

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4964844号
(P4964844)

(45) 発行日 平成24年7月4日 (2012.7.4)

(24) 登録日 平成24年4月6日 (2012.4.6)

(51) Int.Cl.	F I
B 0 9 C 1/10 (2006.01)	B 0 9 B 3/00 Z A B E
A 6 2 D 3/02 (2007.01)	A 6 2 D 3/02
C 1 2 N 1/00 (2006.01)	C 1 2 N 1/00 R
C 0 9 K 17/32 (2006.01)	C 0 9 K 17/32 Z
C 0 9 K 17/02 (2006.01)	C 0 9 K 17/02 Z
請求項の数 4 (全 9 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2008-213984 (P2008-213984)	(73) 特許権者	000002004
(22) 出願日	平成20年8月22日 (2008.8.22)		昭和電工株式会社
(65) 公開番号	特開2010-46623 (P2010-46623A)		東京都港区芝大門1丁目13番9号
(43) 公開日	平成22年3月4日 (2010.3.4)	(74) 代理人	100081086
審査請求日	平成23年6月3日 (2011.6.3)		弁理士 大冢 邦久
微生物の受託番号	IP0D FERM P-21400	(74) 代理人	100121050
			弁理士 林 篤史
		(72) 発明者	藤田 一郎
			神奈川県川崎市川崎区大川町5-1 昭和電工株式会社内
		(72) 発明者	山本 進二
			神奈川県川崎市川崎区大川町5-1 昭和電工株式会社内
		審査官	小久保 勝伊
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 汚染土壌の浄化方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

微生物による分解活性を利用するバイオレメディエーション処理を用いた汚染土壌の浄化方法において、

酸素放出剤として過酸化カルシウム及び／または過酸化マグネシウム、中和剤としてコハク酸、クエン酸、ピルビン酸、マレイン酸、フマル酸、乳酸、酢酸、蟻酸、シュウ酸、リンゴ酸、グルコン酸、酒石酸から選ばれる少なくとも一種の有機酸、または有機酸とその塩の混合物を汚染土壌に添加することにより、pHを5～9に保持し、かつ溶存酸素を0 ppmより大きくし、

微生物の栄養源として酵母エキス及び／またはペプトンを用い、

浄化する対象汚染物質がシアン化合物であり、

アースロバクター (Arthrobacter) 属に属し、シアン化合物の分解活性を有する微生物をさらに添加することを特徴とする汚染土壌の浄化方法。

【請求項2】

前記バイオレメディエーション処理開始後、溶存酸素が低下して0 ppmになるまでの間に、酸素放出剤及び中和剤を、処理土壌のpHが5～9になるように追添加する請求項1に記載の汚染土壌の浄化方法。

【請求項3】

前記バイオレメディエーション処理開始後、中和剤を、処理土壌のpHが5～9になるように追添加する請求項1または2に記載の汚染土壌の浄化方法。

【請求項 4】

アースロバクター (Arthrobacter) 属に属する微生物が、アースロバクター・エスピー (Arthrobacter sp.) No.5 菌株 (FERM P-21400 号) である請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微生物による分解活性を利用する汚染土壌の浄化方法に関する。さらに詳しくは、土壌の好気性と中性領域の pH を保持して好気性微生物を活性化して浄化する汚染土壌の浄化方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

2003 年の土壌汚染対策法施行 (= 以下「土対法」とする) を契機に、土壌汚染の浄化事例は増加傾向にあり、その浄化方法として、微生物の分解活性を利用したバイオレメディエーションの技術開発が進められてきている。

【0003】

バイオレメディエーションにおいて、特にシアン化合物や油類などの浄化のような好気性微生物を活用して行う浄化を短時間で効率的に実現するには、微生物の分解活性を高める好気性環境や中性領域の pH 環境を作り、その状態を持続させることが重要な鍵となる。

20

【0004】

好気的条件下での微生物による汚染土壌の浄化方法として、土壌を活性汚泥の溶液によりスラリー状態にして、そのスラリーを反応槽で酸素供給と攪拌により好気状態を保持して浄化する方法が知られている (特許第 3820180 号公報; 特許文献 1 参照)。また、酸素供給装置を必要としない好気状態を維持する方法として、土壌に脂肪族塩塩素化合物分解菌とともに過酸化水素や過酸化カルシウム、過酸化マグネシウムなどの酸素放出剤を散布する方法が提唱されている (特開平 6-226230 号公報; 特許文献 2 参照)。また、酸素供給するための装置や設備を設置せずに好気性を維持する処理として、汚染土壌中に過氧化物等の酸素放出剤を添加する方法が知られている (特許第 3961193 号公報; 特許文献 3 参照)。

30

【0005】

しかしながら、特許文献 1 における浄化は処理後に脱水工程を必要とし、設備と処理の負荷がかかる。

特許文献 2 では、液剤である過酸化水素の酸素放出の長期持続性については言及されておらず、また、過氧化物である過酸化カルシウム、過酸化マグネシウムの酸素放出に伴う pH 上昇対策についても言及されていない。

特許文献 3 には過氧化物の酸素放出に伴う pH 上昇対策が記載されているが、処理対象土壌の下層に過氧化物を装填する方法をとり、対象土壌の分解阻害を防止しているだけで、装填した下層での pH 上昇に対する対策はなされておらず、アルカリが残留することになる。

40

以上のことから、酸素放出剤添加手法において好気性と中性領域 pH を両立し、かつそれを持続することを可能とする、効率的な好気性土壌浄化方法を確立することが望まれていた。

【0006】

【特許文献 1】 特許第 3820180 号公報

【特許文献 2】 特開平 6-226230 号公報

【特許文献 3】 特許第 3961193 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

50

本発明は、酸素放出剤添加手法において好気性と中性領域 pH を両立し、かつそれを持続することを可能とする、効率的な好気性細菌による土壌浄化方法の提供をその目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、酸素放出剤としてアルカリ土類金属過酸化物、中和剤として生分解性の酸とその塩を添加することにより、好気性と中性 pH を両立し持続できることを見出し、本発明を完成した。

【0009】

すなわち、本発明の汚染土壌の浄化方法は、下記 1～12 の実施態様を含む。

10

〔1〕微生物による分解活性を利用するバイオレメディエーション処理を用いた汚染土壌の浄化方法において、酸素放出剤として第 2 族金属過酸化物、中和剤として酸または酸とその塩の混合物を汚染土壌に添加することの特徴とする汚染土壌の浄化方法。

〔2〕前記酸素放出剤として用いる第 2 族金属過酸化物が、過酸化カルシウム及び／または過酸化マグネシウムである前記 1 に記載の汚染土壌の浄化方法。

〔3〕前記中和剤が、有機酸または有機酸とその塩の混合物である前記 1 または 2 に記載の汚染土壌の浄化方法。

〔4〕前記有機酸または有機酸とその塩の混合物が、コハク酸、クエン酸、ピルビン酸、マレイン酸、フマル酸、乳酸、酢酸、蟻酸、シュウ酸、リンゴ酸、グルコン酸、酒石酸から選ばれる少なくとも一種の有機酸、または有機酸とその塩の混合物である前記 1 乃至 3 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

20

〔5〕前記酸素放出剤と中和剤の添加により、pH を 5～9 に保持し、かつ溶存酸素を 0 ppm より大きくする前記 1 乃至 5 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

〔6〕前記バイオレメディエーション処理開始後、溶存酸素が低下して 0 ppm になるまでの間に、酸素放出剤及び中和剤を、処理土壌の pH が 5～9 になるように追添加する前記 1 乃至 5 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

〔7〕前記バイオレメディエーション処理開始後、中和剤を、処理土壌の pH が 5～9 になるように追添加する前記 1 乃至 6 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

〔8〕微生物の栄養源として、酵母エキス及び／またはペプトンを用いる前記 1 乃至 7 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

30

〔9〕浄化する対象汚染物質がシアン化合物、油類、及び／または揮発性有機化合物である前記 1 乃至 8 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

〔10〕さらに、浄化する対象汚染物質の分解活性を有する微生物を添加する前記 1 乃至 9 のいずれかに記載の汚染土壌の浄化方法。

〔11〕浄化する対象汚染物質がシアン化合物であり、添加するシアン化合物分解活性を有する微生物がアースロバクター (Arthrobacter) 属に属する微生物である前記 10 に記載の汚染土壌の浄化方法。

〔12〕アースロバクター (Arthrobacter) 属に属する微生物が、アースロバクター・エスピー (Arthrobacter sp.) No.5 菌株 (FERM P-21400 号) である前記 11 に記載の汚染土壌の浄化方法。

40

【発明の効果】

【0010】

本発明の土壌浄化方法を用いれば、効率的かつ経済的に、好気性微生物を利用するバイオレメディエーションによる土壌浄化処理を行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

以下、本発明についてより詳細に説明する。

本発明では、好気性微生物による土壌浄化処理を、土壌への酸素放出剤、中和剤等を添加して行うものである。土壌への酸素放出剤、中和剤等の添加方法や実施スケールは特に限定されず、土壌浄化における公知の方法で行うことができる。

50

【0012】

添加する酸素放出剤、中和剤等は水溶液、粉末のいずれでも構わないが、水溶液の場合でも粉末の場合でも土壤に拡散・浸透するよう混和することが好ましい。水溶液で添加する場合は、増加した水分を抜き出してもよい。

【0013】

処理温度は成り行きで行うが、ラボスケールで浄化性能を定量的に確認する場合には、恒温槽等に土壤サンプルを入れて5～50℃、好ましくは15～35℃の温度に制御して行うことができる。

【0014】

酸素放出剤、中和剤等を添加するタイミングは、好気性と中性領域pHを両立する範囲においては特に限定されず、各成分を別々のタイミングで添加しても、全成分同時に添加してもいずれでも構わない。また、その添加回数も限定されない。好気性と中性領域pHの両立の観点で考えると全成分を同時に添加することが好ましい。

10

【0015】

[酸素放出剤]

土壤に栄養源を添加した場合、好気性微生物が栄養源を代謝するに伴い土中の酸素は消費され、嫌気状態となり、好気性微生物の生育とその分解活性はやがて大きく低減してしまう。このような浄化性能の低下を回避し、好気状態を保持するためには設備を設置しての酸素添加や、重機による土壤混和の繰り返し施工を行うことが有効であるが、これらは費用負担が大きい。

20

【0016】

そこで、本発明では上記費用負担を軽減できる手法として酸素放出剤添加を行う。酸素放出剤は、水に溶解すると酸素を放出し、かつ難水溶性で長期にわたり酸素放出が持続するという理由により、周期表の第2族金属(Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra)の過酸化物を使用する。第2族金属過酸化物としては、例えば過酸化カルシウム、過酸化マグネシウム、あるいはこれらの混合物を用いることが、経済性と酸素放出性の観点から好ましい。また添加濃度は、通常土壤に対して0.001～2.0w/w%、望ましくは0.01～0.5w/w%程度で用いることができる。

【0017】

[中和剤]

上述の酸素放出剤を土壤に添加すると、アルカリ土類金属の過酸化物が水に溶解し、酸素を放出すると同時に水酸化物が生成される。この水酸化物によるpH上昇、及び微生物の生育・分解活性の低下を回避するため、本発明では中和剤として酸または酸とその塩の混合物を用いる。

30

このような酸としては、例えば、コハク酸、クエン酸、ピルビン酸、マレイン酸、フマル酸、乳酸、酢酸、蟻酸、シュウ酸、リンゴ酸、グルコン酸、酒石酸などから選ばれる少なくとも一種の有機酸または有機酸とその塩の混合物を用いることが好ましい。生分解性の有機酸、有機酸塩は微生物の栄養源にもなり、分解活性を高めることができる。また、これらの有機酸が微生物に分解された場合、その結果発生する二酸化炭素によりアルカリ土類金属の水酸化物は炭酸塩となるため、中和の効果も損なわれることがない。

40

【0018】

中和剤は、一般的に微生物が生育と活性化の挙動を中性領域で最もよく示すことから、pHが5～9になるようにその量を添加することが好ましい。また、中和剤は弱酸及びその塩の混合した緩衝液として添加することもできる。

【0019】

[栄養源]

上記酸素放出剤、中和剤以外の添加剤として通常のバイオレメディエーション処理同様に、炭素源、窒素源等の微生物の栄養源を汚染土壤に添加することができる。添加する栄養源は、微生物の菌数と分解活性を維持できるものであれば特に限定されない。

【0020】

50

炭素源としては、例えばグルコースやシュクロース、フルクトース、廃糖蜜等の糖類等を、単独、あるいは組み合わせることにより、通常土壌に対して0.001~2.0w/w%、好ましくは0.01~0.05w/w%程度の濃度で用いることができる。

【0021】

窒素源としては、例えばペプトン、酵母エキス、肉エキス、アンモニア、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、硝酸ナトリウム、硝酸カリウムまたは尿素等を単独、あるいは組み合わせることにより、通常土壌に対して0.001~2.0w/w%、望ましくは0.01~0.05w/w%程度の濃度で用いることができる。

【0022】

さらに必要に応じて、リン酸1水素カリウム、リン酸2水素カリウム等のリン酸塩、硫酸マグネシウム、硫酸第一鉄、酢酸カルシウム、塩化マンガンなどの金属塩、ビタミン類、アミノ酸、核酸等の供給源となるビオチン、チアミン等を添加することもできる。

【0023】

これらの栄養源の中では、菌数増大効果が大きい天然物である酵母エキス及び／またはペプトンを用いることがより好ましい。

【0024】

[菌の添加]

本発明では、酸素放出剤、中和剤、栄養剤の他に、浄化対象物の分解活性を有する微生物を添加して行うこともできる。

添加する微生物の濃度は、分解活性が発現できれば限定されないが、土壌への拡散、浸透と分解活性の両立を考慮すると、 $10^6 \sim 10^9$ 個/gが好ましく、特に $10^7 \sim 10^8$ 個/gがより好ましい。

【0025】

シアン分解、油類、揮発性有機化合物の分解に添加することの出来る微生物の種類としては、*Achromobacter*属、*Acinetobacter*属、*Aeromonas*属、*Arthrobacter*属、*Bacillus*属、*Corynebacterium*属、*Pseudomonas*属、*Beneckea*属、*Brevibacterium*属、*Flavobacterium*属、*Fusarium*属、*Methylobacter*属、*Methylobacterium*属、*Methylococcus*属、*Micromonospora*属、*Nocadia*属、*Pseudomonas*属、*Scytalidium*属、*Vibrio*属などが利用できる。特にシアン分解には*Arthrobacter*.sp.No.5(FERM P-21400号)を用いることが好ましく、油類の分解には*Pseudomonas*属の微生物を用いることが好ましく、揮発性有機化合物の分解には*Acinetobacter*属の微生物を用いることが好ましい。

このうち、シアン分解に好ましく用いられるアースロバクター・エスピー (*Arthrobacter* sp.) No.5菌株は、平成19年10月18日付で独立行政法人産業総合研究所特許生物寄託センターに受領番号：FERM P-21400号として寄託されている。

【0026】

[追添加]

バイオレメディエーション処理開始後、溶存酸素が低下しはじめて0ppmになるまでの間に、処理土壌のpHが5~9になるように酸素放出剤及び中和剤を適宜追添加することができる。

【0027】

[浄化対象物質]

本発明で浄化対象となる物質は、シアン化合物、油類、揮発性有機化合物である。

【0028】

シアン化合物としては、例えば鉄シアン錯体、銅シアン錯体、金属シアン錯体、ニッケルシアン錯体、シアン化カリウム、シアン化ナトリウムなどの無機シアン化合物や、ニトリル基を含む有機シアン化合物などが挙げられる。

【0029】

また油類としては、例えば、鎖状飽和炭化水素であるアルカン炭化水素、ヘキサン、オクタン、ウンデカン、オクタデカンなど、鎖状不飽和炭化水素であるアルケン炭化水素、

10

20

30

40

50

脂環式炭化水素であるシクロアルカン、シクロペンタン、シクロヘキサンなど、芳香族炭化水素であるベンゼン、トルエン、ナフタレン、クレゾールなどが挙げられる。

【0030】

さらに、揮発性有機化合物としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、*n*-ヘキサン、シクロヘキサン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 1-ジクロロエタン、1, 2-ジクロロエタン、1, 1, 1-トリクロロエタン、1, 1, 2-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1, 1, 1, 2-テトラクロロエタン、1, 1, 2, 2-テトラクロロエタン、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミンなどが挙げられる。

【実施例】

10

【0031】

以下、実施例及び比較例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの記載により何らの限定を受けるものではない。

【0032】

実施例：密閉系での土壌への各成分添加による溶存酸素、pH、菌数、及び溶出全CNの比較

100 Lガラス容器に土壌サンプル（比重1.7 kg/L、含水率25%）を100 g入れ、表1に示した添加条件1～7に従い、各々各成分を土壌サンプルの含水率が30%となるように水溶液として添加し、混和した後、溶存酸素（=Dissolved Oxygen=DO）センサー（電極形名：OE-8270、原理：隔膜式ガルバニー電池法、メーカー：東亜ディーケーケー株式会社）、pHセンサー（本体形式：D-55、原理：ガラス電極法、メーカー：株式会社堀場製作所）及び排ガス回収ライン（内径2 mm SUS製チューブ）を差し込んだシリコン栓でガラス容器に蓋をした。排ガス回収ラインは、透明の容器内に仕込んだ水の中に、水がフルに入った状態で逆さにセットした50 mLメスシリンダーに排ガスを回収できるように、その末端をメスシリンダーの口にセットした。20日間、30℃で静置保管する処理において、DO、pH、排ガス量を経時的測定し、0日目と20日目に土壌サンプルの生菌数をDIFCO社製ニュートリエントブロス寒天培地のプレートに無菌水で土壌を懸濁した希釈液を塗布して35℃、2日間培養して測定した。また、0日目と20日目に土壌サンプルの溶出全CNを測定した。なお、溶出全CNは、土壤汚染対策法にある土壤溶出全シアン濃度であり、平成15年度環境省告示18号「土壤溶出量調査に係る測定方法」に準じて測定した。単位はmg/L、土壤汚染対策法指定基準<0.1である。

20

30

各添加条件での測定結果を表1に合わせて示す。

【0033】

【表 1】

			条件1	条件2	条件3	条件4	条件5	条件6	条件7
添加条件	酸素放出剤	成分	なし	なし	CaO ₂	CaO ₂	CaO ₂	CaO ₂	CaO ₂
		(重量%)			0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
	中和剤	(モル当量)			3.33	3.33	3.33	3.33	3.33
		(対酸素放出剤当量比)				0.43	0.43	0.43	0.51
結果	pH	0日	7.5	7.6	10.2	7.5	8.0	7.9	8.0
		20日	7.5	7.8	10.7	7.7	7.8	7.6	7.8
	DO(ppm)	0日	2.0	2.0	9.0	9.6	9.0	8.9	9.0
		20日	1.0	0.0	8.0	4.0	0.5	0.0	0.7
	生菌数 (個/g)	0日	2.0×10 ⁵	2.0×10 ⁵	2.0×10 ⁵	2.0×10 ⁵	2.0×10 ⁵	1.0×10 ⁸	2.0×10 ⁵
		20日	1.8×10 ⁵	2.0×10 ⁶	1.0×10 ⁴	8.0×10 ⁶	6.0×10 ⁷	8.0×10 ⁷	5.0×10 ⁷
	溶出全CN (mg/L)	0日	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
		20日	2.2	2.0	2.2	1.0	0.5	<0.1	0.5

【0034】

条件1は添加成分なしのブランクであるが、pH、菌数の変動は殆どなく、DOは初発の2ppmから徐々に抜けていき、20日目には1.0ppmまで低下した。溶出全CNは全く低減しなかった。

【0035】

ブランクに栄養剤のみ添加した条件2では、初発にある栄養源とDOにより、菌数が2×10⁵個/gから一桁増大し、pH変動は殆どなくDOは0ppmになった。菌の増殖にともない溶出全CNはわずかに低減した。

【0036】

酸素放出剤の過酸化カルシウムのみを添加した条件3では、pHは初発より徐々に上昇し、DOは徐々に減少した。上昇したpHの影響で、菌数は死滅して一桁下がった。溶出全CNは全く低減しなかった。

【0037】

酸素放出剤の過酸化カルシウムに対する中和剤であるクエン酸のモル当量比が約0.4の条件で過酸化カルシウムとクエン酸を添加した条件4では、pHは、終始7台に制御された。またDOも低減傾向であるものの20日目でも4ppmあり、終始好気状態を保持した。その結果、菌数はクエン酸を栄養源として一桁増大した。溶出全CNは菌の増殖と、好気性と中性pH保持により1.0mg/Lまで低減した。

【0038】

条件4の条件に栄養剤である酵母エキスをさらに追加した条件5では、菌体の増殖が顕著で二桁上昇した。菌の酸素消費のため、DOは条件4より低下幅が大きかった。栄養剤添加効果により条件4よりさらに分解が進み溶出全CNは0.5mg/Lまで低減した。

【0039】

条件5の条件にシアン分解菌のアースロバクター (Arthrobacter) No.5をさらに追加した条件6では、添加した菌の代謝のため、DOは20日目にはなくなり嫌気状態になった。この影響で菌数も若干低下した。溶出全CNは、シアン分解菌の添加効果により<0.1

10

20

30

40

50

1 mg / L まで低減した。

【0040】

条件5における中和成分をクエン酸の代わりにコハク酸を対酸素放出剤モル当量比約0.5の条件で添加した条件7は、条件5と同傾向であった。

【0041】

本実施例において、20日間の処理期間で、好気性（溶存酸素が0 ppmではない）と中性pHを保持できたのは条件4、5、及び7であった。実際の処理では、浄化対象物質の濃度に浄化終点が決まるため、処理期間や浄化対象物質の濃度に応じて好気性と中性pHを保持するように添加成分の追添加の手法をとり対応することができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
C 0 9 K	17/06	(2006.01)	C 0 9 K	17/06 Z
C 0 9 K	17/14	(2006.01)	C 0 9 K	17/14 Z
C 0 9 K	17/50	(2006.01)	C 0 9 K	17/50 Z
C 0 1 B	13/02	(2006.01)	C 0 1 B	13/02 B
A 6 2 D	101/22	(2007.01)	A 6 2 D	101:22
A 6 2 D	101/45	(2007.01)	A 6 2 D	101:45

- (56)参考文献 特開2007-075670 (JP, A)
 特開2004-016859 (JP, A)
 特表平06-508553 (JP, A)
 米国特許出願公開第2002/90697 (US, A1)
 特開2003-251331 (JP, A)
 M.S.Andhale, Microbial Degradation of Cyanide Containing Effluent from a Dye Industry
 , BIODETERIORATION 7, 1988年, Page.213-218

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 B 0 9 B 1/00-5/00
 B 0 9 C 1/00-1/10
 C 1 2 N 1/00-1/38