

# 多様な微生物が協働で工業廃水中の有害物質 1,4-ジオキサンを安定的に分解

国立研究開発法人 産業技術総合研究所、株式会社 日本触媒と共同で、産総研で確立した、従来法より 500 倍の検出感度を有する高感度同位体追跡法を用いて、石油化学工業廃水中の有害物質 1,4-ジオキサンを分解する微生物を多数発見するとともに、それらが協働的に働いて安定的な分解を維持できることを明らかにした。

1,4-ジオキサンは、人への発がん性が疑われ、世界的な規制強化が進む有害物質である。近年、1,4-ジオキサンの処理方法として、低コスト・低環境負荷型の生物処理が大きな注目を集めているが、これまで 1,4-ジオキサン分解菌は、時間と労力のかかる分離培養法でしか調べることができず、数種の分解菌しか知られていなかった。今回、産総研で確立した分離培養に頼らない高感度同位体追跡法を用いて、石油化学工業廃水の生物処理槽から多種多様な 1,4-ジオキサン分解菌を発見し、それらの分解菌が協働して 1,4-ジオキサンを安定的に除去することを見出した。

この成果は、2018 年 6 月 13 日に、Nature Publishing Group から出版される微生物生態学分野の学術誌 The ISME Journal にオンライン掲載された。

## 開発の社会的背景

1,4-ジオキサンは、石油・化学製品の製造プロセス（図 1A）にて副次的に生成され、塩素系溶剤の

安定剤としても広く利用される人工の化学物質である。[国際がん研究機関（IARC）](#) や [米国環境保護](#)

[庁（US EPA）](#) により、1,4-ジオキサンは人への発がん性の可能性が指摘され、その [環境・排水基準](#)

が世界的に厳格化されている。

近年、1,4-ジオキサンの処理方法として、低コスト・低環境負荷型の生物処理が注目を集めてい

る。しかし 1,4-ジオキサン分解菌は、これまで時間と労力のかかる分離培養法でしか調べることが

できず、情報が不足していた。石油化学工業の廃水を安定的に処理できる生物処理槽（図 1B）でも、1,4-ジオキサン分解菌の実体は全く分かっておらず、長い間、生物処理プロセスの評価や制御における大きな課題になっていた。

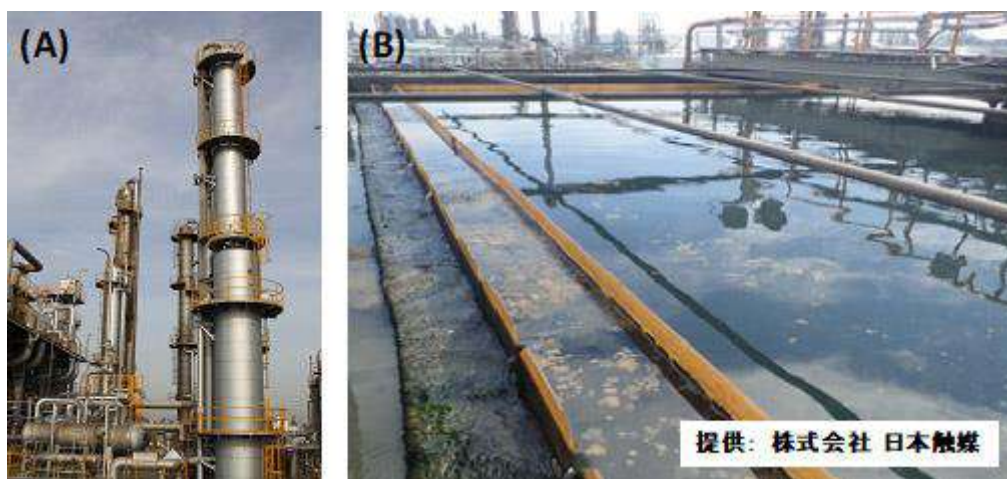


図 1 石油化学工業の (A) 製品製造プラントと、(B) 工業廃水の生物処理槽

## 研究の内容

日本触媒に設置されている生物処理槽の活性汚泥は数千～数万種の微生物で構成されるが、今回、これを産総研で確立した高感度同位体追跡法で分析した。自然界の大部分の炭素は  $^{12}\text{C}$ （質量数 12）なので、安定同位体炭素  $^{13}\text{C}$ （質量数 13）を用いて合成した  $^{13}\text{C}$  標識 1,4-ジオキサンを活性汚泥に加えて 8 時間振とうしたところ（図 2）、 $^{13}\text{C}$  標識 1,4-ジオキサンが減少すると同時に  $^{13}\text{CO}_2$  が生成した。次に、その活性汚泥から微生物のリボ核酸（RNA）を抽出した後、試料を入れたチューブを高速回転させる超遠心分離を行った。超遠心分離すると、チューブの上部には炭素  $^{12}\text{C}$  からなる軽い RNA 分子が残り、チューブの下部には  $^{13}\text{C}$  標識 1,4-ジオキサン由来の同位体炭素  $^{13}\text{C}$  を含む重い RNA 分子が集積する。これにより、1,4-ジオキサンが活性汚泥中の微生物により分解され、その分解した炭素の一部が微生物の生体成分として取り込まれることを確認できた。

チューブ下部を 3 画分に分けて集め、次世代シーケンサーで 100 万個以上の微生物 RNA 分子を解析したところ、1,4-ジオキサン由来の同位体炭素  $^{13}\text{C}$  を取り込んだ微生物 9 種（A～I 菌）を特定できた（図 3）。このうち、1 種（H 菌）は既知の 1,4-ジオキサン分解菌である *Pseudonocardia dioxanivorans* と同一であった。しかし、他の 8 種の 1,4-ジオキサン分解菌

はそれぞれ異なる多様な遺伝子情報を持ち、これまでに 1,4-ジオキサンを分解できるという報告はなく、今回、高感度同位体追跡法を用いて初めて発見できた。さらに、最も重い画分と 2 番目に重い画分だけで発見（または検出）された分解菌 4 種（F、G、H、I 菌）は、1,4-ジオキサンだけを分解して得られる僅かなエネルギーで生存していたが、残りの分解菌 5 種（A、B、C、D、E 菌）は、1,4-ジオキサンだけではなく、共存する化学物質（モノエチレングリコールやアルカン類など）を共代謝的に利用していることが微生物 RNA 分子の重さの違いから分かった。

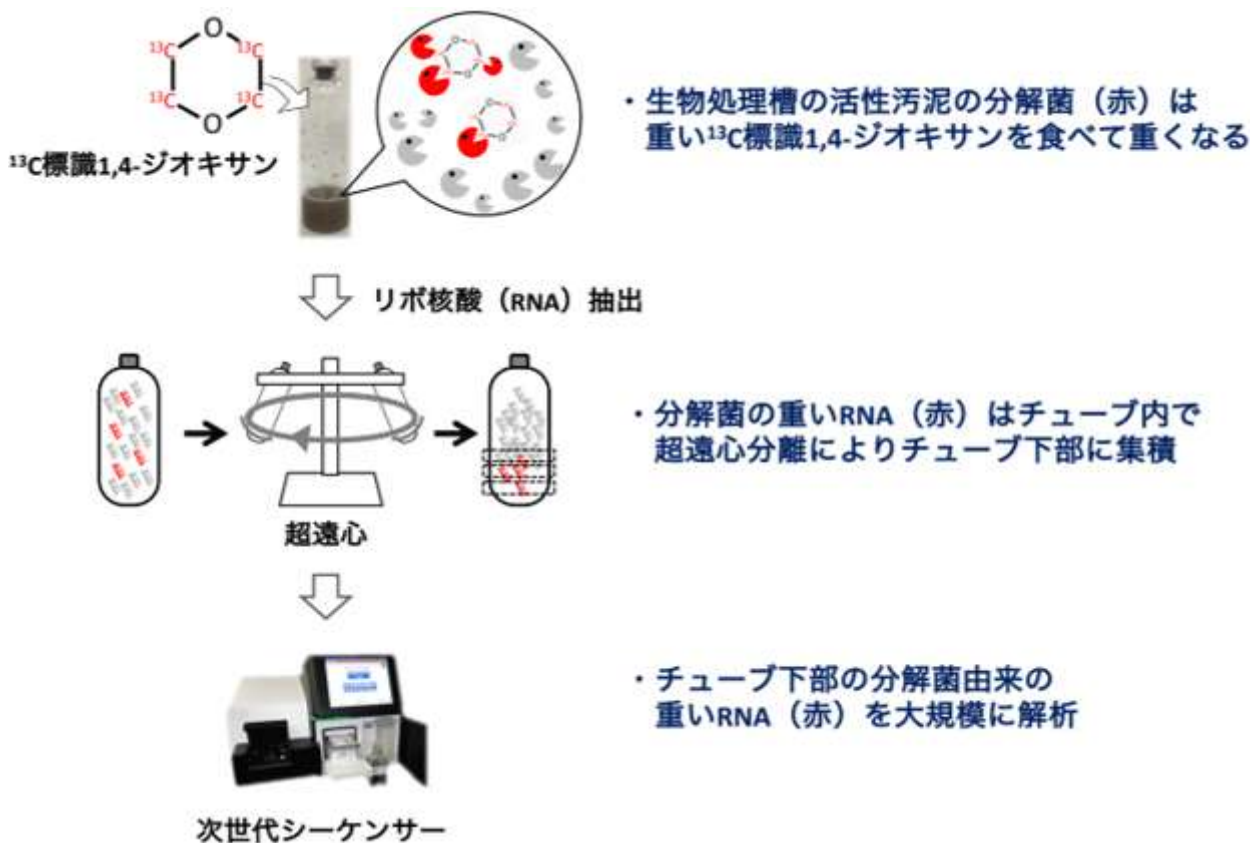


図 2 高感度同位体追跡法の概要

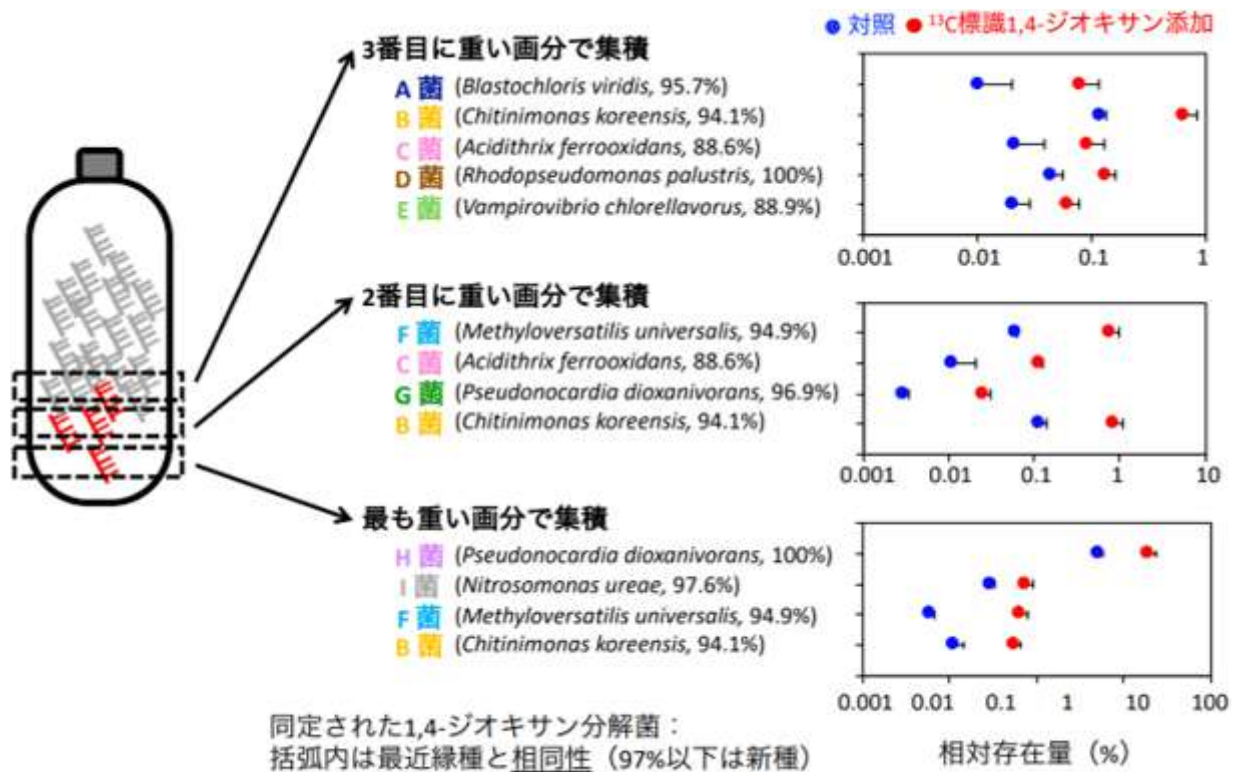


図3 高感度同位体追跡法により今回発見した1,4-ジオキサン分解菌

日本触媒に実際に設置されている生物処理槽の1,4-ジオキサン分解菌の動態を、2015年5月から2016年4月までの約1年間にわたり、綿密に追跡した(図4)。今回同定された1,4-ジオキサン分解菌はいずれも年間平均の相対存在量が0.001%~1.523%のまれな微生物であり、1,4-ジオキサンの除去率と連動して変遷していた。分解菌のうち比較的相対存在量大きい5種(A、B、C、D、I菌)の変遷をみると、夏(7~8月)の除去率が急激に低下する時期には、5種全ての1,4-ジオキサン分解菌が減少したが、その後、D、C菌が増加に転じ、除去率はすぐに回復した。定期メンテナンスのための約1ヶ月のシステム停止期間後の、秋(10月)の除去率回復時期には、まずC菌が一旦



増加してから減少した後、それを補うように続けて A、D、B 菌が増加し、除去率の回復・安定化を支えた。さらに初春（3～4月）の除去率が低下する時期には、B、C、I 菌が増加し、除去率の著しい低下を食い止めた。このように実際の生物処理槽内の 1,4-ジオキサン分解菌はそれぞれ異なる変遷パターンを示した。この結果は、これらの分解菌は石油化学工業廃水中の 1,4-ジオキサンの安定的な除去に協働的に関与していることを示している。

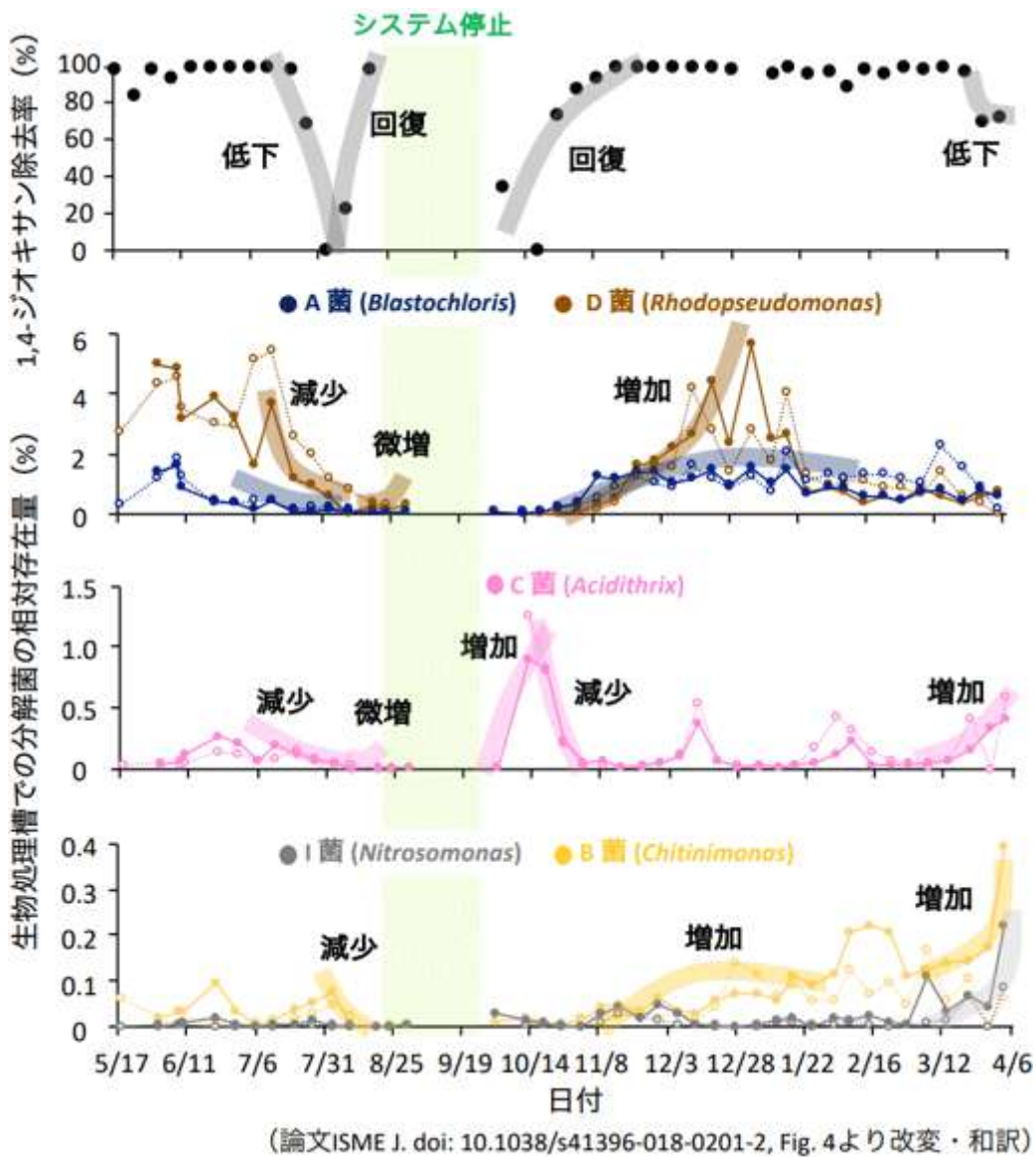


図 4 石油化学工業廃水の生物処理槽での 1,4-ジオキサン除去率と分解菌の推移

