

東大工 正員 市川新 ○横山道子

1. 研究の目的 1890年以降水質汚濁の指標として BOD が使用されており数多くの研究が行なわれている。特に今日 ①酸素電極やワールブルグ等の新しい装置による BOD 試験の自動化及び簡便化, ②反応速度論的考察, ③ BOD 試験による基質の分解能等に研究の重点がおかれていると思われる。これらの研究がとく高濃度基質による短時間(せいぜい2日)の反応を取り扱っているが、BOD が本来対象としていた河川及び湖沼等の低濃度基質に関する研究がきわめて少ない。これは、BOD 試験が ①生物化学反応であること, ②存在量ではなく反応生成量であること、を主な理由として再現性が乏しく、測定誤差が大きく、実験結果の有意の差を生物化学的に説明することが、きわめて困難であることによると思われる。

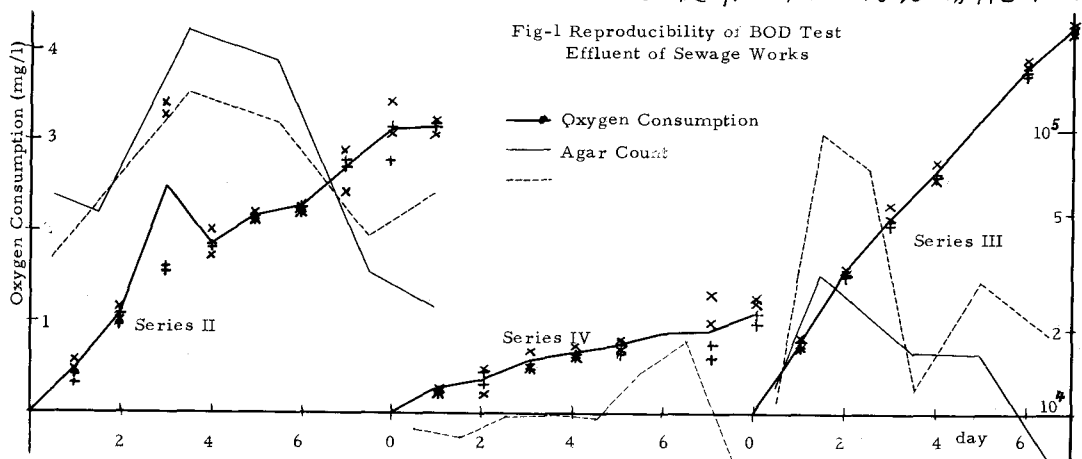
本研究は自然水系での酸素消費の研究の一環として 標準希釈法のふらん瓶中でおこる酸素消費のメカニズムを研究し、さらに自然水系中での自浄作用の解明に役立てたいと考えている。今回は第一報として予備的な知見と今後の展望を述べるにとどめる。

2. 実験及び分析方法 技術的労力的問題から さらに各回とも重点的テーマを決めて行うので実験方法及び分析は必ずしも一定ではないが、大筋は一定である。

検水は 下水処理水、河川水、池(不忍池)の水を使用し 採水後1〜2時間以内に所定の希釈倍率に希釈(下水試験法の定める標準希釈水を使用)し 30〜50本の内容量約120ml の水封式ふらん瓶に入れ、室温20℃の恒温室に10〜20日間静置させ、12〜24時間おきに必要なる分析を行う。

分析は 溶存酸素、窒素指標、一般細菌数、グルコースが主なものであり、多くは下水試験法、JISK0101に従う。BOD試験のモデルを簡単にするために、英国WPR社にばらりATUC1-アリル-2-チオ尿素)を加えて、硝化反応を抑制している。

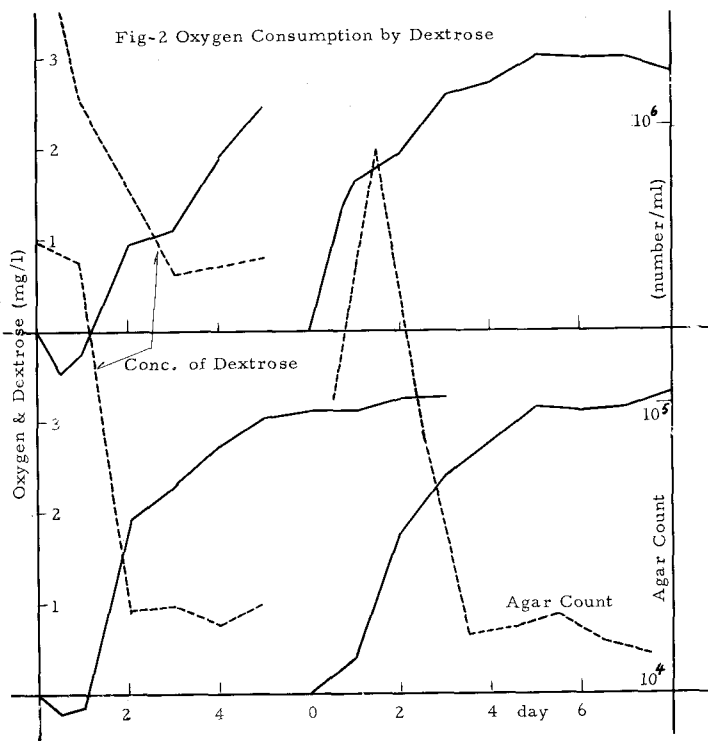
3. 再現性 再現性といっても2通りある。1つは希釈倍率の差によるもので1つは同一の希釈倍率におけるふらん瓶中の差である。前者については5〜10日で溶存酸素を消費するように2〜3種の希釈倍率をとり比較を行った。後者については 各測定時に2本以上のびんで分析を行い、



その平均値をヒッた。図-1は希釈倍率の異なるもの二種以上の平均を実線で示し、各ふらんびん毎のDOを点でプロットしたものである。希釈倍率を適当に選ぶことにより希釈倍率による有意の差はほとんどないことがわかる。但しSeries IVに示すように5日間の溶存酸素の減少が 0.7 mg/l (初期濃度の 8.6%) 程度の低濃度の場合には再現性が低いので、過剰な希釈は誤った結果をもたらしものと考えられる。下水試験法では5日後の残存DOが、 70% 以下であることを記されているが、Series IIの場合は 74% でSeries VII(多摩川)で 79.1% で基準をこえているが再現性がよい。この限界をどこにおくか、これだけの実験結果のみで結論づけられないが、5日間の酸素消費量が 20% 以上の場合は再現性の高い結果がえられるものと考えられる。一方低酸素濃度の場合については、下水試験法では 40% となっているが、この基準よりも低い 10% 近く迄再現性の高い結果がえられている。これらの測定から気がつくことは、酸素濃度は再現性にほとんど影響を与えないがふらんびん中の時間が $9\sim 10$ 日以上となると、変動が大きくなる。特に硝化反応の開始時期等の再現性はきわめて悪い。ふらんびんの差はあることはあるが、瓶の洗滌、希釈後の攪拌を充分に行うこと、希釈水、検水の温度差をなくすこと等の細心の注意を払うことにより、Series III, IX, 程度の再現性の高い結果がえられる。最も注意を要するのは、種種時の溶存酸素で、温度変化による場合と、攪拌による再曝気又は過飽和溶存酸素の逸散等による(30~50本のふらんびんに分注する間に)溶存酸素濃度が変化し有意の差を生ずることがある。

なお、ときどきSeries IIの3日目の場合のようにきわだって異なる結果を得ることがある。この場合、2本のふらんびんが同じ値となっているので、上記の説明だけでは、説明出来ないが細心の注意を払うことにより、このような現象を減少させることが出来る。

4. 遅滞 本研究の対象は自然水系及び生物処理された下水処理水を選んだので、DO消費曲線上には遅滞はほとんどみとめられなかった。これを更にチェックする為、各回とも基準希釈倍率(5日間溶存酸素消費量が $3\sim 5 \text{ mg/l}$ であるもの)にブドウ糖(Dextrose) 4.5 mg/l (溶存酸素消費量 $4.8 \text{ mg-O}_2/\text{l}$) の割合で入れ両者の差をブドウ糖の酸化に伴う酸素消費と考えると図示した。これによるとSeries IX以外は、いずれも遅滞がなく、酸化率も $55\sim 66\%$ の間にあり文献で示されて



いるブドウ糖の酸化率とほぼ同じ水準であり、特に阻害がおきていないと考えられる。なお、Series IVでは、反応曲線が滑らかでないが他の実験結果と比較してみると再現性の高い結果が得られている。遅滞のおきている Series IXについて、タルコースタット法によりブドウ糖の濃度の追跡をしたところ第一日目にはほぼ全量が残っていて、第二日目に急激に減少しており、DO消費曲線と一致した結果となっている。DO消費反応にあつたもの以外のブドウ糖は、細胞質として同化されたものと思われる。この結果からDO消費曲線における遅滞がみられなくても、別の基質とブドウ糖を加えた場合、酸素消費の遅滞がみられる現象があることが示された。

5. 反応速度 反応速度論的考察は充分に行っていないが、上述のごとく遅滞がおきていないこと、硝化反応のテックを行つていふこと、一次反応に近い酸素消費曲線が得られていることなどから大略の傾向をみるために、Moment法により k_1 値を求めた。その結果、0.06~0.08のものが多く希釈倍率の異なる検水ではグラフ上ほとんど有意の差が認められなかったが、 k_1 値のみで見ると、希釈倍率が大きくなると反応恒数が小さくなり、逆に k_1 値が大きくなるという傾向を示すという他の文献と

Table Velocity Constant

Sample	Dilution	K_1 (1/day)	L(mg/l)
Sewage Effluent	4	.081	9.852
	8	.054	15.240
Kanda River	4	.068	44.240
	8	.053	53.420
Shnobazu no-Ike	2	.140	14.016
	3	.085	14.604
	4	.072	13.728

同じ結果を得ている。ブドウ糖を加えた場合、 k_1 値は増加し上述の方法によるブドウ糖のみの酸化をみると自然水系の場合よりも酸素消費速度が大きく、前節で述べた遅滞とは逆にブドウ糖を選択的に分解していることが示されている。遅滞のおきての場合でも、その後の分解は、他と比べてきわめて速やかで k_1 値は0.30以上であり、短時間でplateau（平衡値）に達している。同じ不忍池の水でも、Series VIIでは、3日目でブドウ糖は検出出来ないが、5日後でも酸素消費量は平衡値に達していない。前節で示された遅滞現象と反応速度の両方を合わせて考えてみるとブドウ糖は、自然水系中に含まれる有機物質の酸化と異なる酸化反応をすることを意味する。これは別致問題とからめて今後検討すべき課題のひとつである。

6. 細菌数

生物化学反応のメカニズムを明らかにするために、下水試験法により一般細菌数を測定した。細菌数の測定の再現性が低いため、希釈倍率を2~3種とり、その希釈倍率に対して4枚の培養を行いその平均をとり、かつそれらの時間的変動の移動平均をとり細菌数として図-3に示した。実験開始時の一般細菌数は、下水処理水、河川水（採水地点の上流約50mの所で下水処理水が流入している）は、 10^4 のオーダーであるが、不忍池の場合は、 10^7 のオーダーである。一般的に一度ピークが發生し、次いで減少し一定の水準に維持されるのがだいたいこの傾向であるが検水ごとにその特徴が異なる。Series II, IIIの場合は、ピークに達するのが2~3日ととりかたなり遅い反応であるが、その間酸素消費は遅滞もおきて分解が行われている。Series IVの場合、酸素消費量がきわめて緩慢であるためか一般細菌数も平行であるが、ブドウ糖を加えたものでは単時間に一般細菌数が急激に増加している。その後ふたたび急激に減少しているがこれは栄養源としてのブドウ糖が消費された為に増殖が停止したことを示すものである。不忍池の場合にも、細菌数が急激に増加しており、24時間以内で 10^7 のオーダーに増加しているがブドウ糖を加えた場合の方が一般細菌数の増加

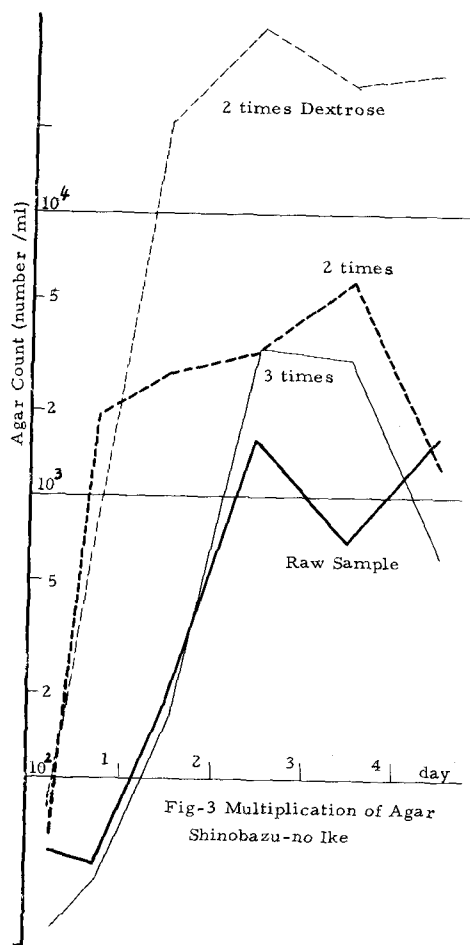


Fig-3 Multiplication of Agar Shinobazu-no Ike

率が高い。前節で述べた遅滞が生じた場合には、遅滞している期間の一般細菌数の増加は、それ程大きくはなく、ブドウ糖の酸化と細菌の増加とはほぼ完全に対応している。これだけのデータから、この増加が対数増殖期及び内生呼吸期の反応であるのかを論ずるには充分とは言えない。不思議の原水は（希釈倍率の大きい場合）に比して有機物も多く、酸素消費が大きいにもかかわらず低い増殖率であり、3倍希釈と同程度になっているので酸素消費と対数増殖とが対応するという説と矛盾することになる。

7. 今後の課題 実験の過程で出てくる研究の対象が多岐にわたること、自然水を対象としている関係上追試を行うことがきわめて困難であることにより、今回ある程度結論付けたことも更に検討を加えねばならない。なお、今後の課題として考えていることを所記してみる。①硝化反応とBODとの関係、②BODの生物化学反応に関する細菌と一般細菌数で測定出来るのか、③浮遊物質のBODに与える影響、④増殖の問題、以上を検討して、電極法等によるBODの自動測定の研究を行ってほしい。

追補 本研究では、ブドウ糖の分析はアルコースタット法を使用した。分析法は次の通りである。検水2mlをとり、タリニ酸緩衝液 pH7.0（リン酸-ナトリウム

ウム 1に対してリン酸-ナトリウム 2を混合）0.5mlを加えアルコースタット（三光純薬）及び、色素の混合溶液2mlを加え、30℃の水浴中で、正しく50分発色させ、4N塩酸1滴（pH4.0以下にし酵素反応を停止させる。）を加え、光電比色計（400mμ）で比色する。別に標準液をつくり測定毎に検量線を作製し、濃度を測定する。この方法は福井作倉著「還元糖の定量法」（東大出版会）に準じて行っている。

参考文献

- Water Pollution Research Laboratory The Determination of BOD by Respirometric Methods, 1968, (邦訳, 下水道協会雑誌 Vol.8 No. 83, 84, 86)
- Heukelekian, H. and Gellman, I Sewage Industrial Wastes, Vol. 23, 1951.
- Heukelekian, H; Wxygen Tension and Bacterial Numbers; Sewage Works Journal, Vol.8, 1936
- 萩原耕一「BOD試験法解説」