

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-299329

(P2001-299329A)

(43) 公開日 平成13年10月30日 (2001. 10. 30)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト* (参考)
C 1 2 N 1/20		C 1 2 N 1/20	A 2 D 0 4 0 D 2 E 1 9 1 F 4 B 0 6 5
A 6 2 D 3/00		A 6 2 D 3/00	4 D 0 0 4
B 0 9 C 1/10	Z A B	C 0 2 F 3/34	Z 4 D 0 4 0

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 4 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-115688(P2000-115688)

(22) 出願日 平成12年4月17日 (2000. 4. 17)

(71) 出願人 396020800

科学技術振興事業団

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(71) 出願人 591025163

国立環境研究所長

茨城県つくば市小野川16-2

(72) 発明者 矢木 修身

茨城県牛久市牛久町858-2

(72) 発明者 岩崎 一弘

茨城県つくば市並木2-120-202

(74) 代理人 100093230

弁理士 西澤 利夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微生物による有機塩素化合物汚染環境の浄化方法

(57) 【要約】

【課題】 高濃度のトリクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタンを分解することのできる新規な細菌と、これらの細菌を用いたバイオレメディエーション法を提供する。

【解決手段】 *Mycobacterium gilvum* AK株 (FERM P-17730) または *Mycobacterium duvalii* OS株 (FERM P-17731) を、有機塩素化合物による汚染土壌または汚染水に散布することを特徴とする浄化方法と、*Mycobacterium gilvum* AK株 (FERM P-17730) および *Mycobacterium duvalii* OS株 (FERM P-17731) 。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 *Mycobacterium gilvum* AK株 (FERM P-17730) を、有機塩素化合物による汚染土壌または汚染水に散布することを特徴とする浄化方法。

【請求項2】 *Mycobacterium duvalii* OS株 (FERM P-17731) を、有機塩素化合物による汚染土壌または汚染水に散布することを特徴とする浄化方法。

【請求項3】 *Mycobacterium gilvum* AK株 (FERM P-17730)。

【請求項4】 *Mycobacterium duvalii* OS株 (FERM P-17731)。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】この出願の発明は、トリクロロエチレンや1,1,1-トリクロロエタン等の揮発性有機塩素化合物によって汚染された環境(土壌や地下水)を微生物によって浄化する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】トリクロロエチレン(trichloroethylene)はドライクリーニング剤、金属の脱脂洗浄、冷媒、殺虫剤等の原料として産業上広く用いられている揮発性有機塩素化合物であるが、人体にとっては極めて有害に作用する。例えば、高濃度蒸気暴露による急性中毒では目の刺激と麻酔作用が強く現れる他、慢性中毒では視野狭窄、顔面や舌の三叉神経知覚麻痺、歩行障害、肝障害、腎障害等が生じる。

【0003】このようにトリクロロエチレンに汚染された環境から得られた農産物や地下水の摂取は人体に深刻な影響を及ぼす。従って、トリクロロエチレンそれ自体やその含有物質の処分には十分な配慮が求められることは当然として、既にトリクロロエチレンに汚染された土壌や水域の浄化・修復が強く望まれている。

【0004】トリクロロエチレン等の揮発性有機塩素化合物による土壌や地下水汚染は、日本では1,000箇所以上存在し、米国においては30万箇所も存在するといわれており、各種の浄化研究が精力的になされている。現在、トリクロロエチレン汚染の浄化は、主として物理化学的手法が用いられている。しかしながら、この従来方法の場合には、大がかりな設備投資によるコストの上昇や、あるいは物理化学的な処理操作による環境破壊等の点から、その効果的な実施は大幅に制限されているのが現状である。

【0005】一方、安価で、しかも環境への影響が極め

て少ない汚染浄化・修復方法として、生物の働きを利用した技術(バイオレメディエーション)の実用化が近年本格化しつつある。トリクロロエチレン汚染の浄化・修復についても、メタン資化性菌、フェノール資化性菌、トルエン資化性菌、アンモニア酸化細菌等によるトリクロロエチレンの分解・除去が検討されている。

【0006】しかしながら、これらの従来菌の場合には、高濃度のトリクロロエチレンを分解することができない。また、従来菌は別の揮発性有機塩素化合物(例えば、1,1,1-トリクロロエタン)を分解することができない。この1,1,1-トリクロロエタンは局所腐食薬として広く用いられているが、極めて潮解性であり、皮膚を著しく腐食するなどの有害性が知られている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】前記のとおり、有害物質による汚染環境の浄化・修復の手段としてバイオレメディエーションの実用化が求められているが、そのための最も重要な課題は、有害物質を効率よく分解・除去することのできる細菌を特定することである。

【0008】この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、複数の揮発性有機塩素化合物(トリクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタン)による同時汚染や高濃度汚染を浄化・修復することのできる新規な細菌と、この細菌を用いた汚染環境の浄化方法を提供することを課題としている。

【0009】

【課題を解決するための手段】この出願は、前記の課題を解決する発明として、*Mycobacterium gilvum* AK株(FERM P-17730)または*Mycobacterium duvalii* OS株(FERM P-17731)を、有機塩素化合物による汚染土壌または汚染水に散布することを特徴とする浄化方法を提供する。

【0010】またこの出願は、*Mycobacterium gilvum* AK株(FERM P-17730)および*Mycobacterium duvalii* OS株(FERM P-17731)をも提供する。

【0011】

【発明の実施の形態】この発明の*Mycobacterium gilvum* AK株(以下、AK株と記載する)および*Mycobacterium duvalii* OS株(以下、OS株と記載する)は土壌から単離した細菌であって、以下の表1に示した菌学的性質を有している。

【0012】

【表1】

	AK株	OS株
1. 形態	短桿形状	短桿形状
2. 運動性	—	—
3. グラム染色性	+	+
4. カタラーゼ	+	+
5. オキシダーゼ	—	—
6. O-Fテスト	—	0
7. 胞子の有無	—	—
8. メナキノン	MK-9 (H ₂)	MK-9 (H ₂)
9. 炭素資化性		
・メタン	—	—
・エタン	+	+
・プロパン	—	+
・エタノール	+	+
・酢酸	—	—
・アセトン	—	—
・トルエン	—	—
・1-ブタノール	+	+
・グルコース	+	+
・クエン酸塩	+	—
・マンニトール	+	+
・キシロース	+	—
・L-アラビノース	+	—

【0013】以上のとおりの菌学的性質を有するAK株およびOS株は、平成12年2月10日付けで工業技術院生命工学工業技術研究所に特許微生物として寄託され、それぞれFERM P-17730およびFERM P-17731との受託番号を付されている。

【0014】以下、これらの細菌のトリクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタン分解能について検討した試験例を示してこの発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例に限定されるものではない。

実施例1

69 mlバイアルビンにMM培地(表2)を10 ml加え、これにトリクロロエチレンを1 mg/lの濃度で添加し、AK株を接種しブチルゴム栓とアルミキャップでシールした。次いで、ガス層の3 mlをエタンガスで置換し、30°Cで振とう培養した。その結果、7日間でトリクロロエチレンがほぼ完全に分解・除去された。

【0015】

【表2】

成分	含有量 (mg/l)
NH ₄ Cl	2,140
K ₂ HPO ₄	1,170
KH ₂ PO ₄	450
MgSO ₄ · 7H ₂ O	120
FeSO ₄ · 7H ₂ O	28
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	4.8
MnSO ₄ · 5H ₂ O	0.06
H ₃ BO ₃	0.005
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.01
Na ₂ MoO ₄	0.001
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.06
NiSO ₄ · 7H ₂ O	0.006
H ₂ SeO ₄	0.004

【0016】実施例2

69 mlバイアルビンにMM培地を15 ml加え、これにトリクロロエチレンを50 mg/lの濃度で添加し、AK株を接種しブチルゴム栓とアルミキャップでシールした。次いで、ガス層の12 mlをエタンガスで置換し、30°Cで振とう培養した。その結果、7日間でトリクロロエチレンの20%が分解・除去された。

実施例3

69 mlバイアルビンにMM培地を15 ml加え、1,1,1-トリクロロエタンを75 mg/lの濃度で添加し、AK株を接種しブチルゴム栓とアルミキャップでシールした。次いで、ガス層の3 mlをエタンガスで置換し、30°Cで振とう培養した。その結果、2週間で1,1,1-トリクロロエタンの50%が分解・除去された。

実施例4

69 mlバイアルビンにMM培地を15 ml加え、トリクロロエチレンを1 mg/l、1,1,1-トリクロロエタンを1 mg/lの

濃度でそれぞれ添加し、05株を接種しブチルゴム栓とアルミキャップでシールした。次いで、ガス層の12 mlをエタンガスで置換し、30°Cで振とう培養した。その結果、3日間でトリクロロエチレンの50%以上、1,1,1-トリクロロエタンの80%が分解・除去された。

実施例5

69 mlバイアルビンに土壌を30 gおよび地下水30 mlを充填し、これにトリクロロエチレンを1 mg/l、1,1,1-トリクロロエタンを1 mg/lの濃度でそれぞれ添加し、AK株を*

*接種し、25°Cで保管した。その結果、24時間後にはトリクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタンの90%以上が分解された。

【0017】

【発明の効果】以上詳しく説明したとおり、この出願によって、高濃度のトリクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタンを分解することのできる新規な細菌と、これらの細菌を用いたバイオレメディエーション法が提供される。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	タームコード (参考)
C 0 2 F 3/34		E 0 2 D 3/12	1 0 3
E 0 2 D 3/12	1 0 3	(C 1 2 N 1/20	A
//(C 1 2 N 1/20		C 1 2 R 1:32)	
C 1 2 R 1:32)		B 0 9 B 3/00	Z A B E
(72)発明者 橋本 顕子		F ターム (参考)	2D040 AA00 AB00 AC00
茨城県つくば市春日2-31-1 ヴィラ春日505			2E191 BA12 BB00 BB01 BD11 BD20
			4B065 AA36X BA22 BD25 CA56
			4D004 AA41 AB06 AC07 CA18 CC07
			4D040 DD03 DD11