

Dehalococcoides sp.UCH007 株の導入による VOCs 脱塩素化の促進効果と温度の影響

大成建設(株)	正会員	○伊藤	雅子
大成建設(株)	正会員	高畑	陽
(独)製品評価技術基盤機構	非会員	内野	佳仁
(独)製品評価技術基盤機構	非会員	山副	敦司

1. 目的

塩素化エチレン類 (VOCs) による地下水汚染対策として、嫌気性微生物によるバイオレメディエーションが普及している。本浄化技術の浄化期間の短縮には、*Dehalococcoides* 属細菌を導入するバイオオーグメンテーションが有効であることが示されているが¹⁾、浄化対象とする地盤の地中温度を *Dehalococcoides* 属細菌の増殖に適した温度にコントロールすることによって、更に浄化期間を短縮できる可能性がある。

本試験では、*Dehalococcoides* 属細菌が少ない汚染地下水に、単離した *Dehalococcoides* 属細菌を様々な温度条件下で添加し、その浄化効果を確認した室内培養試験の結果について報告する。

2. 試験方法

本試験では、VOCs 汚染地下水から単離された *Dehalococcoides* 属細菌 (*Dehalococcoides* sp.UCH007 株) を用いた。UCH007 株は同じ汚染地下水から単離した *Sulfurospirillum* sp. UCH001 株と共培養することにより、増殖および脱塩素速度が高まることが確認されており²⁾³⁾、この2つの菌体の共培養液を試験に用いた。なお、UCH007 株と UCH001 株は 2015 年に、「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」の適合確認を受け、安全性が確認されている。

UCH007 株は絶対嫌気性細菌であることから、試験に用いる地下水は予め有機資材を添加して培養し、嫌気状態となったことを確認してから UCH007 株と UCH001 株の共培養液を添加する2段階培養とした¹⁾。

全量 82ml の広口バイアル瓶に汚染サイトから採取した地下水 50ml、同サイトの土壌 10g、0.1% レサズリンナトリウム溶液 0.1ml、有機資材 0.7ml (終濃度 225mgC/L) を添加した。また、地下水の VOCs 濃度が低濃度であったため、各バイアル瓶に TCE 溶液 0.4ml (終濃度 1.5mg/L) を添加してブチルゴム栓とアルミシールで密栓した。各培地条件のバイアル瓶を複数本作製し、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃に設定した恒温槽に入れ静置培養を実施した。培養条件は、有機資材を添加した A 条件 (スティミュレーション)、有機資材を添加して培養 24 日目に別途培養していた UCH007 株と UCH001 株の共培養液 (UCH007 株: 2.7×10^4 copies/ml) を 0.5ml 植菌した B 条件 (オーグメンテーション) とした。定期的に各バイアル瓶からシリンジを用いて地下水を 1ml 採取し、ページ&トラップ GCMS (島津製作所: GCMS-QP2010 Ultra) により VOCs 濃度を測定した。UCH007 株の菌数は、定量 PCR (ライフテクノロジーズ: Quant Studio 6 Flex) を用いて塩化ビニル脱塩素酵素遺伝子 (*vcrA*) を対象とした定量 PCR により求めた。

3. 試験結果

VOCs 濃度の経時変化を図-1 に示す。本試験では、A 条件 (スティミュレーション) の脱塩素化の進行が遅く、20℃~30℃の温度条件で僅かに TCE の脱塩素化の兆候が確認された。一方、培養 24 日目に UCH007 株を添加した B 条件 (オーグメンテーション) では、20℃、25℃、30℃の温度条件で *cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化の進行が確認された。温度条件で最も脱塩素化が速かったのは 30℃であり、15℃の約 3 倍の速度で VOCs を脱塩素化していることが示された。一方、温度条件が 35℃以上になると脱塩素化速度が低下することが示され、40℃では殆んど脱塩素化は進行しなかった。

B 条件の *vcrA* を定量した結果を図-2 に示す。本試験の地下水は、培養開始時には全ての温度条件で *vcrA* が

キーワード トリクロロエチレン, バイオオーグメンテーション, 脱塩素化, 嫌気性微生物,

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 TEL 045-814-7226

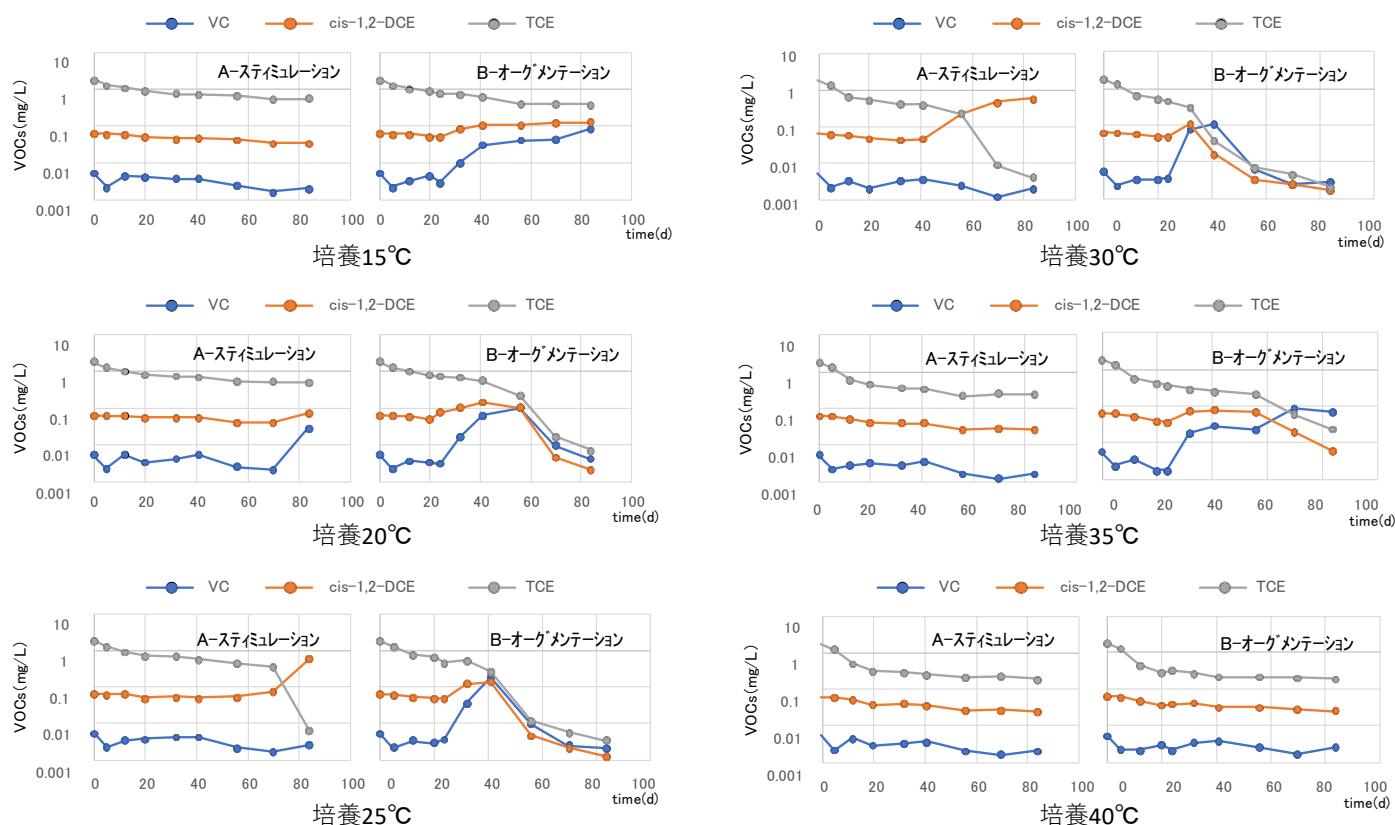


図-1 培養温度による VOCs 脱塩素化の影響

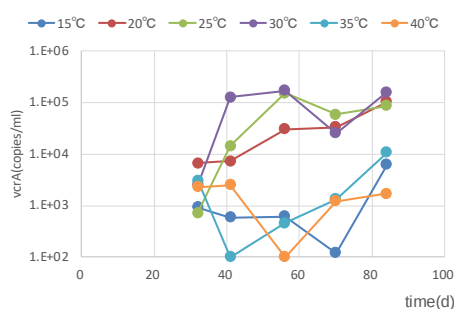


図-2 vcrA の定量結果 (B 条件)

定量下限値以下 ($<10^2$ copies/ml) であったが, UCH007 株を添加した 24 日目以降, 各温度条件で *vcrA* が検出されるようになった. 菌体添加後, 時間経過に伴い培養温度 20°C, 25°C, 30°C の条件では, *vcrA* が増加しており *Dehalococcoides* 属細菌の増殖が確認された. 一方, 15°C, 35°C, 40°C の温度条件では, *vcrA* が殆ど増加しておらず, VOCs 脱塩素化の進捗状況と一致する傾向が確認された. また, A 条件の *vcrA* は, 全ての温度条件で定量下限値以下であった.

4. まとめ

本試験により, 浄化対象とする帯水層中の *Dehalococcoides* 属細菌の濃度を高めるためには, 導入する *Dehalococcoides* 属細菌の濃度を高めるだけでなく, 浄化対象とする地盤の温度を 25~30°C 程度に保つことが, 浄化期間を短縮するために有効であることを確認した. 今後, 広く普及している帯水層に有機資材を導入するバイオスティミュレーションに加えて, *Dehalococcoides* 属細菌 (UCH007 株) を導入するバイオオーグメンテーションや, 帯水層を最適な温度条件に維持する土壌加熱法を組み合わせた浄化技術を塩素化エチレン類の汚染サイトで適用していく予定である.

参考文献

- 1) 伊藤雅子, 高畑陽, 内野佳仁, 山副敦司, 第 24 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会, 2018, pp.352-35
- 2) Uchino Y, Miura T, Hosoyama A, Ohji S, Yamazoe A, Ito M, Takahata Y, Suzuki K and Fujita N., Stand Genomic Sci., 2015, 10, 102.
- 3) 高畑陽, 伊藤雅子, 内野佳仁, 山副敦司, 第 52 回日本水環境学会講演集, 2018, pp.94.