衛生化学
THE JOURNAL OF
HYGIENIC CHEMISTRY
21(2) 51-54 (1975)

水質汚濁防止に関する研究 (第3報¹⁾)
合成洗剤の生分解について

坂口 平, 横田勝司, 高下 忍
東北薬科大学²⁾

Studies on Prevention of Water Pollution. III.¹⁾
On the Biodegradation of Synthetic Detergents

OSAMU SAKAGUCHI, KATUSHI YOKOTA
and SHINOBU TAKASHITA
Tohoku College of Pharmacy²⁾

(Received July 19, 1974)

Biological degradation of synthetic detergents and commercial detergents was examined under various condition. By incubation with domestic sewage at 30°, 20 ppm of linear alkyl benzenesulfonate (LAS), which is degraded easily in contrast to alkyl benzenesulfonate (ABS), was consumed aerobically to the extent of about 50 % after 7 days but to a slight extent under anaerobic condition. On the other hand, it was observed that higher fatty acid sulfate was easily biodegraded under both aerobic and anaerobic condition for 1 day. Biodegradation of LAS was delayed slightly in the presence of nutrients. Detergent-grown cells separated from domestic sewage showed two optimal peaks to 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) reduction activities at pH 7.0 and 8.5.

緒 言

我国の下水道は、欧米主要都市の下水道普及率に比較して極めて立遅れている。高度の産業成長と都市人口の過密化は、いまや我国の河川、湖沼、湾内水域のいたる所に深刻な水質汚濁をひき起こしている。合成洗剤のABS (alkyl benzenesulfonate) は、ハード型洗剤とも呼ばれ、分枝鎖構造を有し異性体が多く、実際に工業的に製造されたものは、それらの混合物であり、ABS

は生物学的に酸化され難く、使用後に長期にわたり水中に残存して、発泡や活性汚泥浄化の低下など³⁻⁵⁾の問題が起っている。一方、直鎖型のLAS (linear alkyl benzenesulfonate) は、直鎖のC数で相違があるが、一般にABSと比較して生分解を受け易い。更にAS (higher fatty acid sulfate) は、より生分解性が高い⁶⁻⁹⁾とされている。合成洗剤の生分解性も、下水微生物の代謝活動¹⁰⁻¹¹⁾によるものであり、下水の栄養素構成により、そ

- 1) 第2報: 坂口 平, 横田勝司, 桜井一平, 衛生化学, **19**, 259 (1973).
- 2) Location: 4-4-1 Komatsujima, Sendai (仙台市小松島4丁目4-1).
- 3) 和達清夫, 鈴木俊夫, “水質汚濁,” 白亜書房, 東京, 1966, p. 216.
- 4) 科学技術庁研究調整局編, 中性洗剤特別研究報告, 各論, **5**, 1 (1965).
- 5) C. R. Baillod, W. C. Boyle, *Microbiol.*, **16**, 62 (1968).
- 6) A. H. Mann, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **48**, 588 (1971).
- 7) W. Janike, *Water Research*, **5**, 917 (1971).
- 8) 太宰宙朗, 佐藤潤二, 小川 誠, 御園光信, 発酵研究所報告, **34**, 1 (1968).
- 9) R. D. Swisher, *Journal WPCF*, **35**, 877 (1963).
- 10) E. D. Swisher, “Surface Biodegradation,” Marchel Decker, Inc., New York, 1970, p. 274.
- 11) 浅原照三, 化学総説, **1973**, 137.

の基質代謝酵素活性も相違すると考えられる。そこでわれわれは、種々なる実験的栄養環境条件下での生分解性を検討した結果を述べたい。

実験方法

1. 供試合成洗剤 LAS には Sodium laurylbenzenesulfonate (和光純薬 K. K., ρ 位の純度90%以上) を, AS には Sodium lauryl sulfate (和光純薬 K. K.), および市販合成洗剤を実験に供した。

2. 供試下水 本実験に使用した下水は, 新鮮な家庭廃水をその都度採取して使用した。

3. 好気的および嫌気的培養法 好気的条件下での生分解は, Monod 型振盪器による L 字管培養と往復式振盪器による フラスコ 培養 (振幅 3 cm, 100 回/分) を 30° で行い, 嫌気的条件下での生分解は, アルカリ性ビロロールを入れた減圧デシケーター内で行った。

4. LAS 分解菌の分離 水 1 liter 中に Na_2HPO_4 1.4g, KH_2PO_4 1.0g, NaCl 2.0g, MgSO_4 0.1g, NH_4Cl 2.0g, agar 30g を含み, 炭素源として LAS 0.1g を加え, pH 7.2 に調整した培地に下水を塗り生育した LAS 分解菌を実験に使用した。

5. 分析法 a. 陰イオン界面活性剤の測定はメチレンブルー法 (Abbott 法)¹²⁾ で測定した。

b. 脱水素酵素活性測定¹³⁾は, 水素受容体として 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) を使用し, 基質として, 10^{-2}M glucose または succinate を用いた。分離した LAS 分解菌 (No. 1, No. 2) による脱水素酵素作用の結果は, 生ずる赤色色素の triphenylformazan (TPF) を酢酸エチルで抽出して 480 m μ で比色定量し, LAS 分解菌の活性度を求めた。なお, LAS 分解菌は生理食塩水で 3 回洗浄後使用した。

結 果

1. 下水中 LAS および AS の生分解

採取した新鮮な下水に, 合成洗剤の主原料である LAS および AS を添加して, 振盪下に好气的, または, 嫌気的条件下で数日間生分解を行い, 一定時間後にメチレンブルー法で測定した。結果は Fig. 1. a, b に示すように, LAS 濃度 20 ppm では, 好气的条件下で 3 日までは僅微に, 7 日後では 50% の生分解を受けたが, 嫌気的条件下ではわずかな分解しか示さなかった。一方, AS では, 好气的または嫌気的条件下において, いずれも反応 1 日後に, ほぼ完全な生分解が見られ, LAS と比較し, 急速な分解消失を示した。下水中 LAS 生分解におよぼす栄養物の影響を観察した結果, Fig. 2. a, b, c に示すように, 下水にグルコース (0.1%, 0.5%), カザミノ酸 (0.1%, 0.5%), ペプトン (0.1%, 0.5%) を各々添加し, 30° で好气的往復振盪培養を行ったところ, それらの栄養物の添加は, 24 時間後では LAS 生分解にほとんど影響を与えず, 72 時間後では LAS の生分解をわ

Fig. 1. Biodegradation of Sodium Laurylbenzenesulfonate (LAS) and Sodium Lauryl Sulfate (AS) in Sewage

note: —●— aerobic condition
—×— anaerobic condition

Fig. 2. Effect of Several Nutrients on Biodegradation of Sodium Laurylbenzenesulfonate (LAS) in Sewage

note: — pH —●— 0% —○— 0.1% —×— 0.5%

12) D. C. Abbott, *Analyst*, **87**, 286 (1962).

13) 須藤隆一, バイオテック, **9**, 743 (1972).

Fig. 3. Biodegradation of Commercial Synthetic Detergent in Sewage

note: —●— aerobic condition —×— anaerobic condition
M, N, P, S and Z show the abbreviated commercial name.

ずかに遅延させ、pH は48時間以後はほぼ一定値を示した。

2. 下水細菌の発育におよぼす LAS の影響

0.2% グルコースを含む新鮮な下水に LAS を各々 0, 20, 40, 60, 80ppm を加えて、30° で 12, 24, 48 時間振盪培養後、経時的に下水細菌の増殖度（濁度）を測定した。その結果、24 時間まではいずれも同じ程度の発育を示した。48 時間後には control に比較して LAS 20ppm の存在は下水細菌に C 源として利用されて約 10%, 40ppm では約 30% の発育増殖が見られた。それに反して 60ppm の存在は約 16%, 80ppm では約 42% 発育を阻害した。

3. 市販合成洗剤の生分解

実験に用いた市販合成洗剤（略商品名 M, N, P, S, Z）はいずれも 10—20ppm の濃度で使用する、各々の洗剤を下水に添加し、好氣的または嫌氣的条件下で実験を行った。

市販合成洗剤の生分解性は Fig. 3 に示すように、M は嫌氣的条件下で分解能が低く、1 日後わずかに減少しそれ以後は 4 日まで略々一定な値を示した。一方、好氣的条件下では 4 日後、ほぼ完全な分解が見られた。

また、P は両条件下で 4 日後、大部分分解された。嫌氣的条件下での N, S および Z の場合、N と S は 4 日後に約 40%, 5 日後に約 60% の分解を受け、Z は 4 日後に約 50%, 5 日後に約 80% の生分解を受けた。

4. LAS 分解菌による TTC 還元の至適 pH

下水より分離した LAS 分解菌を用いて TTC 還元の至適 pH を測定し、Fig. 4 に示した。すなわち、N 源として NH_4Cl 、C 源として LAS を用いて培養した LAS 分解菌を集菌後、洗浄した resting cells の浮遊液を酵素液として用い、TTC 還元を行ったところ、LAS 分解菌 No. 1 の至適 pH は約 8.5、同一分解菌 No. 2 の至適 pH は約 7.0 を示し、至適 pH に相違が見られた。

考 察

洗剤の生分解性については、アルキル鎖が β 酸化によ

Fig. 4. Optimal pH of TTC Reduction Rate by LAS-grown Cells

note: —●— LAS-grown cell No. 1
—×— LAS-grown cell No. 2
LAS shows abbreviation of sodium laurylbenzenesulfonate.

り分解されて行くが¹⁴⁾、Swisher らは C_{12} LAS の場合、7ppm のものが、1 日後から分解が始まり、6 日で大体分解が終わると述べ、0 位の C_{12} LAS は 4 日までほとんど分解せず、それ以後急激な分解過程を示し、10—11 日後に完全に分解すると報告している。⁹⁾ われわれの好氣的、嫌氣的条件下による新鮮な下水中の洗剤の分解で、AS 濃度 20ppm は両条件下においても、略々 1 日で分解するが、LAS 濃度 20ppm は好氣的条件下で、3 日まで僅微に、7 日後約 50% の生分解を示し、嫌氣的条件下では 9 日後でも約 25% の生分解しか見られなかった。

グルコース (0.1%, 0.5%), カザミノ酸 (0.1%, 0.5%), ペプトン (0.1%, 0.5%) などの栄養物の存在は 72 時間後、下水中の LAS の生分解をわずかに遅延させた。市販合成洗剤の場合、M, P の両商品とも好氣的条件下で 2 日後 30—40% の残存を示し、4 日後ほぼ完全な消失が見られ、嫌氣的条件下で M は 4 日後でも約 80% の残存

14) R. D. Swisher, *Soap Chem. Specialities*, **39**, 57 (1963).

を示した。商品名N, SおよびZは嫌気的条件下で5日後約20—50%の残存が見られた。現在、陰イオン界面活性剤はメチレンブルー活性度によって測定(比色分析法)されている。しかしながら、界面活性剤のもつメチレンブルー活性は、分子が無機物まで分解される以前に消失することが知られている。メチレンブルー法で100%分解除去されたかに見える処理水でも、TOC(全有機炭素分)では相当残存している事が報告されている。⁷⁾ 下水細菌の発育に対しては、LAS 20ppm で約10%, 40ppm で約30%の発育増殖が見られたが、それ以上は逆に阻害を

示した。

LAS 分解菌を用いた TTC 還元に至適 pH は、LAS 分解菌 No. 1 で約8.5, 同一分解菌 No. 2 で約7.0を示し、至適 pH に相違が見られた。我国は下水終末処理場が少なく、滞流河川や湖沼、閉鎖性港湾の水質汚濁は、連日連夜流入する未分解洗剤により有機汚濁化するものと思われ、またそれにより飲料水中に入ることも考えられる。洗剤による環境汚染や飲料水汚染を防止するためには、生分解性のよい AS などの好分解性洗剤に転換すべきであろう。