

3P-133 対流および環境微生物を基とした水処理装置による新規水質浄化システムの効率

○花城 拓史, 吉田 有汰, Adhikari Dinesh, 向 真樹, 荒木 希和子, 久保 幹
(立命館大・生命科学)
kubo@sk.ritsumeiji.ac.jp

【背景と目的】水質は環境微生物の働きによってきれいな状態に保たれるが、水環境では溶存酸素の減少により、好気性微生物の減少・死滅が起こる。また、微生物と有機物との接触頻度が低く、流入した有機物が分解されずに堆積し、水質汚染を引き起こす。当研究室では微生物吸着担体を充填したカラムを用いて好気環境、嫌気環境を疑似的に再現し、流水ポンプと運動することで対流および環境微生物による物質循環を基とした水処理装置を作製した。本研究では、当研究室で作製した水処理装置による池の水および窒素過剰水槽への新規水質浄化システムの効果を検討した。

【方法と結果】滋賀県草津市にある北野新池より、水 200 L を採取し 2 週間の水質浄化を行った。また、窒素過剰水槽(200 L)については、金魚飼育で窒素濃度が上昇した水槽 2 つの内、片方の水槽のみに 20 日間の水質浄化を行なった。浄化後の水に対し、水質パラメーターとして化学的酸素要求量(COD)、全窒素量(TN)、全炭素量(TC)の測定を行い、水処理装置の効果を検討した。北野新池の水に 2 週間の水質浄化を行った結果、浄化前に比べて COD は 20.2 %、TC は 17.8 %、TN は 20.1 % 減少した。窒素過剰水槽では水質浄化から 20 日間で、未浄化水槽に比べ COD は 39.5 %、TN は 16.8 % 減少した。結果から、当研究室で作製した水処理装置を用いた新規水質浄化システムによって、環境微生物の増加、対流の発生による溶存酸素および微生物と流入有機物との接触頻度増加が効果的に行われ、水中の有機物分解および窒素除去を促進することが示唆された。

Efficiency of a new water treatment system based on the activation of environmental bacteria and water circulation

○Takui Hanashiro, Yuta Yoshida, Dinesh Adhikari, Masaki Mukai, Kiwako Araki, Motoki Kubo
(Coll. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)

Key words water purification

3P-134 ベトナムのヒ素汚染地下水の生物学的浄化技術の開発に関する研究

○黄 毅¹, 宮内 啓介¹, 井上 千弘², 遠藤 銀朗¹
(¹東北学院大・工, ²東北大院・環境)
nklocalcalking@mail.tohoku-gakuin.ac.jp

ベトナムのメコンデルタ地域では地下水が重要な生活用水または灌漑用水として利用されているが、この地下水には平均で約 500 ppb の高濃度のヒ素が含まれている。我々はベトナムのノンラム大学の協力を得て、亜硫酸酸化微生物とヒ素高蓄積植物のモエジマシダを用いて生物学的にヒ素汚染地下水を浄化するパイロットプラント実験を実施している。水質分析の結果、これらの地下水中にはヒ素だけではなく鉄も平均約 20 ppm の高い濃度が知られていることから、本研究の目的は、微生物による鉄酸化とヒ素酸化の共反応とその後の化学的共沈現象によってどの程度まで地下水中のヒ素を除去できるかを明らかにすることである。得られたパイロットプラント実験の結果より、地下水に含まれる亜硫酸酸化が不十分な場合には、約 700 ppb であったヒ素は鉄との共沈により 170 ppb 程度までしか浄化できないことが知られた。一方、初めから酸化されたヒ素として約 500 ppb のヒ素を添加して行った実験においては、第 2 鉄との共沈によりヒ素濃度が約 16 ppb まで低下することが知られた。さらに水耕栽培処理時間を 1.6 日と 3.2 日の 2 パターンに設定し、共沈処理後の残留ヒ素の現地で栽培されたモエジマシダの水耕栽培による吸収除去を検討したところ、それぞれヒ素濃度は 14 ppb と 12 ppb までに低減した。水耕栽培におけるモエジマシダの根の生長を十分なにしたかつ水耕栽培処理時間をさらに長く設定することによって、ヒ素濃度をベトナムにおける飲料水基準値の 10ppb 以下にまで浄化することが可能と考えられた。

Development of biotechnology for purification of arsenic- contaminated groundwater in Vietnam

○Yi Huang¹, Keisuke Miyauchi¹, Chihiro Inoue², Ginro Endo¹
(¹Fac. Eng., Tohoku Gakuin Univ., ²Grad. Sch. Environ. Stud. Tohoku Univ.)

Key words arsenic, groundwater, *Pteris vittata*, phytoremediation

3P-135 クロロエテン類完全脱塩素化能を有する *Dehalococcoides* 属細菌混合培養系の構築と解析

○岩田 和樹¹, 野島 良太¹, 福田 智美², 田村 紀義², 城間 安紀乃³, 下地 真紀子³, 照屋 邦子³, 佐藤 万仁³, 平野 隆^{3,4}, 養田 正文¹
(¹農工大院・工, ²PaGE Science, ³沖縄総合科学研, ⁴沖縄科学技術振興センター)
yohda@cc.tuat.ac.jp

【目的】クロロエテン類で汚染された土壌の浄化には、嫌気微生物の脱ハロゲン呼吸によるバイオレメディエーションが有効である。クロロエテン類をエテンまで完全に脱塩素化できる微生物は *Dehalococcoides* (*Dhc*) 属細菌のみである。特に、トリクロロエテン(TCE)やテトラクロロエテン(PCE)を完全に脱塩素化可能な *Dhc* 属細菌は限られている。本研究では、PCE 及び TCE を完全に脱塩素化できる *Dhc* 属細菌混合培養系の構築し、解析を行った。

【方法】バイアルに、土壌サンプルとクロロエテンを含む培地を加え、気相に水素を添加し培養した。脱塩素化をガスクロマトグラフィーにより測定した。脱塩素化確認後、継代を行い、培養液から抽出したメタゲノムを定量 PCR (qPCR) や次世代シーケンサー(NGS)などで解析した。

【結果・考察】TCE の分解が確認された培養系のメタゲノムを qPCR と NGS で解析したところ、*D. mccartyi* BTF08 と高い相同性を有する新規の *Dhc* 属細菌の存在が示された。*D. mccartyi* BTF08 の TceA 及び VcrA の他に PceA の存在が確認されたことから、PCE 存在下で培養したところ、PCE 分解能も確認した。この培養系には 1 種類の *Dhc* 属細菌が存在することから、本菌が単独で PCE 完全脱塩素化能を有すると考えている。

Construction and characterization of *Dehalococcoides*-containing mixed culture that dechlorinate chloroethenes

○Kazuki Iwata¹, Ryota Nojima¹, tomomi Fukuda², Noriyoshi Tamura², Akino Shiroma³, Makiko Shimoji³, Kuniko Teruya³, Kazuhito Satou³, Takashi Hirano^{3,4}, Masafumi Yohda¹
(¹Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol., ²PaGE Science, ³OARIS, ⁴Okinawa Sci. Technol. Promotion Center)

Key words bioremediation, Chlorinated ethenes, Reductive Dehalogenase, *Dehalococcoides*

3P-136 六価クロム還元細菌 *Flexivirga alba* ST13 株の RISA 法による追跡

○池上 健仁, 杉山 友康
(東京工科大院・バイオニクス)
tsugiyama@bs.teu.ac.jp

【はじめに】我々の研究室が発見した新規六価クロム還元細菌 *Flexivirga alba* ST13 株は高い金属還元作用を持ち、六価クロム汚染浄化への利用が考えられている。一方、実際に微生物を使った環境浄化を実施する際には利用微生物による生態系への影響をモニタリングしなくてはならない。そこで我々は 16SrDNA と 23SrDNA の間の保存性の高い塩基配列を利用した PCR 解析法である RISA(Ribosomal intergenic spacer analysis)を研究に導入し、微生物叢のモニタリングと特定微生物の追跡を試みた。本研究の目的は RISA 法を用いて土中微生物叢をプロファイルするとともに、投下した ST13 株の追跡法を確立することである。【方法】[DNA 抽出]土壌サンプルについては以下のプロトコルで抽出した。2 ml チューブに土壌サンプル 0.1 g、破砕用金属塊一粒を入れ液体窒素により十分に冷却した後、SK ミル(Tokken, Inc.)を用いて凍結破砕した。破砕サンプル 0.3 g あたりに対し DNA 抽出用溶液 0.5 ml(Tris 0.5 M, EDTA 0.1 M, NaCl 0.1 M, SDS 2%, Skim milk 2.4 mg)と 300 mM リン酸ナトリウム緩衝液 0.5 ml を加え、ボルテックスし DNA を抽出、イソプロパノールにより粗精製した。その後シリカカラムを用いて精製を行った。[RISA-PCR]プライマーは 1392f / 23Sr(forward / reverse)を用いた。プログラムは 94 °C 5 min, 35 cycle(94 °C 1 min, 59 °C 1 min, 72 °C 2 min), 72 °C 10 min, 4 °C、反応液には BSA0.5 mg / ml を添加し PCR を行った。【結果】凍結破砕と界面活性剤による DNA 直接抽出法で土(東京工科大敷地)0.1 g に対して 100 ng 程度の DNA が抽出された。RISA-PCR により ST13 株のバンドは 680 bp 位置に現れ、土壌微生物の増幅産物は 300 bp から 900 bp の間に現れた。

Tracing the *Flexivirga alba* ST13 by using Ribosomal Intergenic Spacer analysis.

○Kent Ikegami, Tomoyasu Sugiyama
(Grad. Sch. Bionics., Tokyo Univ. Technol.)

Key words PCR, 16S-23S rDNA, hexavalent chromium