

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5658458号
(P5658458)

(45) 発行日 平成27年1月28日(2015.1.28)

(24) 登録日 平成26年12月5日(2014.12.5)

(51) Int. Cl.		F I	
B09C	1/10	(2006.01)	B09B 3/00 Z A B E
B09C	1/02	(2006.01)	B09B 3/00 3 O 4 K
B09C	1/08	(2006.01)	A62D 3/02
A62D	3/02	(2007.01)	C12N 1/20 A
C12N	1/20	(2006.01)	C12N 1/20 D

請求項の数 4 (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-538212 (P2009-538212)	(73) 特許権者	000002004 昭和電工株式会社 東京都港区芝大門1丁目13番9号
(86) (22) 出願日	平成20年10月21日(2008.10.21)	(74) 代理人	100081086 弁理士 大冢 邦久
(86) 国際出願番号	PCT/JP2008/069019	(74) 代理人	100121050 弁理士 林 篤史
(87) 国際公開番号	W02009/054368	(72) 発明者	藤田 一郎 神奈川県川崎市川崎区大川町5番1号 昭和電工株式会社内
(87) 国際公開日	平成21年4月30日(2009.4.30)	(72) 発明者	米田 正 千葉県千葉市緑区大野台一丁目1番1号 昭和電工株式会社内
審査請求日	平成23年7月1日(2011.7.1)	審査官	宮部 裕一
(31) 優先権主張番号	特願2007-273699 (P2007-273699)		
(32) 優先日	平成19年10月22日(2007.10.22)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シアン化合物含有土壌の浄化方法およびその浄化方法に用いる微生物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

フェロシアン化鉄を含有する土壌にクエン酸、グルコン酸、酒石酸、シュウ酸、コハク酸、カルボキシメチルタルトロン酸、カルボキシメチルオキシコハク酸、アスパラギン酸二酢酸およびL-グルタミン酸二酢酸から選ばれる酸のアルカリ金属塩である生分解性キレート剤を添加して、前記フェロシアン化鉄をアルカリ金属塩として溶出させて、溶出した前記アルカリ金属塩を微生物により分解させることを特徴とするシアン化合物含有土壌の浄化方法。

【請求項2】

添加する生分解性キレート剤が、クエン酸ナトリウムである請求項1に記載の土壌の浄化方法。

【請求項3】

微生物がアースロバクター(Arthrobacter)属に属する微生物である請求項1に記載の土壌の浄化方法。

【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 ABP-11019号)である請求項3に記載の土壌の浄化方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

【 0 0 0 1 】

本発明は、微生物によるシアン化合物含有土壌の浄化方法に関する。さらに詳しくは、シアン化合物を分解する能力を有する微生物、またはシアン化合物を分解する能力を有する微生物と難溶出性シアン化合物を溶出させる生分解性キレート剤を用いたシアン化合物含有土壌の浄化方法、およびその浄化方法に用いる微生物に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

シアン化合物による土壌汚染は、2003年の土壌汚染対策法の施行（以下、「土対法」という。）を契機に、その浄化事例は増加傾向にある。その浄化方法に関しては、微生物による分解活性を利用したバイオレメディエーションの検討がなされている。

10

【 0 0 0 3 】

シアン化合物は金属イオンの存在下では難溶出性の錯体を形成する特徴を有するため、シアン化合物が土中に含有されている場合、元来土中に存在する鉄などの金属により難溶出性の錯体を形成することになる。

【 0 0 0 4 】

バイオレメディエーションにおいて、難溶出性の錯体はそのままの形態では効率的な分解は困難であり、効率的かつ確実な浄化方法の実現には、微生物の分解性能だけでなく、難溶出性のシアン錯体の可溶化の技術の構築も必要といえる。

【 0 0 0 5 】

シアン化合物の土壌汚染対策における、難溶出性シアン錯体の分解除去に関しては、シアン錯体に対する分解活性を有するフザリウム（Fusarium）属の微生物が提唱されている（特許第3685583号公報；特許文献1参照）。しかしながら、特許文献1における浄化性能に関しては液相混合系でのシアン錯体の分解性を示すまでにとどまり、当該微生物による土壌中での浄化性能まで言及していない。

20

【 0 0 0 6 】

また、土壌に含有するシアン化合物をバイオレメディエーションにより効率的に浄化する方法としては、汚染土壌のpHを鉍酸や有機酸などで弱酸性に制御し窒素源を除外した糖類による栄養源を供給する方法が知られている（特開2007-75670号公報；特許文献2参照）。しかしながら、特許文献2では、難溶出性シアン錯体浄化の分解効率化に関して言及がなされていない。

30

【 0 0 0 7 】

さらに、シアン錯体を可溶化させて浄化するという観点を加えた方法として、シアン化合物および2価鉄イオンを含有する汚染土壌に溶存酸素、NO_x-N（亜硝酸性窒素および硝酸性窒素）などを含有する水を添加し、鉄イオンを3価に酸化し溶解性の錯イオンに変換して、土壌中の微生物により分解する方法が知られている（特開2006-255572号公報；特許文献3参照）。しかしながら、特許文献3における浄化性能は、取り扱う土壌中の含有全シアン濃度が2mg/kg（2ppm）と低く、実際のバイオレメディエーションで対象となりうる含有全シアン濃度が数10ppm台の土壌に対する浄化は未知数である。

以上のことから、土壌に含有するシアン化合物を難溶出性部分まで含めて効率的かつ確実に低減することを可能とするシアン化合物含有土壌の浄化方法を確立することが望まれていた。

40

【 0 0 0 8 】

【特許文献1】特許第3685583号公報

【特許文献2】特開2007-75670号公報

【特許文献3】特開2006-255572号公報

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 9 】

従って、本発明は、土壌に含有するシアン化合物を難溶出性部分まで含めて効率的かつ

50

確実に低減することを可能とするシアン化合物含有土壌の浄化方法の提供をその目的の1つとする。

さらに、本発明は前記シアン化合物含有土壌の浄化方法に用いる微生物の提供を目的の1つとする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

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。その結果、シアン化合物を含有する土壌に、分解促進因子としてシアン化合物を分解する能力を有するアースロバクター（*Arthrobacter*）属に属する微生物、またはアースロバクター（*Arthrobacter*）属に属する微生物と難水溶性シアン化合物の溶出促進因子としての生分解性キレート剤を用いて、含有するシアン化合物を効率的かつ確実に浄化できることを見出し、本発明を完成させた。

10

【0011】

すなわち、本発明は、下記1～5および7～8のシアン化合物含有土壌の浄化方法、およびその浄化方法に用いる下記6の微生物に関する。

[1] 難溶出性シアン化合物を含有する土壌に生分解性キレート剤を添加して、前記難溶出性シアン化合物を溶出させて、溶出したシアン化合物を微生物により分解させることを特徴とするシアン化合物含有土壌の浄化方法。

[2] 添加する生分解性キレート剤が、クエン酸、グルコン酸、酒石酸、シュウ酸、コハク酸、カルボキシメチルタルトロン酸、カルボキシメチルオキシコハク酸、アスパラギン酸二酢酸、L-グルタミン酸二酢酸、およびこれらの酸の塩の1種以上である前記1に記載の土壌の浄化方法。

20

[3] 添加する生分解性キレート剤が、クエン酸および/またはクエン酸塩である前記2に記載の土壌の浄化方法。

[4] 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1に記載の土壌の浄化方法。

[5] 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 ABP-11019号）である前記4に記載の土壌の浄化方法。

[6] シアン化合物分解能を有するアースロバクター・エスピー（*Arthrobacter* sp.）No. 5 菌株（2007年10月18日付で、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに受託番号FERM P-21400号として国内寄託され、その後、2008年9月16日付で独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに「受領番号FERM ABP-11019」で国際寄託された。）。

30

[7] アースロバクター（*Arthrobacter*）属に属する微生物を用いて、土壌中のシアン化合物を分解することを特徴とするシアン化合物含有土壌の浄化方法。

[8] アースロバクター・エスピー（*Arthrobacter* sp.）No. 5 菌株（FERM ABP-11019号）を用いる前記7に記載の土壌の浄化方法。

【発明の効果】

【0012】

本発明のシアン化合物含有土壌の浄化方法によれば、土壌に含有されるシアン化合物を効率的かつ確実に浄化することができる。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0013】

以下、本発明についてより詳細に説明する。

【0014】

[シアン化合物高分解活性菌]

本発明の土壌浄化方法で使用されるアースロバクター（*Arthrobacter*）属に属する微生物としては、例えば、土壌中からフェリシアン化カリウムを唯一の炭素源およびエネルギー源とする培地を用いて分離されたアースロバクター・エスピー（*Arthrobacter* sp.）N

50

o . 5 菌株が挙げられる。

【 0 0 1 5 】

アースロバクター・エスピー (*Arthrobacter* sp.) N o . 5 菌株の形態観察および生理的性状は、以下の通りである。

【 0 0 1 6 】

形態：多形性桿菌、
 グラム染色性：陽性、
 孢子：形成せず、
 運動性：なし、
 酸素に対する態度：好気性、
 オキシダーゼ：陰性、
 カタラーゼ：陽性、
 O F (Oxidation Fermentation) テスト：試験用培地に生育せず、
 集落の色調：特徴的集落色素を生成せず。

10

【 0 0 1 7 】

また、本菌株の同定は、ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R ; Polymerase Chain Reaction) 法により増幅した 1 6 S r R N A 領域の D N A について、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer [Applied Biosystems] を用いて塩基配列を解析し、得られた配列を国際塩基配列データベース (DDBJ/EMBL/GenBank) に登録されている配列および MicroSeq Analysis Software [Applied Biosystems] のデータベースと比較し、さらに、近縁種との系統樹を MicroSeq Analysis Software を用いて近接結合法 (N J 法) により作成して行った。

20

その結果、本菌株は塩基配列の不一致率が 0 . 8 8 % でアースロバクター・オキシダンス (*Arthrobacter oxydans*) およびアースロバクター・ポリクロマジエンス (*Arthrobacter polychromogenes*) に最近縁であると確認された。

【 0 0 1 8 】

【表 1】

表 1

菌 名	不一致率
<i>Arthrobacter oxydans</i>	0. 88 %
<i>Arthrobacter polychromogenes</i>	0. 88 %
<i>Arthrobacter sulfonivorans</i>	1. 09 %

30

本菌株はアースロバクター・エスピー (*Arthrobacter* sp.) N o . 5 菌株と命名し、2 0 0 7 年 1 0 月 1 8 日付で独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター (日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番地 1 中央第 6 (郵便番号 305-8566)) に受託番号：F E R M P - 2 1 4 0 0 号として国内寄託され、その後、2 0 0 8 年 9 月 1 6 日付で独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに「受領番号：F E R M A B P - 1 1 0 1 9 」で国際寄託された。

40

【 0 0 1 9 】

[微生物の培養]

本発明で使用する微生物の培養は公知の方法であれば特に限定はない。

微生物を培養するための培地 (培養培地) の炭素源としては、例えばグルコースやシュークロース、フルクトース、廃糖蜜等の糖類等を、単独、あるいはこれらの組み合わせにより、通常 0 . 1 w / v % ~ 3 0 w / v % 、望ましくは 1 w / v % ~ 1 0 w / v % 程度の濃度で用いることができる。

50

【 0 0 2 0 】

培養培地の窒素源としては、例えばペプトン、肉エキス、酵母エキス、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、あるいはこれらの組み合わせにより、通常 0.1 w / v % ~ 3 0 w / v %、望ましくは 1 w / v % ~ 1 0 w / v % 程度の濃度で用いることができる。

【 0 0 2 1 】

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、核酸等の供給源として、例えばビオチン、チアミン等を菌の生育改善のために添加できる。

10

【 0 0 2 2 】

培養は、通常通気攪拌または好氣的条件下で 2 0 ~ 4 0、好ましくは 2 5 ~ 3 5 の温度で行うことができる。また pH は 5 ~ 1 0、好ましくは 7 ~ 8 の範囲がよく、酸またはアルカリを添加することにより容易に調整することができる。

培養工程に用いる槽は、培養中の菌体と培養培地成分を通気しながら分散混合できる機能を有する発酵槽であればよく、特に限定はない。

【 0 0 2 3 】

[シアン化合物含有土壌とシアン定量]

本発明で浄化の対象となる土壌はシアン化合物を含有するものであり、例えば鉄シアノ錯体、銅シアノ錯体、ニッケルシアノ錯体、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。

20

【 0 0 2 4 】

シアノ錯体を含有する場合、土中に元来存在する鉄などの金属により難溶出性の沈殿を形成し、土中での形態は可溶性と難溶出性のシアン化合物が混在することとなる。

本発明では難溶出性部分まで含めたシアン化合物の浄化を行うため、土壌中のシアン定量は、日本国における土壌汚染対策法（土対法）公定法である土壌溶出全シアン濃度（すなわち、溶出全 C N。平成 1 5 年環境省告示第 1 8 号「土壌溶出量調査に係る測定方法」による。単位 m g / L、土対法指定基準 < 0.1）、土壌含有遊離シアン濃度（すなわち、含有遊離 C N。平成 1 5 年環境省告示第 1 9 号「土壌溶出量調査に係る測定方法」による。単位 m g / k g、土対法指定基準遊離 5 0）に加え、底質調査方法である土壌含有全シアン濃度（すなわち、含有全 C N。昭和 6 3 年環水管第 1 2 7 号底質調査法による。単位 m g / k g）についても実施し、更には土壌中の難溶出性の全シアン濃度（すなわち、難溶出 C N。単位 m g / k g）を含有全 C N - 溶出全 C N × 9 の計算式で求めて評価に活用する。なお、難溶出性全シアン濃度の計算式は、乾燥土壌当たりの質量（m g / k g）として求めるものであり、そのため土壌 1 0 % の水懸濁液のろ液部分の濃度を示す値である溶出全 C N は、9 0 % 液部分の C N が懸濁した 1 0 % 土壌部分に含まれていたものとして、計算式では 9 を掛けて土壌換算にして単位を揃えている。

30

【 0 0 2 5 】

【表 2】

表 2

本検討での 分析名	単位	分析方法	土対法指定基準値
溶出全CN	mg/L	土対法・土壌溶出量分析法	検出限界未満 (<0.1)
含有遊離CN	mg/kg (dry 土)	土対法・土壌含有量分析法	≤ 50
含有全CN	mg/kg (dry 土)	底質調査方法 土壌中の含有全CN濃度	なし
難溶出全CN	mg/kg (dry 土)	計算値 = 含有全CN - 溶出全CN $\times 9$	なし

10

【0026】

[本発明が目指す土壌の浄化]

本発明が目指す土壌の浄化は、含有全CNが溶出して溶出全CNが検出されるリスクを排除できるレベルであり、数値的には含有全CN $< 1 \text{ mg/kg}$ である。その根拠は溶出全CNの測定対象が土壌濃度10%の水溶出液のろ液であり、その検出限界が 0.1 mg/L であることから、含有全CN $< 1 \text{ mg/kg}$ であれば溶出全CNが検出限界未満にできる計算となるからである。

20

【0027】

対象となる土壌のシアン含有濃度は特に限定されないが、一般的なバイオレメディエーションでの濃度である含有全CN $1 \text{ mg/kg} \sim 100 \text{ mg/kg}$ で行うことができる。

【0028】

[土壌処理方法]

発明による土壌処理法は、土壌への微生物、栄養源、生分解性キレート剤などの添加により行われるが、土壌へ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。

30

【0029】

添加する微生物の形態は、培養液そのままで、培養液の水希釈液でも構わない。

添加する栄養源および生分解性キレート剤などは、水溶液、粉末のいずれでも構わないが、土壌への成分の浸透、拡散を考えた場合水溶液として添加することが好ましい。

液状で添加する場合は、添加したままで、増加した水分を抜き出しても、どちらでも構わない。

【0030】

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、恒温槽等に土壌サンプルを入れて $5 \sim 50$ 、好ましくは $15 \sim 35$ の温度に制御して行うことができる。

40

【0031】

[土壌中のシアン化合物の分解]

土壌中のシアン化合物の分解は、シアン分解活性菌を有する微生物を添加することにより行うことができる。利用する微生物はシアン分解活性を有する微生物であれば限定されないが、アースロバクター (Arthrobacter) 属に属する微生物を用いることが好ましく、アースロバクター・エスピー (Arthrobacter sp.) No. 5 菌株を用いることがより好ましい。

【0032】

50

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

【0033】

添加した微生物の菌数とシアン分解活性を維持するために、栄養源を添加してもよい。添加する栄養源は微生物の菌数とシアン分解活性を維持できれば特に限定されないが、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、蔗糖等の糖類等を、単独、あるいはこれらの組み合わせにより、通常土壌に対して 0.001 w/w% ~ 2.0 w/w%、望ましくは 0.01 w/w% ~ 0.05 w/w% 程度の濃度で用いることができる。

10

【0034】

窒素源としては、例えばペプトン、肉エキス、酵母エキス、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、あるいはこれらの組み合わせにより、通常土壌に対して 0.001 w/w% ~ 2.0 w/w%、望ましくは 0.01 w/w% ~ 0.05 w/w% 程度の濃度で用いることができる。

【0035】

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、核酸等の供給源として例えばビオチン、チアミン等を添加できる。

20

【0036】

栄養源の添加のタイミングは、特に限定されないが、微生物を添加する前の単独添加、微生物と一緒に添加、微生物を添加した後の単独添加のいずれでも構わない。またその添加回数も限定されない。

【0037】

[難溶出性シアン化合物の可溶化]

難溶出性シアン化合物の可溶化は、生分解性キレート剤の添加により行うことができる。ここで使用するキレート剤は生分解性であれば特に限定されるものではなく、例えば、クエン酸、グルコン酸、酒石酸、シュウ酸、コハク酸、カルボキシメチルタルトロン酸、カルボキシメチルオキシコハク酸、アスパラギン酸二酢酸、L-グルタミン酸二酢酸、およびこれらの酸の塩などを単独、あるいはこれらの組み合わせにより、通常土壌に対して 0.001 w/w% ~ 2.0 w/w%、望ましくは 0.01 w/w% ~ 0.05 w/w% 程度の濃度で用いることができる。添加する特に好ましいキレート剤の成分はクエン酸とその塩である。生分解性キレート剤の添加のタイミングは、特に限定されないが、微生物を添加する前に単独で添加しても、微生物と一緒に添加しても、微生物を添加した後に単独に添加しても、いずれでも構わない。また、その添加回数も限定されず、土壌にシアン分解菌が存在している場合には、例えば菌の添加と組み合わせず使用しても構わない。しかしながら最も好ましいのは、アースロバクター・エスピー (Arthrobacter sp.) No. 5 菌株とクエン酸ナトリウムを併用する条件である。

30

【0038】

また、使用するキレート剤は遊離型でも塩型でもよく、特に限定されないが、土壌内の pH を中性域に保つために遊離型と塩型を共用するという方法をも用いることができる。なお、キレート剤を生分解性に限定する理由は土壌への残留蓄積を回避し環境への影響を極小化するためである。

40

【0039】

本発明の土壌浄化方法において難溶出性シアン化合物の可溶化が実現するのは、例えば可溶性のフェリシアン化カリウムから、土壌中の 2 価鉄イオンにより変化した難溶出性のフェロシアン化鉄に対して、難溶出化の原因となる鉄イオンがキレート剤に取り込まれる結果によるものと考えられる。

【実施例】

50

【0040】

以下、実施例および比較例を挙げ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。

【0041】

実施例1：アースロバクター・エスピー（*Arthrobacter* sp.）No. 5 菌株の培養

微生物としてアースロバクター・エスピー（*Arthrobacter* sp.）No. 5 菌株（独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター受領番号：FERM ABP-11019）を、18mm試験管のニュートリエントブロス（NB；Nutrient Broth）寒天培地スラントにて35～24時間培養した菌を10mL滅菌水で懸濁した懸濁液1mLを、表3に示す培地液100mLが入った500mLフラスコに接種し35℃、150rpmで12時間振とう培養した。さらにその振とう培養液20mL分取し、表3に示す培地液2Lが入った5L発酵槽に接種した後、温度35℃、回転数1000rpm、通気量1L/min（0.5vvm）の条件で15%アンモニア水によるpH7下限制御、50%グルコース液断続的添加による5g/L～50g/L範囲のグルコース濃度制御を行いながら30時間培養した。

10

【0042】

【表3】

表 3

成分	終濃度(g/L)	滅菌条件
ペプトン	10.0	121℃×20分
酵母エキス	5.0	
K ₂ HPO ₄	5.0	
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.5	
グルコース	20.0	121℃×20分(別滅菌)

20

30

【0043】

その結果、菌数 1×10^{11} 、濁度105の培養液3Lを得た。なお、濁度は分光光度計（日立製作所製、U-1800型レシオビーム分光光度計）にて波長660nmで吸光度を測定した。

【0044】

実施例2：液添加混合静置系土壌処理（35℃）

蓋付き1Lポリ容器に入れた含有全CN40.0mg/kg、溶出全CN2.2mg/L、難溶性全CN20mg/kg（比重1.7kg/L、含水率25質量%）の土壌1kgを35℃の恒温槽で40日間静置保管する処理において、表4に示す条件1～条件4の添加液をそれぞれの土壌に30mL加えて混合する操作を0日目と20日目に行い、土壌サンプルの溶出全CN、含有全CN、難溶性全CNを測定して浄化を確認した。

40

【0045】

40日目の土壌浄化結果を良好な順に示す。

一番良かった条件は、分解菌、栄養源、溶出促進剤の全てを添加した条件4であり、含有全CN0.9mg/kg、溶出全CN<0.1mg/L、難溶性全CN0.9mg/kgとなり、土対法の指定基準をクリアし、含有全CN再溶出による溶出全CN検出リスクを排除できるレベルまで浄化された。浄化傾向を見ると、図4に示すように、添加した菌による分解と溶出促進剤による溶出効果が顕著に現れ、難溶出全CNもコンスタントに浄化されていることが確認できた。

【0046】

50

二番目に良かった条件は、分解菌と栄養源を添加した条件2であり、含有全CN 15.0 mg/kg、溶出全CN < 0.1 mg/L、難溶性全CN 15.0 mg/kgとなり、土対法の指定基準はクリアしたものの、含有全CN再溶出による溶出全CN検出リスクを排除できるレベルまでは浄化されなかった。浄化傾向を見ると、図2に示すように、添加した菌による分解効果により、溶出全CNが存在する初期の浄化は早く進むが、含有全CNが難溶全CNのみになったため10日目以降は、溶出促進剤が添加されない影響が現れ、溶出全CNは検出されないものの、含有全CNの低下も見られなくなった。

【0047】

三番目は、栄養源と溶出促進剤を添加した条件3であり、含有全CN 22.0 mg/kg、溶出全CN 2.1 mg/L、難溶性全CN 3.0 mg/kgとなり、含有全CN再溶出による溶出全CN検出リスクだけでなく溶出全CNが検出され土対法の基準もクリアできなかった。浄化傾向を見ると、図3に示すように、分解菌を添加していない条件のため、添加した栄養源により活性化した土壤中の在来菌による遅い分解が継続する。これは溶出促進剤を添加した影響により難溶全CNがコンスタントに可溶全CNに変換されているためである。ただし溶出速度より分解速度が低いために溶出全CNが若干増加傾向となった。

10

【0048】

最も悪かったのは、水だけ添加したブランクの条件1であり、含有全CN 38.0 mg/kg、溶出全CN 2.1 mg/L、難溶性全CN 19.6 mg/kgで初発からほとんど浄化が進まなかった(図1参照)。

20

【0049】

実施例3：液添加混合静置系土壌処理(15)

蓋付き1Lポリ容器に入れた含有全CN 10.0 mg/kg、溶出全CN 0.2 mg/L、難溶性全CN 8.1 mg/kg(比重1.7 kg/L、含水率25質量%)の土壌1kgを15の恒温槽で40日間静置保管する処理において、表4に示す条件4の添加液を土壌に30mL加えて混合する操作を0日目と20日目に行い、土壌サンプルの溶出全CN、含有全CN、難溶性全CNを測定して浄化を確認した。

【0050】

その結果、40日目の土壌は、含有全CN 0.9 mg/kg、溶出全CN < 0.1 mg/L、難溶性全CN 0.9 mg/kgとなり、土対法の指定基準をクリアし、含有全CN再溶出による溶出全CN検出リスクを排除できるレベルまで浄化された(図5参照)。

30

【0051】

実施例4：バッチ通液静置系(温度成り行き)

含有全CN 80.0 mg/kg、溶出全CN 0.2 mg/L、難溶性全CN 39.5 mg/kg(比重4.5 kg/L、含水率30質量%)の土壌1トン(T)を入れた1Tコンテナを静置保管する処理において、コンテナの上面から表4に示す条件5の添加液300Lを上面から投入し、ボトムバルブから300L液を排出回収する操作を0日目と20日目に2バッチ行い、土壌サンプルの溶出全CN、含有全CN、難溶性全CNを測定して浄化を確認した。その結果50日目の土壌は、含有全CN 0.9 mg/kg、溶出全CN < 0.1 mg/L、難溶性全CN 0.9 mg/kgとなり、土対法の指定基準をクリアし、含有全CN再溶出による溶出全CN検出リスクを排除できるレベルまで浄化された。また、通液した際にボトムバルブから回収された排出液は0日目の1バッチ目は20 mg/Lであったのが、20日目の2バッチ目には検出限界未満(< 0.1 mg/L)となった。

40

本実験での温度は成り行きで、0日から20日が平均28、20日から50日が平均25であった(図6参照)。

【0052】

【表 4】

表 4

分類	成分	条件1	条件2	条件3	条件4	条件5
分解菌	Arthrobacter sp.No.5	0個/mL	9×10 ⁹ 個/mL	0個/mL	9×10 ⁹ 個/mL	2×10 ⁸ 個/mL
栄養源	ペプトン	0g/L	15g/L	15g/L	15g/L	0.4g/L
	グルコース	0g/L	80g/L	80g/L	80g/L	2.3g/L
溶出促進剤	クエン酸3Na・2H ₂ O	0g/L	0g/L	80g/L	80g/L	2.3g/L

10

【図面の簡単な説明】

【0053】

【図 1】 実施例 2 の条件 1 の全シアン濃度の推移を示す。

【図 2】 実施例 2 の条件 2 の全シアン濃度の推移を示す。

【図 3】 実施例 2 の条件 3 の全シアン濃度の推移を示す。

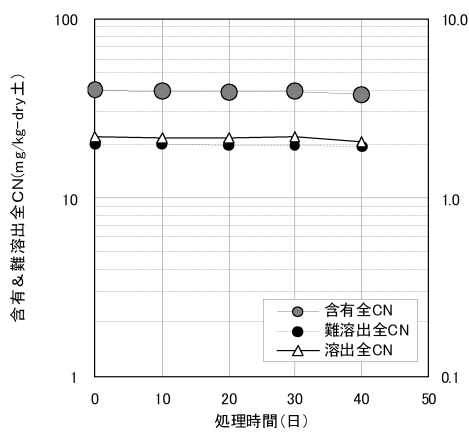
【図 4】 実施例 2 の条件 4 の全シアン濃度の推移を示す。

【図 5】 実施例 3 の条件 4 の全シアン濃度の推移を示す。

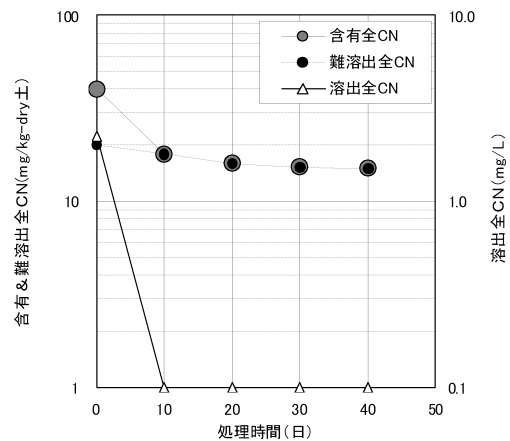
【図 6】 実施例 4 の条件 5 の全シアン濃度の推移を示す。

20

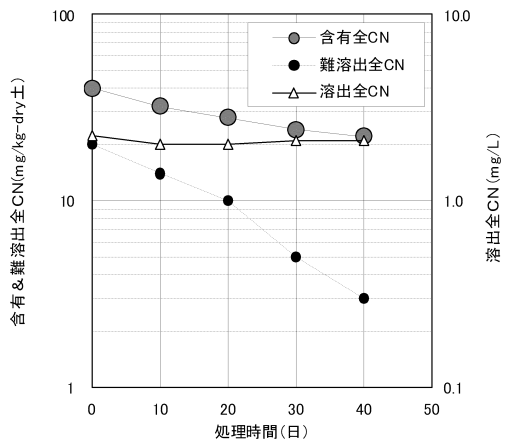
【図 1】



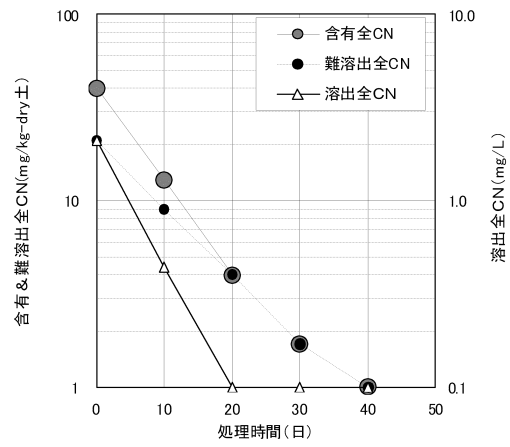
【図 2】



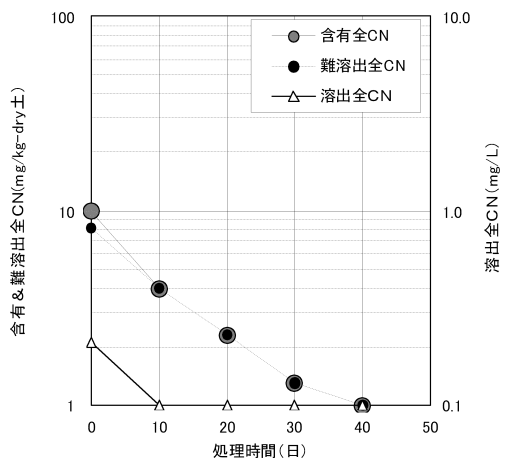
【 図 3 】



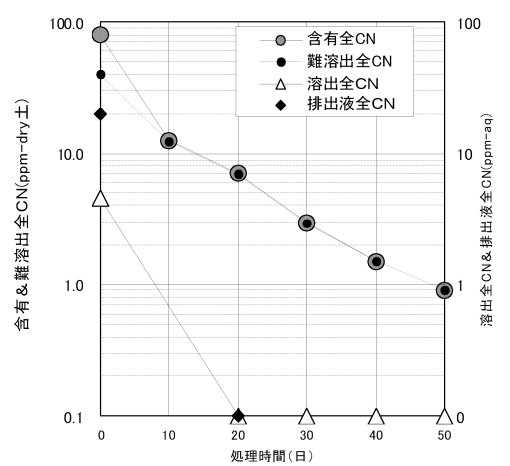
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		
C 0 9 K 17/14	(2006.01)	C 1 2 N	1/20	F
C 0 9 K 17/32	(2006.01)	C 0 9 K	17/14	Z
A 6 2 D 101/26	(2007.01)	C 0 9 K	17/32	Z
A 6 2 D 101/45	(2007.01)	A 6 2 D	101:26	
		A 6 2 D	101:45	

- (56) 参考文献 特開 2 0 0 0 - 2 7 0 8 4 9 (J P , A)
 特開 2 0 0 3 - 0 5 3 3 2 1 (J P , A)
 米国特許出願公開第 2 0 0 2 / 0 0 9 0 6 9 7 (U S , A 1)
 特表 2 0 0 0 - 5 0 3 5 9 2 (J P , A)
 特開 2 0 0 0 - 2 7 0 8 4 8 (J P , A)
 特開 2 0 0 0 - 2 7 0 8 4 7 (J P , A)
 特開 2 0 0 2 - 2 8 2 8 9 1 (J P , A)
 Microbial Degradation of Cyanide Containing Effluent from a Dye Industry , Biodeteriora
 tion 7,1988, pp 213-218

(58) 調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 2 D 3 /
 B 0 9 B
 B 0 9 C
 C 0 2 F 3 /
 C 0 2 F 1 1 /
 C 1 2 N