

明星大学理工学部

同上

同上

○松井康高

根岸暁夫

田中修三

1. はじめに

有機塩素化合物の一つであるクロロフェノール類は、防腐剤や殺虫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化合物である。したがって、クロロフェノール類の環境中での生分解性をすることは重要な意味を持ち、処理プロセスを開発するためにも必要であると考え。既報では、消化汚泥を用いてプロピオン酸を電子供与体とした系において、2, 4, 6-トリクロロフェノール(2, 4, 6-TCP)の還元的脱塩素が硫酸塩還元細菌(SRB)による反応である可能性が高いことを示した¹⁾。しかし、供試汚泥の優占種によって必ずしも細菌の関与のしかたは一定ではないことも考えられる。そこで、本研究では、河川汚泥を用いて酢酸を電子供与体とした系において、2, 4, 6-TCPの分解過程およびそれに対する、メタン生成細菌(MPB), SRB, 真正細菌(eubacteria)の役割を検討した。

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混合し、絶対嫌気性条件下で消化温度を37℃に保った回分系で、2, 4, 6-TCP分解を追跡するという実験を行った。基質である20mg/Lの2, 4, 6-TCPに対して、酢酸ナトリウム(COD換算で1000mg/L)を2, 4, 6-TCPの還元的脱塩素における電子供与体として添加し、メタン生成/硫酸塩還元系では300mg/Lの硫酸塩を投与した。また、MPB, SRB, 真正細菌の活性を抑えるために、それぞれ1mMのクロロホルム, 5mMのモリブデン酸塩, 100mg/Lのバンコマイシンを添加した。バンコマイシンは、細菌に影響を与えるための時間を考慮し、2, 4, 6-TCPと酢酸の添加の48時間前に添加した。供試汚泥としては、埼玉県を流れる河川の直接浄化装置の汚泥ビットから採取した汚泥を種として、当実験室で培養したものを用い、初期汚泥濃度は22,000mgVS/Lであった。測定項目のうちクロロフェノール類、揮発酸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)、硫酸塩、塩素はイオンクロマトグラフで分析した。

3. 結果と考察

3.1 2, 4, 6-TCPの還元的脱塩素に対するMPBの関与

MPBの2, 4, 6-TCP分解への関与を調べるため、メタン生成系での実験を行った。クロロフェノール分析において、初期測定濃度が添加濃度より低く検出されたが、これは汚泥への吸着により抽出できなかったためであると考えられる。

なぜなら、例えば表1のように、メタン生成系における2, 4, 6-TCPの脱塩素に伴う塩素の増加量を測定したところ、理論上生成される塩素の化学量論値に近い値が得られており、2, 4, 6-TCPは20mg/Lの濃度で正しく添加されていること

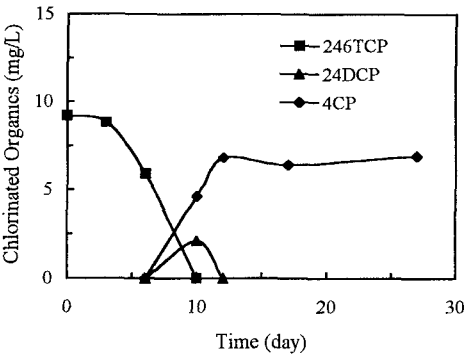


図1 メタン生成系における2, 4, 6-TCP分解

表1 メタン生成系における2, 4, 6-TCP分解に対する塩素収支

理論値 (mg/L)		測定値 (mg/L)	
初期 2, 4, 6-TCP濃度	20.0	初期塩素濃度	48.2
脱塩素後の4-CP濃度	13.0	終期塩素濃度	55.1
増加する塩素濃度	7.0	増加した塩素濃度	6.9

が確認できたからである。

メタン生成系(図1)において、約10日目までに2,4,6-TCPは還元的に脱塩素され、2,4-ジクロロフェノール(2,4-DCP)と4-クロロフェノール(4-CP)に転換された。2,4,6-TCPの分解に伴う塩素の増加は表1に示した通りである。また、酢酸は速やかに分解され、活発なメタン生成が見られた(図2)。つぎに、クロロホルムを添加してメタン生成活性を阻害した系での2,4,6-TCPの分解過程を追跡したところ、図3の結果を得た。2,4,6-TCPの分解は速度は少し低下したが、約17日目までに分解され、2,4-DCPと4-CPに転換された。このMPB阻害系において、酢酸は分解されず、メタンも生成されなかったことから、MPBが阻害を受けていることを確認した(データ省略)。このことは、2,4,6-TCPの還元的脱塩素を直接行っているのはMPB以外の細菌である可能性が高いことを示唆している。しかし、メタン生成活性が抑えられると、2,4,6-TCPの脱塩素速度に遅滞が見られるので、MPBが2,4,6-TCPの脱塩素に何らかの形で関与していることが考えられる。

3.2 2,4,6-TCPの還元的脱塩素に対するSRBの関与

SRBの2,4,6-TCP分解への関与を調べるため、硫酸塩を添加した系での実験を行った。メタン生成/硫酸塩還元系(図4)において、2,4,6-TCPは脱塩素され、2,4-DCPと4-CPに転換された。このとき、硫酸塩還元は比較的ゆっくりと進行し、MPBは硫酸塩還元により生成された H_2S の阻害を受けることなく、活発にメタンを生成した(図6)。一方、モリブデン酸塩を添加してSRBの活性を抑えると、硫酸塩還元は全く起きず、SRBが阻害を受けていたが、2,4,6-TCPは脱塩素され、4-CPに転換された(図5, 6)。したがって、この結果は既報¹⁾の結果と異なり、2,4,6-TCPの還元的脱塩素にSRBが直接的には関与していない可能性があり、SRBやMPB以外の細菌が脱塩素を行っているものといえる。このような異なった結果が得られた理由としては、使用した汚泥中の細菌の優占種が違うのではないかと考えている。

3.3 2,4,6-TCPの還元的脱塩素に対するSRB以外の真正細菌の関与

これまでに知られている全てのSRBが真正細菌に属しているが、既報では2,4,6-TCPの脱塩素に対してSRBの関与が示唆されたことから、本実験ではSRB以外の真正細菌の関与の可能性が考えられる。そこで、真正細菌の2,4,6-TCP分解への関与を調べるため、メタン生成系に真正細菌の特異的な阻害剤であるバンコマイシンを添加した系で分解過程を追跡した。真正細菌阻害系において、図7に示したようにメタン生成が活発に起きたが、2,4,6-TCPは全く分解

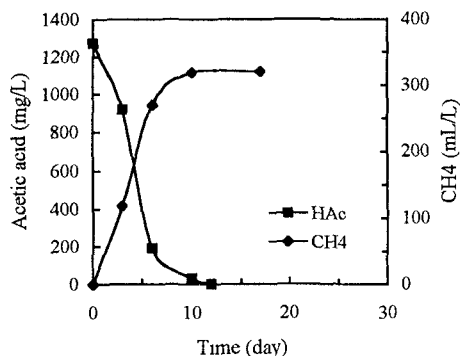


図2 メタン生成系における酢酸分解とメタン生成

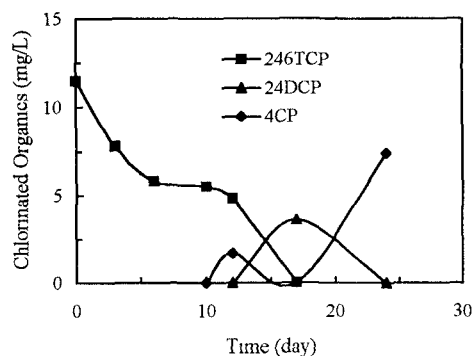


図3 MPB阻害系における2,4,6-TCP分解

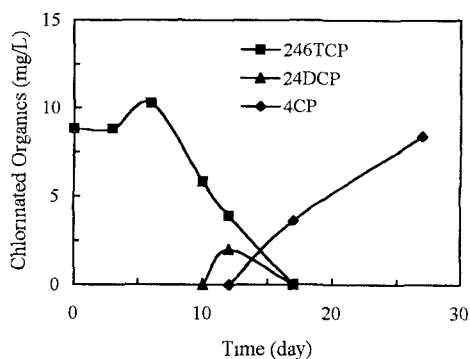


図4 メタン生成/硫酸塩還元系における2,4,6-TCP分解

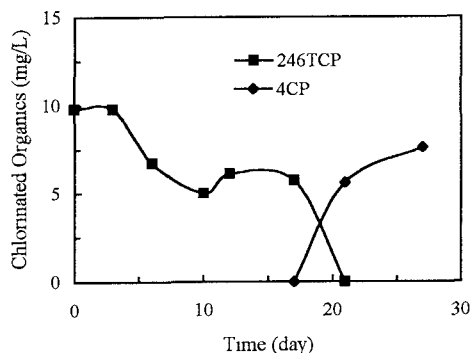


図5 SRB阻害系における2,4,6-TCP分解

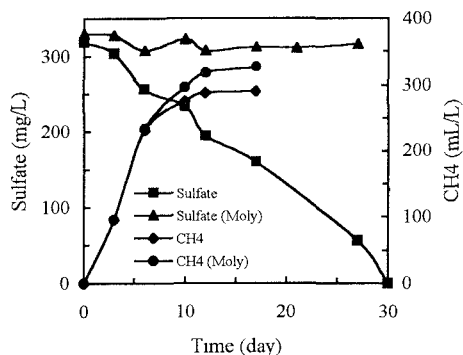


図6 メタン生成／硫酸塩還元系における硫酸塩還元とメタン生成

されなかった。このことから、2,4,6-TCPの還元的脱塩素には真正細菌が直接関与しており、しかも先の結果と合わせると、SRB以外の真正細菌がその脱塩素を行っているものと考えられる。図8に阻害剤添加系における2,4,6-TCPの還元的脱塩素についてまとめた。すなわち、MPBやSRBの活性を抑えると、2,4,6-TCPの分解速度は遅くなるが、確実に脱塩素される。しかし、真正細菌の活性を抑えると2,4,6-TCPの分解は停止することから、SRB以外の真正細菌の関与が最も可能性が高いといえる。

4. 結論

河川汚泥を培地とし酢酸を電子供与体とした、メタン生成系における2,4,6-TCPの還元的脱塩素は、クロロホルムを添加してMPBの活性を抑えても脱塩素が起きたことから、MPB以外の細菌による反応であると推察される。また、メタン生成／硫酸塩還元系において、モリブデン酸塩を添加してSRBの活性を抑えても脱塩素が起きることが分かった。そこで、真正細菌の活性を抑える阻害剤を添加したところ、脱塩素は起こらなかった。すなわち、本実験で使用した河川汚泥については、SRB以外の真正細菌が2,4,6-TCPの還元的脱塩素に直接関与している可能性が高いことが明らかになった。

参考文献

- 1) 松井康高, 田中修三: トリクロロフェノールの還元的脱塩素における硫酸塩還元菌の関与, 土木学会第51回年講第7部, 24-25 (1996)

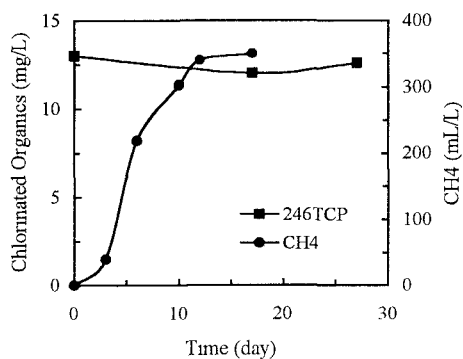


図7 真正細菌阻害系における2,4,6-TCP分解とメタン生成

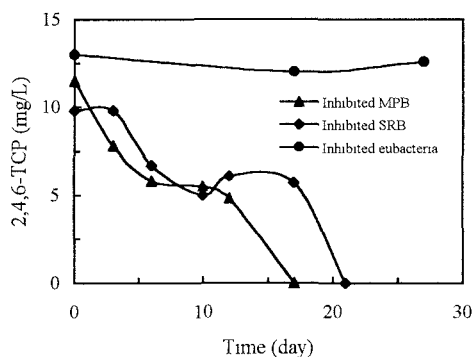


図8 阻害剤添加系における2,4,6-TCPの還元的脱塩素