

II-409 硝化過程へのナトリウムイオンの阻害作用

東京大学工学部 正員 大垣 眞一郎
 アジア工科大学 (A I T) Krittiya Lertocasombut
 アジア工科大学 (A I T) Visut lam-A-Ram

1. はじめに

本研究は、自然水系中あるいは生物学的硝化・脱窒プロセス中における硝化過程(亜硝酸生成過程, 硝酸生成過程)へ影響を及ぼす阻害因子の内、ナトリウムイオンについて、その影響を実験的に検討したものである。

2. 阻害作用の定式化

酵素反応の阻害作用の定式化にはいろいろのモデルが用いられている。その代表的なものに拮抗阻害と非拮抗阻害の形式がある。硝化反応は、単一酵素反応ではないので、単純に酵素反応の阻害モデルを適用できないが、総合的なモデルとして適用できる可能性がある。

阻害剤濃度 i の時の基質利用速度 V_i は、 V_m を最大基質利用速度 K_m を飽和定数として次のようになる。

$$V_i = \frac{V_m \cdot S}{K_m (1 + i/K_i) + S} \dots \text{拮抗阻害型}$$

$$V_i = \frac{V_m \cdot S}{(K_m + S) (1 + i/K_i)} \dots \text{非拮抗阻害型}$$

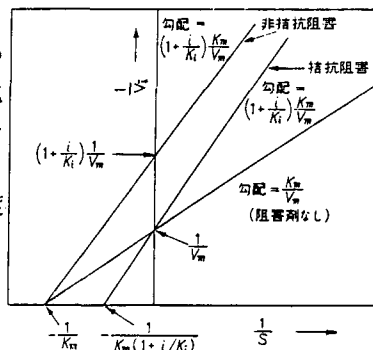


図-1 阻害形式¹⁾

基質利用速度(図. 1中の V_i) と基質濃度 (S) との関係は、図. 1のように、拮抗阻害と非拮抗阻害によって縦軸, 横軸の切片が異なる。実験的にこの種の図を得れば阻害形式の同定と係数(阻害定数: K_i)の決定を行うことができる。

3. 実験方法

(1) 装置

250mLのErlenmeyerフラスコを25℃の恒温水槽中で振とうする回分試験により、硝化菌に対する阻害特性を調べた。

(2) 用いた硝化菌

タイ国バンコク市にあるアジア工科大学の学内廃水処理用酸化池の処理水を接種液として20Lの半回分式培養器で硝化菌を培養した。培養液は、表-1に示す無機培地に NH_4Cl を窒素にして 40 mg/L 加えたものである。ここで増殖した硝化菌(淡水性)を実験に用いた。

(3) 基質消費速度測定方法

上述の半回分培養器の培養液を50mLとり、遠心分離(10,000 rpm, 15分)後、上澄液は捨て、残渣に無機培地と pH 緩衝液 (pH=8.5) を加え、約55mLの菌の浮遊液を作成した。

表-1 無機培地

成分	濃度 (mg/L)
$NaHCO_3$	500
K_2HPO_4	21.75
KH_2PO_4	8.5
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	36.4
Na_2HPO_4	17.69
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	22.5
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.25

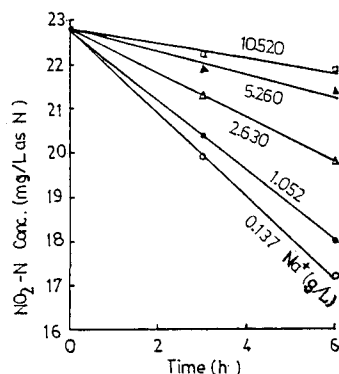


図-2 フラスコ中での亜硝酸の変化例

別に、250mLのフラスコに基本培地とpH緩衝液を入れ、基質としての NH_4Cl または NaNO_2 を、さらに阻害剤としての NaCl ($\text{Na} = 0.137 - 10.52 \text{ g/L}$)をそれぞれ所定の濃度になるように加え115mLとした。

先の菌浮遊液を正確に等量(10mL)ずつとり、各250mLフラスコに加え、90rpmで振とうした。所定時間にサンプルし、 $0.45 \mu\text{m}$ メンブレンフィルターで濾過し、濾液を水質分析に供した。図-2に速度測定例を示す。この濃度減少の勾配より基質利用速度 V_i を得た。

4. 亜硝酸生成菌への阻害作用

図-3に、種々の Na イオン濃度における亜硝酸生成菌に対する Lineweaver-Burke プロットを示す。この場合、基質 S はアンモニア濃度である。基質濃度が高い所、すなわち、 $1/S$ が小さい所でプロットが少々乱れるが、全体として直線の関係を示している。また、 Na イオン濃度を变化させたとき、その直線群は横軸($1/S$ 軸)上の1点に集中している。これより、 Na イオンの阻害が、図-1に示した非拮抗阻害の形式であることがわかる。阻害定数 K_i として 6.6 g Na/L が得られた。これは、海水濃度との比較で示せば、通常の海水の Na イオン濃度の約60%に相当する。

5. 硝酸生成菌への阻害作用

硝酸生成過程への Na イオンの阻害に関する Lineweaver-Burke プロットを図-4に示す。この場合、基質は NO_2 イオンであり、図中の S は亜硝酸イオン濃度である。また、 V_i は亜硝酸イオン消費速度である。 Na イオンが高濃度(10.52g/L)の場合を除いて各 Na イオン濃度において、良い直線関係を示している。これより、亜硝酸生成菌への阻害と同様、硝酸生成菌に対しても Na イオンは非拮抗阻害の形式で阻害を示すことがわかる。阻害定数は 2.0 g Na/L で、海水の約20%に相当する。

6. まとめ

ここで使用した淡水性の菌、および、実験範囲の限りでは、亜硝酸生成過程に比べ硝酸生成過程はより低濃度のナトリウムイオンによって阻害を受ける。また、両過程とも、非拮抗阻害型の阻害を示すことから、基質濃度を高くしてもナトリウムイオンの阻害の影響は小さくならない。

参考文献 1) 合葉修一、永井史郎；生物化学工学、科学技術社、1975

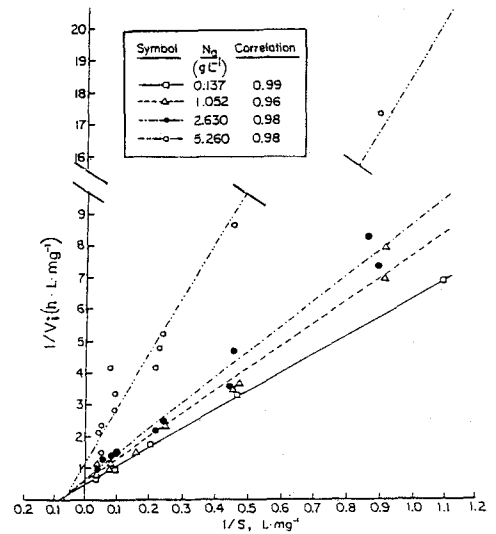


図-3 亜硝酸生成過程のL-Bプロット

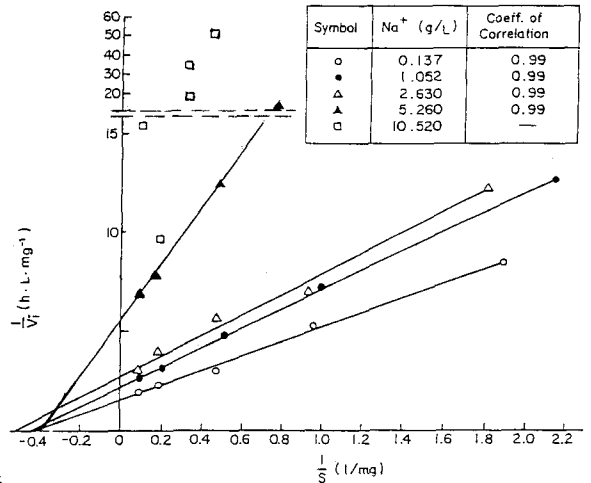


図-4 硝酸生成過程のL-Bプロット