

微生物などを活用した土壌・地下水汚染の浄化法 (テララーメイドバイオレメディエーションの進め)

岐阜大学工学部
佐藤 健

背景

汚染可能性個所: 44万ヶ所

調査修復費用: 13兆3千億円 (住友海上リスク総研)

土地の資産保全: 汚染土地の価値下落
(景気後退による所有不動産の売買・流動化)

平成15年2月「土壤汚染対策法」施行

現状・課題:

土壤・地下水環境のリスク増加
高額な修復費用(設備、運転、工事費)
最終処分場の逼迫化
不動産売買の阻害要因

テーマ設定

環境修復技術

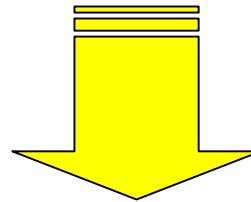
汚染物質	土壌	地下水
重金属汚染	掘削置換、不溶化、洗浄法	揚水処理、遮水法
有機化合物汚染	掘削置換、吸引法、加熱法 鉄粉還元法、微生物法	揚水処理、遮水法 鉄粉還元法、微生物法

微生物法：海外で実績、日本での浄化実績少ない

理由：世論の評価、安全性広報の欠如、修復技術に対する信頼性

汚染地盤の地盤環境に対応した浄化手法が未確立

低コスト、低ランニングコスト
効果の促進と持続



微生物浄化法の
テーラーメイド化

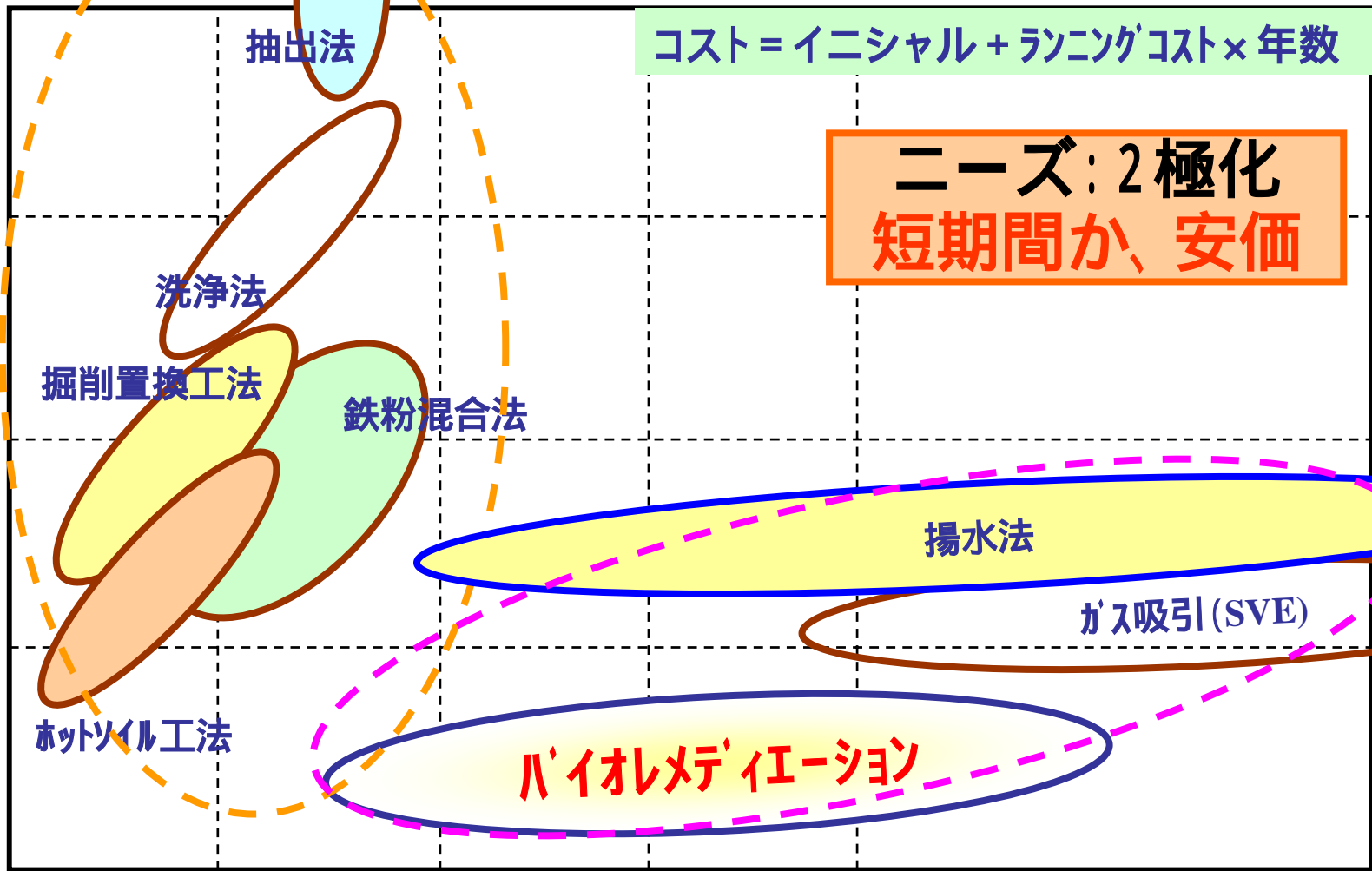
浄化工法のトレンド

処理単価: 万円/ton

10

$$\text{コスト} = \text{イニシャル} + \text{ランニングコスト} \times \text{年数}$$

ニーズ: 2極化
短期間か、安価

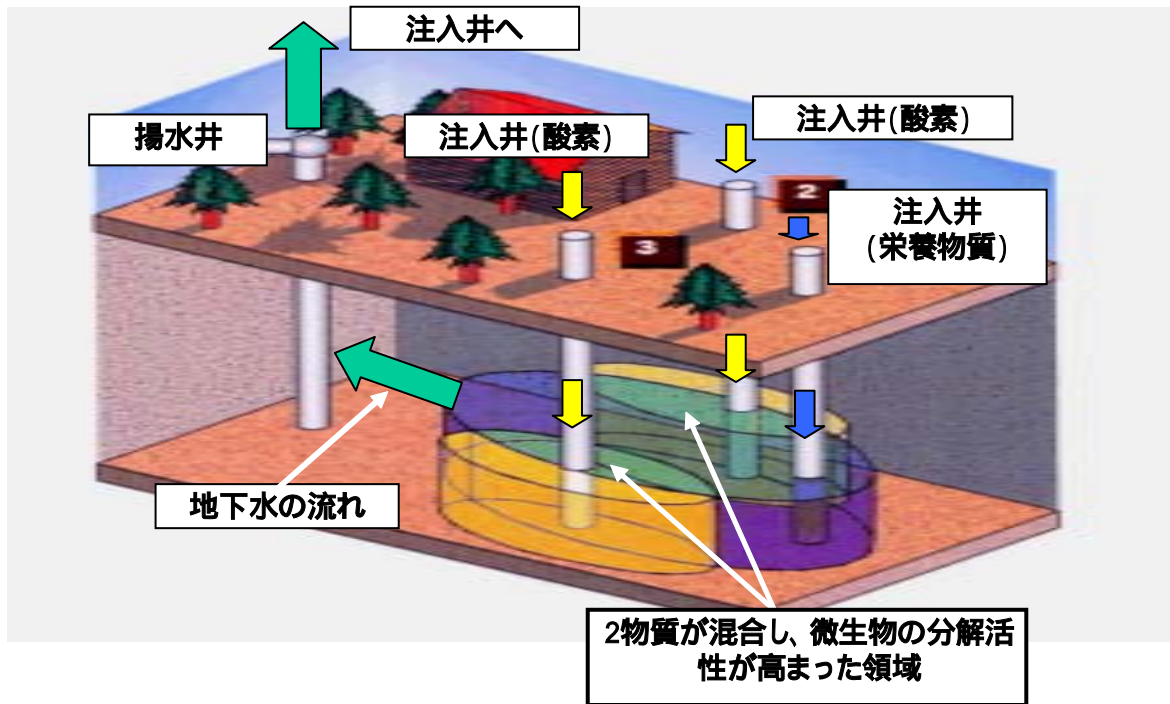


1年

2年

処理時間

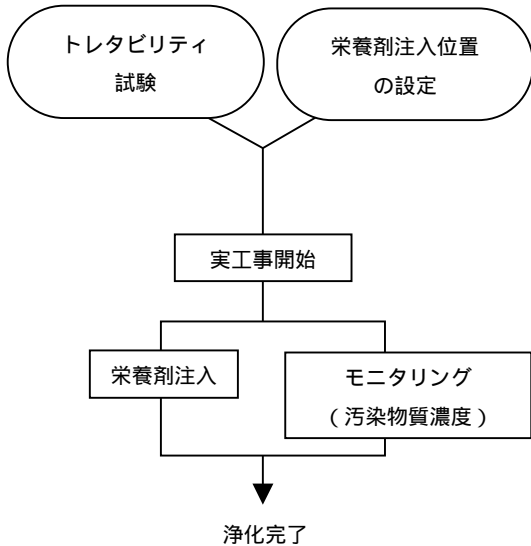
VOC: 時間も早く、安価・安全なバイオレメディエーションに期待



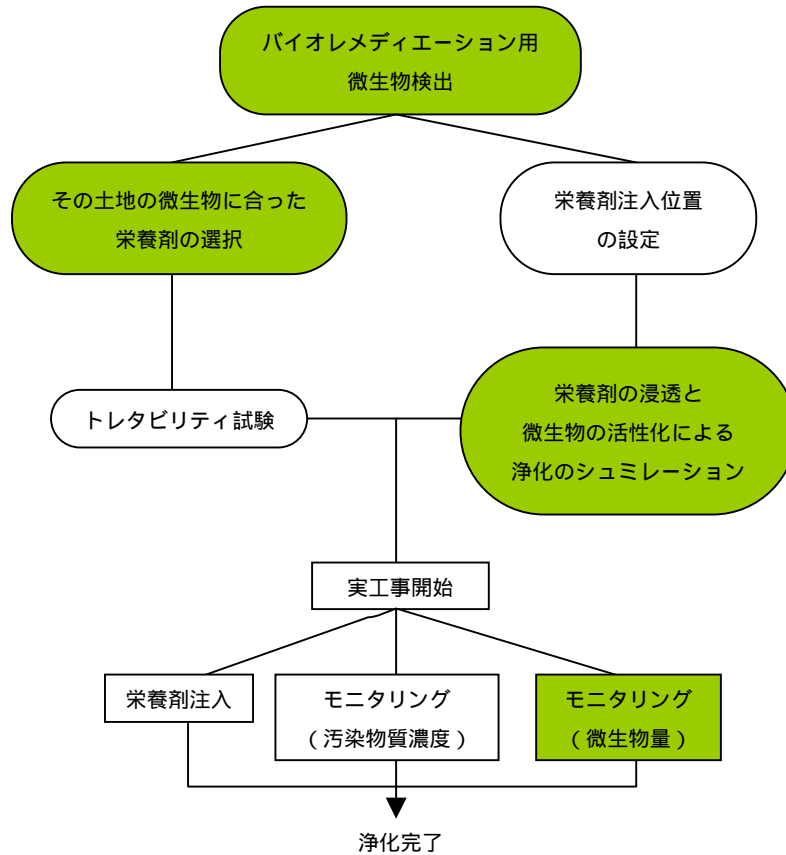
(1) 原位置バイオスティミュレーションの概念図

バイオレメディエーション（生物処理）における技術内容比較

一般的な栄養剤注入型バイオレメディエーション



（テラーメイドバイオレメディエーション）



前処理

実サイトから土壌または地下水を採取し、DNA抽出キットを使用してDNAを抽出します。



ボーリングによる土壌採取



地下水採取



DNA抽出キット



DNA抽出作業

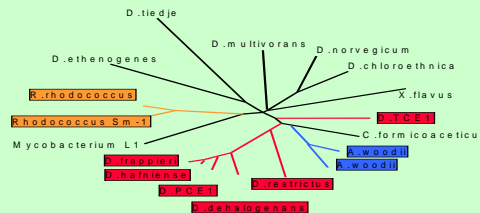
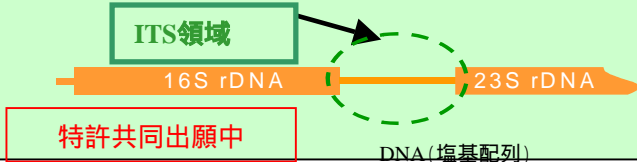


DNAを抽出した試料

抽出したDNAと同定したい微生物のDNA(標準液)を混合します

従来は16SrDNAを使用して

微生物の種を判別していましたが、PCEを分解できない近縁種との区別ができませんでした。しかし、ITS領域を使用することによって高い精度で判別することができるようになりました。

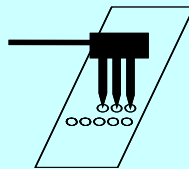


VOCを分解する嫌気性微生物

- Desulfotobacterium frappieri B
- Desulfotobacterium hafniense I
- Desulfotobacterium dehalogenans H
- Desulfotobacterium sp. strain PCE1 N
- Desulfotobacterium frappieri TCE1 O
- Desulfomonile tiedjei DCB-1 Q
- Desulfuromonas chloroethenica K
- Dehalobacter restrictus M
- Dehalospirillum multivorans A
- Desulfomicrobium norvegicum G
- Clostridium formicoaceticum J
- Acetobacterium woodii L
- Acetobacterium woodii P
- Rhodococcus sp. Sm-1 C
- Rhodococcus rhodococcus D

混合液をチップにスポットします

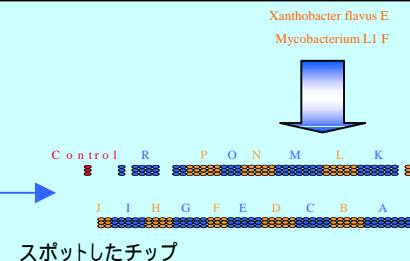
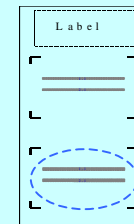
チップに多種類の微生物種のDNAをスポットできるため同時に微生物を同定することができます。



スポッティングイメージ



Affymetrix417でスポッティング

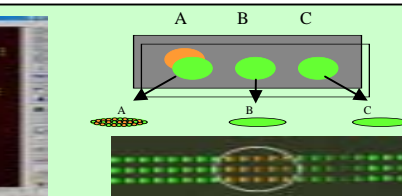
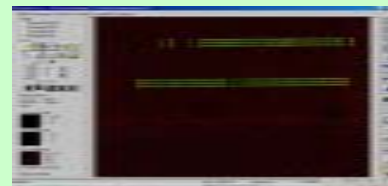


チップをスキャンします

同定したい微生物のDNA(標準液) **緑**
 サンプルの抽出したDNAと一致した時 **赤**
 に蛍光します。

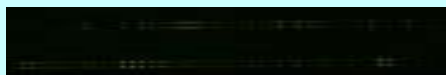


Scanarray ver.5でスキャン

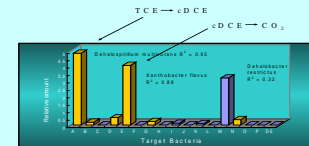


データの解析をします

コンピューターで自動解析を行い、微生物の判定を行います。

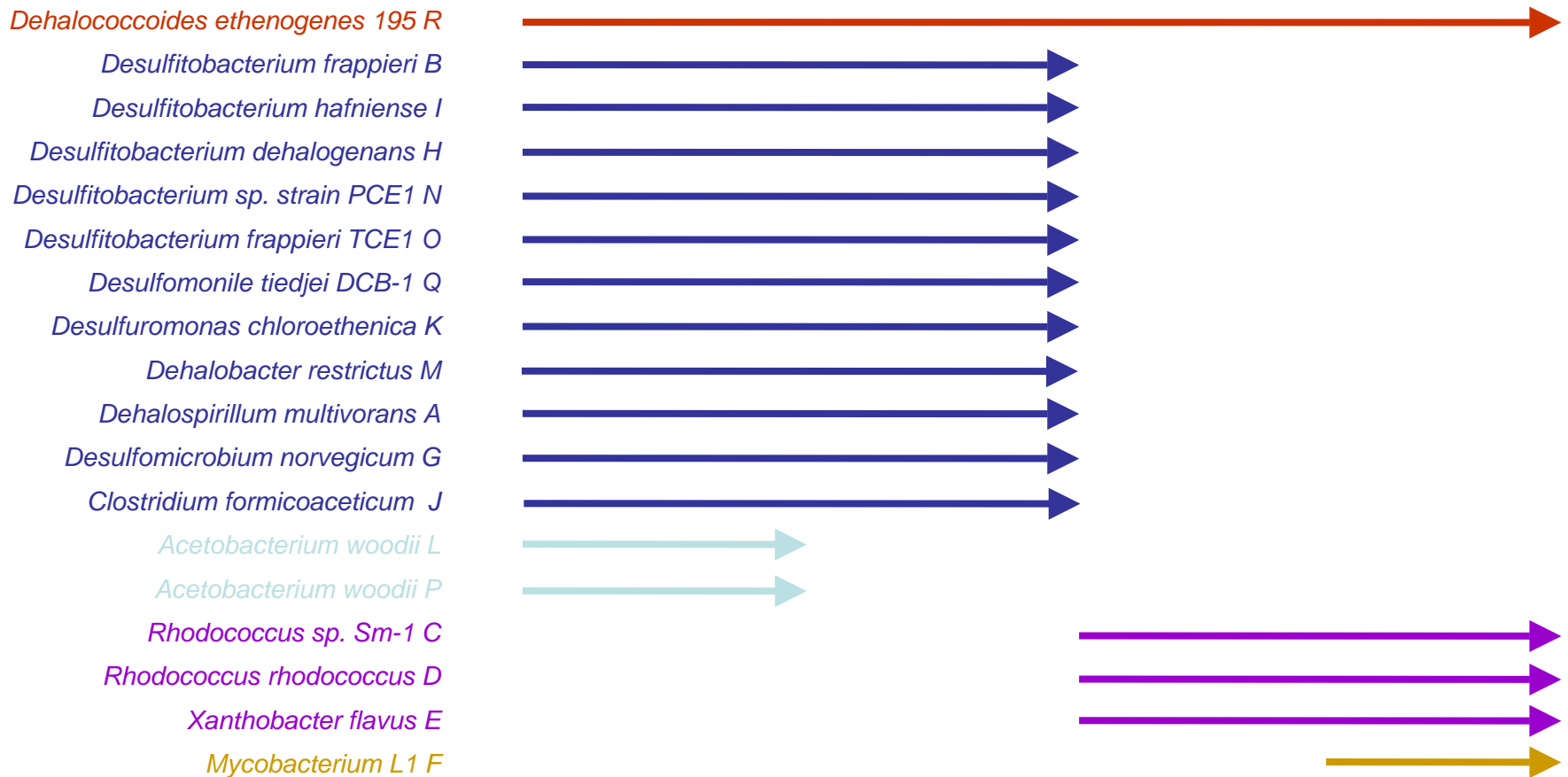
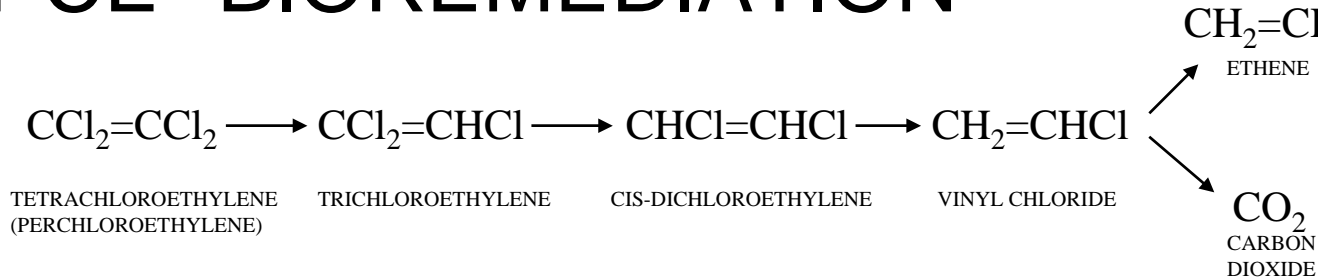


スクリーン画像



解析結果

BACTERIA ASSOCIATED WITH PCE BIOREMEDIATION



PCE汚染現場でのケーススタディー

Microarray Analysis of Soil and Groundwater Bacteria

Relative Bacterial Amount

2.5

2

1.5

1

0.5

0

A

B

C

D

E

F

G

H

I

J

K

L

M

N

O

P

Q

Bacteria

Soil Down

Soil Up

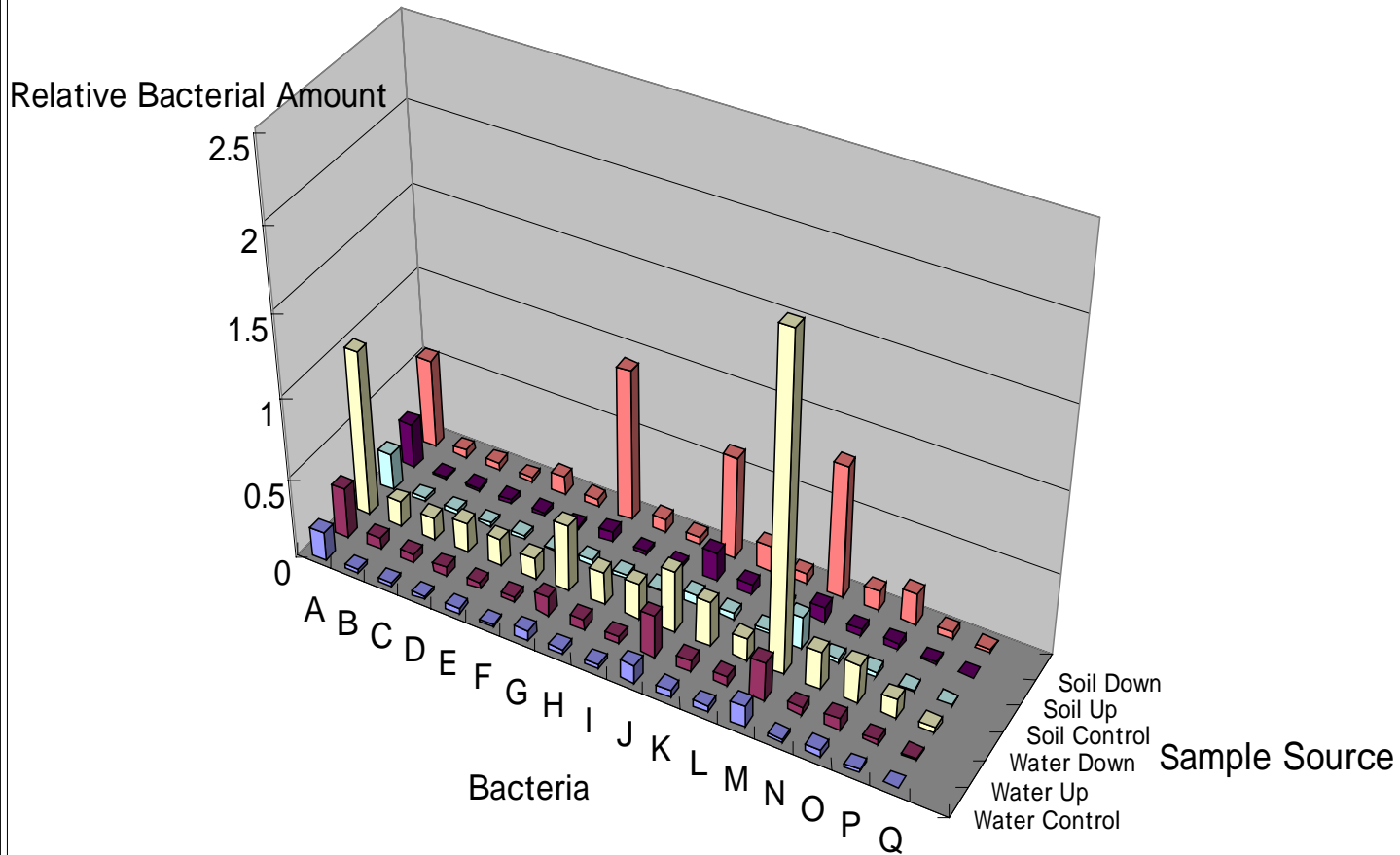
Soil Control

Water Down

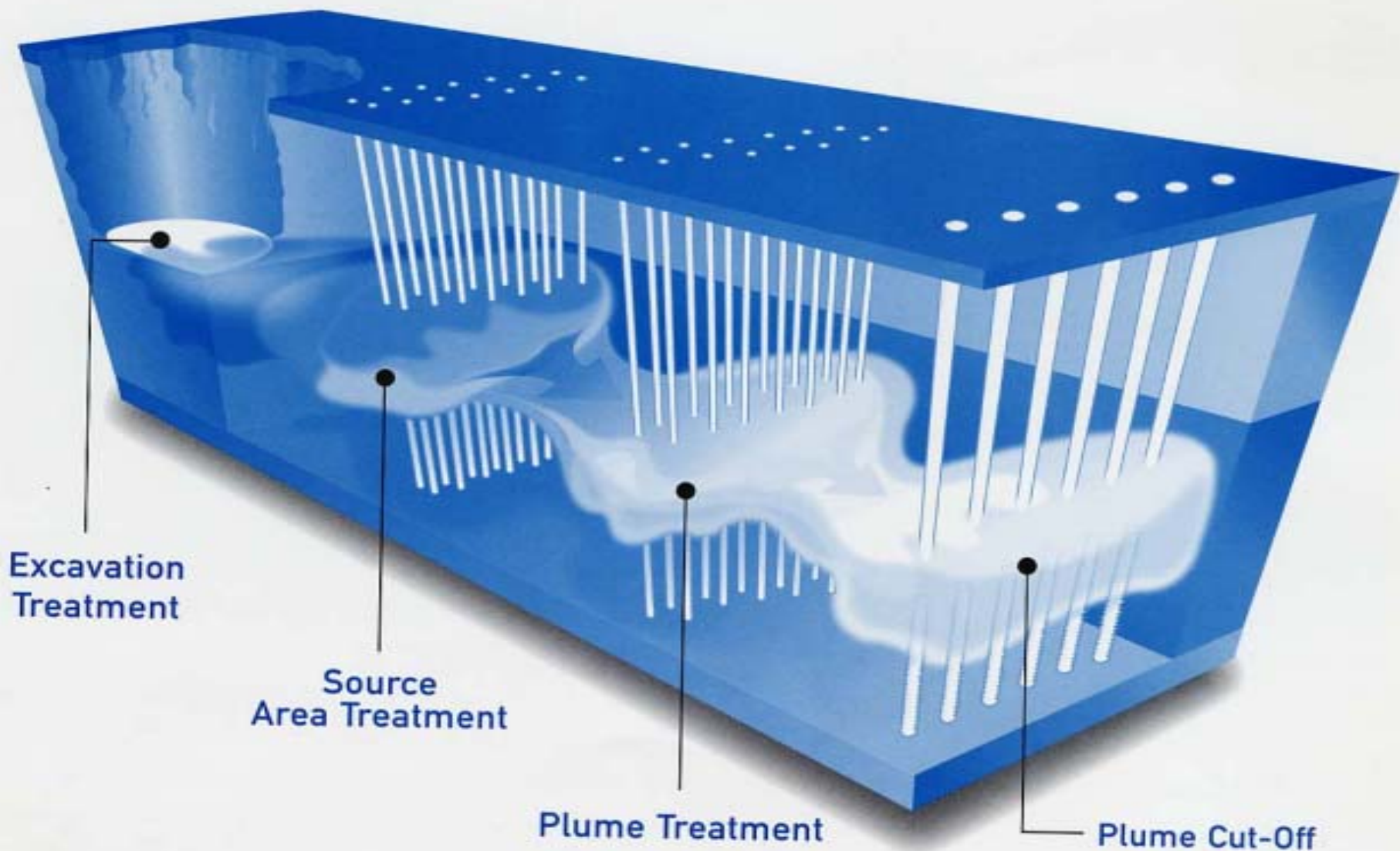
Water Up

Water Control

Sample Source

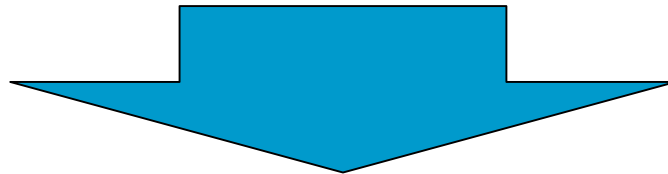


HRC Applications are Flexible and Can Be Designed to Meet a Variety of Objectives:



工学的な課題

テラーメイドバイオレメディエーションを
有効な浄化技術として確立する



微生物の動態を知る



嫌気性微生物 *Clostridium bifermentans* DPH-1株を
用いて、室内実験を行った

目的

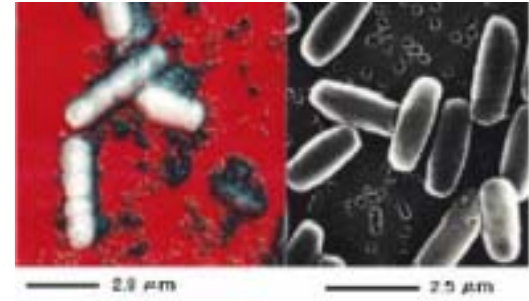
近年、有機塩素化合物(テトラクロロエチレン(PCE)、トリクロロエチレン(TCE))による土壌・地下水汚染が問題 日本では、1000ヶ所以上報告



微生物の汚染物質分解機能を利用した
バイオレメディエーション(Bioremediation)技術が最近注目されている



嫌気性微生物 *Clostridium bifermentans* DPH-1株
用いて、室内実験を行った



Clostridium bifermentans DPH-1株

	土粒子密度 g/cm ³	粒径範囲 mm	平均粒径 d ₅₀ mm	全細孔体積 cm ³ /g	全細孔表面積 m ² /g	平均細孔直径 μm
豊浦砂	2.65	0.075-2.0	0.19	-	0.34	-
セラミックビーズ	3.40 (2.0)	4.8	4.8	-	0.1	90.0
セラミック炭 Fe0%	2.23 (1.42)	直径: 4.0-5.0 長さ: 5.0-24.0	直径: 4.5 長さ: 15.0	0.257	11.0	0.0932
セラミック炭 Fe25%	2.53 (1.44)			0.300	7.9	0.1520
セラミック炭 Fe50%	3.23 (1.70)			0.279	2.4	0.4652

()の値はかさ密度

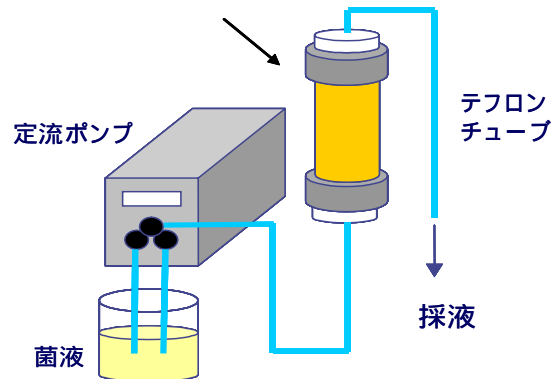
実験方法

試料 : 豊浦砂
: セラミックビーズ
: セラミック炭 Fe0%, 25%, 50%

振とう機を用いて
室温、振とう回数**80回/min**
6時間バッチ振とう

- 振とう後、菌液濃度を測定し振とう後の菌液濃度とコントロール濃度との差より吸着量を算出。
- 菌液濃度は**Bradford法**を用いて吸光度から、タンパク質量として求める。

ガラスカラム
長さ 104 mm
内径 20 mm



実験方法

カラムに試料を飽和状態となるように充填する

定流量ポンプによりカラム下端から蒸留水を流入させる

菌液に切り替える

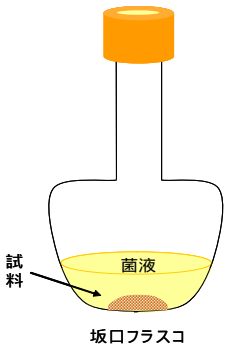
流出水のサンプルを採液

蒸留水に切り替える

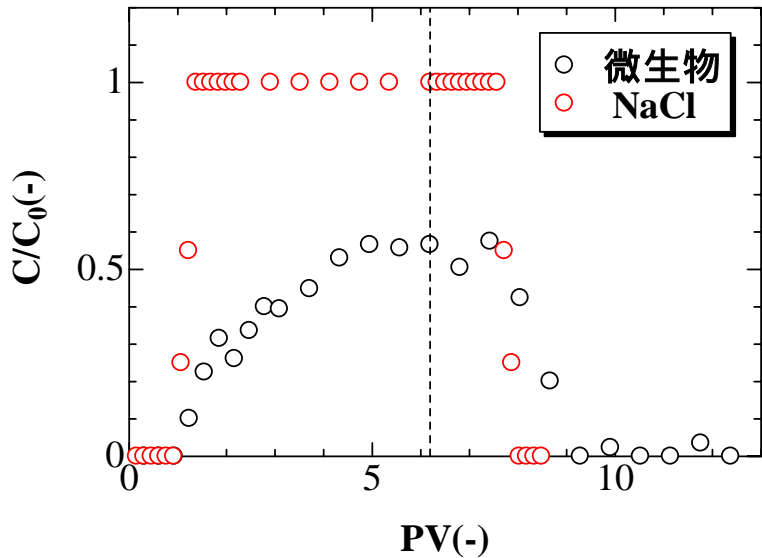
流出水のサンプルを採液

採液終了

原液および流出サンプルの菌体濃度を測定する

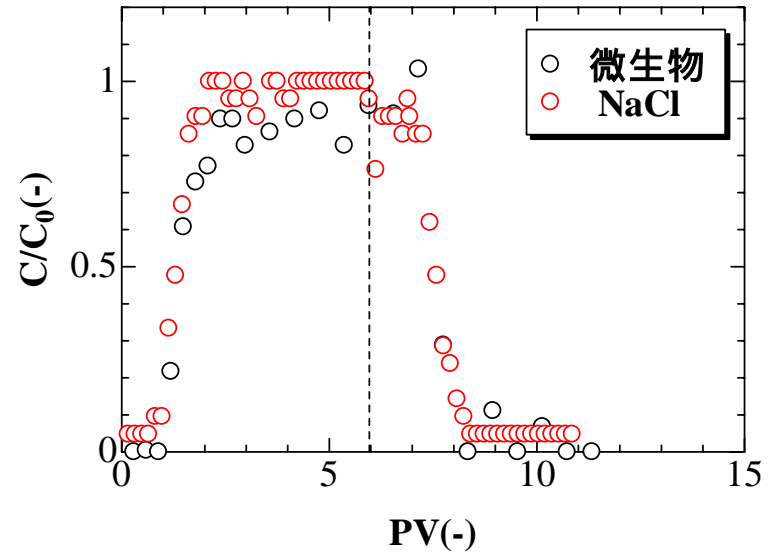


微生物と可溶性物質(NaCl)の比較 (豊浦砂)



微生物とNaClの比較 (豊浦砂)

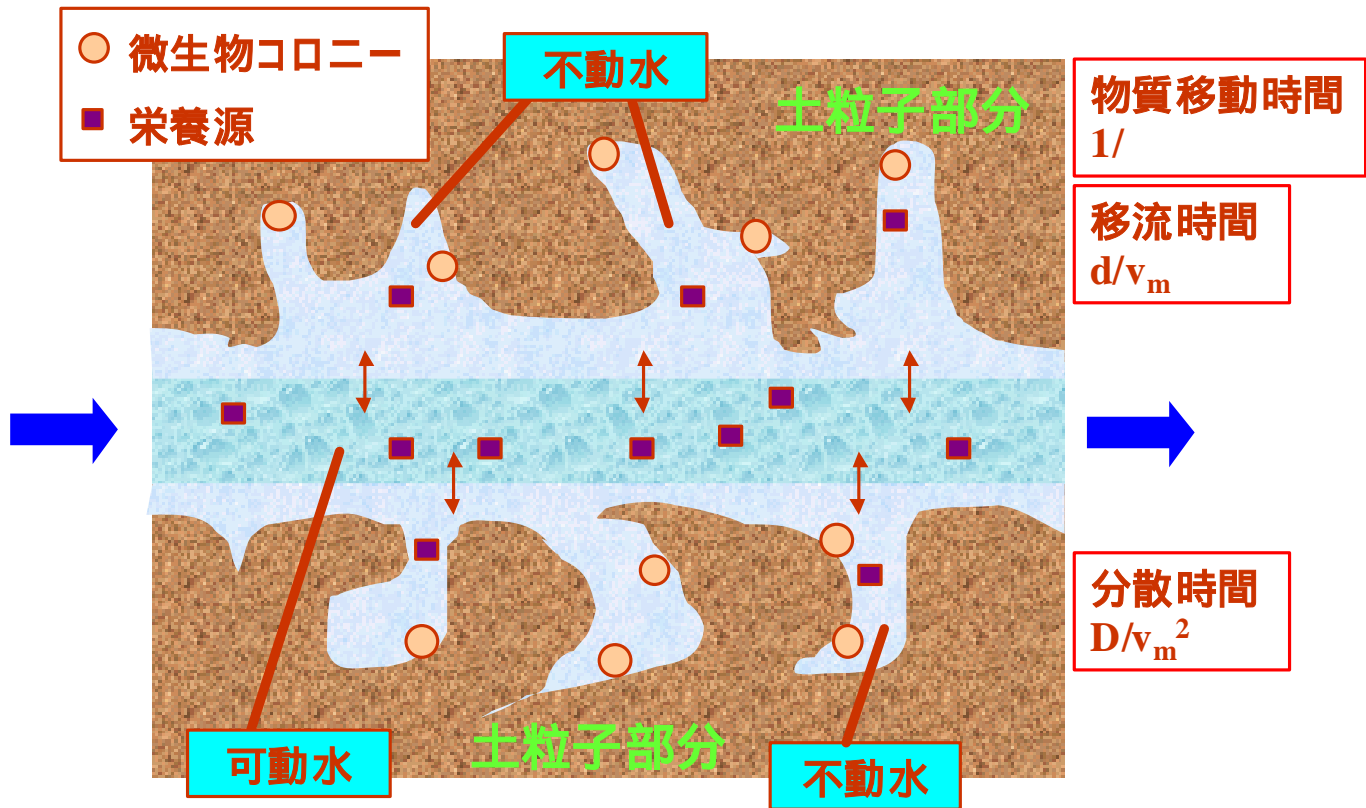
ダルシー流速 $q = 0.318$ (cm/min)
 原液濃度 $C_0 = 20.394$ (mg protein/l)



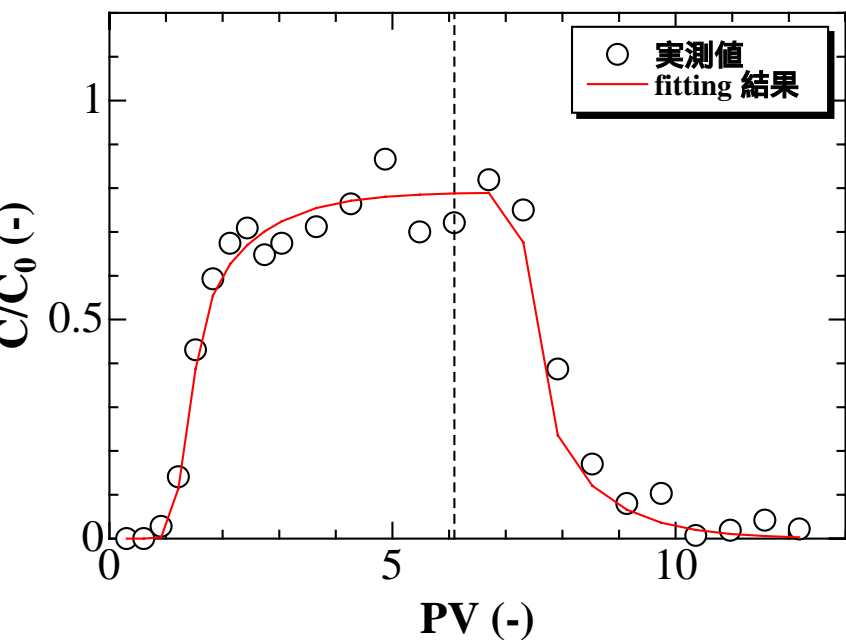
微生物とNaClの比較 (豊浦砂)

ダルシー流速 $q = 1.592$ (cm/min)
 原液濃度 $C_0 = 8.667$ (mg protein/l)

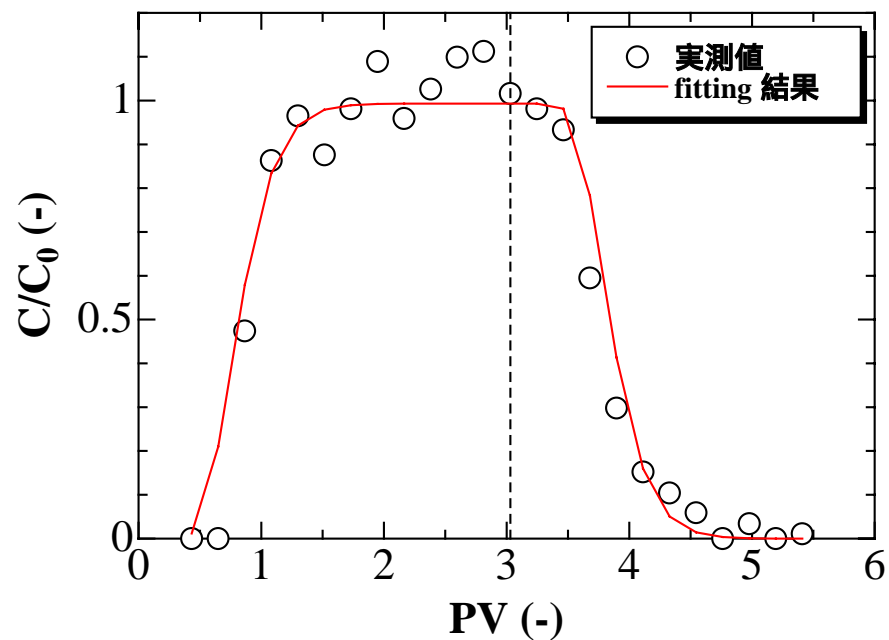
クロストリジュームの土中移動モデル



カーブフィッティング結果

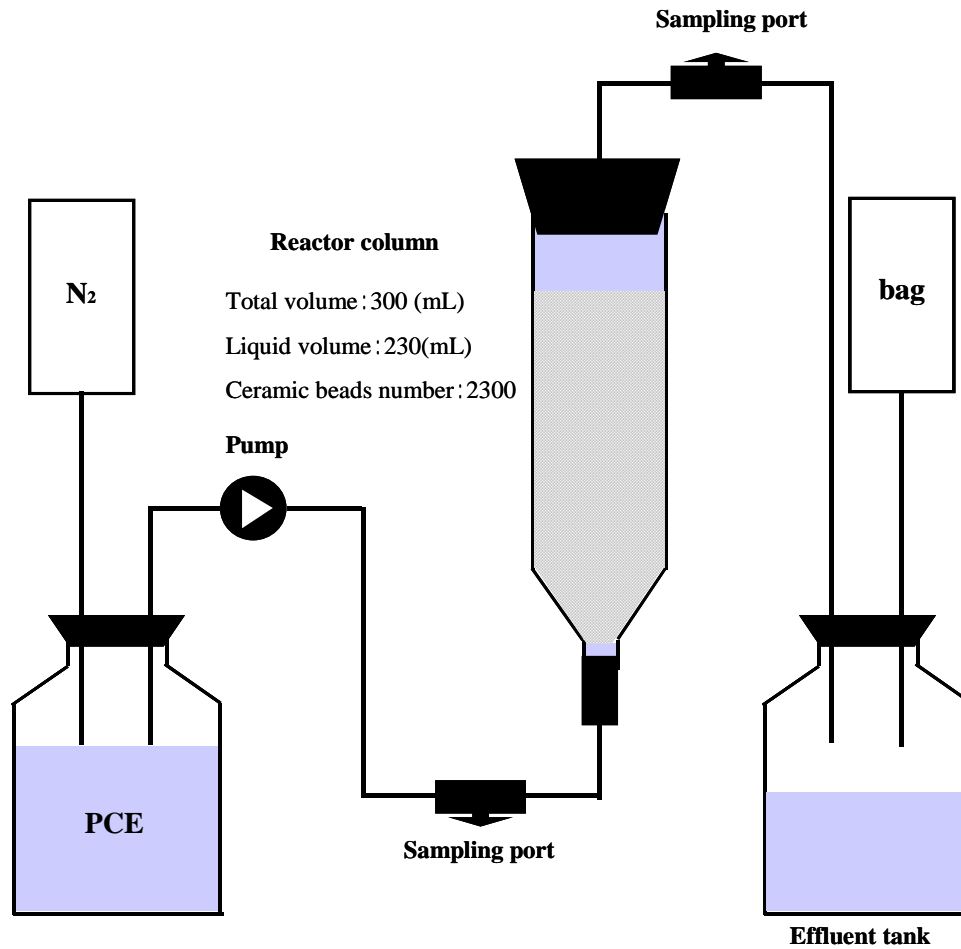


カーブフィッティング結果 (豊浦砂)
 $C_0=21.21$ (mg protein/l) , $q=1.592$ (cm/min)

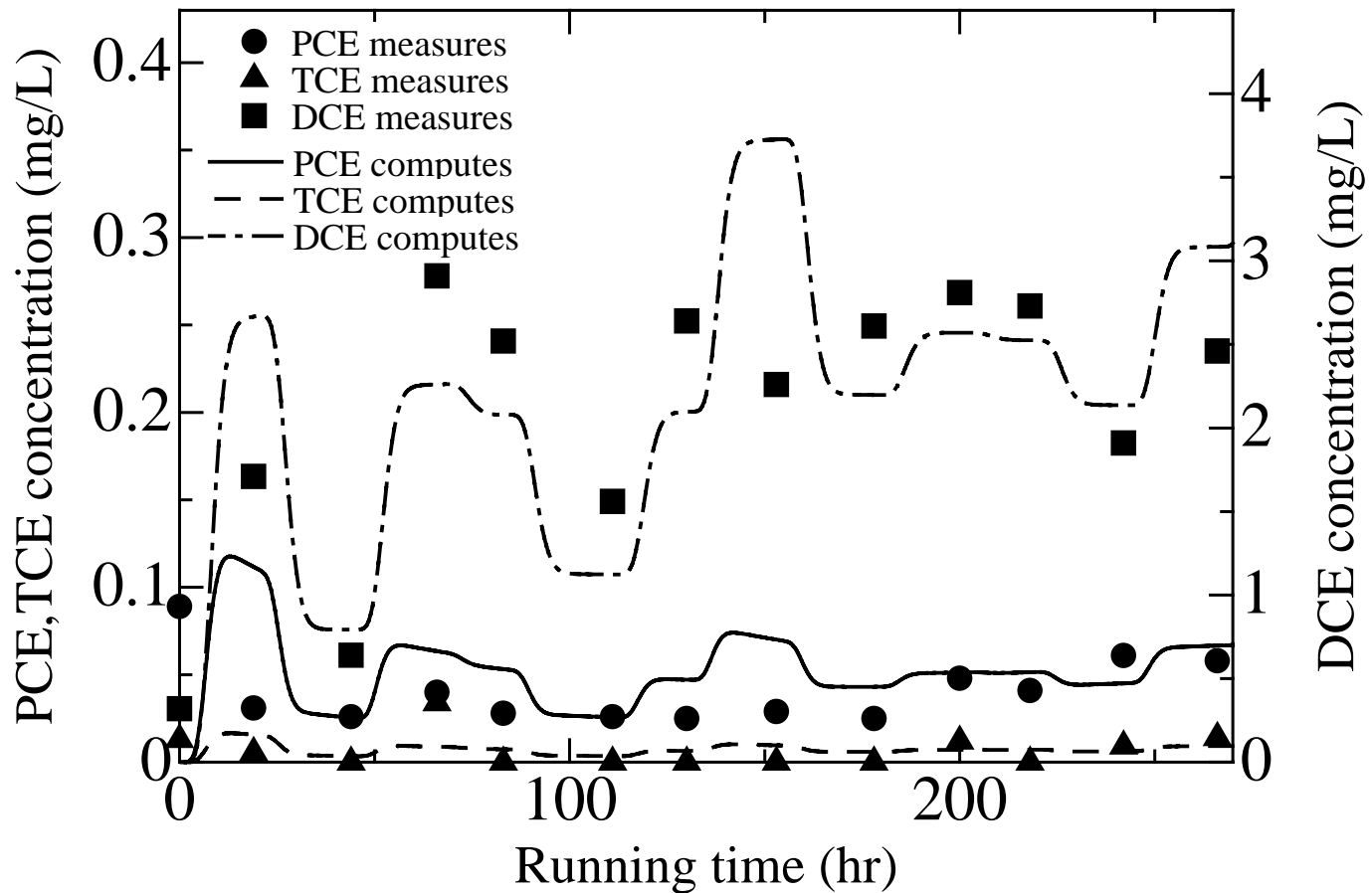


カーブフィッティング結果 (セラミック炭)
 $C_0=19.29$ (mg protein/l) , $q=1.592$ (cm/min)

Fixed-bed reactor system

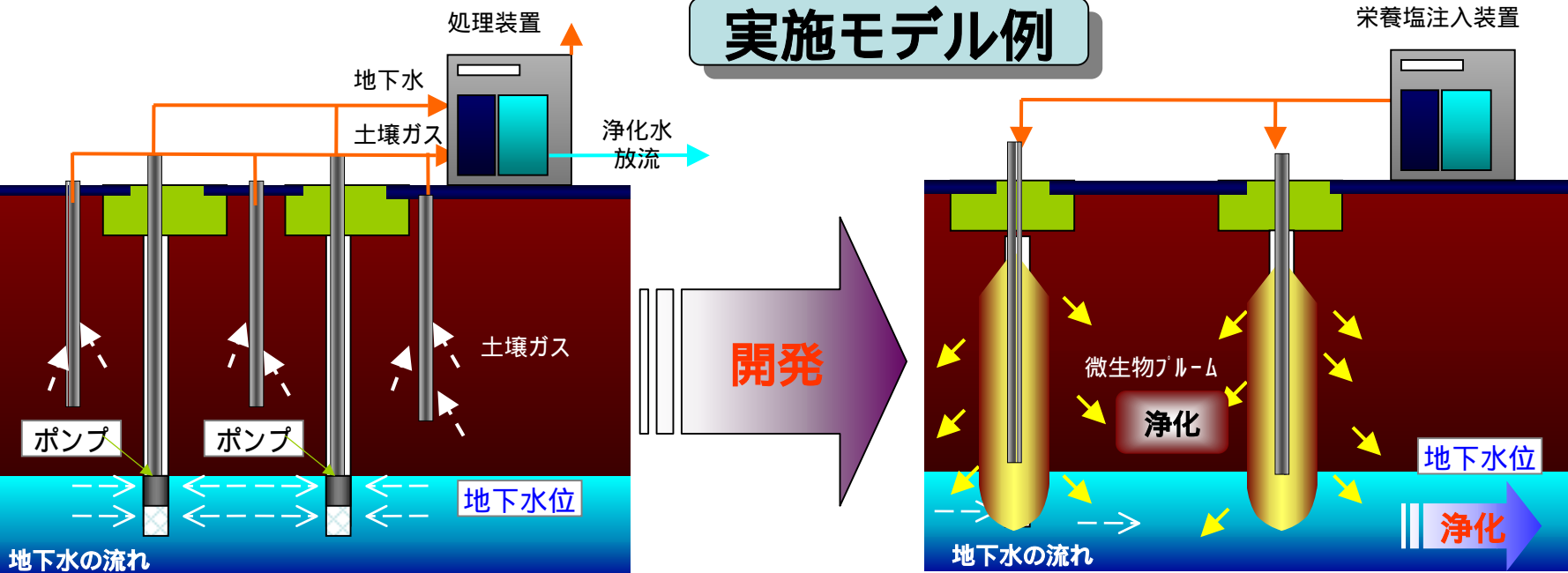


Simulation of PCE dechlorination in bioreactor



自然浄化機能を活用した環境修復のシステム開発

実施モデル例



従来例

課題点

1. 環境影響・負荷大
2. 修復に長期間
3. 制約条件が多い

- ・マイクロアレーの開発
- ・栄養塩の開発
- ・井戸最適配置設計
- ・地下水流動解析
- ・統合修復ソフト開発
- ・ビジネスモデル開発

新技術例

特徴

1. 環境負荷低減型
2. 自然浄化機能の利用
3. 土地の有効利用

研究成果還元スキーム

情報

- ・汚染情報(物質、範囲)
- ・微生物相の検出、DNA解析
- ・マイクロチップの使用
- ・土質物性データ
- ・地下水流動データ
- ・溶解、共存物質データ
- ・浄化サイト情報
(建築物、地下構造物)
- ・その他条件
(浄化期間、サイト特有)

INPUT

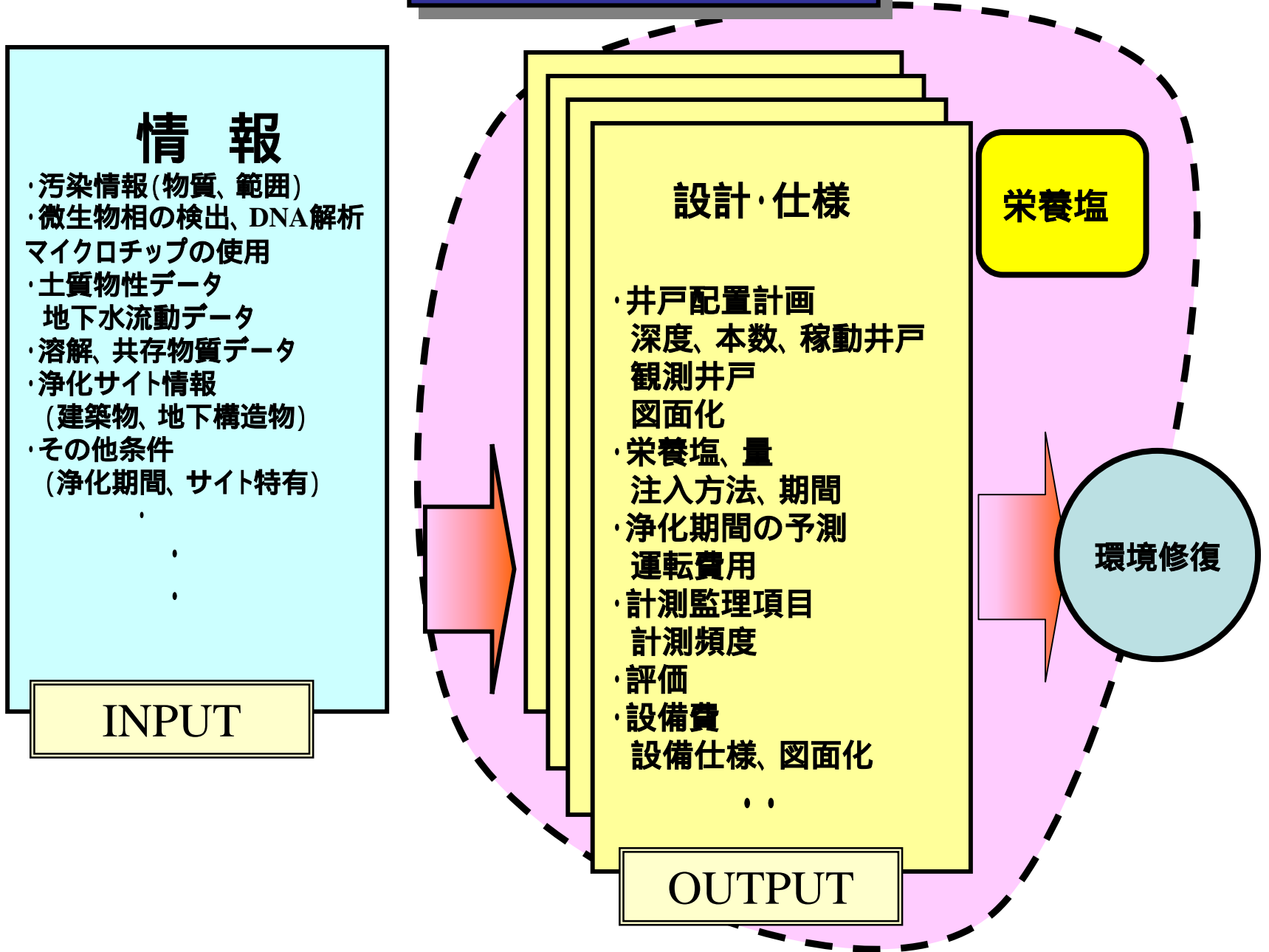
設計・仕様

- ・井戸配置計画
深度、本数、稼動井戸
観測井戸
図面化
- ・栄養塩、量
注入方法、期間
- ・浄化期間の予測
運転費用
- ・計測監理項目
計測頻度
- ・評価
- ・設備費
設備仕様、図面化

OUTPUT

栄養塩

環境修復



バイオマスを活用する環境修復

A)

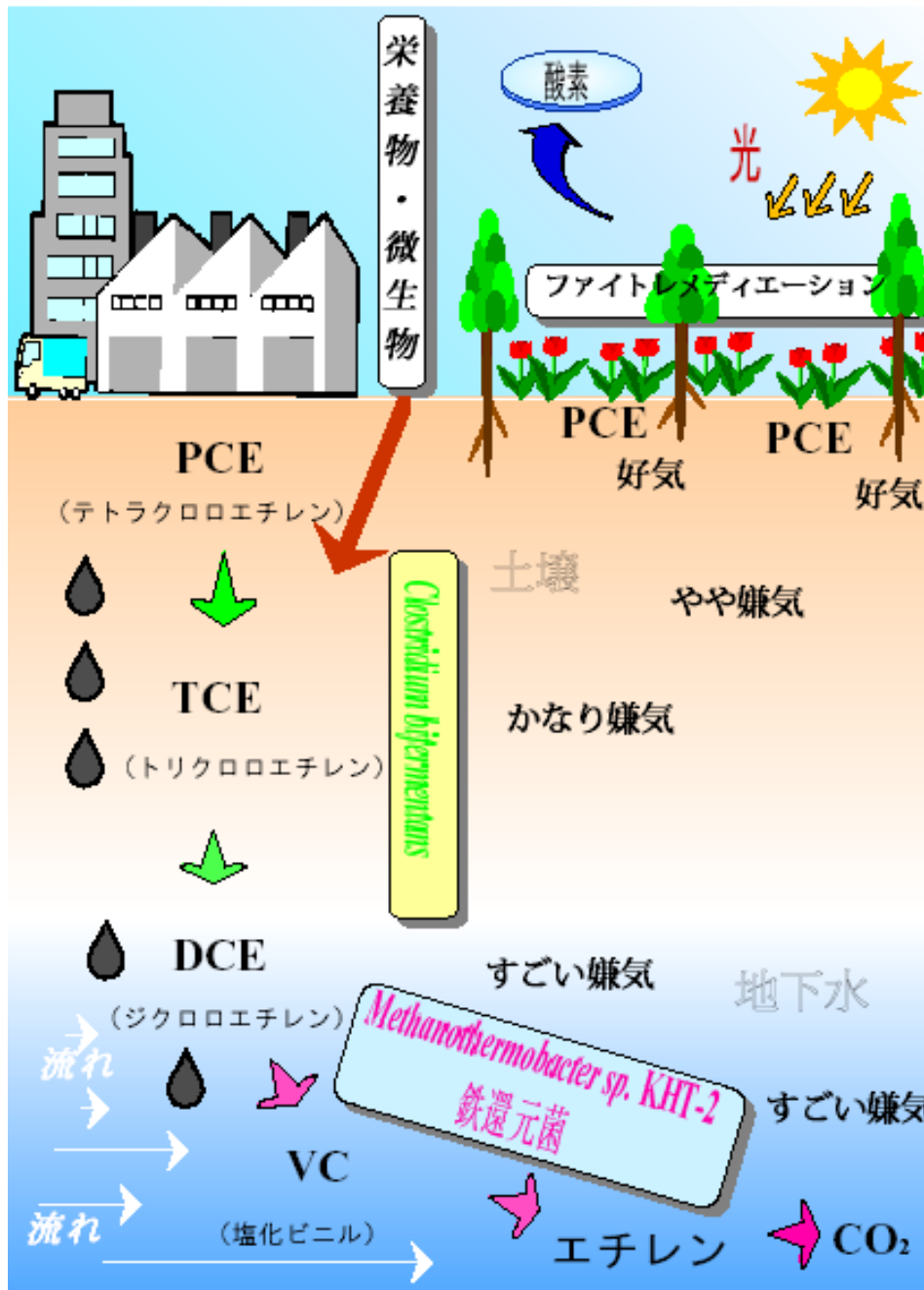


2.0 μm

B)



2.5 μm



技術(実務)セミナー開催のお知らせ

日時：平成17年2月24日(木) 13:30～15:00
場所：西濃総合庁舎 5F 大会議室 (大垣市江崎町422-3)
参加費： 無料

第1部]

土壤・地下水汚染の調査方法について

講師：(財)東海技術センター 小島 淳一 氏

【第2部】

土壤・地下水浄化対策について

講師：松下環境空調エンジニアリング(株) 伊藤 善孝 氏

会員の皆様はもとより、一般の方々の参加も受け付けております。
企業にお勤めのISO担当者の方々などにご理解いただける内容となっております。

参加の申し込みはメールにて承ります。

E-mail:npokgk@cc.gifu-u.ac.jp