

(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2001-218577
(P2001-218577A)

(43) 公開日 平成13年8月14日 (2001.8.14)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N	1/20	C 1 2 N 1/20	F 2 E 1 9 1
A 6 2 D	3/00	A 6 2 D 3/00	A 4 B 0 6 5
B 0 1 D	53/70	C 0 2 F 3/34	4 D 0 0 2
B 0 9 C	1/10	(C 1 2 N 1/20	Z A B Z 4 D 0 0 4
			F 4 D 0 4 0

審査請求 有 請求項の数 4 O L (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-30330(P2000-30330)

(22) 出願日 平成12年2月8日(2000.2.8)

(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

(71) 出願人 591075412

浅野工事株式会社

東京都中央区日本橋本町4丁目9番11号

(72) 発明者 矢木 修身

茨城県つくば市小野川16-2 環境庁国立

環境研究所内

(74) 代理人 100078994

弁理士 小松 秀岳 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脂肪族塩素化合物の分解方法及びそれに用いる微生物

(57) 【要約】

【課題】 微生物を利用して脂肪族塩素化合物を分解する方法およびそのための微生物の提供。

【解決手段】 ミコバクテリウム (mycobacterium) 属に属し、脂肪族塩素化合物分解能を有する微生物を、脂肪族塩素化合物、又はその含有物と接触させることを特徴とする脂肪族塩素化合物の分解方法、およびプロパン資化性であり、トリクロロエチレンを分解するミコバクテリウム クロロフェノリカム AK-1 (受託番号 F E R M P-17692)。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ミコバクテリウム (mycobacterium) 属に属し、脂肪酸塩素化合物分解能を有する微生物を、脂肪酸塩素化合物、又はその含有物と接触させることを特徴とする脂肪酸塩素化合物の分解方法。

【請求項 2】 微生物が、トリクロロエチレンを分解するプロパン資化性菌である請求項 1 記載の脂肪酸塩素化合物の分解方法。

【請求項 3】 微生物がミコバクテリウム クロロフェノリカム AK-1 (工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号 FERM P-17692) である請求項 1 又は 2 記載の脂肪酸塩素化合物の分解方法。

【請求項 4】 プロパン資化性であり、トリクロロエチレンを分解するミコバクテリウム クロロフェノリカム AK-1 (工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号 FERM P-17692)。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、微生物による飽和及び不飽和脂肪酸塩素化合物の分解方法及びその方法に用いる新規微生物に関するものである。更に詳しくは工場からの排水、排ガス或いは汚染土壌中等に含まれるトリクロロエチレンのような揮発性脂肪酸塩素化合物の微生物による分解除去方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】工場からの排水、排ガス、或いは化学工場付近の汚染された土壌には各種有機塩素化合物が混入されており、近年環境汚染等の問題からこれらの有効な除去方法が求められている。特にトリクロロエチレンは、半導体洗浄等で用いられている難分解性物質であり発ガン性を有し、土壌・地下水汚染物質として問題になっている。

【0003】従来、汚染土壌・地下水或いは排ガス中からトリクロロエチレンのような有機塩素化合物を除去するには、揚水曝気や真空抽出又はこれらに活性炭による吸着除去法を組み合わせた方法などが行われてきたが、これらは、物質が分解される訳ではなく必ずしも効率的かつ経済的な除去方法とはなっていない。

【0004】一方、有機塩素化合物の効率的かつ簡単な分解除去手段として微生物を用いる方法がいくつか試みられ報告されている。例えば、ロドトルラ属、クラドスポリウム属、キャンディダ属、サッカロミセス属、及びストレプトミセス属の微生物を用いてポリクロル化されたピフェニルのような有機塩素化合物を分解除去する例等が報告されており (特開昭 48-98085 号、特開昭 48-98086 号、特開昭 49-6186 号)、また、脂肪酸塩素化合物を有効に分解する微生物については、シュウドモナス属、メチロシスティス属、メチロシナス属等が報告されている (特開平 2-92274 号

等)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】そこで、微生物を用いてトリクロロエチレンのような脂肪酸塩素化合物を用いて分解するには、その微生物が炭素源として用いる化合物が環境に対して負担の少ないものであること、その微生物がトリクロロエチレンのような脂肪酸塩素化合物を分解できる能力を併せ持っていなければならない。従ってそのような新規微生物の提供とそれを用いた有害化合物の分解除去方法の開発が強く要望されていた。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、トリクロロエチレンのような脂肪酸塩素化合物を分解する微生物を鋭意探求した結果、土壌中よりトリクロロエチレンを好氣的に分解する菌を単離し、この微生物を用いて前記化合物を分解除去する方法を発明するに至った。

【0007】即ち本発明は、(1)ミコバクテリウム

(mycobacterium) 属に属し、脂肪酸塩素化合物分解能を有する微生物を、脂肪酸塩素化合物、又はその含有物と接触させることを特徴とする脂肪酸塩素化合物の分解方法、(2)微生物が、トリクロロエチレンを分解するプロパン資化性菌である前記(1)記載の脂肪酸塩素化合物の分解方法、(3)微生物がミコバクテリウム クロロフェノリカム AK-1 (工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号 FERM P-17692) である請求項 1 又は 2 記載の脂肪酸塩素化合物の分解方法、

(4)プロパン資化性であり、トリクロロエチレンを分解するミコバクテリウムクロロフェノリカム AK-1 (工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号 FERM P-17692)、に関する。

【0008】本発明の脂肪酸塩素化合物を分解法に利用する菌は、プロパン、及びメタン、エタン、ブタン、メタノール、エタノール、1-プロパノール、n-ブタノールを炭素源として生育し、トリクロロエチレンを分解するプロパン資化性菌であるミコバクテリウム・クロロフェノリカム AK-1 からなるものである。

【0009】本発明の微生物は各種土壌に広く分布しこれから採取し得られるが採取方法としては例えば次のような方法を用いる。例えば土壌 1g を 1mq/l のトリクロロエチレン及びプロパンを置換したバイアル瓶に入れ、馴養培養を繰り返し、トリクロロエチレンを分解する混合微生物相を得る。トリクロロエチレンの分解には酸素と供にプロパンが必須であることから混合微生物相からプロパン資化性菌の単離を行う。本発明に於いて単離された菌はミコバクテリウム・クロロフェノリカム AK-1 である。この菌を顕微鏡で観察すると桿菌で以下の表に示すような特性を有するものである。

【0010】

【表 1】

3	4
項目	試験結果
グラム染色性	+
孢子	-
運動性	-
酸素に対する性質	好気性
カタラーゼ	+
OFテスト	-
抗酸性	+
集落の色調	NP
rod - coccus cycle	-
集落の周辺細胞の伸長	+
細胞壁	
ジアミノ酸	meso-DAP
アシルタイプ	グリコリル型
アラビノガラクトサンポリマー	+
ミコール酸	+
主要キノン系	MK-9(H ₂)
菌体内 DNA の GC 含量(mol%)	68

【0011】以上の菌学的性質に基づき本菌株の同定を行い、その結果ミコバクテリウムに分類された。また、16SリボゾームDNA相同検索の結果本菌株は、ミコバクテリウム・クロロフェノリカムAK-1と命名された。そして、この本発明の菌は受託番号FERM P-17692として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。

【0012】本発明の菌はトリクロロエチレン及びその各種類縁化合物即ち、シス-1,2-ジクロロエチレン、1,1-ジクロロエタン、ジクロロエタン、ジクロロメタン、クロロホルム等を分解する性質を有し、50mg/lの高濃度トリクロロエチレンを30日間で約15%分解する能力を持つ。

【0013】本発明を実施するに当たっては、本発明の微生物を予め適当な培地にて培養し、それをトリクロロエチレン或いは該当する化合物を含有する排水、排ガス等と溶液状態で接触させる。また、汚染土壤の場合には水分量を調整させた状態で接触させる。

【0014】

【実施例】実施例（分解実施例）

【0015】

【表2】

*	実施例（分解実施例）	
20	NH ₄ Cl	2140 mg
	K ₂ HPO ₄	1170 mg
	KH ₂ PO ₄	450 mg
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	120 mg
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	28 mg
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	4.8 mg
	MnSO ₄ ·5H ₂ O	0.6 mg
	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.6 mg
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.1 mg
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.06 mg
	NiSO ₄ ·7H ₂ O	0.06 mg
30	H ₃ BO ₃	0.05 mg
	H ₂ SeO ₄	0.04 mg
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 mg
	D.W: 1000ml	pH7.0

【0016】上記に示す培地を用い、前記本発明の菌をトリクロロエチレン及びプロパンと空気の下（プロパン濃度5%）1~30日間30℃で培養、接触させトリクロロエチレンの分解を行った。その結果を次表に示す。

* 【0017】
40 【表3】

トリクロロエチレンの分解

濃度 (mg/l)	日数(日)					
	1	3	5	7	14	30
1	10	75	95	95		
5	5	25	65	95		
10	5	15	15	95	95	
20			5	15	40	90
50					10	15

単位: (%)

【0018】実施例2
実施例1に使用した培地を用い、前記本発明の菌をトリ

50 クロロエチレン以外の脂肪族塩素化合物及びプロパンと空気の下（プロパン濃度5%）7日間30℃で培

養、接触を行い、脂肪族塩素化合物を分解をした。その結果を次表に示す。

トリクロロエチレン以外の脂肪族塩素化合物の分解能

分解化合物	分解率 (%)
シス-1,2-ジクロロエチレン	52.3
1,1-ジクロロエタン	97.8
1,2-ジクロロエタン	81.4
ジクロロメタン	100
クロロフォルム	28.2

分解化合物濃度 (1mg/l)
分解日数:7日間

【0020】実施例3

実施例1に使用した培地を用い、前記本発明の菌をプロパン以外の物質を炭素源として利用し、空気存在下30℃で4日間あるいは7日間培養、接触を行い、トリクロロエチレンを分解した。その結果を次表に示す。

【0021】

【表5】

各種炭素源でのトリクロロエチレンの分解

炭素源(濃度)	分解率 (%)
メタン 10%	55
ブタン 20%	100
メタノール (200mg/l)	40
エタノール (200mg/l)	75
プロパノール (500mg/l)	80
ブタノール (500mg/l)	100

分解日数:メタノール、エタノールは7日間それ以外の物質は4日間

【0022】実施例4

更に前記本発明の菌を前記同様培養し、その培養した菌体をトリクロロエチレン(1mg/l)含む土と共にバイア※

※ル瓶に入れ、水を加えてスラリー状(泥水)とした。この時、土を10g及び水を添加して泥水が15mlとなるようにした。これを炭素源と空気存在下1~3日間、30℃で接触させ分解実験を行った。その結果を次表に示す。

【0023】

【表6】

土壌中でのトリクロロエチレン分解能[分解率(%)]

項目	日数		
	1	2	3
菌体のみ	40	50	60
プロパンのみ	15	15	20
n-ブタノールのみ	15	15	30
菌体+プロパン	65	90	100
菌体+n-ブタノール	80	95	100

【0024】

【発明の効果】以上説明したように本発明の新規微生物を使用することにより難分解性の脂肪族塩素化合物を効果的に分解できる。したがって、本発明は脂肪族塩素化合物を含む排水、排ガス、あるいは脂肪族塩素化合物で汚染された地下水や土壌の浄化に有用である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード(参考)
C 0 2 F 3/34	Z A B	C 1 2 R 1:32)	
//(C 1 2 N 1/20		B 0 1 D 53/34	1 3 4 E
C 1 2 R 1:32)		B 0 9 B 3/00	E

(72)発明者 岩崎 一弘
茨城県つくば市小野川16-2 環境庁国立環境研究所内

(72)発明者 大橋 貴志
東京都中央区日本橋本町1-49-2 浅野工事株式会社内

(72)発明者 今野 聡
東京都中央区日本橋本町1-49-2 浅野工事株式会社内

(72)発明者 植田 昭郎
東京都中央区日本橋本町1-49-2 浅野工事株式会社内

Fターム(参考) 2E191 BA15 BB01 BD20
4B065 AA36X AC20 BA23 BB04
BC06 CA56
4D002 AA21 AC10 BA17 CA07 DA56
DA59 EA06 GA02 GB02 GB03
4D004 AA41 AB06 CA19 CC07
4D040 DD03