

**Table 3** Sampling and experiment dates (M/D/Y) and global solar and UV-A radiation.

Sample name	Sampling date	Experiment date	Global solar radiation (MJ·m <sup>-2</sup> )	UV-A radiation (kJ·m <sup>-2</sup> )
Kurose River	5/18/2001	5/19/2001	26.43	1480
M WWDF influent	7/17/2001	7/31/2001	20.49	1147
M WWDF effluent	7/17/2001	8/3/2001	22.54	1262
Ota River	8/29/2001	9/5/2001	15.23	853
Hiroshima Bay St. 2	8/29/2001	9/9/2001	16.04	898

で3系列実験を行った。その結果、EEMで検出されたピークはPeak3, 6であり、この内Peak3は30日後の減少率が3系列の平均で13%程度であり、3系列の変動係数は10日後、30日後共に4.7%であった。Peak6に関しては、30日後の減少率がわずかに3%程度であり、系列毎のばらつきか、測定誤差によるばらつきか判断できないため、再現性確認の対象から外した。この結果から、本研究の生物分解実験は再現性があると考えられる。

2.3 分析方法

サンプルのEEMは、150Wキセノンランプを搭載したSHIMADZU RF-5300PC分光蛍光光度計で測定した。Milli-Q水 (Millipore社 Milli-Q SP.TOCにより精製した水) の中で1時間超音波洗浄した1cm×1cm光路長の無蛍光石英セルをサンプル水で2回とも洗い、その後サンプル水を入れ測定に供した。サンプリング間隔は励起、蛍光波長とも5nm、バンド幅はそれぞれ5nm、測定範囲は励起波長220nm～600nm、蛍光波長230nm～600nmとした。スキャン速度は約1600nm/minで、1サンプルの測定に要する時間は約15分であった。サンプルのRFIは、0.1N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>1lに硫酸キニーネ10μgを溶解させた溶液を標準溶液として用い、励起波長345nm、蛍光波長450nmでの蛍光強度をIQSU (Quinine Sulfate Unit)として求めた。なお、Milli-Q水の測定を行い、これをブランクとして、すべての測定値から差し引いた。

DOC濃度は、ろ液に2MHClを添加し、pHを約2に調整したサンプルに純空気を通気し、無機炭素を除去した後、高感度触媒を組み込んだSHIMADZU TOC-5000を用いて測定を行った。

3. 結果と考察

3.1 EEMのピーク位置

本研究では、Table 4に示す7つの代表的なピークに着目し解析を行った。なお、Moranらは、EEMに示されるピークの位置が、光分解では励起・蛍光波長とも10nm短波長側に移動し、生物分解ではほとんど移動しない、また光分解を受けた後、生物分解を受けたサンプルは励起波長が5nm、蛍光波長が10nm短波長側に移動したと報告している<sup>12)</sup>。しかし本研究では、Fig. 1に示すようにその変化はBL分解、生物分解ともに一定の傾向が見られず、移動した励起・蛍光波長はほとんどのサンプルで±10nm以内であることが確認された。ただし、2000年9月、11月にそれぞれサンプリングした広島湾 St. 1サンプルのPeak4に関しては、生物分解において蛍光波長がそれぞれ35nm、40nm短波長側に移動した。SL分解においても結果はBL分解と同様であった(データ省略)。このことから、光分解及び生物分解によるEEMのピーク位置の

**Table 4** Positions of the 7 peaks and their origins<sup>9)</sup>.

Peak No.	Position:Ex/Em (nm)	Origin
Peak1	225/295	Protein-like (Tyrosine-like)
Peak2	230/345	Protein-like (Tryptophan-like)
Peak3	250/435	Fulvic/Humic-like
Peak4	270/350	Protein-like
Peak5	320/390	Marine fulvic/humic-like
Peak6	335/435	Fulvic/Humic-like
Peak7	495/515	STP effluent-like

Ex: Excitation wavelength

Em: Emission wavelength

移動は全体的に見て小さいと考えられるため、EEMの検出方法は福島ら<sup>9)</sup>の示した検出方法によった。

3.2 SL分解とBL分解の比較

3.2.1 EEM形状及び分解速度係数による比較

SL分解及びBL分解実験を行い、そのEEMの形状を比較した。EEMの例をFig. 2に示す。Fig. 2中の等高線はRFIの値を示し、グラデーションは減少の程度を表す比(光分解前RFI/光分解後RFI)を示す。なお、Fig. 2中のSL分解のEEMは、SLを日の出から日の入りまで照射した時のUV-A放射量を1080kJ·m<sup>-2</sup>·day<sup>-1</sup>(BLを24時間照射した時のUV-A放射量)に換算し、補正を行ったものを示した。

Fig. 2に示すサンプルの内、黒瀬川サンプルではSL分解とBL分解でその形状変化はほぼ同程度である。M汚水処理施設処理水サンプルでは、SL分解とBL分解のEEMを比較するとPeak4, 6付近の等高線形状が異なるように見える。しかし、Peak4付近に関しては減少比(グラデーション)から分かるように、SL分解、BL分解共にRFIの減少はほとんどないため、Peak4付近の等高線形状はPeak6付近の等高線形状の変化の影響によって異なるように見えたと考えられる。またPeak6に関しては、減少比が若干異なることが原因であるが、減少比のピークの位置(グラデーション)はSL分解、BL分解ともに同じ位置である。SLとBLでは光源の持つスペクトルがもともと極端に異なっている。すなわち、SLは200nm～2000nmの範囲で500nm付近に極大を持ち、BLは300nm～400nmの範囲で350nm付近に極大を持つスペクトルを有するにも関わらず、EEMの形状変化はSL分解、BL分解ともに、Peak6付近が特に減少している。このことから、SL分解とBL分解によるEEMの形状変化には300nm～400nmの光の影響が大きいことが分かる。ただし、SL分解の場合はPeak7付近も減少している。これは、BLでは400nm以上の光がないのに対し、SLでは400nm以上の光を十分に発していることに起因するものと思われる。しかし、Peak7に関しては独立性が高いので、他のピークへの大きな影響はないといえる。

また、黒瀬川、M汚水処理施設処理水以外のサンプルでは、広島湾 St. 2表層や太田川のような海水、河川水サンプルでは、黒瀬川サンプルと同様の傾向を示した。M汚水処理施設流入水サンプルでは、処理前後における大きな差異はなくM汚水処理施設処理水サンプルと同様に、Peak6付近の等高線形状が異なるように見えたが、減少比のピークの位置はSL分解、BL分解ともに同じ位置であった。

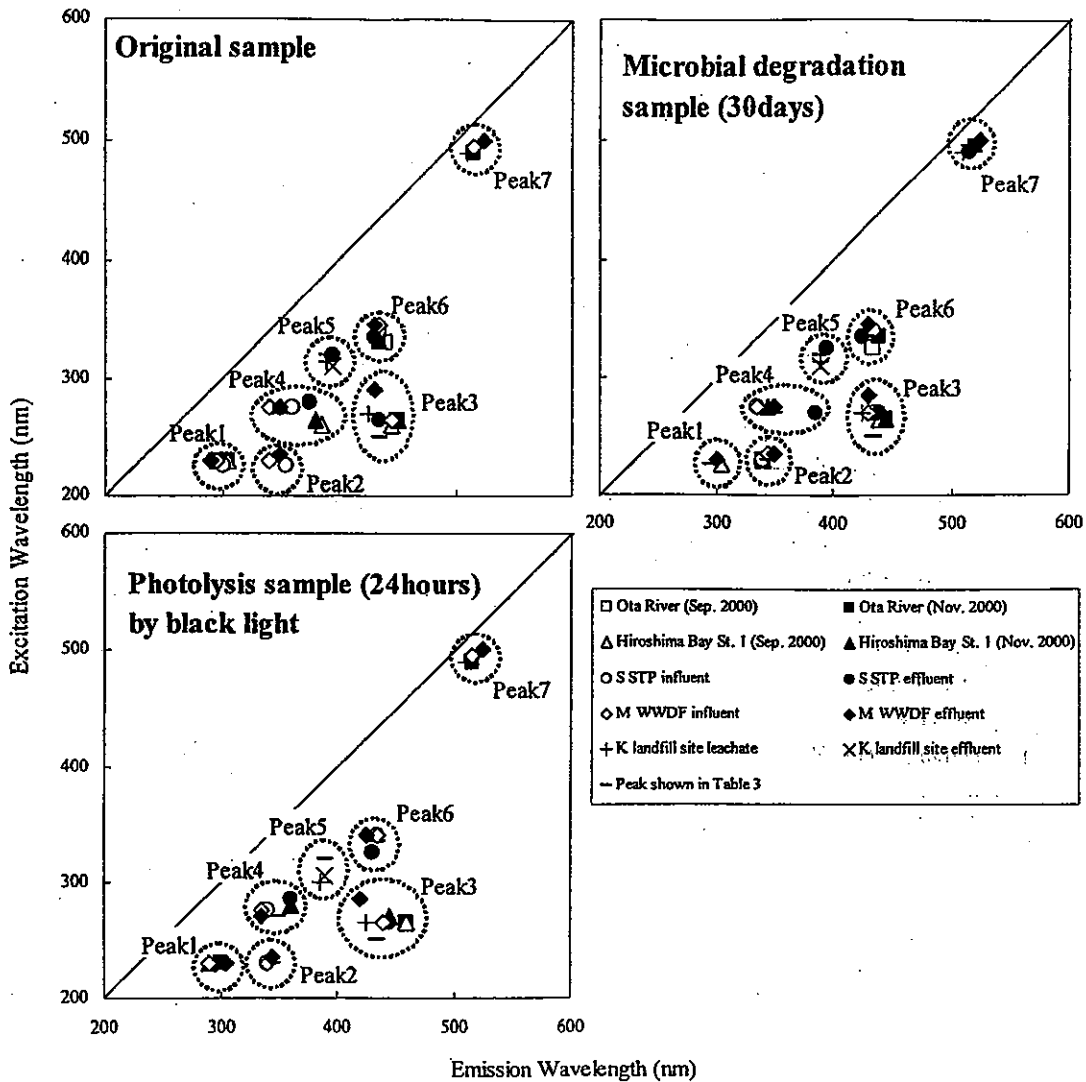


Fig. 1 7 peaks positions in EEM.

Table 5 に SL 分解, BL 分解による各ピークの分解速度係数 ( $dc/dt = -kc$  の  $k$ , ただし  $C$  は RFI) を示す。Table 5 に示すように, 全てのサンプルにおいて SL 分解, BL 分解共に特に Peak6 の分解速度係数が高く, 次いで Peak3 のそれが高いことが分かる。またその他のピークに関しては, いくつか高い分解速度係数を示すものもあるが, 全体的に Peak3 及び Peak6 のそれに比べると小さい。つまり, 光分解による EEM の形状変化は, Peak3 及び Peak6 の RFI の減少がその主因子と考えられ, このことから Peak3 及び Peak6 の変化が SL 分解, BL 分解において同様であれば, それらの EEM への影響はほぼ同様と考えて良いのではないと思われる。

3.2.2 RFI/DOC 及び分解速度係数比による比較

光分解による EEM 形状変化の主因子と考えられる Peak3 と Peak6 に着目し, これらの変質前後の RFI/DOC を SL 分解と BL 分解で比較した。その結果を Fig. 3 に示す。さらに, Fig. 3 には BL 分解と生物分解の比較も示した。なお, Peak3 または Peak6 が検出されなかったサンプルは比較の対象からはずした。

Fig. 3 に示す通り, Peak3, 6 とも BL 分解と SL 分解の  $(RFI/DOC)_{after} / (RFI/DOC)_{before}$  を比較すると傾き 1 の破線から大きく外れていなかった。一方, BL 分解と生物

分解の比較を行ったものは大きく外れていた。このことから, DOC 濃度の大小が各分解へ与える影響を考慮した上で, Peak3, 6 のようなフミン物質の場合, その変質現象が, BL 分解と生物分解よりも BL 分解と SL 分解の方が類似していることを示している。これは SL 分解及び BL 分解の場合, その DOC 濃度の減少はほとんどなく, 一方で生物分解における DOC 濃度の減少が大きいことに起因するものと思われる。

さらに, Peak3, 6 の分解速度係数の比を SL 分解と BL 分解で比較した (Fig. 4)。その結果, Peak3 と Peak6 の分解速度係数比は SL 分解の方が BL 分解より大きいとその差は大きくない。つまり, 3.2.1 に上述したように, 光分解による EEM 形状変化の主因子と考えられる Peak3 と Peak6 の分解速度係数比が等しいことから, SL と BL では光源のスペクトルが異なるが, EEM の形状変化への影響はほぼ同様であると考えられる。

また, Fig. 5 に示すように Peak3, 6 それぞれの分解速度係数を SL 分解と BL 分解で比較すると, BL 分解よりも SL 分解の方が大きな値を示した。これは, 本研究では, EEM へ影響を与える光の波長域を UV-A と仮定し, SL 強度を BL 強度に換算したが, 実際は可視光や UV-B の波長域の光の影響も受けていることが原因として考えられ

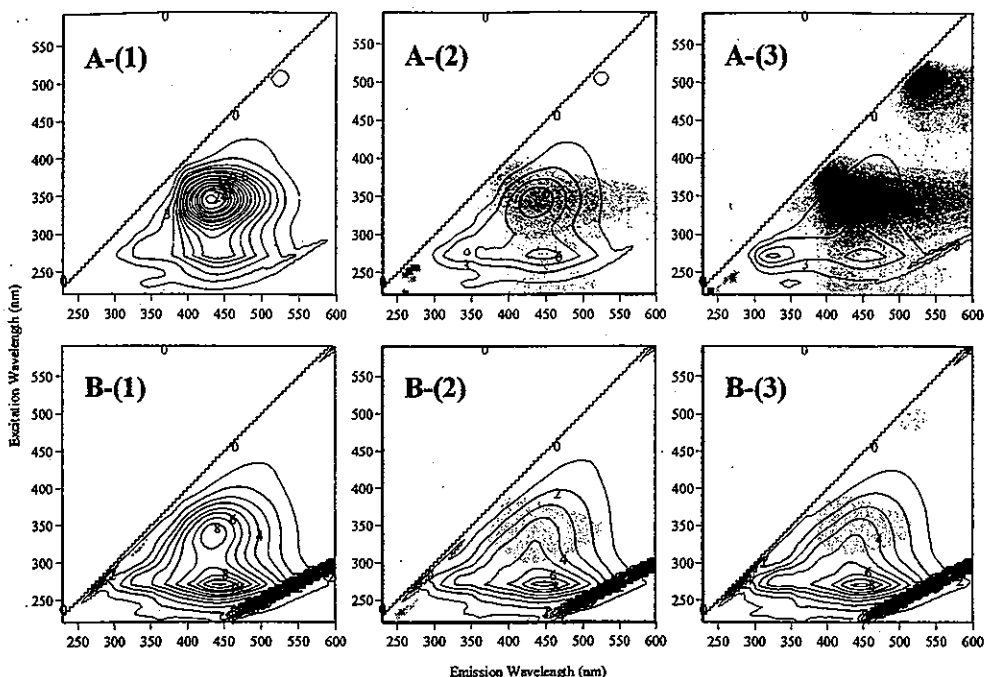


Fig. 2 EEM transformations by SL and BL photolysis.

A: M WWDF effluent water sampled on July 2001.

B: Kurose river water sampled on May 2001.

(1) Original sample, (2) BL photolysis for 24 hours, (3) SL photolysis for the duration equivalent to 24 hours BL photolysis in terms of UV-A radiation (see text).

Table 5 The rate constants of each peak ( $10^{-3} \cdot d^{-1}$ ).

(1) Photolysis by SL

Sample name	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7
Kurose River	0.9	ND	15	ND	ND	26	ND
Ota River	7.7	ND	20	ND	ND	29	ND
Hiroshima B. St. 2	ND	ND	16	2.5	ND	22	ND
M WWDF influent	1.0	18	34	21	ND	80	ND
M WWDF effluent	3.3	8.8	28	8.8	ND	80	ND

(2) Photolysis by BL

Sample name	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7
Kurose River	2.4	ND	12	ND	ND	26	ND
Ota River	6.7	ND	12	ND	ND	21	ND
Hiroshima B. St. 2	ND	ND	10	8.8	ND	19	ND
M WWDF influent	1.6	8.4	19	11	ND	47	1.3
M WWDF effluent	1.6	1.6	19	3.5	ND	56	3.3

ND: The rate constants could not be calculated because the peak could not be detected.

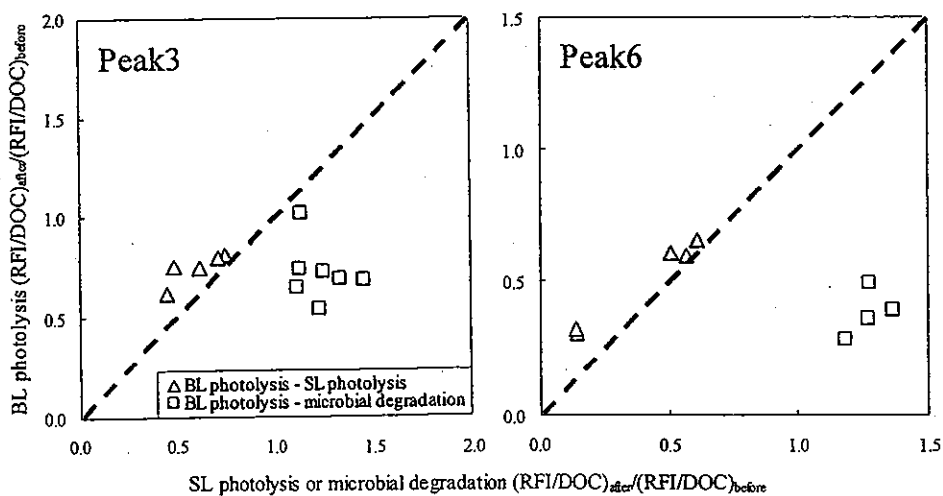


Fig. 3 Comparisons of  $(RFI/DOC)_{after}/(RFI/DOC)_{before}$  between BL photolysis and SL photolysis, and between BL photolysis and microbial degradation.

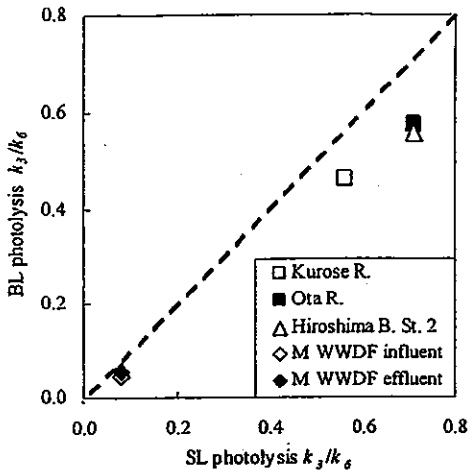


Fig. 4 Ratios of  $k_3$  to  $k_6$  ( $k_3/k_6$ ) between SL and BL photolysis.

$k_3$ : diminishing rate constant of Peak3  
 $k_6$ : diminishing rate constant of peak6

る。しかし、海水、河川水等の分解速度係数が低いサンプルに関しては、 $k_3$ 、 $k_6$ ともにSL分解とBL分解の差異は比較的小さい。さらに、M汚水処理施設流入水、処理水のように分解速度係数が高いサンプルでも、その比は最大で1.81 (平均:  $1.44 \pm 0.25$ ) であり、SL分解とBL分解の分解速度係数比が2倍以上異なるサンプルはなかった。これらのことから、EEM変化へ最も大きな影響を与える因子はUV-Aの波長域であると考えられる。

以上から、2倍以内の誤差を許容すれば、SLによるEEM変化の様子はBLでの模擬実験で推測可能と考えられる (Peak7を除く)。

3.3 BL分解と生物分解

3.3.1 EEMの形状変化

同一サンプルを用いて、BL分解実験と生物分解実験を行い、そのEEMの形状変化を比較した (Fig. 6)。等高線部分及びグラデーション部分は Fig. 2 と同様に示した。なお、本研究における生物分解とは、2.2に前述したように20°C一定の暗所に静置し、サンプリングの度に攪拌を行うという条件において行われた分解である。

BL分解と生物分解では、変質後のEEM形状が大きく

異なっていた。BL分解では、すべてのサンプルにおいてPeak6付近を中心にRFIの減少が見られた。一方、生物分解では、太田川サンプル (Fig. 6 C) に見られるように、EEMは実サンプルから大きく変化することはなかった。しかし、S下水処理場流入水サンプル (Fig. 6 D) では、Peak4付近が急激に減少した。これは、S下水処理場流入水サンプルは他のサンプルと異なり、Peak4のRFIが他のピークよりも突出していたため、その変化が見られたと考えられる。つまり、タンパク質等に由来するPeak4は、元来、生物易分解性であり生物分解によってRFIが大きく減少する性質を持つ。これに対して、本研究に用いたほとんどのサンプルはすでに生物処理を受けていたか、もしくは、他のピークよりもPeak4のRFIが小さく他のピークの影響によって変化が見られなかったため、生物分解によるPeak4の変化がほとんど見られなかったのではないかと推測される。

3.3.2 RFI及びRFI/DOCの変化特性

BL分解と生物分解それぞれにおいて、DOCとピーク毎の分解速度係数を求めた (Table 6)。なお、生物分解実験のK環境センター浸出水サンプルのPeak3に関しては、ピークは検出されたが分解速度係数が0.1 ( $10^{-3} \cdot d^{-1}$ ) より小さかったため Table 6中ではNDとした。Table 6に示すように、BL分解では、すべてのサンプルにおいてそれぞれのPeak6の分解速度係数が最も高い値を示し、次いでほとんどのサンプルでPeak3のそれが高かった。また、Peak5はK環境センターサンプルでのみ検出されたが、その分解速度係数はPeak3のそれと同様の高い値を示した。その他、DOCの分解速度係数は全体的に低い値を示した。一方、生物分解では、S下水処理場流入水のPeak4の分解速度係数は高い値を示したが、その他のサンプルでは全体的にどのピークにおいても低い値を示した。特に、K環境センター浸出水サンプルはすべてのピークにおいて極めて低い値を示した。また、DOCの分解速度係数は全体的に高い値を示し、特にS下水処理場流入水やM汚水処理施設流入水等のDOC濃度の高いサンプルで分解速度係数が高かった。以上のような結果は、BL分解において分解されるDOMは、蛍光を有し生物難分解性であるフミン物質様の物質が多く、一方、生物分解において分解されるDOM

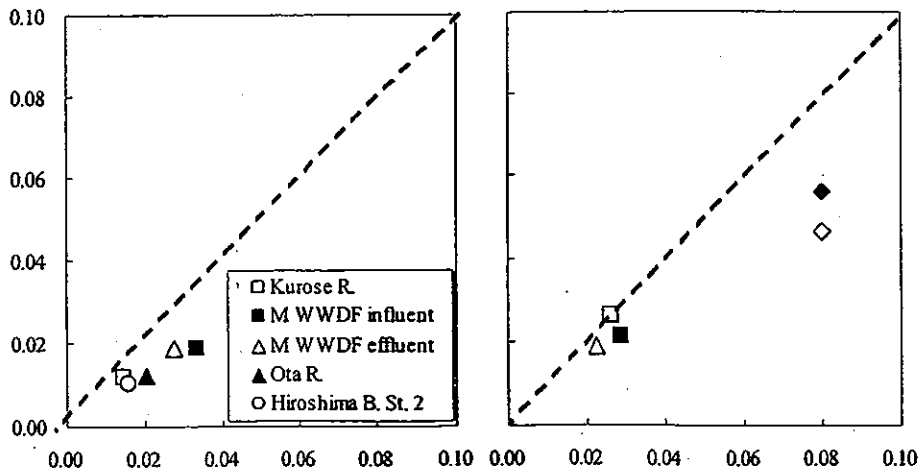


Fig. 5 Comparisons of  $k_3$  and  $k_6$  between SL and BL photolysis.

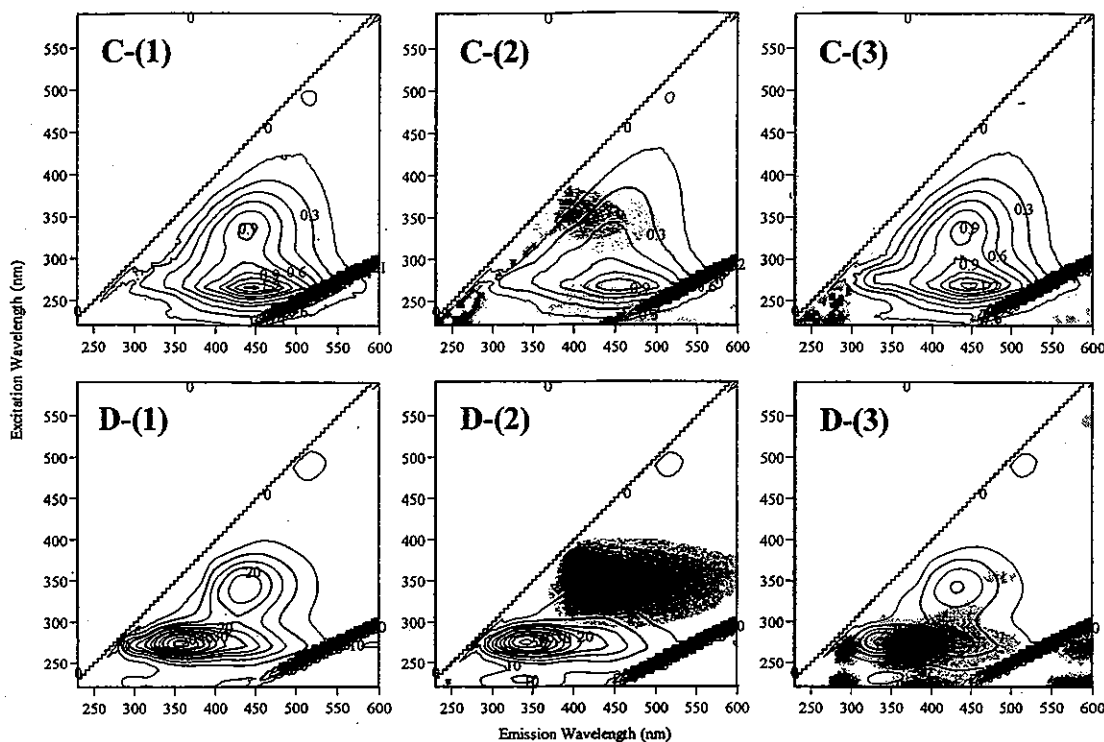


Fig. 6 EEM transformations by BL photolysis and microbial degradation.

C: Ota river water sampled on November 2000.

D: S STP influent water sampled on November 2000.

(1) Original sample, (2) BL photolysis for 24 hours, (3) Microbial degradation for 30 days.

Table 6 The rate constants of each peak ( $10^{-3} \cdot d^{-1}$ )

(1) Photolysis by black light

Sample name	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	DOC
Hiroshima Bay St. 1 (Sep. 2000)	ND	ND	11	ND	ND	ND	ND	9.7
Hiroshima Bay St. 1 (Nov. 2000)	ND	ND	12	15	ND	ND	ND	1.7
Ota River (Sep. 2000)	ND	ND	12	ND	ND	23	ND	1.1
Ota River (Nov. 2000)	ND	ND	18	ND	ND	40	2.2	1.5
S STP influent	3.7	2.5	ND	16	ND	54	7.2	5.5
S STP effluent	ND	ND	29	25	ND	44	4.7	0.5
M WWDF influent	9.9	21	22	13	ND	58	11	4.7
M WWDF effluent	6.5	7.4	30	1.0	ND	59	4.2	13
K landfill site leachate	ND	ND	21	ND	24	ND	6.1	9.2
K landfill site effluent	ND	ND	ND	ND	26	ND	ND	0.7

(2) Microbial degradation for 30 days

Sample name	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	DOC
Hiroshima Bay St. 1 (Sep. 2000)	3.2	ND	3.3	ND	ND	ND	ND	9.9
Hiroshima Bay St. 1 (Nov. 2000)	ND	ND	3.7	2.7	ND	ND	ND	12
Ota River (Sep. 2000)	ND	ND	1.2	ND	ND	2.2	ND	5.0
Ota River (Nov. 2000)	ND	ND	2.8	ND	ND	2.4	4.2	6.9
S STP influent	ND	1.6	ND	33	ND	16	10	76
S STP effluent	ND	ND	6.1	7.3	2.7	2.7	0.4	13
M WWDF influent	34	19	8.8	7.4	ND	9.0	50	26
M WWDF effluent	14	3.0	0.3	1.8	ND	1.2	1.7	14
K landfill site leachate	ND	ND	ND	ND	0.2	ND	0.7	5.6
K landfill site effluent	ND	ND	ND	ND	1.1	ND	ND	4.1

ND: The rate constants could not be calculated because the peak could not be detected.

は、無蛍光で生物易分解性である糖やタンパク質等が多いことに起因するものと思われる。

Table 6において検出数が多いPeak3, 4, 6について、RFI/DOCの変化速度係数 ( $dC/dt = -IC$  の  $I$ , ただし  $C$  は RFI/DOC) を求め、その結果を Fig. 7 に示した。Peak7については、SL分解とBL分解で変化が異なるため除外した。ほとんどすべてのサンプルにおいて、変化速度係数は、BL分解では正の値を示し、生物分解では負の値を示

した。特に、BL分解ではPeak6の変化速度係数がすべてのサンプルにおいてどのピークよりも高く、中でもS下水処理場やM汚水処理施設等のPeak6のRFIが高いサンプルに関して、変化速度係数は0.04 ( $d^{-1}$ ) 以上と高い値を示した。また、Peak3の変化速度係数ではサンプルの違いは見られなかった。一方、生物分解ではほとんどのサンプルで変化速度係数はPeak3, 4, 6ともにほぼ同様の値 ( $-0.02$  ( $d^{-1}$ )) であった。しかし、S下水処理場流

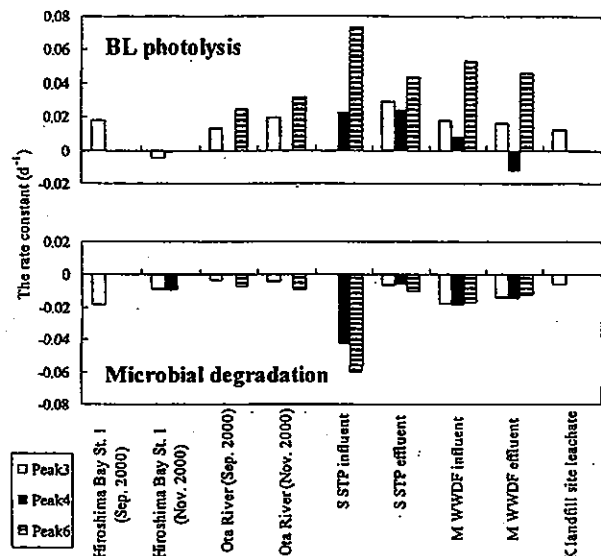


Fig. 7 The rate constants of  $(I_3)$ ,  $(I_4)$ ,  $(I_6)$ .

$I_n$  indicates the glowing or diminishing rate constant of RFI/DOC of Peak $n$ .

入水サンプルに関しては負に大きな値を示し、さらに Peak4 と Peak6 の変化速度係数に大きな差が見られた。これは、S 下水処理場流入水サンプルの場合、特に DOC 濃度及び Peak4 の RFI が大きく減少したため、Peak6 の変化速度係数が大きく、かつ Peak4 と異なる値を示したと考えられる。以上の結果より、サンプルによる違いはあるものの、BL 分解では RFI は減少するが DOC 濃度は大きく変化しない。一方、本実験条件における生物分解では RFI は大きく変化せず DOC 濃度は減少することが特徴といえる。

#### 4. まとめ

様々な環境水を用いて、EEM に対する光源の異なる光による光分解及び生物分解の影響を検討し、次のような特徴を得た。

- 1) DOM の変質によって、EEM 上のピーク位置が 10nm 以上移動するサンプルはほとんどなかった。
- 2) 光分解において、SL と BL では光源スペクトルは異なるが、EEM へ与える影響はほぼ同様であった。
- 3) EEM の変化をもたらす光の領域は大部分が UV-A であり、2 倍以内の誤差を許容すれば、SL による EEM 変化の様子は BL での模擬実験で推測可能と考えられる (Peak7 を除く)。
- 4) BL 分解と生物分解では変質後の EEM 形状が全く異なっていた。BL 分解においては Peak6 付近を中心に RFI の減少が見られた。一方、生物分解においては、大部分のサンプルで EEM の形状変化は見られなかったが、

Peak4 が突出したサンプルでは Peak4 の減少が見られた。

5) RFI/DOC の変化速度係数は、BL 分解では正の値を示し、生物分解では負の値を示した。

(原稿受付 2002 年 4 月 3 日)

(原稿受理 2003 年 5 月 23 日)

#### 参考文献

- 1) 福島武彦, 今井章雄, 松重一夫, 井上隆信, 小澤秀明 (1997) 湖水溶存有機物の紫外線吸収度: DOC 比の特性とそれの水質管理への利用, 水環境学会誌, 20, 397-403.
- 2) 今井章雄, 福島武彦, 松重一夫, 井上隆信, 石橋敏昌 (1998) 琵琶湖湖水および流入河川水中の溶存有機物の分画, 陸水学会誌, 59, 53-68.
- 3) 鈴木康弘, 中口謙, 平木敬三, 長尾誠也, 工藤充雄, 木村宗人 (1998) 三次元励起・蛍光光度法による淀川水系中の蛍光物質の特徴, 地球化学, 32, 21-30.
- 4) 亀田豊, 橋治国, 清水達雄 (1999) 三次元励起・蛍光スペクトルを用いた溶存有機物のキャラクタリゼーション, 環境工学研究論文集, 36, 209-215.
- 5) Marhaba, T.F. (2000) Fluorescence technique for rapid identification of DOM fractions, *J. Environmental Engineering*, 126, 145-152.
- 6) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤 (2001) EEMS による水中溶存有機物の特性解析, 水環境学会誌, 24, 686-692.
- 7) McKnight, D.M., Boyer, E.W., Weserhoff, P.K., Doran, T.P., Kulbe, T. and Anderson, D.T. (2001) Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity, *LIMNOLOGY AND OCEANOGRAPHY*, 46, 38-48.
- 8) Baker, A. (2002) Fluorescence excitation-emission matrix characterization of river waters impacted by a tissue mill effluent, *Environmental Science and Technology*, 36, 1377-1382.
- 9) Wetzel, R.G., Hatcher, P.G. and Bianchi, T.S. (1995) Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacteria metabolism, *LIMNOLOGY AND OCEANOGRAPHY*, 40, 1369-1380.
- 10) Moran, M.A. and Zepp, R.G. (1997) Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter, *LIMNOLOGY AND OCEANOGRAPHY*, 42, 1307-1316.
- 11) Bertilsson, S. and Tranvik, L.J. (2000) Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes, *LIMNOLOGY AND OCEANOGRAPHY*, 45, 753-762.
- 12) Moran, M.A., Sheldon Jr., W.M. and Zepp, R.G. (2000) Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter, *LIMNOLOGY AND OCEANOGRAPHY*, 45, 1254-1264.
- 13) Farjalla, V. F., Anesio, A. M., Bertilsson, S., Graneli, W. (2001) Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leaches: abiotic transformations and bacterial response, *Aquatic Microbial Ecology*, 24, 87-195.
- 14) 広島大学気象観測システム, <http://home.hiroshima-u.ac.jp/hirodas>
- 15) 港町内科皮膚科 (2000) 水槽の科学 —紫外線—, <http://www.ne.jp/asahi/mc/minatomachi/uv.htm>

## Photoalteration in Biodegradability and Chemical Compositions of Algae-derived Dissolved Organic Matter

Choi, Kwangsoon\*, Akio Imai, Kazuo Matsushige, Takashi Nagai,  
Yong-Hwan Kim and Bomchul Kim<sup>1</sup>

(National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-0053, Japan,

<sup>1</sup>Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea)

**자외선에 의한 조류기원 용존유기물의 생분해도 및 화학조성변환.** 최광순\* · Akio Imai · Kazuo Matsushige · Takashi Nagai · 김용환 · 김범철<sup>1</sup> (일본 국립환경연구소, <sup>1</sup>강원대학교 환경과학과)

자외선에 의한 조류기원 용존유기물의 특성변화를 조사하기 위하여 배양한 남조류 두종 (*Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria agardhii*)의 채외배출용존유기물에 자외선 처리전과 처리후의 생분해도와 유기물의 화학적조성을 비교하였다. 자외선처리는 pyrex용기에 시료를 넣고 인공자외선램프(UVA: 40 W/m<sup>2</sup>, UVB: 2 W/m<sup>2</sup>)로 24시간 조사하였다. 유기물의 화학적조성은 XAD-8, 양이온, 음이온수지를 이용하여 소수성 산(hydrophobic acids; HoA), 소수성 중성(hydrophobic neutrals; HoN), 친수성 산(hydrophilic acids; HiA), 친수성 염기(hydrophilic bases; HiB), 그리고 친수성 중성(hydrophilic neutrals; HiN)의 5개 분획으로 분류하였다. 자외선처리동안 유기물의 농도변화는 거의 없었던 반면 생분해도는 자외선처리 전에 비해 현저히 감소하였다(*M. aeruginosa*: 17%, *O. agardhii*: 28% 감소). 또한 자외선 처리 전과 후의 유기물의 화학적조성도 상당한 차이를 보였다. 자외선처리 후 HiB분획(단백질, 아미노산류)은 감소한 반면 HiA분획(카복실산류)은 증가하였다. 유기산분석에서도 3종류의 카복실산이 자외선처리 후 증가하는 것으로 나타났다. 일반적으로 수체의 유기물은 자외선에 의해 난분해성 유기물이 분해되거나 잘게 쪼개져 이분해성 유기물로 전환되는 것으로 알려졌다. 그러나 본 연구에서는 조류기원의 이분해성 유기물의 경우는 자외선에 의해 완전한 광분해는 보이지 않았지만 난분해성 유기물로 전환되었고 화학적조성도 바뀌었다. 이는 유기물의 기원과 종류에 따라 자외선에 대한 영향이 다르다는 것을 시사한다.

**Key words :** algal DOM, UV effects, photoalteration, biodegradability, chemical composition

### INTRODUCTION

Dissolved organic matters (DOM), one of the major pools of organic carbon in aquatic ecosystems, can be an important source of carbon and energy for both heterotrophic microorganisms and higher trophic levels (Amon and Benner, 1994; Lampert and Sommer, 1997; Wetzel,

2001). However, only a minor portion of DOM is involved in a fast carbon cycle, while the remainder is resistant to microbial degradation (Søndergaard and Borch, 1992; Søndergaard *et al.*, 1995; Wetzel, 2001). Much attention has been paid to the role of ultraviolet (UV) radiation on the biological cycling of DOM in aquatic systems. The UV light can alter or cleave the DOM into smaller and more labile organic molecules

\* Corresponding Author: Tel: +81-77-549-8214, Fax: +81-77-549-8201, E-mail: choi9598@ecology.kyoto-u.ac.jp

(Miller and Zepp, 1995; Wetzel *et al.*, 1995; Amon and Benner, 1996; Moran and Zepp, 1997; Wetzel, 2000). As a result, UV radiation can increase the pool of labile DOM in aquatic systems and thereby enhance bacterial production.

However, these processes may be limited to the allochthonous DOM, which is mainly comprised of aromatic, recalcitrant and high molecular weight compounds. Recent studies noted that the autochthonous DOM (originating primarily from phytoplankton), which is composed of relatively labile compounds, is resistant to photodegradation (Thomas and Lara, 1995; Tranvik and Kokalj, 1998; Pausz and Herndl, 1999). Furthermore, labile DOM such as proteinaceous substrates and phytoplankton exudates can be transformed into recalcitrant forms after UV radiation exposure (Naganuma *et al.*, 1996; Tranvik and Kokalj, 1998; Pausz and Herndl, 1999; Obernosterer *et al.*, 2001). These results suggest that the autochthonous DOM seems to be resistant to photodegradation, but obviously altered in its characteristic. With progressing eutrophication autochthonous DOM becomes increasingly important. If lake waters displaying this feature are also exposed by UV radiation, this may affect the carbon cycling and pools of the aquatic systems. Nevertheless, there is little information on the photoalteration of the autochthonous DOM. Especially there have been very few studies on photochemical change in chemical composition of autochthonous DOM.

The purpose of this study was to examine the photoalteration of algal DOM produced from two blue-green axenic cultures by comparing their biodegradability and DOM fraction distributions before and after UV exposure. Bacterial degradation test was used as a measure of biodegradability of algal DOM. The algal DOM was fractionated into five classes using three kinds of resin adsorbents. Some organic acids newly produced during UV exposure also were analyzed with capillary electrophoresis system.

## MATERIALS AND METHODS

### Preparation of algal DOM

To obtain the algal-derived DOM, two axenic cultures of *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria agardhii* that were isolated from Lake Kasumigaura (Japan) were grown axenically in

10 l polycarbonate bottles at 25°C and about 50  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$  under a light/dark cycle of 12 h : 12 h on CB medium. The cultures were stirred by air bubbles provided from a pump equipped with a 0.2  $\mu\text{m}$  sterilizing filter. Since the standard CB medium contains a high concentration of organic carbon, we modified the medium composition by substituting  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  for  $\beta$ -glycerophosphate and  $\text{NaHNO}_3$  for Tris buffer. DOC concentrations in the medium after inoculation were below 0.5 mgC/l. When the cultures reached their stationary phase, they were filtered through pre-combusted (450°C for 4 h) Whatman GF/F glass-fiber filters. The filtrates were used as sources of the algae-derived DOM.

### UV irradiation experiments

For the UV radiation treatment, one liter of DOM sample was put in 1.3 l pyrex bottle of a photo-reaction apparatus (USHIO, Japan) and the radiation experiments were conducted for 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 h. UV light source was provided by UM-452 lamp which emitted the light of nearly all UV wavelength ranges (220 to 400 nm). Since pyrex bottles used in this experiment selectively cut off UV light shorter than 280 nm (the transmission of the pyrex was zero at 280 nm, and was 70% at 320 nm), short UV radiation (UV-C) was not included. UV radiation was measured with a radiometer (MI-340 UV meter, Eikoseiki, Japan), equipped with a UV-A sensor (316~400 nm) and a UV-B sensor (280~315 nm).

### Biodegradability experiments

Biodegradability of algal DOM before and after UV exposure was quantified through a series of microbial degradation experiments. A portion (200 ml) of the algal DOM samples before and after UV exposure was poured into pre-combusted 300-ml glass bottles (550°C for 4 h), and then 1 ml of bacteria concentrate were added to give an initial bacterial abundance of around  $10^5$  cells/ml. Water for the bacteria inoculum was collected from Lake Kasumigaura. The bottles were then incubated in darkness at room temperature (ca 20°C) for 20 days. Ten milliliters of sub-samples for DOC determination were collected from the bottles after 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15 and 20 days. The biodegradability experiments were performed in triplicate.



**Table 1.** Classification of organic compounds for dissolved organic matter in natural waters.

Fraction	Solute compound classes
hydrophobic acids (HoA)	humic substances (humic and fulvic acids)
hydrophobic neutrals (HoN)	hydrocarbons, carbonyl compounds
hydrophilic acids (HiA)	carboxylic acids (fatty and hydroxyl acids), sugar acids
hydrophilic bases (HiB)	protein, amino acids, aminosugars
hydrophilic neutrals (HiN)	oligosaccharides, polysaccharides

### DOM fractionation

The DOM samples before and after UV treatment were fractionated into five fractions: hydrophobic acids (HoA), hydrophobic neutrals (HoN), hydrophilic acids (HiA), hydrophilic bases (HiB), and hydrophilic neutrals (HiN), based on their adsorption on a series of macroporous resin adsorbents. Nonionic Amberlite XAD-8 resin (20~60 mesh), strong cation exchange resin (Bio-Rad AG-MP-50, 50~100 mesh), and strong anion exchange resin (Bio-Rad AG-MP-1, 50~100 mesh) were used for fractionation. The fractionation procedure was according to Imai *et al.* (2002). Appropriate classification of organic compounds according to the DOM fraction is listed in Table 1 (Leenheer, 1981; Thurman, 1985).

### Chemical analyses

Some carboxylic acids that were found to be major products formed during UV exposure were analyzed on a capillary electrophoresis (CE) system (Quanta 4,000, Waters). A 70 cm fused silica capillary (75  $\mu\text{m}$  inner diameter), and a 100 mM sodium boric acid buffer containing 0.5 mM of an electro-osmotic flow modifier (OFM-BT, Waters) was used for the analyses. A separation voltage of 15 kV was applied and the analytes were detected by indirect UV detection at 185 nm. Standard curves (10~1,000  $\mu\text{g/l}$ ) were made for the three detected carboxylic acids (oxalic, formic, and acetic acids).

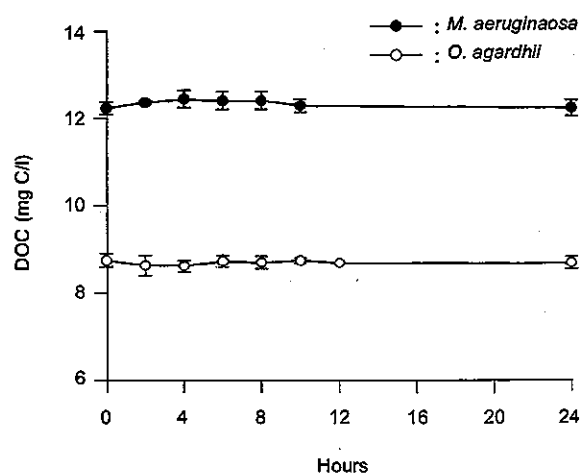
DOC was measured as non-purgeable DOC with a Shimadzu TOC-5,000 total organic carbon analyzer equipped with Pt catalyst on quartz wool. At least triplicate measurements were made for each sample and analytical precision was within 1% of coefficient of variance (CV). Potas-

sium hydrogen phthalate (Kanto Chemical Co., Tokyo) was used as standard.

## RESULTS AND DISCUSSION

It is well recognized that UV radiation can alter the DOM pool in natural waters by complete degradation into  $\text{CO}_2$ , and by cleaving into more smaller and labile molecule enhancing the bacterial utilization. The photochemical removal of DOC into  $\text{CO}_2$  in many natural waters shows a wide range of 0 to 60%, depending on the DOM sources, light sources, and time of light exposure (Wiegner and Seitzinger, 2001). In this study, no significant changes of dissolved organic carbon (DOC) were observed in algal DOM during UV radiation exposure, showing a constant levels of  $12.34 \pm 0.08 \text{ mgC/l}$  in *M. aeruginosa* and  $8.68 \pm 0.05 \text{ mgC/l}$  in *O. agardhii* (Fig. 1). This implies that complete degradation of algal DOM to  $\text{CO}_2$  did not occur during UV exposure. The UV treatment (for 24 h under  $42 \text{ W/m}^2$ ) used in the present study corresponds to the level shown the photochemical effect in other natural waters. Hence, no change of algal DOC in this study is not due to the light treatment, but probably the DOM sources having resistant to UV radiation. Similar results were reported in other studies with phytoplankton exudates (Thomas and Lara, 1995; Tranvik and Kokalj, 1998).

On the other hand, there was a great difference



**Fig. 1.** Changes in concentrations of algal derived DOC with UV exposure times.

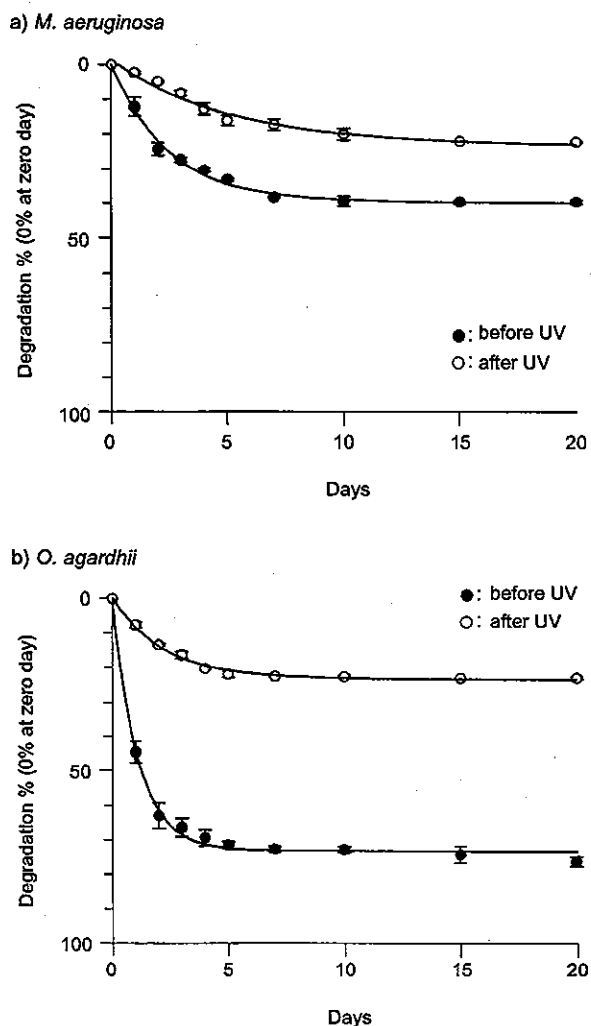


Fig. 2. Degradation curves of algal DOM before and after UV exposure. Bars represent standard deviation.

in the biodegradability between before and after UV exposure both in two algal DOM sources. Microbial degradations were reduced in the UV exposed algal DOM by 17% in *M. aeruginosa* and 53% in *O. agardhii*, respectively (Fig. 2). Decomposition rates also were two times lower in UV exposed algal DOM (0.20/day in *M. aeruginosa* and 0.45/day in *O. agardhii*, respectively) than in raw algal DOM (0.40/day in *M. aeruginosa* and 0.91/day in *O. agardhii*, respectively). The decreased bacterial activity on UV exposed algal DOM has also been reported in other studies (Tranvik and Kokalj, 1998; Pausz and Herndl, 1999). They found that microbial activity on the UV exposed algal DOM was inhibited by 15 to 20%, while the

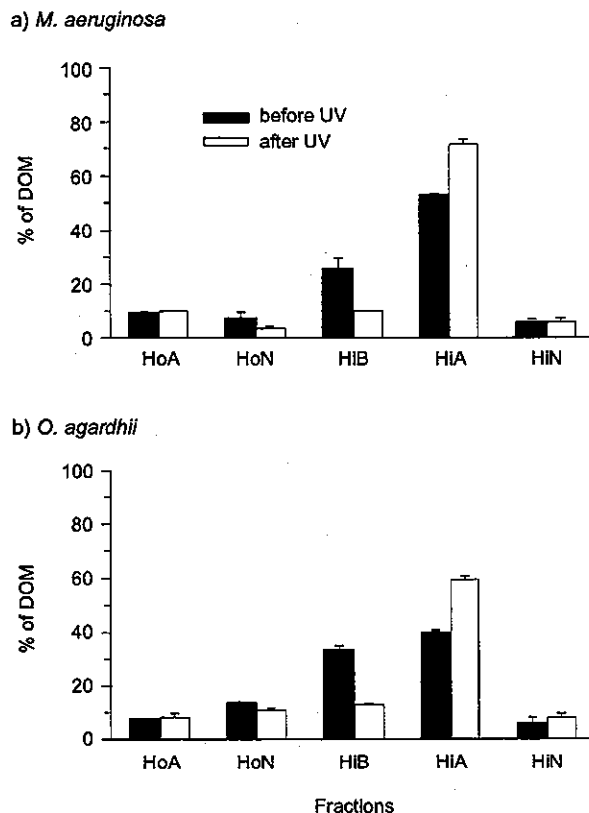


Fig. 3. Proportions (%) of DOM fractions for before and after UV treated samples. Bars represent standard deviation.

loss of DOC was less than 1% during the UV exposure. These results indicate that algal DOM can be altered qualitatively without complete degradation by UV radiation. Thus, we further tried to fractionate the algal DOM before and after UV exposure to understand the change of their chemical compositions caused by UV radiation.

The hydrophilic bases (HiB) and acids (HiA) were dominant fractions of the algal DOM (more than 70% both in *M. aeruginosa* and *O. agardhii*), although the proportion of each fraction differed with the sources of algal DOM (see black bars in Fig. 3). Hydrophobic fractions (HoA and HoN) contributed only 16% in *M. aeruginosa* and 20% in *O. agardhii*, respectively. After UV radiation exposure, the proportions of the HiB (protein-like DOM) and HiA (carboxylic acids-like DOM) fractions were considerably changed compared with other fractions (see white bars in Fig.

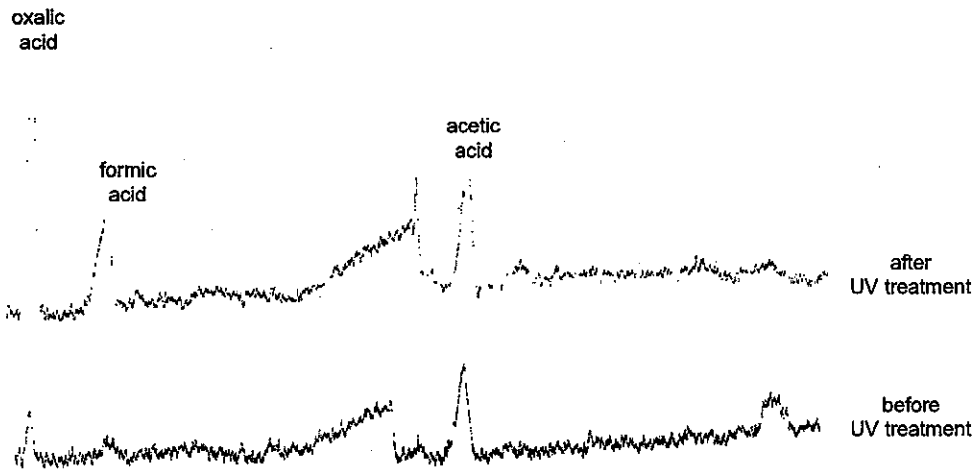


Fig. 4. Electropherograms for before and after UV treated samples (*M. aeruginosa*) indicating UV-induced increase of oxalic, formic and acetic acids.

3). In both algal DOM sources the fractions of the protein-like DOM decreased considerably (16.8% and 20.0% of DOM, respectively) after UV exposure. In contrast, the carboxylic acid-like DOM increased as much as the decrease of the protein-like DOM after UV exposure. Differences in the chemical compositions of algal DOM between before and after UV exposure also provided evidence that algal DOM changed qualitatively by UV radiation.

Contradictory results were reported by Thomas and Lara (1995), who found no changes in chemical compositions as well as concentration of algal DOM after UV exposure. The differences between their and our results may be due to the algal DOM used in two experiments. We used freshly produced algal DOM, while the DOM used in their experiments had been aged in the presence of bacteria for 8 months. During the long incubation, bacteria would utilize initially labile constituents that also would be changeable by UV radiation. Thus, initially labile DOM might be not involved in their experiments in spite of the fact that they are important fraction of algal DOM.

To clarify the increase of the carboxylic acids-like fraction after UV exposure, we measured several carboxylic acids (oxalic, formic, and acetic acids) with capillary ion electrophoresis (CE) system. The three carboxylic acids increased after UV exposure in both algal DOM sources, although the extent of increase for each organic

Table 2. Results of the CIE analysis indicating an increase of carboxylic acids after UV exposure. The values are averages of duplicates. (Unit:  $\mu\text{g/l}$ )

Carboxylic acids	<i>M. aeruginosa</i>		<i>O. agardhii</i>	
	before	after	before	after
Oxalic acid	50	460	70	180
Formic acid	30	560	550	560
Acetic acid	150	200	30	150

acid differed with the sources of algal DOM (Table 2). Especially, a substantial increase of oxalic acid ( $410 \mu\text{g/l}$ ) and formic acid ( $530 \mu\text{g/l}$ ) after the UV exposure was observed in DOM from *M. aeruginosa* (Fig. 4, Table 2). In general, carboxylic acids are easily decomposable materials for bacteria (Allard *et al.*, 1994; Bertilsson and Tranvik, 1998; Wetzel, 2000). Hence, the increased HiA fraction (probably produced as photo-product of HiB fraction) may not be linked to the recalcitrance of algal DOM by UV exposure. Further research is needed to clarify the mechanism of the photoalteration of algae-derived DOM in aquatic ecosystems.

In the present study, we presented that algal DOM can be photochemically altered in its chemical composition and biodegradability. The photoalteration of algal DOM is likely to have an influence on the carbon cycle and pool in aquatic systems, especially algal DOM is important carbon source, e.g. by making algal DOM unavail-

able for the production of bacteria.

### ABSTRACT

The effect of ultraviolet (UV) radiation on the characteristics of algae-derived dissolved organic matter (DOM) was examined by comparing the biodegradability and DOM fraction distribution of algal DOM before and after UV exposure. Algal DOM from two axenic cultures of *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria agardhii* were irradiated for 24 h at a UV intensity of 42 W/m<sup>2</sup>. A complete degradation of algal DOM during the UV exposure did not occur, remaining at constant concentrations of dissolved organic carbon (DOC). After UV exposure, however, microbial degradations were reduced by 17% in *M. aeruginosa* and 53% in *O. agardhii*, respectively, and decomposition rates also were two times lower in UV exposed algal DOM. In addition, the chemical compositions of algal DOM altered substantially after UV radiation exposure. The proportions of hydrophilic bases (HiB; protein-like DOM) decreased considerably in both algal DOM sources after UV exposure (16.8% and 20.0% of DOM, respectively), whereas those of hydrophilic acids (HiA; carboxylic acids-like DOM) increased as much as the decrease of the HiB fraction. Capillary ion electrophoresis (CE) analysis showed that several carboxylic acids increased significantly after UV exposure, further confirming an increase in HiA fractions. The results of this study clearly indicate that algal DOM can be changed in its chemical composition as well as biodegradability without complete degradation by UV radiation.

### ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by postdoctoral fellowship program from Korea Science and Engineering Foundation (KOSEF). We would like to thank Dr. Robert G. Wetzel, University of North Carolina, for his helpful review and comment on the manuscript. We also thank Dr. Nobuyoshi Nakajima, National Institute for Environmental Studies, and Masaya Ueki, Kyoto University for their helping us with measurements with the spectroradiometer and CE system.

### REFERENCES

- Allard, B., H. Borén, C. Pettersson and G. Zhang. 1994. Degradation of humic substances by UV radiation. *Environ Int.* **20**: 97-101.
- Amon, R. M. W. and R. Benner. 1994. Rapid cycling of high-molecular-weight dissolved organic matter in the ocean. *Nature*, **369**: 549-552.
- Amon, R.M.W. and R. Benner. 1996. Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen on the Amazon River system. *Geochim Cosmochim Acta.* **60**: 1783-1792.
- Bertilsson, S. and L.J. Tranvik. 1998. Photochemically produced carboxylic acids as substrates for freshwater bacterioplankton. *Limnol Oceanogr.* **43**: 885-895.
- Imai, A., T. Fukushima, K. Matsushige, Y.H. Kim and K. Choi. 2002. Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Wat Res.* **36**: 859-870.
- Lampert, W. and U. Sommer. 1997. *Limnology*. 96-97. Oxford University, New York.
- Leenheer, J.A. 1981. Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. *Environ Sci Technol.* **15**: 578-587.
- Miller, W.L. and R.G. Zepp. 1995. Photochemical production of dissolved inorganic carbon from terrestrial organic matter: significance to the oceanic organic carbon cycle. *Geophys Res Lett.* **22**: 417-420.
- Moran, M.A. and R.G. Zepp. 1997. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr.* **42**: 1307-1316.
- Naganuma, T., S. Konishi, T. Inoue, T. Nakane and S. Sukizaki. 1996. Photodegradation or photoalteration? Microbial assay of the effect of UV-B on dissolved organic matter. *Mar Ecol Prog Ser.* **135**: 309-310.
- Obernosterer, I., R. Sempéré and G.J. Herndl. 2001. Ultraviolet radiation induces reversal of the bioavailability of DOM to marine bacterioplankton. *Aquat Microb Ecol.* **24**: 61-68.
- Pausz, C. and G.J. Herndl. 1999. Role of ultraviolet radiation on phytoplankton extracellular release and its subsequent utilization by marine bacterioplankton. *Aquat Microb Ecol.* **18**: 85-93.
- Søndergaard, M., B. Hansen and S. Markager. 1995. Dynamics of dissolved organic carbon lability in a eutrophic lake. *Limnol Oceanogr.* **40**: 46-54.
- Søndergaard, M. and N.H. Borch. 1992. Decomposition of dissolved organic carbon (DOC) in lakes. *Arch Hydrobiol Beth Ergeb Limnol.* **37**: 9-20.
- Thomas, D.N. and R.J. Lara. 1995. Photodegradation of algal derived dissolved organic carbon. *Mar*

- Ecol Prog Ser.* **116**: 309-310.
- Tranvik, L. and S. Kokalj. 1998. Decreased biodegradability of algal DOC due to interactive effects on UV radiation and humic matter. *Aquat Microb Ecol.* **14**: 301-307.
- Thurman, E.M. 1985. Organic geochemistry of natural waters. Martinus Nijhoff, Boston.
- Wetzel, R.G. 2000. Natural photodegradation by UV-B of dissolved organic matter of different decomposing plant sources to readily degradable fatty acids. *Verh Internat Verein Limnol.* **27**: 2036-2043.
- Wetzel, R.G. 2001. Limnology. 3th ed. Academic Press, New York.
- Wetzel, R.G., P.G. Hatcher and T.S. Bianchi. 1995. Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. *Limnol Oceanogr.* **40**: 1369-1380.
- Wiegner, T.N. and S.P. Seitzinger. 2001. Photochemical and microbial degradation of external dissolved organic matter inputs to rivers. *Aquat Microb Ecol.* **24**: 27-40.

(Manuscript received 1 July 2003,  
Revision accepted 20 August 2003)

## 雲門湖水中の溶存有機物の特性

金 庸 桓\*      李 淳 和\*\*  
 今 井 章 雄\*\*\*      松 重 一 夫\*\*\*

### Characteristics of Dissolved Organic Matter in Lake Unmun

Yong-Hwan KIM\*, Shun-Hwa LEE\*\*,  
 Akio IMAI\*\*\* and Kazuo MATSUSHIGE\*\*\*

\* Department of Health Environment, Daegu Haany University, Kyungsan 712-715, Korea

\*\* Department of Environmental Engineering, Yeungnam University, Kyungsan 701-094, Korea

\*\*\* National Institute for Environmental Studies, Onogawa 16-2, Tsukuba, Ibaraki 305-0053, Japan

#### Abstract

Dissolved organic matter (DOM) in Lake Unmun (Korea) and its two inflowing rivers was fractionated using three resin adsorbents (XAD-8 resin, macroporous cation and anion exchange resins) into five classes: aquatic humic substances (hydrophobic acids), hydrophobic neutrals, hydrophilic acids, bases, and hydrophilic neutrals. The characteristics of DOM were investigated by evaluating DOM fraction distribution, ultraviolet ray absorbance of DOM fractions (UV absorbance at 260nm), and molecular size distribution of DOM. Aquatic humic substances (AHS) and hydrophilic acids (HiA) were found to be predominant in both lake and river waters. In particular, AHS were greater in percentage fraction than HiA. The UV to dissolved organic carbon (DOC) ratio (UV/DOC ratio) of AHS was two times higher than that of HiA. The UV/DOC ratios of the total DOM, AHS and HiA were 12.9-32.8, 7.2-29.4 and 5.3-17.1 [ $\text{m ABS cm}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{g C}^{-1}$ ], respectively. The molecular weight distribution of the lake water DOM was determined by high-pressure size exclusion chromatography and found to exhibit a relatively narrow size range and low weight-averaged molecular weights ranging from 1,010 to 1,110  $\text{g} \cdot \text{mole}^{-1}$ .

**Key words**: DOM fractionation, aquatic humic substances, hydrophilic acids, molecular weight distribution

#### 1. はじめに

近年、社会、産業構造の高度化による水需要量の増加に伴い、河川自流水よりも湖水やダム湖水を水道水源水として利用する割合が増えている。一方、湖沼の水質に眼を転じると、幾つかの湖、例えば琵琶湖や霞ヶ浦において、流域発生源対策が実施されているにもかかわらず、湖内の全有機物指標である化学的酸素要求量 (Chemical Oxygen Demand, COD) が漸増する傾向が報告されている<sup>1,2)</sup>。特に溶存態 COD の増大が COD 濃度を押し上げている。水道水源としての湖水・ダム湖における有機物濃度の上昇は、浄水処理過程の塩素殺菌プロセスにおいて産生されるトリハロメタン等の消毒副生成物に係る健康リスクの増大を意味する。従って、水道水源保全の観点から、有機物、特に溶存有機物 (dissolved organic matter, DOM) 濃度が上昇する原因を明らかにすることが求められている。

湖水や河川水中の DOM は複雑で不均質な混合物であ

り、過去数十年間に渡り研究がされてきたが、その物理化学的特性、生態学および地球化学的役割は未だに十分に理解されていない<sup>3)</sup>。従って、このような状況において DOM の特性や起源についての有益な情報を得るためには、最初に、DOM を明白な共通の化学的性質に基づいた切り口でマクロ的に分画して各分画成分の存在比や特性を評価する必要がある。分離・分画の切り口の基本となる DOM 成分としては、代表的難分解性 DOM であり天然水中の DOM の主要成分であるフミン物質 (フミン酸+フルボ酸) が最も適切と考えられる。フミン物質は疎水性の有機酸である、すなわち、分画の切り口は、疎水性—親水性、酸性—塩基性となる。Leenheer (1981)<sup>4)</sup> は、この切り口に基づいて、DOM を 3 種類の樹脂を用いて 6 つの分画する分取手法を開発した。しかし、彼の手法は DOM 濃度の比較的高いサンプルを対象とした樹脂脱着に基づく分取法であり、かつ操作が煩雑なため、多数のサンプル、少量のサンプル、DOM 濃度の低いサンプルの場合にはその適用が困難である。

\* 韓国大邱 Haany 大学保健環境学科 〒712-715 慶北慶山市油谷洞290

\*\* 韓国嶺南大学環境工学科 〒701-094 慶北慶山市大洞214-1

\*\*\* 日本国立環境研究所水圏環境研究領域 〒305-0053 つくば市小野川16-2

本研究では、Leenheer の分取法を低い DOM 濃度および少量のサンプルに適用でき多数のサンプルにも対応できるように改良された分析手法<sup>2)</sup>を採用して、湖水 DOM を疎水性—親水性、酸性—塩基性の違いに基づいて分画し、DOM 分画分布および各分画の特性を評価する。本研究の目的は、ダム湖である雲門湖湖水および流入河川水を対象として、本 DOM 分画手法を適用し、フミン物質および各分画成分の存在比や吸光度特性および DOM の分子量分布を把握し、ダム湖における DOM の特性や起源を評価することである。雲門湖においても COD の漸増傾向が報告されている<sup>3)</sup>。

## 2. 実験方法

### 2.1 サンプル採取地点

雲門湖 (Lake Unmun) は、韓国の東南に位置する琴湖江系統の広域上水道事業の一環として建設された人工のダム湖である (Fig. 1)。このダム湖の流域面積は301 km<sup>2</sup>で、1993年から湛水が開始され、その水は大邱広域市、慶山市、永川市や雲門郡地域の上水源、農業用水及び河川維持用水として利用されている。湖へ流入する主な河川は東倉川と雲門川の二つである。

水サンプルは、東倉川からの影響が大きいと考えられる地点 (DL)、ダム湖心 (DC)、雲門川からの影響が大きいと考えられる地点 (UL)、東倉川の流入地点 (DR)、雲門川の流入地点 (UR) から採取した。1998年6月から1999年5月まで月1回のペースで、湖水ではバンドーン採水器を用いて表層水 (1 m) を2 l 採水した。流入河川水も同様に2 l 採水した。

水サンプルは450°C 4時間熱処理したガラス瓶に採取した。ガラスボトルの密栓は全てテフロンライナー付きのものを用いた。試料は、クーラーボックスに入れ氷冷状態で実験室に持ち帰った。サンプルのろ過には熱処理した Whatman GF/F フィルター (平均孔径0.7µm) を用いた。採水後、直ちに実験できない場合には4°C、冷暗所で保存した。

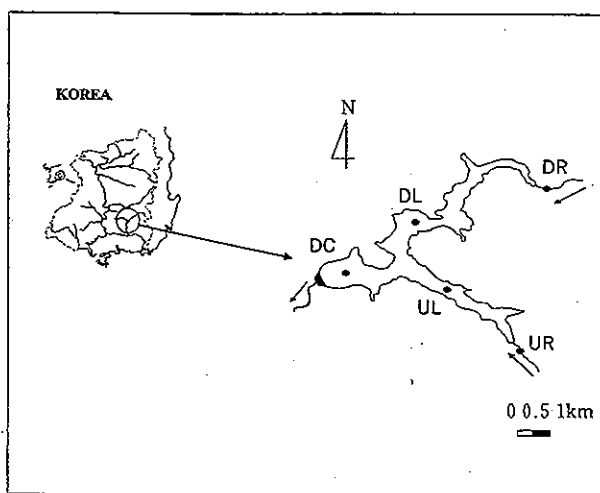


Fig. 1 Location of the sampling sites in Lake Unmun. DL: Dongchang Point; DC: Dam Center; UL: Unmoon Point; DR: Influent river, the Dongchang River, into Lake Unmun; UR: Influent river, the Unmoon River, into Lake Unmun.

### 2.2 溶存有機物 (DOM) 分画手法

本手法において、試料水 DOM は3種類の樹脂 (非イオン性網状アクリル系樹脂 XAD-8 [Amberlite 20-60 メッシュ, 平均比表面積450m<sup>2</sup>・g<sup>-1</sup>], 強酸性マクロポラス陽イオン交換樹脂 [Bio-Rad AG-MP-50, 50-100 メッシュ, 水素イオン形], 強塩基性マクロポラス陰イオン交換樹脂 [Bio-Rad AG-MP-1, 50-100メッシュ, 塩基イオン形]) により、疎水性酸 (フミン物質), 疎水性中性物質, 親水性酸, 塩基性物質, そして親水性中性物質の5つに分画される。本分画手法では、疎水性有機物と親水性有機物の分離は XAD-8 樹脂への吸着あるいは溶出により操作的に定義した。この疎水性—親水性の分離は溶質の極性とサンプル量に対する XAD-8 樹脂量の比によって規定される。カラム容量ファクター50の条件において、50%以上が XAD-8 樹脂に吸着されるものを疎水性有機物、50%以上が溶出するものを親水性有機物とした<sup>4)</sup>。pH 2 で XAD-8 樹脂に吸着しアルカリで溶出するものを疎水性酸 (hydrophobic acids), pH に関係なく XAD-8 樹脂に吸着し、酸でもアルカリでも溶出しないものを疎水性中性物質 (hydrophobic neutrals, HoN) と定義した。疎水性酸の操作的定義はフミン物質 (aquatic humic substances, AHS) の分離条件と同一である。pH 2 の条件で XAD-8 樹脂カラムを通過し陽イオン交換樹脂に捕捉されるものを塩基性物質 (bases, BaS) とした。一方、陽イオン交換樹脂を通過して陰イオン交換樹脂に捕捉されるものを親水性酸 (hydrophilic acids, HiA), 陽イオン交換樹脂にも陰イオン交換樹脂にも捕捉されないものを親水性中性物質 (hydrophilic neutrals, HiN) とした。各分画に対応すると考えられる有機化合物を Table 1 に示す。

XAD-8 樹脂は Thurman と Malcolm<sup>5)</sup>の方法に従って精製した。精製済み XAD-8 樹脂は水とメタノールの混合液中に保存した。3 ml の XAD-8 樹脂をガラスカラムに充填して、約200ml の Milli-Q 水 (Milli-Q SP. TOC, Millipore) で洗浄した後、0.1M NaOH 溶液、次いで0.1M HCl 溶液の順序で各々約10ml を通水する操作を3回繰り返した。0.1M HCl の最終通水の際にブランクサンプルを採取した (B1)。

陽イオン交換樹脂と陰イオン交換樹脂は、メタノールで24時間ソックスレー洗浄した。さらに、陰イオン交換樹脂については樹脂量の10倍量の1 M NaOH 溶液により水酸基イオン形に置換した。陽イオンおよび陰イオン交換樹脂を Milli-Q 水で十分に洗浄した後、陽イオン交換樹脂6 ml, 陰イオン樹脂12ml を各々ガラスカラムに充填し、陽イオン、陰イオン樹脂カラムの順序に連結し

Table 1 Classification of organic solutes for dissolved organic matter fractionation

Fraction	Solute Compound Classes
Hydrophobic Acids	Aquatic Humic Substances (humic and fulvic acids)
Hydrophobic Neutrals	Hydrocarbons, Pesticides, Carbonyl Compounds, LAS
Hydrophilic Acids	Sugar Acids, Fatty Acids, Hydroxyl Acids
Bases	Protein, Amino Acids, Aminosugars
Hydrophilic Neutrals	Oligosaccharides, Polysaccharides

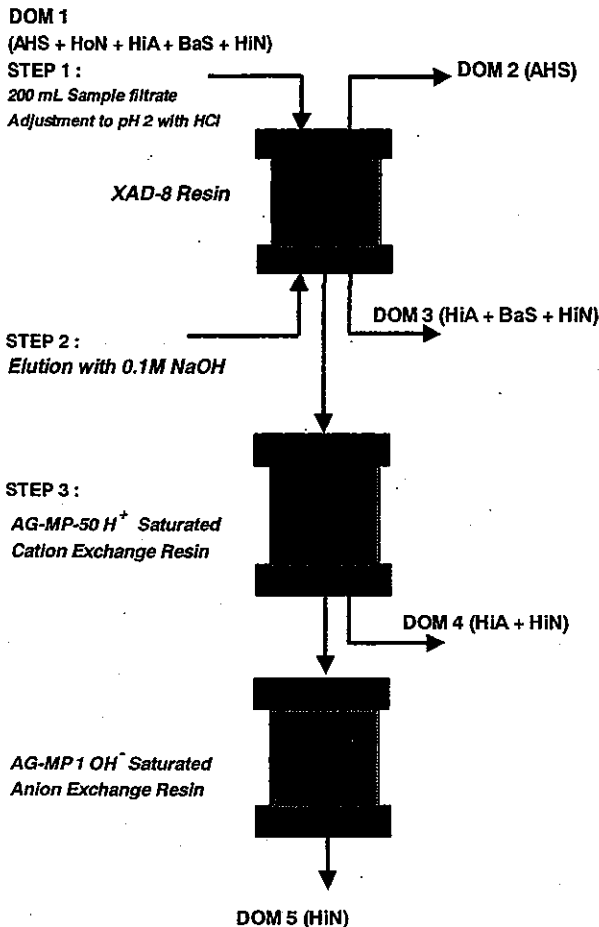


Fig. 2 Experimental procedure for dissolved organic matter (DOM) fractionation. DOM fractions are AHS, aquatic humic substances; HoN, hydrophobic neutrals; HiA, hydrophilic acids; BaS, bases; HiN, hydrophilic neutrals.

た後に約 1 l の Milli-Q 水を通水した。通水後、各々のカラムからブランクサンプルを採取した (B2, B3)。

DOM 分画手法の手順を Fig. 2 に示す<sup>2)</sup>。HCl で pH 2 に調整したサンプル 200 ml (DOM 1) を 3 ml の XAD-8 樹脂カラムに通水した。約 1 ベッド容量の相当する 0.01M HCl 溶液を通水した後、約 3 ベッド容量に相当する 0.1M NaOH を逆方向に通水し、溶出液量を測定した (DOM 2)。XAD-8 樹脂カラム通過溶液 (DOM 3) を、陽イオン-陰イオン交換樹脂の順序で連結された二つのカラムに通水した。陰イオン交換樹脂の 3 ベッド容量に相当するサンプルが通水した後、陽イオン交換樹脂カラム (DOM 4)、次いで陰イオン交換樹脂カラム (DOM 5) の順でカラム通過液を採取した。各画分の DOM 濃度は以下に示す式(1)から(5)のように算出した。カラム通水はタイゴンチューブを用いてペリスタポンプで約 1 ml・min<sup>-1</sup>、溶出は 0.5 ml・min<sup>-1</sup>以下の流量で実施した。ポンプチューブ以外のチュービングは全てテフロンチューブを用いた。分画終了後に、DOM1~DOM5 および B1~B3 の DOC 濃度および紫外外部吸光度 (UV) を測定した。

$$\text{AHS} = \text{DOM2} \times (\text{Elutant Volume}) / (\text{Sample Volume}) \quad (1)$$

$$\text{HoN} = \text{DOM1} - \text{AHS} - (\text{DOM3} - \text{B1}) \quad (2)$$

$$\text{BaS} = (\text{DOM3} - \text{B1}) - (\text{DOM4} - \text{B2}) \quad (3)$$

$$\text{HiA} = (\text{DOM4} - \text{B2}) - (\text{DOM5} - \text{B3}) \quad (4)$$

$$\text{HiN} = \text{DOM5} - \text{B3} \quad (5)$$

ここで、B1: XAD-8 樹脂ブランク、B2: 陽イオン交換樹脂ブランク、B3: 陽イオン+陰イオン交換樹脂ブランク。XAD-8 の樹脂ブランクの平均 DOC 濃度は  $0.23 \pm 0.08$  (sd)  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (n=59)、陽イオン交換樹脂ブランクは  $0.05 \pm 0.04$  (sd)  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (n=59)、陰イオン交換樹脂ブランクは  $0.04 \pm 0.03$  (sd)  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (n=59) であった。

### 2.3 分子量分布

湖水ろ過サンプル (DOM) の分子量分布および平均分子量を、ゲルろ過クロマトグラフィー (Hitachi L-6200 ポンプ, Hitachi L-4000UV 検出器, Hitachi D-2500 データインテグレーター, Rheodyne7125 サンプルインジェクター) により測定した<sup>7)</sup>。ゲルろ過クロマトグラフィーカラムとしては Water Protein Pak 125 (ジオール結合したシリカゲル, 直径 10  $\mu\text{m}$ ) を用いた。移動相としては、0.004M リン酸バッファーで pH6.8, 4 M NaCl を適量添加してイオン強度 0.1M に調整したものを用いた。移動相流速は 1 ml・min<sup>-1</sup>、検出波長は 260nm、サンプル量は 100  $\mu\text{l}$  であった。サンプルのイオン強度は移動相と同じ程度になるように 4 M NaCl で 0.1M 程度に調整した。ゲルろ過クロマトグラフィーの分子量スタンダードとしては、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム (分子量 35000, 18000, 8000, 5400, 1800) を用いた<sup>8)</sup>。全浸透容量はアセトンを用いて求めた。湖沼・河川水中において DOM のかなりの部分を占めるフミン物質は、ランダムコイル状態として存在すると考えられる<sup>9)</sup>。従来、標準物質として使用されてきたタンパク質は球状であり、DOM の分子量を過大評価する恐れがある。従って、本研究では、球状タンパク質ではなくランダムコイル状態で存在するポリスチレンスルホン酸を分子量スタンダードとして使用した。

### 2.4 分析方法

DOC 濃度は、ろ液に 2 M HCl を添加し pH 2 に調整したサンプルにキャリアガス (純空気) を通気し無機炭素を除去した後、Shimadzu TOC-5000 により測定した。分析誤差は概ね 1% 以下であった。紫外外部吸光度は、光路長 1 cm の石英セルを用いて、波長 260 nm で Shimadzu UV-PC 2500 により測定した。フミン物質のコンポーネントと考えられるフェノール化合物、安息香酸、多環芳香族化合物の極大紫外外部吸収波長 ( $\pi-\pi^*$  遷移) は 200-290nm に存在する<sup>10)</sup>。波長 260nm の吸光度は硝酸イオン、臭素イオン等の影響が無視でき、難分解性有機物に高感度であると報告されている<sup>11,12)</sup>。以上の理由で 260nm を測定波長として選択した。サンプルの pH を HCl で pH 2 に調整し、Milli-Q 水をブランクとして吸光度を測定した。生物化学的酸素要求量 (BOD)、COD、浮遊懸濁物濃度 (SS)、クロロフィル-a (Chl. -a) などの水質項目測定は、韓国の水質環境汚染公定試験法<sup>13)</sup> および Standard Methods<sup>14)</sup> に準じて分析した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 雲門湖水と流入河川水の水質および DOM 分画 雲門湖における水質 (BOD, COD, SS, Chl. -a) の



1998年から1999年にかけての変化を Fig. 3 に示す。5月から6月にかけて Chl. -a の濃度が  $8.13\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  まで上昇した。この時期には藻類の増殖が活発であったと思われる。8月と9月には、おのおの411mm, 364mm の激しい降雨が観測された。浮遊懸濁物質 (SS) 濃度が10月に急激に増加したのは、おそらく、8月と9月の降雨の影響による農耕地等からの懸濁物質の流出が1ヶ月遅れで湖水において発現したものではないかと推測される。易分解性有機物指標である BOD は年間を通して低い値を示した。一方、全有機物指標である COD の濃度は夏から秋にかけてわずかに増加する傾向を示した。

雲門湖内の3地点(東倉川側地点: DL, 湖心: DC, 雲門川側地点: UL) と2つの流入河川水(東倉川: DR, 雲門川: UR) の DOC 濃度を Fig. 4 に表す。湖水の

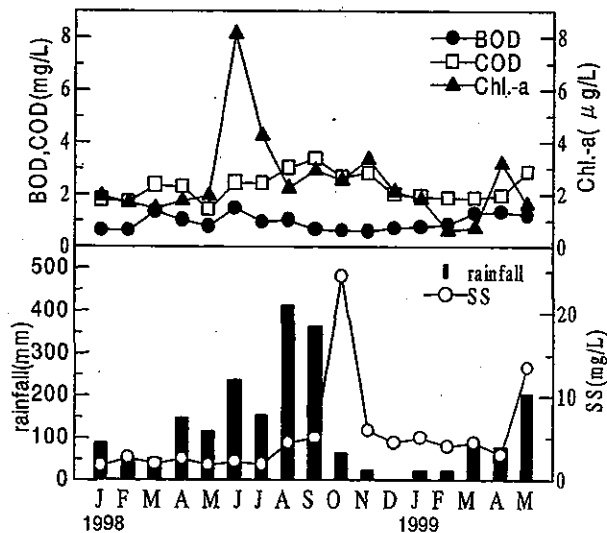


Fig. 3 Seasonal variations of water quality parameters (COD, BOD, Chl. -a, SS and rainfall) in Lake Unmun from January 1998 to May 1999. DC: Dam Center.

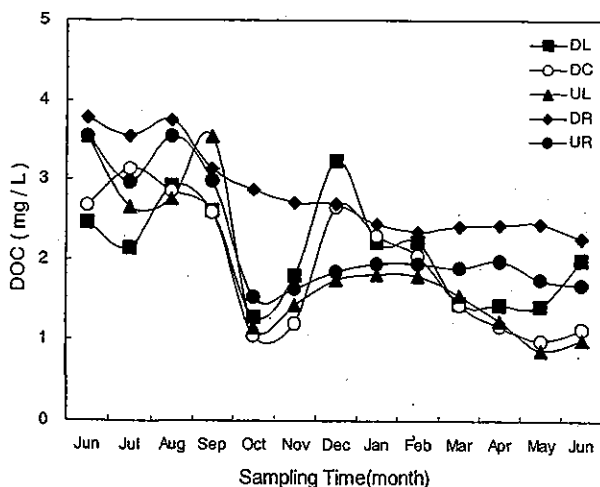


Fig. 4 Seasonal variations of dissolved organic carbon (DOC) in Lake Unmun water and rivers inflowing to Lake Unmun from July 1998 to May 1999. DL: Dongchang Point; DC: Dam Center; UL: Unmoon Point; DR: Influent river, the Dongchang River, into Lake Unmun; UR: Influent river, the Unmoon River, into Lake Unmun.

DOC 濃度は、本研究の調査期間に限って言えば、6月から9月まで高い濃度を示し、10月に急激に減少し、12月に再び上昇し、その後、翌年6月まで漸減する傾向を示した。流入河川水については、主要2河川でDOC濃度のトレンドは顕著に異なった。両河川とも夏期にDOC濃度が最大となったが、東倉川 (DR) は高いDOC濃度を維持しつつ漸減する傾向を示し、一方、雲門川 (UR) ではDOC濃度が10月に急激に減少し、それ以降、11月-12月で少し上昇するが、ほぼ一定の値の値を示した。DRを除いて、湖内3地点およびURではDOC濃度が10月に急激に減少した。8月と9月に大量の降雨があったことを考えると (Fig. 3), このDOC濃度の低下は降雨による影響の結果と推定される。ただ、DR, すなわち東倉川のDOC濃度は減少していないため、降雨のDOC濃度への影響はUR, すなわち雲門川に顕著に発現したと言える。雲門川からの河川水流出はとても大きな影響を湖水DOC濃度に及ぼしていると推測される。

本調査期間においては、1998年9月と1999年12月を除いて、流入河川水のDOC濃度のほうが湖水よりも高い値を示した。従って、湖内部生産に起因するDOM寄与は相対的にそれほど大きいものではないと思われる。流入河川水DOMの特性が湖水DOMの特性を規定する可能性が高い。

### 3.2 雲門湖水と流入河川水のDOM分画

湖内3地点および2つの流入河川で採取したサンプルにDOM分画手法を適用して得られたDOM分画分布(平均値)を Fig. 5 に示す。全てのサンプルにおいて有機酸、すなわちフミン物質(疎水性酸)と親水性酸の存在比が卓越していた。フミン物質が最も多く、次いで親水性酸、塩基性物質、親水性中性、疎水性中性物質の順に存在比は小さくなった。

フミン物質の平均存在比は、湖内の東倉川側地点(DL)地点で36% ( $0.88\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ダム湖心(DC)で39% ( $0.90\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), 湖内の雲門川側地点(UL)地点で40% ( $0.89$

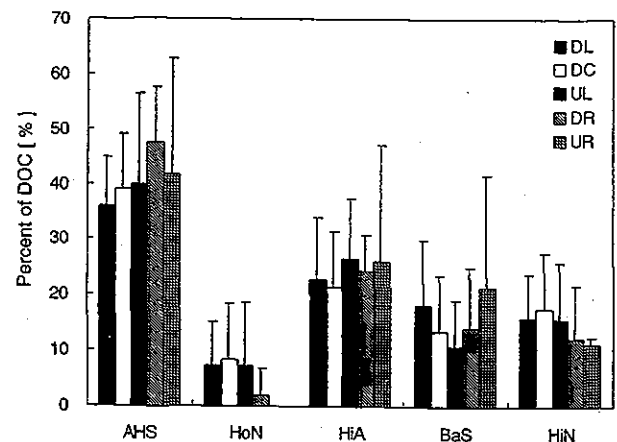


Fig. 5 DOM-fraction distributions in Lake Unmun. DOM fractions are AHS, aquatic humic substances; HoN, hydrophobic neutrals; BaS, bases; HiA, hydrophilic acids; HiN, hydrophilic neutral. Error bars represent  $\pm 1$  standard deviation. DL: Dongchang Point; DC: Dam Center; UL: Unmoon Point; DR: Influent river, the Dongchang River, into Lake Unmun; UR: Influent river, the Unmoon River, into Lake Unmun.

mg $\cdot$ l $^{-1}$ ), 東倉川 (DR) で47% (0.96mg $\cdot$ l $^{-1}$ ), 雲門川 (UR) で42% (0.96mg $\cdot$ l $^{-1}$ ) であった。雲門湖水と河川水で顕著な差はなかった。親水性酸の存在比も, ダム湖心の DC 部では21%, DL 地点で23%, UL 地点で27%であり, 流入河川水における親水性酸の存在比とあまり変わらなかった (東倉川 (DR) 24%; 雲門川 (UR) 26%)。塩基性物質については湖水で平均11-18%, 河川水は平均14-21%を占め, 親水性中性物質については湖水で平均15-18%, 河川水平均11-12%を占めた。一方, 疎水性中性物質の平均存在比は10%以下と低く, 農薬や炭化水素化合物, カルボニル化合物のような有機化合物の湖水および河川水 DOM への寄与は低いと考えられた。

Thurman<sup>15)</sup>は, フミン物質は天然水中の DOC の40-60%を占め, 湖水では40%程度と報告している。また, 河川水の場合にはフミン物質が優占し DOC の約50%を占め, 親水性酸は約25%程度と報告している。David と Vance<sup>16)</sup>は, 米国メイン州の河川水においてフミン物質は DOC の平均57%, 30%であったと報告している。また, 今井ら<sup>2,17)</sup>は琵琶湖と霞ヶ浦の湖水および流入河川水の DOM 分画分布を測定して, 湖水では親水性酸が, 河川水ではフミン物質が優占することを示した。以上の既報研究の報告から, 本研究の対象である雲門湖水とその流入河川水においても DOM 分画分布に関して同様な傾向が現れると予想したが, 湖水と河川水ではフミン物質および親水性酸の存在比には顕著な差が見受けられなかった。湖水でもフミン物質が優占していることから, 雲門ダム湖では湖水特有の内部生産等による DOM への寄与が少ないのでは推測される。これは雲門ダム湖が完成して間もないダム湖であることに起因している可能性がある。

雲門ダム湖3地点における DOM 分画分布の季節変化を Fig. 6 に示す。フミン物質の存在比は秋に最も高い値を示した。これは SS 濃度の急激な上昇に対応しており (Fig. 1), 激しい降雨による水流出の際に, 流域からフミン物質を多く含む水が湖水に流れ込んだものと考えられ

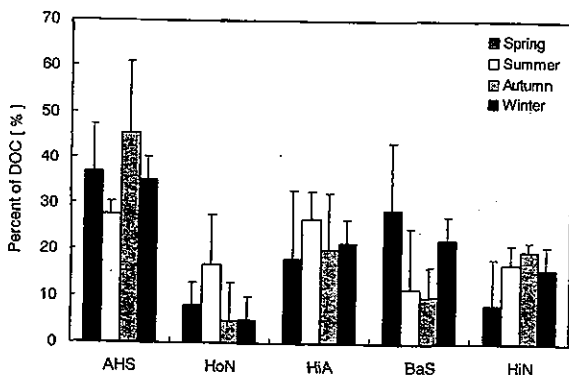


Fig. 6 The seasonal variations of DOM-fraction distributions in Lake Unmun. DOM fractions are AHS, aquatic humic substances; HoN, hydrophobic neutrals; HiA, hydrophilic acids; BaS, bases; HiN, hydrophilic neutral. Spring indicates the data in March; summer does from June to August; autumn does from September to November; winter does from December to February. Error bars represent  $\pm 1$  standard deviation of the mean.

る。一方, 親水性酸は夏にその存在比が大きくなった。藻類由来 DOM の寄与が夏に大きくなったと思われる<sup>17,18)</sup>。塩基性物質は, 春と冬に増大した。親水性中性物質は8-20%の存在比を示し, 春に顕著に低い値を示した。疎水性中性物質は夏に存在比が大きかった。

### 3.3 雲門湖水及び流入河川水の UV/DOC 比

雲門湖水と流入河川水中の地点別 UV/DOC 比を Fig. 7 に示す。湖水中 DOM の平均 UV/DOC 比は16-21 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ], 河川水中 DOM の平均 UV/DOC 比は23-28 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ] であった。DL 地点の湖水 DOM の UV/DOC 比は12-29 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ], ダム湖心 DC 地点における DOM の UV/DOC 比は11-38 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ], UL 地点 DOM の UV/DOC 比は13-43 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ] であった。河川水である東倉川 (DR) と雲門川 (UR) の DOM の平均 UV/DOC 比は, 各々23, 28 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ] で, 河川水のほうが湖水より高い値を示した。湖水 DOM は外部負荷による DOM と内部負荷による DOM からなると考えられる<sup>19)</sup>。生物活動から生産される DOM は主に炭水化物とタンパク質等の脂肪族性有機物であり, その UV/DOC 比は低いと報告されている。すなわち外部から流入する DOM の UV/DOC 比は比較的に高く, 内部生産性 DOM のそれは低いと考えられる。従って, 流入河川水の DOM UV/DOC 比は湖水のそれよりも大きくなると考えられる。雲門湖水と流入河川水の DOM UV/DOC 比の関係についても同様な傾向が見受けられた。

フミン物質の平均 UV/DOC 比は湖水で24 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ] で, 流入河川の東倉川 (DR) と雲門川 (UR) で各々29 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ], 24 [m ABS cm $^{-1}$   $\cdot$  l  $\cdot$  g C $^{-1}$ ] の値を示した。雲門川に比較して DOM 濃度が高い東倉川 (DR) のほうがわずかに高い UV/DOC 比を表していた。湖水親水性酸の場合, UV/DOC 比

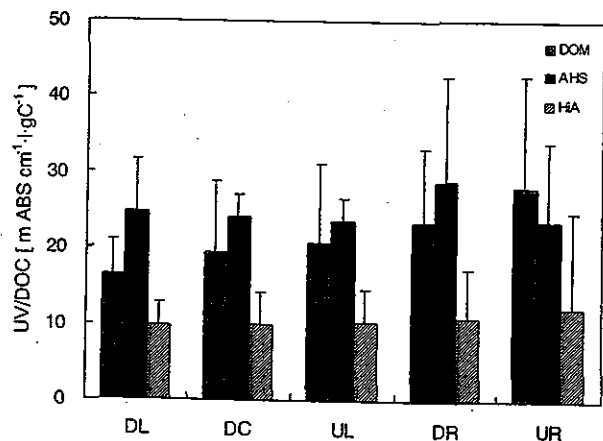


Fig. 7 The ratios of ultraviolet absorbance to dissolved organic carbon (UV/DOC) in Lake Unmun and its inflowing river waters. DOM, dissolved organic matter; AHS, aquatic humic substances; HiA, hydrophilic acids. Error bars represent  $\pm 1$  standard deviation. DL: Dongchang Point; DC: Dam Center; UL: Unmoon Point; DR: Influent river, the Dongchang River, into Lake Unmun, UR: Influent river, the Unmoon River, into Lake Unmun.

は DL 地点, ダム湖心 (DC), UL の地点でほぼ同じで約  $10 \text{ [m ABS cm}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{g C}^{-1}]$  であった。一方, 河川水の場合, 東倉川 (DR) 地点で  $11 \text{ [m ABS cm}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{g C}^{-1}]$ , 雲門川 (UR) 地点で  $12 \text{ [m ABS cm}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{g C}^{-1}]$  であった。

### 3.4 ゲルクロマトグラフィーによる分子量分布測定

雲門ダム湖の 3 地点, すなわち東倉川側 (DL) 地点, ダム湖心 (DC), 雲門川側 (UL) 地点で採取されたサンプルのゲルクロマトグラムを Fig. 8 に表す。流入河川水の影響が大きいと考えられる DL 地点や UL 地点でのクロマトグラムと比較すると, ダム湖心である DC 地点のクロマトグラムは高分子域で少し低い値を示していた。DL 地点のクロマトグラムにおいてのみ, 排除限界付近 (分子量 200 万以上) に大きなピークが認められた。このような非常に高分子の DOM に相当するピークは, 湖沼底泥間隙水, 生活雑排水, 下水初沈水等の DOM クロマトグラムにおいて観察されているが (今井, 未発表データ), なぜ湖水, それも DL 地点のみに発現したかは現時点で不明である。

Fig. 8 のクロマトグラムから求めた数平均 ( $M_n$ ) および重量平均分子量 ( $M_w$ ) を Table 2 に表す。なお, DL 地点のクロマトグラムで排除限界付近に出現したピークは無視した。雲門湖水 DOM の  $M_w$  はかなり低く

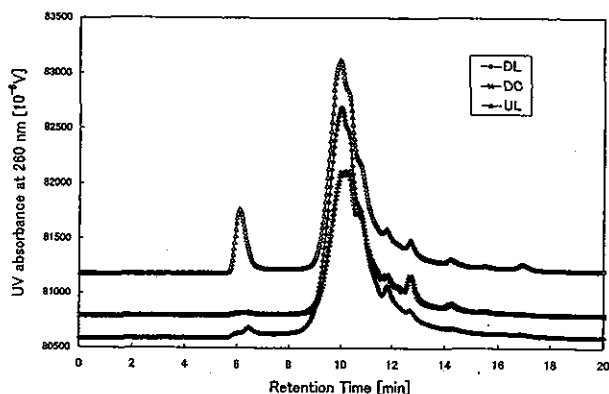


Fig. 8 Size exclusion chromatograms of the waters from DL, DC and UL in Lake Unmun from June 1998 to July 1998. DL: Dongchang Point; DC: Dam Center; UL: Unmoon Point. Retention times for PSS molecular weight standards of  $35 \times 10^3$ ,  $18 \times 10^3$ ,  $5.4 \times 10^3$ , and  $1.8 \times 10^3$  dalton are 6.7, 7.19, 8.00, 8.49, and 9.63 min, respectively. The retention time of acetone, which corresponds with the total permeation time, is 13.04 min.

Table 2 Weight-averaged molecular weight, number-averaged molecular weight and polydispersity of dissolved organic matter in Lake Unmun

Sampling Station	HPSEC (Detector Wavelength: 260 nm)		
	$M_n$	$M_w$	Polydispersity $M_w / M_n$
DL	760	1110	1.45
DC	710	1010	1.43
UL	760	1090	1.44

$1,010\text{--}1,110 \text{ g} \cdot \text{mole}^{-1}$  であった。予測通り DC 地点の分子量が最も低かったが, 湖内 3 地点 (DL, DC, UL) では平均分子量についての顕著な差は示されなかった。 $M_n$  と  $M_w$  の比, すなわちポリディスペルシティ ( $M_w / M_n$ ) は, DL 地点で 1.45, ダム湖心 DC で 1.43, UL 地点で 1.44 であった。従って, 雲門湖水 DOM は比較的単分散系 ( $M_w / M_n < 2$ ) であり, 同じような分子量を持つ有機物の集合体と示唆される<sup>20)</sup>。雲門湖水 DOM の分子量は, Chin らが報告<sup>7)</sup>した Fryxell 湖水 DOM の平均分子量 ( $M_n: 713$ ,  $M_w: 1,080$ ) や, Zhou らの報告<sup>21)</sup>による Missouri 川 DOM の平均分子量 ( $M_n: 780$ ,  $M_w: 1,188$ ) の値に匹敵しており, ポリシスペルシティ ( $M_w / M_n$ ) についても同様な値を示しており, 既存報告と整合していた。

ここで注意を要する点は, 上記の検討は UV 吸収を有する DOM を対象としてのみ有効である点である。サンプル DOM 中に UV を吸収しない物質が多量に含まれている場合には, 本研究で得られたクロマトグラムは“真の”の DOM 分子量分布と一致しない可能性がある。

## 4. ま と め

雲門ダム湖および流入河川を対象として, 疎水性—親水性, 酸性—塩基性の違いに基づいた溶存有機物 (DOM) 分画法によって, 湖水および河川水 DOM をフミン物質, 疎水性中性と親水性酸, 中性及び塩基性物質の 5 つに分画し, DOM 分画分布, 吸光度特性, 分子量分布を評価した。

雲門湖水と流入河川水では DOM 分画分布に顕著な違いは認められなかった。湖水および河川水ともに, DOM 成分として有機酸, すなわちフミン物質と親水性酸が卓越し, 特にフミン物質が優占していた。

湖水の DOM 分画分布が季節的に変化する傾向が認められた。フミン物質の存在比は夏に低下し, 秋に増大した。一方, 親水性酸の存在比は夏に最大となった。塩基性物質の存在比は春に, 疎水性中性物質の存在比は夏に高い値を示した。

湖水中の紫外外部吸光度 (UV)/溶存有機炭素 (DOC) 比の値はフミン物質, DOM, 親水性酸の順で増加し, フミン物質の UV/DOC 比は親水性酸の UV/DOC 比より約 2 倍程度高かった。

湖水 DOM の重量平均分子量は  $1,010\text{--}1,110 \text{ (g} \cdot \text{mole}^{-1})$  の範囲にあった。ポリシスペルシティ (重量平均分子量/数平均分子量) は 1.43—1.45 の比較的小きな値を示し, 湖水 DOM は比較的に同じサイズの分子からなる集合体であることが示された。

(原稿受付 2002年9月9日)

(原稿受理 2003年8月27日)

## 参 考 文 献

- 1) 滋賀県 (1996) 琵琶湖の有機汚濁に関する検討委員会資料。
- 2) Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K. and Kim, Y.H. (2001) Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers and organic matter sources, *Water Research*, 35(17), 4019–4028.
- 3) Perdue, E.M. and Gjessing, E.T. (1990) Introduction. In *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*, eds. E. M. Perdue and

- E. T. Gjessing, pp. 1-3. Wiley, Chichester.
- 4) Leenheer, J.A. (1981) Comprehensive Approach to preparative isolation and Fraction of Dissolved Organic Carbon from Natural waters and Wastewaters, *Environmental Science & Technology*, 15, 578-587.
  - 5) Kim, Y.H. (1999) A Study on Change and Characteristics of Dissolved Organic Matter in Lake Waters, Doctorial Dissertation, Yeungnam University, Gyungsan, Korea.
  - 6) Thurman, E.M and Malcolm, R.L. (1981) Preparative Isolation of Aquatic Humic Substance, *Environmental Science & Technology*, 15 (4), 463-466.
  - 7) Chin, Y.P., Aiken, G. and O'Loughlin, E. (1994) Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances, *Environmental Science & Technology*, 28(11), 1853-1858.
  - 8) Pelekani, C., Newcombe, G., Snoeyink, V.L., Hepplewhite, C., Assemi, S. and Beckett, R. (1999) Characterization of Natural Organic Matter using high performance size exclusion chromatography, *Environmental Science & Technology*, 33, 2807-2813.
  - 9) O'Loughlin, E. and Chin, Y.P. (2001) Effect of detector wavelength on the determination of the molecular weight of humic substances by high-pressure size exclusion chromatography, *Water Research*, 35 (1), 333-338.
  - 10) 日本科学会 (1977) 新実験科学講座13:有機構造II, 704-708, 丸善.
  - 11) Tambo, N. and Kamei, T. (1989) Evaluation of Extent of Humic-Substance Removal by Coagulation in Aquatic Humic Substance; Influence on Fate and Treatment of Pollutants, (Eds. Suffet, I. H. and MacCarthy, P), *American Chemical Society*, 453-472.
  - 12) Tambo, N. and Kamei, T. (1978) Treatability Evaluation of General Organic Matter Matrix Conception and its Application for Regional Water System, *Water Research*, 12, 931-950.
  - 13) 環境汚染公定試験法-水質分野 (1995), 東化技術 (韓国).
  - 14) APHA, AWWA, WEF (1995) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters, 19<sup>th</sup> Ed., *American Public Health Association*, Washington, D. C.
  - 15) Thurman, E.M. (1985) Organic Geochemistry of Natural Waters, *Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers*, Dordrecht.
  - 16) David, M.B. and Vance, G.F. (1991) Chemical Character and Origin of Organic Acids in Streams and Seepage Lakes of Central Marine, *Biogeochemistry*, 12, 17-41.
  - 17) 今井章雄, 福島武彦, 松重一夫, 井上隆信, 敏昌石橋 (1998) 琵琶湖水および流入河川水中の溶存有機物の分画, 陸水学雑誌, 59 (1), 53-68.
  - 18) Choi, K., Imai, A., Kim, B. and Matsushige, K. (2001) Properties of Dissolved Organic Carbon(DOC) released by Three Species of Blue-green Algae, *Korean J. Limnol.*, 34 (1), 20-29.
  - 19) Zumstein, J. and Buffle, J. (1989) Circulation of pedogenic and aquagenic organic matter in a eutrophic lake, *Water Research*, 23, 229-239.
  - 20) 海老原雄 (1985) 高速液体クロマトグラフィーハンドブック, 日本分析科学会関東支部一丸善株式会社.
  - 21) Zhou, Q., Cabaniss, S.E. and Maurice, P.A. (2000) Considerations in the use of high-pressure size exclusion chromatography (HPSEC) for determining molecular weight of aquatic humic substances, *Water Research*, 34(14), 3505-3514.