

VII-8

—白色腐朽菌によるフミン酸の除去に関する基礎的研究—

岩手大学工学部

学生員 ○篠崎 淳

正 員 相澤 治郎

海田 輝之

農林水産省森林総研東北支所

窪野 高德

1. はじめに

トリハロメタンは、フミン質やそれと類似の安定有機物質を前駆物質とし、それが塩素処理や消毒のために添加された塩素と反応することにより生じる消毒副生成物質である。トリハロメタンには発ガン性があり、現行の浄水処理システムにおいて水道水源の水質の悪化や水資源としての下水処理水の再利用化による塩素消毒の強化に伴い、トリハロメタンが増加する可能性がある。トリハロメタンを制御することは重要であり、制御方法の一つとして前駆物質の除去が考えられる。

前駆物質の一つであるフミン質は、地球表面のあらゆる環境中に存在しており、主に植物体の分解と腐植化に伴う各種の生物的・非生物のプロセスによって合成された高分子の有機物質である。化学構造は複雑で多種多様なため特定が困難であり、非結晶であること、生物難分解性であること、暗色を呈していること、酸としての性質を持つことなどの特徴がある。フミン質は酸、アルカリへの溶解性に基づき、フミン酸、フルボ酸、ヒメトラニン酸、ヒューミンなどに区別される。

一方、木材腐朽菌の一つである白色腐朽菌はリグニン分解酵素、リグニナーゼをもち、セルロースおよびヘミセルロースと同程度に難分解性のリグニンを分解する。

本研究では、フミン質がリグニンと同様の官能基を有していることに着目し、前駆物質であるフミン酸を白色腐朽菌により分解除去することを目的とする。本実験では、白色腐朽菌の菌体外酵素によるフミン酸の生分解の可能性を検討した。

2. 実験材料および実験方法

2.1 実験材料

a) 白色腐朽菌および菌体外酵素

菌株をポテトデグストロース寒天斜面培地に接種し、18℃で培養した後実験用の保存菌株として保存した。この保存用菌株を基礎培地(表-1)に添加し、5 ℓの三角フラスコおよびエアーフイルタ付き通気装置からなる簡易培養槽において25℃で静置培養した。培養液を遠心分離(5000rpm、10min)により菌体を分離し、上澄み液を菌体外酵素液として使用した。なお、これらの操作はすべて無菌的に行った。

b) フミン酸標準溶液の調整

試薬フミン酸(和光純薬工業製)5gを0.1Nの水酸化ナトリウム1ℓにいれ、マグネティックスターラーにより1時間分散溶解し、一晚暗所に静置した。この溶液を1.0 μmのメンブレンフィルターで不溶性の部分を除去し、さらにろ液をpH1に調整した後、遠心分離により沈殿物を回収し、50~60℃で乾燥させたものをフミン酸とした。実験では、このように精製したフミン酸を0.1Nの水酸化ナトリウムに溶解し、pH6に調整後、間断滅菌し、フミン酸標準溶液とした。

表-1 基礎培地(1ℓ中)

NH_4Cl	0.128g
KH_2PO_4	0.200g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.050g
CaCl_2	0.080g
Thiamine · HCl	0.10mg
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.010g
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	10.00g

表-2 実験条件

Run1	菌体外酵素
Run2 (30mg/ℓ)	菌体外酵素+フミン酸
Run3 (60mg/ℓ)	菌体外酵素+フミン酸

2.2 実験方法

表2に実験条件を示す。Run1は菌体外酵素液(600 ml)のみ、Run2は菌体外酵素液(600 ml)にフミン酸濃度が30mg/lになるよう添加したもの、Run3は菌体外酵素液(600 ml)にフミン酸濃度が60mg/lになるよう添加したものとした。これらの各条件で1 l フラスコ内において25℃で振とうし、その後経時的に260、400、600nmでの吸光度を測定した。

3. 実験結果および考察

図-1に260nmにおける吸光度の経時的な変化を示す。菌体外酵素液にフミン酸を添加したRun2およびRun3は、実験開始後1時間で急激に減少し、その後は緩やかに減少している。フミン酸を添加していないRun1は、全く変化がみられないことから、酵素は経時的に吸光度に影響を与えるような変化を起こさないことがわかる。したがって、Run2、3における吸光度の減少はフミン酸の分解による濃度の低下であり、なおかつ分解は短時間で行われることが考えられる。濃度の違いによる分解量に差がないことより、菌体外酵素によって分解されるフミン酸の量は、初期フミン酸濃度が30mg/l程度以上では酵素の活性によって決定されると考えられる。

土壌有機物において、 $\Delta \log K (= \log E_{400} - \log E_{600})$ と1%吸光係数Kは、暗色および腐植化の程度の定量的表現と考えられている²⁾。図-2に腐植化度の経時的な変化、図-3に400nmにおける吸光度の経時的な変化、図-4に1%吸光係数Kの経時的な変化を示す。Run2およびRun3における $\Delta \log K$ の値が緩やかに減少し、可視部の代表として用いた400nmは緩やかに増加し、また、1%吸光係数Kも増加した。しかし、視覚的には脱色が観察され E_{260} も減少していることから、酵素分解が行われる過程で分解産物が可視部吸光度を増加させたと考えられる。したがって、可視部吸光度によるフミン酸分解の評価は難しいと思われる。

4. まとめ

本研究から白色腐朽菌が生成する菌体外酵素によりフミン酸を分解する可能性を明らかにした。今後はリグニン分解酵素であるリグニンペルオキシターゼ、Mn ペルオキシターゼおよびラッカーゼの活性がフミン酸の分解速度に及ぼす影響を調べ、さらに除去の最適条件を決定する実験や、下水処理水中のフミン酸の分解除去実験などを行っていく予定である。

<参考文献>

- 1) 高橋 旨象:きのこ木材, p.20~52 (1989)
- 2) 熊田 恭一:土壌有機物の化学, p.20~40 (1977)

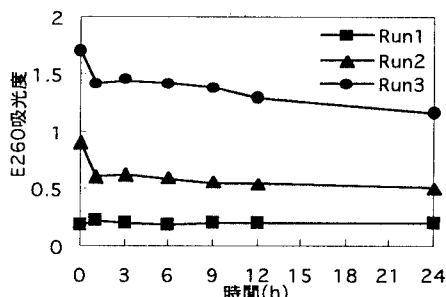


図-1 260nmにおける経時変化

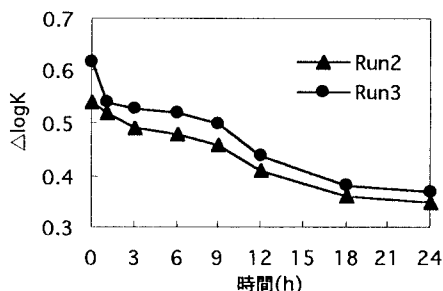


図-2 腐植化度

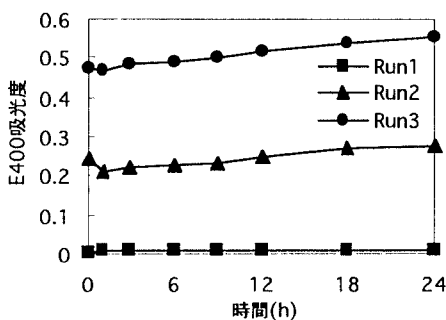


図-3 400nmにおける吸光度

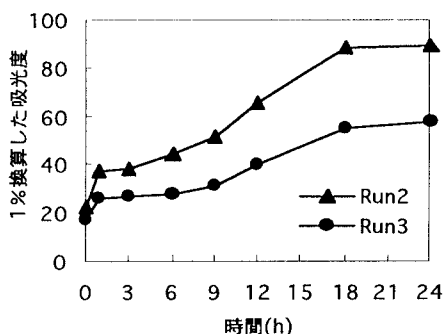


図-4 1%吸光係数Kの経時変化