

第1回 地域ワークショップ

—— 水界の有機物 ——

Proceedings of 1st RED's Workshop
(RED; Regional Environment Division)

—— Organic Matter in Aquatic Environment ——

期日 平成4年11月12日

会場 国立環境研究所

福島武彦，木幡邦男，今井章雄 編

Edited by T. FUKUSHIMA, K. KOHATA, and A. IMAI

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

序

本報告書は、平成4年11月12日に開催された地域環境研究グループ主催による「水界の有機物」と題するワークショップの記録である。平成2年度の研究所の機構改革に伴い、地域環境問題に関するプロジェクト研究を担当する部署として「地域環境研究グループ」が組織された。地域ワークショップはこのグループ内での研究を、外部の専門家、行政担当者に公表し、議論して頂くことによって、我々の研究遂行に示唆を得るために計画したものである。

地域環境研究グループには現在11のチームが属しているが、その内「海域保全」、「湖沼保全」、「水改善手法」、「有害廃棄物」の各研究チームは、水を研究対象としていることはもちろんのこと、研究手法の点でも共通点が多い。このため、興味が重なるテーマについて、ワークショップを定期的に共同で開催することに合意し、第1回のテーマとして「水界の有機物」を取り上げることとした。

「水界の有機物」を論じる観点として、ここでは「分析、動態、処理、機能」を取り上げ、それぞれのセッションを設けて、我々のこれまでの成果発表と討論を行った。特に討論では、十分な時間を用意し、各分野の第1号者に座長をお願いすることにより、今後の研究方向に関して掘り下げた議論が可能となるよう図った。また、河川はBOD、湖沼、海域はCODで環境基準の適合度の判定が行われているが、こうした環境基準の見直しの問題や、廃棄物埋立地からの難分解性浸出水の処理、アオコなど有害藻類の発生抑制など、多くの行政課題も議論の対象とされた。

ワークショップには外部から23名、当所スタッフ20名が参加し、約6時間にわたって熱心な発表、討議が行われた。参加された方々に厚く感謝するとともに、このワークショップで得られた多くの新たな示唆を踏まえて、「水界の有機物」に関連する諸研究を一層飛躍させたいと考えている。

平成5年3月

地域環境研究グループ
統括研究官 内藤 正明

目次

分析；		
海水中の溶存態有機炭素（DOC）分析法の現状	1	
田上英一郎		気象研究所 地球化学研究部
水域での内部生産物質の定量法	17	
木幡邦男		国立環境研究所 地域環境研究グループ
討論のまとめ	25	
大槻 晃		東京水産大学 水産学部
動態；		
植物プランクトンの光合成による有機物のターンオーバー	29	
濱 健夫		名古屋大学 水圏科学研究所
有機物のターンオーバー	39	
－炭水化物を中心として－		
落合正宏		東京都立大学 理学部
討論のまとめ	49	
渡辺泰徳		東京都立大学 理学部
処理；		
上水処理における有機物	53	
－水処理における有機成分の起源と有機物の挙動－		
亀井 翼		北海道大学 工学部
埋立地浸出水に含まれる有機物の処理	73	
今井章雄		国立環境研究所 地域環境研究グループ
討論のまとめ	83	
大垣眞一郎		東京大学 工学部
機能；		
アオコの増殖に及ぼす微量有機物の添加効果	87	
相崎守弘		国立環境研究所 水圏環境部
微生物食物連鎖を通しての溶存有機物の生成と消費	97	
－海洋物質循環における意義－		
永田 俊		名古屋大学 水圏科学研究所
討論のまとめ	103	
高村義親		茨城大学 農学部

海水中の溶存態有機炭素 (DOC) 分析法の現状

田上英一郎 (気象研究所地球化学研究部)

1. はじめに

地球上に存在する有機炭素プールのうち、地球の表層にあり、かつ比較的短い時間スケール (~数千年) で循環している有機物は、土壌有機物、海洋中の有機物及び、陸上のバイオマスである (図1 a)。土壌中に存在する有機炭素の大部分は、いわゆる腐植有機物と総称されているもので、その起源は陸上の高等植物の分解残渣に由来し、化学構造や変質過程について良くわかっていないものの、化学組成は比較的調べられている。陸上のバイオマスでは、その75%及び25%がそれぞれ植物繊維の木質及び非木質バイオマスと考えられている。一方、海洋中の有機物の内訳をみると (図1 b)、その95%以上がいわゆる溶存有機物 (DOM: Dissolved Organic Matter) であり、更に数%の非生物懸濁態有機物が存在し、生物体の有機物は、海洋中の有機物全体の1%以下を占めるにすぎない。海洋中の有機物の大部分を占める溶存有機物のうち、脂質、糖、アミノ酸等の生体構成成分や有機酸、その他化学的に同定される成分を合わせても全有機物量の10%程度にすぎず、その大部分は化学的に未知のままである。安定同位体の研究結果から、溶存有機物の大部分が海洋由来と推定されるものの、溶存有機物の具体的な起源やそこに至る過程についてはわかっていない。地表に存在し、活発の炭素循環に関与する有機炭素プールの中で、海水中に存在する溶存有機物は、その実態が解明されていない最も大きい有機物プールと言える。

海洋を中心とした有機物プール間での炭素フラックスを図2にまとめた。この図から、海洋における炭素循環が、いかに効率的に行なわれている事がわかる。即ち、海洋表層で生産される有機物の約0.2%、若しくは、陸上から河川や大気を通して輸送される有機物の20%以下に相当する有機物が、最終的に堆積物有機物として埋没し、ここで考える比較的短い時間スケールでの炭素循環の系から除外されているにすぎない。換言すれば、基礎生産による有機物のほとんど全部、また陸上に由来する有機物の大部分は、海洋中のどこかで酸化され無機化されていることになる。また、海洋から陸上への有機物の大規模輸送の系が考えにくいことから、地球規模での有機物の収支を考えれば、海洋は無機炭素を有機炭素化する還元反応よりも、有機炭素を無機炭素化する酸化反応のほうが卓越する系と言える。

海洋内部における炭素循環をみると、溶存有機炭素 (DOC: Dissolved Organic Carbon) のターンオーバーは基礎生産の1%程度で、大気経由若しくは河川経由の有機物フラックスと同程度と算定されている。溶存有機物全体でみれば、その代謝速度は極めて遅く、溶存有機物は生物学的酸化作用に対して非常に安定であることを示している。これはDOCの平均年令を全海洋について、6000年と仮定して算定した結果 (Williams and Druffel, 1987) であり、当然ながらターンオバ

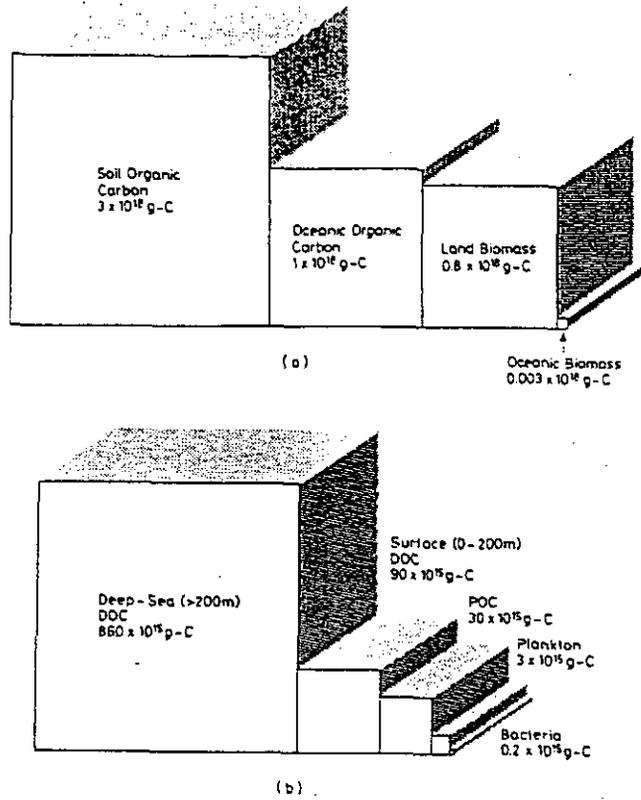


図 1 海洋及び陸地の有機炭素プールの比較 (a), 海洋における有機炭素プールの分布 (b) (Mopper and Degens, 1979)

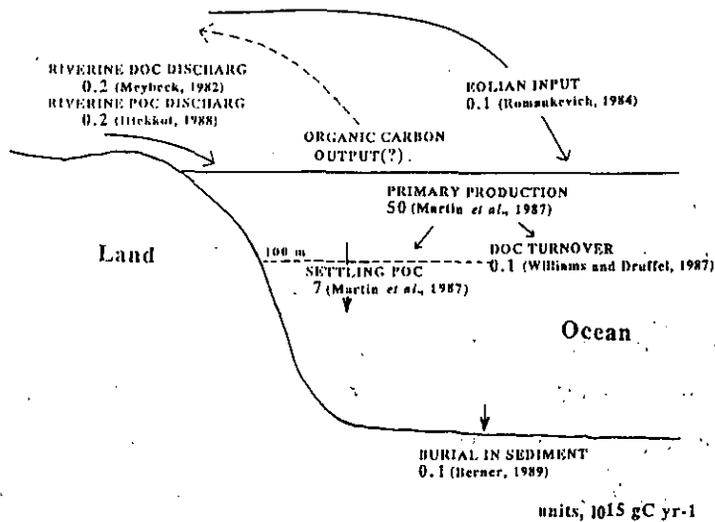


図 2 海洋を中心とした有機物プール間での炭素フラックス (田上, 未発表)

一値は小さくなる。しかし、基礎生産された有機物の20-40%は、溶存有機物として従属栄養細菌に利用されていることが微生物食物連鎖の研究から指摘されている (Azam and Furman, 1984)。従って、少なくとも海洋表層において、溶存有機物の一部はもっと活発な代謝系に組み込まれていると考えられる。このように溶存有機物の海洋化学的な役割について多くの議論があり、また溶存有機物の全量を知るための溶存有機炭素の測定法についても多くの努力が払われてきたが、現時点ではそのいずれも解決されていない。

2. 溶存有機炭素の測定

海水中の溶存有機物が、有機物のプールとして巨大であることから、その海洋学的役割について多くの研究者の興味を引きつけてきた。表1に非常に大まかではあるが、DOC研究の流れをまとめた。今世紀初頭には、溶存有機物は海産生物の栄養源として利用されている可能性が示唆されていたが (Putter, 1909), それを否定する意見も発表されている (Krogh, 1930)。1960年代には溶存有機物を酸化し、生成する炭酸ガスを定量することにより溶存有機物全量を溶存有機炭素

表 1 溶存有機物研究の概要

1909	Pütter		DOM : A source of food for organisms
1930	Krogh		Disproved
1964	Menzel & Vaccaro	Wet oxidation	
1966	Armstrong et al.	UV oxidation	
1968	Barber		Refractory nature of DOM
1969	Williams et al.		Old (3400yrs) 14-C "age" of deep water DOM
1974	Menzel		Homogeneity of DOC distribution as a feature of common to all areas of the ocean.
1973	Sharp	HTCO	Elevated DOC level
1973	Gordon & Sutcliffe	HTCO	Elevated DOC level
1978	MacKinnon		Disproved
1979	Gershey et al.		Disproved
1988	Sugimura & Suzuki	HTCO	Elevated DOC level & DOC/AOU relation
1991	DOC/N Workshop (Seattle)		Far from conclusion
1992	Martin & Fitzwater	HTCO	Elevated DOC level but fail to obtain DOC/AOU relation (oceanic water)
1992	Ogawa & Ogura	HTCO	Disproved (coastal water)
1992	Tanoue	HTCO	Elevated DOC levels but fail to obtain DOC/AOU relation (oceanic water)
1992	DOC/N Workshop report		Suzuki retracts DOC (1988) & DON (1985) papers

(DOC)として表現する方法が開発された。この方法が現在に至るまで溶存有機炭素測定法の原理になっている。その酸化方法として、酸化剤や紫外線が利用された。現在これ等の方法を一括して湿式酸化法(WCO: Wet Chemical Oxidation)と呼んでいる。湿式酸化法の開発により、DOCが比較的簡単に測定できるようになり、これ以後海洋におけるDOCの測定が本格的に開始された。1970年前半には、湿式酸化法で得られる海水中の溶存有機物に関するおおよその知見がまとまった。その結果、溶存有機物は生物学的分解に対して非常に安定であり、その年令はそれを含む海水の年令よりも古く、その分布は全海洋を通してほぼ均一に分布していることがわかった。一方、紫外線や酸化剤を用いる湿式酸化法は、溶存有機物を100%酸化していない事が知られていた。海水中の溶存有機物の組成及び有機化学的性質がわかっていないために、その全量を測定することは難しく、仮にできたとしても、それを論理的に証明する事は不可能ではあるが、真の値に近づく努力は続けられた。1970年代初めには酸素の存在下で、より高温を用いて溶存有機物を酸化するDOC測定法が開発された。これを現在では、高温(触媒)酸化法(HTCO: High Temperature Catalytic (Chemical) Oxidation)と呼んでいる。本法によって測定されたDOC濃度は従来の湿式酸化法よりもかなり高い濃度を与えた。しかしながら、追試による結果は否定的であった。高温酸化法は、その潜在的有効性は認められていたものの、手順が煩雑であったり、分析過程での汚染等、問題点が多く、その後追及されなかった。このような経緯から、1970-1980年代、DOC分析法、ひいては溶存有機物の研究には大きな進歩が認められなかった。

1988年、Sugimura and Suzuki は、高温(680°C)かつ白金触媒下で、試水を直接酸化炉に注入し、有機物の酸化により生じた二酸化炭素を定量する高温触媒酸化法を開発し、海水中のDOC測定に適用した。この方法によれば、海水中のDOC濃度は、従来の湿式酸化法に比べて2-3倍高く、同時にその鉛直分布から海洋の中深層水中の物質循環には従来考えられていた表層由来の粒子態有機物ではなく、溶存態有機物が大きな役割を果たしていることが示唆された。この分析法による結果は海洋化学の分野に大きなインパクトを与え、島津(モデル TOC-500または-5000)、アイオニクス(モデル 555)、ドーマン(DC-190)、スミグラフ(TOC-90)等メーカー製や手作りの高温酸化法による測定器を用いて世界中で追試が開始された。その結果、高温酸化法で得られるDOCの値は従来の湿式酸化法に比べて高い値を報告した例が多いものの、上記結果を再現した例は報告されなかった。またその鉛直分布の特徴についても、報告者により異なっていた。下で述べるように、Sugimura and Suzuki (1988) で用いた測定器と同一の酸化及び測定原理の測定器(スミグラフ TOC-90)を用いた測定結果でも、上記結果は再現されなかった(Tanoue, 1992, a and b)。その後の検討により、Sugimura and Suzuki (1988) により発表された結果は、正しくないことが明らかとなり、この論文は取り下げられる事になっている(Suzuki, 1992)。以上のような経緯から明らかなように、現時点では海水中の有機炭素測定に関するコンセンサスは、得られていない。従って、本報告では、結論を述べる事はできず、その現状を紹介し、問題点を指摘したい。

3. 天然水の溶存態有機炭素及び窒素の測定ワークショップ

前記のような状況をうけて、1991年7月、米国シアトルで“天然水の溶存態有機炭素及び窒素の測定”ワークショップが開かれ、約30グループによる共通海水試料の相互比較及び分析法に関する問題点が討議された。

会議に先だって、ハワイ沖、北100km, U. S. GOPS, タイムシリーズ (HOTS) 観測点及びハワイ河川水試料が希望者に配布されており、各自の測定器及び測定法で得られたDOC測定値は分析者の名前を伏せて相互比較された。この相互比較の結果を例としてDOC測定の現状についてもう少し具体的内容に触れたい。DOC測定については28の研究者ないしグループが20種類以上の異なった測定器や測定法を用いて34の測定値を報告した。各研究者が報告した各自の繰り返し分析精度は+4%の範囲内にあり、また、いずれの分析の場合も測定した濃度範囲内で検量線は直線であった。相互比較試料を作成した責任者からは、高温触媒酸化法(島津TOC-5000)で測定するかぎりでは、各分析者に配布された試料について、試料毎の変動に有意な差はないと報告されている。

各研究者の報告値を図3に示す。ちなみに高温触媒酸化法(スミグラフ, TOC-90)を用いた筆者(田上)の測定値は、分析者番号17である。一見してわかるように同一海水試料であるにもかかわらず、各試料の報告値は広範囲に変動している。表層水を例にとると、DOCの測定値は300 μ Mを越える値から50 μ M以下の値までである。しかしながら多くの測定値は、50-150 μ Mの範囲にあり、さらに100 \pm 20 μ Mの値が最も多い。この図では示されていないが高いほうの値は総て高温触媒酸化法によるもので、低いほうの値は湿式酸化法によって得られている。ただし、中央値付近で両者はオーバーラップしていた。従って、いずれの試料についても低い方の5-6個の値を除けば、図3に見られる変動は高温触媒酸化法のみ測定値の変動と同じと見なしてよい。

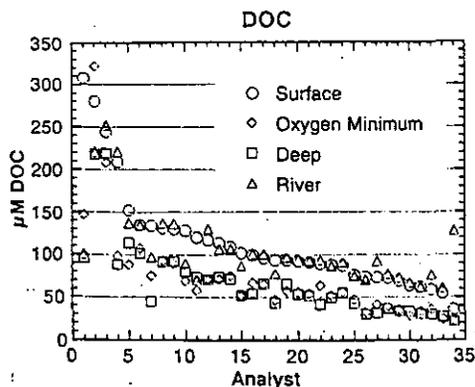


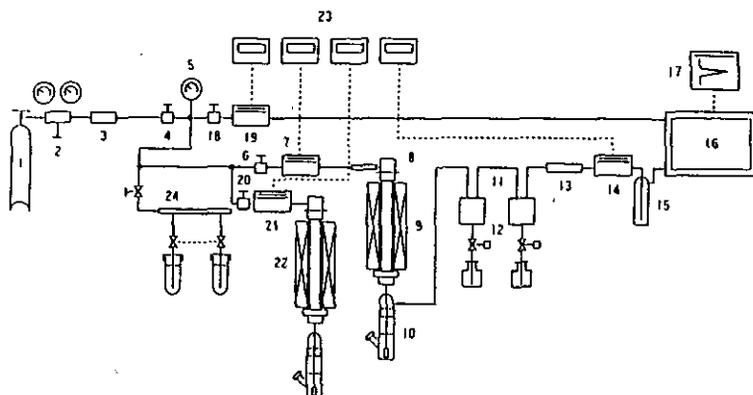
図 3 DOCの相互比較結果。海水試料は、HOTS観測点の表層水(10m)、酸素極小層(750m)、深層水(4000m)及びオアフ島河川水からクリーン採水器により採水され、GF/F濾紙により濾過後、リン酸でpH2.5に調整後凍結し、各分析者に配布された。分析番号は、若い方から表層水試料のDOC値が高い順に機械的に並べられている(田上, 1991)

図3から明らかなように、同じ高温触媒酸化法であっても、各分析者が報告したDOC値はデータとして相互に比較できる段階ではないことがわかる。ただし、大多数の分析者の値には、共通した傾向が認められる。即ち、1) 表層水と河川水の値は、ほぼ同程度である。2) 酸素極小層とそれ以上の深層水の値には、有意な差がない。3) 表層水と深層水との濃度差は、多くの場合30-40 μM 程度である。つまり、DOCの絶対値は大きく変動するものの、各分析者の相対値の保存性は比較的高いことを示している。換言すれば、図3で見られる大きな変動の原因は、ランダム誤差ではなく、系統的な誤差によってもたらされたことを示唆している。この系統誤差の原因を考えてみたい。本ワークショップ中に前記測定器メーカーによるデモンストレーションが行なわれ、海水試料及びグルコース添加海水試料の測定が行なわれた。データを公表した高温触媒酸化法による3社、湿式酸化法による1社及びデータを公表しなかった高温触媒酸化法による1社の計5社の値は、相互に非常に良く一致した。このことは、高温触媒酸化法による測定器のシステム構成や用いる触媒等、分析条件はメーカーによりかなり異なっているにもかかわらず、熟練した分析者が分析を行えば測定器の違いによる系統的誤差は、余り大きくないことを示している。従って、図3に見られる変動は、用いた測定器の性能によるのではなく、それらを使用する際のキャリブレーションやブランク等の分析化学的吟味が十分でないことが最も大きな原因と考えられる。ただし、DOC相互比較及び測定器メーカーのデモンストレーションは、総て凍結保存試料を用いて行なわれた。海水試料を保存すればDOC濃度は減少するという報告と、濃度は変化しない、もしくはその変化は小さいという報告もあり、この点でもコンセンサスは得られていない。今回示した図3の相互比較試料についても、海水中の濃度を反映している保証はどこにもない事を改めて注意する必要がある。

DOC分析法に関する情報の整理や問題点に関して、共通の認識ができたことは、このワークショップの大きな成果と言えるが、高温触媒酸化法は湿式酸化法で酸化できない溶存有機物を酸化することによって、海水中のDOCの真の濃度により近い値を与えるか？もしそうであれば、両者の差の鉛直分布は、表層で大きいのか？深層で大きいのか？あるいは変化しないのか？そしてなぜか？等、DOCの濃度や分布に関する基本的な疑問点への解答は出せなかった。相互比較のデータから明らかなように、高温触媒酸化法によるDOCの測定は、方法論として確立しておらず、溶存有機物の酸化過程に果たす触媒の役割、種々の触媒の酸化能の違い等、本質的なことは不明のままであり、ひいては市販されている各メーカーの測定器の性能比較さえできないのが現状である。相互比較で明らかになった問題点を解決し、分析法を確立することが現時点での最も緊急の課題であろう。各研究者がすぐできる具体的課題としては、研究者が用いる測定器について、キャリブレーション、ブランク及び試料保存法等分析化学的に基礎的な事項を検討し、その結果や経験を持ち寄り、測定法に関する共通マニュアルを作成することが必要であろう。更に、各測定器の性能の吟味やデータの相互比較を可能にするために、DOC濃度に関する標準（海水）試料を作成することが必要不可欠であろう。なお、本ワークショップの結果は、Marine Chemistry 誌に1992年中に発表されることになっている。

4. 高温触媒酸化法（スミグラフ，TOC-90）による分析法の検討

上記問題点について、筆者が用いている高温触媒酸化法（スミグラフ，TOC-90）による分析法の検討結果を簡単に紹介したい。スミグラフTOC-90の回路図を図4に示す。原理は比較的簡単で、3%白金触媒を充填し680°Cに加熱された酸化炉にマイクロシリンジにより直接海水試料を注入し、生じた炭酸ガスを純空気（窒素/酸素=4/1）をキャリアーガスとして非分散型赤外分析計に導入し、定量する。本測定器は、Sugimura and Suzuki（1988）が発表したシステムを改良したもので、主な改良点は以下の通りである。1）試料注入孔に使われていたセプタムを金属製のヴァルブに変え、試料注入時の汚染の可能性を無くした。2）検出器をより高感度に変えた。3）ハロゲンガスを除去し、有機物の酸化をより完全にするために、酸化炉内にサルフィクス及び酸化銅を導入した。改良の際、測定原理、有機物の酸化機構等、もとのシステムが変わらないよう注意が払われ、改良は、生成する炭酸ガスをより精度良く定量すること、及び汚染源の除去を主目的とした。これは酸化炉内で起こる酸化の仕組み、生成ガス等、分析の原理に係わる過程が良くわかっておらず、改良により、逆に測定器の性能を低下させてしまうことを恐れたためである（Tanoue, 1992a）。



- | | | |
|---------------------------------|---|--|
| 1. Air cylinder | 10. Trap | 18. Purge gas flow regulator |
| 2. Pressure reducing valve | 11. Electronics cooler | 19. Purge gas flow sensor |
| 3. Gas purifier | 12. Solenoid valve | 20. Auxiliary carrier gas flow regulator |
| 4. Pressure regulator | 13. Dehumidifier | 21. Auxiliary carrier gas flow sensor |
| 5. Pressure gage | 14. Carrier gas flow sensor (OUT) | 22. Auxiliary reactor |
| 6. Carrier gas flow regulator | 15. Mixer | 23. Flow indicator |
| 7. Carrier gas flow sensor (IN) | 16. Non-dispersive infrared detector (NDIR) | 24. IC removal system |
| 8. Sample injection port | 17. Data processor | |
| 9. Reactor | | |

図 4 スミグラフTOC-90 回路図 (Sumika Chemical Analysis Service, 1991)

4.1 キャリブレーション

2種類のタイプのキャリブレーションを検討した。即ち、濾過海水ないし脱イオン水で希釈した有機標準溶液を、通常のDOC測定に準じて酸化炉に注入する方法、及び脱イオン水に溶かした無機炭素（炭酸ナトリウム）を酸化炉を通さず、その直下にとりつけたリン酸酸性水トラップ（図4、番号10）に注入する方法とを行なった。後で述べるように、2つのタイプのキャリブレーションで得られる検量線の傾き（=感度：検出器出力/ $\mu\text{M C}$ ）を比較することにより、DOC測定時における酸化カラムの状態、検出器の感度変化、ガス流路への炭酸ガスの混入ないしリーク、シリンジ誤差等、分析化学的基本事項を区別してモニターできる。

濃度一定の炭酸ナトリウム標準溶液の注入量を変化させて得られる検量線は、原点を通り、検討した0-800 $\mu\text{M C}$ の濃度範囲内で、注入量と検出器出力は直線となった（図5A）。このことから、測定系における炭酸ガスの混入やリーク及びシリンジ誤差は無視してよいことがわかった。異なった濃度の標準溶液を同一量注入して得られる検量線の回帰直線は、注入量ゼロの時原点を通らず、各標準溶液には一定量の炭酸ガスのブランクがあることがわかる（図5B）。これは

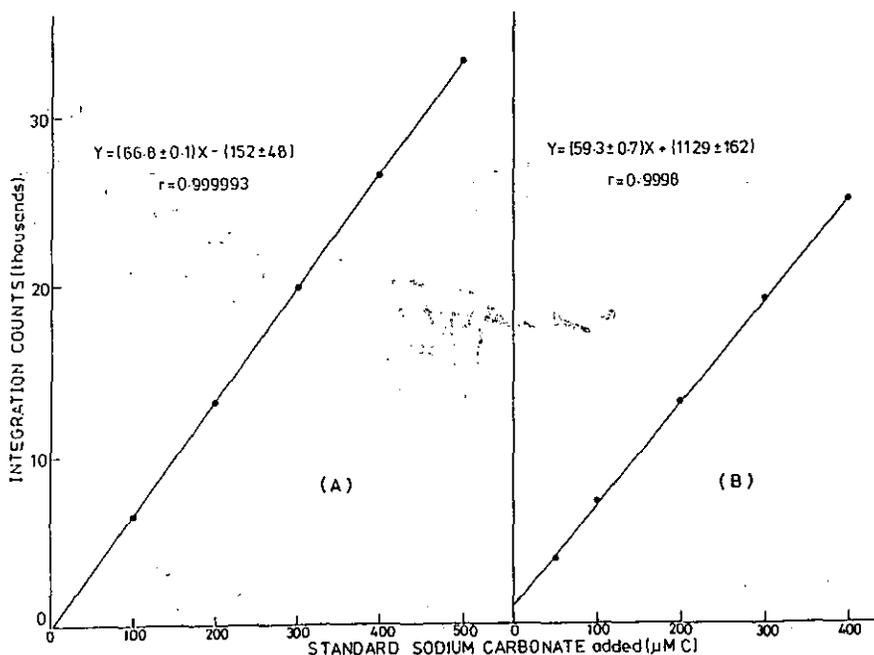


図 5 炭酸ナトリウム標準溶液によるキャリブレーション。水トラップに一定濃度（200 $\mu\text{M C}$ ）の標準溶液を50-200 μl 注入した場合（A）と異なる濃度（50-400 $\mu\text{M C}$ ）の標準溶液を一定量（100 μl ）注入した場合（B）
（Tanoue, 1992a）

標準試料調整時に大気からの炭酸ガスの混入もしくは用いた脱イオン水に含まれていた炭酸ガスの除去が不十分であるためと考えられる。このブランク値は、 $100\mu\text{l}$ 注入量相当で $19.0 \pm 2.7\mu\text{M C}$ と算定され、炭酸ナトリウム標準溶液については、この値を補正した。

本報告で示すDOCの測定や方法論の検討は、観測船上で行なわれた。その全期間内での炭酸ナトリウム標準溶液を用いた測定器のモニター結果を表2に示す。モニター期間内を通して、検量線の傾き、即ち測定器の感度は、 $59.0 - 61.0$ （単位：検出器出力/ $\mu\text{M C}$ ）の範囲にあり、個々の検量線の標準偏差は $0.2 - 1.3\%$ の範囲にあり、相関係数は総て 0.9998 以上であった。この変動の傾向はランダムであり、一義的には検出器の感度変化を示すものであるが、事実上は検出器出力を積算する際のベースラインの乱れやノイズに起因するものと考えられる。

DOC測定に準じて得られる有機標準溶液を用いたキャリブレーションの結果を表3に示す。個々の検量線の傾き及び標準偏差は、それぞれ $52.9 - 59.2$ 及び $1.0 - 4.4\%$ の範囲内であった。また相関係数は $0.9975 - 0.9998$ の範囲内であった。これ等の値は、無機標準試料溶液で得られた値に比べて、感度及び相関係数は低く、標準偏差の変動幅は大きい。このような変動について、酸化カラムの交換やエージング及びシステム内に使われる試薬類の交換等との因果関係は認められなかった。無機標準試料溶液で認められた全期間内での変動が極めて小さいことから、有機標準試料溶液で認められる変動の原因は、システム全体にあるのではなく、酸化カラムにあると考えられる。

陸上実験において、無機標準試料を、DOC測定に準じて酸化カラムに注入して得られた検量線と、水トラップに注入して得られる検量線の傾きを比べると、両者には統計的に有意な差はなかった（表4）。即ち、無機標準試料については、酸化カラムを通した場合と通さなかった場合で、測定器の感度は変わらない事がわかった。したがって、2つのタイプのキャリブレーションを比較することにより、注入した有機炭素量と生成した炭酸ガス量とのマスバランスから、濾過海水及び脱イオン水に添加された有機標準試薬の回収率を算定できる。表3及び4から算定される、グルコース及びフタル酸水素カリウムの回収率は 100% ではなかった。船上実験での回収率は、脱イオン水+グルコース（ 96% ）>海水+グルコース（ 94% ）=脱イオン水+フタル水素カリウム（ 94% ）>海水+フタル水素カリウム（ 92% ）、陸上実験においては、海水+グルコース（ 94% ）>海水+フタル水素カリウム（ 91% ）であった。このような結果は、本研究で用いた高温触媒酸化法（スミグラフTOC-90）においても海水中の溶存有機物の酸化効率もしくは炭酸ガスとしての回収率は 100% に達していないことを強く示唆するものであろう。

表 2 炭酸ナトリウム標準溶液を用いた全実験期間内における測定器の感度変化 (Tanoue, 1992a)

Date	Slope	Correlation coefficient	Date	Slope	Correlation coefficient
<i>Examined on board</i>			<i>Examined on land</i>		
11 May	59.9 ± 0.3	r=0.99995	17 June	59.3 ± 0.6	r=0.99987
13 May	60.6 ± 0.4	r=0.99992	18 June#	57.7 ± 1.1	r=0.99928
16 May	60.1 ± 0.5	r=0.99990	18 June*	57.0 ± 0.4	r=0.99991
18 May	60.2 ± 0.2	r=0.99996	20 June#	59.9 ± 0.6	r=0.99977
21 May	61.0 ± 0.2	r=0.99998	20 June*	60.5 ± 0.4	r=0.99994
25 May	60.7 ± 0.1	r=0.99999	20 June	59.4 ± 1.1	r=0.99951
26 May	61.0 ± 0.8	r=0.99983			
27 May	59.0 ± 0.7	r=0.99979			
29 May	59.4 ± 0.6	r=0.99985			
31 May	59.7 ± 0.5	r=0.99989			

* Freshly prepared standard solutions of sodium carbonate were used.

Freshly prepared standard solutions of sodium carbonate were injected into the oxidation column.

表 3 有機標準溶液を用いた検量線の回帰直線の傾き (= 感度) 及び相関係数 (Tanoue, 1992a)

	Slope	Correlation coefficient	Correlation of combined raw data
Glucose in seawater	59.1 ± 1.6	0.9985	Slope = 56.4 ± 0.6 r = 0.9998
	55.1 ± 2.1	0.9971	
	59.2 ± 0.6	0.9998	
	52.9 ± 1.1	0.9992	
	54.8 ± 0.9	0.9994	
	58.9 ± 0.9	0.9995	
Glucose in deionized water	56.5 ± 1.0	0.9994	Slope = 57.3 ± 0.7 r = 0.9997
	57.9 ± 0.6	0.9998	
Potassium biphthalate in seawater	57.4 ± 2.5	0.9964	Slope = 55.4 ± 0.6 r = 0.9998
	55.1 ± 1.0	0.9994	
	53.7 ± 1.6	0.9983	
	55.5 ± 1.9	0.9976	
	55.7 ± 1.9	0.9977	
Potassium biphthalate in deionized water	56.6 ± 0.9	0.9995	
Sodium carbonate* in deionized water	----**	----**	Slope = 60.0 ± 0.3 r = 0.99989

*Standard solutions of sodium carbonate were injected into the water-trap.

**All raw data from 10 calibrations were combined as one regression line. Data from individual calibrations are listed in Appendix 1.

表 4 有機及び無機標準試料を酸化カラムに注入して得られる検量線と無機標準試料を水トラップに注入して得られる検量線の比較 (Tanoue, 1992a)

Standard	Slope	Correlation coefficient	Correlation from combined raw data
Glucose in seawater*	55.3 ± 0.6 54.6 ± 0.2	0.99984 0.99997	Slope=55.0 ± 0.3 r=0.99995
Potassium biphthalate* in seawater	53.2 ± 1.1	0.99935	
Sodium carbonate*# in deionized water	57.7 ± 1.1 59.9 ± 0.6	0.99928 0.99977	Slope=58.8 ± 0.7 r=0.99970
Sodium carbonate**# in deionized water	57.0 ± 0.4 60.5 ± 0.4	0.99991 0.99994	Slope=58.5 ± 0.4 r=0.99994
Sodium carbonate*** in deionized water	59.3 ± 0.6 59.4 ± 1.1	0.99987 0.99951	Slope=59.3 ± 0.8 r=0.99973

*Standard solutions were injected into the oxidation column.

**Standard solutions were injected into the water-trap.

***Same standard solution as used on board ship.

#Standard solutions of sodium carbonate were freshly prepared because the standards used on board ship, which had been kept in containers sealed with rubber caps, were contaminated with organic carbon.

4.2 システムブランク

DOC 分析時のブランクの起源及びその程度を表5にまとめた。既に述べたように、無機標準試料を用いた検量線では、ブランクは検出されない (図5A)。従って、ブランクは酸化カラムが関与した過程で生じることが間違いない。新たに充填した酸化カラムは、キャリアーガスを流しながら、68°Cで2-3日空焼きする。その際、定期的に脱イオン水を注入しブランクの程度をモニターする。更に、使用前1-2日空焼きする。このようにして、十分に調整した測定器 (スミグラフ, TOC-90) での脱イオン水 (18MΩ) の有機炭素濃度は、通常20-30µM Cと測定される。この値は、外洋水で測定されるDOC濃度の10-30%もしくは、それ以上に相当する。従って、DOC測定時におけるシステムブランクの評価は、極めて重要になる。

表 5 スミグラフTOC-90によるDOC分析時のブランクの程度とその由来 (Tanoue, 1992b)

	Blank (µM C)	Source
Deionized water injection		
Just after conditioning	20-30	Water and instrument
During DOC analysis	40-60	Water, instrument and sample memory
Minimum running system blank		
Deionized water injection	9.6 ± 3.8 9.3 ± 13.9	Instrument and sample memory
Seawater injection	14.6 11.7 ± 8.6 11.3 ± 1.1	

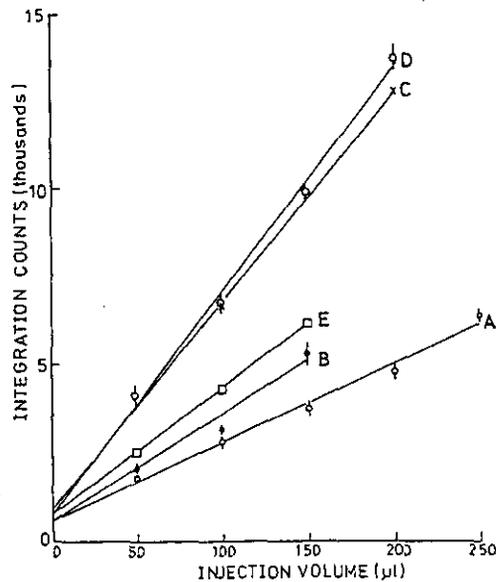


図 6 脱イオン水 (A,B) 及び海水 (C,D,E) の注入量と検出器出力との関係 (Tanoue, 1992a)

脱イオン水を注入して得られる有機炭素濃度の値は、脱イオン水自体に由来する有機炭素とシステムに由来する炭素の和と理解される。海水試料ないし脱イオン水の酸化カラムへの注入量を変えると、注入量と検出器出力の間には正の相関があり、その回帰直線から注入量ゼロでも検出器の出力が認められる (図6)。このことは、注入量に依存しないが、試料を注入することにより発生するブランクが存在することを示している。この値は、海水試料を注入した場合 $11 - 15 \mu\text{M C}$ の範囲にあり、脱イオン水の場合 $9 - 10 \mu\text{M C}$ 程度であった (表4)。これ等の値には試料の注入量に依存するブランクが評価されておらず、システムブランクとしては過小評価といえる。更に、海水中のDOC測定中に脱イオン水を注入すると、おおよそ $40 - 60 \mu\text{M C}$ に相当する有機炭素が検出される。同一酸化カラムで同じ品質 ($18 \text{M}\Omega$) と考えられる脱イオン水を注入した場合のブランクは、通常 $20 - 30 \mu\text{M C}$ であることは既に述べた。系統だった実験を行っていないので、定量的な表現はできないが、DOC測定時において、ブランクは一定ではなく機器ブランク以外に前の試料の影響が次の試料の分析値の及ぶような、いわゆるメモリーブランクも存在すると考えざるを得ない。以上の結果から明らかなように、スミグラフTOC-90で得られるDOCの値には無視できない量のブランクが含まれることは明らかである。そして、そのブランク補正を考えるにあたって、実験室で予め求められた機器ブランクの補正では、不十分であり、DOC測定時のブランク、即ち running system blank と言うべきブランク値を評価し補正しなければならない。しかしながら、現時点で、その値を見積もる合理的な方法は開発されていない。

5. 結論

1) 高温触媒酸化法は湿式酸化法で酸化できない溶存有機物を酸化することによって、海水中のDOCの真の濃度により近い値を与えるか?もしそうであれば、両者の差の鉛直分布は、表層で大きいのか深層で大きいのかあるいは変化しないのか?そしてなぜか?等、海洋における溶存有機物の存在量とその分布に関する基本的合意はできていない。

2) 高温触媒酸化法によるDOCの測定は、方法論として確立しておらず、溶存有機物の酸化過程に果たす触媒の役割、種々の触媒の酸化能の違い等、本質的なことは不明のままであり、ひいては市販されている各メーカーの測定器の性能比較さえできないのが現状である。

3) 高温触媒酸化法(スミグラフ, TOC-90)による分析法の検討から、グルコース等の標準試料の回収率は、100%以下であった。このことは、海水中の溶存有機物の酸化効率もしくは炭酸ガスとしての回収率は100%に達していないことを強く示唆するものである。

4) スミグラフTOC-90で得られるDOCの値には無視できない量のブランクが含まれる。そして、そのブランク補正を考えるにあたって、実験室で予め求められた機器ブランクの補正では、不十分であり、DOC測定時のブランク、即ち running system blank と言うべきブランク値を評価し補正しなければならない。しかしながら、現時点で、その値を見積もる合理的な方法は開発されていない。

文献

- Armstrong, F. A. J., Williams, P. M. and Strickland, J.D.H. (1966) : Photo-oxidation of organic matter by ultra-violet radiation, analytical and other applications, *Nature*, 211, 481-483.
- Azam, F. and Furman, J. A. (1984) : Measurement of bacterioplankton growth in the sea and its regulation by environmental conditions. In: J. E. Hobbie and P. J. LeB Williams (eds.), *Heterotrophic Activity in the Sea*, Plenum, New York, pp. 179-196.
- Berner, R. A. (1989) : Biogeochemical cycles of carbon and sulfur and their effect on atmospheric oxygen over Phanerozoic time. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* (Global Planet Change Section), 75, 97-122.
- Gershey, R. M., Mackinnon, M. D., Williams, P. J. LeB. and Moore, R. M. (1979) : Comparison of three oxidation methods used for the analysis of the dissolved organic carbon in seawater, *Mar. Chem.*, 7, 289-306.
- Gordon, Jr. D. C. and Sutcliffe Jr., W. H. (1973) : A new dry combustion method for the simultaneous determination of total organic carbon and nitrogen in seawater, *Mar. Chem.*, 1, 231-244.

- Ittekkot, V. (1988) : Global trends in the nature of organic matter in river suspensions. *Nature*, 332, 436-438.
- Krogh, A. (1930) : *Z. allg. Physiol.*, 12, 668.(*)
- MacKinnon, M.D. (1978) : A dry oxidation method for the analysis of the TOC in sea-water. *Mar. Chem.*, 7, 17-37.
- Martin, J. H., Knauer, G. A., Karl, D. M. and Broecker, W. W. (1987) : VERTEX: Carbon cycling in the northeast Pacific. *Deep-Sea Res.*, 34, 267-285.
- Martin, J. H. and S. E. Fitzwater (1992) : Dissolved organic carbon in the Atlantic, Southern and Pacific oceans. *Nature*, 356, 699-700.
- Menzel, D. D. and R. F. Vaccaro (1964) : The measurement of dissolved organic and particulate carbon in sea water. *Limnology and Oceanography*, 9, 134-142.
- Menzel, D. W. (1974) : Primary productivity, dissolved and particulate organic matter, and the sites of oxidation of organic matter, in: *The Sea*, vol. 5, E. G. Goldberg, ed., John Wiley and Sons, NY, pp. 659-678.
- Meybeck, M. (1982) : Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *Am. J. Sci.*, 282, 401-450.
- Mopper, K. and Degens, E. T. (1979) : Organic carbon in the ocean: nature and cycling, in: *The Global Carbon Cycle*, B. Bolin, E. T. Degens, S. Kempe and P. Ketner, eds., pp.293-316, John Wiley & Sons, Chichester.
- Ogawa, H. and N. Ogura (1992) : Comparison of two methods for measuring dissolved organic carbon in sea water. *Nature*, 356, 696-698.
- Putter, A. (1909) : *Die Ernährung der Wassertiere und der Stoffhaushalt der Gewässer.* Thesis, Jena.(*)
- Romankevick, E. A. (1984) : *Geochemistry of Organic Matter in the Ocean.* Springer-Verlag., New York, 334pp.
- Sharp, J. H. (1973) : Total organic carbon in sea-water-comparison of measurements using persulphate oxidation and high-temperature combustion. *Mar. Chem.*, 1, 211-229.
- Sugimura, Y. and Suzuki, Y. (1988) : A high temperature catalytic oxidation method for the determination of non-volatile dissolved organic carbon in seawater by direct injection of liquid samples. *Mar. Chem.*, 24, 105-131.
- Sumika Chemical Analysis Service (1991) : *Instruction manual, Sumigraph model TOC-90,* Osaka.
- Suzuki, Y. (1992) : On the Measurement of DOC and DON in Seawater. *Mar. Chem.*, in press.

- Suzuki, Y., Tanoue, E. and Ito, H. (1992) : High temperature catalytic oxidation method for dissolved organic carbon determination in seawater-examination and improvement. *Deep-Sea Res.*, 39, 185-198.
- Instruction Manual, Sumigraph model TOC-90. p.27, Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., Osaka, Japan, 1991.
- 田上英一郎 (1991) : 天然水中の DOC と DON の測定に関する国際ワークショップ, 文部省科学研究費補助金重点領域研究 オーシャンフラックス ニュースレター, 3, 6-10.
- Tanoue, E. (1992a) : Vertical distribution of dissolved organic carbon in the North Pacific as determined by the high-temperature catalytic oxidation method. *Earth and Planet. Sci. Lett.*, 111, 201-216.
- Tanoue, E. (1992b) : Three vertical profiles of dissolved organic carbon in the North Pacific. *Mar. Chem.*, in press.
- Williams, P. M. and Druffel, E. R. M. (1987) : Radiocarbon in dissolved organic carbon in the central north Pacific Ocean. *Nature*, 330, 246-248.
- (*)原著は見えていない。Duursma, E. K. (1965) : The Dissolved Organic Constituents of Sea Water. In: *Chemical Oceanography*, Vol. 1, J. P. Riley and G. Skirrow (eds), 433-475, Academic Press, New York. より引用

水域での内部生産物質の定量法

木幡邦男（国立環境研究所地域環境研究グループ）

1. はじめに

閉鎖性水域での水質環境基準達成率は依然として低いレベルにある。水域の有機性汚濁の原因としては、陸域から流入する有機物質のほかに、海域内部で、主として植物プランクトンの増殖によって生産される有機物（内部生産物質）に由来するものがある。

現在、環境基準はCODで規定されているが、内部生産を行う一次生産者はクロロフィルaや炭素量の生物量で表現されることが多い。内部生産が夏期に盛んなことから海域でのCOD値は、夏期に高く、冬期に低い（図1）。同様の季節変化は、クロロフィルa値にも見られる（図1）。この様なCODやクロロフィルa値に見られる性質を利用して、閉鎖性水域の有機物を、陸域からの負荷と内部生産由来の物とに分ける試みがなされており、例えば、 Δ COD法、クロロフィルa（Chl a）との相関を用いたy切片法が知られている。

本報告では、内部生産有機物を表すパラメータとなるCOD、Chl a、炭素量等の相互関係や、内部生産を行う植物プランクトンによる炭酸固定の過程を、主に、当研究所海洋関係の研究者（渡辺正孝・竹下俊二・中村泰男他）との共同研究で得られた結果に基づき、紹介する。

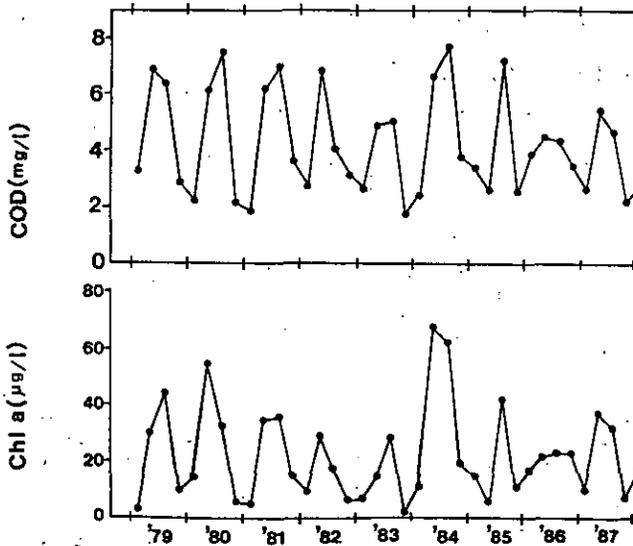


図 1 東京湾表層水にみられるCOD、Chl aの経年変化

(国立環境研究所環境情報センター公共用水域水質データファイルより作図)

2. 分析方法

2.1 懸濁態有機炭素

試水中の懸濁態炭素は、試水をグラスファイバーろ紙でろ過後、ろ紙上に捕集された物を柳本CHNコーダーMT-3を用いて、以下の手順で分析した。

- (1) GF/CあるいはGF/Fろ紙を450℃にて4時間焼く。
- (2) ろ紙を評量する。
- (3) 上記ろ紙を用いて、試料水100~2000mlをろ過する。
- (4) ろ紙を0.5M硝酸アンモニウム溶液で洗浄する。
- (5) 分析時まで凍結保存する。
- (6) ろ紙を80℃にて48時間乾燥させる。
- (7) ろ紙を評量する。
- (8) CHNコーダーにて分析する。

2.2 クロロフィルa

植物プランクトンは、光合成のためにChl a, b, c やカロテノイドなどの色素を持つ。このうち、クロロフィルaは、全ての植物プランクトンに共通に存在し、生物量を表すパラメータとなるが、Chl b, c や様々なカロテノイドの分布は植物プランクトンの種類により異なり、植物プランクトンの分類上の情報を与える。ここでは、高速液体クロマトグラフィー(HPLC: 図2)を用いこれら光合成色素を同時に分析した。溶離液には、溶液A(イオン対溶液-水-アセトン-アセトニトリル, 5:25:20:50)と溶液B(アセトン-酢酸エチル, 50:50)を用い、初めA液100%から20分後にB液100%になるリニアグラジエント系を使用した。検出器にフォトダイオードアレイ(島津SPD-M6A)を使用し、溶出物質の吸収スペクトルをモニターして色素を分離、同定した(図3)。

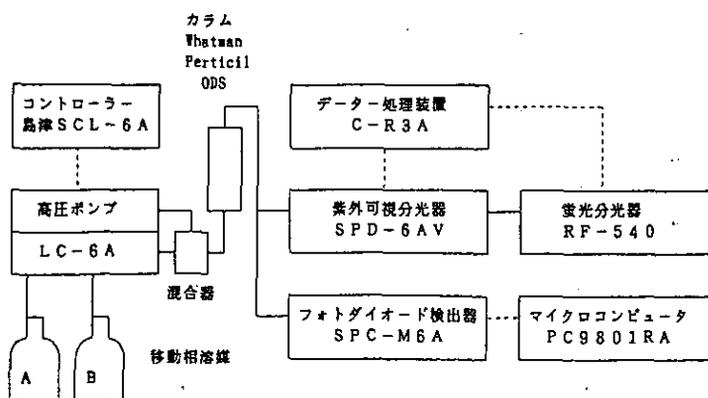


図 2 植物プランクトン中の光合成色素測定用高速液体クロマトグラフィー測定系

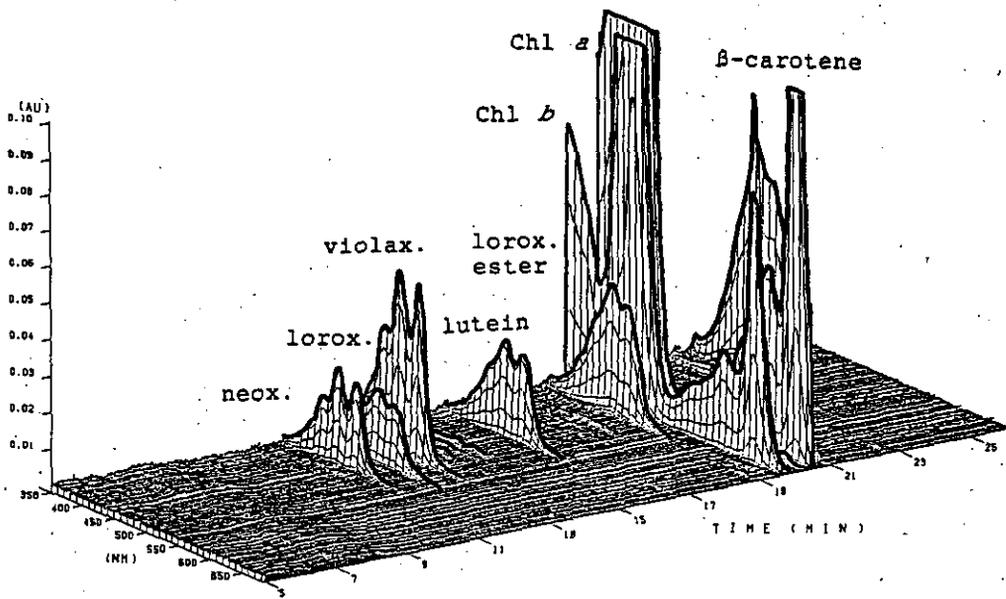


図 3 プラシノ藻 *Pyramimonas parkeae* 中の光合成色素の3次元クロマトグラム の例

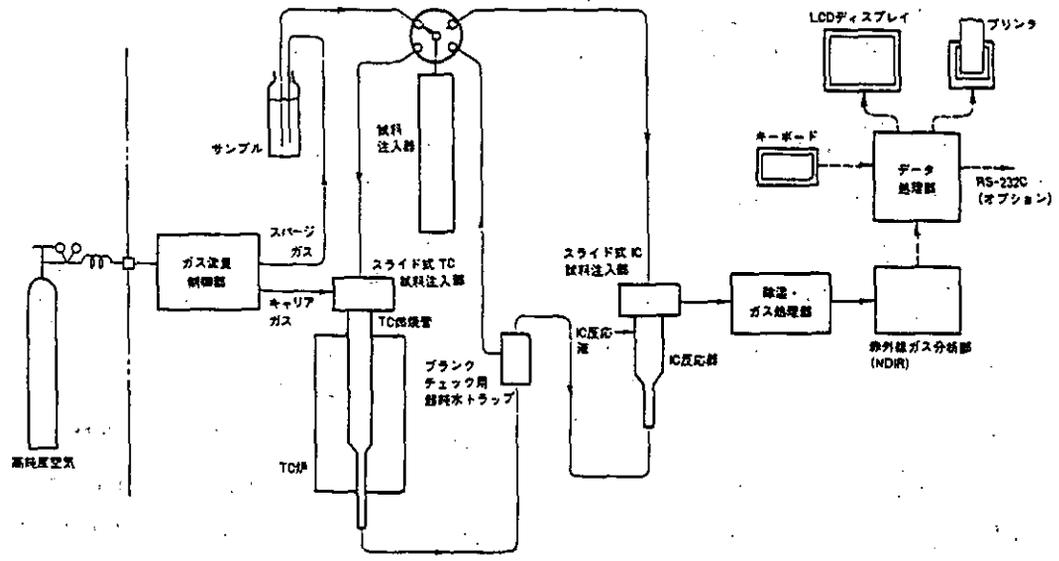


図 4 島津全有機炭素分析計 TOC-5000 の基本構成

2.3 全有機炭素及び溶存有機炭素

全有機炭素 (TOC) は試水をそのまま、また、溶存有機炭素は試水を予め 450°C で焼いた GF/F ろ紙でろ過後、島津 TOC-5000 に注入して測定した。測定原理を図 4 に示す。TOC の測定には、懸濁物質をスターラーで攪拌しながら測定できる島津懸濁試料測定キットを併用した。

3. 植物プランクトン中の炭素、クロロフィル a 量

植物プランクトンは光合成により炭素を固定し、Chl a 等の構成物を合成する。本報告では、これらが変化する様子を、ラフィド藻の *Heterosigma akashiwo*, *Chattonella antiqua*, ブラシノ藻の *Pyramimonas parkeae* を 1 m³ のタンクで培養して得られた結果について紹介する。上記植物プランクトンは、明暗条件下で同調培養すると、明期に細胞内炭素含有量が増加し、同時に Chl a 量も増加する (図 5)。上記植物プランクトンは、暗期に 2 分裂により細胞の数を増す。したがって、炭素量・Chl a 量を細胞濃度で割って得られる細胞 1 つ当たりの量には、明瞭な日周性が見られる (図 6)。暗期では、Chl a 量は殆ど変化しないのに炭素は呼吸のため消費されるため、*P. parkeae* では Chl a / 炭素量の比にも日周変化が見られる (図 6)。しかし、*H. akashiwo* や *C. antiqua* では、その差は、僅かであり、一定の培養条件の下では、Chl a / 炭素量の比はほぼ一定と考えられる (図 7, 表 1)。

一方、植物プランクトンの種が異なれば Chl a / 炭素量比が違うのはもちろんであるが、同一种でも異なる培養条件下では、この比が変化する。特に、培養時の照度が大きく影響することが知られているが、培養時の栄養条件の変化でも、比の値は変化する (表 1)。

4. 有機物を表すパラメータ相互の比較

海域の有機物を表すパラメータとして、COD や TOC, DOC が使用され、内部生産に由来する有機物を表すパラメータとしては、これらの他に Chl a や粒子状炭素 (POC) が使用される。ここでは、東京湾奥部で採水した試料につき分析した上記パラメータ相互の関係を求めた。

船橋沖沿岸域の航路部に Stn.A, 沖の航路入り口部に Stn.C, 東京湾中央部に Stn.B, さらに茜浜地先浚渫窪地に Stn.D を設定し、1991年5月から1992年2月までの期間に9回調査を行った。各地点で温度、塩分、溶存酸素 (DO), pH を 1 m ごとに多項目測定器で測定し、表層から底層まで約 3 m ごとに採水した試水につき栄養塩, COD, Chl a などを測定した。また、試水を GF/F フィルターで濾別し、粒子状炭素 (POC) と溶存有機炭素 (DTOC) に分け、それぞれ前記の方法で測定した。これらの和を TOC とし、同一試料に付き、別に測定した COD 値と比較した。COD 測定は JIS に準拠した過マンガン酸カリウム酸性法で行った。夏期に採水した約 50 検体で得られた結果から、TOC と COD には概ね良い正の相関が得られたが、特に底層で、溶存酸素の少ない水深の試料では大きな違いが見られた (図 8)。これは、

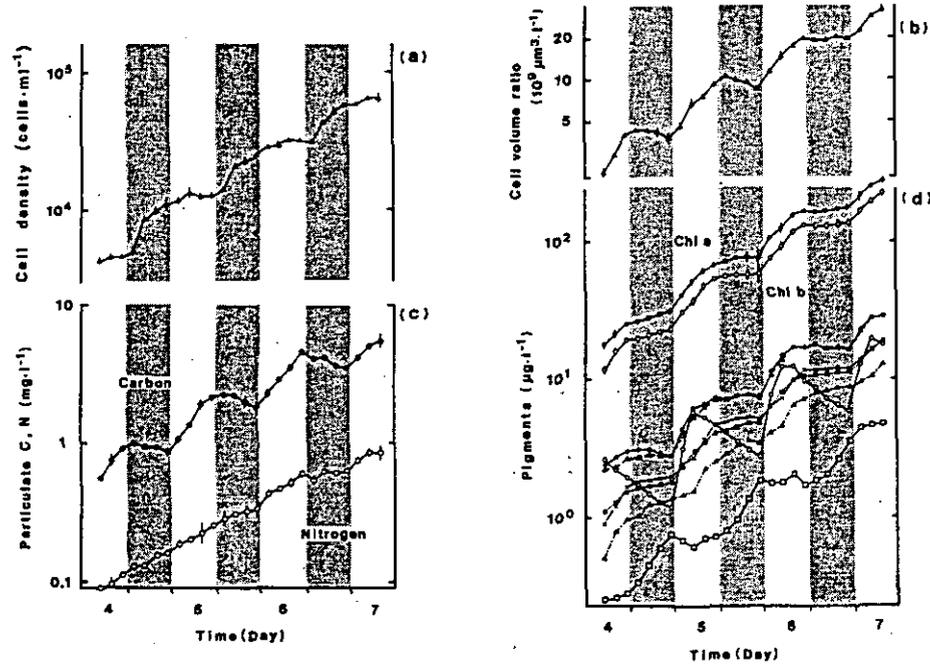


図 5 ブラシノ藻 *Pyramimonas parkeae* 細胞構成物質の増加の様子。
影の部分は、12 : 12 時間明暗周期の暗期を表す。
(a) 細胞濃度, (b) 細胞体積, (c) 細胞内炭素・窒素,
(d) 光合成色素

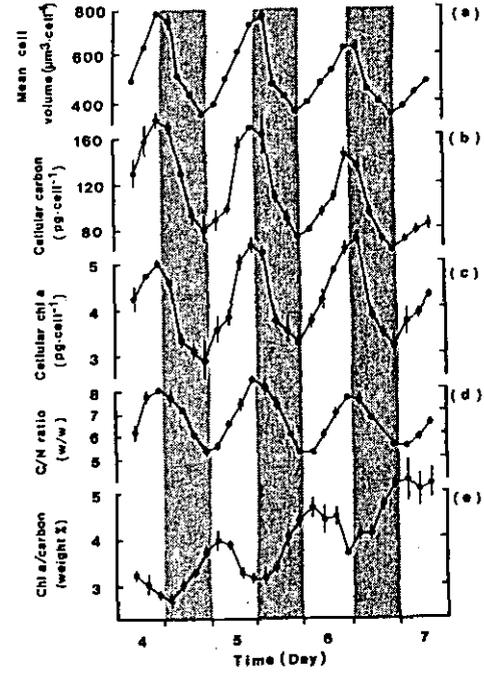


図 6 ブラシノ藻 *Pyramimonas parkeae* 増殖中細胞に
みられる日周変化。(a) 平均細胞体積, (b)
細胞内炭素, (c) Chl a, (d) C/N比,
(e) Chl a/炭素比

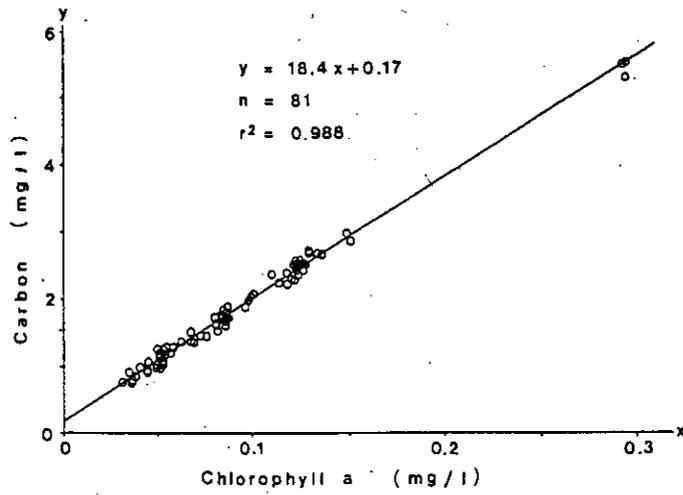


図 7 ラフィド藻 *Chattonella antiqua* の Chl a と炭素量の相関

表 1 植物プランクトン中の元素比

種名	C:N:P モル比			C/Chl a 重量比
Redfield number	106	16	1	
<i>Chattonella antiqua</i>	106	19	3.6	18
<i>Chattonella antiqua</i> (N欠)	106	16	2.4	
<i>Heterosigma akashiwo</i>	106	19		16
<i>Pyramimonas parkeae</i>	106	16	5.3	19
<i>Chaetoceros</i> sp.	106	16	1.7	66
<i>Chaetoceros</i> sp. (P欠)	106	7	0.1	435
<i>Amphiprora hyalina</i>	106	15	2.2	42
<i>Amphiprora hyalina</i> (P欠)	106	5	0.1	196
<i>Skeletonema costatum</i>	106	14	1.6	23
<i>Skeletonema costatum</i> (P欠)	106	7	0.1	167

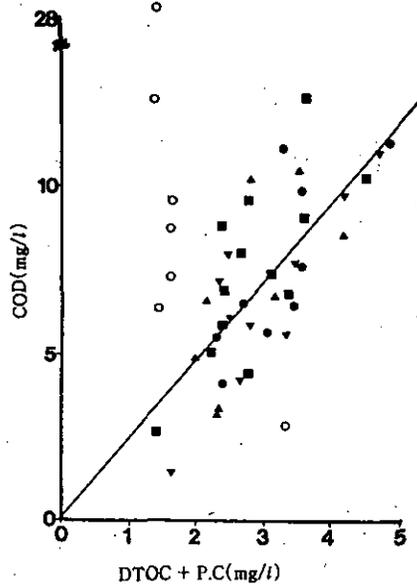


図 8 夏期に東京湾の地点 A (●), B (■), C (▲), D (▼) で得られた試料の全有機炭素 (DTOC+POC) と COD の相関。白抜きの記号は、DO が 3 mg/l 以下の試料を表す。

還元状態の試水には硫化水素を初め、金属などによる還元剤が多く含まれ、過マンガン酸カリウムを多く消費したためと思われる、このような水域では、COD が有機物の指標になり得ないことが示された。

POC と Chl a との各月ごとの相関は非常に高かった ($r \approx 0.9$) (図 9)。しかし、POC/Chl a 比には明瞭な季節変化が見られ、春に高く、秋に低かった。前述のように、植物プランクトンの種類の違い (例えば、珪藻と渦鞭毛藻) で、植物プランクトン細胞内の POC/Chl a 比が大きく異なることから、本領域で見られた比の季節変化の原因として、粒子状炭素の源である植物プランクトンの主要種が季節により異なったことが考えられる。また海水中の粒子状炭素は、植物プランクトンの他に、バクテリア、従属栄養性鞭毛虫等の微小生物やそれ等の死骸などで構成される。全粒子状炭素に占める植物プランクトンの寄与率が季節によって大きく変動したことが、POC/Chl a 比に季節変化が観測されたことのもう一つの原因として考えられる。

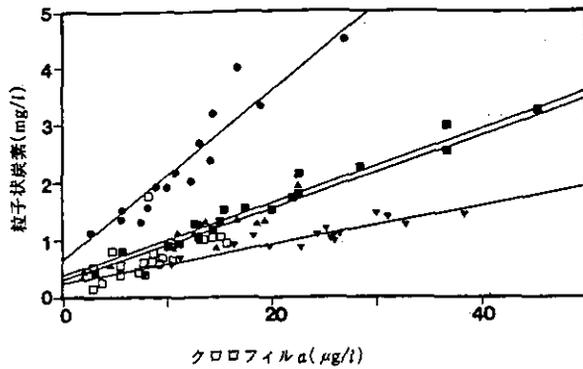


図 9 東京湾の地点A, B, C, Dにて得られた試料の粒子状炭素量とChl a量の相関。(●) 5月, (■) 7月, (▲) 8月, (▼) 9月, (□) 10月。

海水試料を濾過せずに、懸濁試料測定キットを併用した全有機炭素分析計を用いて測定することで、海中の粒子状炭素と溶存炭素の和が測定できる。また、同じ試料の濾過後の溶存炭素との差を取ると、粒子状炭素量が計算される。図10に、この様に全有機炭素分析計を用いて得られたPOC値と、元素分析計で測定されたPOC値を比較した。両者の相関は良いものの、得られた絶対値には差があった。原因については、現在検討をしているところであるが、一つには、全有機炭素分析計での検出効率が少し低いことがあるのかも知れない。

我々の研究グループでは、この分野の研究はまだ始めたばかりであり、各分析法の検討も、また、データの蓄積も十分ではない。閉鎖性海域の水環境を理解したり、評価したりするために、今後も、様々な方法による内部生産物質の評価法を検討し、相互の関連を明らかにする必要があるだろう。

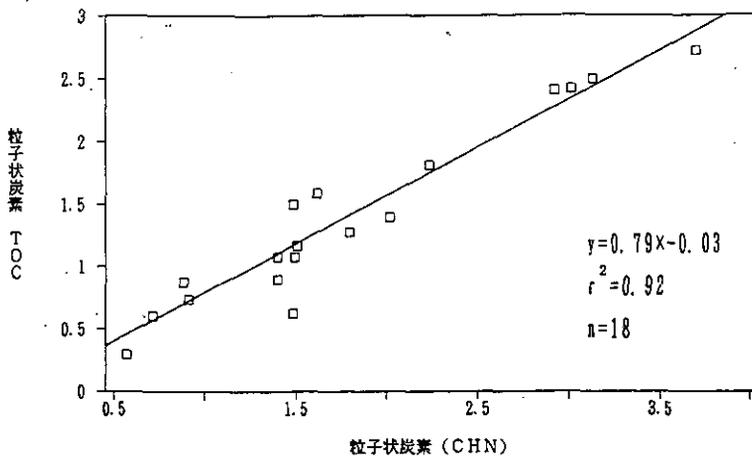


図 10 分析法による粒子状炭素量の差

討論のまとめ

座長 大槻 晃 (東京水産大学水産学部)

(座長) 最初に5分ばかり頂いて、簡単な Introduction をしたい。

字が小さくて申し訳ないが、自然界中の有機物を表すのに、いろいろなパラメータがあるが、一般には、炭素が使われる(図1)。微生物の場合には、有機性の窒素で表した方が良い場合もある。

有機物には、溶存態、懸濁態の区別に基本的問題がある。通常、硝子繊維フィルターを用いる。これには、濾過しているうちに詰まるので、一定のサイズを取っているかどうかとか、フィルターによる吸着等の問題がある。他に、超遠心分離を用いる方法があるが、粒子径と回転速度に問題がある。

また、懸濁態については、動物の、例えば輪虫等のような物で、どの大きさまで懸濁態に含めるか、あるいは、動物の現存量として表現するのかを検討しなければならない。粒径が小さいものについて、特に海域では、非生物態の割合が高いが、有機物を表す炭素として、生物態・非生物態をどのように区別するかと言う問題も含む。

生物態と非生物態の区別には、クロロフィル a, ATP, 核酸量等を測る方法が知られている。これらの事は、有機物を分析する際の前処理などで考慮されなければならない。

様々なDOCをはかる方法が知られており、また分析機器も市販されている。溶存の有機体炭素分析の概略を示す(図2)。昔行われていたのは、(試料を)濾過後、蒸発乾固させ、過塩素酸で酸化して(炭素を)二酸化炭素に変える。(二酸化炭素を)一定のアルカリに吸収させ残ったアルカリを滴定して定量する。その後、アンプル法として知られる、酸化剤としてペルオキシ2硫酸を使い、二酸化炭素を赤外で検出する方法が、非常に広く使われるようになった。最も最近注目を集めているのは、直接高温乾式触媒酸化法で、試料を直接高温の中に注入し酸化した後、二酸化炭素を赤外で検出する。1960年代のメンツェルの方法の後、過酸化水素と混合した試料に200nm以上のUV照射による酸化を行い、二酸化炭素を赤外で検出する方法がでてきた。ただし、私は、この方法はTOC測定としては、うまく行かなかったと思う。

その他、CODのように化学的酸化で、酸化剤の減少から炭素の量を測定する方法もある。

懸濁態については、濾紙で捕集した後、元素分析計で測定する、高温酸化と同等の方法がある。二酸化炭素の検出には、重量測定、熱伝導率、赤外検出、ガスクロマトグラフィーの方法がある。最近、高温酸化の方法で全有機炭素から溶存有機炭素を引いて、その差として懸濁態を求める方法が行われている。

1) 溶存態と懸濁態の区別	a. 用いるフィルターの孔径（フィルターへの吸着） b. 超遠心分離の回転数
2) 懸濁態の定義	a. 大きさ（小型動物プランクトンとの区別） b. 生物態（主として植物プランクトン）と非生物態との区別
3) 生物態と非生物態の区別	a. クロロフィル- <i>a</i> b. ATP c. 核酸量 d. それらとPOCとの比 e. その他

図 1 天然水中の有機物の存在量を示す指標としての炭素量

1) 溶存有機態炭素（無機態炭素除去後）	a. 蒸発乾固-過塩素酸酸化-二酸化炭素-アルカリ吸収滴定 b. アンブル中での湿式酸化（ペルオキシ二硫酸カリウム）-二酸化炭素-IR検出 c. 過酸化水素-UV照射（200nm以上）-二酸化炭素-IR検出 d. 直接高温乾式触媒酸化-二酸化炭素-IR検出 e. 湿式・酸化剤の減少量（化学的酸素要求量COD）からの推定
2) 懸濁態炭素	a. 元素分析計-二酸化炭素-重量測定，熱伝導率またはIR検出（高温触媒酸化） b. 直接高温乾式触媒酸化（全有機炭素-溶存有機炭素）

図 2 水中の有機炭素の測定法

[討論]

(亀井) TOCの測定は、TC-ICなのか？ ICは、高温燃焼炉と低温燃焼炉で燃焼効率が異なる。前処理で、無機炭素を除いて、TOCを測るべきなのか？

(木幡) 測るべきと言うわけではなく、現在のところ、他によい方法を知らない。ただし、TC-ICの計算で出すのは、誤差が多い。

(亀井) TOCの燃焼効率が異なるのに、TCの標準試料に Na_2CO_3 を用いているのか？なぜ、フタル酸水素カリウムを用いないのか？

(田上) NDIR検出器の感度を、無機物質を標準にして検定している。有機物質では、酸化効率と検出感度をミックスした量しか測定できない。

(亀井) TCを測るときでも、無機炭酸を(STANDARDとして)用いてよろしいのか？

(田上) グルコースでも、酸化効率は100%ではない。(未知試料の)酸化効率が分かるまでは、有機物質は使えない。

(座長) 基本的には、検量線は無機炭酸を用いてつくり、それに対して、有機物の量を測る。

(亀井) 機器分析は、相対的な物。最適な標準物質を使わなければいけない。高温燃焼炉と低温燃焼炉とでは、 NaHCO_3 の酸化効率が異なる。この差の検量は、フタル酸水素カリウムで行う。

(座長) フタル酸水素カリウムの燃焼が完全でない以上、これから、未知試料の酸化効率は、求められない。むしろ、無機炭酸で検量線を作った方が、共通の値を得られる。

(田上) 私の論文では、無機の炭酸で検量し、燃焼効率は分からないとするのが客観的としている。ちなみに、無機の炭酸を酸化炉を通して(通さなくても)、NDIRの感度は変わらない。

(橘) 酸化効率は、グルコースでも100%ではないというお話だが、白金触媒の状態によるのか？

(田上) 白金触媒のエイジングのような状態に依存していない。白金触媒が、酸化に関与しているかどうか分からない。炭素のマスバランスから酸化効率を計算するが、(試料が)酸化炉の内部に吸着するとか、パイロリシスの影響もここで言う酸化効率に含まれる。

(座長) サンプル量が少ないので、全量が燃焼炉で燃焼している保証がない。懸濁物質を含む試料で、均一にサンプルが採れているかどうかの問題もある。

(橘) COD値は地下水でも問題がある。私は、振ってから測る。木幡氏は、なにか前処理として条件を設定しているのか？

(木幡) なにも検討していない。

(座長) 溶存酸素の少ない試料であるから、還元性の無機物を含むのだろう。

(橘) 振るなどして安定してから、測定すべき。

(渡辺) 環境研にお願いしたい。田上さんのように、うすい濃度ではDOC, TOC測定に問題があるだろうが、高い濃度では、COD, BODに比べ、正しい。河川の規制はBODで行われている。私は、長良川の河口堰に関係した仕事を行った際、BODが上がらないにもかかわらず、TOCの増加があるという問題に直面した。環境庁として、TOC測定を推進してほしい。

(田上) 木幡氏に聞きたい。内部生産を求めるという事だが、今の方法でできるのか。問題を指摘するのは容易で、(TOCとCODが)還元的だから合わなかったと説明する事はできる。CODには限界があるのでは？

(木幡) ご指摘の通り。次のステップとして、分画を行う。分子の大きさや、化学的性質の差を用いた分画後に、TOC, DOCを測り、沿岸の海水を特徴付けるパラメータにしたい。

(座長) 私の経験から言います、私もこの研究所におりましたんですが、CODを測って何が言えるかには、はっきり言って疑問がある。希釈条件を変えれば、値が何倍も変わってくる。根本的な仕事を言えば、田上先生がおっしゃっている様に、ORGANIC CARBONでいったらどうだという事になる。今、渡辺先生がおっしゃった様に、河川をBODにしておきながら、海と湖沼をCODでやる。これは、はっきり言ってナンセンス。私が、環境庁の委員をしたときには、こんな事をなぜやっているのかを尋ねたときに、当初、川の規制をする際には、BODが一般的という返事だった。よく考えると、なぜBODなのか、基本が分からない。処理をして、BODをなくした水を川に流すのだから、BODを測るのはおかしい。少なくとも、CODか何かでないと、理屈を付けるのに非常に困る。ただ、行政的にはCODのデータがたくさん貯まっているので、簡単に変えられないという問題がある。それを、ここで途切って新しい物に変える訳にはなかなか行かない、というのが、当時の環境庁の説明でした。相関を求めておいて、やれるようにしておけば、前のデータを使えるのではないかと15、6年前に言っても、変えていない。現実の比較をするという立場では、TOCで難しければ、河川をCODに変えておく必要があるだろう。

(田上) いつも不思議に思うので、ぜひ、環境研の人にやってほしい事がある。海洋の方で例えば、リグニン等が、陸起源性のバイオマーカーとして使われる。残念なのは、バイオマーカーは安定だから用いられる。安定なバイオマーカーが、どれだけ不安定な物を連れてくるかに付いて誰も知らない。バイオマーカーとして非常に安定な、陸起源のリグニンでも結構ですが、リグニンなんかを測りながら、それがどのくらい陸起源のバイオロジカルに分解するような有機物を連れてくるかを、2、3年モニターすれば、最終的には、リグニンを測るだけで、不安定な物がどれだけあるかが分かるようになる。そのような、SYSTEMATIC な研究は、世界的にもない。是非とも、お願いできないだろうか。

植物プランクトンの光合成による有機物のターンオーバー

濱 健夫 (名古屋大学水圏科学研究所)

1. はじめに

海洋・湖沼に存在する有機物の多くは、その起源を植物プランクトンの光合成においている。植物プランクトンはもとより、バクテリア、動物プランクトン、魚類さらにはほ乳類など、水圏に生息しているすべての生物の活動は、主として植物プランクトンの光合成により生産された有機物に依存している。

水圏における有機物生産の大きな特徴の一つは、光合成を通した有機物の回転の早さである。陸上植物、および水圏の植物プランクトンの現存量を、それぞれの光合成速度で除して回転時間を見積もると、陸上の植物が16年であるのに対し、植物プランクトンは9日と極めて短い。また、この値は全有機物について得られる値であり、各有機物間にはそれぞれの構造と機能の違いを反映した回転時間の違いが予想される。

ここでは、植物プランクトンの光合成を通した有機物の回転時間について、1) 諏訪湖における懸濁態および溶存態有機物の回転、および、2) 局地性湧昇域における懸濁態脂質の回転、の2つの課題について得られた結果を紹介したい。このうち1) においては ^{14}C トレーサー法と溶媒抽出、ゲルろ過法などを組み合わせて懸濁態および溶存態の生産物を分画するとともに、各有機物の現存量と比較し、諏訪湖表層に存在する全有機物の、光合成を通した回転時間の見積を試みた。また2) においては、 ^{13}C トレーサー法とガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)を併用することにより、懸濁粒子の脂質を構成する脂肪酸の分子種毎に、光合成による回転時間を算出した。

2. 諏訪湖における懸濁態および溶存態有機物の回転

2.1 方法

トレーサーを用いた炭素取り込み実験は、ラン藻 *Microcystis* が優占している夏期の表層水を用いて行った(Hama and Handa, 1987 a, b)。06時にトレーサーを添加した後、翌日の15時まで33時間にわたり、取り込み量の時間変化を追った。生産物については、ガラス繊維濾紙を用いたろ過により懸濁態(細胞内)および溶存態(細胞外)有機物に分別した。それぞれの生産物については、溶媒抽出、イオン交換樹脂、ゲルろ過法などにより、炭水化物、タンパク質、脂質および有機酸に分画した。また、炭水化物とアミノ酸・タンパク質については、分子量の違いにより、高分子量画分と低分子量画分とに分画した。

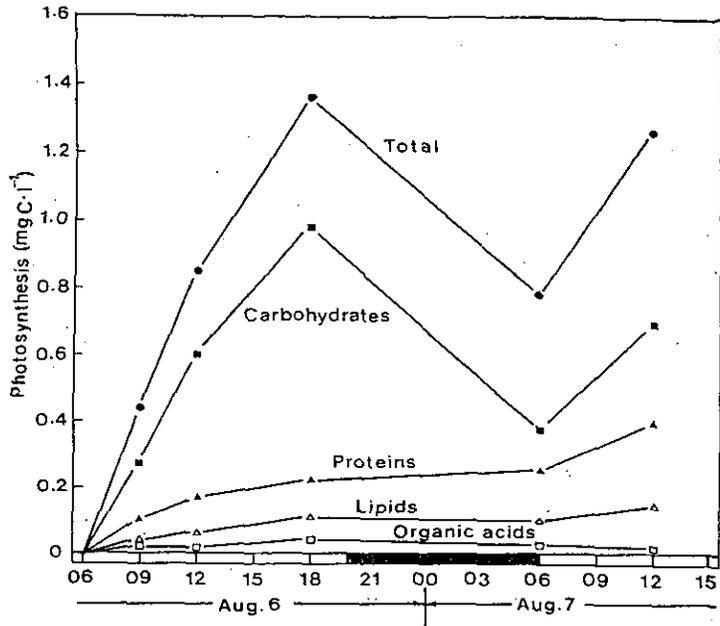


図 1 懸濁態有機物の生産量の時間変化

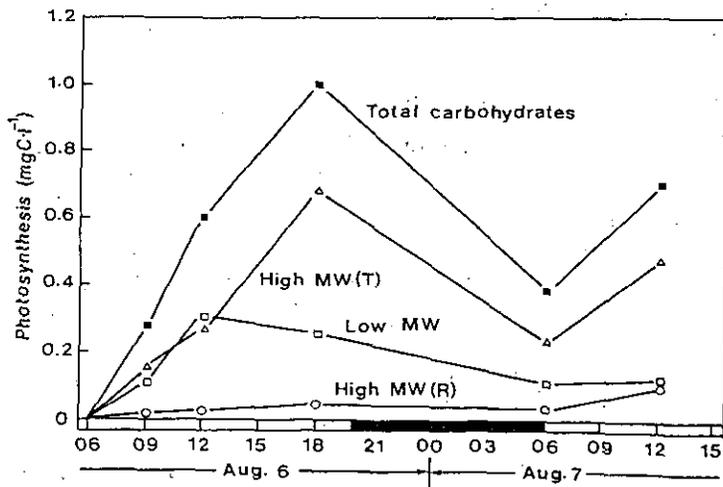


図 2 炭水化物の生産量の時間変化 High MW (T) : TCAに抽出される多糖類, High MW (R) : TCAに抽出されない多糖類, Low MW : 単糖および少糖

2.2 結果および考察

2.2.1 懸濁態有機物

懸濁態有機物の生産量は日中に増加を続け、日没前に最大値に達した(図1)。夜間には低下を示し、翌日の日の出直後には、前日の最大値の57%の値まで低下した。生産物として最大の割合を占め、また全生産量と同様の変化を示したのは炭水化物であった。炭水化物は6時から18時までの日中の生産量の72%を占めており、また夜間の現象も著しく全生産量の減少のほぼ100%に相当した。炭水化物では、トリクロロ酢酸(TCA)に抽出される多糖類が多く割合を占め、全炭水化物の生産量の44-70%に相当した(図2)。この多糖類は、*Microcystis*の貯蔵性炭水化物であると考えられ、光合成による生産および呼吸による消費において、このような多糖類が重要な役割を演じていることが示唆された。いっぽう、単糖および少糖類への炭素の取り込みは、実験開始後6時間までは急速に上昇したが、それ以降の上昇は認められなかった。この単糖および少糖類は、多糖類の前駆物質として生産され、その後多糖類への重合が進むものと考えられる。そのため、実験開始6時間以降、炭素の取り込み量の増加が認められなかったことは、単糖および少糖類の合成が停止したことを示すのではなく、単・少糖類の生産と、多糖類合成のための消費とが、バランスしていたことを示すものと思われる。すなわち、これらの低分子量炭水化物の活発なターンオーバーが示唆される。

タンパク質と脂質は *Microcystis* の生産物としては、量的には主要なものではなく、日中の生産量のそれぞれ17および8%を占めた。しかしながら、この両有機物は、炭水化物で認められたような夜間における取り込み量の低下は示さなかった。特にタンパク質については、夜間においても若干の生産量の増加が認められた。これは、貯蔵性炭水化物を炭素およびエネルギーの供給源として、タンパク質の合成が夜間においても行われていることを示している(Chuel, et al., 1984; Hama et al., 1988)。

このように、懸濁粒子、すなわち植物プランクトンの細胞を構成する各有機物の生産速度は、互いに大きく異なっていた。そこで、それぞれの有機物の生産速度を、それぞれの現存量で除すことにより、現存量あたりの生産速度-比生産速度あるいは回転速度-を算出した。現存量としては、実験を開始した時点の値を用いた(図3)。ここで見られるように、各有機物の回転速度は一樣ではなく、有機物により、また分子量により大きく異なっていた。6時間の実験において得られた炭水化物の回転速度は $0.046 \cdot \text{h}^{-1}$ であり、懸濁態有機物全体について得られた値の1.5倍に相当した。アミノ酸・タンパク質および脂質の回転速度は、 0.019 および $0.015 \cdot \text{h}^{-1}$ と炭水化物の50%以下であった。

分子量の違いによる回転速度の差はより顕著であり、低分子量有機物の回転速度は、炭水化物およびアミノ酸において、それぞれ 0.11 および $0.12 \cdot \text{h}^{-1}$ と高分子量有機物を大きく上回っていた。

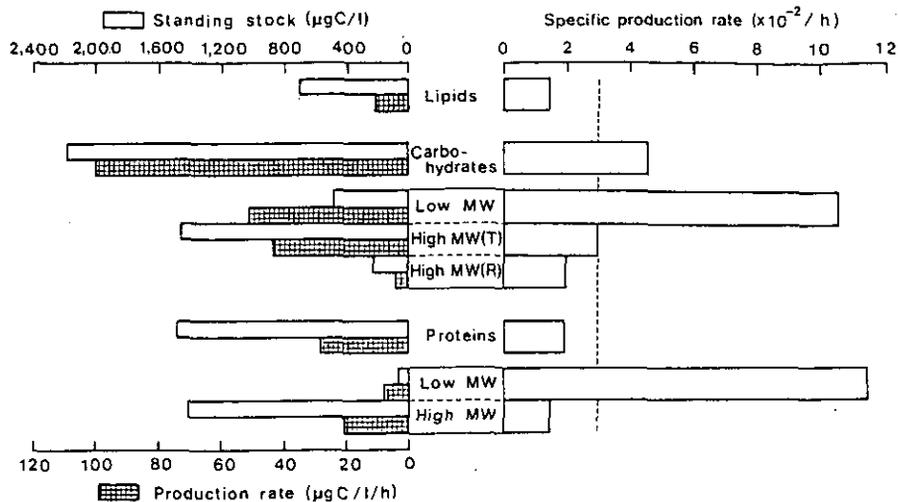


図 3 懸濁態有機物の現存量，生産速度および回転速度 POC：懸濁態有機炭素

一方，24時間の実験から求めた回転速度は，6時間の実験の結果とは大きく異なり，有機物間での差はほとんど認められなかった。これらの有機物間での一致は，日中の回転速度が他の有機物より高かった炭水化物が，夜間に大きな減少を示したことによる。ここで得られた結果は，日中における有機物の生産および夜間における消費それぞれにおいて，各有機物の挙動は大きく異なっているが，1日を経過した時点ではそれぞれの有機物の回転速度が等しい，すなわち1日の有機物の生産が，細胞の有機物組成を大きく変化させない状態で行われていることを示している。

2.2.2 溶存態有機物

排出 (Excretion) により生じた溶存態有機物量も，実験の時間が長くなるにつれて，増加する傾向を示した。日中12時間の実験において，排出された有機炭素は，全生産量 (懸濁態+溶存態) の8%に達した。この排出された溶存態有機物をセファデックスG-25を用いたゲルろ過法を用い，分子量の違いにより分画した。Fraction I, II, IIIおよびIVとVの分子量はそれぞれ，> 4,000, 500-4,000, 200-500および200以下と推定される (Fraction Vは，高分子量有機物がゲルに吸着したものと考えられるが，ここでは一応低分子量物質の画分として扱った)。画分毎の排出量の時間変化を図4に示す。

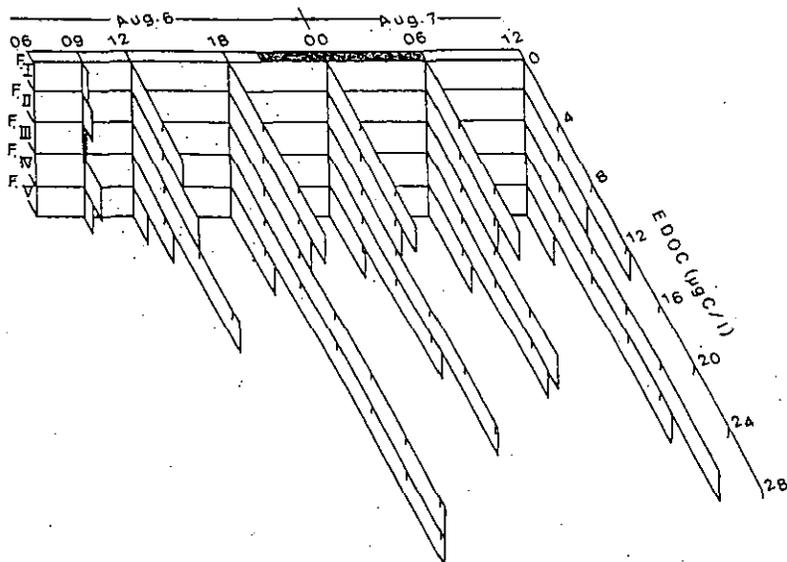


図 4 細胞外生産物の分子量組成の時間変化

細胞外排出物の主体は低分子量の有機物 (Fraction III, IV, V) であり, 6時から18時までの日中12時間の取り込み実験では, 全細胞外排出物の73%を占めた。この低分子量の排出物について, イオン交換樹脂を用いて分画したところ, 炭水化物, アミノ酸および有機酸が, それぞれ29, 38および33%を占めていることが分かった。この低分子量の排出物は夜間では減少を示し, その減少量は全排出物の減少量の93%に相当した。これは微生物による取り込みの結果と考えられる。

高分子量の排出物量は実験開始後6時間を過ぎて急速に増加した。この高分子量の排出物では炭水化物が主体であり, 高分子量の排出物の84%を占めていた。一方, タンパク質は9%を占めるのみであった。

植物プランクトンの排出により生じた溶存態有機物の生産速度をセファデックスで分画した画分の有機物毎に, 現存量と比較することにより, 溶存態有機物の回転速度を求めた (図5)。分子量の違いからみると, FractionIVの低分子有機物の回転速度は, 炭水化物, アミノ酸, 有機酸において, それぞれ 0.014, 0.012および $0.03 \cdot h^{-1}$ であった。これらの値は, 高分子量の溶存態有機物の値に比べて, 3~8倍高い値であった。

この実験において得られた懸濁態および溶存態有機物の光合成による生産速度とそれぞれの現存量とを比較することにより, 光合成を通じた湖沼に存在する全有機物の回転時間を算出した (図6)。諏訪湖表面水における全有機炭素の光合成による回転時間は, 49時間と算出された。しかし, 懸濁態と溶存態有機物とではその回転時間は, それぞれ36時間および300時間と大きく異なっていた。植物プランクトンの光合成から評価すると, 懸濁態有機物は溶存態有機物のほぼ8倍の速度で回転していることが分かる。

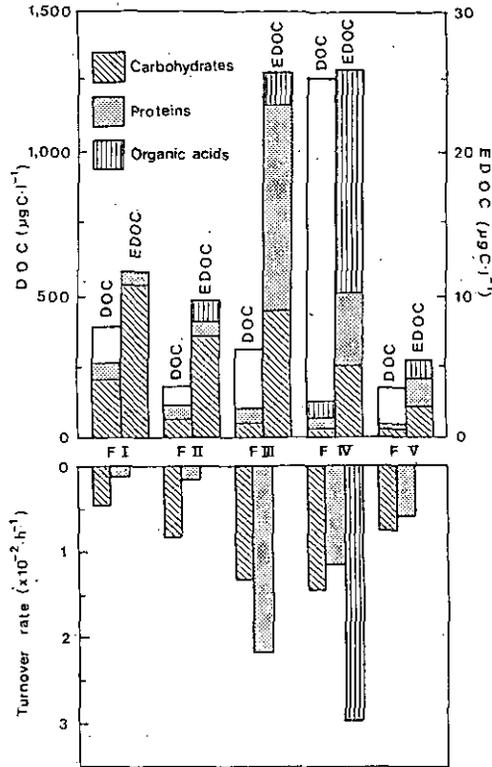


図 5 細胞外排出を通じた溶存態有機物の回転速度 DOC : 溶存態有機物の現存量, EDOC : 排出による溶存態有機物の生産量

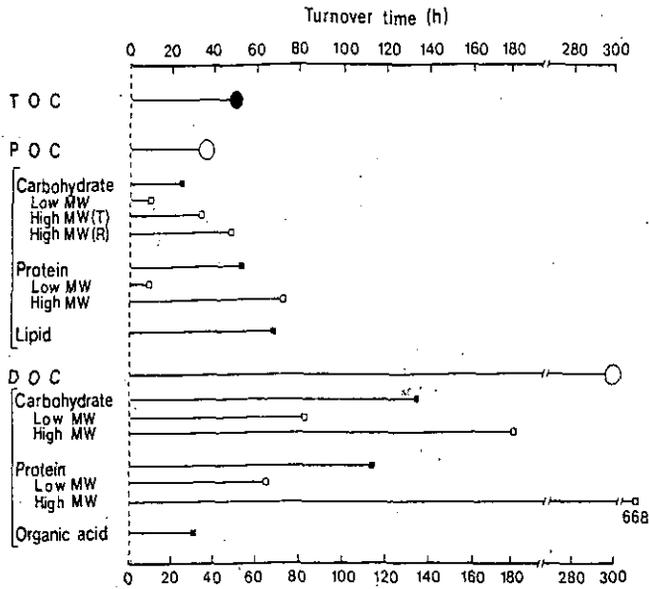


図 6 湖水に存在する有機物の植物プランクトンの光合成を通じた回転時間

懸濁態有機物を構成する炭水化物、アミノ酸・タンパク質および脂質の回転時間は、それぞれ22, 51, および66時間であった。水圏の物質代謝、エネルギー代謝における炭水化物の重要性が、この結果からも確認された。溶存態有機物の構成成分である炭水化物、アミノ酸・タンパク質および有機酸の回転速度は、それぞれ130, 110および27時間であった。炭水化物およびアミノ酸・タンパク質の回転時間は、懸濁態有機物に比べて長いものであったが、有機酸の回転時間は、懸濁態有機物にほぼ匹敵していた。

同じ有機物であっても、分子量の違いにより、その回転時間には3~10倍の違いが認められた。すべての有機物について、低分子量有機物は高分子量有機物よりも短い回転時間を示した。特に、溶存態アミノ酸・タンパク質では、低分子量のアミノ酸・オリゴペプチドの回転時間が、64時間であるのに対して、高分子量のタンパク質の回転時間は670時間と10倍もの違いが認められた。

このように水圏に存在する有機物は、植物プランクトンの光合成により、一様な速度を持って回転しているのではなく、有機物種の違いにより、また分子量の違いによりそれぞれの特徴を反映した回転時間を持つことが明らかとなった。

3. 局地的湧昇域における懸濁態脂質の回転

3.1 方法

八丈島近海に発生する局地的湧昇域内(測点49)外(測点I-2)で、安定同位体 ^{13}C をトレーサーとするインキュベーション実験を行った。得られた懸濁試料について、クロロホルム-メタノールで脂質を抽出し、構成する脂肪酸をメチルエステルとしてガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)により各脂肪酸を構成する炭素の ^{13}C 同位体比を求めた。この同位体比、および濃度から各脂肪酸の生産速度および回転速度を求めた(Hama, 1991)。

3.2 結果と考察

この ^{13}C -GC-MS法では、懸濁粒子中の濃度についての情報とともに、光合成による炭素取り込み速度に関する情報を得ることができる。このため、本法は各構成分子毎に光合成を通じた回転速度を推定するためには、非常に優れた方法といえる。脂質を構成する脂肪酸の $^{13}\text{C}_{\text{atom}}\%$ を見積もると、多不飽和脂肪酸で高い同位体比が得られ、多不飽和脂肪酸では ^{13}C が脂肪酸の炭素骨格として相対的に多く取り込まれていることを示している(表1)。一方、分枝脂肪酸では ^{13}C 同位体比は、他の脂肪酸に比べ著しく低い傾向にあった。これらの傾向は、湧昇域内外で共通していた。

生産された脂質の脂肪酸組成の湧昇内外での最大の違いは、16:1脂肪酸の寄与であった(表2)。湧昇内での測点49では、16:1脂肪酸は全脂肪酸の生産量の29%を占めたのに対し、湧昇外の測点では、10%を占めるに過ぎなかった。この違いは、主として、両測点に優占する植物プランクトンの種類組成の違いによると考えられる。湧昇外の測点では鞭毛藻類が優占種であった

表 1 局地性湧昇域内 (測点49) 外 (測点I-2) における各種脂肪酸の¹³Catom%
 数値は加重平均値 飽和脂肪酸には分枝脂肪酸は含まれていない

	Station I-2	Station 49
Saturated	2.64	5.68
Unsaturated	3.22	6.05
Branched	1.54	2.08
Total fatty acids	2.82	5.82

表 2 局地性湧昇域内 (測点49) 外 (測点 I-2) における各種脂肪酸の生産速度
 ($\mu\text{gC l}^{-1} \text{h}^{-1}$)

	Station I-2		Station 49
14:0	0.13	(20)	0.38 (19)
iso 15:0	0.0018	(0.28)	0.0071 (0.35)
anteiso 15:0	0.00069	(0.11)	0.0060 (0.30)
15:0	0.00053	(0.08)	0.023 (1.1)
16:0	0.22	(35)	0.48 (24)
16:1	0.064	(10)	0.59 (29)
17:0	0.0017	(0.27)	ND -
18:0	0.043	(6.8)	0.058 (2.8)
18:1 (n-9)	0.047	(7.5)	0.11 (5.4)
18:1 (n-7)	0.0048	(0.76)	0.023 (1.1)
18:2	0.046	(7.3)	0.10 (4.9)
18:3	0.016	(2.5)	0.083 (4.0)
18:4	0.013	(2.0)	0.068 (3.4)
18:5	0.010	(1.6)	0.027 (1.3)
20:0	0.0011	(0.17)	ND -
20:5	0.011	(1.7)	0.054 (2.7)
22:6	0.024	(3.9)	0.025 (1.2)
Total	0.63		2.0
Unsaturated/saturated	0.60		1.2

ND: Production rate could not be determined, because of the low concentration.

が、これらの藻類では、16:1 の全脂肪酸に占める割合は、1~5%と報告されている (Wood, 1974)。一方、湧昇域の内部で優占する珪藻類には、16:1 は全脂肪酸量の19~46%と豊富に含まれており (Wood, 1974)、優占種の違いが両測点における生産物の脂肪酸組成の相違を生じている可能性は高い。また珪藻類では、16:0 の16:1 に対する割合を生理状態の指標として用いることが提唱されている (Pugh, 1971)。湧昇域内で得られた値 (0.94) は、指数成長期において得られている値 (約1) に近く、栄養塩の豊富な湧昇域内での植物プランクトンの活発な成長が示唆される。

各脂肪酸について見積もった回転速度を図7に示す。個々の脂肪酸において得られた回転速度は、測点I-2において $0.0014 \sim 0.16 \cdot \text{h}^{-1}$ 、測点49において $0.0090 \sim 0.16 \cdot \text{h}^{-1}$ と、非常に大きな相違が認められた。¹³C同位体比からも予想される様に、多不飽和脂肪酸において高い回転速

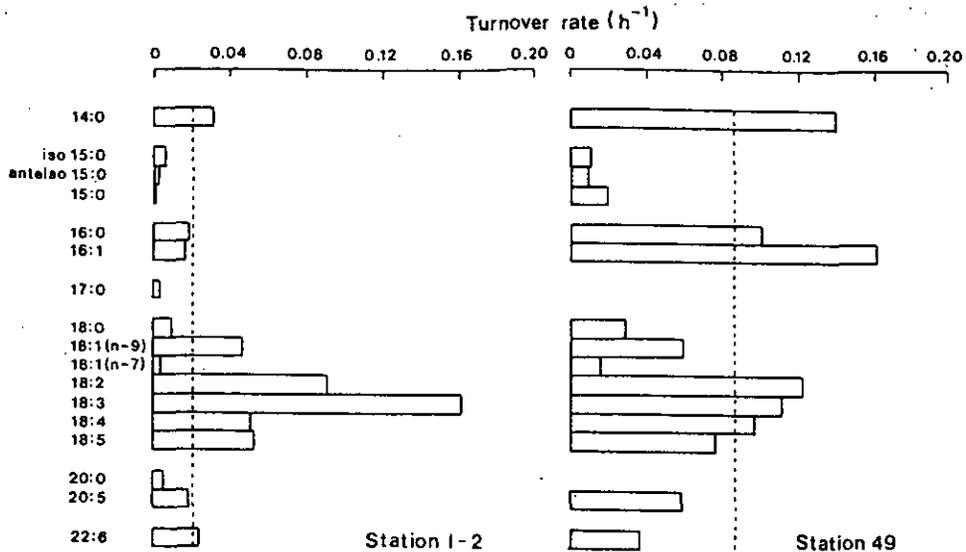


図 7 局地的湧昇域内(測点49)外(測点I-2)における懸濁態脂肪酸の植物プランクトンの光合成を通じた回転速度

度が得られ、測点I-2では18:3が、また測点49では炭素数18の全ての多不飽和脂肪酸が $0.05 \cdot h^{-1}$ 以上の値を示した。14:0、16:0、18:1(n-9)、20:5 および22:6の脂肪酸は、 $0.01-0.05 \cdot h^{-1}$ と中間的な値を示し、奇数炭素数の脂肪酸、18:0および18:1(n-7)は $0.01 \cdot h^{-1}$ 以下と低い回転速度を示した。

このような脂肪酸の植物プランクトンの光合成による回転速度の違いは、植物プランクトンの代謝速度の違いとともに、懸濁粒子全体の脂肪酸に対する植物プランクトンの脂肪酸の寄与の違いを反映している。つまり、植物プランクトンの寄与の少ない脂肪酸では、非植物プランクトンの脂肪酸の「薄め効果」の影響を受けている可能性がある。この非植物プランクトンの脂肪酸の「薄め効果」は、分枝脂肪酸(イソ15:0、アンテイソ15:0)、17:0 および18:1(n-7)の各脂肪酸において顕著であった。これらはバクテリア固有の脂肪酸として知られており、得られた非常に低い回転速度は、高い「薄め効果」の結果であることを示唆している。

他の脂肪酸では、14:0、16:0および16:1の脂肪酸については、湧昇内外で回転速度の大きな相違が認められたのに対し、炭素数18、20および22の多不飽和脂肪酸では両測点間に顕著な違いはなかった。これらの脂肪酸間での回転速度の相違も基本的には、植物プランクトンの全懸濁粒子に対する割合が脂肪酸間で異なっていることを反映しているものと思われる。特に、多不飽和脂肪酸は他の脂肪酸よりも安定性が低く、非生物粒子には多くは含まれていないものと考えられる。このため、両測点ともに多不飽和脂肪酸では高い回転速度が得られたのであろう。逆に、14:0 および16:0などの脂肪酸はデトリタスなどの粒子に比較的安定に存在しており、植物プ

ランクトンの寄与の少ない非湧昇水域（測点 I-2）では、大きな「薄め効果」により、結果的に低い回転速度として算出されたと予想される。

このように、 ^{13}C -GC-MS法では個々の分子種の回転速度について情報を得ることができ、水圏における有機物の動態について、より詳細な知見を与えることができるものと思われる。

引用文献

- Chuel, R. L., P. B. Ortner, and D. R. S. Lean (1984) : Night synthesis of protein by algae. *Limnol. Oceanogr.*, 29, 731-744.
- Hama, T. (1991) : Production and turnover rates of fatty acids in marine particulate matter through phytoplankton photosynthesis. *Mar. Chem.* 33, 213-227.
- Hama, T. and N. Handa (1987a) : Pattern of organic matter production of natural phytoplankton in a eutrophic lake. 1. Intracellular products *Arch. Hydrobiol.*, 109, 107-120.
- Hama, T. and N. Handa (1987b) : Pattern of organic matter production of natural phytoplankton in a eutrophic lake. 2. Extracellular products. *Arch. Hydrobiol.*, 109, 227-243.
- Hama, T., K. Matsunaga, N. Handa, and M. Takahashi (1987) : Day-night changes in production of carbohydrate and protein by natural phytoplankton population from Lake Biwa, Japan. *J. Plankton Res.*, 10, 941-955.
- Pugh, P. R. (1971) : Changes in the fatty acid composition of *Coscinodiscus eccentricus* with culture-age and salinity. *Mar. Biol.*, 11, 118-124.
- Wood, B. J. B. (1974) : Fatty acids and saponifiable lipids. In W. D. P. Stewart (Ed.) "Algal physiology and biochemistry" Blackwell, Oxford, pp.236-265.

有機物のターンオーバー

—炭水化物を中心として—

落合正宏 (東京都立大学理学部)

1. はじめに

天然水中には、多くの種類の有機物が存在し、かつそれらの有機物は微生物により代謝され、ほとんどの部分が水中あるいは堆積物表面において分解・無機化されてしまう。有機物によっては微生物により分解され易いもの、され難いものが存在する。一般に微生物により分解され易いものを易分解性 (LABILE) と、分解され難い成分を難分解性 (REFRACTORY) と分類している。易分解性有機物としては炭水化物、アミノ酸、脂肪酸等の生体起源有機物 (BIOGENIC ORGANIC COMPOUNDS) が挙げられる。難分解性有機物としては腐植 (HUMIC SUBSTANCES) が代表的なものである。この微生物に対する分解性と同定される物質とが 1 : 1 に対応しているように受け取られる場合が多いが、必ずしもそれほど単純なものではない。

また、易分解性有機物は化学物質として同定される物質、あるいは、ある一定の化学組成をもち、加水分解のような操作により定量的 (場合により定量的に近く) にモノマーへ分解し、モノマーを分析することにより、元の重合体の推定をある程度できる物質と考えられている。しかし、難分解性有機物として分類される腐植は、腐植という化合物があるわけではない。腐植は一定の操作により分離される分画に対してつけられた名称である。

たとえば、堆積物より有機物を抽出するために、水酸化ナトリウムの溶液を用いる。水酸化ナトリウム溶液にて抽出された部分について、エタノールで抽出できるか、酸性にしたときに沈殿するか、否かにより、フルボ酸、フミン酸、ハイマトメラニン酸等の分画に分けている。これらの分画は当然、加水分解などの方法を用いるとその一部が分解され、炭水化物、アミノ酸、脂肪酸を放出する。

このようなわけで、天然水中あるいは堆積物中の有機物を議論するに当たり、議論する目的と、その有機物が水中ではたす役割を決めておかななくては、議論が空回りしてしまう。特に、フミン酸等の分画に関する言葉は、化学物質と紛らわしいので、使用には十分な注意が必要である。

今回の話では有機物をおおまかに 3 つに分類し話を進めて行くことにする。すなわち、水中の有機物は、炭水化物 (糖類)、アミノ酸 (タンパク質)、その他の有機物である。ここでは炭水化物—糖類について考えてゆくこととする。

2. 溶存炭水化物の存在

炭水化物は前述のように易分解性物質の代表として考えられている。炭水化物は光合成生物に

より基本的に合成される有機物である。炭水化物はグルコース・でんぷんとしてそのまま蓄積されエネルギーとして利用されたり、あるいはセルロースのように生物の構造物質を形成したりして直接的に使用される。あるいは、アミノ酸・タンパク質、脂質等の物質へ変換される基本原料として存在している。

天然水中での炭水化物の存在は、水中に存在する光合成生物（植物プランクトン、水生植物）が炭水化物を合成し、合成された炭水化物が何等かの方法により水中へ放出され、それが、溶解して溶存炭水化物となることになる。ここで、溶存とは真の溶液を示しているものではなく、単に0.5 μ mのフィルターを通過した物であるか否かにより分類している。当然、0.5 μ mという大きな孔径であるため、真に溶解しているものからコロイド状のものまで含まれることになる。

水中の植物プランクトン、水生植物から炭水化物が放出される経路としては、1)細胞外生産（体外生産）により正常に機能している生物より水中へ放出される部分、2)植物プランクトンが動物プランクトンにより捕食され、植物プランクトンの生体構成成分が水中へ放出され、また動物プランクトンの排せつ物とともに水中の溶存有機物を構成する。生物の細胞外に付着した微生物が細胞の外壁を一部壊し、そのために細胞の内容物とともに炭水化物が放出されることである。とくに基本となる生物が正常に機能しなくなったときに、自己分解とともに付着した微生物による分解は一時的に多量の炭水化物を含む有機物を放出することになる。

1)と2)のいずれのケースが多量の炭水化物を放出するとなると、現状ではいずれとも言えない。

すなわち、1)のケースでは、植物プランクトン（あるいはクロロフィル）の測定と溶存炭水化物の測定において、両方の変化が正の相関を示すことにより証明されることになる。しかし、これまでの測定例からは、正の相関を示す場合と負の相関を示す場合が存在し、いずれとも言えない。一般に植物プランクトンの測定にせよ溶存炭水化物の測定にせよ比較的頻度よく測定されても1週間に1回程度の割合であり、植物プランクトンの消長に十分追従していない。それは炭水化物の測定においても言えることであり、これまでの結果のみから1)のケースが水中の溶存炭水化物濃度を左右するかどうかは難しい。2)のケースでは植物プランクトンと溶存炭水化物濃度の時間変化が時間的に位相がずれて現れることである。これについても、位相がずれてそれぞれの濃度のピークが測定された例がある。しかし、そのずれが確かに植物プランクトンの分解に基づく炭水化物の放出であるとの確証は得られていない。

それと、天然の湖沼における植物プランクトンはいろいろな種類が存在し、上記の関係を見る場合にその点に関しても考慮することが必要であろう。

例えば、ミクロキスティスのようならん藻の場合には細胞外生産が多いかも知れない。けい藻のようなものでは逆に、細胞が弱ることにより硬い外側が細菌により分解され細胞の内容物が放出される方が可能性が高いかも知れない(Walsh; 1966, Ochiai et al.; 1979, 落合他, 1980)。

3. 易分解性有機物

水中の溶存有機物が易分解性と難分解性の有機物に分類されることは、有機物の分解実験により、初期に急激に有機物が減少し、その後、緩やかな分解が継続して生じることより推定される。初期に急激に減少する有機物部分を易分解性有機物であるとし、緩やかに分解が進行しているときに存在する有機物が難分解性有機物である (Ogura; 1972)。このように考えられた有機物についてその化学組成は重要な問題ではなかった。微生物・細菌の“嗜好”に基づく分類であり、この分類自体から有機物の詳細な分析は重要な意味を持たない。しかしながら、化学屋としては易分解性有機物の化学的な性質を明らかにしないわけには行かない。

ここでの、アプローチには2つの方法が考えられる。1) 易分解性物質をあつめて分析をする。しかし、易分解性物質を多量に集めることは不可能である。特に微生物により急激に分解される部分を易分解性物質としたために、溶存有機物のマスのどの部分が易分解性物質であるかの特定が出来ない。2) あらかじめ、溶存有機物を構成する有機物のなかから易分解性物質に相当しそうな部分をしぼり、その成分の変化と、それ以外の成分の変化を比較する方法である。ここで、易分解性物質として推定された有機物の一つが炭水化物である。

2) の方法により実験を行うと、炭水化物およびアミノ酸 (タンパク質) が易分解性物質に属することがわかる (図1)。しかし、炭水化物全体が易分解性物質であるとは言えない。すなわち、炭水化物自体も易分解性部分と難分解性部分を有している (落合, 半谷; 1979, 図2)。

炭水化物を易分解性と難分解性に分類するために、炭水化物を構成する中性糖の組成を知ることが次の課題となる。

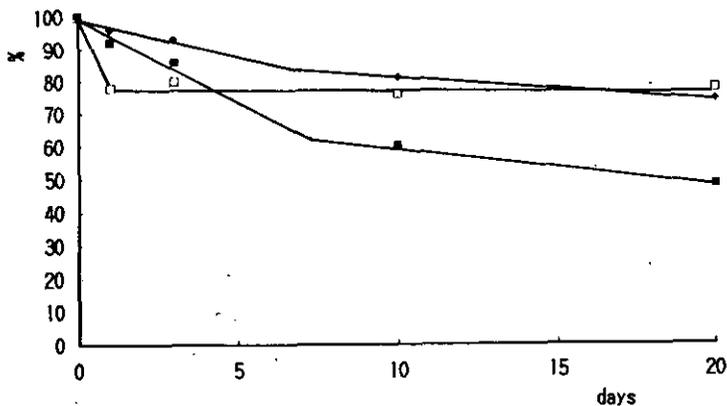


図 1 Changes in relative concentrations of TDOC, DAA and DCHO as compared with initial concentrations in Lake Nakanuma water during decomposition experiment (TDOC(◆): Total dissolved organic carbon, DAA(□): Dissolved amino acids, DCHO(■): Dissolved carbohydrates)

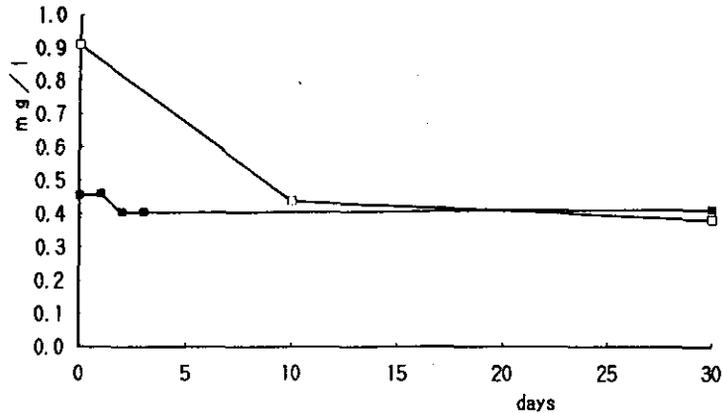


図 2 Changes in dissolved carbohydrates in Lake Nakanuma water collected in the different seasons during decomposition experiments (□: Sample collected on 26 May 1978, ■: Sample collected on 6 December 1978)

4. 溶存有機物の化学組成

溶存有機物を構成する化合物は天然水の状態によりことなる。しかし、化合物として分析される主たる成分はアミノ酸、炭水化物である。これらの2つの化合物の合計は天然水によりことなるが、それぞれ、3-10% (炭素ベース) である。植物プランクトンのブルーム後にこれより高い値をとることもある。脂質、その他の有機物は合計しても約1%になるかならないかである。残りの80-95%は通常の分析によっては化合物として分析されない。これらの成分を総称して腐植物質と呼ぶこともあるが、本来の腐植物質とはことなるものであり、まぎらわしい(Ogura et al.; 1975)。

5. 分解性と分子量

溶存有機物を易分解性と難分解性有機物に区別する方法として、分子量による分類が試みられている。溶存有機物の分子量はその定義よりして広い分子量範囲を示す。小倉(1974a, 1974b)は河川、海洋の様々な地点にて溶存有機物の分子量と分解特性について研究を行ってきている。結果として分子量の低い溶存有機物は高分子量の物に較べて易分解性であるとしている。高分子量物質として腐植のような有機物を想定している。分子量による分類は、必ずしも、高分子の有機物が難分解性であるとのことではなく、むしろ、高分子量の物が易分解性であるとの説もあり、このあたりはどちらとも言いがたい。低分子量の有機物の方が微生物にとってより取り込み易い形をしていることより、低分子量物質が易分解性であるとの考え方は説明しやすい。しかし、炭

水化物にしてもアミノ酸にしても遊離の状態で存在していることはまれであり、ほとんど重合体として存在しており、その意味からは高分子状態の物でも易分解性を示すことになる。

微生物に対する特性より易分解性と難分解性を区別したわけで、微生物が溶存有機物をその体内に取り込む場合、分子量が低い物についてはそのまま微生物の細胞膜を通過することが可能である。高分子量物質の場合には微生物の体外酵素によりまずある程度の分子量に分解し、その後、取り込むことになる。高分子量物質の場合、微生物が持っている体外酵素により分解が可能であるかどうか、利用できるかどうかにかかわってくる。

6. 炭水化物の中性糖組成

細胞外生産にせよ細胞の内容物が出てくる場合にせよ、細胞より水中へ放出された炭水化物成分は、直前まで生物体内において有用な役割を果たすべく存在した物質であり、水中へ放出されると直ちに細菌により利用されてしまうことになる。この様に水中へ放出された炭水化物の水中における半減期は短い。例えば、藻類を乳鉢においてすりつぶしたエキスを水中に入れて、減少を測定すると約24時間で60%の炭水化物が分解あるいは炭水化物以外の化合物へ代謝される(落合他; 1981)。また、粉ミルクを活性汚泥中にて分解を行うと、時間の単位で減少してしまう。多くの下水処理場における活性汚泥槽での滞留時間を考えると炭水化物のような易分解性物質の水中での半減期は時間単位であろう。半減期が時間単位でありながら、湖沼において炭水化物が測定されることはこれまた何等かのからくりを考えることが必要である。

湖沼における溶存有機物のうち炭水化物、アミノ酸が占める割合は前述のように炭水化物の半減期が純粋に時間単位であるならば、ほとんど測定されないことになる。また、測定されてもきわめて低濃度であることが考えられる。しかしながら、通常炭水化物、アミノ酸はそれぞれ3-10%程度存在し、溶存有機物において測定される化合物の主たる物質である。

それでは、これらの溶存炭水化物の全てが易分解性と考えるのであろうか。前述のように難分解性有機物としてとらえられるフミン酸は炭水化物を含んだ存在である。フミン酸のうちで炭水化物として測定される部分を考えると、炭水化物が他の化合物とどの様に結合しているかにより、加水分解されて最終的に糖のかたちをとったとしても、すぐにその糖がフミン酸の中においても分解し易い成分であると決めることはできない。この様に考えると、溶存有機物を濃縮して塩酸にて加水分解して得られる炭水化物の全てが易分解性を有するわけではない。それでは、この分析されると糖となる炭水化物の微生物に対する分解性を何等かの方法により見分けることが出来るのであろうか。

現状において、この区別をする方法は、化学的手段により正確に行うことは不可能である。しかしながら、炭水化物を構成する中性糖の相対組成よりいくらかの推定を行うことが出来る。すなわち、炭水化物を加水分解して得られる8種の中性糖の相対組成より、微生物により利用され易い炭水化物と分解されにくい炭水化物を推定することである(図3, 4)。分解され易い炭水

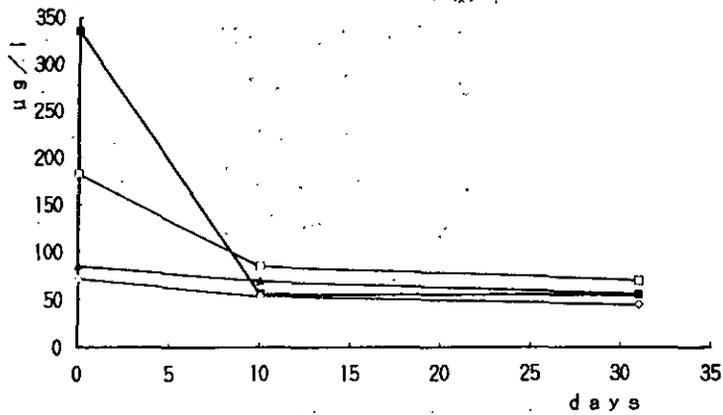


図 3 Changes in neutral sugars (glucose(■), galactose (□), xylose(◇), and rhamnose(▲),) concentration during decomposition experiment

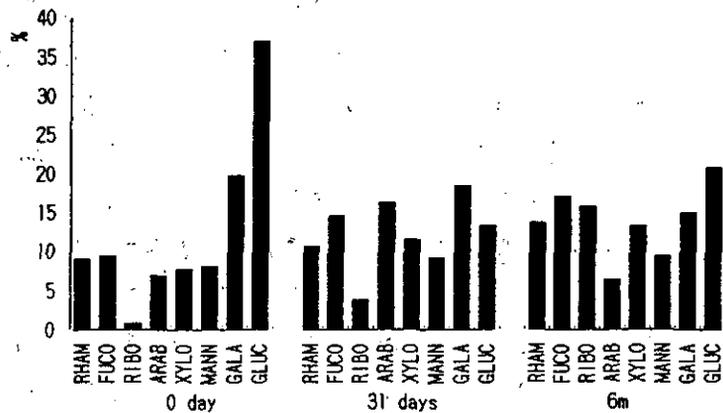


図 4 Changes in relative percentage of neutral sugars composition of dissolved carbohydrates from surface water and from 6 m layer water
 RHAM: rhamnose, FUCO: fucose, RIBO: ribose, ARAB: arabinose, XYLO: xylose, MANN: mannose, GALA: galactose, GLUC: glucose

化物の中性糖の一つ、グルコースの相対的割合が大きいためである。光合成を十分に行った植物プランクトンはその中性糖組成は、グルコースが70%以上と大部分がグルコースにより占められる。しかしながら、植物プランクトンを含むフィルターを暗所にて、湖水につけておくと、湖水の微生物、細菌により分解されて、初期のようなグルコースが大きな割合を示す中性糖組成ではなく、含まれている中性糖の相対組成がほとんど平均化した相対組成を示すこととなる。このような炭水化物はこれ以上容易には微生物による分解を受けない(落合他; 1986)。
 溶存炭水化物においても上記の議論は成り立つものと考えられる。しかしながら、そのような

相対組成を示す溶存炭水化物はなかなかお目にかかることが出来ない。例えば、きわめて高い密度でらん藻（ミクロスティス）が存在し、かつ活発に光合成を行っている状態において採水を行った諏訪湖表層水でさえ、グルコースの相対組成は40%でしかない。しかし、通常の状態では植物プランクトンから放出された糖類の内、とくに分解され易いグルコースは直ちに分解を受け、測定される状態の試料では、グルコースの相対組成が高い試料にはあまり遭遇しない（Ochiai and Hanya; 1980）。

現実には測定される溶存炭水化物は、何を測定しているものであろうか。また、現実には測定される溶存炭水化物は細菌の栄養源として他の有機物に比較して有効なものであるものであろうか。

この問題はなかなか難しい問題である。現在の分析技術で、溶存炭水化物の組成以外の情報を得るには第一に何をもち、何を分析することが必要であるか。加水分解してもたらされる中性糖が溶存炭水化物のどの部分より切り離され、その基本は何であるか。溶存炭水化物を現在のようになん酸により加水分解するのではなく、特定の部位にのみ作用する、酵素分解、あるいはゆるやかな加水分解条件により加水分解することも必要であろう。そのときに、溶存炭水化物としてかなりの量を水の中より分離しなくてはならない。これをするならば、堆積物中より取り出したほうがよいかもしれない。

このようにして、temporal な溶存炭水化物を測定することの意義である。

溶存炭水化物は、水中でダイナミックに変動している。変動しているどこの変わり目を測定しているかにより溶存炭水化物の水中での役割が変わるであろう。

7. 炭水化物と炭水化物分解菌

これまでの、溶存炭水化物が水中へ供給される話が主題であった。ところで、溶存炭水化物は微生物の栄養源として有効であろうか。これを検証することは、なかなか難しい問題である。それでは、現実問題として、炭水化物が多量に存在すれば、それを栄養源とする微生物が多く存在するものであろうか。この問題に関しては、Kato and Sakamoto (1979) が木崎湖において、グルコース分解能を有する細菌が炭水化物濃度の高い層に多く存在しているとの報告がなされている。これとて、グルコース分解能を有する細菌は他の有機物も分解する能力を有しているであろうことは確かであり、グルコースは有機栄養源の一つとして利用されているものであろう。

琵琶湖に流入する河川の上流、中流、下流において溶存および懸濁態の炭水化物と細菌との関係について分析を行った。炭水化物は加水分解後、中性糖の単位で測定した。微生物は中性糖であるグルコース、マンノース、ガラクトース、キシロースを分解する能力があるかどうかで、それぞれの計数を行った。結論として、溶存炭水化物と遊離の細菌の間には、この研究からは関係を見いだすことはできなかった。懸濁態炭水化物と付着性細菌の間には、正の相関がみられた。とくに、懸濁態有機物のC/N比が14を境として、C/N比が14以下の有機物の場合、相関がみられ、以上の場合には相関はよくないことがわかった（Ochiai and Nakajima; 1988, 1991, 図5）。

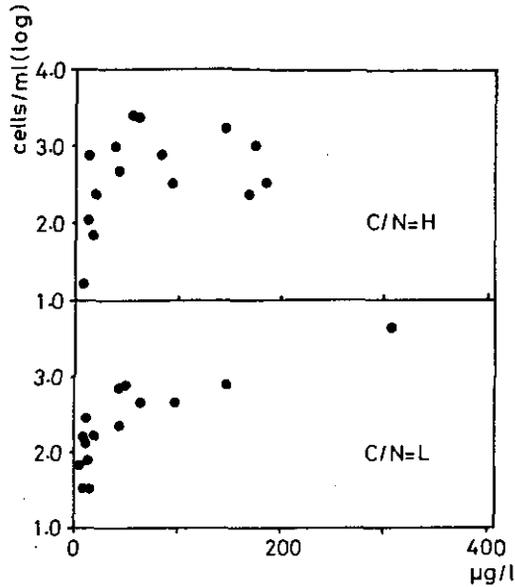


図 5 Relationship between glucose concentration in particles and cell number of attached glucose decomposing bacteria

この結果、C/N 比の低い、藻類起源と考えられる懸濁態有機物に含まれる炭水化物はアクティブの炭水化物であり、共存する細菌に利用されており、かつ存在する炭水化物が細菌の種類を限定する要因となっていることがわかる。有機物と細菌が 1 : 1 ではないが、特定の有機物が存在する場合にはそれに対応する微生物が優占してくることが、一般的な天然水中においても観測されることがわかった。

しかし、この結果はあくまでもスタティックなものであり、実際に存在する細菌がまさに対応する中性糖を利用しているかどうかは不明である。

河床の付着性藻類より抽出した有機物を用いて、培養実験を行った。抽出された有機物中の炭水化物を測定し、同時に糖分解菌（グルコース、マンノース、キシロース分解菌）の測定を行った。初期のグルコースの減少に対応し、グルコース分解菌の増加が観測された。大ざっぱな計算をすると、初期のグルコース減少量は $187 \mu\text{gC/l}$ で、グルコース分解菌の増加は $1.3 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ であり、炭素換算で $90 \mu\text{gC/l}$ となる。しかし、マンノース、キシロースに関しては必ずしもこの様にはならなかった。グルコースをもつばらグルコース分解菌が利用した証拠はないが、この様な現象が観測されたことは興味深い（図 6, 7）。

これらの実験は、分解菌が対応する単糖を分解利用する能力であり、実際的水中では単糖として存在するものではなく、単糖と炭水化物の間のギャップをどのようにして埋めて行くかが課題の一つである。

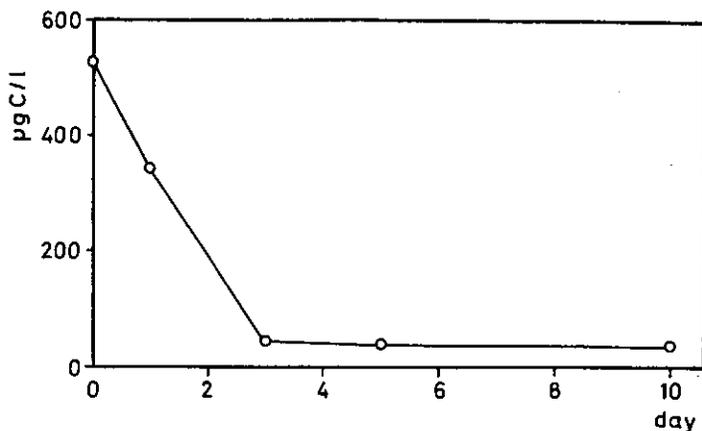


図 6 Changes in glucose concentration during incubation experiment

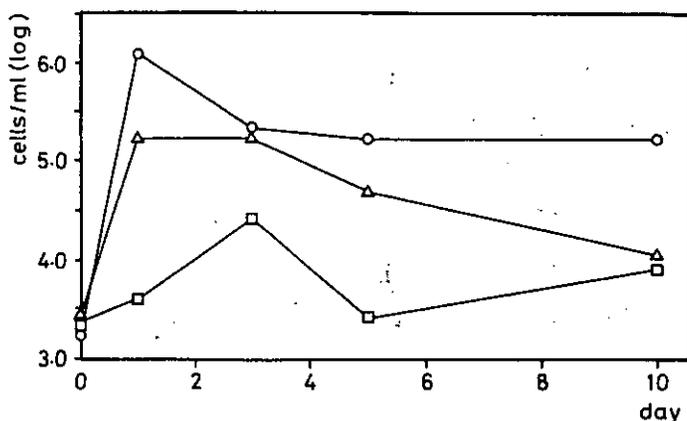


図 7 Variation of sugar decomposing bacteria during incubation experiment
 ○ : glucose decomposing bacteria, △ : mannose decomposing bacteria,
 □ : xylose decomposing bacteria

8. おわりに

天然水中の溶存有機物に関して多くの研究がなされ、いくつかの成書も書かれている。しかし、研究がそれほど進歩しているとは思えない。その原因は、溶存有機物の大部分を占める未同定化合物（時に腐植と一括して言われる）に対する化学的なアプローチの方法が見いだされないためであろう。未同定化合物の中にはリグニンのような陸上植物由来のものも含まれているはずであるが、分解した後に同定されるフェノール化合物の量ではとても説明がつかない。溶存有機物の大部分は時間はかかるが生物により代謝され、無機化されることは確かであり、時間を経ることにより確実に生物の栄養源となっている。現状の化学的な手法から溶存有機物を明らかにすることが困難であるならば、別のアプローチを用いて化学の土俵までこれらの未同定化合物を移さなくてはならない。これがどのような方法になるかは未定であり、これからの課題である。

文 献

- Kato K. and M.Sakamoto (1979) : Jpn. J. Limnol., 40; 211-214.
- Ochiai M. and T.Hanya (1979) : Hydrobiologia, 70; 165-169.
- 落合正宏, 中島拓男, 半谷高久 (1979) : 陸水雜, 40; 185-190.
- 落合正宏, 半谷高久 (1979) : 地球化学, 13; 47-50.
- Ochiai M. T. Nakajima and T. Hanya (1980) : Hydrobiologia, 71; 95-97.
- Ochiai M. and T. Hanya (1980) : Arch. Hydrobiol., 90; 257-264.
- 落合正宏, 他 (1980) : 水質汚濁研究, 3; 71-75.
- 落合正宏, 他 (1981) : 水处理技術, 22; 689-695.
- 落合正宏, 他 (1986) : Jpn. J. Limnol. 47; 115-120.
- Ochiai M. and T.Nakajima (1988) : Arch. Hydrobiol., 113; 179-187.
- Ochiai M. and T.Nakajima (1991) : Verh. Internat. Verein. Limnol., 24; 2040-2043.
- Ogura N. (1972) : Biological Oceanography of the Northern North Pacific Ocean, Ed. Takenouchi et al., 507-515.
- 小倉紀雄 (1974a) : 海洋科学, 6; 338-343.
- 小倉紀雄 (1974b) : 海洋科学, 6; 492-497.
- 小倉紀雄, 他 (1975) : 陸水雜, 36; 23-30.
- Walsh G. E. (1966) : Limnol. Oceanogr., 11; 249-256.

討論のまとめ

座長 渡辺泰徳 (東京都立大学理学部)

1. 濱氏, 落合氏の講演の前に, 渡辺座長より水界中の有機物の動態は回転寿司モデルで解釈すると問題点が明確にできるのではないかとの話があった。つまり, 寿司屋が有機物の供給者, お客が消費者, お皿にはいろいろな種類の寿司がのり, お客は自分の嗜好で好きなお皿をとってゆく。寿司が懸濁態有機物を表すとすれば, まぐろなどのネタがタンパク質, 脂質を, しやりが糖類を, わさびが微量成分を, えびのしっぽがデトライタスを, 醤油が無機の塩分を, そしてお茶が溶存態有機物を表しているともいえる。問題は, 寿司屋が誰で, お客が誰で, 寿司が何なのか, 寿司屋はどんな速度で寿司をにぎっているのか, お客は何が好きでどのくらい早く食べているのか, また, 寿司屋とお客の間で有機物の生産・消費に関わる相互作用(注文のやり取りなど)が機能しているかどうか, である。

2. 質疑応答

[濱氏へのテクニカルな事項の質問]

(相崎) 諏訪湖での実験ではどのようなアオコ状態で行ったか?

(濱) きっちり計測していない。炭素量として 5mgC/l 程度であった。栄養塩は枯渇はしていなかった。

(田上) アイソトープ実験において, インキュベーション時間が短く, 高分子粒子はアイソトープ平衡に達していないのではないかと? 平衡に達していなければ, 高分子の有機物のターンオーバーの計算に誤差をもたらすのではないかと?

(濱) 諏訪湖の実験では, 懸濁態のターンオーバーを求めるときには6時間とし, 溶存態の場合には12時間後, すなわち高分子への取り込みが十分に進んだと考えられる状態で行った。

(田上) 海の実験で, 分岐脂肪酸へ入る¹³Cが少ないのは, バクテリアの寄与とともに, アイソトープ平衡に達していないからではないかと?

(濱) その可能性がある。ラベルされた試料を用いてチェックする必要がある。

[落合氏へのテクニカルな事項の質問]

(田中) バクテリアの計測法は?

(落合) 生菌数を測定した。各糖の分解菌数はそれぞれの糖を基質とした培地を用いて計数した。

(渡辺) バクテリアなど生物の量の測定と特定有機物の同定・定量などは、生物学と化学の専門家の協力が望まれる。

[総合討論]

(渡辺) 濱氏の研究は、回転寿司モデルの寿司屋の仕事内容に関するものが中心と考えられる。この実験はバクテリアフリーで行ったか? ‘お客’は考えなくてよいか?

(濱) ナチュラル状態である。

(渡辺) バクテリアの存在量は少なくして無視しうると考えられるか?

(濱) この実験は、光合成産物をバクテリア、動物プランクトンが使うところまで含んでいると考えている。

(相崎) 実験池でのアオコ増殖実験では、増殖期には DOCは増加せず、減少する時に増えた。成長期にほんとうに DOC を出すのか?

(濱) 文献では活発に増殖しているときには DOCをあまり出さないとされている(日野)。自分の培養実験の結果では、タンパクと糖を、活性(ATPの測定)の良いとき出し、あまり良くないとき出さなく、死にかけてくると大量に出す。また、光のあるなしに関係していて、暗いと出さない。

(渡辺) Chrost (1990) によれば、active な藻類が優占する系では excretion による DOC の経路が、そして死にかけた藻類の多い系では lysis による物質の経路が主要となる。次に、私の示した回転寿司モデルに異論がある方はいないか。お客が食べて排せつしたものが再び寿司屋にどのようにもどるかが説明してないところに問題があると思う。濱氏の海洋での研究では、懸濁物の脂肪酸に対してバクテリアの寄与が示唆しているところがおもしろい。この点に関して質問は?

(永田) グラスファイバーフィルターを用いるとバクテリアの捕捉率は小さく、その寄与が低く見積もられているのではないか?

(濱) 当然捕捉率が低いので、回転フラックスという点ではバクテリア分は過小評価である。

(渡辺) 海洋ではどのようなフィルターを使うべきか議論はあるか?

(田上) 外洋では粒子数が少なく、DOC を測る場合、懸濁物が通過してしまうことを心配しなくても良い。つまり、懸濁態の炭素量は $10\mu\text{M}$ 程度で、溶解態はその 10 倍もあるからである。また、ろ紙への吸着は $1\mu\text{M}$ (47mm 口径のろ紙) 程度である。ただし、懸濁物を集める時は問題となる。

(渡辺) きれいな外洋ではどんなフィルターを使うのか?

(田上) 有機屋は GF/F, 無機屋は目的によるがヌークレポア, ミリポアなどのメンブレンフィルターが一般的である。フィルターに関するワークショップでは, 有機については GF/F 以外に適当なものはなく, 無機については洗いができるかなど対象によって異なるとされた。有機物を測るときの焼き方も一般に言われている 450°C で, 問題はなかろう。

(落合) ろ過圧, ろ過量については工夫している人はいないか?

(田上) 対象, 目的を固定しないと何が適当か判断できない。一般論は無理である。

(大槻) 湖沼のミキロキスティスなどではシースの部分が通過してしまうので, ダイアフラムポンプなど真空度のあまり上がらないものを使うべきである。ポンプの減圧度などを目安として引き方が一定となるよう注意すべきである。

(渡辺) 環境研でそのあたりのリコメンデーションを出して下さい。

3. 最後に, 以上をまとめて渡辺座長は有機物動態研究に対して, 次のような提言を行った。

(1) 場, 時間スケールを限定して, 何を明らかにしようとしているのかはつきりさせる。

(2) 水中の有機物(生物体も含む)の量の変動を考えると, あるものが増えることによって別のあるものは減少し, その結果として第3のものは増加するということがあるだろう。このような, ダイレクト, インダイレクトな相互作用系を検出する。

(3) ある水系での有機物の主要な流れとその速度を決定している Key Stone とも言える因子があるのかどうかを検証する。

(4) 水界有機物の全てを網羅しようとするのではなく, 焦点をしばって外界からの攪乱・侵入因子が加わった場合に, その影響が及ぶ範囲を評価し, その作用を打ち消すフィードバックや, 反対に加速的に系が改変してしまうかもしれない正のフィードバックの機構の存否を明らかにする。

上水処理における有機物

—水処理における有機成分の起源と有機物の挙動—

亀井 翼, 丹保憲仁, 松井佳彦 (北海道大学工学部)

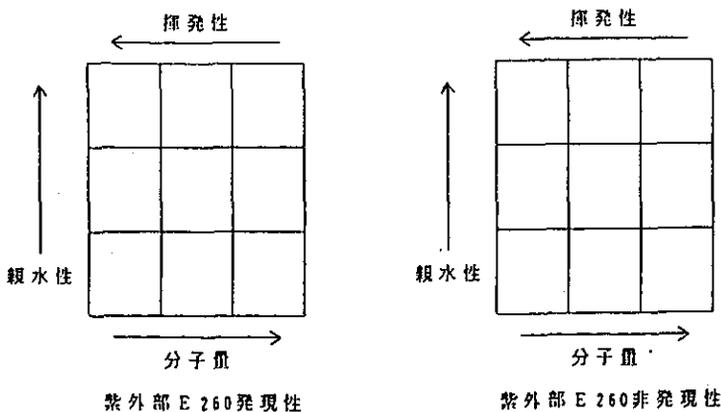
1. はじめに

地球上に存在する有機成分の種類は数百万種といわれ、水道原水中に存在する有機成分も検出濃度レベルを ppm レベルから ppb, ppt と下げるにしたがって、検出される成分種も増加するが、量的に TOC (全有機炭素) の90~95%を占めるのがフミン質 (フミン酸及びフルボ酸) である。本論では量的に大多数を占めるフミン質が①どのような機序で出現し、②どのような経路を經由して上水道水源に流入し、③各種の水処理プロセスにおいてどのように除去され、かつ水質変換されるかという1連の物質の流れを共存する微量有機成分とも関連させながら記述してみたい。流域からの有機成分の流出特性および各種の処理プロセスの有機成分除去特性が明らかになれば、より合理的な上水道原水取水、あるいはより安全な浄水を得るための適切な処理プロセスの選定あるいは運転が可能となる。

2. 有機成分の挙動評価のための水質指標¹⁾

上述のように水中の多種多様な微量有機成分を個々に定量することは後述するように多大の時間と労力を要し、日常的な計測方法としては用い難い。特に自然水中主要有機成分は低分子から高分子までの不揮発性の親水性成分であるため、表1に示されるような有機成分のカテゴリー分類表の中の揮発性疎水性成分の検出を主とするGC/MSの計測の対象とはなり難い。そこで図1に示されるような所定の方式にしたがってカテゴリー分類された有機成分はその種類が異なっても

表 1 水中有機成分のカテゴリー分類



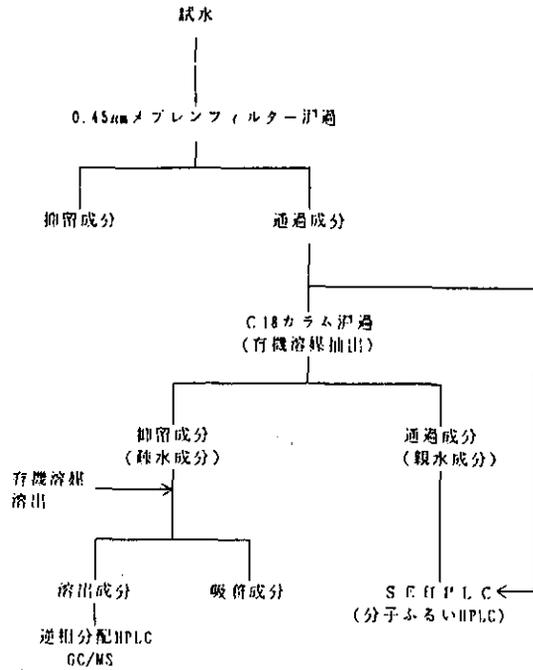


図 1 水中有機成分の組成分離の例

同一グループに所属する限り処理プロセスの場においてほぼ同一の除去率を示すであろうという考えによる水質表示法，例えばあるみかけの分子量とそのTOC/E260（全有機炭素/紫外外部260nmの吸光度）を用いて様々な原水の特性格評価の可能性とその限界を検討してみる。

3. 自然由来の有機成分（自然水中の主要有機成分）の起源と流出過程²⁾

3.1 人為汚染のない山地河川における河川水質の形成

森林で覆われた一般的な山地における降雨流出は，林内雨（樹冠流）または樹幹流として地表面に到達し，地表面浸透性が小なる場合は地表面流出成分となり，地表面付近の浸透性が大きな場合は，A層に深に流出し，各層における浸透性の大小に応じて，それぞれ鉛直成分，側方流成分になり，河川水質を形成すると考えられる。本論では，様々な降雨量における林内雨，樹幹流，表層流，中間流，河道水のE260，分子量分布クロマトグラムと対応するハイドログラフの応答の検討を行い，その結果を基礎として河川水質の起源を明らかにする。降雨時の樹種の違いによる樹冠流（林内雨）および樹幹流出水中のE260は表2のようである。水源林そのものはE260で表現される有機成分の負荷源となっていることが表から明らかである。一方，河川水のE260は樹幹流出水中のE260より一桁低く地表面から河道への流出の過程で土壌吸着されている。

降雨量が小さい場合と多い場合の代表例について，E260発現成分の流出がどうなるかを検討した結果は図2と図3のようである。

表 2 降雨時，樹幹 (stemflow) 及び (林内雨) からの流出成分 (宝来沢流域)

試水番号	ヤチグモ, stemflow				トドマツ, stemflow			トドマツ, 林内雨		河川水
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
採水日	10/15~17	10/17~21	10/21~24	10/24~29	10/17~21	10/21~24	10/24~29	10/21~24	10/24~29	10/24
E ₂₆₀	0.328	0.298	0.139	0.139	0.774	1.418	0.521	0.178	0.121	0.038
DOC[$\mu\text{g}/\text{l}$]	13	11	6	8	31	44	23	10	9	3
DOC/E ₂₆₀	40	44	43	60	40	31	44	56	74	44
伝導度($\mu\text{S}/\text{cm}$)	86.8	37	43	81	102	46	134	38	121	76
PO ₄ ³⁻ [$\mu\text{g}/\text{l}$]	60.4	26.4	13.2	18.9	192	134	13.6	3.78	18.9	18.9
pH	7.1	7.2	7.2	6.9	5.7	5.9	5.7	7.0	6.5	7.1

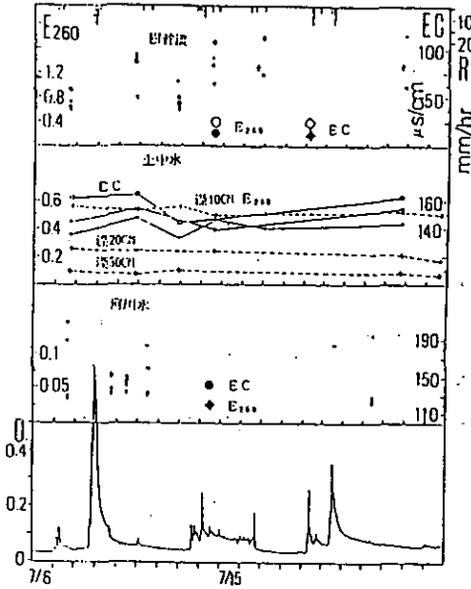


図 2 ハイドログラフと E. C., E260 (小降雨)

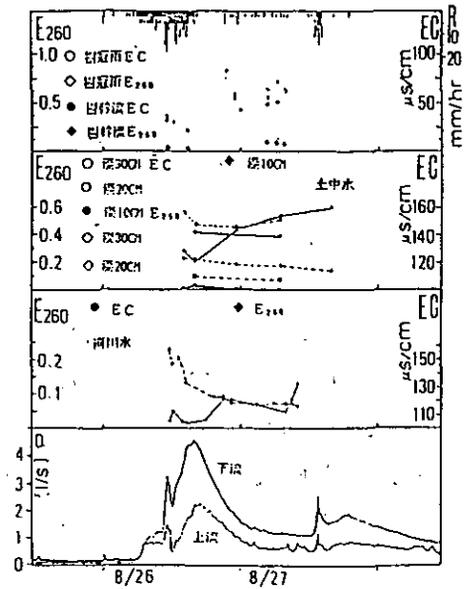


図 3 ハイドログラフと E. C., E260 (大降雨)

図 2, 3 に示されるような土中水の E260 を地表面からの深さに対して片対数プロットして見ると図 4 のようである。深さ 10~30cm における E260 の減少値向をそのまま外挿できるわけでもないが、小降雨時の河道水の E260 が 0.04 程度であることを考慮すると、小降雨時の流出の大部分は 35cm 程度以下からの流出であることが明らかである。また晴天が長期間継続する場合の河道水の E260 が 0.02 程度であるので、基底流はさらに深い層からの流出によるものになると考えて良いであろう。

図4より山間地表層部分にも平野部泥炭地水中の高分子フミン質と同様な高分子成分が存在し流出過程で除去されていることが明らかとなる。山地の浅い表層部(地表面から5cm程度まで)には、質的にも濃度的にも平地泥炭地水に相当する高分子フミン質を含んだE260発現有機成分層が存在し、さらに10cm程度以深では低分子成分のみが存在し、深さ方向にその成分量が減少する。したがって降雨強度に応じた流出の段階で高分子及び一部の低分子成分が除去されて河川水質を形成することになる。

3.2 人為汚染のある山地河川における水質形成

農薬の移動距離は物質収支式と吸着等温式から誘導した次式により算出できる。

$$z = \frac{fw / \rho_w}{\rho_b \cdot w + k} T \quad \dots (1)$$

ここで

- | | |
|---|--------------------------------------|
| w : 体積含水比 [m ³ /m ³] | ρ_w : 水の密度 [kg/m ³] |
| z : 斜面方向への距離 [m] | fw : 土水中flux [kg/m ² ·s] |
| ρ_b : かさ密度 [kg/m ³] | k : Henryの吸着係数 [m ³ /kg] |

このときzは移動距離を表し、Tは降雨継続時間を表す。移動距離の算出に際してはヘンリーの吸着係数kは実験によって求め、 ρ_b , w, fwについては実験条件および一般的に観測されるデータを用いる。Wood等による飽和流と不飽和流での fluometuron の移動の実験値と式(1)との比較結果は図5のようである。fluometuron の移動もまた式(1)によって表すことができると考えられる。式(1)によって分散を考慮しない移動モデル式で農薬の移動距離の大略を知ることが出来ると思われる。

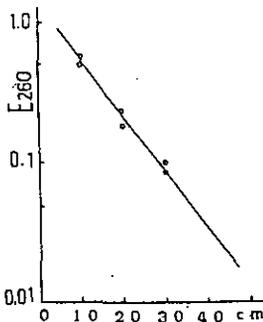


図 4 土中水の E260

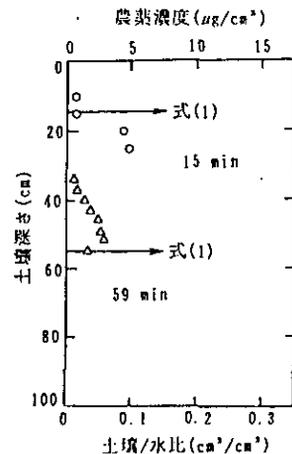


図 5 農薬の移動距離予測値と実験値の対比(飽和流)

4. 水中フミン質の生成機構と構造類似度³⁾

上述のように水源林はE260発現性有機成分の発生源であり河道への流出の過程で土壌により吸着除去されるので、降雨強度が河川水質を決定することになる。このような水源林由来のE260発現成分は下水放流水、および泥炭地水中のE260発現成分とどのように異なるものかを知ることは上述の水質表示法、すなわち、あるみかけの分子量とそのTOC/E260がどの程度普遍的に用いられるかということにも関連してくる。そこでグルコース、酢酸、フェノールなどの各単独溶液に下水処理放流水を0.1%（体積）添加しエアレーションを行い、代謝生成物の生成パターンの検討と生成物の赤外線吸収スペクトル（IR）、核磁気共鳴スペクトル（プロトンのNMR）を泥炭地水し尿生物処理水などから得られるE260発現成分のスペクトルと対比し、比較検討を行った。図6、7はグルコースのみを基質とした場合におけるグルコースの減少と微生物（濁度表現）と代謝物（E260）増加のパターンを示したものである。図から明らかなようにグルコースの減少と共にE260が増加し、一度生成したE260は微生物分解せずそのまま残存する。代謝物は初期基質の種類を問わず初期基質量の3~6%（TOC基準）が生物分解の結果、代謝物として質変換される⁴⁾。

グルコース1,000 mg/l (TOC 400 mg/l) の場合の回分植種実験における基質の減少と代謝物(E₂₂₀, E₂₆₀, 色度)の生成

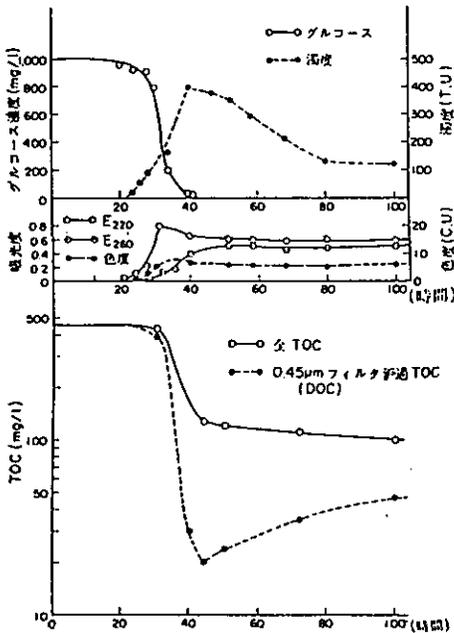


図 6 グルコースの減少と代謝産物 (E₂₆₀) の生成

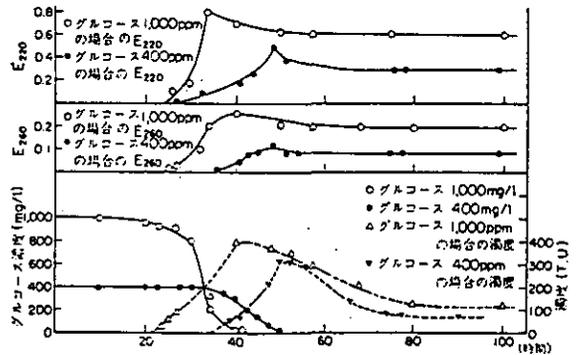


図 7 初期基質量と代謝産物量の関係

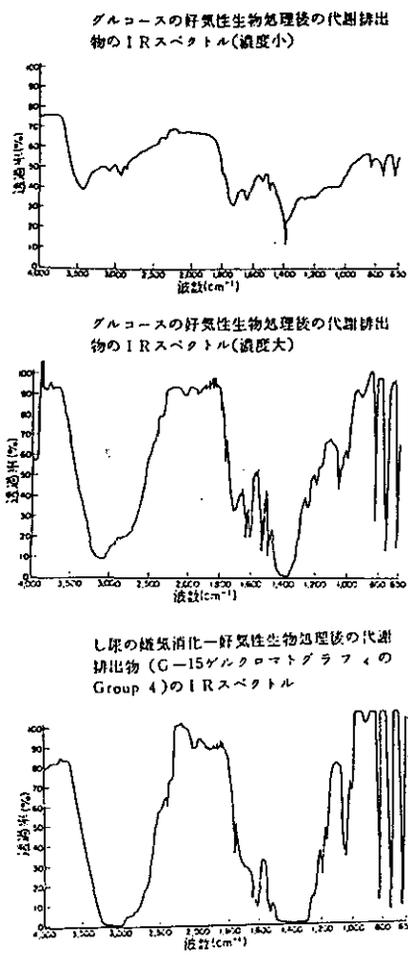


図 8 グルコースの好気性生物処理後の代謝排出物の IR スペクトル

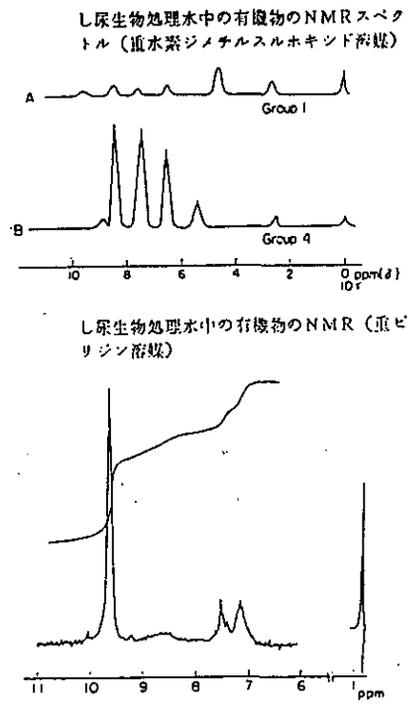


図 9 し尿処理水中の有機物の NMR スペクトル

このような生物代謝生成物の IR スペクトルの例は図 8 に示すようである。試料濃度を高くして微細なスペクトルを明らかにしたグルコース代謝成分と、し尿生物処理代謝成分のスペクトルはほぼ同様なものであることが両スペクトルの対比からも明らかである。し尿生物処理代謝成分の高分子成分(グループ 1)と低分子成分(グループ 4)の NMR は図 9 に示すとおりである。図から明らかなようにプロトンの結合位置は高分子も低分子も同様なものであり分子の大小の差がスペクトルの大小の差として現れている。

Aromatic プロトンと Aliphatic プロトンの存在比を示す図よりフミン質の構造は例えば図 10 に示されるような芳香核が主たる構成部分ではなく脂肪族部分の存在密度も大きいことを示している。紫外部のスペクトルも長波長から短波長にかけて単調増加であり、フェノール性水酸基を有する有機成分に特有の 260~280nm における極大吸収を示さないことも上述の結果を支持している⁵⁾。

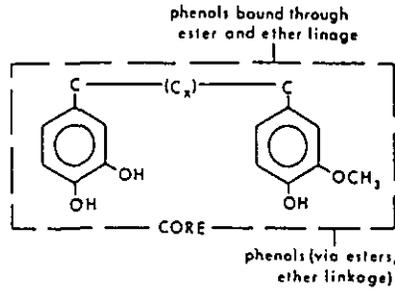


図 10 A symbolic description of the unoxidized color macromolecule.

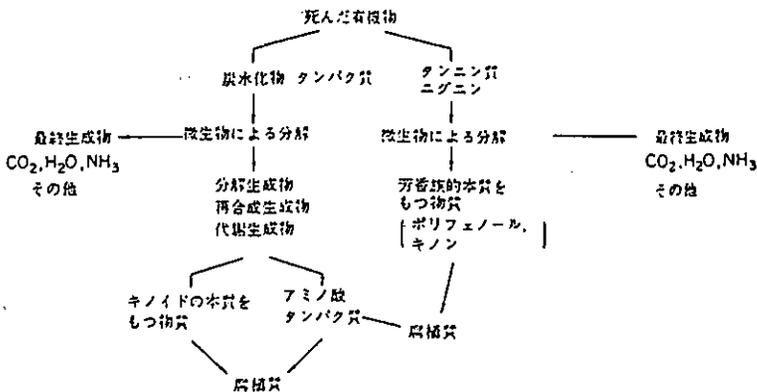
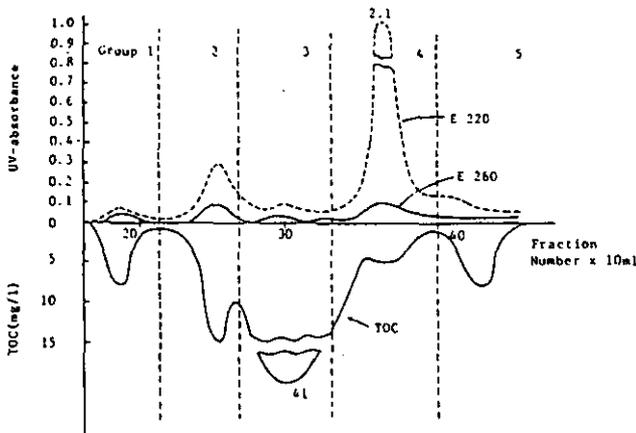


図 11 植物遺体の腐植化における腐植物質生成の予想される道筋 (M. M. Kononova 著, 土壌有機物による)

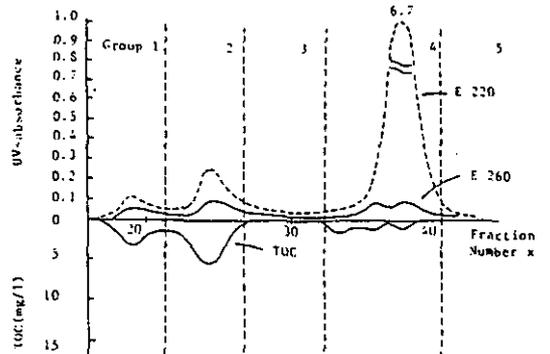
結局水中のフミン質は Kononova らが例えば図 11 に示しているようにリグニン、たんぱく質、炭水化物など多成分の存在を必要とせず、微生物さえ混合培養系であれば、基質は単一であっても多成分系と同様なフミン質を生成することになる⁵⁾。

5. みかけの分子量とその TOC/E260 を用いた河川湖沼、都市下水及びその処理水の水質表現 (処理性予測のできる水質表現)¹⁾

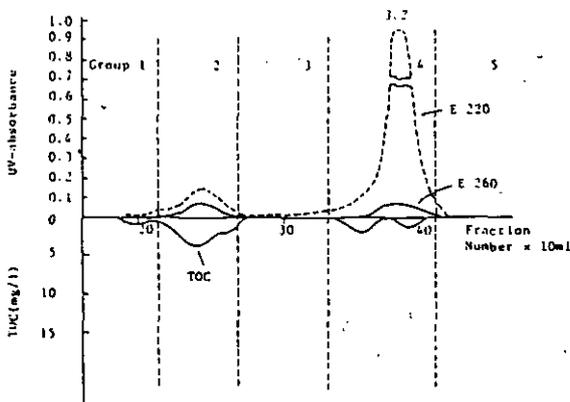
自然水中の E260 発現成分は存在場所によらず生物難分解性のほぼ似たような成分であるので、E260 と TOC の比を求めることにより水中にどの程度生物分解性の有機成分が存在するか推定することが可能となる。そこで凝集処理性および吸着処理性と関連するみかけ分子量を求めることができる分子排除クロマトグラフィーにより各種原水のみかけの分子量とその TOC/E260 を求める水質表現がどの程度処理特性を評価できるかを高度処理プラントを運転して得られた結果について検討してみると図 12~17 のようである。図から明らかなようにみかけの分子量とその TOC/E260 を用いた評価方法により各処理プロセスの除去特性を明確にすることができる。



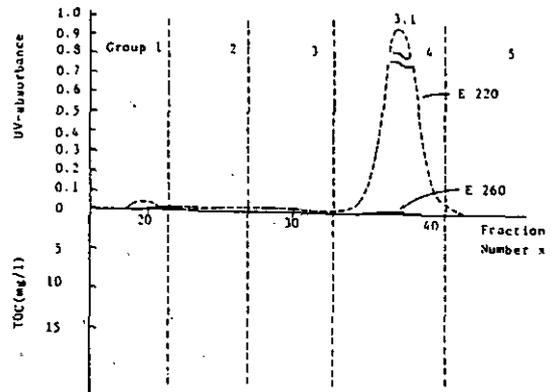
☒ 1 2 Chromatogram of raw sewage of Soseigawa plant ($\times 10$)



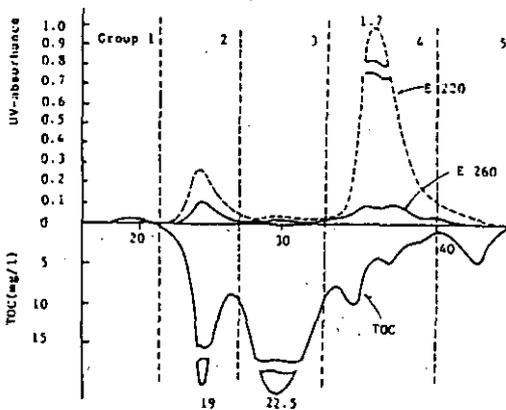
☒ 1 3 Chromatogram of secondary effluent of Soseigawa plant



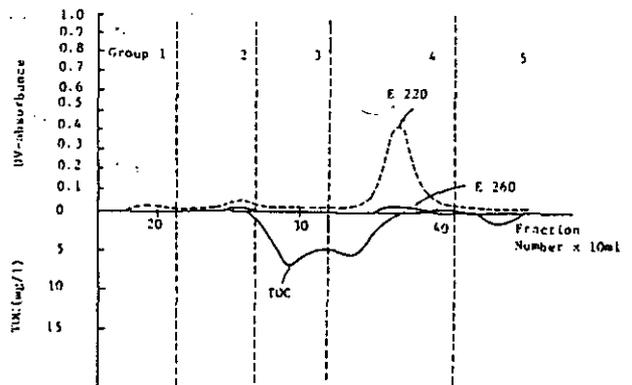
☒ 1 4 Chromatogram of coagulated secondary effluent



☒ 1 5 Chromatogram of coagulated and adsorbed secondary effluent



☒ 1 6 Chromatogram of coagulated raw sewage ($\times 10$)



☒ 1 7 Chromatogram of coagulated and activated carbon adsorbed raw sewage

6. みかけの分子量とそのTOC/E260を用いた限界凝集除去率の予測⁷⁾

凝集処理プロセスはE260発現性の高分子成分の除去に効果的であることが定性的には理解できたので、原水中の有機成分(総括的にTOCで表現)が凝集処理によってどの程度まで除去できるかを原水の見かけ分子量分布とそのTOC/E260比から予測してみる。

凝集剤の注入量を増加することにより高い除去率を示す原水もあれば、除去率の低い原水もあるが、いずれの場合も凝集剤を添加量を増加させても、それ以上除去率が向上しない限界凝集除去率に到達する。このような限界凝集除去率と(分子量)(TOC/E260)の関係は図18に示すように原水のタイプによらず両対数グラフ上で直線となる。従って、原水のみかけ分子量とそのTOC/E260が判れば次式により限界凝集除去率を予測できることになる。

$$f(r_i) = 0.15 (E260/DOC \times K_d^{-1} \times 1000) \dots (2)$$

ここでDOCは0.45 μ mメンブレンフィルターを過したTOC、 K_d はみかけ分子量の逆数で $K_d=0$ のとき約1,500以上、0.90で約100程度である。表3は分子排除クロマトグラフィーにより各種原水のみかけの分子量とそのTOC/E260を求めた結果に式(2)を適用して限界除去率を予測した結果と実際に凝集実験を行った結果を対比したものである。予測値と実測値との適合は前述のように良好である。

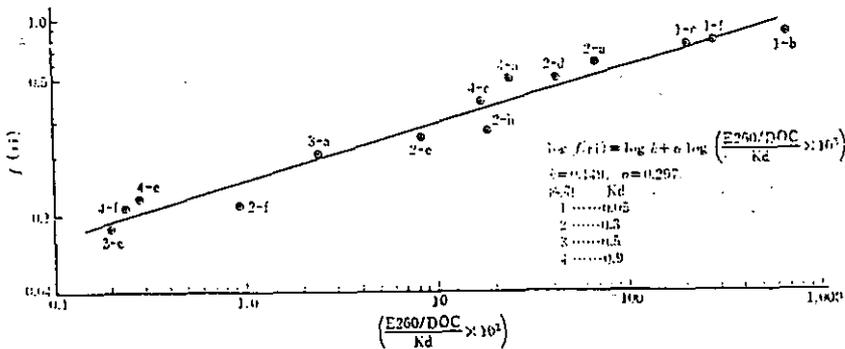


図 18 各種原水の各画群の $\left(\frac{E260/DOC}{K_d} \times 10^3 \right)$ と除去率の関係

表 3 限界凝集処理における予測値と実測値の対比

試 水	原 水 DOC (mg/l)	限界凝集処理 DOC 予測値 (mg/l)	実測値 DOC (mg/l)	予測値/実測値 (%)
生物処理下水放流水	5.4	2.9	2.9	100
泥炭地水	35	8.8	9.0	98
し尿生物処理放流水	16	5.4	5.9	92
生 下 水	41.5	29.4	29.8	99
乳 果 露 水	51	36.1	41	88
S P 露 水	1,100	732	792	92

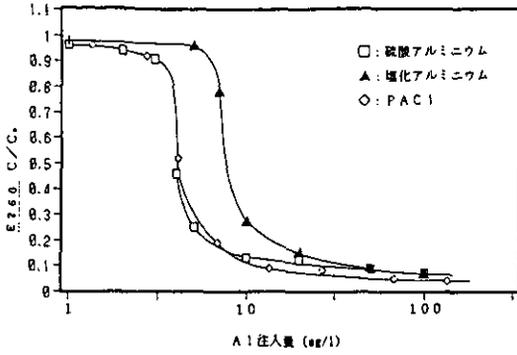


図 19 E260 の発現成分の除去パターン (泥炭地水)

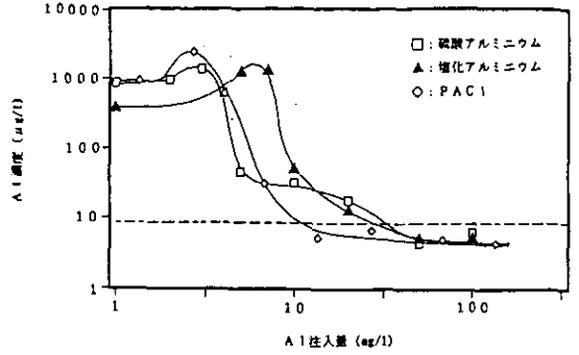


図 20 凝集剤注入量と溶解性残留アルミニウムの濃度の関係 (泥炭地水)

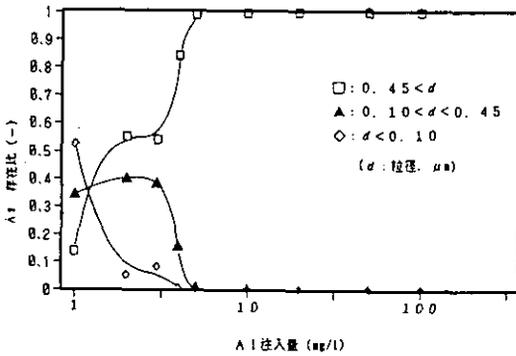


図 21 メンブランフィルターによる凝集処理水の分画 (凝集剤: 硫酸アルミニウム)

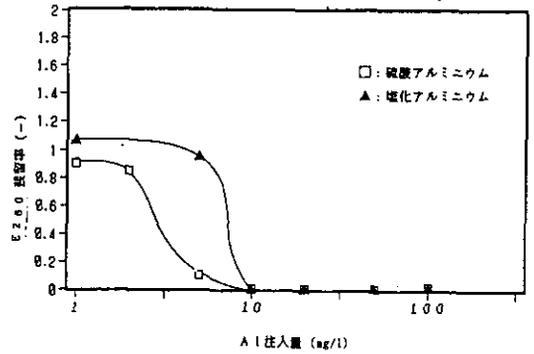


図 22 グループ1の除去パターン (泥炭地水)

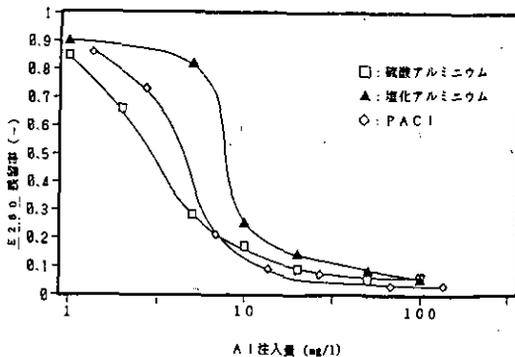


図 23 グループ2の除去パターン (泥炭地水)

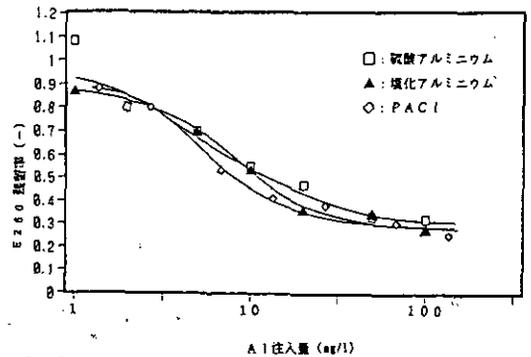


図 24 グループ3の除去パターン (泥炭地水)

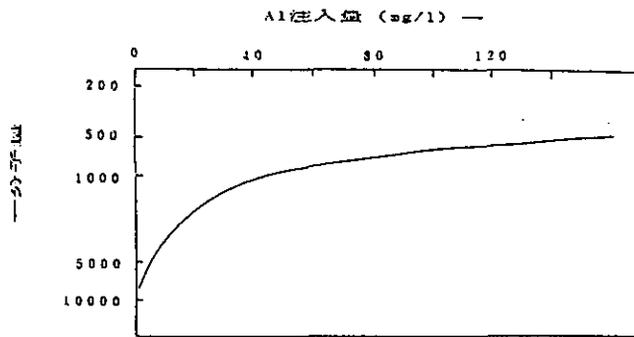


図 25 フミン質の分子量と80%除去に必要な凝集剤注入量の関係
(凝集剤：硫酸アルミニウム)

凝集剤注薬量の増加とともに限界凝集除去率に至る過程を観察した結果は図19～24のようである。図22より凝集剤の注入量が少ない場合は注入したアルミニウム凝集剤はE260発現成分(フミン質)と粒径 $0.45\mu\text{m}$ 以下の錯体を形成し残留アルミニウムとして存在することが判る。また図22と図24の対比からみかけ分子量の大きなグループ1は凝集剤との錯体形成により少ない注薬量で除去できるが分子量の小さいグループ3の場合には除去は $0.45\mu\text{m}$ 以上のアルミニウム水酸化物にグループ3成分が吸着される形でなされるので除去に多量の凝集剤を必要とする。結局、図25に示すように低分子成分程多量の凝集剤を要し、また注入された凝集剤は高分子成分等に特異的に配分されるのではなく、各成分に様に配分され、それぞれ各成分固有の凝結価に到達した成分から凝集除去されていくことになると思われる。

7. みかけの分子量とそのTOC/E260を用いた限界生物処理水質の予測⁸⁾

原水中の有機成分(総括的にTOCで表現)が生物処理によってどの程度まで除去できるかを原水の見かけ分子量分布とそのTOC/E260比から予測してみる。生物処理の場合は溶解性有機成分(DOC)の急激な減少の後にはDOCの濃度がほとんど変化しない安定期がある。このような安定期における水質を除去平衡点として、みかけの分子量とそのTOC/E260を用いて各種の原水の除去平衡点の関係を整理してみると図26と図27のようになる。原水中のE260発現性有機物とE260発現性有機物群がそれぞれ固有の除去率 a および b を持っていると仮定すると考える画群 i (みかけ分子量)のDOC除去率 $f(ri)$ は次式で与えられる。

$$f(ri) = \frac{a \times (\text{E260発現性DOC}) + b \times (\text{E260非発現性DOC})}{\text{全DOC}} \quad \dots (3)$$

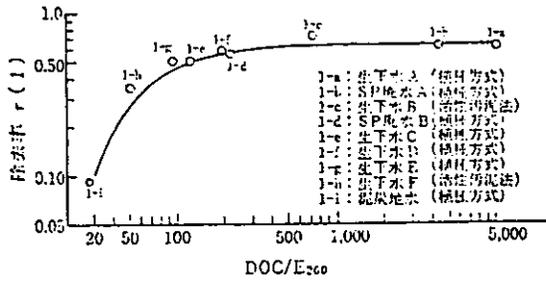


図 26 画群1の DOC/E260 比と DOC 除去率の関係

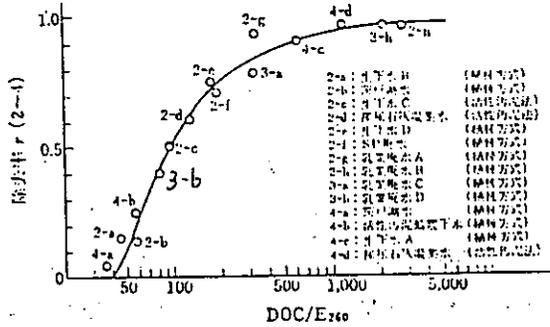


図 27 画群 2~4の DOC/E260 比と DOC 除去率の関係

多くの実験例から係数aとbの値を推算した結果、画群1および画群 2~4のaはいずれも 0.1, また bの値は画群1では 0.65画群 2~4では 0.98であった。得られた係数 a, b を上述の式に代入して計算した結果が図 28 と図 29に示される曲線であり、DOC/E260比が10~1000といった広い範囲の実験結果に対しよく適合している。みかけの分子量分布とDOC/E260比を求め上述の式から生物処理後の水質を予測した例は表4のようであり実際の処理結果によく適合しているものと思われる。

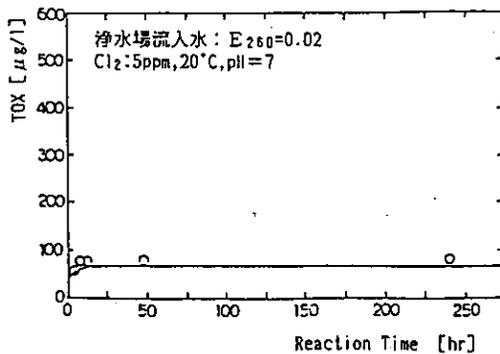


図 28 TOX 予測値と実測値の対比

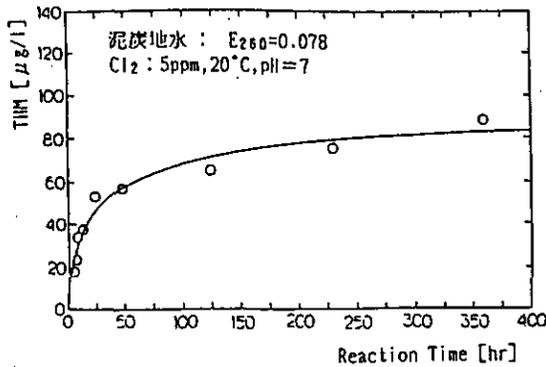


図 29 THM 予測値と実測値の対比

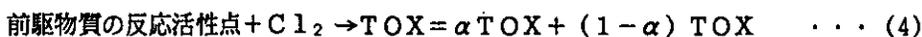
表 4 生物処理における処理予測値と実測値

試水	原水DOC(mg/l)	予測DOC(mg/l)	実測DOC(mg/l)
都市下水 (活性汚泥法)	30	8	9
し尿石灰凝集処理水 の10倍希釈水 (活性汚泥法)	950	16	21
乳業廃水 (植種17h-7.5%)	117	13	8~12
S.P.廃水 (植種17h-7.5%)	1100	646	600~625

8. みかけの分子量とそのTOC/E260を用いた評価方法が適用できない処理プロセスの例：塩素処理プロセスにおける3成分並列逐次反応モデルによるTOX, THM 生成予測^{9~11)}

塩素処理は浄水処理システムの中でも重要なプロセスの一つであるが塩素による酸化、付加反応により本来の殺菌効果以外の効果すなわち高分子フミンの低分子化および TOX (全有機塩素化合物)、THM (トリハロメタン) 等の副反応生成等などが付随する。このTOX, THM 生成は前駆物質濃度、塩素添加量、水温、時間等などの関数であり、一つ一つ実験的に確認することは非常に困難である。

TOX, THM 前駆物質と塩素が反応して TOX, THM が生成する反応は次式のように示すことができる。まず前駆物質に対する塩素の付加反応によりTOX が生成し、その一部 (THM 中間体) が加水分解して THM となる逐次反応と考えられる。



ここで、 K_1 ：塩素付加反応速度係数 [hr⁻¹]， α TOX：THM中間体 [ppb as CHCl₃]，
(1- α) TOX：THM中間体以外の有機塩素化合物 [ppb as TOCl]

塩素と反応してTOX生成に寄与するフミン質のTOX生成活性点の種類は一樣ではなく、塩素との反応速度が様々に異なるものが存在していると考えられる。

THM生成速度を検討する場合、THM前駆物質をフミン酸、フルボ酸や分子サイズという成分分離操作のために筆者等が先に検討して来たような分類ではなく、反応活性点のTHM生成速度別の大小がどのような割合で存在しているかといった観点で現象を見るが必要になると考えられる。そこで、注入塩素との反応が①速い活性点、②中間的な反応速度の活性点、③反応速度の遅い活性点の3グループが前駆物質中に存在すると考えることによって（三活性点群の仮定）、各活性点と塩素との反応で最初に起こる塩素付加反応の発現は注入塩素量と前駆物質量との比、即ちCl₂/E260に依存し、比が小さい時は反応速度の速い活性点で主として反応が生じる。以上のような3成分の活性点グループを考えればTOX生成速度の積分型表示式は次のように表現することができる。

$$TOX = \sum_{i=1}^3 P_i (1 - e^{-K_{1i}t}) \quad \dots (6)$$

ここで、 P_i ：TOXで表現した成分群*i*（活性点グループ）の濃度 [ppb as Cl]， t ：反応時間 [hr]

K_{11} ， K_{12} ， K_{13} ，はそれぞれ反応の速い成分群，中間速度の成分群，反応の遅い成分群の反応速度定数である。THMの前駆物質である α TOXおよび全TOXである(1- α) TOXの生成反応速度定数を $K_{11}=10K_{12}=100K_{13}$ のように定義する。 P_1 ： P_2 ： P_3 の存在比率はダイアグラムから添加Cl₂/E260を指定して求められる。THM生成速度の積分型表示式は次のように表現できる。

$$THM = \sum_{i=1}^3 \alpha P_i (1 - e^{-K_{2i}t}) \quad \dots (7)$$

もし、 $K_{1i} \gg K_{2i}$ であれば式(16)は次式のようなになる。

$$THM = \sum_{i=1}^3 \alpha P_i \left\{ \frac{K_{2i}}{K_{2i} - K_{1i}} (1 - e^{-K_{1i}t}) - \frac{K_{2i}}{K_{2i} - K_{1i}} (1 - e^{-K_{2i}t}) \right\} \quad \dots (8)$$

αP_i ：CHCl₃で表現した活性点グループの濃度 (ppb)

反応温度が K_{2i} に与える影響は次式で表現できる。

$$\log K_{2i} = 0.052T - 1.56 \quad \dots (9)$$

T ：反応温度 (°C)

塩素注入量を横軸にとり、E260で示した前駆物質（フミン質類）の濃度をパラメータとし、縦軸に TOX, THM の最大生成量を示すプロットし、これらのプロットを式化して示すと、次のようになる。

TOXの最大生成量について：

$$C_{12}/E260 \geq 94 \text{ の場合 : } TOX_{\max} = 822 [C_{12}]^{0.365} [E260]^{0.529} \quad \dots (10)$$

$$C_{12}/E260 < 94 \text{ の場合 : } TOX_{\max} = 67.1 [C_{12}]^{0.968} \quad \dots (11)$$

THMの最大生成量について：

$$C_{12}/E260 \geq 74 \text{ の場合 : } THM_{\max} = 819.7 [C_{12}]^{0.333} [E260] \quad \dots (12)$$

$$C_{12}/E260 < 74 \text{ の場合 : } THM_{\max} = 12.65 [C_{12}]^{1.246} \quad \dots (13)$$

上述のような関係式またはダイヤグラムを用い試水のE260のみの値から任意の注入塩素量における TOX_{max}, THM_{max} を求め、異なる水温における TOX, THM を算出した結果は TOXについては図28, THMについては図29のようである。いずれの場合も、予測値と実測値の適合性は良く、実用に耐え得るものと考えられる。

9. みかけの分子量とその TOC/E260を用いた吸着処理水質の予測^{12, 13)}

活性炭吸着操作は原水濃度、成分組成比、活性炭添加量、反応時間等の複雑な組み合わせによって処理結果が定まるので、凝集処理や生物処理の場合のように簡単に平衡条件を設定することはできない。特に固定層連続吸着操作の場合には時間の要素を省略することはできない。河川水などの浄水処理を吸着処理により行う場合には通常ppmオーダー以上のbackgroundとしてのフミン質とppbオーダー以下の農薬等の微量有機成分との競合吸着あるいは両者の錯体形成の機序を考えなければならない。図30は農薬が単独で存在する場合の破過とbackgroundとしてのフミン質共存下における農薬の破過のパターンを示したものである。24)このような多成分系における各成分の破過曲線を普遍的な物性値のみを用いて予測することはできないため、①実験値と計算値のカーブフィティングにより粒内拡散係数などのパラメータを求めるか、あるいは②押し出し流れで表面拡散律速を仮定したときの相似律を示す式から得られる次のような相似律により内径2mm長さ9.8mmのマイクロ活性炭を用いて5hr程度吸着実験することにより実際のプラントによる1年間の吸着運転のパターンを予想することが考えられる。

$$Ts/Rs^2 = T_L/R_{L2} \quad (14)$$

ここで、Ts, T_L : それぞれマイクロカラム, ラージカラムの空筒滞留時間 (sec), Rs, R_L : それぞれマイクロカラム, ラージカラムの活性炭粒径 (cm)

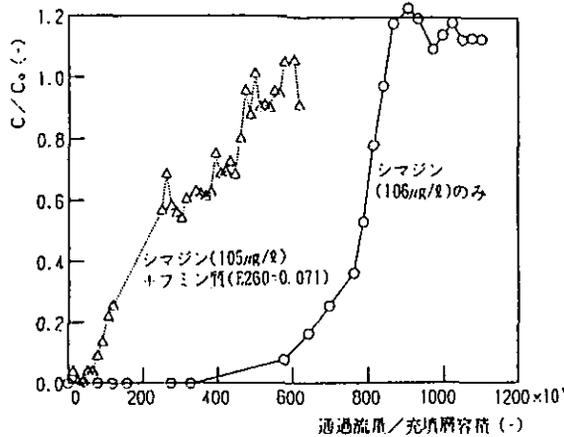


図 30 シマジンの破過曲線

いずれにしても、凝集、生物処理、膜分離プロセスなどで除去できない微量有機成分の除去は吸着プロセスに頼らざるを得ない。このような場合、先に述べたようなみかけ分子量とそのTOC/E260のような指標では感度の点からも不十分と考えられる。

そこで、次に各個別計測方法による処理性評価がどの程度有効か、確認してみたい。

10. 個別計測方法の問題点 (活性炭吸着濃縮-脱着-GC/MS)^{14, 15)}

水中の微量有機成分は ppb レベル以下の濃度で存在しているため、通常何らかの濃縮が必要である。図31は濃縮方法として河川水を活性炭により吸着し様々な脱着方法と GC/MS方法の検討手順を示したものである。昇温加熱脱着は活性炭を昇温下に He ガスを通気し直接 GC/MS (2重収束マグネットセクタ型質量計 VG7070 に直結した Hewlet Packard モデル 5110A ガスクロマトグラフ) に自動注入する方式によりおこなった。

30m×0.32mmのキャピラリーカラムを用いて昇温分析を行えば図32に示すように一本のカラムで百種類に近い成分を同時に分離することが可能である。しかしながらこのような高分離能のカラムを用いても、なおかつ、みかけ上一つのピークの中に二つの成分が混在している場合があるので、質量分析は通常の EI-MS (電子衝撃) のみならず CI-MS, 精密質量分析も併用する必要があるし、また表5に示すように一つの脱着方法のみで多種多様な成分を脱着することができないので日常的な処理性評価指標として用いるにはあまりにも煩雑で多大の時間を要する。そこで次節で、水中にどのような成分がどの程度存在しているか判らなくても、存在成分の有害性を変異原性という形で表現できる生物試験がどの程度有用なものか検討してみたい。

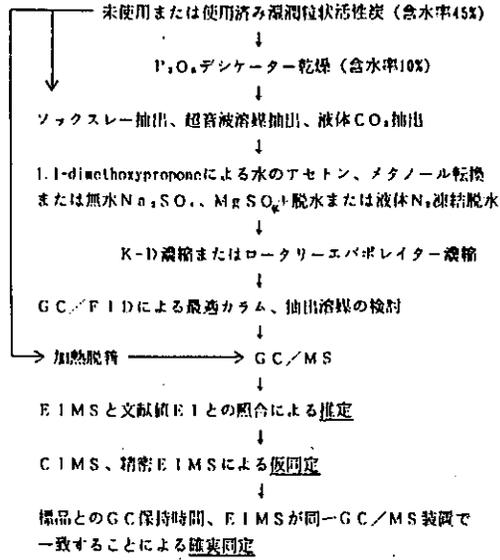


図 31 個別成分計測手順の概要

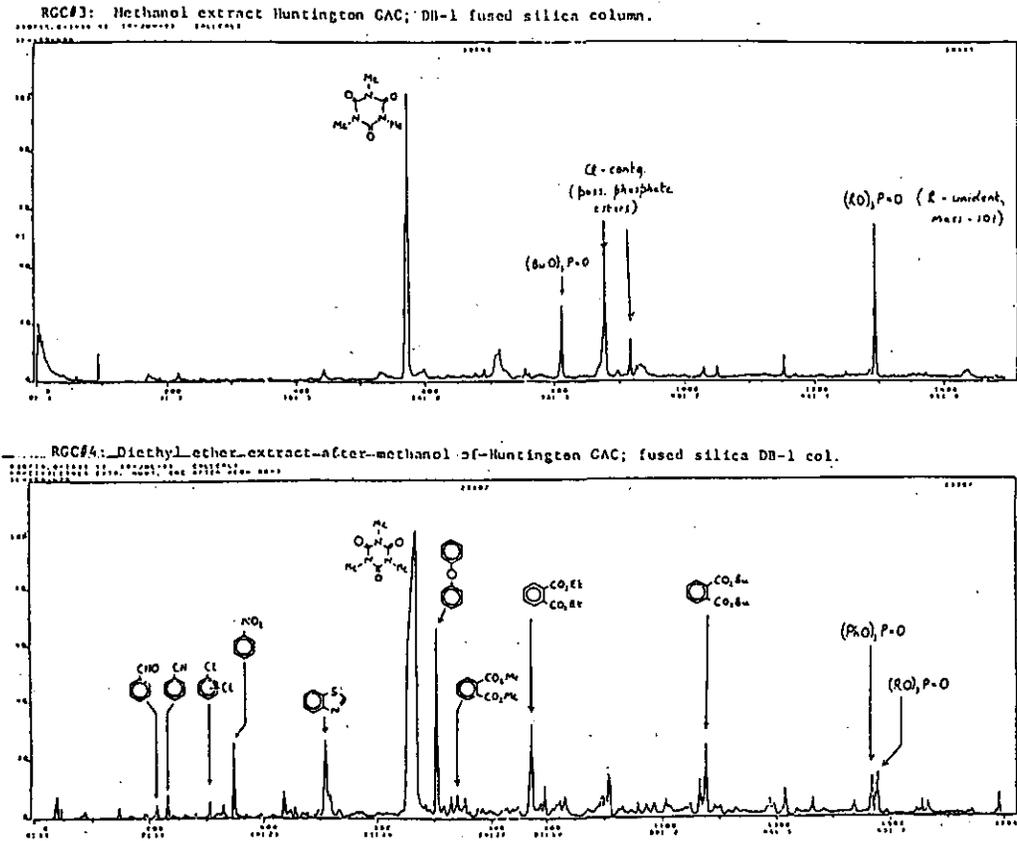


図 32 米国水道原水中の微量有機成分のガスクロマトグラム

表 5 活性炭の溶媒抽出物及び加熱脱着物をGC/MSにより同定した米国水道原水中の有機成分

Compound	Solvent ^a	Compound	Solvent ^a
Dichlorobromomethane	AD	Dibenzofuran or isomer	C
Dibromochloromethane	ABD	1-Phenyl-penten-3-one	B
Trichloroethylene	D	Phthalates: dimethyl, diethyl, dibutyl, butylbenzyl	ABC
Tetrachloroethylene	ABD	α-Tetralone	B
Benzene	D	2(Methylthio)benzothiazole or isomer	BC
Toluene	D	Tetramethyl tetralone isomer	BC
Pyrrrole	D	Atrazine	AB
Styrene	D	Phenanthrene	C
Alkyl benzenes (C ₂ -C ₄)		Caffeine	ABC
Bromoform	A	Diphenyl ether	
Chlorobenzenes (mono, di, tri)		Pyridine	D
Benzaldehyde		Alkyl pyridines	D
Denzonitrile		Benzyl chloride	C
Phenylacetaldehyde	B	3-Methyl-2-cyclohexenone	C
2-Pentyl furan	ABC	o-Cresol	C
Nitrotoluenes	ABC	4-Phenyl-3-buten-2-one	C
Acetophenone	AC	Trimethyl isocyanurate	
Benzofuran	D	Diphenyl	
Methylbenzofuran	D	1,4-Naphthoquinone	C
Indene	D	Phosphates: tributyl (ABC), triphenyl (ABC), tris(chloro- ethyl)(AB), tris(chloro- propyl)(AB), tris(butoxy- ethyl)(AB)	
Methyl phenyl ether	D	Anthrone	C
Benzyl cyanide or isomer	D	Methyl anthracene or methyl phenanthrene	C
1,3-Dimethoxybenzene	ABC	Anthraquinone	C
Tetrahydronaphthalene	ABC	Fluoranthene or pyrene	C
Naphthalene		Benzophenone	C
Benzothiazole or isomer			
Quinoline			
Alkyl naphthalenes (C ₁ -C ₃)			
Methyl quinoline or isomer	C		
Coumarin	C		
1-Naphthyl isocyanide or isomer	C		
Alkyl biphenyls (C ₁ -C ₃)	C		

^aA - acetone; B - methylene chloride; C - toluene; D - thermal desorption. Omission of reference indicates component detected in all extracts.

1.1. 物理化学的水質指標の限界と生物試験の効果¹⁶⁾

上述のように ppt レベルの特定の成分に的を絞って特定の微量成分を検出することは GC/MS で可能であるが、その有害性の程度を知るためには検出された成分に関する有害性のデータが必要であり、ましてや複合成分の場合における有害性の程度を知ることはほとんど不可能である。そこで存在する成分種が判らなくてもその有害性を感知する生物試験の有用性を変異原性試験 (Ames試験) を例にとって検討してみる。石狩泥炭地井戸水を用いて塩素処理をはじめとした様々な殺菌処理を行い、生成した水中の変異原性成分を様々な方法で分離しAmes試験に供した結果は図33のようである。図から明らかのように塩化メチレン抽出可能な疎水性成分の変異原強度が大きいのでそれなりに煩雑で時間を要する変異原性試験などの代替指標として塩化メチレン抽出可能な疎水性成分の TOC または E260 も考えられる。しかしながらいずれの場合も変異原性の有る無しが判っても、その有害の程度を定量的には表現し得ない。そこで有害の程度を評価する一つの方法として変異原性と発ガン性の関係ダイヤグラムを用いて変異原性試験の結果を発ガン性試験の結果に転換し、その結果を例えば one-hit モデルのような risk モデルを適用すれば処理による到達濃度レベルを曲がりなりにも、もう少し合理的に決められる可能性がある。

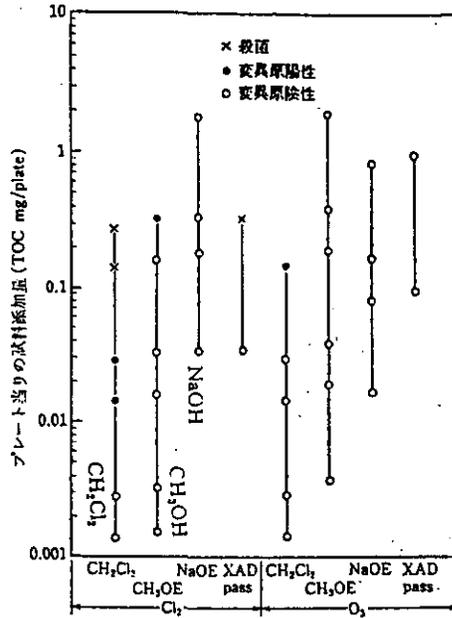


図 33 塩素処理水、オゾン処理水の各面分変異原強度の比較 (TA 98)

12. おわりに

以上の記述のように水界の有機成分の存在種、量、形態等などを一つの水質指標で普遍的に評価することは困難で、現在のところ対象、目的に応じて使い分けざるを得ない。紙面の制約のためオゾン、膜処理および各研究者の重要な成果を引用し議論することができなかった。

参考文献

- 1) 丹保憲仁, 亀井 翼 (1976) : マトリックスによる都市水代謝の水質評価, 水道協会雑誌, 第502号, pp.2~24.
- 2) 亀井 翼, 丹保憲仁 (1988) : 紫外部E260と電導率E, Cからみた流出解析, 土木学会北海道支部論文報告集.
- 3) 亀井 翼, 丹保憲仁 (1982) : 好気性生物化学プロセスからの代謝産物の挙動と性質 (IV), 下水道協会誌, Vol.19, No.213.
- 4) 丹保憲仁, 亀井 翼, 高橋正宏 (1981) : 好気性生物化学プロセスからの代謝産物の挙動と性質 (I), 水道協会誌, Vol.18, No.210.
- 5) R. F. Christman (1968) : Symposium on Organic Matter in Natural Waters, University of Alaska, September.
- 6) Kononova, M. M (1961) : Soil Organic Matter, Pergamon Press, N. Y.

- 7) 丹保憲仁, 亀井 翼 (1978) : 処理性評価のための水質変換マトリックス (I), 水道協会雑誌, 第530号, pp.8~18.
- 8) 丹保憲仁, 亀井 翼 (1978) : 処理性評価のための水質変換マトリックス (II), 水道協会雑誌, 第531号, pp.15~24.
- 9) 亀井 翼, 丹保憲仁, 木村雅敏, 小畑 光 (1984) : THM生成量予測のためのモデル式, 土木学会39回年講.
- 10) 丹保憲仁, 亀井 翼, 大迫尚司 (1986) : 動力学モデルによる全有機ハロゲン化合物, トリハロメタン, 及び残留塩素の経時変化の予測, 38回全国水道研究発表会.
- 11) N. Tambo and T. Kamei (1984) : Kinetics of THM formation, The 1984 International Chemical Congress of Pacific Basin Society (Honolulu) .
- 12) 松井佳彦, 亀井 翼, 丹保憲仁, 重田 猛 (1992) : フミン質共存下における微量有機成分の活性炭吸着特性, 土木学会47回講演概要集.
- 13) 松井佳彦, 亀井 翼, 丹保憲仁, 川瀬悦郎 (1992) : マイクロカラム法による固定層吸着過程の迅速評価, 水道協会雑誌, 第691号, pp.13~22.
- 14) Millington, Bertino, Christman, 亀井 翼 : 活性炭に吸着した微量有機成分の脱着-分離-同定の標準化, 35回全国水道研究発表会.
- 15) D. Millington, D. Bertino, T. Kamei and R. Chistman (1983) : Water Chlorination, Environmental Impact and Health Effects, Ann Arbor Science.
- 16) N. Tambo, T. Kamei (1989) : Quantitative risk evaluation of natural surface water before and after disinfection process, Technical Papers Water Nagoya '89, pp.234~243.

埋立地浸出水に含まれる有機物の処理

今井章雄 (国立環境研究所地域環境研究グループ)

1. はじめに

人間及び産業活動に起因して生じる廃棄物処分の多くは埋立に依存している。我が国における産業廃棄物の年間排出量は約3億トン、一般廃棄物のそれは約1万2千トンに達しており、全廃棄物の30%以上が最終的に埋立処分されている(岡崎 1990)。埋立処分が広く行われているのはそれに要する経費が低く、新たな土地造成にも再利用できるなどの理由による。埋立処分場は埋立廃棄物の種類及び性状に応じて3つのタイプに区分される: 遮断型, 管理型, 安定型。一般廃棄物の最終処分場は全て管理型であり, 産業廃棄物のかなりの部分が管理型処分場に持ち込まれている。

管理型処分場は有機汚濁成分等を溶出する廃棄物を受け入れ, 廃棄物の浸出水を水質汚濁法の排水基準に適合するように処理することが義務づけられている。埋立廃棄物に含まれる有機物は, 埋立初期においては, 十分な微生物分解を受けていないため, この時点での浸出水は化学的酸素要求量(COD)あるいは全有機炭素(TOC)に比較して生物化学的酸素要求量(BOD)の占める割合が高い。しかしながら, 埋立末期には, 可溶化した有機物はほとんど微生物分解を受けるためCODあるいはTOCに対するBODの比が著しく低くなり, 生分解困難な性質となる($BOD/COD < 0.1$; $BOD/TOC < 0.1$) (Ering 1984; 稲森 1989)。また, 高濃度の窒素成分を含んでおり, その大部分はアンモニア性窒素(NH_4^+-N)として存在する。浸出水中の難分解性有機物及び窒素を適正に処理しなければ廃棄物埋立処分は完了したとは言えず, かえって二次汚染を引き起こす可能性が高い。従って, 浸出水を高度処理することは水環境保全上極めて重要である。従来, 埋立浸出水の処理については, 生物学的処理単独では有効ではなく, 生物学的処理と物理化学的処理を併用しているが, 多大な設備・管理費用を要している(Ering 1987)。コスト削減の観点から, 生物処理の効率化が求められている。

本研究は, 浸出水中の難分解性有機物を除去する生物処理プロセスとして, 長い微生物滞留時間, 高い微生物濃度及び反応速度, かつ吸着反応が期待できる生物活性炭流動床プロセス(Jeris et al. 1977; Switzenbaum and Jewell 1980; Andrews and Chen 1975; Ying and Weber 1979)を選択し, 実際の浸出水を用いてその有機物処理能を評価することを展望する。本報では, 特に水理学的滞留時間(HRT)に注目し, HRTの増大に伴い定常状態における有機物除去が向上するかを, すなわち生分解により有機物が除去されているかを検討した。さらに, HRTをパラメータとして処理水をゲル濾過法を用い分子量分画を行い, 生分解性と有機物の分子量の関係を検討した。また, オゾン前処理により難分解性有機物の生分解性が向上すると報告されていることを鑑み(海質

1990), オゾン処理の浸出水有機物に与える影響についても分子量分画により評価を試みた。

2. 実験装置及び方法

2.1 実験装置

本研究で用いた生物活性炭流動床プロセスを図1に示す。本プロセスは好気と嫌気の二つの流動床反応器からなる。流動床反応器は、以前、嫌気-好気循環プロセスとして2年以上運転していた反応器を、循環をとりやめ好気-嫌気の配列にしたものである。反応器はともに塩ビ製で同じダイメンションを持つ(高さ90cm;直径8cm;反応器容積2L;活性炭流動容積1L)。流入流量はタイマー接続の電磁弁、水位センサー、計量シリンダーを組み合わせ1L/dayに設定した。活性炭の流動は流動床上部からの流出水をポンプにより底部へ約3L/minで返送することにより達成した。活性炭としては粒状活性炭(BAC,平均径0.74mm,呉羽化学)を各流動床あたり300gを蒸留水中で吸引脱気後添加した。硝化反応により好気流動床におけるpHが著しく低下するため、pHコントローラを設置し0.5M NaOHを自動添加しpHを約7に制御した。嫌気性流動床のpHは7-7.5の範囲で安定していた。

2.2 浸出水の性状

流入水として用いた浸出水は一般廃棄物と産業廃棄物をともに埋立している処分場由来する。浸出水は5A濾紙で濾過し水道水でDOC約90mg/Lに希釈調整しオートクレイブ処理(121°C,40分)後放冷したものを用いた。表1に流入浸出水の水質特性を示す。BOD/COD比の平均は0.1以下で、全窒素の約85%をアンモニア性窒素が占めており、埋立年数の長い処分場からの生分解性が低い浸出水であることが分かる。浸出水には生分解に必要なリンが不足しているため KH_2PO_4 をリンとして10mg/L添加した。

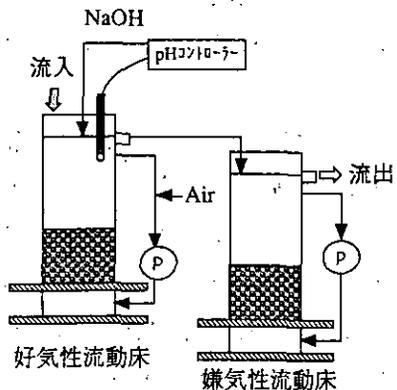


表 1 流入浸出水の水質特性

パラメータ	平均値	変動範囲 最小-最大
COD _{Mn} , mg/L	131	86-221
DOC, mg/L	109	81-157
BOD ₅ , mg/L	12	1-26
T-N, mg/L	214	147-359
NH ₄ ⁺ -N, mg/L	181	104-332
T-P, mg/L	2	0-3.4
pH	8.1	7.6-9.0

図 1 生物活性炭流動床プロセスの概要

2.3 HRT 変動実験

各流動床当たりの HRT を 24, 48, 72, 96 hr に設定し、流出溶解性有機炭素 (DOC) が安定するまで運転を行い (80 日以上)、定常状態において DOC 除去能を評価した。更に、ゲル濾過クロマトグラフィにより流出水に対して分子量分面を行った。

2.4 オゾン処理実験

浸出水を 5A の濾紙で濾過後、水道水に 2 倍希釈したものをサンプルとして用いた。pH 8 に調整した試水 500 mL 三角フラスコに入れスターラーで攪拌しながらオゾンガスを散気管から曝気した。水温は約 20 °C、オゾンガス濃度は約 37 g/Nm³、ガス流量は 50 mL/min に設定した。オゾン接触反応時間、0, 30, 60, 120, 180 min 後にサンプルを採取し DOC, BOD, 吸光度を測定した。

2.5 分析方法

DOC はガラス繊維フィルターで濾過後、全有機炭素分析計 (島津 TOC-500) により測定した。吸光度は光路長 1 cm の石英セルを用いて分光光度計 (島津 UV-1000) により測定した。pH, BOD は下水道試験法 (日本下水道協会 1984) に従った。オゾンガス濃度はヨウ化カリウム法により測定した (海賀 1992)。

分子量分布クロマトグラムは旭化成 Asahipak GFA-30 (内径 7.6 mm, 長さ 500 mm) を用いて高速液体クロマトグラフィにより求めた。0.1 M リン酸緩衝液 + 0.3 M NaCl 溶液を pH 7.0 に調整したものを移動相溶媒として使用した。流速は 0.8 mL/min, 検出は吸光度, UV 254-nm, 室温で実験を行った。分子量較正曲線作成にはブルーデキストラン (分子量 2000000) アルブミン (牛漿液, 分子量 66000), カルボニックアンヒドラーゼ (分子量 29000), チトクロム-C (分子量 12400), クレアチニン (分子量 113) を用いた。また、得られたゲルクロマトグラムが適正であるかを確かめるため、ゲルクロマトグラフ面積値とゲルクロカラムをバイパスして内径 1 mm, 長さ 10 m のテフロンチューブを通過させ得られた面積値と比較して回収率を求めた。

3. 実験結果及び考察

3.1 HRT の影響

HRT を変動させた場合の定常状態における平均 DOC 除去率を図 2 に表す。好気性流動床による除去率は 42-57%, 好気-嫌気流動床によるそれは 52-67% であった。同一浸出水を HRT 48 hr で半連続活性汚泥プロセス及び嫌気-好気ろ床プロセスで処理した場合、DOC 除去率は 20% 以下であったと報告されており (稲森 1989; 稲森他 1989; Hosomi et al. 1989), 生物活性炭流動床プロセスが浸出水中の難分解性有機物処理に非常に有効であると結論される。図 2 は HRT の増大に伴う定常状態 DOC 除去率の上昇を明白に示しており、本プロセスにおいて有機物が生分解により除去されていることを示唆する。須藤ら (1991) は嫌気-好気循環生物活性炭流動床プロセスにより本研

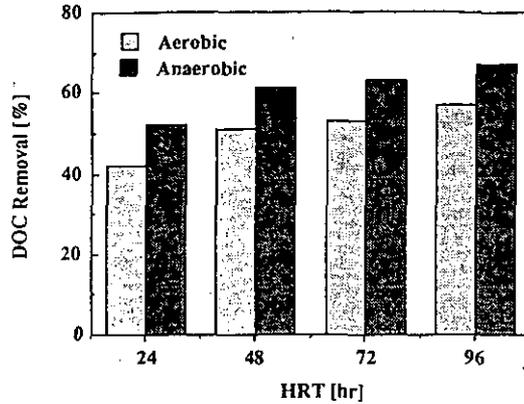


図 2 HRT の DOC 除去能に与える影響

究で用いた浸出水の処理を行い、有機炭素質収支より有機物の大部分は生分解により除去されると示唆しており、本研究の結果と整合する。

浸出水流入、好気性及び流動床流出について得られた分子量分画クロマトグラムを図3、4に示す。UV 254-nm としての有機物回収率は 75-85%で、回収率 90%以上というゲル濾過法の適正条件には満たなかった。ゲル濾過材はポリビニルアルコールから成り移動相塩濃度も十分に高いため、15-25%の有機物がゲルカラム内に疎水的に捕捉されたと考えられる。排除限界は溶出時間10.9 min (ブルーデキストラン)、全溶媒容量 (ポイド容量とゲル粒子内溶媒容量の和) は 20.2 min (クレアチニン) に対応する。好気及び嫌気性流動床流出水の場合は排除限界と全溶媒容量に対応する溶出時間内に有機物は溶出したが、流入浸出水の場合は20.2 min以降にもかなりの有機物が溶出し、テイリング効果が認められた。流入浸出水は処理水に比較してより疎水的性質が強いと推察される。テイリングのため多少低い見積もりの可能性はあるが、有機物の大部分は分子量 1 万に対応する13.8 min 以降に溶出しており、浸出水では分子量 1 万以下の有機物が優占すると推察される。

図3、4から、HRT の増大とともに相対的に低分子側の有機物が顕著に減少することが認められる。従って、高分子有機物が難生分解性であり、生物活性炭流動床プロセスによるDOC 除去は主に低分子有機物の生分解よると考えられる。分子量の大小として浸出水の生分解性を評価し得る可能性を示す。得られたクロマトグラムを 0.5 min 間隔に切り各片の面積から重量平均分子量を求めた (図5)。平均分子量は HRT の増大とともに上昇する傾向を示した。これは低分子有機物が生分解により消失し高分子が残存することにより見かけの分子量が相対的に増大したと解釈できる。嫌気性流動床流出の平均分子量は好気性流動床のそれよりも大きい。これは嫌気性処理が好気性処理で除去できない低分子および中程度の有機物を更に除去したことを意味し、嫌気性処理の有効性が推量される。

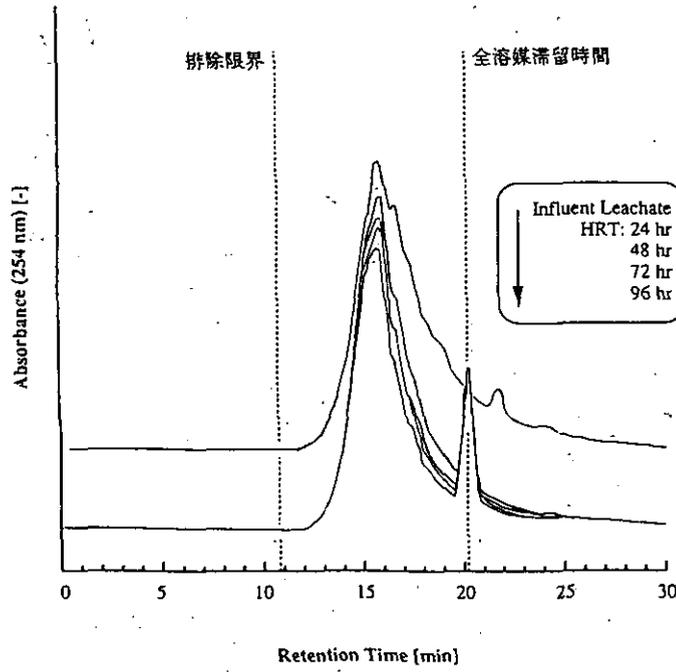


図 3 好気性流動床流出水のゲルクロマトグラム

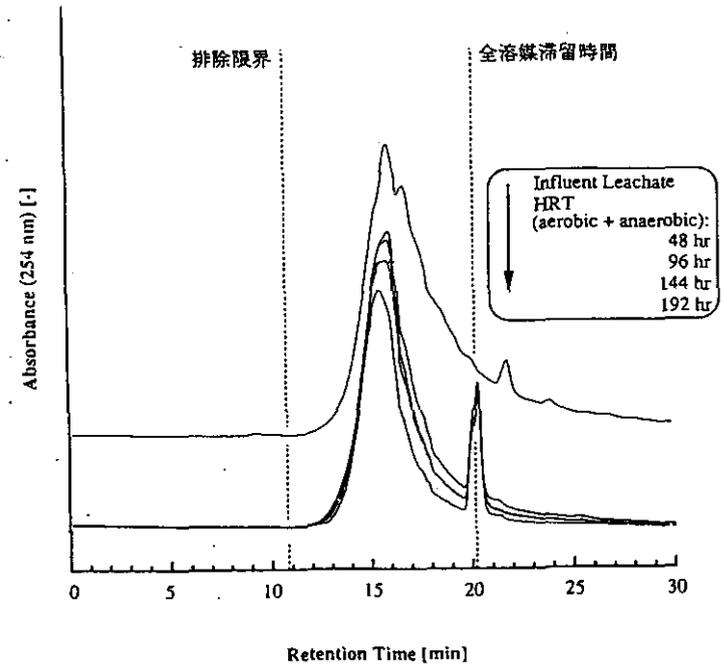


図 4 嫌気性流動床流出水のゲルクロマトグラム

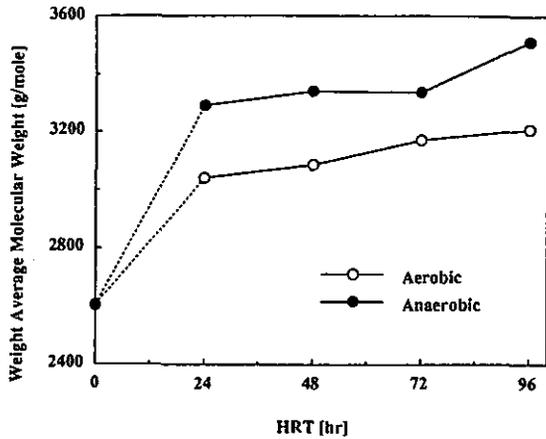


図 5 HRT の好気性、嫌気性流動床流出水平平均分子量に及ぼす影響

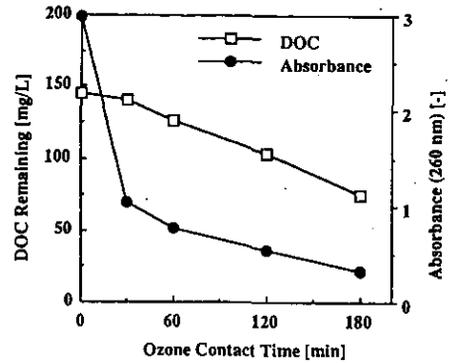


図 6 オゾン処理の及ぼす浸出水の DOC 及び吸光度(260-nm)への影響

3.2 オゾン酸化の影響

図6にオゾン処理に伴う浸出水のDOC及び吸光度 (UV 260 nm) の変化をオゾン接触時間の関数として表す。DOC は接触時間に対して直線的に減少し、接触時間 180 min で約48%除去された。一方、吸光度は接触時間30 minで約 2/3、180 minでは90%と接触時間に対して指数的に減少した。これはオゾン酸化が浸出水の分子構造を芳香性及び不飽和結合の構成有機物からUVを吸収しない飽和結合を持つ有機物に変化させたことを意味する。5 mg/Lであった浸出水のBODが180 min オゾン酸化により28 mg/Lに上昇した。BOD/DOC比は0.03 から0.35 急激に上昇し生分解性が向上したことを示す。浄水処理の分野で難生分解性物質を含む上水原水をオゾン処理すると生分解性が向上すると報告されている (DeWaters and DiGiano 1990)。土水原水中の難生分解性物質であるフミン物質は埋立浸出水中にも多量に含まれると報告されており (池口 1985)、フミン物質的な有機物の性質が浸出水の生分解性を反映しているのではと推察される。

オゾン処理を行った浸出水のゲルクロマトグラムをオゾン接触時間をパラメータとして図7に表す。オゾン処理を受けた浸出水のクロマトグラムは生物活性炭流動床プロセス処理水のクロマトグラムと大きく異なった形状を示した。生物処理を受けた浸出水有機物は主に低分子側に減少がみられるが、オゾン処理の場合は低分子有機物とともに高分子有機物も大きく減少している。特に、接触時間 180 min でクロマトグラムは押し潰れた形状を呈し、溶出時間17.5 min (分子量 750) に新しいピークを生成した。DOCが吸光度ほどに減少していないことを考慮すると、有機物のかなりの部分が UV を吸収しないDOC として低分子側に移行したと考えられる。生物活性炭流動床プロセス流出水の場合と同様に、ゲルクロマトグラムより重量平均分子量を求めた (図8)。

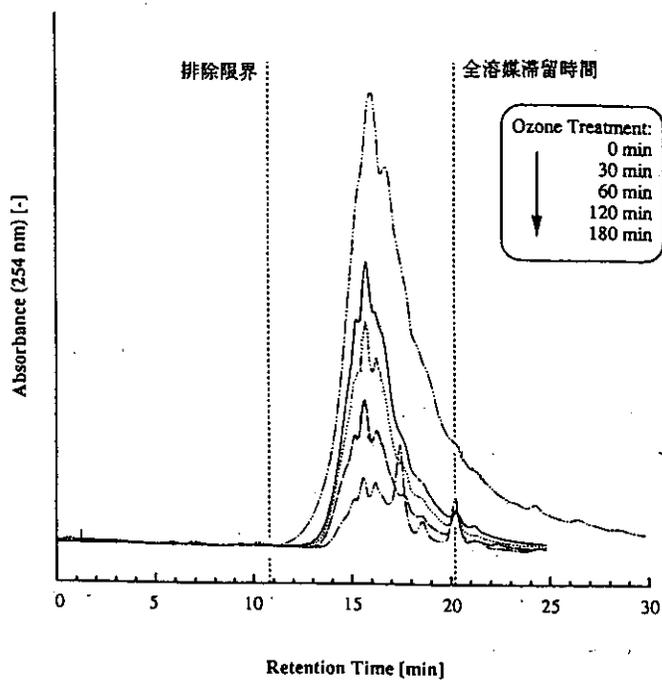


図 7 オゾン処理浸出水のゲルクロマトグラム

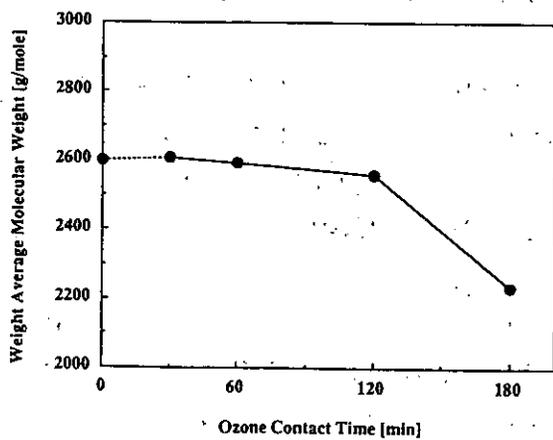


図 8 オゾン接触時間の浸出水平均分子量に及ぼす影響

図7から期待されたとおりに、平均分子量は接触時間 120 min までほとんど変化せず、180 min で急激に減少した。オゾン酸化は、浸出水中の高分子有機物を低分子化するのに有効であると認識される。

4. まとめ及び今後の課題

本研究で得られた結果を以下に記す。

- 生物活性炭流動床プロセスは通常の生物処理プロセス（活性汚泥プロセス）等に比較して埋立浸出水中の難分解性有機物除去に有効であった。
- 溶解性有機炭素（DOC）除去率は水理的滞留時間（HRT）の増大に伴い上昇し、生物活性炭流動床プロセスにおける有機物除去は生分解に因ると推察された。
- 浸出水中の有機物の平均分子量はHRTの増大に伴い上昇した。生物処理による有機物除去は主に低分子有機物の生分解因り、高分子有機物が難生分解性有機物であると示唆された。
- 浸出水をオゾン処理すると、オゾン接触時間に対してDOCは直線的に、吸光度（UV 260 nm）は指数関数的に減少した。オゾン処理はBOD/DOC比を増大させ生分解性を上昇させた。
- オゾン処理の接触時間の増大に伴い浸出水中の平均分子量は減少し、オゾン処理により高分子有機物の低分子化が生起されたと推察された。

今後の課題としては、先ず、オゾン処理した浸出水を生物活性炭流動床プロセスに流入させ、その有機物除去能を評価することが挙げられる。オゾン処理により難生分解性である浸出水高分子有機物が低分子化しBODは上昇し、かつ低分子有機物は生分解を受けやすいのであるから、オゾン前処理を生物活性炭流動床プロセスに組み込むことで飛躍的なDOC除去が可能であると仮説される。

加えて、生物活性炭流動床プロセスが浸出水中の難分解性有機物除去になぜ有効であるかを把握するために、活性炭吸着の生分解への寄与を評価する必要がある。浸出水中に多量に含まれるフミン物質は、低分子のほうが高分子より活性炭吸着能が高いと報告されており（Summers and Roberts 1988）、本研究で明らかになった生物処理による低分子有機物の除去と一致している。吸着性の相違が、結果として、生分解性の違いへ帰結するのかもしれない。活性炭との吸着作用を介したなんらかの反応により生分解がプロモートされると仮説される。

また、ゲル濾過法における有機物回収率の向上及び浸出水有機物とゲル濾過材との相互作用を排除し、適正なゲルクロマトグラムを求めなくてはならない。現在、有機溶媒を混入した移動相を用い疎水性相互作用の排除を検討している。さらに、オゾン処理の場合、DOCを検出パラメータとしてゲルクロマトグラムを評価する必要があり、フラクションコレクターを用いて評価する予定である。

参考文献

- Andrews, G. F. and Ch. Tien (1975) : The Interactions of Bacterial Growth, Adsorption and Filtration in Carbon Columns Treating Liquid Waste. A. I. Ch. E. Symp. Ser. 71, 164-175.
- Ering, H. J. (1987) : Leachate Treatment: Physico-Chemical process. Proc. International Symposium on Process, Technology and Environmental Impact of Sanitary Landfill XX1-23, Cagliari, Sardinia.
- Ering, H. J. (1984) Treatment of Sanitary Landfill Leachate: Biological Treatment. Waste Management & Research 2, 131-152 .
- DeWaters, J. E. and DiGiano, F. A. (1990) : The Influence of Ozonated Natural Organic Matter on the Biodegradation of a Micropollutant in a GAC Bed. Jour. AWWA 82 (8), 69-75 .
- Hosomi, M., Inamori, Y., Matsushige, K. and Sudo, R (1991) : Denitrification of Landfill Leachate by the Modified Rotating Biological Contactor (RBC) ., Water Science and Technology, 23, 1477-1485.
- 池口 孝 (1985) : 廃棄物埋立地からの環境汚染, 第7回日本水質汚濁研究協会セミナー講演資料集, 47-64.
- 稲森悠平, 遠藤一之, 須藤隆一 (1989) : 回転円板法による埋立浸出水の脱窒処理, 下水道協会誌, 21 (3) 44-52.
- 稲森悠平 (1989) : 難分解性含有排水の生物学的高度処理技術, 国立機関公害防止等試験研究総合プロジェクト検討会報告書.
- Jeris, J. S., Owens, R. W., Hickey, R. and Flood, F. (1977) : Biological Fluidized Bed Treatment for BOD and Nitrogen Removals. Jour. Water Pollut. Control Fed. 49, 816-831.
- 海賀信好 (1990) : オゾンによる水処理の特性, 水質汚濁研究, 13 (12), 792-796.
- 海賀信好 (1992) : オゾン発生装置ならびにオゾン濃度の測定, 用水と廃水, 34 (4), 41-46.
- 日本下水道協会 (1984) : 下水道試験方法.
- 岡崎和好 (1990) : 環境面からみた廃棄物処分の現状と課題, 水質汚濁研究, 13 (3), 139-144.
- 須藤隆一, 稲森悠平, 松重一夫, 細見正明, 今井章雄 (1991) : 微生物活性炭流動床法による埋立地浸出水の処理, 第27回衛生工学研究討論会, 東京.
- Summers, R. S. and Roberts, P. V. (1988) : Activated Carbon Adsorption of Humic Substances. I. Heterodisperse Mixtures and Desorption. J. Colloid and Interface Science, 122 (2), 367-381.

Switzenbaum, M. S. and Jewell, W. J. (1980) : Anaerobic Attached-Film Expanded-Bed Reactor Treatment. Jour. Water Pollut. Control Fed. 52, 1953-1965.

Ying, W. and Weber Jr., W. J. (1979) : Bio-Physicochemical Adsorption Model Systems for Wastewater Treatment. Jour. Water Pollut. Control Fed. 51, 2661-2677.

討論のまとめ

座長 大垣眞一郎 (東京大学工学部)

[講演紹介]

亀井氏、今井氏の講演の前に、大垣座長より二つの講演について説明があった。

(座長) 亀井氏の講演は、河川水、上水及び下水処理、尿尿処理に関係し、水質指標としてみかけ分子量、紫外部吸光度、フミン、トリハロメタン、TOC、変異原性を用いて、凝集、沈殿、膜処理、活性炭処理プロセスという水処理における有機物の挙動について述べたものである。

今井氏の講演は廃棄物埋立に関するもので、BOD、COD、その相対比、DOC、難分解性(生分解性)を指標として、オゾン処理、活性炭吸着処理プロセスについて述べたものである。

一般的に、純粋有機物の除去及び分析については多くの成果があるが、自然界の水を利水に使う場合、あるいは下水、尿尿、廃棄物からの有機物を処理する場合、対象有機物が混合系で有機物相互のインターアクションがあるために、分析方法及び処理プロセスが複雑で難しいものとなる。

水処理に係わる有機物の問題としては、他に、AOC(水道水管網の中で低濃度でも微生物の増殖に係わる溶解性有機物)、VOC(揮発性有機物)、農薬、毒性、バイオアッセイ、塩素消毒による有害有機物生成(亀井氏の講演にも関係するが)等の問題がある。このように物質指標の相互関係が非常に複雑であり、あるひとつのプロセスがある物質指標において有効であっても、実はその処理プロセスが別のものをつくりだしてしまうという問題もある。かつての単純な有機物の総合指標を使って除去できた、できないという議論から、個別の指標を全て調べなくてはならないという時代になってきている。

[質疑応答]

(大垣) 今井氏の講演では、難分解性物質をオゾン処理と生物活性炭を用いて易分解性に変化させるという積極的な質的变化を行っているが、公衆衛生院の研究によると DOC 3 mg/L程度程度の水道水原水をオゾン処理を行い活性炭吸着させると DOC は減るが変異原性が增大すると報告されている。生物活性炭に長時間接触させると変異原性が増えるようだ。もともと有機物が混合系であるのに加えて、水処理をへて新しい問題が出てくる。先ほどの、亀井氏の講演では、有機物の生物処理によりフミン物質が生成され、フミンの塩素処理により TOX やトリハロメタンが生成されると述べられた。非常に複雑な因果関係が推察される。できれば、亀井氏に、変異原性の水質面からの評価あるいは考え方についてコメントをお願いしたい。

(亀井) 塩素処理により変異原性が出てくることはほぼ確実と言えるが、オゾン処理により変異原性が出るという現象は明確に認められていない。しかし、変異原性が出る可能性はあるので検討してゆく必要はある。変異原性はあくまでもあるかないかを示し、それが定量的であるかどうかはかわからない。変異原性というものを定量的に評価する必要があるが、非常に難しい。

(大槻) オゾン処理により変異原性がでてくるとい現象の基本的な考え方は、オゾン処理により過酸ができるからと理解してよいか？

(亀井) オゾン生成物としてはアルデヒド類、すなわち紫外線吸収のある親水的な有機物が出てくるとの報告がある。我々の研究結果からみると、疎水的で紫外線吸収のある有機物に変異原性があるようである。従って、オゾン処理水は相対的に変異原性生成は弱いと思われる。オゾン処理で過酸物が生成すると考えかたとしては言えるが。

(大槻) 逆の言い方をすれば、アルデヒドであれば反応時間が長くなると酸に移行する可能性がある。

(亀井) アルデヒド類は生物学的に易分解性であり、生物学的に分解される。オゾン処理と同様に、二酸化塩素で処理した場合もアルデヒド類が生成する。オゾンも二酸化塩素もその作用は酸化反応だけであり、高分子フミン物質を絶ち切って酸化物としてアルデヒド類を出す。塩素処理では酸化反応と付加反応が起こる。もともとのマトリックスに塩素が付加して変異原性物質となる。

(大垣) フミンだけは知っているわけではないので種々の有機物が共存すると、オゾン処理により何が生成するかかわからない。また、研究者により用いる水が異なっているのである時は変異原性が出て、ある時はでないというような状況であるのではないか。

(大槻) エポキシド (エポキシド) のようなものはできないのか？

(亀井) 反応中間体としては考えられる。平衡状態、すなわちオゾンを大量に注入し反応時間を長くとした場合に GS-MS で調べた結果から言うとエポキシドは無いようである。

(大垣) 今井氏に伺いたい。過マンガン酸による COD で浸出水中の有機物を的確に測定できるのか？過マンガン酸の COD では測定できる有機物量に限界がある。環境基準にも関係するが、過マンガン酸 COD を使って意味があるか？

(今井) 過マンガン酸の代わりに重クロム酸を使ったほうが良いと思う。

(大垣) BOD/COD 比の本質的な理解のためには、過マンガン酸 COD では限界があるのでは？

(今井) 限界があると思う。過マンガン酸 COD として沢山のデータの蓄積があり、BOD/COD 比として定性的に比較する場合には、過マンガン酸 COD を用いる意味はあるかもしれない。しかし、生物処理においてモデリングを行う場合、有機物を酸素当量として表し、その値を微生物に換算する必要があり、有機物量を酸素当量として適切に表せない過マンガン酸 COD を用いる意味は見いだせない。

(浮田) 通常は、嫌気-好気の処理フローとなると思うが？

(今井) 以前、嫌気-好気循環方式で嫌気性反応器にメタノールを添加して有機物及び窒素の同時除去を行っていた。今回は、好気性反応器の有機物除去能を検討するためにプロセスの形式を変えた。

(浮田) 浸出水中の窒素濃度は高いが、この形式で窒素は除去できるのか？

(今井) 以前、嫌気-好気循環で実験を行った時は生物学的硝化脱窒により窒素除去は良好に行われた。今回の好気-嫌気形式でも後段の嫌気反応器にメタノールを添加すれば窒素は問題なく除去されると思われる。

(浮田) 亀井氏に伺いたい。気象条件の変化によるフミン物質生成に対する影響は？

(亀井) 水温が高くても低くても最終的に生成する代謝物は同じ。生成するのに要する時間が短いか長いかの違いと思う。活性汚泥では初期有機物の 3-5%フミン質的代謝物ができる。混合培養系ではフミン質的代謝物が生成し、純粋培養系では生成しない。気温の高いところでは生分解速度が大きいと考えられるため、土壌の腐食層の厚さは違うかもしれない。

(橘) 今井氏に伺いたい。浸出水中の COD は環境にどのような影響を与えるのか？ また、どういう物質なのか？

(今井) 難分解性で河川等における酸素消費はほとんどないと考えれば、一般的な有機汚濁としての影響はないと思う。過マンガン酸 COD が何を測定しているか明白ではないが、フミン的性質を持つ有機物に対応すると推量する。

(亀井) 今井氏に伺いたい。浸出水において DOC と 260 nm の吸光度の比はどのくらいであったか？

(今井) 0.02 です。

アオコの増殖に及ぼす微量有機物の添加効果

相崎守弘 (国立環境研究所水士壌圏環境部)

1. はじめに

アオコは水の表面に浮き、集積し易い性質を持った藍藻類の総称である。富栄養化した湖ではアオコが毎年発生し、大きな社会問題となっている。環境庁が1985年に行った自然環境保全基礎調査の湖沼調査では、調べられた487湖沼の内アオコが発生していた湖沼は46湖沼あり、全体の約1割に達していた。アオコが発生している湖沼の水質は富栄養化状態指標(TSI)で見ると60以上の湖沼が多かった。TSI値の60という水質は透明度、1.3m;クロロフィルa濃度、26 μ g/l;全リン濃度、0.050mg/l;COD、3.6mg/l程度の水質である。この濃度以下の水質に保てばアオコの発生は抑制される可能性が高い。また、これとは反対に、TSI値で60以上の湖沼でもアオコが発生していない湖沼も多くあり、栄養塩レベルだけでは整理しきれない状況にある。

藍藻類の中でもミクロキスティスはアオコの代表的構成種である。富栄養化した湖では毎年発生するアオコであるが、人為的に増やそうとすると培養が難しい。実験室でミクロキスティスの純粋培養ができるようになったのは日本では1970年代後半からである。従って屋外でのアオコの再現実験はほとんど試みられていない。ここでは、霞ヶ浦臨湖実験施設にある屋外実験池を用いて種々の条件を変え、アオコ状態を再現することを目的に実験を行った。屋外で人為的にアオコ増殖を制御できれば、アオコ発生の機構解明に役立つと共に、その制御手法の開発が可能となる。なお、ミクロキスティスの計数は東邦大学、青山莞爾先生が分担した。記して感謝いたします。

2. 実験方法

使用した屋外実験池は国立環境研究所霞ヶ浦臨湖実験施設にある6個の実験池で、それぞれの池は1辺3mの六角形をしており、深さが1.75mで容量が約40m³の池である。実験は夏期を中心に1988年から4年間行った。表1に各年の実験条件を示す。窒素やリンの栄養塩濃度は霞ヶ浦高浜入りにおける夏期の濃度(T-P濃度、約0.23mg/l)を基準として設定した。また、室内における培養実験から鉄の供給が重要であることが明らかになっていたところから、鉄の効果を検討した。また、微量の銅がアオコの増殖を阻害することが明らかにされていることから、EDTAの添加効果を検討した。さらに、栄養塩以外の要素がアオコ増殖に関与していると考えられたところから、微量な有機物に的を絞って実験室的にいくつか検討したところ、米ぬかの熱水抽出液の中にアオコの増殖を促進する物質のあることが分かったので、米ぬか熱水抽出液の添加効果を検討した。

表 1 屋外実験池におけるアオコ再現実験の各年毎の実験条件

(A) 1988年*

池 No.	滞留時間 (日)	P (KH ₂ PO ₄) (mg/l)	N (NH ₄ NO ₃) (mg/l)	米ぬか (g/EP)	クエン酸鉄 (mg/l)	EDTA (mg/l)
P 1	20	0.23	2.3	730	3	-
P 2	20	0.23	2.3	-	3	1.0
P 3	20	0.23	2.3	-	3	-
P 4	20	0.46	4.6	730	3	-
P 5	20	0.46	4.6	-	3	1.0
P 6	20	0.46	4.6	-	3	-

* 8月3日実験開始

(B) 1989年*1

池 No.	滞留時間 (日)	P (KH ₂ PO ₄) (mg/l)	N (NH ₄ NO ₃) (mg/l)	米ぬか (g/EP)	クエン酸鉄 (mg/l)	EDTA*2 (mg/l)
P 1	20	0.46	4.6	730	3 (クエン酸鉄)	0.2
P 2	20	0.46	4.6	730	3 (クエン酸鉄)	0.2
P 3	20	0.46	4.6	-	3 (クエン酸鉄)	0.2
P 4	20	0.46	4.6	730	3 (クエン酸鉄)	0.2
P 5	20	0.46	4.6	730	0.5 (FeCl ₃ -Fe)	0.2
P 6	20	0.46	4.6	-	0.5 (FeCl ₃ -Fe)	0.2

*1 7月19日実験開始; *2 9月7日より添加

(C) 1990年*

池 No.	滞留時間 (日)	P (KH ₂ PO ₄) (mg/l)	N (NH ₄ NO ₃) (mg/l)	米ぬか (g/EP)	クエン酸鉄 (mg/l)	EDTA (mg/l)
P 1	20	0.46	4.6	730	3	0.1
P 2	20	0.46	4.6	730	-	0.1
P 3	20	0.46	4.6	-	3	0.1
P 4	20	0.46	4.6	730	3	0.1
P 5	20	0.23	2.3	730	3	0.1
P 6	20	0.46	4.6	730	3	0.1

* 7月27日実験開始

(D) 1991年*

池 No.	滞留時間 (日)	P (KH ₂ PO ₄) (mg/l)	N (NH ₄ NO ₃) (mg/l)	米ぬか (g/EP)	クエン酸鉄 (mg/l)	EDTA (mg/l)
P 1	20	0.35	4.6 (NH ₄ -N)	730	3	0.1
P 2	20	0.46	4.6 (NH ₄ -N)	-	3	0.1
P 3	20	0.35	4.6 (NH ₄ -N)	730	3	0.1
P 4	20	0.35	4.6 (NO ₃ -N)	730	3	0.1
P 5	20	0.46	4.6 (NO ₃ -N)	-	3	0.1
P 6	20	0.35	4.6 (NO ₃ -N)	730	3	0.1

* 7月26日実験開始

米ぬかの熱水抽出液は 20gの米ぬかを 1リットルの純水で120°C, 15分間抽出後, 0.4 μ mのメンブランフィルターでろ過した液を原液とし, それを 1 ml/lの濃度になるように添加した。原液 1 ml 中には凍結乾燥したときに約 0.6mgの固形物が残った。この固形物は 33.3%の炭素と 1.8%の窒素と 6.1%のリンを含んでいた。したがって, 米ぬか抽出液を添加することによって約 0.2mg/lの溶存有機炭素, 約 11 μ g/lの窒素及び約 37 μ g/lのリンの増加がもたらされた。実際に実験池に添加したときは荒目の布のフィルターでろ過した液を添加したところから, 上記の値より若干高めの添加量になると思われた。実験の開始に当たり, 霞ヶ浦から種となるアオコを採取し添加した。採取したアオコは, 湖岸にアオコが集積していた場合にはそれを, また, 集積アオコがない場合には NXX25 のプランクトンネットを利用して採取した。実験池からの排水は, サイフォンを用いて下層より排水した。

3. アオコの計測方法に関する研究

フィコシアニン¹⁾はフィコビルリン蛋白質色素の一つであり, 紅藻類, 藍藻類及びある種のクリプト藻類にのみ存在し, 細胞中の可溶性蛋白質の60%以上を占めるといわれている。フィコシアニンをゲル濾過高速液体クロマトグラフィーを用いて分離し, 高感度な蛍光検出によって定量することによりアオコ現存量を計測する方法を開発した。なお, 淡水湖においては紅藻の存在及び夏期におけるクリプト藻のブルームは報告されていないところから, フィコシアニンの量は藍藻類の現存量を表す指標として取り扱うことが出来る。フィコビルリン蛋白質色素の抽出には 10mM リン酸緩衝液 (PH 7.0) を用い, 冷暗所において一晩静置抽出した。用いたカラムは TSK SW3000, 移動相は 10mMリン酸緩衝液, 流速は 1 ml/min, 励起波長は605nm, 蛍光検出波長は638nmを用いた (Otsuki et.al. 投稿中)。図 1 にマイクロキスティスの培養時におけるフィコシアニンとクロロフィル a 濃度の関係を示す。フィコシアニンが約 2mg/l, クロロフィル濃度が300 μ g/l程度までよい相関関係が見られた。液体クロマトグラフィーで分離すると, 分子量の異なる少なくとも2つのフィコシアニン色素の存在が確認されたが, 相関関係が見られなくなったフィコシアニン濃度の高い状態の時には2番目に現れるピークのみが増加した。フィコシアニンが2mg/l以上の濃度で存在しているときは藍藻のみが優占している状態と考えられた。

図 2 に屋外実験池におけるマイクロキスティス, アナベナ, オシラトリア等のアオコを形成する藍藻類の個体数とフィコシアニン濃度との関係を示す。両者にはよい直線関係が得られ, フィコシアニン濃度によってアオコの現存量が推定できることが分かった。なお, 今回の実験では肉眼でアオコ状態と認識される値は, フィコシアニン濃度で約 1 mg/l, マイクロキスティスの個体数で 1×10^5 cells/ml 以上になった場合であった。

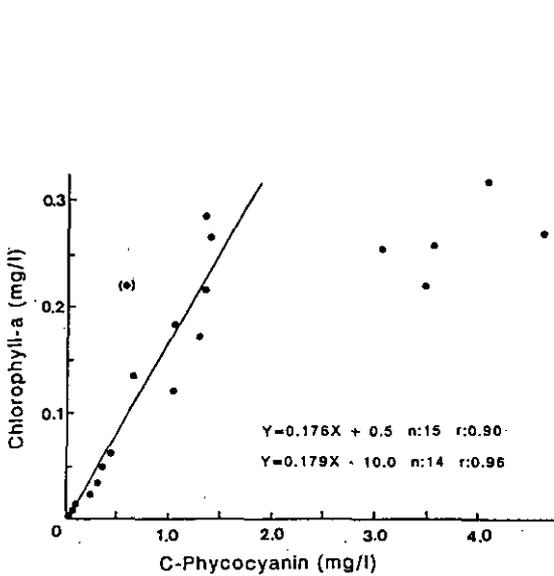


図 1 ミクロスティス培養時のフィコシアニン濃度とクロロフィル a 濃度の関係

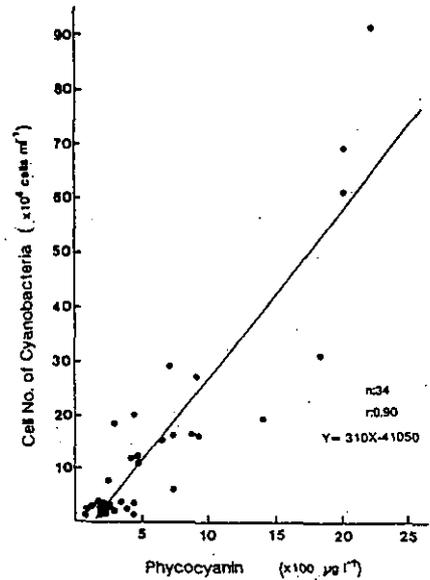


図 2 実験池におけるフィコシアニン濃度と藍藻類の個体数の関係

4. アオコ増殖に対する栄養塩濃度の影響

図3に1988年の実験における各実験池でのフィコシアニン濃度の変化を示す。この実験では、栄養塩濃度が高く、米ぬか抽出液とクエン酸鉄を添加したP4の実験池だけがアオコ状態になった。この結果から、実験池におけるアオコの再現のためにはかなり高負荷の栄養塩類が必要なることが明らかになった。この為、翌年からはP4の実験池の栄養塩濃度を基準として用いた。1990年に再度栄養塩濃度を変化させた実験を行った。図4、5に各実験池のクロロフィルa濃度及びフィコシアニン濃度の変化を示す。この実験においては、P5の実験池の栄養塩濃度を他の池の半分の値に設定した。図から明らかなように、P5の実験池ではクロロフィル濃度も他の実験池に比べて低く、またフィコシアニン濃度の増加も見られずアオコは増殖しなかった。添加したリン濃度、0.23mg/l、0.46mg/lという値は夏期の霞ヶ浦高浜入りの平均的全リン濃度の1倍及び2倍の値である。実験池では底泥がないため内部からの回帰が少なく、かなり多量の栄養塩類の添加が必要なものと考えられた。図6に1988年の実験における実験池中のリン濃度の変化を示すが、多くの池ではリン濃度は添加濃度の半分程度まで減少しており、利用可能なリン濃度はかなり低くなっていた。これらの実験からは、滞留時間20日の場合リンの負荷濃度が0.23mg/l以下の場合にはアオコの発生は抑えられるものと推察された。

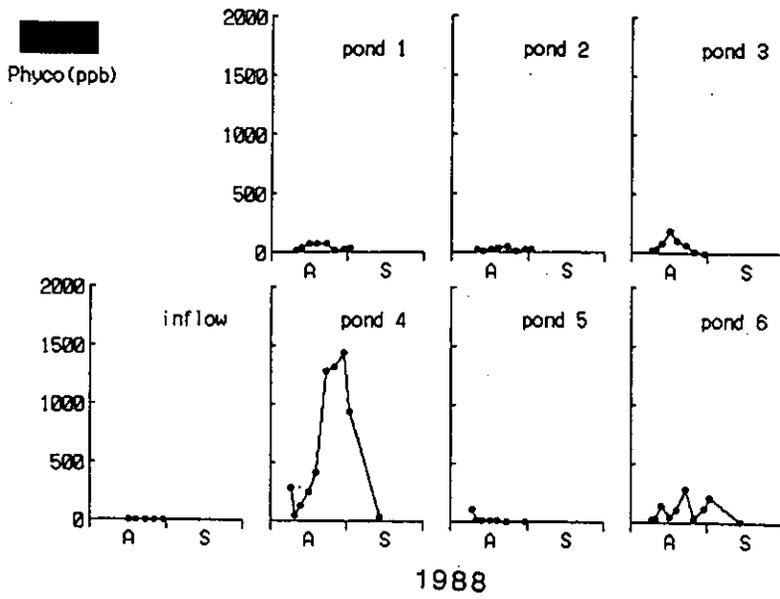


図 3 実験池におけるフィコシアニン濃度の経時変化

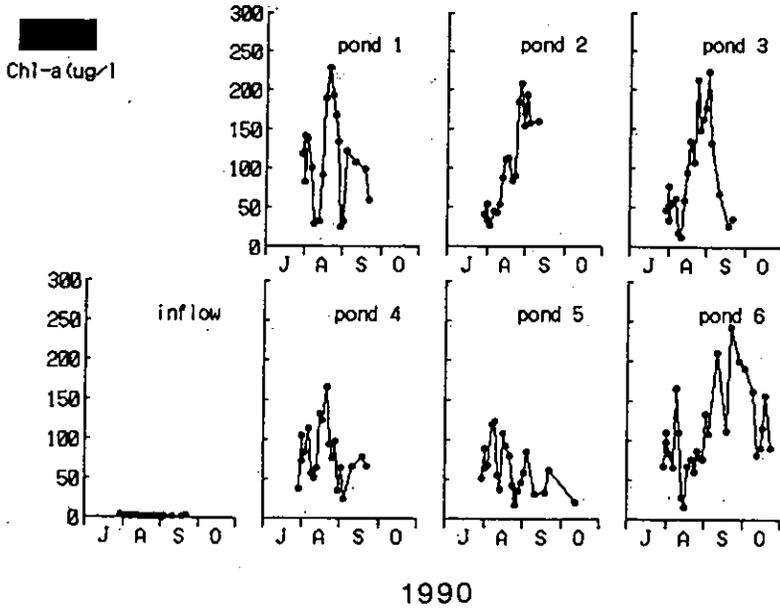


図 4 実験池におけるクロロフィル a 濃度の変化

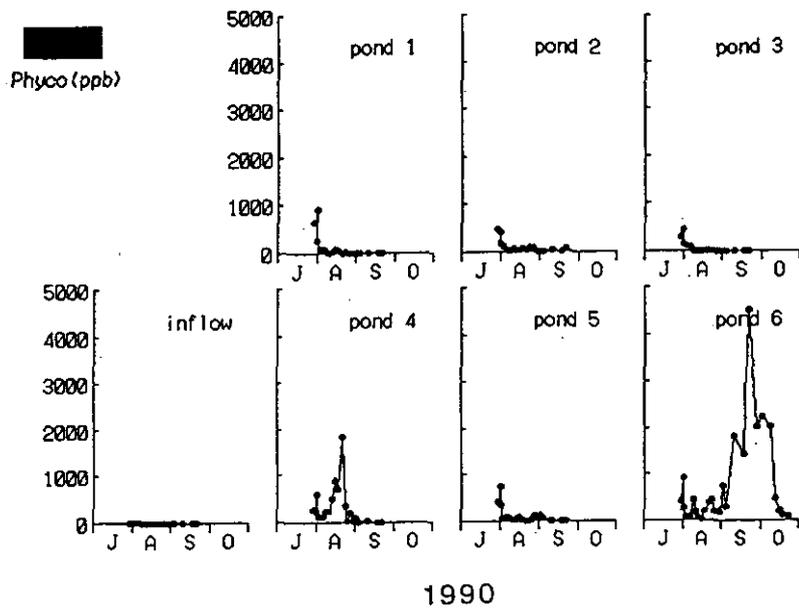


図 5 実験池におけるフィコシアニン濃度の変化

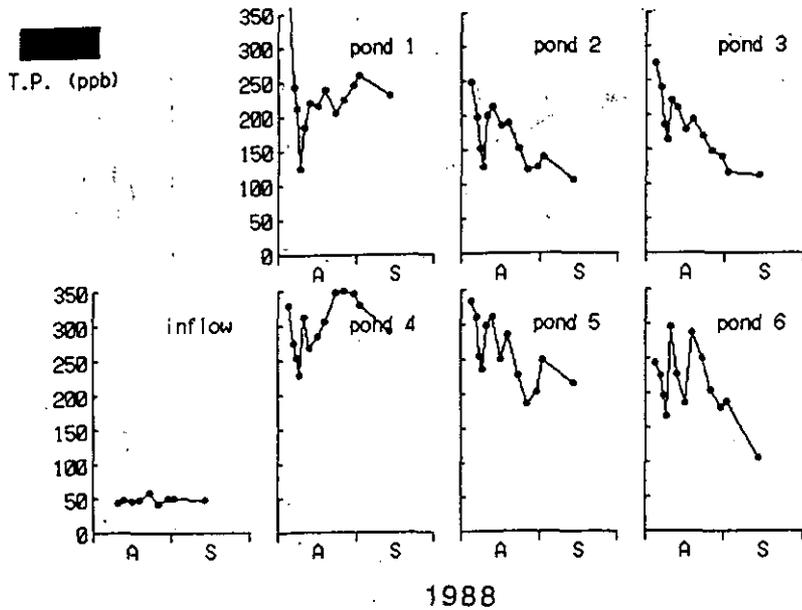


図 6 実験池における全リン濃度の変化

5. アオコ増殖に対する鉄の影響

アオコの増殖に対する鉄の添加効果に関する実験は、1989年及び1990年に行った。1989年の実験では、7月19日及び8月23日に霞ヶ浦より濃縮アオコを採取し添加したがいずれも急激に現存量が低下し、アオコが消滅してしまった。そこで、9月7日に各池へ EDTA を 0.2mg/l の濃度になるように添加し、9月12日に再び霞ヶ浦から採取した濃縮アオコを植種した。図7に各池におけるミクロキスティスの個体数の変化を示す。クエン酸鉄と米ぬか抽出液を入れたP1の実験池ではアオコ状態になるまでミクロキスティスが増殖し、10月末までアオコ状態を維持した。また塩化鉄と米ぬか抽出液を加えたP5の池でも若干増加したが10月初旬にはほぼ消滅した。1990年の実験では、鉄を添加しなかったP2の実験池ではフィコシアニンの濃度増加は見られず、アオコは増殖しなかった(図5)。

図8に培養実験でのミクロキスティスの増殖に対する各態鉄の添加効果を示す。鉄を添加しなかった場合にはほとんど増殖せず、また、Fe-EDTA のような鉄と強いキレートを形成する錯化合物の場合にもあまり増殖しなかった。添加した鉄の中ではクエン酸鉄が最も有効であった。これらのことから、実験池への高濃度の EDTA の添加はミクロキスティスの増殖に阻害的に作用するものと考えられた。また塩化鉄は水中では不安定で、酸化され沈殿してしまうところから、水中に鉄を安定に維持する作用を持つ鉄と弱いキレートを形成する有機物の存在がアオコ増殖に必要なことが明らかになった。

またこれらの実験から、ミクロキスティスの増殖にとって鉄の供給は必須のものであり、鉄の供給を妨げることが出来ればミクロキスティスの増殖を抑制できることが明らかになった。実際の湖沼では、鉄は底泥から供給されていると考えられ、底泥からの利用可能な形で鉄の供給を阻害することがアオコ抑制手法として有効であろうことが推察された。

6. アオコ増殖に対する米ぬか抽出液の影響

図8で示した実験において、各態鉄の添加効果に加えて米ぬか抽出液の添加効果を併せて調べた。米ぬか抽出液の添加によって、鉄を添加しなくてもアオコの多少の増殖が観測された。また、アオコ増殖に対する塩化鉄とクエン酸鉄の効果の違いが解消され、両者とも良く増殖した(図9)。このことから、米ぬか抽出液は鉄の安定化に寄与している可能性が考えられるが、さらにその機能に関しては今後の検討が必要である。培養実験において米ぬか抽出液中のどのような画分がミクロキスティスの増殖に有効なのかを検討したが、実験に用いた霞ヶ浦のろ過湖水の違いによって結果が異なり、再現性のある実験結果が得られなかった。今後さらに検討が必要である。

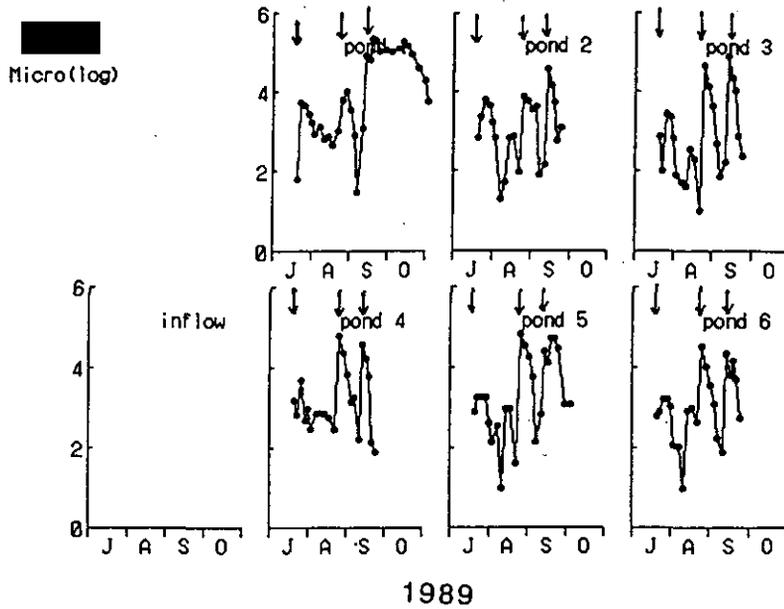


図 7 実験池におけるマイクロステイス個体数の変化

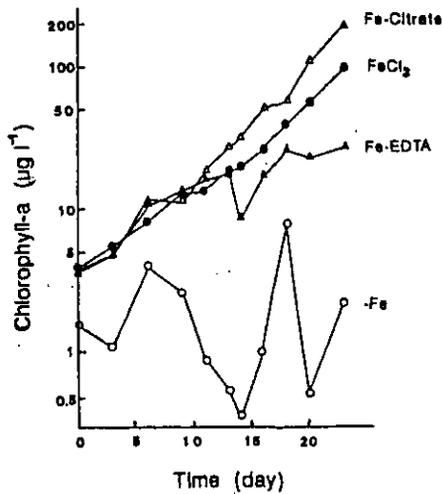


図 8 ミクロステイスの増殖に対する各態の鉄の影響

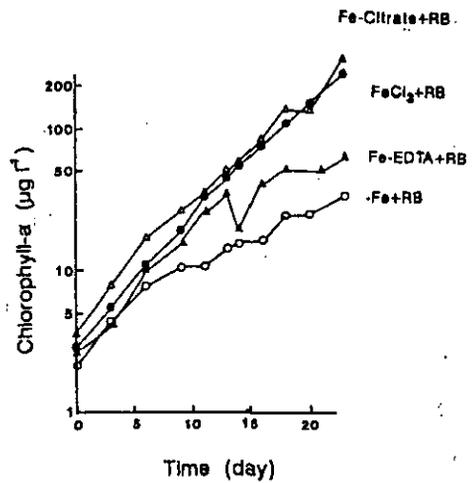


図 9 ミクロステイスの増殖に対する鉄と米ぬか抽出液の影響

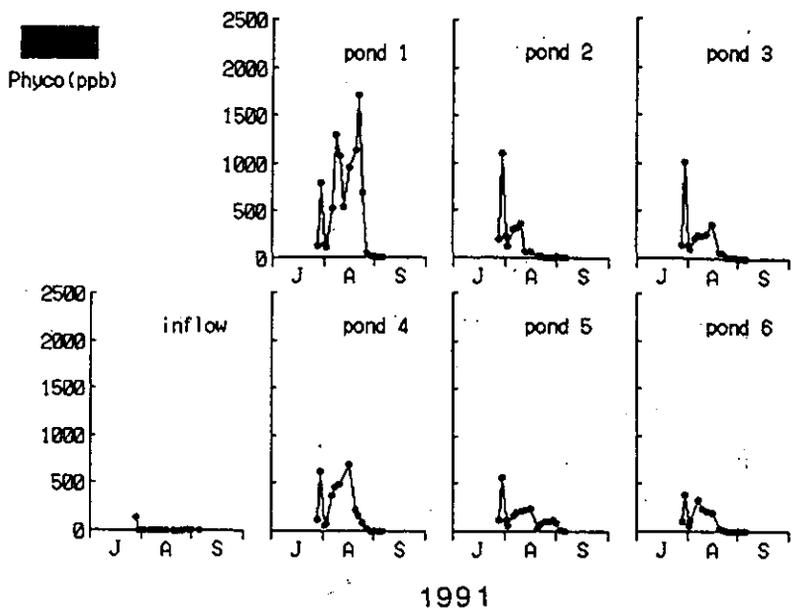


図 10 実験池におけるフィコシアニン濃度の変化

図 10 に 1991 年の実験における各実験池中のフィコシアニン濃度の変化を示す。実験開始当初各池で濃度の増加が見られたがその後減少し、米ぬか抽出液を添加した P 1 及び P 4 の実験池では再び増加したが、他の池ではあまり増加してこなかった。図 3, 5, 7 に示した 1988 年, 1990 年及び 1989 年における実験でも米ぬかの抽出液を添加した池でのみ、アオコ状態を再現できた。アオコ状態の再現が見られた実験池と全く同じ実験条件にした池で、アオコ状態を再現できないケースもしばしば見られたところから、米ぬか抽出液の添加がアオコ状態を再現させるための十分条件にはならなかったが、アオコ状態再現のための必要条件になっていることは明らかになった。

7. アオコ増殖の抑制物質の検討

アオコの増殖を抑制する物質として銅の存在が知られているが、銅以外にも増殖を抑制している物質の可能性が示唆された。矢木らによる 1990 年の霞ヶ浦高浜入り湾奥部において採取した湖水のミクロキスティスに対する AGP 試験の結果では、冬期の湖水では窒素、リン及び EDTA などの添加によってミクロキスティスがよく増殖し、高い AGP 値を示した。これに対して、夏期の湖水では窒素、リン、鉄、EDTA 全てを添加してもミクロキスティスは増殖せず、たいへん低い AGP 値になった。銅などの重金属の影響とすれば、EDTA の添加によってその影響はなくなるものと考えられ、またこれまでの多くの実験から、増殖に必要な養分が不足しているとは考えにくいことから、ミクロキスティスの増殖を抑制する物質の存在が示唆された。調査を行った 1990 年は霞ヶ

浦全域においてアオコの発生が見られなかった。これらのことから、アオコには成長を促進させる物質と抑制する物質があり、自然界ではそれらの相互作用によってアオコの発生が微妙にコントロールされているものと推測された。

8. さいごに

今回の一連の実験を通して、米ぬか抽出液中に含まれるような微量な有機物がアオコ状態になるまでマイクロキスティスを増殖させるために必要であることが明らかになった。米ぬか中のどのような成分が有効なのかについては今回の実験からはまだ明らかに出来なかったが、アオコが生活排水の流れ込むような水域で良く発生するところから、排水中に含まれる微量な有機物が促進的作用をしているものと推測される。

有機物の作用としては、ビタミンB12に見られるような植物体に直接作用して成長を促進させる物質、言い換えれば生理活性のある物質、キレート作用などにより有用な微量金属を水中に安定化させる作用や、有害な微量金属をマスクする作用などが考えられる。米ぬか中の成分の効果としては、成長速度を極めて速くするというような効果は見られないところから、キレートの効果の方の可能性が高い。最後の章で述べたアオコの阻害物質の場合は、その作用の仕方から生理活性のある物質の存在が予測される。残された課題が多く、今後更なる探求が必要とされている。

微生物食物連鎖を通しての溶存有機物の生成と消費

—海洋物質循環における意義—

永田 俊 (名古屋大学水圏科学研究所)

1. はじめに

海洋の全有機物の95%以上は溶存態有機物(以下DOM)である。DOMの組成や挙動を明らかにすることは、浮遊生物栄養相互作用や海洋生物地球化学過程の長・短期的変動を理解するうえで極めて重要であることが、モデル研究や実験結果から指摘されている(Toggweiler, 1989; Kirchman et al., 1991)。しかし、DOMの量、組成、起源、および運命に関しては多くの部分が依然として謎に包まれており(Williams and Druffel 1988)、DOMの海洋物質循環における役割は十分明らかにされていない。

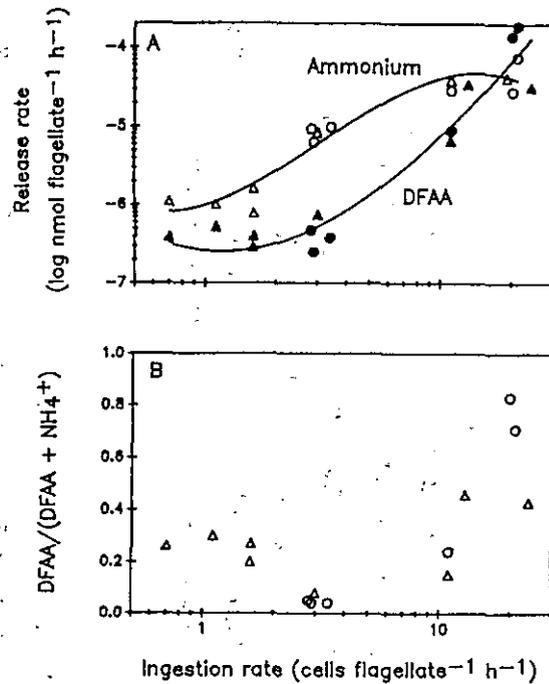
ここ数年来、演者らは、海洋DOM生成機構の一つとして、捕食性鞭毛虫によるDOM放出に注目して研究を進めている。鞭毛虫は、細菌や微細藻類の捕食者として、水圏食物連鎖の中で重要な役割を果たしている(Nagata 1988)。貧栄養水域では、一次生産と細菌二次生産のかなりの部分を鞭毛虫が消費すると言われており、生元素循環の鍵を握る生物群の一つであると考えられている。本講演では、色素を持たない黄金色藻である *Paraphysomonas imperforata* の培養系(餌は海洋細菌 *Vibrio* 属)を用いて行った研究結果を中心に紹介し、鞭毛虫が放出するDOMが、水圏生態系の中でどのような役割を果たしているのかについて考察を加える。

2. アミノ酸の放出(Nagata and Kirchman 1990, 1991, 1992a)

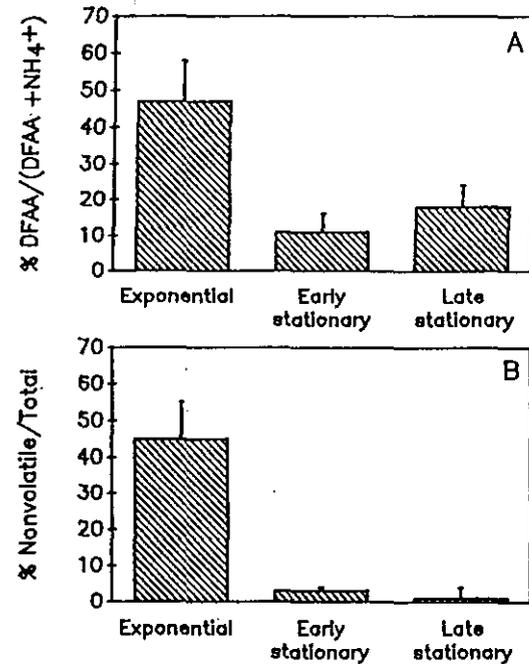
P. imperforata によるアミノ酸とアンモニアの放出を調べた。アミノ酸の測定にはHPLCを用い、餌細菌によるアミノ酸取り込みは、放射性トレーサーを用いて補正した。その結果、両窒素化合物の放出速度は摂餌速度に大きく依存した(図1)。興味深いのは、摂餌速度が高いときはアンモニア放出に匹敵するほどのアミノ酸が放出されるのに対し、飢餓状態ではアンモニア放出に比べアミノ酸放出がはるかに低いことである(図1, 2)。アミノ酸は従属栄養性細菌にとって好適な栄養基質であるから、鞭毛虫によるアミノ酸放出は、細菌生産を支えるDOM供給機構の一つになり得る(図3)。

3. 高分子有機複合体の放出(Nagata and Kirchman 1992b)

鞭毛虫による高分子溶存有機物の放出を調べるために、*P. imperforata* に³H標識した細菌を与え、放出された溶存高分子及び脂質分画中の³Hを測定した。その結果、鞭毛虫が脂質に富んだ高分子を放出することが確認された。放出された高分子は、鞭毛虫消化酵素(酸性ホスファター



1 A. Relation between ammonium release rate (○—mixed-bacteria experiment; △—*Vibrio splendidus*), DFAA release rate (●—mixed bacteria experiment; ▲—*V.splendidus* experiment), and ingestion rate. Release rates are plotted against average ingestion rate of the two sampling times between which release rates were estimated. B. Relation between ratios of DFAA release rate to total (DFAA+ammonium) release and ingestion (○—mixed-bacteria experiment; △—*V.splendidus* experiment). (from Nagata and Kirchman 1991)



2 (A) Release rate of DFAA compared with the release rate of DFAA plus ammonium in different growth stages of *P. imperforata* grazing on bacteria. (B) Release rate of nonvolatile fraction of dissolved ³H-compounds compared with the release rate of total dissolved ³H-compounds in different growth stages of *P. imperforata* grazing on bacterial labeled with ³H-DFAA. Error bars represent standard error. Data from Nagata & Kirchman (1991). (from Nagata and Kirchman 1992a)

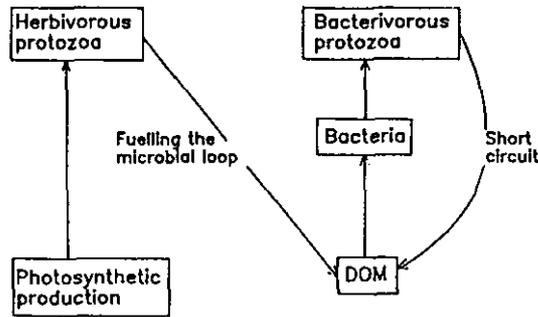


図 3 Schematic representation of the role of DOM release by herbivorous and bacterivorous protozoa in the aquatic food web. Many protozoa show both herbivory and bacterivory. Separation of herbivores and bacterivores is purely conceptual. See text for explanations.
(from Nagata and Kirchman 1992a)

ぜ) 活性を有し、15から 42Sという大きな沈降係数を示した。さらに、プロテアーゼによる消化酵素の分解実験の結果から、放出された有機物は、タンパク質を脂質が取り囲んだ、リボゾーム様の構造であることが推察された。高分子有機複合体は、生物地球化学的反応の場を提供している可能性がある。また、凝集・吸着により沈降粒子の形成や栄養物質の輸送に関与しているかも知れない。

4. 鞭毛虫による DOM の放出メカニズム

鞭毛虫が有機物を放出する機構はまだ十分明らかにされていない。現在、演者らは、未消化物や、消化はしたが吸収されなかった有機物が、排出 (egestion) に際して、細胞外に放出されるのではないかという作業仮説の基に検討を進めている。排出仮説では、消化されにくい脂質 (餌細菌の細胞膜) を多く含む高分子化合物の放出が良く説明できる。また、摂餌速度が高い時により多くの DOM を放出するという現象 (図 2) は、捕食者の最適消化理論 (Jumars et al., 1989; 表 1) とよく一致する。

表 1 Predictions from the optimal digestion theory of grazers (Penry & Jumars 1986, Jumars et al. 1989) (from Nagata and Kirchman 1992a)

Food abundance	Food retention time	Assimilation efficiency	DOM release
High	Short	Low	High
Low	Long	High	Low

5. 海水中のコロイド粒子と鞭毛虫の関連

近年、パークチルカウンターを用いた測定により、海水中に多量 (10^7 粒子/ml) の非生物コロイド粒子 (径: $0.38-1\mu\text{m}$) が存在することが明らかにされた (Koike et al., 1990)。これらの粒子はメンブレン・フィルターを通過するため、操作上「DOM」に含まれる。Koike et al. (1990) は、バクテリアだけを含まる過海水中ではコロイド粒子が生成しないが、そこに鞭毛虫が現れるとコロイド粒子の生成が見られると報告している。演者らの見いだした高分子有機物とこれらのコロイド粒子が一致するのかどうかは今後検討しなくてはならないが、Koike et al. の結果は、現場海水中において、鞭毛虫が DOM (コロイドを含む) 生成に強く関与していることを示唆するものである。

6. 今後の課題

DOM の生成要因としては、鞭毛虫以外にも、動・植物プランクトンによる排出、自己分解、ウイルスによる溶菌等が考えられ、現場では複雑な生成・消滅が起こっているものと思われる。今後現場生物群集の動態と対応させて DOM の量的・質的变化を調べる必要がある。また、高分子複合体やコロイド粒子を含む、DOM の変質分解過程の研究を進めることが、水圏生態系における DOM の機能を理解するうえできわめて重要である。

参考文献

- Jumars, P. A., D. L. Penry, J. A. Baross, M. J. Perry, and B. Frost (1989) : Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. *Deep Sea Res.* 36: 483-495.
- Kirchman, D. L., Y. Suzuki, C. Garside, H. W. Ducklow (1991) : High turnover rates of dissolved organic carbon during a spring phytoplankton bloom. *Nature.* 352: 612-614.
- Koike, I., S. Hara, K. Terauchi, and K. Kogure (1990) : Role of submicrometer particles in the ocean. *Nature*, 345: 242-244.
- Nagata, T. (1988) : The microflagellate-picoplankton food linkage in the water column of Lake Biwa. *Limnol. Oceanogr.* 33: 504-517.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1990) : Filtration-induced release of dissolved free amino acids: application to cultures of marine protozoa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 68: 1-5.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1991) : Release of dissolved free and combined amino acids by bacterivorous marine flagellates. *Limnol. Oceanogr.* 36: 433-443.

- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1992a): Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa: implications for microbial food webs. Arch, Hydrobiol. Beih, Ergebn. Limnol. 35: 99-109.
- Nagata, T., and D. L. Kirchman (1992b) Release of macromolecular organic complexes by heterotrophic marine flagellates. Mar. Ecol. Prog. Ser. 83: 233-240.
- Toggweiler, J. R. (1989) : Is the downward dissolved organic (DOM) flux important in carbon transport? In: Berger, W. H., V. S. Smetacek, and G. Wefer (eds.) Productivity of the ocean: present and past. John Wiley & Sons, p.65-83.
- Williams, P. M. and E. R. M. Druffel (1988) : Dissolved organic matter in the ocean: comments on controversy. Oceanogr. Mag. 1: 14-17.

1. 質疑応答に入る前に、高村座長より2人の講演について以下のようなコメントがあった。

水界における有機物の機能をフィールドで直接解明することは困難が多い。特に有機物の機能を物質・分子レベルで把握していくためには、フィールドへの回帰を念頭に置きながら、準フィールド系または混合培養系での研究にならざるを得ない。相崎さんの研究はミクロキスティス属シアノバクテリアの増殖を促進する微量栄養素を準フィールドで、永田さんの研究は鞭毛虫の排泄物を混合培養系で検討したものである。前者は米ぬかの有機物のケミカルキャラクタリゼーションと他種微生物との相互作用、永田さんの場合は鞭毛虫の排泄物のケミカルキャラクタリゼーションと細菌との相互作用ということで、両者は共通する話題提供であるが、生物種も系も異なるので、それぞれ分けてディスカッションをして頂きたい。

2. 質疑応答

[相崎氏への質問]

(山本) 実験池におけるアオコの発生状況は湖のそれと違わないのか？

(相崎) 実験条件としては泥が入っていないことが異なる。変化の様子では、減衰が極めて早い点の実験池の特徴である。理由はよくわからない。

(高村) アオコの増殖をもたらすものが米ぬかのどの成分なのかわからない。もう少しその機能を発揮するものをつめるべきだろう。米ぬかに達する経緯を説明してほしい？

(相崎) いくつかの物質を試してみた。その選定に当たっては実験池の容量が大きいことから安価であること、大量に手にはいることが条件となった。また、霞ヶ浦など発生湖沼の状況を考えれば、生活雑排水などに含まれるということも考慮した。

(高村) 分子量分画、生物検定などについてコメントはないか？

(永田) 生物が食べられるかなどの観点では、サイズが大きな因子となるだろう。また、分子の絡み合い方なども影響するであろう。さらに別の因子も問題となろうが、ただあたりをつけるだけでも大変な労力が必要である。

(相崎) アオコは培養液ではよく増殖する。しかし、湖沼水だと発生しないこともある。抑制物質と促進物質とが混ざって入っている可能性がある。このような場合でのバイオアッセイの方法について、知見があれば教えてほしい。

(田上) 土壤有機物について、超遠心の後UVで測定するという方法で分子量を調べた結果は、ゲルろ過の結果と大きく異なっていた。後者の場合、標準試料と対象とする有機物がカラム中で同じ挙動を取るという前提があるが、それを検証することは難しい。濃いサンプルが得られるのであれば、バイアスのかからない超遠心系で測定することが望ましい。

(大槻) この意見には賛成である。ゲルろ過の結果が分子量の情報を持っているかには常に注意しなければならない。

[永田氏への質問]

(大槻) 鞭毛虫の出す脂質によって酸性フォスファターゼが守られているというのと同じ様な話を陸水でも聞いた(バルセロナのSILで)。つまり、腐植がアルカリフォスファターゼをカバーして、その活性が落ちないようにしているとのことであった。動物プランクトンが植物プランクトンを食べた場合にはどのぐらいの大きさの排せつ物となるか。

(永田) 小さいもののふんが小さいとは言えない。ケンミジンコの場合、フィーカルベレットは目に見えるほど大きい。また、ある種の動物プランクトンではどろどろした排せつ物となる。

(大槻) 気象研の杉村先生らのグループでは、外洋での重金属の多くが有機態であること、その有機物が生物の排せつ物由来である可能性が高いことを報告している。今回の話は、これとも対応していておもしろい。

(高村) 話がうまく出来すぎていないか。特に、脂質だけが出てくるということはどうしてなのか？鞭毛虫のリパーゼが弱いのか？

(永田) グラム陰性細菌の外側のリポポリサッカライドは特殊で、酵素的なアタックにはかなり強いと想定される。また、電顕で見ると膜ははっきり見えて、強そうである。

(高村) 脂質の内容は？

(永田) 今後分析したい。現在、LPSを測定している。

(高村) ミクロキスティスの寒天皮膜を単離して、分析しているが、これはヘテロな糖で守られている。今後、糖質の分析も必要であろう。

(田上) 脂っこいものの放出とアミノ酸の放出は連動しているのか？そうだとすると中間のものも皆、出てこなければならない。

(永田) 機構については検討したい。

(濱) 細菌を鞭毛虫が食べ、その排せつ物を細菌が利用するというのでは、マイクロバイアルループだけであり、系が維持できないのではないか。植物プランクトンを食べるという部分がやはり重要ではないか？

(永田) その通りである。実験がし易いということで、こんな系を採用した。

(田上) この系での有機物のターンオーバー速度は？

(永田) 測定していない。