

九州大学 学生員 森山 史美
正員 栗谷 陽一
正員 大石 京子

1. はじめに

フミン物質は、主として植物質由来の有機物が分解された結果生じたもので、土壌中、水環境中にも多く存在している。従来、フミン物質については、それがカルボキシル基や、フェノール基を有していることから予想されるカチオンとのインターラクシオンについて主として土壌関係の分野で研究されているが、生物学的研究は少ないようである。フミン物質は、生物処理においては難分解なものの一つとされ、衛生埋立地からの浸出汚水にもフミン酸状の物質が存在する³⁾と云われており、フミン物質の生物活性に及ぼす影響等についても研究の必要性があると思われる。筆者等は、市販のフミン酸を用い、生物の増殖因子としての Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ のフミン酸によるカチオン交換と、このインターラクシオンが、生物増殖に及ぼす影響について基礎的な検討を行なったので、ここにその実験結果を報告する。

2. 実験方法

実験に使用したフミン酸HA（和光純薬）は、強酸型陽イオン交換樹脂の予備処理に準じ⁴⁾、再生、洗浄した。

1) フミン酸のカチオン交換について カチオン交換の測定は、試料として CaCl_2 溶液 (Ca^{2+} を 20、100、500 mg/l)、 MgSO_4 溶液 (Mg^{2+} を 20、100、500 mg/l)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液 ($\text{NH}_4\text{-N}$ を 20、100、500 mg/l)、及び、 CaCl_2 、 MgSO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の混合溶液（各イオンを 20、100、500 mg/l 含む）の 12 種類を用いた。フミン酸 0.25 g、0.5 g、1.0 g を 200 ml 三角フラスコに秤取し、これに各々の溶液 100 ml を加え、37°C 恒温槽中で振とうさせながら所定時間毎に液を抽出、0.45 μm メンブレンフィルターで濾過し、濾液中の残留イオンを測定した。

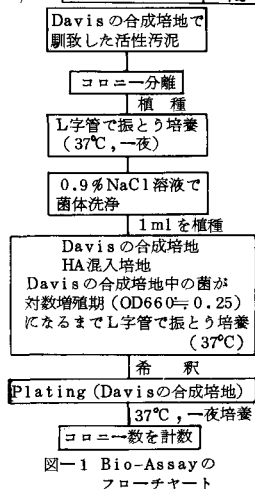
2) 生物増殖に及ぼすフミン酸の影響 実験に用いた菌は、都市下水処理場返送汚泥を、表-1 に示す Davis の合成培地で約 3 ヶ月間 fill and draw 方式で馴致した活性汚泥からコロニー分離したものである。培地は、増殖のコントロールとして Davis の合成培地、フミン酸混入 (HA 0.01 g、0.05 g、0.1 g/Davis の培地 10 ml) の Davis の合成培地 (HA 混入培地) の 2 種類である。ただし、pH をパラメーターとしてフミン酸の影響をみる場合は、pH を 5 と 6 に調整した Davis の合成培地も使用した。このため、活性汚泥からコロニー分離したものの中から、さらに Davis の酸性培地 (pH 5、pH 6) で増殖可能な菌を分離し、図-1 に示す Bio-assay に供した。

3. 実験結果と考察

1) フミン酸のカチオン交換について、フミン酸によるカチオン交換実験の結果を図-2 から 5 に示す。これにより本実験に用いたフミン酸でもカチオン交換能が認められ、どの試料溶液においても、イオン濃度の高いものほど交換量が多いことがわかる。これは、フミン酸のイオン交換能に関するこれまでの研究結果と一致した現象である。図-4、5 に示す混合溶液中の単一カチオン交換量は、単一イオンの溶液中の交換量よりも劣っているが、吸着した各カチオンの全量は、単一イオンの溶液中で吸着した量より遙かに多く、同時に多種のカチオンも吸着できていることがわかる。フミン酸によるカチオンの吸着は、振とう開始後 3 時間、或いは 6 時間後には、ほぼ定常になっている。

表-1 Davis の合成培地の組成

組成	(g)
グルコース	2
KH_2PO_4	2
K_2HPO_4	7
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1
クエン酸ナトリウム	0.5
蒸留水	1 l



2) 生物増殖に及ぼすフミン酸の影響 生物増殖に及ぼすフミン酸の影響は、図-2のフローチャートに従って測定された。結果は、フミン酸を含んだもののコロニー数をコントロールのコロニー数に対する増殖率として求め図-6に示す。HA混入培地(0.1g/10ml)では、PH6の場合コントロールの約1/2程度の増殖しか出来ず、PH5においては、その増殖が完全に抑制阻止されている。一方HA混入培地のDavisの培地成分の中で $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 Mg^{2+} だけ表-1の2倍、3倍にした培地: Davis(2N, 2Mg)、Davis(3N, 3Mg)では、PH5、PH6のどちらも増殖率が高くなっている。このことは、培地中に増殖因子としての各無機イオンが存在しているにもかかわらず、フミン酸の共存が、それらの菌体への取り込みを阻害していると推察される。PHの相違によるHA混入培地での増殖率の差については、フミン酸が酸性側より安定なカチオン交換能を有しているためではないかと思われる。

Mg^{2+} 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ を制限基質としたときの生物増殖を律速する各々の低限界濃度をDavisの培地について求めたものが、図-7~10である。これによると、 Mg^{2+} は2mg/l、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ は20mg/l程度以下で、図-7、8に示す増殖曲線の対数増殖期の分裂速度が減少すると考えられる。ところが、図-4、5で得られたフミン酸による Mg^{2+} 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ のイオン吸着後の残存濃度は、この濃度よりかなり高濃度であり、Bio-assayのHA混入培地の残存イオン濃度も同程度と考え、図-6に示すような増殖阻害が生じることと矛盾すると思われる。この点については、フミン酸のカチオン交換実験における残留イオン濃度測定時に、メンブレンフィルター溶液中に、フミン酸が混入したことも考えられる。

4. おわりに

今回の実験により、培地中にフミン酸が共存することにより、生物増殖が阻害されることがわかった。また、この原因として、増殖因子としての無機カチオンとフミン酸とのインターラクシオンが、関与していることとうかがわせる結果が得られたが、なお不明点が多く、今後検討を加えてゆきたい。

本研究は文部省科学研究費(試験研究1)の助成を受けたことを記す。

一参考文献一

- 1) M. Schnitzer: Organo-Metallic Interactions in Soil, Soil Science vol.103, No 4
- 2) 空酸化炭素およびフミン酸の性状に関する研究、資源技術試験所報告第70号 1968
- 3) Edward S.K.: Sanitary Landfill Leachates and Their Treatment, Journal of The
- 4) 日本化学会編「実験化学講座2基礎技術II」丸善 Environmental Engineering Division, April 1976
- 5) 西田清二: フミン酸のカチオン交換能、燃料協会誌 Vol. 47, No 500 1968

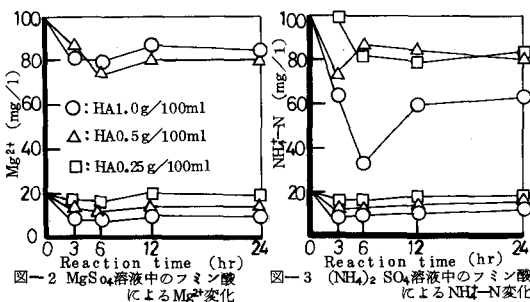


図-2 MgSO_4 溶液中のフミン酸による Mg^{2+} 変化

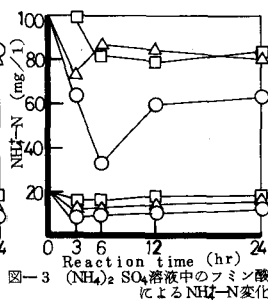


図-3 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液中のフミン酸による $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 変化

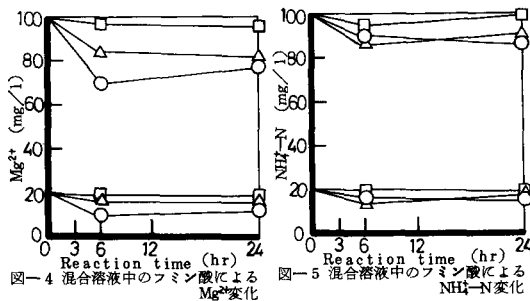


図-4 混合溶液中のフミン酸による Mg^{2+} 変化

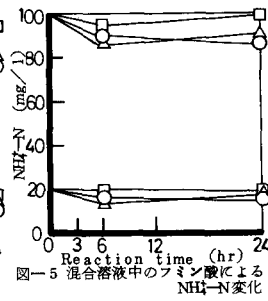


図-5 混合溶液中のフミン酸による $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 変化

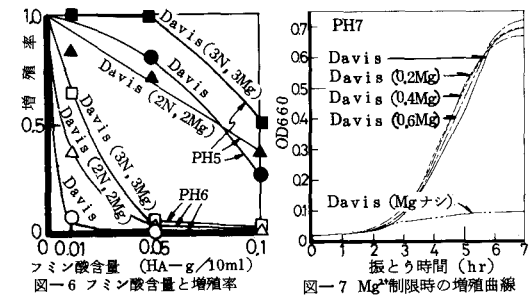


図-6 フミン酸含量と増殖率

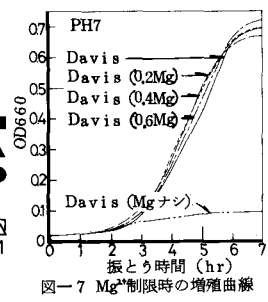


図-7 Mg^{2+} 制限時の増殖曲線

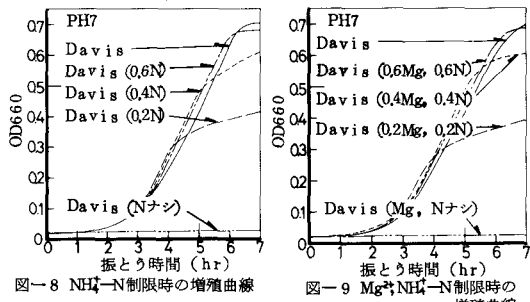


図-8 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 制限時の増殖曲線

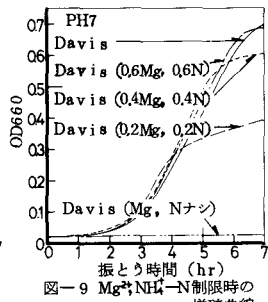


図-9 Mg^{2+} 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 制限時の増殖曲線

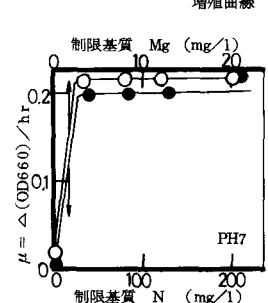


図-10 制限基質濃度と比増殖速度