

[自主研究]

バイオレメディエーション技術の活用による 有害化学物質汚染環境の高度浄化に関する研究

王効拳 杉崎三男 細野繁雄

1 目的

近年、多様な有害物質による土壌汚染が顕在化しており、低コスト・低環境負荷の修復技術が強く求められている。本研究は微生物や植物の機能を活用し、低コスト・低負荷型土壌環境改善技術を探索するものである。これまでに、難分解性有機汚染物質の分解能を持つ有用微生物を選出し、有用植物-微生物修復システムを構築した。また、本システムを用いて、ダイオキシン類汚染土壌の修復を室内及び現場で試験した結果、植物生長、根圏微生物の繁殖とともにダイオキシン類の低減が促進されることを明らかにした。さらに、酵素活性試験の結果、ラッカーゼ酵素が汚染物質の除去に与する可能性が考えられた。

本年度は、その修復機構の解明の一環として、微生物培養液及び植物-微生物修復システムにおける酵素活性の経日変化、有機汚染物質の分解との関連について、検討した。

2 方法

2.1 微生物培養液における酵素活性

分離された木材腐朽菌エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*) とシイタケ (*Lentinula edodes*) を液体培地に接種し、30℃で4週間静置培養した。有機性汚染物質の分解に与するリグニンペルオキシダーゼ (Lip)、マンガンペルオキシダーゼ (Mnp)、ラッカーゼ (Lac) の酵素活性の経日変化を測定した。

2.2 植物-微生物システムにおける酵素活性

ペレニアルライグラス (PG) とライ麦 (RW) を土壌に植え、エノキタケ及びブナシメジ培養液により接種した。各土壌中の蒸留水抽出液中の酵素活性の経日変化を調べた。また、ダイオキシン類などの分解に関連するRemazol Brilliant Blue R (RBBR) を用いて、その分解活性を調べた。

Lip、Mnp、Lac酵素は、それぞれベラトリルアルコール、マロン酸ナトリウム、ABTSを基質として反応させ、各生成物の極大吸収波長において1分間に吸光度を0.001増加させる酵素量を1Uと定義した。RBBRの分解活性は、終濃度0.01%のRBBRに対して、同色素の極大吸収波長595nmにおいて1分間に0.001の吸光度の減少を生じる酵素量を1Uとした。

3 結果

微生物培養液中のLacの活性は、2週間で最も高く、その後やや低下する傾向があった。エノキタケ培養液中のLac活性がブナシメジとシイタケより著しく高かった (図1左)。Mnp及びLipの活性は、いずれの培養液にも検出されなかった。

植物-微生物修復システムで、植物を植えた場合のみ土壌中Lacの活性が認められた。なかでも、PGとエノキタケを組合せた (PG-E) 系が最も高かった。Lacの活性の経日変化については、概ね1ヶ月後徐々に増加する傾向が見られた (図1右)。

RBBRの分解活性は、Lacの活性と同じく、植物を植えた場合に認められ、特に、PG-Eの組合せの分解活性が最も高かった。また、1ヶ月に比べ、3ヶ月の分解活性は増加しており、土壌中Lacの活性の経日変化を反映していた (図2)。

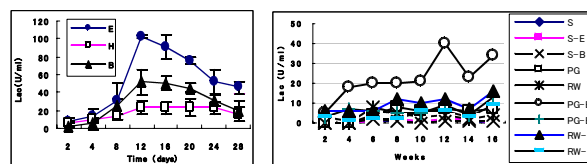


図1 微生物培養液 (左) 及び植物-微生物修復システムの土壌 (右) におけるLacの活性 (E: エノキタケ、B: ブナシメジ、H: シイタケ、S: 土壌)

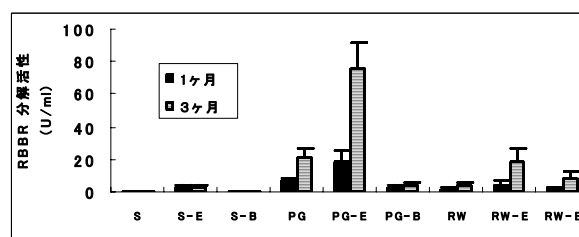


図2 植物-微生物修復システムにおける土壌抽出液のRBBR分解活性

4 まとめ

PG-Eなどを組み合わせた有用植物-微生物修復システムの研究結果から、ダイオキシン類汚染土壌の修復機構にラッカーゼ酵素の関与が推定された。