

アメフラシ腸内細菌を用いた海水中のフェノール除去

小林史尚^{1,2)}, 鈴木信雄³⁾, 中村嘉利²⁾

¹⁾〒920-1192 金沢市角間町 金沢大学自然計測応用研究センター, エコテクノロジー研究部門;

²⁾〒920-1192 金沢市角間町 金沢大学大学院自然科学研究科, 物質工学専攻; ³⁾〒920-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学自然計測応用研究センター, 臨海実験施設

Fumihisa KOBAYASHI^{1,2)}, Nobuo SUZUKI³⁾, and Yoshitoshi NAKAMURA²⁾: Removal of phenol in seawater using an intestinal bacterium of *Aplysia kurodai*

フェノール類は、農場やゴルフ場において農薬として用いられており、その廃水が川から海へ流れ込むことによる海洋汚染が問題となっている^{1,2)}。また、タンカー座礁事故などフェノール類の海洋汚染は深刻な状況となっている。瀬戸内海や富山湾といった閉鎖海域においては、海流による拡散が少ないため、フェノール類の蓄積が著しくその処理方法が模索されている。海水中のフェノール類など汚濁物質の処理に海洋生物の腸内細菌など海洋細菌の応用が提案されている。しかしながら、海洋生物の腸内細菌の研究はまだ歴史は浅く不明な点が多く、スクリーニング法に関してもまだ確立されたとは言い難い³⁾。著者らは、これまで海洋生物の腸内に成育する細菌の単離と同定を行ってきた^{4,5)}。本研究では、これまでの著者らの知見を生かし、アメフラシの腸内容物から単離されたEBR03株を用いて海水に含まれるフェノールの分解実験を行い、海水からのフェノール除去法を検討した。

アメフラシをMS222(Aldrich)で麻酔し、腸内容物を採取した。この腸内容物約1 mLを改変ALLEN海水⁶⁾ (NaCl 15 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 3.58 g/L, MgCl₂ · 6H₂O 2.72 g/L, CaCl₂ · 2H₂O 0.6 g/L, KCl 0.39 g/L, NaHCO₃ 0.1 g/L) 9 mLに攪拌溶解した。この溶液を0.5 g/Lフェノールを含む改変ALLEN海水寒天培地(寒天濃度 20 g/L)に200 μLずつ塗抹し、15°Cで4から5日間放置した。薬品は全て和光純薬工業製のものをを用いた。数十枚の寒天培地の中で、一枚の寒天培地から数個のコロニーが認められ、その1つをEBR03と命名した。

最初にEBR03株のフェノール耐性を検討した。300 mL容量の三角フラスコを用いて100 mg/Lのフェノールを含む改変ALLEN海水100 mLに植菌し、回転数100 rpmのロータリーバイオシェーカー(Fine, SNC-170)を用いて30°C、約200時間培養した。菌体濃度は波長610 nmの菌体光学密度として分光光度計(島津製作所製UV-1200)を用いて測定した。

Figure 1にEBR03株の菌体増殖曲線を示す。培養開始とともに菌体は増殖し、

100時間後には菌体光学密度0.01で一定となった。この結果はフェノールを含まない結果とほぼ変わ

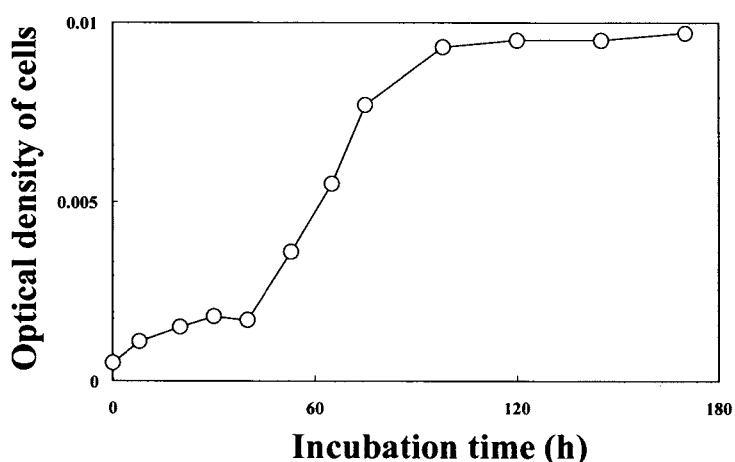


Figure 1 Cell growth of EBR03 strain in seawater containing phenol.

らなかったためEBR03株はフェノール耐性を持つことがわかった。

次に、EBR03株の海水に含まれるフェノール除去について実験的に検討した。除去実験は耐性実験と同じく100 mg/Lのフェノールを含む改変ALLEN海水を用いて行った。フェノール除去率は、Wakosil Agri-9を充填したカラムが付属

している高速液体クロマトグラフィー（島津製作所製LC-10A）を用いてフェノール濃度を測定し初期濃度との比から推算した。測定に用いたキャリアーは0.01 % EDTAを含む50 mMリン酸緩衝液（pH 3.7）とアセトニトリルを55対45の比で混合した溶液である。キャリアーの流速は1 mL/minであり、サンプル10 μ Lをカラムに注入し、波長210 nmにおける吸光度から絶対検量線法によって求めた。Figure 2にフェノール除去率の経

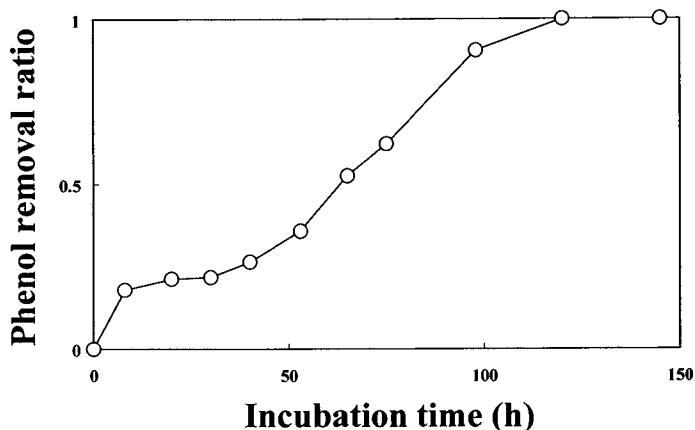


Figure 2 Removal of phenol in seawater using EBR03 strain.

時変化を示す。フェノール除去率は約100 時間で1に達し、海水中の100 mg/Lのフェノールをほぼ完全に除去することができた。

以上の結果から、EBR03株を用いた海水中のフェノール処理は、活性炭処理などの他の物理・化学的処理に比べ処理時間が長いという欠点があるものの、低コスト・低環境負荷でフェノール（100 mg/L）をほぼ完全に分解処理できることがわかった。

引用文献

- 1) Schwedt, G.: The essential guide to environmental chemistry. John Willey & Sons (1996)
- 2) Colborn, T., Saal, F.S., Soto, A.M.: Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in sildlife and humans. Environmental Health Perspectives, 101: 378-384 (1993)
- 3) 杉田治男, 出口吉昭: 海産動物の腸内細菌相. 海洋科学, 211: 51-57 (1988)
- 4) 小林史尚, 岩井尚子, 鈴木信雄, 中村嘉利: クロシタナシウミウシの腸から単離された海洋細菌の同定. 金沢大学自然計測応用研究センター臨海実験施設研究概要・年次報告, 3:18-19 (2005)
- 5) 小林史尚, 鈴木信雄, 中村嘉利: 16S rDNA 解析による新規海洋細菌の同定. 金沢大学自然計測応用研究センター臨海実験施設研究概要・年次報告, 4: 22-23 (2006)
- 6) 鈴木信雄, 矢澤一良, 渡部和郎, 赤堀結花里, 石川千夏, 近藤聖, 高田清克: エイコサペンタンエン酸産生菌 SCRC-2738 の大量培養条件の検討. 日本水産学会誌, 58: 323-328 (1992)

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金（若手研究（B）No. 17710060、代表：小林史尚）の援助により行われた。ここに記して謝意を表します。