

II-533

白色腐朽菌によるアゾ染料の脱色特性

（株）鴻池組 正員 前田かおり
 京都大学工学部 正員 尾崎博明 正員 寺島 泰
 学生員 呉 楓

1. はじめに

アゾ染料を含む廃水の処理は、従来は嫌気性微生物等による生分解が試みされてきたが、その分解生成物である芳香族アミンには環境変異原性を有するものが多いことが報告されている。一方、最近の研究では、リグニン分解能力を有する白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium*（以下 *P. chrysosporium*）により、アゾ染料の好気性生分解が行われることが明らかになってきた¹⁾。本研究では、白色腐朽菌 *P. chrysosporium* を用いてアゾ染料の脱色を行い、その脱色特性、及び *P. chrysosporium* への影響が大きいとされている含有窒素量の影響²⁾について検討した。

2. 実験方法

主に用いたアゾ染料はReactive Red 22（以下Red B）とSunset Yellow FCFであり、それらの化学構造式を図-1に示す。まず培地中の窒素量の脱色に及ぼす影響について検討した。Kirkらによる基本培地（表-1）と、その10倍の量の窒素を含む培地（以下それぞれ、N-Limited及びN-Sufficientと表記する）を調整し、三角フラスコ内においてそのいずれかの培地50mlに孢子懸濁液（孢子濃度 3.6×10^6 個/ml）を200 μ lずつ接種し、30℃で培養した。4日後にRed Bを初期濃度40mg/Lとなるように加え、一定時間ごとに1mlずつ試料液をとり、12000rpmで15分間遠心分離を行い、上澄み液中のRed Bの濃度を分光光度計（波長512nm）を用いて測定した。また、試料液中のアンモニア性窒素濃度をオートアナライザーで、グルコース濃度をアンスロン法で求めた。

また、染料の種類による脱色特性の違いをみるために、N-Limitedの培地に孢子懸濁液（孢子濃度 2.8×10^6 個/ml）を100 μ lずつ接種し、Red BとSunset Yellow FCF（濃度測定における分光光度計の波長は480nm）を用いて同様に脱色実験を行った。

3. 実験結果と考察

3-1. 窒素量の影響：N-Limited及びN-SufficientにおけるRed B濃度、窒素濃度、及びグルコース濃度の経時変化をそれぞれ図-2、図-3に示す。N-LimitedではRed Bは初期濃度の97%が脱色されているのに対し、N-Sufficientでは40%が脱色されているにとどまっている。またN-Limitedでは窒素は全く残留しておらず、グル

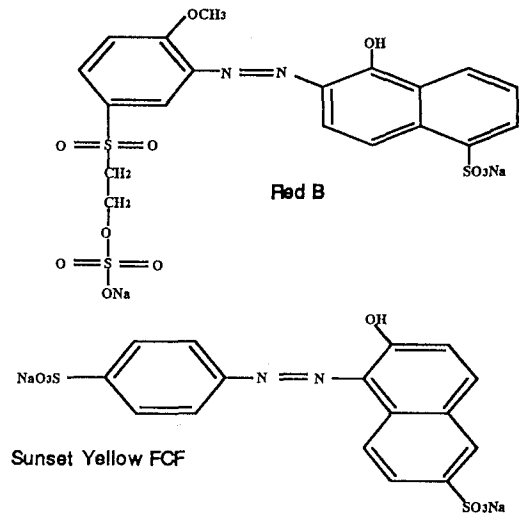


図-1 Red BとSunset Yellow FCFの化学構造式

組成	濃度（1L中）
Glucose	10g
酒石酸アンモニウム	0.22g
0.1M Na-aconitate buffer	100ml
Basal Medium	100ml
KH ₂ PO ₄	2.0g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5g
CaCl ₂	0.1g
thiamine · HCl	0.005g
栄養塩類	70ml

表-1 Kirkらによる基本培地の組成

コースは緩やかに減少しているが、N-Sufficientでは窒素が残留しておりグルコースは急激に減少している。窒素とグルコースの微生物による代謝から考えると、N-LimitedではRed Bの脱色を行うまでに窒素が消費されているため、グルコースはRed B添加後は菌体増殖にはあまり用いられず、この菌の特性であるペラトリルアルコールの生合成など染料分解を伴う二次代謝のための補助基質として用いられていると推定される。一方N-Sufficientでは窒素が存在するため、グルコースは菌体の成長といった一次代謝用に消費される量が多いと考えられる。また、脱色の初期における急激な染料の減少は、主として菌糸体への吸着によるものと考えられる。別の実験から、単位菌体量あたりのRed Bの吸着量として $5 \times 10^{-3} \text{ mg/mg} \cdot \text{MLSS}$ の値を得ており、N-LimitedとN-Sufficientのそれぞれの脱色量に、この初期吸着の影響を考慮してみると、脱色量のうちN-Limitedでは35%、N-Sufficientでは92%が初期吸着による脱色と考えられた。したがって、N-Sufficientの場合には生分解による脱色がほとんど行われていないといえる。

3-2. 染料の種類による脱色特性の違い: Red BとSunset Yellow FCFの脱色実験の結果を図-4に示す。白色腐朽菌 *P. chrysosporium* はどちらのアゾ染料も脱色したが、脱色速度は異なっている。この2つの染料は構造的には似ており、分解生成物による影響が考えられる。

4. おわりに

本研究で得られた結論は次の通りである。

1. 白色腐朽菌 *P. chrysosporium* は、アゾ染料を好気条件のもとで脱色する。
 2. アゾ染料の脱色における培地中の窒素濃度の影響は顕著であり、窒素濃度の高い培地での生分解は起こりにくい。
 3. アゾ染料の種類により脱色特性は異なる。
- なお本研究を遂行するに当たり、京都大学木質科学研究所の島田幹夫教授、梅澤俊明助教授より、*P. chrysosporium* の分譲及びご助言をいただいたことを付記し、深謝いたします。

[参考文献]

- 1) C. CRIPPS; Biodegradation of Azo and Heterocyclic Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Vol. 58, No. 4, pp. 1114~1118, 1990
- 2) 志水一允他; 木質バイオマスの利用技術, 文永堂出版, 1991

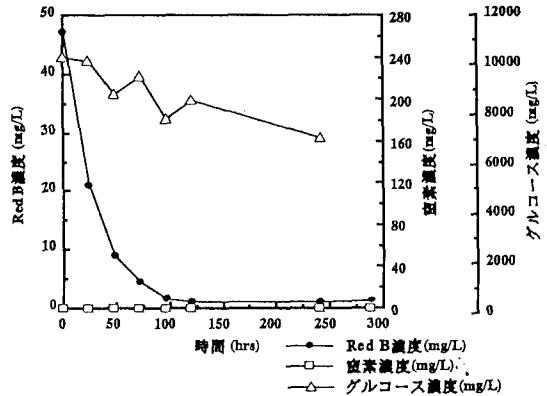


図-2 N-Limited CultureにおけるRed B濃度と窒素濃度及びグルコース濃度の経時変化

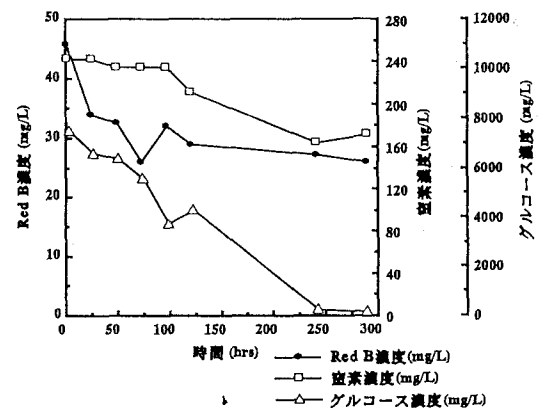


図-3 N-Sufficient CultureにおけるRed B濃度と窒素濃度及びグルコース濃度の経時変化

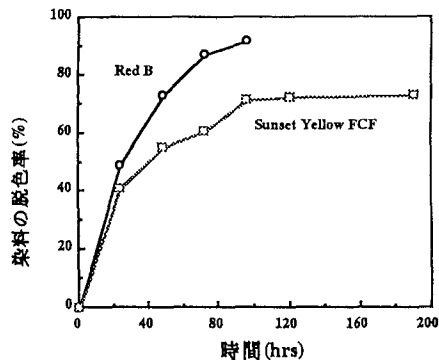


図-4 Red B と Sunset Yellow FCF の脱色率