

1. はじめに

クロロフェノール類は防腐剤や殺菌剤などの用途で広く使用されているが、健康被害や環境汚染が心配されている有機塩素化合物のうち最も代表的な化合物の一つである。したがって、クロロフェノール類の水環境や処理プロセスにおける生分解性およびその経路の解明は、汚染対策を講じる上で第一に取り組む必要のある課題であるといえよう。そこで、本研究では2-クロロフェノール(2CP)の嫌気性生分解を取り上げ、嫌気条件下で起こりうるメタン生成および硝酸塩還元(脱窒)と2CP分解との関連を調べた。具体的には、メタン生成系における2CPの還元的脱塩素と無機化、硝酸塩還元系における2CP分解と硝酸塩還元との連成(coupling)などについて検討した。

2. 実験方法

本研究では、容量約120mLのバイアルびんに基質と汚泥を50mLずつ混合し、絶対嫌気条件下で消化温度を37℃に保った回分系での2CP分解を追跡するという実験を行った。基質として2CPは50mg/L(0.39mM)の濃度で投与し、さらにメタン生成系では酢酸ナトリウムを1,000mgCOD/L、硝酸塩還元系では硝酸ナトリウムを300mgNO₃⁻/L(4.84mM)の濃度で添加した。また、メタン生成菌の役割を調べるための実験では、メタン生成菌の活性を抑える目的でクロロホルムを60mg/L(0.5mM)の濃度で添加した。一方、供試汚泥としては、Y汚泥処理センターの嫌気性消化タンクからの消化汚泥を種として当実験室で培養したものを用い、汚泥の初期濃度が8,000~11,000mgVS/Lになるように調整した。測定項目のうち2CP、フェノール、揮発酸等はガスクロマトグラフ(FID)、ガス組成はガスクロマトグラフ(TCD)、硝酸塩はイオンクロマトグラフで分析した。

3. 結果と考察

3.1 メタン生成系における2CPの分解

クロロフェノール類のメタン生成系における嫌気性分解では、一般に還元的脱塩素が最初の段階であるといわれ、そこには電子供与体となる補基質(第二の有機物)の存在が必要であると思われる。そこで、まず酢酸を補基質としたメタン生成系での2CPの分解を調べた。図1に示すように、酢酸の無い系では2CPは分解されなかったが、酢酸を添加した系では約2週間の馴致期間をおいて急速に分解し始め、22日目には全く2CPは検出されなくなった。このとき、2CPの分解に伴って、系内では塩素の増加(データは省略)とフェノールの生成が見られた。つまり、メタン生成系において2CPはまず還元的に脱塩素され、フェノールに転換されるが、このとき電子供与

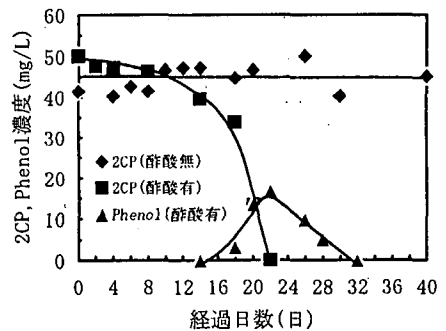


図1 メタン生成系における2CP分解に対する補基質(酢酸)の必要性

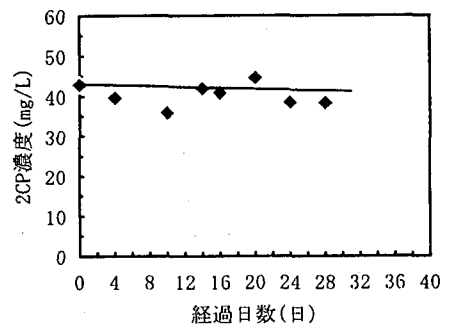


図2 クロロホルム添加によるメタン生成阻害系における2CP濃度変化

体となる補基質が必要であることが確認された。

つぎに、メタン生成系における2CP分解へのメタン生成菌の関与を確認するため、メタン生成菌に特異的に阻害を及ぼすクロロホルムを添加して、2CPの濃度変化を追跡した。図2に示すように、クロロホルム添加によるメタン生成阻害系では2CPは全く分解されず、また図3に示すように酢酸も減少することなくほぼ一定であった。一方、前述のメタン生成系では酢酸の消費とメタンの生成が確認された(図3)。これらのことより、2CPの脱塩素にはメタン生成菌が関与していることが明らかになった。

3.2 硝酸塩還元系における2CPの分解

硝酸塩還元が起こる系での2CPの分解について調べるため、補基質の存在するメタン生成系に硝酸塩を添加したメタン生成・硝酸塩還元系(メタン・硝酸系と略す)および補基質の無い系に硝酸塩を添加した硝酸塩還元系における2CPの分解実験を行った。

図4はメタン生成系およびメタン・硝酸系における2CP分解実験の結果である。2CPの脱塩素は両系ともほぼ等速度で進行し、フェノールが生成されたが、メタン・硝酸系ではフェノールの分解に遅れが見られた。さらに、このメタン・硝酸系でのメタン生成菌の脱塩素への関与を調べるため、クロロホルムを添加したところ、図5に示すように硝酸塩還元は全く影響を受けずに進行したが、2CPの脱塩素は起こらなかった。このことは、メタン・硝酸系における2CPの脱塩素はメタン生成菌によるものであり、硝酸塩還元菌(脱窒菌)は関与していないことを意味している。

一方、補基質を添加していない硝酸塩還元系において、図6に示すように、硝酸塩の無い対照系では2CPの分解は起こらなかったが、硝酸塩の有る系ではゆっくりと分解され、34日目辺りで2CPは検出されなくなった。このとき、2CPの分解に伴ってわずかながらフェノールの生成が見られた。2CP分解の見られた硝酸塩還元系では、図7に示すように、硝酸塩の減少および窒素の生成が見られ、硝酸塩還元が起こっていたことを確認した。また、メタンの生成も見られたが、微量であった。Haggbloomらは、河川の底泥を用いた実験で、硝酸塩還元系において2CPが分解されるが、中間産物は何も検出されなかったことを報告している。¹⁾ これらの結果は、硝酸塩還元系においては、メタン生成系での還元的脱塩素とは異なった経路で、硝酸塩還元と関連しながら2CPが直接無機化されていることを示唆している。

3.3 2CPの分解経路

上記の結果をふまえて、メタン生成系および硝酸塩還元系における2CPの分解経路を検討した。まず、フェノー

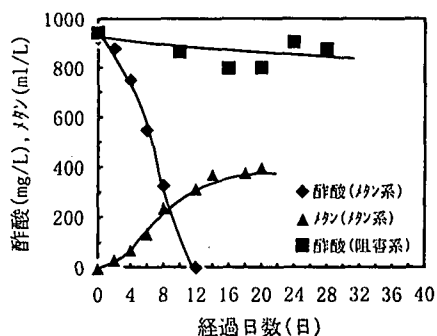


図3 メタン生成系/阻害系における酢酸の減少とメタン生成

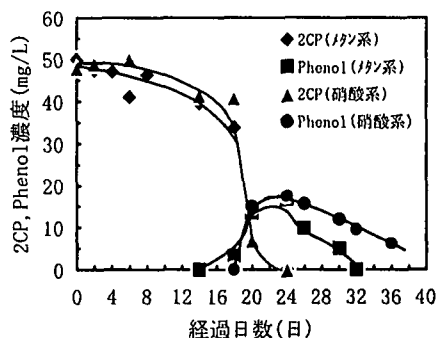


図4 メタン生成系とメタン生成・硝酸塩還元系における2CPの分解(補基質有り)

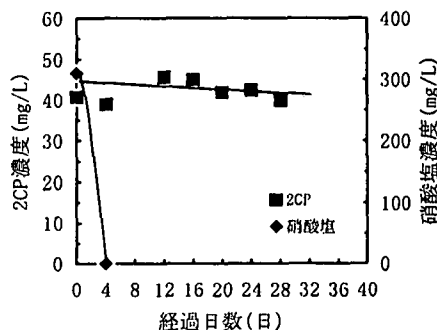
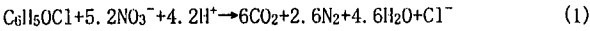


図5 クロロホルム添加によるメタン生成阻害・硝酸塩還元系における2CPと硝酸塩の濃度変化

ル分解能の低いメタン生成系で2CPの脱塩素を調べたところ、図8の結果が得られたので、この結果と図6に示した硝酸塩還元系でのフェノールの生成を比較した。表1に示すように、メタン生成系では生成されたフェノールと投与された2CPのモル比が0.92であり、還元的脱塩素反応の化学量論値1.0に近い値を示した。しかし、硝酸塩還元系では同モル比が0.16と低く、ここでの脱塩素は供試汚泥中の残留有機物を電子供与体とした反応であって、基本的には2CPの分解は式(1)で表されるような硝酸塩還元と連成した酸化的分解であったものと推察される。供試汚泥はできるだけ易分解性の有機物がな



くなるまで培養したものを使用した。しかし、式(1)に基づく2CP分解に必要な硝酸塩の化学量論値は $5.2 \times 0.39\text{mM} = 2.03\text{mM}$ であるのに対して、図7に示したように 4.84mM (300mg/L)の硝酸塩が全て還元されていることから、硝酸塩還元系の実験で用いた汚泥中には有機物が残留していたものと思われる。

表 1 2CP分解に伴うフェノールの生成

生物系	初期2CP濃度 (mM)	フェノール (mM)	2CP/フェノール モル比
メタン生成系	0.39	0.36	0.92
硝酸塩還元系	0.39	0.06	0.16

4. まとめ

メタン生成系における2CPの分解は、まず2CPがメタン生成菌による還元的脱塩素を受けてフェノールに転換され、その後フェノールの無機化が進行していく経路をたどる。このとき、還元的脱塩素に対する電子供与体が必要となる。一方、硝酸塩還元系では、硝酸塩還元と連成した酸化的分解により、2CPは直接無機化されるものと考えられる。ただし、メタン生成と硝酸塩還元がともに起こる系では、2CPは還元的脱塩素を経て無機化され、とくに硝酸塩還元との関連は見られないが、その後の無機化過程でフェノールの分解に遅滞が観察された。

参考文献

1) Haggblom, M.M. et al., Influence of Alternative Electron Acceptors on the Anaerobic Biodegradability of Chlorinated Phenols and Benzoic Acids, App. Environ. Microbio., Vol.59, No.4, pp.1162-1167(1993)

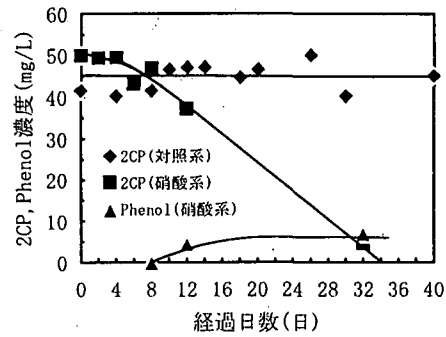


図 6 硝酸塩還元系における2CPの分解 (補基質無し)

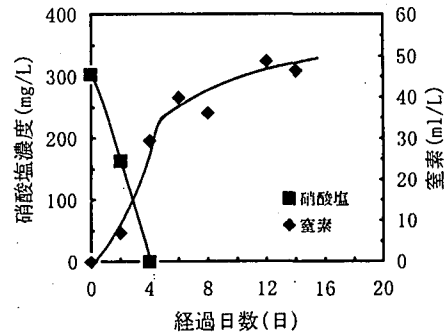


図 7 硝酸塩還元系における2CP分解に伴う窒素の変化

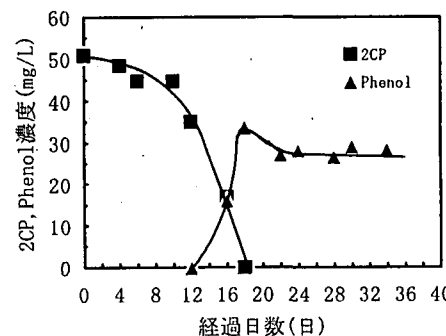


図 8 メタン生成系における2CPの脱塩素によるフェノールの蓄積