

蛍光分析で検出されるトリプトファン様物質ピークの由来はタンパク質かタンニンか

(独)日本学術振興会科学研究費(令和4~6年度)

池田和弘(代表)

共同研究機関:京都大学

1 研究背景と目的

三次元励起蛍光スペクトル法による水質評価が常法となりつつあり、河川・湖沼水の有機汚濁評価に実務的に使用されつつある。検出されるトリプトファン様ピークはタンパク質の量の指標となると信じられており、藻類あるいは生活排水にはタンパク質が多く含まれることから、河川へのそれからの混入の指標として使用されている。一方、植物由来の天然有機物であるタンニンが共存する場合、ピーク位置がトリプトファン様ピークと重なるため、指標性に疑義が生じる。水質モニタリングへの本手法の適用を考えた時、このケースでは汚濁の混入を誤検知する可能性がある。

本研究は、河川水、湖沼水、下水において、トリプトファン様ピークが真にタンパク質の指標となるか実態を解明する。特にタンニンの影響に注目し、その程度を確認する。またトリプトファン様ピークがタンパク質量の指標となる条件(水の種類、流域特性、降雨状況など)について整理する。

2 方法と結果

初年度である令和4年度は、まず、河川水の蛍光分析を河川38地点で月1回実施し、トリプトファン様ピークの蛍光強度データを取得し、地域や月間変動特性を把握した。トリプトファン蛍光強度の平均値は 0.28 ± 0.33 RUであった。下水処理場の直下で水が滞留しやすい地点で最大値0.44RU(平均値)を確認した。蛍光強度は基本的にBOD濃度と関連していたが、異常に強度の高い月も確認された。なお、トリプトファン様ピークに寄与するのが遊離のトリプトファンのみと仮定すると、平均で0.09mol/Lのトリプトファンが存在すると推算された。

次に、河川水中の低濃度タンパク質を測定する手法を検討した。Lowly法などの適用は感度や妨害成分により困難であり、河川水を濃縮し分解後アミノ酸を分析し、その濃度の合算によりタンパク質量を評価することとした。凍結乾燥により濃縮、6NHClで加熱分解、窒素ページで溶媒を置換し、LC-MS/MSで分析することとした。酸分解条件や最終溶媒を最適化し、水にスパイクした試料では回収率 $92 \pm 26\%$ (必須アミノ酸のうち17種対象)が確認された。一方、実河川水にスパイクした場合は、十分な回収率を得られなかつた。検討の結果、酸分解の過程でアミノ酸が消失することが分かつた。回収率は河川水を濃縮しない場合は $69 \pm 36\%$ と改善するため、共存成分の悪影響と判断された。次年度は膜濃縮でタンパク質を選択的に濃縮して定量を実施する予定である。