

VII-70

石油汚染土壌における石油成分の土着微生物群による分解挙動

大成建設(株) 技術研究所 正会員 帆秋利洋・大場美保

同 上 川又 睦・鈴木朝香

同 技術開発第二部 正会員 谷口 敦

1. はじめに

石油汚染土壌のバイオリメディエーション技術は、欧米で積極的に実用化されている。原油は、数千種類の炭化水素で構成されており、これらはその化学構造によって、飽和分・芳香族分・レジン分・アスファルテン分の4成分に分類される。一般的に飽和分、芳香族分、レジン分、アスファルテン分の順で水素・炭素原子数比(H/C)は低下していき、比重と粘度は上昇する。その中で、アスファルテン分以外は*in-vivo*での生分解性が確認されている¹⁾。しかしながら、石油汚染土壌のバイオリメディエーションにおいて、どのような成分がどのような時期にどの程度まで分解されるのか、その時に関与する土着菌はどのような分解菌で構成されているのか、またどの程度の微生物密度で分解が促進されるのかといった基礎的な土壌微生物生態に関しては知られていない。本報は、土着菌による汚染石油の分解特性を把握するために、とくに石油中の分解成分とその分解に関わる微生物群の変遷について調査したものである。

2. 実験方法

2-1. 実験条件

重質油系の石油で汚染された砂質土を実験に供した。使用した砂質土(含水率11.4%、pH約7)は、全炭化水素濃度(Total Hydro Carbon; 以下THCと略す)52g/kg-soilであり、そのうちn-7炭化水素類を中心とした飽和分が38.5%、芳香族分が43.2%、レジン・アスファルテン分が18.3%で構成されている。本石油汚染土壌を盛り土し、真空方式のエアレーションによって酸素供給を行うソイルパイル方式の実験フィールドを作成した。本土壌に窒素源として NH_4NO_3 を500mg-N/kg、リン源として K_2HPO_4 と KH_2PO_4 を等量で100mg-P/kgとなるよう水溶液を調整し、均等に散布後十分混合した。サンプリングは、盛り土表層よりコアサンプルを3ヶ所ずつ採掘し、コアの下半分の土壌をそれぞれ均等に混ぜ合わせた3試料について、以下の分析を行い平均値を求めた。

2-2. 原油濃度

THCの分析は、四塩化炭素により抽出後、赤外線分光光度計によって定量した。また石油成分の飽和分と芳香族分の分析は、薄層クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーを組み合わせたTLC/GC-FID(イアトロスキャン)によって定性分析した。なお、石油濃度等の表示は、含水率の係数を乗じて、土乾重当たりの濃度として表した。

2-3. 微生物密度

上記4成分を含むウェザリングオイル(W-oil; 100°C, 24hr以上で揮発成分を除去した原油)、ならびにカラム吸着クロマトグラフィー法¹⁾により分画した飽和分、芳香族分をそれぞれ単一炭素源として、それぞれの分解菌について最確値5本法(Most Probable Number; 以下MPN法と略す)により生菌数を求めた。炭素源以外の培地組成は、鈴木らによって報告したもの²⁾を使用した。MPNの培養は30°C(一部、高温耐性石油分解菌の計数時は50°C)で行った。

3. 結果および考察

土中の含水率は、実験期間を通じて散水により10%を維持させた。汚染土壌は実験開始直後に約30日間に渡って土壌内温度が50°C付近にまで上昇した(Fig.1A)。この間、土着の30°Cで生育可能な飽和分分解菌・芳香族分解菌ともに減少(死滅)し、原油分解量はわずかであった(Fig.1B,C)。その後、外気温の低下に伴って、土壌内温度が冷却されるとともに分解菌数が急激に増加し、これに付随して原油の分解速度が向上した。現在、約110日間の連続運転が経過したが、この間、全炭化水素の約30%が分解された。分解された構成成分

のうち、50%が飽和分、35%が芳香族分であった。今回検討した石油には、一般的に微生物による分解が難しいと云われている芳香族分が43%含まれていた。飽和分は易分解性、芳香族分は難分解性であるため、この芳香族分の分解率の向上化が重要である。菌叢としては、飽和分分解菌が初期に増殖し、続いて芳香族分分解菌が増殖した。原油中の飽和分と芳香族分の分解は、これらの分解菌の増殖後に顕著であった。すなわち、土壌中の飽和分・芳香族分分解菌が 10^7 cells/g以上存在したときに顕著な分解効果が見られている(Fig.1B,C)。本現象は、土壌内温度と密接な関係があり、THC分解速度は30-40°Cの範囲内で高い値を示している(Fig.2A)。Fig. 1からも分かるように、土壌内温度が30°C以下になった60日目以降は分解が進んでいない。土壌中温度とそこに棲息する微生物群集の関係をFig.2Bに示す。30°Cで生育可能な一般従属栄養細菌群(HBs)の生菌数は、50°Cのような高温下でも変化はないが、石油分解菌群(PDBs)の生菌数は、40°C以上で極端に減少した。一方、50°Cで増殖可能な高温耐性のHBs、PDBsは、土壌温度46.5°C(35日目)の時点において、30°Cで生育可能なHBs、PDBsより高い密度で検出された。この35日目は、飽和分、芳香族分分解菌ともに増殖期に位置する(Fig.1C)。元来、土壌中の微生物叢の大部分が20-30°C付近で良好に生育できるPDBsであると考えられるが、その中には50°Cでも生育可能なPDBsが潜在的に棲息しており、これらが分解に伴った温度上昇下で優先的に増殖したと思われる。この高温耐性PDBsの高温下(40-50°C)での石油分解活性は低く(Fig.2A)、また、30°C以下では増殖できず死滅してゆくとため(Fig.2B)、分解が促進されないものと推察される。従って、今回の石油分解性能は、初期の温度上昇によって優先種となった、土壌中に潜在する一部の高温耐性石油分解菌の分解挙動がかなり反映されているものと推察する。

4. まとめ

本結果より、土着菌による原油分解プロセスにおいては、初期の温度上昇がその後の分解菌の増殖と分解速度に影響することが示唆された。また、芳香族分等の分解が原油全体の分解率を支配することが見いだされた。原油に含まれる多環芳香族(PAH)は、発ガン性等の指摘が一部であり、我が国においても有機塩素系化合物(PCBやTCEなど)と同様、環境規制項目として取り上げられることが予測される為、今後、PAHを積極的に分解する方法について検討してゆくと共に、本分解挙動実験に関しても、継続して春から夏場の気温上昇に伴った分解挙動について追跡してゆく予定である。

引用文献

- 1) Venkateswaran, K., *et al.*, Can. J. Microbiol. 1995, 41: 418-424.
- 2) 鈴木朝香ら、大成建設技術研究所報、第28号(1995), p.387-392.

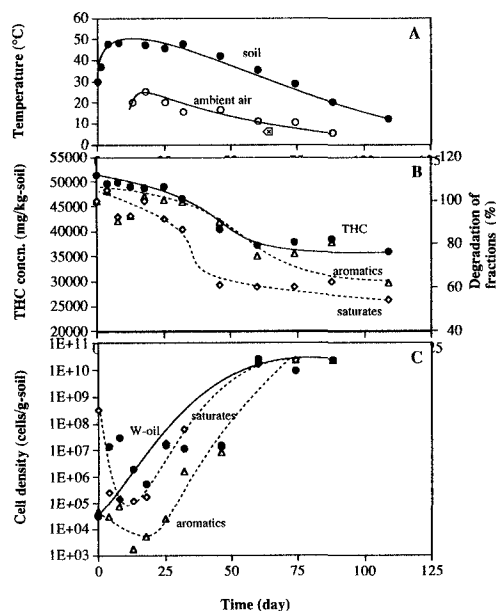


Fig.1 Time course of temperature (A), hydrocarbons (B), and cell densities (C) in the petroleum polluted soil

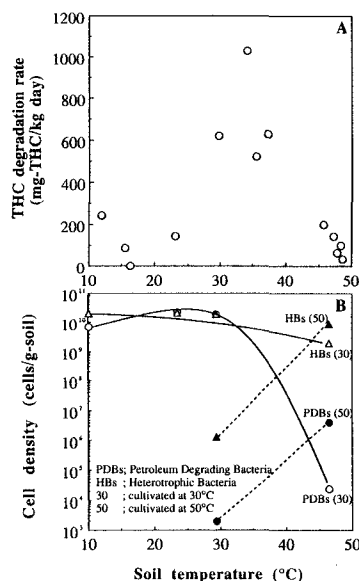


Fig.2 Effect of soil temperature on THC degradation rate (A) and on microbial population (B) in the petroleum polluted soil