

B-13 クエン酸添加によるメタン生成ベンゼン分解の促進に関する検討

○藤原 直也^{1*}・栗栖 太¹・春日 郁朗¹・古米 弘明¹

¹東京大学大学院工学系研究科（〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1）

* E-mail: n92511581@yahoo.co.jp

1. 背景

ベンゼンによる土壌・地下水汚染の対策として、好気的なバイオレメディエーションが行われているが、より省コスト・省エネルギーの嫌気条件下での分解にも期待が寄せられている。我々は嫌氣的ベンゼン分解としてメタン生成条件下でのベンゼン分解集積培養系の獲得に成功しており、実際のベンゼン汚染現場の対策に応用するために、ベンゼン分解培養系を少量注入するだけでもベンゼン分解を促進できる方法について研究を進めている。

これまでの研究において、実ベンゼン汚染地下水に対してクエン酸が主成分である脱塩素化資材を添加することにより、ベンゼン分解が促進されうること明らかにしている（高橋ら、2013）。しかしながら、別の実験系ではクエン酸の添加によりベンゼン分解が遅れる結果となることもあり、クエン酸の添加がベンゼン分解に及ぼす影響についてはクエン酸の分解の進行と関係がある可能性がある。本研究では、ベンゼン分解集積培養系をベンゼン汚染試料に添加する前に、先にクエン酸を用いて前培養を行い、クエン酸の分解後にベンゼンを加えることで、ベンゼン分解が促進させることができるかを検討した。

2. 実験の方法

(1) クエン酸による前培養

ベンゼン分解培養系をMilli-Q水により10倍希釈したのに対しクエン酸を添加し、終濃度360 mg/Lとした系Aと、36 mg/Lとした系Bをそれぞれ300 mL作成した。実験はバイアル瓶内で行い、気相を窒素と二酸化炭素の混合ガス（8:2）で置換し密栓した。培養は光が当たらないようにバイアル瓶をアルミホイルで覆って静置して行い、適宜pHおよび溶存有機炭素（DOC）濃度を測定した。

なお、これら測定用の試料を採取する際のみ培養系を撹拌した。また、培養前後のORP（銀/塩化銀電極基準電位）を測定した。

(2) ベンゼン分解試験

前培養においてクエン酸を分解させたのちに、ベンゼン分解培養系およびベンゼンを添加し、ベンゼン分解試験を行った。また、対照系として前培養液の代わりにMilli-Q水を用いたものを用意し、系Cとした。系A～Cの前培養試料に対するベンゼン分解培養系の割合は20%、10%、5%の3段階に設定した。すべての液量を15 mLとし、35 mLバイアル瓶に加え、気相を窒素と二酸化炭素と水素の混合ガス（8:1:1）で置換し密栓した。液相の初期ベンゼン濃度が2 mg/Lとなるようにベンゼン飽和水溶液を添加した。培養は30℃、暗所に静置して行い、前培養時と同様、分析用の試料を採取する前に撹拌を行った。pHは液相を採取して分析し、ベンゼンはヘッドスペース法により測定して液相濃度を計算し、気相のメタンの濃度を測定した。

3. 実験の結果

(1) クエン酸による前培養

図1 (a) に系Aの、図1 (b) に系Bのクエン酸による前培養のDOCの結果を示す。

系Aでは0日目にDOCの濃度が156 mgC/Lであった。添加したクエン酸360 mg/Lは135 mgC/Lに相当し、残りはベンゼン分解培養系から持ち込まれたDOC分である。33日後には5 mgC/Lとなり、44日後に4 mgC/Lとなった。この結果より、系Aでは添加したクエン酸が前培養の段階で完全に無機化されたとみなした。54日後に、ベンゼン分解試験に移行した。

系Bでは0日目にDOCの濃度が15.3 mgC/Lであり、うち添

加したクエン酸36 mg/Lは13.5 mgC/Lに相当している。33日後には6.4 mgC/Lとなった。減少量は8.9 mgC/Lであり、添加したクエン酸の一部は、無機化されず残っていると考えられた。しかし、それ以降51日経過後もDOCの濃度に大きな変化は見られなかったことから、54日後にベンゼン分解試験に移行した。

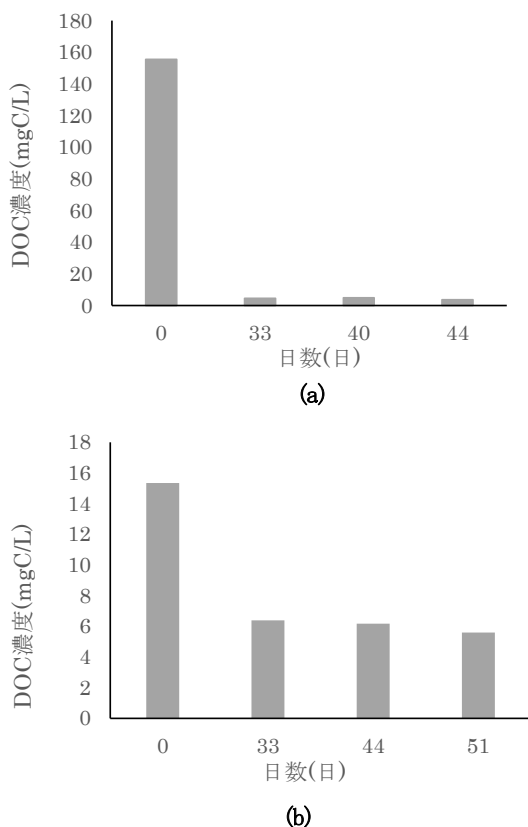


図1. クエン酸による前培養におけるDOCの結果 (a) 系A, (b) 系B

ORPについては0日目において、系Aでは-177 mV、系Bでは-157 mVであり、54日後において、系Aでは-289 mV、系Bでは-279 mVであった。系Aおよび系Bで0日目よりも54日後のほうがORPが低く、前培養を行ったことにより系内が還元的な環境に近づいていることが考えられる。

pHについては実験期間中を通じて6.3から7.0の範囲であり、クエン酸分解に伴う大きな変化はなかった。

(2) ベンゼン分解試験

ベンゼン分解試験において、すべての実験系でメタンの生成が確認された。図2 (a) ~ (c) に培養系の割合を20、10、5%とした場合のベンゼンの濃度の変化を示す。

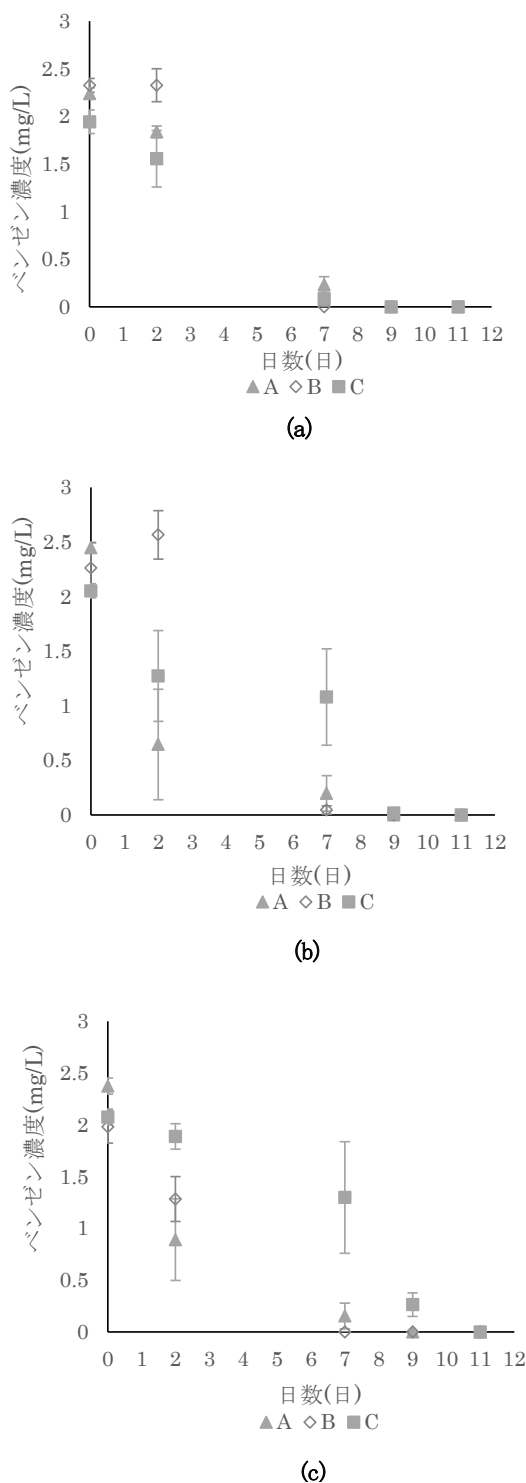


図2 ベンゼン分解試験の結果

- (a) 培養系の割合 20% (b) 培養系の割合 10%
 (c) 培養系の割合 5%
 (エラーバーは標準誤差 (n=3))

培養系の割合を20%としたもの（図2(a)）では、系Bにおいて2日後の濃度が実験開始時と差が見られなかったものの、それ以外の系Aと系C（対照系）において2日後からベンゼン濃度の減少が見られた。7日後にはすべての実験系においてベンゼンがおおむね分解しており、9日後には完全に分解された。

培養系の割合を10%としたもの（図2(b)）では、培養系を20%とした系と同じく、2日後の時点では系Bが最も分解が遅れていた。しかし、7日後にはほぼ完全に分解された。系Aについても7日後にはほぼ分解された。一方で系C（対照系）は7日後にも約半分のベンゼンが残っており、最も分解が遅かった。9日後で系Aと系Bのベンゼンは完全に分解され、系C（対照系）は11日後にベンゼンが完全に分解された。

培養系の割合を5%としたもの（図2(c)）でも、2日後では系Bよりも系Aのほうが分解の進行が速かった。7日後には系A、Bともほぼ分解が完了した。一方で系C（対照系）は培養系の割合10%のものと同様に7日後ではベンゼンが半分程度残存し、完全に分解されたのは11日後であった。

分解試験期間中pHに大きな変化はなく、すべての実験系において6.4から7.3の範囲であった。

4. 考察

ベンゼン分解試験において、すべての実験系でメタンの生成が確認されたので、ベンゼンは嫌氣的に分解されていたといえる。

また、ベンゼン分解試験において培養系の割合が20%のときには前培養した系(系A, B)と対照系(系C)のベンゼン分解に大きな差が見られなかったが、培養系の割合が10%、5%のときには前培養した系Aおよび系Bのほうが、系C（対照系）に比べて速く分解した。ベンゼン分解培養系は2 mg/Lのベンゼンを10日程度で分解する能力を持っている。培養系の割合を20%にした場合では前培養の有無にかかわらず同程度の分解速度が得られており、前培養による促進効果は明確でない。一方、培養系の割合が小さくなると、クエン酸を添加して前培養を行うことでベンゼン分解が促進されることがわかった。前培養することで、系内が還元的な環境になり、ベンゼン分解が促進されるようになった可能性が考えられる。ただし、前培養した液にはベンゼン分解培養系が含まれており、ベンゼン分解試験において、系C（対照系）に比べて、系Aおよび系Bのほうがベンゼン分解培養系が多く含まれている（培養系の割合が20、10、5%の系ではそれぞれ8、9、9.5%多い）。培養系の量の差がベンゼン分解の速さ

に影響を与えたという可能性も考えられる。

また、図1 (a)、(b)の結果より、前培養の段階で系Aではクエン酸およびその代謝産物（有機酸など）を完全に分解できていたと考えられるが、系Bではクエン酸およびその代謝産物が多少残っている状態で実験を開始したことになる。培養系の割合20、10%において、系Bの方が初期のベンゼン分解の開始が遅れたのは、残存している有機物によるものである可能性が考えられた。

5. 結論

ベンゼン分解集積培養系を、ベンゼン汚染試料に添加する前に、先にクエン酸を用いて前培養を行うことで、ベンゼン分解の促進効果が得られるかどうかを試験した。その結果、ベンゼン分解集積培養系の割合が10%、5%の場合には前培養を行わない場合に比べ、ベンゼン分解が早く完了したことから、ベンゼン分解集積培養系を用いたベンゼン汚染分解手法の一つとして活用できる可能性を示すことができた。

参考文献

高橋 惇太、栗栖 太、永井 宏征、岸 正博、春日 郁朗、古米 弘明. 実汚染地下水における嫌氣的ベンゼン分解に対するメタン生成ベンゼン分解集積培養系の添加効果. 日本水環境学会年会 講演集：p83; 2013