

## 酵母が産する脂質の界面活性効果と その油汚染土壌の浄化への適用に関する基礎的研究

京都大学 木佐拓郎（学）、桑野雄介、越川博元（正）、清水芳久（正）、田中宏明（正）  
広島県立食品工業技術センター 玉井正弘 丸善製薬 田村幸吉

### 1. はじめに

油汚染土壌の浄化にはバイオレメディエーション（bioremediation）が有効な手段のひとつになりうる。バイオレメディエーションは二次汚染が少ない、設備が簡便で浄化コストが安い、低濃度、広範囲の汚染に対応できる等の多くのメリットがある。しかし、浄化処理にかかる時間が長い、気温など外部環境の影響を受けやすいという欠点もある。特に油はその疎水性、土壌粒子への吸着性から生物利用性（bioavailability）が低く、このことが油の微生物による分解効率を下げ大きな要因の一つであると考えられている。この問題を解決するための手段として界面活性剤の添加が挙げられる。また、使用する界面活性剤は合成のものよりも天然の界面活性剤（バイオサーファクタント）が望ましい。酵母 *Kurtzmanomyces* sp.I-11 は大豆油を資化する際に、糖脂質型バイオサーファクタントを生産することが知られている。<sup>1)</sup> 本研究は、このバイオサーファクタントを含有していると考えられる、酵母の培養液（丸善製薬株式会社より提供、以下 BS と表記）を用いた、油汚染土壌浄化の効率化を最終目標としている。その第一段階として、BS の界面活性効果を評価し、その PAHs 汚染土壌への適用可能性に関する基礎的データをを得ることを目的とした。具体的には、BS の成分分析、表面張力低下効果の検証、多環芳香族炭化水素類（Polycyclic aromatic hydrocarbons、PAHs）の水溶解量へ与える影響、土壌中 PAHs の溶出量へ与える影響、それぞれの評価をおこなった。

### 2. 酵母培養液の成分分析

BS の成分分析は以下の手順でおこなった。まず、凍結乾燥により水を除去した。ひきつづいて、Bligh-Dyer 法で総脂質を抽出した。次に、薄層クロマトグラフィー/水素炎イオン検出器（TLC/FID）を用いて脂質の分画をおこなった。成分分析の結果を図 1 に示す。

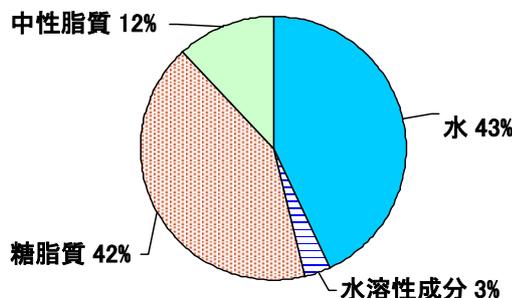


図 1 BS の成分分析結果

この結果から中性脂質は基質である大豆油、糖脂質がバイオサーファクタント、水溶性成分は水溶性タンパク質、と予想される。しかしながら現時点では、どの成分がどれだけ界面活性効果に寄与するか判断はできなかった。そこで水以外の成分（培養液全量の 57%）を界面活性成分当量とした。以降での BS 濃度とはこの界面活性成分当量、すなわち「実験に供した酵母培養液の濃度」×0.57 を用いている。

### 3. 表面張力低下効果

BS を超純水で希釈し、表面張力計を用いて表面張力の測定をおこなった。結果を図 2 に示す。

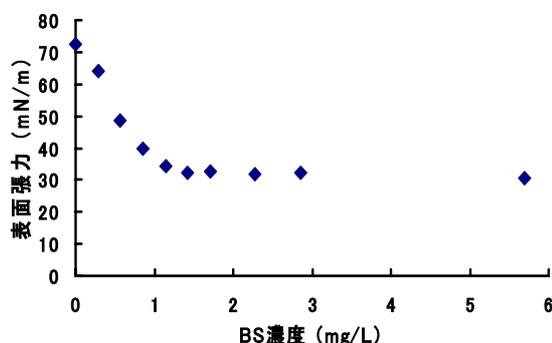


図 2 BS による表面張力の低下

BS は水の表面張力を 72 mN/m から 29 mN/m まで低下させた。このことから、BS の界面活性効果が確認さ

キーワード 油汚染土壌、バイオサーファクタント、疎水性物質、PAHs、バイオレメディエーション

〒520-0811 滋賀県大津市由美浜 2-1 環境質制御研究センター Tel: 077-527-6220 Fax: 077-524-9869

れ、また、その臨界ミセル濃度（Critical micelle concentration, CMC）は 1.2 mg/L であった。この値は他の非イオン系界面活性剤と比較すると（TritonX-100＝120～200 mg/L、SDS＝230 mg/L）小さい値である。

#### 4. PAHs の水溶解量に与える影響

本実験ではフェナントレン、アントラセン、ピレンの三種の PAHs を用い、次のような方法で溶解実験をおこなった。壁面に PAHs を吸着させたガラス製遠沈管に BS 水溶液を注入、攪拌し、その後水中の PAHs 濃度を GC/MS で測定した。測定結果を図 3(a)に、BS 濃度＝0 mg/L における各 PAHs の濃度を 1 とした、各 PAHs の相対溶解量表示で図 3(b)にそれぞれ示す。

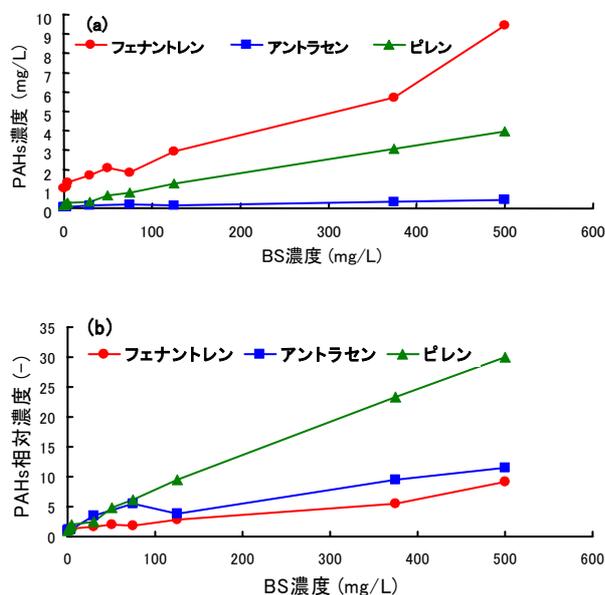


図 3 PAHs の水溶解量に与える BS 濃度の影響

いずれの PAHs についても、BS の添加に比例して PAHs の溶解量が増加することがわかった。また、本実験では BS 濃度が 8.5 mg/L 以上の範囲で PAHs 溶解量の増加が顕著に見られた。溶解量で比較した場合本来の溶解度の大きい順（フェナントレン、ピレン、アントラセン）にその溶解量の増加も大きかった。相対濃度でみた場合、ピレンの溶解量の増加が他と比べ大きかった。このように BS が PAHs の水溶解量に与える影響は対象とする物質により異なっていた。これは対象物質の分子量、構造などの違いに起因するものと考えられる。

#### 5. 土壤中 PAHs の溶出量へ与える影響

次に土壤からの PAHs 溶出量に対する影響を評価した。実験方法は次のようであった。実 PAHs 汚染土壤と界面活性剤水溶液を、固液比（1 : 10）で混合、攪拌した。遠心分離後、上澄み中の PAHs 濃度を GC/MS で測定した。また、合成界面活性剤 TritonX-100 でも同様の実験をおこなった。実験に用いた土壤は 2～4 環の PAHs を多く含んでおり、その総 PAHs 濃度は 1830 g・dry-soil であった。実験後の水相中総 PAHs の測定結果を図 4 に示す。

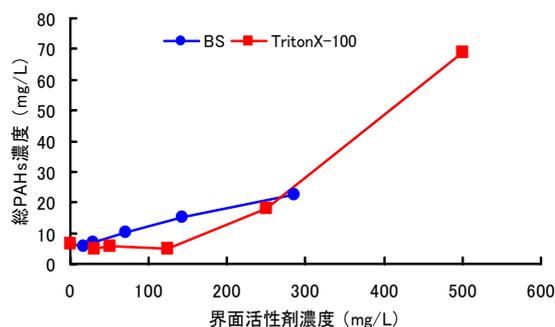


図 4 BS と TritonX-100 による実汚染土壤 PAHs の溶出

土壤からの PAHs 溶出は BS 濃度 17 mg/L 以上において、BS 濃度に依存して直線的に増加する傾向にあった。一方、TritonX-100 では 125 mg/L 以上の濃度で同様の傾向がみられた。また PAHs の溶出量は、BS 濃度＝285 mg/L で全土壤 PAHs の 11%、TritonX-100 濃度＝250 mg/L で全土壤 PAHs の 10%であった。BS と TritonX-100 の溶出量増加効果を比較すると、本実験で取り扱った範囲においては、おおよそ 17～280 mg/L では BS の方が勝り、それ以上の濃度では逆転することが予想される。このように BS は比較的 low 濃度から溶出量増加効果があることがわかった。

#### 6. 結論

BS の界面活性効果が検証され、BS は PAHs の生物利用性を高める可能性があることが示唆された。本研究から、油汚染土壤のバイオレメディエーションへの BS の適用が有効であると考えられる。

#### 参考文献

- 1) K. Kakugawa *et al.* "Isolation of Yeast *Kurtzmanomyces* sp. I-11, Novel Producer of Mannosylerythritol Lipid", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(1), 188-191, 2002