

II-626

嫌気性条件下における 2,4-Dinitrotoluene の微生物分解機構

大阪市立大学工学部 正員 ○貫上佳則

University of Cincinnati M. T. Suidan

1. はじめに 窒素含有芳香族化合物は、農薬、殺虫剤、染料、火薬材料などとして使用されているが、特に2,4-dinitrotoluene(2,4-DNT)は、¹⁾ 火薬の製造と火薬製造に広く使用され、²⁾ 7月だけで年間約32万7000トンもの量が消費されている。しかし、2,4-DNTは共に強い発ガン性および変異原性を示し、かつ、自然界では非常に分解されにくい物質であるため、工場排水中に重量比で約70%含まれる2,4-DNTによる公共用水域や周辺土壌、地下水の汚染が問題視されている。したがって、2,4-DNTはアメリカのEPA(Environmental Protection Agency)の指定汚染物質リストに載せられており、ここを中心としてTNT、2,4-DNTを含む排水や廃棄物、土壌の処理方法、ならびに関連する基礎研究が進められている。本研究では、DNTを含む排水の微生物処理に関する基礎的知見を得るために、生物分解に対する阻害性を考慮した動力学的モデルを構築し、回分実験で得られた結果をもとにして非線型最小自乗法により各パラメータの算出を試みた。

2. 2,4-DNTの分解と動力学モデル 2,4-DNTの嫌気性分解に関する従来の研究では、2,4-DNTの2つのnitro基(-NO₂)のうちの片方がnitroso基(-NO)を経てamino基(-NH₂)に変換されて2-amino-4-nitrotoluene(2A4NT)あるいは4-amino-2-nitrotoluene(4A2NT)を生成し、その後残されたもう片方のnitro基が同様に変化して最終的に2,4-diaminotoluene(2,4-DAT)が生成されることが報告されている^{1), 2)}。しかし、2,4-DATの更なる分解については確認されていない。そこで、2,4-DNT、2A4NT、4A2NT、および2,4-DATの挙動を表-1の通り数式表現した。ここで、

2,4-DNTの分解にはHaldane Modelを適用し、2A4NTおよび4A2NTの分解には2,4-DNTによる拮抗阻害反応式で表現することとした。

3. 実験方法 供試菌体は、2,4-DNTとイソノールを含む模擬排水を1年以上処理した粒状活性炭流動床型嫌気性反応器から採取し、完全混合攪拌反応槽で4カ月間馴致したものである。実験には、容量580mlの反応容器を用い、種々の濃度(初期濃度:0, 2, 4, 8, 16, 32mg/L)の2,4-DNTと1次基質としてのイソノール(初期濃度:500mg/L)、および各種栄養塩を添加して、攪拌機能付きの恒温槽内で35℃に保温した。時間とともに採水し、ガスクロマトグラフ(GC)にて2,4-DNT、2A4NT、4A2NT、および2,4-DAT濃度を測定した。

4. 数値解析方法 表-1に示したモデル式中の各パラメータを求めるため、GEAR法で表-1中の連立常微分方程式を解き、計算値と実験値との残差の自乗和を算出し、Levenberg-Marquardt法にて残差の自乗和が最小値をとるように最適パラメータ値を探索した。

5. 結果と考察

5-1. 2,4-DNTの分解 図-1および表-2に2,4-DNTの実験値と計算値、ならびに最適パラメータ値を示す。初期2,4-DNT濃度が高いほど初期の除去速度がより小さく、2,4-DNTが除去されてくるにつれて除去速度が大きくなっていく様子がうかがえる。これは、2,4-DNT自身が分解菌に対して阻害性を示しているためであり、Haldane Modelで計算した結果は2,4-DNTの濃度変化をうまく表現している

Table 1 Kinetic Equations

$$\begin{aligned}
 & \text{2,4-DNT (S}_1\text{)} \\
 & \frac{dS_1}{dt} = -\frac{\mu_{max1} \cdot S_1 \cdot X_1}{K_{S1} + S_1 + S_1^2 / K_h} \\
 & \text{2,4-DNT degrading bacteria (X}_1\text{)} \\
 & \frac{dX_1}{dt} = Y_1 \cdot \frac{\mu_{max1} \cdot S_1 \cdot X_1}{K_{S1} + S_1 + S_1^2 / K_h} - b_1 \cdot X_1 \\
 & \text{2A4NT (S}_2\text{)} \\
 & \frac{dS_2}{dt} = \frac{152}{182} \cdot D \cdot \frac{\mu_{max1} \cdot S_1 \cdot X_1}{K_{S1} + S_1 + S_1^2 / K_h} - \frac{\mu_{max2} \cdot S_2 \cdot X_2}{K_{S2} + S_2 + S_1 / K_{i2}} \\
 & \text{2A4NT degrading bacteria (X}_2\text{)} \\
 & \frac{dX_2}{dt} = Y_2 \cdot \frac{\mu_{max2} \cdot S_2 \cdot X_2}{K_{S2} + S_2 + S_1 / K_{i2}} - b_2 \cdot X_2 \\
 & \text{4A2NT (S}_3\text{)} \\
 & \frac{dS_3}{dt} = \frac{152}{182} \cdot (1-D) \cdot \frac{\mu_{max1} \cdot S_1 \cdot X_1}{K_{S1} + S_1 + S_1^2 / K_h} - \frac{\mu_{max3} \cdot S_3 \cdot X_3}{K_{S3} + S_3 + S_1 / K_{i3}} \\
 & \text{4A2NT degrading bacteria (X}_3\text{)} \\
 & \frac{dX_3}{dt} = Y_3 \cdot \frac{\mu_{max3} \cdot S_3 \cdot X_3}{K_{S3} + S_3 + S_1 / K_{i3}} - b_3 \cdot X_3
 \end{aligned}$$

Notations

- μ_{max} : maximum specific substrate utilization rate
- K_s : substrate saturation coefficient
- K_h : Haldane coefficient
- K_i : Competitive Inhibition coefficient
- Y : yield coefficient
- b : biomass decay coefficient
- D : distribution ratio

Subscript

- 1 : 2,4-DNT
- 2 : 2A4NT
- 3 : 4A2NT

ことがわかる。

5-2. 2A4NTおよび4A2NTの生成と分解 図-2および表-2にそれぞれ2A4NTおよび4A2NTの実験値と計算値、ならびに最適パラメータ値を示す。図からは、2,4-DNTの分解に伴う2A4NTおよび4A2NTの生成と、その後の分解による濃度減少がみられ、最適パラメータ値による計算値も実験結果をよく表現していることが読み取れる。

5-3. 2,4-DATの挙動 図-3に2,4-DATの実験結果を示す。2A4NTおよび4A2NTの分解にともなって2,4-DAT濃度が増加したが、その後、初期2,4DNT濃度が2 mg/Lの場合以外は、実験終了時(約1カ月後)まで濃度減少が認められなかった。これは、2,4-DATの生物分解に対する阻害性が強いことを示唆するものであるとみられる。

6. まとめ 嫌気性条件下における2,4-DNTの回分実験を行い、以下の成果が得られた。

- (1) 嫌気性条件下において、2,4-DNTは2A4NTあるいは4A2NTを経由して2,4-DATまで分解されることが改めて確認できたが、さらなる分解は観察されなかった。
- (2) 2,4-DNTの分解はHaldane Model式で表現でき、2A4NTおよび4A2NTの分解は2,4-DNTによる拮抗阻害反応式で表現でき、各反応パラメータを求めることができた。

参考文献 1) McCormick, N. et al., Appl.

Environ. Microbiol., 31, pp.949-958 (1976)

2) Liu, D. et al.: Appl. Environ. Microbiol., 47, pp.1295-1298 (1984)

Table 2 Optimum Values for Kinetic Parameters

μ_{max1}	3.30	(1/hr)
K_{S1}	0.001	(mg/L)
K_h	109	(mg/L)
Y_1	0.05	(-)
b_1	0.0712	(1/hr)
μ_{max2}	0.520	(1/hr)
K_{S2}	5.90×10^{-4}	(mg/L)
K_{i2}	1.68	(-)
Y_2	0.05	(-)
b_2	1.60×10^{-3}	(1/hr)
μ_{max3}	0.662	(1/hr)
K_{S3}	1.99	(mg/L)
K_{i3}	0.517	(-)
Y_3	0.05	(-)
b_3	9.86×10^{-4}	(1/hr)
D	0.562	(-)

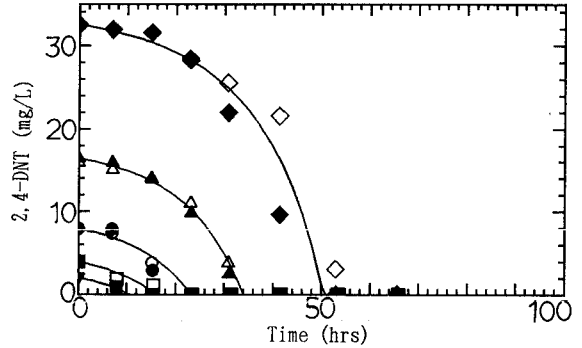


Fig.1 Haldane Model Fitting for the Degradation of 2,4-DNT

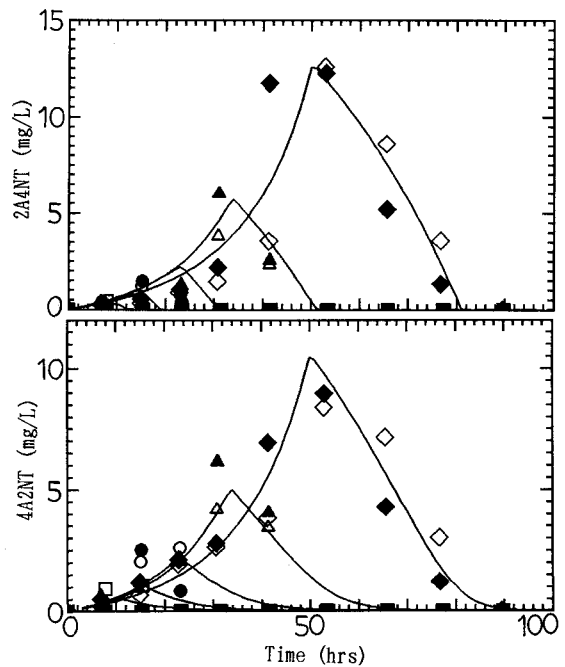


Fig.2 Competitive Inhibition Model Fitting for the degradation of 2A4NT and 4A2NT

Initial 2,4-DNT Concentrations (mg/L)

▼, ▽ : 2
■, □ : 4
●, ○ : 8
▲, △ : 16
◆, ◇ : 32

solid curve:
calculated value

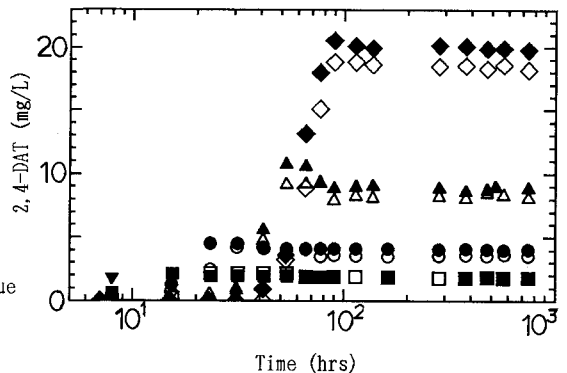


Fig.3 Experimental Results of 2,4-DAT