

Dehalococcoides 属細菌 UCH007 株の汚染帯水層への導入方法の検討

大成建設(株)技術センター	正会員	○高畑 陽
大成建設(株)技術センター	正会員	伊藤 雅子
(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. はじめに

塩素化エチレン類で汚染された帯水層の浄化技術として、有機系の浄化材を地盤に供給し、地盤内に存在している *Dehalococcoides* 属細菌（以下、デハロ菌）に代表される嫌気性の脱塩素細菌を活性化させる浄化技術が広く普及している。一方、本技術は 1,2-ジクロロエチレン（以下、1,2-DCE）以降の脱塩素化が停滞する場合が多く、浄化期間が長期化することが課題となっている。近年では浄化期間を短縮するため、デハロ菌を地盤に導入する浄化技術（バイオオーグメンテーション）が国内でも進められている¹⁾。

筆者らは、国内で初めてデハロ菌を単離することに成功し²⁾、単離したデハロ菌（UCH007 株）を汚染地盤に導入する浄化を行うため、国が定めた安全性指針の確認³⁾を行うと共に、浄化菌導入による浄化効果⁴⁾を検討してきた。本報では、市販品を改造した密閉容器を用いて嫌氣的に培養した UCH007 株の菌液を空気に晒さないように窒素ガスを用いて汚染帯水層に導入する方法について検討した結果について報告する。

2. UCH007 株の大量培養

一般的にバイオオーグメンテーション等で用いる浄化菌の大量培養には大容量のファーマンターを用いる¹⁾。しかしながら、UCH007 株は絶対嫌気性細菌であるため遠心分離等の濃縮作業が難しく、ファーマンターで培養した菌液を輸送容器に入れ替える作業が必要であり、コストが高くなる課題があった。

そこで、滅菌可能な耐圧容器内で UCH007 株を培養し、容器をそのまま浄化サイトに輸送して菌液を注入する方法を検討した。耐圧容器として比較的安価な市販品の 5 ガロンのビア樽（写真-1）の上蓋にブチルゴム栓を装着したサンプリングポートを設け（写真-1）、予め前培養した UCH007 株とその増殖を助ける *Sulfurospirillum* sp. UCH001 株⁵⁾の共培養液を嫌氣的に作成した約 15L の液体培地に滅菌済み注射器を用いて植菌して培養を行った。培養開始時にトリクロロエチレン（以下、TCE）を添加し、培養期間中は培養液中の VOCs 濃度を確認しながら定期的に TCE を追加供給し、室温（約 25℃）で 5 週間培養を行った。培養は 5 本のビア樽を用い、培養終了後にビア樽内の培養液を窒素パージ後に内容物を採取して分析を行った結果、UCH007 株は平均して 1.7×10^7 cells/mL まで増加し、添加した TCE および代謝産物である 1,2-DCE、クロロエチレン（以下 VCM）が検出限界以下であることを確認した。

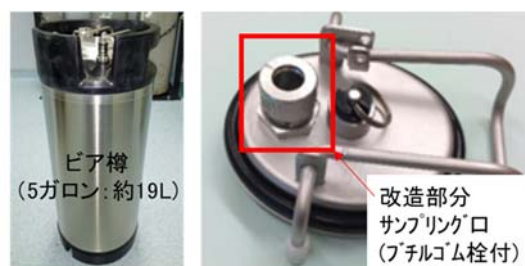


写真-1 ビア樽と上蓋の改造

3. 打込み式注入管の設置

菌液の注入には、鋼製の鋼管にスリット加工を施した打込み式注入管⁶⁾を用いた。菌液を導入する汚染帯水層は概ね GL-4m～GL-6mの粘土層に挟まれたシルト混じり砂礫層であり、菌液の導入範囲は鋼矢板を打設して周囲の帯水層とは遮断した。鋼矢板で囲まれた区画内には 5 本の打込み式注入管を設置して、菌液の注入深度にはスリット加工した有孔管を配置した（図-1）。打込み式注入管の打設には自走式バイブロドリル（ECO-1VⅡ ワイビーエム社製）を用い、1 箇所当たり概ね 15 分間で注入管の打設を完了した。

キーワード 大量培養, 菌液注入, 嫌気性細菌, バイオオーグメンテーション, *Dehalococcoides* 属細菌
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 TEL045-814-7226

4. 菌液の注入

培養した菌液はビア樽内部に気体を圧入することによって排出できる構造となっているが、培養液の嫌気状態を保つため、高純度窒素ガスを用いた。また、菌液の供給経路に対して予め窒素パージを行い、UCH007 株が空気(酸素)に触れることによる死滅を防ぎながら菌液を帯水層に供給する必要がある。注入管内部の窒素パージを行うため、従来は窒素ガスボンベを用いて開閉バルブ A と B を開放した状態で注入管内部の下から窒素ガスを供給してパージを実施後、開閉バルブ B を閉めて菌液を供給していた(図-1)。しかし、窒素ガスボンベは窒素ガスを高圧で供給できる一方で、高圧ガス保安法に基づく管理が必要であり、大量に窒素ガスを使う場合にはランニングコストが高くなる課題があった。そこで、安価で安全な PSA 方式の窒素ガス発生装置(M4NT-0.4 II-6 コフロック社製 窒素ガスの流量: 5.0L/min, 供給圧力: 0.5MPa, 純度: 99.99%以上)を用いる供給方法を検討した。

大量培養したビア樽を実証試験サイトに送付し、従来方法と同様に窒素パージを実施して注入管内の空気を窒素ガスに置換後、供給配管の接続を開閉バルブ A から B に変更して菌液を供給した結果、平均で 1.8L/min の速度で菌液を供給できることを確認した。尚、窒素ガスパージ後に従来方法と同様に開閉バルブ A から菌液の導入を試みたが、配管の圧損が大きく、0.5MPa の供給圧では菌液を供給できないことを同時に確認した。

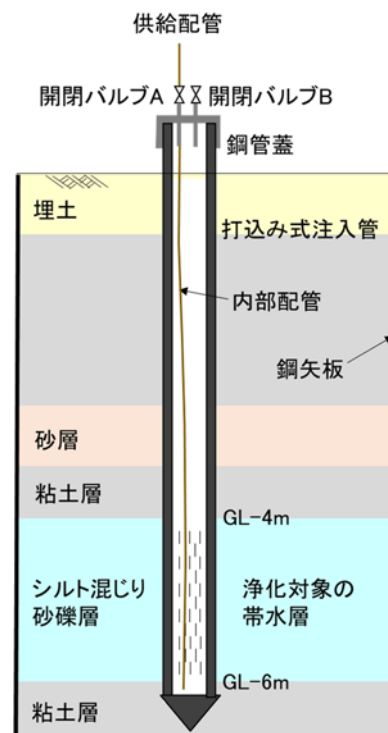


図-1 菌液の注入配管の模式図

5. 菌液の塩素化エチレン類の分解活性の確認

汚染帯水層に供給した菌液が塩素化エチレン類の分解能力を有しているかを確認するため、分解活性の確認試験を実施した。全量 70mL のガラスバイアル瓶に UCH007 株の増殖培地 50mL を入れて滅菌処理し、冷却後に TCE 溶液を添加した。注入終了後にビア樽底部に残る菌液をシリンジで採取して各バイアル瓶に約 0.2mL ずつ植菌し、25℃で静置培養して塩素化エチレン類の分解状況を確認した。5 本のビア樽の塩素化エチレン類の経時変化(平均値)を図-2 に示す。これより、短期間で TCE の脱塩素化が VCM まで進行していることが示され、実証試験で導入した UCH007 株の菌液は高い分解活性を維持していることが示された。

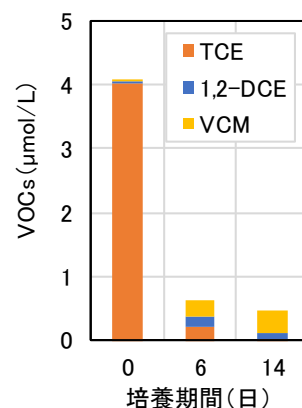


図-2 培養試験結果
(ビア樽5本の平均値)

6. おわりに

デハロ菌を用いるバイオオーグメンテーションの一連の手順について検討を行い、本報で示した手順は作業性が高く、従来手法より安価に菌液の大量培養や供給を実施できることを実証した。

本実証試験は環境省の受託事業(令和元年度低コスト・低負荷型土壤汚染調査対策技術検討調査)として実施した。

参考文献

- 1) 奥津徳也ほか：環境バイオテクノロジー学会誌, Vol.13, No.1, pp.13-18 (2013) .
- 2) UchinoY, et al, Standads in Genomic Sciences, 10, 102 (2015).
- 3) <https://www.env.go.jp/air/tech/bio/05.html>
- 4) 伊藤雅子ほか：令和元年度土木学会全国大会第 74 回年次学術講演会, VII-18 (2018) .
- 5) 内野佳仁：環境技術, Vol.46, No.2, pp.77-82 (2017) .
- 6) 高畑陽ほか：地盤工学会誌, Vol.67, No.2, pp.32-33 (2019) .