

B309

## ペンタクロロフェノール嫌気性分解微生物群の特性

○ 半田木綿子<sup>1</sup>, 金孝根<sup>2</sup>, 井上康<sup>1</sup>, 市原茂幸<sup>3</sup>, 片山新太<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学大学院工学研究科 <sup>2</sup>韓国人参煙草研究所 <sup>3</sup>名城大学農学部 <sup>4</sup>名古屋大学エコトピア科学研究機構)

【背景・目的】近年浄化技術として、微生物を用いて分解浄化するバイオレメディエーションが注目されている。地下地盤や水田土壌に見られる嫌気的環境では、微生物による塩素除去反応の活性が高いことから、POPs等の残留性有機塩素化合物の生物浄化への応用が期待されている。しかし、嫌気微生物の取扱いの難しさから、反応を担う微生物群集の実態はこれまで殆ど明らかにされていない。そこで、本研究では、嫌気水田土壌条件下で比較的速やかに分解するペンタクロロフェノール(PCP)をモデル化合物として用い、その嫌気性分解微生物群の特性を明らかにすることを目的とした。PCPは、木材の防腐剤、水田用殺菌剤、除草剤などとして広く使用されていたが、魚毒性が高く日本での農薬登録は1990年に失効している。これまで底質から単離されたPCP脱塩素菌の例はあるが、水田土壌からはまだ単離例は無く、その実態は不明である。そこでPCP分解活性の高い水田土壌から嫌気性分解微生物群を集積し、その微生物群集の特性を調べた。

## 【方法】

**培養方法**：嫌気ボトルに操出水田土壌50gおよび滅菌水40ml、PCP-Na 288 $\mu$ gを加え、30 $^{\circ}$ C・暗条件下で14日間静置培養を行ったところ、PCP-Naが消失したので、これをPCP分解微生物源とした。微生物源を、土壌懸濁培地（操出殺菌土壌5g、滅菌水40ml、PCP-Na 288~1920 $\mu$ g）に植え継ぎ、窒素ガスで気相置換し、同様の条件で培養した。この操作を繰り返すことで集積培養を行った。

**特性試験**：電子受容体として硝酸イオン、硫酸イオン、炭酸イオンを、電子供与体として乳酸、酢酸、ピルビン酸、グルコースを添加し、PCP消失率を比較した。また、BESA(メタン生成菌阻害剤)とモリブデン酸(硫酸還元菌阻害剤)を添加し影響を調べた。3種の混合ガス(N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>=①80:15.1:4.9、②80:19.5:0.5、③80:19.98:0.02)を用い、H<sub>2</sub>分圧の影響を調べた。100 $^{\circ}$ C10分の熱処理効果も調べた。

**PCP定量**：培養後H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で反応を止め、アセトニトリル抽出し、ヘキサン転溶後、HPLCで定量した。

## 【結果】

植え継ぎを繰り返した結果、PCP消失が促進され、32.7 $\mu$ g/日/90ml培養物の消失速度が得られた。嫌気性PCP分解微生物群が集積したと考えられる。特性試験の結果から、異なる2種類のPCP分解微生物群の存在が示唆された。一つの微生物群では、電子受容体の硫酸イオン、硝酸イオンでPCP消失活性が阻害され、電子供与体の乳酸・酢酸により促進した。阻害剤のBESAの影響は無く、モリブデン酸では阻害された。熱処理により活性が失われた。また、H<sub>2</sub>分圧4.9%ではPCP消失活性が阻害され、低分圧では阻害がなかった。この微生物群を液体培地に植え継ぐと活性を消失した。以上より、この微生物群は、低H<sub>2</sub>分圧および固形物存在下で働くPCP消失活性を有し、その活性には酢酸を利用できる完全酸化型硫酸還元活性を持つ熱感受性菌が関与していることが示唆された。もう一つの分解微生物群も同様に低H<sub>2</sub>分圧条件下で働くPCP消失活性を有し(H<sub>2</sub>分圧4.9%で阻害)たが、こちらは電子供与体としてピルビン酸を用いる不完全酸化型硫酸還元活性(酢酸では消失活性無し)を持つ耐熱性菌群がPCP消失活性に関与していることが示唆された。

## Characterization of pentachlorophenol degrading anaerobic microorganisms

○ Yuko HANDA<sup>1</sup>, Hyo-Keun KIM<sup>2</sup>, Yasushi INOUE<sup>1</sup>, Shigeyuki ICHIHARA<sup>3</sup>, Arata KATAYAMA<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>Dep. Geotech. Environ. Engineering, Nagoya University <sup>2</sup>Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, <sup>3</sup>Faculty of agriculture, Meijo University <sup>4</sup>EcoTopia Science Institute, Nagoya University)