

デハロカウンター™

～揮発性有機塩素化合物分解菌の検出技術～

Dehalocounter

～Volatile organic chlorine compound decomposing bacteria detection technology～

1 背景

テトラクロロエチレンやトリクロロエチレンなどの有機塩素化合物(以下、「VOC」という。)による土壌・地下水汚染は、汚染範囲が広域化する傾向にあります。従来型対策技術である掘削除去工法では高額な浄化費用を要することから、近年では経済的合理性に優れたバイオ浄化工法の普及が急速に進んでいます。

バイオ浄化工法は、土壌や地下水中に存在する分解微生物に対して栄養剤を注入して代謝を活性化させ、汚染物質を無害化する工法です。一方で、原地盤中の分解微生物の生息状況によっては、汚染物質の分解が困難、あるいは、無害な物質まで分解が進まない場合もありますが、バイオ浄化工法の適用性を事前に確認することで、浄化を確実に進めることが可能です。

当社では、バイオ浄化工法の事前適用性確認にあたり、現地土壌・地下水試料を用いた室内浄化試験や現地実証浄化試験による評価を行っています。こうした浄化試験では高精度の適用性評価が可能です。3か月程度の時間を要しますが、そこで、原地盤中の VOC 分解菌の生息状況を定量的に把握するこ

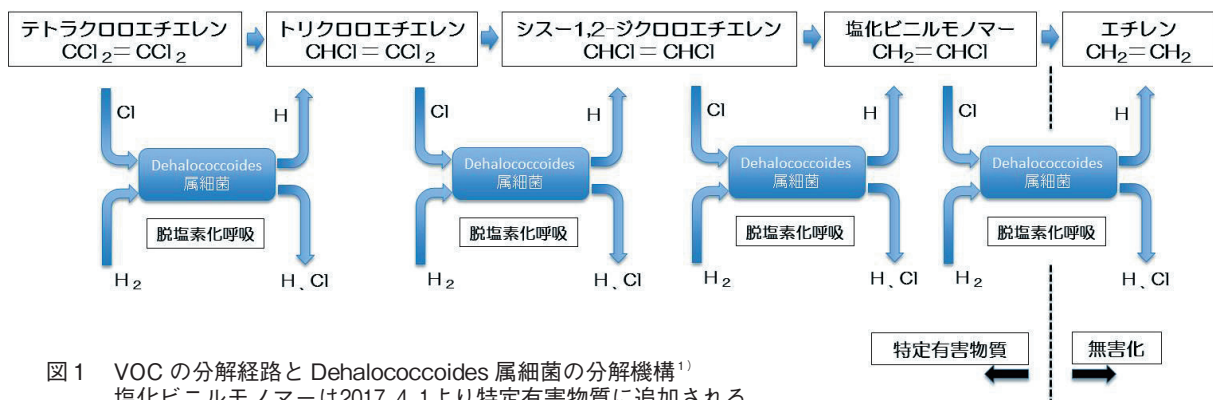
とで、より短期間で簡易にバイオ浄化工法への適用性を評価する取り組みを行っています。

2 デハロカウンターの特徴

VOC 分解菌としては Dehalococcoides 属細菌が最もよく知られています。Dehalococcoides 属細菌は VOC を呼吸に利用することで脱塩素化を行い無害化し(図1参照)、現在のところ VOC をエチレンまで無害化することを確認されている唯一の分解菌です。

原地盤中に極微量でも存在していれば、当社のバイオ浄化工法により100～1000倍程度まで増殖しながら VOC を分解し、確実な浄化が期待できます。

環境中の Dehalococcoides 属細菌の定量化では、採取した土壌や地下水試料をリアルタイム PCR 法(対象細菌のみが特異的にもつ遺伝子配列を PCR 法という遺伝子増幅法で増幅し、その過程をリアルタイムにモニタリングする方法)で分析する方法が一般的です。ただしこれまでは Dehalococcoides 属細菌が検出されない場合においてもバイオ浄化試験によって浄化が確認されることもあり、当社では定量化精度の向上に取り組んできました。



当社が保有する「デハロカウンター」は極微量の Dehalococcoides 属細菌を的確に捕捉し、高精度で検出する技術であり、以下の特徴を有します。

①分解菌採取の確実性

- Dehalococcoides 属細菌は特異な嫌気性細菌であり、試料採取時の取り扱いには注意を要します。当社では、これまでの多数の実績を元に採取機材や採取技術を最適化しており、確実に菌を採取することができます。

②高精度の分析手法の確立

当社では、リアルタイム PCR 法による分析の要素技術にも精度を高める工夫を凝らしています。

1) 前処理技術

- 分析作業の前処理に用いる各種薬品には夾雑 DNA の含有されていないものを用い、夾雑物による分析結果への影響を除外しています。
- 試料中に PCR 反応を阻害する物質が含まれる場合、遺伝子増幅効率が大幅に低下し定量値が低く見積もられます。当社では高い PCR 阻害物質除去能を有する(※各種市販キットと比較より)キットを用いており、分析を高精度に行うことができます。

2) QP 法によるリアルタイムモニタリング²⁾

- 分析作業には QP 法と呼ばれる方法を用います。QP 法では、PCR 法による増幅物に QProbe という蛍光標識プローブが結合します。増幅物に結合すると QProbe は蛍光消失するため、消光率を確認することで増幅状況をリアルタイムにモニタリングすることができます。PCR 反応による増幅が問題無く進んでいることを確認しながら分析できるために正確な定量が可能です(図2)。
- その他の検出方法は、非特異的増幅物も標識してしまい精度面での課題があるものや、2種の蛍光

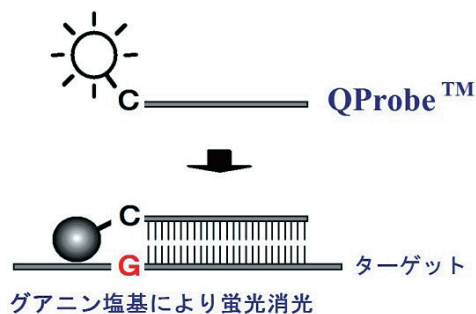
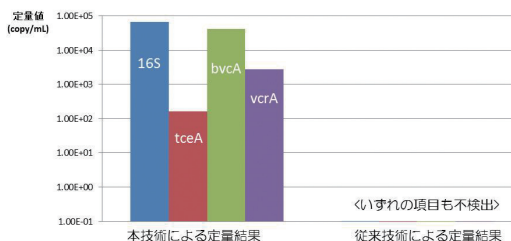


図2 QProbe の蛍光消失イメージ²⁾

色素が必要でありコストが高かったです。QP 法で用いる QProbe は特異的増幅物にのみ結合し、また、蛍光色素も1種類のみでありコストが安価であるという特徴も有しています。

③ 結果事例

バイオ浄化工法適用性評価の事例として、浄化実施前のサイトにおいて、本技術により採取・分析した結果と従来技術により採取・分析した定量結果の比較を図3に示します。当社技術では Dehalococcoides 属細菌が豊富に検出され、その後行ったバイオ浄化試験でも非常に良好な浄化効果が確認されており、本技術の高い精度を裏付けるものでした。



16S: Dehalococcoides 属細菌が普遍的に保有する遺伝子
tceA, vcrA: Dehalococcoides 属細菌が保有する VOC 分解酵素遺伝子

図3 検出結果事例

④ おわりに

VOC 分解菌を高精度で検出することで VOC 汚染サイトにおけるバイオ浄化工法の適用性評価の省力化、短工期化が可能となります。本技術がバイオ浄化工法のさらなる普及拡大の一助となれば幸いです。

参考文献

- 1) 水本正浩ら「土壌・地下水汚染の浄化技術」平田健正ら(2008)『土壌・地下水汚染の浄化および修復技術』エヌ・ティー・エス PP.60~61
- 2) 蔵田信也「蛍光消光現象を利用した複合微生物系解析技術」倉根隆一郎監修(2012)『バイオ活用による汚染・廃水の新処理法』シーエムシー出版 PP.56~64

お問い合わせ先

環境ソリューション事業部 環境修復推進部
担当：福永、樺島

TEL(03)6665-2840