

## 分解細菌と木質炭化素材を組み合わせて環境ホルモンを分解除去(1)

### —バイオレメディエーション—

農業環境技術研究所 有機化学物質研究グループ 高木和広

#### 1 バイオレメディエーションとは

近年、ダイオキシン類を含む内分泌かく乱物質(いわゆる環境ホルモン)等の化学物質が超微量(数十pptレベル)でも人間の性発達障害や行動及び生殖異常に関係することが指摘され、社会問題化していることから、これらの環境リスク削減技術が求められています。化学物質の環境リスクは毒性と暴露量(環境中濃度)の両者から評価されるため、化学物質の毒性または暴露量を低下させれば、環境リスクは削減できます。暴露量の削減法としては汚染物質の除去が考えられますが、汚染範囲が広く、汚染濃度が低い場合には、従来の物理・化学的手法では汚染除去に多額の経費が必要です。そこで、微生物の分解機能を利用した汚染物質除去技術(バイオレメディエーション)に期待が寄せられています。

しかし、その素材である分解細菌を環境中から迅速・簡便に集積・単離する手法や、分解細菌の分解能を汚染環境中で安定的に発現させる接種法は開発されていません。そこで、今回開発した木質炭化素材(分解細菌のえさとなる有機汚染物質の吸着能が高く、細菌のすみかになる木炭)を用いた土壤中の農薬分解細菌の迅速な集積・単離法を紹介します。

さらに、次号で、汚染土壤を修復するための木質炭化素材を利用した分解細菌接種法やゴルフ場での野外実証試験についても解説します。

#### 2 木質炭化素材とは

木質炭化素材は、木炭の一種です。市販の多くの木炭は伝統的な炭窯で燃料用に製造されており、炭化時間・温度は熟練者の経験によっています。これに対し、今回分解細菌のすみかとして開発した木質炭化素材は、窒素置換した真空雰囲気炉を用い、一定の炭化時間・温度で工業的に製造した特殊な木炭です。開発の際留意した点は、

- (1) 分解細菌(大きさ:約1 $\mu$ m)のすみかとして適した条件を有すること
- (2) 分解対象有機化合物に対する吸着能が土壌より

高く、かつその生物利用性を損なわない程度であること

の2点です。(1)に関する好適な物性としては、pHが5~8で、直径5~20 $\mu$ mの細孔が全細孔容積の10%以上均等に分布していること、(2)に関する好適な物性としては、比表面積が土壌に比べ20倍程度高いことが挙げられます。

#### 3 合成有機化合物の選定と環境特性

今回、分解細菌を集積・単離するために選定した合成有機化合物はトリアジン系除草剤のシマジン(CAT)と有機塩素系殺菌剤のキントゼン(PCNB)です。ともに土壌中での半減期が長い難分解性農薬であり、分子中に塩素、窒素原子を含むのが特徴です(図1)。

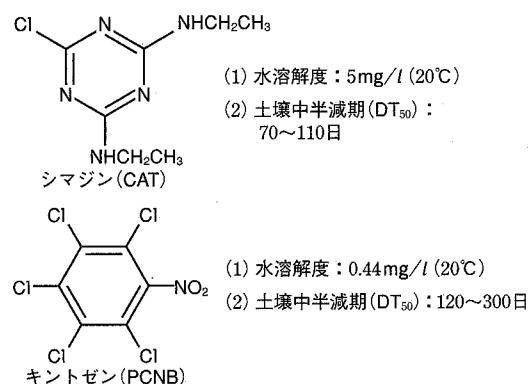


図1 シマジンとPCNBの化学構造式と環境特性

シマジンはゴルフ場等の雑草管理に広く使用されてきましたが、平成6年に水質汚濁性農薬に指定されたため、使用量は減少しています。しかし、土壌中半減期が長く土壌吸着係数が低いためゴルフ場の排水や水道原水から高頻度で検出されています。しかも、近年ではシマジンを含むトリアジン系除草剤は内分泌かく乱作用が疑われているため、対象化合物として選定しました。

次にPCNBですが1978~92年まで土壌病害殺菌剤として大量(5000~6000t/年)に使用されてきま

した。典型的な難分解性有機塩素系農薬であるため、使用地域周辺の大气、河川水、土壌からPCNBとその代謝物が高頻度かつ高濃度で検出されています。しかも、PCNBを好氣的に完全脱塩素する分解細菌は単離されてないため、対象化合物として選定しました。また、分解細菌が単離できれば内分泌かく乱作用を有する他の難分解性有機塩素化合物(ダイオキシン類, PCP, HCB)への応用(脱塩素分解)も可能であることも大きな選定理由です。

#### 4 分解細菌の迅速集積・純化及び単離法の開発

従来、土壌中から農薬等有機化合物をえさとして分解する細菌を集積・単離する方法として、土壌環流法(土壌に対象農薬を溶かした無機塩溶液を循環させる方法)が用いられてきましたが、この方法では分解細菌を十分に集積出来ないことが頻繁に起こります。



図2 改良した土壌環流法

その原因の1つとして、分解細菌のすみかが土壌中に不足していることが考えられます。そこで、この土壌環流法を改良しました(図2)。つまり、対象農薬連用土壌に分解細菌のすみかとなる木質炭化素材を5%混和し、対象農薬を唯一の炭素・窒素源とする無機塩溶液(1週間毎に交換)を環流したところ、環流液中の $Cl^-$ (有機塩素系農薬の分解副産物)濃度が増加し、3週間で土壌系内に分解細菌が集積しました。そこで、土壌中から分解細菌が住み着いている木質炭化素材を取り出し、物性の違う5種の炭化素材に接種し、同様の環流試験を3~4週間行った

ところ、2種の素材で分解細菌を迅速に純化・集積し、素材中から分解細菌を単離することが出来ました。この方法で集積・単離した分解細菌(群)は、シマジン分解細菌CD7菌群とPCNB分解細菌(*Burkholderia cepacia* KTY97)です(図3)。

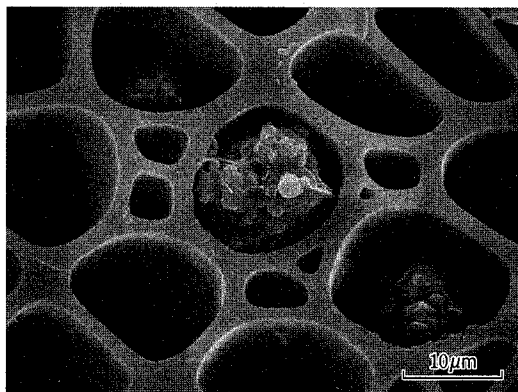


図3 木質炭化素材の細孔内に集積したPCNB分解細菌(*Burkholderia cepacia* KTY97)

特に、PCNB分解細菌はPCNBを好氣的に完全脱塩素分解できる細菌で、世界ではじめて土壌中から単離・同定されました。また、CD7菌群は3種類の細菌から構成される複合微生物系で3種の細菌が連携しながらシマジンを分解・無機化することが明らかになっており、現在個々の細菌の役割に関して研究を進めているところです。

(次号で、木質炭化素材を用いた、分解細菌の汚染土壌への接種方法と、野外実証試験の結果を紹介させていただきます。)

#### 参考文献

- (1) T.B.Hayes *et al.* (2002): Proceedings of the National Academy of Science, 99 (8), 5476-5480
- (2) 環境庁(1998):環境ホルモン戦略計画SPEED'98
- (3) 丸論(1998):農業環境科学研究, 第6号, 9-14
- (4) 高木和広(2000a):農業技術体系土肥編第3巻, 追録第11号, 49-55
- (5) 高木和広(2000b):農林水産技術研究ジャーナル, 23(3), 10-15
- (6) K.Takagi and Y.Yoshioka(2002):10th IUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection, Book of Abstracts Vol.2, 56
- (7) 高木和広ら(2003):農業環境研究成果情報, No.19, 24-25
- (8) 高木和広(2003):先端化学シリーズ「環境ケミカルサイエンス」, 丸善, 東京, pp.250~258
- (9) 高木和広(2003):植物防疫, 57(9), 24-28