

滞したりする場合があります。有用細菌を速やかに活性化できる有機資材が必要と考えられた。本稿では、様々な食品系有機資材からスクリーニングした新たな有機資材「TM-B 剤」の浄化効果について報告する。

2. 浄化用有機資材「TM-B 剤」の特徴

TM-B (Taisei Material-Brewery yeast) 剤は、食品加工残渣となるビール酵母を処理して製造される酵母エキス的一种であり、主成分としてアミノ酸、有機酸、無機塩類等が含まれている。本報の試験に用いた TM-B 剤の組成比率を表-1 に示す。本品は食品添加物として使用されている酵母エキスであり、溶解性や安全性が高い特徴を持っている。

表-1 本試験に用いた TM-B の組成比率

Table 1 Component ratio of TM-B

主成分 (%)	水分	24.2
	固形分	75.9
	全有機炭素	31.2
	アミノ酸	39.0
	有機酸	12.0
主無機塩分 (%)	ナトリウム	0.1
	カリウム	2.6
	カルシウム	0.1
	マグネシウム	0.3
	窒素	7.8
	リン	2.4
	塩素	0.1

3. 代表的な有機資材と TM-B 剤の脱塩素化反応促進効果の比較

3.1 目的

生物学的な脱塩素化を促進する有機物として、有機酸、糖、アミノ酸などが用いられている^{4) 5) 6)}。本章では、代表的な幾つかの有機資材と TM-B 剤の浄化効果を室内培養試験により比較検討した。

3.2 試験方法

3.2.1 試験に用いた地下水

試験には、化学工場から採取した塩素化エチレン類 (TCE 主体) の実汚染地下水 (地下水 A) を用いた。本地下水中の遺伝子解析を実施した結果、*Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子および *cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化に寄与する特定の脱塩素化酵素遺伝子 (*vcrA*)^{3) 7)} が検出され、本地下水中に有用細菌が存在していることを確認した。一方で、本サイ

トで有機資材として乳酸ナトリウムを用いて原位置浄化実証試験を行った結果、数か月経過した時点でも塩素化エチレン類が残存し、迅速な浄化効果が得られていないことが示された。したがって、本汚染地下水は、脱塩素化細菌が存在する一方で、これらの細菌を活性化させることが難しい地下水であると判断した。

3.2.2 培養試験方法

本試験は、全容量 1100mL のガラス培養瓶を用いる半連続培養法で実施した (図-3)⁶⁾。同サイトの帯水層から採取した土壌 5g と地下水をガラス培養瓶に分注し、地下水を窒素で曝気して地下水中の溶存酸素を除去した後に密栓した。培養開始時に TCE を終濃度で 3mg/L 添加した後、表-2 に示す有機資材をそれぞれ終濃度で 0.02% 添加し、20°C の恒温室内で培養した。

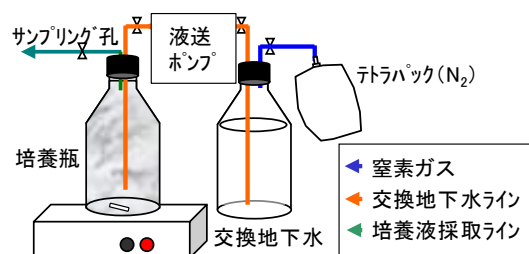


図-3 半連続培養装置

Fig.3 Semi-continuous culture apparatus

表-2 有機資材添加条件

Table 2 Culture conditions with organic materials

	有機資材	無機塩
1	無添加	無添加
2	有機酸	乳酸ナトリウム N=5mg/L, P=1mg/L
3	糖主体	糖蜜系材料(TM剤 ⁴⁾) 無添加
4	アミノ酸主体	酵母エキス(市販品) 無添加
5	アミノ酸主体	TM-B剤 無添加

3.3 試験結果

3.3.1 試験期間中の全有機炭素濃度の挙動

本試験に用いた地下水は採取時の全有機炭素濃度 (以下、TOC) が 37mg/L であり、地下水に土壌のみを加えた無添加条件の TOC 初期濃度は 43mg/L となった。この地下水と土壌由来の TOC は、培養期間中に減少し、最終的には 32 mg/L となった。その他の条件は、各々の炭素含有量に応じた TOC 初期濃度となり、乳酸ナトリウム 63mg/L、糖蜜系材料 84mg/L、酵母エキス 89mg/L、TM-B 剤 94mg/L となった。これらの TOC も培養期間中に減少し、最終的には全ての条件で 40mg/L 以下となった。

3.3.2 培養液中の pH および酸化還元電位の挙動

培養開始時の pH は全ての添加条件で約 8.7 であった。培養終了後、糖蜜系材料、酵母エキス、および TM-B 剤は pH が 8 前後に低下した。pH の低下は、有機物分解で生成した有機酸や炭酸ガスの影響によるものと推測されたが、いずれの添加条件も中性域を維持していたため、脱塩素化への影響は少ないと考えられた。

培養中の酸化還元電位 (ORP) は無添加条件で -200 mV 前後、有機資材添加条件の ORP 値は -380mV ~ -430 mV となり、脱塩素化に適した範囲に保たれた。

3.3.3 培養中の塩素化エチレン類の挙動

塩素化エチレン類の経時変化を図-4 に示す。本試験では、無添加条件でも TCE, *cis*-1,2-DCE の脱塩素化が進行し、塩化ビニルモノマー (以下、VCM) の増加が確認された。これは、無添加条件でも培養開始時の TOC 濃度が高く、窒素曝気により地下水が還元状態を形成し易い条件であったためと推測された。乳酸ナトリウム添加条件では、TCE と *cis*-1,2-DCE の脱塩素化が確認されたが、VCM は 174 日目以降も殆ど脱塩素化せず残存した。また、糖蜜系材料と酵母エキスの添加条件では、*cis*-1,2-DCE が高濃度で残存した。一方、TM-B 剤添加条件では、培養 36 日目には *cis*-1,2-DCE から VCM への脱塩素化がほぼ完了しており、培養 174

日目には VCM も環境基準値以下まで減少した。培養は 220 日まで継続して実施したが、脱塩素化が無添加条件より有意に進行した条件は、乳酸ナトリウム添加条件と TM-B 剤添加条件であり、VCM の脱塩素化が確認できたのは TM-B 剤添加条件だけだった。

3.4.4 *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 及び *vcrA* 遺伝子数の挙動

培養開始時、培養 36 日目および 174 日目の培養液から DNA を抽出し、*Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA の遺伝子数、および *vcrA* 遺伝子数をリアルタイム PCR 法⁷⁾により定量した。培養開始時の *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子数は 5.4×10^4 (copies/mL)、*vcrA* 遺伝子数は 1.4×10^4 (copies/mL) と比較的高い値で検出された。乳酸ナトリウム添加条件の *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子数は、培養 36 日目で 1.0×10^5 (copies/mL)、174 日目で 8.2×10^5 (copies/mL) に増加したが、*vcrA* 遺伝子数は培養 174 日目で 3.1×10^1 (copies/mL) と培養開始時より減少した。一方、TM-B 剤添加条件の *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子数は、培養 36 日目で 1.6×10^5 (copies/mL)、174 日目で 2.8×10^5 (copies/mL) に増加し、*vcrA* 遺伝子数も培養 174 日目で 2.6×10^6 (copies/mL) に増加した。

糖蜜系材料および酵母エキスを添加した条件の *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子数も培養後に高い値で検出されたが、*vcrA* 遺伝子数は乳酸ナトリウムと同様に増加傾向がみられなかった。

以上の結果から、TM-B 剤は地下水に存在する *vcrA* 遺伝子を保有する *Dehalococcoides* 属細菌の増殖・優占化に特異的に有効であると考えられた。

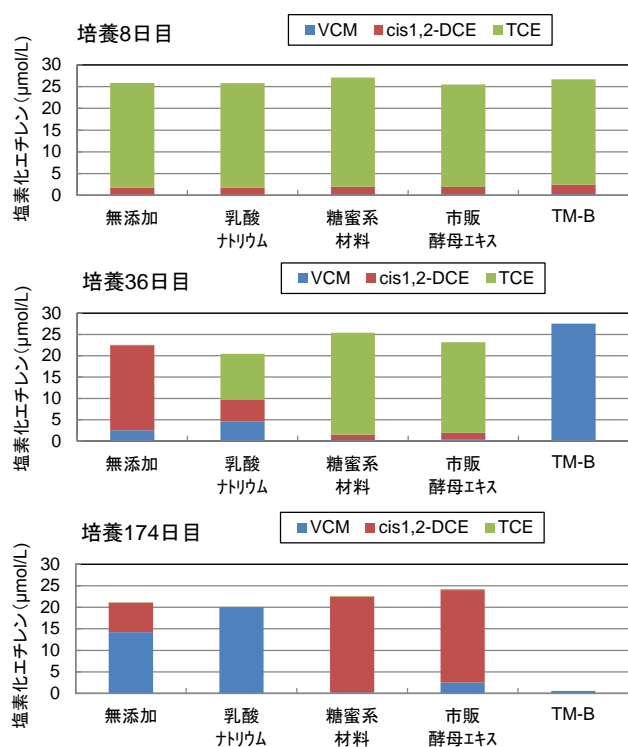


図-4 8, 36, 174 日目における塩素化エチレン濃度
Fig.4 Chlorinated ethene concentrations on 8, 36, and 174 days

4. 汚染地下水に対する TM-B 剤の効果確認

4.1 試験の目的

前章の試験結果から、TM-B 剤は、*cis*-1,2-DCE 以降の脱塩素化が生じにくい地下水に対しても速やかに有用細菌を優占化できることが示された。本章では、TM-B 剤が一般的な有機資材と比較して普遍的に高い浄化効果を有しているかについて確認するため、複数の塩素化エチレン汚染地下水を用いて室内試験を実施し、その効果を確認した。

4.2 試験方法

試験には、機械工場の汚染サイトから採取した比較的低濃度で TCE 主体の実汚染地下水 (地下水 B)、医薬品製造工場の汚染サイトから採取した比較的高濃度

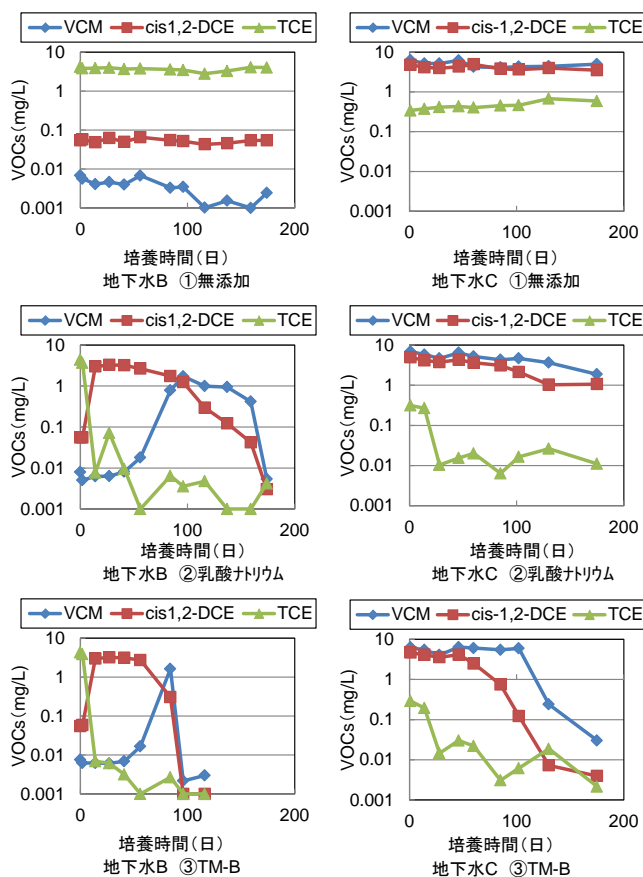


図-5 塩素化エチレン濃度の経時変化

Fig.5 Chlorinated ethene concentrations during incubation test

で *cis*-1,2-DCE, VCM が主体の実汚染地下水（地下水 C）を用いた。3.2.と同様の培養装置および試験方法により培養試験を行ったが、地下水 A で実施した培養開始前の窒素曝気は実施しなかった。採取した地下水 B からは *Dehalococcoides* 属細菌の 16S rDNA 遺伝子数および *vcrA* 遺伝子数がそれぞれ、 1.5×10^3 (copies/mL), 2.6×10^3 (copies/mL), 地下水 C からはそれぞれ、 1.3×10^3 (copies/mL), 1.6×10^3 (copies/mL) 検出された。

4.3 試験結果

培養期間中の塩素化エチレン類の経時変化を図-5 に示す。TCE を添加した地下水 B は、乳酸ナトリウムと TM-B 剤の間に *cis*-1,2-DCE までの脱塩素化傾向の大きな差はみられなかった。しかし、培養 84 日目以降に TM-B 剤添加条件では脱塩素化が急激に速まり、乳酸

ナトリウム添加条件と比較して 70 日以上短縮して浄化が完了した。地下水 C は、乳酸ナトリウムの添加条件では *cis*-1,2-DCE の脱塩素化が緩やかに進行したのに対して、TM-B 剤の添加条件では *cis*-1,2-DCE からエチレンへの速やかな脱塩素化が確認された。

両地下水共に、TM-B 剤で培養した地下水中の *vcrA* 遺伝子数が乳酸ナトリウムと比較して速く増加することを確認した。以上の結果、TM-B 剤は有機資材として一般的に使われている乳酸ナトリウムと比較して、地下水の水質条件等に左右されずに有用な脱塩素化細菌を迅速に優占化する効果が高いことが明らかとなった。

5. おわりに

本試験により、ビール酵母を処理した食品添加物である「TM-B 剤」が、脱塩素化の促進させるためにこれまで用いられてきた一般的な有機資材より浄化効果が高いことを確認した。

今後、TM-B 剤が短期間に脱塩素化細菌を優占化できる要因について調べると共に、塩素化エチレン汚染サイトの浄化に本浄化剤を適用していく予定である。

参考文献

- 1) 環境省 水・大気環境局：平成 22 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，2012 年。
- 2) Maymó-Gatell, X., T. Anguish, and S. H. Zinder : Reductive dechlorination of chlorinated ethenes and 1,2-Dichloroethane by "*Dehalococcoides ethenogenes*" 195, Appl. Environ. Microbiol. , Vol.65, 3108-3113, 1999.
- 3) Hendrickson, E. R., J. A. Payne, R. M. Young, M. G. Starr, M. P. Perry, S. Fahnestock, D. E. Ellis, and R. C. Ebersole : Molecular analysis of *Dehalococcoides* 16S ribosomal DNA from chloroethene-contaminated sites throughout North America and Europe, Appl. Environ. Microbiol. Vol.68, p 485-495, 2002.
- 4) 伊藤雅子, 根岸昌範, 下村雅則, 高畑 陽, 樋口雄一, 有山元茂：嫌気性微生物による VOCs 浄化の最適有機物濃度の検討, 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演要旨集, p596-601, 2005.
- 5) 伊藤雅子, 根岸昌範, 高畑 陽, 有山元茂, 樋口雄一：有機資材供給による VOCs の浄化方法の検討, 第 12 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演要旨集, p 409-412, 2006.
- 6) 伊藤 雅子, 根岸 昌範, 高畑 陽, 樋口 雄一, 有山 元茂：揮発性有機塩素化合物汚染地盤の微生物浄化技術, 大成建設技術センター報第 40 号, 2007.
- 7) 伊藤雅子, 高畑陽：VOCs 適合性試験と遺伝子診断の関連について, 第 15 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演要旨集, p333-338, 2009.