

湖沼難分解性有機物の生分解に及ぼす共存物質の効果

岸本直之(龍谷大学理工学部環境ソリューション工学科)

1. 背景

近年、琵琶湖において、BOD が経年的に横ばい、あるいは低減傾向であるのに対して、COD は増加傾向にあるという現象がおきている。とくに琵琶湖北湖では、1985 年以降、その現象が確認されている(早川,1999)。琵琶湖の水質では、BOD と全りんが、北湖、南湖、瀬田川で、低減(改善)傾向にある。COD は北湖において上昇(悪化)傾向が顕著となっている。また全窒素は南湖において近年改善傾向にあるものの、全体として横ばいとなっている。この BOD, COD 乖離現象の原因として考えられているのが、生分解しにくい難分解性有機物の蓄積である。難分解性溶存有機物は、文字通り、生分解しにくい有機物の総称である。「難分解性」とは十分な溶存酸素、暗所など、一定条件の条件下で、一定期間、細菌(バクテリア)による分解を経た後に残存するものをいう。つまり操作的な(適当に決められる)定義である。(今井ら,2003)

一方、琵琶湖への流入負荷については、大久保ら(2005)により、調べられている。それによると生活系負荷のうち、COD は 1985 年をピークに減少傾向にある。T-P は 1972~1980 年ごろから、横ばい状態が続いている。T-N は逆に負荷量が増えたという結果となっている。同様の研究は岸本(2006)によって行われている。岸本も琵琶湖への流入負荷は減少しているとしている。面源負荷も含めた負荷量について琵琶湖河川事務所が報告している(国土交通省 近畿地方整備局琵琶湖河川事務所 HP)。よって COD の上昇は、流入負荷の増加ではなく、別の要因があるのではないかと推測される(岸本, 2008)。

一方、琵琶湖水の有機物の分解は主に微生物とくにバクテリアによる生分解によって行われると考えられる。湖沼内の有機物を炭素源として利用することでバクテリアは生存・増殖している。そのため生分解されやすい有機物(易分解性有機物)の指標である BOD の減少は、バクテリアの生存・増殖速度に何らかの影響を与える可能性がある。また、同様に全リンは、生物にとって必須栄養素であり、溶存態有機物を分解する際、リンや窒素の欠乏によりバクテリアの増殖が制限されることが知られている(吉田ら,2004)。そのため BOD と同様に全リンの減少も琵琶湖内のバクテリア増殖速度および活性に影響を与えている可能性がある。

まとめると、琵琶湖流入負荷の減少により微生物活性や生分解速度の低下が引き起こされている可能性がある。BOD 試験法では低濃度試料については試料を希釈することなくそのまま BOD 測定を行うため、結果として BOD が北湖において低く評価されている可能性も否定できない。そこで、本研究では、BOD、リン濃度の低下に着目し、BOD の供給源であった下水流入水に注目した。下水処理場では生物処理を行っており易分解性有機物は速やかに分解され、湖沼に入ってくる易分解性有機物は減少傾向にある。そのため湖沼の難分解性有機物にそうした「生物処理で除去されやすい易分解性有機物」を添加することで微生物活性が高まり難分解性有機物の生分解速度が向上する可能性がある。同様にリン制限の可能性もあり、リン濃度の影響も確認する必要がある。

よって、本研究では易分解性有機物とリンが難分解性有機物の生分解に与える影響を調べることを目的とした。易分解性有機物の影響では下水処理場に流入する流入下水中基質と生物処理後の生物処理水を難分解性有機物に添加し、難分解性有機物の生分解性の変化を評価した。リンの影響を確認するためにリンの添加実験を行った。

2. 易分解性有機物がタンニン酸の生分解に及ぼす影響評価実験

2-1.方法

2-1-1 試料

難分解性有機物のモデル物質としてタンニン酸（ナカライテスク社製）の 200mg/L 溶液を使用した。タンニン酸は、湖沼の代表的な難分解性有機物であるフミン物質と同様に植物由来のフミン酸様の有機物である。また自然由来ということで乖離現象が発生する以前にも湖水に存在していたと考えられる物質である。下水流入水および生物処理水は、滋賀県草津市湖南中部浄化センターの最初沈殿池流出水および、活性汚泥一凝集沈殿処理水をそれぞれ採水した。流入水および処理水は、採水後 0.2 μm のメンブレンフィルターで微生物除去を行い、3℃で冷蔵保存した。それぞれ、ろ過した溶液を以下、流入水、処理水と表記する。

2-1-2 実験方法および評価方法

本実験では、流入水および処理水添加によるタンニン酸の生分解性変化を検討するために、BOD 試験を行った。BOD は生分解の際の消費酸素相当量で表示される水質汚濁指標であり、ここでいう BOD は 20℃、5 日間、暗所での生分解試験である。

本実験では下水添加したときのタンニン酸の生分解性を評価するために以下の 3 つの BOD を測定した。なお、植種には植種菌製剤 BI-CHEM BODSeed (NOVOZYMES BIOLOGICALS JAPAN 社製)を使用した。

- ① タンニン酸 BOD
- ② 流入水または処理水 BOD
- ③ ①と②を任意の割合で混ぜた混合溶液 BOD

上記の①②③を用いて「混合溶液に含まれるタンニン酸の生分解率」という形で評価した。なお、ここでいう生分解率とは、20℃、5 日間で、全有機物の酸化に必要な酸素量のうち、微生物による酸化に使われた酸素の割合であり、次式で表されるものである。ここで a は混合溶液中の下水の割合、 b は混合溶液中の 200mg/l タンニン酸溶液の割合をそれぞれ示す。

生分解率 [%]

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{混合溶液に含まれるタンニン酸の BOD} [mg / l]}{\text{混合溶液に含まれるタンニン酸の COD}_{Cr} [mg / L]} \times 100 \\ &= \frac{\text{混合溶液 BOD} - \text{流入水 or 処理水 BOD} \times a}{200 mg / l \text{ タンニン酸の COD}_{Cr} \times b} \times 100 \end{aligned}$$

また、タンニン酸の生分解率だけでなく、初日および 5 日後の BOD 培養液を溶存酸素（以下 DO: Dissolved Oxygen）測定後に 0.45 μm メンブレンフィルター(sartorius 社製 Minisart RC25)を用いてろ過し、培養液の溶存態 COD_{Cr}、TOC、タンニン酸濃度をそれぞれ測定し、COD_{Cr} 分解率、TOC 分解率、タンニン酸分解率という定義づけをした。COD_{Cr} 分解率、TOC 分解率は、下水を含んだ全有機物の分解率である。それぞれ以下の式で分解率を求めた。

$$\text{分解率} [\%] = \frac{\text{初日濃度} - \text{5日後濃度}}{\text{初日濃度}}$$

本実験では、BOD/COD で表示される生分解率および COD_{Cr}、TOC、タンニン酸の分解率の 4 つの評価方法を用いて評価するものとする。

2-2.結果

表 1 に本実験で用いた 200mg/l タンニン酸溶液の BOD および COD_{Cr} を、表 2 に本実験で用いた流入水の成分を、表 3 に本実験で用いた処理水の成分をそれぞれ示す。表 1 より 200mg/l タンニン酸の BOD は 25.9mg/l、COD_{Cr} は 222mgO/l という結果が得られ、タンニン酸の分解率 (BOD/COD*100) は平均 11.7% となった。表 3 より処理水中での全りん の値が低いことがわかる。本実験では、生分解におよぼす易分解性有機物の影響確認を目的としている。そのためりん濃度が 10mgP/l となるように、BOD 試験に用いるリン酸緩衝液を用いてりん濃度の調整を行った。さらに、流入水および処理水とタンニン酸を用いて、下水添加時のタンニン酸の生分解性検討実験を行った。その結果を図 1~4 に示す。

表 1, 200mg/l タンニン酸溶液の BOD および COD_{Cr}

	平均	標準偏差
BOD	25.9	10.64
COD _{Cr}	222	

表 3, 流入水の成分

	平均	標準偏差
pH	7.8	0.3
電気伝導度[mS/cm]	0.607	0.150
BOD[mg/l]	24.5	1.46
COD _{Mn} [mg/l]	36.0	4.89
COD _{Cr} [mg/l]	117	28.0
全窒素[mg/l]	20.2	9.08
全りん[mg/l]	1.77	0.361

表 4 処理水の成分

	平均	標準偏差
pH	6.9	0.14
電気伝導度[mS/cm]	0.46	0.035
BOD[mgO/l]	0.46	0.03
COD _{Mn} [mg/l]	4.89	0.73
COD _{Cr} [mg/l]	11.2	7.8
T-N[mgN/l]	4.7	4.06
T-P[mgP/l]	0.04	0.027

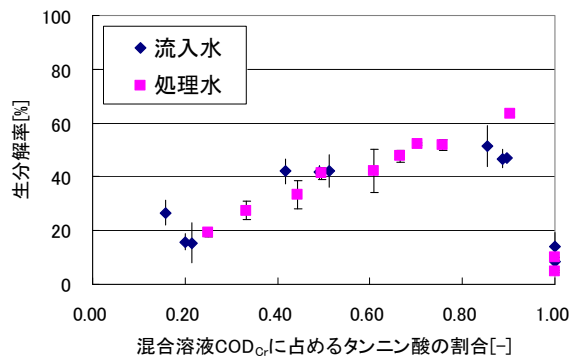


図 1, タンニン酸の割合と生分解率

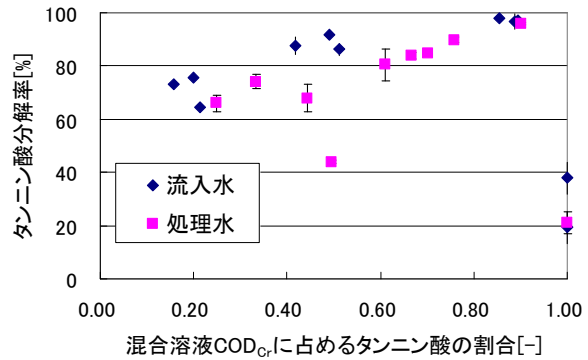


図 2, タンニン酸の割合とタンニン酸分解率

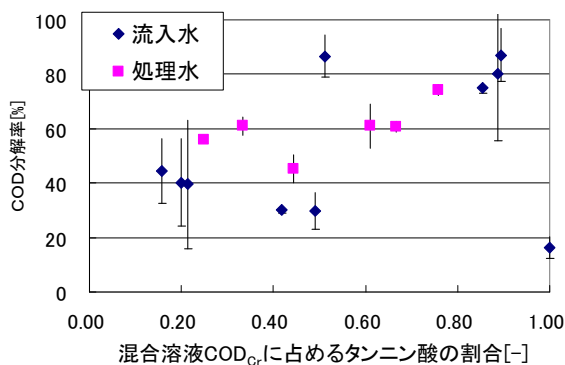


図 3, タンニン酸の割合と COD_{Cr} 分解率

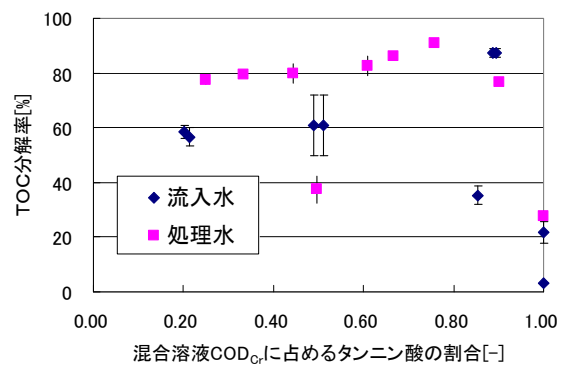


図 4, タンニン酸の割合と TOC 分解率

図 1 では、タンニン酸のみの条件(混合溶液 COD_{Cr}に占めるタンニン酸の割合=1)で生分解率が 12%前後であるのに、流入水を添加したことで、最高で 50%(混合溶液 COD_{Cr}に占めるタンニン酸の割合=0.9)にまであがっていることが確認された。同様に処理水を加えた実験結果でもタンニン酸の生分解率は、最高 60%となった。そのため、流入水中基質および処理水中基質添加により、タンニン酸の生分解性が向上したことが示唆された。しかしながら、タンニン酸の割合が小さくなるほど生分解率が低くなる、つまり左肩下がりのグラフとなっていることから、多量の流入水中基質または処理水中基質の添加が生分解速度に影響を与え、むしろタンニン酸の生分解促進効果を阻害したとも考えられる結果となった。

一方図 2 では、リンモリブデン酸による吸光光度法で分子としてのタンニン酸の直接測定を行っている。タンニン酸分子は、混合溶液中で 70%~100%という高い値で分解されていることがわかった。そのためタンニン酸分子はすぐさま分解され、中間生成物へと移行していることがわかった。この中間生成物が、難分解性である可能性も示唆された。また図 2、図 3 においても、左肩下がりの結果となった。そのため、特に、タンニン酸の割合が低いときでは微生物が選択的に下水中基質を利用していることが示唆された。図 4 の COD による測定結果では図 2、図 4 と違いはっきりとした傾向を示すグラフではなかった。

まとめると混合溶液中では、タンニン酸の割合が小さくなるほど生分解率が下がる傾向にあり、明確な違いは、認められなかった。同様にタンニン酸、COD、TOC についても同様の傾向を示した。そのため流入水と処理水の有機物の違いがタンニン酸の生分解に与える影響は小さいといえる。しかしながら、流入水および処理水を添加したことでタンニン酸の生分解性が向上したことから、下水に含まれる易分解性有機物よりも、流入水や処理水に含まれる BOD 以外の微量成分が生分解に影響した可能性が考えられた。

3 リンの影響評価実験

3-1 方法

3-1-1 試料

2 章と同様にタンニン酸を用いた BOD 試験を行った。また、図 1 よりタンニン酸だけでは、リンが過剰にある条件下でも分解率が 12%程度しかないことが判明している。そのため生分解を促進するために生物処理水を少量添加した。生物処理水も同様に滋賀県草津市湖南中部浄化センターの活性汚泥—凝集沈殿処理後水を採水し、採水後 $0.2\mu\text{m}$ のメンブレンフィルター (ADVANTEC 社製 A020B047A) で微生物除去を行い、 3°C で冷蔵保存した。

3-1-2 実験方法

本実験では、リン濃度を可能な限り小さくするために植種液中のリンを除去する必要があった。そのためジャーテスターを用いて凝集実験を行った。凝集剤には塩化鉄(III)6 水和物を持ちいた。pH 調整には 1M 炭酸ナトリウムを用いた。

実験方法は、BOD 試験を基にした。しかし、希釈液を作る際、A 液(リン酸緩衝液)をいれずに、希釈水を作った。BOD 瓶には希釈水をいれたあと、植種液と処理水 5ml、タンニン酸をいれメスアップし、最後に 10000 倍希釈した A 液で全リンを調整した。DO 測定後のサンプルについては、第 3 章と同様に口径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターでろ過し、タンニン酸、 COD_{Cr} 、TOC を測定した。また 5 日後の培養液の T-P を測定し、全リンと酸素消費量や各測定項目との関係を調べた。なお、BOD 瓶および T-P の測定器具は、リン汚染を防ぐために、1M 塩酸で 1 晩以上漬け置きしたものを使用した。

3-2 結果および考察

ジャーテスターを用いて凝集実験により塩化鉄(III)を 120mg/l で凝集沈殿を行い、リンを除去した。実験条件を表 5 に、処理水の成分を表 6 にそれぞれ示す。結果を図 5 に示す。今回は BOD 試験をおこなったが BOD 値ではなく、酸素消費量で結果を示す。これは、BOD 試験の条件である酸素消費量 2mg/l 以上の条件および植種希釈水の酸素消費量が $0.5\sim 1\text{mgO/l}$ を満たせないサンプルがあるためである。植種液の酸素消費量の詳しい値を表 7 に示す。

図 5 より T-P が大きくなると酸素消費量も大きくなる右肩上がりのグラフが得られた。そのためリン濃度がタンニン酸の生分解に影響を与えたことがわかる。また、酸素消費量が 0.015mgP/l 付近で急激に上がるように見える。しかしながら Case2 のデータでは 0.015mgP/l 付近で酸素消費量が $1.5\sim 2.5\text{mg/l}$ とばらつきが大きくなっており、必ずしも 0.015mgO/l から酸素消費量が高くなると結論づけることができない。

また、グラフの形から酸素消費量 5mgO/l 付近に収束するような形になった。そこで T-P が 0.04mgP/l の値で、これまでと同様の方法でタンニン酸の生分解率($\text{BOD}/\text{COD}_{\text{Cr}}$)を求めると 53.0%となった。実験条件が異なっており単純に比較はできないが、易分解性有機物の影響を調べた実験結果である図 1 の最高値と図 6 では、同じような生分解率を示した。いずれにしてもリン濃度がタンニン酸の生分解に影響を与えることが示された。今回の実験のように、リン濃度が低い湖沼水へ有機物を添加したときの実験に Prasad(1982)のものがある。Prasad は 0.15mgP/l の湖沼水にリンとグルコースを添加し、リン濃度が大きくなったとき、酸素消費量が大きくなったと報告している。琵琶湖水中でのグルコース分解におけるリンの影響に関する研究には吉田ら

(2004)がある。古田らもやはり琵琶湖水にグルコースを添加し、さらに窒素およびリンを添加したことでグルコースの分解が進んだと報告している。本実験はこれら二つの実験を支持するものとなった。

表 5 実験条件

	Case1	Case2
タンニン酸溶液添加量 [ml/102ml]	4ml	4ml
処 理 水 添 加 量 [ml/102m]	5ml	5ml
植種液の希釈倍率	51	204

表 6 処理水の成分

pH	7
電気伝導度 [μ S/cm]	0.43
BOD[mgO/l]	0.434
COD _{Mn} [mgO/l]	4.37
COD _{Cr} [mgO/l]	5.65
T-N[mgN/l]	7.55
T-P[mgP/l]	0.026

表 7,植種希釈液の酸素消費量

	平均 [mgO/l]	標準偏差 [mgO/l]
Case1	0.86	0.05
Case2	0.42	0.05

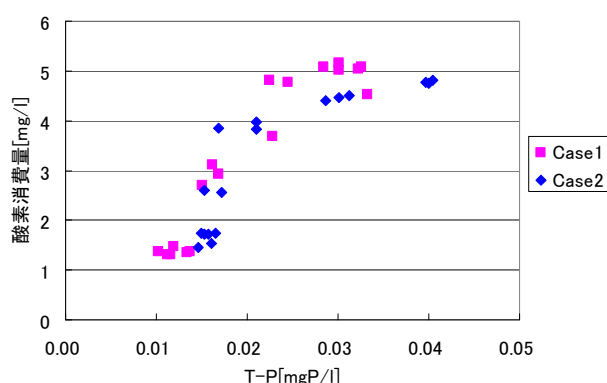


図 5,リン濃度と酸素消費量

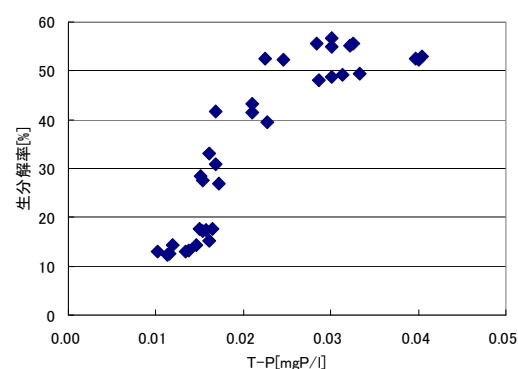


図 6,リン濃度と生分解率

微生物の生化学反応速度と酸素消費量が比例すると仮定すると、リンと酸素消費量の関係は、微生物の生化学反応速度の基質依存性を表す式であるミカエリス・メンテン式に準じて以下の式であらわすことができる。

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s}$$

ここで、 μ =酸素消費速度、 $\mu_{\max}$ =最大酸素消費速度、 C_s =制限となる基質の濃度、 K_s =基質 S に関する半飽和定数である。ただし、この式は基質濃度 $C_s=0$ のとき $\mu=0$ となる式である。図 5 では原点を通っていないように見える。そのため以下のような式を立てた。

$$\mu = \mu_{\max} \frac{(C_s - A)}{K_s + C_s - A}$$

ここで $A=x$ 方向へのずれであり、生化学反応の閾値を示す。この式を用いて、図 20 の Case1 と Case2 の近似式を立てた結果をそれぞれ図 7、図 8 に示す。 $\mu_{\max}$ 、 A 、 K_s+A の値を表 8 に示す。その結果、最大酸素消費速度=7.12mgO/l、 $K_s=0.010$ mgP/l であり、酸素消費が起こる閾値は 0.011mgP/l であることが示された。また酸素消費速度が最大値の 1/2 になる半飽和濃度は $C_s=K_s+A$ のときなので 0.021mgP/l と求められた。

表 8, $\mu_{\max}$ 、 A 、 K_s 、 K_s+A の平均と標準偏差

	$\mu_{\max}$	A [mgP/l]	K_s [mgP/l]	K_s+A [mgP/l]
Case1	8.73	0.008	0.017	0.025
Case2	5.50	0.013	0.004	0.017
平均	7.12	0.011	0.010	0.021

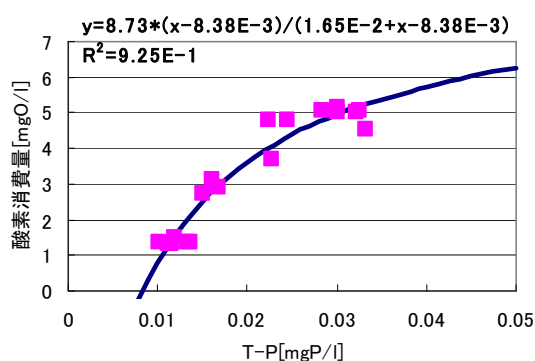


図 7, Case1 ミカエリス・メンテン式

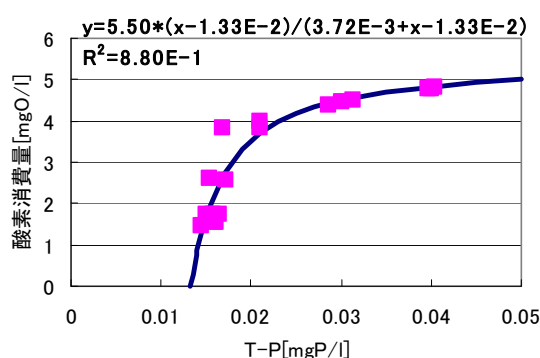


図 8, Case2 ミカエリス・メンテン式

4 結論

本研究では琵琶湖の BOD/COD 乖離現象の一因として、琵琶湖への BOD、リン流入負荷の減少に伴う微生物活性および生分解速度の低下により BOD/COD 乖離現象が引き起こされた可能性について検討した。BOD に代表される易分解性有機物源として最初沈殿池流出水（流入水）および生物処理-凝集沈殿処理水（処理水）のろ液を用い、リン濃度はリン酸緩衝液により調整した。難分解性有機物モデル物質としてタンニン酸を用いた。以下に得られた結果を要約する。

- ①流入水および処理水の添加はタンニン酸の生分解を促進した。
- ②流入水および処理水の添加量が多くなるほど、タンニン酸の生分解率は減少する。逆に少量の流入水および処理水を添加したときが最も生分解率が高くなる傾向であった。
- ③タンニン酸の生分解に及ぼす流入水および処理水の影響に大きな違いは認められなかった。同様に TOC、タンニン酸、 COD_{Cr} でも大きな違いは認められなかった。そのため、流入水に含ま

れる易分解性有機物がタンニン酸の生分解を促進したのではなく、流入水および処理水中に含まれる易分解性有機物以外の成分が生分解に影響を与えた可能性が示唆された。

④リンを添加したことでタンニン酸の分解時に消費される酸素量が増えた。

⑤全リンと酸素消費量の関係は閾値を考慮したミカエリス・メンテン式で表された。その結果、最大酸素消費速度=7.12mgO/l、酸素消費における閾値は 0.011mgP/l と評価された。また酸素消費速度が最大値の 1/2 になるのは半飽和濃度は 0.021mgP/l であった。

本研究の結果から、下水に含まれる微量成分とリンが難分解性有機物の生分解活性に大きく影響していることが示唆され、易分解性有機物による難分解性有機物分解促進効果は認められなかった。また、バクテリアによる酸素消費に及ぼすリン濃度の閾値は琵琶湖北湖水質レベルであり、琵琶湖北湖においてリン制限により有機物の分解が抑制されている可能性が示された。今回の実験はあくまでもタンニン酸をモデル物質とした結果であるため、今後は琵琶湖水中の有機物を用いて本実験で示したような生分解抑制効果の有無を確認し、その効果の大きさを見積もる必要があると考えられる。

参考文献

琵琶湖河川事務所HP 琵琶湖の現状と変遷整理シート

<http://www.biwakokasen.go.jp/others/genjou/pdf/base.pdf> (2010/01/20確認)

D.Y.Prasad(1982)Effect of Phosphorus on Decomposition of Organic Matter in Fresh Water, Indian J. Environ. Health, 24(3),206-214

早川和秀(1999)北湖の COD 増加と溶存態有機物,滋賀県琵琶湖研究所所報,17,36-39

今井章雄(2003)湖沼トレンドモニタリングでみる難分解性有機物の特性と動態,地球環境研究センターニュース, 14(7)

岸本直之(2006)琵琶湖への家庭排水による汚濁負荷量の推定,日本陸水学会第 71 回大会講演要旨集, 100

岸本直之(2008)琵琶湖の有機性汚濁は改善しているのか?—BOD・COD 乖離現象の要因に関する一考察—, 龍谷理工ジャーナル, 20(2), 8-12

大久保卓也、東義広(2005)集水域から琵琶湖へ流入する汚濁負荷量とその水質への影響, 滋賀県琵琶湖研究所記念誌(所報 22 号), 55~72

吉田晴子,後藤直成,三田村緒佐武(2004)琵琶湖の溶存有機物の分解における制限因子としての栄養塩,日本陸水学会第 69 回大会講演要旨集, 249