

○ 東北大学工学部 学 石川 徳春
同 正 松本 順一郎

1. はじめに 強い毒性を有する水銀化合物が何らかの経路を通り、嫌気的環境に流入してきた場合、そこで行なわれている嫌気的有機物分解（嫌気性消化も含む）へ過程にどのような影響を及ぼすかについては、これまでほとんど充分には解明されていない。これまでの著者らの実験では、メタン生成反応はグルコースからの酸生成反応に比べて著しく木銀感受性が高いこと、および同じグルコースからの酸生成反応でも酢酸生成反応の方が酢酸生成反応よりも木銀感受性が高いこと、が解明されている¹⁾。そこで今回は、嫌気的有機物分解に関する一つ重要な過程である硫酸還元反応(Run A-4)と、酢酸(HAc)・プロピオン酸(HPr)・ノルマル酪酸(n-HBu)という主要な揮発性脂肪酸(VFA)からのメタン生成反応(Run M-3)について、その木銀感受性を検討した。(但し、前者(Run A-4)へ途中経過の一部は前回土木学会誌(1984)にて発表している。)

2. 実験方法 実験はFig. 1に示されるバイアルを用いた回分実験により行なった。種培養は、単一炭素源としてグルコース(A-4)または混合VFA(HAc: HPr: n-HBu = 50:25:25 as COD)を含む基質（無機塩類の組成はTable 1に示す通り）で長期間培養されたものを用いた。各実験の設定条件および種培養の経歴を、これまでの実験のものも含めて、Table 2に示す。実験は、基質、水銀溶液、

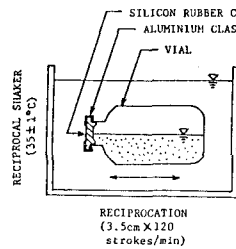


Fig. 1 Batch Experiment Apparatus

Table 1 Chemical Composition of Synthetic Inorganic Substrate*

COMPONENT	CONCENTRATION (mg/l)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
NH ₄ Cl	850
KCl	750
MgCl ₂ ·6H ₂ O	810
MgSO ₄ ·7H ₂ O	250
FeCl ₃ ·6H ₂ O	420
CoCl ₂ ·6H ₂ O	18
NaHCO ₃	6720

* All components were dissolved in tap water.

硫酸塩溶液、およびモリブデン酸溶液を予めバイアル内に添加しておき、気相をN₂-CO₂ (45:35)混合ガスで完全に置換して密封した後、種培養をシリンジで嫌気的に接種して実験を開始した。但し、Run M-3の100Sへ各系は、上記手順で種培養を接種し木銀と1分間充分に接触させた後、Na₂S溶液を注入して硫化物濃度を高めたものである。尚、実験開始時における反応容積はRun A-4で90ml、Run M-3で40mlに設定された。

Table 2 Conditions of Batch Experiments

RUN No.	MLVS (mg/l)	SUBSTRATE (mg/l)	MERCURY (mg/l)	SULFIDE (mg-S/l)	IRON* (mg/l)	MOLYBDATE (μM)	TIME LAG
M-1	345	(ACETATE) 1000	0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000	7	86		
M-2	365	(ACETATE) 500	0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000	11.6	86		
A-1	232	(GLUCOSE) 5000	0, 5, 10, 50, 100, 250, 500	8.2	86		
A-2	712	(GLUCOSE) 5000	0, 5, 10, 50, 100, 500	16.0 81.2 (65.2 ADDED)	86 86		15m
A-3	405	(GLUCOSE) 5000	500	95.9 (80.0 ADDED)	86		10s, 30s, 1m, 2m, 5m, 10m, 30m, 1h, 2h
A-4	480	(GLUCOSE) 3900 (SULFATE) 2700 1150 1250	0, 10, 50, 100, 500	21.8	86	0 0 0	4.4
M-3	297	(HAc)* (HPr)* (n-HBu)* A 900 0 0 P 0 900 0 S 0 0 900 R 0 0 900 M 300 300 300 M100S	0, 10, 50, 100 100 100 100 100 100	7.6 23.6 (16.0 ADDED) 7.6 23.6 (16.0 ADDED) 7.6 23.6 (16.0 ADDED)	86 86 86 86		1m 1m 1m 1m

*: Theoretical values.
*: mg/l as COD.

3. 結果および考察 (1) 硫酸還元反応 Run A-2およびA-3で、硫化物添加により、木銀により一度阻害された酸生成反応やメタン生成反応が阻害から回復するという現象が見られ、またRun M-3およびA-1では、当初反応が阻害された系で、一定時間経過後に反応が自然的に回復し、その原液白濁の色調が灰白色から黒色へ変化するという現象が観察された¹⁾。以上現象から、木銀による阻害は硫化物によらず、著しい影響を受け、更に、通常の嫌気的環境で硫化物を生成する硫酸還元反応とも密接な関係にあることが推察された。そこで後者を調べるためにRun A-4を行なった。その結果、木銀濃度Hg = 0~100 mg/lへ各系で良好な酸生成およびメタン生成が観察され、一方、Hg = 500 mg/lへ各系では両反応は完全に阻害された。しかし、Fig. 2に示されるように、硫酸塩添加系(SR14)では、実験当初阻害されていた反応が自然的に回復し、4.5日目にはグルコースがほぼ完全に消費

さい、それに伴って酢酸を主体とした様々な酸生成が生じ、同時に混合液の色調変化(阻害時:灰色→回復時:黒色)も観察された。一オ、硫酸還元菌へ特異的阻害剤であるモリブデン酸²⁾を添加した系(SR34)では、混合液の色調変化も起こらず、Fig.3に示されるように、グルコース分解も阻害されたままで、混合液中の硫化物濃度もモル等量以上の水銀が阻害を完全にもたらし出すことが知られているが、SR14にお

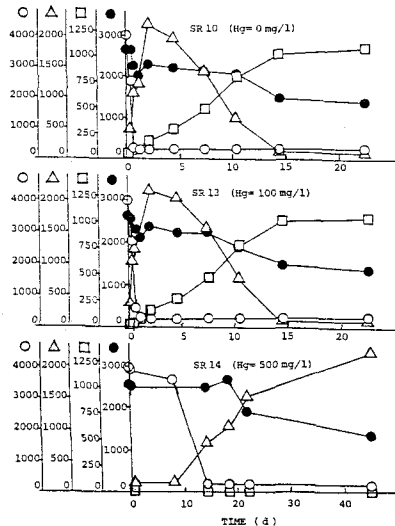


Fig.2 Time Course of Parameters at Some Runs of SR1 in A-4 (Symbols: ○ - Glucose [mg/l], △ - Total VFA [mg-HAc/l], □ - Produced Methane [ml/l at 35 °C, 1 atm], ● - Sulfate [mg/l])

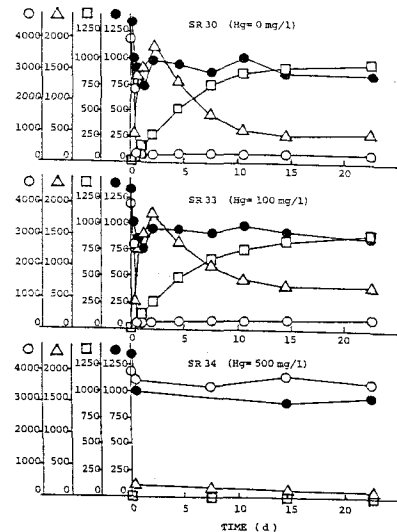


Fig.3 Time Course of Parameters at Some Runs of SR3 in A-4 (Symbols: ○ - Glucose [mg/l], △ - Total VFA [mg-HAc/l], □ - Produced Methane [ml/l at 35 °C, 1 atm], ● - Sulfate [mg/l])

いては、種多液中へ硫化物とモル等量の水銀は140%であり、残りへ360%の水銀と等量の硫化物を生成するに必要な硫酸塩は僅か1.8mM(添加量は2.8mM)であることから、Fig.2では阻害回復前に顕著な硫酸塩濃度へ減少は見られないものの、SR34とを比較より、阻害から回復機構を担うのは硫酸還元反応であることが結論づけられる。またこの結果より、硫酸還元反応は酸生成反応よりも水銀耐性であることも示される。

(2) メタン生成反応 酸生成反応により生成される主要なVFAである酢酸、プロピオン酸、 η -酪酸からメタン生成反応へ水銀感受性について検討を行なった。後二者からメタン生成は、木素生成アセトジェニック菌とメタン生成菌との共生作用により、行なわれることから、酢酸からメタン生成とは水銀に対する応答が異なることが予想された。実験の結果、各SerともHg=50%以下においては、水銀濃度の増大に伴って、Fig.4に見られるような反応開始の遅い(ラグの増大)とメタン生成速度へ低下が観察された。この時各VFAからメタン生成の様子を見てみると、Fig.5にも示されるように、低水銀濃度でもプロピオン酸へ分解は律速となり、更に酢酸や η -酪酸が分解されるHg=50, 100%では分解が完全に阻害されていた。このことから、低濃度でも遅いプロピオン酸からメタン生成反応が水銀により、最も阻害されることが結論づけられた。一オ、12日目まで完全に阻害されたHg=100%への系のうちSer.BおよびMでは、約2ヶ月後に η -酪酸がほとんど分解され、酢酸が蓄積していることが観察された。このより、 η -酪酸へ分解は酢酸からメタン生成よりも水銀耐性が高いことが示された。またこの時、 η -酪酸分解に伴って生成されるはずの木素は気相中に無く、その発酵予想量相当のメタン生成が確認されたことから、木素からメタン生成反応は酢酸からのものと比べて、より水銀耐性であることが示唆された。

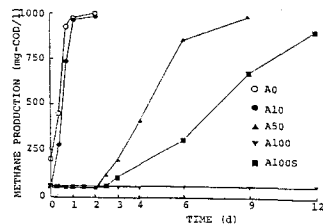


Fig.4 Time Course of Methane Production at Ser.A in Run M-3

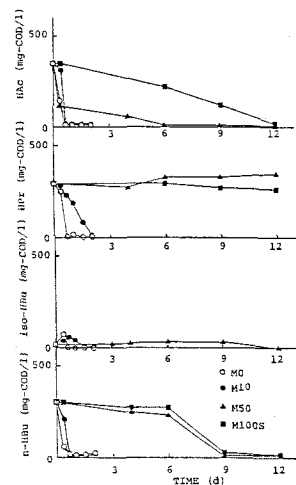


Fig.5 Time Course of Individual VFA at Ser.M in Run M-3 (Ref.) 1) 石川, 柳田, 藤田, 905 (1984), 2) Smith and King, Appl. Environ. Microbiol., 42, 1, 116 (1981)