

4-2 に示した。ノンクロルダイベンゾフランの分解率をみると、SN-49910 の 65%が最も高く、次いで、SN-4997 が 58.6%、SN-4995 の 52.3%となっていた。この結果からみると SN-49910 菌株がダイベンゾフラン骨格の分解を行う上で有能な菌株であることを示している。また、その中間代謝物を調べたところ、芳香族である安息香酸やジベンゾエーテル等の産物がみられたが、ジベンゾエーテルの生成量が少ないことから、主な生成物は安息香酸であり、これらの代謝物はダイベンゾフランのベンゼン環が開環した後に生成される化学物質と推測された。ダイベンゾフランの分解代謝経路は、ダイベンゾフランの一方のベンゼン環が開環され、安息香酸等が生成していく経路であると推定された。

Table 4-2 Degradation of non-chlorinated dibenzofulane and polychlorinated biphenyl(KC-400) Table 4-3 Degradation of Coplanar Polychlorinated Biphenyls by 11 strains

Strain	degradation rate (%)		Strain	degradation rate (%)
	non-chlorinated dibenzofulane	PCB(KC-400)		Coplanar PCB (3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl)
SN-4991	33.2	30.4	SN-4991	11.1
SN-4992	48.1	98.0	SN-4992	18.2
SN-4993	44.0	80.3	SN-4993	0.0
SN-4994	38.1	87.9	SN-4994	33.3
SN-4995	52.3	98.4	SN-4995	55.6
SN-4996	41.0	95.5	SN-4996	0.0
SN-4997	58.6	98.2	SN-4997	14.0
SN-4998	38.4	75.7	SN-4998	-6.0
SN-4999	51.2	96.0	SN-4999	0.0
SN-49910	65.0	93.6	SN-49910	61.0
SN-49911	45.0	94.3	SN-49911	17.0

(2)ダイオキシン類似コプラナ PCB の分解

ダイオキシン類似のコプラナ PCB で最も毒性の強い 3,4,3,4'-Tetrachlorobiphenyl の分解(KC-400 における)について表 4-3 に示した。11 菌株のうち高い分解率を示した株は SN-49910 で、61.0%であった。次いで SN-4995 株が 55.6%を示した。菌株によっては分解をせず蓄積をする菌株(SN-4998)もみられた。微生物分解でもその分解が毒性や構造の違いにより異なることが指摘されている。これらのデータは、毒性による選択的分解として重要な結果を示している。

(3)PCB 異性体の中で分解困難物質の分解

現在までの研究で明らかになっている PCB の異性体の中で微生物分解困難物質とされている 4 及び 5 塩素化 PCB(2,6,2',6'-, 3,4,3',4'-tetra, 2,3,6,3',4'-penta-chlorobiphenyl) の 3 種類を対象に 11 菌株の分解力について調べた。その結果を表 4-4 に示した。表のように 3 物質に対し比較的高分解率を示したのは、SN-4992,SN-4994,SN-4995,SN-4997,SN-49910 の 5 株であった。中でも SN-49910 株は微生物分解困難物質とされている 4 及び 5 塩素化 PCB(2,6,2',6'-, 3,4,3',4'-tetra, 2,3,6,3',4'-penta-chlorobiphenyl) の 3 種類でも 65.0,61.0,60.0 と各物質に高分解率を示した。さらに、KC-400 の各主要な異性体を同定し、代表的菌株 4 種による分解率を計算し表 4-5 に、そのクロマトグラムを図 4-1 に示した。

Table 4-4 Degradation of undeegradation chemicals by 11 strains

Strain	degradation rate (%)		
	2,6,2',6'-tetra-chlorobiphenyl	3,4,3',4'-tetra-chlorobiphenyl	2,3,6,3',4'-penta-chlorobiphenyl
SN-4991	0.0	11.1	-11.1
SN-4992	25.0	18.2	25.0
SN-4993	0.0	0.0	5.6
SN-4994	15.0	33.3	33.3
SN-4995	10.0	55.6	50.0
SN-4996	0.0	0.0	0.0
SN-4997	45.0	14.0	0.0
SN-4998	5.0	-6.0	-11.0
SN-4999	5.0	0.0	3.9
SN-49910	65.0	61.0	60.0
SN-49911	0.0	17.0	20.1

Table 4-5 Analysis of the degradation of Kanechlor 400 by 4 strains

Spike number	Congener identification	degradation rate (%)			
		SN-4997	SN-4998	SN-49910	SN-49911
1	2,4,6-, 2,2',5'-	100	100	34	100
2	2,4,4-, 2,3,2'-	94	88	50	75
3	3,5,4'-	90	100	67	100
4	2',3,4-, 2,5,2',6'-	86	55	59	91
5	2,3,4-, 2,4,2',6'-	100	50	70	90
6	2,2',4,5'-	80	47	53	83
7 #	2,2',5,5'-	78	33	-76	57
8	2,3,4,5-	76	37	63	79
9	2,3,5,5'-	48	35	67	52
10	2,3,4,4'-	43	13	70	52
11	2,2',6,6'-	48	18	64	55
12 #	2,3,4,4'-, 2,3,3',4'-	45	5	65	30
13	2,3,5,2',4'-, 2,3,5,2',4'-	31	0	50	50
14 #&	3,4,3',4'-, 2,3,6,3',4'-	14	-6	29	0
15 #	2,3,6,3',4'-, 2,4,5,3',4'-	0	-11	61	17
16 &	2,3,4,3',4'-, 2,3,4,2',3',6'-	10	-16	60	20
Total degradation rate of 16 spikes		59	34	49	59

notice: # not degraded PCB congener, & toxic PCB congener

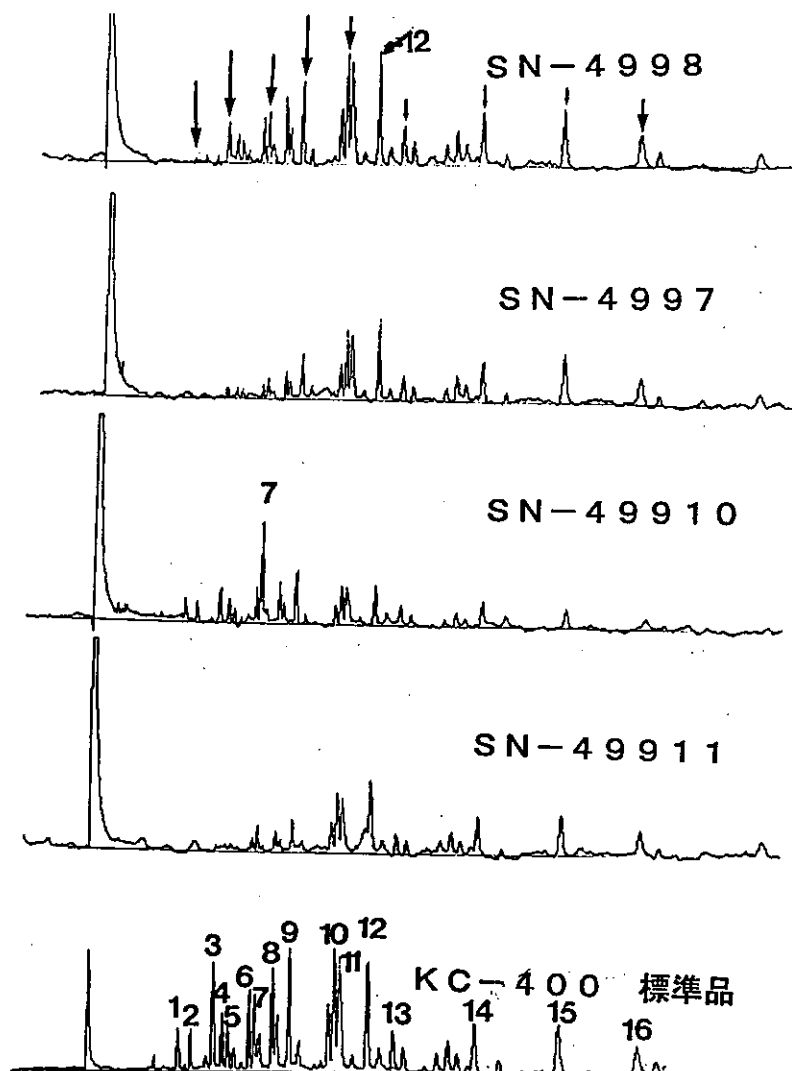


Fig.4-1 GC-ECD profiles of biodegradation of KC-400 by biphenyl-grown resting cells st. SN-4997, SN-4998, SN-49910 and SN-49911

微生物によるダイオキシン類の分解及び浄化を進める上で、特に問題となるのはダイオキシン類に中でも毒性の最も強い 2,3,7,8-TCDD の分解である。微生物分解では毒性が強いことや構造上の違いからも、その分解阻害が問題となり分解力の差がでることが知られている。209 の異性体を持つ PCB ではその異性体の構造により分解率が違うことが報告されている^{3,4,5,6)}。そこで、KC-400 の各ピークの減少から PCB の異性体による分解の違いと分解の特徴を調べてみた。これらの結果から、各菌株とも三塩化物及び四塩化物を含むピーク 5 まではよく分解することがわかった。四塩化物では、菌株によりその分解能力が異なっていた。なかでも毒性の強い 3,4,3,4-Tetrachlorobipheny (ピーク 15) では SN-49910 株をのぞいて低分解率であった。この結果は毒性の強い物質を微生物分解させるためには、その物質に耐性及び分解性のある菌種を選別することが重要であることを示している⁷⁾。

(4) コブラナ PCB 分解菌の KC-400 の分解能

11 種類の菌株のほとんどが KC-400 では 80-90% という高分解率を示した。これらの結果は、11

種の菌株が PCB 分解菌として分離された経過から考えて、予想どおりであった。

以上の結果から、これらの分解菌株は、ダイオキシン類や PCB 類の分解除去に用いることが出来るものと考えられる。また、高塩素化のダイオキシン類や各種異性体を持つ化学物質を微生物により分解処理する場合、各物質の分解能をよく調べる事が大事であり、場合によってはその特徴を生かし 2 種以上の菌種を混合培養することにより、より難分解性物質（高塩素化や毒性の強いダイオキシン類）も分解が効率よくなることも予想される。今後、難分解性ダイオキシン類のよりよい分解を行うため、分解菌の共生やその特徴の解明が必要であろう。

4. 2. 4 まとめ

ダイオキシン類を分解する菌種の選別やその分解力を調べるため PCB 分解菌 11 種類を用いてノンクロルダイベンゾフラン及びダイオキシン類似 PCB (コプラナ PCB) を含む各異性体間の分解を調べた。その結果は以下の通りであった。

- 1) ノンクロルダイベンゾフランの分解率をみると、SN-49910 の 65% が最も高く、次いで、SN-4997 が 58.6%、SN-4995 の 52.3% となっていた。
- 2) コプラナ PCB である 3,4,3',4'-Tetrachlorobipheny の分解では、11 菌株のうち高い分解率を示した菌株は 2 株で SN-49910 は 61.0%、SN-4995 株は 55.6% であった。
- 3) PCB の分解では、11 種類のほとんどの菌株が 80-90% という高分解率を示した。
- 4) PCB の異性体の中で分解困難物質である 3 物質にたいし比較的に高分解率を示したのは、SN-4992, SN-4994, SN-4995, SN-4997, SN-49910 の 5 株であった。中でも SN-49910 株は 65.0, 61.0, 60.0 と各物質にたいし高分解率を示した。
- 5) PCB 分解菌 4 株による KC-400 の各異性体ごとの分解率を調べたところ、4 菌株とも三塩化物及び四塩化物を含むピーク 5 まではよく分解することがわかった。四塩化物では、菌株によりその分解能力が異なっていた。
- 6) 以上の結果から、ダイオキシン類、特に有害な 4 塩基の 2,3,7,8-TCDD を効率よく分解するには、分解力とともに高塩素化合物も効率よく分解する菌種の分離が重要であることが解った。11 菌株で総合的にみて SN-49910, SN-4997 菌株が比較的よい結果を示した。

参考文献

- 1) Ikuro Souta, Toshiro Sakurai and Michio Hayashi: Isolation of a Pseudomonas Strain Resistant to Organic Solvents and Capable of Degrading Coplanar Polychlorinated Biphenyls, Biocontrol Science, 3, 57-62 (1998)
- 2) Furukawa, K., Matsumura, F., and Tonomura, K. Alcaligenes and Acinetobacter strains capable of degrading polychlorinated biphenyls. Agric. Biol. Chem., 42, 543-548 (1978).
- 3) Furukawa, K., N. Tomizuka, and A. Kamibayashi: Effect of chlorine substitution on the bacterial metabolism of various polychlorinated biphenyls. Appl. Environ. Microbiol., 38, 301-310 (1979)
- 4) Furukawa, K. Tonomura, and A. Kamibayashi: Effect of chlorine substitution on the biodegradability of polychlorinated biphenyls. Appl. Environ. Microbiol., 35, 223-227 (1978)

- 5) Donna L. Bedard, Ronald U., Lawrence H. et al. : Rapid assay for screening and characterizing microorganisms for the ability to degrade polychlorinated biphenyls, *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 761-768(1986)
- 6) Donna L. Bedard, Robert E. Wagner, Michael J. Brennan : Extensive degradation of Aroclors and Environmentally transformed polychlorinated biphenyls by *Alcaligenes eutrophus* H850, *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1094-1102(1987)
- 7) Daniel A. Abramowicz: Aerobic and Anaerobic biodegradation of PCBs: A review, *Biotechnology*, 241-251(1990)

5章 ラボラトリースケールのバイオリアクターによるダイオキシン処理実験

-膜分離型活性汚泥処理装置によるダイオキシンの分解-

(主任研究者 古市 徹 北海道大学大学院工学研究科 教授
研究協力者 中宮邦近 日本食品衛生協会 リサーチレジデント)

要旨

Pseudomonas sp. SN4995、*B. midousuji* SH2BJ2 そしてK汚泥を用いて膜透過型バイオリアクターにおけるダイオキシン類の分解試験を行った。*Pseudomonas* sp. SN4995、*B. midousuji* SH2BJ2 は4日間の培養で1 ppmのジベンゾフランをほぼ100%分解した。この時、*Pseudomonas* sp. SN4995 については、連続的な処理の可能性を示せた。また脱窒条件下においてK汚泥を用い、高塩素のダイオキシンの分解を行ったところ、4週間の培養で15 ng/Lのダイオキシンを96%分解し、その分解はダイオキシンの異性体に対して特異性は見られなかった。

5.1 緒論

微生物処理は、つきつめれば酵素反応であるため、低エネルギーで効率良く行える処理方法である。しかも、微生物を用いることによって、酵素および補酵素を生産しつつ目的の反応を行えるため、酵素の吸着や分解による失活の心配がなく、また高価な補酵素を外から加える必要がない。このように微生物処理には様々な利点がある反面、酵素の基質特異性の問題から、その応用には目的の基質を分解する酵素を持つ微生物を選択的に、高濃度まで増殖させる方法の確立が必要である。我々は第4章において *Pseudomonas* sp. SN4995 と *B. midousuji* SH2BJ2 が低塩化のダイオキシンを分解することを確認した。両菌株はそれぞれ、有機溶媒に耐性を持つ、60°C以上といった高温で増殖するなど、通常微生物の生育しない条件下で微生物の増殖ならびに酵素反応を行えるため、雑菌の進入による接種菌株の減少が最低限に抑えることが出来るので開放した系での利用の可能性が示唆される。

本章では、有機溶媒に耐性を持つ細菌 *Pseudomonas* sp. SN4995 と、高温で増殖する細菌 *B. midousuji* SH2BJ2 を用い、紫外線処理後の低塩素のダイオキシンの微生物分解を想定し、ラボラトリースケールのバイオリアクターによるジベンゾフラン分解処理実験を膜透過型の15 L容のバイオリアクターを用い開放系において行った。

さらに、高塩素化したダイオキシンの微生物による分解処理可能性を評価するため、K汚泥「稼働中の一般廃棄物処分場浸出水処理プラント（処理方式：生物学的硝化脱窒法）の脱窒槽から採取した汚泥」のダイオキシンの吸着除去と微生物分解の評価を膜透過型の15 L容バイオリアクターを用い脱窒条件下で培養試験を行った。

5.2 材料と方法

培地と培養

Pseudomonas sp. SN4995 : PAS 培地[脱イオン水 1L に対しピフェニル 1 g、 $(\text{NH}_4)_3\text{SO}_4$ 1 g、 KH_2PO_4 0.2 g、 K_2HPO_4 1.6 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g、NaCl 0.1 g、 FeSO_4 0.01 g、 CaCl_2 0.015 g (pH 7.5)] を用い 30°C で培養を行った(1)。固体培地には寒天 1.5% を加えた。リアクター運転の前培養には

LB 培地を用いた。

B. midousuji SH2BJ2 : トリプチケースソイ培地(ベクトン ディキンソン社)を用い 65°Cで培養を行った(2)。固体培地には寒天 1.5%を加えた。

K 汚泥 : 1 カ月間浸出水にメタノール 2.2g/L を加えダイオキシンを汚泥に吸着しつつ好氣的に培養した後、人工下水[培地組成は脱イオン水 1L に対し NaNO₃ 2,430 mg、CH₃OH 2.2 g、K₂HPO₄ 21.75 mg、KH₂PO₄ 8.5 mg、Na₂HPO₄•12H₂O 44.6 mg、NH₄Cl 1.7 mg、MgSO₄•7H₂O 22.5 mg、CaCl₂ 27.5 mg、FeCl₃•6H₂O 0.25 mg (pH7.0)]を用い嫌氣的に 28 日間にわたって 20°Cで培養した。

微生物の増殖の評価

Ubest 50(日本分光)を用い、660nm の吸収を測定して行った。

実験装置

概略図を Fig. 5-1 に示す。装置は 15L 容の膜透過型のリアクターで、セラミック膜によって槽内の菌体の流出を防ぎ、これによって槽内に高濃度の菌体が固定され、ダイオキシ人と微生物の接触率が高められる。また装置外側のジャケットに温度調整した水を循環させることで槽内の温度を一定に保持する。さらにブロワーにより槽内の汚泥を攪拌すると共にセラミック膜の目詰まりが解消される。槽内を嫌氣的にする場合、リアクター上部を密閉し、ブロワーで空気を循環することで槽内が嫌氣的に保たれる構造を持つ。

運転条件

Pseudomonas sp. SN4995 菌株

リアクターの運転は、30°Cで空気をバッキして行った。処理試験時は 6 L/day の流速で PAS 培地を添加し、同量の処理水を集めた。処理試験時以外の培養では培地の添加、処理水の採取は行わなかった。

B. midousuji SH2BJ2 菌体

リアクターの運転は、65°Cで空気をバッキして行った。全ての培養において培地の添加、処理水の採取は行わなかった。

K 汚泥

リアクターの運転は、槽内を密閉して 20°Cで行い、バッキした空気は上部から取り込み再びバッキし、槽内の酸素が微生物の呼吸で消失するようにした。運転状況の監視は、pH、SS、ORP、DO、硝酸濃度を定法で測定して行った。

HRGC-HRMS 用サンプルの作成

培養液または汚泥は、冷却遠心機(Hitachi Himac 21)を用い 10,000 rpm で 10 分間遠心し、上澄と沈殿とに分離した。上澄は、1 L に対してトルエン 50 mL を用いて分液ロートで 10 分間激しく振とうし、トルエン層を得た。沈殿はトルエン 50 mL にケンダクし、10,000 rpm で 10 分間遠

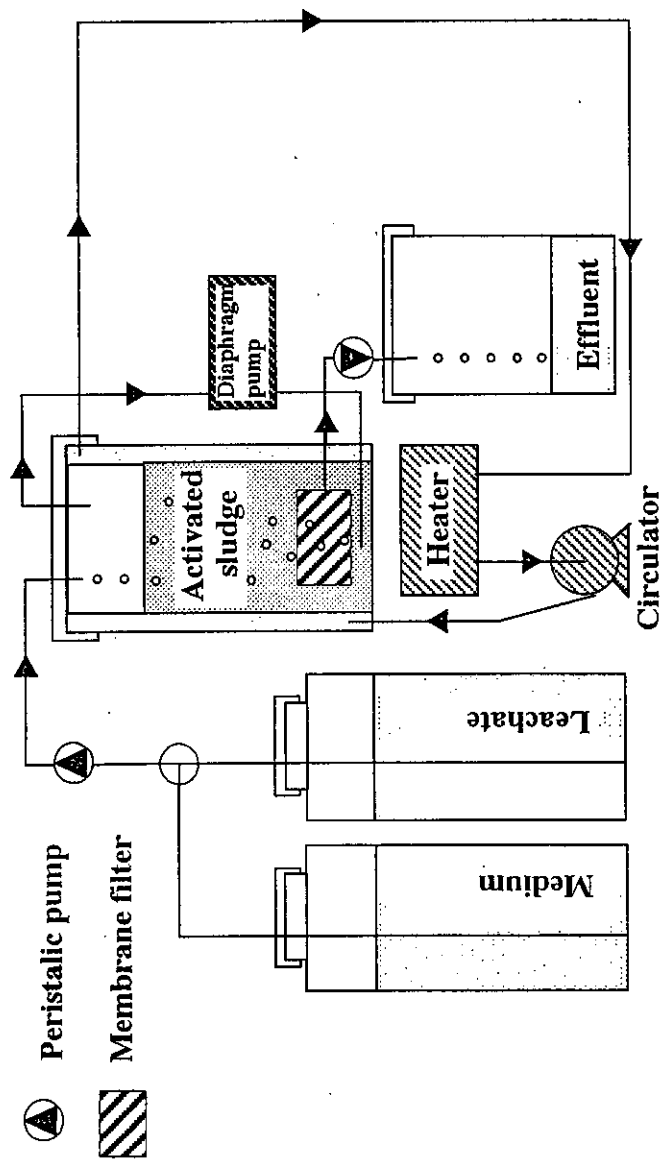


Fig. 5-1 Schematic diagram of a laboratory scale reactor system used for degradation of dioxins.

心しトルエン層を得る操作を10回繰り返した。上澄由来のトルエン層と沈殿由来のトルエン層を集め、ロータリーエバポレーターを用い70°Cで減圧下、約20 mLまで濃縮し、これに硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、硫酸を20 mL加え激しく振とうした。この操作は硫酸層の黄色の着色が肉眼で確認出来なくなるまで行った。次にトルエン層に蒸留水を20 mL加え残留する硫酸を除き、硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、窒素気流下で100 μ Lに濃縮し、分析用サンプルとした。

処理水は1 Lに対してトルエン50 mLを用いて分液ロートで10分間激しく振とうし、トルエン層を得た。以下は上記と同じ処理をした。

本方法によるダイオキシン類の回収率を求めするため、脱窒汚泥500 mLに濃度既知のジベンゾフランもしくはダイオキシン類を加え、それから上述の方法で回収試験を行ったところ、ジベンゾフランで50%、4塩化以上のダイオキシン類でほぼ100%の回収率であった。

5. 3 結果

(1)単離菌株によるリアクター実験

LB培地を用い30°Cで2日間好氣的条件下で、前々培養した *Pseudomonas* sp. SN4995 菌株1.5 Lを新鮮なLB培地13.5 Lを加えたリアクターに接種し、1日前培養した。前培養終了時の菌体濃度はOD660nmで2.5であった。ここで前培養液にジベンゾフラン1 ppmを加え本培養を開始し、同時にPAS培地を6 L/dayの流速で加え、同量の処理水を集めた。4日間の培養を行い、24 Lの処理水のうち12 Lと培養液2.5 Lから分析用サンプルを作成した。結果、*Pseudomonas* sp. SN4995 菌株は、加えた15 mgのジベンゾフランのうち培地中に4.1%と処理水中に0.04%が検出された。これより微生物により分解された割合（分解率）は96%に達した。またこの時、分解と合わせて汚泥に吸着除去された割合（除去率）は99%に達した(Table 5-1)。

B. midousuji SH2BJ2 菌をトリプチケースソイ培地1.5Lに対し65°Cで1日前々培養し、これを新鮮なトリプチケースソイ培地13.5Lを加えたリアクターに接種し、1日前培養した。前培養終了時の菌体濃度はOD660nmで0.9であった。4日間培養後の培地からはジベンゾフランは検出されなかった。よって、分解率は100%であった(Table 5-1)。

(2)K汚泥によるリアクター試験

運転開始より通気した条件下でダイオキシンを含む浸出水にメタノール1370 mg/Lを滴下し続け、汚泥を安定化させると共に、浸出水中のダイオキシンを汚泥に吸着させた。30日後、槽内を嫌氣的に保つためリアクター上部を密閉したところDO値、ORPが下がり、次いで硝酸も低下し、脱窒が始まった(Fig. 5-2-1, 5-2-2)。また脱窒開始時点で浸出水から人工下水に切り替えた。この時点で汚泥サンプル500 mLを取り、脱窒反応開始時のダイオキシン濃度を測定した。この条件下で、さらに4週間リアクターを運転し、運転中の処理水をトルエン抽出した。また4週間培養後の汚泥、15Lからダイオキシンを抽出した。この時、リアクター内へ吸着したダイオキシンを回収するため、リアクターをトルエンで洗浄し、その洗浄液を汚泥からのトルエン抽出溶液に加えた。

脱窒条件下で培養を開始した時点で、K汚泥のダイオキシン濃度は約15 ng/Lであった(Table 5-2)。これを4週間培養することでK汚泥のダイオキシン濃度は約0.4 ng/Lに減少した。処理

Table 5-1 Mass balance of the degradation of dibenzofuran by two strains.

Strain 4995		
Remaining rate of dibenzofuran in culture medium(%)	eluted water(%)	Total degradation rate (%)
4.1	0.04	95.9
Strain SH2BJ2		
Remaining rate of dibenzofuran in culture medium(%)	Total degradation rate (%)	
0	100	

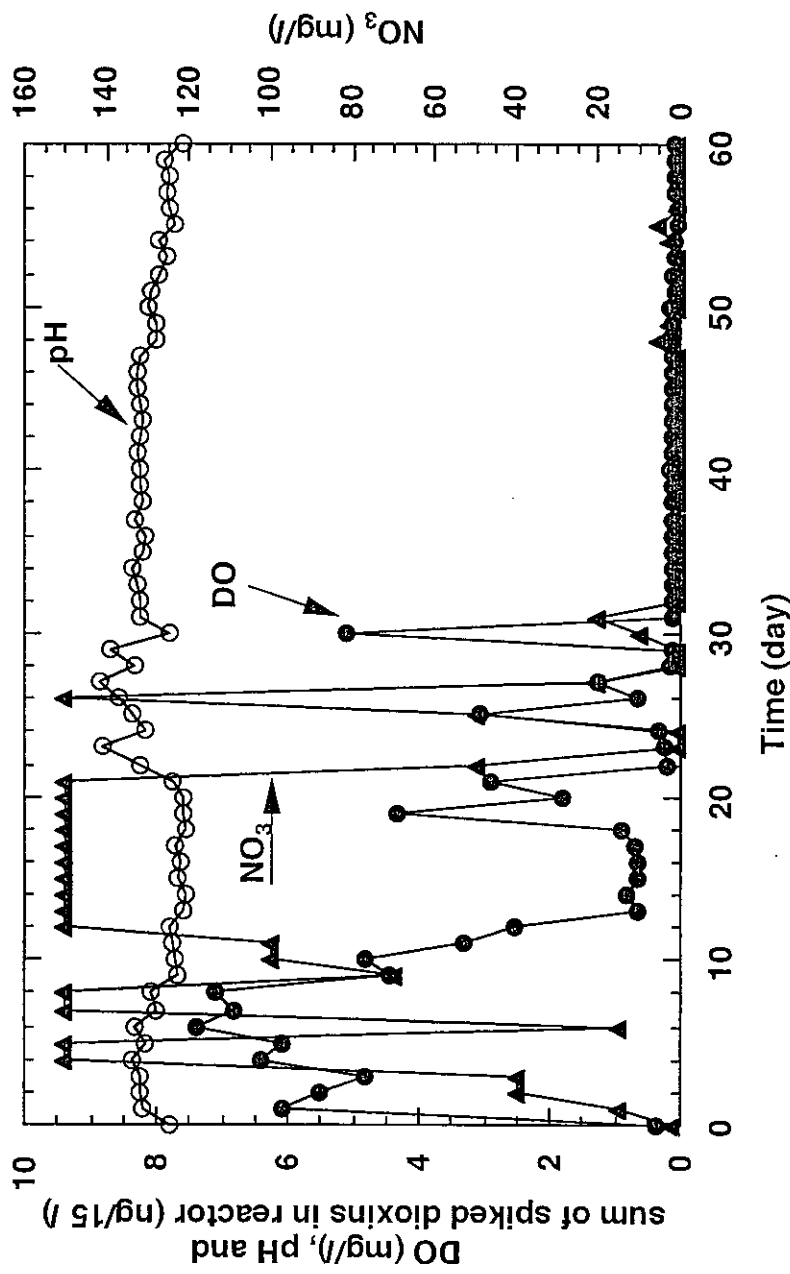


Fig. 5-2-1 Fermentation conditions of the bioreactor using K sludge.

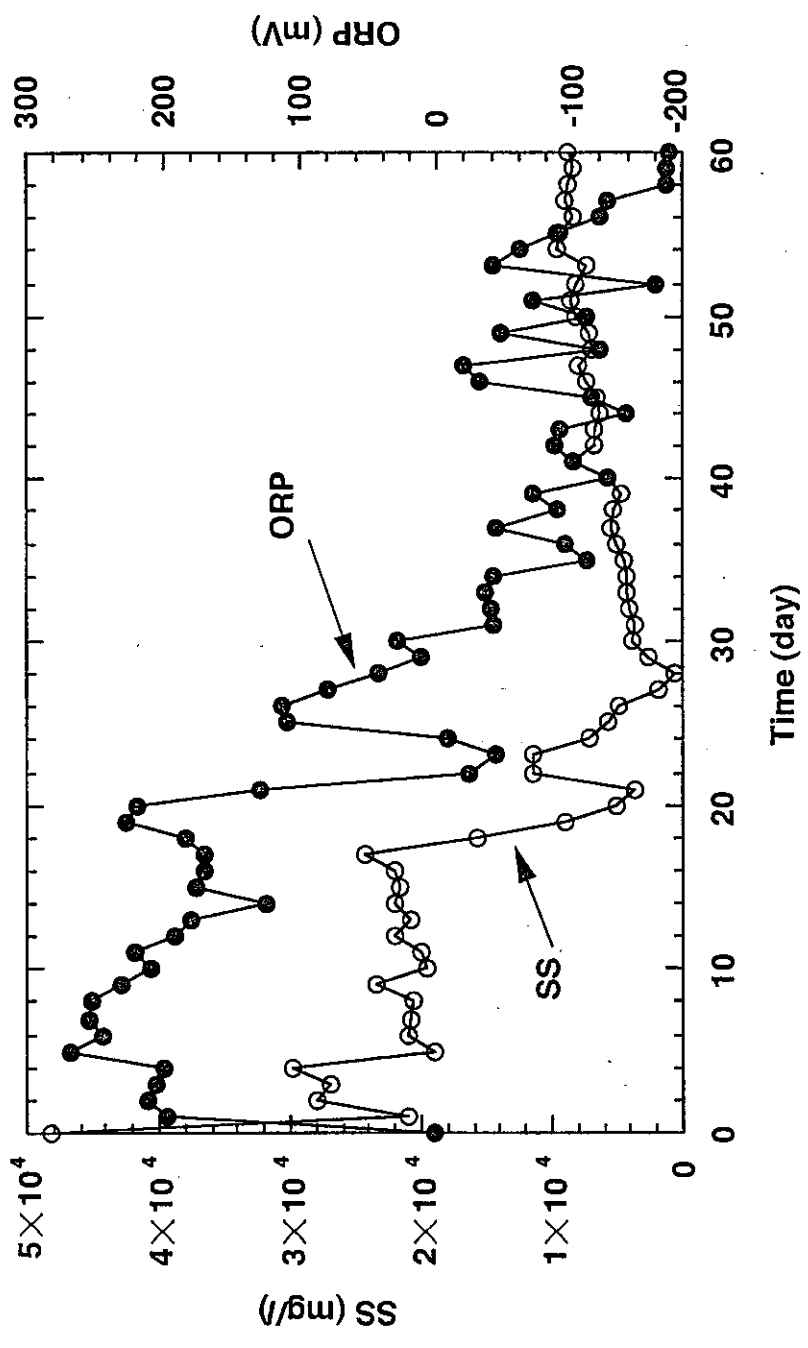


Fig. 5-2-2 Fermentation conditions of the bioreactor using K sludge.

Table 5-2 Mass balance of the degradation of dioxins by K sludge.

Initial dioxin concentration in K sludge (pg/l)		
	15220	
Remaining amount of dioxins in culture medium (pg/l) in effluent (pg/l) Total degradation rate (%)		
435	1.4	96

Table 5-3 Composition of dioxins in the K sludge and effluent.

	Dioxin (pg/l)				Furan (pg/l)					
	T4	P5	H6	H7	O8	T4	P5	H6	H7	O8
K sludge										
Initial contents	2546	599	757	1853	4094	450	1244	1655	1157	820
After cultivation	254	30.6	17.8	25.8	88.8	44.8	24.3	14	21.2	13.3
Effluent	0.7	0.4	0.2	3.1	3.5	0.5	0.3	0.2	2.9	2.4

T4; tetrachlorinated dioxins, P5; pentachlorinated dioxins, H6; hexachlorinated dioxins,
H7; heptachlorinated dioxins, O8; octachlorinated dioxins

水中のダイオキシン濃度は 1.4 pg/L で、1日 6 L の処理水を 4 週間にわたって採取したので、計 235 pg のダイオキシンが処理水中に溶出したことになる。これと、15 L 中の脱窒開始時のダイオキシン濃度と 4 週間後のダイオキシン濃度から、ダイオキシンの分解率は 96% に達した。また除去率は 99% に達した。さらに分解後のダイオキシンの組成を、分解前のダイオキシンの組成と比べても、異性体に特徴的な分解は無く、ほぼ均等に低塩素の物から高塩素の物まで分解されていた (Table 5-3)。

5. 4 考察

ダイオキシン類のリアクターを用いた微生物分解に関する研究が幾つか報告されている。中村らは、アクリルアミドで包括固定化した *Pseudomonas aeruginosa* を用い、ジベンゾフランそしてジベンゾ-P-ダイオキシンの分解を試みた (3)。これでは両化合物はほぼ 100% 分解された。また稲森らは、上記固定化微生物の連続培養を試み、1 年後においても良好な活性が維持されていたことを報告している (4)。本実験においても、二種の単離菌株、*Pseudomonas* sp. SN4995 と *B. midousuji* SH2BJ2 菌を用い、ジベンゾフランの分解を試み、両菌株共にほぼ 100% 近い分解を示した。これはアクリルアミドによる方法と同様にセラミック膜によって槽内から菌体の流出を防ぎ、これによって槽内に微生物が高濃度に保たれたためと考えられる。しかしながら、アクリルアミドのモノマーは神経毒性を持つため、包括化合物の未重合物による二次汚染が考えられる (5)。これよりセラミック膜による濾過方法はアクリルアミドによる包括方法よりも環境に対する安全性の面で優れているといえる。また本研究は応用的使用を目的としていることから、開放系で実験を行い、この結果ほぼ 100% の分解率を得たことから、雑菌による活性の低下がほとんどなかったものと思われる。

活性汚泥を用いたダイオキシン分解の報告が武藤らによって行われている (6)。そこでは *P. aeruginosa* を加えた活性汚泥を用い、ジベンゾフランの分解除去を行っており、30 日の培養でほぼ 100% の分解が確認されている。しかしながら、塩素化したダイオキシンの分解性についての報告は武藤らの報告を含めてまだ無い。加えて活性汚泥を用いメタノールを基質として脱窒条件下で高塩素のダイオキシン類の分解を報告した研究は我々が初めてである。

廃水処理の分野では、排水中のアンモニアを取り除くための定法として、一度好気的な条件下で硝化細菌によってアンモニアを硝酸にし、これを脱窒細菌によって窒素として大気に放出する反応を行う。この反応において、脱窒細菌の培養における安価な炭素とエネルギー源として C1 化合物であるメタノールが採用される。本実験で用いた K 汚泥は、まさにこの行程に組み込まれた活性汚泥であり、本実験はそのスケールダウンとして行ったものである。仮に本方法におけるダイオキシン分解がメタノールにより集積される微生物群により普遍的に起こる反応であれば、その実用性は保証されていると言っても過言ではない。

そこで現在、K 汚泥から数種の微生物を分離している (Table 5-4)。これらの菌体によるダイオキシン分解活性の有無については現在実験中である。しかしながら、分離菌株群はメタノール資化菌をはじめ、メタン資化菌、アンモニア資化菌などで、これらは微生物の生命活動を司る一次代謝系酵素の副反応として PCE などの有機塩素化合物を分解するとの報告があり、またメタン資化菌はメタノールを唯一の炭素源として増殖する事が出来る (7)。さらに、有機塩素化合物の

Table 5-4 Habitant in K sludge

Methanol utilizer	Ammonium utilizer	Methane utilizer
K-1	K-8	K-10
K-2	K-9	K-11
K-3		
K-4		
K-5		
K-6		
K-7		

分解酵素でもある、メタンモノオキシゲナーゼはメタノールで培養したメタン資化菌からも生成されることが、Harber らの論文に示されている(8)。今回使用した K 汚泥はメタノールを単一炭素源として使用しており、メタン資化菌が選択的に槽内に増殖したことが容易に示唆される。このことから、上記の菌が高塩素のダイオキシンの脱塩素反応を促進し、低塩素のダイオキシンの分解したと考えられる。加えて、脱窒細菌はベンゼン環の分解を促進するとの報告があり(9)、低塩素化したダイオキシンのベンゼン環を分解し、完全無機化が行われたと推測される。よってこれらの微生物群が高塩素のダイオキシンの分解を効率よく行っているものと考えられる。

今後は *Pseudomonas* sp. SN4995、*B. midousuji* SH2BJ2 そして K 汚泥による至適分解条件を検討すると共に、K 汚泥より分離した微生物によるダイオキシン分解を試験し、その結果をリアクター実験に還元する。

参考文献

1. Souda, I., Sakurai, T., and Hayashi, M.; *Biocontrol Science*, 1998, 3, 52.
2. 保科 定頼、医療廃棄物研究, 10, 81, 1998.
3. 中村 智明、戒野 棟一、稲森 怒平、須藤 隆一、石黒 智彦、日本水処理生物学会誌、p53、1993.
4. 稲森 怒平、今井 章雄、中村 智明、戒野 棟一、石黒 智彦、須藤 隆一、水環境学科誌、p698、1992.
5. Shanker, R., Ramakrishna, C., and Seth, K.; *Arch. Microbiol.*, 1990, 154, 192
6. 武藤 暢夫、野知 啓子、石黒 智彦、建築設備工学研究所報、p45、1994.
7. Colby, H., Dalton, R., Whitterbury, R.; *Ann. Rev. Microbiol.*, 1979, 33, 481.
8. Haber, L., Allen, L. N., Zhao, S., and Hanson, R. S.; *Science*. 1983, 221, 1147.
9. Crawford, J. J., Sims, G. K., and Mulvaney, R. L.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, 49, 618.

6章 実用化に向けての技術的検討

6.1 前処理としてのUV処理技術と抽出可能性調査

(オブザーバー 寺尾 康 株式会社クボタ 環境研究部 課長)

(1) PCB分解の文献レビュー

PCBの微生物分解については、過去にいくつか研究事例がある。表6.1は、その主な事例をまとめたものであるが、その大部分は金原ら¹⁾の研究グループによるものである。彼らの研究で注目すべきは微生物分解の前処理として、UV(紫外線)照射によってPCBを脱塩素化している点で、微生物が分解しやすい低塩素化構造にした上でリアクターに供している。ダイオキシン類を微生物分解する際にも同様の処理が有効であると予想される。

表6.1 PCB分解の文献レビュー結果

No.	研究者	対象	手法	結果
1	金原 ¹⁾	PCB	UV+微生物処理	UV照射により溶媒中のPCBは脱塩素され、塩素置換数が3以下のものに変換された。その後に微生物処理を行い、1週間以内に完全に分解した。
2	小穴 ²⁾	PCB	UV+微生物処理	UV照射によりPCBを脱塩素し、塩素置換数が少なくかつ微生物が分解できないm位の塩素を含まない構造とした後、4以下の塩素置換体の大部分と一部の5塩素置換体PCBを最終的に水と炭酸ガスに分解できる強力な微生物を発見した。
3	志村ら ³⁾	PCB	UV+微生物処理	UV照射により脱塩素化して微生物が分解しやすい構造となったPCBを、2段階微生物処理(1段階目は高濃度のPCBでも活発に増殖して分解するグラム陰性PCB分解菌TK-102株、第2段階目は強力な分解能を持つグラム陽性菌Rhodococcus属TSP203株)によって、6日で環境基準の3ppb以下まで分解できた。
4	柿本ら ⁴⁾	PCB	UV	アルカリ性2-7°C水中のPCBのUV照射による光分解経路を決定した。PCBの紫外線分解はo位塩素の脱離が容易であり、還元的脱塩素化経路はUVの波長、反応溶媒によらず同一であった。塩素の置換位置によりPCB異性体の分解速度に相違があった。
5	金原 ⁵⁾	PCB	UV+微生物処理	UV照射で脱塩素したPCBを微生物分解することにより、PCBを完全に分解する方法を考案し、PCB分解微生物としてグラム陽性菌、グラム陰性菌を見いだした。
6	早川ら ⁶⁾	PCB	UV+微生物処理	高塩素化PCBにUVを照射することで塩素を除去し、

				微生物分解しやすくするとともに、分解速度及び分解能に優れた2種類の分解菌を利用するPCBの完全分解系を考案、UV照射装置と1,000Lの培養の可能な2基の大型培養槽からなるパイロットプラントを設置し実証試験を行った。
7	金原 ⁷⁾	PCB	UV+微生物処理	UVを照射してPCBの塩素数を減少させた後、グラム陰性菌 <i>Comamonas testosteroni</i> TK102株を用いた生物処理を行い、PCBが完全に分解されることを確認した。1.4tの培養槽を備えたパイロットプラントを設計・建設し、実証実験を遂行中である。

(2) UV照射による脱塩素化

UV照射によりダイオキシン類の異性体プロフィールの変化を示した例を表6.2に示す^{8),9)}。これは、焼却飛灰の溶出水を対象にしたUV照射による分解結果の一例であるが、PCDDs, PCDFsともに高塩化物の分解が顕著であることがわかる。

表6.2 紫外線照射による脱塩素反応の例⁹⁾

	供試原水	Run 1	Run 2
T ₄ CDDs (ng/L)	0.0054	0.0041	0.0044
P ₅ CDDs (ng/L)	N.D	0.0027	N.D
H ₆ CDDs (ng/L)	N.D	N.D	N.D
H ₇ CDDs (ng/L)	0.053	0.017	0.0018
OCDD (ng/L)	0.12	0.019	0.0023
T-PCDDs (ng/L)	0.1784	0.0428	0.0454
T ₄ CDFs (ng/L)	0.03	N.D	0.0013
P ₅ CDFs (ng/L)	0.0077	N.D	N.D
H ₆ CDFs (ng/L)	0.0072	0.0013	N.D
H ₇ CDFs (ng/L)	0.033	0.0091	0.0081
OCDF (ng/L)	0.01	0.0029	0.0036
T-PCDFs (ng/L)	0.0879	0.0133	0.0013
T-PCDDs + T-PCDFs (ng/L)	0.2663	0.0561	0.0584

・ 供試原水：浸出水による焼却飛灰の溶出液

・ UV照射装置：低圧水銀ランプ40W；反応時間：Run1：150 min, Run2：300 min

(3) 土壌からの汚染物質の抽出

土壌中に含まれるダイオキシン類の微生物分解を実規模で実現するには、ダイオキシン類汚染媒体をバイオリクターに供する前の前処理プロセスも含めたトータルフローとして、

様々な方式が考えられる。仮に、土壌を掘削して処理する (Ex-Situ) ものとして、掘削した土壌をそのままリアクターに供給するよりも、土壌を分級・選別して砂利等を除いた後、抽出処理を行い、ダイオキシン類を溶液側に移行できれば、後段の処理は比較的容易になる。抽出操作を含めた処理フローの例を表 6.1 に示す。さらに、抽出液に含まれるダイオキシン類の異性体プロフィールを調べ、必要に応じて UV 照射による低塩素化を行った後、バイオリアクターに供給するプロセスフローが、有効であると考ええる。

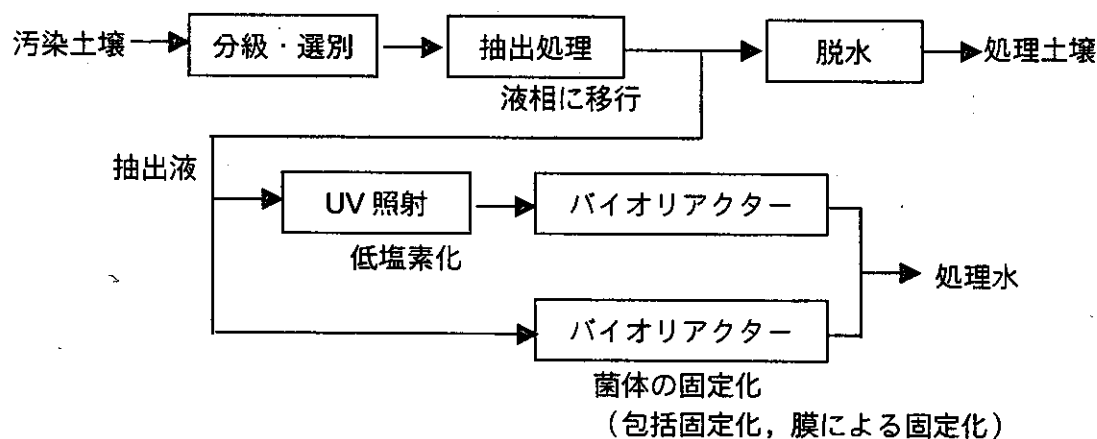


図 6.1 汚染土壌処理フローのイメージ

汚染物質の抽出の容易さは、汚染物質の種類や土壌の性状、さらに汚染後の経過時間等に影響される。また、抽出操作としては、一般に次のような図式になると考えられる。すなわち、まず土壌と混ぜる抽出媒体に何を选ぶか、次に混合後、どのような環境でどれくらいの時間、抽出操作を行うか、さらに抽出終了後、土壌と溶媒をどのように分離するかが主なポイントとなる。これらについては、次年度の研究課題となる。

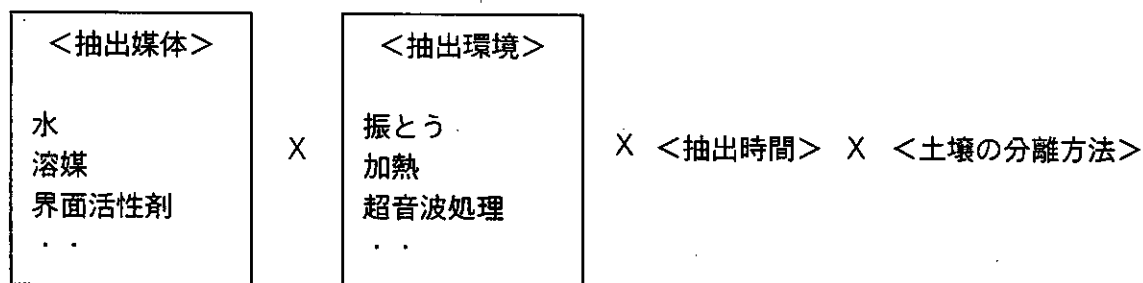


図 6.2 抽出操作の条件

参考文献

1) 金原 和秀, 「微生物による PCB の分解」, 月刊エコインダストリー, pp.5-14 (1996)