

下廃水から分離された糸状菌による Sodium lauryl benzene sulfonate の分解

江川 宏^{*}・達山 和紀^{*}・山本 広基^{*}・橘 正一^{**}

Hiroshi EGAWA, Kadzunori TATUYAMA, Hiroki YAMAMOTO,
and Shoichi TACHIBANA.

Degradation of Sodium Lauryl Benzene Sulfonate by
the Fungi Isolated from the Sewages.

緒 言

近年都市郊外における住宅の増加や、下水道設備の不備などによって、家庭などの下廃水の農業用水路への流入が多くなり、作物とくに水稻の生育に効する種々の障害が報告されている。その中でも下廃水中の合成洗剤による被害は水稻に対して直接の有害作用を及ぼすとともに他の汚染物質と共存する時には有害作用が更に助長する場合も考えられる。

一方ではこれらの合成洗剤の分解に関与する微生物も多種類、広範囲¹⁾に分布し、とくに細菌による分解はよく知られている。しかし比較的研究例の見出されない糸状菌による合成洗剤の分解について検討し、下廃水から分離した糸状菌による合成洗剤分解の役割を明らかにしよう²⁾と試みた。

実験材料および実験方法

供試薬剤：陰イオン系界面活性剤 Sodium lauryl benzene sulfonate (LBS), その他の試薬はすべて市販特級品(半井化学製)を供試した。

供試水の採水：供試水は島根大学構内4ヶ所と構外1ヶ所の計5ヶ所の水深30~50cm地点から採取した。この5ヶ所のうち4ヶ所は家庭下廃水などの流路に当たり洗剤によって汚濁されているもので、他の1ヶ所は島根大学構内に位置する洗剤によって汚濁されていない防火用水を対照として供試した。

メチレンブルー活性物質(MBAS)の測定²⁾：陰イオン界面活性剤の含量はMBASとして定量した。MBASの測定は供試水1000mlをロータリーエバポレーターを用いて100mlに濃縮し濾紙(東洋科学産業製, No.2)で濾過した後、第1図に示したAbbott法で比色定量した。

供試水から糸状菌の分離：糸状菌は前記の5ヶ所の下廃水から分離した。分離用培地はローズベンガル・ストレプトマイシン加用PSA培地を用い、9mlの培地に1mlの供試水を加え、28°C、4日間培養して生育した糸状菌を分離した。

糸状菌に対するLBSの最小阻止濃度の測定：分離された糸状菌に対するLBSの最小阻止濃度は、供試菌の孢子又は菌糸を混入したCzapek培地に所定濃度のLBSを含ませた直径8mmの濾紙円板を(東洋科学産業製)を置き、28°Cで2~4日間培養後に生じた阻止円の面積を測定し、LBSの濃度と供試菌に対する阻止円面積との関係性を求めてから、供試菌に対する濃度を求めた。

糸状菌によるLBSの分解：LBS 30ppmを含むCzapek液200mlに糸状菌を28°C、7日間振盪培養してからMBASの濃度を測定し糸状菌による分解率を求めた。

Aspergillus 属菌を培養したLBS添加水耕液⁵⁾での水稻幼苗の栽培：LBS 50ppmを含む木村氏液200mlに殺菌後 *A. niger* (No. 2409) および *A. ochraceus* (No. 4505) の孢子懸濁液を各々加えて28°C、7日間振盪培養した。その後この濾液を濾紙(東洋科学産業

* 島根大学農学部, Fac. of Agric., Shimane Univ., Matsue 690, JAPAN.

** シオノギ製薬株式会社 Shionogi Co. LTD, Osaka 541, JAPAN.

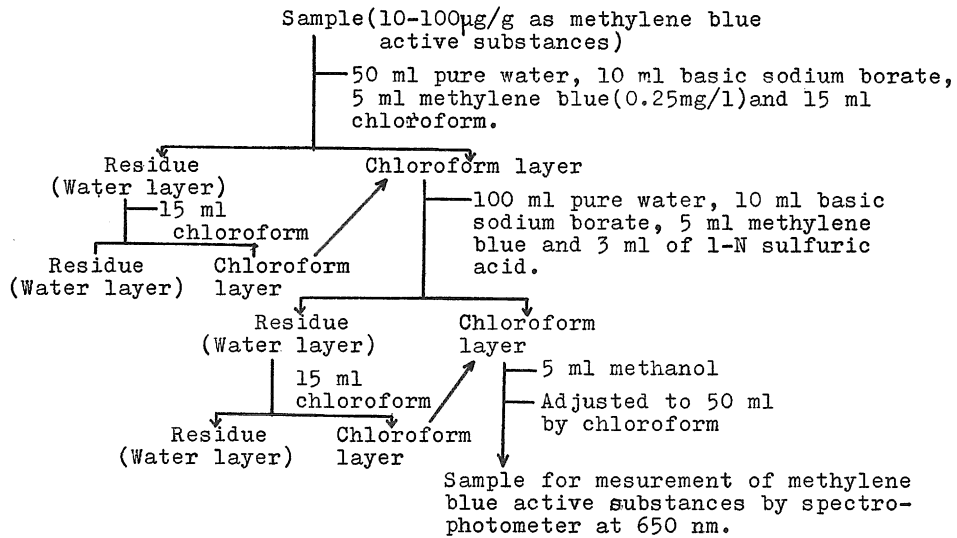


Figure 1. Flow sheet of Abbott method.

製, No. 2) で濾過して, これに水稻幼苗を栽培し全長を対照区と比較した。

実験結果

供試水の MBAS 濃度：供試水の MBAS の測定結果を第 1 表に示した。No. 3 の水の平均値が最高であったが, 家庭からの下廃水の混入している他の 2 地点の水 (No. 2 および No. 5) でも同程度の濃度の MBAS が測定された。No. 4 の水は, 対照として選んだ防火用水で, 含まれる MBAS 量は測定出来なかった。No. 1 の水は河川水で水の入替わりが早いため, 家庭からの下廃水が流れ込んでいても MBAS の濃度は低いものと考えられる。

供試水から分離された糸状菌と糸状菌に対する MBAS の最小阻止濃度：供試水から分離された糸状菌の属・種名と菌種数を第 2 表に示した。他に属・種名を明らかにすることが出来なかった糸状菌が 22 菌株分離された。これらの分離された糸状菌のうち菌株数の少ない *Cladosporium* 属菌, *Epicoccum* 属菌, *Helminthosporium* 属菌 および未同定の菌株を除いたものについて LBS の最小阻止濃度を求めた。

Aspergillus 属菌の LBS による最小阻止濃度を第 3 表に示した。平均値で比較すれ

Table 1. Concentration of methylene blue active substances in the sewages collected from Shimane University and the neighborhood.

No. of sewerage	Concentration of MBAS* (ppm)			
	Nov. 8**	Nov. 26	Dec. 17	Mean ± SD
1	0.06	0.05	0.05	0.05 ± 0.00
2	0.33	0.28	0.27	0.30 ± 0.03
3	0.35	0.36	0.49	0.40 ± 0.06
4	N.D.**	N.D.	N.D.	—
5	0.30	0.16	0.21	0.28 ± 0.13

* Methylene blue active substances

** Date of the sampling

*** Not detected

Table 2. List of the fungi isolated from the water sample

Fungi	No. of water					Total
	1	2	3	4	5	
<i>Aspergillus niger</i>	—	8*	5	1	—	14
<i>A. ochraceus</i>	—	—	2	6	2	10
<i>A. terreus</i>	—	—	—	2	—	2
<i>Penicillium waksmani</i>	3	—	—	—	—	3
<i>P. lilacinum</i>	—	—	2	—	—	2
<i>P. rugulosum</i>	—	—	2	—	—	2
<i>Penicillium</i> sp.	—	—	1	1	1	3
<i>Trichoderma</i> sp.	1	—	2	5	11	19
<i>Fusarium</i> sp.	—	—	2	—	11	13
<i>Mucor</i> sp.	—	—	—	—	5	5
<i>Cladosporium</i> sp.	—	—	—	—	1	1
<i>Epicoccum</i> sp.	—	—	1	—	—	1
<i>Helminthosporium</i> sp.	1	—	—	—	—	1
Total	5	8	17	15	31	66

* Nos. of the fungi isolated from the water.

Table 3. ED₁₀₀ values of LBS on the mycelial growth of several *Aspergillus* fungi.

Fungi	Nos. of tested fungi	ED ₁₀₀ (Mean±SD)
<i>Aspergillus niger</i>	14	612.3±193.3
<i>A. ochraceus</i>	10	503.8± 66.8
<i>A. terreus</i>	2	633.5±194.5
Total	26	572.2±166.5

Table 4. ED₁₀₀ values of LBS on the mycelial growth of several *Penicillium* fungi

Fungi	Nos of tested fungi	ED ₁₀₀ (Mean±SD)
<i>Penicillium</i> sp.	3	616.0±177.6
<i>P. lilacinum</i>	2	434.0±163.0
<i>P. rugulosum</i>	2	508.0± 74.5
<i>P. waksmani</i>	3	471.9± 7.6
Total	10	523.8±141.7

Table 5. ED₁₀₀ values of LBS on the mycelial growth of several fungi.

Fungi	Nos. of tested fungi	ED ₁₀₀ (Mean±SD)
<i>Fusarium</i> sp.	13	517.1± 89.3
<i>Mucor</i> sp.	5	523.4±130.9
<i>Trichoderma</i> sp.	19	528.5± 80.3

Table 6. Biodegradation of LBS by several isolated fungi

Fungi	% of the biodegradation
<i>Aspergillus ochraceus</i> (No. 4505)	71.7
<i>Aspergillus niger</i> (No. 2409)	68.5
<i>Trichoderma</i> sp. (No. 3607)	32.7
<i>Fusarium</i> sp. (No. 5002)	29.5
<i>Penicillium lilacinum</i> (No. 3017)	18.7
<i>Mucor</i> sp. (No. 5403)	15.3

Table 7. Biodegradation of LBS by several *Aspergillus* fungi.

Fungi	Nos. of tested fungi	% of the biodegradation (Mean±SD)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	10	78.24±9.67
<i>A. niger</i>	14	66.32±5.66

ば, *A. terreus*, *A. niger*, *A. ochraceus* の順に最小阻止濃度は高かったが *Aspergillus* 属内での値の変動は比較的高い傾向が認められた。

Penicillium 属菌の LBS による最小阻止濃度を第 4 表に示した。 *Penicillium* spp., *P. rugulosum*, *P. waksmani*, *P. lilacinum* の順で値が高く, この属菌も *Aspergillus* 属菌と同様に属内での値の変動は比較的高かった。

種名を決定出来なかった *Fusarium* 属菌, *Mucor* 属菌, *Trichoderma* 属菌の ED₁₀₀ 値を第 5 表に示した。 3 属菌ともに類似の値を示したが, *Mucor* 属菌の属内の値の変動が大きいのに対して, *Fusarium* 属菌および *Trichoderma* 属菌では属内の値の変動は少なかった。

一般的には, 供試した *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, および *Trichoderma* 属菌は平均値として 400~700 ppm の値を示した。

分離された糸状菌による LBS の分解:

つぎに分離した代表的な菌株 6 種を選び, LBS の生分解能を調査した結果を第 6 表に分解したパーセントで示した。 供試した 6 菌株のうち *Aspergillus ochraceus* (No. 4505) および *A. niger* (No. 2409) の LBS 分解能が高く, 他の 4 菌株 *Trichoderma* sp. (No. 3607), *Fusarium* sp. (No. 5002), *Penicillium lilacinum* (No. 3017), *Mucor* sp. (No. 5403) のいずれも LBS の分解力は低かった。

したがって, LBS の分解力の高かった *Aspergillus* 属菌について更にくわしく知る目的で *A. ochraceus* および *A. niger* の LBS 分解能を調査した。 この結果を第 7 表に示した。 これらの菌株は約 60~80% の LBS 分解能を有することが明らかになった。

Aspergillus 属菌を培養した LBS 添加水耕液での水稻幼苗の生育: LBS 分解力の高い *A. niger* (No. 2404) および *A. ochraceus* (No. 4004) を用いて LBS を分解させた後の沪液で水稻幼苗を生育させ, LBS の水稻幼苗生育障害作用が減少するかどうかについて検討した。

添加区の水稲幼苗は木村氏液のみで育苗した水稲幼苗の生育に対して地上部で76.7%，地下部で86.5%の生育を示したが，*Aspergillus* 属菌を混入して生分解させた LBS 添加木村氏液での生育は *A. niger* では地上部で 97.3%，*A. ochraceus* で85.5%の生育を示したので，LBS による生育阻害が緩和されたものと考えられる。地下部においては LBS 未分解水耕液とほぼ同程度の生育で供試菌を培養した効果はほとんど認められなかった。供試菌混入による水稲幼苗に対する直接の生育障害は認められなかった。

考 察

供試水 No. 1 は松江市内の各河川の LBS 濃度と比較すると低濃度であり，No. 2, No. 3, および No. 5 は家庭下廃水流入のため MBAS の濃度が比較的高いと考えられ，松江市内各河川と比較すると中程度の汚濁と⁴⁾考えられる値を示した。しかし，水道法による陰イオン系界面活性剤の許容量 0.5 ppm よりいずれも低い値を示した。³⁾

供試水から分離された糸状菌は，空気，水，および土壤などに広く分布している菌種であった。これらの菌種の ED₁₀₀ 値はいずれも 400～700 ppm の範囲内の値を示し，これらの LBS などの洗剤の流れ込む河川水では LBS に感受性の高い糸状菌は認められず，洗剤の影響を受けているものと考えられる。

したがって，LBS の高濃度液中でも生育出来る菌種が実際の河川水中で洗剤を分解するのにどの程度関与しているかを知る目的で，分離された菌種を用いて LBS の分解を調べたところ，*Aspergillus* 属菌がもっとも分解能の高いことが明らかになった。洗剤の細菌による分解については多くの報告があるので洗剤の分解に関与していることはよく知られているが糸状菌についてもある

程度は分解に関与しているものと考えられる。

つぎに LBS を含む水耕液中に *Aspergillus* 属菌を培養し LBS を分解させて水稲幼苗を栽培したところ，ほぼ LBS を含まない水耕液で栽培した幼苗と同等の生育が認められたので，*Aspergillus* 属菌はこの条件下では LBS の分解に関与して LBS の水稲幼苗に対する影響を消失する効果があるものと考えられる。今後は汚濁水中の LBS の分解にどのように具体的に関与させるか検討を要するものと考えられる。

摘 要

島根大学構内およびその周辺部の下廃水および防火用水から糸状菌66種を分離した。これらの菌種に対する LBS の最小阻止濃度を調査したところ，*Aspergillus*，*Penicillium*，*Fusarium*，*Trichoderma*，および *Mucor* 属菌などはいずれも 400～700 ppm 範囲内の値を示した。つぎにこれらの菌種による LBS の分解能を調べたところ *Aspergillus* 属菌がもっとも強く，その他の菌種は比較的分解能は低かった。更に *Aspergillus* 属菌を LBS を含む水耕液に接種して LBS を分解させた汚濁液に水稲幼苗を栽培したところ LBS 未添加区とほぼ同等の生育が地上部で認められた。

引 用 文 献

1. DUGAN, P. R., 鈴木静夫ほか訳：水質汚染の化学生態学，東京化学同人，東京：72—98. 1973.
2. 界面活性剤分析会編：界面活性剤分析法，幸書房，東京：258—295. 1975.
3. 小林勇：日本の科学者，9(10)：36—42. 1974.
4. 三木和夫：島根女短大紀，10：29—31. 1972.
5. 戸刈義次，松尾孝嶺，畑村又好編：作物試験法，農業技術協会，東京：160—172. 1960.

Summary

Five sewage samples were collected from ditches and a pond for fire prevention in Shimane University and the neighborhood.

Sixty-six species of fungi, *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., and the others, were isolated from the sewages.

ED₁₀₀ values of sodium lauryl benzene sulfonate (LBS) against these fungi were estimated at about 400—700 ppm.

Degradation of LBS by these fungi were assayed in laboratory conditions. LBS was degraded strongly by several fungi belong to *Aspergillus* sp.

The growth of rice seedling in Kimura's fertilizer solution was inhibited in the presence of LBS. However, the rice seedling grown in the LBS containing solution inoculated with *Aspergillus* fungi was almost equal in length to the rice seedling in the solution without LBS.