

# 脂質過酸化反応を用いた土壤中難分解性有機化合物の分解に関する研究

著者	平塚 夏海
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2011
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1342/00000926/">http://id.nii.ac.jp/1342/00000926/</a>

修士学位論文

脂質過酸化反応を用いた土壤中難分解性有機化合物の  
分解に関する研究

平成 23 年度  
(2012 年 3 月)

東京海洋大学大学院  
海洋科学技術研究科  
海洋環境保全学専攻

平塚 夏海

## 目次

1. 序論	1
1-1. はじめに	1
1-2. 土壌汚染に関連する法整備および特定有害物質	1
1-3. 汚染土壌の浄化方法 ～フェントン反応	2
1-4. 脂質過酸化反応	3
1-5. 本研究の目的	4
2. 実験方法	5
2-1. 試薬および試料	5
2-2. 土中有機化合物の分解試験	7
2-2-1. 有機化合物含有土の作成	7
2-2-2. 土中 ANT の分解	8
i) 試験土の調製	8
ii) 土中からの ANT の抽出	9
iii) 水抽出物の抽出	9
iv) 鉄イオンの除去	10
v) 水抽出物のアセチル化	10
vi) 水抽出物のトリメチルシリル化	10
vii) 水抽出物のメチルエステル化	11
2-2-3. ANT の検量線	11
2-2-4. GC/MS(GasChromatograph/MassSpectrometer)による分析	12
i) 分析条件	12
ii) 経時変化	12
2-2-5. FT-IR (Fourier transform InfraRed Spectrophotometer) による分析	13
2-2-6. HPLC による分析	13
i) 分析条件	13
ii) 経時変化	13
3. 結果及び考察	14
3-1. 有機層の分析	14
3-1-1. ANT 回収率 (%) の経時変化	14

3-1-2. 中間生成物	
3-2. 水抽出物の分析	16
3-2-1. 誘導体化	18
i) アセチル化	18
ii) TMS 化	19
iii) FT-IR による分析	20
3-2-2. 水抽出物の HPLC による分析	21
3-2-3. 水抽出物より得られた化合物の構造分析	22
3-3. 脂質過酸化反応による処理	25
4. 結論	26
5. 謝辞	29
6. 参考文献	30
図表	32

## 1. 序論

### 1-1. はじめに

土壌汚染は化学プラントからの有害物質の漏洩や不法投棄などにより、難分解性の有害物質が土壌に蓄積された状態であり、近年、その実態が工場跡地の再開発などに付随して顕在化してきている。コストの問題から浄化処理されない土地は取引されずに放置され（ブラウンフィールド問題）、結果として汚染土壌、すなわち開放域にある有害物質もまた放置され、さらに土中の有害物質は地下水路を経て他の環境域へ分散する。漏洩や汚染が社会問題化する有害物質はダイオキシンの他にも多数の有毒な物質が含まれ、将来的な環境問題だけでなく、現時点における直接的な人体への悪影響が懸念される。

### 1-2. 土壌汚染に関連する法整備および特定有害物質

水質汚濁防止法（1971年施行）や大気汚染防止法（1962年制定）と比較すると、土壌汚染に関連する法整備は極めて遅く、ダイオキシン類対策特別措置法の施工は2000年、土壌汚染対策法の施工が2003年である[1,2]。

ダイオキシン類対策特別措置法ではポリ塩化ジベンゾフラン、ポリ塩化ジベンゾ-p-ジオキシン、コプラナーポリ塩化ビフェニルをダイオキシン類として定めており、それらの土壌中の基準は「1000 pg-TEQ/g以下」とされている。

ここで、TEQ(Toxic Equivalentents 毒性等量)とは、測定した化合物の濃度にTEF(毒性等価係数)を掛け、2,3,7,8-四塩化ジベンゾジオキシン (TeCDD)の量に換算して表したものである。

一方、土壌汚染対策法によって環境基準の定められた特定有害物質(Table.1)のうち、第一種に分類される物質はほとんどが飽和炭化水素の塩素化物であり、ベンゼンのみが不飽和化合物である。第二種は重金属とその化合物であり、第三種には塩素化芳香族化合物のポリ塩化ビフェニルが含まれている。油汚染土壌に関する法制定は未だ行われていないが、2006年に環境省が「油汚染対策ガイドラインー鉱油類を含む土壌に起因する油臭・油膜問題への土地所有者等による対応の考え方」(中央環境審議会土壌農薬部会・土壌汚染技術基準等専門委員会)をとりまとめている。

### 1-3. 汚染土壌の浄化方法 ～フェントン反応

土壌汚染対策の工法には、盛り土、舗装、封じ込め、掘削除去、原位置修復などがある。掘削除去は、構造物を撤去し、土壌を掘削して搬出し、清浄土と入れ替える方法である。原位置修復法は、汚染位置に直接、浄化剤を注入する方法であり、構造物の撤去が必要なく、事業所が稼働中にも施工可能である。原位置修復法は生物的処理と物理・化学的処理に大別される。生物的処理は微生物の作用を利用した分解処理法であり、汚染域の微生物群相を分析後、微生物による有害物質の分解を促進すべく土壌の調製等を行う。浄化速度の予測が難しく、本質的に時間とコストのかかる工法である上、生態系への影響も懸念される。しかし、特に原位置での実施例は多くはないものの、近年、積極的な研究、及び技術開発が為されている[4]。

化学的処理法ではフェントン反応を利用した方法が主流であり、原位置修復法として実用化されている。この方法は試薬が安価で、迅速な分解が可能とされている。フェントン反応(Fig.1)は、鉄イオン( $\text{Fe}^{2+}$ )と過酸化水素( $\text{H}_2\text{O}_2$ )からヒドロキシルラジカル( $\cdot\text{OH}$ )が発生する反応である。フェントン法によ

る汚染土の浄化では、 $\cdot\text{OH}$  が汚染物質と反応して分解に導くと考えられる。フェントン反応を用い、ダイオキシンを対象とした既往の研究例では、 $70^{\circ}\text{C}$ 、30分(土中)でほぼ100%分解したという報告されている[5-8]。

#### 1-4. 脂質過酸化反応

脂質過酸化反応は、フェントン反応と同じくラジカル発生系であり、触媒量の開始剤によって連鎖的にラジカルを生じることを特徴とする。この反応で、不飽和脂質が光や熱、遷移金属イオン、ラジカル開始剤によって開始され、種々のラジカルや過酸化脂質を生じる。生体内の特に生体膜で起こりやすく、これらのラジカルや過酸化脂質は、老化や動脈硬化、癌などの原因となることが報告されている[9, 10]。生化学分野では、生体内における過酸化抑制など、関連研究が盛んである。脂質過酸化反応を有害有機化合物の分解に応用した研究例は少なく、開始剤として酵素反応で生じる金属イオンやフリーラジカルをしたものに限られている。

脂質酸化反応の模式図を Fig.2 に示した。脂質酸化反応では、まず、不飽和脂質(LH)から水素が離脱し、生じたカーボンセンターラジカル( $\text{L}\cdot$ )が酸素と結合してペルオキシラジカル( $\text{LOO}\cdot$ )になる。ペルオキシラジカル( $\text{LOO}\cdot$ )は、新たな不飽和脂質(LH)から水素を引き抜いてヒドロペルオキシド( $\text{LOOH}$ )となり、カーボンセンターラジカル( $\text{L}\cdot$ )を生じさせる。この連鎖反応によって連続的に発生するヒドロペルオキシド ( $\text{LOOH}$ ) は不安定なため、自然環境下で容易に開裂し、アルコキシラジカル( $\text{LO}\cdot$ )となる。このように脂質過酸化反応では、一度反応が開始されると、ラジカル発生は酸素や不飽和脂質 (LH) が消失するまで継続する。

フェントン反応と脂質過酸化反応のラジカル発生効率を比較すると、フェ

ントン反応では、鉄イオン 1 分子から 1 分子のラジカルが発生するのに対し (Fig.1)、脂質過酸化反応では鉄イオン 1 分子で 2 分子、または 3 分子のラジカルが発生する。さらに発生したラジカルが連鎖的にラジカルを生成するため、脂質過酸化反応はフェントン反応より効率良くラジカルを発生するといえる。

また、一般にラジカル種は反応性が高く、最初に接触した化合物と反応して消費される。したがって、分解対象の近傍でラジカルが発生することが望ましく、分解対象が有害有機化合物である場合は、ラジカル前駆体が疎水性であるほうが有利であると考えられる。フェントン反応のラジカル前駆体である過酸化水素は親水性だが、脂質過酸化反応で用いる不飽和脂質は疎水性であるため、ラジカル発生が対象化合物の近傍で発生する上、本反応は連鎖反応であることから、分解効率が高いことが期待される。

#### 1-5. 本研究の目的

先行研究において、鉄とリノール酸を用いた脂質過酸化反応により、土中アントラセン (Fig.3) が消失すること、消失速度がフェントン反応よりも速いことがわかっている [11]。また、同研究では反応試薬の選択と組成の最適化が行われた。アントラセンは難分解性の多環芳香族化合物である。

この成果を受け、本研究では、アントラセンが脂質過酸化反応によって無毒性な物質、芳香環構造の崩壊した分解生成物に変化することを確認するため、脂質過酸化反応によるアントラセンの分解機構の解明に取り組んだ。



## 2. 実験方法

### 2-1. 試薬および試料

本実験で用いた試薬および試料は次に示す通りである。ストック溶液等を調製した場合は、併せて示した。

- ・アントラセン(以下 ANT と略す) : SIGMA-ALDRICH 社製( $\geq 99\%$ )  
東京化成工業株式会社製( $> 99.5\%$ )  
ストック溶液 ; 500 ppm ヘキサン溶液(w/v)
- ・試験土 : ベントナイト : 珪砂 = 1 : 1 で混合
- ・リノール酸(以下 LH と略す) : 和光純薬株式会社製  
ストック溶液 ; 400 mM 溶液(溶媒 ; 0.5%PlisurfA210G 水溶液)
- ・ $\text{Fe}^{3+}$  ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) : 国産化学株式会社製  
 $\text{Fe}^{3+}$ ストック溶液 ; 40 mM 溶液(溶媒 ; 5mM HCl 溶液)
- ・セルデックス HP- $\beta$ -CD(乳化剤) : 日本食品化工株式会社製  
ストック溶液 ; 2%水溶液(w/v)
- ・ $\text{CaO}_2$ (酸素発生剤) : 関東化学株式会社製(鹿一級)
- ・HCl : 和光純薬株式会社製
- ・ヘキサン : 国産化学株式会社製(特級)
- ・99.5%エタノール : 国産化学株式会社
- ・メタノール : 国産化学株式会社
- ・アセトン : 国産化学株式会社製(特級)
- ・ジクロロメタン(以下 DCM と略す) : 国産化学株式会社製(特級)
- ・無水硫酸ナトリウム : 和光純薬工業株式会社製

- ・ナフタレン標準品(以下 **Naph** と略す)：和光純薬工業株式会社製(環境分析用)

GC/MS 標準物質として使用した

- ・酢酸エチル：和光純薬工業株式会社製(特級)
- ・酢酸：和光純薬工業株式会社製
- ・硫酸：国産化学株式会社製
- ・炭酸水素ナトリウム：国産化学株式会社製
- ・無水酢酸：和光純薬工業株式会社製
- ・ピリジン：和光純薬工業株式会社製
- ・*N,O*-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド：和光純薬工業株式会社製

## 2-2. 土中有機化合物の分解試験

### 2-2-1. 有機化合物含有土の作製

ANT含有土は、ヘキサンを溶媒とした 500 ppm ANT 溶液(w/v)を土に 1000 ppm (ANT 0.00025 g / 2.5 g)を含有するように混合し、風乾によりヘキサンを揮発させたものを用いた。

## 2-2-2. 土中 ANT の分解

### i) 試験土の調製

ANT 含有土 (2-2-1 参照) に試薬 (HCl、Fe、LH、セルデックス、CaO<sub>2</sub>) を添加し、十分に攪拌した後、60℃に設定したインキュベーターに放置した。この際、酸素を供給するために、2日に一度 HCl と CaO<sub>2</sub>を初期添加量と同量添加した。また、乾燥を防ぐために、蒸留水を適宜加えた。

試薬の添加順序、濃度、初期添加量は以下の表に示す。

ANT の処理における試薬の添加順序と試験土の組成

添加順序	試薬	溶媒	ストック濃度	添加量	最終濃度
①	蒸留水			8.925mL	
②	HCl	MiliQ 水	3M	4.5mL	900mM
③	セルデックス	MiliQ 水	2%	0.375mL	0.05%
④	LH	0.5%plysurfA210G	400mM	600 μ L	16mM
⑤	Fe (Ⅲ)	HCl	40mM	600 μ L	1.6mM
⑥	CaO <sub>2</sub>			0.5g	380mM

Total : 15mL (土 2.5g 含有)

## ii) 土中からの ANT の抽出

処理後の試料にエタノールを約 50 mL 加え攪拌したのち、桐山濾紙 No.4 を用い減圧濾過を行った。この操作をエタノールとアセトンでそれぞれ 2 回ずつ行い、土中の水分を十分に除去した。濾液は保存し、洗浄土はヘキサンを溶媒としたソックスレー抽出に 2 時間かけた。この抽出液と濾液を合わせ、分液漏斗を用いて有機層と水層に分離した。得られた有機層は MilliQ 水で 3 回洗浄を行った。水層はジクロロメタンで 3 回洗浄を行った。これらの操作で得られた水層は保存し、有機層は無水硫酸ナトリウムで脱水したのちヘキサンで 100 mL に定容した。(Scheme.1) この抽出液から一部取り、標準物質として Naph を添加後、GC/MS で分析した。抽出液と Naph の含有比(mL) は 16 : 1 とした。

## iii) 水抽出物の抽出

ソックスレー抽出後の土壌をアセトンで置換した後に、MilliQ 水を用いて加熱還流を 1 時間行った。桐山濾紙 No.4 を用い減圧濾過を行い、得られた抽出液と先の水層(2-2-2. ii 参照)を混合し乾固した。(Scheme.1) 乾固した試料にアセトンを加えて十分に攪拌した後に、桐山濾紙 No.4 を用い減圧濾過を行うことで、溶液中の沈殿物(カルシウム)を除去した。得られたアセトン溶液は再度乾固した。

#### iv) 鉄イオンの除去

前項 2-2-2. iii) にて得られた固体試料を MiliQ 水に溶解させ、1 mL 程度にした濃縮液を、酢酸エチル：アセトン=1：9 に酢酸を 5% 添加した展開溶媒を用いてシリカゲルクロマトグラフィーにて分画することで、鉄イオンを除去した。得られたフラクションをまとめて乾固し、保存した。

#### v) 水抽出物のアセチル化

前項 2-2-2. ii) にて得られた水層を乾固し、減圧乾燥により十分に水分を除去した。ここに、ピリジンおよび無水酢酸を 1 mL ずつ添加し、室温で一日放置した。この溶液を 10 倍量の氷水へ攪拌しながら滴下し、30 分程度攪拌した。エバポレーターを用いてピリジンおよび酢酸を留去した後、ジクロロメタンを加えて攪拌し、GC/MS に供した。

#### vi) 水抽出物のトリメチルシリル化（以下、TMS 化と記す）

前項 2-2-2. ii) にて得られた水層を乾固し、減圧乾燥により十分に水分を除去した。ここに、TMS 化剤 (*N,O*-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド) を 0.5 mL 添加し、室温で 1 時間放置した。ジクロロメタンを加えて攪拌し、GC/MS に供した。

## vii) 水抽出物のメチルエステル化

前項 2-2-2. iv) にて保存した試料に、メタノール 41 mL を加え、さらにジクロロメタンで 100 mL にメスアップした。ここに濃硫酸を 1 mL 加え、加熱還流を 12 時間行った。放冷した後、分液漏斗を用いて MiliQ 水で 3 回洗浄した。さらに、得られた有機層を分液漏斗を用いて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で 3 回洗浄した。無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、溶媒を留去した。

## 2-2-3. ANT の検量線

溶媒をヘキサンとして、ANT および Naph 溶液 100 ppm を作製し、Table.1 の含有比で混合した後、GC/MS で分析した。ANT および Naph の TIC を Fig.4 に示す。分析で得た ANT および Naph の TIC 上のピーク面積を用いて、縦軸をピーク面積比 (ANT / Naph)、横軸を濃度比 (ANT / Naph) として検量線を作製した。ピーク面積を Table.2、検量線を Fig.5 に示す。この検量線から次の直線式が得られた。これを用いて ANT 濃度を算出した。

$$y = 0.0836x - 0.0667$$

$$R^2 = 0.9497$$

$$(y = \text{ピーク面積比} : \text{ANT/Naph}, x = \text{濃度比(ppm)} : \text{ANT/Naph})$$

#### 2-2-4. GC/MS(GasChromatograph/MassSpectrometer)による分析

GS/MS は島津製作所製 GCMS-QP5050A、オートサンプラーに島津製作所製 AOC-20i に AOC-20s を設置したものを使用した。キャピラリーカラムは J&W Scientific 製 DB-5 (30 m×0.25 mm,膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ,液相：微極性)を使用した。また、キャリアガスにはヘリウムを使用した。

##### i) 分析条件

GS/MS 分析条件は、注入法をスプリットレスで行い、GC カラムヘッド圧を 100 kPa、注入部温度を 280 度、検出部温度を 280 度とした。初期温度は 80 度で 4 分間保持し、310 度まで 30°C/min で昇温、310 度で 4 分間保持した。

MS の走査質量範囲は 40~400 m/z、溶媒溶出時間：4 分、スキャンモードで 5~16 分測定した。

##### ii) 経時変化

試験土を 60°C で 3 日・7 日・14 日・21 日・28 日間処理し、前項 2-2-2.

ii) にて得られた試料を、Millex-FH のフィルターを用いて濾過した後、GC/MS に供した。



## 2-2-5. FT-IR (Fourier transform InfraRed Spectrophotometer) による分析

赤外吸光スペクトルを日本分光株式会社製 FT/IR-6100 により、KBr 法を用いて  $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$  の波数範囲で測定した。分解は  $4\text{ cm}^{-1}$ 、積算回数は 2000 回で行った。また、測定試料（水抽出物および、そのメチルエステル化物）は測定前に減圧乾燥によって十分に水分を除去した。

## 2-2-6. HPLC による分析

HPLC はポンプに日立製 L-7100、カラムオーブンに日立製 L-7300、検出器に日立製 RI Detector L-7490、測定装置に日立製 Integrator D-7500 を使用した。カラムは YMC 製 YMC-PACK Polymer C18 を使用した。

### i) 分析条件

HPLC 分析条件はカラム温度  $40^{\circ}\text{C}$ 、溶媒に MilliQ 水を使用し、流量  $1\text{ mL/min}$  で測定した。

### ii) 経時変化

試験土を  $60^{\circ}\text{C}$  で 7 日・14 日・21 日・28 日・35 日・42 日間処理し、前項 2-2-2. ii) および、2-2-2. iii) にて得られた固体試料を、MilliQ 水を用いて  $20\text{ mL}$  にメスアップし、Millex-LH のフィルターを用いて濾過した後、 $100\ \mu\text{L}$  を注入し、測定した。

### 3. 結果及び考察

#### 3-1. 有機層の分析

##### 3-1-1. ANT 回収率 (%) の経時変化

前項 2-2-2 及び 2-2-4 にて 60℃ で 3 日～28 日間処理した試験土に残存するアントラセン量を GC/MS により測定した。得られた TIC を Fig.6 に示す。

標準物質であるナフタレンのピークは保持時間 5.7 分に観察された。また、保持時間 9.3 分および 10.0 分にもピークが観察された。

Fig.7 に保持時間 9.3 分のピークのマススペクトルを示した。マススペクトルでは分子イオンピークが 178 m/z に観察された。このピークは標品との比較により、アントラセン (Fig.3) であることが確認された。

各試験土の処理期間および ANT 回収率 (%) を Table.3、処理期間に対する ANT 回収率 (%) の変化を Fig.8 に示す。Fig.8 は縦軸が ANT 回収率 (%)、横軸が処理期間である。

脂質過酸化反応を用いて 60℃ で 3 日～28 日間処理した場合、ANT 回収率は処理期間 3 日目では 97.9% であり、減少はほとんど見られなかった。しかし、7 日目には減少していることが顕著に表れた (7 日 : 22.7%)。さらに、その後は ANT 回収率が処理期間に伴って徐々に減少し、28 日後には検出限界以下に達することがわかった。

以上より、1000 ppm アントラセンは脂質過酸化反応による処理で、28 日間で消失することが示された。

また、脂質過酸化反応による ANT 回収率の減少が少なくとも 28 日間は続

くことが示され、脂質過酸化反応による酸化の持続性が示唆された。

既往の研究において、60℃、48時間の処理でANT回収率は最高で23.5%であったことが報告されている（大鶴万喜，2009）。しかし、本研究では処理期間3日目ではANT回収率の減少はほとんど見られなかった（3日：97.9%）。この原因として、試薬添加時に攪拌が不十分であったためにラジカルが円滑に発生せず、結果としてアントラセンの酸化が進まなかった可能性が考えられる。また、既往の研究において、同条件で処理した場合のANT回収率が40.8%と高い時もある（大鶴万喜，2009）。したがって、脂質過酸化反応によるラジカル発生量が必ずしも同量ではないと考えられる。

### 3-1-2. 中間生成物

Fig.6 の TIC において観察された、保持時間 10.0 分のピークのマススペクトルを Fig.10 に示した。

Fig.9 を見ると、分子イオンピークが 208 m/z に観察された。また、主要なフラグメントイオンピークは 50、76、152、180 m/z に観察された。ベースイオンピークは 180 m/z であった。これらのピークがアントラキノン標準品のピークとほぼ一致することから、保持時間 10.0 分のピークはアントラキノンによるものと判断した。

アントラキノンの化学構造を Fig.11 に示した。アントラキノンとは、アントラセンの中心にあるベンゼン環の二重結合が消失し、キノン構造を形成した化合物である。この構造は、アントラセンが酸化されることで生じたと推測される。したがって、アントラキノンはアントラセンの反応生成物であることが示唆された。

そこで、脂質過酸化反応によってアントラセンからアントラキノンが生成する反応機構を推定し、Fig.12 に示した。まず、アントラセンの、9 位、あるいは 10 位の炭素に結合した水素が離脱し、ラジカルを生じる。このラジカルは酸素と結合してペルオキシラジカルとなり、次いで水素と結合してヒドロペルオキシドとなる。ヒドロペルオキシドは不安定なため、開裂して、アルコキシラジカルとなり、ケトン構造を生じる。同時にもう一方の炭素がラジカルとなり、同様の反応によりケトン構造を生じることで、アントラキノンが生成されると推測される。

処理期間 3 日～28 日におけるアントラキノンのピーク面積のナフタレンのピーク面積に対する相対値を Table.4 に示した。また、処理期間に対するアントラキノンの相対値の推移を Fig.13 に示した。この結果、アントラキ

ノンでは処理期間 3 日では生成されていないが、1 週間の時点では生成されていることがわかった。前項 3-1-1. において、ANT 回収率 (%) は処理期間 3 日ではほぼ減少しなかったが、1 週間では顕著に減少していた。したがって、アントラキノンはアントラセンの酸化に伴い生成されることが考えられる。また、アントラキノン相対値は処理期間 2 週間まで増加した後、減少に転じることがわかった。この結果より、処理期間 2 週間以降、アントラキノンは酸化により消失することが示唆された。したがって、アントラキノンは脂質過酸化反応によるアントラセンの酸化における中間生成物であると考えられる。

フェントン反応によるアントラセンの酸化反応に関して研究した論文においても、反応生成物あるいは中間体としてアントラキノンは報告されている[12,13]。また、DFT 法による多環式芳香族炭化水素のラジカル反応位置の予測においても、アントラセンはアントラキノンになると予測されている[14]。

本研究では有機溶媒抽出物中にアントラキノン以外の反応生成物は検出できなかったが、先行研究では GC/MS 分析において反応生成物とみられるピークが複数検出されている (大鶴万喜, 2009)。したがって、有機溶媒抽出物のさらなる詳細な分析を行い、他の反応生成物についての知見を得ることで、アントラセンの脂質過酸化反応による分解機構が解明されることが考えられる。

### 3-2. 水抽出物の分析

前項 3-1 において、土中アントラセンは脂質過酸化反応により、中間生成物としてアントラキノンに変質した後、さらに酸化されて消失することが示された。アントラキノンから発生する次の段階の反応生成物は、より極性の高い化合物であると考え、その特定のために水抽出物の分析を行った。

#### 3-2-1. 誘導体化

##### i) アセチル化

水溶性の反応生成物は構造中に OH 基を有すると推測される。また、極性が高いため、揮発性が低く、GC/MS での分析が困難である。そこで、アセチル化を試みた。

前項 2-2-2. v) によって水抽出物をアセチル化し、GC/MS を用いて分析した。GC/MS 分析によって得られた TIC を Fig.14 に、主要ピークのマススペクトルを Fig.15 に示した。

GC/MS による分析では複数のピークが検出された。しかし、GC/MS 分析に用いたサンプルを薄層クロマトグラフィーに供したところ、スポットの Rf 値が 0 であり、極性が高いことが示された。そのため、アセチル化ができない、あるいは、処理時に添加した鉄イオン等が錯体を形成している可能性があると考え、他の化学修飾法として TMS 化を行った。

## ii) TMS 化

前項 3-2-1. i) において、アセチル化を行い GC/MS による分析を試みたものの、良好な結果を得ることが出来なかった。そこで、他の化学修飾法として TMS 化を試みた。

前項 2-2-2. vi) によって TMS 化した水抽出物を GC/MS により分析した。GC/MS 分析によって得られた TIC を Fig.16 に、各ピークのマススペクトルを Fig.17 に示した。

GC/MS による分析では 2 つのピークが検出された。各ピークのマススペクトルを見ると、1 つ目のピークのマススペクトルは 73 m/z にフラグメントイオンピークが確認され、TMS 化されていることが示唆された。しかし、GC/MS 分析に用いたサンプルを薄層クロマトグラフィーに供したところ、スポットの Rf 値が 0 であり、極性が高いことが示された。そのため、アセチル化時と同様に処理時に添加した鉄イオン等が錯体を形成している、あるいは、サンプル濃度が薄く、鉄イオンのスポットのみが観察されている可能性があると考えた。

### iii) FT-IR による分析

アセチル化および TMS 化物を GC/MS および TLC に供した結果、誘導体化が出来ていない可能性が示唆された。そこで、3-2-1. i) にて GC/MS に供したアセチル化物を FT-IR を用いて分析し、アセチル化が出来ているのかの確認を行った。FT-IR の結果を Fig.18 に示した。

2900  $\text{cm}^{-1}$  付近に C-H に基づくピークが観察された。カルボニル基のピークは 1750  $\text{cm}^{-1}$  に検出されており、アセチル基のカルボニルを示すピークと考えられる。また、1230  $\text{cm}^{-1}$  に検出されたピークは C-O-C によるピークと考えられる。したがって、この物質はアセチル基を有していると示唆された。

上記のように、アセチル化が出来ていたことが示された。したがって、水抽出物中の化合物は OH 基を有していると考えられる。しかし、TLC を行った結果、スポットの Rf 値は 0 であった。これらの結果から、アセチル化物および TMS 化物は濃度が薄く、TLC で見るができなかったと推測した。観察された Rf 値 = 0 のピークは金属イオン等の夾雑物によるものであったと考えられる。

水抽出物は処理時に添加した試薬由来のカルシウムイオンや鉄イオンを含有している。そこで、これらの除去を試みた。



### 3-2-2. 水抽出物の HPLC による分析

前項 2-2-2. iii) において、処理時に添加した試薬由来のカルシウムイオンを除去した。さらに、前項 2-2-2. iv) を行い、鉄イオンを除去した。その後、前項 2-2-4 及び 2-2-7 に従って処理し、得られた水抽出物を HPLC を用いて分析した。クロマトグラムを Fig.19 に示す。

その結果、水抽出物からは単一ピークが検出された。そこで、各処理期間の試料の希釈率と注入量を固定して HPLC 分析を行うことで、水抽出物中の化合物の増減を観察した。

各試験土の処理期間とピーク面積を Table.5、処理期間に対するピーク面積の増減を Fig.20 に示す。

その結果、このピークを示す化合物は処理期間 3 週間目に急激に増加することがわかった。前項 3-1-2 において、2 週間目より一次反応生成物の消失が始まること示されている。したがって、一次反応生成物の酸化によりこの化合物が増加することが示唆された。

処理期間 3 週間以降は、この化合物は処理期間に伴い徐々に減少した。したがって、水抽出物中の化合物はさらに酸化を受け、消失していると考えられる。今後は水抽出物のさらなる詳細な分析が必要である。

また、水抽出物中の化合物の減少が 6 週間まで続いていることから、脂質過酸化反応による酸化が少なくとも 6 週間は継続することが示唆された。

### 3-2-3. 水抽出物より得られた化合物の構造分析

HPLC 結果より、水抽出物から単一ピークが検出された。そこで、このピークを示す化合物の構造を推定するため、前項 2-2-2. iii)、2-2-2. iv) によって得られた水抽出物を乾固し、FT-IR に供した。その結果を Fig.21 に示す。

その結果、2700~3700  $\text{cm}^{-1}$  に O - H 由来のピークが観察された。また、1568  $\text{cm}^{-1}$  および 1418  $\text{cm}^{-1}$  にカルボキシレートイオン由来のピークが観察された。したがって、この化合物はカルボキシ基を有すると推測される。

ベンゼン環を有する場合は、650~900  $\text{cm}^{-1}$  に C-H に基づく 1 本、あるいは 2 本の強い吸収が示される。しかし、Fig.20 では、650~900  $\text{cm}^{-1}$  に強い吸収は観察されなかった。したがって、この化合物は構造中にベンゼン環を有さないと考えられる。この結果より、脂質過酸化反応による酸化によってアントラセンのベンゼン環が全て開裂することが示唆された。

上記より、水抽出物中の化合物がカルボキシ基を有することが示唆されたため、その確認のためにメチルエステル化を試み、FT-IR を用いて分析を行った。

前項 2-2-2. vii) に従い、水抽出物中の化合物をメチルエステル化した。得られたメチルエステル化物の FT-IR による分析結果を Fig.22 に示す。

3200~3700  $\text{cm}^{-1}$  の O - H のピークは、メチルエステル化前と比較すると非常に小さくなっており、OH 基が減少したことが示された。また、2900  $\text{cm}^{-1}$  付近の C - H に基づくピークは、メチルエステル化前と比較すると非常に大きくなっており、構造中に  $\text{CH}_3$  あるいは  $\text{CH}_2$  が増加したと考えられる。カルボニル基のピークが 1729  $\text{cm}^{-1}$  に検出されており、また、1217  $\text{cm}^{-1}$  に検出されたピークが C - O - C に基づくピークと考えられることから、エステ

ル結合を有することが示唆されている。

以上の結果より、メチルエステル化によるカルボキシ基の消失とエステル結合の生成が確認された。

したがって、HPLCで確認された水抽出物中の化合物はカルボキシ基を有することが示唆された。

本研究では脂質過酸化反応のラジカル前駆体として不飽和脂質であるリノール酸を使用している。リノール酸は構造中にカルボキシ基を有している。そこで、水抽出物中の化合物がリノール酸である可能性があるかを検討した。実験手順の面で考えると、リノール酸は液液分配において水層ではなく有機層へ分配されると考えられる。したがって、本研究で得られた水抽出物中の化合物は残存リノール酸ではないと考えた。

これらの結果より、土中アントラセンの脂質過酸化反応を用いた分解では、まず、アントラセンが酸化を受けてアントラキノンとなり、さらに酸化を受けてカルボン酸誘導体を生じることが示唆された。

そこで、アントラキノンからカルボン酸が生じる反応を推定し、Fig.23に示した。推定にあたり、バイヤー・ビリガー反応[15]および脂質過酸化反応を参考にした。バイヤー・ビリガー反応とはケトンと過カルボン酸を反応させてエステルを得る反応のことである。この反応では、ケトンのカルボニル基の隣のC-C結合に酸素原子が挿入される。この反応から、まず、アントラキノンのカルボニルの隣のC-C結合がラジカルによって開裂すると考えた。その後、カルボニル基の炭素原子に酸素分子が結合してペルオキシラジカルとなり、次いで水素と結合してヒドロペルオキシドとなる。ヒドロペルオキシドは不安定なため、開裂して、アルコキシラジカルとなり、その後水素と結合することでカルボキシ基を生じると考えた。逆側のカルボニル基も同様の反応によってカルボキシ基となり、最終的にアントラキノン1分

子から安息香酸が 2 分子生じると推測した。

既往の研究において、アントラキノン系色素であるアリザリンレッド S の酸化分解において、フタル酸が生成されたという報告がなされている[16-18]。アリザリンレッド S はアントラキノンの 1 位と 2 位の炭素が OH 基、3 位の炭素が SO<sub>3</sub>Na 基に置換された物質であり、片方のベンゼン環の電子密度が高いと考えられる。したがって、C - C 結合の開裂する部位に偏りがあるためにフタル酸が生成すると考えられるが、アントラキノンではこのような偏りがないため、フタル酸ではなく安息香酸が生成されると推測した。

本研究で得られた水抽出物中の化合物は IR スペクトルから、ベンゼン環を有さないことが示唆されている。したがって、上記の反応に加えてベンゼン環の開裂反応が起こると推測される。本研究で得られた水抽出物中の化合物はベンゼン環が開裂したカルボン酸であると考えられる。

しかし、本研究ではこの化合物の構造決定には至らなかった。今後は NMR や MS を使用した詳細な分析を行う必要があると考えられる。

また、本研究では試料にメタノールと濃硫酸を加えて加熱することで脱水縮合をおこし、メチルエステル化を行った。しかし、この反応では対象の化合物の構造が不安定だった場合、その構造を変化させてしまうおそれがある。したがって、フェノールあるいはカルボン酸の O-メチル化剤として汎用されるジアゾメタン、あるいはトリメチルシリルジアゾメタンを使用してメチルエステル化を行い、メチルエステル化物の構造に変化がないかを確認する必要があると考えられる。

さらに、本研究では、カルシウムイオンの除去時にアセトンを使用したか、アセトンに不溶性化合物が水抽出物中に存在することも考えられる。したがって、水抽出物の抽出方法やカルシウムイオンと鉄イオンの除去方法を変更することで、他の反応生成物が発見される可能性があると考えられる。

### 3-3. 脂質過酸化反応による処理

本研究において、脂質過酸化反応によるアントラセンの処理を行った結果、アントラセンの消失が 28 日まで継続しており、水抽出物中の化合物の減少が 42 日目まで継続した。したがって、脂質過酸化反応による酸化が少なくとも 42 日間は継続することが示唆された。

Fig.24 に  $\text{Fe}^{2+}$ 、および  $\text{Fe}^{3+}$  と不飽和脂質の推測反応機構を示した。ここで、 $\text{Fe}^{3+}$  は不飽和脂質から水素が離脱する際に、電子を受け取って  $\text{Fe}^{2+}$  になり、 $\text{Fe}^{2+}$  はヒドロペルオキシドがアルコキシルラジカルになる際に電子を放出して  $\text{Fe}^{3+}$  になると考えられる。したがって、脂質過酸化反応において、 $\text{Fe}^{3+}$  の再生産が認められる。このため、脂質過酸化反応による酸化が反応開始剤の追加等をせずとも、長期間に渡って継続したと考えられる。

#### 4. 結論

本研究では、脂質過酸化反応を用いてアントラセンを長期間に渡り処理し、アントラセンの分解の確認を行った。また、アントラセンの酸化によって生じる反応生成物の増減および構造を分析することで、分解機構の解明に取り組んだ。

アントラセンを脂質過酸化反応によって 60℃で 3 日～28 日間処理した場合、ANT 回収率は処理期間 3 日目ではほとんど減少しなかった。しかし、7 日目には減少していることが顕著に表れた。さらに、その後は ANT 回収率が処理期間に伴って徐々に減少し、28 日後には検出限界以下に達した。したがって、1000ppm のアントラセンは本実験で用いた条件において、28 日間で消失することがわかった。

また、本実験ではアントラセンの消失に伴い、アントラキノンの生成が認められた。アントラキノンには処理期間 3 日では生成されていないが、7 日目には生成されていた。また、アントラキノンは処理期間 14 日目まで増加した後、減少に転じることがわかった。したがって、アントラキノンは脂質過酸化反応によるアントラセンの酸化における中間生成物であると考えられる。そこで、本研究ではアントラセンからアントラキノンが発生する反応機構を推定した。

アントラキノンから発生する次の段階の反応生成物は、より極性の高い化合物であると考えられたため、その特定のために水抽出物の分析を行った。アセチル化および TMS 化において、生成物を薄層クロマトグラフィーに供したところ、スポットの Rf 値が 0 であり、極性が高いことが示された。FT-IR によってアセチル化の確認を行ったところ、アセチル化されていることが示唆されたため、TLC においてはアセチル化物および TMS 化物の濃度が薄く、

夾雑物のスポットが観察されていたと推測された。また、アセチル化されていることから、水抽出物は **OH** 基を有すると考えられる。

水抽出物は処理時に添加した試薬由来のカルシウムイオンや鉄イオンを含有しているため、これらの除去を行った。得られた水抽出物の **HPLC** 分析の結果、水抽出物からは単一ピークが検出された。ピーク面積の処理時間に対する推移を観察した結果、このピークを示す化合物は処理期間 **21** 日目に急激に増加し、その後は処理期間に伴い徐々に減少することがわかった。したがって、この化合物がさらに酸化を受けて消失していると推測される。

**HPLC** で確認された化合物の構造を推定するため、水抽出物を乾固し、**FT-IR** に供した。その結果、この物質はカルボキシ基を有すると推測された。

水抽出物中の化合物がカルボキシ基を有することが示唆されたため、その確認のためにメチルエステル化を試み、**FT-IR** を用いて分析を行った。その結果、メチルエステル化によるカルボキシ基の消失とエステル結合の生成が確認された。

したがって、**HPLC** で確認された水抽出物中の化合物はカルボキシ基を有することが示された。

本研究では脂質過酸化反応のラジカル前駆体として不飽和脂質であるリノール酸を使用している。実験手順の面で考えると、リノール酸は液液分配において水層ではなく有機層へ分配されると考えられる。また、リノール酸の **IR** スペクトルをデータベースを用いて確認したところ、本研究で誘導体化を行わない水抽出物で見られたようなピークは観察されなかった。したがって、本研究で得られた水抽出物中の化合物は残存リノール酸ではないといえる。

これらの結果より、土中アントラセンの脂質過酸化反応を用いた分解では、まず、アントラセンが酸化を受けてアントラキノンとなり、さらに酸化を受

けてカルボン酸誘導体を生じることが示唆された。そこで、アントラキノンからカルボン酸が生じる反応を推定した。アントラキノンから安息香酸が生成され、そのベンゼン環が酸化によって開裂すると考えられる。本実験で得られた水抽出物中の化合物はベンゼン環が開裂した後のカルボン酸の1つと推測される。

しかし、本研究ではこの化合物の構造決定には至らなかった。今後は **NMR** や **MS** を使用した詳細な分析を行う必要があると考えられる。



## 5. 謝辞

本研究及び修士論文制作の遂行にあたり、多大なる助言とご指導を賜りました東京海洋大学機能材料化学研究室助教榎牧子先生に心より深く感謝いたします。

修士論文制作の遂行にあたり、多大なる助言とご指導を賜りました東京海洋大学生物有機化学研究室教授永井宏史先生および生体機能利用学研究室准教授任恵峰先生に心より感謝いたします。

また、研究室生活において様々な面で支えてくださいました研究室の皆様、友人、家族に深く感謝いたします。

## 6. 参考文献

- [1] 土壤汚染対策法(平成 14 年法律第 53 号、改正:平成 21 年 4 月 24 日法律第 33 号)
- [2] 中央環境審議会：平成 20 年 12 月 19 日 今後の土壤汚染対策法の在り方について（答申）
- [3] 環境省・財団法人日本環境協会：2011 年 3 月 改正法対応版 土壤汚染対策法のしくみ
- [4] 環境省 ホームページ内：土壤汚染対策法に基づく要措置区域・形質変更時要届出区域
- [5] 特許庁 2011 - 234737：実汚染土壤を効率良く浄化する微生物および浄化方法
- [6] Yoshiki Miho , Yoko Moriyama , Yuko Nakatake : Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-p-dioxin by  $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$  mixed reagent (2004)
- [7] Tao Zhou , Yaozhong Li , Fook-Sin Wong , Xiaohua Lu : Enhanced degradation of 2,4-dichlorophenol by ultrasound in a new Fenton like system (Fe/EDTA) at ambient circumstance (2007)
- [8] Hyun-seng Kim , Byung-Hunk Kwon , Seok-jun Yoa and Il-Kyu Kim : Degradation of 1,4-Dioxane by Photo-Fenton Processes (2007)
- [9] Arani Chanda , Sushil K. Khetan , Deboshiri Banerjee , Anindya Ghosh , and Terrence J. Collins : Total Degradation of Fenitrothion and Other Organophorus Pesticides by Catalytic Oxidation Employing Fe-TAML Peroxide Activators (2006)
- [10] Moncada, S. , Higgs , E. A. , Vane , J.R. : Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin X) , a potent inhibitor of platelet aggregation (1977)
- [11] 篠原恒樹、森内幸子編、細谷憲政：老化と栄養

- [12] Byung-Dae Lee, Mamoru Iso, Masaaki Hosomi : Prediction of Fenton oxidation positions in polycyclic aromatic hydrocarbons by Frontier electron density , Chemosphere 42 (2001)
- [13] Byung-Dae Lee And Masaaki Hosomi : Clean-up of PAH-contaminated Soil by Ethanol Washing-Fenton Treatment : Ethanol Washing Efficiency and Fenton Reaction Products , Journal of Environmental Chemistry Vol.9 , No.2 , 1999
- [14] LEE Min-joo, LEE Byung-dae : Prediction of radical reaction site(s) of polycyclic aromatic hydrocarbons by atomic charge distribution calculation using the DFT method , Tetrahedron Letters Volume 51, Issue 29, 21 July 2010, Pages 3782–3785
- [15] 後藤俊夫、柿沢寛、湊宏 訳 : フィーザー 最新有機化学Ⅱ
- [16] LIU G, WU T, ZHAO J, HIDAKA H, SERPONE N : Photoassisted Degradation of Dye Pollutants. 8. Irreversible Degradation of Alizarin Red under Visible Light Radiation in Air-Equilibrated Aqueous TiO<sub>2</sub> Dispersions. Environmental Science & Technology Vol.33 No.12 Page.2081-2087 (1999)
- [17] YAMAMOTO N, KUBOZONO T, KINOSHITA Y : Mechanism for Oxidative Decomposition of Anthraquinone Dye with Hydrogen Peroxide. Journal of Oleo Science Vol.50 No.6 Page.507-513 (2001)
- [18] PANIZZA Marco, CERISOLA Giacomo : Electro-Fenton degradation of synthetic dyes Water Research Vol.43 No.2 Page.339-344 (2009)
- [19] 社団法人 日本化学会 : 第5版 実験化学講座 16 有機化合物の合成Ⅳ —カルボン酸・アミノ酸・ペプチド— 平成17年
- [20] 五十嵐脩、島崎弘幸 : 生物化学実験法 34 過酸化脂質・フリーラジカル実験法 1995年
- [21] 大鶴万喜、榎牧子 : 脂質過酸化反応による土中有害有機化合物の分解に関する研究 平成20年度東京海洋大学大学院修士学位論文

# 図表

Table. 1 特定有害物質及び環境基準

項目	物質名	溶出基準(検液中濃度)
VOC (第一種)	四塩化炭素	≦0.02mg/L
	1・2-ジクロロエタン	≦0.04mg/L
	1・2-ジクロロエチレン	≦0.2mg/L
	シス-1・2-ジクロロエチレン	≦0.4mg/L
	1・3-ジクロロプロペン	≦0.02mg/L
	ジクロロメタン	≦0.2mg/L
	テトラクロロエチレン	≦0.1mg/L
	1・1・1-トリクロロエタン	≦3mg/L
	1・1・2-トリクロロエタン	≦0.06mg/L
	トリクロロエチレン	≦0.3mg/L
	ベンゼン	≦0.1mg/L
重金属等 (第二種)	カドミウム及びその化合物	≦0.3mg/L
	六価クロム化合物	≦1.5mg/L
	水銀及びその化合物	≦0.005mg/L ※アルキル水銀は 検出されないこと
	セレン及びその化合物	≦0.3mg/L
	シアン及びその化合物	≦1mg/L
	鉛及びその化合物	≦0.3mg/L
	砒素及びその化合物	≦0.3mg/L
	ふっ素及びその化合物	≦24mg/L
	ほう素及びその化合物	≦30mg/L
農薬等 (第三種)	シマジン	≦0.03mg/L
	チオベンカルブ	≦0.2mg/L
	チラウム	≦0.06mg/L
	ポリ塩化ビフィニル(PCB)	≦0.03mg/L
	有機りん化合物	≦1mg/L

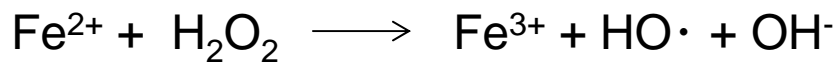


Fig.1 フェントン反応

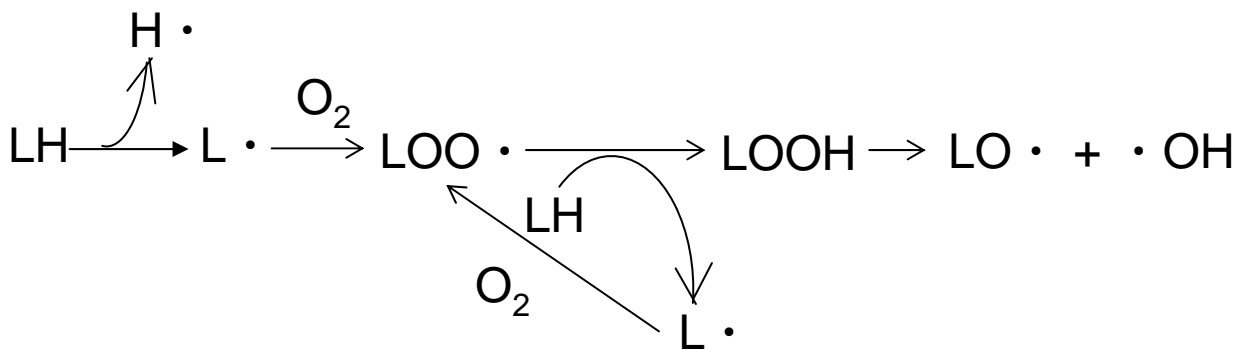


Fig.2 脂質過酸化反応

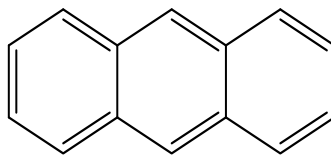
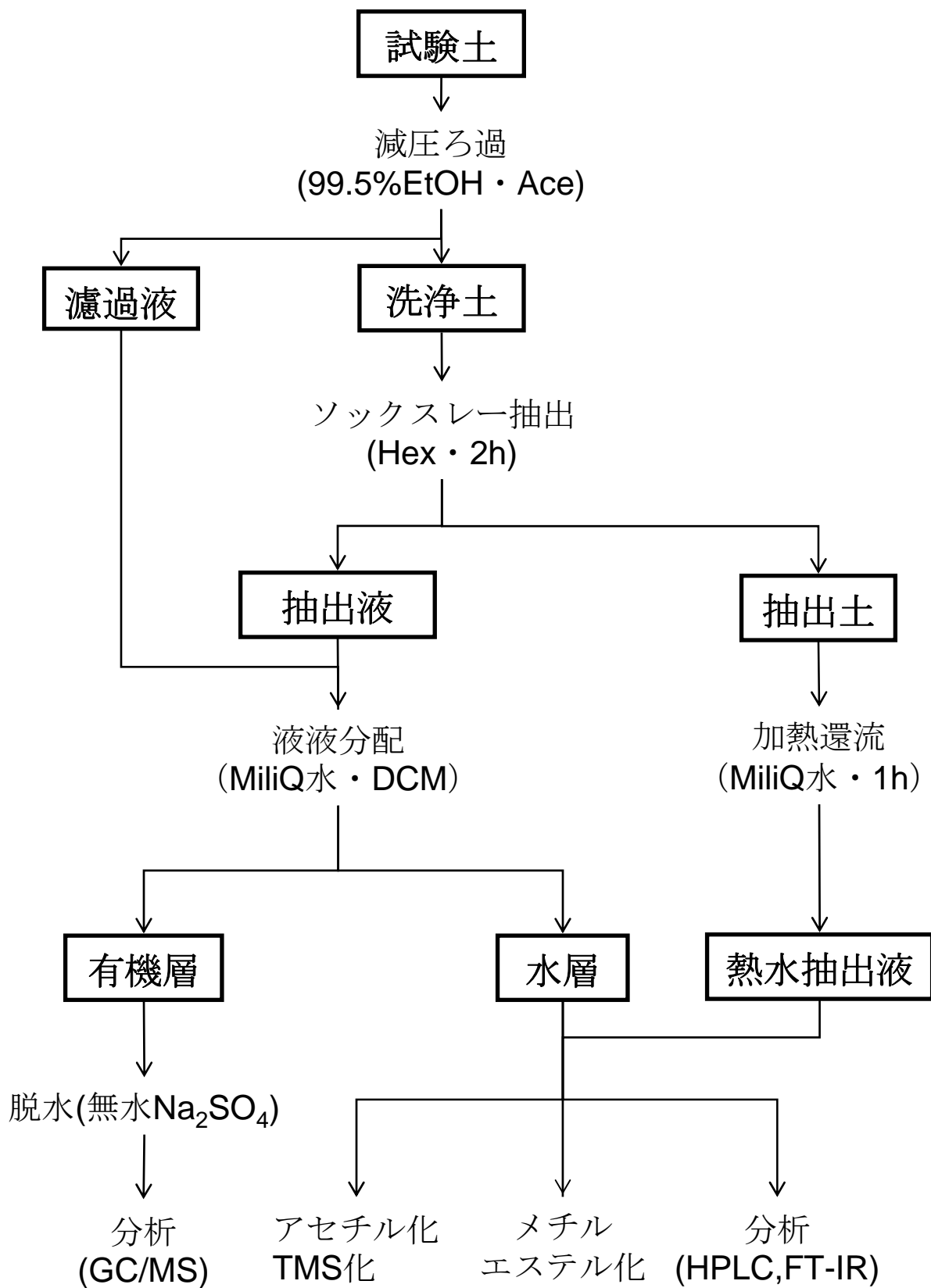


Fig.3 アントラセン(ANT)



Scheme.1 抽出法

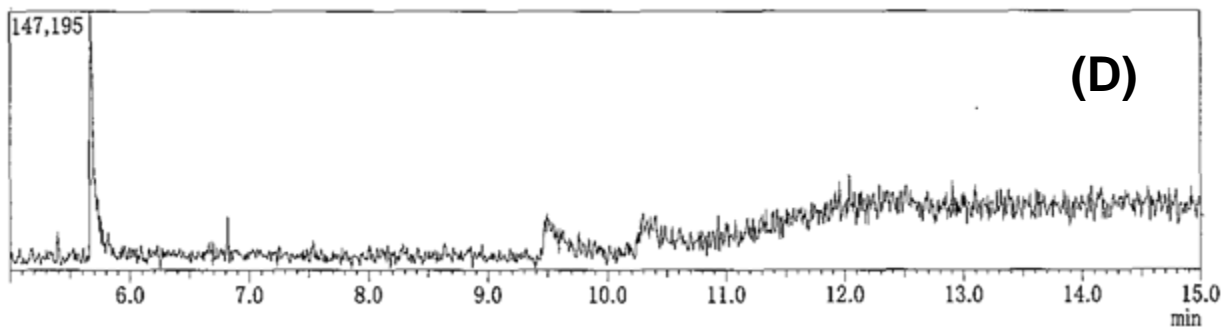
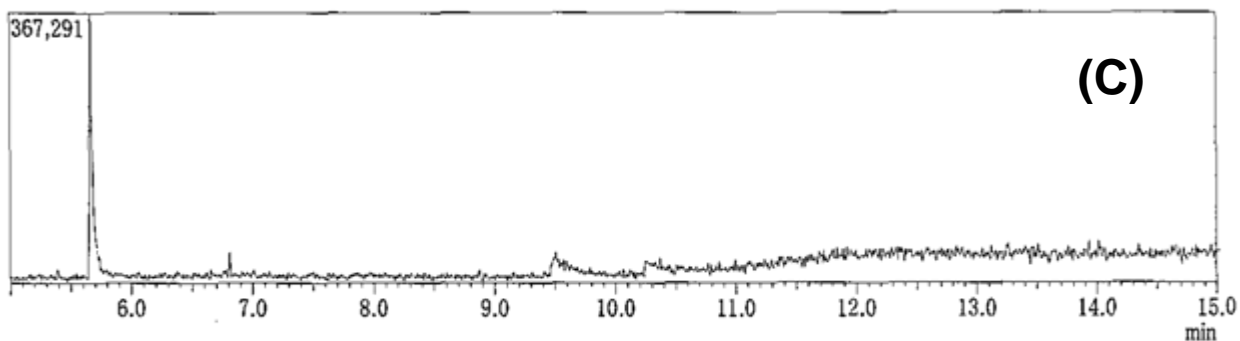
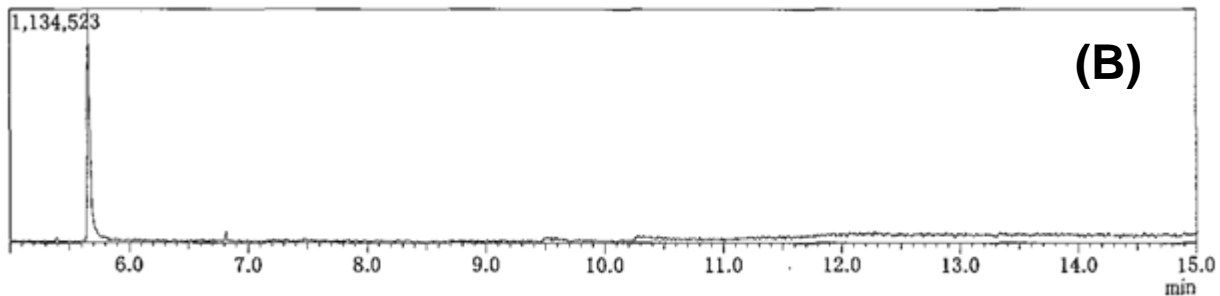
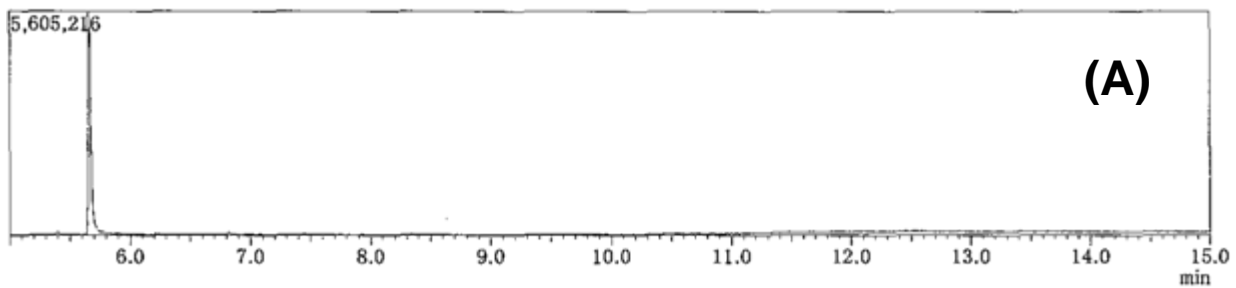


Fig.4 検量線に用いたTIC

(A) ANT/Naph比 0.50 (B) 2.00 (C) 5.00 (D) 8.00  
(E) 10.00 (F) 12.00 (G) 14.00 (H) 16.00



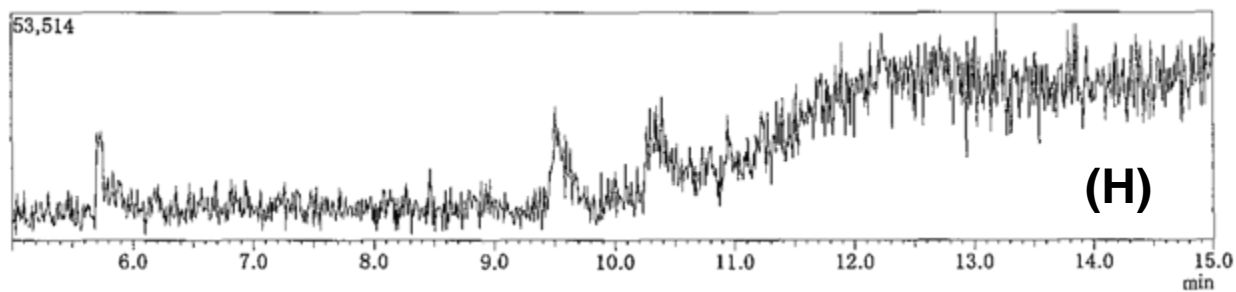
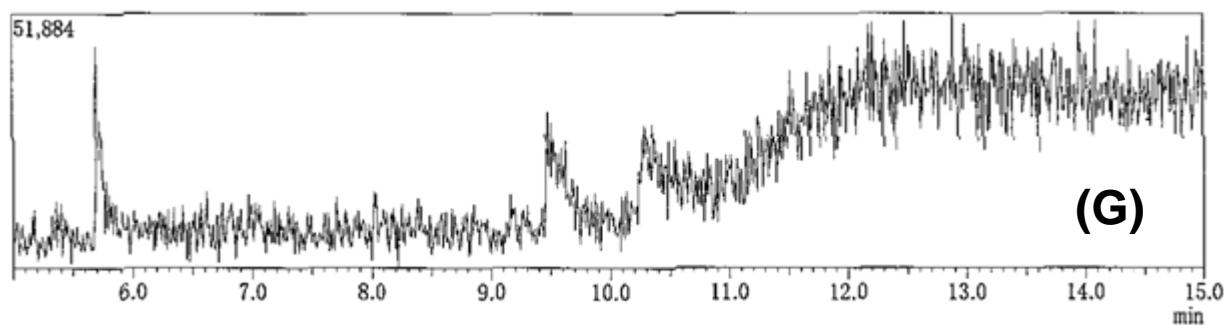
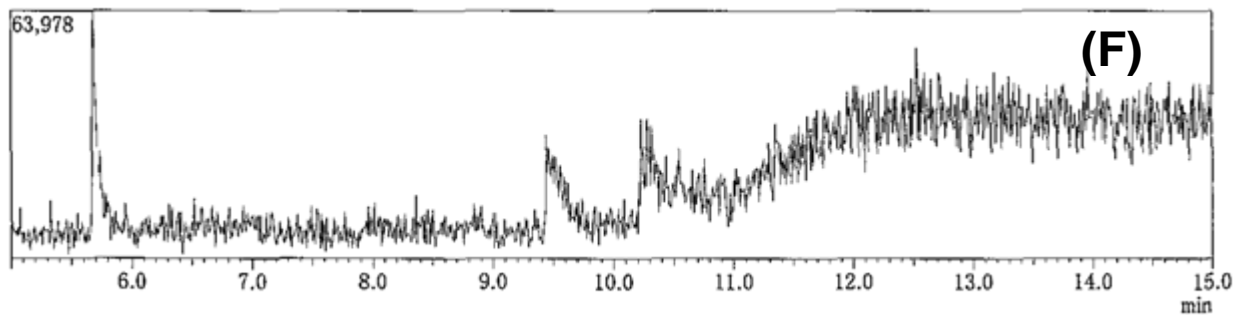
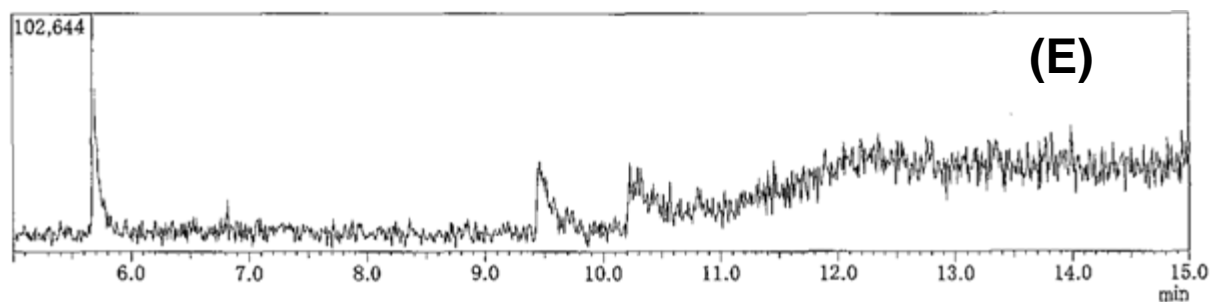


Fig.4 検量線に用いたTIC

(A) ANT/Naph比 0.50 (B) 2.00 (C) 5.00 (D) 8.00  
(E) 10.00 (F) 12.00 (G) 14.00 (H) 16.00

Table.2 濃度比:ANT/Naph(wt vs wt)とANT及びNaphのピーク面積

	ANT/Naph 濃度比	ANT ピーク面積	Naph ピーク面積	ANT/Naph ピーク面積比
(A)	0.50	101837	8459795	0.012037762
(B)	2.00	218806	1898911	0.115227096
(C)	5.00	160414	606300	0.264578591
(D)	8.00	218883	440881	0.496467301
(E)	10.00	288276	294407	0.979175088
(F)	12.00	177400	211113	0.840308271
(G)	14.00	178392	151391	1.178352742
(H)	16.00	157637	128761	1.224260452

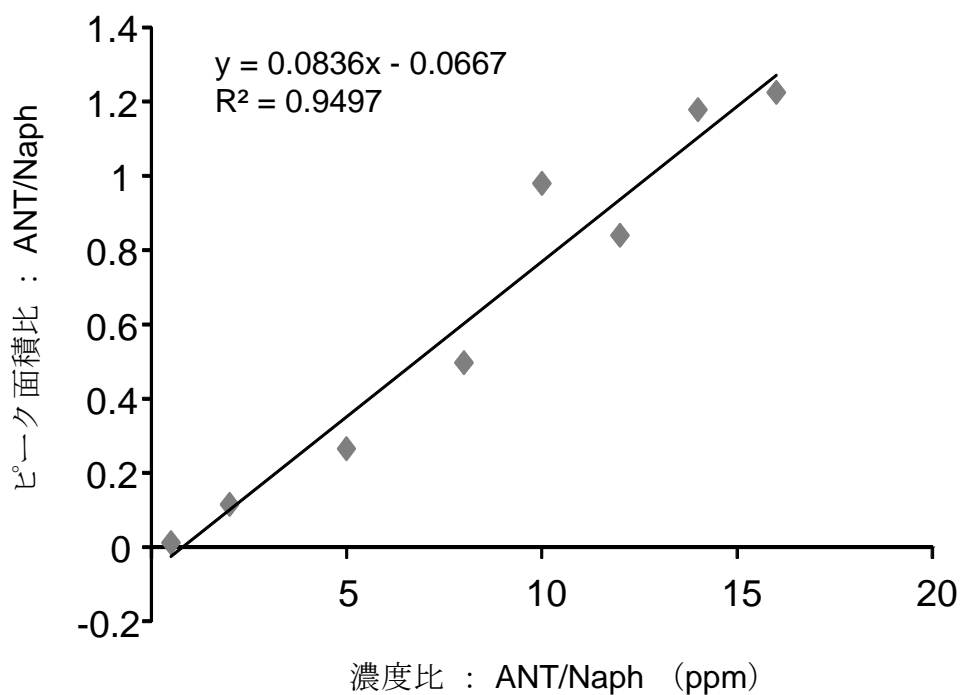


Fig.5 Naphを用いたANTの検量線

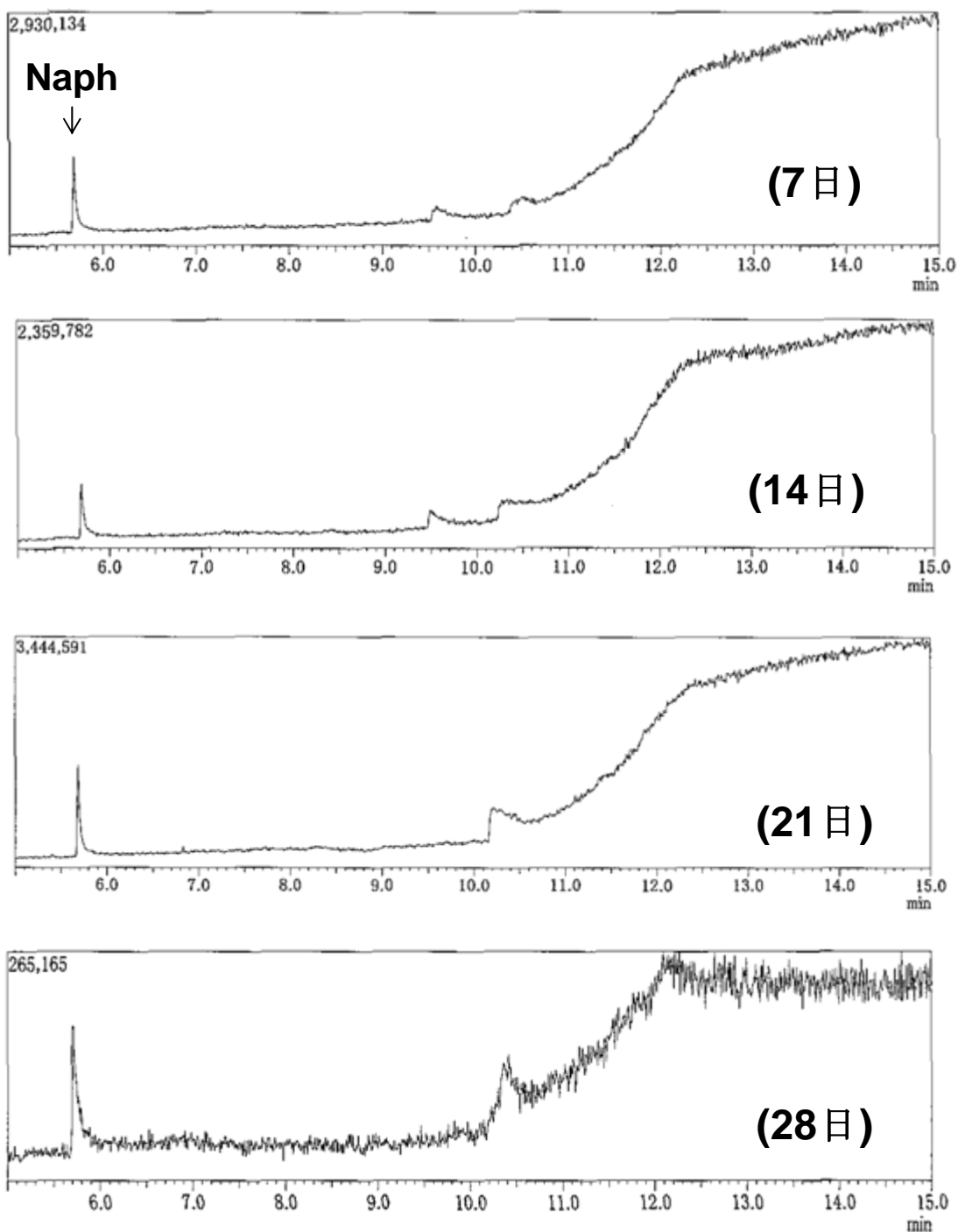


Fig.6 各試験土中ANTのTIC

処理温度：60°C 処理期間：3~28日  
抽出液：100 ppm Naph = 16 : 1

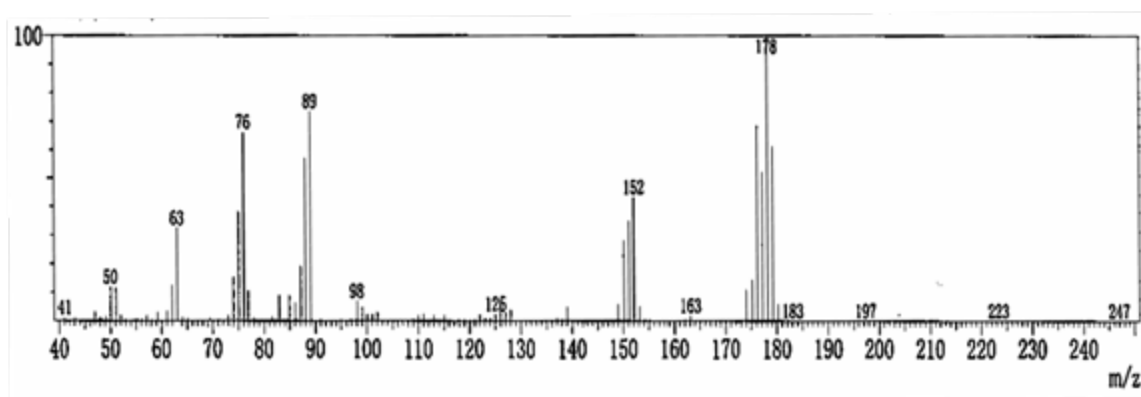


Fig.7 保持時間9.3分のマススペクトル

処理期間：3日

Table.3 処理期間3～28日におけるANT回収率(%)

処理期間 (日)	Complete	Blank	補正後 (Blank=100% として計算)
3	223.8	228.6	97.9
7	58.0	255.1	22.7
14	46.0	285.5	16.1
21	17.0	127.5	13.3
28	0.0	286.4	0.0

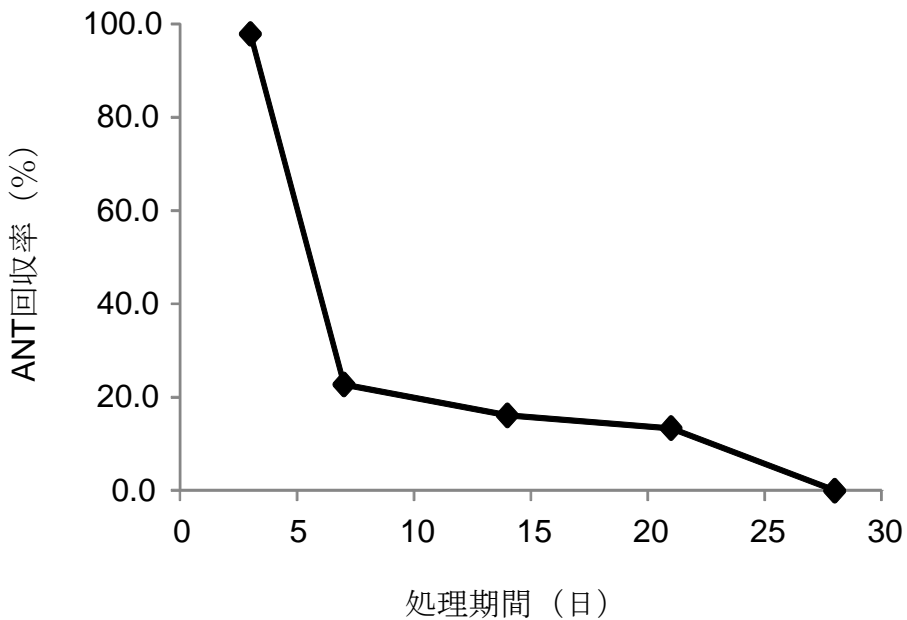


Fig.8 処理期間3～28日における経時変化

処理温度：60℃ 処理期間：3～28日  
抽出液：100 ppm Naph = 16 : 1

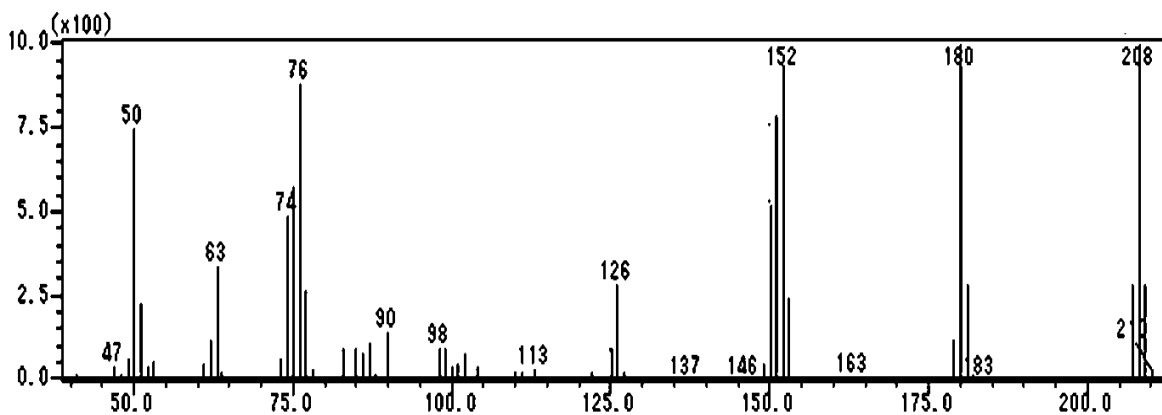
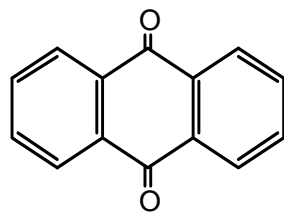


Fig.9 保持時間10.0分のピークのマスペクトル



分子量 208

Fig.11 アントラキノンの化学構造

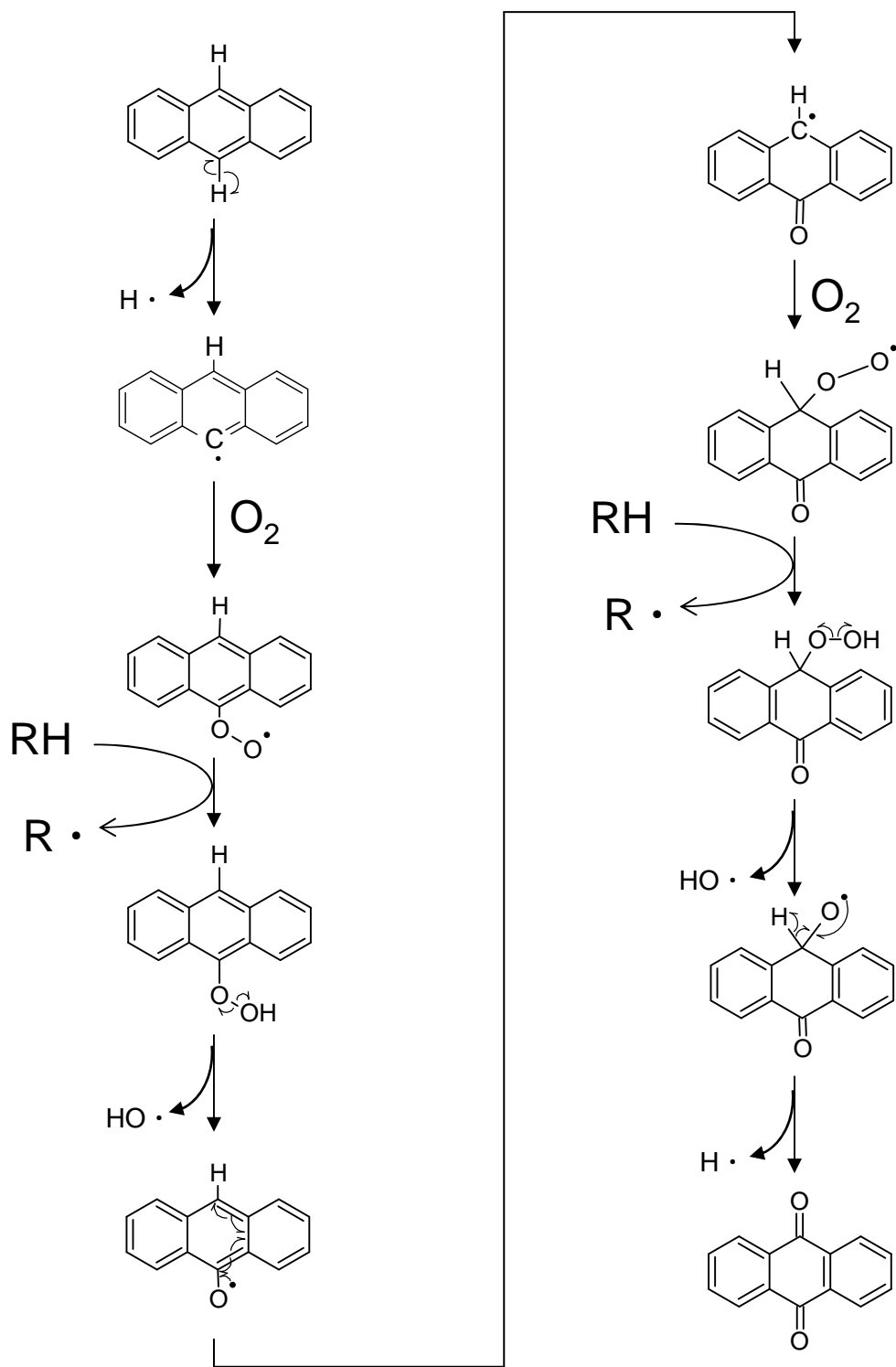


Fig.12 アントラセン→アントラキノン間の推定反応機構

RH: リノール酸、ANT

Table.4 処理期間3～28 日におけるアントラキノンのピーク面積の  
ナフタレンのピーク面積に対する相対値

処理時間(日)	アントラキノン相対値
3	0
7	1.521641856
14	1.842712246
21	1.245519457
28	0.800510882

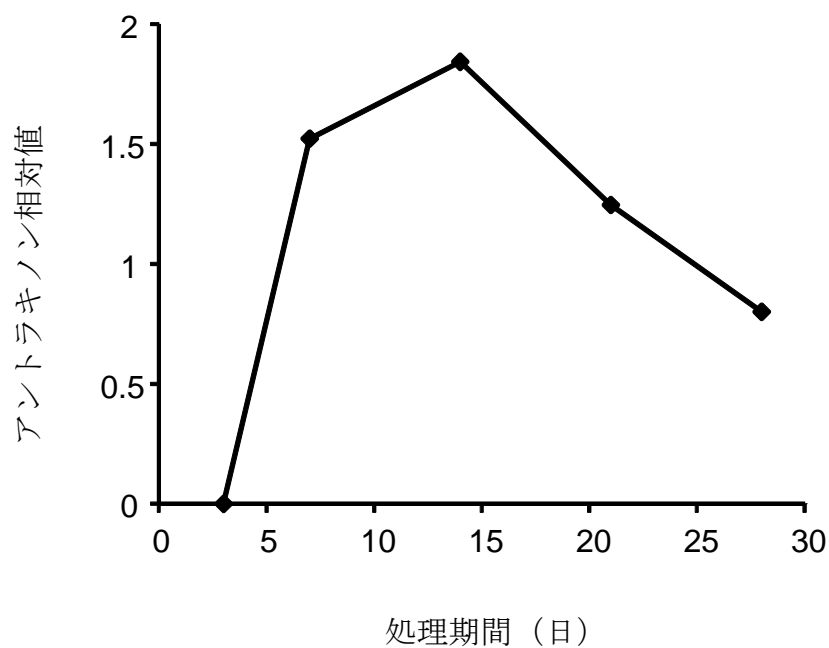


Fig.13 処理期間3～28 日における経時変化

処理温度：60℃ 処理期間：3～28 日  
抽出液：100 ppm Naph = 16 : 1



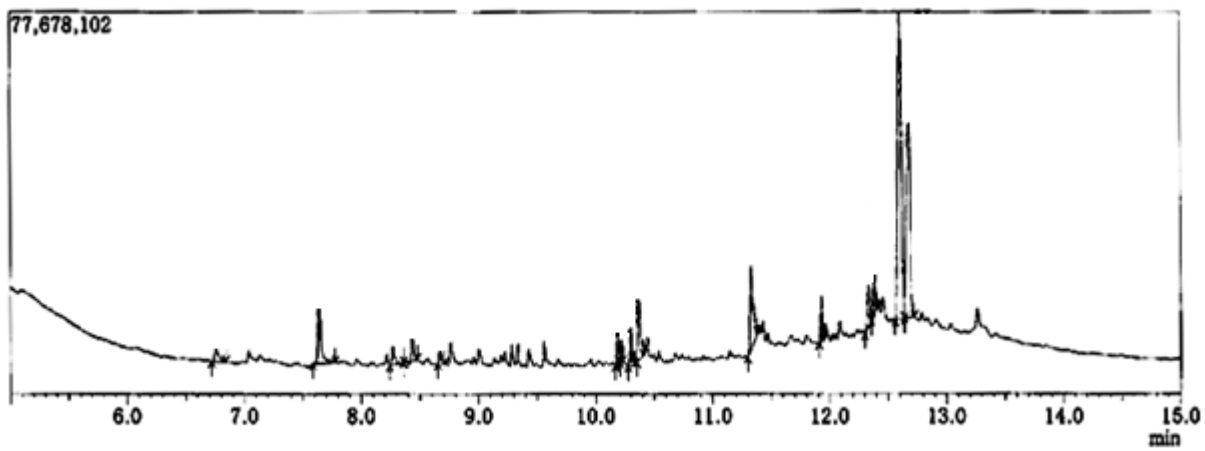


Fig.14 W-AcのTIC

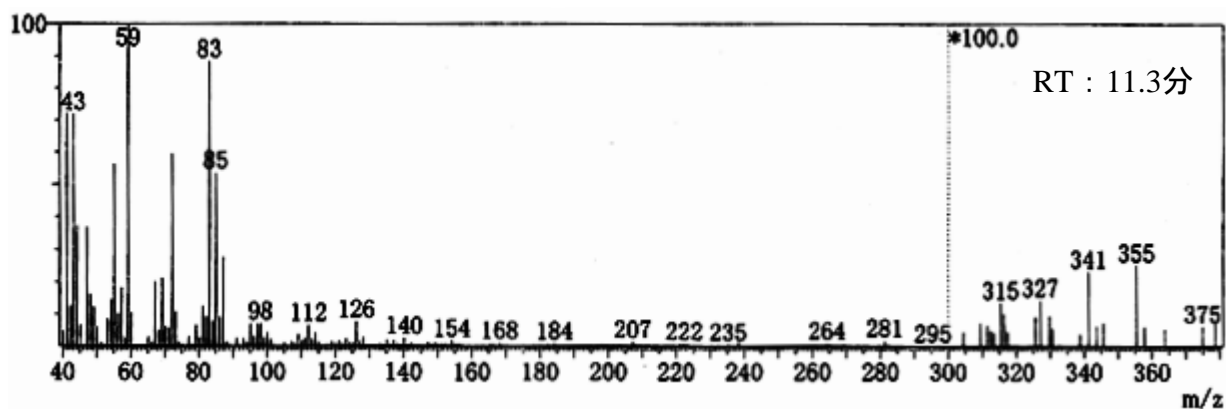
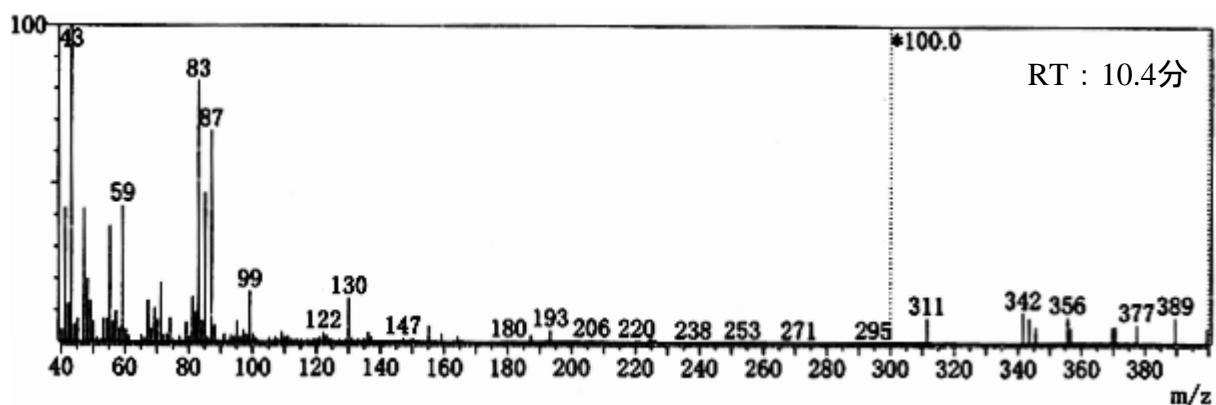
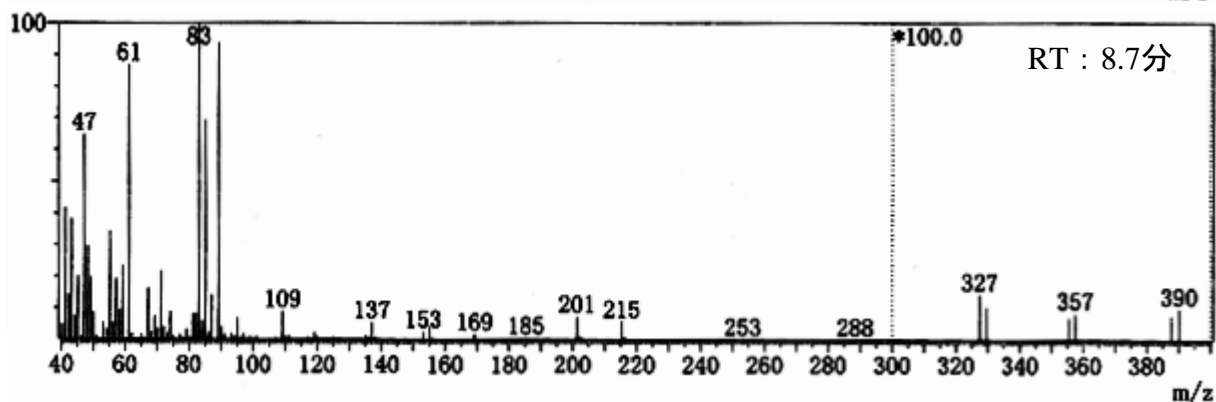
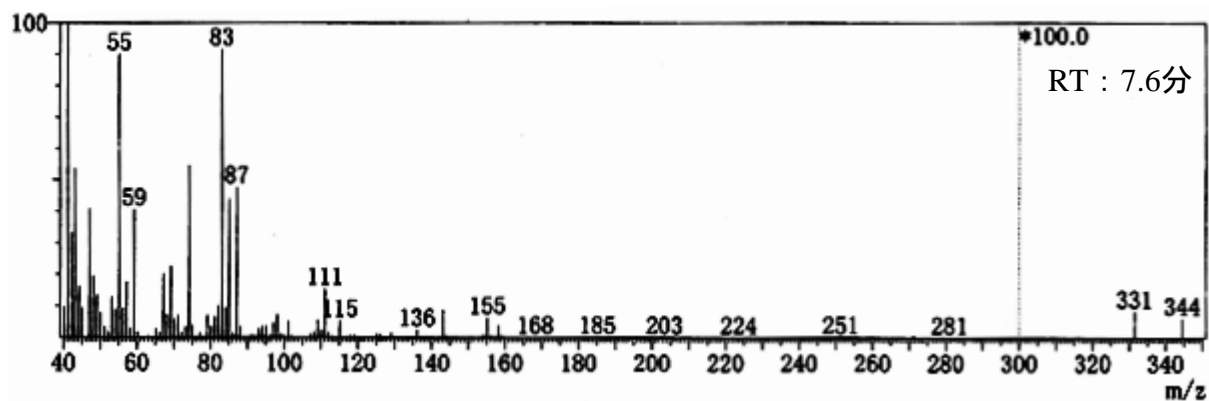


Fig.15 W-Ac成分のマスペクトル

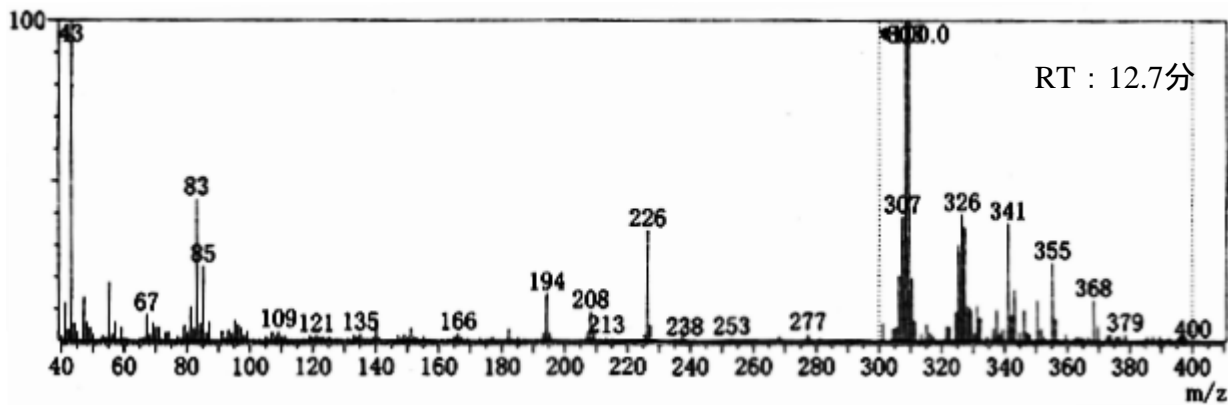
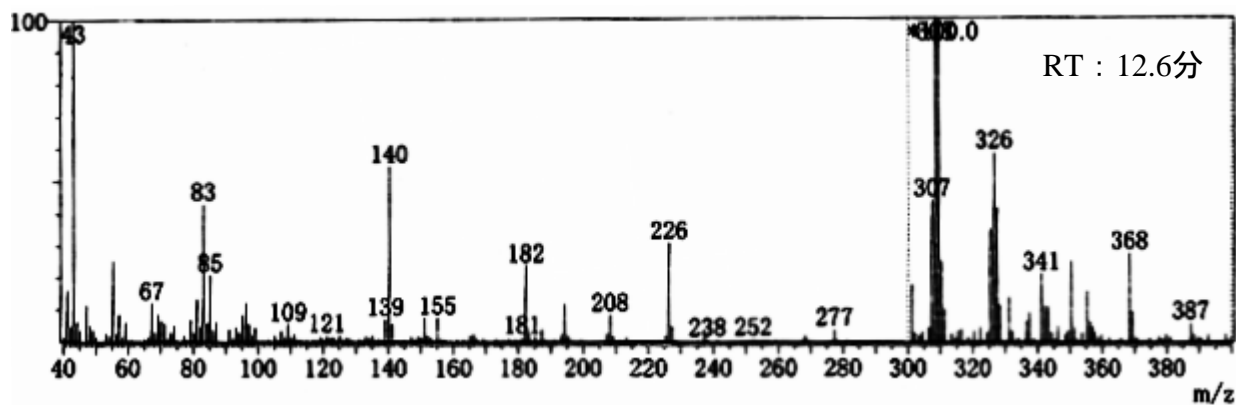
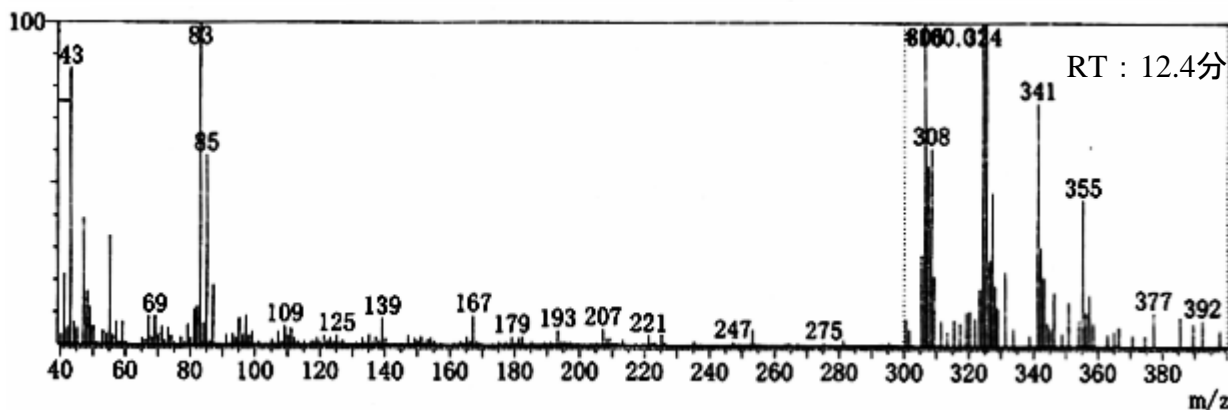
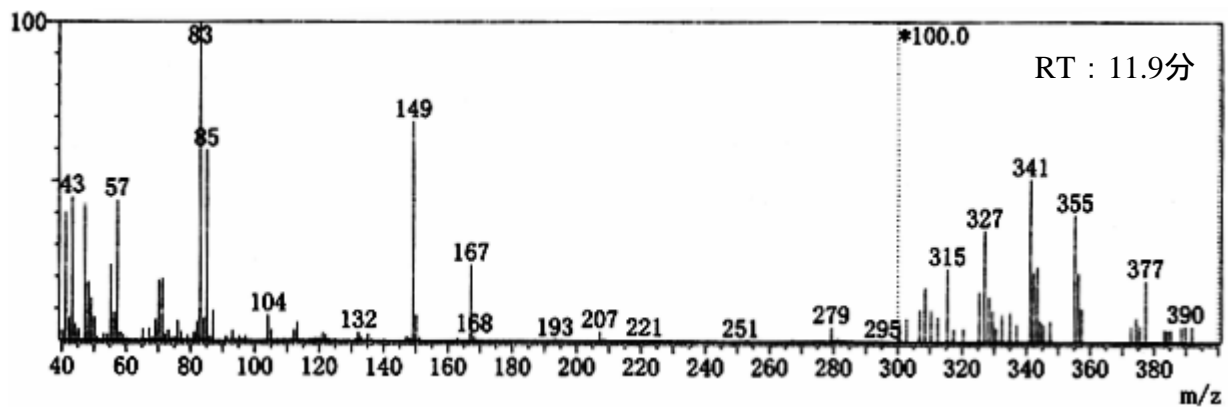


Fig.15 W-Ac成分のマスペクトル

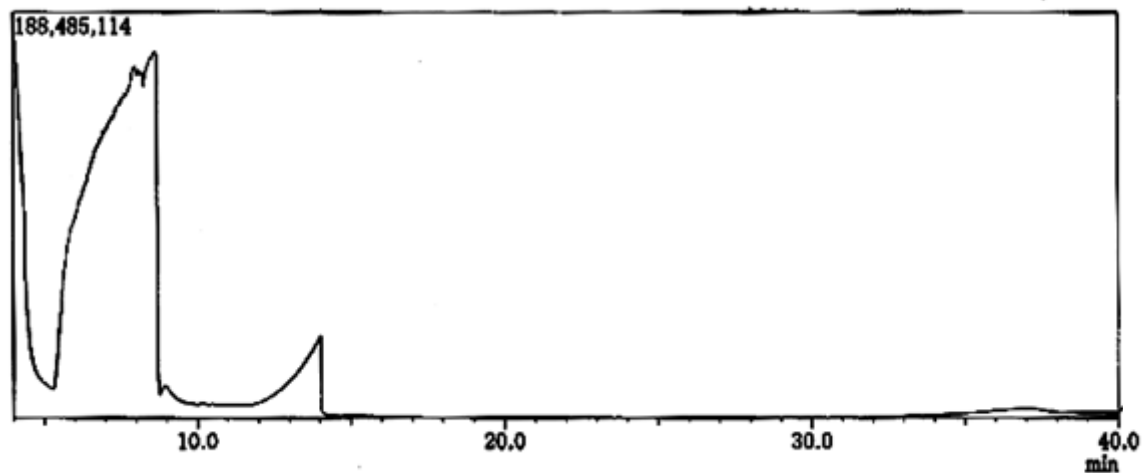


Fig.16 W-TMSのTIC

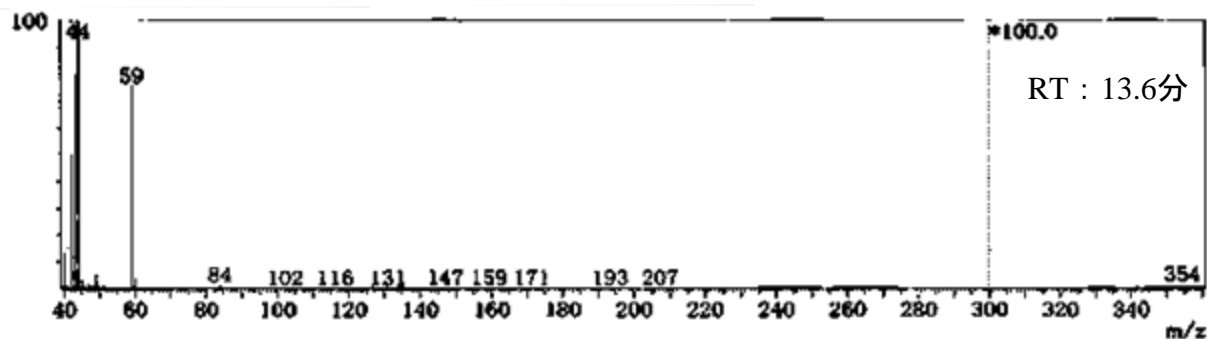
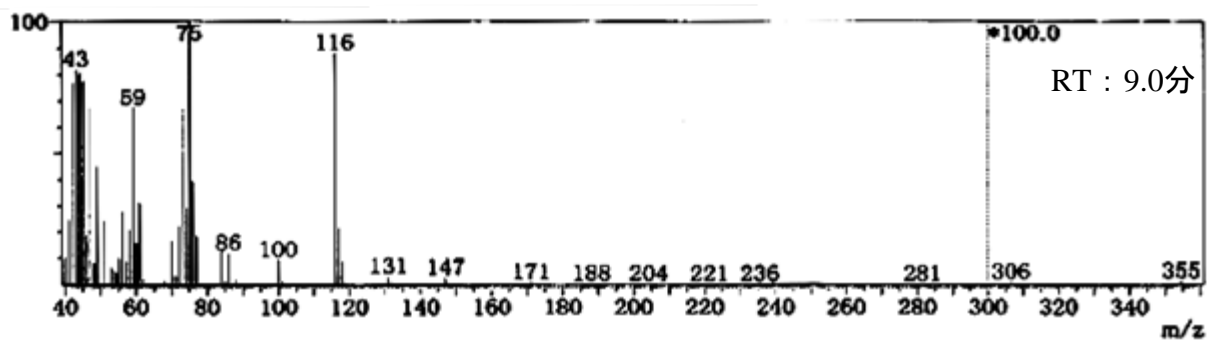


Fig.17 W-TMS成分のマスペクトル

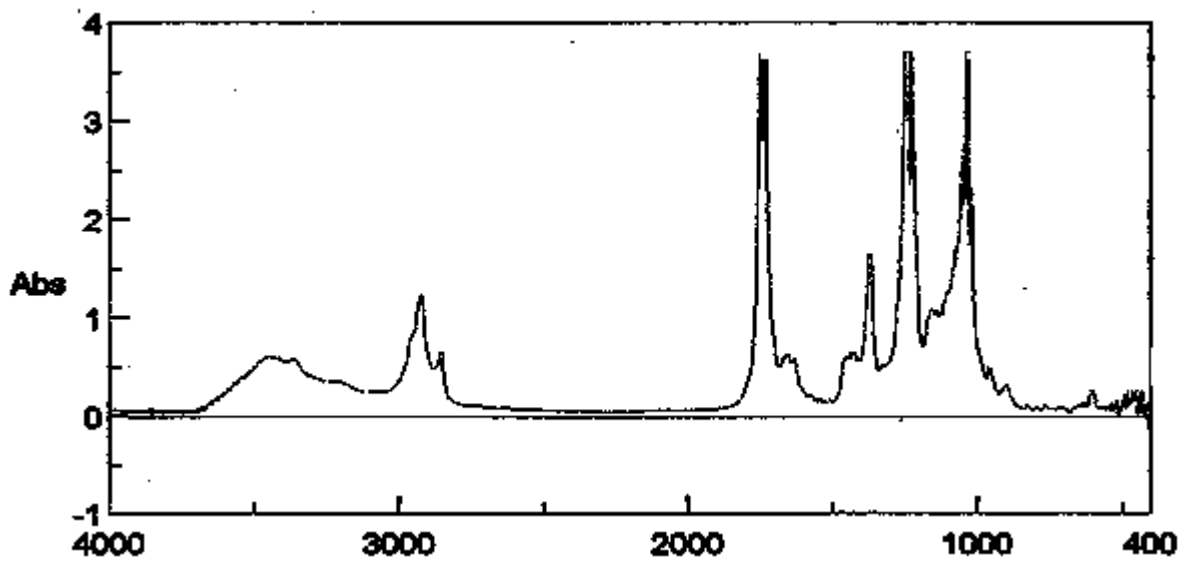


Fig.18 W-AcのFT-IR

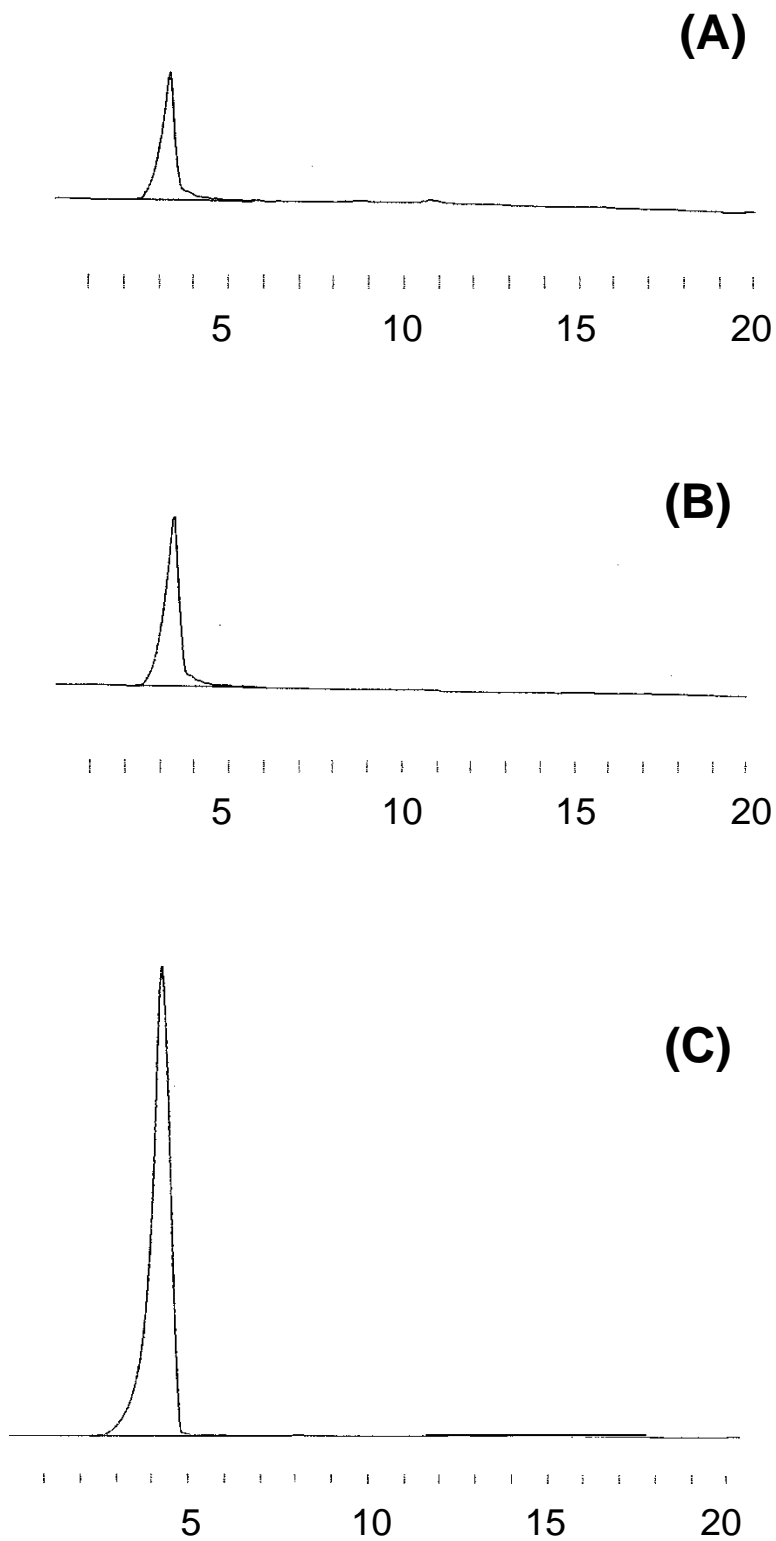


Fig.19 各試験土中の水抽出物のHPLC結果

(A)処理期間7日 (B)14日 (C)21日  
(D)28日 (E)35日 (F)42日

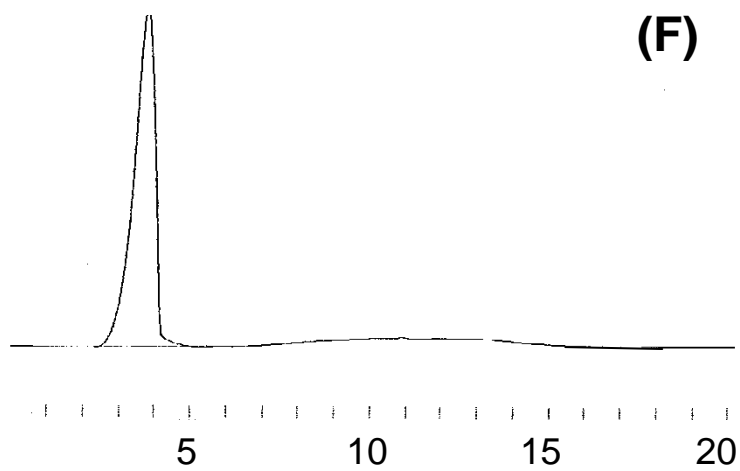
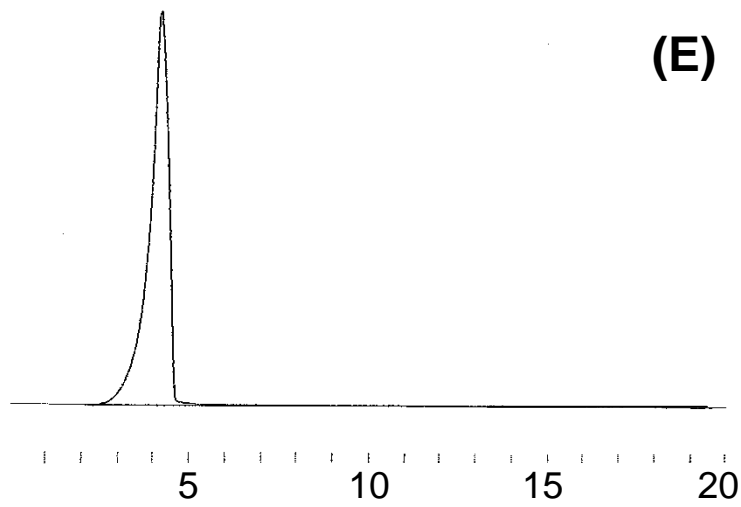
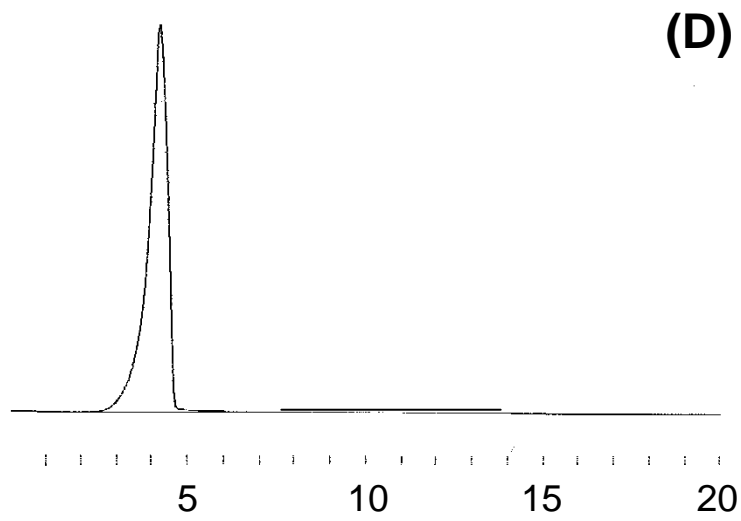


Fig.19 各試験土中の水抽出物のHPLC結果

(A)処理期間7日 (B)14日 (C)21日  
(D)28日 (E)35日 (F)42日

Table.5 処理期間7~42 日におけるピーク面積 (HPLC)

	処理期間 (日)	ピーク面積
(A)	7	55128
(B)	14	80179
(C)	21	1608617
(D)	28	1159376
(E)	35	1067038
(F)	42	250305

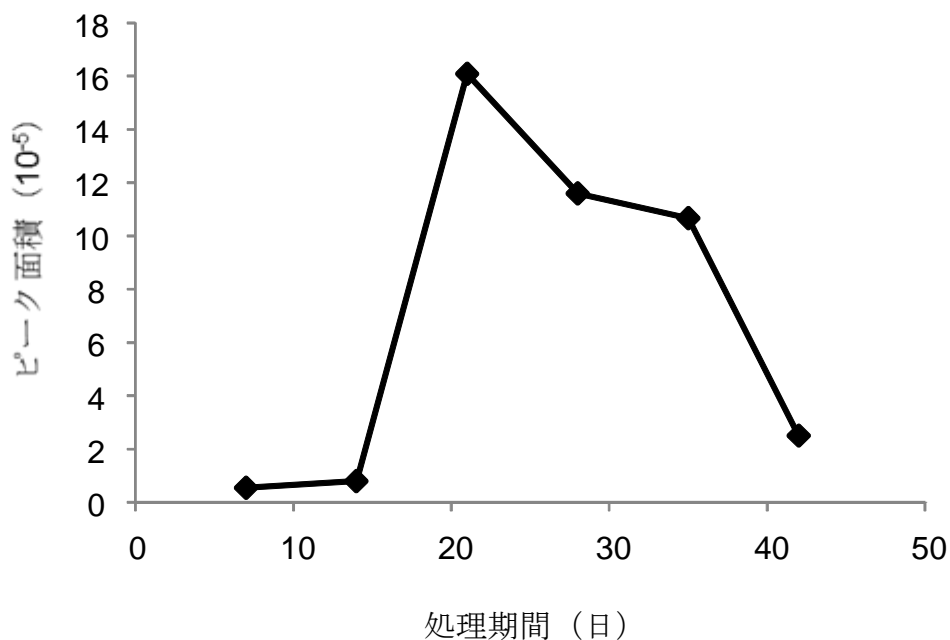


Fig.20 処理期間7~42 日におけるピーク面積の経時変化 (HPLC)



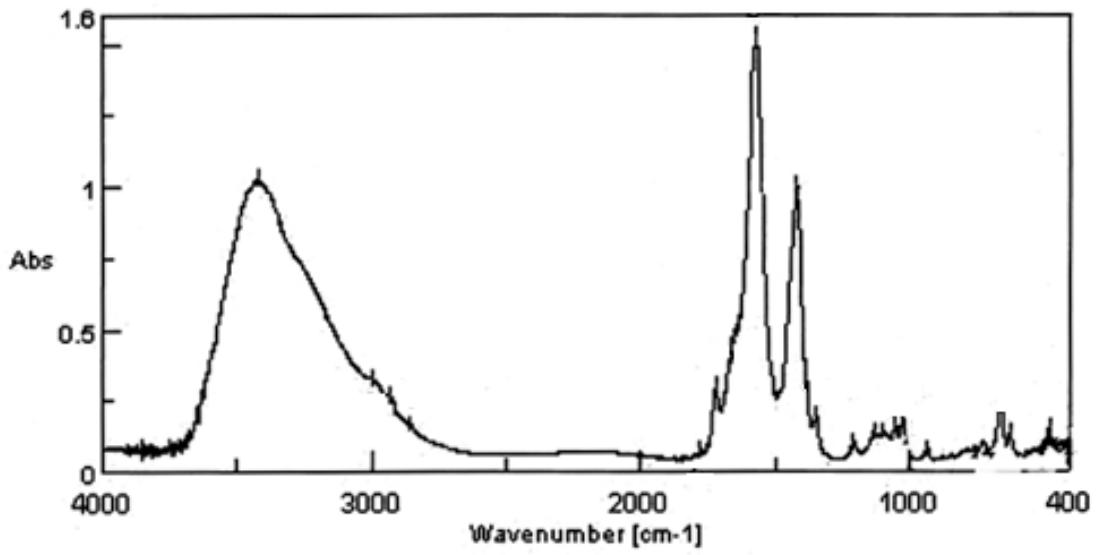


Fig.21 水抽出物のFT-IR

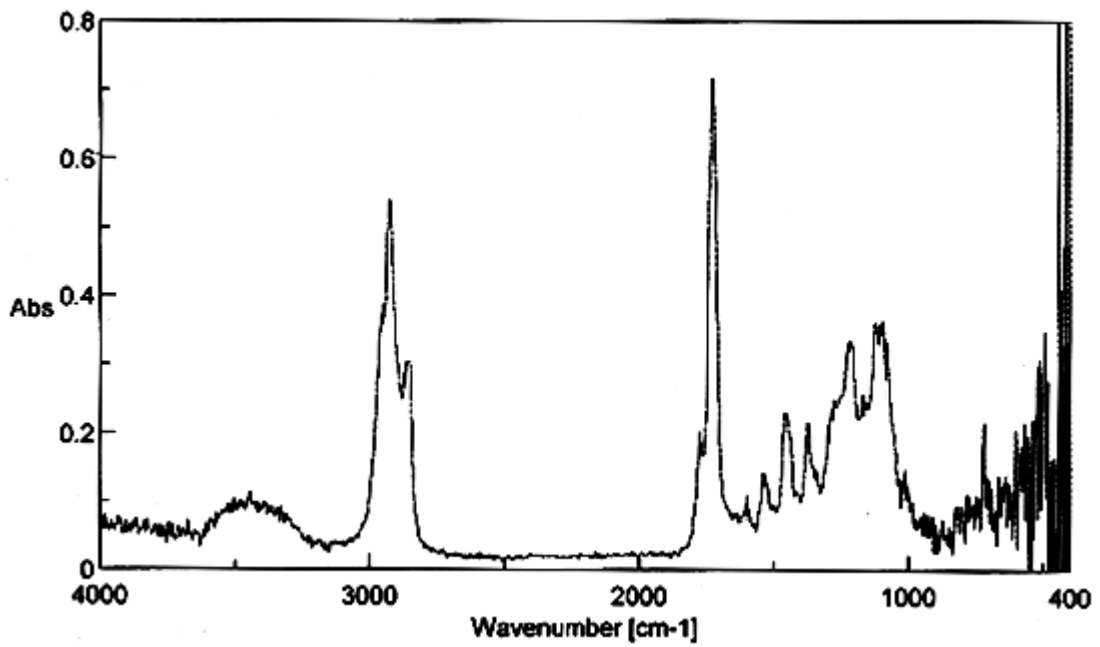


Fig.22 W-MeのFT-IR

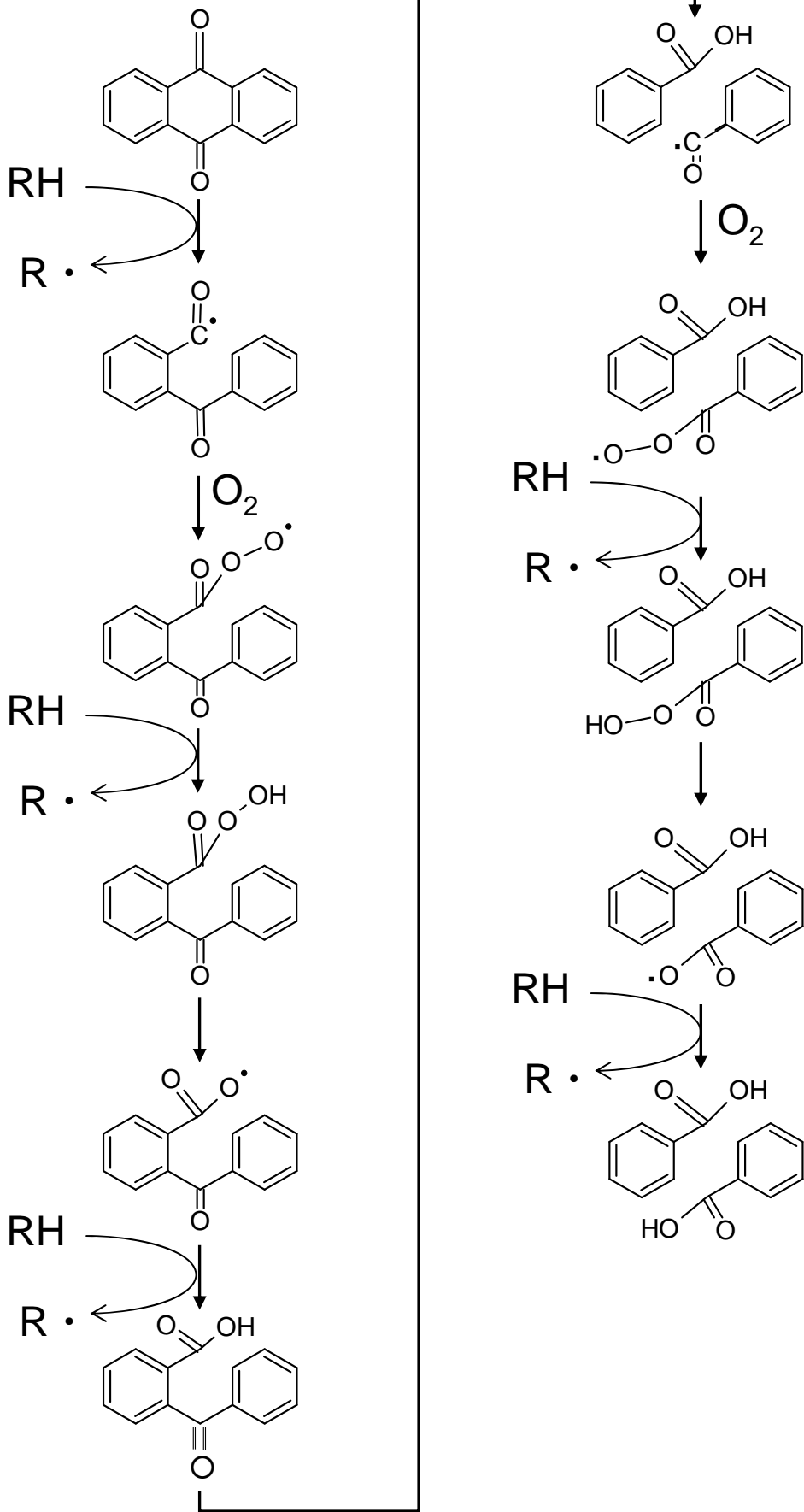


Fig.23 アントラキノンからカルボン酸が生じる推定反応機構

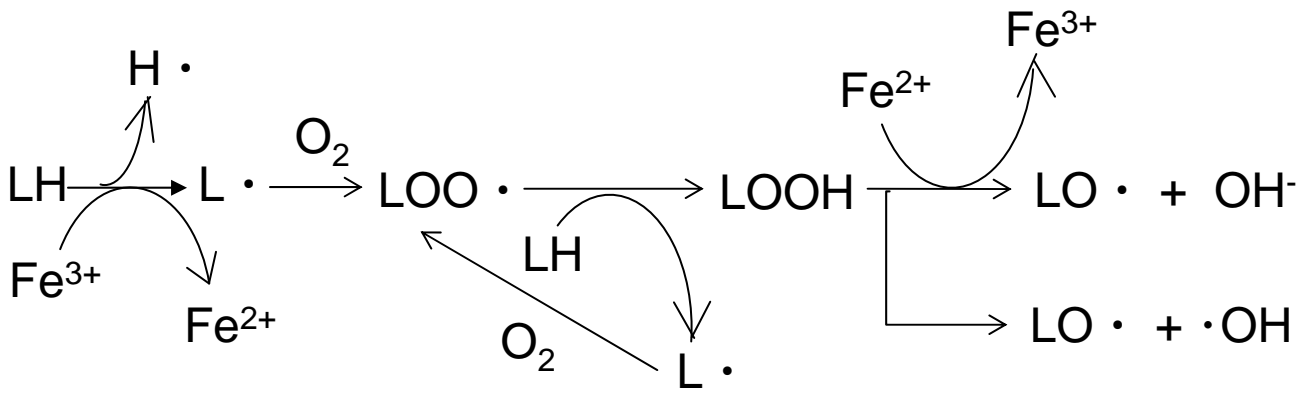


Fig.24  $\text{Fe}^{2+}$ , 及び  $\text{Fe}^{3+}$  と LH の推測反応機構

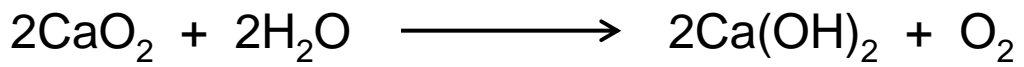


Fig.25 過酸化カルシウムによる酸素供給反応

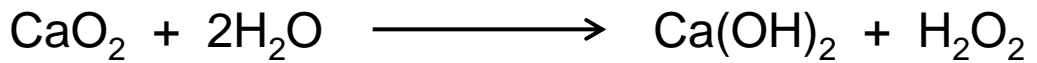


Fig.26 アルカリ条件下における 過酸化カルシウムの反応