放線菌によるカビ臭発生の潜在能力

Potentiality of Musty Odor Production by *Actinomycetes*.

杉浦 則 夫 (茨城県企業局水質検査室)

矢 木 修 身 (国立公害研究所)

須 藤 隆 一 (国立公害研究所)

Norio Sugiura,¹ Osami Yagi,² Ryuichi Sudo²

1 Water Quality Examination Laboratory, Water Supply
Bureau, Ibaraki Prefecture

2 The National Institute for Environmental Studies

1. はじめに

近年、富栄養化に伴って、全国各地の河川や湖沼を水源とする水道水に異臭味が発生し、とくにカビ臭は、大きな社会問題となっている。カビ臭発生の原因は、主に放線菌や藍藻類が生成する臭気物質が密接に関連しているためであると言われている^{1)~4)}。ところで、霞ヶ浦では1960年の後半から、カビ臭の発生率が急速に増加し、本湖を水道用の原水として利用している浄水場では、カビ臭の脱臭処理の対策に多大な労苦を払っている。霞ヶ浦でのカビ臭発生の原因としては、放線菌と藍藻 *Phormidium tenue* の増殖による2通りのパターンが考えられ、とくに夏~秋季の長期にかけて発生するカビ臭に関しては、放線菌の増殖が関係しているものと思われる。そこで、われわれは、現在、霞ヶ浦では放線菌がどのような過程を経てカビ臭物質を生成するのか検討を加えている。

水環境における放線菌とカビ臭発生に関して、Adams⁵⁾は、すでに1929年に、ナイル河の水質を飲料水として用いた時に認められたカビ臭の原因が放線菌によるものであろうと指摘している。さらに、1931年にAdams⁶⁾は、とくに有機物質の多い水域で放線菌の増殖が認められたこととカビ臭の発生がよく対応したことを示した。またIssatchenko⁷⁾は、1944年の報告で、モスクワ川で発

生したカビ臭の原因が主に、流入する雑排水の影響を受けて底泥中で放線菌が増殖したためであろうと述べている。その後、Morris⁸⁾、Hansen⁹⁾、Rashke^ら¹⁰⁾は、水域で発生したカビ臭は、流入する栄養塩類と放線菌の増殖に関連したことに起因するであろうと報告している。実際に、放線菌によるカビ臭の発生を予知あるいは防止するためには、河川や湖沼中に存在する栄養塩類を始めとし、その他の水環境因子と放線菌の増殖との関係をより明確に具体化することが重要である。そのアプローチの一つとして、水域が、放線菌のカビ臭発生に対してどの程度、潜在的な能力を有するのか調べる必要がある。そこで、本文では、霞ヶ浦の水質が放線菌のカビ臭発生に対してどの程度の潜在的能力を有し、さらに湖水中のどのような因子がカビ臭発生に関与しているのか検討したので報告する。

2. 材料と方法

2.2 供試菌株: 本実験に使用した *Streptomyces* 属の放線菌6株(A, C, E, F, I, J)は、いずれも霞ヶ浦の湖水および底泥から分離され、6株のうちA, C, E, Iの4株は、カビ臭物質 2-methylisoborneol および Geosmin を、F, Jの2株については、2-methylisoborneol のみを生成するものである。

2.2 発臭効果試験: カビ臭発生の潜在能力は、官能

法により臭気濃度を測定¹¹⁾して評価した。臭気濃度の測定は、200 ml の三角フラスコに 80 ml の培地を添加し、初期 pH を 9.0 に調整した後、一定量の放線菌を接種し、次いで、この培養液を 25℃ で 7 日間、静置培養したものについて行った。なお放線菌の接種は、2～3 白金耳の成熟した菌糸を 10 ml の無菌水にけん濁させたものを培地に対して 1% 量添加して行った。pH の調整については、0.1 N の NaOH および HCl を用いた。発臭効果試験に用いた放線菌の培地は、

- a) 霞ヶ浦の湖水
- b) 湖水をワットマン GF/C のろ紙を用いて吸引ろ過したろ水
- c) a) および b) をそれぞれオートクレーブ滅菌したもの
- d) オートクレーブ滅菌したろ過水に窒素、リンおよびデンプンを添加したもの
- e) 細菌が共存する *Microcystis aeruginosa* を M-11 培地¹²⁾を用いて培養したもの
- f) e) をオートクレーブ滅菌したもの

である。栄養塩類として添加した窒素は、NO₃-N 0.5 mg/l、リンは PO₄-P 0.1 mg/l、デンプンは 10 mg/l であり、窒素源としては KNO₃ を、リン源としては K₂HPO₄ をそれぞれ用いた。またオートクレーブ滅菌は 121℃ で 10 分間、行った。

本実験を実施するにあたり、湖水の分析および藻類の観察も同時に行った。放線菌の基礎培地として用いた霞ヶ浦の湖水は、1981 年 6 月 16 日、7 月 7 日、8 月 10 日にそれぞれ、土浦入りで採水された。

3. 結果および考察

放線菌によるカビ臭の発生には、栄養源として窒素、リン、鉄、マグネシウムおよび炭素源としてのデンプンなどの糖質物質が必要である¹³⁾。そこで、放線菌のカビ臭発生に関連性があると思われる栄養塩類に注目して、霞ヶ浦の水質分析を行い、Table 1 にその結果を示した。6 月の水質に関して、富栄養化で問題となっている窒素は全窒素として 1.11 mg/l、リンは全リンとして 0.12 mg/l 存在した。また水質汚濁の指標とされている COD については 7.2 mg/l であり、放線菌の増殖に必要な糖類は、アンスロン法で測定したところ、1.2 mg/l と、低い値を示した。7 月の水質は、いずれも 6 月と同様の結果を示した。一方、8 月の水質については、pH が著しく上昇し、9.68 にも達した。窒素およびリンの濃度は、6 月および 7 月の値に比べ、非常に高く、2 倍以上にも増加

Table 1. Water quality of Lake Kasumigaura

	Sampling date (1981)		
	June, 16	July, 7	August, 10
pH	7.80	7.75	9.68
T-N (mg/l)	1.11	1.06	2.16
T-P	0.12	0.11	0.20
Fe	0.81	0.50	0.85
Mg ⁺	29.1	32.9	32.4
SS	25.4	25.6	40.5
COD	7.2	7.2	14.9
Sugar	1.2	1.4	8.2

⁺ Mg indicates magnesium hardness.

した。とくに糖類は、8 月の湖水には、6 月および 7 月の 6～7 倍も多く、8.2 mg/l も存在した。このように 8 月の水質が他の月と著しく異なるのは、毎年、この時期になると異常増殖する *M. aeruginosa*¹⁴⁾ の影響によるものと考えられる。従って、霞ヶ浦の水質を評価する上で藻類の動態を調べる必要があると思われることから、6 月～8 月に湖水に出現した藻類の観察結果を、Table 2 に示した。6 月には、とくに藻類の異常増殖は認められなかった。なお優占種は *Chlamydomonas* sp. であったが、その個体数は 540/ml と少なかった。7 月の湖水では、6 月に比べやや藍藻類の種類が多くなったもののいずれの藻種も個体数は少なかった。しかしながら、8 月の場合、*M. aeruginosa* が異常増殖し、細胞は個体数として 80,000/ml 以上にも達した。この現象が、8 月の湖水に大きく影響したものと言える。次いで、このような特徴を有する湖水（6 月～8 月）を放線菌の培地として用い、放線菌によるカビ臭発生の潜在能力を検討した。6 月の湖水を用いて発臭効果試験を行った結果を Fig. 1 に示した。6 株の放線菌はいずれも、オートクレーブ滅菌したろ過水にデンプンが加わるとカビ臭を発生した。また E, F, I の 3 株については、湖水をオートクレーブ滅菌したもののみでもカビ臭を発生し、最も高い E 株で TO 値 40、最も低い I 株では 14 を示した。7 月の湖水を用いて放線菌によるカビ臭発生の状況を調べた結果を Fig. 2 に示した。7 月の湖水も 6 月の場合と同様に 6 株の放線菌は、いずれもデンプンが添加された系についてカビ臭を発生した。カビ臭は、とくに E, F, I, J の 4 株が、6 月の湖水と比較して高い値を示した。E 株については、オートクレーブ滅菌したろ過水に窒素あるいはリンが加わったのみでもカビ臭を発生した。次いで、*M. aeruginosa* が異常増殖した 8 月の湖水を基礎培

Table 2 Algae presented in Lake Kasumigaura

Algae species	Sampling date (1981)		
	June, 16	July, 7	August, 10
Cyanophyceae			
<i>Chroococcus dispersus</i>			60
<i>Anabaena spiroides</i>			40
<i>Aphanothece</i> sp.		20	
<i>Dactylococcopsis</i> sp.	60	80	
<i>Myxosarcina burmensis</i>	20	80	
<i>Oscillatoria tenuis</i>			40
<i>Oscillatoria</i> sp.	20	60	
<i>Gomphosphaeria lacustris</i>		40	
<i>Coelosphaerium</i> sp.			80
<i>Lyngbya limnetica</i>			40
<i>Merismopedia glaucum</i>			20
<i>Microcystis aeruginosa</i>			80,500
Chlorophyceae			
<i>Actinastrum hantzschii</i>	40	40	
<i>Chodatella chodatii</i>	20		
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	40	20	
<i>Chlamydomonas</i> sp.	540	140	
<i>Hormidium</i> sp.	160		
<i>Scenedesmus acuminatus</i>		20	
<i>S. acutus</i>	20		
<i>S. dimorphus</i>	20		
<i>S. abundans</i>	60		
<i>S. quadricauda</i>			60
Bacillariophyceae			
<i>Coscinodiscus lacustris</i>	20	20	
<i>Cyclotella</i> sp.	200		60
<i>Nitzschia acicularis</i>	200	20	
<i>Synedra rumpens</i>	60	60	100
<i>Melosira granulata</i>			40
Total (No./ml)	1,480	600	81,040

地とし、放線菌が生成するカビ臭の臭気濃度を測定した (Fig. 3)。6 株の放線菌は、6 月および 7 月の湖水と同様にデンプンが加わった系についてカビ臭を発生したが、C, E, F, I の 4 株に注目すると、これらの放線菌は、湖水をオートクレーブ滅菌したもののみでもカビ臭を発生した。とくに E, I の 2 株は、TO 値として 100 および 300 もの著しく高い値となった。また E, F, I の 3 株は、TO 値としていずれも 30 以下と低い値ではあったが、オ

ートクレーブ滅菌したろ過水のみ、あるいはそれに窒素やリンが加わるとカビ臭が認められた。しかしながら 6 株の放線菌は、6 月～8 月のいずれの場合にも、湖水およびろ過水を直接、培地として用いた時にはカビ臭を発生しなかった。Fig. 1～3 の結果から、霞ヶ浦の湖水では、放線菌のカビ臭発生に対し、デンプンが制限的な因子となっているものと考えられた。しかし、実際の湖水はこのようなデンプンは存在しない。従って、このデン

T.O.N.

Fig. 1 Effect of lake water on the musty odor production by *Streptomyces*
 (Water sampling date : June, 16, 1981).
 symbol ; W₀ : Raw water, W : Sterile raw water, F₀ : Filtrate,
 F : Sterile filtrate, N : NO₃-N, P : PO₄-P, S : Starch.

T.O.N.

Fig. 2 Effect of lake water on the musty odor production by *Streptomyces*
(Water sampling date : July, 7, 1981).

T.O.N.

Fig. 3 Effect of lake water on the musty odor production by *Streptomyces*
(Water sampling date : August, 10, 1981).

ブンに代るものとしては、8月の湖水の試験結果から明らかのように、異常増殖した *M. aeruginosa* が大きく関与しているものと推定された。そこで、*M. aeruginosa* を放線菌のカビ臭発生に必要な有機物と考えて、カビ臭の発臭効果試験を行った。その結果を Table 3 に示した。放線菌の培養液中に存在する *M. aeruginosa* の濃度はほぼ 30 mg/l である。細菌が共存する *M. aeruginosa* の培養液を用いた場合、6株の放線菌はいずれもカビ臭を発生しなかった。しかし、細菌が共存するものをオートクレーブ滅菌し、放線菌を培養したところ6株のうち、C, E, F, I の4株がカビ臭を発生した。なかでも、C, E, I の3株が強いカビ臭を発生し、それぞれTO値として91, 91, 154を示した。A, J の2株はカビ臭を発生しなかったが、他の4株と同様に増殖は良好であった。Fig.4は、放線菌E株がオートクレーブ滅菌した *M. aeruginosa* をよく利用して増殖している顕微鏡写真である。写真は、カビ臭が最も強くなった培養7日目のものである。Fig.5は、Fig.4に示したE株と同じ条件で培養したA株の顕微鏡写真であるが、この株は増殖が良いにもかかわらずカビ臭をまったく発生しない。以上のことから、放線菌は、種類によってはオートクレーブ滅菌した *M. aeruginosa* を有機物として利用し、カビ臭を発生することが明らかとなった。この結果は、8月の湖水を用いて発臭効果試験を行った結果とよく一致した。しかし、放線

菌の増殖に必要な *M. aeruginosa* が8月の湖水には十分存在したにもかかわらず湖水のみを培地とした場合にはまったくカビ臭が発生しなかった。また細菌が共存する *M. aeruginosa* を培養したものを放線菌の培地として用いた時にも同様の結果が得られた。なぜカビ臭が発生しないのかその理由は明らかではないが、細菌など、他の微生物が放線菌の増殖を抑制していることも考えられる。しかし、霞ヶ浦で *M. aeruginosa* が異常増殖する時期は、放線菌によるカビ臭発生の危険性が高くなるものと考えられよう。

放線菌によるカビ臭の発生と藻類との関係について、Silvey ら¹⁵⁾は、珪藻類や藍藻類の“水の華”が形成される時期に、放線菌が良く増殖し、それに伴ってしばしばカビ臭が発生したことを報告している。またDickson¹⁶⁾は、実際に、水域で藍藻類の分解物に放線菌が増殖していることを観察し、その水質にカビ臭が認められたことを述べている。このように放線菌は、何んらかの形で藻類を利用してカビ臭を発生するのではないかと言われている。霞ヶ浦では、*M. aeruginosa* の他、*Anabaena spiroides*, *Synedra acus*, *Synedra rumpens*, *Closterium aciculare*などの藻類がしばしば異常増殖し、それに対応してよくカビ臭が発生している。カビ臭発生の原因は、これらの藻類がいわゆる発臭性のものでないこと、培養試験を行ったところ、いずれの藻類もカビ臭を発生

Table 3 Effect of *Microcystis aeruginosa* on the musty odor production by *Streptomyces*

Culture Conditions	Musty Odor Number (T. O. N.) Strains					
	A	C	E	F	I	J
Non-axenic cultured broth	0	0	0	0	0	0
Sterile non-axenic cultured broth	0	91	91	20	154	0

Fig. 4 Photograph of strain E. x600

Fig. 5 Photograph of strain A. x600

しなかったことを考えると、放線菌がこれらの藻類を有機物として利用したためか、あるいはこれらの藻類の異常増殖によって形成される水環境条件と放線菌の増殖が関与したためであろうと考えられる。従って、今後、これらの問題を解明するに当り、放線菌の藻類に対する利用条件および藻類の増殖下における放線菌の増殖の適応性を、培養試験を通して具体的に検討する必要があるものと思われる。

4. まとめ

(1) 1981年の6月16日、7月7日、8月10日に採水した霞ヶ浦の湖水を用いて、*Streptomyces* 属の放線菌6株によるカビ臭発生の潜在能力を調べた。

(2) 6月および7月の湖水には、放線菌のカビ臭発生に必要なデンプンに代る有機物が不足しており、8月の湖水の場合、異常増殖した *M. aeruginosa* がこのデンプンに相当する役割を果たしているものと考えられた。

(3) 単藻培養した *M. aeruginosa* の培養液をオートクレーブ滅菌し、放線菌を培養したところ、6株の放線菌のうち、C, E, F および I の4株がカビ臭を発生した。

引用文献

- 1) 衛生常設調査委員会 (1979): 水道水のカビ臭の原因と対策. 日本水道協会雑誌, **532** : 67-90.
- 2) Lin, L. D. (1976) : Sources of Tastes and Odors in Water. Part 1. Water and Sewage Works, **123**: 101-104.
- 3) Silvey, J. K. G., and A. W. Roach, (1975): The Taste and Odor Producing Aquatic *Actinomycetes*. - CRC Critical Reviews in Environmental Control, Mar. 233-273.
- 4) Tabachek, J. A. L., and M. Yurkowski, (1975): Isolation and Identification of Blue Green Algae Producing Muddy Odor Metabolites, Geosmin and 2-Methylisoborneol, in Saline Lakes in Manitoba. J. Fish. Res. Board Can., **33** : 25-35.
- 5) Adams, B. A. (1929) : The *Cladotrix Dichotoma* and Allied Organisms as a Cause of an "Indeterminate" Taste in Chlorinated Water. Water and Water Engineering, **31** : 327-329.
- 6) Adams, B. A. (1931) : The Cause and Removal of Earthy Tastes in Water. Water and Water Engineering, **22** : 572-574.
- 7) Issatchenko, B. and A. Egorova, (1944) : *Acti-*

nomycetes in Reservoirs, as One of the Causes Responsible for the Earthy Smell of their Waters. Microbiologiya, **13** : 216-225.

8) Morris, R. L. (1962) : *Actinomycetes* studied as Taste and Odor Cause. Water and Sewage Works, **109** : 76-77.

9) Hansen, R. E. (1964) : Musty Water, The Culprit : *Actinomycetes*. Water and Wastes Engineering, **1** : 45-49.

10) Rashke, R. L., B. Carroll, and L. B. Tembo, (1975) : The Relationship between Substrate Content, Water Quality, *Actinomycetes* and Musty Odorous in the Broad River Basin. J. Applied Ecology, **12** : 536-560.

11) 日本水道協会 (1978) : 上水試験方法, 日本水道協会, p.182.

12) 矢木修身, 岡田光正, 須藤隆一, 荻原富司, 高村義親 (1981) : *Microcystis* の増殖特性. 国立公害研究所研究報告, **25** : p. 48.

13) 杉浦則夫, 高柳秀夫, 矢木修身, 須藤隆一 (1981): 放線菌によるカビ臭発生に及ぼす藻類の影響. 第15回日本水質汚濁研究会年次学術講演会講演集, p. 92-93.

14) 杉浦則夫, 高柳秀夫, 須藤隆一 (1982): 霞ヶ浦における植物性プランクトンの変遷, **24** : 1254-1260.

15) Silvey, J. K. G., and Roach, A. W. (1952): Laboratory Culture of Taste and Odor Producing Aquatic *Actinomycetes*. **51** : 20-32.

16) Dickson, K. L. (1968) : *Actinomycetes* and Water Quality. J. AWWA, **60** : 379-381.