

明星大学理工学部 田中 修三

同上 松井 康高

同上 ○根岸 暁夫

1. はじめに

クロロフェノール類の嫌気的環境における生分解に対して、メタン生成細菌(MPB)や硫酸塩還元細菌(SRB)の関与が考えられるが、その関係については必ずしも十分に明らかにされていない。たとえば、本研究で対象とする2-クロロフェノール(2CP)はメタン生成系において還元的に脱塩素される例が報告されているが¹⁾、嫌気的環境で一般に存在するSRBがその脱塩素にどのように関与しているのかなど、不明な点が多い。本研究では、メタン生成系および硫酸塩還元系での2CPの生分解過程を追跡し、還元的脱塩素に対するMPBやSRBの関与、およびそれに対するSRBによる硫酸塩還元の影響などを検討した。

2. 実験方法

本実験は、容量120mLのバイアルびんに基質と汚泥を50mLずつ混合し、絶対嫌気性条件下で温度37℃に保った回分系で、2CPの分解過程を追跡するという方法をとった。基質は、酢酸ナトリウム(COD換算で1,000mg/L)を有機炭素源(電子供与体)として、50mg/Lの2CPと0-300mg/Lの硫酸塩を投与した。また、MPBやSRBの活性を抑えるために、それぞれ0.5mMのクロロホルムや5mMのモリブデン酸塩を適宜基質に添加した。一方、汚泥は、嫌気性消化タンクからの消化汚泥を種として、当実験室で残留有機物が消費されるまで培養したものを使用した。このとき、供試汚泥の濃度がバイアル中で約9,000mgVS/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。なお、全ての実験において2系列以上の実験を同時に行い、その再現性を確認した。

3. 結果と考察

3.1 MPBによる2CPの還元的脱塩素

嫌気的環境でのMPBの2CP分解への関与を調べるため、まず硫酸塩を含まないメタン生成系における2CPの分解過程を追跡し、図1の結果を得た。メタン生成系において、2CPは約1週間のラグタイムを経た後、速やかに還元的に脱塩素され、フェノールに転換された。一方、クロロホルム添加によりMPBのメタン生成活性を阻害した系では、2CPは全く分解されなかった。これらの系における電子供与体である酢酸の分解とメタンの生成を調べると、図2に示したように、メタン生成系では酢酸が分解されるに従って、メタンが活発に生成され、投与CODの約97%がメタンに転換された。これに対して、メタン生成阻害系では酢酸は分解

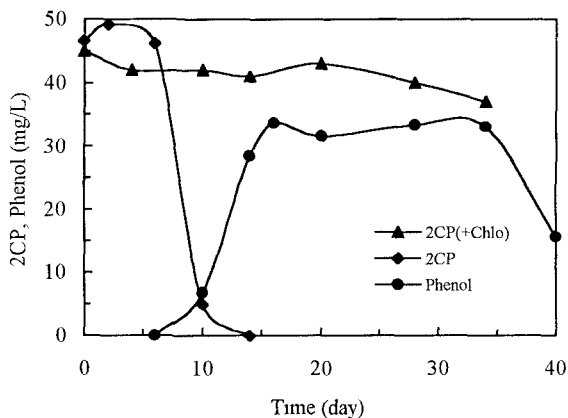


図1 メタン生成系/阻害系における2CP分解

されず、メタンの生成もなく、MPBが阻害を受けていることが確認された。この結果は、本実験で使用した培地においては、MPBが2CPの還元的脱塩素に直接関与していることを裏付けている。

3.2 2CP分解における硫酸塩還元の影響

SRBの2CP分解との関わりと硫酸塩還元がMPBによる2CP分解に及ぼす影響を検討するため、硫酸塩300mg/Lを添加した系、加えてモリブデン酸によりSRBの硫酸塩還元活性を阻害した系で、それぞれ2CPの分解過程を調べた。図3および図4に示したように、SRBによる硫酸塩還元が起こると2CPは分解されなかったが、SRBの硫酸塩還元活性を抑制すると、約10日のラグタイムが見られたものの、2CPは完全に脱塩素された。このとき、MPBはいずれの系でもメタンを生成しており(図5)、MPBのメタン生成活性は十分に維持されていたことを確認した。このことは、SRBは2CPの脱塩素に直接的には関与しておらず、MPBによる2CPの脱塩素はSRBによる硫酸塩還元、すなわちその結果生成されるH₂Sにより阻害を受けることを意味している。しかも、MPBの還元的脱塩素活性はメタン生成活性に比べてH₂Sに対する感受性が高いことが推測される。

H₂SによるMPBの還元的脱塩素活性に対する阻害を確認するため、メタン生成系の気相部にH₂Sを注入(約0.2ppm)した系と注入しない系において2CPの分解過程を調べた。図6に示したように、メタンはいずれの系でも同程度に生成されているにもかかわらず、2CPはH₂Sを添加した系では全く分解されなかった。つまり、MPBはメタン生成活性を保ちながらも、還元的脱塩素活性を失っており、上述のH₂Sに対する感受性の違いが確認された。

3.3 MPB還元的脱塩素活性のH₂S感受性

MPBによる2CPの還元的脱塩素において、硫酸塩還元によって生成されるH₂Sに対するMPB還元的脱塩素活性の感受性を調べるために、硫酸塩の添加量を0-100mg/Lの濃度で変化させて2CPの分解過程を追跡した。その結果、図

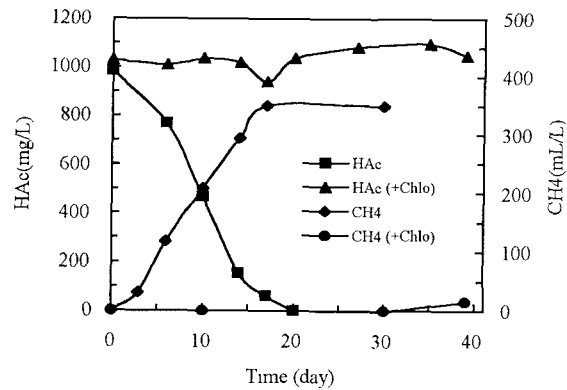


図2 メタン生成系/阻害系における酢酸分解とメタン生成

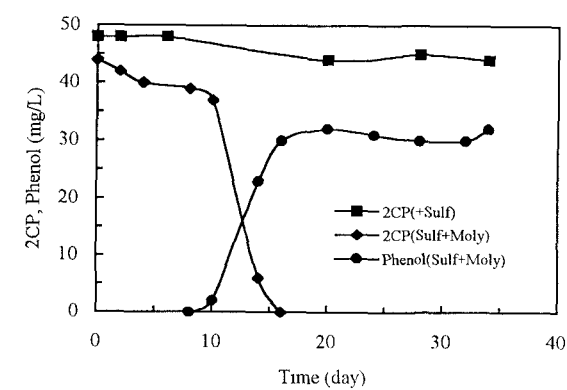


図3 硫酸塩還元系/阻害系における2CP分解に及ぼす硫酸塩還元の影響

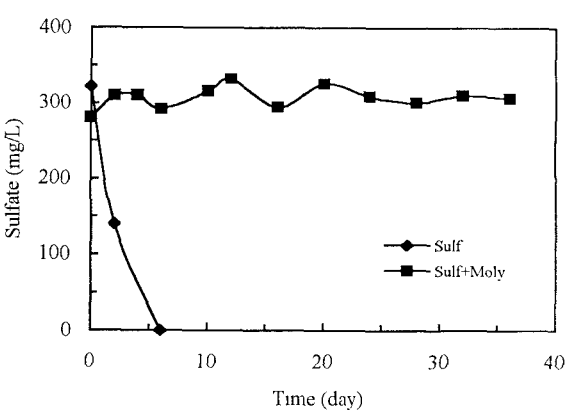


図4 硫酸塩還元系/阻害系における硫酸塩還元

7に示したように、硫酸塩濃度が40から50mg/Lに増加すると2CPの脱塩素が大幅に遅れはじめ、100mg/Lでは脱塩素はほとんど停止することが分かった。このとき、メタン生成はいずれの濃度でも活発に進行していた。一般に、 H_2S のMPBに対する毒性は系内の非解離の H_2S 濃度に依るといわれている。そこで、本実験において生成された H_2S が全て液相に存在すると仮定すると、50–100mg/Lの硫酸塩から生成される化学量論的 H_2S の量は17–34mg/Lであり、その上で液相のpHが約8であったことを考慮して液相中の非解離の H_2S 濃度を計算すると、1.7–3.4mg/Lとなる。ここに、MPBのメタン生成活性に対する非解離 H_2S の阻害濃度が一般に50–200mg/Lであるので、還元的脱塩素活性の非解離 H_2S に対する感受性はかなり高いことが推察される。

4. まとめ

嫌気的環境でのMPBとSRBの2CP分解への関与を調べたところ、本実験で使用した培地においては、MPBが2CPの還元的脱塩素を行っており、系内に硫酸塩が存在すると、SRBによる硫酸塩還元によって生成される H_2S がMPBの還元的脱塩素活性を阻害することが明らかになった。たとえば、硫酸塩濃度が40から50mg/Lに増加すると2CPの脱塩素が大幅に遅れはじめ、100mg/Lでは脱塩素はほとんど停止することが分かった。MPBの還元的脱塩素活性の非解離 H_2S に対する感受性は、メタン生成活性に対する阻害濃度に比べて、かなり高いことが推察される。このことは、自然環境中や処理プロセス中での2CPの生分解にとって、嫌気的環境で普通に存在するSRBによる硫酸塩還元が重要な影響因子となる可能性が高いことを意味している。

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.1162-167(1993)

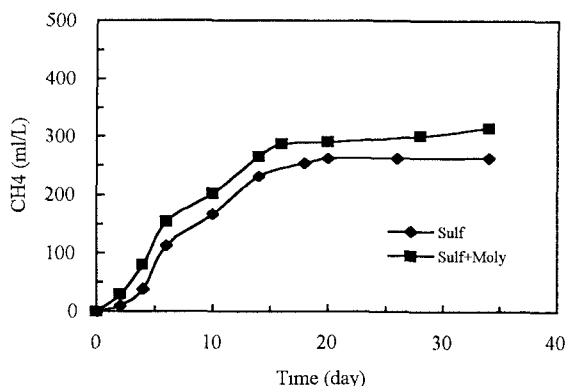


図5 硫酸塩還元系/阻害系におけるメタン生成

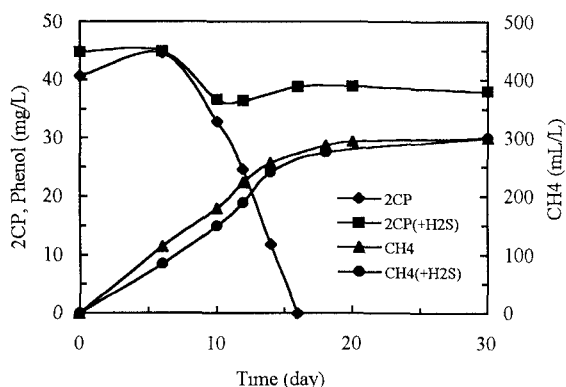


図6 H_2S 注入系/無注入系における2CP分解とメタン生成

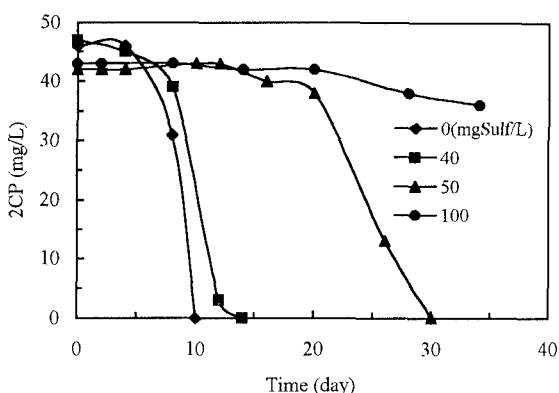


図7 硫酸塩濃度を変化させた系での2CPの還元的脱塩素に及ぼす硫酸塩還元の影響