

はじめに---著者らは活性汚泥を用いた生分解実験の結果から、構造活性相関を基本にした有機化合物の生分解機構のモデル化を試みてきた⁽¹⁾。その中で汚泥の馴養の違いによる生分解性に寄与する各因子の変化を認め、その原因が生分解経路の違いによるとの示唆を得ている。その実例として、p-クレゾール(pCr)馴養汚泥ではpCrの主たる生分解経路がメチル基の酸化、ヒドロキシ安息香酸の生成、水酸基の導入、プロトカテキユ酸(Prot)の生成、オルト開環であるのに対し、フェノール(Phe)馴養汚泥では、水酸基の導入による4-メチルカテコール(4MC)の生成、メタ開環、と異なることを明らかにした⁽²⁾。本報では、このような相違の生じる分子構造要因について、pCr汚泥の分解能力を調べることから検討を加えた。

実験方法---pCrを基質(投与濃度=500mg/l)として1日1回のfill and draw方式で培養したpCr汚泥に種々のPhe類を投与し、その生分解の様子を培養ろ液の分析により追跡した。一部の化合物については汚泥を加えない対照実験も行った。分析は主としてHPLCを用いた。o-クレゾール(oCr)やm-クレゾール(mCr)で馴養した汚泥でも同様な実験を行った。

p-クレゾール汚泥の各種フェノール類に対する生分解能力

pCr汚泥に種々のPhe類(100mg/l)を投与した実験結果を図-1~3に示す。分解能力の評価は初期分解速度に注目して行った。クレゾール(図-1-A,B,C)ではpCrに比べてoCrやmCrの減少は遅く、pCr汚泥のこれらに対する分解能力は明らかに小さかった。3-メチルカテコール(3MC, 図-1-D)は、そのメタ開環産物の2HB6HAを一時蓄積しながら直ちに分解した。4MC(図-1-E)はプロトカテキユアルデヒド(ProtAld)を一時蓄積しながら分解し、Prot経由での分解とみられた。メチルヒドロキノン(図-1-F)は自動酸化でも生じるp-トルキノンに変化した。それから先の生分解は起こらなかった。2-メチルレゾルシン(図-1-G)は全く変化せず、4-メチルレゾルシン(図-1-H)は対応する安息香酸となり蓄積した。5-メチルレゾルシン(図-1-I)は、初めは分解せず遅れて分解した。図-2にはメチル基の酸化が進んだ化合物の結果を示した。パラ異性体ではいずれも直ちに分解した⁽²⁾のに対し、オルト異性体の2-ヒドロキシベンジルアルコール(図-2-A)や2-ヒドロキシ安息香酸(2HB Acid, 図-2-C)の分解は遅かった。2-ヒドロキシベンズアルデヒド(図-2-B)は2HB Acidまで直ちに酸化され蓄積した。メタ異性体(図-2-D,E)は分解した。2,3-及び2,5-ジヒドロキシベンズアルデヒド(図-3-A,C)は、対応する安息香酸まで酸化され分解は止まった。ProtAld(図-3-E)は、Protを経由して速い分解をした。

以上の結果から、pCr汚泥は3MCのみはそのままメタ開環したが、その他のクレゾール類に対してはパラの

位置に水酸基がないとメチル基の酸化を行い得ず、したがって、直ちには分解できないことがわかった。モノ(ジ)ヒドロキシベンズアルデヒドについては、水酸基の位置に関係なく対応する安息香酸への酸化を行った。ヒドロキシ安息香酸では、Protを経由できる位置に水酸基がある場合に限り分解した。

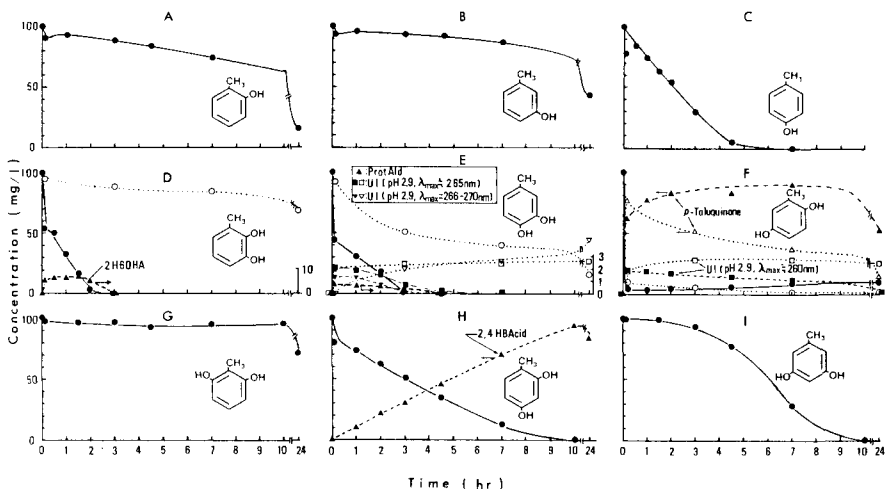


図-1. p-クレゾール汚泥によるクレゾール類の生分解 (MLSS=620-680mg/l)

その他の馴養汚泥との比較

Phe汚泥はo-, m-, p-クレゾール共に対応するカテコールを経由して直ちに分解した(2,3)。pCr汚泥はメチル基を攻撃する酵素系を持つが、oCrやmCrには無力で基質特異性はかえって狭くなっている。oCr汚泥はoCrを3MC経由で分解し、安息香酸を通る経路は利用していない(図-4)。mCr汚泥も同様にmCrを3MCまたは4MC経由で分解し、安息香酸経路は使っていない(図-5)。したがって、クレゾールで馴養すればいつもメチル基を酸化するようになるわけではなく、メチル基を攻撃する酵素系が現れるのはpCrで馴養された場合に限られる。すなわち、pCr汚泥のもつメチル基酸化酵素系はパラ位に水酸基を持つクレゾール類に限り作用し、しかもその場合にはカテコールを経由して分解する酵素系より効率がよいとみられる。

参考文献: 1) 産業公害防止技術, 昭和59年版, 104. 2) 益永他: 第19回水質汚濁学会, 9 ('85) 3) 益永他: 土木学会第38回年講, 807 ('83) など

図の記号, 略号

●: 構造式で示した投与化合物(汚泥添加実験)

○: 同上(汚泥を添加しない対照実験)

▲, ▼, ■: 分解中間産物(汚泥添加実験)

△, ▽, □: 同上(汚泥を添加しない対照実験)

2H5MeMSA=2-hydroxy-5-methylmuconic semialdehyde; 2H6OHA=2-hydroxy-6-oxo-hepta-2,4-dienoic acid; 2HMSA=2-hydroxy-5-methylmuconic semialdehyde; nHBacid=n-hydroxybenzoic acid; 2,nHBacid=2,n-dihydroxybenzoic acid
UI=unidentified intermediate; (n:number)

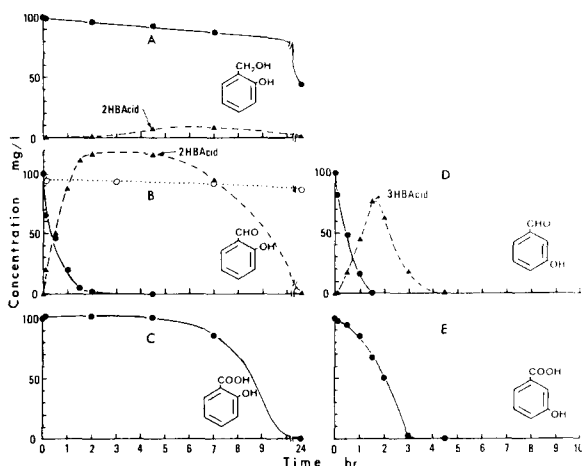


図-2. p-クレゾール汚泥によるヒドロキシ安息香酸などの生分解 (MLSS=620-680mg/l)

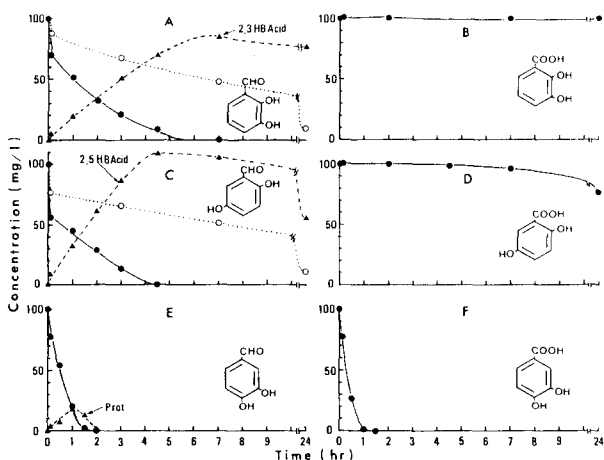


図-3. p-クレゾール汚泥によるジヒドロキシ安息香酸などの生分解 (MLSS=620-680mg/l)

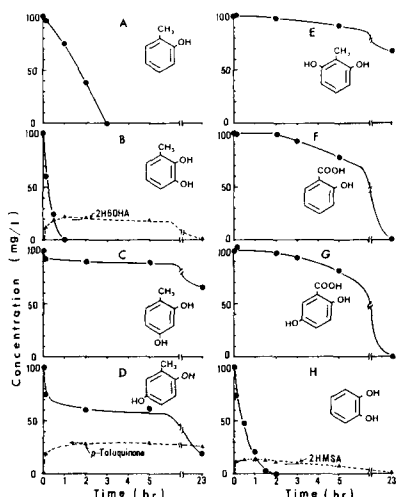


図-4. o-クレゾール汚泥によるフェノール類の生分解 (MLSS=520mg/l)

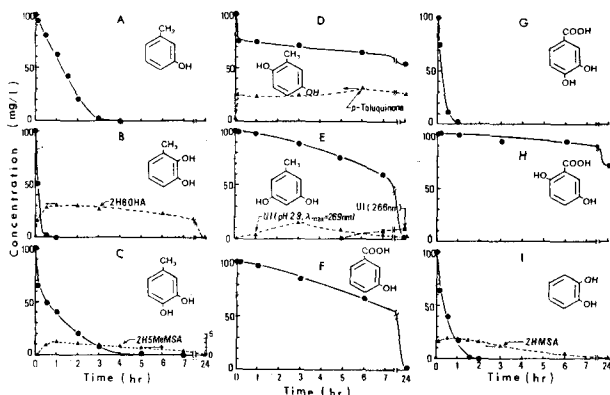


図-5. m-クレゾール汚泥によるフェノール類の生分解 (MLSS=517mg/l)