of seawater. *Mar. Chem.* **55**, 53-74.
- Moran, M.A., Sheldon, W.M. Jr. and Zepp, R.G. (2000) Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 1254-1264.
- Moran, M.A. and Zepp, R.G. (1997) Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 1307-1316.
- Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Konohira, E., Tanoue, E., Hayakawa, K. and Takahashi, M. (2005) Three-dimensional fluorescence as a tool for investigating the dynamics of dissolved organic matter in the Lake Biwa watershed. *Limnology* **6**, 101-115.
- Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Konohira, E. and Tanoue, E. (2007a) Photodegradation of fluorescent dissolved organic matter in river waters. *Geochem. J.* **41**, 323-331.
- Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Konohira, E. and Tanoue, E. (2007b) Dynamics and characteristics of fluorescent dissolved organic matter in the groundwater, river and lake water. *Water Air Soil Poll.* **184**, 157-176.
- Nissenbaum, A. and Kaplan, I.R. (1972) Chemical and isotopic evidence for the in situ origin of marine humic substances. *Limnol. Oceanogr.* **17**, 570-582.
- 大手信人・川崎雅俊・木平英一・吉岡崇仁. (2006) 地球環境と生態系-陸域生態系の科学、武田博清・占部城太郎編著、共立出版、pp.138-155.
- Parlanti, E., Würz, K., Geoffroy, L. and Lamotte, M. (2000) Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.* **31**, 1765-1781.
- Peuravuori, J. and Pihlaja, K. (1999) In: *Limnology of humic waters*. Keskkitalo J. and Eloranta P. eds., Backhuy, Leiden, pp.11-39.
- Senesi, N. (1990) Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytica Chimica Acta* **232**:77-106.
- Skoog, A., Wedborg, M. and Fogelqvist, E. (1996) Photo-bleaching of fluorescence and the organic carbon concentration in a coastal environment. *Mar. Chem.* **55**, 333-345.
- Stedmon, C. A., Markager, S. and Bro, R. (2003) Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* **82**, 239-254.
- Sugiyama, Y., Anegawa, A., Kumagai, T., Harita, Y., Hori, T. and Sugiyama, M. (2004) Distribution of dissolved organic carbon in lakes of different trophic types. *Limnology* **5**, 165-176.
- 鈴木康弘・長尾誠也・中口譲・松永武・村岡進・平木敬三. (1997) 河川水中に溶存する蛍光物質の蛍光特性の解析(1). *地球化学* **31**:171-180.
- 占部城太郎・吉岡崇仁. (2006) 地球環境と生態系-陸域生態系の科学、武田博清・占部城太郎編著、共立出版、pp.156-185.
- Wu, F.C., Mills, R.B., Evans, R.D. and Dillon, P.J. (2005) Photodegradation-induced changes in dissolved organic matter in acidic waters. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **62**, 1019-1027.
- Yamada, Y., Ueda, T., Koitabashi, T. and Wada, E. (1998) Horizontal and vertical isotopic model of Lake Biwa ecosystem. *Jpn. J. Limnol.* **59**, 409-427.
- Yoshioka, T., Mostofa, K.M.G., Konohira, E., Tanoue, E., Hayakawa, K., Takahashi, M., Ueda, S., Katsuyama, M., Khodzher, T., Bashenkhaeva, N., Korovyakova, I., Sorokovikova, L. and Gorbunova, L. (2007) Distribution and characteristics of molecular size fractions of freshwater dissolved organic matter in watershed environments: Its implication to degradation. *Limnology* **8**, 29-44.
- Yoshioka, T., Ueda, S., Khodzher, T., Bashenkhaeva, N., Korovyakova, I., Sorokovikova, L. and Gorbunova, L. (2002) Distribution of dissolved organic carbon in Lake Baikal and its watershed. *Limnology* **3**, 159-168.