

VII-15

クウェートにおける石油汚染土のバイオレメディエーション（その4）

(株)大林組 技術研究所 正会員 *千野 裕之 正会員 *辻 博和 正会員 *石川 洋二
(株)大林組 エンジニアリング 本部 正会員 松原 隆志

1. まえがき

先の湾岸戦争における流出原油による油汚染土の修復に関連して、クウェート科学研究所と共同で、クウェート現地において、1ha規模のバイオレメディエーション実証実験を行っている。前報では、バイオレメディエーションの効果を明らかにできた。ここでは、汚染土中の石油成分のうち発ガン性等の疑われている多環芳香族化合物の動態について検討するとともに、汚染の浄化の証明として、変異原性試験によって、バイオレメディエーションによる浄化効果を検討したので報告する。なお、本研究は通産省の産業基盤整備事業のもと（財）石油産業活性化センターから委託を受けた研究である。

2. 現地実証実験の概要

現地実験区のレイアウトは前報等を参照¹⁾⁵⁾。土中の油分濃度 TPH(Total Petroleum Hydrocarbon) が約 4% の中汚染土と約 2% の軽汚染土を用いた。汚染土には所定の栄養、コンポスト、ウッドチップを加え、土壤に含水率は 8～10% を維持した。ランドファーマーミング（畑方式）、ウインドローバイル（高畝切返し方式）、スタティックバイル（高畝強制通気方式）の 3 方式で 15ヶ月モニタリングを実施した。

その結果、ランドファーマーミング区ではウインドローバイル区やスタティックバイル区のソイルバイル区と比べて分解速度が大きく、12ヶ月後には ランドファーマーミング区で TPH の約 80%、ソイルバイル区で約 70% が分解された。

3. 逆相 HPLC による多環芳香族化合物の定量

(1) 試験内容と方法

前報に示したように汚染土からのジクロロメタン抽出物について石油学会規格 JPI-5S-22-83 に従ってカラムクロマトで分画し、芳香族画分を得た。この画分について、Table-1 に示した測定条件を用いて多環芳香族の定量を行った。アルミナゲル溶出芳香族分をそのままカラムに注入すると、保持時間の遅い部分でバックグラウンドが大きく上昇する現象が見られたことから、前処理法を検討し、バックグラウンドを減少させた。

(2) 試験結果と考察

測定した試料の蛍光検出クロマトグラムの例を Fig. 1 に示した。ここで、各標準化合物の保持時間±0.3 分以内に検出されたピークは同一化合物として同定した。ナフタレン及びクリセンは、それぞれ溶出に用いたトルエンの不純物と考えられる成分の妨害とベースラインの変動が大きいことから本報では定量できなかった。Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Fluoranthene, Pyrene 及び Benzo(a)pyrene について対照区に対する処理区の定量値の割合を Fig. 2 に示した。

図からわかるように、Acenaphthene, Fluorene,

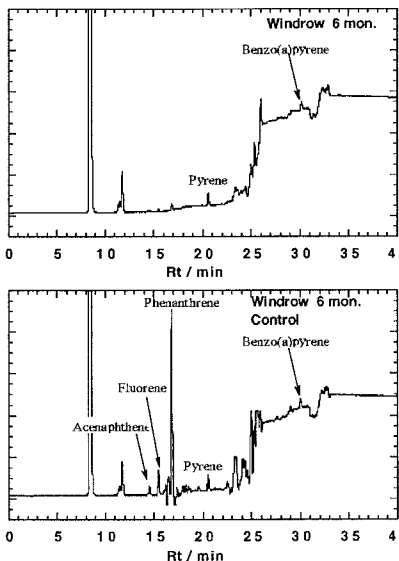


Fig-1 HPLC のクロマトグラムの例

Table -1 HPLC の測定条件

Injection Volume	10mL
Column	Brownlee C18 (guard column, 15mm x 4mm i.d.)+ SUPELCOSIL LC-PAH (150 x 4.6 mm i. d.)
Mobile phase	A: H ₂ O B: Acetonitrile
Gradient (min, A%)	(0, 40)- (5, 40)- (30, 100)- (45, 100)
Flow rate	1.5 mL/min
Detection	FLD: pmt gain=14, Response time=0.25sec DAD: Reference at 550 nm; Band width=80nm, Response time=1.3sec

PAH #	Compound name	FLD time min	Excitation nm	Emission nm
1	Naphthalene	0	263	332
2	Acenaphthylene	-	-	-
3	Acenaphthene	13	268	323
4	Fluorene	-	268	323
5	Phenanthrene	16.1	252	364
6	Anthracene	17.4	252	400
7	Fluoranthene	18.8	288	462
8	Pyrene	19.9	336	383
9	Benzo(a)anthracene	22.2	289	407
10	Chrysene	24.4	269	381
11	Benzo(b)fluoranthene	26.2	302	450
12	Benzo(k)fluoranthene	28.2	308	428
13	Benzo(a)pyrene	29.4	365	428
14	Dibenz(a,h)anthracene	30.8	300	418
15	Benzo(g,h,i)perylene	-	-	-
16	Indeno(1,2,3-cd)pyrene	33.1	305	500

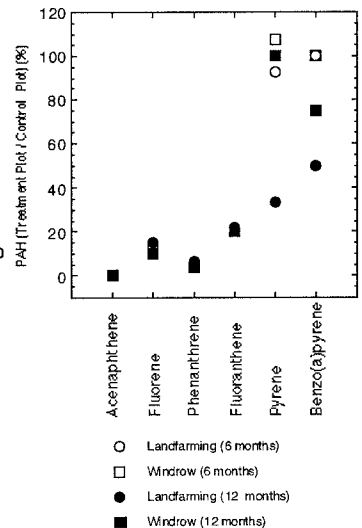


Fig-2 多環芳香族化合物の対照区に対する処理区の割合

バイオレメディエーション、石油汚染土、微生物、変異原、液体クロマトグラフ

*千204 東京都清瀬市下清戸4-640 TEL 0424-95-1060 FAX 0424-95-1261

Phenanthreneは対照区に対して処理区の濃度が低い。また、PyreneとBenzo(a)pyreneについてもランドファーム中汚染土区において減少が認められる。処理区では、分解を促進させるために土壌の耕耘、切り返し等を行っていることから、対照区と比較して蒸発・揮散による減少が大きいことも考えられるが、PyreneやBenzo(a)pyreneのような比較的蒸発しにくい化合物においても減少がみられていることから、微生物による分解・開裂が生じていると示唆された。

また、処理区では放水等による油の流出が考えられるが、流出による成分のロスの割合は一定と考えられるのに対して、Fig. -2 から縮合度の小さい芳香族ほど、減少の割合が大きいことから、分解による減少であると考えられる。

4 変異原性試験

(1) 試験内容与方法

汚染土の変異原性がバイオレメディエーションでどのように変化したかを検討した。供試試料はランドファーム、ウインドローバイル、スタティックバイルでそれぞれ維持管理を行い、実験開始時から15ヶ月後まで3ヶ月おきにサンプリングした土壌サンプルからジクロロメタンで抽出した油分を供試試料とした。試験はSalmonella typhimurium TA98株を用い、労働省告示第77号に準じて行った。

(2) 試験結果と考察

代謝活性化法によらない場合の試験結果の一部をFig.-3に例示する。供試汚染土は実験開始時には変異原性を示していたが、3ヶ月後には低下し、強い変異原は比較的初期のうちに分解されたと考えられた。また、6ヶ月、9ヶ月、15ヶ月と対照区では変異原性は陽性と判定され変異原性物質が残留していると考えられた。陽性対照の変異原性物質は、対照区の汚染土抽出物の100倍以上強い変異原性を示した。これらのことから、バイオレメディエーションによって汚染土の変異原性も低下させる効果があると判定される。

なお、図示しないが代謝活性化法による場合も検討したが、多くの場合明確な変異原性は認められなかった。このことは、石油汚染土からの抽出物質はそのものに変異原性があり、変異原性が代謝活性化法によって誘起されるものではないことが示唆される。

5. あとがき

現在、下水処理水を用いたり、ソイルバイルを効率的に混合する機械を導入するなどして、さらにコスト低減を目指した現地試験を検討をしている。また、クウェートの石油汚染土あるいは海浜等から難分解成分を分解できる有用微生物を数株選抜できた。これらの現地へのバイオオーグメンテーション（微生物の接種）を検討中である。

謝辞

本研究を進めるにあたっては、東京大学農学部農学生命科学研究科の松本教授、小柳津教授、東京大学生物生産工学研究センターの大森教授には多大なる指導を受けた。クウェート科学研究所においてはN. Al-Awadhi部長、M.T. Balba氏をはじめ多くの方にお世話になった。分析作業においては(株)ジャパンエナジー分析センターの牧島主任研究員、(財)日本食品分析センターの佐藤課長にお世話になった。この場を借りて、厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 千野，喜田，辻：大林組技術研究所報，No.52（1996年）
- 2) 千野，辻，石川，四本：大林組技術研究所報，No.54（1997）
- 3) 千野，辻，石川，四本：土木学会第51回年次学術講演会講演概要集第7部（1996年）
- 4) 千野，辻，石川，四本：土木学会第52回年次学術講演会講演概要集第7部（1997年）
- 5) 松原，辻，千野：土木学会第52回年次学術講演会講演概要集第7部（1997年）

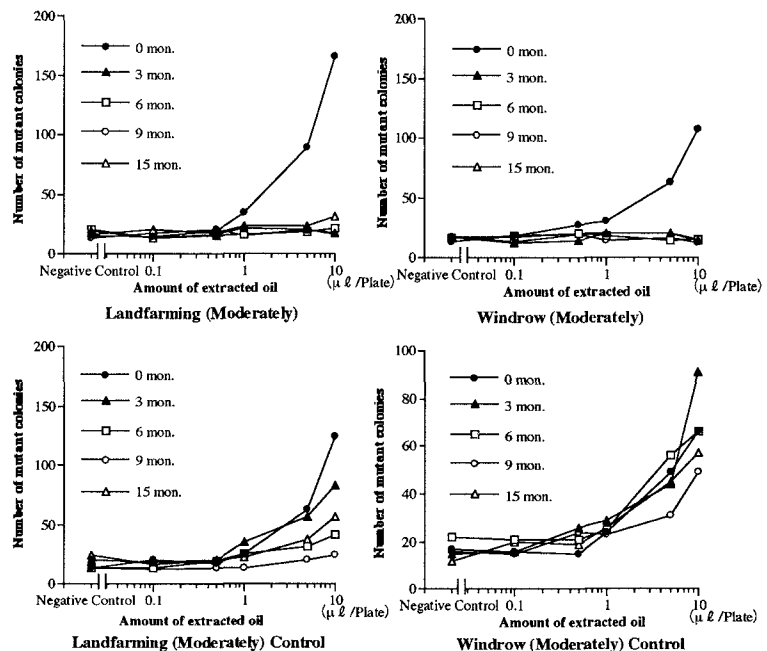


Fig. -3 変異原性試験の例