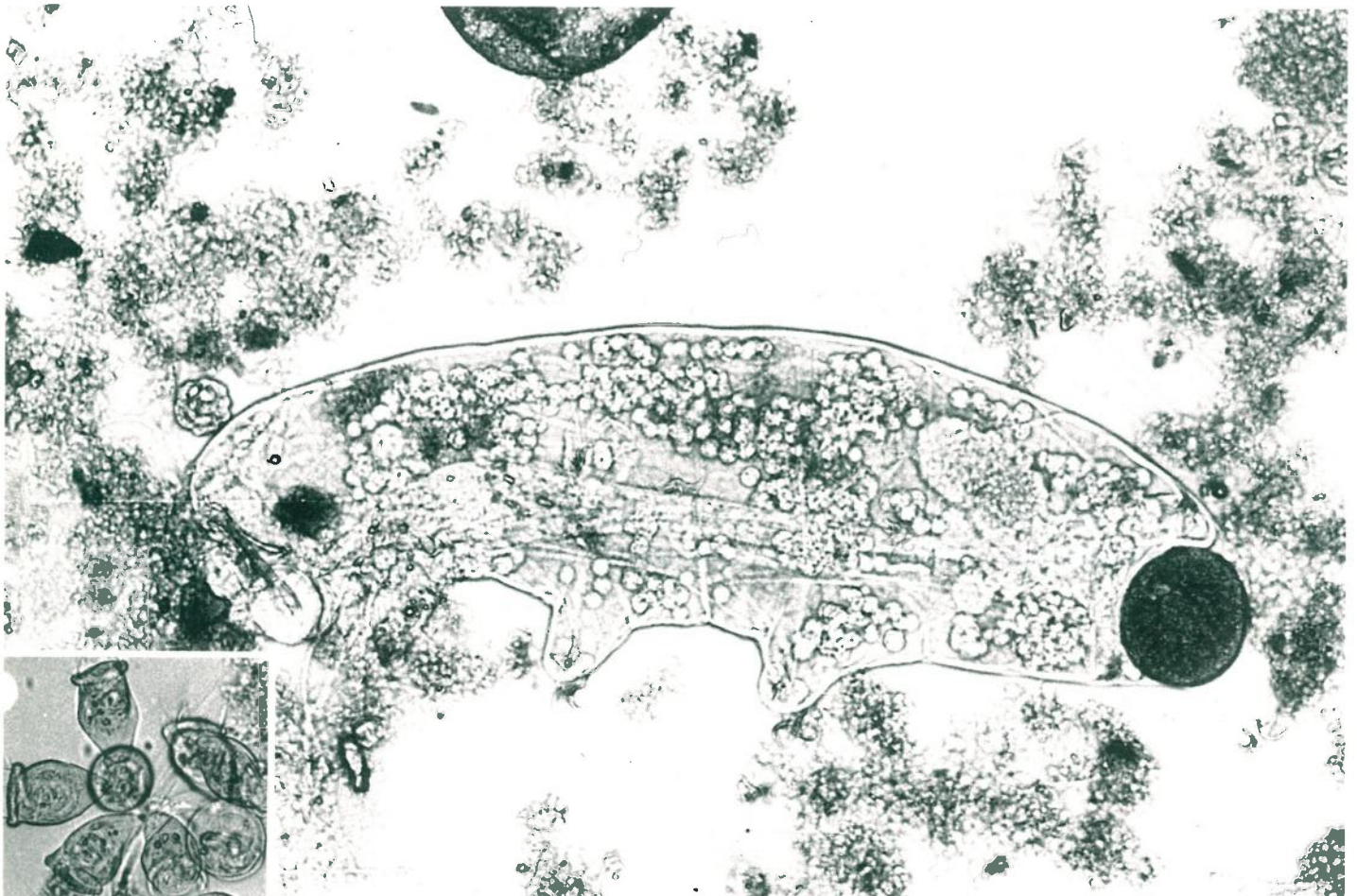


BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

農業試験研究一世紀記念



表紙説明

活性汚泥中の後生動物 *Macrobritus* sp. (俗称クマムシ, 中央) と原生動物 *Zoothamnium* sp. (俗称ツリガネムシ, 左下)

活性汚泥は種々の細菌および、これら後生動物、原生動物等の集団からなっており、水質の浄化機能を発揮している。クマムシは先端の口から歯針を出して栄養を摂取する。後の黒い球状のものは産卵直後の卵。ツリガネムシは先端の繊毛を動かして細菌を捕食する。

(本文 15 ページ参照)

国内情報

環境問題を考える、深海微生物による石油分解、芳香族塩素化合物の分解菌、UASB法による産業排水の処理、排水処理における固液分離障害対策、バイオレメディエーションによる汚染修復技術、悪臭の除去

地域の先端研究 26

水産物を原料とした機能性食品素材

文献情報 28

組換え植物の野外試験、オーキシンの極性輸送と子葉形成、新実験材料としての組換え植物体

本号の紙面

口 絵

国内情報

浅賀宏一

環境問題を考える……………1

森屋和仁

深海微生物による石油分解……………3

宮下清貴

芳香族塩素化合物の分解菌……………6

依田元之

UASB法による産業排水の処理……………10

秋山直樹・長谷川忠雄

排水処理における固液分離障害対策——活性汚泥中の糸状性微生物および
放線菌による固液分離障害に対するイオネン系ポリマーの効果……………15

平井正直

バイオレメディエーションによる汚染修復技術……………18

太田欽幸

悪臭の除去——微生物による分解……………22

地域の先端研究

太田智樹

水産物を原料とした機能性食品素材の開発……………26

文献情報

組換え植物の野外試験の生態学的側面……………28

植物の胚形成初期においてオーキシンの極性輸送は子葉形成のために必須である……………29

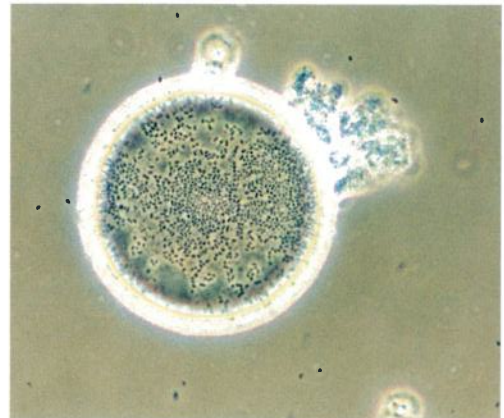
新しい実験材料としての組換え植物体……………30

深海微生物による石油分解 (本文 3 ページ)



石油炭化水素分解細菌フラボバクテリウム属
DS-711株

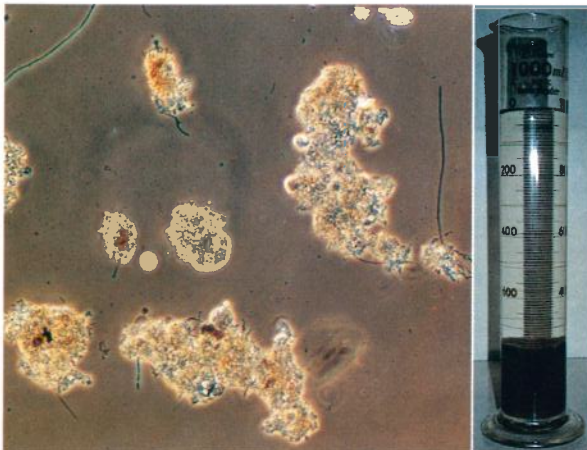
駿河湾の水深1945mの海底土から分離された



DS-711株が石油の小さな油滴
(約80ミクロン) の中に入りこ
んで炭化水素を食べている
まるい大きな球が油滴で、中の小さ
な黒点が細菌(DS-711株)

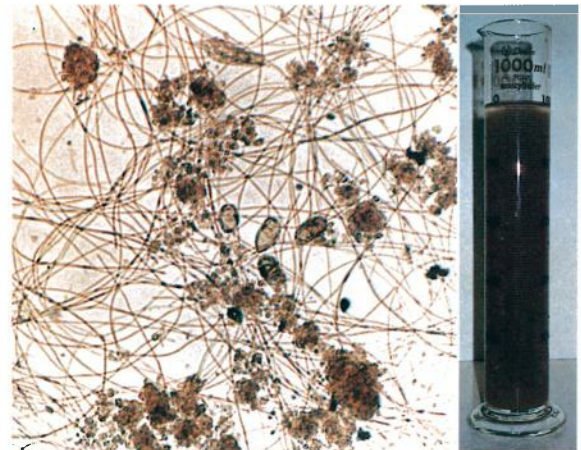
排水処理における固液分離障害対策 (本文 15 ページ)

活性汚泥中の糸状性微生物および放線菌による固液分離障害に対する
イオネン系ポリマーの効果



固液分離が良好な活性汚泥

左：細菌でフロックが形成されている
右：静置30分後の活性汚泥
(固液分離がよい)



糸状性バルキング状態の活性汚泥

左：糸状性微生物が繁殖している
右：静置30分後の活性汚泥
(固液分離が悪い)

環境問題を考える

前 農業環境技術研究所
浅賀宏一

1. はじめに

現在、地球環境問題に対する関心が大変に高まっている。特に、昨年（1992年）は「地球サミット」がブラジルで開催されたこともあり、環境問題がマスコミで報道されない日がないといっても過言ではなかった。今年に入って、環境問題が扱われる比率は若干減ったようであるが、環境問題は決して改善されたとは言えず、関心が低くなったわけではない。

「地球サミット」において合意された「アジェンダ21」は40章から構成されているが、そのうちの第9章から第22章までの14章に、現在問題となっている環境問題について記述してある。その中でも特徴的なのは、第19章から22章にわたって有害化学物質、有害廃棄物、固形廃棄物、放射性廃棄物それぞれの環境上健全な管理について触れていることである。このように廃棄物に多くの章を割くということはそれだけ問題が多く、これからの地球環境問題を考える一つの中心をなすためであろう。

2. 環境問題の原因

環境問題を引き起こす原因にはいろいろなものが考えられるが、そのいずれもが当然のことながら人間活動の結果である。特に物事は量的にある限度を超えると質的な変化を生じるが、現在の環境問題について言えばもう

質的転換点に立っているといえる。日本のような自然に恵まれた環境にあつては、具合の悪いことは水に流し、3尺流れれば水清し、といった格言にもあるように、全て自然界によって浄化されるということを暗黙の了解として、自然に依り掛かった行動をしてきた。

この様な考え方は、日本だけでなく世界共通であり、周囲の環境が悪くなれば新しい天地を求めて移動し、そこで新しい生活を作り上げてきた。現在、地球環境の破壊の代名詞の様になっている焼畑も、昔の様に周囲の環境に対し影響部分が小さければ問題はなかった。焼畑農業のスケールが小さく、地域を巡るのに十分な時間を取り、自然の環境容量のなかで行われていたならば、ふたたび住民が元の場所に戻ってきた時には自然は昔の姿で彼等を迎えてくれたであろう。そういった意味では、焼畑農業は環境に大変によく適応した農法であったといえる。しかし、現在の焼畑は自然の回復力を超えて大規模に行われており、そこでは昔の自然に戻る余裕はない。自然の持つ復元力を超えて人間が自然に対して負荷を与えていることが環境問題の基本的な原因である。

3. 有限か無限か

かつて「成長の限界」をローマクラブが出した頃地球上の資源には限りがあり、その結果成長はストップするといった理解をした向きが多かったように思う。その後、科学技術の進歩によりその予測は一見崩れたかに見える。確かに経済的な視点からみた場合、限界は破られたかのように見える。経済というの

は一つの人間活動であり、そのなかでは無限の成長が約束されているような考え方もあり得る。

それに対して自然科学的視点に立って地球を眺めたとき、地球と言う閉ざされた空間を相手にしている限りでは、有限ということを前提に物を考えなければならない。環境容量は無限ではないということであり、それを忘れて無限の成長があり得るといった考え方、そこに環境問題の本質がある。少なくとも、物質的な側面から見れば成長には限界があるといわざるを得ない。

4. 地球システム

地球の化学成分の組成は他の惑星とそう大きな違いがあるわけではない。他の大気を持つ惑星、たとえば金星、火星と地球とで大きく異なるのは、大気中の二酸化炭素の組成である。地球上に生命が存在しなかったとすれば、大気中の二酸化炭素の比率は他の惑星と同様に98%位に達すると見られる。これに対し実際の地球上の二酸化炭素の組成は0.03%であり、これを維持しているのは他の惑星にはない生命の存在である。

現在の地球が地球たりえているのは太陽からのエネルギーを生命を中心とした複雑な構造の中で使い、熱として地球外へと放出しているからである。このバランスが崩れたとき地球は温暖化なり寒冷化なりが引き起こされることになる。この複雑な構造を形作っているのが、物質循環に関わる植物、動物、微生物の関係である。地球上の構造である生態系は、生産者（緑色植物）、消費者（動物）、分解者（微生物）、無機要因（大気、水、土壌、光など）から成立している。自然界ではこの4者の関係がバランスをもって存在している。そこに人間が登場し、消費者の部分がふくらみ、質的に違った活動を展開し、その結果として全体の生態的なバランスを崩すこととなっている。繰り返すようだが、地球は一つのシステムであり、バランスが崩れると全体が崩壊に向かわざるを得ない。

5. 地球環境問題の解決方向

現在の地球環境問題を解決し、より良い環境を形成し、保全していくために我々が成すべき方向は二つある。一つは、環境にやさしい技術開発であり、他の一つが現在ある悪い環境を回復させることである。環境を回復させるためには自然の生態系の回復力を有効に働かせることが基本である。先に述べた生産者、消費者、分解者の自然のサイクルを大きくくずしてきたものとして、人間活動によるエネルギーの大量放出と自然界には認められないかほとんど無い物質の生態系への多量放出がある。これを本来のバランスあるサイクルの中に収斂させるためには、積極的に有害な原因を取り除く必要がある。今回取上げられているテーマである、高濃度排水処理システム（上向嫌気性汚泥床、膜濾過による浄水処理）、排水処理における固液分離障害対策、難分解性物質分解（石油分解菌、芳香属塩素化合物分解菌）、微生物分解による悪臭除去、環境修復（バイオリメデレーション）は、いずれもそのための有力な手段である。これは先に述べたサイクルのバランスを積極的に回復しようとするものであり、いずれも微生物が大きな役割を果たしているところに特徴がある。

6. 環境問題を考える視点

現代の科学技術は、デカルト、ニュートン以来の機械論的自然観が基本となり、それから導かれた要素還元主義的考え方が中心になって進歩してきた。その結果が現代の環境問題の全てであろう。すなわちいくら精密な正しい部分解が得られたとしても、それは決してより良い全体解を与えないということである。我々の身の回りには多くの文明の利器が存在している。それらはその部分だけを取ってみれば生活を快適にし、より豊かな未来を約束するようである。しかし、本当にそれらの技術の発達を、全体の環境にどれだけ配慮

の上行なわれてきたか。それが問題である。

現在、問題となっている、種々の化学物質を取上げてみても、それらが開発されたときはこれで問題は解決したとされるような画期的な技術であった。DDT, PCB, フロン、いずれをとっても皆素晴らしい製品であった。そのためDDTを発明した Dr. Paul Müllerにはノーベル賞すら与えられている。これらがなぜ現在環境を破壊する原因として悪役を演じなければいけないかを考えるとき、部分

解についていくら正しくても、必ずしも全体解として正解ではないということに気が着かなかったためであるといわざるを得ない。当時としてはそれもやむを得なかったといわざるを得ないが、今後はその過ちを繰り返してはならないと思う。これを解決するには、社会全体がホーリズム（包全主義）とエコロジー（生態学）に立脚する必要があるし、技術開発もその線にそって行なわれる必要があると考える。

国内情報

深海微生物による石油分解

海洋科学技術センター 深海環境プログラム 深海微生物研究グループ
森屋和仁

1. はじめに

石油の海洋への流出事故が、近年になって、より頻繁に起こるようになり、おりからのエコロジーブームも手伝ってか、生態系へ与える影響が、ますます懸念されている。このような流出石油の一部は、太陽熱で自然蒸発し、一部は海の表面に漂い、残りはオイルボールとなって海の底に沈む。海表に漂う石油は、拡散範囲をオイルフェンスで囲い、その後人工乳化剤で海に分散させるか、あるいは吸着剤で吸い取る。これらの方法以外、今のところ処理する手立てはなく、それでも完全な処理法ではないがため、最終的には、海洋微生物の浄化作用に頼るだけである¹⁾。しかしながら、この浄化作用はかなり緩やかに進行するため、石油の完全分解には極めて長い時間がかかってしまう。そこで、少しでも効率よく石油を分解する微生物を探そうと多くの研究者が競いはじめた。その結果、土壌や海表から石油分解微生物の単離報告^{2,3)}が、賑わ

いはじめた。しかしながら効率よく大量の石油を分解できる微生物となると、その単離は、容易ではなかった。われわれは有人潜水調査船“しんかい2000”による調査の結果、海の底に沈むオイルボールが分解されて無くなるという現象に注目し、深海微生物こそが、これまでにない効率よい石油分解の担い手と考え、単離を開始した。

2. 石油分解菌のスクリーニング

海洋流出石油の処理を考える場合、微生物は少なくとも耐塩性あるいは好塩性であること、そして石油そのものが有機溶媒の混合物であるため、有機溶媒耐性の性質も兼ね備えていることが必要である。したがって、われわれは、両者の性質を有する微生物の検索から開始した。前者の性質を有する微生物は、効率よい深海微生物の増殖のために考案したM-II培養培地⁴⁾に5%程度の濃度で塩化ナトリウムを加えたものから、容易に単離されるが、後者の性質となるといささかやっかいであると思われた。有機溶媒耐性菌としては、井上と掘越⁵⁾が1989年に世界ではじめて、土

壤からトルエン存在下で増殖する *Pseudomonas putida* IH-2000株を発見して以来、単離報告が増えつつある。しかしながら、井上らの単離方法^{5,6,7)}を含め、これまでの有機溶媒耐性微生物の単離方法は、培地に土壌試料と有機溶媒を加えて培養し、培地の濁りで増殖を判定するという多大な時間と労力を要するだけでなく、効率も悪かったのである。我々は、培養中の培地でなく、逆に有機溶媒の方に着目し観察し続けたところ、有機溶媒中に移行する無数の微生物の存在を確認した。このとき有機溶媒中に存在する微生物は、有機溶媒存在下で生存可能もしくは増殖可能な微生物である。これがきっかけとなり、培養中の有機溶媒を直接、5%塩化ナトリウム含有M-II寒天培地に塗まつ培養することで、より多くの耐塩性あるいは好塩性の有機溶媒耐性微生物の単離に成功した。ちなみにこの方法で土壌と深海底泥間で全菌数に対する有機溶媒耐性微生物の出現頻度を比較した結果、深海底泥を分離源とするほうが、はるかに有機溶媒耐性微生物を単離しやすいことが分かった。このようにして深海底泥から、さまざまな有機溶媒耐性微生物を選択し、そのなかで、トルエンのみならずベンゼン存在下で最も優れた増殖を示す細菌を単離しDS-711株と名づけた。さらに同定の結果、本菌は *Flavobacterium* 属に属し3モル濃度までの塩化ナトリウムにも耐性であった。

3. DS-711株の有機溶媒耐性

実際の石油分解能を述べる前に、有機溶媒耐性について少しふれたい。大腸菌あるいは枯草菌等、これまでの微生物は1%程度のトルエンやベンゼン存在下で、増殖不可能であり、死滅傾向にある。このように有機溶媒は、微生物に対して極めて毒性が強い訳であるが、具体的に個々の溶媒の微生物毒性を示す尺度として溶媒固有のlog p値(オクタノール-水の系に対する被検溶媒の溶解濃度の比を対数で表した数値)が使われている⁸⁾。水に溶けるエチルアルコールなどについては例外と

して、難水溶性有機溶媒を対象とすると、そのlog p値は、ベンゼンで2.1、トルエンでは2.7となり、その数値が低くなるほど毒性は強くなるとされている。井上らは一連の研究から2.7以上のlog p値を有するさまざまな有機溶媒の存在下でトルエン耐性菌は増殖可能であるという結果を導いた。しかしながらベンゼン耐性DS-711株を用いた場合、必ずしもlog p値と溶媒毒性の間に明確な関連は認められていない。すなわちlog pという物理的な定数だけでは、単純にベンゼン耐性を述べる事ができないのである。このことについては、溶媒耐性メカニズムの解明として生理的および遺伝的側面から研究が進行中である。

4. DS-711株の石油および石油系炭化水素分解能

石油分解実験において初めから原油を基質として使用することは、あまり勧められない。というのは、反応後の分析そのものが煩雑で大変労力を必要とするからである。スクリーニングの段階で原油を使用するものなら、それこそ知恵のない方法である。一般的に使用されるのは、脂肪属炭化水素あるいは、その成分を多く含む灯油である。DS-711株による灯油の分解をこれまでの細菌と比較した実験の結果を表-1に示したが、炭素数7から16までの直鎖炭化水素分解能は、かなり改善されている。さらに図-1に示したが濃縮細菌懸濁を逐次添加する方法をとると1週間で90%が分解される。こうした予備実験の結果をふまえイラニアンヘビーオイルという極めて分解されにくい原油の分解実験を行なうと図-2に示すとおり効率よい原油分解が認められる。しかしながら、DS-711株には、芳香族炭化水素の分解能は認められない。石油の分解という目的からこの性質は、改善の余地があるが、水—有機溶媒二相系、非水溶媒系での難水溶性基質の微生物変換⁹⁾という観点からは、非常に有効な性質である。

5. DS-711 株による石油の乳化可溶化

石油の分解反応と平行して乳化可溶化反応が生ずる。この反応に預かる物質（以下 ES として示す。）の研究の報告例^{10, 11, 12)}は多く、石油分解メカニズムを解明する上からも避けて通れない。培養上清を冷アセント処理し透析後、DEAE およびゲル濾過処理し、抽出した ES の性質を検討したところ、乳化には糖—タンパク複合体、可溶化には脂質の関与という、これまでの報告とはあい反する結果が導かれ、ES 本体の同定が進行中である。また重要なことは、この ES がベンゼンやトルエンなど芳香族炭化水素をも可溶化するという事実と、それに伴って有機溶媒耐性の強化が生ずることである。

6. おわりに

このように DS-711 株の単離によって、多くの非常に興味深い微生物学的知見が得られたとともに、有機溶媒耐性や石油分解のメカ

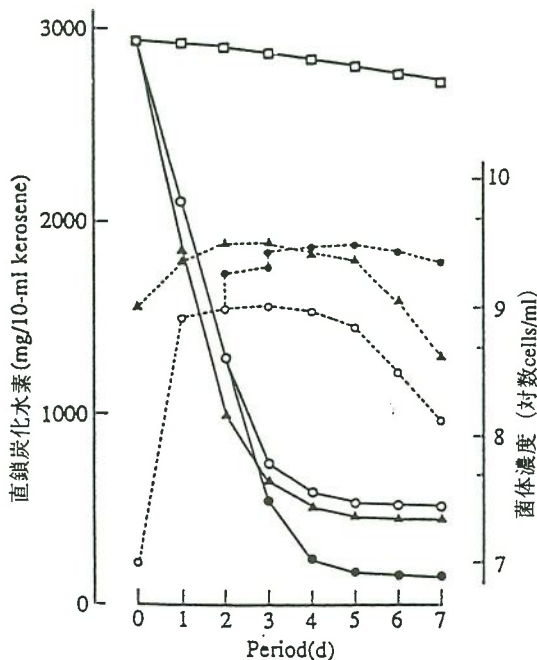


図1 濃縮菌体の逐次添加による炭化水素分解
□, 無接種対照; ○, 初発濃度 1x10⁷ cells/ml; △, 初発濃度 1x10⁹ cells/ml; ●, 濃縮菌体の逐次添加; 実線, 残存炭化水素; 点線, 生菌体濃度

表1 有機溶媒耐性菌による炭化水素分解

Hydrocarbons	Strains		
	<i>P. putida</i> IH-2000	<i>Alteromonas</i> sp. no. DS-201	no. DS-711
(n-Alkanes)			
n-C ₇	28.0	30.5	97.0
n-C ₈	30.9	30.3	82.1
n-C ₉	35.7	32.4	82.1
n-C ₁₀	10.6	9.7	71.4
n-C ₁₁	11.8	10.8	68.0
n-C ₁₂	40.2	41.4	86.7
n-C ₁₃	46.2	45.3	85.8
n-C ₁₄	39.9	44.6	88.0
n-C ₁₅	35.7	39.0	92.9
n-C ₁₆	40.2	38.1	80.5
(Aromatic hydrocarbons)			
Benzen	N.G	N.G	0
Toluene	0	N.G	0
p-Xylene	0	N.G	0

炭化水素の分解率 (%) は、菌体無接種実験および処理実験における残存炭化水素の濃度差の百分率で示した。N.G: 菌体の増殖なし

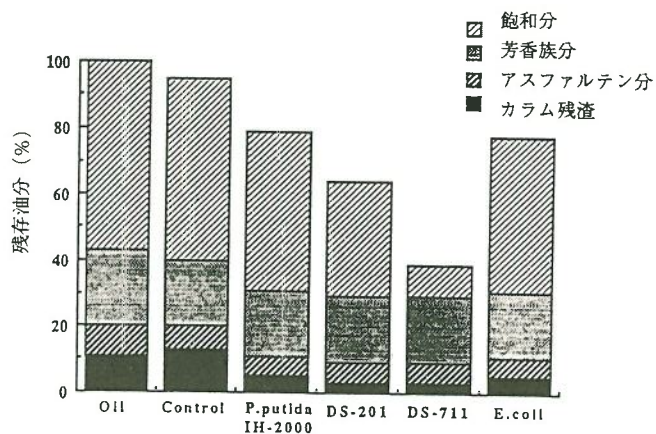


図2 各種菌株によるイランアンヘビーオイルの分解

ニズム解明、乳化可溶化の同定など様々な課題も山積みしている。一方海洋流出石油の微生物処理について言えば、その見通しは明るくなってきたものの、われわれは DS-711 株の能力だけで決して満足はしていない。さらに完全分解を目指して深海由来の有機溶媒耐性微生物の単離が、すでに始まっている。

文 献

- 1) Kelso, D.D. and Kendziorek, M. (1991) *Environ. Sci. Technol.* 25 : 16-23
- 2) 村上昭彦・鈴木一信・山根晶子 (1985) 水質泥濁研究 8 : 373-379
- 3) Atlas, R.M. (1981) *Microbiol. Rev.* 45 :

- 180-209
- 4) Moriya, K. and Horikoshi, K. (1993) *J. Ferment. Bioeng.* 76 : 168-173
- 5) Inoue, A. and Horikoshi, K. (1989) *Nature*, 338 : 264-266
- 6) Aono, R., Ito, M., Inoue, A. and Horikoshi, K. (1992) *Biosci. Biotech. Biochem.* 55 : 145-146
- 7) Nakajima, H., Kobayashi, H., Aono, R. and Horikoshi, K. (1992) *Biosci. Biotech. Biochem.* 56 : 1872-1873
- 8) Inoue, A. and Horikoshi, K. (1991) *J. Ferment. Bioeng.* 71 : 194-196
- 9) Moriya, K. and Horikoshi, K. (1991) *J. Ferment. Bioeng.* (in press)
- 10) Kappeli, O. and Finnerty, W.R. (1979) *J. Bacteriol.* 140 : 707-712
- 11) Reddy, P.G., Singh, H.D., Roy, P.K. and Baruah, J.N. (1982) *Biotechnol. Bioeng.* 24 : 1241-1269
- 12) 特開平5-92133

国内情報

芳香族塩素化合物の分解菌

農林水産技術会議事務局
宮下清貴

1. はじめに

芳香族塩素化合物は溶媒、除草剤、殺菌剤、殺虫剤等として合成され、広く使われてきており、それらのうちのあるものは難分解であり、環境中に残存する。これは、置換されている塩素原子が酵素による芳香族環の分解を妨害するためである。しかし、種々の芳香族ハロゲン化合物に対して分解微生物が分離され、生化学的・分子生物学的研究が行われてきている。以下、いくつかの化合物を例に、説明する。

2. Polychlorinated biphenyls (PCB)

PCB はビフェニールに直接塩素を結合させることにより作られる。置換されている塩素の数や位置により、ビフェニール1分子当たり塩素が1~10個ついた、異性体を含めて209個の化合物が理論的には可能であり、

MIYASHITA Kiyotaka

市販品はこれら異性体の混合物である。PCBは蒸気圧が低く、水に難溶、化学的に不活性、難燃性等の特徴を持つため、熱媒体、可塑剤、絶縁溶剤等として広く使われてきた。PCBが環境汚染化学物質の代表のように見られているのは、こうして広く使われてきたためでもある。製造が禁止された後も、それまでに大量に製造されたPCBの処理、保管は充分ではなく、これらのPCBによる環境汚染や既に環境に放出された分も含めた地球規模での生物濃縮は続いていると考えられている。

市販されている異性体の混合物や、その中の個々の物質について、微生物分解が調べられている。好氣的条件下では、置換されている塩素の数が多い化合物の方が、mono-やdi-chlorinated biphenylsよりも分解されにくい。置換塩素の位置としては、塩素が2つオルソ位についた化合物は難分解性である。また、ビフェニールの両方の環に置換塩素をもつ化合物の方が、片方だけに塩素を持つ化合物よりも分解され難い。

PCBの好氣的分解は、図1に示したような4段階の反応でおこる¹⁾。まず、biphenyl dioxygenase (遺伝子は *bphA*) により、2つ

ら、精製は難航した。一方、溶菌液を硫酸分画したところ、硫酸飽和度 0~60%の画分には元の90%の活性が認められたのに対し、0~40%では元の5%、40~60%では元の20%の活性しか認められなかった。一方、0~40%の画分と40~60%の画分を合わせると、元の80%にまで回復した。このことは、デハロゲナーゼが硫酸沈澱によって分画される複数の成分からなることを示唆した。その結果をもとに更に分画を行ったところ、分子量 86,000と92,000の2つのタンパク質成分が確認された³⁾。更に、脱ハロゲン反応は ATP と CoA-SH 存在下で促進されることが見いだされ、最初に ATP 依存のエステル化反応により CoA エステルが形成され、ついで脱ハロゲン反応が起こるものと考えられる。クローニングされた *Arthrobacter* 株と *Pseudomonas* 株の分解遺伝子の間には、サザンハイブリダイゼーションでの相同性は見られなかったが、*Arthrobacter* 株のデハロゲナーゼも複数の成分からなり、それぞれの成分は *Pseudomonas* 株の対応する成分と相補的であった。

3-CBA は、2-CBA とは全く異なる経路で分解される。即ち、最初にジオキシゲナーゼの作用で3-または4-クロロカテコールを生じ、オルソ位で開裂する。続いて起こる cyclization で、塩素がはずされる。したがって、この場合には環の開裂後にはじめて脱塩素が起こる。

2-CBA の場合、4-CBA と同様に分解の最初のステップで脱塩素が起こるが、この場合の脱塩素反応はジオキシゲナーゼによる酸化反応である。

分解微生物(細菌)は化学的に安定なベンゼン環を開裂するために、水酸基で置換して(オルソまたはパラの位置に)2つの水酸基がついた構造を作り、酸化的に開裂しやすくするという生化学的戦略をとる。その後の開裂には、2つの水酸基の間で開裂が起こるオルソ開裂と、水酸基に隣接した部位が開裂するメタ開裂があり、化合物(置換基)の種類により細菌は使い分けている。

4. クロロベンゼン

クロロベンゼンは、溶媒や脱臭剤として使われる。monochlorobenzene, dichlorobenzene, 1,2,4-trichlorobenzene, 1,2,4,5-tetrachlorobenzene に対して、分解菌が分離されている。van der Meer らは、*Pseudomonas* sp. strain P51 より分解遺伝子群を単離し、詳細に解析している⁴⁾。

5. Pentachlorophenol (PCP)

PCP は水田の除草剤や木材の保存剤として使われてきた。塩素の置換度が大きいにも係わらず、分解菌の報告がいくつかある。分

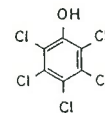


図3 PCP

解の最初の反応は NADPH に依存しており、tetrachlorohydroquinone となる。その後、ヒドロキシル化と還元的脱塩素反応により 1,2,4-trihydroxybenzene となる⁵⁾。分解菌 *Flavobacterium* を固定化し、PCP 汚染水を浄化するバイオリアクターが開発されている⁶⁾。

6. プラスミド、トランスポゾン

芳香族塩素化合物等の化学物質の分解遺伝子群は、プラスミド上にあることが多い。TOL, NAH, OCT を初め、2,4-D 分解菌の pJP4, 3-CBA 分解の pAC25 等、有名なプラスミドも多い。これらのプラスミドの多くは接合伝達性であり、そうでない場合にも可動化により他の菌へと伝達される。このことは、分解能が種特異的ではなく、菌株特異的である理由を説明する。分解遺伝子群は通常クラスターを形成しており、更に、両端を挿入配列 (IS) で挟まれた、トランスポゾンの構造を

とっていることが多い。土壌中の細菌が種々の合成化学物質に対して分解能力を獲得することができるのは、一つには細菌のこうした遺伝的柔軟性に負うところが大きいと考えられる。

7. 分解できない化合物は存在するか？

バイオリメディエーション技術を作りあげる上で最も基礎となるのは、有効な分解菌の分離である。種々の合成化合物に対する分解菌の存在が示されてきているが、このことは、どのような化学物質でも細菌は分解できることを意味しているのだろうか。分解菌が存在しないということを証明することは困難であるし、さらに、ネガティブなデータは表に現れないため、ますます明らかにはならない。現在のところ、微生物で分解できない可能性が最も高いのは、ダイオキシン (2,3,6,7-tetrachlordibenzodioxin) であろう。世間を騒がせているこの物質に対しては、今のところ明確な分解菌の報告はない。

8. 新しい分解能を持った細菌の作出

実験室内で、プラスミドの接合伝達や組換え能を利用したり、組換え DNA 技術により、新しい分解能を持った菌株が作出されている。例えば、3-CBA 分解菌 *Pseudomonas* sp. B13 (クロロカテコールを分解できる) に、基質特異性の低い salicylate hydroxylase の遺伝子 (*nahG*) を導入することにより、塩化サリチル酸 (3-, 4-および5-chlorosalicylates) を

分解できるようになった⁶⁾。Rojo らは、3株の分解菌の5つの異化経路より色々な酵素(遺伝子)を寄せ集める、いわゆるパッチワークを行い、種々の塩化芳香族とメチル芳香族の混合物上で生育する組換え菌を作り出した⁷⁾。こうした報告は既に1980年前後から出されているが、いずれもモデル実験的な段階であり、バイオリメディエーションに実際に用いられた例はまだ見あたらない。このことは、安全性の問題以外に、*in vivo* で有効に働く組換え体を作成することはそう容易ではないことを示している。生化学的・分子生物学的な基礎的研究の積み重ねがますます重要になっている。

文 献

- 1) Hayase, N., Taira, K. and Furukawa, K. (1990) *J. Bacteriol.* 172 : 1160-1164
- 2) Furukawa, K., Hayase, N., Taira, K. and Tomizuka, N. (1989) *J. Bacteriol.* 171 : 5467-5472
- 3) Elsner, A., Löffler, F., Miyashita, K., Müller, R. and Lingens, F. (1991) *Appl. Environ. Microbiol.* 57 : 324-326
- 4) van der Meer, Jr., van Neerven, A.R.W., de Varues, E.J., de Vos, W.M. and Zehnder, A.J.B. (1991) *J. Bacteriol.* 173 : 6-15
- 5) Schenk, T., Müller, R., Mörsberger, F., Otto, M.K. and Lingens, F. (1989) *J. Bacteriol.* 171 : 5487-5491
- 6) O'Reilly, K.T. and Crowford, R.L. (1989) *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 2113-2118
- 7) Rojo, F., Pieper, D.H., Engesser, K.-H., Knackmuss, H.-J. and Timmis, K.N. (1987) *Science* 238 : 1395-1398

国内情報

UASB 法による産業排水の処理

栗田工業株式会社 総合研究所
依田元之

1. はじめに

嫌気性処理法は、酸素の非存在下で排水中の有機物を生物的に分解してメタンとCO₂に転換する方法で、好気性処理法と比較して余剰汚泥の発生量が少なく、また酸素供給のための動力が一切不要であることから、省コスト、省エネルギー型の排水処理法として注目されている。なかでもUASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) 法は、嫌気性微生物群の自己集塊作用を利用して、グラニュールと呼ばれる沈降性に優れた直径1～2mmのペレット状の汚泥として微生物を反応槽内に維持する方法で、菌体保持濃度が高く、しかも機械的なトラブルも少ないため、最も処理効率の高い嫌気性リアクターと評価されている。我が国においても近年UASB法の実装置が稼働するようになり、食品産業排水を中心とした中高濃度有機性排水の分野では、最も有効な処理法として認識されるに至っている。本報ではUASBによる嫌気性排水処理の概要を述べるとともに、我が国での実プラントにおける適用例を紹介したい。

2. UASB法の処理メカニズム

UASBリアクターは図-1に示すように、反応槽下部に原水供給装置、上部に気液固3相分離装置(GSS)を備えた極めて単純な構成のものである。排水はリアクター底部に供給され、グラニュール層を通過する間に有機物

YODA Motoyuki

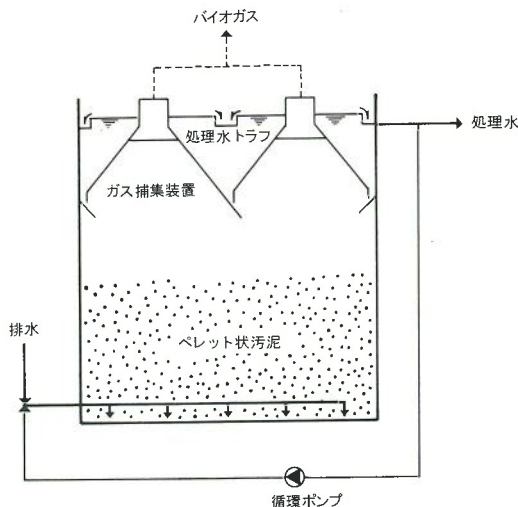


図1 UASB反応器の構造

はメタンに分解される。GSSは発生ガスを捕集すると同時に、気泡とともに上昇したグラニュールを分離板に衝突させてガスと分離し、リアクター部に戻す機能、更にSSを沈降分離し処理水質を高める機能など複数の機能を合わせ持っている。

UASBで効率の高い処理を行うためには、反応槽内にグラニュールを生成して高濃度のメタン生成細菌を保持することが前提条件となっている。したがって、UASB法のエッセンスはグラニュール生成であり、グラニュールをいかに速く生成させ、安定的に維持しかつ増殖させるかが最も重要な課題であると言っても過言ではない。グラニュール生成のためには、温度、pH、栄養塩等嫌気性細菌の最適生育条件を確保するだけでなく、グラニュール化しない分散菌体をwash-outさせ、*Methanothrix*等のグラニュール生成に寄与する微生物群を選択的に増殖させる必要がある。このため適切な上昇流速、有機物負荷、残留有機酸濃度を維持することが重要とされ

ている¹⁾。しかしながら、これまでにグラニューール生成のメカニズムに関する完璧な回答は得られておらず、実装置でのグラニューール生成には6か月～1年という長い期間が必要とされていた。このため、UASB法の歴史の長いヨーロッパや北米では立ち上げ期間を短縮するために、稼働中の他のUASBで生成したグラニューールを大量に輸送し、スタートアップ用の汚泥として利用しているのが実状である^{2,3)}。しかし、我が国の場合はこれらの地域からグラニューールを大量に輸送することは期間的にもコスト面でも問題があり、グラニューールをバージンから大量に確実に生成させる技術が求められている。

一方、実装置で生成したグラニューールには土砂などの不活性固形物や、植物、昆虫などに由来するマクロ的な固形物を包含しているものが多いことから、これらの固形物に嫌気性微生物が付着増殖してグラニューールを形成するという説^{4,5)}、すなわちグラニューール生成を生物膜の付着増殖現象として説明する考え方が提唱されている。この考え方を一歩おし進めグラニューール化に積極的に利用したのがマイクロキャリア法で、スタートアップ時に嫌気性細菌の付着性にすぐれた粒径100ミクロン程度の多孔質担体をリアクター内に充填し、低上昇流速の膨張床を形成させることにより、これらのマイクロキャリアを核としてグラニューールの生成を促進させる方法である⁶⁾。マイクロキャリアを用いることにより、短期間で確実なグラニューールの生成が可能となる。したがって、マイクロキャリア法はUASBの改良技術と位置づけられ、約3か月のスタートアップ期間でグラニューールを生成して10kgCODcr/m³/day程度の槽負荷に到達できることから、我が国におけるUASBリアクターの大多数に採用されている。

3. 我が国におけるUASB法の適用事例

納入先別の改良型UASBの適用状況('92年12月末現在)を図-2に示す。適用分野とし

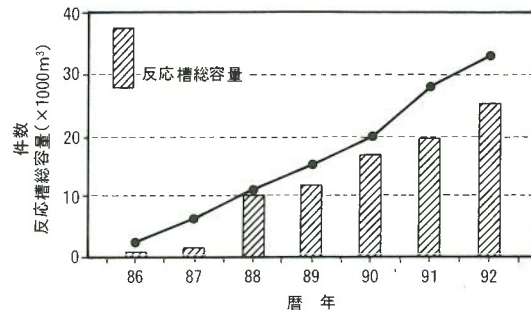


図2 改良型UASBの実績推移件数および反応槽総容量(1992年12月末現在)

ては、食品排水でも排水負荷の絶対量の大きなビール、甜菜糖、コーンスターチ、異性化糖の分野での利用がすすんでいる。これらの排水では糖質や低級脂肪酸、アルコールなどが排水中の有機物の主成分で嫌気性分解が容易であり、しかも嫌気性細菌に対する阻害物質を含まないことがその背景と考えられる。また、排水負荷の絶対量の大きな工場ほど、好気性処理と比較した場合のメリット、すなわち汚泥発生量及び電力消費量の削減効果が著しく、それが嫌気性処理導入の大きな動機となっている点も見逃せない。

(1) ビール排水

ビール業界は嫌気性処理を積極的に導入しており、ビール4社で平成4年12月末現在UASBが9工場(内6か所が改良型)、また固定床が2工場合計11工場稼働している。ここでは改良型UASBの適用例として、酵母処理排水処理装置の運転状況を紹介する⁷⁾。当改良型UASBは、1989年にアサヒビール株式会社小金井工場に建設されたもので、反応槽総容量は975m³、CODcr処理能力は9,600kg/dayである。同工場では各ビール工場から運ばれたビール酵母を水で洗浄後、酵母エキスを熱抽出して調味料や飼料添加物などの製品に加工しており、排水は高濃度の酵母洗浄排水と低濃度の機器洗浄排水の2系統ある。

図-3に小金井工場における嫌気性排水処理設備の処理フローを示す。高濃度の酵母洗浄排水は一度バッファータンクに受け、その後低濃度の機器洗浄排水と混合し、スチームで

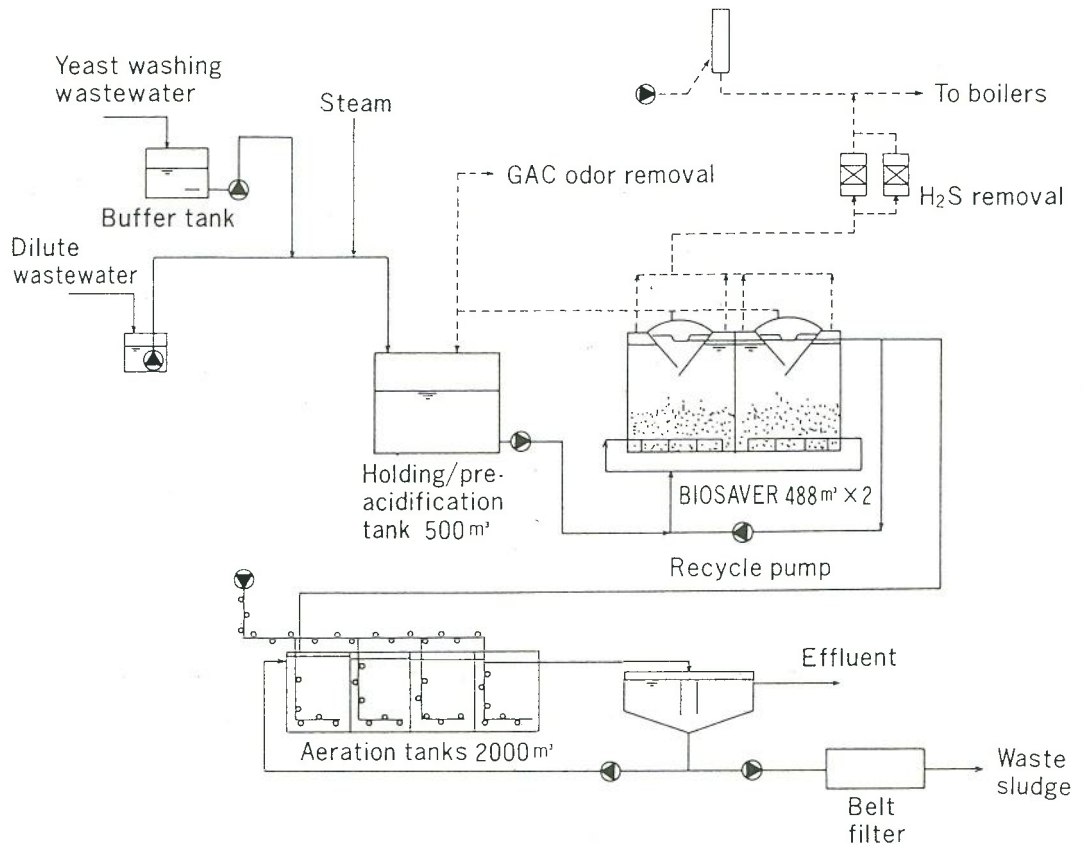


図3 ビール酵母排水の処理フロー

加温後、原水槽兼有機酸生成槽に貯留する。原水槽からは24時間連続で反応槽の循環ラインに注入し、UASBの処理水は既設の活性汚泥処理装置で最終処理される。反応槽から発生するガスはGSSで捕集され、脱硫後作業時間内はガスボイラーに送られ、原水加温用のスチームを発生させるための燃料として利用される。

A, B 2系列ある反応槽のうち、B系のリアクターにマイクロキャリア及び種汚泥を投入し、1989年3月15日に試運転を開始した。図-4に、スタートアップ時におけるCOD_{Cr}負荷、ガス発生量、原水および処理水のCOD_{Cr}の推移を示す。スタートアップ時にコバルトまたはニッケル等の微量金属不足により、汚泥のメタン生成活性、特に酢酸資化活性が低下し処理状況が悪化したが(45~80日目)、これらの金属を0.05mg/l程度添加することにより活性は急速に回復し、結果的に運転開始後96日で設計負荷に到達した。図-5の反応槽Bの高さ方向の汚泥濃度分布から明らかのように、運転開始当初マイクロキャリアに付

着した生物膜が、厚く成長しグラニュール化することにより、ベットの高さ及び汚泥濃度が増加した。

図-6に、小金井工場における6~8月の3か月間での余剰汚泥発生量と電力消費量を、好気性処理だけを行っていた1988年と、前処理としてUASBを導入した1989年で比較した。UASBの導入により、余剰汚泥の発生量が約70%また電力消費量も75%低下し、排水処理のコストが大幅に削減された。

(2) てん菜糖

ビート糖工場は排水負荷の絶対量が非常に大きく、また冬季だけの季節操業のため、コスト的にも維持管理の面でも嫌気性処理導入のメリットが大きい。UASBを世界で初めて導入したのも、オランダのビート糖工場であった。我が国でも北海道にビート糖工場が7工場あり、この内3工場でUASB法が採用されている。ここではH製糖所で稼働中の改良型UASB設備を下記に紹介する。

同製糖所はビート処理能力2,800 t/dayの工場で、改良型UASBによる嫌気性処理設

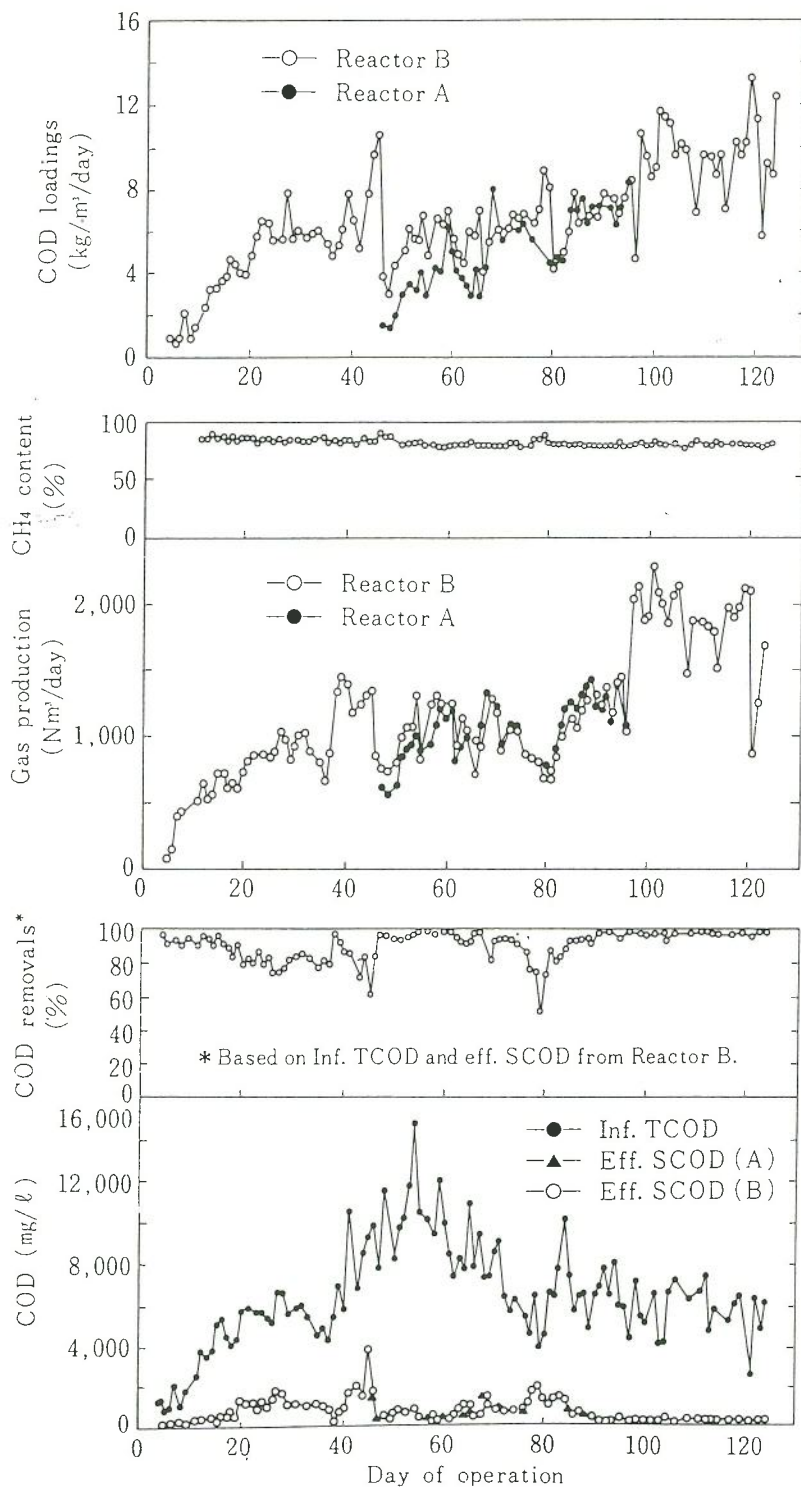


図4 ビール酵母排水での改良型UASBの立ち上げ結果

備は1989年に建設された。本設備はイオン交換による糖の精製工程から排出される樹脂の再生排水を対象としている。樹脂再生排水は昇温のため温水と混合し、有機酸生成と pH 調整を目的とした調整槽に送られ、調整槽流出水は UASB の循環ラインに注入される。

改良型 UASB の反応槽総容量は1,600m³、計画負荷は 11.3kgCODcr/m³/day である。嫌気性処理水は既設の活性汚泥による後処理が行われている。1990年のビートキャンペーンでの最大負荷は18t COD/day で、この時の CODcr 除去率はおよそ90%であった。また、

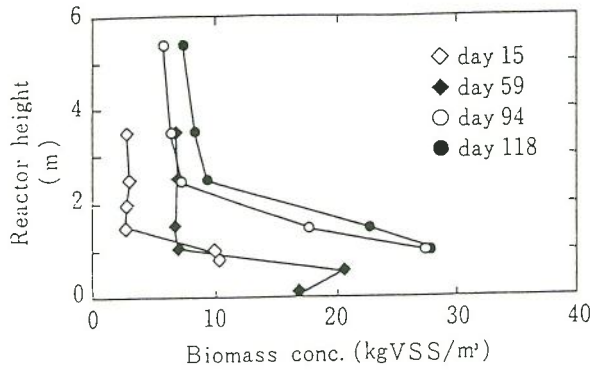


図5 改良型UASBリアクターの高さ方向汚泥濃度の推移

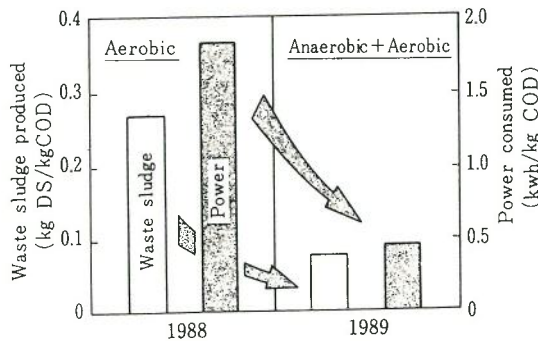


図6 嫌気性処理と好気性処理の電力消費量及び余剰汚泥発生量の比較

最大ガス発生量は $6,700 \text{ N m}^3/\text{day}$ に達した (メタン含有率約87%)。当初は発生ガスは燃焼塔で焼却処分だけを行っていたが、1990年から脱硫後、パルプ (ビートかす) 乾燥炉の補助燃料として有効利用している。

4. おわりに

我が国においては、嫌気性処理分野の研究活動はかなり活発に行われているものの、環境政策、下水道整備に関する歴史的、法的背景

の差異から、これまで実用化の面で欧米に遅れをとっていたことは否めない。しかし、グラニュー化のための独自技術をバネとしてUASBの稼働装置数が近年飛躍的に増加したことにより、実用面でもようやく欧米に追いついたといえよう。UASBに代表される嫌気性処理は好気性処理と比較して利点が多いことから、食品、紙パ、化学分野を中心として更に成長が見込まれる分野である。反面、まだまだ解決すべき課題も残されており、今後とも効率化、合理化、適用範囲拡大のための研究開発を継続的に押し進める必要がある。

文 献

- Hulshoff Pol, L.W., de Zeeuw, W.J., Velzeboer, C.T.M. and Lettinga, G. (1983) *Wat. Sci. Tech.* 15 : (8/9) 291-304
- Vereyken, T. and Hack, P.J.F.M. (1986) *Proc. of AQUATECH '86*, 283-296
- Lanting, J. and Gross, R.L. (1988). *Proc. of 42nd Ind. Waste Conf.* 707-715, Purdue Univ.
- Hulshoff Pol, L.W. (1989) The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. PhD thesis, Agricultural Univ. of Wageningen
- Iza, J. and Gross, R.L. (1987) *Proc. of GASMAT-Workshop*, 195-202, Lunteren, Netherland
- Yoda, M., Kitagawa, M. and Miyaji, Y. (1989) *Wat. Sci. Tech.* 21 : 109-120
- Yoda, M., Imabayashi, S. and Suzuki, N. (1990). *Proc. of IA WPRC biennial international conf. in Kyoto*

排水処理における固液分離障害対策

活性汚泥中の糸状性微生物および放線菌による固液分離障害に
に対するイオネン系ポリマーの効果

株式会社 アストロ
秋山直樹・長谷川忠雄

1. はじめに

現在の有機性排水処理は生物学的処理が主体であり、その中でも活性汚泥法が最も多い。活性汚泥法は、好気性生物によって有機物を酸化分解する過程および生物と水を分離する過程からなる。

この好気性生物の集団は活性汚泥と呼ばれ、細菌と原生動物を主とした数10種類以上の微生物からなる。活性汚泥内においては、細菌が主に排水中の有機物を摂取し、その細菌を捕食する *Zoothamnium* spp. などの原生動物や *Macrobiotus* spp. などの後生動物（表紙写真参照）が発生し、一つの生態系が形成される。

細菌はフロック（粒子集合体）を形成するため、活性汚泥と水は通常自然沈降で容易に分離される。

しかし、排水中の有機物や活性汚泥濃度 (MLSS) などの変化によって、ある種の微生物の異常増殖あるいは菌体外代謝物量の増大を招き、活性汚泥（固）と水（液）の分離性が低下する。これを活性汚泥法における固液分離障害という。

前者の固液分離障害は、糸状性微生物の異常増殖によって活性汚泥が膨化し、沈降し難くなる糸状性バルキング (bulking) と放線菌の異常増殖によって活性汚泥が発泡浮上しスカム化するスカミング (scumming) に分けられる。これに対して後者の固液分離障害は、多糖、糖タンパク質およびフミン質などの菌体

外代謝物量^{1, 2, 3)}の増大によって活性汚泥の見かけ上の粘性が上昇することから高粘性バルキングと呼ばれている。

これらの固液分離障害が発生すると、活性汚泥が処理水とともに流出するため、河川や海の水質を悪化させる原因になる。

そのため、従来より固液分離障害の解消・抑制方法について種々検討されてきた。例えば、無機および高分子凝集剤、あるいは塩素、過酸化水素などの薬剤を投与する方法、あるいは曝気槽の前段を嫌氣的条件にする嫌気好気法などの運転方法などである。しかし、これらの方法による固液分離障害の解消・抑制効果は一定していない。

我々は糸状性バルキングおよびスカミングの解消・抑制技術の確立を目的に、種々の薬剤の糸状性微生物および放線菌に対する効果について検討した結果、イオネン系ポリマーが有効であることを見いだした。

本報は、イオネン系ポリマーの糸状性微生物および放線菌に及ぼす影響を実験室レベルおよび実設備において検討した結果に関するものである。

2. 糸状性微生物および放線菌

糸状性バルキングを引き起こす糸状性微生物は、D.H. Eikelboom⁴⁾ および P.F. Strom and D. Jenkins⁵⁾ らによって20タイプ以上確認されている。下水（生活排水）処理設備において出現頻度が高い糸状性微生物は Type 021N, Type 1702 および Type 0041 などであり、産業排水処理設備においては排水中の有機物濃度が高いため *Sphaerotilus* sp., Type

021Nおよび Type 0961などが多い。

また、スカミングを引き起こす放線菌は堺⁸⁾および Blackall⁷⁾らによって10種類以上報告されている。下水および産業排水の両処理設備において *Nocardia amarae* の出現頻度が最も高く、その他に *Nocardia pinensis*, *Mycobacterium* および *Corynebacterium* 属細菌もしばしばみられる。特に、乳製品、畜肉および魚類加工などの産業排水を処理している設備においてはスカミングの発生頻度が高い。

3. イオネン系ポリマーの生物への影響

出現頻度が比較的高い Type 021N, *Sphaer*

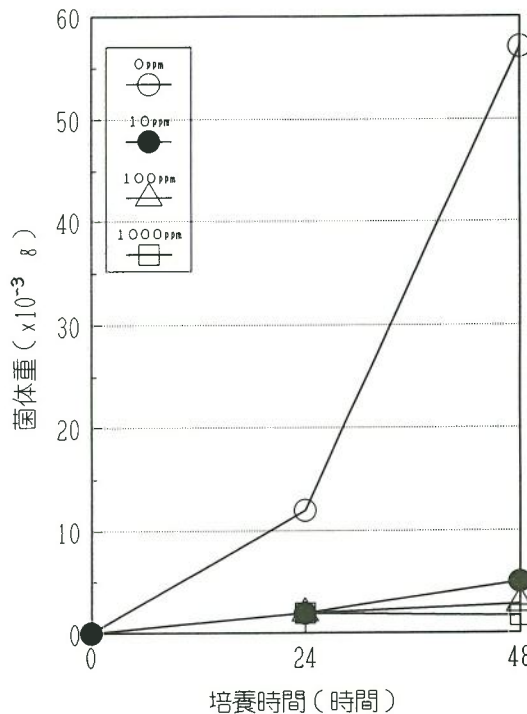


図1 *Sphaerotilus* sp. の生育に及ぼすイオネン系ポリマーの濃度影響

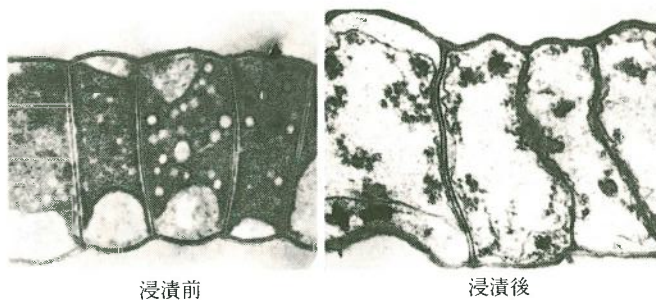


図2 Type021Nに及ぼすイオネン系ポリマーの影響
浸漬液：イオネン系ポリマー100mg/l, 浸漬時間：1時間

erotilus sp. の糸状性微生物、また *Nocardia amarae* の放線菌を純粋培養し、それぞれの菌に対するイオネン系ポリマーの及ぼす影響について検討した。

その結果、イオネン系ポリマーは 10mg/l 以下の濃度で Type 021N および *Sphaerotilus* sp. の生育を、30mg/l 以下の濃度で *Nocardia amarae* の生育をほぼ完全に抑制することがわかった。

その実験結果の一例として、*Sphaerotilus* sp. にイオネン系ポリマーを所定量投与し、1日ごとにその菌重量を測定した結果を図1に示す。

また、Type 021N の 100mg/l イオネン系ポリマー液浸漬前後の透過型電子顕微鏡写真を図2に示す。イオネン系ポリマー浸漬前の Type 021N は細胞質が密でリボソーム様構造が認められたが、浸漬後は細胞質が変性され疎の状態になっていることがわかった。しかし、細胞壁には特に顕著な影響が認められなかった。イオネン系ポリマーのこの作用は *Sphaerotilus* sp. および *Nocardia amarae* に対しても同様であった。

一方、活性汚泥および原生動物に及ぼすイオネン系ポリマー濃度の影響は、曝気槽の MLSS に対して 12.5% 以下の投与量では有機物の除去率および原生動物に影響がなく、15% 以上の投与量になると有機物の除去率が低下し原生動物も減少することが稲森らによって報告されている⁸⁾。

しかし、実設備におけるイオネン系ポリマーの使用範囲は MLSS に対して 4~8% 程度であるので、処理水および原生動物にはほとんど影響がないと考えられる。

一方、イオネン系ポリマーの安全性については径口投与によるラットの LD50 が約 4 g/kg であり、魚類に対する蓄積性はない。また、下水処理設備においては処理水を用いて魚などを飼育していることが多いが、影響はまったくみられない。

これらの結果より、イオネン系ポリマーは糸状性微生物および放線菌の生育抑制に有効であり、また活性汚泥に及ぼす影響は小さい

ことがわかった。

4. イオネン系ポリマーの実設備における投与効果

イオネン系ポリマーの固液分離障害解消・抑制剤とする適用技術の開発を進め、現在では下水および産業排水処理設備併せて160か所以上で同ポリマーは適用されてきている。

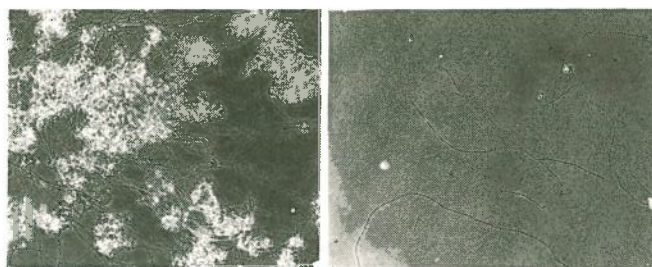
糸状性バルキングが発生している下水および産業排水処理設備において、曝気槽のMLSSに対して4～8%に相当するイオネン系ポリマーを1～3日間かけて投与することによって、糸状性微生物は阻害され、短く切断される(図3)。短く切断された糸状体は処理水とともに放流される。そのため、活性汚泥中の糸状性微生物は減少し汚泥の膨化が解消される。さらに、活性汚泥に吸着したイオネン系ポリマーの糸状性微生物に対する生育抑制効果、およびMLSS、酸素供給量などの運転条件のコントロールによって、長期間糸状性微生物の生育を抑制することができる。

一方、イオネン系ポリマーのスカミングに対する解消・抑制機構も上述の糸状性バルキングの場合と同様である。すなわち、曝気槽のMLSSに対して5%前後のイオネン系ポリマーを投与することによって活性汚泥中の放線菌が減少し、汚泥の浮上およびスカム化が解消される。

しかし、下水処理設備においては下水から常時 10^4 CFU/ml以上の多数の放線菌が植種されるところもあり、その場合には植種される放線菌の生育抑制のため、MLSSに対して0.5%前後のイオネン系ポリマーを週に1～2回の頻度で投与する必要がある。

5. おわりに

固液分離障害は水処理ばかりでなく、汚泥濃縮性を損なうなど汚泥処理においても影響を及ぼす。



糸状性バルキング状態の活性汚泥 イオネン系ポリマー投与後
糸状性微生物：Type021N

図3 イオネン系ポリマーの投与効果

また、本年中に窒素およびリンの放流暫定基準が定められるが、現有の設備において窒素およびリンを除去するためには活性汚泥量を増大しなければならない下水および産業排水設備が多い。当然、汚泥量の増大は固液分離障害による汚泥流出を招きやすくなる。

一方、活性汚泥の固液分離障害に関する研究は盛んに行われているが、その成果が実設備に十分反映されていない。

したがって、今後さらに活性汚泥の固液分離障害に関する基礎研究を行うとともに、その成果を実設備に活かす努力が必要であると考えられる。

本研究を遂行するうえでご指導を賜った三重大学生物資源学部久能均教授、山岡直人助教に深く感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 滝口 洋 (1971) 用水と廃水, 13(3) : 296
- 2) 丹保憲仁・亀井 翼・高橋正宏 (1981) 下水道協会誌, 18(210) : 48
- 3) Wahlberg, E.J., Keinath, T.M., Parker, D.S. (1992) *Wat. Sci. Tech.* 26 (9-11) : 2527
- 4) Eikelboom, D.H. (1975). *Water RES.* 9 : 365
- 5) Strom, P.F., Jenkins, D. (1984). *J. Water Pollut. Control Fed.* 56(5) : 449
- 6) 堺 好雄 (1988) 大阪大学博士学位論文
- 7) Blackall, L.L, et al (1989) *J. Gen. Microbiol.* 135 : 1547
- 8) 稲森悠平 (1987) 日本微生物学会第5回大会, p. 48

国内情報

バイオレメディエーションによる汚染修復技術

工業技術院 資源環境技術総合研究所
平井正直

1. はじめに

近年、我が国でもバイオレメディエーションという言葉をしぼしぼ耳にするようになり、関連する講習会やセミナーも開かれている。

バイオレメディエーションとは、文字通りバイオを用いた修復を意味し、広義にはバイオテクノロジーを用いた汚染（環境）修復技術を表わす言葉と理解してよい。しかし、現状では微生物など低次の生物種による汚染修復技術に限定されているのが実態である。

バイオレメディエーション技術の基礎となる特定の化学物質分解菌などに関する微生物学的研究は、欧米先進国を始め我が国でも活発に行われているが、汚染現場への適用など直接的な導入の試みは米国以外では殆んど例がない。この背景として、米国ではシリコンバレーの汚染事故に代表されるような土壤汚染や地下水汚染が顕在化したことを受けて、いち早く「新スーパーファンド法 (SAR A)」、 「資源保全再生法 (RCRA)」等の法制度の整備により、汚染対策が進められたことが挙げられよう。

バイオレメディエーションは、微生物が本来有している化学物質の分解能力を利用し、環境中に放出された種々の有害化学物質を分解し無害化することにより、汚染環境を浄化する技術であるため、次のような長所が指摘できる。第1に、自然浄化作用を利用する方法なので、投入エネルギー量が少なく経済的、第2に、微生物により分解、無害化するので

2次公害の危険性が少なく、恒久的な浄化が期待できる、第3に、原位置ないしオン・サイトでの浄化が可能、などである。

次に、最近の我が国の化学物質による地下水の汚染の状況については、環境庁より発表された最近の資料「地下水水質測定結果」によれば、代表的な有機溶媒であり、ハイテク産業を始め多くの産業で大量に使用されてきたトリクロロエチレンやテトラクロロエチレンによる地下水汚染の進行が裏付けられた。

これに対する法規制の強化は既に講じられたが、一般に地下水汚染は広範囲かつ長期間にわたる場合が多いと言われている。このような状況から、今後我が国においてもバイオレメディエーション技術の実用化に向けた研究開発が必要となるが、本稿では米国における若干の事例を参考に、本技術適用のための検討プロセスなどについて概説する。

2. バイオレメディエーションと化学物質の微生物分解¹⁾

バイオレメディエーションと呼ばれる技術の対象となる化学物質には、元来自然界になかったもので人工的に製造された有機物も多い。それ故、自然界に存在する種々の微生物の殆んどは、これらの化学物質を分解しないと思われるが、長期間にわたり化学物質に接触することにより、中には分解できるものが出てくる。このような微生物の適応を積極的に活用するためには、どんな微生物がどんな化学物質によく適応しているか、どんな微生物をどんな化学物質に適応させようか、適応した微生物や化学物質の特徴は何か、など

HIRAI Masanao

を知ることが必要である。酸素の多い好気的環境では酸素を最終電子受容体として利用する好気性微生物が活動の中心となり、多環芳香族化合物を含めて非常に多くの化学物質を単独で水と炭酸ガスにまで完全分解できる。一方、酸素のない嫌気的環境では、有機物、硝酸塩、硫酸塩、炭酸ガス等を利用する嫌気性微生物（発酵菌、硝酸還元菌、硫酸還元菌、メタン生成菌等）が活発になるが、単独で化学物質を完全に分解できる菌が少ない中で硝酸還元菌は好気性菌に近い分解能力を持ち得ると考えられている。硫酸還元菌の中には化学物質そのものを分解できるものもいるが、メタン生成菌では単独で分解できるものは知られておらず、嫌気分解に補助的役割を果たしていると考えられる。

好気的分解は酸素添加酵素による分子状酸素の化学物質への添加（酸化）で開始されるので、水酸基、アミノ基、メチル基等の電子供与性の置換基を持つものが分解され易く、ニトロ基、ハロゲン基等の電子吸引性の置換基を持つものは分解され難い。これに対して、嫌気条件下では還元的雰囲気が強いので、還元的な脱ニトロ、脱ハロゲン反応が起り易く、ヘキサクロロベンゼンや高塩素化 PCB などは嫌氣的に脱塩素される。このように高塩素置換化学物質による汚染環境のバイオレメディエーションには、嫌気性菌による脱塩素の後、好気性菌による完全分解する方法が有望であろう。酸素の制御が困難な場では硝酸塩と硝酸還元菌の利用も考えられる。

以上のことは、バイオレメディエーション技術の開発に当たっての基礎的視点として重要である。

3. バイオレメディエーション技術の概要

本技術の歴史は比較的浅く、10年に満たないが、その適用範囲は、土壌、底質、地下水、表層水、廃棄物など広く活用し得る革新的環境修復技術として、米国 EPA（環境保護庁）を始め世界的に注目を集めている。

ある汚染地点（汚染サイト）にバイオレメディエーション技術を適用する場合の具体的検討プロセスは一般に以下通り行われている²⁾。

(1) 汚染地点の調査

汚染物質の特定、その濃度および分布を把握するため、汚染地点の土壌や地下水などをサンプリングし、化学分析を行うと同時に、システム設計の情報を得るため、土壌の性状や水理地質学的特性などを調査する。

(2) 汚染物質分解菌の分離

汚染地点の土壌や地下水から、汚染物質による選択圧をかけ、汚染物質に対する耐性菌を分離する。この耐性菌から汚染物質の「分解菌」を分離する。

(3) 高活性分解菌の分離と分解機構の検討

さらに高い選択圧をかけて高活性、高分解能を有する菌を選抜する。汚染物質の分解経路などを調べ、分解代謝産物の安全性を確認する。遺伝子工学手法による組換え菌の利用が検討されている場合もあるが、安全性の面から適用された例はまだない。

(4) 分解菌の生理、生育条件等の検討

高活性分解菌の機能を最大限に発揮させるために、分解菌の生理学的機能や至適生育、培養条件、栄養要求性などの検討を行う。

(5) 処理システムの検討

(4)の検討結果により、汚染物質の分解速度等の評価が行われ、処理に要する装置容量が推計される。さらに、汚染物質の種類や濃度を勘案し、汚染地点における処理システムが設計される。処理システムは以下の3種類に大別される。

① 固相処理法

固相処理法は土壌などの一定区画の処理ユニットを設計、設置し、その中で汚染物質を浄化する方法である。微生物分解を促進するため、窒素・リンなどの栄養塩類の添加、混合、水分調節などを適宜行う。土壌表層の汚染浄化などに有効であるが、天候の影響を受け易く、他の処理法より長期間を要する。処理コストは総じて安い。

② スラリー相処理法

固相法と同様に土壤汚染等に用いられるが、前処理として瓦礫などの大きな破砕物を除いた後、汚染土をスラリー状に調整し、スラリー・バイオリアクターで化学物質を分解する。主に汚染物質濃度が高い場合や難分解性化学物質で汚染された土壤の浄化に用いられる。固相法より制御がし易く、処理期間も短い。処理コストは高くなる。

③ 原位置処理法

In Situ Bioremediation と呼ばれている方法で、主に汚染地下水の浄化法として用いられる。汚染された通気層や帯水層を堀削せずに、井戸や散水溝を用いて必要な栄養塩や酸素を供給する。これら成分の地下での移動を助けるため、別の井戸から地下水を汲み上げ循環させるなどして分解微生物を活性化させる。これに、地上バイオリアクターを併置して処理効率の向上をはかることもある。費用対効果の最も高い方法であるが、技術的にはまだ確立されたものではない。

(6) パイロット・プラント試験

設計した処理システムによる汚染地点での小規模試験を実施し、処理能力や処理速度、分解生成物などの最終評価を行うとともに、操作条件の設定、確認を行う。

(7) 汚染地点での実施

設計された処理システムを用いて、設定された操作条件で、汚染物質の残存濃度や分解微生物濃度などを継続的にモニタリングしな

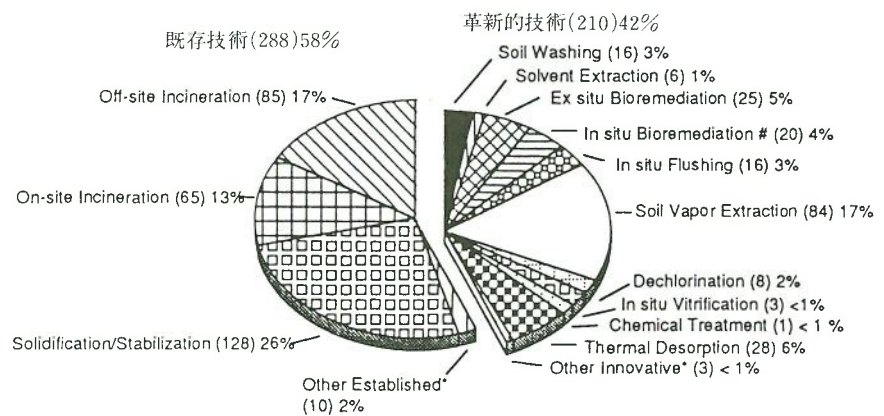
がら修復作業を実施する。

以上がバイオレメディエーション技術の現場適用に当たっての一般的手順であるが、既知の部分や未知の部分の多少など、個々のケースにおいては省略または追加すべき点も出てくる場合も十分想定される。

4. バイオレメディエーションの適用分野

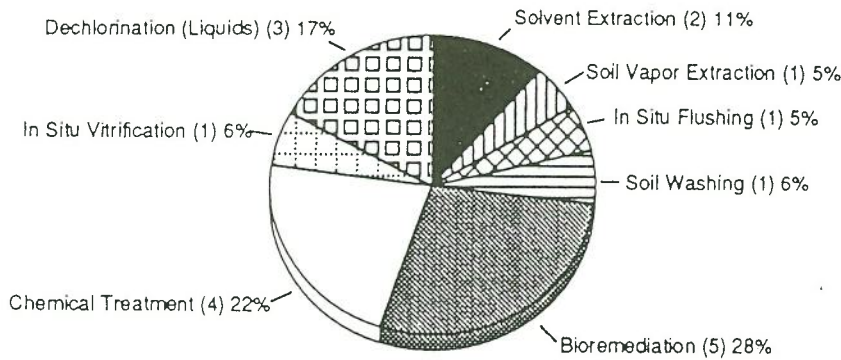
米国におけるスーパー・ファンド・サイトとして汚染修復が必要とされる個所は多数あるが、汚染物質の種類や汚染の場の特性によって、様々な修復技術の適用が試みられてきた。一例として、図1にそれらの修復技術の占有率を示すが、既存技術の適用例が革新的技術の適用例を上回っていることがわかる(1991米国会計年度)³⁾。また、図2に示すように、革新的技術の中ではバイオレメディエーションの適用例が多く、大きな期待がかけられていることがわかる³⁾。

米国EPAに報告されている適用事例によれば、バイオレメディエーション適用可能な汚染物質として、表1に示すような有機化学物質が示されている。特に、有機溶剤として大量に生産使用されてきたトリクロロエチレンやテトラクロロエチレンによる土壤、地下水の汚染は我が国と同様に米国においても大きな問題となっている。これらの汚染は帯水層



NOTE Data are derived from 1982 - 1991 Records of Decision (RODs) and anticipated design and construction activities as of February 1992. More than one technology per site may be used.
 () Number of times this technology was selected or used.
 * "Other" established technologies are soil aeration, in situ flaming, and chemical neutralization. "Other" innovative technologies are air sparging and contained recovery of oily wastes.
 # Includes nine in situ groundwater treatment remedies.

図1 1991米国会計年度までに汚染修復技術として採用された処理技術 (Total Number of Technologies=498)



Note: Data from the Removal Tracking System, CERCLIS, and phone survey of regional TAT offices. Includes all projects for FY 82-90 and one project from FY 91 as of February 1992.

() Number of times this technology was selected or used.

図2 突発的汚染事故修復に用いられた革新技術 (Total=18)

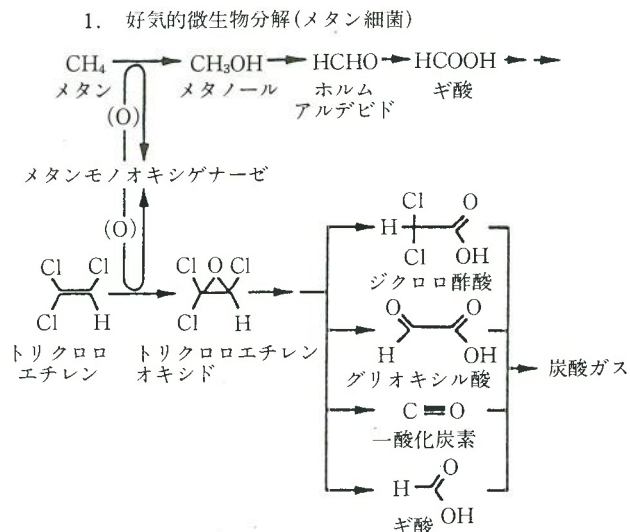
表1 バイオレメディエーションが可能な汚染物質

石油系炭化水素
アルカン, アルケン, 芳香族炭化水素
有機溶媒
アセトン, エチレングリコール, ブタノールジクロロメタン, トリクロロエチレンなど
木材保存剤
クレオソート, ペンタクロロフェノール
殺虫剤
2,4-D, MCPA, グリフォサート
化学原料
アクリロニトリル, アクリル酸エチルなど
コーラタール, 染料

(参考) Pacific Northwest Laboratories資料

にまで拡散している場合が多く、原位置処理法による修復に大きな期待が寄せられている。トリクロロエチレン分解菌の研究^{4,5)}では、メタン細菌やシュードモナスG 4菌を用いる方法が検討され、図3のような好氣的分解による経路により完全分解されると推定されている。なお、テトラクロロエチレンは好氣的分解だけでは完全分解されないため、嫌氣的脱塩素化反応との組合せが必要と思われる。

以上、バイオレメディエーション技術の現状を中心に概観したが、生まれて間もない技術でもあり、実用技術として現場に適用するには未だ多くの課題を克服しなければならない。我が国においても今後一層の発展を期すべき環境対策技術の分野であり、読者諸兄のご参考になれば幸いである。



2. 好氣的微生物分解(シュードモナス細菌)

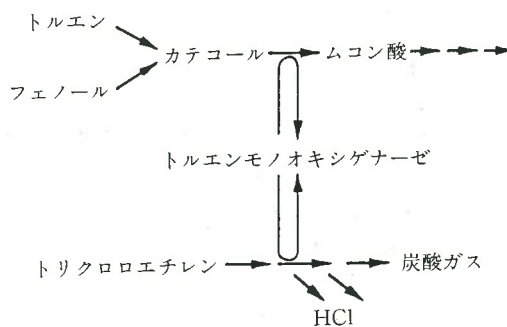


図3 トリクロロエチレンの微生物分解経路

参考文献

1) 漆川芳国 (1993) 「環境汚染修復の新しい潮流 (国際シンポジウム)」講演要旨

- 2) 西村 実 (1992) 環境技術 21: 677-680
- 3) U.S. EPA (1992) Innovative Treatment Technologies: Semi-Annual Status Report (Third Edition)
- 4) 矢木修身・内山裕夫 (1989) 微生物 5(6): 13-22
- 5) Nelson M.J., Montgomery S.O., Mahaffey W.R., Pritchard P.H. (1987) *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 949-954

国内情報

悪臭の除去

——微生物による分解——

広島大学生物生産学部
太田欽幸

表1 悪臭物質のにおい・主な発生源

物質名	主な発生源
ノルマル酪酸	畜産事業所、化製場、でん粉工場等
イソ吉草酸	畜産事業所、化製場、でん粉工場等
ノルマル吉草酸	畜産事業所、化製場、でん粉工場等
プロピオン酸	油脂製造工場、染色工場等
アンモニア	畜産事業所、化製場、し尿処理場等
メチルメルカプタン	パルプ製造工場、化製場、し尿処理場等
硫化水素	畜産事業所、パルプ製造工場、し尿処理場等
硫化メチル	パルプ製造工場、化製場、し尿処理場等
二硫化メチル	パルプ製造工場、化製場、し尿処理場等
トリメチルアミン	畜産事業所、化製場、し尿処理場等
アセトアルデヒド	化学工場、魚腸骨処理場、たばこ製造工場等
スチレン	化学工場、化粧台板製造工場等

1. はじめに

悪臭に対する苦情件数は年間約1万件あり、図1に示すように、騒音に続いて2番目に多い¹⁾。しかし、その対策は他の公害のそれに比べて遅れている。表1に、環境庁が指定している悪臭成分とその主な発生事業所を示す。この他にも臭気成分は数多くの種類がある。これらの成分は、非常に希薄な濃度でも嗅覚に感じられるため、その処理装置や、維持費

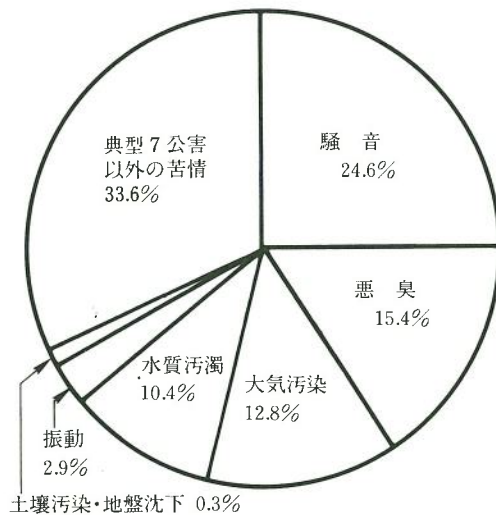


図1 苦情の種類別構成比¹⁾
(平成2年度)

OTA Yoshiyuki

が膨大となり、それが、その対策を遅らせる一つの理由になっている。

悪臭に対する苦情件数の中で、農業特に畜産業と食飼料製造工場や水産加工場からの悪臭に対するものが全体の約3分の1を占める。これらの事業所から排出される悪臭性の廃棄物質の源は輸入した食飼料が大部分である。しかし、その廃棄物が有する悪臭などのため積極的な利用がされないばかりか、悪臭公害や河川の汚染源となっている。しかし、これらの廃棄物は貴重なバイオマス資源であり、その悪臭などが除去できれば再び有効な資源として利用されるであろう。これらの廃棄物の悪臭の処理には色々方法がある。しかし、根本的には廃棄物中に存在する悪臭成分そのものを分解して無くしてしまうことが必要である。その際、いかに簡単に、短時間に、経済的に処理できるかが重要な問題となろう。

それには、微生物を用いる方法が、最も良い方法の一つである。筆者らが見出した微生物は、悪臭性の廃棄物に好んで生育し、悪臭成分を分解する無臭化微生物である。この微生物によるこれらの廃棄物の無臭化処理条件と、その性質について概略を述べる。

2. 無臭化微生物の分離

この微生物群は無臭化された豚ふんから見出された。しかし、従来の微生物の培養に用いられている培地では無臭化力のある微生物は単離できなかった。そこで、豚ふん、鶏ふん、あるいは腐敗した厨芥などを水によく懸濁し、脱脂綿などでろ過し、寒天を入れて平板培地を作った。そして、無臭化微生物の分離を行うと、数多く分離された²⁾。この微生物は畜ふんのみでなく、人ふんやその他の悪臭性の余剰汚泥や水産加工場や、食品加工場の廃棄物などでも良く増殖し、無臭化した。この無臭化微生物群による、色々な悪臭性廃棄物の無臭化条件は、pH 8~9、温度30~40°C、水分量40~60%、最少種菌接種量10%であった。これらの条件下ではいずれの廃棄物も2日間で、完全に無臭化された。無臭化の評価は官能法と機器を用いる分析の両方を併用して行った。前者は、男女合わせて5人の成人が、悪臭性廃棄物そのものの悪臭度(Malodor Strength, MS) 3として、それよりもMSが弱くなった場合は、MS 2, 1, 及び0とした。また、逆にMSが強くなった場合はMS 4 及び5とした。ここで、MS 0すなわち官能的に無臭化されたということは、その悪臭物質の特有の悪臭が完全に無くなったことを意味し、菌臭がしたり、またはアンモニア臭がしてもMS 0とした。アンモニアの発生は、この微生物を用いる場合の欠点ではあるが、それを防ぐ工夫が必要である。つぎに、機器として、ガス検知管およびガスクロを用いた。この場合、予め試料を密閉容器に入れ、一定温度で一定時間保った後に、そのヘッドスペースの中の臭気を測定した。

3. 無臭化微生物の培養条件

上述したように、この無臭化微生物群を用いると2日間で官能的に無臭化されるが、この種菌と試料の混合物にモミガラなどを添加し堆積すると、無臭化期間は大幅に短縮された。これらの物質の添加効果は、種菌と試料の混合物に空隙を与えることであることが分かった。種々の悪臭性廃棄物について、無臭化するための空隙度は、2~2.5 (l/kg)であった。このように試料を調整し、自然通気が可能な様な適当な箱に堆積すると、大部分の悪臭性廃棄物は約10時間で完全に官能的には無臭化された。この際、強制通気を行うと悪臭を含んだ排気が排出され、試料は殆ど無臭化されなかった。つまり、空隙度を2~2.5 (l/kg)にし、自然通気が可能な様な箱に堆積しておくことは、無臭化微生物の生育に必要な十分な空気を供給し、微生物が生育して発生する生育熱を空隙の中に保持保温する。その結果、微生物の生育が益々さかんと結果的に無臭化が急速に進むことになる。しかし、逆に過剰に通気を行うと、十分な酸素は供給されるが、微生物の生育熱が奪われ、却って微生物の生育が抑制され、無臭化されなくなる。また、排気中に多量の悪臭が出て、逆に悪臭公害となる。しかし、筆者らの方法でも、ある程度温度が高くなった、つまり微生物の増殖が盛んになった時に通気することは酸欠を防ぐうえで大切である。この時期になると大部分無臭化が完了しており、強制通気しても排気中には殆ど臭気は出なかった。しかし、空隙剤としてモミガラなどを用いると、これらは短時間に分解されないで、無臭化処理物を堆肥などとして用いる場合に問題が生ずる。その代わりに、無臭化処理物の添加量を増加すれば、無臭化処理物の接種と同時に、空隙形成、pH調整、それに水分調整が同時にできる。また、悪臭性の廃棄物である畜ふんなどは正常なものではpH 7.2~7.5であるが、食飼料工場からの廃棄物は酸性のものが多い。しかし、余剰汚泥中でカル

シウム剤を凝集剤として用いている場合は、そのpHが12などと非常に高い。これらの廃棄物を無臭化微生物を用いて処理する場合は、この微生物の生育至適pH近くつまりpH7~9に調整する必要がある。

4. 豚ふんの大量無臭化処理

筆者らは、上述した条件に基づき、100kgの豚ふんの無臭化処理を行った³⁾。つまり、これに10kgの種菌とモミガラを空隙度が2(1/kg)となる様にモミガラを適量入れ、よく混合した。そして、自然通気が可能な様に底に金網を張った木箱に自然堆積した。その結果、図2に示すように、堆積直後から、22℃、及びpH7.2の混合物が、それぞれ、堆積約12時間で、品温は約65℃に、pHは9.0になった。そして、堆積16時間で温度は68℃、pHは9.2となった。この間に官能的悪臭度は約8時間で完全にMS0になり豚ふんの特有臭は無くなった。その後、堆積物を箱から出し、ビニールシートの上に10cmの高さに広げ、天日乾燥すると約1日で水分量が約35%に減少した。この処理期間中には、ハエの飛来やウジ虫の発生は全く見られなかった。つ

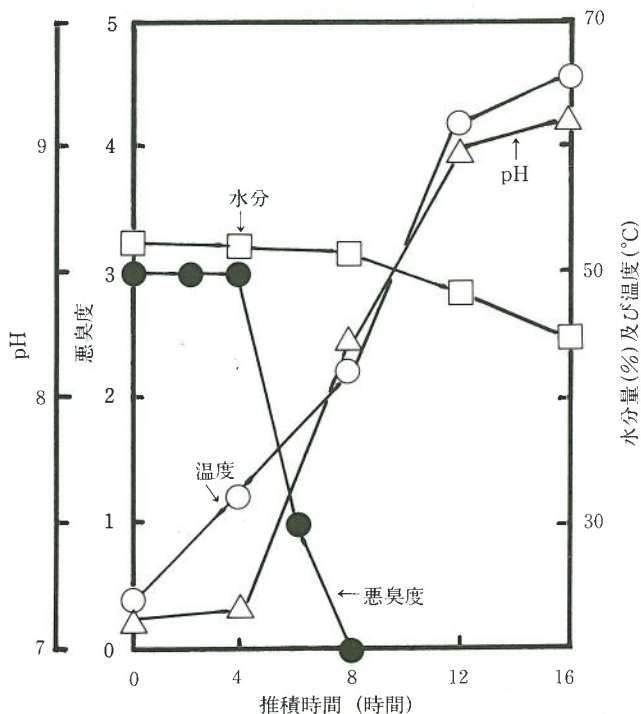


図2 豚ふんの無臭化過程

ぎに、この無臭化期間中に、高温性の細菌および放線菌数が増加し、それに伴って品温が上昇していることが分かった。細菌数は乾物1g当たり $10^8 \sim 10^9$ /g、放線菌数は $10^7 \sim 10^8$ /gであった。カビや酵母は殆ど見られず、この無臭化には殆ど関与していないことが分かった。また、豚ふん中に乾物1g当たり $10^8 \sim 10^9$ /g個の大腸菌が存在していたが、無臭化過程が進行するにつれて完全に死滅した。品温とpHの上昇の結果によるものと考えられる。この無臭化された豚ふん中には、未処理物に存在していた豚ふん特有の悪臭の主成分であるn-吉草酸などの揮発性脂肪酸や硫化水素などの悪臭性硫黄化合物は殆ど見い出せなかった。つまり、品温が上昇するにつれて、つまり微生物が増殖するにつれて豚ふんの悪臭が無くなることは、無臭化微生物が増殖しながら悪臭成分を分解し無臭化していると考えられた。

5. 硫化水素無臭化微生物の分離

そこで、臭気成分、たとえば硫化水素を無臭化している微生物が存在する筈であると考えた。そこで、廃棄物の抽出液を培地として、純粋分離した無臭化微生物を培養した。この洗浄菌体の懸濁液を三角フラスコに入れ、化学合成ゴム栓で密栓した。そして、これに硫化水素を入れ、振とうすると、硫化水素は、菌体を入れない場合よりも数倍速く減少した。その反応液中の生成物は元素硫黄やチオ硫酸根など、硫化水素が酸化された形に変わっていた。このような作用をする微生物としては独立栄養細菌の *Thiobacillus* 属の細菌が良く知られている。筆者らが見い出している微生物は、従属栄養性であり、その酸化エネルギーを利用してはいなかった。また、生細胞でなくても無細胞抽出液でもその活性があった。現在、その活性酵素を単離している⁴⁾。その他の悪臭成分を分解する無臭化微生物も数多く分離されている。これらの一微生物を利用して、たとえば、ある事業所で発生する悪臭成分に対応する無臭化微生物を強化して、土

壤脱臭などを行うと、もっとコンパクトに短時間に臭気成分を除去できるものと考えられる。また、空中に揮散している臭気成分は、無臭化微生物を固定化し、フィルムやカラムを作ってそれに臭気成分を含んだ空気を通すと、その通過中に悪臭成分が捕集され分解された。つまり、脱臭用のバイオフィルターとして用いることができることが分かった。

6. おわりに

このように、無臭化微生物は悪臭性の廃棄物に良く生育し、しかもその臭気成分を分解して無臭化する。その無臭化物は、肥料やメタン発酵の原料としても用いられることも分かっている。また、その主役を果たしている微生物は、固定化することにより脱臭性のフィルターとしても利用できるため、この微生物を上手に利用すれば、農業とくに畜産業や食品製造業などからの悪臭公害を除去することができると思われる。

純粋分離された無臭化微生物の大部分の生育至適 pH は 8~9、生育至適温度は 30~40℃で、前述した種菌のそれらとよく一致した。また、これらの微生物は、廃棄物の抽出液によく生育したが、窒素源として、アンモニアなどの無機態の窒素やアミノ酸あるいは尿素を利用できなかった。しかし、タンパク質の部分分解物であるペプチドを窒素源としてよく生育した。また、炭素源として、グルコースなどの糖は殆ど利用できず、悪臭性の低級脂肪酸をよく利用できることが分かった。図 3 に培地にグルコースと n-吉草酸を同時に入れた場合のその利用性を示している⁵⁾。これから分かるように、グルコースを殆ど利用

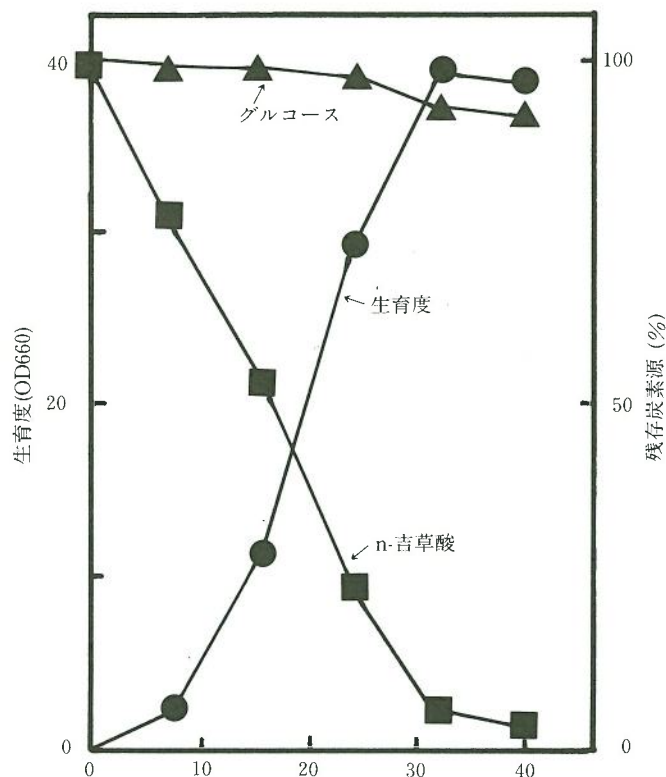


図3 無臭化微生物 (Strain No.922) による炭素源の利用性

せず n-吉草酸をよく利用して生育していることが分かった。これらの微生物の性質については、さらに色々と微生物学的にも興味があることが多い。

文 献

- 1) 環境庁 (1992) 環境白書各論 p.192
- 2) Ohta, Y. and Ikeda, M. (1978) *Appl. Environ. Microbiol.* 36 : 478-491
- 3) 太田欽幸・池田貢 (1979) 日本農芸化学会誌 53 : 277-284
- 4) 角田恭一・太田欽幸 (1993) 日本農芸化学会全国大会講演要旨集 p.201
- 5) 西林政治・太田欽幸 (1990) 同上 p.344

地域の先端研究

水産物を原料とした機能性食品素材の開発

北海道立食品加工研究センター

太田智樹

1. はじめに

食品に対する価値観は時代とともに変化し、最近では嗜好性、栄養性のほかに健康性が特に重視されてきている。

食品はタンパク質、脂質、糖質等の多くの複雑な成分を含んでおり、生体調節に関わる機能因子も多種存在するものと考えられている。そこで、食品が持つ生体調節機能に関する研究が活発に行われるようになり、健康の維持増進に役立つ機能成分を利用した食品の開発が盛んに行われている。これまでの研究でタンパク質の機能に関する報告が数多く出され、高血圧抑制、カルシウム吸収促進、免疫増強作用等が明らかにされている¹⁾。

食品タンパク質の機能のなかでも高血圧抑制作用を有するペプチドが特に注目され、高血圧予防食品の開発が試みられている²⁾。これは血圧調節に重要な役割を果たすレニン-アンギオテンシン系の昇圧酵素であるアンギオテンシン I 変換酵素 (以下 ACE と略す) を特異的に阻害し、昇圧ペプチドであるアンギオテンシン II の生成を阻止することにより

表1 各種水産物のプロテアーゼ分解物のACE阻害活性

	阻害活性 (%)				
	デナブシン	デナチーム	パバイン	ビオプラゼ	XP-415
シロサケ					
頭 部	77.5	82.9	89.4	89.6	85.0
肝 臓	51.0	50.0	33.9	47.4	43.2
ホタテガイ					
中腸腺	49.5	16.1	24.5	44.8	43.2

OHTA Tomoki

血圧上昇を抑制しようとするものである。ACE 阻害作用を持つペプチドは各種食品中に広く存在し、さらに乳カゼインやイワシ筋肉等のプロテアーゼ分解物中にも認められている³⁾。

一方、ACE 阻害ペプチドを利用した機能性食品素材を開発するためにはこれらの機能因子を含む生物資源を探索する必要がある。そこで、北海道の水産資源、特に水産加工で排出される未低利用部位に着目し、ACE 阻害ペプチドの検索を行った。これまでの研究経過について概要を説明する。

2. 未低利用水産物からの ACE 阻害ペプチドの検索

北海道の主要水産物であるシロサケ、ホタテガイは年々漁獲量が増加し、それに伴って水産加工で生ずる頭部や内臓等の副産物の処理が問題となり、その利用が懸案となっている。そこで、ACE 阻害ペプチドの検索試料としてシロサケの頭部 (鰓を除去し、ペースト状にしたものを用いた)、肝臓およびホタテガイ中腸腺を用いた。まず、これらの熱水抽出物の ACE 阻害活性を測定したところシロサケの頭部、肝臓に阻害活性が認められた。次に、これらの試料に食品用プロテアーゼを添加し、その分解物について ACE 阻害活性を測定した。表1に各試料のプロテアーゼ分解物の ACE 阻害活性を示した。食品用プロテアーゼで分解した試料は全て阻害作用を有し、熱水抽出物での阻害率と比べて高い値を示した。なかでもシロサケ頭部のビオプラゼ (枯草菌由来プロテアーゼ:長瀬生化学社

製) 分解物が非常に高い阻害活性を示した。

3. シロサケ頭部のビオプララーゼ分解物中の ACE 阻害ペプチド

シロサケ頭部のビオプララーゼ分解物を機能性食品素材として利用するためには機能因子となる ACE 阻害ペプチドの存在状態を明らかにする必要がある。

箴島らはイワシを原料として ACE 阻害ペプチドの分離に関する研究を詳細に行っている⁴⁾。彼らはイワシ筋肉のプロテアーゼ分解物に含まれる ACE 阻害ペプチドを ODS 樹脂によって分離回収する技術を開発している。そこでこの分離方法を用いて、シロサケ頭部のビオプララーゼ分解物中の ACE 阻害ペプチドの分離を試みた。

シロサケ頭部のビオプララーゼ分解物を遠心分離後、上清部分を限外濾過し、分子量 1 万以下の濾液を得た。この濾液に ODS 樹脂を加え、1 時間攪拌混合した後、これを減圧濾過した。ODS 樹脂を蒸留水で洗浄した後、吸着画分を 10, 30, 50% エタノールで溶出した。エタノールを除去後、凍結乾燥した試料を蒸留水に溶解し、ACE 阻害活性を測定した。その結果、50% エタノール画分が最も強い阻害を示した。この画分の分子量をゲル濾過(高速液体クロマトグラフ)で分析したところ、500 から 3,000 と推定され、少なくとも 2 つ以上の異なるペプチドが存在するものと考えられた。さらにアミノ酸分析の結果、ロイシン、リジン、グリシン等を多く含んでいた。現在、この画分に存在する ACE 阻害ペプチドの単離精製を行い、構造解析を試みている。

4. おわりに

以上述べてきたように水産物を原料とした

機能性食品素材を開発するために北海道の主要水産物であるシロサケ、ホタテガイの未低利用部位およびそのプロテアーゼ分解物について ACE 阻害ペプチドの検索を行った。

その結果、これらの水産物のうちシロサケの頭部および肝臓の熱水抽出物中に ACE 阻害活性が認められた。さらに食品用プロテアーゼで分解することにより全ての水産物で ACE 阻害活性が高まることが明らかとなった。なかでもシロサケ頭部のビオプララーゼ分解物は非常に高い ACE 阻害作用を有し、機能性食品素材として特に有望であることが示めされた。また、この分解物に含まれる ACE 阻害ペプチドを ODS 樹脂で分離した結果、50% エタノールで溶出する画分が最も強い阻害活性を示した。この画分に存在するペプチドはこれまでに報告されている水産物由来の ACE 阻害ペプチドと比べて分子量は大きく、アミノ酸組成も著しく異なることから新規なペプチドであることが推定された。これらのペプチドのアミノ酸配列を決定し、構造活性相関についても検討していく予定である。また、生体内での血圧抑制作用についても動物実験を行い、その機能が発現するかどうかについても確認する必要がある。

以上の様な基礎的知見を集積し、機能性食品素材の開発に役立て、北海道の水産物ならびに水産食品の高付加価値化を目指していきたいと考えている。

文 献

- 1) 千葉英雄・荒井綜一 (1988) 化学と生物 26(1) : 34-40
- 2) 村上海司・丸山進・唐木英明 (1988) フードケミカル 11 : 39-44
- 3) 島崎秀雄 (1991) ジャパンフードサイエンス 12 : 20-27
- 4) 箴島克裕・松田秀樹・澤邊質 (1993) 食品と開発 7(11) : 15-17

文献情報

組換え植物の野外試験の
生態学的側面

遺伝子組換え植物が目的とした圃場から自然の植生に侵入し雑草化する可能性は、野外放出の際の生態学的リスクの一つとして考えられてきたが、この可能性は生態学的側面と農学的側面から議論されてきた。生態学者は、過去に外来種 (exotic species) が雑草等の有害生物となった例を引用し、組換え生物はある意味では“exotic”な性質をもつものであるから、新たな有害生物となる可能性がある」と指摘している。これに対して農学者は、非常に長期間にわたり新たな性質を持った作物が育種されているが生態的に有害になった例は一つもないと反論してきた。どちらの側にも論理の展開に不十分な点があり、例えば侵入した外来種と、何百～何千年も人類によって栽培されている作物のたった一つの遺伝子を変化させた植物とは正確な類似になっていない。逆に、育種の“優れた記録”では従来法では成し得なかった形質をもった植物の安全性については何の保証も与えない。さらに、どんな形質が“侵入性”に有利であるかを正確には全く知らないこと、遺伝子組換えによらない品種でも有害となった例が知られていることは、論議を複雑にし、論争の決着はついていない。

このような状況に Crawley らは組換え植物の侵入性に関する生態学的実験結果を発表した。Crawley らは、カナマイシン耐性遺伝子を導入した組換えナタネと、カナマイシン耐性遺伝子と除草剤抵抗性遺伝子を導入した組換えナタネ、および組換え実験に供試した一般栽培品種の非組換えナタネの3種の植物の侵入性を推定するために、相違を単純化・均一化した環境でそれぞれの個体群生長率を対比させた。実験は気象条件の全く異なる3立地 (sites)、それぞれの立地について4種

類の環境 (habitats) (湿潤対乾燥、日照良好対日照不良の各組合せ) を選び、合計で12の異なる環境 (environments) で実施した。それぞれの環境 (environments) に、草食動物の有無、耕起の有無の4処理を施した。結果は際だって明瞭である。上記のどの環境・処理区でも、2種類の組換えナタネと非組換えナタネの間で、個体群生長率の差異は認められず、組換えナタネの侵入性は非組換えナタネのそれと差異は認められなかった。

しかし、この結果を直ちに組換え植物一般の結論として受け入れることは、以下の理由によりできない。つまり、歴史的にみれば侵入に完全に成功した生物でも爆発的に増殖する前の数年～数十年は侵入に失敗するかほとんど定着しないこともあり、また、侵入性の他にも例えば花粉や交雑を通しての遺伝子拡散が既存の雑草の生存力を高める可能性などの、議論すべきリスクは存在すること、さらに、耐ストレス性や耐虫性のような、野外栽培で有利になる特性を持った組換え植物にはこの結果は適用できないように思われるからである。

Crawley らの結果の重要性は、これまで見過ごされてきた生態学的な量的実験を行い、環境に対する問題を扱ううえで生態学の果たす役割を指摘したことにある。組換え植物の規制に適切なデータを得るための実用的で理路整然と統一された実験方法を、時間的にはバイオテクノロジーの発展に遅れないように設定することは簡単な仕事ではない。現在までに行われた野外試験では、農業上重要な特性が強調され、何世代にもわたる組換え植物群集の推移にはあまり力点が置かれていなかった。このような野外試験では生態系を維持するのも、植生等を破壊するのも、徹底的に行ってしまうので、そのような研究から自然状態での生態系の推移についてはヒントさえも得ることはできない。Crawley らの試験設計方法は組換え植物全てに対して、考え方は示すものの、単純に適用できるわけではない。純粋学問としての生態学は、実験事実としては何も得られていない事項について、思索を

加えることが多いが、組換え植物の侵入性や遺伝子拡散の可能性等の、既存の生態系へのインパクトを評価するためには、どういう試験を行い、何を評価すべきかを生態学者が一番よく知っている。生態学を用いて実験的に問題を解決していくことによって、組換え植物を野外放出した際の生態系の推移がより深く理解できるであろう。

(抄訳 木村雄輔一植工研)

KIMURA Yusuke

Transgenic plants on trial

Kareiva, P.

Nature 363 : 580, 17 June 1993

Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats

Crawley, M.J., R.S. Hails, M. Rees, D. Kohn and J. Buxton

Nature 363 : 620, 17 June 1993

文献情報

植物の胚形成初期においてオーキシンの極性輸送は子葉形成のために必須である

双子葉植物の胚発生において、初期の胚は主軸に対して放射相称の球状であるが、成熟胚は主軸を含む面に対して左右相称構造で、二つの子葉を持っている。この放射相称から左右相称への変化は球状型胚から心臓型胚へ移行するときに起こることは知られているが、この変化の基礎的な機構については知られていない。

著者らは最近 *Brassica juncea* (Indian Mustard) を用いて、受粉後、5～6日の球状胚 (ϕ 35-60 μ m) から高頻度で成熟胚へと成長する *in vitro* の培養系を確立している。このような培養系は *in vitro* で胚の発達について研究を行うには都合がよい。本報告では、この培養系を用いてオーキシン極性輸送阻害剤は放射相称から左右相称への変化をブロックすることが可能であることを示し、そ

の結果から、胚形成初期においてオーキシンの極性輸送は左右相称の確定、つまり左右対称の二つの子葉形成のためには必要不可欠であることを証明している。

この培養系では初期の球状胚から培養を始めて、心臓型、魚雷型を経て二つの子葉と伸長した胚軸を持つ成熟胚に12～15日間で達するが、オーキシンの極性輸送阻害剤を添加した場合には二つの分かれた子葉は形成されずに、二つの子葉が融合したような筒状の子葉が形成された。三つの異なる阻害剤 9-hydroxy-fluoren-9- carboxylic acid (HFC A), trans-cinnamic acid, 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) を用いて試した結果、筒状の子葉が形成するために必要な濃度は異っていたが、いずれも同様の表現型を示した。これはオーキシンの極性輸送の著しい減少によって生じる表現型といえよう。また筒状の子葉は胚発生初期の球状胚を培養したときのみ形成し、心臓型胚を培養したときには形成されなかった。このことは相称の変化は、球状胚から心臓型胚に移行するときに起こるといふ、これまでの知見と一致している。更に興味深いことに、この筒状の子葉を持つ胚は正常な成熟胚と同様の発芽培地に移植すると発芽した。すなわち、筒状の子葉が割れて、その中からシュートが出現するのである。これは、胚における左右相称は、その後の発達のためには必ずしも必要ではないかも知れないということを示唆しているのではないだろうか。

更に筆者らは、既に単離されているアラビドプシスの Mutant *pin1-1* についても胚の発達の調査を行っている。この Mutant は花序の軸に沿ってオーキシンの輸送活性が通常の14%に減少しているものである。この突然変異遺伝子をヘテロで持つ植物体を自殖することによって得られた胚を調査した結果、魚雷型胚には、子葉が二つに分かれているタイプと子葉が融合して筒状になっているタイプとその中間型のタイプの三つが存在していた。筒状の子葉をもつ胚はオーキシン極性輸送阻害処理した Indian Mustard の胚と同様の形

態を示すことから、アラビドプシスにおいてもオーキシンの極性輸送システムは胚形成に作用していると、筆者らは述べている。

筆者らは、これらの実験結果から、子葉形成のためのオーキシンの作用について二つの考え得るモデルを提唱している。その一つはオーキシシンがシュート原基の部分において合成され、二つの子葉の形成を誘導するために球状型胚の頂端において左右反対方向の二つの領域に極性輸送されるというモデルである。この場合、極性輸送がブロックされたとき、オーキシシンは中央の部分から回りの細胞にランダムに分散し、その結果として筒状の子葉を誘導するというものである。もう一つはオーキシシンがシュート原基の周縁領域の細胞において合成され、それから子葉形成のために二つの子葉形成領域に極性輸送されるというモデルである。この場合には極性輸送がブロックされたとき、オーキシシンは合成されたシュート原基のまわりの領域で集積し、その結果、周縁領域の細胞が成長し、筒状の子葉が誘導されるというものである。

オーキシシンを含む植物ホルモンは低分子で、また植物細胞内に低い濃度で存在しているために、その合成の場所と作用する位置を決定することは困難である。この問題に対する間接的なアプローチとしてシードリングやシュートの頂端における効果の報告はあるが、球状胚における効果についての報告は初めてといえるだろう。

更に、近年多くの植物種において葯または花粉を培養することにより花粉から直接、胚形成を誘導させることが可能となっている。しかしながら、これらの培養系では、しばしば奇形胚が発生したり、胚からの植物体の発生が困難であるといった問題に直面する。この報告によってオーキシシンの極性輸送が胚の形態形成に大きく関与していることが示唆された。このことは花粉からの胚形成における問題点の解決にも何等かのヒントになるのではないだろうか。

(抄訳 佐藤正紀—JT植物開発研)
(SATO Seiki)

Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenesis

Chunn-ming Liu, Zui-hong Xu and Nam-Hai Chua

The Plant Cell, 5 : 621-630 (1993)

文献情報

新しい実験材料としての 組換え植物体

効率の良い再分化系の確立に見られる組織培養技術と特定の機能を持つ遺伝子の単離、塩基配列の決定及び遺伝子導入技術といった分子生物学の結びつきは形質転換体の創出を可能にした。新しい機能を添加したトランスジェニック植物や特定のタンパク質の機能を抑えたアンチセンストランスジェニック植物を作出する段階からもはや利用する段階に移行してきている。窒素処理、光条件及び二酸化炭素濃度といった様々な環境条件下において光合成と成長の関係の研究における全く新しいアプローチとしてトランスジェニック植物とミュータントを供試材料とする実験系が行われ始めている。

遺伝子进行操作し、通常 RNA に転写される鎖の反対側の DNA 鎖の転写を起こさせると、正常な転写産物 RNA と相補的な配列を持つ RNA (アンチセンス RNA) が発現する。このアンチセンス RNA が多量に生産されると RNA とハイブリを形成し対応するタンパク質の合成を阻害する。アンチセンス RNA を導入した形質転換体では特異的にねらった遺伝子の発現つまりねらったタンパク質のみを低下させることができる。

トランスジェニック植物、特にアンチセンス植物では、作用点が明らかでありかつ他の諸影響を除外でき、目的とする変異体を作成が可能である。また、特定遺伝子の発現を種々のレベルで抑制できる。ミュータントを用いる実験系と比較すると、これらの諸点で非常

に優れている。

今回著者らは、RuBPc (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase) の小サブユニット *rbcS* のアンチセンス DNA を導入したタバコ (*Nicotiana tabacum*) を用いて窒素処理及び日照条件を変え光合成能力と成長の関係についてノーマル植物と比較検討を行った。

窒素濃度を3段階に設定し生育させた。高窒素含量条件 (5mM NH_4NO_3) 下では、アンチセンストランスジェニックタバコ (以下アンチセンスタバコと記す) は RuBPc の減少により光合成が減少し、それとともに成長が低下した。一方、低窒素区 (0.1mM NH_4NO_3) で、アンチセンスタバコの光合成は強く抑制されたが、ノーマルタバコに比べ生育に差はほとんど見られず、低窒素区では生育に及ぼす光合成の割合は低いと考えられた。また、葉面積はノーマルタバコを上まわった。

各処理区においてアンチセンスタバコのデンプンの蓄積は、窒素濃度の低下に伴い減少したが、SLA (葉の乾物重当たりの葉面積) は大きく増加した。これは、RuBPc の減少による光合成能力の低下の補償のための葉面積の増大と光受容体制のより効率的な発達によると考えられる。

以上の結果から、窒素分配と光合成能力は両方とも、資源の最大限の利用のためのバイオマスの蓄積と配置を規制するが、この2つはそれぞれ独立したメカニズムにより作用し、均衡を保もうとすることが示唆された。

第2の実験として生育の際の光強度を変化させた際の光合成能力と生育の関係を明らかにするために、異なった光条件下でアンチセンスタバコとノーマルタバコを生育させ影響を比較検討した。

弱光区 ($100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) のタバコの光合成速度を強光 ($750\sim 1000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) の条件下で測定すると、両方ともに RuBPc 含量が光合成を規定した。しかしながら強光で生育させた葉をより強光の光飽和した条件 ($1500\sim 2000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) で測定を行い、結果をアンチセンスタバコとノーマルタバコで比較す

ると RuBPc 活性の変化量ほどに光合成速度は変化しなかった。このことは、飽和光条件下において陽葉の光合成の割合を RuBPc は部分的に限定しているにすぎないということを示している。

強光区のタバコでは、乾物重及び全タンパク質あたりのチラコイド膜におけるタンパク質含量とクロロフィル含量は他の光条件下で生育したタバコに比べ低下した。NADP-MD (malate dehydrogenase) 活性も低かった。一連の結果により、強光区で生育した葉において光に対する反応と RuBPc 活性はバランスを保つように働き、強光の光条件下において暗反応系よりも明反応系が強く律速していることが示された。

一方、強光区に適応した葉を強光にさらした結果より、RuBPc 活性が主に制御しているということが明らかになり、暗反応系が強く律速することが示唆された。NADP-MD 活性は強光区で生育した葉に比べ高い値を示した。

このような結果より、強光下の成長条件における葉の構造は、RuBPc による一方的制御や、チラコイドに対する過度の刺激や活性の低下をやわらげる方向に変化するのではないかと考えられた。

アンチセンスタバコはノーマルタバコに比べ全タンパク、乾物中あたりのチラコイドタンパクの蓄積及びクロロフィル含量は大きくなる。植物が生育した以下の光条件下で測定を行うとノーマルタバコよりアンチセンスタバコは高い光合成速度を示した。

結論として、窒素の分配が生育に重要な要因であることを考慮すると窒素の分配はタバコにおいて最適でないということが考えられた。また、ある環境条件において RuBPc 活性が低いアンチセンスタバコでも高い光合成特性を示すということが明らかになった。

このようにトランスジェニック植物は植物の様々な環境変異に対する光合成と生長等の植物生理に関する研究における実験材料としても優れており、研究の進展に著しく寄与すると考えられる。

(抄訳 石丸 健一生物研)
(ISHIMARU Ken)

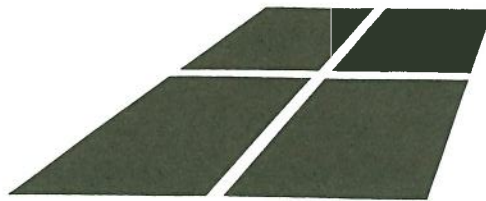
Decreased ribulose-1,5-biphosphate carboxylase-oxygenase in transgenic tobacco transformed with antisense rbcS.

VI. Effect on photosynthesis in plants grown at different irradiance

Lauerer, M. et al.
Planta 190 : 332-345 (1993)

V. Relationship between photosynthetic rate, storage strategy, biomass allocation and vegetative plant growth at different nitrogen supplies

Fichtner, K. et al.
Planta 190 : 1-9 (1993)



農業試験研究一世紀記念シンボルマーク

水田をシンボルとすることで歴史を、透視図にすることで広がりと発展を表現しました。

訂正とお詫び

前号16頁の「文献」のなかで誤りがありましたので、お詫びして訂正します。

文 献

(誤)

(正)

6) 林健司・…… 林研司・……

8) …・林健司・… …・林研司・…

編集後記

「農業試験研究一世紀記念」協賛第4号として「環境浄化の先端技術」を特集しました。環境浄化は一刻の猶予を許さず、また、避けて通れない問題であります。本号で紹介しましたように、石油やPCBなどの分解に新しい芽生えがみられ、排水浄化や悪臭除去などに優れた技術が開発されつつあることは、まことに心強いことでもあります。環境浄化技術は、浅賀前農業環境技術研究所長が冒頭で述べら

れているように、生態系全体として機能することが重要で、今後は個別の技術の開発とともに、これらが全体として有効に働くシステムの開発が期待されます。

次号は「農薬」を特集します。農薬はいろいろいわれていますが、農業生産には不可欠の資材で、より低毒性で環境にやさしい農薬の開発の現状と将来を紹介します。

(大畑記)

ブレイン テクノニュース (第40号)

平成5年11月15日発行

発行者 浜口 義曠

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

〒160 東京都新宿区新宿6丁目24-16 日本生命新宿6丁目ビル3F
TEL. 03-3205-6565 FAX. 03-3205-6566

編集 (社)農林水産技術情報協会

〒103 東京都中央区日本橋兜町15-6 製粉会館6F
TEL. 03-3667-8931 FAX. 03-3667-8933

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1993