

## 油汚染地下水の自然減衰における微生物群の動態

名古屋大学大学院工学研究科	学生会員	○服部	展大
名古屋大学大学院工学研究科	正会員	井上	康
熊本市役所環境総合研究所		津留	靖尚
名古屋大学エコトピア科学研究所	正会員	片山	新太

## 1. 背景と目的

近年、土壌・地下水汚染の中で、低濃度・広範囲の汚染に対する有効な浄化手法として「Monitored Natural Attenuation (科学的自然減衰、MNA)」が注目されている。いくつかの自然減衰メカニズムの中で、微生物分解が主要なものとされているが、地下地盤環境に生息する微生物群の特性は殆ど明らかにされていない。そこで本研究では、実際の油汚染サイトを対象とし、地下水のサンプリングを行い、キノプロファイル法を用いて汚染・非汚染地下水中の微生物量、微生物群集構造の変化を捉えることを目的とした。

## 2. サイトの概要と地下水中微生物群の分析法

## (1) サイトの概要

汚染サイトは、ガソリンスタンドの埋設タンクから漏洩したガソリンが地下水域に拡散したため、約10年にわたって揚水曝気処理が実施された後、揚水曝気装置を停止してMNAに移行したものである。Fig.1における12ヶ所の井戸が観測井として選抜され、No.14, 16, 17, 29は現在も汚染が確認される井戸であり、No.21, 31, 92, 116は汚染履歴があるが現在は汚染のない井戸であり、No.7, 24, 35が汚染履歴もない井戸である。

## (2) 地下水のサンプリング

地下水試料は、揚水曝気装置停止後、約1年2ヵ月たってからサンプリングを開始した。サンプリングは3ヶ月に1度の頻度で行った(3月、6月、9月、12月)。No.7, 14, 29の井戸から20Lずつ、その他の井戸からは10Lずつ採取した。

## (3) キノプロファイル法

準備として、サンプリングした地下水を吸引濾過し、地下水中の微生物を0.2 $\mu$ mメンブレンフィルターに回収した。このフィルターごとキノン抽出に用いた。呼吸鎖に含まれるメナキノン(Mk-n)、ユビキノン(Q-n)をクロロホルム：メタノール(2:1)で抽出し、減圧エバポレーターで濃縮後、*n*-hexaneに転溶し、セップパックプラスシリカカラムでクリーンアップし、N<sub>2</sub>乾固させ、-35℃で冷凍保存した。その後、アセトン210 $\mu$ Lに溶かしてHPLCで分析した。得られたクロマトグラムのピークを持つスペクトルから、呼吸鎖キノンと不純物を区別し定量した。<sup>1)</sup>

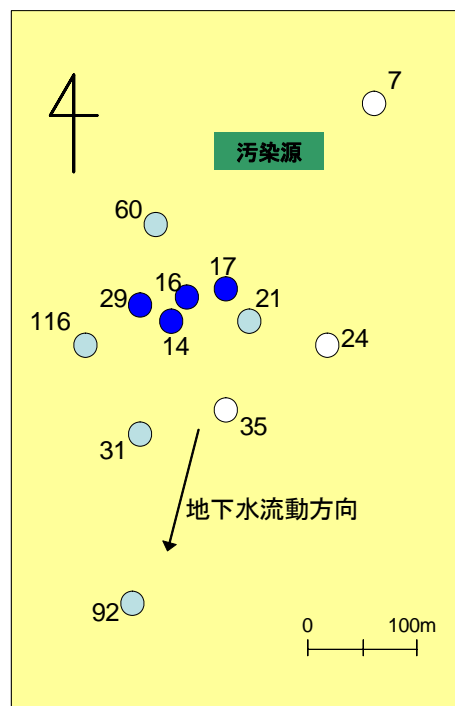
## 3. 実験結果と考察

## (1) 各観測井におけるキノン量

Fig.2に、2004年6月、9月、12月に測定した1m<sup>3</sup>中のキノン量の3回分の合計を観測井ごとに示す。汚染地下水(No.14, 16, 17, 29)では、検出キノン量が非汚染地下水に比べ多いことがわかった。キノン量と微生物量には正の相関があるため、汚染地下水では油の分解によって微生物が増殖していると考えられた。

キーワード 自然減衰, 油汚染地下水, キノプロファイル, 微生物群集構造, 微生物量

連絡先: 〒464-8603 愛知県名古屋市千種区不老町 名古屋大学エコトピア科学研究所 TEL 052-789-5841



- No.7,24,35 : 汚染履歴なし
- No.21,31,60,92,116 : 汚染履歴あり
- No.14,16,17,29 : 現在も汚染

Fig.1 汚染サイトの概要

## (2)各観測井におけるキノン組成

地下水中のキノン分析結果の一例としてNo.29とNo.35のキノン組成を示す(Fig.3)。汚染地下水中にはQ-8, Q-10, Mk-8のキノン種が優占的に存在することが多かった。Q-8, Mk-8は、主に $\beta$ -サブクラスプロテオバクテリアに由来し、またQ-10は $\alpha$ -サブクラスプロテオバクテリアに由来するものと推定される。過去、この地下水には、トルエン分解能を持つ*Azoarcus*属(Q-8のキノン種を持つ)の存在が報告されている。これらのことから、上記のキノン種Q-8, Q-10, Mk-8を持つ微生物群が油の分解に関与していると考えられた。また、汚染地下水にはMk-7も検出されたことから、 $\delta, \epsilon$ -サブクラスプロテオバクテリア等の嫌気性微生物の関与の可能性も推測された。一方、非汚染域の地下水では、呼吸鎖キノンは殆どが検出限界以下であったが、No.35地下水のように検出できた場合は、Q-8とQ-10のキノン種が検出された。この結果から、元々このサイトの地下水中にQ-8やQ-10のキノン種を持つ微生物群が優占種として存在しており、これらの微生物群が油の分解に関与し増殖するのではないかと推測された。

## (3)キノン量の変化

Fig.4にNo.29とNo.35の地下水1m<sup>3</sup>中のキノン量変化を示す。No.29の地下水中のキノン量は、9月から12月にかけて増加し、12月から6月にかけて徐々に減少していることが確認された。年間を通してこの季節変動を繰り返していることが推測された。過去に発表されている地下水中の油濃度<sup>2)</sup>にも増減がみられた。地下水中には他に炭素源がないことを考えると、キノン量の増加は油分解によるものと考えられる。キノン量の増減から油濃度の増減を予測することが期待される。

## 4. 結論

- 1)汚染地下水では、非汚染地下水に比べ、キノン濃度も種類数も高かった。
- 2)サイトの地下水中には、Q-8, Q-10, Mk-8のキノン種を持つ微生物群が優占種として存在していることが明らかとなった。汚染地下水からはこれらのキノン種の量が多く検出された。
- 3)汚染地下水中のキノン量と種類数は、季節変動をしていることが明らかになった。

## 謝辞

本研究は、(独)国立環境研究所「平成16年度地下水汚染における科学的自然減衰(MNA)に関する研究」の補助金を得て遂行された。試料採取には高畑陽氏(土壌環境センター)の援助を頂いた。

## 参考文献

- 1)片山新太：土壌中の農薬分解に関与する微生物群の構造と挙動,日本農薬学会誌,Vol25-3,2000.
- 2)高畑ら：地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会第十回講演集 S2-24, p217-220

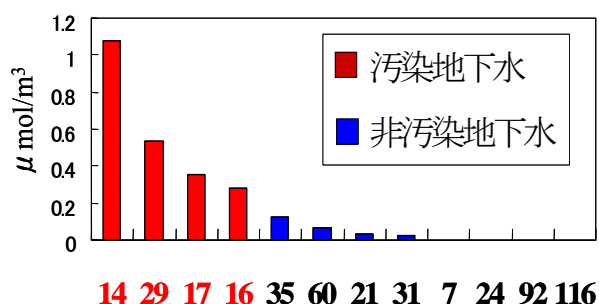


Fig.2 各観測井のキノン量

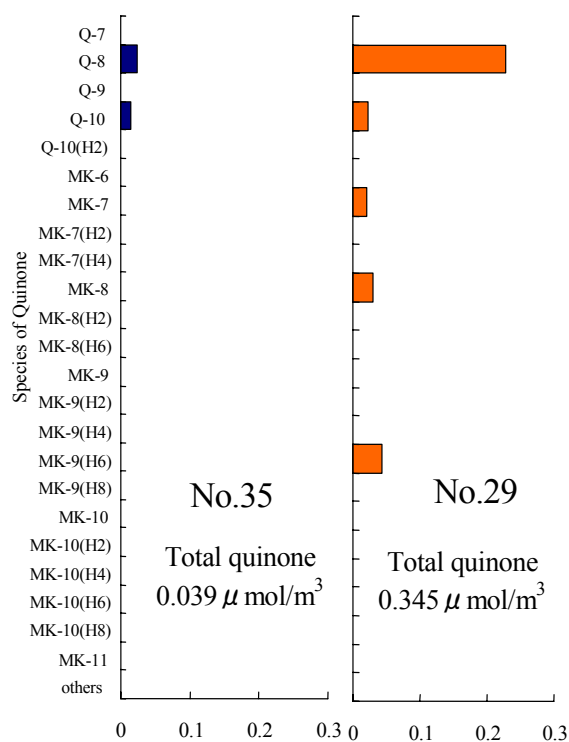


Fig.3 キノン組成

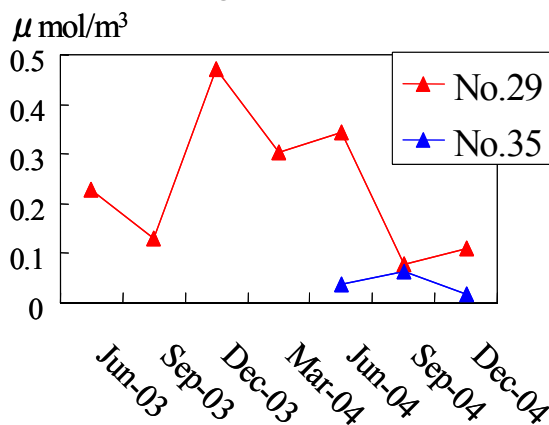


Fig.4 キノン量変化