

(59) 一般廃棄物処分場の安定化指標としての キノンバイオマーカーの有効性

藤田 昌史^{1*}・今井 健太郎²・辻 幸志³・坂本 康¹

¹山梨大学 大学院医学工学総合研究部 (〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11)

²山梨大学 大学院医学工学総合教育部修士課程 (〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11)

³山梨大学 大学院医学工学総合教育部博士課程 (〒400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11)

* E-mail: mfujita@yamanashi.ac.jp

埋立後の経過年数の異なる7ヶ所の一般廃棄物処分場の浸出水を対象として、NUR/OUR比を調べたところ、これらは大きく2つのグループに分類された。そこで、浸出水の水質も含めてクラスター解析を行ったところ、この比が低かった5ヶ所の処分場は、さらに2つのグループに分類された。すなわち、7ヶ所の処分場は、安定化の進行に応じて、合計3つのグループに分類された。次に、浸出水中のキノンプロファイルの類似性に基づいてMDS解析を行ったところ、各グループの処分場は概ね近くに布置されたことから、この結果は安定化の進行過程を表現している可能性が示された。また、Q-8、Q-9を含有する微生物群は、安定化の進行に係わることも見出された。

Key Words : landfill site, MDS, microbial respiration, municipal solid waste, quinone, stability index

1. はじめに

2004年度末現在、一般廃棄物は年間に5,161万トンが排出され、その16.4%に相当する845万トンが、合計2,039ヶ所の一般廃棄物最終処分場に埋め立てられている¹⁾。一般廃棄物と有害ではない産業廃棄物は、遮水工が施されており、浸出水の集水施設と水処理施設を併設した管理型に分類される処分場で最終処分されるが、この型の処分場は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律(廃棄物処理法)が成立した1970年以降に普及した。したがって、近い将来、これらの処分場が廃止されるときがやって来る。

現行の廃棄物処理法では、処分場を廃止するためには、事業者が廃止基準を満たしていることを示し、都道府県知事の確認を得る手順となっている²⁾。この廃止基準では、構造や防止措置、生活環境保全、地下水汚染に関する項目に加えて、浸出水の水質、ガスの発生、処分場内部の温度も規定されている。例えば、水質の基準は、公共用水域の水質汚濁防止の観点から定められた排水基準に基づいている。この水質を含めて、ガス、温度などの指標は、埋立廃棄物の生物化学的な反応の結果が顕れる

ものである。一方、処分場の維持管理の観点では、廃止までの期間やコストを正確に把握することは、非常に有用である。その意味では、既存の指標とは異なる視点に基づいた指標も含めて、多角的に安定化の現況を把握することが望まれる。

筆者らは、新しい視点に基づく安定化指標のひとつとして、微生物群を利用することを着想した^{3,4)}。微生物群は、埋立廃棄物の分解に直接関与することから、その群集構造から処分場内部の状況を間接的に知ることができると考えた。解析手法としては、化学分析のみで定量が可能であり、実務者にも利用しやすいキノンバイオマーカー⁵⁾に着目した。

キノンとは、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である⁶⁾。好気呼吸をする微生物群が持つユビキノン(Q-n)、嫌気呼吸をする微生物群が持つメナキノン(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、その水素飽和度Xを表す。各微生物は、優占キノンを持つことから、検出されたキノン種の構成割合、すなわち、キノンプロファイルを調べることで、微生物群集構造を評価することができる。

処分場内部には、多種多様な廃棄物が一様には埋め立てられていないことから、そこに生息する微生物群も一様には分布していないと予想される。そこで、処分場内部から直接、微生物試料を採取するのではなく、浸出水とともに流出する微生物群を解析対象とすることを考えた^{3,4)}。

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可能な限り事前に把握しておく必要がある。埋立廃棄物が分解されると $\text{NH}_4\text{-N}$ 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 $\text{NH}_4\text{-N}$ は $\text{NO}_3\text{-N}$ に転じる。廃棄物の分解が進行することにより、還元的な環境になると、この $\text{NO}_3\text{-N}$ を利用した脱窒反応が主として起こる。言い換えると、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、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により、処分場内部の環境条件を把握することは、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7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) を調べた。そして、微生物群の呼吸活性を埋立廃棄物の分解の現況を知るための手掛かりのひとつとして利用するとともに、浸出水の水質や埋立後の経過年数もあわせて考慮して、各処分場を分類した。次に、各処分場の浸出水中の微生物群集構造を評価するために、キノンプロファイルを試料の代表性に留意しながら解析した。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) 調査対象とした処分場の概要

表-1に示したように、埋立後の経過年数が3~28年間の7ヶ所の一般廃棄物処分場を調査対象とした。いずれの処分場でも焼却残渣と破碎不燃物が埋め立てられている。また、4-OMIは改良型衛生埋立構造であったが、それ以外の6ヶ所の処分場は準好気性埋立構造であった。

晴天時に数日間にわたり複数回、浸出水処理施設の前段で、浸出水を約1Lから10L採水した。そして、後述するキノン分析、微生物呼吸活性試験に供した。浸出水の COD_{Mn} 、T-Nについては、各処分場における1年以内の定期観測データを参考にした。

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-UF	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	18
4-OM	焼却残渣 破碎不燃物	改良型衛生	28
5-OT	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	13(2)
6-NT	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	3
7-MA	焼却残渣 破碎不燃物	準好気性	11(4)

()内は埋立終了からの経過年数

(2) キノン分析

採取した浸出水は、重量を測定した後、孔径0.3 μm のガラス繊維ろ紙を用いてろ過し、得られたろ過残渣を分析に供した。キノンの抽出には、クロロホルム・メタノール混合溶液 (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、メナキノン (MK)、ユビキノン (Q) 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混合溶液 (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い、統計学的な指標である非類似度⁹⁾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当該処分場の代表試料とした。また、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 (MDS)⁹⁾による解析を行った。ここでは、類似性の指標としてユークリッド距離を用いた。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、多様性指数 DQ^7 も算出した。この値が高いほどキノンプロファイル、すなわち微生物群の多様性は高いことを意味する。

(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加えた。また、必須元素を含むBOD希釈液も適量添加した。OUR試験では、浸出水中のDOが飽和状態になるまで曝気した。一方、NUR試験では、 $\text{NO}_3\text{-N}$ を添加した後、He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 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度を分析した。図-1に示したように、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 ($\text{g-O}_2/\text{g-N}$) 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。それゆえ、ここではこの値を安定化の進行を判断する手掛かりのひとつとして利用した。

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では、10を超えていた。反応速度論的には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解釈される。つまり、これらの処分場では、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を1つのグループ、Gr-2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 $\text{NH}_4\text{-N}$ が、硝化反応により $\text{NO}_3\text{-N}$ 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。

一方、NUR/OUR比が低かった5ヶ所の処分場は、酸化状態が卓越しており、硝酸還元状態には達していないと反応速度論的には解釈できるが、そうではなく、これよりもさらに還元的な状態、例えば硫酸還元状態などに移行している可能性も考えられる。そこで、NUR/OUR比に加えて、図-3に示した浸出水の COD_{Mn} 、TNのデータを用いて、これらを平均が0、分散が1となるように標準

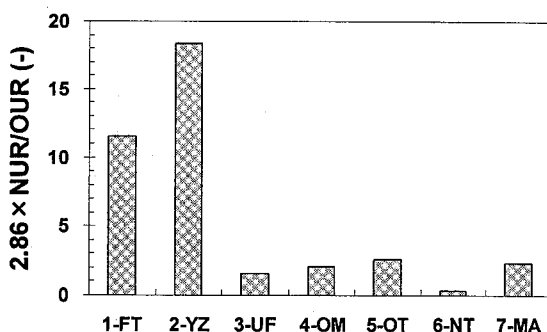


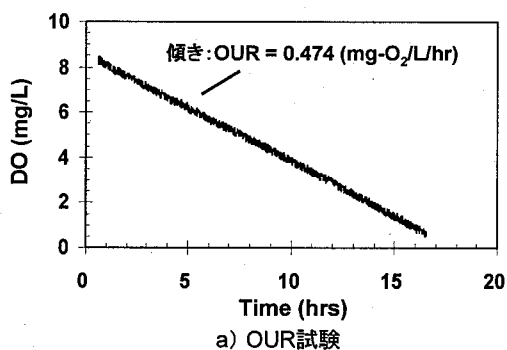
図-2 各処分場におけるNUR/OUR比

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、この5ヶ所の処分場の分類を試みた。その結果、2つのグループ、Gr-1 (3-UF, 6-NT), Gr-3 (4-OM, 5-OT, 7-MA) に分類された。

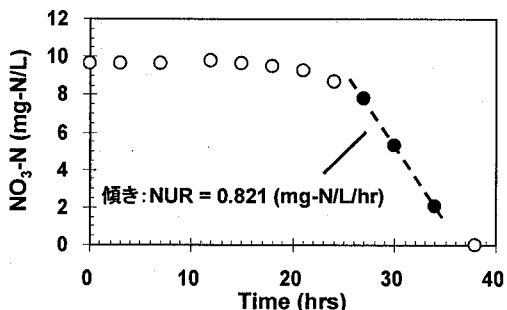
浸出水の COD_{Mn} /TN比が小さくなるほど、埋立廃棄物の分解が進んでいることが経験的に知られている。この COD_{Mn} /TN比や COD_{Mn} の絶対値もGr-3の処分場の方がGr-1よりも小さい値を示したことや、例えばGr-1に分類された6-NTは埋立開始からわずか3年しか経過していないのに対して、Gr-2に分類された1-FTや2-YZはそれぞれ8年、21年も経過していることをあわせて考えると、Gr-1は酸化状態が卓越している状態、Gr-3はGr-2よりも、つまり硝酸還元よりもさらに還元的な状態に達していると判断される。

(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-4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、ユビキノンとメナキノンの存在比、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。7-MAではQ-10、6-NTではQ-9、それ以外ではQ-8の存在比



a) OUR試験



b) NUR試験

図-1 微生物呼吸活性試験の結果の例

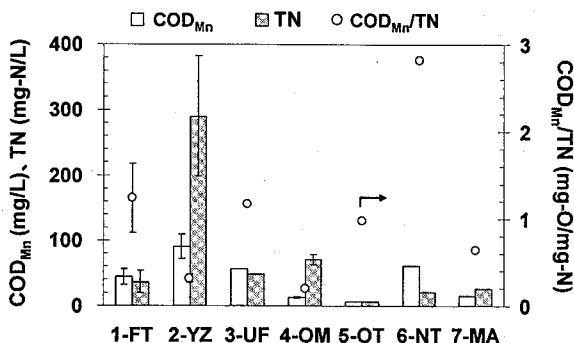


図-3 各処分場における COD_{Mn} 、TN、 COD_{Mn} /TN

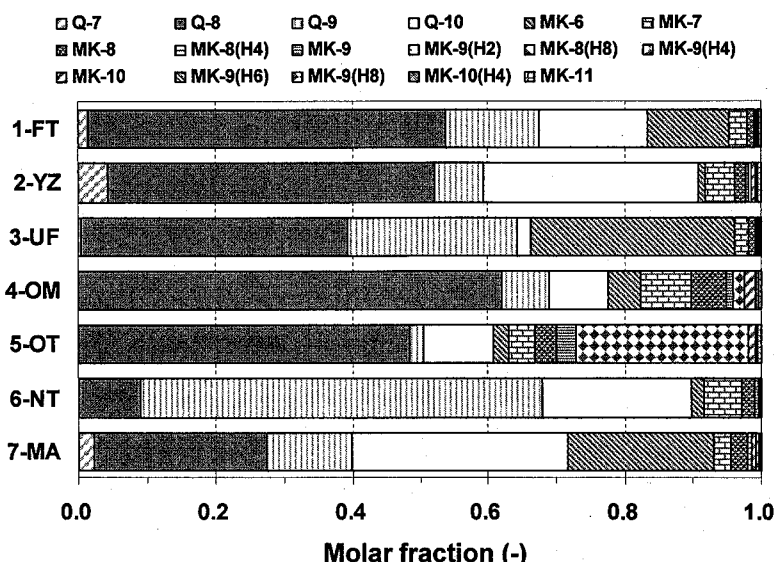


図-4 浸出水のキノンプロファイル

が最も高かった。Q-10, Q-9, Q-8は、それぞれ α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, β -Proteobacteriaが優占キノン種として存在することが知られている⁹⁾。二番目に優占していたのは、1-FT, 2-YZ, 4-OM, 6-NTではQ-10, 3-UFではMK-6, 5-OTではMK-8 (H₈)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。

次に、各処分場間におけるキノンプロファイルの違いを統計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⁹⁾を参考にすると、7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) キノン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、浸出水中のキノン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-5に示した。埋立開始後の経過年数が最も短い6-NTと最も長い4-OMは、離れたところに布置され、前者の近くには、酸化状態が卓越していると予想されたGr-1の処分場が、後者の近くには、硝酸還元よりもさらに還元的な状態に達していると予想されたGr-3の処分場が、そして、その間に、NUR/OUR比から硝酸還元状態が卓越していると判断されたGr-2の処分場がそれぞれ布置された。

調査した処分場のなかでは、最も分解が進行していると判断されたGr-3の各処分場は、浸出水のCOD_{Mn}が廃止基準値を下回っており、明確な違いは見られなかったが、

布置された位置が大きく異なっていたのは興味深い。7-MAは山地土壌や山地湧水の近くに布置されていたことから、MDSの結果からは、より自然の状態に近づいていると解釈される。そこで、キノンプロファイルからDQを求めたところ、Gr-1の処分場では4.8~5.3, Gr-2では5.8~6.3, Gr-3では6.5~7.1, そして山地土壌や山地湧水では10.4~12.5と算出された。したがって、埋立廃棄物の安定化が進行するほど微生物群の多様性は高くなることが明らかとなった。この結果から、他の処分場よりも自然土壌の近くに布置されていた7-MAは、必ずしも第二の安定化⁹⁾、すなわち、土壌還元状態に十分には達していないものと判断される。

MDSによる解析とDQの算出には、いずれもキノン存在比のデータを用いるが、前者は、非類似度としてユー

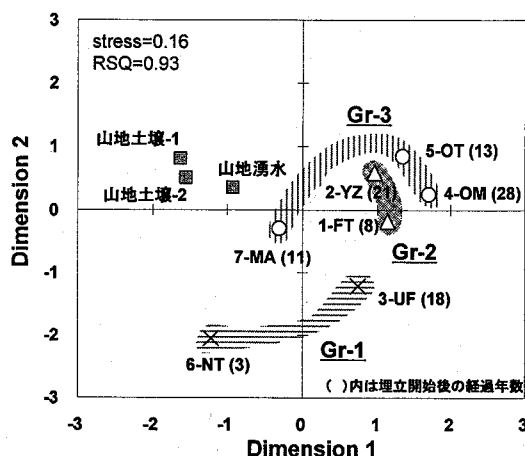


図-5 MDS による各処分場の布置結果

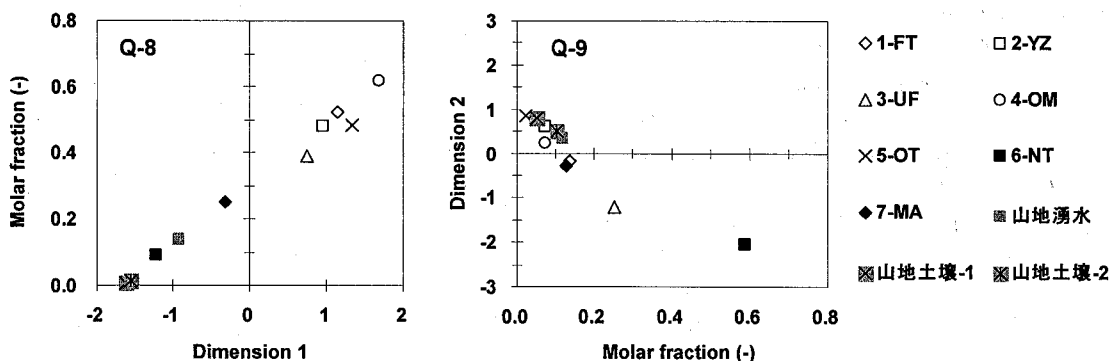


図-6 MDS の各軸とキノンバイオマーカーとの関係

クリッド距離を用いるため、存在比の絶対値が大きいキノン種の違いほど、布置結果に大きく反映されている。一方、後者は存在比の低いキノン種ほど、より大きく見積もられることから、それぞれ異なった視点でキノンプロファイルの評価している。したがって、MDSによる布置結果に加えて、多様性もあわせて評価することで、既存の水質等の指標よりも高い解析能で安定化の進行状況を判断できる可能性が示された。

(4) 安定化の進行に係わるキノンバイオマーカー

ここでは、安定化の進行に係わる微生物群が含有するキノンバイオマーカーを見出すために、上述したMDSのx軸、y軸と各キノン種の存在比との関係を調べた。つまり、廃棄物の分解の遷移過程を表現していると考えられた各処分場の布置結果を決定している各軸と関係するキノン種を探し出すことにより、目的とする解析ができるものと考えられる。その結果、x軸、y軸と最も対応が見られたキノン種は、それぞれQ-8、Q-9であった(図-6)。上述したように、各処分場において、それぞれの存在比が高かったことから、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存在比の違いが大きく影響したものと判断される。したがって、Q-8、Q-9をそれぞれ含有する β -Proteobacteria、 γ -Proteobacteriaは、安定化の進行に関係する重要な微生物群であると考えられる。

4. まとめ

廃棄物処分場における安定化指標として、これまでにない新たな視点として、キノンバイオマーカーに着目し、その有効性を検討した。

まず、埋立後の経過年数の異なる7ヶ所の一般廃棄物処分場において、浸出水を用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。そこで、浸出水の水質も含めてクラスター解析を行ったところ、NUR/OUR比の低い5ヶ所の処分場は、2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、7ヶ所の処分場は、安定化の進行に応じて、合計3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とともに、上述の検討から判断した安定化の進行状況とも対応が見られた。また、安定化が進行するほど、微生物群の多様性は高くなることも示唆された。

最後に、MDSの各軸とキノン存在比との関係を調べたところ、Q-8、Q-9をそれぞれを含有する β -Proteobacteria、 γ -Proteobacteriaは、安定化の進行に関係する重要な微生物群であることが見出された。

謝辞：各処分場の関係者の方々には、調査を許可していただいたうえに、現場での採水等の作業をご協力いただいた。さらに、貴重な各種データを快く提供していただいた。また、本研究は、平成17～18年度環境省廃棄物処理等科学研究費補助金「廃棄物最終処分場内部の微生物コンソーシアに着目した安定化指標の構築」の助成を受けた。以上をここに記して、深く謝意を表する。

参考文献

- 1) 環境省：平成18年度版循環型社会白書，232p，ぎょうせい，東京，2006。
- 2) 田中信寿：環境安全な廃棄物埋立処分場の建設と管理，242p，技報堂出版，東京，2000。
- 3) 今井健太郎，藤田昌史，坂本康：一般廃棄物処分場における浸出水中のキノンバイオマーカーと微生物呼吸活性との関係，第17回廃棄物学会研究発表会講演論文集，pp. 996-998，2006。
- 4) 今井健太郎，藤田昌史，坂本康：一般廃棄物処分場におけ

- るキノンバイオマーカーを用いた安定化指標の検討, 第 41 回日本水環境学会年会概要集, p.471, 2007.
- 5) 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, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 55, No. 4, pp. 897-901, 1989.
- 6) 藤田昌史, 芳賀弘和, 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.
- 7) Hu H.-Y., Fujie, K., Nakagome, H., Urano, K. and Katayama, A.: Quantitative analyses of the change in microbial diversity in a bioreactor for wastewater treatment based on respiratory quinones, *Water Research*, Vol. 33, pp. 3263-3270, 1999.
- (2007. 5. 25受付)

Usability of quinone biomarker as a stability index of final landfill sites for municipal solid waste

Masafumi FUJITA, Kentaro IMAI, Koji TSUJI and Yasushi SAKAMOTO

Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi

Usability of quinone biomarker as a stability index of final landfill sites for municipal solid waste was investigated through the observation of leachate collected from 7 sites which had 3-28 years history from the start of landfill. Microbial respiration tests for the determination of OUR and NUR were conducted, so that remarkable differences appeared in NUR/OUR ratio. Then, COD_{Mn} and TN of leachate were also used for the categorization of 7 sites. Consequently, 5 sites which showed lower NUR/OUR ratio were categorized into 2 groups. In other words, according to the progress of stability, 7 sites were categorized into 3 groups. Meanwhile, MDS analysis was conducted by use of quinone profile of leachate. The position of the respective sites on MDS map converged according to the categorization previously determined. Therefore, quinone biomarker was probably useful as the stability index. Moreover, it was also found that Q-8 and Q-9 containing bacteria had an important role in the progress of stability.