

電子受容体を利用した油含有土壌の 省力低コスト嫌気処理法の開発

河村大樹* 中村孝道*

電子受容体を利用した油含有土壌の嫌気処理は、好気処理と比較して省力化やコスト削減が期待できるが、どのような電子受容体が油分解に効果があるか不明である。そこで本論文では、油分解の嫌気処理に有効な電子受容体の種類について検討した。その結果、 NO_3^- および Fe^{3+} が油分解に有効であることが明らかになった。さらには、掘削後バイオレメディエーション工法（好気処理）に嫌気処理を適用し、好気処理と嫌気処理の組合せによる省力低コスト化処理工法を検討した。

キーワード：油含有土壌、バイオレメディエーション、嫌気処理、電子受容体

1. はじめに

鉱油類を含む土壌が存在する土地は、地表や周辺の水域に油臭・油膜が生じることで、その土地の所有者や周辺住民に悪影響を与えるため、往々にして問題視されている。当社においては2000年ごろから油含有土壌の浄化に関する研究を行っており、特に微生物分解（バイオレメディエーション）の研究開発に注力してきた^{1)~3)}。

バイオレメディエーションは微生物によって浄化を促す方法である。大別すると好気処理と嫌気処理があるが、処理の早い好気処理が主流となっている。好気処理には酸素供給が不可欠で、例えば汚染土壌を掘削せずその場で浄化するために、井戸から空気を注入することで微生物を活性化させる原位置浄化⁴⁾や汚染土壌を掘削して盛土し、盛土に対して吸気管の設置や重機による攪拌等によって空気を与え浄化を促す掘削後バイオレメディエーション⁵⁾などの工法がある。これらの工法は酸素を供給するためにランニングコストがかかることや、酸素供給が追い付かなければ嫌気環境を形成し、好気処理には不利な環境となることが問題点として挙げられる。

そこで、好気反応後に形成される嫌気環境を利用して嫌気処理を促すことで、酸素供給回数を減らし、ランニングコストの低減と省力化を図る工法を考案した。油を電子供与体、栄養塩（例えば NO_3^- 、 Fe^{3+} など）を電子受容体とした嫌気呼吸によって、電子供与体の酸化と電子受容体の還元の間で生じる供役反応により嫌気分解が進むと考えられる⁶⁾。ただし油分解に有効な電子受容体の種類、投与時期などについては十分な実験的検討がなされていない。

本研究では考案した処理工法のうち、油分解の嫌気処理に有効な電子受容体を検討するために、油含有土壌に対して種類の違う電子受容体を投与し、その違いが油分濃度の低減に与える影響を調査した。また、対象土壌に2種類の電子受容体を投与する場合に投与時期の違いが油分濃度の低減に与える影響を調査した。それらの結果を

もとに嫌気環境下における油含有土壌の油分解メカニズムを推定した。さらには、掘削後バイオレメディエーション工法（好気処理）に嫌気処理を適用した省力低コスト化処理工法について検討した。

2. 方法

2.1 試験方法

微生物の嫌気呼吸の主要プロセスである硝酸還元、鉄還元、硫酸還元反応の基質である各電子受容体とその投与時期を検討するために、2つの室内試験を行った。

2.1.1 バッチ試験1

バッチ試験1は嫌気反応を促進する電子受容体を検討するために行った。Photo.1に実験時の様子を示す。実験に供した土壌はタービンオイルを含んだ山砂（油分濃度：4,000mg/kg-dry程度）で含水比は18%程度である。実験条件をTable 1に示す。条件1-cは、当該油含有土壌30gに対し牛糞堆肥を微生物源として重量比で1%添加して作製した（control）。条件1-nは、条件1-cに対して重量比で0.125%の溶成燐肥と0.5%の硝酸カリウムを添加した。



Photo. 1 実験状況（バッチ試験1）

* 技術本部 技術研究所 循環工学研究室

Table 1 実験条件 (バッチ試験 1)

	compost	P	NO ₃ ⁻	Fe ³⁺	SO ₄ ²⁻
条件 1-c	○	-	-	-	-
条件 1-n	○	○	○	-	-
条件 1-f	○	○	-	○	-
条件 1-s	○	○	-	-	○

すなわち NO₃⁻ を電子受容体とした。条件 1-f は、条件 1-c に 0.125% の溶成燐肥と 0.5% のクエン酸鉄(III)アンモニウムを添加した。すなわち Fe³⁺ を電子受容体とした。条件 1-s は、条件 1-c に 0.125% の溶成燐肥と 0.5% の硫酸アンモニウムを添加した。すなわち SO₄²⁻ を電子受容体とした。作製した土壌はそれぞれバイアル瓶 (200ml 容) に入れて密閉し、それを条件 1-c では 3 本、その他の各条件では 4 本ずつ作製した。その後、恒温室 (30 °C) で静置し、0, 3, 6, 12 週目に油分濃度、化学成分の分析を行った。

2. 1. 2 バッチ試験 2

バッチ試験 2 はバッチ試験 1 の分析結果をもとに、嫌気条件において油分解を促進する複数の電子受容体を対象土壌に与えた場合に、投与時期の違いが油分濃度の低減に与える影響を調査するために行った。Photo. 2 に実験時の様子を、Table 2 に実験条件を示す。なお、実験に使用した油含有土壌はバッチ試験 1 と同じである。油含有土壌に対して 5 つの実験条件を与えた。条件 2-c では、当該油含有土壌 7,700g に対して牛糞堆肥を微生物源として重量比で 1% 添加した (control)。条件 2-n では、条件 2-c に対して重量比で 0.125% の溶成燐肥と 0.5% の硝酸カリウムを添加した。すなわち NO₃⁻ を電子受容体とした。条件 2-f は、条件 2-c に対して重量比で 0.125% の溶成燐肥と 0.5% のクエン酸鉄(III)アンモニウムを添加した。すなわち Fe³⁺ を電子受容体とした。条件 2-nf は、条件 2-n にさらに 0.5% のクエン酸鉄(III)アンモニウムを添加した。



Photo. 2 実験状況 (バッチ試験 2)

Table 2 実験条件 (バッチ試験 2)

	compost	P	NO ₃ ⁻	Fe ³⁺
条件 2-c	○	-	-	-
条件 2-n	○	○	○	-
条件 2-f	○	○	-	○
条件 2-nf	○	○	○	○
条件 2-nfa	○	○	○	○ (8 週後に添加)

すなわち NO₃⁻ と Fe³⁺ を電子受容体とした。条件 2-nfa では、条件 2-n に、8 週後に 0.5% のクエン酸鉄(III)アンモニウムを添加した。各条件における供試体はそれぞれステンレス缶に入れて嫌気チャンバー内 (圧力: 400~600kPa, 温度: 25°C, O₂: <0.02%) で養生した。その後、0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 週目に油分濃度、化学成分、全菌数の分析および DNA 解析を行った。

2. 2 評価方法

バッチ試験 1 は電子受容体投与による油分濃度の低減を調査するために行ったため、油分濃度、化学成分を分析した。バッチ試験 2 ではそれに加えて全菌数および DNA 解析を行うことで土中の微生物活性度なども評価した。

2. 2. 1 油分分析

電子受容体投与による油分濃度の低減を調査するために、バッチ試験 1 および 2 において油含有土壌の油分濃度を計測した。油分濃度の計測には試験体から土壌を採取し、赤外分光分析法による油分濃度計 (OCMA-350, 堀場製作所) を用いて測定した。

2. 2. 2 化学成分分析

油含有土壌の嫌気分解で消費される電子受容体と油分解との関係性を調べるため、バッチ試験 1 および 2 において各試験体の化学成分分析 (NO₃⁻ 濃度, 全鉄, Fe²⁺ 濃度, SO₄²⁻ 濃度) を行った。Table 3 に分析項目を示す。化学成分分析には、吸光光度計 (DR6000, HACH 社) を使用した。土壌から各成分を抽出するための方法は、既往の文献^{7), 8)} を参考に以下の方法で行った。硝酸塩等分析試料は土壌 1g に 5 mL の純水を加え、30°C で 1 時間往復振とう後、乾燥ろ紙でろ過し、ろ液を分析に供した。硫化物分析を行う際には水に対し必要量の塩基性炭酸亜鉛懸濁液を加えた。全鉄および第一鉄分析試料は土壌 1g に 5 mL の 0.1M 塩酸を加え、30°C で 1 時間往復振とう後、乾燥ろ紙でろ過し、ろ液を分析に供した。

2. 2. 3 全菌数測定

油含有土壌の嫌気分解での微生物数と油分解との関係性を調べるため、バッチ試験 2 において全菌数測定を行

Table 3 化学成分分析項目

	NO ₃ ⁻	total iron, Fe ²⁺	SO ₄ ²⁻
条件 1-c	○	○	○
条件 1-n	○	-	-
条件 1-f	-	○	-
条件 1-s	-	-	○
条件 2-c	○	-	-
条件 2-n	○	-	-
条件 2-f	-	○	-
条件 2-nf	○	○	-
条件 2-nfa	○	○	-

った。採取した土壌試料を滅菌水で希釈し、蛍光試薬 (SYBR Green I, Life Technologies) により菌体 (微生物細胞) を染色し、蛍光顕微鏡 (BZ-X700, キーエンス) による観察から試料中の菌数を計測した。

2. 2. 4 DNA 解析

油含有土壌の嫌気分解の進捗状況を判断するための指標となる微生物を探索するため、バッチ試験 2 において DNA 解析を行った。土壌 DNA 抽出キット (Extrap Soil DNA kit plus ver. 2, 新日鐵住金) を用いて油汚染土壌中の微生物由来 DNA を抽出した。抽出 DNA を鋳型とし 16S リボソーム RNA V4 領域 (プライマー: 515F-806R) を対象にした PCR を行い、増幅産物 (アンプリコン) を次世代 DNA シーケンサー (Miseq, Illumina) に供し、アンプリコン解析を行った。存在 (検出) 比率が 0.1% 以上の OTU (操作的分類単位, 遺伝子類似性から同一微生物種とみなした遺伝子配列データのまとまり) を対象とし、各土壌試料中に含まれる微生物群集の分子生態解析を行った。

3. 結果

3. 1 バッチ試験 1

嫌気呼吸促進による油分解効果のある電子受容体を選定するための試験を行った。

3. 1. 1 油分分析

Fig. 1 に嫌気浄化バッチ試験 1 の TPH (全石油系炭化水素: Total petroleum hydrocarbon) 残存率を示す。条件 1-c では、電子受容体の添加を行っておらず、嫌気状況下における油分解は 0 週目と 12 週目を比較して、進行していないことがわかる。条件 1-n, 条件 1-f, 条件 1-s を比較すると、TPH 残存率は、0 週目と 12 週目を比較して、条件 1-f ≒ 条件 1-s > 条件 1-n となった。種類によって油分濃度の低減に差はあるものの、電子受容体の添加によって油分解が進行することが分かった。

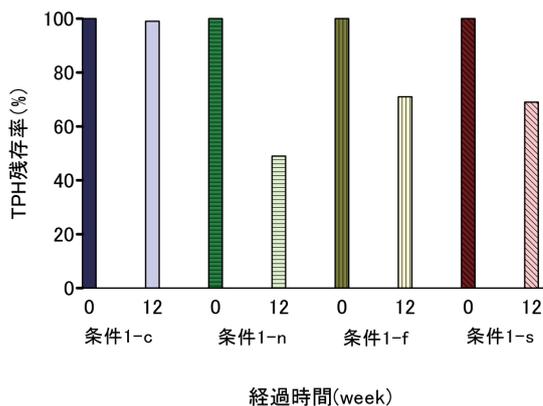
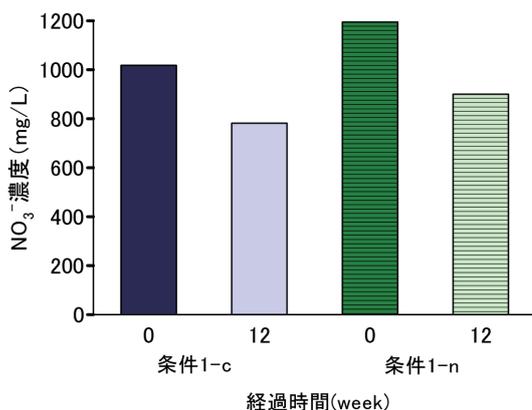
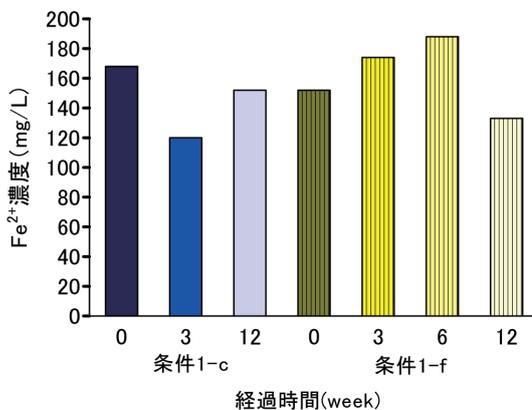


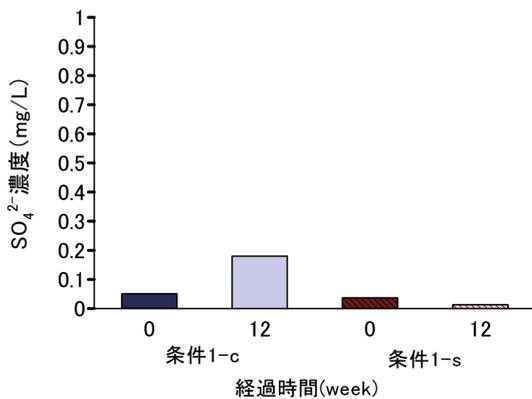
Fig. 1 TPH 残存率の経時変化 (バッチ試験 1)



(a) NO₃⁻ 濃度



(b) Fe²⁺ 濃度



(c) SO₄²⁻ 濃度

Fig. 2 化学成分分析結果 (バッチ試験 1)

3. 1. 2 化学成分分析

Fig. 2 に各実験条件における NO_3^- , Fe^{2+} , SO_4^{2-} 濃度の経時変化を示す。Fig. 2 (a) から、条件 1-c, 条件 1-n で NO_3^- 濃度が減少していることが分かる。一般的に硝酸還元反応（硝酸呼吸）が進行すると NO_3^- 濃度は減少するため、条件 1-c, 条件 1-n では硝酸還元反応が進行していた可能性が示唆された。なお、条件 1-c では牛糞堆肥中に含まれる硝酸塩成分が反応したと考えられる。

Fig. 2 (b) から、条件 1-f では 3~6 週目にかけて Fe^{2+} 濃度が微増していることが分かる。一般的に鉄還元反応（鉄呼吸）が進行すると Fe^{2+} 濃度は増加するため、条件 1-f では硝酸還元反応に加え鉄還元反応もわずかに進行していた可能性が示唆された。

Fig. 2 (c) から、 SO_4^{2-} はほとんど生成されていないことが分かる。硫酸還元反応が進行すると SO_4^{2-} が生成されるため、条件 1-s ではほとんど硫酸還元反応は進行していなかった可能性が示唆された。

これら化学成分の分析結果と油分分析結果 (Fig. 1) から、 NO_3^- と Fe^{3+} を電子受容体とした場合に、嫌気呼吸（硝酸還元および鉄還元）による油分解が進行する可能性が示された。対象土壌中の化学成分分析によって、油分解に寄与する電子受容体の消費あるいは反応生成物状況から嫌気呼吸の進行状況を確認できると考えられる。

3. 2 バッチ試験 2

バッチ試験 1 において嫌気呼吸による油分解効果が確認できた NO_3^- および Fe^{3+} について、組合せによる処理能力効率化を検討するための試験を行った。

3. 2. 1 油分分析

Fig. 3 に嫌気浄化バッチ試験 2 の TPH 残存率を示す。嫌気状況下における TPH 残存率は、0 週目と 12 週目を比較して条件 2-c ≒ 条件 2-n ≒ 条件 2-f ≒ 条件 2-nf > 条件 2-nfa となった。2 種類の電子受容体を同時に添加するよりも、 NO_3^- , Fe^{3+} の順に時間差で投与した場合に油分解効果が高くなった。

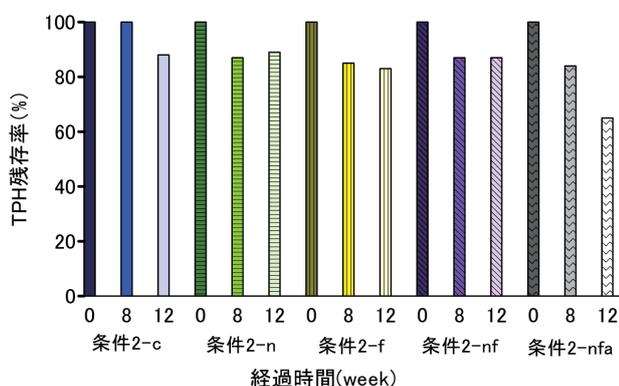


Fig. 3 TPH 残存率の経時変化 (バッチ試験 2)

3. 2. 2 化学成分分析

Fig. 4 に各条件の化学成分分析結果における化学成分の経時変化を示す。Fig. 4(a) から、条件 2-n, 条件 2-nf では NO_3^- 濃度は 0 週目と 12 週目を比べて減少している。これらの条件では硝酸還元反応が進行したと考えられる。一方、条件 2-nfa では NO_3^- 濃度は 8 週目までは減少している。このときは硝酸還元反応が進行していたと考えられる。12 週目に NO_3^- 濃度が増加しているのは、8 週目に投与したクエン酸鉄アンモニウムに起因すると考えられる。添加されたアンモニウムイオンと硝酸還元により生成された亜硝酸イオンが、嫌氣的アンモニア酸化プロセスにより NO_3^- に変換されたものと考えられる⁹⁾。

鉄分の分析結果 (Fig. 4(b)~(d)) から、条件 2-f および条件 2-nf では 8 週目以降、条件 2-nfa では 12 週目に鉄還元反応が進行していることが示された。

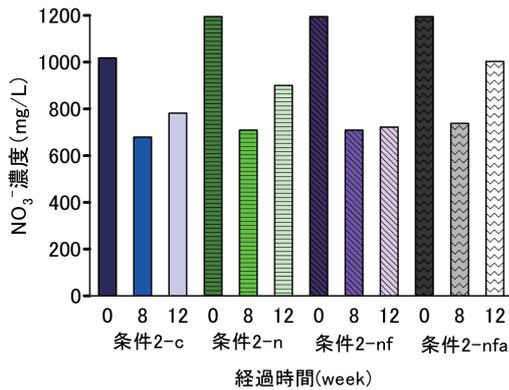
3. 2. 3 全菌数測定

Fig. 5 に全菌数測定結果を示す。条件 2-n 以外の条件では 0 週目以降、全菌数が増加した。特に条件 2-c, 条件 2-nfa では、0 週目と比べ 12 週目において 14.5 倍、12.6 倍と大幅に増加した。なお、0 週目の全菌数は、平均 4.3×10^8 (cells/g-soil) であり、最も多かった条件 2-c (12 週目) で 6.3×10^9 (cells/g-soil) であった。これらの原因は、硝酸還元や鉄還元に関わった微生物の増加、あるいは長期間嫌気環境にさらされていたことによる発酵微生物を中心とした雑菌の増加と考えられる。実際に条件 2-c は強烈な発酵臭があったため、雑菌の増加が推察できる。このように嫌気環境においては、全菌数の増加が油分濃度の低減に直結するわけではなく、油分解に関連する微生物種の増加あるいは変動が重要であると考えられる。詳細は次節で解説する。

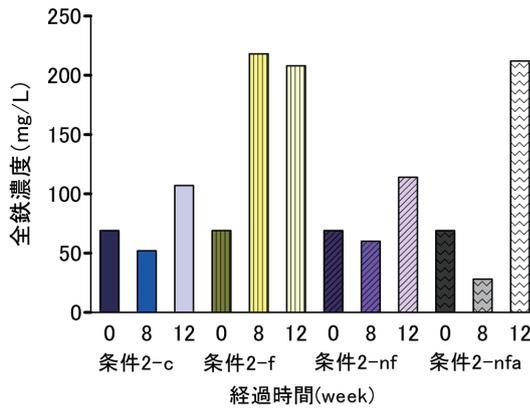
3. 2. 4 DNA 解析による微生物叢解析

解析対象は条件 2-c, 条件 2-nf, 条件 2-nfa とした。油分解の進行が最も遅かったのが条件 2-c で、油分解が最も進行したのが条件 2-nfa である。条件 2-nf でも油分解は進行したが、投入した電子受容体は同じであるにもかかわらず、TPH 残存率に差が出ている。つまり DNA 解析では、油分解に関連する特定の微生物種が条件 2-c では確認されず、条件 2-nf, 条件 2-nfa で確認され、さらに条件 2-nfa で電子受容体の投入前後で関連微生物種が特異的な挙動を示すかどうかについて着目した。

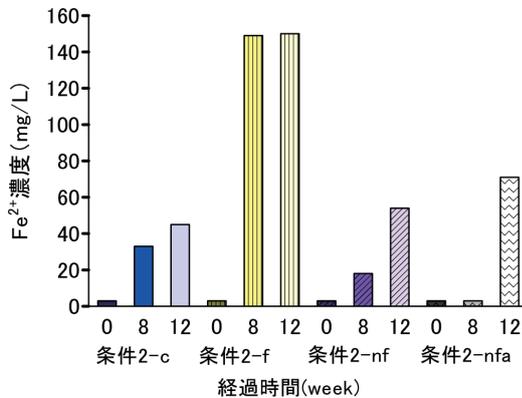
まず、Fig. 6 に DNA 解析結果の存在 (検出) 比率が 1% 以上の門レベルの分類群について示す。これは実験系に関わらず確認された微生物の全体的な特徴を表す。存在 (検出) 比率が 1% 以上の門レベルの分類群で最も大きい割合を占めたのはプロテオバクテリア (*Proteobacteria*) 門の 81.3% であった。プロテオバクテリア門は好気呼吸、嫌気呼吸、発酵など様々な代謝様式を持つ微生物群である¹⁰⁾。次点はアキドバクテリウム (*Acidobacteria*) 門の 6.9%



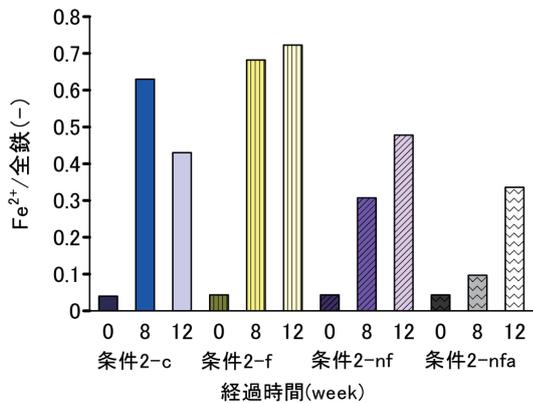
(a) NO₃⁻濃度



(b) 全鉄濃度



(c) Fe²⁺濃度



(d) Fe²⁺/全鉄

Fig. 4 化学成分分析結果 (バッチ試験2)

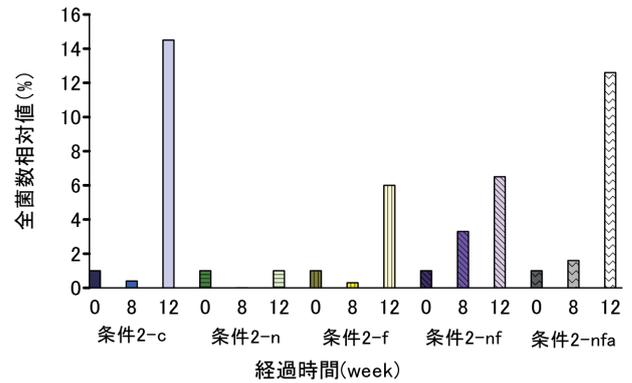


Fig. 5 試験土壌中の全菌数推移 (バッチ試験2)

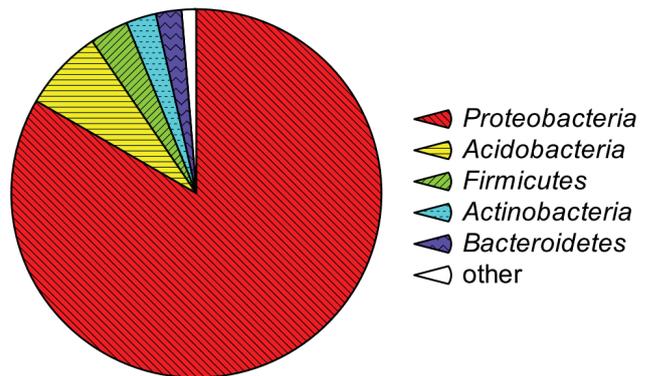


Fig. 6 存在(検出)比率が1%以上の門レベル分類群

続いてフィルミクテス (*Firmicutes*) 門の 3.2%であった。アキドバクテリウム門は土壌や泥岩などから検出されることが多い微生物群である¹⁰⁾。フィルミクテス門には好気～通性嫌気性微生物であるバチルス (*Bacillus*) 属などが含まれる¹⁰⁾。以上より、バッチ試験2の試験体には、嫌気呼吸を行う微生物種が比較的多く含まれていることが分かった。

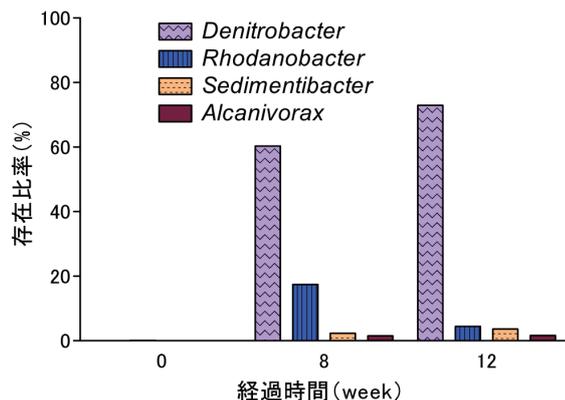
次に、条件2-cでは存在が確認されず、条件2-nf、条件2-nfaでのみ存在が確認できた微生物種(属レベル)、すなわち油分解に関連すると推察される微生物種を抽出した (Table 4)。また、これらの微生物種の存在比率の経時変化を Fig. 7 に示した。

Denitrobacter は脱窒能を有すると推定されている¹¹⁾。酢酸を炭素源として添加している窒素除去用排水処理リアクター内に生息が確認¹²⁾されており、有機酸を分解して脱窒反応を行っていると考えられる。条件2-nfでは8週目以降顕著に増加しており、実験期間を通して支配的に存在していた。条件2-nfaでは8週目以降存在が確認されるが、12週目に顕著な増加が見られた。他の微生物による発酵により生成した有機酸を利用して増殖したものと考えられるが、投与したクエン酸鉄のクエン酸を利用して脱窒反応を行った可能性も考えられる。

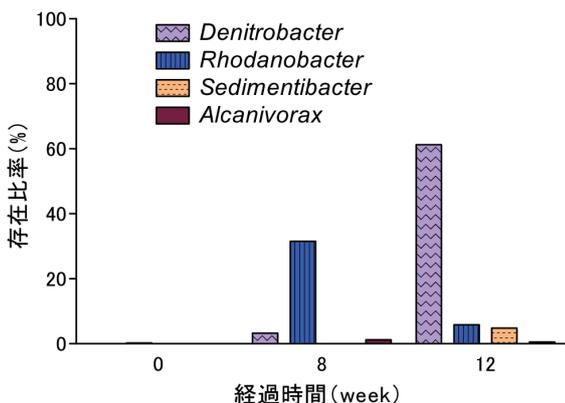
Rhodanobacter は土壌に生息する硝酸還元微生物である¹³⁾。条件2-nfでは8週目以降安定的に存在し、条件2-nfaでは8週目で高い存在比を占めていた。投与したNO₃⁻

Table 4 条件 2-nf および 2-nfa に特異的に存在する微生物種

微生物種 (属)	予想される機能
1 <i>Denitrobacter</i>	脱窒 ¹¹⁾ , 有機酸代謝 ¹²⁾
2 <i>Rhodanobacter</i>	硝酸還元 ¹³⁾
3 <i>Sedimentibacter</i>	偏性嫌気, 有機酸発酵 ¹⁴⁾ , 鉄還元 ¹⁵⁾ , ベンゼン分解 ¹⁶⁾
4 <i>Alcanivorax</i>	アルカン分解 ¹⁷⁾ , 一部硝酸還元 ¹⁸⁾



(a) 2-nf



(b) 2-nfa

Fig. 7 各実験条件における特徴的な挙動を示した微生物の経時変化

を電子受容体として利用し増殖したことが示唆される。

Sedimentibacter は酸素の存在が致命的となる偏性嫌気性微生物であり、有機酸発酵能を持つ¹⁴⁾。また、一部の種においては鉄還元能を持つことが示されている¹⁵⁾。さらに、油成分である芳香族炭化水素（ベンゼン）を分解する可能性が指摘されている¹⁶⁾。条件 2-nf では 8 週目以降に、条件 2-nfa では 12 週目に存在が確認できる。投与した Fe^{3+} を電子受容体として利用し増殖したことが示唆される。

Alcanivorax は油成分である直鎖および分岐鎖炭化水素（アルカン）を分解する好気性微生物¹⁷⁾として知られているが、一部の種では硝酸還元能を有することが指摘されている¹⁸⁾。条件 2-nf では 8 週目以降に、条件 2-nfa

では 8 週目に存在がわずかに確認された。投与した NO_3^- を電子受容体として利用し増殖したことが示唆される。

4. 考察

4. 1 嫌気呼吸による油分解メカニズム

バッチ試験 1 および 2 の結果より油含有土壌は嫌気状況下で堆肥と電子受容体を投与すると、油分濃度が低減することが分かった。特に NO_3^- および Fe^{3+} を投与した際に油分解が促進した。油分解に伴う NO_3^- の減少および Fe^{2+} の増加、さらには硝酸還元および鉄還元能を持つと推定される微生物種が浄化対象土壌中に検出されていることから、電子受容体投与による硝酸還元および鉄還元反応の促進により土壌中の油分解が進行したことが示唆される。

本実験における油分解のメカニズムを 3.2.4 の結果から Fig. 8 のように推察した。条件 2-nf では、まず、硝酸還元反応に伴い炭化水素が酸化分解され、あるいは発酵により分解され酢酸を始めとする有機酸を生成する。さらに、有機酸は脱窒反応および発酵に伴い無機化される。鉄還元反応はあまり起こっていないと考えられる。条件 2-nfa でも同様の反応過程をたどるが、 Fe^{3+} 投与後には鉄還元反応による炭化水素分解が活発になると考えられる。

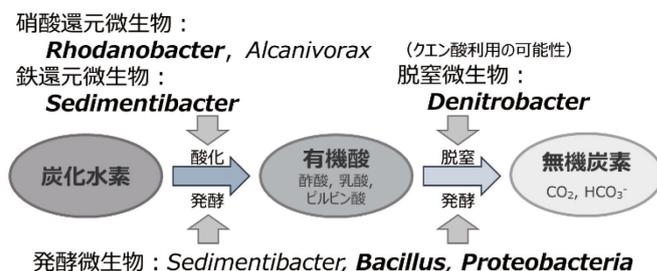


Fig. 8 バッチ試験 2 における油分解メカニズム

(太字：主として反応に寄与したと考えられる微生物)

嫌気的な反応によるバイオレメディエーションについては、硝酸還元環境における *Dechloromonas* RCB 株や *Azoarcus* 属によるベンゼン分解が報告されている^{19), 20)}。しかし、硝酸還元微生物や鉄還元微生物が直接的に土壌のバイオレメディエーションに利用されている例は確認されていない。

4. 2 嫌気反応を促進するための電子受容体の選択

硝酸還元および鉄還元反応によって、嫌気条件下でも油分解が促進された。加えて、2 種類の電子受容体を同時に投与した場合に比べ、 NO_3^- , Fe^{3+} の順に時間差で投与した場合に油分解効果が最も高いことが分かった。微生物による嫌気呼吸は、酸化還元環境に応じた反応プロセスがあり、各嫌気呼吸プロセスに適した酸化還元電位 (ORP) が存在する (Fig. 9)。鉄還元のほうがより還元的・嫌気

的な環境を必要としている。2種類の電子受容体を同時に投与した条件 2-nf では、活性自体は低いものの硝酸還元反応が支配的になったために、鉄還元反応が起こりやすい酸化還元環境に達しなかったものと考えられる。一方、 NO_3^- 、 Fe^{3+} の順に時間差で投与した条件 2-nfa では、段階的に還元的な環境が形成されることで、硝酸還元、鉄還元の順にそれぞれの反応が十分に機能したものと考えられる。

浄化対象土壌のORPを測定して酸化還元環境を把握し、その環境に適した電子受容体を投与すれば効率的に嫌気処理を促進できると考えられる。また、好気処理において酸素が消費され嫌気条件になったときの酸化還元電位によって、適切な電子受容体種を選択的投与することで嫌気反応に切り替える嫌気処理工法の開発が期待できる。

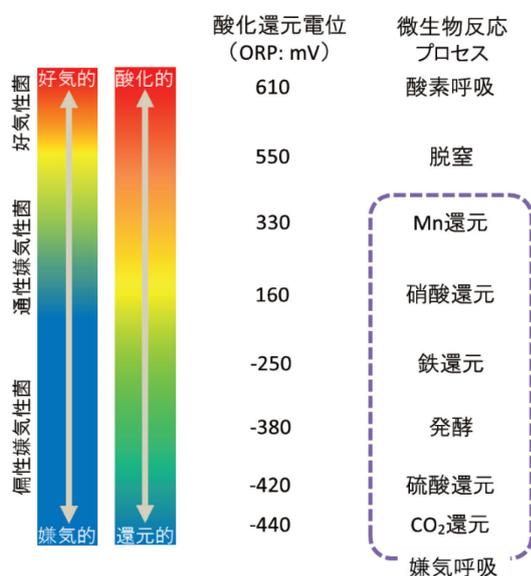


Fig.9 バッチ試験2における油分解メカニズム (Aquatic Chemistry²¹⁾を一部改変)

4.3 掘削後バイオレメディエーションにおける嫌気的処理の適用

実際の掘削後バイオレメディエーション工法に嫌気処理を適用した処理工法について検討した。本検討では掘削後バイオレメディエーションのランドファーミング工法に嫌気処理を適用させることを想定した。ランドファーミング工法は油汚染土壌を盛土し、油圧ショベル等の重機で盛土を攪拌切り返すことで酸素を供給し浄化を促す。酸素を供給することによって好気性微生物が活性化し、油分解が促進される。一方で、酸素の供給が追いつかなくなり内部の酸素濃度が低下する事象がしばしば見受けられる。この問題を解決するために、分解が停滞するタイミングで酸素供給をストップし、嫌気処理に切り替える。具体的には、油含有土壌に対して所定量の微生物、栄養塩を混合したのちに盛土を形成する。1週間後、酸素供給により好気反応させる。その際、嫌気分解を効率化さ

せる添加材(電子受容体)を混合する。これによって好気反応後に形成される嫌気的環境をそのまま嫌気処理による浄化反応場として利用できる。

現在、上記の適応性を確認するための実証試験を実施中である(Photo.3)。その中で電子受容体の投与時期、酸素濃度が枯渇した土壌内部の酸化還元電位などを明らかにしていきたい。



Photo.3 省力低コスト嫌気処理法実証試験

5. まとめ

本研究では油分解の嫌気処理に有効な電子受容体を検討するために、油含有土壌に対して種類の違う電子受容体を投与し、その違いが油分濃度の低減に与える影響を調査した。また、電子受容体を対象土壌に複数与える場合に投与時期の違いが油分濃度の低減に与える影響を調査した。その結果、以下の知見を得た。

- 1) バッチ試験1には電子受容体として NO_3^- を投与したとき、バッチ試験2においては電子受容体として NO_3^- 、 Fe^{3+} の順に投与したときに油分濃度が低減することが明らかとなった。
- 2) 硝酸還元反応と鉄還元反応は嫌気処理に関与していることが分かった。
- 3) 対象浄化サイトの酸化還元環境に応じて電子受容体を選択することで嫌気処理を効率化する可能性を見出した。
- 4) 掘削後バイオレメディエーションのランドファーミング工法(好気処理)に嫌気処理を組み合わせることで省力低コストな土壌浄化が期待できる可能性を見出した。

考案した好気処理と嫌気処理を組合せた油含有土壌処理工法は、電子受容体を添加するだけで土壌中に生息する微生物群を活性化し油分解を効率化することができる。すなわち自然が元来持つ浄化能力を引き出す技術であり、省力化による環境負荷低減や低コスト化だけでなく、環境調和型浄化技術となると考えられる。

参考文献

- 1) 土路生修三ほか：難透気性油汚染土壌の生物処理に関する研究，熊谷組技術研究報告，第61号，pp.35-42，2002.
- 2) 土路生修三ほか：原位置オプト・バイオ土壌浄化システムに関する基礎的研究，熊谷組技術研究報告，第67号，pp.11-18，2008.
- 3) 河村大樹ほか：数値解析を援用したバイオレメディエーションの設計手法と解析パラメータ取得法の提案，土木学会論文集 G(環境)，No75，pp.75-86，2019.
- 4) 東京都環境局：中小事業者のための土壌汚染対策ガイドライン(改訂版)，p.39，2014.
- 5) (社) 土壌環境センター：環境省の油汚染対策ガイドライン，化学工業日報社，pp.178-179，2006.
- 6) 中村孝道：地球環境問題解決に寄与する技術開発を目指した研究開発の取り組み-持続可能な循環型社会を実現するための基盤技術開発-，実験力学 Vol.19，No.4，pp.269-275，2019.
- 7) 小田原孝治，和田信一郎：土壌診断のための土壌科学の基礎，2011
- 8) 岡崎正規：土壌環境分析法，博友社，pp.343-353，1997.
- 9) 押木守ほか：嫌気性アンモニア酸化 (anammox) 細菌の廃水処理への適用，Journal of environmental biotechnology, Vol. 14. No. 1, pp. 21-29, 2014.
- 10) 横田明：微生物分類同定講座，<https://www.mitsui-norin.co.jp/mmid/knowledge/yokota/index4.html>
- 11) Alejandro, R. S., et al. : Process performance and bacterial community dynamics of partial-nitrification biofilters subjected to different concentrations of cysteine amino acid, Biotechnology Progress, Vol. 32, Issue5, pp. 1254-1263, 2016.
- 12) Etchebehere C., et al. : Evolution of the bacterial community during granules formation in denitrifying reactors followed by molecular, culture-independent techniques." Water Science and Technology, Vol. 48.No. 6, pp. 75-79, 2003.
- 13) Cho G-Y., et al. : *Rhodanobacter rhizosphaerae* sp. nov., isolated from soil of ginseng rhizosphere, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Vol. 67, No. 5, pp. 1387-1392, 2017.
- 14) Breitenstein A. et al. : Reclassification of *Clostridium hydroxybenzoicum* as *Sedimentibacter hydroxybenzoicus* gen. nov., comb. nov., and description of *Sedimentibacter saalensis* sp. nov., International journal of systematic and evolutionary microbiology, Vol. 52, No. 3, pp. 801-807, 2002.
- 15) List C., et al. : Impact of iron reduction on the metabolism of *Clostridium acetobutylicum*, Environmental microbiology Vol. 21, No. 10, pp. 3548-3563, 2019.
- 16) 酒井名朋子：メタン生成ベンゼン分解条件下における Syntrophus 属類縁菌の関与と挙動の解析，博士論文．東京大学，2008.
- 17) nite ホームページ：石油分解菌の特性説明，https://www.nite.go.jp/nbrc/industry/other/bioreme2009/result/bct_result_3.html
- 18) Fernández-Martínez J., et al. : Description of *Alcanivorax venustensis* sp. nov. and reclassification of *Fundibacter jadensis* DSM 12178^T (Bruns and Berthe-Corti 1999) as *Alcanivorax jadensis* comb. nov., members of the emended genus *Alcanivorax*, International journal of systematic and evolutionary microbiology, Vol. 53, No. 1, pp. 331-338, 2003.
- 19) Chakraborty, R., et al. : Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB, Appl. Environ. Microbiol, Vol. 71, pp. 8649-8655, 2005.
- 20) 高畑陽：ベンゼン汚染土壌・地下水の好氣的及び嫌氣的バイオレメディエーション技術の開発，環境バイオテクノロジー学会誌，Vol. 13, No. 2, pp. 111-116, 2013.
- 21) Stumm W. and Morgan J.J : Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters, Wiley-Interscience, p. 474, 1996.

Development of Low-cost Anaerobic Microbial Degradation Technique Using Electron Acceptor for Oil Contaminated Soil

Daiki KAWAMURA and Takamichi NAKAMURA

Abstract

Anaerobic treatment of oil contaminated soil using an electron acceptor can save cost more than aerobic treatment. However, it has not been known what kind of an electron acceptor is effective for the oil degradation. In this paper, we attempt to determine the effective type of electron acceptors for the anaerobic treatment of oil contaminated soil. It can be then found that both ions of NO_3^- and Fe^{3+} are effective for the oil degradation. Furthermore, we proposed an effective hybrid treatment of oil contaminated soil using aerobic and anaerobic treatments.

Key words: Oil Contaminated Soil, Bio-remediation Anaerobic Microbial Degradation, Electron Acceptor,