

塩素化エチレン類の浄化に効果的な有機資材の微生物診断による評価

大成建設(株)技術センター 正会員 ○伊藤 雅子
 大成建設(株)技術センター 正会員 高畑 陽
 (独)製品評価技術基盤機構 非会員 山副 敦司
 (独)製品評価技術基盤機構 非会員 三浦 隆匡

1. 目的

近年、テトラクロロエチレン (PCE) やトリクロロエチレン (TCE) などの塩素化エチレン類による汚染滞水層に対し、嫌気性微生物による浄化工法が普及している。嫌気性微生物による浄化工法は、嫌気環境下で嫌気性微生物がエネルギー獲得のために塩素化エチレン類を還元的に脱塩素化し、無害のエチレンにすることを利用する。その中で特にシス-1,2-ジクロロエチレン (*cis*-1,2-DCE)、塩ビモノマー (VC)からの脱塩素化には *Dehalococcoides* 属細菌の存在が重要と考えられている¹⁾。しかしながら、環境中における *Dehalococcoides* 属細菌の割合は非常に低く、*Dehalococcoides* 属細菌を活性化させるメカニズムも不明な点が多い。そこで本報では、3種類の有機資材を用いた集積培養を行い、速やかに脱塩素化が生じた培養系と生じなかった培養系における *Dehalococcoides* 属細菌数の経時変化とその微生物菌叢について検討した。

2. 実験方法

集積培養は、塩素化エチレン類による汚染サイトから採取した地下水と土壌を用いた。採取時の地下水からは、環境基準値を超過する塩素化エチレン類が検出された

(PCE0.20 mg/L、TCE0.04 mg/L、*cis*-1,2-DCE0.47 mg/L、VC0.04 mg/L)。半連続培養装置(図-1)に地下水、土壌20g、各有機資材0.05% (w/w) (表-1)、TCE及び*cis*-1,2-DCEの溶解液2mg/Lを入れ、地下水で容器を満たし、密栓して20°Cの恒温室内で培養した。定期的に培養容器から地下水を採取し、ガスクロマト質量分析計を用いて塩素化エチレン類の濃度を定量した。また、地下水から遺伝子を抽出し、*Dehalococcoides* 属細菌の16S rRNAのコピー数と*cis*-1,2-DCE以降の脱塩素化に関与していると考えられている *vcrA* 機能遺伝子¹⁾ コピー数についてリアルタイムPCRを用いて定量した。また、新型シーケンサー454GS FLXを用いて16S rRNA遺伝子のアンプリコンシーケンスを実施し、微生物菌叢についてQIIMEパイプラインを使用して比較した。

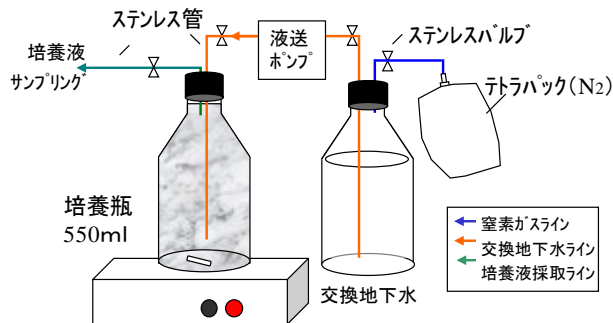


図-1 集積培養装置概要図

表-1 集積培養に用いた有機資材

有機資材	特徴	主成分
①無添加	-	
②TM-B ²⁾	即効性	ビール酵母エキス
③市販浄化剤A	即効性	酵母エキス、糖
④市販浄化剤B	徐放性	乳酸エステル

3. 結果及び考察

3.1 塩素化エチレン類の経時変化

有機資材を添加した②③④の培養系は、培養経過13日目でPCE、TCEが脱塩素化し、*cis*-1,2-DCEの濃度上昇が確認された(図-2)。*cis*-1,2-DCEからの脱塩素化は、TM-B剤を添加した②の培養系で46日目以降、市販浄化剤Aを添加した③の培養系で73日目以降に確認され、最終時における②③培養系は*cis*-1,2-DCE、VC共に環境基準値以下まで低下した。一方、無添加の①、および市販浄化剤Bを添加した④の培養系は、*cis*-1,2-DCEの蓄積がみられ、*cis*-1,2-DCE以降の脱塩素化が殆ど進行していない培養系であることが確認された。

キーワード *Dehalococcoides*、塩素化エチレン類、新型シーケンサー

連絡先 〒245-0051 横浜市戸塚区名瀬町344-1 大成建設(株)技術センター土木技術研究所 TEL045-814-7217

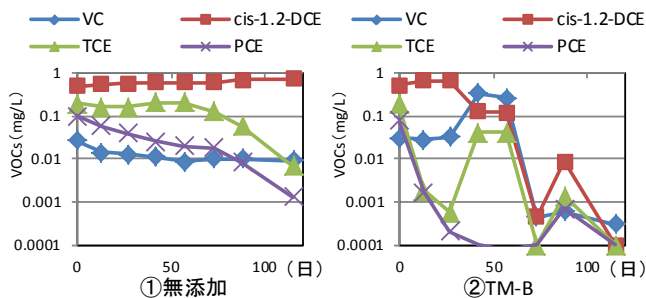


図-2 有機資材による脱塩素化の影響

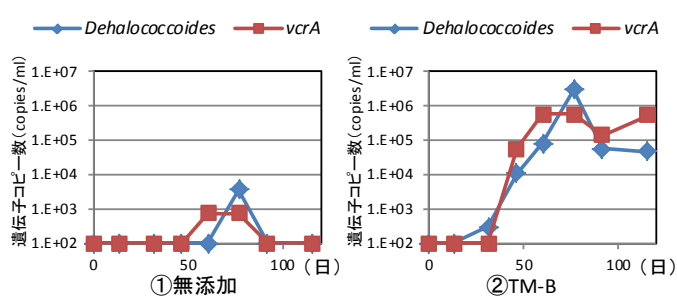
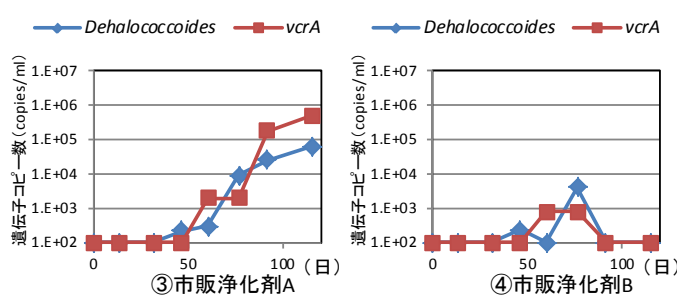
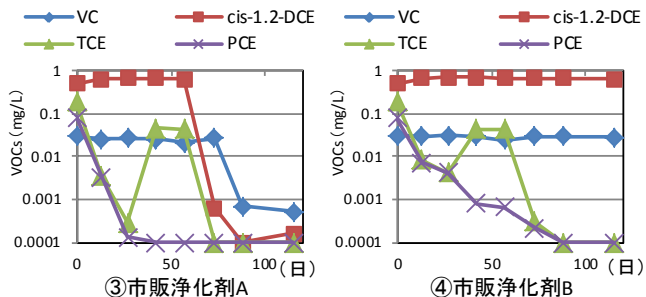


図-3 有機資材による有用遺伝子数の変化



3.2 Dehalococcoides 属細菌の 16S rRNA 及び vcrA 機能遺伝子の定量結果

塩素化エチレン類の脱塩素化が良好に進行した②と③の培養系では、*Dehalococcoides* 属細菌の 16S rRNA と *cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化に関与していると考えられている *vcrA* 機能遺伝子数が増加していることが確認された (図-3)。

3.3 微生物菌叢の比較

主成分解析の結果、*cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化反応が進行しなかった培養系 (①と④) と脱塩素化反応が進行した培養系 (②と③) では、微生物菌叢は大きく異なっていた (図-4)。②と③、①と④の培養系同士では、お互いに菌叢が類似しており、酵母エキスの添加により *cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素反応を担う微生物群が集積されていることが示唆された。①の培養系の微生物叢では *Proteobacteria* が 90%以上を占めていたのに対し、②③の培養系では、*Bacteroidetes* 門細菌が優占化していた。その他②③の培養系では、*Proteobacteria*、*Firmicutes*、*Spirochaetes* 門細菌の占める割合が増加した。全ての培養系で既知の PCE/TCE 脱塩素菌が検出されたが、qPCR の結果と同様に *cDCE*/*VC* の脱塩素化が確認された培養系

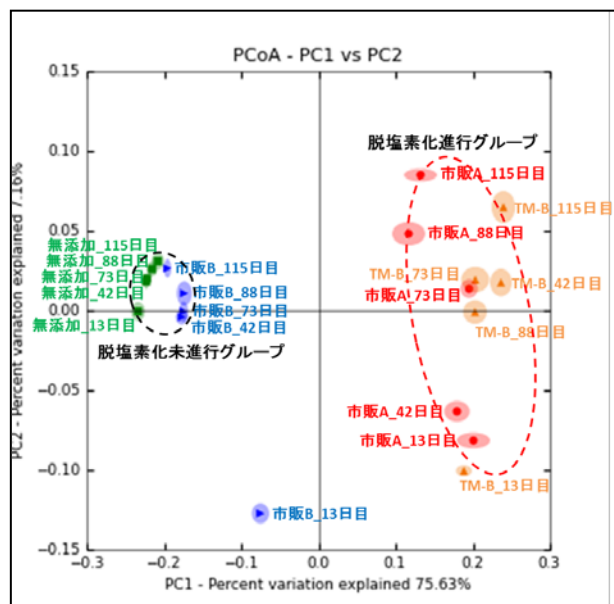


図-4 微生物群集構造の主成分分析

(②と③) でのみ *Dehalococcoides* 属細菌が検出された。しかし、その全体に占める割合は低く、②の培養系でも最大で 1.9%、③の培養系では 1.4%であった。また、*cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化反応が進行していた培養系 (②と③) の特徴として、有機酸から *Dehalococcoides* 属細菌の増殖に必要な酢酸を生成する菌種である *Syntrophomonas* 等が確認され、これらの菌株によって *Dehalococcoides* 属が活躍しやすい環境が整えられたと考えられた。

参考文献

- 1) 伊藤雅子, 高畑陽 (2009) : 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, pp. 333-338.
- 2) 伊藤雅子, 高畑陽 (2011) : 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, pp. 169-173.