

〈論文〉

琵琶湖北湖表層における天然有機物 (NOM) の分解特性

日下部 武 敏¹⁾, 秋 田 泰 典¹⁾, 大 谷 壮 介¹⁾, 岡 本 高 弘²⁾
早 川 和 秀²⁾, 清 水 芳 久¹⁾

¹⁾京都大学大学院工学研究科 附属流域圏総合環境質研究センター

(〒 520-0811 滋賀県大津市由美浜 1-2 E-mail: kusakabe@biwa.eqc.kyoto-u.ac.jp)

²⁾滋賀県琵琶湖環境科学研究センター (〒 520-0022 滋賀県大津市柳が崎 5-34)

概 要

本研究では、現場に近い条件下で湖沼有機物の分解特性を評価するための試験法を確立し、琵琶湖北湖表層における天然有機物 (NOM) の分解特性を明らかにした。その結果、琵琶湖北湖 NOM の分解には 200~450 日程度かかり、初期分解過程における粒子態有機物 (POM) の分解と、期間全体を通じた溶存態有機物 (DOM) の分解で特徴付けられた。琵琶湖北湖の難分解性有機物濃度は季節によらずほぼ一定であり、その約 95% を溶存態が占めた。Multi-G モデルによる解析の結果、琵琶湖北湖 NOM は DOM, POM とともに易分解性および難分解性の 2 成分 (計 4 成分) で再現できた。

キーワード：琵琶湖, 天然有機物 (NOM), 難分解性有機物, 生分解性, Multi-G モデル

原稿受付 2012.5.24 原稿受理 2012.8.31

EICA: 17(2:3) 102-111

1. はじめに

湖沼水質保全特別措置法 (以下、湖沼法) が昭和 59 年 (1984 年) に制定されてから四半世紀以上が過ぎた近年においても、湖沼法に基づいて指定されている 11 湖沼のいずれにおいても有機汚濁に係る環境基準 (COD_{Mn}) は達成されていない。全国の湖沼に目を向けると、類型指定水域における環境基準 (湖沼・海域では COD_{Mn}, 河川では BOD) の達成率は、湖沼では 53.2% で横ばいに推移しており、依然として河川 (92.5%) や海域 (78.3%) と比べて低い状況に置かれている¹⁾。

琵琶湖等のいくつかの湖沼では、下水道等の整備をはじめとする各種点源・面源対策の実施によって流域からの流入負荷が減少し、湖内の BOD についても低減する傾向が見られている。一方で、琵琶湖では 1980 年代に入って COD_{Mn} は減少傾向から漸増あるいは横ばい傾向に転じ、BOD と COD_{Mn} の乖離現象が見られる (Fig. 1)。このことは、微生物により分解されにくい有機物 (難分解性有機物) が増加・蓄積していることを示唆する。ただし、BOD および COD_{Mn} の測定値は還元性を有する無機物 (亜硝酸塩, 硫化物, 鉄等) や微生物活性を阻害する物質 (重金属, 殺菌剤等) の影響を包含したものであることから、当該現象が湖沼有機物の質的变化だけによるものとは言えないことに注意しなければならない。COD_{Mn} の漸増傾向あるいは BOD と COD_{Mn} の乖離現象は、琵琶湖以外

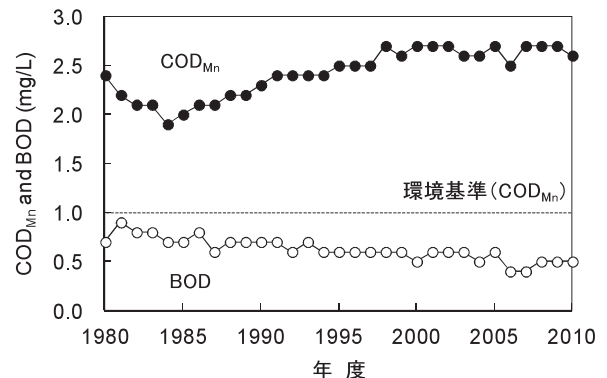


Fig. 1: Annual trend of COD_{Mn} and BOD in the Northern Lake Biwa from FY1980 to FY2010²⁾

の湖沼においても確認されており、湖沼有機物の質的变化が全国的に進行している可能性がある³⁾。ところが、水環境中における難分解性有機物の機能や役割、湖沼生態系への影響についてはほとんど明らかにされておらず、難分解性有機物の存在実態や特性を明らかにする必要がある。難分解性有機物の定量や起源の推定はいくつかの研究機関において行われているものの、その詳細については不明な点が多く残されている^{3,4)}。既存研究³⁾では、湖沼の滞留時間が湖盆の形状や集水域、水利用等の条件に応じて大きく異なると同時に、湖内に存在する有機物の起源や組成、そして微生物叢についても季節的な変化をしていることが想定されるにも関わらず、湖沼の難分解性有機物を定義する際に

生分解性試験の期間としてあらかじめ100日間が設定されている点や、前処理としてろ過や栄養塩添加、植種を行っている点などから、実際の水環境中での有機物の分解性を評価しているとは言い難く、方法論の確立が必要不可欠である。

また、有機物の生分解性評価の指標には、目的に応じて、酸素要求量や二酸化炭素発生量、溶存態有機炭素(DOC)濃度、化学分析による被験物質濃度等が採用されることが多い^{5,6)}。湖沼の環境基準であるCOD_{Mn}は、有機物の総量を表す指標となっていない、加成性がない、構成成分ごとに酸化効率が異なる等の問題点が指摘されてきた⁷⁾。湖沼流域における有機物の物質収支や質の変換過程を取り扱うためには、加成性があり分析操作も簡便でより精度の高い等の優れた利点を有する全有機炭素(TOC)が評価指標としてふさわしいと考えられたため、本研究では天然有機物(NOM: Natural Organic Matter)の分解特性を評価する際の指標としてTOCを採用することとした。

湖沼は閉鎖性が高いため滞留時間が長く、富栄養化や汚濁・汚染がいったん進行してしまうと、その影響は長期間にわたって継続する特徴があり、水質改善・浄化には多大な時間とコストが必要となる。さらに、琵琶湖北湖のような深い湖では、植物プランクトンの消長を含む物質循環は、湖水の流れ(湖流)や成層化の影響を強く受けていると考えられる⁸⁾。したがって、湖水中に長期間残留し続ける難分解性有機物が湖沼生態系や我々の水利用等に悪影響を及ぼすならば、総合的かつ効率的な湖沼有機物の管理や長期監視、そして発生源対策等の実施が必要であり、そのためには湖沼有機物の水質形成メカニズムを解明し、基礎的知見とモデルによる水質予測が欠かせない。今後の琵琶湖における有機物管理のためには、湖沼有機物の分解過程とその因子を解明し、速度論的パラメーター等の基礎的知見の蓄積と、それらを包含し、さらには湖内生態系を構成する生物や物理的・化学的環境要因、人間活動を組み込んだ生態系モデルの高精度化が必要不可欠である。

以上の背景を踏まえ、本研究では湖沼有機物の分解過程を考慮した高精度な水質予測モデルの構築に資することを最終目標とし、より現場に近い条件下において湖沼有機物の分解特性を評価するための長期間分解性試験法(シミュレーション試験法)を確立し、琵琶湖北湖表層におけるNOMの分解特性を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 採水調査

本研究では、琵琶湖北湖の今津沖中央17B(35°23'41"N, 136°07'57"E, 水深約89m)を採水地点とした(Fig. 2)。これは、多くの水質モニタリングデータが蓄積されていることに加えて、他の地点と比べて流域や湖底からの影響を受けにくく琵琶湖北湖沖帯域におけるNOMの代表となると考えたためである。また、琵琶湖南湖の有機物濃度と比べて北湖のそれは低いものの、琵琶湖容積全体(約275億m³)に占める北湖容積(約273億m³)の割合が大きいことから、北湖における有機物存在量は非常に多く、その分解特性を明らかにすることはとても重要である。

採水調査は、降水等の影響を考慮して季節ごとに実施した。本研究における調査日は、2010年7月5日、同10月18日、2011年1月18日、同5月23日であった。採水にはステンレスバケツを用い、採取した表層水を40Lステンレスタンクに入れ、水試料の温度上昇を抑えるために保冷剤で冷やしながら速やかに実験室に持ち帰った。

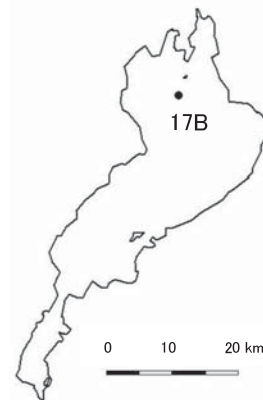


Fig. 2: Sampling site (Lake Biwa, Japan)

2.2 分析方法

(1) 本研究におけるPOMおよびDOMの定義

一般に、粒子態と溶存態の境界は、研究の目的や対象に応じて孔径が0.1~1.0 μm程度のガラス繊維ろ紙もしくはメンブレンフィルターを用いて実験操作によって便宜上定義される。本研究では、粒子態と溶存態の区分に450°Cで4時間熱処理したWhatman GF/B(公称孔径1.0 μm)を用いた。これは、ろ過した湖水の分解性試験(後述)においても十分なバクテリア濃度を確保すること、琵琶湖北湖における有機物濃度が比較的低いことから分解性試験後の有機物分析においても十分な精度で測定できること等を考慮したためである。したがって、本研究ではGF/Bを用いて湖水を吸引ろ過して得られたろ液中の有機物を溶存

態有機物 (DOM: Dissolved Organic Matter), ろ紙上に捕捉された有機物を粒子態有機物 (POM: Particulate Organic Matter) と定義した。

(2) DOC 分析

DOC 濃度は, 2 N HCl を用いて酸性 (pH 3 以下) にした水試料を高純度酸素ガスで通気処理して無機炭素 (IC) を除去した後に, 高感度 Pt 触媒を搭載した全有機体炭素計 TOC-V_{CPH} (島津製作所) を用いて不揮発性有機炭素 (NPOC) 濃度として求めた。すべての試料に対して分析を 3 回繰り返し, 相対標準偏差 (RSD) はおおむね 1.0% 以下であった。

(3) POC 分析

粒子態有機炭素 (POC) 濃度は, 水試料を吸引ろ過した後のろ紙を 105°C で 2 時間乾燥させてから元素分析装置 Flash EA-1112 (Thermo Electron) に供して炭素含有量を求め, ブランク値を差し引いた後, 検水量 (250 mL) で除することで求めた。なお, 本研究では試料量に限りがあったため, POC 分析では繰り返し測定を行わなかった。また, DOC 濃度と POC 濃度の和を TOC 濃度とした。

(4) その他の一般水質分析

分解性試験中に何らかの汚染や異常がないことを監視するために, 本研究では試料採取日ごとに水温, pH, DO, EC, ORP, UVA₂₅₄ を測定した。さらに, 分解性試験の前後には, TN (JIS K 0102 45.4), TP (JIS K 0102 46.3), Chl_a (DMF 抽出-単波長吸光度法⁹⁾), バクテリア数 (DAPI 染色-直接計数法¹⁰⁾) を求めた。

3. 長期間分解性試験法の概要

3.1 試験条件

本研究では, より現場に近い条件下において湖沼有機物の分解特性を評価するための長期間分解性試験法の確立を試みた。以下に本研究で検討・採用した試験条件についてその概要を述べる。

(1) 容器

分解性試験で用いる容器の材質は, 容器からの溶出や吸着による損失をできる限り抑えるためにホウケイ酸ガラス (DURAN) を選定した。本研究で使用したガラス瓶の容量は 5 L で, 底外径は 182 mm であった。後述するように, 本研究では DOC 濃度の減少が見かけ上収まるまで試験を継続すること等を考慮して, 採取した湖水をガラス瓶 2 本に分注して分解性試験に供し, 交互に試料採取して水質分析を行った。なお, 初期水量は瓶 1 本につき約 3 L であった。

(2) 試験期間

本研究では, 琵琶湖北湖の滞留時間が平均 5.5 年⁸⁾ であることに鑑み, 試験期間をあらかじめ設定せず

DOC 濃度の減少が見かけ上収まるまで試験を継続することとした。これは, 予備検討の結果, 琵琶湖北湖 NOM の分解には 100 日以上かかることが示唆されたためである。なお, 本研究では DOC の分析精度を考慮し, 前回の分析時の DOC 濃度と比べてその減少幅が 0.01 mgC/L 以下であることを終点の判断基準の目安とした。試験期間中の採水・分析は, 試料量に限りがあるため原則として 28 日ごとに行うこととし, 試料を 250 mL 採取して水質分析に供した。

(3) 植種

生分解性試験では様々な微生物源 (活性汚泥, 土壌, 河川水等) が用いられるが, その採取場所や時期, 馴致条件, 微生物濃度等によって得られる分解度や再現性は異なると考えられる。また, 化学物質の生分解性試験では, 分解速度の遅い物質ほど, 試験法の条件間で差が生じやすいことが知られている¹¹⁾。本試験法においては, 採取した湖水中に存在する微生物叢をそのまま利用する条件とし, 植種は行わないこととした。

(4) 栄養塩添加

一般に, 微生物の生理活性は, 温度や栄養塩類, pH, 基質, 最終電子受容体, 阻害物質等の外部環境に応じて変化する。従属栄養細菌をはじめとする微生物の活動や維持に必要な生元素が制限されると, 得られる試験結果が異なることは容易に推察される。しかし, 栄養塩の添加によって微生物活性の維持や試験期間の短縮等の効果が期待できる一方で, 微生物の活性のみならず微生物叢が変化し, 最終的に得られる難分解性有機物の質と量が異なる可能性が考えられた。栄養塩添加が難分解性有機物の質および量に与える影響については不明な点が多く知見が不足しているため, 本研究では栄養塩を添加せずに分解性試験を行った。

(5) 温度

試験温度は, 酵素による有機物の酸化分解反応に限らず, 微生物の増殖等のあらゆる素過程に影響を与えるため, 試験温度の制御は重要である。OECD ガイドラインで採用されている分解性試験法において通常試験温度として 20~25°C の範囲が推奨されていること⁵⁾, JIS では BOD の培養温度が 20°C に規定されていること¹²⁾ を考慮して, 本研究では試験温度として 20°C を採用することとした。なお, 本研究の調査地点である今津沖中央 17 B における 2010 年度の平均水温は 17.2°C (最大 29.9°C, 最小 7.6°C) であった²⁾。湖内で通常観測される温度の範囲であれば, 異なる温度における反応速度係数は, 次式で表現される van't Hoff-Arrhenius 因子 f で補正して求めることができる¹³⁾。

$$f = k_{T_2}/k_{T_1} = \exp[E_a(T_2 - T_1)/RT_1T_2] \quad (1)$$

式 (1) において, T_1 および T_2 : 絶対温度, k_{T_1} およ

び k_{T2} : 温度 T_1 および T_2 における反応速度係数, E_a : 活性化エネルギー, R : 気体定数である。ただし, 式 (1) を用いて異なる温度における反応速度係数を求めるためには, 2つ以上の温度条件において反応速度係数を求めて E_a を実験的に求めるか, 文献値を用いる必要がある。

(6) 酸素供給

本研究では, 琵琶湖北湖表層における NOM の分解特性を明らかにするため, 好気性条件における NOM の分解特性を評価する。琵琶湖水の DOC 濃度レベルから有機物の分解に必要な酸素量を推定すると, 湖水の DO 濃度で酸素が大きく不足することは考えにくい, 本研究ではシリコ栓で通気性を保った状態で, 大型シェーカー VKS-75 (Edmund Bühler) を用いて試料容器を水平攪拌 (60 rpm) することで酸素を供給した。

(7) 光

試験期間中の試料に光が照射されると, 植物プランクトン等の光合成微生物による二酸化炭素の固定が可能となり, TOC を評価指標とした本試験法には適さない。また, 光分解が有機物の生物利用性に影響を与えたとの報告もある¹⁴⁾。本研究では, これらの影響を可能な限り排除するため, 試料容器をアルミ箔で遮光して暗条件下で分解性試験を実施した。

(8) ろ過操作

本研究では, GF/B を用いたろ過操作により 2010 年 7 月 5 日採取の湖水から粒子状物質を除去し, POM の影響を受けない条件下で DOM の分解特性を評価するための試験を併行して実施した。その結果, ろ過操作が DOM の分解特性に影響を与えることが明らかとなったため (後述), 本研究では湖水をろ過せずに未ろ過試料を分解性試験に供することとした。

(9) 併行精度 (repeatability)

本研究では, 試験法の妥当性を確認するため, 2010 年 7 月 5 日採取の湖水については併行条件下において 112 日間の分解性試験 ($n=2$) を行った。

3.2 ブランク試験

試験期間中に実験室雰囲気および実験操作からの汚染の有無を監視することを目的として, 超純水を用いたブランク試験を併せて実施した。経時的に採取したブランク試料の DOC 濃度および POC 濃度をブランク値とした。

3.3 コントロール試験

長期間の分解性試験では, 試験期間中に微生物の種類や数, 活性が大きく変化することが懸念される。そこで, 本研究では 2010 年 7 月 5 日に採取した湖水の試験前後の試料に対し, 50 mgC/L となるように生物

利用性の高いグルコースを添加するコントロール試験を実施した。グルコース添加後の DOC 濃度の変化を調べることで, 試料中の微生物が有する分解ポテンシャルの簡易評価を実施した。

4. Multi-G モデルによる解析

水環境中における有機物の一部は, 従属栄養生物が細胞外に分泌した加水分解酵素等によって分解 (低分子化) されて細胞内に取り込まれ¹⁵⁾, 最終的には二酸化炭素として環境中に放出される過程を辿る。有機物の分解・無機化過程は, 有機物濃度, 酸化剤濃度, 生物の量と活性, 栄養塩類, 温度等の関数であると考えられる。例えば, 酵素による基質 (有機物) の分解反応は, 次式で表現される Michaelis-Menten 型の速度式に従うことが知られている。

$$\mu = \mu_{max} C / (K_M + C) \quad (2)$$

式 (2) において, μ : 反応速度, μ_{max} : 最大反応速度, C : 基質濃度, K_M : Michaelis 定数である。しかし, 本研究の対象である琵琶湖 NOM は複雑な混合物であり, 仮に有機物の分解に係るすべての素過程が Michaelis-Menten 型の速度式に従うとしても, すべての分解反応に対して実験的に μ_{max} および K_M を決定することは困難である。そこで, 本研究では Westrich & Berner¹⁶⁾ によってその有効性が示された Multi-G モデルを琵琶湖 NOM の分解特性の解析に適用することとした。Multi-G モデルでは, 複雑な混合物である有機物を分解・無機化速度を同じと見なす複数の成分に便宜上分類し, $K_M \gg C$ 等の仮定¹⁶⁻¹⁸⁾ を導入してそれぞれの成分が有機物濃度に関する 1 次分解反応 (式 3) に従うとする。

$$C(t) = \sum C_i \exp(-k_i t) + C_R \quad (3)$$

式 (3) において, $C(t)$: t 日目における濃度 (mgC/L), C_i および k_i : 成分 i の初期濃度 (mgC/L) および 1 次反応速度定数 (d^{-1}), C_R : 難分解性成分 (refractory: R) の濃度 (mgC/L) である。なお, 成分 i には, 易分解性成分 (labile: L) や準易分解性成分 (semi-labile: SL), 準難分解性成分 (semi-refractory: SR) 等が設定される。本研究では, Excel 2007 のソルバー機能を用い, 分解性試験で得られたデータを Multi-G モデルに当てはめ, 残差平方和 (RSS) が最小となるように成分数を決定し, 各々の成分に対して C_i および k_i を求めた。

5. 結果および考察

5.1 採水調査の結果

本研究で採取した湖水の水質の概要を **Table 1** にまとめて示す。2010年7月には現場で測定した水温の鉛直プロファイルから顕著な温度躍層が確認されたと同時に、pHが上昇してD-TNが低下していたことから、植物プランクトンによる光合成が活発に行われていたものと考えられた。Chl.a濃度が低いのは、強い太陽光を避けるため植物プランクトンが下方へ移動したためと考えられる¹⁹⁾。2010年10月はD-TNが減少し、POCおよびChl.a濃度が高いことから表層において植物プランクトンが増殖していたと考えられた。2011年1月には温度躍層が完全に消滅して鉛直循環し、一方でChl.a濃度が低く、TNが0.32 mg/Lまで上昇していることから、一次生産が抑えられていたと考えられる。2011年5月は水温の上昇にともなって温度躍層が形成されはじめ、Chl.a濃度から植物プランクトンの活動が活発化しはじめた時期であることが推察された。以上のことから、本研究で採取した表層水は、水温や主要水質項目、植物プランクトンによる一次生産の観点から概ね季節的なパターンを捉えられたと言える。以下、採取した試料を対応する季節で表示する (**Table 1** 参照)。なお、DAPI法により計数した細菌数は、 $8.2 \times 10^6 \sim 5.8 \times 10^7$ cells/mLの範囲にあって7倍程度の差が見られた。

5.2 長期間分解性試験法の妥当性評価

本研究では、試験期間が長期間であることに鑑み、試験期間中の何らかの汚染や異常がないことを監視するために一般水質項目について測定を行ったが、明確な汚染や異常については認められなかった。DOについては、4回の試験期間中7.3~8.6 mg/L ($n=53$)で推移しており、好気条件が維持されていたことを確認した。以下に長期間分解性試験法について検討・評価して得られた結果を示す。

(1) ブランク試験

長期間分解性試験と同時に行ったブランク試験 (計4回) の結果をまとめると、DOCおよびPOCのブランク値はそれぞれ0.10~0.18 mgC/L ($n=53$) および0.02~0.04 mgC/L ($n=53$) の範囲であった。したがって、分解性試験中に周囲や実験操作による有機物汚染が十分に抑えられていたと言える。なお、POCのブランク値は、特に試験終了後のPOC濃度と比べて無視できなかったため、POC濃度はブランク値を差し引くことにより求めた。一方で、DOCのブランク値は湖水のDOC濃度と比べて十分に低く、かつDOC濃度のブランク値は時間とともに漸増する傾向があったため、ここではブランク補正を行っていない。

(2) 併行精度

併行条件下における夏季試料の分解性試験 (112日間) の結果から、2回の試験の間で見られたDOC濃度およびPOC濃度の差はそれぞれ0.03 mgC/Lおよび0.01 mgC/L以下であった (**Fig. 3**)。したがって、試行回数は限られるものの、本研究で実施した長期間分解性試験は併行精度 (repeatability) の点からも妥当性が確認された。

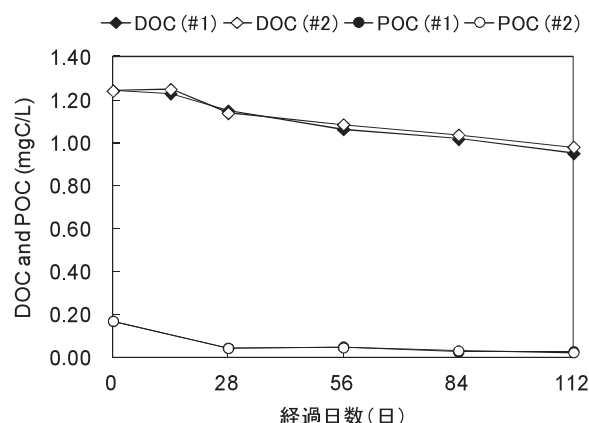


Fig. 3: Repeatability of the long-term test method for evaluation of biodegradability of Lake Biwa NOM in summer ($n=2$) (The plots of POC (#1) and POC (#2) are superimposed each other.)

Table 1: Water quality of the water samples from 17B station

| 試料採取日 | 水温 (°C) | pH (-) | TN (mg/L) | D-TN (mg/L) | TP (mg/L) | DOC (mgC/L) | POC (mgC/L) | Chl.a (μg/L) | 細菌数 (cells/mL) |
|---------------------|------------|-----------|--------------|----------------|--------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|
| 2010年 7月 5日 (夏季) | 25.4 | 9.0 | 0.20 | 0.15 | 0.008 | 1.24 | 0.17 | 1.7 | 1.2×10^7 |
| 2010年10月18日 (秋季) | 21.9 | 8.1 | 0.17 | 0.14 | 0.008 | 1.32 | 0.40 | 6.0 | 5.8×10^7 |
| 2011年 1月18日 (冬季) | 8.3 | 7.6 | 0.32 | 0.30 | 0.008 | 1.06 | 0.13 | 1.4 | 8.2×10^6 |
| 2011年 5月23日 (春季) | 16.7 | 8.4 | 0.28 | 0.25 | 0.005 | 1.18 | 0.19 | 3.5 | 2.1×10^7 |

(3) ろ過操作の影響

ろ過操作が DOM の分解に与える影響を評価するため、夏季試料を用いて分解性試験を実施した。その結果、ろ過操作によって DOM の分解率が大きく低下することが分かった (Fig. 4)。このことから、ろ過操作によって水試料中の POM だけでなく、POM に付着した従属栄養細菌も同時に捕捉・除去され、DOM 分解に影響したものと考えられた。したがって、ろ過操作によって POM の影響を切り離し、水環境中の微生物叢による DOM の分解特性を評価することは困難であった。また、ろ過操作によって最終的に得られる難分解性有機物の量だけでなく質にも影響することが懸念されたため、本研究では前処理としてのろ過操作を行わないことにした。

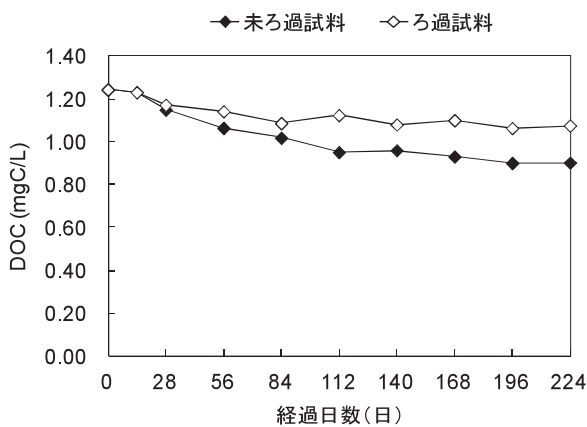


Fig. 4: Effect of GF/B filtration on biodegradability of Lake Biwa DOM in summer

(4) コントロール試験による分解ポテンシャルの評価

試験期間中に微生物が有する分解ポテンシャルが変化するかをコントロール試験で簡易評価した。コントロール試験には、試験期間が224日間であった夏季試料を用いた。試験前後のバクテリア数は 1.2×10^7 および 9.8×10^6 cells/mL で、大きな減少は見られなかった。コントロール試験の結果、少なくともグルコース (易分解性有機物) に対しては試験前後で同程度の分解ポテンシャルを維持していることが確認できた (Fig. 5)。したがって、植種や栄養塩添加をせずとも、長期間にわたって現場に近い条件において琵琶湖 NOM の分解特性を評価できると考えられる。

以上のこと踏まえ、現場に近い条件における琵琶湖 NOM の分解特性を評価するため、植種や栄養塩添加、ろ過操作はせず、20°C、暗条件、好気条件で長期間分解性試験を行い、経時的に水質の変化を調べることにした。なお、本研究では試験終了後に残存する有機物を難分解性有機物と定義する。

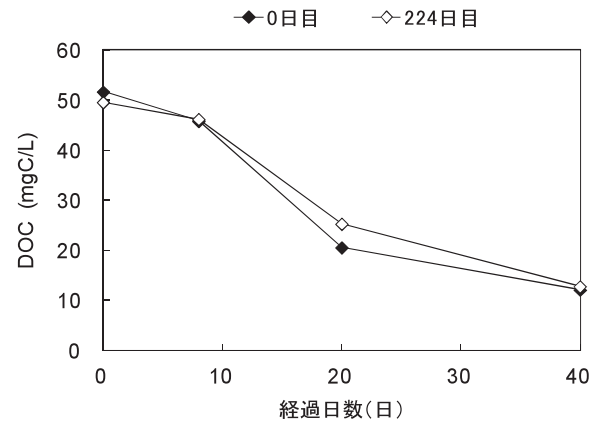


Fig. 5: Degradation potentials of tested waters before and after the long-term test for Lake Biwa NOM in summer

5.3 長期間分解性試験の結果

季節を考慮して採取した湖水に対して本研究で確立した長期間分解性試験を適用し、琵琶湖 NOM の分解特性の評価を行った。評価指標を TOC 濃度、DOC 濃度および POC 濃度とした場合のそれぞれの試験結果を Fig. 6 に示す。Fig. 6 (a) および (b) より、試験開始後、従来法の試験期間である100日を超えた後も有機物濃度の減少傾向が見られ、琵琶湖北湖 NOM の分解には200~450日程度かかった。一方、Fig. 6 (c) より、POM の分解はいずれの季節においても56日目頃までには収束し、その後は大きな変化は見られなかった。以上のことから、琵琶湖北湖 NOM の分解過程は、初期分解過程における POM 分解と、期間全体を通して進行する DOM 分解で特徴付けられることが明らかとなった。

本研究で実施した長期間分解性試験で得られた結果の概要を Table 2 に示す。琵琶湖北湖表層の難分解性有機物の平均 TOC 濃度は 0.88 mgC/L (SD=0.05 mgC/L, $n=4$) となり、季節によらずほぼ一定であることが明らかとなった。琵琶湖は厳寒期に大循環する温暖1回循環湖⁸⁾であり、難分解性有機物濃度に季節的な変動が見られないことは、湖内一次生産 (藻類活動) との関連性は低く、難分解性有機物が湖内に空間的に広く存在していることを示唆している。

また、難分解性溶存態有機物の平均 DOC 濃度は 0.84 mgC/L (SD=0.05 mgC/L, $n=4$) で、難分解性有機物の約 95% を溶存態が占めていることが明らかとなった。今井ら²⁰⁾は、琵琶湖北湖水中の溶存態フミン物質濃度は 0.37~0.41 mgC/L であったと報告している。仮にそのすべてが分解されずに湖水中に保存されるとしても、難分解性溶存態有機物に占める溶存態フミン物質の寄与は 44~49% しかない計算となる。これまで、天然水中のフミン物質が溶存態有機物の大部分を占め、難分解性の特徴を示す²¹⁾と認識されてきたが、琵琶湖北湖ではフミン物質以外の成分の寄与が

Table 2: Summary of biodegradability of Lake Biwa NOM

| 試料採取日 | DOC | | | POC | | | TOC | | | 試験期間 |
|---------------------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| | 0日目 | 112日目 | 試験終了後 | 0日目 | 112日目 | 試験終了後 | 0日目 | 112日目 | 試験終了後 | |
| 2010年 7月 5日 (夏季) | 1.24 | 0.95 | 0.90 | 0.17 | 0.03 | 0.04 | 1.41 | 0.98 | 0.94 | 224日 |
| | — | 77% | 73% | — | 16% | 22% | — | 69% | 67% | |
| 2010年10月18日 (秋季) | 1.32 | 1.01 | 0.79 | 0.40 | 0.07 | 0.05 | 1.72 | 1.08 | 0.83 | 448日 |
| | — | 76% | 60% | — | 16% | 11% | — | 62% | 48% | |
| 2011年 1月18日 (冬季) | 1.06 | 0.95 | 0.82 | 0.13 | 0.03 | 0.03 | 1.19 | 0.98 | 0.86 | 364日 |
| | — | 90% | 78% | — | 22% | 27% | — | 82% | 72% | |
| 2011年 5月23日 (春季) | 1.18 | 0.94 | 0.86 | 0.19 | 0.04 | 0.04 | 1.37 | 0.98 | 0.90 | 224日 |
| | — | 79% | 73% | — | 21% | 21% | — | 71% | 65% | |

※ 上段は有機炭素濃度 (mgC/L), 下段は0日目に対する残存率 (%)

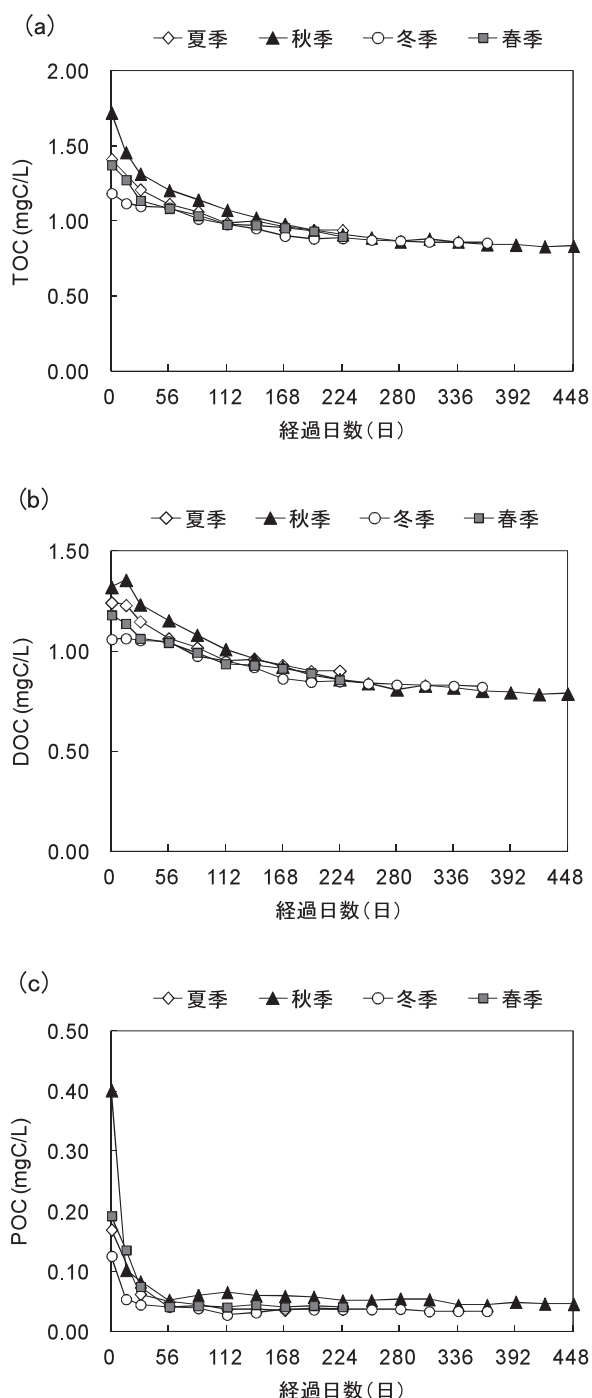


Fig. 6: The results of the long-term test for Lake Biwa NOM, evaluated by (a) TOC, (b) DOC and (c) POC

フミン物質と同等もしくはそれ以上であることが推察された。したがって、琵琶湖における難分解性有機物の機能や役割、湖沼生態系への影響を明らかにするためには、DAX-8分画や分子量分画等の手法を上手く組み合わせながら、湖沼有機物の生産と分解に関わる複雑な現象の素過程の理解を深めていかなければならない。

5.4 Multi-G モデルによる解析

季節ごとに採取した湖水の分解性試験で得られたデータを Multi-G モデルに当てはめた結果、琵琶湖北湖 NOM はいずれの季節においても DOM, POM とともに 2 成分、すなわち易分解性成分と難分解性成分から構成され、合計 4 成分で精度よく再現できた。ここでは、夏季試料の結果を一例として Fig. 7 に示す。

なお、琵琶湖北湖と比べて富栄養化した湖沼や陸域からの負荷が多い湖沼、湖底からの影響が強い湖沼の場合、有機物の構成はより複雑であると予想され、本研究で得られた 4 (2+2) 成分を超える成分数からなる Multi-G モデルが有効となる可能性は残されている。

Multi-G モデルによる解析から、易分解性 POM の分解速度係数の平均値は 0.086 d^{-1} ($\text{SD}=0.040 \text{ d}^{-1}$, $n=4$) となり、ばらつきが大きいことが分かった。このことは、季節により POM 組成、例えば優占する植物プランクトン種等が異なっていたことが一因と推察された。易分解性 DOM の分解速度係数の平均値は 0.009 d^{-1} ($\text{SD}=0.003 \text{ d}^{-1}$, $n=4$) となり、易分解性 POM のそれよりも 1 桁低く、ばらつきも小さかった。したがって、分解速度の観点からは、易分解性 DOM 成分は比較的均質なもので構成されている可能性が示唆された。

Multi-G モデルで計算された 4 成分の初期濃度からは、琵琶湖北湖 NOM に占める難分解性有機物の濃度は溶存態、粒子態ともに季節によらずほぼ一定であること、難分解性有機物の大部分を溶存態が占めていることが確認された (Fig. 8)。さらに、Multi-G モデル

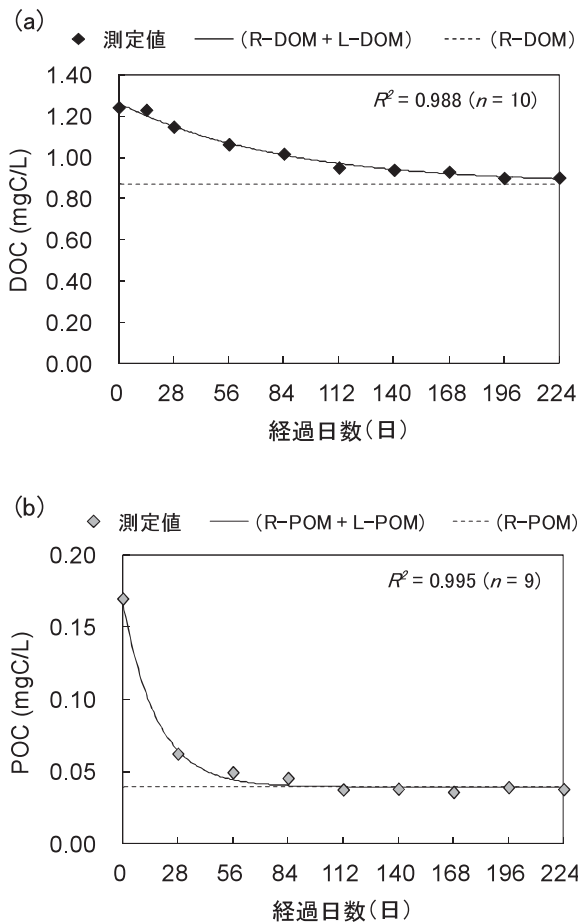


Fig. 7: Decomposition curve of the labile pool in Lake Biwa (a) DOM and (b) POM evaluated by Multi-G model

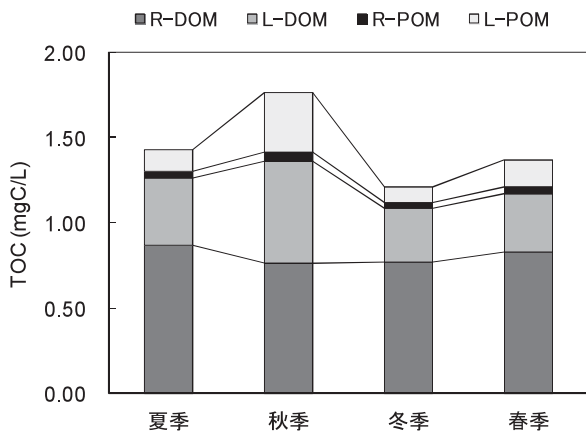


Fig. 8: Distribution of four components of Lake Biwa NOM from Multi-G model

で得られた易分解性成分の TOC 濃度と藻類の細胞数²⁾との間には良好な相関 ($R^2=0.975$) が見られたことから、湖内一次生産由来の有機物は回転速度 (turn-over) が早くそのほとんどが分解・無機化されていることが示唆された。しかし、藻類の細胞壁は微生物に対する防御において重要な役割を果たしていること、その主要成分であるセルロースが一部の細菌やカビ等が有する分解酵素でしか分解されないこと等から、これらの成分が長期間にわたって湖水中に低濃度で残留

していることは十分に考えられる。

また、本研究で実施した長期間分解性試験法で最終的に得られた難分解性有機物が、微生物の働きによって分解・変換された産物であるか、生物利用性の低い未反応残渣物であるかを識別することはできていない。今後は、湖沼有機物の分解・変換過程あるいは生物分解に対する抵抗性を分子レベルで解明していく必要がある。ただし、湖沼有機物 (難分解性有機物) の管理または長期監視のためには、 UVA_{254} や分子量、元素組成、分画等の情報が重要な指標となることが考えられることから、併せて体系的に実施していくことが大切であると考えている。

6. ま と め

本研究では、より現場に近い条件下において湖沼有機物の分解特性を評価するための長期間分解性試験法を確立し、琵琶湖北湖表層における NOM の分解特性を評価した。夏季に採取した試料を用いて長期間分解性試験の試験条件 (試験期間、植種、栄養塩添加、温度等)、ろ過操作、併行精度および容器について様々な検討を行い、本試験法の妥当性を確認した。本試験法の特徴は、植種や栄養塩添加、ろ過操作を行っていない点にあり、DOC 濃度の減少が見かけ上収まるまで試験を継続することで、より現場に近い湖沼有機物の分解特性を評価することができる。さらに、評価指標として TOC を採用したことにより、湖沼有機物の分解過程を考慮した高精度な水質予測モデルの構築に資することが期待できる。

長期間分解性試験を琵琶湖北湖 NOM に適用し、Multi-G モデルによる解析を行った結果、以下の知見が得られた。

- ・琵琶湖北湖 NOM の分解には 200~450 日程度かかり、その分解過程は初期分解過程における POM 分解と、期間全体を通して進行する DOM 分解で特徴付けられた。
- ・琵琶湖北湖表層の難分解性有機物の TOC 濃度は 0.88 ± 0.05 mgC/L で、季節によらずほぼ一定であった。
- ・難分解性有機物の約 95% を溶存態が占め、フミン物質以外の成分の寄与がフミン物質と同等もしくはそれ以上であることが推察された。
- ・Multi-G モデルの適用により、琵琶湖北湖 NOM はいずれの季節においても DOM, POM とともに易分解性および難分解性の 2 成分 (計 4 成分) で再現できた。

今後は、湖沼有機物の分解・変換過程あるいは生物

分解に対する抵抗性を分子レベルで解明すると同時に、難分解性有機物の湖沼生態系への影響についても明らかにしていく予定である。

謝 辞

本研究は、独科学技術振興機構 (JST) の戦略的創造研究推進事業 CREST の研究領域『持続可能な水利用を実現する革新的な技術とシステム』の中の研究課題「21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価 (研究代表者: 田中宏明)」の一部として実施されました。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 環境省:平成 22 年度公共用水域水質測定結果 (2011)
- 2) 滋賀県:滋賀の環境 2011 (平成 23 年版環境白書) —資料編一, (2011)
- 3) 環境省国立環境研究所:湖沼において増大する難分解性有機物の発生原因と影響評価に関する研究, 国立環境研究所特別研究報告, SR-36-2001 (2001)
- 4) 井手慎司, 空理史:琵琶湖北湖における難分解性溶存有機物の発生源の推定に関する研究~COD の月別変動に着目して~, 第 32 回環境システム研究論文発表会講演集, pp. 377-382 (2004)
- 5) OECD: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, TG301 A-F (1992)
- 6) B. Marschner and K. Kalbitz: Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils, *Geoderma*, Vol. 113, pp. 211-235 (2003)
- 7) 福島武彦, 相崎守弘, 松重一夫, 今井章雄:湖沼の有機物指標, *水環境学会誌*, Vol. 20, No. 4, pp. 238-245 (1997)
- 8) 宗宮功編:琵琶湖—その環境と水質形成—, 技報堂 (2000)
- 9) 建設省河川局:河川水質試験方法 (案) 1997 年版, 技報堂 (1997)
- 10) K. G. Porter and Y. S. Feig: The use of DAPI for identifying and counting, *Limnology and Oceanography*, Vol. 25, No. 5, pp. 943-948 (1980)
- 11) 有本洋一:生分解性試験と化学物質管理の国際調和, *化学生物総合管理*, Vol. 3, No. 2, pp. 69-77 (2007)
- 12) 日本規格協会:工場排水試験方法, JIS K 0102 21 (2008)
- 13) V. L. Snoeyink and D. Jenkins: *Water Chemistry*, Wiley, New York (1980)
- 14) W. L. Miller and M. A. Moran: Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment, *Limnology and Oceanography*, Vol. 42, No. 6, pp. 1317-1324 (1997)
- 15) 小川浩史:海洋における溶存有機物の動態, *水環境学会誌*, Vol. 34(A), No. 5, pp. 130-133 (2011)
- 16) J. T. Westrich and R. A. Berner: The role of sedimentary organic matter in bacterial sulfate reduction: The G model tested, *Limnology and Oceanography*, Vol. 29, No. 2, pp. 236-249 (1984)
- 17) B. P. Boudreau: A kinetic model for microbial organic-matter decomposition in marine sediments, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 102, Issue 1, pp. 1-14 (1992)
- 18) J. J. Middelburg, T. Vlug, F. Jaco and W. A. van der Nat: Organic matter mineralization in marine systems, *Global and Planetary Change*, Vol. 8, Issue 1-2, pp. 47-58 (1993)
- 19) A. J. ホーン, C. R. ゴールドマン著:陸水学, 京都大学学術出版会 (1999)
- 20) 今井章雄, 福島武彦, 松重一夫, 井上隆信, 石橋敏昌:琵琶湖湖水および流入河川水中の溶存有機物の分画, *陸水学雑誌*, Vol. 59, No. 1, pp. 53-68 (1998)
- 21) 石渡良志, 米林甲陽, 宮島徹編:環境中の腐植物質—その特徴と研究法—, 三共出版 (2008)

Biodegradability of Natural Organic Matter in the Northern Lake Biwa

Taketoshi Kusakabe¹⁾, Yasunori Akita¹⁾, Sosuke Otani¹⁾, Takahiro Okamoto²⁾

Kazuhide Hayakawa²⁾ and Yoshihisa Shimizu¹⁾

¹⁾ Research Center for Environmental Quality Management (RCEQM), Kyoto University

²⁾ Lake Biwa Environment Research Institute (LBERI), Shiga Prefecture

Abstract

A long-term test method was established to evaluate the biodegradability of natural organic matter (NOM) in the Northern Lake Biwa. Labile fractions of Lake Biwa NOM were degraded and mineralized in 200 to 450 days in this research. The degradation of POM and DOM can be described as a first-order process, and degradation of POM in an early degradation process was faster than that of DOM. The concentration of refractory NOM (R-NOM) in the Northern Lake Biwa was almost consistent through four seasons and was 0.88 ± 0.05 mgC/L. Refractory DOM accounts for 95% of R-NOM in the lake. Data from the long-term method for Lake Biwa NOM were fit well to a Multi-G model, and a two-pool model (*i. e.*, labile and refractory pools) was reasonable both for POM and for DOM, that is, a four-pool model seemed to be reasonable for Lake Biwa NOM.

Key words : Lake Biwa, natural organic matter (NOM), refractory organic matter, biodegradability, Multi-G model