

# 閉鎖性ため池の有機汚濁バックグラウンド評価に関する実験法

三品佳子\*・三好直哉\*\*・村松 隆\*\*\*

Experimental Method for the Evaluation of Background of Organic Contamination in Closed Ponds

Yoshiko MISHINA, Naoya MIYOSHI and Takashi MURAMATSU

**要旨**：閉鎖性のため池水の腐乱化の原因となる有機汚濁バックグラウンド（生物に由来した物質による恒常的な有機汚濁のレベル）を評価するための実験法を検討した。これは、化学的酸素要求量測定、クロロフィル測定、腐植物質の特性分析（起源分析と分子量測定）の結果をもとに推定した有機汚濁のバックグラウンドをため池の構造モデル（ため池モデル）に当てはめ、汚濁化の将来予測に活用するものである。

**キーワード**：ため池，有機汚濁，富栄養化，腐植質

## 1. はじめに

著者らは、生物の生産活動が盛んな閉鎖性ため池の実態把握を目的に、水中の腐植物質に着目した汚濁分析を行っている。<sup>1) 2)</sup> ため池は、解放性の一時貯水池や雨水集積型の貯留池などの水塊で、水量、水の停滞性、内部生産性（主に生物による）の違いによって、汚濁の状況が異なってくる。本研究で調査対象としている水塊は、雨水集積および地下水浸透型の閉鎖性ため池で、そのひとつに人の生活空間に近接した公園池も含まれる。<sup>3)</sup> これらのため池の内部とその周辺では、独自の生態系がつけられ、通常は汚濁化と自浄のバランスが保たれ、顕著なよごれは起らないが、気象変化などの外的要因により、池内の食物連鎖に乱れが生じると、アオコなどの富栄養化現象がみられる。特に、人の暮らしに密接した公園池では、有機汚濁が進み、水の腐乱による健康被害も懸念されることから、定期的な水質監視が望まれる。

本論文では、閉鎖性ため池の実態や特性を探り、水環境保全を目的とした水質モニタリングの方法について述べる。

## 2. 閉鎖性ため池の水環境

### 2-1. 有機汚濁と富栄養化

一般に、湖沼へ流入する“よごれ”は、図1に示すように、人の生活活動に由来するもの、動植物の生態系に由来するもの、地質鉱物に由来するものを考えることができる。しかし、公園池では、人が安全に立ち入るための周辺環境整備が進められており、人の生活や産業から排出されるよごれはほとんど無い。閉鎖性ため池（公園池も含む）のよごれの主要なものは、自然起源の特に植物に由来したものである。

植物由来の物質による有機汚濁の進行は、図2に示すようなプロセスを経る。水中での栄養塩類量の増加

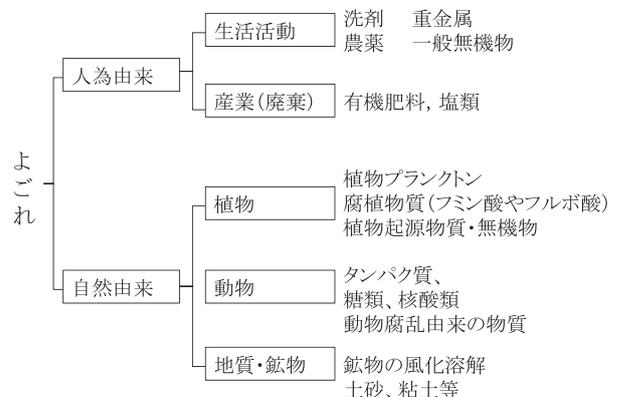


図1. よごれの種類とその由来

\* 宮城教育大学理科教育講座, \*\* 宮城県中新田高等学校, \*\*\* 宮城教育大学環境教育実践研究センター

が一次生産者（植物プランクトン）を発生・増殖させる。その結果、水の透明度が低下し水中植物の光合成が弱まる。水の嫌気化が進み有機汚濁、富栄養化、腐乱化が促進される。図2からも分かるように、有機汚濁と富栄養化は密接な関連性（汚濁の相乗協復性）をもっている。

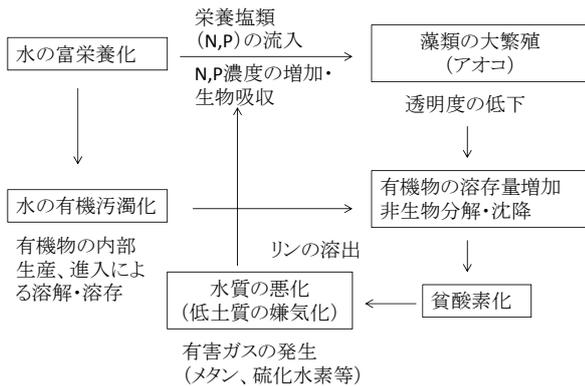


図2. 有機汚濁と富栄養化

## 2-2. 有機汚濁バックグラウンドと腐植物質

植物由来の腐植物質（フルボ酸類、フミン酸類など）は、ため池の有機汚濁化の原因となる。すなわち、これらの物質は微生物分解されにくく、水中に溶存もしくは沈降堆積（ヘドロ化）する。その結果、有機汚濁のバックグラウンドとして汚濁を長期化させる。ため池での腐植物質の生成と変移の概要を図3に示す。これは、内部生産性の高いため池においてよく認められる変移である。

ため池で生物（動物と植物）が死に至ると、それらが微生物分解（動物なら腐乱化、植物なら腐植化）し、その過程で生じた分解物（無機物と有機物）が種々の形態（有機物なら溶存態や粒子状など）で水中に拡散していく。無機物の場合は、一部に栄養塩類として植物の生長に利用されるが、食物連鎖における一次生産（植物プランクトンの発生と増殖）も始まる。それに引き続く高次の食物連鎖過程で生物固体数の増加を招く。一方、有機物は、図3に示すように、易生物分解性物質と難生物分解物質として水中に拡散していく。易生物分解性のものは食物連鎖過程で比較的早く消失するが、難分解性のものは、ゆっくりと自然分解

しながら一部はヘドロ化し、ため池の低土質へ移動するが、多くは長期にわたって水中に停滞する。この難分解性の腐植物質（フミン酸やフルボ酸）の存在量が有機汚濁のバックグラウンドを形成することになる。従って、水中から、動物由来の分解物（核酸類、タンパク質、糖類などの易分解性有機物）や植物由来の腐植物質（フルボ酸やフミン酸、その他ヒューミン等）を検出し、存在量などについて知見を得ることは、有機汚濁の潜在性や進行の可能性を類推する上で重要である。

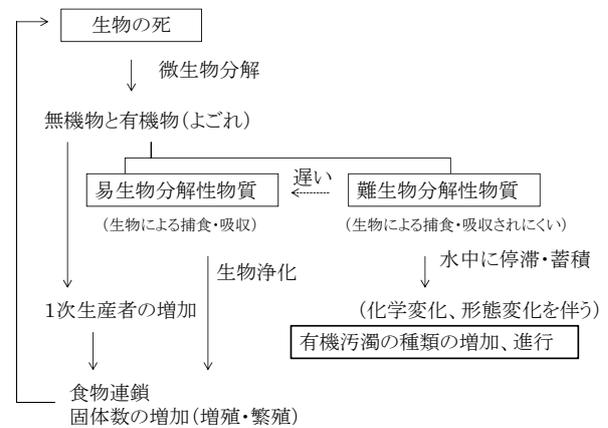


図3. 生物由来物質の動態<sup>4)</sup>

## 3. 水質モニタリング

### 3-1. 調査項目

ため池の有機汚濁の現状を調査し、有機汚濁のバックグラウンドを評価するために用いられる調査項目を図4に示す。項目を現地測定項目（変化しやすい指標項目で、採水時にモニターしなければならない項目）と採水後、分析室・実験室に持ち帰り、分析する項目に分けている。ため池の実態と調査目的に照らしあわせ分析する場合の選択肢となる。

なお、図4に示した現地測定目については、調査時・調査場所の環境条件を直接反映しており、バックグラウンドの評価・解釈と関わりなく基礎データとして測定しておくことが望ましい。図4に示した測定項目の中で図3のプロセスを調査するための代表的な項目を抽出し、それらを図5に示す。

有機物については、化学的酸素要求量（COD）、生

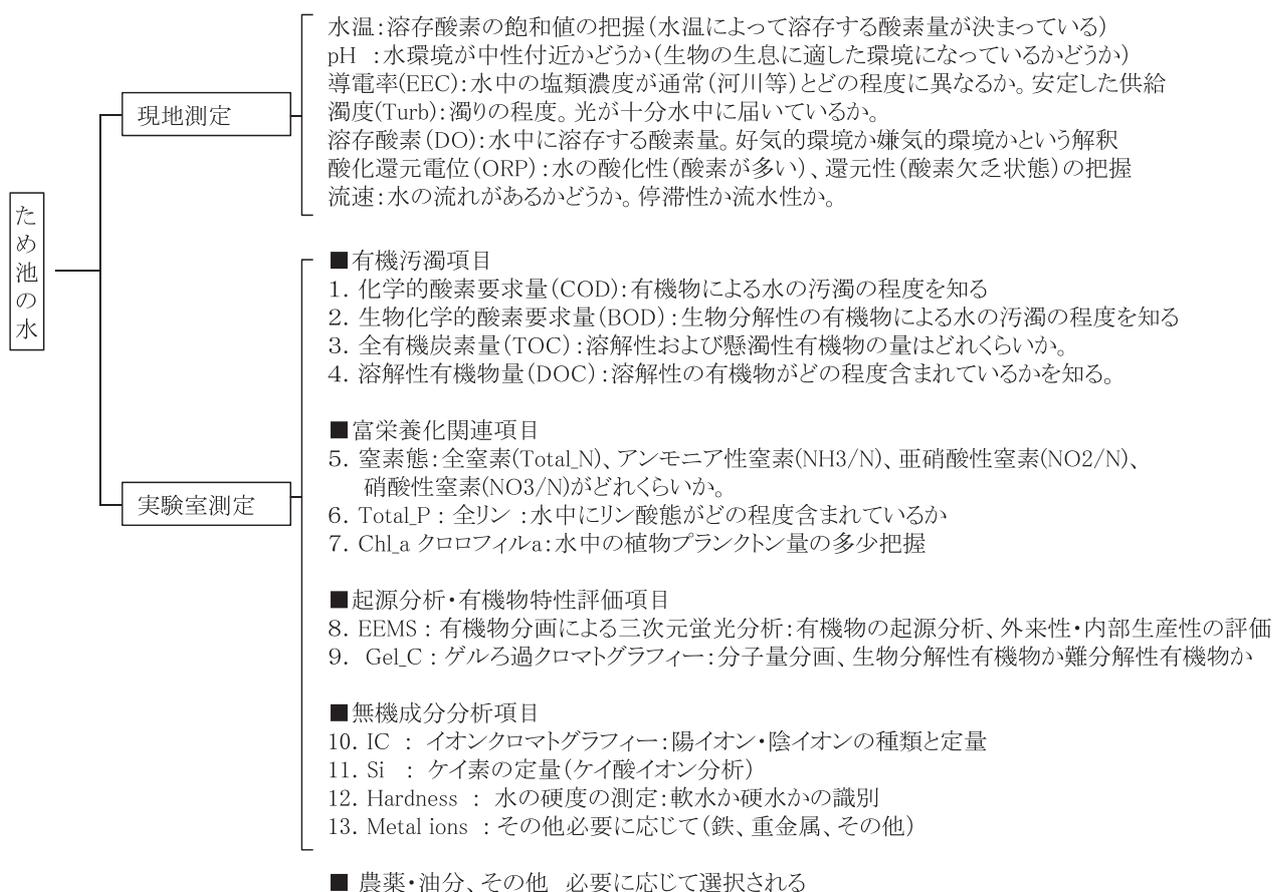


図4. 水質モニタリング項目<sup>5)</sup>

物化学的酸素要求量 (BOD), 全有機炭素 (TOC) の測定が有効である。例えば COD 測定で、試料中の溶解性有機物 (溶存態有機物) (Dissolved Organic Substance) に着目するならば、試料水を孔径 1 $\mu$ m のガラスろ紙 (ex. Whatman GF/F) でろ過し、ろ液を溶解性 (溶存態) 有機物試料として分析すればよい。得られる結果を COD<sub>DOS</sub> とし、未ろ過の試料水について測定した COD<sub>TOT</sub> との差 (COD<sub>TOT</sub> - COD<sub>DOS</sub>) が粒子

状有機炭素と植物プランクトンによる影響と考え、有機物による水の濁りの程度や水中植物の光合成効果の阻害要素となる。

易生物分解性の有機物については、生分解が進みやすいため定量的な扱いは避ける。一方、難生物分解性の有機物については、吸着クロマトグラフィーによる酸・アルカリ分画と三次元蛍光分析 (EEMS) による同定、ゲルろ過クロマトグラフィー法 (Gel\_C) による分子量分析を行う。<sup>1)</sup> クロロフィルは水の富栄養化状態を指標するもので重要である。

### 3-2. ため池モデル

ため池に有機汚濁が恒常的に存在し、そこに生態系がつくられていけば、汚濁物質の一部は生物の栄養源となっている。ため池には生態系の維持に必要な一定の汚濁が存在することになる。本研究で言う有機汚濁バックグラウンドとは、生物に由来した恒常的な有機汚濁の程度 (レベル) を指すものである。富栄養化や

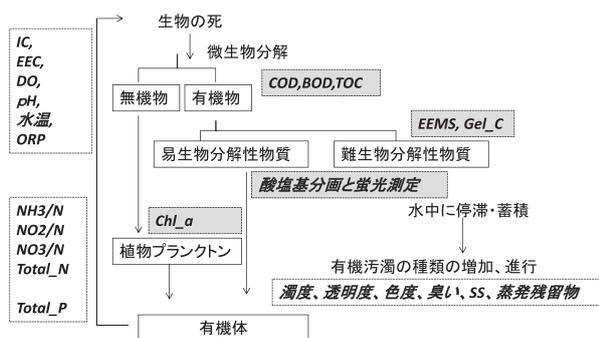


図5 汚濁プロセスと測定項目

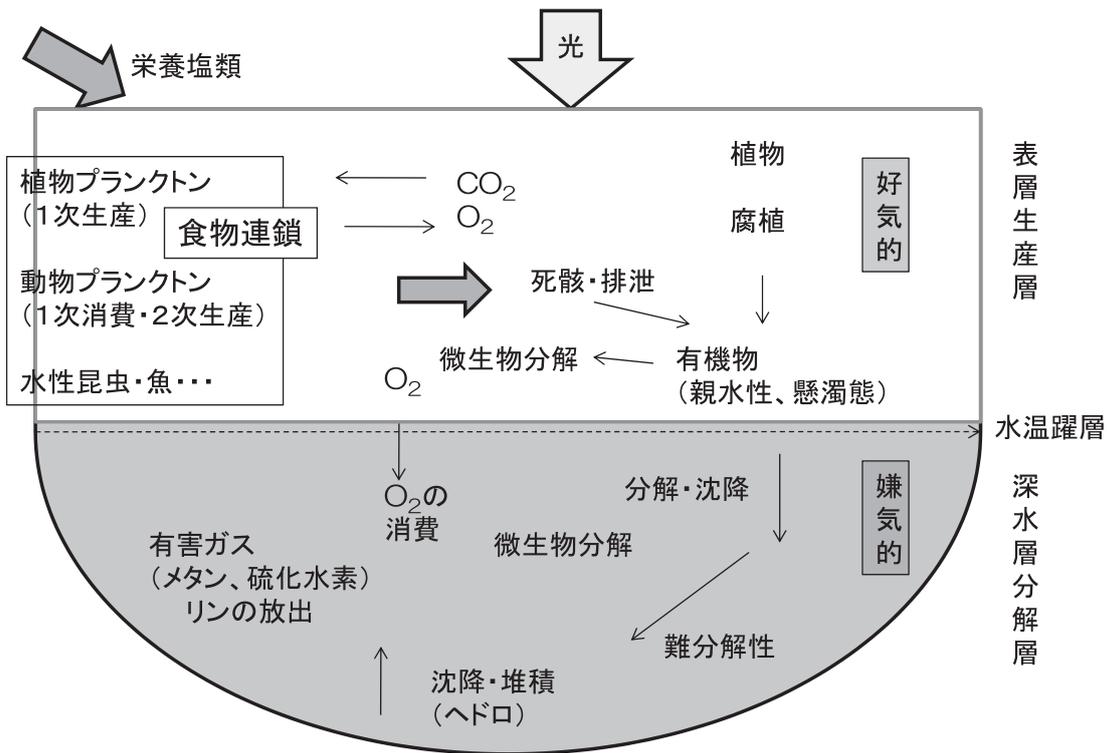


図6. ため池モデル（一層モデル）

水の腐乱化が進行しやすいため池では有機汚濁バックグラウンドは高い。有機汚濁バックグラウンドのレベルを評価することで、汚濁の起こりやすさを推測できる。

このバックグラウンドの解釈には、ため池の実態に合ったモデル（ため池モデル）が必要である。このモデルは、ため池の水質の動態（指標値の推移や変動）を合理的に解釈するのに役立つ。最も単純なモデルを図6に示す。解釈の精度を高めるには、水温躍層が段数的に複数ある多層モデルを考えるとよい。一層モデルは、実態把握の確度は低下するが、構造が単純な分、考えやすいという特徴をもつ。

このモデルを用いた解釈は、①栄養塩類の供給による生産者（植物プランクトン）の過剰繁殖、②池内生態系による物質生産性の加速化・バックグラウンドを超えた有機汚濁の進行、③水中植物の光合成効果の低下と水の嫌気化、④アオコの発生・富栄養化、⑤生物の死・難生物分解性有機物の生成・停滞・沈降、⑥ヘドロ化と嫌気性分解、⑦嫌気的環境下のリンの放出、⑧有機汚濁の循環・年次的変動、⑨有機汚濁バックグラウンドの正の生長、などの理解に適用できる。

#### 4. 水質分析の実際

##### 4-1. 化学的酸素要求量 COD (Chemical Oxygen Demand)

水中に含まれる有機物を酸化分解するのに必要な酸化剤の量を求め、酸化剤の消費量を酸素の消費量に換算し、水中に含まれる有機物量の大小を評価する。よく行われる方法に酸性過マンガン酸カリウム法がある。通常 JIS 規格 (JIS K 0102) で分析方法が定められているが、より簡易な方法も考案されている。電量滴低法<sup>6)</sup>による迅速分析法は JIS 法にはないが、JIS 法の結果と相関関係がよい。図7に電量滴定法の概要を示す。

##### 4-2. 生物化学的酸素要求量 BOD (Biochemical Oxygen Demand)

水中に含まれる有機物を水中の微生物が捕食し、好気性の環境下で微生物が繁殖する。微生物の繁殖に溶存酸素が消費される。採水直後の試料水の水温を 20℃、pH7 に調整し、攪拌しながら“ばっ気”する。pH7 に調整した試料水（調整液）の溶存酸素量 (DO<sub>1</sub>) を測定する。調整液を数本（2本から3本）の酸素び

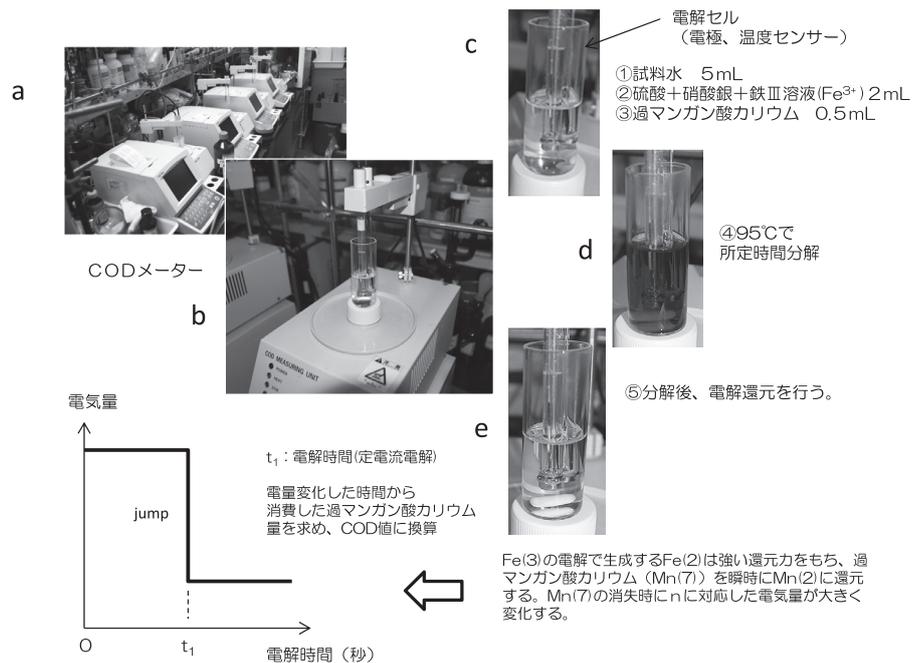


図7. 電量滴定によるCOD測定手順

電解セルに所定量の試料水(5mL)と酸化剤(1/40NKMnO<sub>4</sub>)(0.5mL)、鉄(Ⅲ)ミョウバン・硫酸銀・硫酸・リン酸の混合溶液(2mL)を加え(c)、ヒーター内で攪拌しながら所定時間加熱する(d)。その後水温を60°C程度に下げて電量滴定を行う(e)。試料をセットして自動的に処理が進行し、測定結果が出るまで約8分。

ん(100mL)に分け入れ、20°C暗所で5日間放置する。5日後の溶存酸素量(DO<sub>2</sub>)を求め、DO<sub>1</sub> - DO<sub>2</sub>の値をBOD(mg/L)とする。DO値はDOメーターで読みとる。

#### 4-3. クロロフィル a

図8aは、公園池の表面にアオコが大発生した際の様子を示したものである。池表面を藻類(アナバネ、ミクロキスティス)が覆い(図8b)、強烈なカビ臭が漂っていた。採水後、植物プランクトンの細胞からクロロフィルaを抽出し、クロロフィル蛍光を測定しクロロフィル濃度を求めると、図8cのような結果が得られた(10月はアオコ発生が観測された時期である)。

図9にクロロフィルの分析手順を示した。試料水100mL~200mL(a)の所定量をガラスろ紙(b)(Whatman GF/F)でろ過する。ろ液cは植物プランクトンを除いた溶存態(Dissolved)の試料水のCOD<sub>DOS</sub>の測定に利用する。なお、ろ過にはアスピレーター(ゆるやかに減圧)を用いる。ガラスろ紙に付着した植物プランクトンを遠沈管(d)に移し(ガラスろ紙ごと入れる)、これにN,N-ジメチルホルムアミド10mL

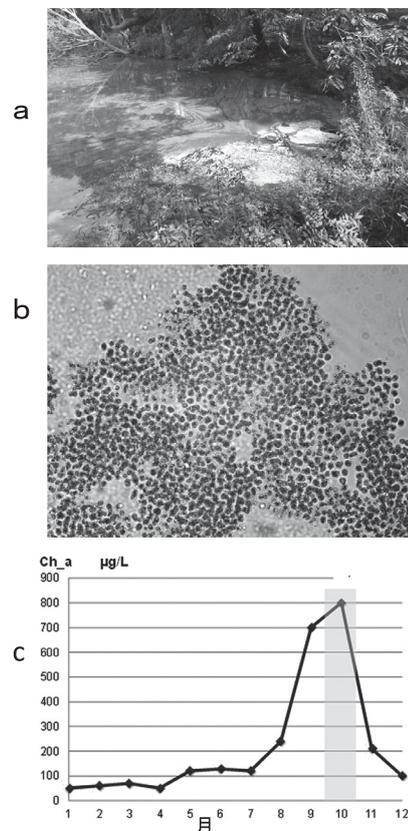


図8. 公園池の富栄養化状態  
a:岩沼市朝日山公園荒井堤のアオコ(H25.9)  
b:アオコの光学顕微鏡写真(300倍)  
c:アオコから抽出したクロロフィル濃度の経月変化

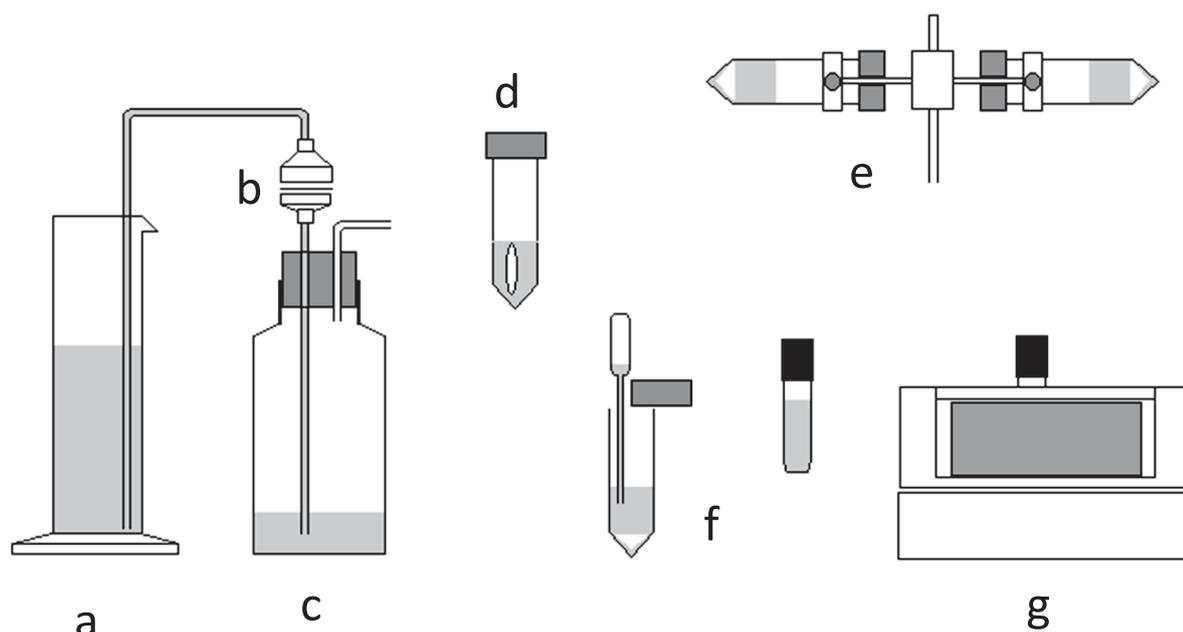


図9. クロロフィルの分析手順<sup>7)</sup>

a: メスシリンダー (試料水 100mL ~ 200mL), b: 外径 25mm 円形ガラスろ紙 (GF/F), c: 500mL メジャービン, d: 遠沈管 (50mL), e: 遠心分離 (3000rpm/min), f: 1mL ポリエチレンスポイト, 蛍光測定セル, g: ターナー蛍光光度計

を加えて遠沈管を振り、ガラスろ紙が遠沈管内の溶液中に白濁分散したら、そのまま遠心分離機にかけ (e)、ろ紙のガラス繊維を沈降凝集させる。遠沈管の溶液表面部分をスポイトで吸い上げ、測定セルに移してクロロフィル蛍光強度を測定する。クロロフィル濃度は、予め作成しておいた検量線データ (クロロフィル a 濃度と蛍光強度の関係を表す) を用いて算出される。

#### 4-4. 生物由来分解有機物の分画

これは、図 5 に示す易生物分解性有機物 (糖類や核酸、タンパク様物質など) と難生物分解性有機物 (フミン質、フルボ酸など) を、カラム分離 (分画実験) し、分画成分の蛍光特性を検出<sup>8)</sup> するものである (図 10)。これは吸着カラムで、分画 1 (糖類・核酸・タンパク質等の親水性化合物群) と分画 2 (主にフミン酸類) に分ける方法である。カラム充填剤は非イオン性の交換樹脂 DAX-8 (Suplite) である。液性の異なる樹脂の中で弱い吸着力の違いを利用して分離する方法で、ゆっくりとした流路の中で行われる (50mL の試料で約 1 時間の実験となる)。試料水を予め、ロータリーエバポレーターで濃縮し、試料水を減量すれば、分離

操作時間を短縮できる。B の操作はカラムを逆向きに固定しなおし溶媒の展開を行うと、吸着帯からの溶出時間を短縮できる。

図 11 の分画 A (酸分画) と分画 B (アルカリ分画) は図 10 の分画で得た溶出液について測定した 3 次元蛍光スペクトルである。分画 A では動物由来の親水性成分 (タンパク質様物質と呼ぶ) の存在が認められ、分画 B では腐植物質 (フミン酸類でフミン質様物質と呼ぶ) の存在が認められた。図 3 (図 5) に示した物質移動 (循環) の中で、いずれも水の有機汚濁を進行させる。

#### 4-5. 生物由来分解有機物の構造特性

水中に腐植物質 (主に水生植物、植物プランクトン由来) が多くなると、水の BOD が低値にもかかわらず COD が高値 (腐植物質の難分解性による) になる現象がみられる。腐植物質には、酸にとけやすい (酸によって沈殿しにくい) フルボ酸類 (humic like) と、酸にとけにくい (アルカリで沈殿しにくい) フミン酸類 (humic like) がある。これらがため池水中に多量に存在し長期に渡って停滞蓄積すると、ヘドロ化や水

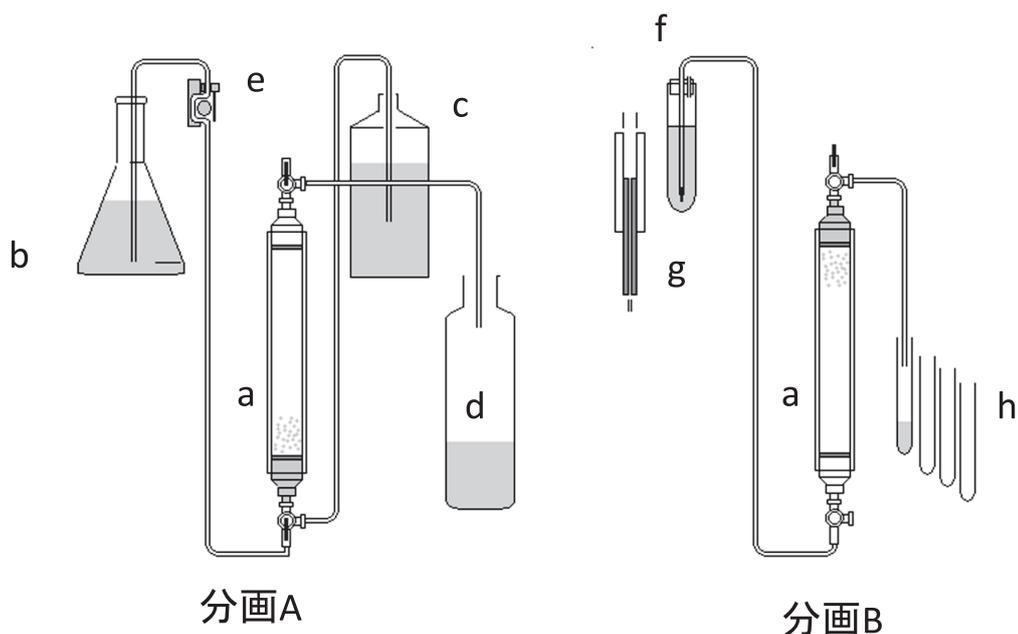


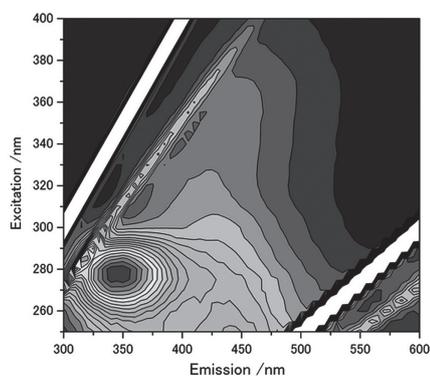
図10. 生物由来分解有機物の分画

分画 A: 酸分画 (流速 1mL/min) 分画 B: アルカリ分画 (流速 0.2 ~ 0.4mL/min)

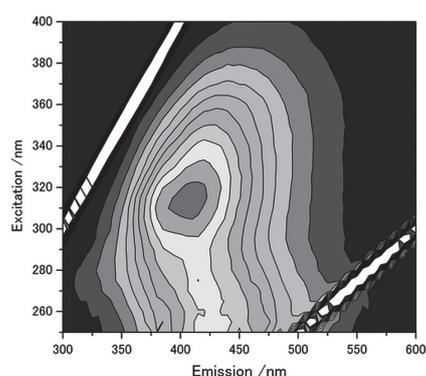
連続分画: A の分画操作の後, カラムを逆向きに変え B の分画操作を行う。

a: 自作カラム (内径 10mm, カラム長 10cm のガラス管, 両端にガラスろ紙 (GF/F) をアダプターで固定, 充填剤: DAX-8Suprlite), b: 試料水 (ガラスろ紙 GF/F でろ過した液), c: HCl 水溶液 (pH2). d: カラム通過液 (糖, 核酸, タンパク質等の親水性・塩基性の有機物が含まれる酸性溶液), e: 流速調整コック, f: 0.1N NaOH 水溶液 (10mL) (吸着物の溶離液), g: f シリコンチューブ (内径 2mm) の先端に内径 0.1mm のシリコンチューブを取り付け, 流速をおよそ 0.2mL ~ 0.4mL に減速して溶離), h: 溶離液 (フルボ酸やフミン酸等の酸性成分が含まれるアルカリ溶液)

物質群	成分	蛍光特性	
アミノ酸・タンパク質・糖類等	チロシン	270/350	275/300, 225/295
	トリプトファン		280/330, 275/350, 230/345, 225/350
腐植物質	フミン酸	250/435	320/420 (疎水性酸)
	フルボ酸	335/435	300/420



タンパク質様物質 (分画A)



フミン質様物質 (分画B)

図11. 分画成分の3次元蛍光スペクトル

の腐乱化を引き起こす。これらの有機化合物の構造特性（分子サイズ）を調べることは、有機汚濁の動態を推論するのに有意義である。そのための方法にゲルろ過クロマトグラフィーがある。

図 12 に示すように、ゲルろ過クロマトグラフィーは、一定の大きさの孔をもった微細な多孔質ビーズ（高分子樹脂ゲル）をカラムに詰め（a）、カラム先端に少量の試料水を充填し、水を溶媒としてカラムの上側から下側へ展開していく。試料中の有機成分はビーズの孔を巡りながらカラムを通過していくが、有機成分の分子サイズがビーズの孔より大きい場合は、有機成分は孔の中に入れない。ビーズの間隙を通して展開溶媒の流速にあわせてカラムを通過するだけなので、カラムから抜け出す時間は短い。一方、分子サイズがビーズの孔より小さい場合は、有機成分が樹脂の孔の中を巡りながらカラム内を移動するので、見かけの行路長は長くなり、カラムから抜け出す時間も長くなる。このように、有機成分のカラム内に滞在する時間（保持時間）を計測すれば、その成分の分子サイズ（およその分子量）を求めることができる。

ゲルろ過クロマトグラフィーによる分離では、孔の異なるゲルを用いて（ゲルの種類と量を変えて）実験すると、成分の分子量についてより確度の高い解釈が行える。図 12 A,B,C に示したゲルろ過カラムは、カラム充填剤とカラム管の大きさを変えたものである。カラム A は充填剤として Sephadex G15（分画可能な分子量範囲は分子量 1500 以下）を用いており、腐植物質の成分分離におよそ 3 時間を要する。カラム A,B,C の特性は、標準試料としてブルーデキストリン（平均分子量 200 万）とシアノコバラミン（ビタミン B12、分子量 1350）を用いて、それぞれ各成分の保持時間を求めて評価する。カラム C は、およそ 1 時間で測定結果が得られる。保持時間が短い分シャープなクロマトグラムを観測でき、成分の保持時間の読み取りも可能であり、実用的なカラムである。

一方、カラム B はカラム C に比べると測定時間が長く（約 3 時間）、成分の保持時間に大きな差が認められる。同一試料についてカラム A とカラム B の両方を用いて実験すれば、成分（特に高分子量の分子）について確度の高い情報を得ることができる。

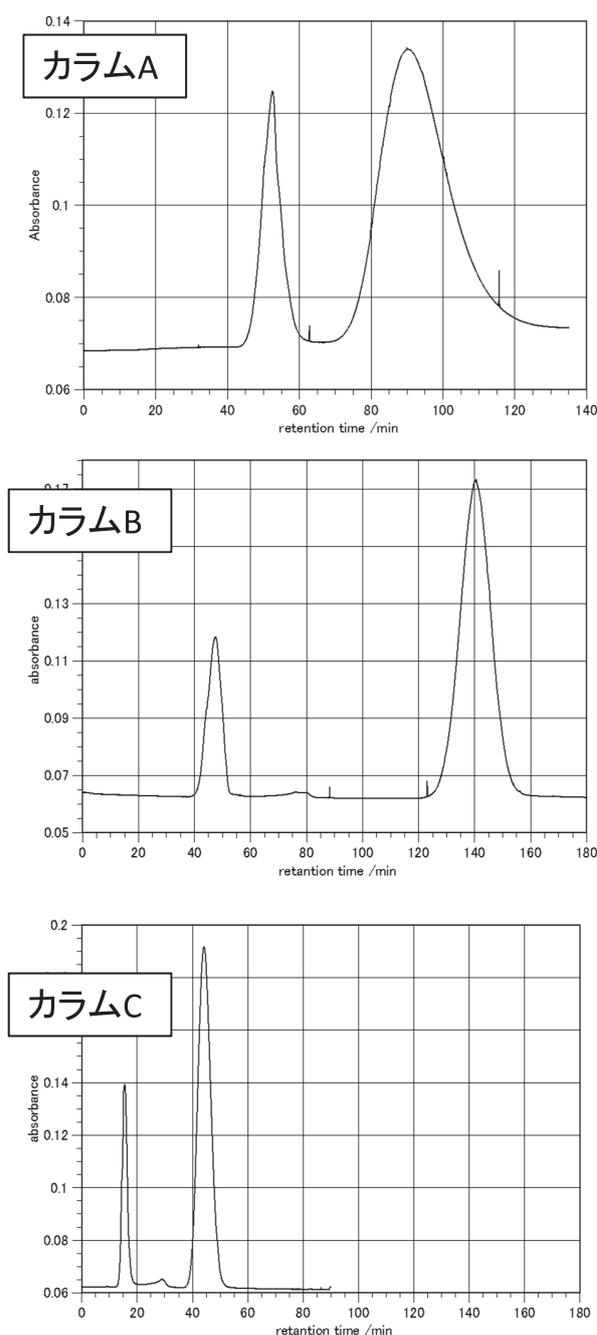


図 13. ゲルろ過クロマトグラフ(カラムA,B,C)

カラム A: 充填剤 SephadexG15 (分子量 1500 以下)  
 カラム長 300mm カラム管 (外径 350mm 内径 26mm)  
 カラム B: 充填剤 SephadexG50 (分子量 5000 以下)  
 カラム長 300mm カラム管 (外径 350mm 内径 26mm)  
 カラム C: 充填剤 SephadexG50 (分子量 5000 以下)  
 カラム長 160mm カラム管 (外径 190mm 内径 14mm)

展開水流速 1.0mL/min 展開溶媒 蒸留水  
 UV モニター  $\lambda = 220\text{nm}$  Cell : 2mm フローセル  
 標準試料 1.0mL (ブルーデキストリン (BD6mg/10mL) 水溶液  
 1mL とシアノコバラミン (B12 6.2mg/10mL) 水溶液 0.5mL  
 の混合水溶液 1mL (BD 0.7 + B12 0.4))

## 5. まとめ

公園池のような閉鎖性ため池の富栄養化と有機汚濁化は、水塊の腐乱化（腐乱性水系への移行）を生み出す。公園池が人の暮らしに密接した閉鎖性の高いため池であり、環境保全の立場から、ため池の水環境（豊かな生態系による自浄能力を発揮した池）を守る（監視する）ための水質モニタリングは有用である。

本研究では、閉鎖性ため池の汚濁の実態把握と将来予測に、「有機汚濁バックグラウンド」という概念を導入し、バックグラウンドのレベルを評価する分析法として、有機汚濁指標、富栄養化関連項目（クロロフィル）、腐植物質の特性評価（起源分析と分子量測定）の項目を取り上げた。この分析法は、ため池の実態や保全に向けた環境理解の促進に役立つものである。

## 引用文献及び脚注

- 1) 三品佳子・三好直哉・村松隆, 2014, ため池水中の溶存態有機物の分画と同定に関する実験法の開発 (II) - 腐植物質の物性評価に関する簡易実験法 -, 環境教育研究紀要, 16, pp.1-6,
- 2) 三好直哉・三品佳子・村松隆, 2013, ため池水中の溶存態有機物の分画と同定に関する実験法の開発, 環境教育研究紀要, 15, pp. 49-55
- 3) 例えば, 丸田沢ため池 (仙台市泉区上谷刈), 荒井堤 (岩沼市朝日山公園) のようなため池である。
- 4) 国立環境研究所編, 2001, 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報告, 国立環境研究所特別研究報告, pp 1-39.
- 5) 日本分析化学会北海道支部編, 1995, 水の分析 第4版 (化学同人)
- 6) 荒川 豊, 北田茂 1994, 電量滴定法を用いた COD 測定技術, 衛生工学シンポジウム論文集, 2: 31-36.
- 7) 富栄養化状態により異なる。富栄養化が顕著に現れている場合は 50 mL 程度でよい。
- 8) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤, 2001, EEMS による水中の溶存有機物の特性解析, 水環境学会誌, 24 巻, pp. 686 - 692.

