

II-178

アゾ染料の微生物分解と分解生成物の特性

京都大学工学部 正員 尾崎博明 正員 寺島 泰
J R 東海 山口伸樹
マレーシア国民大学 Rakmi A. R.

1. はじめに 近年、下・廃水処理分野では易分解性物質のみならず難分解性物質の除去が重要であり、また、放流水質についてもBOD や CODといった指標のみでなく、生物影響をも含めた評価が望まれてきている。

本研究では、難分解性物質の1つであるアゾ染料を取上げ、その微生物分解のための要件（とくに共存するグルコースや硝酸性窒素の影響）、及び分解生成物の特性について検討したので報告する。

2. アゾ染料の微生物分解のための条件

2-1 アゾ染料

アゾ染料はアゾ基（-N=N-）を発色団としてもつ染料であり、直接染料等の多くの染料に用いられている。生物処理の観点からは難分解性であり、十分な処理には微生物の長期の馴養が必要である。本研究では、アゾ染料としてA社製のReactive Red 22（以下、Red B と略す）を取上げたが、このアゾ染料の化学式（構造式）は公表されておらず、分子量590.5 の2-[3-(1-hydroxy-5-sulfo-2-naphthyl)azo-4-methoxy]phenylsulfinyl]ethyl hydrogen sulfate と推定している。

2-2 実験方法 Red B（約40mg/l）とグルコース（700mg/l）のほか栄養塩としてNH₄Cl, MgCl₂, MnCl₂, CaCl₂, Na₂HPO₄ 等を含む人工廃水により回分方式で約3年間馴養した微生物を反応槽（有効容積 2.8ℓ）に入れ、上記人工廃水の回分処理実験を行った。運転条件はRakmi A. R¹⁾らの研究成果に基づき、人工廃水投入後、嫌気（攪拌）13時間、曝気8時間、沈降3時間を基本とし、その間少量のサンプルを適時採取し、分光光度計（波長512nm）により染料濃度を、オートアナライザー（ブランルーベ社製）によりCOD_{cr}を測定するとともに、DOとORPを連続的に追跡した。一連の実験では人工廃水の組成、とくに、含まれる易分解性物質としてのグルコースや硝酸性窒素（KNO₃を添加）のアゾ染料分解に及ぼす影響について検討を加えた。

2-3 実験結果と考察 Red B 42.6mg/l、グルコ

ース700mg/l と栄養塩とからなる人工廃水の処理結果を図-1に示す。Red B は嫌気条件下で徐々に分解され、13時間後には90%程度が脱色された。別の実験において好気条件下での脱色はおこななかったため、アゾ基の開裂は嫌気条件下で起こるものと考えられた。一方、CODは初期に急減したが処理水中の濃度は100mg/l であり、Red B の分解生成物が残留していると推定された。なお、実験中のpHは約7であった。図には示していないが、グルコースを添加しない場合、あるいはグルコースを添加せずNO₃-Nを20mg/l添加した場合（図-2）については、Red B 濃度はほとんど減少しなかった。しかしながら図-2の場合についても、嫌気条件下（実験開始4時間後）でグルコース（700

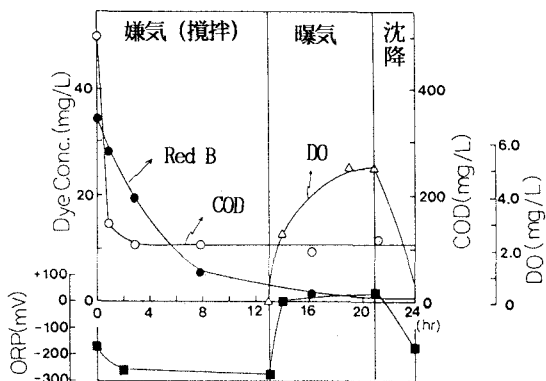


図-1 回分実験における水質等の経時変化
(Red B 42.6mg/l, グルコース700mg/l)

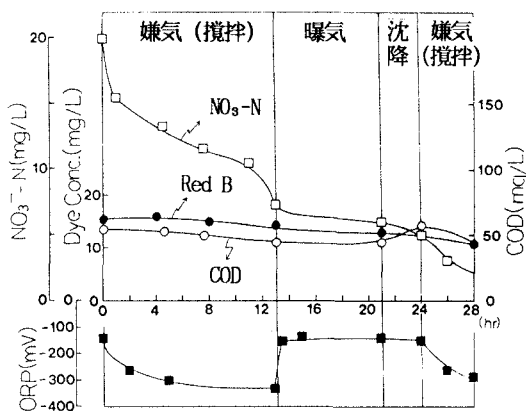


図-2 回分実験における水質等の経時変化
(Red B 42.6mg/l, NO₃-N 20mg/l, グルコース 0mg/l)

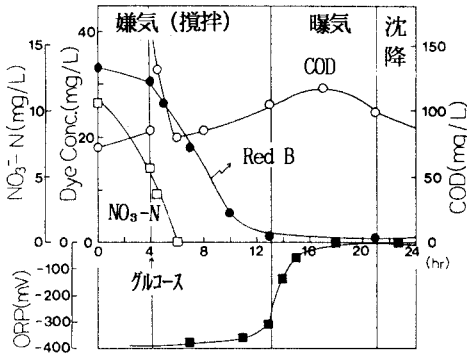


図-3 回分実験における水質等の経時変化
(Red B 42.6mg/l, $\text{NO}_3\text{-N}$ 20mg/l, 曝気開始4時間後にグルコース 700mg/l を添加)

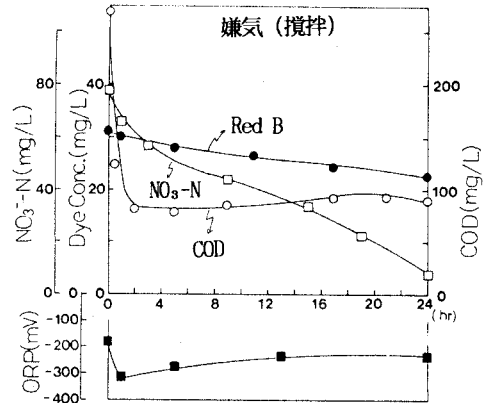


図-4 回分実験における水質等の経時変化
(Red B 42.6mg/l, $\text{NO}_3\text{-N}$ 100mg/l, グルコース 500mg/l)

mg/l) を添加すると図-3に示すようにRed B 濃度は急速に減少した。したがって、Red B の分解は嫌気条件下においてグルコースとのcometabolismにより生じると推定された。図-4 (嫌気条件下のみの実験) のように $\text{NO}_3\text{-N}$ が高濃度に存在する場合でも、グルコース存在下で $\text{NO}_3\text{-N}$ は急激に減少し、これは脱窒反応によると考えられるが、Red B 濃度の減少速度は小さく、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 存在下でのグルコースは脱窒反応に優先して使われると考えられた。

3. 分解生成物の特性

3-1 同定のための基礎的検討 第2章の実験で得られた処理水(完全に脱色された24時間後の処理水)をエバポレータにより約67倍に濃縮した液のゲルクロマトグラフ(セファデックスG15)による分画では、分解生成物と思われる分子量 400程度の物質が検出された。これを含むフラクションの試料を高速液体クロマトグラフ(カラム; Yanapak ODA-S, 展開液; メタノール: 蒸留水: 酢酸=200:800:1(体積比))により分析したところ、保持時間約6分のところで大きなピークが分離された。ただし、エーテル抽出した試料のGC-MS 分析では顕著に検出される物質はなかった。この物質の同定については現在さらに種々の方法により検討を加えている。

3-2 Red B とその処理水の環境変異原性

3-2-1 実験方法 Red B 及び上記の処理水濃縮液を検定物質として、枯草菌Rec-assay 液体法²⁾による遺伝毒性試験を行った。

3-2-1 実験結果と考察 実験データに標的論を適用して得られた結果を表-1に示す。Rec-assay 液体法によるDNA損傷性の判定基準によると、「S-probit が0.593

以上」「RS(%) が31.5以上」の物質はDNA損傷性強陽性であるので、Red B 及びその処理水はきわめて強いDNA損傷性を有していることが明らかとなった。また、Red B と処理水とを比較した場合、表-1のRec-gramやURS の値等から、変異原性を含めた毒性の観点からはRed B の分解により毒性が増加しているといえる。

4. おわりに

アゾ染料の生物処理においては、単に脱色するのみでなく、分解生成物をより安全な物質に変換する方式について今後検討していく必要があると考えられる。なお、Rec-assay 液体法による試験については、京都大学工学部附属環境微量汚染制御実験施設の松井三郎教授、さらに松田知成大学院生、仙波範明大学院生のご協力を得ました。記して感謝致します。

[文献] 1) Rakmi, A.R., Y.Trashima and H.Ozaki; I.CHEM.E Symposium Series, No.116, 301 (1990).

2) S.Matsui, R.Yamamoto and H.Yamada; Wat.Sci.Tech. 21, 875 (1989).

表-1 実験結果から算出した各指標の値

指 標	アゾ染料	処理水
S-probit	1.836	0.848
Rec-gram (1/mg)	2.01×10^{-4}	2.38×10^{-4}
RS	62.8	49.5
Mean Leathal Conc. (mg/l)	10000	476.2
URS (1/mg)	0.0063	0.104