

II-528

単離細菌の4-クロルフェノール分解特性

京都大学 工学部 正会員 津野 洋
正会員 宗宮 功
正会員 奥田 信康

1. はじめに

農薬や染料の合成中間体として用いられ、殺虫剤、防腐剤、除草剤そのものとして広く使用されているクロルフェノール化合物による水質汚濁、特に地下水汚染が懸念されている。これら化合物は生物学的に難分解であることが多く、また生物分解の阻害物質であることも知られている。これら物質の生物分解に関する研究が注目され、これら物質の一部を分解する微生物の単離培養も報告されている。本研究では、汚染された水を回復するために、このような分解能力を有する細菌を積極的に活用する方策の検討に資する情報を得るために、ゴルフ場調整池底泥より単離した4-クロルフェノール分解能を有する細菌を対象として、その分解特性の実験的検討を試みた。

2. 実験方法

本実験で用いた細菌は、Jゴルフ場の調整池の底泥を混合・振とうした後の上澄み液を対象に、4-クロルフェノール（4-CP）を含む液体培地中で繰り返し集積培養を行った微生物集団より、平板培養釣り菌法で単離した。この細菌はいくつかの細菌生理試験より、*Pseudomonas*属の細菌であると判定されている。分解特性の把握実験は、単離細菌を含む保存培養混合液の一部を遠心分離（3,000rpm, 10min.）することにより捕集した菌体を栄養塩および所定の有機物（種々の濃度の4-CP、グルコース、及び/或はメタノール）を含む滅菌済み培地200mLに浮遊させ、20℃、暗所、好気条件下で140rpmの旋回培養を行った。所定の培養時間毎に混合液試料を採取し、吸光度（660nm）、SS、DOC、 Cl^- 及び4-CPについて分析を行った。また培養混合液のpH及びDOも測定した。4-CPの測定は、試水をpH3としジクロロメタンで液々抽出したのち、GC/MSで内部標準法により行った。なお、すべての実験において、培地のみを入れたブランク実験を行い4-CPの気散による減少のチェックを行った。この結果、全ての実験においてその気散による減少は観察されなかった。

3. 実験結果および考察

有機基質としてグルコースおよび4-CPのみを含み栄養塩中にCl元素を含まない培地を用いて行った実験結果を図1に示す。DOCは培養開始後より低下を始め、36時間までは細菌量が増加するにつれてその低下速度は速くなる傾向が示され、その後遅くなる傾向が示されている。細菌量は、除去TOC量に応じて増加し、48時間以降は定常期になる傾向を示している。4-CPは12時間の遅滞の後に急激に減少し、36時間で0.1mg/Lとなっている。塩素イオン濃度は、初期の0.4mg/Lより、培養時間の経過に応じて増加し、さらに4-CPが除去された後もその増加は継続し、60

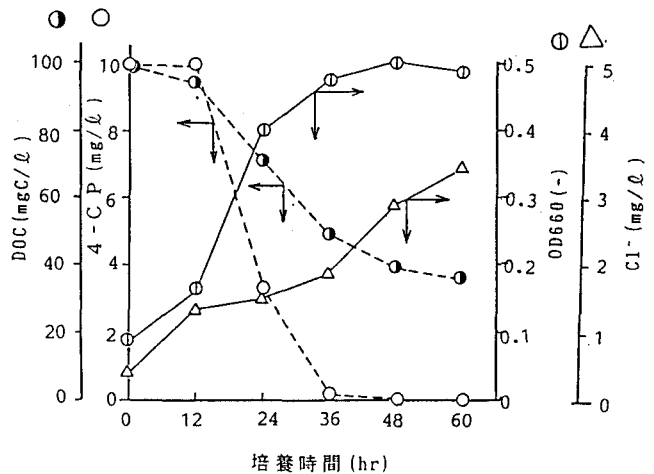


図1 4-CPの除去と Cl^- の遊離

時間で3.6mg/ℓになっている。このことより、4-CPは除去から遅れてCl⁻遊離まで分解されるものと考えられる。なお、4-CPの除去が始まった培養12時間から60時間までのCl⁻遊離量は除去4-CP含有Cl量の約80%に相当する値である。有機基質としてグルコースが含まれる場合の4-CPの除去特性に及ぼす影響を検討した実験結果を図2に示す。グルコースを添加したケースでは、添加4-CPが10mg/ℓ及び20mg/ℓの場合とも4-CP及びグルコースを同時に除去し、また同様の4-CP除去量及びDOC除去量を示し、それらは培養18時間で各々9.5mg/ℓ及び180mg/ℓ程度である。そして細菌の増殖速度も同定度であり、対数増殖期の比増殖速度は0.11(1/hr)程度である。有機炭素源として10mg/ℓの4-CPのみを与えたケースでは、細菌の増殖はほとんど見られないが4-CPの除去速度は、グルコース添加のケースより2倍程度速く、培養9時間でほとんどの4-CPが除去されている。これらの結果より、この細菌の4-CP除去は共酸化機構よりも4-CPのみを炭素源とする機構によるものと解せられる。単離細菌は4-CP及びグルコースを含む培地で保存培養しており、これらの結果より、4-CP除去能を保持させながら大量培養させることが示されている。

4-CP及びグルコースを含む実験での細菌の比増殖速度に及ぼす4-CP濃度の影響を図3に示す。4-CP濃度が40mg/ℓ以上になると比増殖速度への障害が生ずることが示されている。

各実験ケースにおける最大比増殖速度、4-CP除去速度、DOC除去速度及び収率を計算した結果、比増殖速度は0.075~0.11(1/hr)程度であるが、4-CP濃度が40mg/ℓ以上になると障害が生じこれらの値より低くなる；4-CP除去速度は5~10(mg4-CP/gMLSS・hr)程度である；DOC除去速度は25~100(mgC/gMLSS・hr)程度である；また収率は0.55~0.72程度であることが示されている。

4. 結語

ゴルフ場調整池底泥より単離した細菌の4-CP除去特性について実験的に検討を加えた。その結果、この細菌は、4-CPを時間遅れがあるもののCl⁻遊離状態まで分解しうること、4-CPを単独の有機基質として分解しうること、4-CPによる増殖阻害は40mg/ℓ程度より生じること、グルコースによる最大比増殖速度は0.075~0.11(1/hr)程度であり、収率は0.55~0.72程度であること、4-CP除去速度は5~10(mg4-CP/gMLSS・hr)程度であることなどが示された。

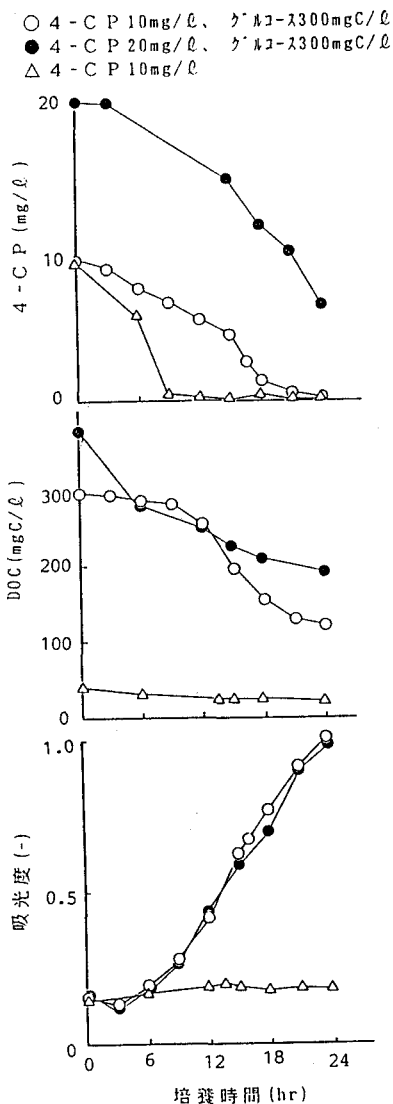


図2 4-CP除去に及ぼすグルコースの影響

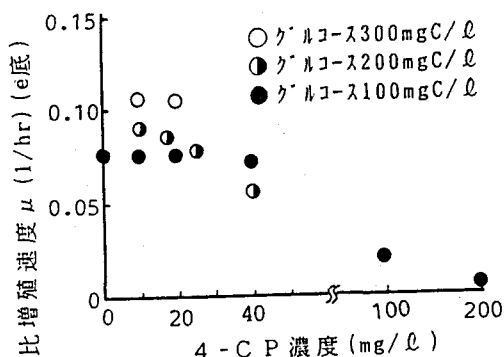


図3 4-CPによる阻害