

(29) 集積培養系によるメタン生成ベンゼン分解及びトリクロロエチレン脱塩素化の同時進行

高橋 惇太¹・栗栖 太^{2*}・古米 弘明²

¹東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻 (〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1)

²東京大学大学院工学系研究科附属水環境制御研究センター (〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1)

* E-mail: kurisu@env.t.u-tokyo.ac.jp

ベンゼン及びクロロエチレン類は、揮発性有機化合物による地下水・土壌汚染の主要な原因物質である。これら両方の物質によって汚染されたサイトも存在しており、その浄化は重要な課題となっている。本研究では、これまでに我々が集積してきた嫌気ベンゼン分解微生物群とトリクロロエチレン (TCE) 脱塩素微生物群を混合した混合培養系に対し、ベンゼンとTCEを同時に添加し、嫌気条件下でベンゼン分解とTCE脱塩素化が同時に進行しうるかを調べた。その結果、2つの反応は同時進行可能であることが明らかになり、この時のベンゼン分解はメタン生成反応であったことが示された。また、一部の系ではベンゼンの分解速度の低下が観測され、塩化ビニルの蓄積がベンゼン分解に影響を与える可能性が示唆された。

Key Words : anaerobic benzene degradation, dehalogenation, bioremediation, methanogenesis

1. はじめに

ベンゼンは、石油中に含まれる化学物質の一つであり、ガソリンスタンドなどの石油製品を扱う施設における汚染が問題となっている。また、クロロエチレン類は、有機溶剤として精密機械工場やクリーニング施設などで使われてきたため、これらの施設での汚染が問題となる。このように、ベンゼン、クロロエチレン類は広く使われてきた経緯から、これら両方の物質は揮発性有機化合物による地下水・土壌汚染の多くを占めている¹⁾。さらに、ベンゼン及びクロロエチレン類により同時に汚染されたサイトも存在しており、これらの物質により汚染されたサイトを浄化することは重要な課題となっている。

クロロエチレン類による土壌汚染を浄化する手法の一つに、微生物によるバイオレメディエーションがある。嫌気的条件下におけるクロロエチレン類の微生物による脱塩素化反応は、クロロエチレン類の塩素が水素へと順次置換される反応であり、トリクロロエチレン (TCE) であれば、ジクロロエチレン (DCEs)、塩化ビニル (VC) となり、最終的にエチレンになることで無害化される。この反応に必要な水素は、有機物からの嫌気的な水素生成反応で供給される。嫌気的条件下でのクロロエチレン類のバイオレメディエーションは、すでに実用

化されている。

ベンゼンのバイオレメディエーションは、バイオベンディングなどの工法により、好氣的条件下で実用化されている。一方で嫌气的条件下での微生物によるベンゼン分解は、硫酸還元条件^{2,3)}やメタン生成条件^{4,5)}などの様々な条件下で報告されているものの、ベンゼンの分解経路についてもまだ明らかになっていない点が多く、分解微生物についても、硫酸還元条件でのみ分離例があるのみで知見が少ない。我々はこれまでの研究により、茨城県土浦市の蓮田の土壌よりメタン生成条件下でベンゼン分解を行う微生物集積系を得ており、安定同位体プローブ法によりベンゼンの分解にはHasda-A が関わっている可能性などが示されている⁶⁾。

現在、ベンゼン及びクロロエチレン類により同時に汚染されたサイトでバイオレメディエーションを行うには、嫌气的条件のもとでクロロエチレン類を浄化したのち、好気条件にしてベンゼン分解を行うしかない。しかし、この手法では、浄化が二段階となり時間と手間がかかり、また、好気条件にするためにエネルギーが必要である。さらに、嫌气的脱塩素化では、浄化完了後に有機物資材が残存することが多く、その酸化分解にも酸素供給が必要となる。

そこで本研究では、ベンゼン分解とクロロエチレン類

脱塩素化を嫌氣的条件下で同時に行うことを目的とし、これらの反応が同時に起こるかどうかを調べた。これまでに我々が集積してきた嫌気ベンゼン分解微生物群とTCE脱塩素微生物群を混合した混合培養系に対し、ベンゼンとTCEを二種類の濃度設定のもとで同時に添加し、嫌気条件下でベンゼン分解とTCE脱塩素化が同時に進行するかを調べた。また、同位体標識ベンゼンの添加によるベンゼンの分解経路の推定を行った。

2. 実験方法

(1) クロロエチレン及びベンゼン分解集積培養系

本研究では、既往の研究^{6,7)}により培養されたベンゼン分解培養系とTCE脱塩素培養系を使用した。ベンゼン培養系は、2007年10月21日に採取した茨城県土浦市の蓮田の土壌由来である土浦培養系、同年11月24日に採取した埼玉県新芝川の底泥由来である新芝川培養系を使用した。それぞれの培養系は、窒素ガスによるパージを行ったMilli-Q水と土壌を嫌気グローブボックス内で72mLバイアル瓶内で混合してスラリー化し、25℃で暗所にて静置培養した。バイアル瓶内の気相は $N_2:CO_2=8:2$ の混合ガスによる通気を行い、嫌気条件を保つために $Na_2S \cdot 9H_2O$ 及びL-システインを終濃度0.3g/Lとなるよう添加した。培養系にはベンゼンを液相濃度にて0.1、1、10、100mg/Lとなるように添加し、その他の有機物の添加は行わなかった。培養開始から150日の時点ではベンゼンの減少が見られなかったため、各地点、各濃度の3連の培養系をそれぞれ1つのバイアル瓶にまとめたところ、土浦培養系ではまとめた直後から、新芝川培養系では培養開始から250日目から、ベンゼンの分解とメタンの生成が開始した。その後、ベンゼンを10-20mg/L添加するごとにベンゼン濃度の減少が確認された。ベンゼンの添加は、本実験開始直前まで継続的に行った。TCE脱塩素培養系を作る際には、160mLバイアル瓶に、72mLのBS培地（ペプトン: 0.2g、酵母エキス抽出物: 0.1g、肉エキス: 0.2g、炭酸カルシウム: 1.0g、L-システイン塩酸塩: 0.3g、Milli-Q水: 1L）を入れ、ブチルゴム栓、アルミシールにより密栓し、窒素ガスにより気相を置換後、121℃、15分間オートクレーブ滅菌した。放冷後、嫌氣的条件下において2005年11月13日に採取した茨城県土浦市の蓮田の土壌を植菌し、培養系を作成した。TCEを液相濃度で0.13mg/Lとなるよう添加したところ、TCEが脱塩素化され、cis-1,2-DCE、VC、エチレンが生成した。TCEが消費されるたびに0.13mg/LとなるようにTCEを添加し、脱塩素培養系を作成した。その後、BS培地への植え継ぎをBS培地：培養系=24：1の割合で行った。BS培地への植え継ぎは計8回行い、その度にTCEの分解が確認された。

さらに、有機物を含まず水素生成が少ないMM培地⁸⁾による植え継ぎをMM培地：培養系=39：1の割合で行ったところ、TCEの脱塩素化及びcis-1,2-DCE、VC、エチレンの生成が確認され、試験開始から24日後にはTCEの約58%がエチレンまで脱塩素化された。MM培地への植え継ぎ後の水素の供給は、BS培地由来の有機物から発生すると考えられる。TCE脱塩素培養系は、本実験開始までの約1年間TCEの添加を行わず、休止させていた。

ベンゼン分解培養系及びTCE脱塩素培養系は、本実験期間中はそれぞれベンゼン、TCEのみを添加し、ほかの有機物の添加は行わなかった。

(2) ベンゼン及びTCEの同時分解試験

これまでに集積培養系を維持してきた経験により、ベンゼンの嫌氣的分解は、外部からの攪乱を受けやすいことがわかっている。そこで本実験では、TCE脱塩素化反応による外部からの攪乱を抑えるためベンゼン濃度をTCE濃度よりも高く設定した系と、ベンゼン濃度とTCE濃度を等しく設定した系の2つの系にて実験を行った。

滅菌済み27mLバイアル瓶で、ベンゼン分解培養系（土浦培養系もしくは新芝川培養系）10mLとTCE脱塩素培養系1mLを、それぞれ嫌気グローブボックス内で混合し、混合培養系を作成した。また、対照系として土浦培養系10mLをオートクレーブにより121℃、15分で2回滅菌した滅菌土壌系を用意した。土浦+脱塩素培養系、新芝川+脱塩素培養系、滅菌土壌系のそれぞれについて、液相濃度でベンゼン10mg/L、TCE 1mg/Lとなるように添加し、25℃で暗所にて静置培養した。

また、ベンゼン分解産物を測定し、ベンゼン分解が嫌氣的条件下で微生物により行われていることを確認するため、同位体標識ベンゼンを用いた分解産物の確認試験を行った。ベンゼン、TCE濃度が十分に減少したのち、液相濃度で $^{13}C_6$ -ベンゼン 10mg/L、TCE 1mg/Lとなるよう添加し、生成物を測定した。

ベンゼン濃度とTCE濃度を等しく設定した系についても同様に、滅菌済み27mLバイアル瓶に、ベンゼン分解培養系（土浦培養系）10mLとTCE脱塩素培養系1mLを、嫌気グローブボックス内で混合し、混合培養系を作成した。混合培養系には、液相濃度にて $^{13}C_6$ -ベンゼン1mg/L、TCE 1mg/Lとなるようにそれぞれ添加した。また、TCE脱塩素培養系の脱塩素能をみるために、対照系として脱塩素培養系にTCEを1mg/Lとなるように添加した脱塩素系を用意した。混合培養系、脱塩素系ともに25℃で暗所にて静置培養した。また、この実験系では、ベンゼン1mg/L、TCE 1mg/Lを同時添加した試料についてのみ2連で実験を行った。いずれの試験においても、培養系へのベンゼン、TCE以外の有機物の添加は行わなかったため、

水素供給は培養系にもともと含まれている有機物からの供給及びベンゼンの分解に伴うものに限られる。

(4)化学分析

ベンゼン及びクロロエチレン類(TCE、cis-1,2-DCE、VC)は、バイアル瓶のヘッドスペースガスを80 μ Lサンプリングし、GC-FID(島津製作所 GC-2010、カラム: GL science InertCap-624)を用いて測定した。ベンゼン、TCEの検出限界はそれぞれ、0.005mg/L、0.01mg/Lであった。エチレンは、20 μ LのヘッドスペースガスをGC-FID(島津製作所 GC-14B カラム: J&W science GC-Q)を用いて測定した。¹³C-メタン及び¹³C-二酸化炭素は、40 μ LのヘッドスペースガスをGC-MS(島津製作所 QP-2010、カラム Agilent technology HP-PLOT/Q)を用いて測定した。また、pHはバイアルより少量の液体を採取し、pH計(アイスフエトコム S2K712)を用いて測定した。

ヘッドスペースガスの濃度から液相濃度やバイアル瓶内の総物質量を求める際は、ベンゼン及びTCEはヘンリーの法則、二酸化炭素はヘンリーの法則と炭酸平衡を用いて液相濃度と総物質量を計算した。メタン及びエチレンは水への溶解度が無視できるため、全量が気相に存在するとして計算した。

全ての実験において、測定の際には同一試料を3回測定し、その平均を示した。

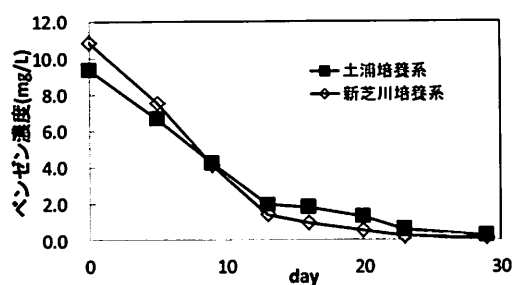
3. 結果と考察

(1)ベンゼン、TCE単独添加における分解試験

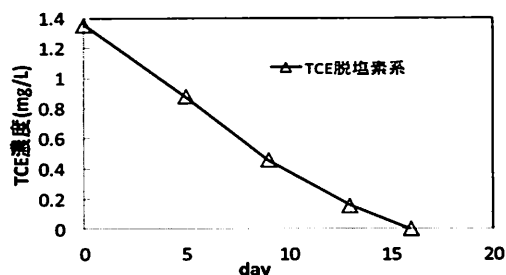
まず、今回の実験で用いたベンゼン分解培養系(土浦培養系、新芝川培養系)、TCE脱塩素培養系がそれぞれベンゼン分解、TCE脱塩素化反応が可能であることを確認するため、ベンゼン分解培養系にベンゼン10mg/L、TCE脱塩素培養系にTCE 1mg/Lを添加した。図-1にその結果を示す。

ベンゼン分解培養系では、土浦培養系、新芝川培養系ともにほぼ同程度の速度でベンゼン濃度の減少が確認された。TCE脱塩素培養系では、TCE濃度は減少した。ベンゼン分解は、どちらの培養系においても2mg/Lを下回ると分解速度の低下が確認された。対象物質添加直後から直線的に濃度が減少していた0日目から12日目までの部分の減少速度を計算すると、ベンゼン減少速度は土浦培養系では約0.65mg/(L $\cdot$ day)、新芝川培養系では約0.75mg/(L $\cdot$ day)、TCE減少速度は約0.1mg/(L $\cdot$ day)であった。

(2)ベンゼン 10mg/L、TCE 1mg/L添加系における同時分解試験



(a)ベンゼン分解培養系



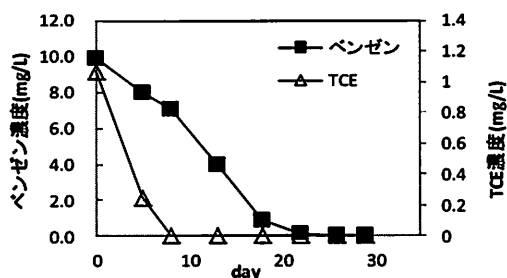
(b)TCE脱塩素培養系

図-1 ベンゼン分解培養系、TCE脱塩素培養系における濃度変化

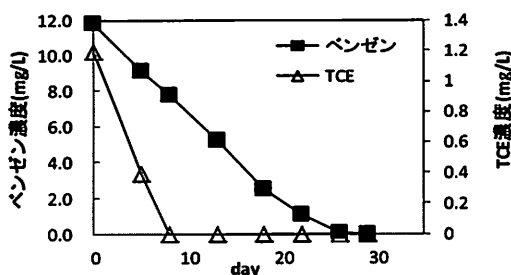
次に、ベンゼン及びTCEが同時に分解可能であるかどうかを調べるため、ベンゼン分解能を有する培養系と、TCE脱塩素能を有する培養系を混合し、両方の物質を分解する微生物が存在する培養系に対し、ベンゼンとTCEを同時に添加する試験を行った。ベンゼン分解培養系(土浦培養系、新芝川培養系)と脱塩素培養系を混合した混合培養系、滅菌土壌系のそれぞれについて、ベンゼン(10mg/L)とTCE(1mg/L)を同時に添加し、それぞれの濃度を測定した。図-2にその結果を示す。

ベンゼン分解培養系と脱塩素系を混合した培養系では、土浦培養系+脱塩素系、新芝川培養系+脱塩素系ともにベンゼン濃度とTCE濃度は減少していることがわかる。一方で、滅菌土壌系でもベンゼンは6mg/L程度まで減少し、TCEについては検出限界以下まで減少した。いずれの系においても、添加直後からの濃度減少はほぼ一定であったことから、減少速度を求めて比較した。滅菌土壌系ではベンゼン濃度が10日目までは約0.4mg/(L $\cdot$ day)で減少し、10日後以降はほぼ一定となっているのに対し、混合培養系ではどちらも約0.5mg/(L $\cdot$ day)でベンゼン濃度が減少し、検出限界以下まで濃度が下がっている。また、TCE濃度の減少速度についての比較を行うと、滅菌土壌系では約0.06 mg/(L $\cdot$ day)であるが、混合培養系では約0.15 mg/(L $\cdot$ day)と2倍以上減少速度が速くなっている。

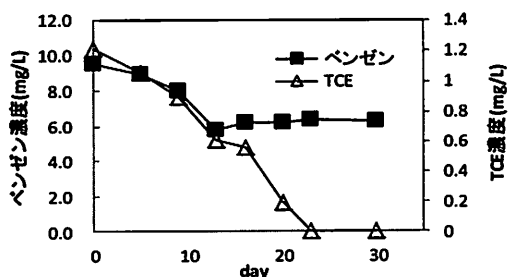
滅菌土壌系においても、ベンゼン、TCEともに減少がみられたのは、器具等への物理的吸着以外に、滅菌が不十分で生物分解も起こっていた可能性がある。滅菌土壌系においてもcis-1,2-DCE、VCが生成しており、脱塩素活性が残存していたことが確認された。いずれにしても、混合培養系は滅菌系よりもベンゼン、TCEの濃度減少が速いことから、混合培養系においてベンゼン及びTCEは微生物による分解を受けていることが明らかになった。混合培養系において、TCEの脱塩素化反応の生成物であるcis-1,2-DCEはほとんど検出されず、VCは最大でもTCE添加量の約5% (molベース) しか検出されず、その後濃度が低下した。TCEが微生物により分解されていることが明らかであるため、TCEは未測定のエチレンへと速やかに分解されている可能性が考えられる。



(a)土浦培養系+脱塩素培養系



(b)新芝川培養系+脱塩素培養系



(c)滅菌土壌系

図-2 ベンゼン 10mg/L、TCE 1mg/Lを同時添加した場合の濃度変化

また、混合培養系において、実験開始からTCEが検出された10日後までの間、ベンゼン濃度とTCE濃度は同時に減少しており、これらの分解が同時に起きていることが示された。この同時分解現象は、ベンゼン分解培養系として土浦培養系、新芝川培養系を用いた双方の培養系で起きており、集積前のもとの土壌に依らず、ベンゼン分解能を有していれば同時分解が起こり得ることが示唆された。また、ベンゼンの減少速度に着目すると、混合培養系においてベンゼンの分解速度は実験開始からTCE濃度が検出限界以下になった後も大きな変化はなく、ベンゼンの減少速度は共存TCE濃度に依らなかった。

さらに、ベンゼン、TCEを同時に添加した混合培養系での減少速度 (ベンゼン 約0.4mg/(L・day)、TCE 約0.15mg/(L・day)) は、(1) で示した混合前の培養系によるそれぞれの物質の減少速度 (ベンゼン約0.65-0.75mg/(L・day)、TCE 約0.1mg/(L・day)) と比べ、ベンゼンは約2/3に、TCEは約3/2倍になったものの、大きな変化は確認されなかった。このことから、混合培養系でのベンゼン分解とTCE脱塩素化は、培養液を混合したことによる影響も、ベンゼンとTCEを同時に添加したことによる影響もほぼ受けることなく進行したことが示された。

次に、ベンゼンの分解経路を明らかにするために行った、同位体標識ベンゼンを用いたベンゼン分解産物確認試験の結果について述べる。混合培養系の各々に再度 ^{13}C -ベンゼン 10mg/L と TCE 1mg/L を添加した結果、それぞれ先の実験と同様の濃度低下を示し、再添加から約10日間で TCE は検出限界以下に達し、ベンゼンは26日間で8割以上分解され、ベンゼンと TCE の同時分解が再び起こったことが確認された。図-3 に土浦培養系+脱塩素培養系によるベンゼンおよびメタン、二酸化炭素のバイアル内の物質質量変化を示す。なお、物質収支を明確にするため、すべての物質は液相と気相を合わせたバイアル瓶内の全量として示している。 ^{13}C -ベンゼン濃度の減少に従って、 ^{13}C -メタン、 ^{13}C -二酸化炭素が生成され、

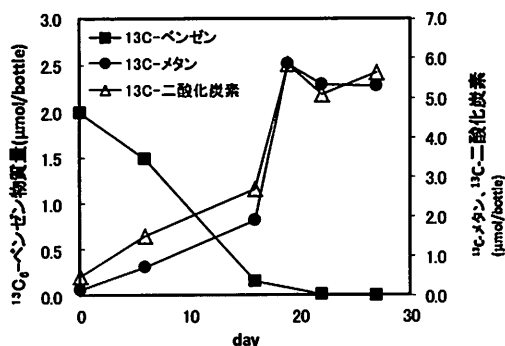
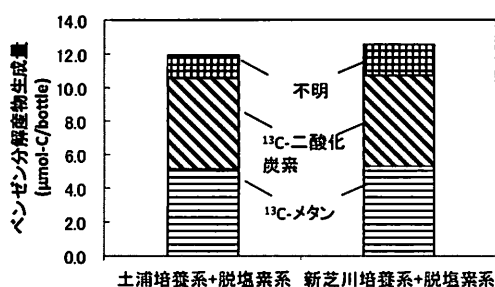


図-3 土浦培養系+脱塩素培養系における ^{13}C -ベンゼン



図一4 26日後におけるベンゼンの物質収支

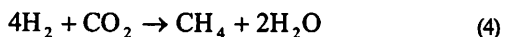
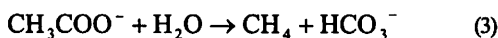
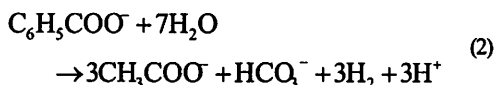
生成された各物質の物質量は各時点で約 1:1 であった。また、実験開始から 17 日から 19 日目にかけて、メタンと二酸化炭素の物質量が大きく増加しているが、これはこの時点を経境としてそれまで蓄積したベンゼンの中間代謝産物がメタンと二酸化炭素まで分解されたためであると考えられる。

図一4に実験開始から 26 日時点での物質収支を示す。なお、ここでもすべての物質はバイアル瓶内の総量で示している。これにより、減少したベンゼンの約 8 割が二酸化炭素とメタンへ分解されたことが確認された。残り 2 割は、ベンゼン分解により増殖した菌体、もしくは中間代謝産物となったと考えられる。

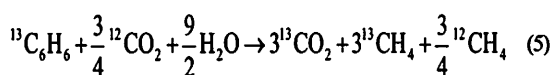
嫌気条件下におけるベンゼン分解経路はまだ明らかでない部分も多いが、熱力学的に考えて途中安息香酸は必ず経由すると考えられている⁹⁾。



安息香酸の嫌氣的分解によるメタン生成はすでに報告がある。ベンゼン分解の安息香酸以降の分解経路が、純粋分離株 *Syntrophus aciditrophicus* による既知の分解反応¹⁰⁾と同一であると仮定すると、安息香酸以降の分解式は、以下の式で表される。



(1) ~ (4) 式よりメタン生成条件下でのベンゼン分解式を得ることができる。今回の実験では、同位体標識された $^{13}\text{C}_6$ -ベンゼンを用いたこと、(1)、(4)式における二酸化炭素は細胞外に由来し、そのほとんどが ^{12}C -二酸化炭素であることを踏まえると、分解式は以下の式で表される。



(5) 式より、メタン生成条件下でのベンゼンの分解反応は、環境中の二酸化炭素を取り込み、二酸化炭素とメタンへと最終的に分解する反応であるといえる。また、この時の二酸化炭素とメタンの生成比は 1:1 となる。

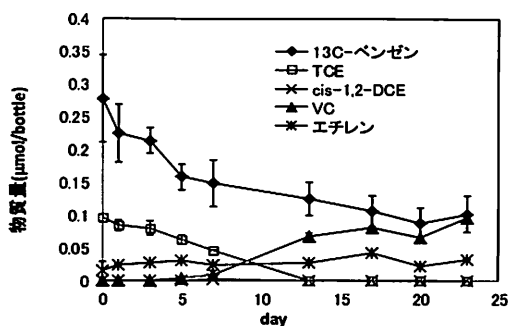
混合培養系による実験結果においても、生成されたメタンと二酸化炭素は 1:1 の比率であったことから、混合培養系におけるベンゼン分解は上記の仮定と矛盾しない結果であることが示された。このことから、ベンゼン分解はすべてメタン生成の経路で分解された可能性が示された。

また、ベンゼンの分解過程において、(2)式では水素の生成が、(4)式では水素の消費が起きるため、TCE脱塩素の過程に影響を与えると考えられる。

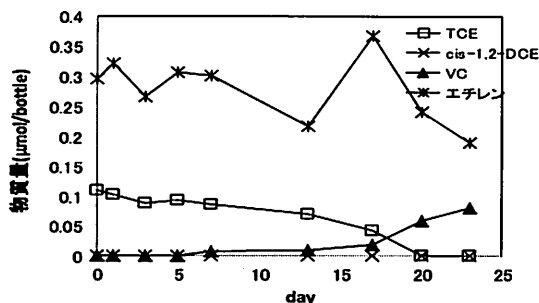
(3) ベンゼン 1mg/L、TCE 1mg/L 添加系における同時分解試験

ベンゼン分解培養系（土浦培養系）と脱塩素培養系を混合した混合培養系に ^{13}C -ベンゼン (1mg/L) と TCE (1mg/L) を添加し、同時分解試験を行い、TCE 脱塩素培養系に TCE (1mg/L) のみを添加した系との比較を行った。図一5にその結果を示す。図一3と同様に、すべての物質はバイアル瓶内の総量で示している。また、混合培養系、脱塩素培養系ともに、エチレンは実験開始前から存在している。混合培養系では、TCE は 13 日程度で検出限界以下まで減少し、この間もベンゼン濃度は減少を続けた。また、ベンゼン濃度の減少に従って、 ^{13}C -メタン、 ^{13}C -二酸化炭素濃度の増加が確認され（データ示さず）、TCE 濃度の減少に従い VC 濃度の増加がみられた。このことから、ベンゼンと TCE の初期濃度をともに 1mg/L と等しくなるように設定した系においても、微生物により同時に分解されることが明らかになった。混合培養系でのベンゼンの減少速度に着目すると、実験開始から 5 日までは約 0.02 μmol/day (0.1 mg/(L · day)) であるが、5 日目以降は減少速度が低下し、5 日後から実験終了時までの減少速度は約 0.002 μmol/day (0.01 mg/(L · day)) と約 1/10 にまで低下した。よって、5 日目付近を境に、何らかの原因により分解速度が低下したことが示された。TCE の初期濃度は前節の実験と同じ 1mg/L であるため、このベンゼン減少速度低下の原因は、TCE そのものがベンゼン分解に影響を与える影響ではないと考えられる。

また、混合培養系では 7 日目から TCE の分解産物である VC が蓄積し始め、23 日目の時点では減少した TCE の 9 割以上が VC となり、実験期間中にはエチレンまでの脱



(a)ベンゼン分解系+TCE脱塩素系(n=2)



(b)TCE脱塩素培養系(n=1)

図—5 ベンゼン 1mg/L、TCE 1mg/Lを同時添加した系及びTCE 1mg/L添加系の系内物質質量の変化

(a) 中のエラーバーは培養系の測定値の幅を示している

塩素化は明確には確認されなかった。VCの蓄積はベンゼン 10mg/L、TCE 1mg/Lの系においてはみられなかった現象である。VCが蓄積を開始した時期と、ベンゼンの減少速度が低下し始めた時期が一致するため、VCの蓄積がベンゼン分解速度の減少の原因となった可能性がある。VCの蓄積は、ベンゼンを添加しない脱塩素系でも混合系と同様に起こっているため、ベンゼン分解系及びベンゼンの添加による影響以外の要因によるものと考えられた。今回の試験において、脱塩素培養系によるTCE減少速度、VCの生成量などは、図—1(b)に示したものとは異なっているが、これは、時間の経過により培養系中の活性が変化したためであると考えられる。脱塩素反応には水素もしくは水素を生成する有機物が必要であるが、本実験期間中は集積培養系に残存する有機物のみで維持し有機物の投与を行わなかったことから、有機物の不足が脱塩素活性の減少の原因となっている可能性が考えられた。また、今回の試験では、混合培養系、TCE脱塩素培養系の両方において、TCEの減少量の約9割がVCへ転換し、TCEの脱塩素化が確認された。図—

1(b)や図—2の試験では、TCEからのVC、cis-1,2-DCEなどへの脱塩素量の定量的な評価はできなかったが、培養系はTCEをVCまで脱塩素する能力を有していることが明らかであるため、前回の試験においてもVCを経由してエチレンまで速やかに分解されている可能性が支持された。

また、TCEの減少速度は、混合培養系の方がTCE脱塩素系よりも速くなっている。ベンゼン 10mg/L、TCE 1mg/Lの系でも混合前に比べてTCE減少速度は速くなっているため、培養系の混合またはベンゼンの添加が影響を与えていると考えられる。これには2つの理由が考えられる。1つ目は、ベンゼン分解培養系中に有機物が豊富に存在し脱塩素反応が促進されたという可能性である。TCE集積培養系に含まれるMM培地は水素生成が少ない培地である一方で、ベンゼン培養系は土壌由来の有機物やベンゼン分解由来の有機物から水素が生成(式(2))する。これがTCEの脱塩素反応に影響を与えたと考えられる。2つ目は、ベンゼン分解培養系からもPCR法により脱塩素を行う *Dehalococcoides* spは検出された(データ示さず)ことから、ベンゼン分解培養系を混合することで脱塩素微生物も増加したことが影響している可能性がある。これらのいずれかもしくは両方が影響し、脱塩素が促進したことが考えられた。塩素系化合物を添加することなく3年以上培養したベンゼン分解集積培養系においても *Dehalococcoides* spが検出されたことは興味深く、今後さらに嫌気ベンゼン分解と脱塩素との関係を調べていく必要がある。

4. 結論

本研究では、嫌気条件下でのベンゼンとTCEの微生物による同時分解の可能性とその反応の特徴について検討を行った。本研究により得られた知見は以下の通りである。

1)ベンゼン分解系とTCE脱塩素系を混合した混合培養系において、ベンゼン、TCE濃度をそれぞれ10mg/L、1mg/Lにした場合、1mg/L、1mg/Lにした場合の双方において、ベンゼン分解とTCE脱塩素化の同時進行が確認された。この際に、ベンゼン10mg/L、TCE 1mg/Lの系では、TCEの有無に関わらずベンゼンの分解速度は一定であり、また、ベンゼンの分解経路はメタン生成経路であることが示された。

2) ベンゼン1mg/L、TCE1mg/Lの系では、ベンゼンの分解速度の減少が確認された。TCEの脱塩素化に伴うVCの蓄積が、ベンゼンの微生物による分解を妨げたという可能性が考えられる。VCの蓄積がベンゼン分解に対して与える影響を調べることは、今後の課題である。

参考文献

- 1) 環境省 水・大気環境局：平成 20 年度 土壌汚染対策法の施行状況及び土壌汚染調査・対策事例等に関する調査結果2010
- 2) Abu Laban N., Selesi D., Jobelius C., Meckenstock R.U. : Anaerobic benzene degradation by Gram-positive sulfate-reducing bacteria, *Fems Microbiology Ecology*, Vol. 68, No. 3, pp. 300-311, 2009
- 3) Kleinstaub S., Schleinitz K.M., Breittfeld J., Harns H., Richnow H.H., Vogt C. : Molecular characterization of bacterial communities mineralizing benzene under sulfate-reducing conditions, *Fems Microbiology Ecology*, Vol. 66, No.1, pp. 143-157, 2008
- 4) Ulrich A.C., Beller H.R., Edwards E.A., Metabolites detected during biodegradation of C-13(6)-benzene in nitrate-reducing and methanogenic enrichment cultures, *Environmental Science & Technology*, Vol. 39, No. 17, pp. 6681-6691, 2005
- 5) Sakai N., Kurisu F., Yagi O., Nakajima F., Yamamoto K. : Identification of putative benzene-degrading bacteria in methanogenic enrichment cultures, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol.108, No.6, pp. 501-507, 2009
- 6) 舩本弘毅, 栗栖太, 對馬育夫, 春日郁朗, 古米弘明 : メタン生成嫌気集積培養系におけるベンゼン分解経路の同位体トレーサーを用いた検討, 第 44 回日本水環境学会年会講演集, p422, 2010
- 7) 綿貫健文, 栗栖太, 春日郁朗, 古米弘明 : クロロエチレン類の還元的脱塩素における塩化ビニルの蓄積と脱塩素促進因子の検討, 第 43 回日本水環境学会年会講演集, p282, 2009
- 8) He J.Z., Holmes V.F., Lee P.K.H., Alvarez-Cohen L. : Influence of vitamin B-12 and cocultures on the growth of *Dehalococcoides* isolates in defined medium, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 73, No. 9, pp. 2847-2853, 2007
- 9) Coates J.D., Chakraborty R., McInemey M.J. : Anaerobic benzene biodegradation - a new era, *Research in Microbiology*, Vol. 153, No.10, pp. 621-628, 2002
- 10) Elshahed M.S., Bhupathiraju V.K., Wofford N.Q., Nanny M.A., McInemey M.J. : Metabolism of benzoate, cyclohex-1-ene carboxylate and cyclohexane carboxylate by *Syntrophus aciditrophicus* strain SB in syntrophic association with H₂-using microorganisms, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, No. 4, pp. 1728-1738, 2001

(2011.5.30 受付)

Simultaneous occurrence of methanogenic benzene degradation and trichloroethylene dechlorination by enrichment cultures

Junta TAKAHASHI¹, Futoshi KURISU², Hiroaki FURUMAI²

¹Dept. of Urban Engineering, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

²Reserch Center for Water Envbironmental technology, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

Benzene and chlorinated ethylenes are major pollutants of groundwater and soil among volatile organic carbons. There are sites polluted by both chemicals, but currently no bioremediation techniques are available to clean up such sites at once. In this study, we mixed benzene degrading cultures and trichloroethylene dechlorinating cultures which were established in our previous study, and added both benzene and trichloroethylene to investigate whether benzene degradation and trichloroethylene dechlorination proceed simultaneously under anaerobic condition. As a result, we revealed that these two reactions can proceed simultaneously, and the benzene was degraded as a methanogenic reaction. We also observed the decrease of benzene degradation rate in some cases, which might suggest the negative effect of vinyl chloride accumulation.