

キノンバイオマーカーを用いた一般廃棄物処分場の安定化診断手法の開発

山梨大学大学院 今井健太郎 (学) 辻幸志 (正) 藤田昌史 (正) 坂本康

1. はじめに

廃棄物最終処分場は、現代の社会において不可欠な施設であるにもかかわらず、近年、我が国の処分場数は減少している。これにともない、処分場の残余容量も減少しているが、資源化量やリサイクル率の増加などにより、最終処分量が減少しているため、残余年数はここ数年にわたり横ばいを保っている。しかしながら、最終処分場はいわゆる迷惑施設と見なされていることから、今後、新たな処分場の設置は難しい状況が続くものと予想される。

ここで必要とされるのが、早期安定化のための安定化促進技術の開発・導入、そして、既存の処分場の再生化、延命化を促進していくことである。一方で、維持管理や跡地利用の観点からも、廃止の決定をスムーズに下せることは重要となることから、科学的な根拠をともなったより信頼性の高い廃止基準が望まれる。言い換えると、安定化の現況を適切に判断するためには、既存の指標である埋立地内部の温度、発生ガス、浸出水の水質などは重要な情報となるが、これらにはない新たな視点を加えて、多角的に評価することが重要になると考えられる。

埋立地内部にはさまざまな微生物群が生息し、廃棄物の分解を担っている。そのため、埋立廃棄物の分解の進行に応じて、特徴的な微生物群集構造が形成されるものと考えられる。したがって、安定化指標として微生物群に着目することは、既存の指標に比べて、より直接的であると同時に、比較的長い期間の埋立地内部の環境履歴を反映されていることから、有用であると考えられる。ただし、埋立地内部から直接試料を採取することは、試料の代表性に懸念があることや、時間や労力を要することから現実的ではない。一方、埋立地内部に生息している微生物群は、そこを通過する浸出水とともに流出する。したがって、浸出水中の微生物群を対象とすれば、目的とする解析が可能になると考えられる。また、このように微生物コンソーシアを解析対象とする場合、活性汚泥¹⁾や底質²⁾などの複合微生物系の解析や山腹斜面流出解析のトレーサー³⁾として実績のあるキノンバイオマーカーが有効であると考えられる。

浸出水中の微生物群に着目した解析の妥当性や有効性を検討する場合、対象とする処分場の安定化の進行状況を把握しておく必要がある。処分場の埋立廃棄物が分解されるとアンモニアが生成することが知られているが、準好気性埋立構造の場合、外部から酸素が受動的に供給されることから、硝化反応によりアンモニアは硝酸に転じる。そして、還元的な環境では、脱窒反応が起こる。すなわち、埋立廃棄物の分解が進行するとともに、内部は酸化状態から硝酸還元状態へと移行する。したがって、例えば、浸出水を対象に酸素利用活性や硝酸還元活性などの微生物呼吸活性を調べることは、埋立地内部の環境条件、つまり埋立廃棄物の分解の進行を知る重要な手掛かりになるものと考えられる。

そこで本研究では、まず、埋立開始後の経過年数がそれぞれ異なる9ヶ所の一般廃棄物処分場において、浸出水中に含まれる微生物群の酸素利用速度(OUR)、硝酸還元速度(NUR)により、埋立廃棄物の分解の現況を微生物群の呼吸活性の観点で評価し、浸出水の水質や埋立後の経過年数も考慮して、各処分場を分類した。次に、各処分場の浸出水中のキノンバイオマーカーを解析した。そして、上述の分類を参考にしながら、安定化指標としての有効性を検討した。

2. 方法

(1) 調査地の概要および採水

埋立開始からの経過年数がそれぞれ異なる9ヶ所の管理型処分場を調査対象とした(表-1)。いずれの処分場でも焼却残渣が埋め立てられていたが、3-KKでは溶融スラグも含まれていた。また、5-OMは改良型衛生埋立構造であったが、それ以外の8ヶ所の処分場では準好気性埋立構造であった。試料の採取にあたっては、処分場を代表し得る微生物情報を得ることが重要になることから、晴天時に数日間にわたり、水処理施設に流入する直前の浸出水を約1Lから10L採水した。採取した試料は、後述するキノン分析、微生物呼吸活性試験に供した。

キーワード：一般廃棄物処分場、安定化指標、キノンバイオマーカー、微生物呼吸活性

〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11 Tel: 055-220-8725 E-mail: mfujita@yamanashi.ac.jp 藤田昌史

表-1 調査対象とした廃棄物最終処分場の概要

処分場略称	埋立廃棄物	構造	埋立開始からの経過年数
1-FT	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	8
2-YZ	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	21(7)
3-KK	焼却残渣 破碎不燃物 溶融スラグ	準好気性	10
4-UF	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	18
5-OM	焼却残渣 破碎不燃物	改良型衛生	28
6-OT	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	13(2)
7-NT	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	3
8-MA	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	11(4)
9-OG	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	19(11)

()内は埋立終了からの経過年数

(2) キノン分析

キノンは、微生物の電子伝達鎖に存在し、水素キャリアーとして機能する補酵素のことである。好気性呼吸をする微生物群が持つユビキノ (Q-n)、嫌気性呼吸をする微生物群が持つメナキノ (MK-n (H_x)) に大別される。ここで、n、 H_x は、それぞれイソプレノイド側鎖数およびその水素飽和度 x を表す。一般的に、一微生物種は一つの優占キノンを持つことが知られていることから、検出されたキノン構成割合により微生物群集構造を評価することができる。採取した浸出水は、重量を測定後、孔径 $0.3\mu\text{m}$ のガラス繊維ろ紙を用いてろ過し、得られたろ過残渣物を分析に供した。キノンの抽出には、クロロホルム・メタノール溶液 (2:1、v/v)、ヘキサンを順次用いた。その後、ヘキサン抽出物を固相抽出カートリッジに吸着させ、2%、10%のジエチルエーテル・ヘキサンを用いて、メナキノ、ユビキノンをそれぞれ回収した。そして、アセトンに溶媒置換した。その後、移動相として、メタノール・ジイソプロピルエーテル溶液 (9:2、v/v) を用いて、HPLC により同定・定量した。

各処分場ごとに複数の試料のキノン分析を行ったが、統計学的な指標である非類似度¹⁾を用いて、キノンプロファイルの類似性が高かったうちの一つをその処分場の代表試料とした。各処分場のキノンプロファイルの類似性を平面図で視覚的に表現するために、多次元尺度構成法²⁾ (MDS) による解析を行った。また、各々のキノンプロファイルを微生物群の多様性の観点で評価するために、均一性指数⁴⁾ (EQ) を算出した。

(3) 微生物呼吸活性試験

各処分場の浸出水中の OUR、NUR を調べるために、採水した浸出水に炭素源として酢酸ナトリウムを、必須元素として BOD 希釈液をそれぞれ加えた。OUR 試験では、浸出

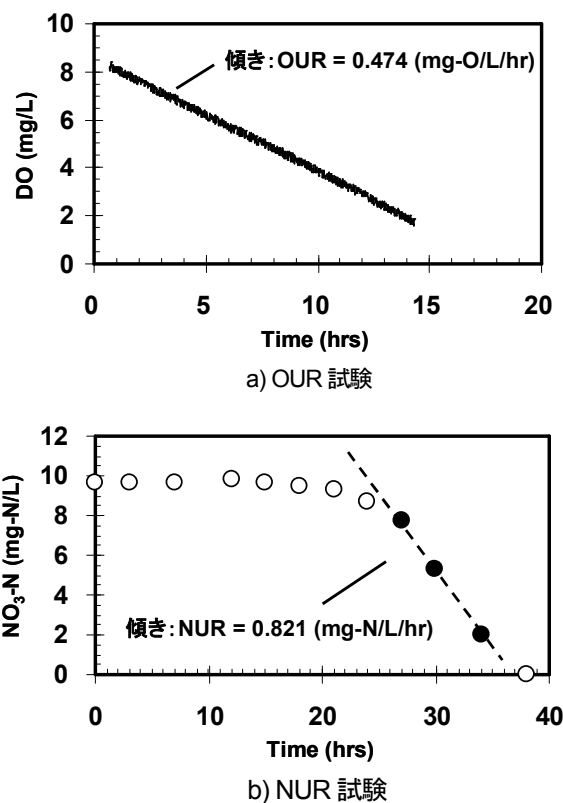


図-1 微生物呼吸活性試験の結果の例

水中の DO が飽和状態になるまで曝気をした。一方、NUR 試験では、NO₃-N を添加した後、ヘリウムガスで脱気した。いずれも、密栓し、攪拌して試験を開始した。前者では DO を自動測定し、後者では定刻毎に採水し NO₃-N 濃度を分析した。図-1 に結果の一例を示したが、それぞれの傾きから速度を算出した。そして、両者の比から NUR/OUR 比を算出した。このとき、NUR に理論値 2.86 (g-O/g-N) を乗じて酸素ベースで表現することにより、無次元化した。この値が 1 より大きい場合、好気性微生物群よりも硝酸還元 (脱窒) 微生物群が多く生息していると解釈できる。

3. 結果および考察

(1) 浸出水中の微生物呼吸活性と水質に基づく各処分場の分類

各処分場の NUR/OUR 比を図-2 に示した。1-FT、2-YZ、3-KK では、NUR/OUR 比が 10 を超えていた。脱窒微生物群は好気性微生物群よりも 10 倍以上多く生息していたと反応速度論的には解釈される。これらの処分場では、酸化状態というよりは硝酸還元状態が卓越していたと予想される。なお、後述する検討のために、1-FT、2-YZ、3-KK を 1 つのグループ、Gr-3 に分類した。前述したように、埋立廃棄物の分解とともに生成した NH₄-N が、硝化反応により NO₃-N に転じ、それを利用する脱窒微生物群が優占するようになったものと考えられる。

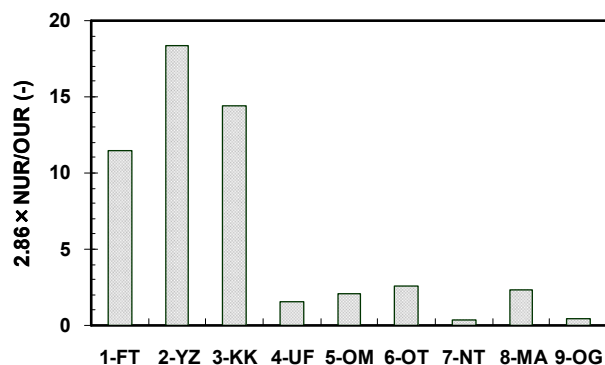


図-2 各処分場におけるNUR/OUR比

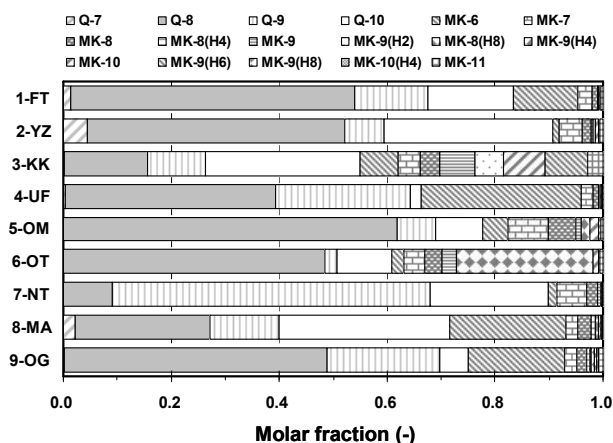


図-3 浸出水中のキノプロファイル

一方、NUR/OUR 比が低かった 6ヶ所の処分場は、還元的な環境には達していないか、あるいは、硝酸還元状態よりもさらに進んだ還元状態、例えば硫酸還元状態などに移行している可能性がある。そこで、NUR/OUR 比に加えて、浸出水の COD_{Mn} 、TN を用いて、これらを平均が 0、分散が 1 となるように標準化した後、非類似度としてユークリッド距離を算出し、Ward 法によるクラスター解析を行った。そして、6ヶ所の処分場の分類を試みた。その結果、3つのグループ、Gr-1 (4-UF、7-NT)、Gr-2 (9-OG)、Gr-4 (5-OM、6-OT、8-MA) に分類された。埋立開始後の経過年数や水質から判断すると、Gr-1 は酸化状態あるいは硝酸還元に移行したばかりの状態、Gr-2 は Gr-3 ほどは硝酸還元が進行していない状態、Gr-4 は硝酸還元よりもさらに進んだ還元状態に達していたと推測された。

(2) 浸出水中のキノプロファイル

各処分場における浸出水中のキノプロファイルを図-3 に示した。好気性微生物群と嫌気性微生物群のおおよその存在比を調べるために、Q/MK 比を算出したところ、すべての処分場で 1 を上回っていた。これは、潜在的に好気呼吸する微生物群がより多く生息していたことを表している。3-KK、8-MA では、Q-10、7-NT では Q-9、それ以外では Q-8

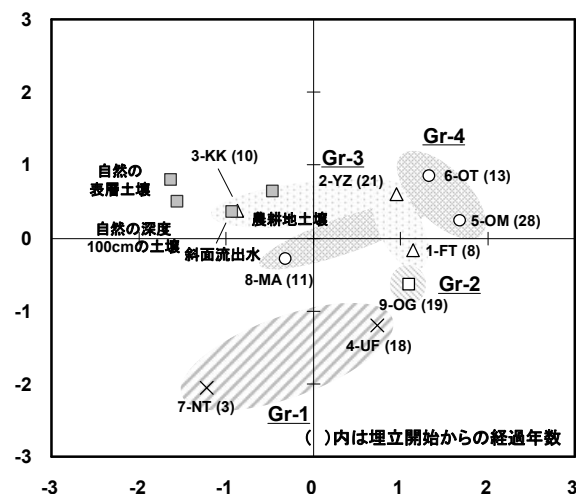


図-4 MDS による各処分場の布置結果

の存在比が最も高かった。Q-10、Q-9、Q-8 は、*α-Proteobacteria*、*γ-Proteobacteria*、*β-Proteobacteria* が、それぞれ優占キノン種として含有することが知られている¹⁾。二番目に優占していたのは、1-FT、2-YZ、5-OM、7-NT では Q-10、4-UF では MK-6、6-OT では MK-8 (H₈)、9-OG では Q-9 であった。このような優占キノン種の違いは、異なる微生物群が優占していたことを表している。3-KK で顕著な違いが見られたのは、唯一、溶融スラグが埋め立てられていたことに関係したかも知れない。

次に、各処分場間におけるキノプロファイルの違いを統計学的に評価するために、キノン存在比から非類似度を算出した。その結果、いずれも 0.1 を上回った。既報の判定基準¹⁾を参考にすると、9ヶ所の処分場における微生物群集構造は実質的な相違があると判断された。したがって、各処分場の埋立地内部の環境条件は明らかに異なっていたと考えられる。

(3) キノバイオマーカーを用いた安定化指標の有効性の検討

MDS 解析により、浸出水中のキノプロファイルの類似性に基づいて、各処分場を布置した結果を図-4 に示した。埋立開始後の経過年数が最も短い 7-NT と最も長い 5-OM は、離れたところに布置され、前者の近くには、酸化状態あるいは硝酸還元に移行したばかりの状態と予想された Gr-1 の処分場が、後者の近くには、硝酸還元よりもさらに進んだ還元状態と予想された Gr-4 の処分場が、そして、その間に残りの Gr-2 や Gr-3 の処分場がそれぞれ布置された。したがって、キノプロファイルに基づいた布置結果は、廃棄物の分解の遷移過程を表現している可能性がある。

浸出水の COD_{Mn} が廃止基準値を下回っており、廃止に向けて調査を進めている 5-OM や 6-OT は、自然土壌とは離れて布置されていたのは興味深い。このような基準を設ける

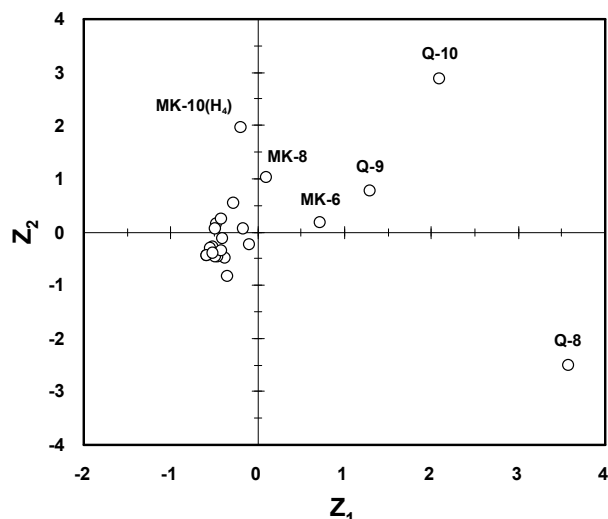


図-5 各キノンバイオマーカーの主成分得点

ことにより、第一の安定化に加えて、第二（究極）の安定化⁵⁾の観点でも、判定できる可能性もある。また、微生物群の多様性を表す EQ を算出したところ、安定化が進んでいると推測された 5-OM、6-OT、8-MA では 0.57~0.59、3-KK を除くその他の 5 ヶ所の処分場では 0.48~0.54、自然土壌や農耕地土壌などでは 0.80~0.95 であり、明確な違いが見られた。EQ が高いほど多様性は高いことを意味していることから、埋立廃棄物の分解が進行するほど微生物群の多様性は高くなることが推測された。

(4) 安定化の進行に関するキノンバイオマーカーの抽出

各処分場のキノン存在比のデータを用いて主成分分析を行った。第一、第二主成分の累積寄与率が 80%であったことから、第二主成分までを対象にして、各キノンバイオマーカーの主成分得点を調べれば、安定化に関するものを抽出できると考えられる。

図-5 に示したように、Q-8 や Q-10 は、明らかに高い主成分得点であった。各処分場のキノンプロファイルの相違には、これらのキノン種の構成割合の違いによるところが大きかったと判断された。前述したように、各処分場において、Q-8 や Q-10 の存在比が大きかったこともあわせて考えると、これらをそれぞれ含有する *β-Proteobacteria* や *α-Proteobacteria* は、安定化の進行に関する重要な微生物群であると判断される。

4. まとめ

一般廃棄物処分場において、安定化診断を多角的に評価するために、既存の指標にはない新たな視点として、キノンバイオマーカーを用いた安定化指標の有効性を検討した。

まず、埋立後の経過年数の異なる 9 ヶ所の管理型処分場において、微生物呼吸活性試験を行い、NUR/OUR 比を算出したところ、この値が高い処分場と低い処分場の 2 つに大きく分類された。さらに、NUR/OUR 比の低い処分場は、浸出水の水質も含めてクラスター解析したところ、3 つのグループに分類された。埋立後の経過年数も含めて総合的に判断すると、9 ヶ所の処分場は、安定化の進行に応じて、合計 4 つのグループに分類できた。

次に、キノンプロファイルの類似性に基づいた MDS 解析により、各処分場を平面に布置したところ、分類された各グループの処分場は近くに位置されていた。したがって、キノンプロファイルの類似性に基づいた各処分場の布置結果は、安定化の進行過程を表現している可能性がある。また、自然土壌などの基準を設けることにより、第二（究極）の安定化の観点でも、判定できる可能性も見出された。

最後に、各処分場のキノンプロファイルを用いて、主成分分析を行ったところ、Q-8 や Q-10 を含有する *β-Proteobacteria* や *α-Proteobacteria* が、安定化の進行に関する重要な微生物群であることが明らかとなった。

参考文献

- 1) Hiraishi, A., Masamune, K. and Kitamura, H.: Characterization of the bacterial population structure in an anaerobic-aerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 55, No. 4, pp. 897-901, 1989.
- 2) 藤田昌史, 鯉渕幸生, Hasanudin, U., 小倉久子, 藤江幸一, 磯部雅彦: 東京湾における水質動態と底性微生物群集構造の解析, 海岸工学論文, Vol.50, pp. 996-1000, 2003.
- 3) 藤田昌史, 芳賀和弘, 西田継, 坂本康: 山腹斜面流出過程におけるキノンバイオマーカーの動態解析, 水工学論文集, Vol. 49, pp.121-126, 2005.
- 4) Hu H.-Y., Fujie, K., Nakagome, H., Urano, K. and Ktayama, A.: Quantitative analyses of the change in microbial diversity in a bioreactor for wastewater treatment based on respiratory quinines, *Water Research*, Vol. 33, pp. 3263-3270.
- 5) 田中信壽: 循環型社会に向けた埋立処分場研究の展望 - 今、どんな埋立技術研究が必要か -, 土木学会論文集, Vol. 720, pp. 1-11