河川水および海水中におけるアニオン 界面活性剤の生分解

関 口 一・三 浦 千 明・大 場 健 吉

ライオン油脂株式会社 (東京都江戸川区平井 7-13-12)

Biodegradation of Some Anionic Surfactants in the River Die-Away Test

Hitoshi SEKIGUCHI, Kazuaki MIURA and Kenkichi ŌBA

Lion Fat & Oil Co. Ltd., (7-13-12, Hirai, Edogawa-ku, Tokyo)

The biodegradability of some anionic surfactants in the river die-away test was studied. The biodegradability was evaluated by the methylene blue activity and total organic carbon (TOC). Sodium α -olefin sulfonate (AOS), sodium *n*-dodecyl sulfate (SDS), sodium polyoxyethylene glycol *n*-dodecyl ether sulfate (DES), sodium linear alkylbenzene sulfonate (LAS), sodium branched alkylbenzene sulfonate (ABS) and sodium stearate (Soap) were used as test material in this study.

It was observed that these surfactants, except ABS, were biodegraded into inorganic substances in this experimental period. The relative biodegradation rate, estimated by methylene blue activity was $\text{SDS} \div \text{DES} > \text{AOS} > \text{LAS} \gg \text{ABS}$, and estimated by TOC was $\text{Soap} \div \text{SDS} \div \text{AOS} > \text{DES} > \text{LAS} \gg \text{ABS}$. The methylene blue activity was disappeared in shorter period than TOC.

1 緒 言

わが国における合成洗剤のソフト化は 1965 年から開始され、通産省の 1972 年の調査によれば JIS K 3363 で測定された生分解度は加重平均で衣類用粒状洗剤が 94.6%, 台所用液体洗剤が 96.4% であった。この値は欧米諸国の水準と同等でないし、それを上回るものである。しかし河川における発泡 (泡) 等の問題は下水道施設の普及率が低いなどの理由により、十分な解決をみるにいたっていない。そこで家庭排水中に含まれる各種の界面活性剤が下水処理を経ないで河川水中に放出された場合の消長を考察する一手段として河川水中に界面活性剤を一定濃度に溶解、放置して生分解性を検討した (リバー・ダイ・アウエイテスト)。界面活性剤の生分解性を検討する方法としては連続式活性汚泥法 (西ドイツ公定法)、半連続式活性汚泥法 (アメリカ SDA 法)、振とうフラスコ法 (日本: JIS K 3363) リバー・ダイ・アウエイテストや BOD 測定による方法など多くの方法がある。初めの二つの方法は下水処理場における活性汚泥処理をモデル化したものであり、下水処理にによる分解・除去性を検討するのに有用である。リバー・ダイ・アウエイテストは河川水に界面活性剤 (試料) を溶解し、恒温で静置培養する方法で、微生物源としては河川水中

に存在する生物のみを利用して特に新たに菌の植種や栄養塩類の添加は行わない。このリバー・ダイ・アウエイテストは世界各国で界面活性剤 (洗剤) の生分解度試験法の公定法としては採用されていない。その理由は欧米の場合排水はまず下水処理を経て自然環境に放出されることが原則であり、その処理過程における被処理特性を知ることがこの生分解度試験の主目的で、そのためには他の方法の方が適しているためである。さらにまた、試験に使用する河川水の水質が採水時によって異なることや試験期間が長くなるにつれてマイクロフローラもその水が本来持っていたものから徐々に変化し実際の自然環境下での状態と離れる場合もあり、繰り返し試験した場合の各試験ごとの間でのデータの比較など解釈に難しさがある。しかしわが国のように下水道の整備が不充分で家庭下水の多くが未処理のまま河川に排出されている状況下においては、自然環境特に河川水中における被排出物質の挙動が問題とされる。そこで界面活性剤が河川水中で完全に (無機物にまで) 分解するか否か、あるいはその時のおおまかな相対的生分解速度について比較検討する場合、先にあげたような現在用いられているいくつかの生分解試験法の中ではリバー・ダイ・アウエイテストが実際の河川水を用いて試験するという点で興味深い方法である。従って本報においてはリバー・ダイ・アウ

エイテストによる各種のアニオン界面活性剤の生分解性について検討した結果を報告する。

2 実 験

2.1 試 料

試料として次の6種類のアニオン界面活性剤と、対照用にブドウ糖、L-グルタミン酸ナトリウムおよびクエン酸ナトリウムを用いた。

文中の略号

1. Sodium α -olefin sulfonate (AOS)
2. Sodium *n*-dodecyl sulfate (SDS)
3. Sodium polyoxyethylene glycol *n*-dodecyl ether sulfate (DES)
4. Sodium linear alkylbenzene sulfonate (LAS)
5. Sodium branched alkylbenzene sulfonate (ABS)
6. Sodium stearate (Soap)

7. Dextrose
8. Sodium L-glutamate
9. Sodium citrate

2.2 試 水

試験用水は平水量、晴天の日を選んで Fig.-1 に示す日野橋、第三京浜道路橋、丸子防潮堤、六郷橋で多摩川の河川水、さらに川崎市浮島町フェリー発着所で海水を採取して用いた。試水は採取後暴気しながら保存して採取時から約 24 hr 後に試験に供した。

Fig.-1 Scope of Tama River.

2.3 生分解試験 (リバー・ダイ・アウエイテスト)

試水 1 l をビーカーにとり界面活性剤の 1,000 mg/l 溶液を一定の試験濃度になるように添加する。試験溶液はビーカーに入れた状態で開放のまま 20°C の恒温室に

静置する。試験溶液の一部を経日的に採取して分析に供する。このとき、分析用試料は採取後直ちに塩化第二水銀(5% 水溶液)を 20 mg/l となるように添加して微生物の働きを止める。

2.4 分 析 法

2.4.1 メチレンブルー活性物質 (MBAS)

MBAS 濃度は JIS K 3363¹⁾ に準じて定量する。

2.4.2 全有機炭素 (TOC)

全有機炭素分析計 (Beckman 社製 915 型 TOC Analyzer) を用いて定量する。この方法では全炭素濃度と無機炭素濃度を測定し、両者の差から有機炭素濃度を求める。TOC 分析計のフローダイアグラムを Fig.-2 に示す。分析に供する試料は測定の前処理として微生物や浮遊物質を除去するため 12,000 rpm (17,300 G) で 10 min 遠心分離を行う。

Fig.-2 Flow diagram of TOC Analyzer.

2.5 LAS 資化性 (耐性) 菌数の測定

ミリポアフィルター法で行う。検水 1 ml をとり滅菌生理食塩水で 10 段階希釈を行い、各段階希釈液 1 ml をそれぞれミリポアフィルター (0.45 μ) で無菌的にろ過し、滅菌生理食塩水で 3 回洗浄した後フィルターを Bunch-Chamber 平板培地上にのせて 30°C で 5~7 日間培養する。この培地は酵母エキスを除いた Bunch-Chamber 培地で炭素源として LAS が 1,000 mg/l となるように添加したものである。また同時に一般細菌数を通常の希釈平板培養法を用い、トリプトソイ培地で 30°C, 3~5 日培養して求めた。

3 結果および考察

本研究で実施したリバー・ダイ・アウエイテストにおいて、全実験期間を通じて試験溶液 (培養液) の溶存酸素濃度は 3.2 で述べる Soap (b) の場合を除き、6.0 ~ 8.9 mg/l (飽和度 75~97%) であった。

3.1 採水地点の違いによる生分解性の差

Fig.-1 に示す多摩川の①日野橋、②第三京浜道路橋、③六郷橋で採取した河川水 3 点と④川崎市浮島町フェリー発着所先の海水 1 点 (採水: 1972 年 3 月 7 日) に界面活性剤を 5 mg/l となるように添加して生分解試験を

行った。この結果を **Fig.-3** に示す (空試験値は差し引いて求めた)。MBAS が検出されなくなるまでに要した期間は河川水中では SDS と AOS が 3 日, LAS が 7 日であり海水中では SDS と AOS が 5 日, LAS が 15 日であった。河川水の各採水地点間における MBAS 消失速度の差は SDS の場合, 下流の試水程やや遅くなるような傾向が見受けられるが, 全体として特に大きな差は認められなかった。しかし, 河川水よりも海水中における場合の方が生分解速度は遅かった。

また同時に行った供試界面活性剤を添加しない試水のみについての空試験における経日的 MBAS 濃度分析結果を **Fig.-4** に示した。これれによると日野橋で採取した試水中の MBAS ののは試験開始 2 日後にすでに消失したが第三京浜道路橋および六郷橋の試水の場合は 9 日後でもなお 0.20~0.22 mg/l 残存した。安部²⁾のデータや本実験における各界面活性剤のメチレンブルー活性度か

Fig.-3 MBAS decreasing in the River Die-Away Test (A).

(Sampling; March 25, 1972)

Fig.-4 MBAS decreasing curves in river water (blank test; A)

らみた生分解性の結果などから考えると, この 9 日後に検出された MBAS の大部分は微生物や藻類の代謝産物などに由来する物質と思われる。

3.2 各種アニオン界面活性剤の生分解性

多摩川の中流の第三京浜道路橋下で採取 (1972 年 7 月 25 日) した試水を用いてアニオン界面活性剤の生分解性について検討した結果を **Fig.-5** に示す (空試験値は差し引いて求めた)。またこの試験における MBAS

- * a) On a level with other surfactants in organic substances load.
- b) On a level with other surfactants in washing concentration.

Fig.-5 Biodegradation of some surfactants in the River Die-Away Test (B), with middle stream water.

(Sampling: July 25, 1972 at 3rd Keihin Exp. way bridge)

Fig.-6 TOC and MBAS decreasing curves in the river water (blank test).

と TOC 初濃度および BOD の値を **Table-1** に、試水だけで行った空試験データを **Fig.-6** に示す。

SDS, DES は 3 日, AOS は 5 日, LAS は 15 日で MBAS として検出されなくなった。TOC として検出されなくなるまでに要した期間は AOS, SDS および Soap (a) が 20 日, DES が 25 日, LAS が 40 日であり $\text{Soap} \div \text{SDS} \div \text{AOS} > \text{DES} > \text{LAS} \gg \text{ABS}$ の順に生分解が速かった。また対照として試験したがブドウ糖とグルタミン酸ナトリウムは 13 日, クエン酸ナトリウムは 14 日で TOC として検出できなくなった。なお, Soap については他の界面活性剤との水準を a) 有機物負荷量で合わせた場合, b) 洗浄 (洗たく) 時の濃度で合わせた場合, の 2 点について試験した。しかし b) においてはスカムの発生が著しく, 試験開始後 7 日目には溶存酸素が 1 mg/l 以下となり, 異臭を放ち腐敗現象がみられたため試験を中断した。

Table-1 Initial concentration of MBAS, TOC and BOD₅ in the River Die-Away Test (B).

Sample	MBAS* (mg/l)	TOC (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)
AOS	23.5	10.2	27.3
SDS	30.2	10.3	31.9
DES	23.9	11.0	30.9
LAS	25.6	12.6	15.7
ABS	24.9	12.0	7.8
Soap(a)	—	11.5	32.2
Soap(b)	—	34.9	86.1
Dextrose	—	10.2	21.8
Sodium L-glutamate	—	9.8	18.0
Sodium citrate	—	10.3	21.0
River water**	0.8	4.8	6.5

* Determined as sodium di-2-ethylhexyl sulfosuccinate

** Sampling: July 25, 1972

また, 3・1 で MBAS 濃度の減少からみた界面活性剤の生分解速度が海水と河川水と異なった点をさらに検討するため, 生分解挙動を TOC 減少から観察した。海水 (川崎市浮島町, 1972 年 2 月 17 日採水) での試験結果を **Fig.-7** に, 同日の多摩川河川水 (丸子防潮堤上流)

での結果を **Fig.-8** に示す。さらに **Table-2** にこの実験に用いた試水の水質分析結果を示す。なお Soap については海水中では不溶性の沈殿を生成し, TOC 分析が不可能となるため, 海水を用いた試験から除外した。海水, 河川水ともに各物質相互間の相対的生分解速度の

(Water was collected at Ukishima on February 17, 1974)

Fig.-7 Biodegradation of some surfactants in sea water.

(Water was collected at Maruko on February 17, 1974)

Fig.-8 Biodegradation of some surfactants in river water.

Table-2 The results of water examination.

Sampling spot	TOD (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)	TOC (mg/l)	MBAS (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)
Maruko (river water)	67	8.8	17.5	1.5	0.7	38.9
Ukishima (sea water)	32	3.0	9.5	0.05	0.5	16,300

Sampling; February 7, 1974

Fig.-9 Biodegradation of LAS and growth of LAS assimilable bacteria.

傾向は同じであるが全体的に海水の方が遅かった。この点についてさらに考察を加えるため LAS を一つのモデルとして選り試験液中の LAS 資化菌の消長を生分解度と比較した。この結果を **Fig.-9** に示す。ここで観察されるように海水の方が実験開始段階での LAS 資化性菌数は少なく、また海水、河川水ともに LAS の生分解度は資化性菌の増殖が進むにつれて高まることがわかる。従ってこの実験から全体的に海水中における場合の方が生分解が遅いのは、この種の物質の資化性菌数（マイクロフローラ）とじゅん化能力を含めた増殖性の差によるところが大きいものと考えられる。

以上の結果から下水処理施設の整備が不十分な地域において、河川水あるいは海水中に AOS, SDS, DES Soap や LAS が流入した場合、これらの界面活性剤は水中で無機質にまで生分解されることが認められた。硫酸エステル塩系の界面活性剤(SDS, DES) は MBAS として検出されなくなるまでに要する期間は非常に短い。TOC が検出されなくなるまでの期間は、SDS は AOS や Soap と同程度であり DES はそれらよりやや長かった。これは DES の場合加水分解を受けて硫酸基が脱離することによりメチレンブルー活性を失うのは早い、ポリエチレングリコール基の存在が有機炭素の消

失に影響を与えたものと考えられる。また、LAS の TOC 消失に要する期間は上述のものと比較すると長く、50~60% 付近でいったん減少がゆるやかになっている。このことは本報告における実験条件下では、たとえば LAS の生分解が側鎖から始まり、ベンゼン環が開裂され

るためには初期の生分解の場合とは異なった酵素系を必要とするために改めて一定のじゅん化期間を要したことを示唆している。このようにポリオキシエチレングリコール鎖やベンゼン環を有する界面活性剤は直鎖状の炭化水素のみの分子構造のものより分解の完了一無機物質までの分解一までに要する期間が長くかかる場合がある。これと同様な知見は連続式活性汚水(泥)法による Janicke³⁾ や振とうフラスコ法による関口⁴⁾ らの界面活性剤の生分解に関する研究結果でも得られている。この現象は一般的にポリエチレングリコール鎖やベンゼン環に比較して直鎖状の炭化水素の方が広く自然界に存在する微生物によって資化されやすいため優先的に生分解され、さらにベンゼン環などの分解に進む場合一種のじゅん化期間的な時間を必要とするために起こるものと思われる。

本報告の結果と実際の河川の自浄作用による生分解速度などとの関連性については緒言でも触れたように、マイクロフローラの問題や河川における流れによるかくはん、浮遊物質の影響、伏流現象の効果や濃度などを含め、多くの不確定な要素を考慮に入れる必要があるため単純に論ずることはできない。しかし最終的に生分解される程度やある程度の相対的な生分解速度について考察する上では有用な情報となり得る。

本研究を実施し、また発表するに当たり終始御指導、御鞭撻を賜りました 取締役中央研究所長 森昭博士に深く感謝の意を表します。

(昭和 49 年 12 月 4 日受理)

文 献

- 1) 日本工業標準調査会 “合成洗剤の生分解度試験方法” JIS K 3363, (1968) 日本規格協会
- 2) 安部喜也, *Journal of Oceanographical Society of Japan*, **29** (Feb.) 1, (1973)
- 3) W. Janicke, *Water Research*, **5**, 917 (1971)
- 4) H. Sekiguchi *et al.*, Presented at AOCS/JOCS Joint Meeting on April 25, 1972 at Los Angeles Hilton.