

財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構 成果報告会 平成 24 年 3 月 6 日  
【平成23年度 水質保全研究助成】

## 琵琶湖難分解性有機物の有機物組成および 核磁気共鳴分光法による構造特性の解明

京都大学大学院 工学研究科  
附属流域圏総合環境質研究センター

日下部 武敏

2 / 19

### 謝 辞

- 本研究は、貴機構のH23年度水質保全研究助成を受けて実施されました。
- 本研究の成果は、京都大学・清水芳久教授のご指導の下、秋田泰典君 修士論文の一部を取りまとめたものです。また、本研究は、研究所所属のスタッフ・学生のご協力を得て実施されました。
- 採水調査、研究設備、一 提供の面などで、滋賀県琵琶湖環境科学研究中心の多大なご支援、ご協力を賜りました。
- NMR測定では、分子科学研究所・機器センターを施設利用させていただきました。

関係各位に深く感謝申し上げます。

3 / 19

### 研究背景

近年、湖沼や閉鎖性内湾において、難分解性有機物の増加・蓄積が報告されている。

点源・面源対策

BOD/COD乖離

難分解性有機物の増加・蓄積？

湖沼生態系に大きな影響を与える可能性

過年度までに、「季節変化を考慮した琵琶湖難分解性溶存有機物の特性把握と生態毒性評価」を目的とし、

- ✓より現場に近い条件下における天然有機物(NOM)の本質的な分解性評価が可能な分解性試験法を確立し、琵琶湖NOMへ適用した。
- ✓藻類の蛍光特性を利用した生態毒性評価法の基礎的検討を実施した。

4 / 19

### H22年度の主な研究成果① 難分解性溶存有機物の定量

ろ過試料

未ろ過試料

Blank

- 試験開始後100日を超えた後も有機炭素濃度の減少傾向が観られる。  
→湖沼の有機物の厳密な分解性評価には200日程度必要である。
- ろ過試料と比べて、未ろ過試料の有機炭素分解率が高かった。  
→SSとそれに付着した細菌等の寄与が大きい可能性がある。

5 / 19

### H22年度の主な研究成果① 難分解性有機物の特性把握

(a) フミン酸様物質ピーク強度

(b) フルボ酸様物質ピーク強度

- 生物起源と考えられるタンパク質様物質はほとんど残存していない。
- フミン酸様物質には分解過程で増加・蓄積する画分(フルボ酸様物質)と減少する画分(フミン酸様物質)があることが示唆された。  
→有機物組成(単糖、アミノ酸、脂質・脂肪酸など)や高度機器分析(NMRなど)を用いて難分解性有機物の化学構造を把握し、その監視・モニタリングのための指標づくりや環境改善技術の開発に資する。

6 / 19

### H23年度の研究目的

【目的①】  
琵琶湖湖水等の採水と水質の測定

【目的②】  
難分解性有機物の定量と長期間分解性試験における分解挙動の評価

琵琶湖・淀川流域における  
難分解性有機物の化学組成・構造特性の解明

【目的③】  
難分解性有機物の化学組成の把握  
単糖組成分析  
アミノ酸組成分析

【目的④】  
NMRによる難分解性有機物の構造特性の解明

### 長期間分解性試験の概要

7 / 19

試料採取日  
2010年 7月5日(夏季)、10月18日(秋季)  
2011年 1月18日(冬季)、5月23日(春季)

調査地点  
今津沖中央(17B)

ステンレスバケツを用いて表層水を採取

表層水  
未ろ過試料

長期間分解性試験

- ✓ろ過、接種、栄養塩の添加なし
- ✓DOC濃度、POC濃度を経時的に測定
- ✓DOCの減少傾向が収まるまで継続
- ✓試験終了後に残存した有機物を『難分解性有機物』と定義

・好気性条件、20°C、暗条件  
・60rpmで振とう攪拌

より現場に近い条件での琵琶湖NOMの分解挙動を再現

### 琵琶湖NOMの長期間分解性試験：結果①

8 / 19

TOC濃度 (mgC/L)

経過日数 (日)

夏季 (224日間)  
春季 (224日以上)  
冬季 (364日間)  
秋季 (448日間)

琵琶湖NOMの分解には、200~500日程度必要。

### 琵琶湖NOMの長期間分解性試験：結果②

9 / 19

DOC濃度 (mgC/L)

経過時間 (日)

DOCの分解：200日以上必要

POMの分解：50~100日程度

DOC、POC濃度：分解後は季節に関係なく同程度

琵琶湖NOMは存在形態により分解挙動が異なる  
難分解性有機物濃度は季節によらずほぼ一定

### 琵琶湖NOMの有機物分解モデル①

10 / 19

Multi-G モデル (R.A. Berner, 1980)

複雑な混合物である有機物を無機化速度が同じと見なされる複数の成分に分類し、それぞれの成分が1次分解反応に従うとする。

$$C(t) = \sum C_i \exp(-k_i t) + C_R$$

難分解性成分 (Refractory)

$i = \text{labile (L), semi-labile (SL), semi-refractory (SR), etc.}$   
(易分解性) (準易分解性) (準難分解性)

琵琶湖NOMの分解挙動は、3成分モデルで精度よく再現できる  
易分解性POMの速度定数( $k_i$ )は季節によらず一定

### Multi-G model 解析結果の季節間比較

11 / 19

OC濃度 (mgC/L)

夏季 秋季 冬季 春季

POM  
易分解性(L)  
準易分解性(SL)  
難分解性(R)

DOM  
易分解性(L)  
準易分解性(SL)  
難分解性(R)

難分解性有機物は主要な存在形態は溶存態(DOM)である  
琵琶湖難分解性有機物の濃度は季節的な変動が少ない

### 琵琶湖NOMの短期間分解性試験：結果①

12 / 19

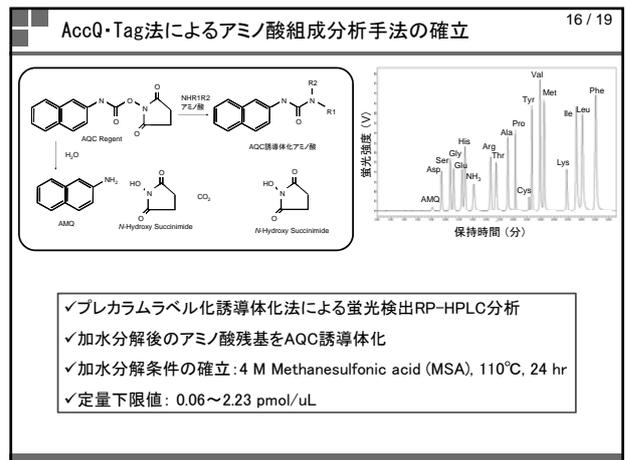
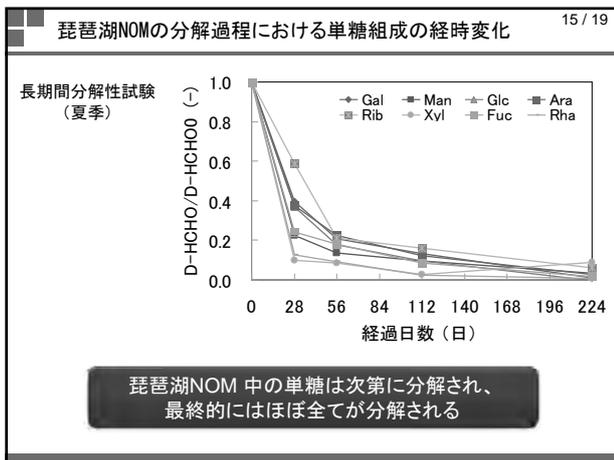
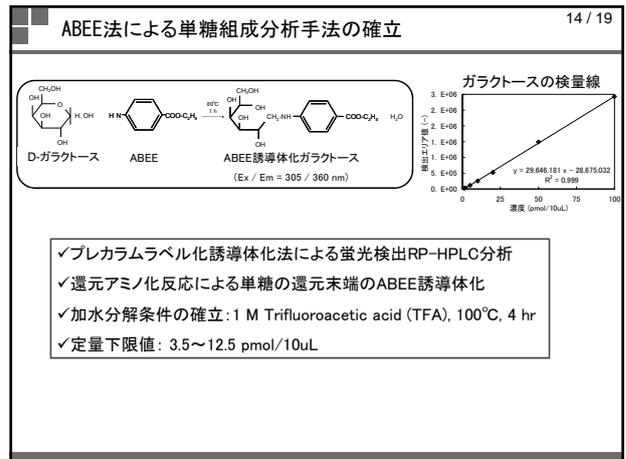
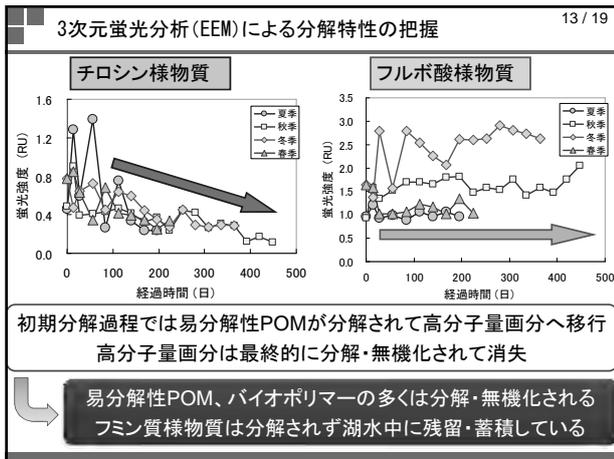
OC濃度 (mgC/L)

経過日数 (日)

TOC  
DOC  
POC

全菌数

初期分解過程において、POM分解に伴うDOMへの移行が重要

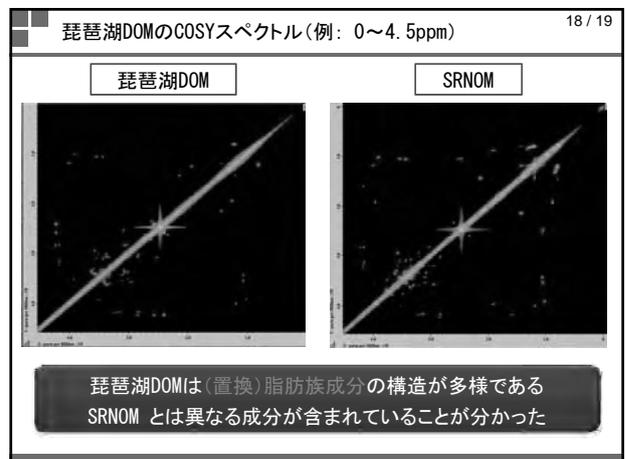


NMR分析条件の検討 17 / 19

本研究で適用を検討したパルスシーケンスの概要

パルスシーケンス	観測核 × 照射核	概要
1D	<sup>1</sup> H × <sup>1</sup> H	<sup>1</sup> Hを検出する。最も基本的な測定方法
	<sup>13</sup> C × <sup>13</sup> C	<sup>13</sup> Cを検出する。最も基本的な測定方法
<sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY	<sup>1</sup> H × <sup>1</sup> H	2結合または3結合離れている <sup>1</sup> H同士を検出する測定方法 f <sub>1</sub> 軸、f <sub>2</sub> 軸ともに <sup>1</sup> Hの化学シフトを表示。f <sub>1</sub> 軸、f <sub>2</sub> 軸が交わる場所に相関信号が現れる。
TOCSY	<sup>1</sup> H × <sup>1</sup> H	<sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cを通して、同じスピン系に属する <sup>1</sup> H同士の相関を検出できる測定方法 f <sub>1</sub> 軸、f <sub>2</sub> 軸ともに <sup>1</sup> Hの化学シフトを表示。f <sub>1</sub> 軸、f <sub>2</sub> 軸が交わる場所に相関信号が現れる。混合時間差を長くするほどより離れた糖との相関信号が得られるが、SN比が減少する。
2D	<sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C HSQC	直接結合している <sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cを検出する測定方法 f <sub>1</sub> 軸は <sup>1</sup> Hの化学シフトを示し、f <sub>2</sub> 軸は <sup>13</sup> Cの化学シフトを示す。f <sub>1</sub> 軸とf <sub>2</sub> 軸の垂線の交わる場所に相関信号が現れる。相関信号は、対応する <sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cが直接結合していることを示す。
	<sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C HMQC	2結合または3結合離れている <sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cを検出する測定方法 f <sub>1</sub> 軸は <sup>1</sup> Hの化学シフトを示し、f <sub>2</sub> 軸は <sup>13</sup> Cの化学シフトを示す。f <sub>1</sub> 軸とf <sub>2</sub> 軸の垂線の交わる場所に <sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cのロングレンジ結合の相関信号が現れる。また、直接結合している <sup>1</sup> Hと <sup>13</sup> Cの相関信号も観測される。

ロングレンジ信号は得られず、<sup>1</sup>HとCOSYによる解析へ



- ◆ 分解性試験による琵琶湖NOMの分解特性評価
  - 長期間 & 短期間分解性試験による琵琶湖NOMの分解特性を把握した。
  - 琵琶湖NOMの分解には、200~500日程度必要である。
  - 琵琶湖NOMは存在形態(DOM、POM)により分解挙動が異なる。
  - 琵琶湖NOMの分解挙動は、Multi-G model (3成分)で精度よく再現できる。
  - 易分解性POMの速度定数( $k_1$ )は季節によらず一定であった。
  - 難分解性有機物は主要な存在形態は溶存態(DOM)である
  - 琵琶湖難分解性有機物の濃度は季節的な変動が少ない。
  - 初期分解過程において、POM分解に伴うDOMへの移行が重要である。
  - 初期分解過程で易分解性POMが分解されて高分子量画分へ移行し、高分子量画分は最終的にほとんどが分解・無機化されて消失する。
  - フミン質様物質は分解されず湖水中に残留・蓄積している。
- ◆ 有機物組成分析法およびNMR法の確立
  - ABEE法による単糖組成分析法を検討・確立した。
  - AccQ・Tag法によるアミノ酸分析法を検討・確立した。
  - NMR法を選定し、脱塩・精製した琵琶湖DOMの1D & 2D測定を行った。