複数のシアン化合物汚染地下水を用いた微生物浄化特性の比較検討

大成建設株式会社 土木技術研究所 正会員 〇高畑 陽

大成建設株式会社 土木技術研究所 正会員 片山 美津瑠

大成建設株式会社 土木技術研究所 正会員 帆秋 利洋

大成建設株式会社 土木技術研究所 正会員 藤原 靖

1. 研究の背景および目的

シアン化合物は生物に対して毒性が高く、土壌汚染対策法では第二種規制物質に分類されている。シアン化合物は水溶性が高く、帯水層深部に浸透しやすい性質があるため、広範囲に拡散したシアン汚染地下水に対する浄化対策として原位置(非掘削)浄化工法の適用性が高いと考えられる。一方、シアン汚染地下水の原位置浄化工法として用いられてきた揚水処理法は、浄化効率の低下による浄化期間の長期化が問題となっている。シアン化合物は他の重金属類とは異なり、微生物による分解を受けることが知られている¹⁾²⁾。そのため、コストおよび環境負荷が小さいシアン化合物を対象とした原位置バイオレメディエーション技術の適用が期待される。筆者らは、実汚染サイトでのバイオスティミュレーションによるシアン化合物の減少を確認し³⁾、シアン浄化菌の同定や⁴⁾、浄化促進助剤の添加の効果⁵⁾について検討してきた。一方、シアン化合物の汚染形態別の浄化特性について広く調べられた事例は、国内外を通じてほとんどない。

本研究では、複数のシアン化合物汚染サイトより実汚染地下水を採取し、地下水中の微生物によるシアン化合物の浄化速度について検討した。また、集積培養液よりシアン浄化菌を単離し、その遺伝学的性状を調べた。

2. 試験方法

試験に用いたシアン化合物汚染地下水は、4箇所のシアン化合物汚染サイトの観測井戸より採取した。汚染地下水に表-2で示した混合比で無機塩培地 4)を加えて $100\mathrm{ml}$ ガラスバイアル瓶に $50\mathrm{ml}$ ずつ分注し、 30° Cで静置培養し、適宜培養液を採取して培養液中に含まれる全シアン濃度および全菌数を測定した。比較対照として、汚染地下水をろ過滅菌 $(0.2\,\mu\,\mathrm{m})$ した無菌試験区も同様の条件で培養した。また、浄化促進助剤としてチオ硫酸塩を培地に添加することによりロダニーズ酵素によるシアン化合物の無害化が促進することを確認しているため 5)、培養液中のチオ硫酸塩の最終濃度が $30\mathrm{mg}/\mathrm{L}$ になるようにチオ硫酸ナトリウムを添加した条件についても検討した。水質項目の測定方法およびシアン浄化菌の単離方法については、既報の論文に記した 4)。

3. 結果および考察

3.1 シアン化合物汚染地下水の性状 各調査地点のシアン化合物汚染状況 と水質特性を表-1 に示す。この結果、 サイトA、C、Dのシアン化合物は鉄シア ノ錯体で存在しており、遊離シアンの 存在比は1.4~6.5%と低かった。一方、 サイトBのシアン化合物は銀シアノ錯 体であったが、地下水中の遊離シアン

表-1 サイト別のシアン化合物汚染状況と地下水質特性

	サイトA	サイトB	サイトC	サイトD
汚染源のシアン形態	鉄シアノ錯体	銀シアノ錯体	鉄シアノ錯体	鉄シアノ錯体
全シアン濃度(mg/L)	35.0	16.8	2.2	7.6
遊離シアン濃度(mg/L)	0.5	8.0	0.1	0.5
рН	9.8	7.7	7.1	6.7
ORP(mV)	-116	305	206	未測定
TOC(mg/L)	36.4	14.3	7.4	11.4
全菌数(cells/mL)	3.5×10^{6}	3.7×10^{6}	4.9×10^{6}	7.2×10^{5}

キーワード シアン化合物、金属シアノ錯体、シアン浄化菌、チオ硫酸塩

連絡先 〒245-0051 横浜市戸塚区名瀬町 344-1 大成建設㈱技術センター 土木技術研究所 水域・生物環境研究室 TEL: 045-814-7226 FAX: 045-814-7257 E-mail: yoh. takahata@sakura. taisei. co. jp

表-2 地下水培養試験から算出したシアン化合物の半減期

		サイトA	サイトB	サイトC	サイトD
培地による希釈倍率		10	2	2	2
半減期	チオ硫酸塩未添加	25.7	3.8	23.1	115.5
	チオ硫酸塩添加	11.6	2.5	20.4	40.8

表-3 集積培養液から単離したシアン浄化菌の遺伝学的性状

分離源	菌株名	近縁種	16S rDNA相同性
サイトA	RB1株	Pseudomonas sp. S2株	100%
サイトA	RB4株	Ralstonia sp. HAB-18株	99%
サイトB	HG-1株	Arthrobacter crystallopoietes	98%

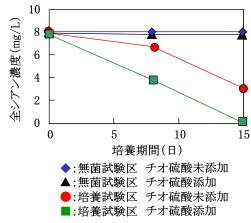


図-1 サイトBの地下水培養による全シアン濃度の変化

の比率は約 47%と鉄シアノ錯体で汚染された地下水と比較して高かった。汚染源近傍で採取され、全シアン 濃度が高いサイトAより採取した地下水では、pHはアルカリ性を示し、酸化還元電位はマイナス値を示した。 一方、汚染拡散域と考えられる他のサイトの地下水では、pHは中性域を示し、酸化還元電位はプラス値を示した。 各サイトのTOCは、全シアン濃度とほぼ相関した値を示すことが示された。また、全菌数は 10⁶cells/ml 前後で観測され、シアン化合物による毒性等の影響を受けている状況は目視で確認されなかった。

3.2 シアン化合物汚染地下水の培養による全シアン濃度の減少速度

全ての地下水で、無菌試験区ではシアン化合物の有為な減少が見られなかった。一方、サイトDのチオ硫酸塩未添加の培養条件を除いて、培養試験区では全シアン濃度の有為な減少が全菌数の増加と共に確認された。効率的にシアン化合物が減少したサイトBの培養試験結果を図-1に示す。これらの結果から、チオ硫酸塩を地下水に添加することにより、サイトCを除いて顕著な浄化促進効果が認められた(表-2)。一方、サイトCについては、チオ硫酸塩の有無に関係なく、シアン化合物はほぼ同様の減少傾向を示した(表-2)。また、銀シアノ錯体で汚染されたサイトBでは、鉄シアノ錯体で汚染された他のサイトと比較して約5~16倍半減期が短く、金属シアノ錯体の種類によって微生物による浄化速度が大きく異なることが示された(表-2)。

3.3 集積培養液中のシアン浄化菌の性状

サイトAおよびBの集積培養液から単離したシアン浄化菌の16S rDNA配列に基づく遺伝学的な近縁種を表-3に示す。この結果から、これらのシアン浄化菌は筆者らが保有するTC-2株(Starkeya属)とは異なることが明らかとなり、多様な種類の有用細菌がシアン化合物の浄化に寄与していると推察された。

4. まとめ

今回試験対象とした全ての汚染地下水で、地下水中の微生物を活性化することによりシアン化合物濃度を低減できることが確認された。しかしながら、その活性化方法、浄化速度、および浄化に係る微生物は汚染サイトにより異なっているため、バイオスティミュレーション適用時には事前評価が重要であると考えられた。

参考文献

- 1) Knowles CJ, Bacteriol Rev, 40:652-80, 1976.
- 2) Chapatwala KD et al, J Ind Microbiol Biotechnol, 20:28-33, 1998.
- 3) 高畑陽ら,第38回日本水環境学会年会講演集,p. 344,2004.
- 4) 高畑陽ら,地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会,第 10 回講演集,pp. 525-527, 2004.
- 5) 高畑陽,総合政策提案誌「新政策」特集号,土壌・地下水汚染対策への技術開発,pp. 50-51,2005.