

芳香族化合物の生分解速度

Rate of Biodegradation of Aromatic Compound

鈴木基之*・藤井隆夫*

Motoyuki SUZUKI and Takao FUJII

1. はじめに

著者らは、これまでに活性汚泥より単離した *Acinetobacter sp.* を用い、フェノールを例にとりその分解時の物質収支と速度論、処理に用いる際のプロセス的検討を行ってきた。^{1),2)} 現在病院より排出されるクレゾール含有排水などのように芳香族化合物が排水中に含まれることも少なくないように思われ、このフェノール分解菌 *Acinetobacter sp.* の各種芳香族化合物に対する分解の有効性を検討しておくこととした。菌の特性¹⁾ について要約すると、大きさが約 $0.5 \mu \times 1 \mu$ で運動性がなく、白色コロニーを形成するグラム陰性の短桿菌であり、温度が 30°C において最大の比増殖速度をもち、pH が 6~8 の範囲で安定な分解を示すバクテリアである。あらかじめこ

の菌の分解能力をスクリーニングするために、38 種類の単環で構造の簡単な芳香族化合物に対して東亜電波製の自動 BOD メーターを用いて生分解を試み、その分解過程における比酸素消費速度から容易に分解されるものと、ほとんど分解されないものへと分類した。(Table 1) その結果 18 種類の容易に分解される物質について以下

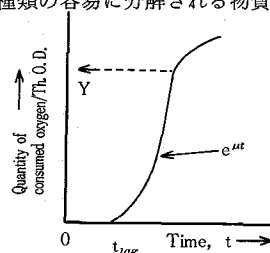


Fig. 1 Illustration of oxygen consumption pattern

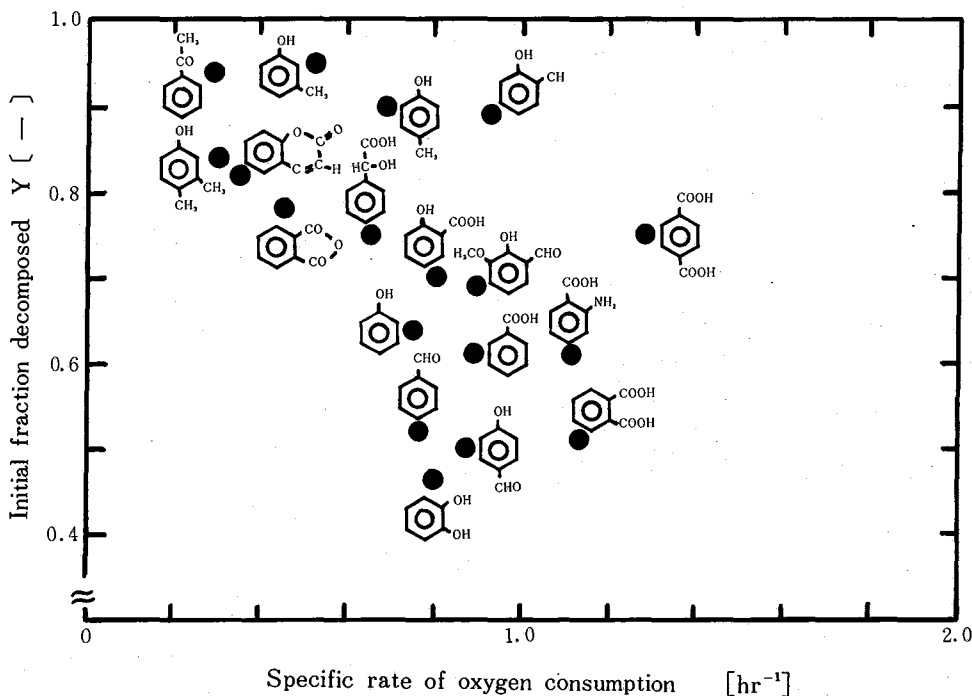


Fig. 2 Relationship between initial fraction decomposed and specific rate of oxygen consumption

* 東京大学生産技術研究所 第 4 部

Table 1 Result of testing for aromatic compound

Compound	M. W.	Th. O. C. (mg/mg)	Th. O. D. (mg/mg)	B. O. D. (mg/l)	t _{lag} (hr)	μ (hr ⁻¹)	y
Phenol	94	0.766	2.38	153	1.8	0.75	0.64
m-Cresol	108	0.778	2.52	216	9.2	0.50	0.95
Acetophenone	120	0.800	2.53	190	21.0	0.29	0.94
p-Cresol	108	0.778	2.52	227	3.6	0.67	0.90
o-Cresol	108	0.778	2.52	225	26.6	0.92	0.89
Coumarin	146	0.740	2.08	170	32.8	0.35	0.82
Phthalic anhydride	148	0.649	1.62	126	18.2	0.45	0.78
Mandelic acid	152	0.632	1.79	134	18.2	0.65	0.75
Terephthalic acid	166	0.578	1.44	108	10.8	12.8	0.75
o-Xylenol	122	0.778	2.62	219	3.6	0.30	0.84
Salicylic acid	138	0.609	1.62	114	4.5	0.80	0.70
Vanillin	152	0.632	1.79	123	11.8	0.89	0.69
Benzoic acid	122	0.689	1.97	86	4.0	0.87	0.61
o-Aminobenzoic acid	137	0.613	1.81	110	8.4	11.1	0.61
Benzaldehyde	106	0.792	2.41	125	8.2	0.76	0.52
Phthalic acid	166	0.578	1.44	74	4.0	11.3	0.51
p-Hydroxybenzaldehyde	122	0.689	1.97	99	8.8	0.87	0.50
Catechol	110	0.655	1.89	86	7.8	0.78	0.46
..... As follows compound difficult to decompose.							
Hydroquinone				n-Hexylbenzene			
Phloroglucinol							
..... As follows compound not decompose.							
Benzensulfonic acid				Ethylbenzene			
Benzalacetone				p-Aminobenzoic acid			
3,5-Diaminobenzoic acid				Salicylaldehyde			
Cinnamaldehyde				1,2,4-Trimethylbenzene			
Sulfanylamide				p-Quinone			
Phenylacetoaldehyde				Phenylether			
Benzoine				p-Hydroxydiphenyl			
m-Xylenol				o-Toluidine			
p-Toluidine							

Table 2 Result of testing for aromatic compound

Compound	Th. O. C. (mg/mg)	Th. O. D. (mg/mg)	Specific growth rate (hr ⁻¹)	Cell yield (-)	Residual
					T. O. C. Initial T. O. C. (-)
Benzoic acid	0.689	1.97	1.01	0.32	0.28
Catechol	0.655	1.89	0.74	0.36	0.37
Benzaldehyd	0.792	2.41	0.70	0.11	0.36
p-Cresol	0.778	2.52	0.66	0.34	0.41
m-Cresol	0.778	2.52	0.17	0.30	0.35
Phenol	0.766	2.38	0.73	0.53	0.42

を基質の初期濃度に対する Th. O. D. (有機物の完全酸化に要する理論酸素消費量) に対する比として示したものである。これを初期分解到達率と定義した。Fig. 2 に 18 種類の芳香族有機物についての初期分解到達率を比較酸素消費速度に対してプロットしてあるが、全体的に右下がりの傾向を示している。この 18 種類のうち特に今回は Table 2 に示す 5 種類の芳香族化合物について、回分培養を行い菌体の比増殖速度、菌体収率について検討を加えたものである。

2. 実験方法

回分培養に用いた装置は、丸菱理化製の MD-150 型で Fig. 3 にその概略を示す。これは内容積 1.2 l のガラス製で円筒状のものに温度コントローラーと攪拌調節機能が付いた培養槽でこれに pH メーターと DO (溶存酸素) メ

の検討を加えた。

Fig. 1 に酸素消費曲線のモデル図を示すが、図中の Y は、基質がほとんど消費されて、酸素の消費速度が急激に低下し肩ができる部分でありその点までの酸素消費量

研究速報
 ーターを付属させ制御を行いながら経時変化の追跡ができるようにしたものである。また酸素消費量の測定のためガスクロマトグラフを設けオートサンプラーによって5分間おきに出口の空気を一部分導入することにより酸素濃度を測定した。次に実験条件であるが、フェノール分解菌の特性を考慮して、温度は30°C、pHは6に制御した。また溶存酸素濃度はFig.4に示すように溶存酸素が0.5 mg/l以下であると比増殖速度が急激に低下するので、DOメーターで監視しながら吹込空気量および攪拌速度を調節し酸素濃度が律速とならぬ条件下で実験を行った。以上のような条件でTable2に示すフェノールを除く5種類の芳香族化合物を用い、無機栄養塩は前回同様JIS K 0102に基づいて添加したものを培養液とした。

i) 経時変化の追跡 基質濃度 100,200 mg/l に対し *Acinetobacter sp.* を乾燥重量で 250 μg/l を添加し、基質濃度、TOC (全有機炭素) 濃度、および菌体量の経時変

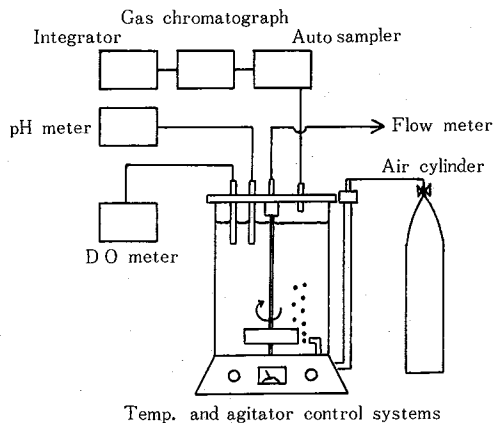


Fig. 3 Experimental apparatus

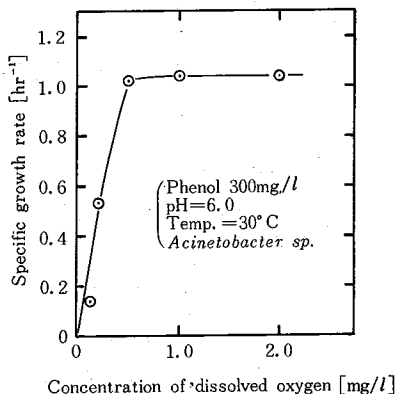


Fig. 4 Effect of dissolved oxygen on specific growth rate

化を追跡した。基質濃度の測定には、スチームガスクロマトグラフ (大倉理化製)、TOC (全有機炭素) は TOC 10B (島津製) を使用し、菌体量については、あらかじめ濁度 (E_{600}) と乾燥菌体量との関係を求めておき、分光光度計により濁度を測定し算出した。

ii) 比酸素消費速度の測定 基質濃度 200 mg/l で同様に回分培養を行い菌体の比増殖速度と出口側の空気中酸素濃度の経時変化をガスクロマトグラフで追跡し酸素消費量を求め同時にこの時使用した菌体を自動 BOD メーターにセットし比酸素消費速度を求め三者の速度を比較した。

3. 結果および考察

i) 経時変化 Fig. 5 に経時変化の一例として、安息香酸について基質濃度、TOC 濃度、菌体量、および酸素消費量のそれぞれの経時変化を示す。この図によると誘導時間は2時間ぐらいで、菌を植種してから基質が完全に分解されるまでは、この条件下で約6時間である。基質の減少に伴い菌体が増加していくのが分かり、また TOC は、分解生成物と思われるものが 15 mg/l 前後残留するが、残りの炭素分は大部分が菌体と二酸化炭素に変化するものと思われる。次に、おのおのの化合物について菌体量の变化を時間に対して片対数プロットしたグ

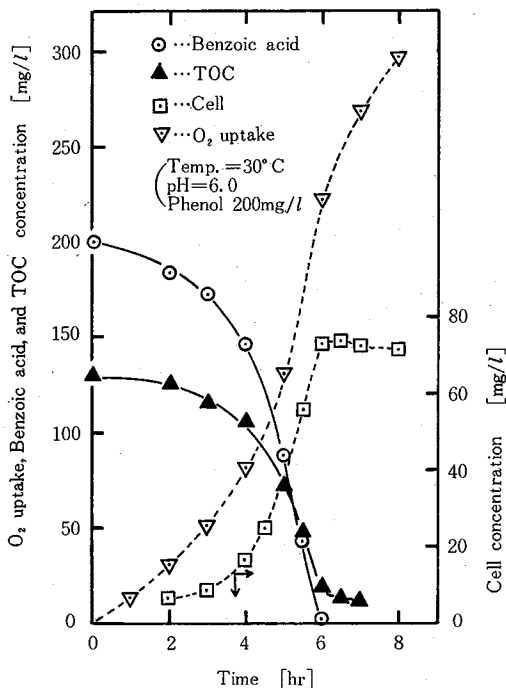


Fig. 5 Time course of benzoic acid, TOC, and cell concentration

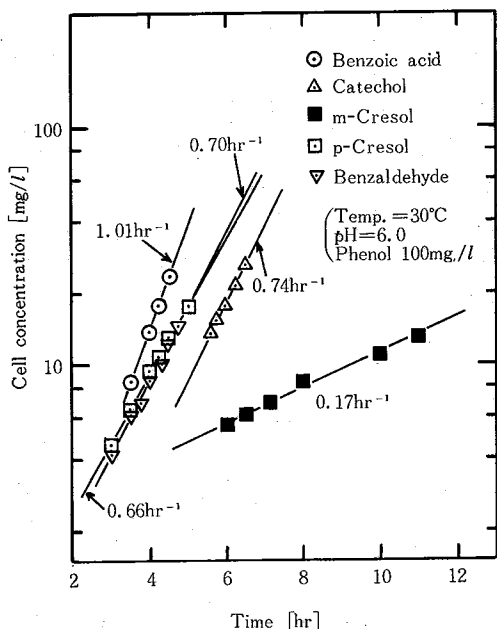


Fig. 6 Batch cultures for determining the specific growth rate

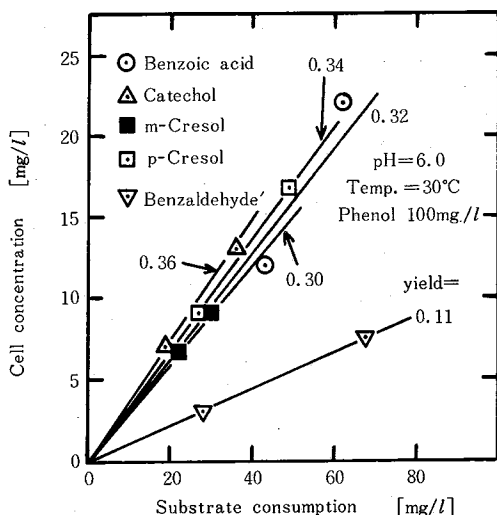


Fig. 7 Yield factor of growth of cells

ラフを Fig. 6 に示す。この図には対数増殖期の部分だけプロットしてあるが、直線の傾きより比増殖速度を求めた。得られた値をフェノールの場合と比較すると、*m*-クレゾールを除き、ほぼ同じ値を示しており、これらの芳香族化合物に対しても十分な活性を有する。菌体量の増加に対して基質消費量をプロットしたものを Fig. 7 に示す。これはいわゆる菌体収率を求めるグラフであるが、

Table 3 Comparison of measurement

Compound	Specific growth rate (hr ⁻¹)	Specific rate of oxygen consumption from gas chromatograph	Specific rate of oxygen consumption from B. O. D. meter
Benzoic acid	1.01	1.04	0.87
Catechol	0.74	0.89	0.78
Benzaldehyde	0.70	0.78	0.76
<i>p</i> -Cresol	0.66	0.46	0.67
<i>m</i> -Cresol	0.17	0.32	0.50
Phenol	0.73	0.77	0.75

いずれもフェノールと比較して低い値 (0.3 g/g) を示しており有機物分解後の菌体の処理の点からいってもこのフェノール分解菌は有利であると言える。

ii) 比増殖速度と比酸素消費速度 本実験において菌体増加より求めた比増殖速度とガスクロマトグラフから求めた比酸素消費速度、および自動 BOD メーターを用いて別に測定した比酸素消費速度との比較を Table 3 に示した。この Table 3 中の比増殖速度と、Table 2 中に上げられている比増殖速度との間に、差が見られるが、この原因として、回分実験下での菌の状態が若干異なったためと考えられる。しかしながら三者を比較して実験値にほぼ同じ値が得られ、今回のように構造が簡単な芳香族化合物の比増殖速度を、自動 BOD メーターを用いて測定しても大略の推算が可能であると思われる。

4. ま と め

芳香族化合物の中から Table 2 に示す 5 種類を選び *Acinetobacter sp.* を用いて回分実験を行った結果、1) 溶解酸素が、0.5 mg/l 以上の条件のもとで、フェノールと同程度の生分解速度を示し、そのときの菌体収率は、フェノールより低い 0.3 g/g 前後の値を得た。2) 菌体の増加量と自動 BOD メーターおよびガスクロマトグラフによる酸素消費量測定という三つの異なる方法で求めた比増殖速度が、ほぼ同じ値を示すことにより構造が簡単な芳香族化合物の比増殖速度を求める場合、自動 BOD メーターを用いた比酸素消費速度による大略の推定で良いと思われる。 (1982年2月25日受理)

参 考 文 献

- 1) 鈴木, 藤井: 生産研究 32, 110 (1980)
- 2) 鈴木, 藤井: 化工協会第 13 回秋季大会要旨集 562(1979)