

生物 (*Bacillus cereus*) 活性炭ろ過による 臭物質 (2-methylisoborneol, geosmin) の分解 第2報 かび臭物質が同時に存在する時

八木正一・中島進

緒 言

今日水道水のかび臭物質が全国的広がりをもって社会問題化し、おいしい水が流行語のようになっている。このかび臭物質は緩速砂ろ過でよく除去できることから、生物分解できることは早くから知られていた。しかし、かび臭物質を定量する分析技術が無かったので、定性的に感覚で判定していたのである。著者ら¹⁾の天津市の緩速ろ過についての報告が定量した報告の最初である。

かび臭物質分解バクテリアそのものについては Silvey ら²⁾の *Bacillus cereus* の geosmin に関する報告が最初で、ついで Silvey のグループの Narayan と Nunez³⁾が土壌の培養から、*Bacillus cereus*, *B. subtilis* を含め数種を分離している。これらの報告は主として感覚的に判断したもので、かび臭物質の定量までには至っていない。Danglot ら⁴⁾は Narayan らが *B. cereus* より分解能がよいと言っている *B. subtilis* を用いて geosmin の分解実験を行っているが、成功していない。

著者ら⁵⁾は *B. subtilis* を付着させた活性炭ろ過層を用いたろ過実験で、2-methylisoborneol (MIB) 及び geosmin が生物分解されることを報告した。

最近になって住友ら⁶⁾は *Pseudomonas fluorescens* が geosmin を、池田⁷⁾は *Flavobacterium* 属のバクテリアが geosmin を、*Pseudomonas* 属と *Flavobacterium* 属のある種が MIB を、また宮島ら⁸⁾は *Pseudomonas putida* が MIB をよく分解することを報告している。

著者らは *B. cereus* 及び *B. subtilis* を数回継代培養したものをを用いた場合に、分解しないことがあったので、生物分解を再確認し、また琵琶湖などでは、MIB と geosmin は濃度には差があっても、同時に検出するので、両臭気物質が共存する場合を想定して、生物活性炭ろ過実験を行った。

実 験 方 法

1. バクテリア活性炭ろ過層の調整

クロマト管 (内径15cm) を用い、これに粒状活性炭 (カルゴン F 400) を10cm (約 8g)

詰め、蒸留水で逆洗して細粉炭を除いた。その後、蒸留水を張ったままオートクレーブで滅菌した。このろ層に、3日間培養したバクテリアをリン酸緩衝希釈液で100倍に希釈したものを300mlをろ過して、バクテリアを活性炭に接種した。これを1日室温に静置培養し、実験ろ過層とした。同様に準備しバクテリアを接種しないろ層を対照とした。

バクテリアは東京大学応用微生物研究所からもらいうけた *Bacillus cereus* IAM 12605 を、桜井液体培地（日本水道協会編，上水試験方法，1985）で3日間，20°C増菌培養したものをを用いた。

2. ろ過原水のかび臭濃度

MIB及びgeosminともに和光純薬製のものを用い、リン酸緩衝希釈水で、それぞれ200 µg/ℓの混合液になるよう調整した。

3. ろ過速度及びろ過水の採取方法

ろ過速度は300m/dayと60m/dayに調整する予定であったが、実際には382m/dayと73m/dayであった。

4. 活性炭吸着物質の抽出方法

20mlのクロロホルムで3回振とう（各5分間）し、計60mlにした後、クロロホルムを加えて100mlにし、ページ・トラップ法で濃縮後、GC-MSで測定した⁹⁾。

5. 実験室温度

25°Cの恒温室で行った。

実験結果と考察

1. 高速ろ過と低速ろ過におけるかび臭物質の分解の比較

a) ろ過水へのバクテリアの流出

バクテリア接種液及びかび臭原水中のバクテリア（従属性細菌）数はTable 1のとおりである。活性炭ろ層に接種1日後にろ過を行った。ろ過水中のバクテリア数はTable 2のとおりである。高速ろ過の方が多少多い傾向が認められるが、あまり差はない。ろ過水中のバクテリア数からみて、かなりろ過層中でバクテリアが増加しているものと思われる。この数は1986年の実験結果と大きい差はない。しかし、1986年の実験ではかび臭の分解は認められない結果に終わっている。

Table 1. The number of colonies of heterotrophic bacteria in the solution seeded with and without *B. cereus*. (Total volume of filtrate: 1 ℓ)

	Seeded with <i>B. cereus</i>	Without <i>B. cereus</i> (Control)
Number of colonies of heterotrophic bacteria (N/ml)	290 × 10 ⁴	0

b) ろ過水中へのかび臭物質のろ出

約380m/day と約70m/day のろ過速度における最初 (0-200ml), 中間 (400-600ml), 最後 (800-1000ml) のろ過水中のかび臭物質の濃度を示すと, Table 3 のとおりである. この実験の時間内 (高速ろ過: 21分間, 低速ろ過: 111分間) では最初と最後まであまり差はなかった. 低速ろ過の対照では, 時間の経過によってろ出量が減少している傾向が認められるが, これはろ過開始時のろ過速度調整の影響が出たのかも知れない.

高速ろ過と低速ろ過を比較すると, 高速ろ過の方が10~20倍ろ出量が多くなっている. しかし, 同じろ過速度ではバクテリアを接種したものと, しないものとの間に差はない.

Table 2. The number of colonies of heterotrophic bacteria in the filtrate (N/ml). (Total volume of filtrate: 1 ℓ)

Filtration speed (m/day)	382		73	
	Seeded with <i>B. cereus</i>	Without <i>B. cereus</i>	Seeded with <i>B. cereus</i>	Without <i>B. cereus</i>
Filtrate (ml)				
0-200	76×10 ³	0	12×10 ⁴	0
400-600	67×10 ³	0	9×10 ³	0
800-1000	3×10 ³	0	3×10 ⁴	0

Table 3. Musty odor compounds (MIB and geosmin) in the filtrate. (Total volume of filtrate: 1 ℓ)

1. Filtration speed: 382m/day

Musty odor compound	Seeded with <i>B. cereus</i>				Without <i>B. cereus</i>				
	MIB		Geosmin		MIB		Geosmin		
	Unit	μg/l	%	μg/l	%	μg/l	%	μg/l	%
Filtrate (ml)									
0-200	24	12	20	10	20	10	19	10	
400-600	22	11	17	8	22	11	21	11	
800-1000	24	12	17	9	18	9	17	8	

2. Filtration speed: 73m/day

Musty odor compound	Seeded with <i>B. cereus</i>				Without <i>B. cereus</i>				
	MIB		Geosmin		MIB		Geosmin		
	Unit	μg/l	%	μg/l	%	μg/l	%	μg/l	%
Filtrate (ml)									
0-200	2	1	1	1	4	2	3	1	
400-600	2	1	2	1	2	1	3	1	
800-1000	2	1	1	1	1	1	2	1	

これまでの実験ではバクテリアを植種した方が多くろ出していた。今回は実験かび臭濃度が前の報告⁴⁾より低かったことによるのかも知れない。

高速ろ過でも低速ろ過でも MIB より geosmin の方が、ろ出しにくい傾向が認められた。

c) ろ過水中の pH

かび臭原水は pH を 7.1 に調整した。ろ過水の pH は、バクテリアを植種したものではあまり変わりなかった。しかし、対照のろ過水では少々高くなった。結果を Table 4 に示す。この程度の pH では実験結果に大して影響はない。

d) ろ過層内でのバクテリアによるかび臭物質の分解

Table 5 に示すように、新しく譲り受けたバクテリア (*B. cereus*) を用いると、対照と比較してバクテリアを植種したもののほうがよい分解結果を示した。

しかし、*B. subtilis* を用いた時の成績⁴⁾よりも悪い。これがバクテリアの種の違いによるものか、それとも MIB と geosmin が実際には出現しないような高濃度（日本で、これまでの最高は geosmin では相模湖の $8.3\mu\text{g}/\ell$ 、MIB では手賀沼の約 $10\mu\text{g}/\ell$ ）で共存していたことによるものなのかは、さらに検討が必要である。

e) バクテリアによる MIB と geosmin の分解の容易さの比較

さきに、*B. subtilis* による単独のかび臭物質の分解を比較して、MIB より geosmin の方が分解され易いことは報告した⁵⁾。

今回の結果も Table 5（高速ろ過の場合）に示すように、geosmin の方が MIB より分解がよい。高速の場合で 1.7 倍、低速の場合で 1.6 倍であった。ろ過速度が違っても、その

Table 4. pH of the filtrate. (Total volume of filtrate : 1 ℓ)

Filtration speed (m/day)	Seeded with <i>B. cereus</i>		Without <i>B. cereus</i>	
	382	73	382	73
Filtrate (ml)				
0-200	7.06	7.25	7.53	7.69
200-400	7.06	7.23	7.57	7.70
400-600	7.07	7.19	7.57	7.69
600-800	7.07	7.22	7.55	7.70
800-1000	7.07	7.18	7.50	7.60

Table 5. Degradation of musty odor compounds by *B. cereus* : Difference in the degradation of MIB and geosmin. (Filtration speed : 382m/day ; Total volume of filtrate : 1 ℓ)

Filtration time (min)	With <i>B. cereus</i>		Without <i>B. cereus</i>	
	21.3		21.3	
Musty odor compound	MIB	Geosmin	MIB	Geosmin
Loading of musty odor compound (μg)	200	200	200	200
Concentration in filtrate (μg)	23	18	20	19
Estimated adsorbed amount (μg)	177	182	180	181
Extracted amount (μg) (from carbon bed)	146	130	170	178
Estimated degradation (μg)	31	52	10	5
Estimated degradation (%)	18	39	6	3

分解比率は変わらなかった。

摘 要

B. cereus も MIB よりも geosmin の方が分解しやすいことを明らかにした。二つのかび臭物質が共存している場合でもその傾向は変わらない。

本実験は短時間の結果であるが、高速ろ過(382m/day)で、 $200\mu\text{g}/\ell$ 濃度のものが、MIB で $20\mu\text{g}/\ell$ 、geosmin でも $20\mu\text{g}/\ell$ 以下になる。人間の感覚で、MIB の $1\mu\text{g}/\ell$ を異常と感知できるが、かび臭と判断できるのは水道局に寄せられる苦情から MIB で $20\mu\text{g}/\ell$ 程度以上、geosmin で $30\mu\text{g}/\ell$ 程度以上と考えられる¹⁰⁾。実際池での成績からこの効力はかなり持続するものと考えられる。ただし生物活性炭ろ過層でバクテリアが増殖するから、ろ過水のバクテリアの数は多くなる。

引 用 文 献

1. Yagi, M., Kajino, M., Matsuo, Y., Ashitani, K., Kita, T. and Nakamura, T. 1983. Odor problems in Lake Biwa. Wat. Sci. Tech. 15 : 311-321.
2. Silvey, J. K. G. and Roach, A. W. 1964. Studies on microbotic cycles in surface water. J. Am. Water Works Assoc. 56 : 60-72.
3. Narayan, L. V. and Nunez, W. J. 1974. Biological control and bacterial oxidation of the taste-and odor compound geosmin. J. Am. Water Works Assoc. 66 : 532-536.
4. Danglot, C., Amar, G. and Vilagines, R. 1983. Ability of *Bacillus* to degrade geosmin. Wat. Sci. Tech. 15 (6/7) : 291-299.
5. Yagi, M., Nakashima, S. and Muramoto, S. 1988. Biological degradation of musty odor compounds, 2-methylisoborneol and geosmin, in a bio-activated carbon filter. Wat. Sci. Tech. 20 (8/9) : 255-260.
6. 住友 恒・石田浩昭・佐々木邦臣 1989. 上水臭気分解菌の単離・同定 —上水臭気的生物分解装置の開発研究(2)一. 水道協会誌 58 : 15-20.
7. 池田勝洋 1990. 高度浄水処理実証プラントにおけるかび臭物質分解菌について. 水道事業研究 126号 : 78-101.
8. 宮島年男・布浦雅子・荒井基夫 1990. 水道協会誌 59 : 12-18.
9. 梶野勝司・芦谷和芳・藤本信之・八木正一 1984. パージ・トラップーマスフラグメントグラフィによる水中及び藍藻類培養液中の2-メチルイソボルネオールとジオスミンの超微量分析. 水道協会誌 53 : 29-41.
10. Yagi, M. and Nakashima, S. 1989. A study of standards for musty odour compounds in drinking water in Japan. Water Supply 7 : 153-160.

**Bio-Degradation of Musty Odor Compounds,
2-Methylisoborneol and Geosmin, with Bio-Activated
Carbon Filter Seeded with *Bacillus cereus* (IAM 12605)**

Masakazu YAGI and Susumu NAKASHIMA

Summary

The musty odor compounds, 2-methylisoborneol (MIB) and geosmin, were degraded during filtration in a bio-activated carbon filter seeded with *Bacillus cereus* (IAM 12605). Degradation rates of musty odor compounds adsorbed on the carbon were 39% and 18% for geosmin and MIB, respectively. *B. cereus* had stronger ability to degrade geosmin than MIB when both compounds were present in the raw water at the same time.