

石油系炭化水素を対象とした好気性・嫌気性分解特性評価

東京工業大学 学生会員 ○大庭 靖貴
 東京工業大学 正会員 井澤 淳
 東京工業大学 フェロー 日下部 治
 鹿島建設 正会員 小澤 一喜
 鹿島建設 非会員 河合 達司

1. 目的

近年、石油による土壤地下水汚染の浄化対策として、バイオレメディエーションが活用されている。しかしながら、そのメカニズムは十分には解明されていない部分が多く、浄化効果の予測に関しては経験的な推定に頼っているのが現状である。そこで、石油汚染現場から同時に検出されることが多いBTEX(ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン)の中でも、特にトルエンを対象に好気性分解と嫌気性分解による分解試験を行い、分解速度を評価することで、より経済的なバイオレメディエーションの設計が可能になると考えられる。

2. 試験概要

好気性分解として、酸素を電子受容体とする1ケース、嫌気性分解として、硝酸還元、鉄還元2ケース(Fe^{3+} を安定させるためにキレートとして、クエン酸とEDTA)、硫酸還元4ケース、計5ケース(写真1:左から好気分解、硝酸還元、鉄還元+クエン酸、鉄還元+EDTA、硫酸還元)でトルエン濃度の時間変化を測定した。培地は、基本培地(*Thauera* sp. Strain DNT-1¹⁾:表1)に微量無機塩(Trace Element Solution SL-8²⁾:表2)とビタミン剤(Wolfe's Vitamin Solution³⁾:表3)を加えたものを用いた。



写真1 試験体

表1 基本培地(1 L 当り)

リン酸水素二ナトリウム	1.60g
リン酸二水素カリウム	1.00g
塩化アンモニウム	0.50g
硫酸カリウム	0.06g
塩化カルシウム二水和物	0.03g
塩化マグネシウム六水和物	0.10g
炭酸水素ナトリウム	0.42g

表2 微量無機塩(100 mL 当り)

EDTA	5.20g
塩化鉄四水和物	1.50g
塩化コバルト六水和物	0.19g
塩化マンガン四水和物	0.10g
塩化亜鉛	0.07g
ホウ酸	0.06g
モリブデン酸ナトリウム二水和物	0.04g
塩化銅二水和物	0.02g
塩化ニッケル六水和物	0.02g

表3 ビタミン剤(100 mL 当り)

塩酸ヒドロキシシン	10mg
p-アミノ安息香酸	5mg
リボイック酸	5mg
ニコチン酸	5mg
リボフラビン	5mg
塩酸チアミン	5mg
DL-パントテン酸カルシウム	5mg
ビオチン	2mg
葉酸	2mg
ビタミン B ₁₂	0.1mg

<試験手順>

クリーンベンチ内で125 mLバイアル瓶に基本培地97.5 mL(硫酸還元は91.5 mL)、微量無機塩1 mLを量り入れる。電子受容体は不足が起こらないように分解に必要なとされる量の10倍量り入れ、好気分解はバイアル瓶内の酸素を利用し、硝酸還元には硝酸カリウムを39.52 mg、鉄還元にはキレートとしてクエン酸を95.9 mg、EDTAを121.4 mgを先に加えてから塩化鉄(III)を52.66 mg、硫酸還元には硫酸カリウムを42.55 mg入れる。pHを6.5~7.5に調整した後、オートクレーブで滅菌をし、ビタミン剤0.5 mLを加える。硫酸還元のために嫌気度を高めるために還元剤(硫化ナトリウム九水和物溶液)6 mLを添加する。種菌としてベンゼン汚染サイトから採取した土の抽出液を1 mL加え、バイアル瓶を密栓する。好気分解のケースを除き、窒素置換をした後、トルエン5 mg/Lを添加し、30°Cの恒温槽にて培養し、PID-ガスクロマトグラフ法を用いてトルエン濃度の時間変化を測定する。試験ケースを表4にまとめる。

キーワード 土壤地下水汚染、バイオレメディエーション、好気性分解、嫌気性分解

連絡先 〒152-8550 東京都目黒区大岡山2-12-1 東京工業大学緑ヶ丘1号館 日下部研究室 TEL 03-5734-2798

表4 試験ケース

ケース	電子受容体		培地 (mL)	種菌 (mL)	トルエン (mg/L)	pH	温度 (°C)	窒素置換	その他
好気分解	O ₂	バイアル瓶内の酸素	99	1	5	7.0	30	×	-
硝酸還元	NO ₃ ⁻	硝酸カリウム 39.52mg	99	1	5	7.0	30	○	-
鉄還元(クエン酸)	Fe ³⁺	塩化鉄(III) 52.66mg	99	1	5	6.7	30	○	キレート
鉄還元(EDTA)	Fe ³⁺	塩化鉄(III) 52.66mg	99	1	5	6.7	30	○	キレート
硫酸還元	SO ₄ ²⁻	硫酸カリウム 42.55mg	93	1	5	7.0	30	○	還元剤

3. 試験結果と考察

全ての試験ケースにおけるトルエン濃度の時間変化を図1に示す。また、表5にトルエンの分解に要した日数を示す。

まず、好気分解が約1日、次に、硝酸還元が約3日、続いて、鉄還元(クエン酸)が約21日で分解が終了した。鉄還元(EDTA)、硫酸還元は80日が経過した段階でも分解が終了していなかった。

試験結果から、好気性分解は嫌気性分解よりも分解が速く、嫌気性分解の4ケースは硝酸還元、鉄還元、硫酸還元の順に分解が速いことが確認できる。これは、微生物が分解によって獲得できるエネルギーの多い順である。

また、図2に鉄還元の2ケースのトルエン濃度の時間変化を示す。

キレートとして、クエン酸を用いたケースは約21日で分解が終了したのに対して、EDTAを用いたケースは80日を経過した段階でも分解は終了していなかった。これは、EDTAの方がクエン酸よりもFe³⁺との結合が強く、EDTAのケースでは微生物がFe³⁺を利用しにくかった、クエン酸を分解できる微生物が錯イオンを壊し、Fe³⁺を得ていた、などの理由が考えられる。

4. 結論

分解速度は好気分解、硝酸還元、鉄還元、硫酸還元の順に速かった。今回の試験条件では、好気分解と硝酸還元と鉄還元(クエン酸)の分解速度の比は21:7:1であった。また、鉄還元に関して、キレートとしてEDTAを用いるよりもクエン酸を用いた方が分解速度は速かった。

参考文献

- Shinoda, Y., Sakai, Y., Uenishi, H., Uchihashi, Y., Hiaishi, A., Yukawa, H., Yurimoto, H. and Kato, N. (2004): Aerobic and Anaerobic Toluene Degradation by a Newly Isolated Denitrifying Bacterium, *Thauera* sp. Strain DNT-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol.70, pp.1385-1392
- Ronald M. Atlas. (1997): *Microbiological Media*. CRC Press, p.813
- Ronald M. Atlas. (1997): *Microbiological Media*. CRC Press, p.885

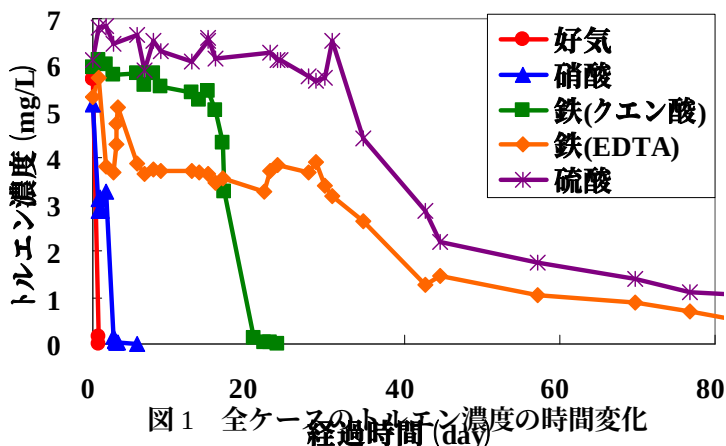


図1 全ケースのトルエン濃度の時間変化

表5 トルエンの分解に要した日数

	好気分解	硝酸還元	鉄還元 (クエン酸)	鉄還元 (EDTA)	硫酸還元
t(day)	1	3	21	—	—

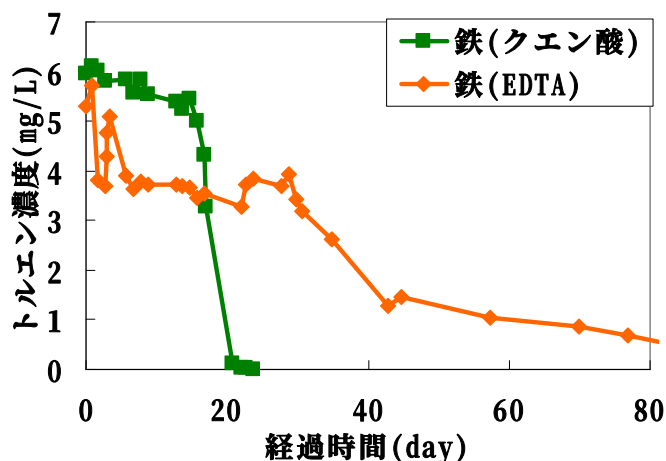


図2 鉄還元2ケースのトルエン濃度の時間変化