

BOD試験に関する研究(才三報)

— 遅滞現象 —

東大工 正貞 市川新 ○横山道子

I はじめに BOD試験における遅滞現象については、すでに多くの研究がなされており、下水試験法はじめ多くの試験法において河川水・下水処理等の植種の必要性が示され、それにより遅滞現象を克服する努力がなされているにも関わらず、この現象の定性的・定量的把握は必ずしも充分ではない。これは、BOD試験が5日間値を採用しているために遅滞現象が存在するにも関わらず再現性のよい結果が得られていることがこの問題の重要性が若干軽視されてきた理由であろう。

本報告は一連のBOD試験の研究の一環として行っているものの中から、グルコース・グリシン・塩化アンモニウムを分解する遅滞現象の観点から考察を加えたものである。

実験方法は才三報に述べた通り、不忍池の自然水をBOD₅ 2~4 mg/lに希釈(標準希釈水を使用し、植種は行なわない)し試験に必要な基質を添加し、5~20日間腐敗酸素・窒素成分等の濃度を測定したものである。なおこれと平行してT.B.社製6電極式DOセンサーコレクターを用いて自動記録をした。

II 実験結果及び考察 1、グルコース 上述の検水中にグルコースを4.5 mg/l(理論的酸素消費量4.8 mg/l)を添加しグルコース濃度と酸素消費量を測定した。その結果をまとめると図-1に示すようになる。これによると神田川の検水に添加した場合は試験回数が多いが一次反応に近い反応が認められ、 $k_1=0.167$ で(Moment法)あり遅滞は認められない。このような型は不忍池では1回しかなく、実験に用いた検水のほとんどは、明らかに遅滞が認められた。用いた検水は不忍池という自然湖沼であり、ここに流入する水は汚染の履歴をうけているので、下水試験法の解説を待つまでもなくBODふらん瓶中には充分多くの酸化菌が存在し、又、優越的に増殖するものと考えられるに

Fig-1 Oxidation of Dextrose

Straight line; Oxygen Consumption, Broken line: Concentration of Dextrose

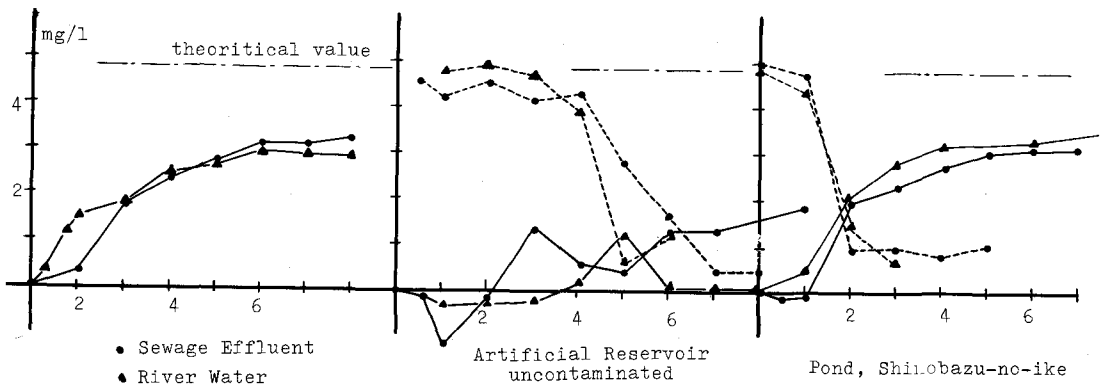
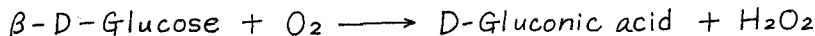


Table 1 Oxidation of Dextrose

Sample	Plateau	Rate of Oxidation
Sewage Effluent	3.173	66.1
River Water	2.650	55.2
	3.000	62.4
Pond Shino bazuno ike	2.472	51.5
	3.182	66.3
	2.943	61.3
	3.570	74.4
	3.500	72.9
Average	2.985	62.2
		63.6

もかかわらず遅滞がおきているのはグルコースが分解しにくい基質であるがグルコースを分解する酵素あるいは細菌が極めて限定されており、それが優勢になる迄遅滞がおきているのみ明らかでない。このことの検証の意味で汚染の履歴を受けていない天然水として興多摩湖の水に同様にグルコースを添加した実験を行った所、図-1-Bに示したように不忍池の場合よりも長期の遅滞がみられ測定した週間内ではグルコースの分解による溶存酸素の減少はほとんど認められなかった。この時の一般細菌数が10のオーダーであったことから、酸化菌やグルコース分解菌も極めて少なかったことによるものと考えられる。一方、グルコースの分解は3~4日目から急激に行なわれ7日目ではほとんどBlank値に相当する値にまで減少している。DOの減少は10日目以降に

極めて緩慢ではあるが認められている。このことからグルコース分解酵素は存在していたが、その量は充分ではなかったものと考えられる。なお、グルコースの生体ないしはフロックの吸着により、この試験法で定量されずに存在することも考えられたのでG 3型ガラス透過器で透過し定量してみたが原水の値と有意の差は認められていないのでグルコースの減少は全て分解によるものと考えても誤差は生じないであろう。グルコースダット法によるグルコースの定量は



の反応中発生する H_2O_2 により色素を酸化させて定量するのでグルコースの代謝過程においてグルコン酸になると、この方法では検出されない。それ故、グルコースの減少が完全に酸化されたと考えすることは必ずしも妥当ではないが、ATPの存在下でグルコン酸に分解されグルコースの酸化が開始されたことは明らかである。

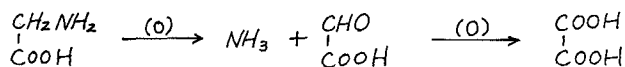
グルコースの減少と酸素消費量を比較すると前者が先行している。また平衡値に達している時間は検水毎に異なっているが、ほぼそれは3~4日であり最長は7日を要していた。これよりグルコースの分解にはかなりの時間を必要とすることがわかる。更に平衡値が理論値の51.5~74.4%程度であるので完全な酸化は行なわれていない。UmbreitのMetabolic-Mapにより必要酸素量を計算するとこの酸化率では $\text{HOOC}\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}_2$ 迄の分解に相当するものと考えられる。

不忍池の水にグルコースを添加した時の分解曲線は図-1-Cに示したように1~2日目からグルコースの減少がはじまり、更に1~2日遅れて溶存酸素の減少が認められた。この時のグルコース減少速度は、興多摩湖の場合よりも速く約1日で分解が終了している。このような急激な減少がみられるのに何故遅滞が起きるのは、これだけの実験結果からでは明らかに出来ない。

これに対応する酸素の減少の速度は、先に述べたようにグルコース分解のそれに較べると遅いが、不忍池は興多摩湖の場合よりも速く約5日で平衡値に達している。平衡値は表-1に示したように理論酸素要求量の51.5~74.4%（これを酸化率と呼ぶことにする）であり平均63.6%である。この値が100%を越えるものはいくつか認められるが、これは硝化反応等の影響によるものと思われる。

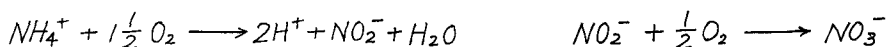
この酸化率はほぼ一定で遅滞日数とは無関係のようである。このことから上述の分解以上には反応が進んでいないものと考えられる。

2. グリシン 最つとも簡単なアミノ酸であるグリシンを10%添加した。この酸化過程は次式で示される



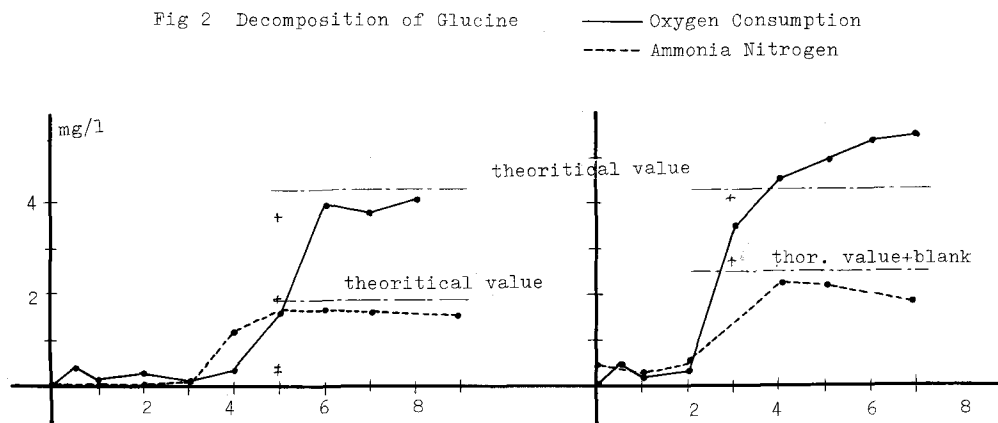
この分解によって発生するアンモニア量と蓄存酸素減少量から分解過程をみたものが図-Ⅱ-A, Bである。この場合のサンプル数が少ないので定性的にしかいえないが、3~4日目分解が始まり、約6日で平衡に達しアミノ酸中の窒素量の88.6%が $\text{NH}_3\text{-N}$ として測定されている。この時の酸素消費量はアミノ酸の分解に必要な理論値の95.3%であり、ほぼ完全に分解が行なわれたことを示している。これは極めて短時間に行なわれ、その為、分解が開始された時の各ふらん瓶毎のDO消費量は非常にバラツキが大きくなる。この場合もアンモニアの発生とDOの減少の位相のずれが認められ、その差は10~20時間程度と推定されるが、残々の24時間毎の測定ではそれを正しく把握することが出来なかった。なお、9日目(発生後でいえば4日目)迄蓄存酸素が初期値の34.5%残存しているにもかかわらず、発生したアンモニアの硝化は起っていない。このことはグリシン酸化酵素が活躍出来ても硝化菌が優勢でない条件ではないかと考えられる。また、別の検水での実験では、6~7日目(発生後3~4日目)でアンモニアの分解が認められているが、やはり大きな遅滞が起きている。このことから自然水系中では、窒素の分解は明らかに段階的に進むことがわかる。

3. 塩化アンモニウム 第二段階のBODといわれている硝化反応による酸素消費の問題は、研究者の中でも硝化反応が炭素化合物の分解と同時に始まるという見解と、その分解が終了した時に始まるという見解のふたつの意見に別れている状態である。硝化反応は次式で示される。



これによると、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 1mg に対し理論的に必要な酸素量は4.33 mgと極めて大きな値となる。

Fig 2 Decomposition of Glucine



もしこの反応が5日間以内におこると炭素系のBODをoverestimateすることになることと、反応速度の算出に誤差をもたらす危険性がある。そこで、本実験においてはこの硝化反応をあきらかにする為にアンモニア源として塩化アンモニウム(10mg/l: $\text{NH}_4\text{-N}$ として 2.64 mg/l)を加えて硝化の開始時、遅滞について考察を行なった。この塩化アンモニウムの硝化に必要な酸素は 2.64×4.33 mg/l であり、ベースのBODが0の時にのみ完全な硝化がおきる。しかし、ベースのBODが2~4 mg/l があるので、溶存酸素量が制限因子となり完全な硝化は期待しえない。

はじめに不忍池の水に添加して、DOの変化及びアンモニア及び亜硝酸の経時変化をもとめた。しかし、7~10日間のふらん期間にはアンモニアの変化はほとんど認められず、硝化反応は進行していない。同様にグルコース添加の場合と同じように無添加のものとの差によりもとめた溶存酸素の変化も有意の差は認められなかった。しかし、18日目になって亜硝酸の増加が認められたので、この閉鎖されたふらん瓶中にも硝化菌が存在することが確認されたがこの細菌が活躍するのに十分な環境は形成されていなかったことがわかる。このようにふらん瓶中に亜硝酸が発生してきたのはその環境下で硝化菌の活動が行なわれていると考え、この瓶の水を種種として使用して硝化反応の遅滞を調べてみた。図IV-Aの場合は、種種水の亜硝酸濃度は0.36 mg/l であり、これを50, 100, 200. ml/l の割合で種種したものである。

その時の遅滞日数はそれぞれ10, 8, 6日となっており種種量を増加させるにつれて遅滞日数が減少していることがわかる。なおこの場合、種種をしなかったものには14日迄硝化反応は認められなかった。

図IV-Bの場合は、不忍池の水を2倍希釈しこれに NH_4Cl を10mg/l 入れて室温(30°C 前後)に保ち一日おきに3~6時間の曝気を行ない硝化反応を進ませ亜硝酸が対数的に増加し始めた水を種種水として利用した。

Fig-4-A Nitrification

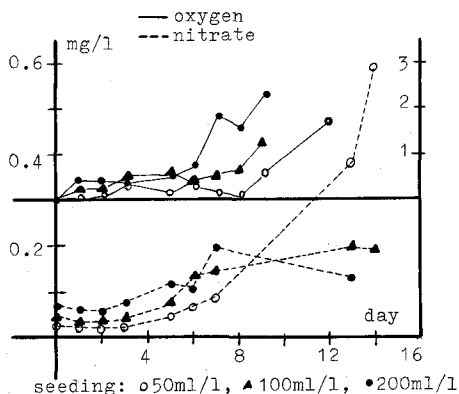
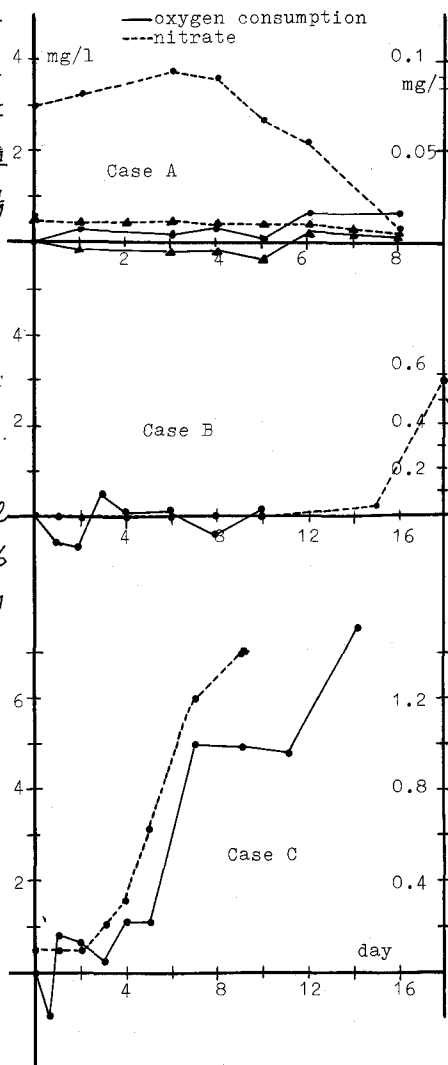


Fig 3 Nitrification



これは採水後6日目であるが硝化反応速度が水温によって支配されるため、20℃でのBOD試験の場合と直ちに比較することは出来ない。このときの植種水の $\text{NO}_2\text{-N}$ は(0.25 mg/l)であり、植種量は50, 100 ml/lであった。この場合、亜硝酸の増加が認められるのは4日目であるが、蓄存酸素はこれに若干遅れて減少し、100 ml/lの植種の場合は4日目、50 ml/lの場合は5日目に枯まっている。

図IV-Cは、同じ植種水に更に10 mg/lの塩化アンモニウムを加え1～2日おきに曝気し、硝化を促進させた植種水を使ってひきつづき実験を行なった。この時の植種水の $\text{NO}_2\text{-N}$ は、3 mg/lと極めて高く対数増殖期のものであった。これを50, 100 ml/lの割合で植種を行なうと亜硝酸の増加はそれぞれ3, 1日となっており、かつその硝化速度は極めて大きい。特に、100 ml/l植種の場合、2～4日目にかけては0.432 mg/l/日増加しており図IV-Bの0.1 ml/l/日の約4倍となっている。しかしながら硬水のBODが大きかったために、硝化反応に伴う蓄存酸素の減少は理論値通りの現象とはなっていない。特に5, 6日目の酸素消費量の値はその時の残存蓄存酸素が1.0 mg/l以下であったので、ここで制限をうけて硝化に伴う酸素消費量は見かけ上は減少して見える。なお、このふらん瓶を再曝気してBOD試験を継続した時、8日目まで $\text{NO}_2\text{-N}$ の濃度は3.7 mg/lとなったので、もし蓄存酸素という制限因子がなければ、もっとはっきりした硝化反応が追跡出来たものと思われる。 $\text{NH}_4\text{-N}$ が減少しそれに相当する亜硝酸が硬出されているということは現実には酸化されていることであり、どこからか酸素が与えられていなければならない。ふらん瓶中は閉鎖系であり大気からの酸素の供給はないので酸素供給源は存在しない。

Fig-5 Comparison of Oxygen Consumption

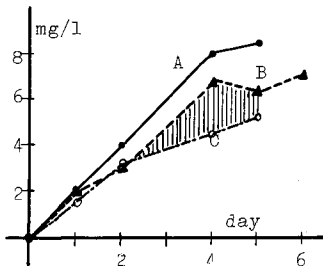


Fig 4-B Nitrification

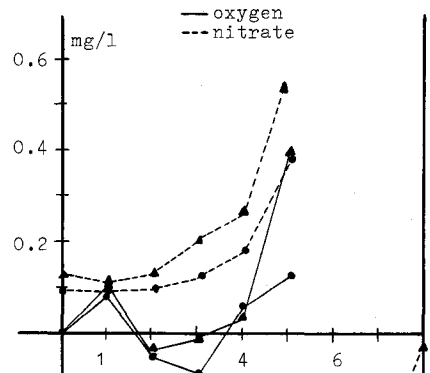
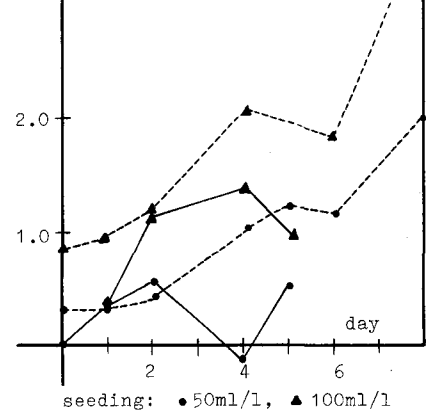


Fig 4-C



そこで考えられるのは、原水中のBOD成分との競合である。すなわち、硝化反応に伴う蓄存酸素の減少量を基質(塩化アンモニウム)添加の有意の差から求めていたのであるが、この場合必ずしも妥当とは考えられない。

図-Vに示れた曲線Aは塩化アンモニウム添加のもの、Bは無添加のものを示した。曲線Cは添加したものから亜硝酸発生に要する理論的酸素消費量を差し引いたものを示した。すなわちこの曲線は、硬水中のBOD成分の分解により消費された酸素量と考えられる。グルコース添加の場合は、Bと

Cは一致していたし、たとえその差があっても小さいが、塩化アンモニウム添加の場合はBとCの差が極めて大きく、かつその時期が早い。それ故このBとCには含まれた部分に相当する原水中のBOD成分の分解と硝化反応が同時に進行しており、BOD成分の分解がある程度阻害されたことになる。

ここで示した一連の実験結果より、植種の量すなわち植種水中の硝化菌(この場合厳密に定量していないが、植種水中の亜硝酸濃度で代用している。)

の量によって遅滞を少なくさせることが出来たので、硝化反応の遅滞はBOD成分の酸化反応によって阻害されるのではなく、硝化菌の増殖時間によって決定され、かつBOD成分の分解の終りとは関係がないと考えられる。BOD成分の分解における水中の環境が、硝化菌の増加を阻害する因子になりうることも考えられるので、更に詳細な研究が必要である。なお、今回の実験からはこの阻害は認められていない。

4. 連続測定装置 BOD試験で多量のふらん瓶を用意し、連日ないし半日おきに溶存酸素をそれらに関連する指標を測定してきたが、現象をみていくのには少しあらずるので連続測定を行った。T.B.社製の6電極式センサーレグダーで同時に6サンプルを自動的に測定する。

電極を用いてBOD測定する際にはいくつかの問題があり、既に紹介した通りである。特に電極で安定した値をうる為には水に流速を与え(この電極の場合5.4 cm/sec.)ねばならないのでふらん瓶のような静置した場合と条件が異なり、両者の厳密な比較をすることは出来ないが、水温及び回転速度を一定にしているので、相対的な比較は行なえると考え。このような観点から遅滞現象及び硝化速度の検討を行なってみた。

グルコースを基質としてそれぞれ2.5, 5 mg/l を添加した場合を図6-Aに示した。グルコースの分解を先に述べたように、理論値の63.6%迄とすると2.5 mg/l のグルコースの分解に必要な酸

Fig 6-A Continuous Records of Oxygen Consumption by Dextrose

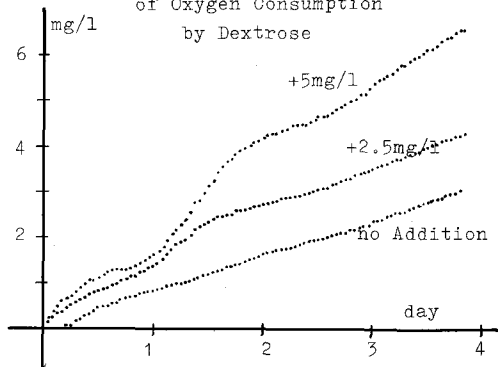
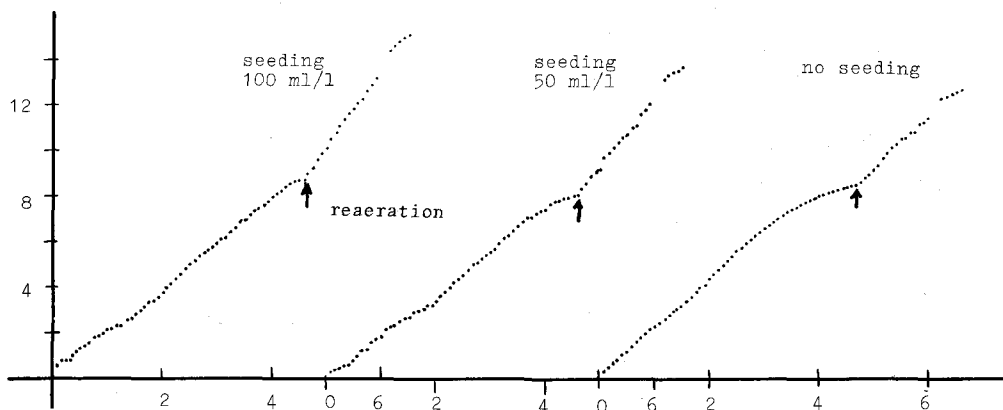


Fig 6-B Continuous Records of Oxygen Consumption by the nitrification



素量は約 2 mg/l である。 2.5 mg/l 添加の場合にはそれだけの差は認められないが 5 mg/l 添加の場合にはそれに対応する溶存酸素の減少が認められている。この図からみると、約 25 時間は無添加の場合とほとんど差がないが基質を添加したものは、酸素消費速度の増加が認められた。 2.5 mg/l 添加の場合その増加が認められたのは約 10 時間後であり、その後はふたたび無添加の曲線とほぼ平行に酸素消費が行なわれている。一方 5.0 mg/l 添加の場合約 20 時間後に酸素消費量が増加している。以後、無添加のものと平行しているが、2.5 日目以降から再び速度が遅くなっている。これを見るとグルコースの分解ははじめ全く行なわれず、極めて短時間のうちに急激な分解が起きていることがわかる。これが丁度グルコースタット法でみた残存グルコース量の図と対応する。その後分解は徐々にではあるが原水中の他の BOD 成分と平行しながら行なわれていることがわかる。

塩化アンモニウムを加えた場合は、図-VI-B に示すように溶存酸素の減少はふらん瓶のそれとほとんど差がないが、亜硝酸濃度は自動記録の方が小さい。 100 ml/l 濃度の場合の 5 日目のふらん瓶と電極法の亜硝酸濃度はそれぞれ 1.861 と 0.786 mg/l であった。しかし、ふらん瓶中の水と再曝気して電極法により前と同じ条件で測定を継続して行ったところ、3 日目(通算 8 日目)には亜硝酸濃度は 3.712 mg/l となっていた。この間の溶存酸素の減少は 5.985 mg/l であって硝化に伴う理論的酸素消費量には近い値であった。この時の酸素消費曲線を比較すると外見上は大きな差は認められないが、初めの 5 日間は原水中の BOD 成分の酸化で、再曝気後はアンモニアの硝化反応によるものと内容的に全く異なる反応であると推定される。

III おわりに BOD の遅滞現象を明らかにする一連の実験を行ってきた。これだけのデータから BOD 全てを論ずることは出来ないが、次のような知見が得られた。

- (1) グルコースを基質として添加した場合、遅滞なく分解が行なわれることもあるが、1~2 日の遅滞がみられることが多い。この遅滞日数は分解酵素の量によって支配されると思われ、汚染の履歴を受けていない一般細菌数の少ない自然水の場合大きな遅滞が認められた。
- (2) グルコースは分解によって、まずグルコン酸に変化するが、この分解は極めて急速に行なわれ 5~12 時間であった。それ以降の分解は徐々に行なわれ 3~7 日を要した。
- (3) しかしグルコースは完全に分解されず、理論的酸素要求量の約 63.6% しか分解されない。
- (4) グリシンのアンモニア化は、汚染の履歴のない場合でも極めて速く行なわれるが、発生したアンモニアの硝化は極めて緩慢である。
- (5) 塩化アンモニウムの硝化は、硝化菌の量によって決定され、硝化菌を多く含んだ接種水を加えると硝化は極めて速く起きる。それは必ずしも原水中の BOD 成分の分解終了後ではない。

なお連続測定装置は、東京都下水道局から借用した。ここに感謝申し上げます。

- 参考文献
1. 市川、横山：BOD 試験について (1), (2), (3), 下水道協会誌 Vol. 8 No. 87 (1971 年)
 2. 市川、横山：BOD 試験に関する研究 (オ二報), 第八回土木学会衛生工学研究討論会 (1972 年)
 3. Umbreit: Metabolic Map
 4. Mitchell: Water Pollution Microbiology. Wiley International, 1972