

VII-73

嫌気／好気サイクルによるテトラクロロエチレンの完全分解

大阪大学工学部 正会員 池 道彦
同 上 吉見 勝治
同 上 正会員 藤田 正憲

1. はじめに

揮発性有機塩素化合物による地下水・土壌汚染が深刻な問題となっている。中でも、テトラクロロエチレン（PCE）は、土壌中で緩やかに脱塩素化され、発ガン性のある塩化ビニル（VC）のような代謝物を蓄積してしまうため、効率のよい除去技術の確立が急務となっている。特に、経済性および効率の面から、微生物の浄化能力を活用するバイオレメディエーションの適用が望まれるが、現在のところ、現位置でPCEを完全分解する手法は、ほとんど検討されていない。本研究では、嫌気条件下でPCEを脱塩素化し、トリクロロエチレン（TCE）やジクロロエチレン（DCE）にまで転換する反応と、好気条件下でTCEやDCEを二酸化炭素やTCAサイクル上の化合物にまで完全分解する反応を組み合わせ、VCの蓄積を回避した経路で、PCEを完全分解できるバイオレメディエーション技術を確立することを目的として、土壌集積培養系を用いた検討を行った。

2. 材料および方法

（1）PCE脱塩素化菌／フェノール分解菌の集積培養： 70ml容のバイアル瓶に分注した20mlのMMY培地（クエン酸ナトリウム 0.5g/l、酵母エキス 2.0g/lを含む無機塩培地）に、有機塩素化合物で汚染された土壌 1gを加え、テフロンライナー付ブチルゴム栓とアルミキャップで密栓したものに、PCEを終濃度10mg/lとなるようにシリンジで添加し、25℃で回転振盪培養した。培養7日後の培養液1mlを新たな培地19mlに植え継ぎ、同様の培養を行った。PCEが完全に除去されるたびに植え継ぎ培養を行い、PCE脱塩素化集積培養系を構築した。PCE脱塩素化能が安定して認められるようになった段階で、PCE添加時に、同時にフェノールを終濃度125mg/lとなるように添加し、PCE脱塩素化菌集積系に、さらにフェノール分解菌を集積することを試みた。

（2）PCE分解試験： （1）で構築した集積培養液0.5mlをフェノールを1含むMMY培地9.5mlに接種し、PCEを10mg/lとなるように加えて、27ml容バイアル瓶中、25℃で振盪培養した。3日目にマイクロシリンジにて過酸化水素を添加し、さらに培養を継続した。この間、PCEの減少、TCEもしくはcis-DCEの生成、ならびにフェノールの消費を、それぞれガスクロマトグラフ、ガスクロマトグラフ-質量分析計、および高速液体クロマトグラフにて測定した。

3. 結果および考察

（1）PCE脱塩素化菌／フェノール分解菌の集積培養： 汚染土壌の集積培養により、約2日間で10mg/lのPCEを完全に除去する安定な集積系が得られた。3回目までの植え継ぎではPCEの除去に伴って、除去量の10～50%に相当するTCEが代謝物として検出されることがあったが、4回目以降の植え継ぎではTCEは認められなくなり、ほぼPCEの全量が速やかにcis-DCEに変換（脱塩素化）されるようになった。なお、この脱塩素化反応は、密栓されたバイアル瓶の中で、培地に含まれる炭素源が分解されることによって酸素が消費されて生じた嫌気条件下で起こることを、インジケーターにより確認した。この集積培養系をフェノールを含む培地に植え継いだ、特にPCE脱塩素化反応の阻害は認められなかった。また、植え継ぎ直後の好気条件下でフェノールの消費が認められたことから、系内に好気性のフェノール分解菌が存在していることが示唆された。最終的に構築された集積培養系には（全生菌数約 2×10^8 MPN/ml）、PCEをTCEにまで脱塩素化できる細菌、PCEをcis-DCEにまで脱塩素化できる細菌、およびフェノール分解菌がそれぞれ、約0.06%、0.004%、および0.5%含まれていることが明らかとなった。

（2）PCE分解試験： 図-1に集積培養系を用いたPCE分解試験の結果を、また、図-2にその間のフェノール分解と分解菌の挙動を、図-3にPCE脱塩素化菌の挙動を示した。試験開始後、速やかに培地中の炭素源（フェノールを含む）が消費されることによって嫌気条件が形成され、同時にPCEの脱塩素化が進行した。

若干のTCEが蓄積されたが、3日で全てのPCEがcis-DCEに変換された。ここに終濃度が約1%となるように過酸化水素を添加し、系内を好気条件にしたところ、cis-DCEは4日後には約85%除去された（図-1）。好気条件への転換後、急激なフェノールの分解とフェノール分解菌の増加が確認されたこと（図-2）、およびフェノールを添加せず過酸化水素を添加して同様の実験を行ったコントロール系では、cis-DCEの有意な除去が認められなかったことから、このcis-DCEの除去はフェノール分解菌による共酸化に依存するものと考えられる。以上の結果は、嫌氣的脱塩素化とフェノール分解菌による好氣的酸化によって、単一の混合微生物系でPCEの完全分解が行えることを示したものであり、PCEのレメディエーションシステム構築の可能性を示したものである。しかし、好気サイクルの間に、PCEをcis-DCEに脱塩素化できる細菌が消滅してしまったため（図-3）、この系で再度PCEの嫌気／好気分解を試みた際には、嫌気サイクルでcis-DCEの代わりにTCEが蓄積された。また、好気サイクルでもTCEの除去は約15%にとどまった。この結果は、嫌気／好気サイクルによるPCEの完全分解によって、集積培養系の微生物相が何らかのダメージを受けることを示唆しており、嫌気／好気サイクルによる継続的なPCE完全分解を行ううえでは、混合微生物生態系の適正な管理が重要であることが明らかになった。

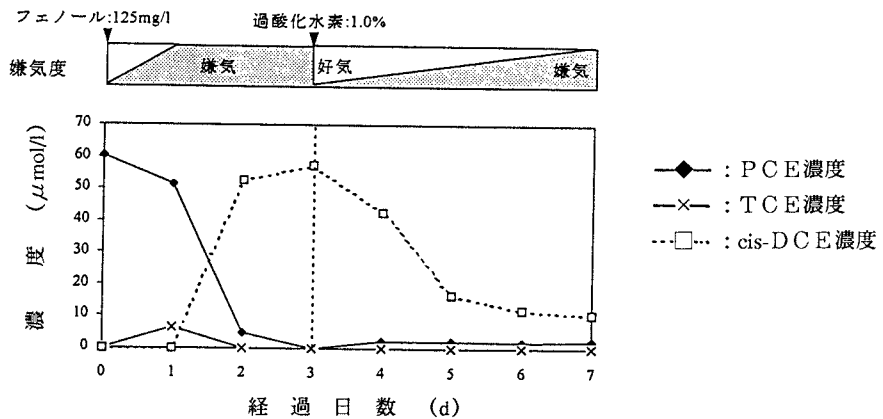


図-1 嫌気／好気サイクルによるPCEの完全分解

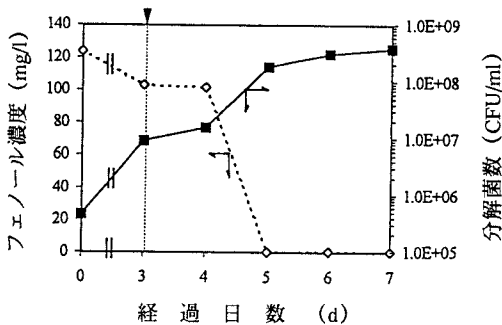


図-2 PCE分解試験におけるフェノール濃度およびフェノール分解菌の変化

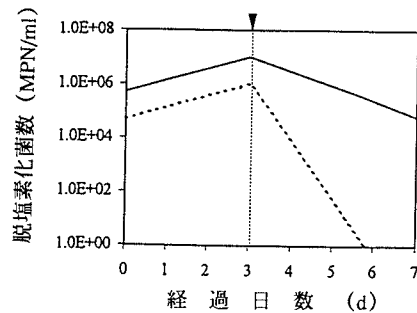


図1-3 PCE分解試験における脱塩素化菌数の変化

PCE→TCE —
PCE→DCE - - -

* 本研究は一部、NEDO／RITEの委託研究として行われた。