

[ノート]

大阪湾海水中難分解性溶存有機物の特性について

仲川 直子* 金澤 良昭 梅本 諭 上村 育代

Characteristics of Non- or Less-Biodegradable Dissolved Organic Matter
in Sea Water at Osaka BayNaoko NAKAGAWA*, Yoshiaki KANAZAWA,
Satoshi UMEMOTO and Ikuyo KAMIMURA*Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and
Environmental Sciences, 3-1-27, Yukihiro-cho, Suma-ku, Kobe 654-0037, Japan*

The existence of the non- or less-biodegradable organic matter has been pointed out as a reason that COD value doesn't decrease in an enclosed coastal sea.

Non- or less-biodegradable portions of dissolved organic matter (DOM) in the surface water at Osaka Bay were examined by three-dimensional excitation-emission matrix spectroscopy and analysis of molecular weight by gel chromatography.

These results suggested that a part of non- or less-biodegradable DOM had the same fluorescent property as humic substances of the soil origin, and most of them had the molecular weight from 1355 to 1500.

I はじめに

瀬戸内海は、古くから自然の恵みを提供してきたが、産業排水や生活排水の負荷により水質汚濁が進行していった。そのため、瀬戸内海の水質改善を図るため、有機汚濁の指標の一つである化学的酸素要求量 (COD) の総量規制が始まり、CODの発生負荷量は大幅に減少していった。

しかし、瀬戸内海では、依然としてCODに係る環境基準未達成の海域は多く存在しており、近年はCODの改善が進まない状況にある。そして、このように閉鎖性海域のCODの改善が進まない原因として、生物分解されにくい難分解性溶存有機物の存在が指摘され始めている^{1) 2)} が、その実態は未だ明らかにされていない。

そこで、本研究では、瀬戸内海の中でも水質汚濁が進行している大阪湾の海水中に含まれる難分解性溶存有機物の起源を特定することを目的に、蛍光特性、分子量分布特性、及びこれらの構造特性を解析した。

II 材料と方法

1. 調査地点

調査地点は、大阪湾奥部に位置する2地点であり、北緯34度41分30秒に位置し水深10mである地点を0-1、北緯34度39分18秒に位置し水深16mである地点を0-2とする。また、その位置関係については、Fig. 1に示す。

2. 難分解性溶存有機物試料の調製

地点0-1及び0-2において、2007年7月に表層水を20L採取し、直ちに実験室に持ち帰った。この表層水は、水温を20±2℃に保った状態で2時間曝気を行い、溶存酸素 (DO) を飽和させた。

水質環境部

* 別刷請求先: 〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27
兵庫県立健康環境科学研究センター
水質環境部 仲川 直子

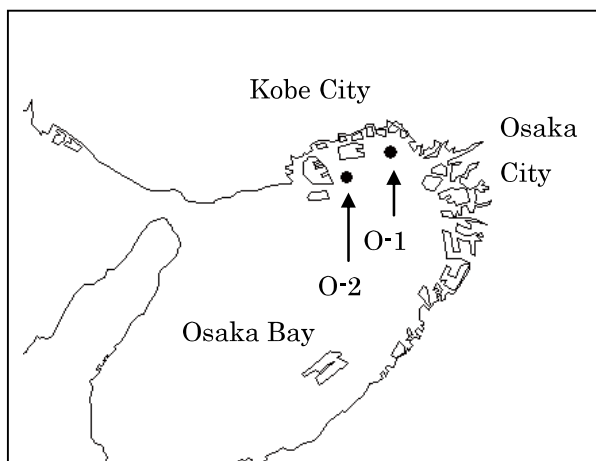


Fig.1 Location of sampling points

この前処理を行った各表層水を1Lねじ口ガラスビンに気泡が入らないように満水にして密閉し、20℃に温度設定したインキュベーター内に静置し、100日間生分解させた。この100日間生分解させた各表層水を、予め450℃、1時間加熱前処理したガラス繊維フィルター（ワットマン GF/C、孔径1.2 μm）により吸引ろ過し、ろ液を得た。

このろ液に含まれる有機物の全てを今井らの報告等^{1) 2) 3)}に従い、難分解性溶存有機物と定義し、ろ液そのものを難分解性溶存有機物試料とした。ただし、地点O-1及び地点O-2より得られたろ液をそれぞれO-1及びO-2とした。

3. 土壌腐植物質抽出液の調製

兵庫県丹波市内の里山において針葉樹林（杉、檜、松）及び広葉樹林（くぬぎ、こなら）の腐植土壌を採取し、実験室に持ち帰った後、室内で風乾させた。風乾させた腐植土壌は手で軽く揉み細分化し、2mm目のふるいを通した。このふるいを通した腐植土壌60gを0.1M水酸化ナトリウム溶液600mLの入った1Lポリビンに分取し、毎分200回転で4時間振とうさせた。その後、メンブランフィルター（孔径0.45 μm）でろ過し、0.1M水酸化ナトリウム溶液に抽出された土壌腐植物質を得た。ここで得られたろ液をそれぞれ蒸留水で100倍に希釈したものを土壌腐植物質抽出液として分析に用いた。ただし、針葉樹由来のものをHs. Aとし、広葉樹由来のものをHs. Bとした。

4. 3次元蛍光スペクトル分析

2において調製した難分解性溶存有機物試料、及び3において調製した土壌腐植物質抽出液について、3次元蛍光スペクトル分析を行った。

3次元蛍光スペクトル分析には、日立製分光蛍光光度計F-4500を用い、分析する試料を長さ1cmの無蛍光石英セルに入れ、励起波長220～500nm、蛍光波長200～600nmの間の蛍光強度を励起波長10nm、蛍光波長5nmのサンプリング間隔で測定した。

なお、腐植物質の定量方法⁴⁾に従い、試料の相対蛍光強度は、0.05M硫酸溶液の10 μg/L硫酸キニーネ溶液における励起波長350nm、蛍光波長455nmでの蛍光強度を10QSU (Quinine Sulfate Unit)として見積もった。

5. 溶存有機炭素及び紫外線吸光度

2において調製した難分解性溶存有機物試料の溶存有機炭素濃度 (DOC) を、島津製全有機体炭素計TOC-5000Aを用いて、JIS K0102, 22.2に定める燃焼酸化-赤外線式TOC自動計測法⁵⁾により測定した。

また同時に、芳香族化合物や不飽和二重結合を持つ化合物が250nm～280nmに大きな吸収を示すこと⁶⁾から、5cmの石英セルを用いて、日立製分光光度計U-2001により、紫外部波長260nmにおける吸光度 (UV260) も測定した。

なお、単位はセル長当たりのミリ吸光度とし、mABS/cmで表現した。

6. Sephadex G-15を用いたゲルクロマトグラフィー

2において調製した難分解性溶存有機物試料を100mLナス型フラスコに50mL分取し、ロータリーエバポレーターを用いて、48±2℃の温浴上で約9mLになるまで減圧濃縮を行った。減圧濃縮を行った試料は蒸留水を用いて10mLにメスアップした後、シリンジフィルター（ワットマンGD/X PVDF、孔径0.45 μm）でろ過を行い、ゲルクロマトグラフィー測定用試料とした。

なお、ゲルろ過は、亀井らの報告^{7) 8)}に準拠し、内径2.5cm、長さ100cmのカラムに高さが90cmになるようにSephadex G-15を充填し、試料5mLをカラムにのせた。溶離液は蒸留水を用い、溶出速度1.8mL/minで5mLごとに試験管90本に溶出液を分取した。

また、分取した溶出液についてそれぞれDOCとUV260を測定した。

III 結果および考察

1. 土壌腐植物質との比較における難分解性溶存有機物の蛍光特性

3次元蛍光スペクトル分析は、多様な有機物から

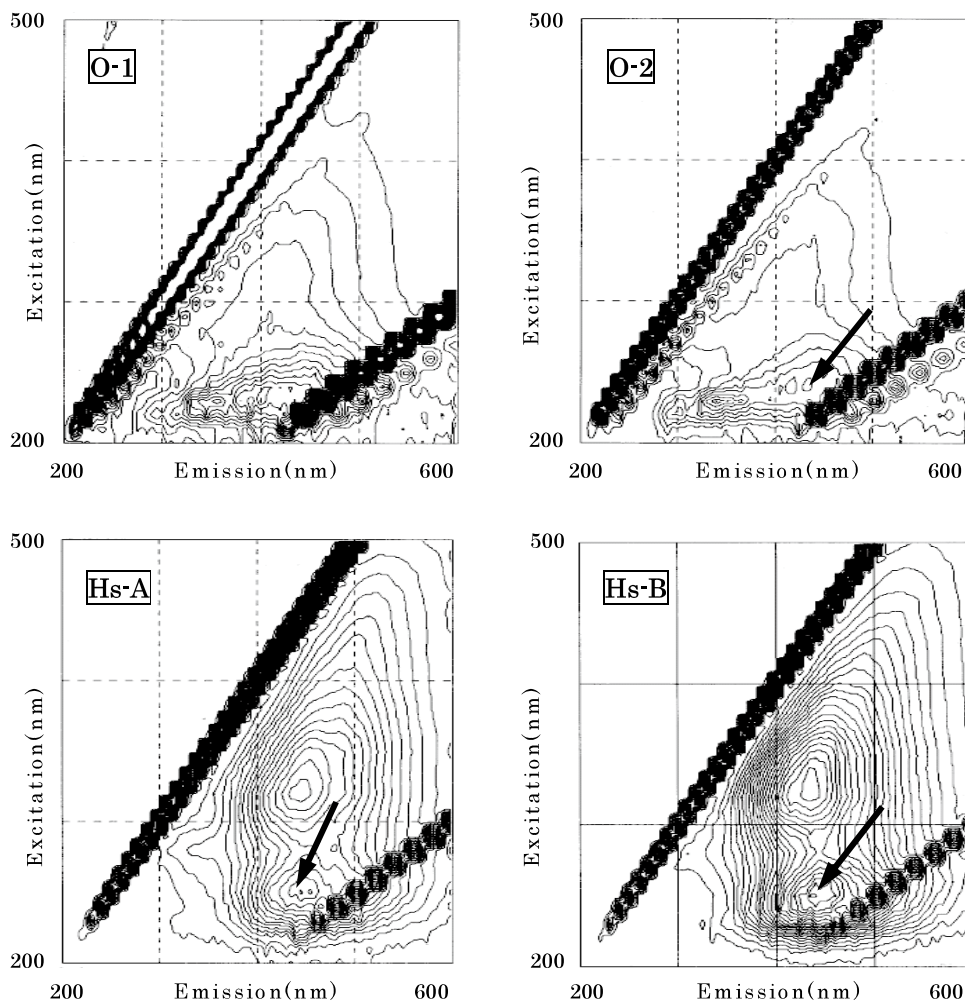


Fig.2 Characteristics of fluorescence spectra of sample O-1 , O-2 , Hs-A , and Hs-B

構成され様々な発色団を有する腐植物質のキャラクターゼーションとして有効な測定手段である。そのため、Hs. A 及び Hs. B の土壤腐植物質抽出液との比較により、O-1 及び O-2 の難分解性溶存有機物試料の3次元蛍光スペクトル分析を行い、これら試料の蛍光特性を把握した。

O-1, O-2, Hs. A 及び Hs. B の3次元蛍光スペクトル分析から得られたスペクトルを Fig. 2 に示すとともに、各スペクトルから得られたピーク位置とその相対蛍光強度を Table 1 に示す。

Fig. 2 において、O-1, O-2 の両試料と Hs. A 及び Hs. B の土壤腐植物質抽出液と比較検討した結果、これらの3次元スペクトルの形状が異なることが認められた。しかし、矢印で示すO-2 のピークの 하나가、Hs. A 及び Hs. B の矢印で示すピークと近い位置に現れており、難分解性溶存有機物を構成する有機物の一部に、土壤腐植物質と同じ蛍光特性を示す有機物が含まれることが推察された。

Table 1 Fluorescence peak positions (Excitation/Emission wavelengths) and their relative fluorescence intensity of sample O-1 , O-2 , Hs-A and Hs-B

	position. QSU	position. QSU	position QSU
O-1	230/355	230/400	
	40.5 (Tryptophan-like)	44.3 (Humic-like)	
O-2	230/340	240/420	240/435
	34.3 (Tryptophan-like)	26.6 (Humic-like)	26.2 (Humic-like)
Hs-A	250/435	320/440	
	49.9	56.6	
Hs-B	250/435	330/435	
	79.5	77.1	

また、Table 1 より、3次元蛍光スペクトルのピークの数に0-2より0-1の方が少ないことから、難分解性溶存有機物を構成する物質のうち、蛍光を発する有機物の種類は0-2より0-1の方が少ないことが考えられた。

なお、Table 1 中の括弧書きについては、福島らによりまとめられた3次元蛍光スペクトルのピーク位置の報告⁹⁾を参考に推測される由来物質を示したものであり、tryptophan-like及びhumic-likeは、それぞれトリプトファン、及び腐植物質に現れるピーク位置と類似したピーク位置であることを示した。そのため、0-1、0-2ともに、トリプトファン様(タンパク質様)及び腐植物質様の2のピークが認められたこととなり、海水中の溶存有機物がタンパク質様と腐植物質様の2つの蛍光を発するグループに大別されるというMopperら¹⁰⁾の報告と同様のことが、海水中の難分解性溶存有機物においても認められた。

これらの結果から、地点0-1及び0-2における海水中にはtryptophan-like及びhumic-like構造を有する難分解性溶存有機物を含むことが考えられた。

2. 溶存有機炭素濃度(DOC)と紫外線吸光度(UV260)

との比から見た難分解性溶存有機物の構造特性

難分解性溶存有機物試料(0-1及び0-2)のDOC、UV260、及びDOCに対するUV260の比をTable 2に示す。

Table 2より、DOCは0-1と0-2で大きな差はなかったが、DOCに対するUV260の比は0-2より0-1の方が大きいことが分かった。このことより、難分解性溶存有機物を構成する有機物に含有する芳香族や不飽和二重結合等の官能基の数は、0-2より0-1の方が多いたことが考えられた。

また、DOCに対するUV260の比が、外来性由来の有機物と内部生産由来の有機物で大きく異なり、内部生産由来の有機物の方が外来性由来の有機物に比

Table 2 Comparison of DOC, UV absorbance at 260nm, and ratio of UV absorbance at 260nm to DOC between sample O-1 and O-2.

	O-1	O-2
DOC (mg/L)	1.63	1.74
UV260 (mABS/cm)	41.2	34.0
UV260/DOC (mABS/cm/(mg/L))	25.3	19.6

べDOCに対するUV260の比が低いという報告¹¹⁾があることから、より湾の奥側に位置する0-1の方が0-2より外来性由来の有機物の割合が高いことが推測された。

3. Sephadex G-15を用いたゲルクロマトグラフィーによる難分解性溶存有機物の分子量分布特性及び構造特性

有機物の分子量分布は、溶存有機物の特徴を理解する上で重要な項目の一つとして、河川と湖沼を中心に多くの報告^{7) 12) 13) 14) 15)}があり、水環境中の高分子側を占めると考えられるフルボ酸は、分子量が500~2,000の範囲にあると言われている¹⁶⁾。そのため、分子量1,500以下を十分に分離し得るSephadex G-15を用いてゲルクロマトグラムを求めた。

難分解性溶存有機物試料(0-1及び0-2)のゲルクロマトグラムをFig. 3に示すとともに、Table 3に各ピーク位置についてのDOC、UV260、及びDOCに対するUV260の比を示す。

Fig. 3に示すVo(void volume)は、分画可能範囲外の物質の溶出位置であり、担体として用いたSephadex G-15の分画可能分子量が1,500以下であることから、Voを分子量1,500以上の位置とみなせる。また、1,355の位置は、分子量のマーカとしてVitamin B12(分子量1,355)の溶出位置を示している。

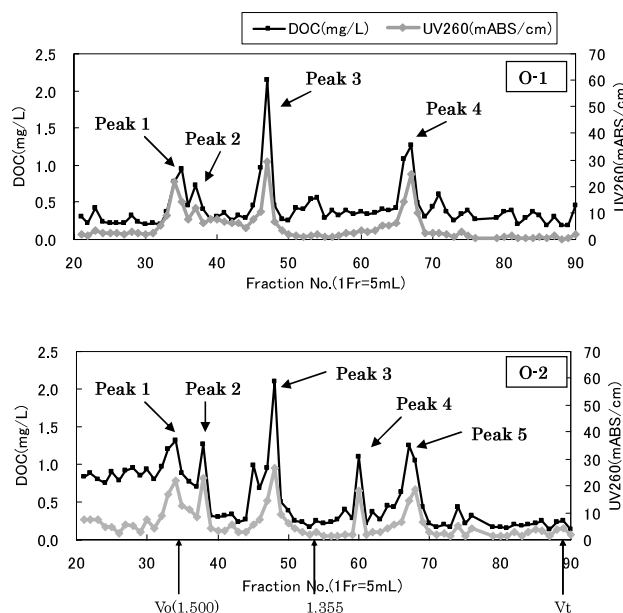


Fig. 3 Gel chromatograms of sample O-1 and O-2 with Sephadex G-15. Vo and Vt show void volume and total bed volume (441.6mL), respectively.

Table 3 DOC, UV absorbance at 260nm, and ratio of UV absorbance at 260nm to DOC of each peak

	O-1				O-2				
	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5
DOC (mg/L)	0.94	0.73	2.15	1.26	1.31	1.27	2.10	1.10	1.05
UV260 (mABS/cm)	14.2	12.0	29.2	24.8	21.8	23.0	26.4	18.0	18.6
UV260/DOC (mABS/cm/(mg/L))	15.0	16.4	13.6	19.7	16.6	18.1	12.6	16.4	33.6

Fig. 3 より, 0-1 及び 0-2 とともに V_0 の位置に 1 つのピーク (peak1) が現れ, 分子量 1,500 以上の高分子化合物の存在が示された. しかし, V_0 から V_t までの間にいくつかのピークが見られるとともに, 分子量 1,355~1,500 の間に DOC の最大値を示すピーク (peak3) が認められたため, 難分解性溶存有機物を構成する有機物のかなりの部分は分子量 1,500 以下のものであることが分かった.

また, 0-1 は主なピークの数 が 4 つであったのに対し, 0-2 は 5 つであり, 0-1 に比べ 0-2 の方が構成する難分解性溶存有機物の種類が多いことが示唆された. そのため, 3 次元蛍光スペクトル分析から得られた蛍光を発する有機物の種類が 0-1 より 0-2 の方が多いという結果と同様の傾向が認められ, 同じ沿岸域でも地点が変われば, 異なる難分解性溶存有機物が存在することを示すことが認められた.

次に, Table 3 より, 0-1 及び 0-2 とともに DOC が最大値を示すピーク (peak3) において, DOC に対する UV260 の比が最も低い値になることが認められた. そのため, 大阪湾海水中難分解性溶存有機物に含まれる有機物のうち, 比較的多く含まれるものは, 芳香族や不飽和二重結合等の官能基の数が比較的小さい有機化合物であることが示唆された.

IV 要 旨

本研究では, 大阪湾の湾奥部に位置する 2 地点から採水した表層水を対象として, 難分解性溶存有機物の蛍光特性, 分子量分布特性, 及び構造特性について解析した. その結果, 構成する有機物の種類や由来について地点間の差異を確認するとともに, 難分解性溶存有機物の一部に土壌腐植物質由来の有機物が含まれること, 難分解性溶存有機物を構成する有機物の大半は分子量 1,500 以下であること, また,

構成する有機物のうち, 最も多く含まれる有機物の分子量は, 1,355~1,500 の間であり, その構造は, 芳香族や不飽和二重結合等の官能基の数が比較的小さいものであることが示唆された.

謝 辞

本研究を実施するにあたり, 大阪湾広域臨海環境整備センターによる「大阪湾圏域における廃棄物・海域水環境保全に係る調査研究助成事業」の助成を受けました.

ここに記して謝意を表します.

文 献

- 1) 今井章雄: 湖沼トレンドモニタリングでみる難分解性有機物の特性と動態. 地球環境研究センターニュース, Vol.14 No.7, 11-14(2003)
- 2) 今井章雄: 難分解性溶存有機物. 環境儀, No.13, 4-5, 独立行政法人国立環境研究所発行, 茨城県 (2004)
- 3) 小田泰史, 今村修, 山崎文雄, 山形卓, 植木肇: 緑川の難分解性有機物負荷量. 熊本県保健環境科学研究所報, 31号, 61-65(2001)
- 4) 長尾誠也: 腐植物質 (フミン物質). 日本分析化学会北海道支部編, 水の分析, 376-378, (株)化学同人, 京都 (2005)
- 5) 日本規格協会: 工場排水試験方法 JIS K 0102, 57, 日本規格協会発行, 東京 (1998)
- 6) 矢部禎昭: COD 及び排出量の測定技術. 用水と廃水, Vol.22 No.10, 11-19(1980)
- 7) 亀井翼, 丹保憲仁: 水質のマトリックス的評価のためのゲルクロマトグラフィー. 水道協会雑誌, 第 519 号, 24-41(1977)

- 8) 丹保憲仁, 亀井翼 : マトリックスによる都市水代謝の水質評価. 水道協会雑誌, 第 502 号, 2-24 (1976)
- 9) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤 : EEMS による水中溶存有機物の特性解析. 水環境学会誌, Vol.24 No.10, 686-692 (2001)
- 10) Mopper, K. and Schultz, C.A. : Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Marine Chemistry*, 41, 229-238 (1993)
- 11) 福島武彦, 今井章雄, 松重一夫, 井上隆信, 小澤秀明 : 湖水溶存有機物の紫外線吸光度 : DOC 比の特性とそれの水質管理への利用. 水環境学会, Vol.20 No.6 号, 397-403 (1997)
- 12) 大竹嘉尚, 根岸正美 : 霞ヶ浦における溶存有機物に関する研究. 茨城県公害技術研究所報, 14, 1-8 (2005)
- 13) 斉藤喜二, 早野茂夫 : フルボ酸のゲルクロマトグラフィー. 生産研究, 29 巻 3 号, 75-78 (1977)
- 14) 長尾誠也 : 水中腐植物質の溶存形態解析. 水環境学会誌, Vol.27 No.2, 18-21 (2004)
- 15) 松原英隆, 浦野紘平 : フミン質の酸化処理によるトリハロメタン生成能と分子量分布の変化. 水環境学会誌, Vol.21 No.5, 281-287 (1998)
- 16) 今井章雄 : 水環境における腐植物質の役割と分析法の進歩. 水環境学会誌, Vol.27 No.2, 2-7 (2004)