

## 非石油汚染および石油汚染土壤中微生物群集による石油汚染土壤の浄化特性について

西松建設(株)技術研究所 正会員 石渡寛之 山崎将義  
 非会員 萩谷宏三  
 戸田建設(株) 正会員 小國拓也 中村隆浩 佐藤文俊

## はじめに

石油汚染土壤浄化ニーズの高まりとともに、様々な技術が開発・実用化されつつある。その中で、微生物を利用した浄化技術(バイオレメディエーション)が環境調和型の手法として大きな注目を集めている。このバイオレメディエーションによる石油汚染土壤の浄化は、土壤中に生息する微生物の石油分解能に依存する。一般的に石油分解微生物は、土壤をはじめ環境中の至るところに生息し、特に石油汚染されている環境中には高い分布密度にある。石油汚染され長期間自然環境中に放置された汚染土壤の微生物分解実験を試みた結果、温度制御や酸素、水分供給、栄養塩添加等により大きな分解が促進されなかったといった報告もある(石渡ら、2000)。これは、供試した石油汚染土壤の汚染濃度が高濃度(n-ヘキササン抽出物:4.5%程度)であったことや、長期間の放置に伴う風化作用により難分解性成分が多く残存していることなどが一つの要因と考えられる。しかしながら、石油汚染土壤中微生物群集がその汚染環境に適応しているにも係わらず、栄養塩添加等により分解が促進されなかったのは疑問が残される。今後実際に、あらゆる石油汚染に対応するため、物理化学的処理とバイオレメディエーションとを組み合わせ浄化を行う場合、バイオレメディエーションの微生物源の選定など、実際の土壤中の微生物群集による石油分解(浄化)特性を把握することは、きわめて重要と考えられる。そこで今回、非石油汚染および石油汚染土壤中の微生物群集による模擬石油汚染土壤の分解実験を試みた。

## 実験方法

西松建設(株)技術研究所内の芝生周辺土壤を採取し、ふるい(2mmメッシュ)で小石等を除去した後、121、15分の滅菌を行った。その土壤にウェザリングした原油(90で72時間処理した原油)を最終濃度が3%(w/w)となるように添加し、2L容の三角フラスコに入れ、再度121で15分間滅菌した。これを模擬石油汚染土壤として、実験に供した。

微生物分解を促進する目的で、2mm粒径の炭(通気性の改善)と無機栄養塩、有機栄養塩をそれぞれ添加し、表-1に示すような実験区を設定した。非石油汚染土壤(西松建設(株)技術研究所内の芝生周辺土壤)および実際に石油汚染され長期間自然環境中に放置された石油汚染土壤を、それぞれ微生物源として無菌的に接種した。暗条件のもと、25で52日間静置し、その間、3、8、16、29、52日目に従属栄養細菌と石油分解細菌測定(マイクロプレートMPN法)、残存石油濃度分析(溶媒抽出-非分散赤外吸収法)を行った。なお、水分供給として、開始後29日目に各実験区それぞれに滅菌蒸留水を10mlを再添加した。

## 実験結果

各実験区ごとに、残存石油濃度と従属栄養細菌数、石油分解細菌数の経時的変化を、図-1および図-2に示す。石油汚染源として、ウェザリングを行った原油を用いたにも係わらず、両コントロール区とも3日目に大きく減少した(S-control区:28%、cS-control区:22%)。非石油汚染土壤を微生物源として接種した一連の実験区で

表-1 実験区の設定

非石油汚染土壤中微生物源(S)	石油汚染土壤中微生物源(cS)
S区: 汚染土壤 300g + 滅菌蒸留水 30ml	cS区: 汚染土壤 300g + 滅菌蒸留水 30ml
S+C区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 滅菌蒸留水 30ml	cS+C区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 滅菌蒸留水 30ml
S+C+IN区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 無機栄養塩 30ml	cS+C+IN区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 無機栄養塩 30ml
S+C+ON区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 有機栄養塩 30ml	cS+C+ON区: 汚染土壤 300g + 炭 30g + 有機栄養塩 30ml

キーワード: バイオレメディエーション、石油汚染土壤、微生物群集、分解特性

西松建設(株)技術研究所 神奈川県大和市下鶴間 2570-4 Tel: 046-275-0089/Fax: 046-275-0094

は、3日目に大きく減少(分解)された。コントロール区での減少分を差し引くと、S区とS+C区、S+C+IN区、S+C+ON区の分解率は、それぞれ約10%、16%、23%、20%であった。その後、S区とS+C区、S+C+IN区では分解がほとんど進まなかったが、S+C+ON区では最終的に29%分解された。これらの分解に相関して、各実験区の従属栄養細菌数(HB)と石油分解細菌数(HDB)は3日目に大きく増加した。その後、S区とS+C区では、HBとHDBとの変動は同様な傾向にあった。それに対して、S+C+IN区とS+C+ON区では、HBはほぼ $10^9$ オーダーを保持して推移したが、HDBは8日目以降減少する傾向にあった。

一方、実際に石油汚染され長期間自然環境中に放置された石油汚染土壌を微生物源として接種した一連の実験区でも、非石油汚染土壌を微生物源とした場合と同様に3日目に大きく分解された。コントロール区での減少分を差し引くと、cS区とcS+C区、cS+C+IN区、cS+C+ON区の分解率は、それぞれ約7(0)%、11%、13%、14%であった。cS区とcS+C区、cS+C+IN区では30日目まで分解がほとんど進まなかったが、その後分解され、最終的にそれぞれ22%、25%、31%まで分解された。cS+C+ON区では3日目以降徐々に分解さ

れ、最終的に35%分解された。また、HBとHDBの変動も非石油汚染土壌を微生物源とした場合と同様に、各実験区とも3日目に大きく増加した。その後、cS区とcS+C区では、HBとHDBとの変動は同様な傾向にあった。それに対して、S+C+IN区では30日目までHBが $10^9$ オーダーで推移し、その後減少したが、HDBは逆に増加する傾向にあった。S+C+ON区では、16日目以降、HDBが増加する傾向にあった。

従属栄養細菌数は、分解実験開始後、cS区を除けば、非石油汚染土壌と石油汚染土壌とも大きな違いはみられなかった。これに対して、石油分解細菌数は、分解実験開始後、非石油汚染土壌の方が石油汚染土壌よりも1オーダー高かった(開始時点では2オーダー高かった)。しかしながら、最終的な分解率は、微生物源として石油汚染土壌を用いた方が高い結果となった。非石油汚染土壌中には、石油をエネルギー・炭素源として利用できる微生物が多く存在し、多様性に富んでいると考えられるが、石油分解能では石油汚染され、それに適応した微生物群集の方が高いことがわかった。また、石油以外のエネルギー・炭素源として、有機物を添加することが石油汚染土壌の分解促進に有効であることがわかった。

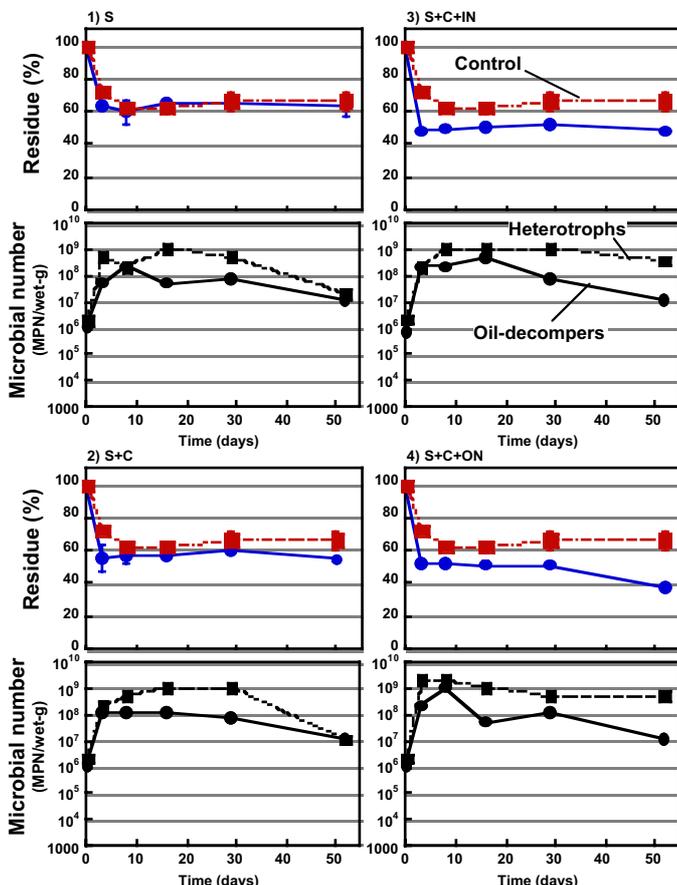


図-1 非石油汚染土壌を微生物源とした場合の残存油分と微生物群集の経時的変化

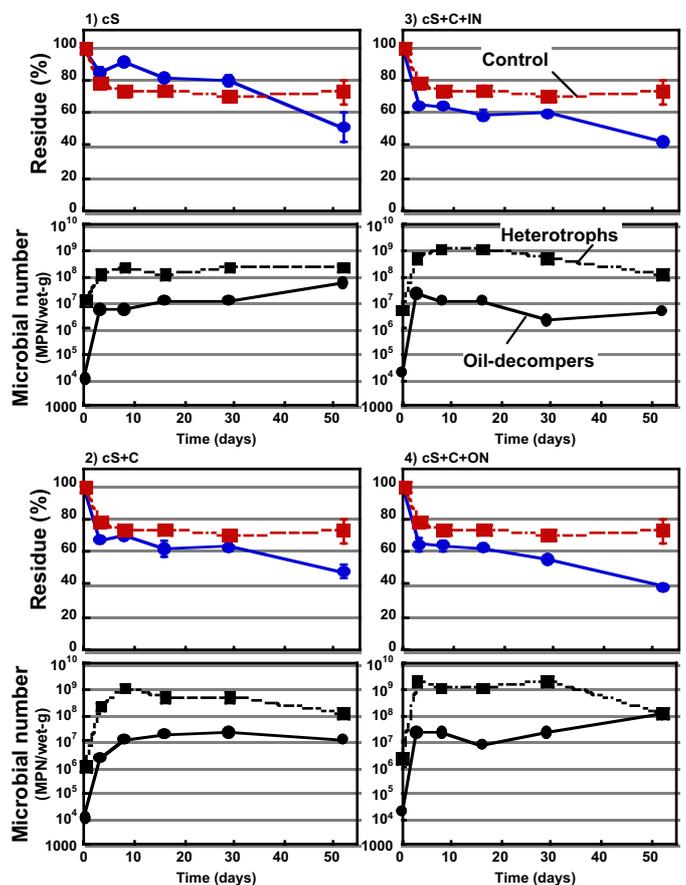


図-2 石油汚染土壌を微生物源とした場合の残存油分と微生物群集の経時的変化