VOC の嫌気的脱塩素化におけるメタン菌の影響評価

（株）大林組　　正会員　○藤井　雄太
（株）大林組　　正会員　　緒方　浩基

１．はじめに

揮発性有機化合物（VOC）による土壌汚染のバイオレメディエーションを行う際には，VOC 分解菌である *Dehalococcoides* 属細菌（以下 DHC 菌）の活性を高めることが重要である．DHC 菌は強還元状態で活性化するが，この条件下では地盤中に存在するメタン菌の活性も高まる．DHC 菌による VOC の脱塩素化とメタン菌によるメタン生成では共に水素を消費するため，メタン菌の活性が強くなると水素を巡って競合し，DHC 菌の活性が阻害されると言われている[1)]．そのため，DHC 菌とメタン菌との競合関係の制御が重要であると考えているが，実際の関係性は不明な部分が多い．そこで DHC 菌を含む VOC 分解微生物集積系に種々のメタン菌を添加し，それらを用いて VOC 分解実験を行い DHC 菌とメタン菌の関係性の評価を試みたため，その結果を報告する．

２．実験方法

VOC 分解微生物集積系として，トリクロロエチレン（TCE）による土壌汚染現場の地下水を，当社微生物栄養剤を水素供与体として用い継代培養した培養液を使用した．メタン菌は代表的な 3 菌株である *Methanobacterium bryantii*（NBRC 104951，*Methanobacteriales* 目に属する水素資化性メタン菌，以下 MBT），*Methanospirillum hungatei*（NBRC 100397，*Methanomicrobiales* 目に属する水素資化性メタン菌，以下 MMB），*Methanosarcina barkeri*（NBRC 100474，*Methanosarcinales* 目に属する酢酸資化性メタン菌，以下 MSL）の純粋培養液を（独）製品評価技術基盤機構から入手し，37℃で一週間静置培養した後に使用した．150 mL 容透明メジューム瓶に表 1 に示す通り各成分を添加してブチルゴム栓で蓋をし，試験体とした．これを 30℃のインキュベータの中に逆さにして静置した．実験開始 42 日後に各ケースに飽和 TCE 水溶液 1.5 mL を追添加した. 1～2 週間おきに試験体中の溶液を採取して VOC（TCE，ジクロロエチレン（cis-1,2-DCE），クロロエチレン（VC））濃度を測定し，試験体ヘッドスペースのメタン濃度を測定した．採取した溶液中の DHC 菌に特異な 16S rRNA 遺伝子，*tceA*，*vcrA*，*bvcA* 遺伝子と MBT，MMB，MSL 目メタン菌それぞれに特異な 16S rRNA 遺伝子をリアルタイム PCR 法により定量した．

表 1　実験ケース一覧（単位は全て mL）

	VOC 分解微生物集積系	メタン菌培養液		水道水	10% 栄養剤溶液	微量元素溶液	5% 重曹	飽和 TCE 水溶液
		種類	量					
A	10	なし		108	4.5	1	10	1.5
B		MBT	40	68				
C		MMB						
D		MSL	20	88				

３．実験結果・考察

各ケースの VOC 濃度と DHC 菌に関連する遺伝子数，メタン濃度とメタン菌に関連する遺伝子数の経時変化を図 1 に示す．TCE の逐次的な脱塩素化は速やかに進み，ケース D では 28 日，ケース A～C では 35 日で VC の消失を確認した．ただし分解途中の傾向は少し異なり，メタン菌を添加したケース B～D では初期の TCE 分解が遅くなるものの cis-1,2-DCE の分解とそれに伴う VC の発生は早かった．この理由としては，メタン菌の添加で即座に嫌気化が進み，TCE の分解よりは cis-1,2-DCE や VC の分解に適した酸化還元電位まで急激に達した可能性がある．TCE 追添加後の VOC 濃度は全ケース類似した傾向を示し，VC は実験期間の最後まで残存した．DHC 菌に関連する遺伝子数はメタン菌を添加したケース B～D では 7 日後に一旦大きく減少したが, その後 VOC 分解の進行に伴って急激に増加した．

キーワード　VOC，バイオレメディエーション，*Dehalococcoides* 属細菌，メタン菌，水素
連絡先　　〒204-8558　東京都清瀬市下清戸 4-640　（株）大林組　技術研究所　自然環境技術研究部　TEL042-495-0939

© Japan Society of Civil Engineers

メタン菌を添加したケース B～D でも最初のメタン発生量はわずかであったが， VOC が一通り分解した後（ケース D では 35 日後，ケース B と C では 42 日後）にメタン濃度が急上昇し，約 500 mg/L に達してその後はほぼ一定となった. ケース B～D の初期値ではそれぞれに添加したメタン菌が 10^7～10^8 copies/mL と対照ケースより多く検出された．ケース B，C では時間経過に伴い MSL 目のメタン菌が増加した．これらの結果から，VOC の分解途中ではメタン菌が大量に存在してもメタン生成の程度は弱く，DHC 菌との競合は少ない可能性がある．

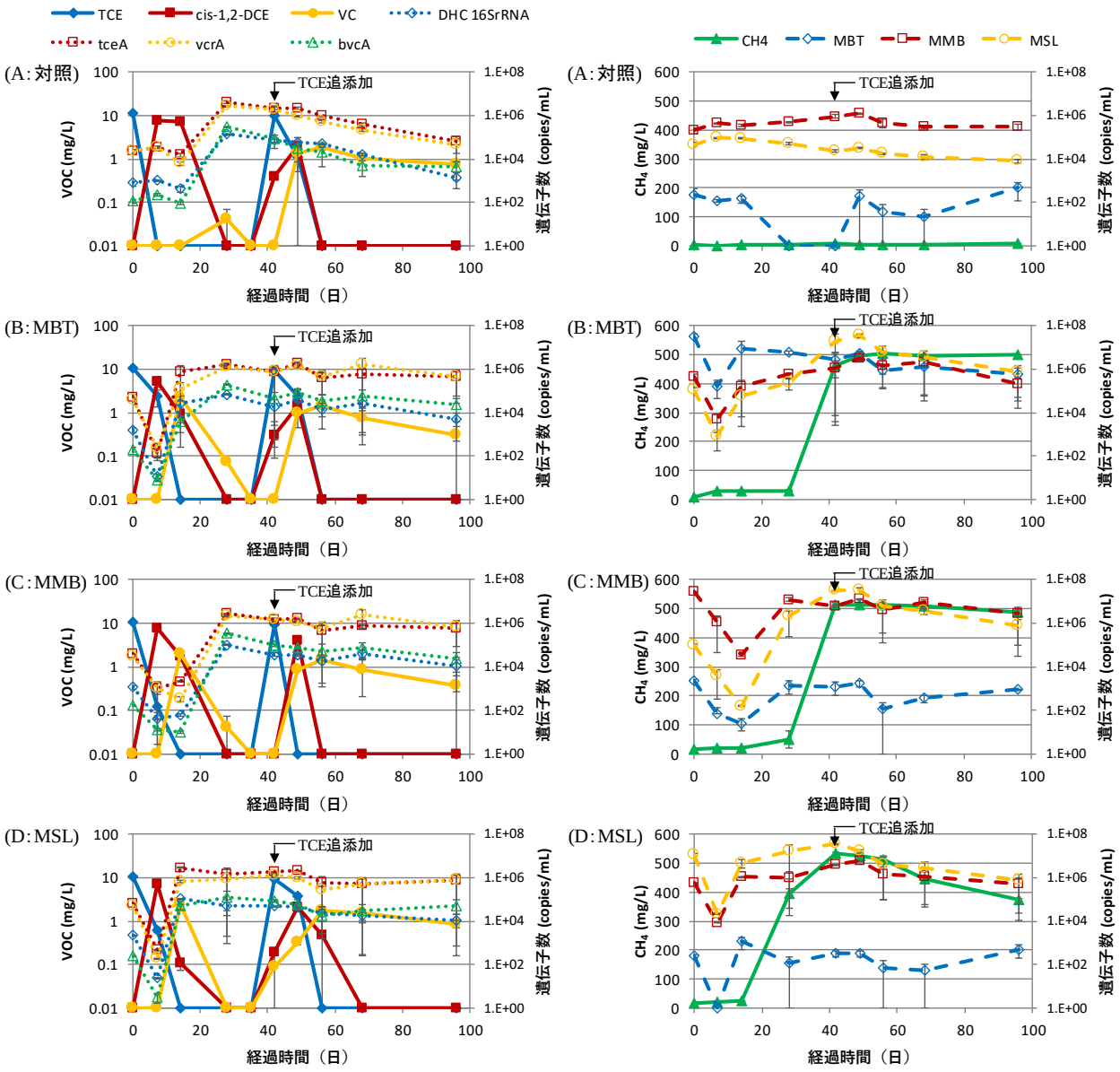

図 1　各ケースの VOC 濃度と DHC 菌に関連する遺伝子数（左），
メタン濃度とメタン菌に関連する遺伝子数（右）の経時変化

4．まとめ

本実験では VOC の嫌気的脱塩素化における DHC 菌とメタン菌の関係性評価を試みた．その結果，メタン菌が大量に存在すると急激な嫌気化により最初の TCE 分解は阻害されるが，それ以降はあまり VOC の分解に影響を及ぼさないことが示唆された．ただし，こうした傾向は他の水素供与体を用いた既往文献 [1]とは異なる結果であり，本実験で水素供与体として使用した栄養剤はメタン菌による競合を引き起こしにくい可能性がある．今後は他の水素供与体を用いた実験を実施して比較することにより，その点を検証していきたい．

参考文献

1) Wen *et al.*: The roles of methanogens and acetogens in dechlorination of trichloroethene using different electron donors. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 19039-19047, 2015.

© Japan Society of Civil Engineers