

光照射によるバイオレメディエーション効率の向上に関する検討

株式会社熊谷組
同 上
立命館大学

正会員
正会員
正会員

○佐々木静郎
土路生修三
松宮 芳樹

正会員
正会員
正会員

村上 順也
門倉 伸行
久保 幹

1. 目的

近年、油汚染土壌の浄化対策として適用事例が増えているバイオレメディエーション技術は、低環境負荷・低コストという特徴を有している。一方、処理に要する時間が長い、浄化能の維持も容易ではない、投与微生物の挙動を把握しておく必要がある¹⁾などの問題点が指摘されており、実用化のためには更なる効率化が求められている。本稿は、処理時間の短縮や処理能力の向上を目的として、炭化水素分解菌に発光ダイオード(LED)を照射し、模擬汚染土壌を対象とした処理実験を行った結果、幾つかの知見が得られたので報告する。

2. 実験方法

2.1 供試菌株

試験に用いた炭化水素分解菌 *Rhodococcus* sp.NDKK6 株は、大きさが 1-3μm 程度のグラム陽性菌であり、桿状・球状の両形態をとる。長鎖環状アルカンを炭素源として生育し、自然界に普遍的に存在する微生物である。実験に際しては、BFG 培地²⁾及び SCF 培地²⁾にて 1×10^{10} cells/ml 程度に培養したものを適宜希釈して用いた。

2.2 装置と方法

模擬汚染土壌は、畑土壌と市販の真砂土を 1:3 の割合で混合した土壌に、A 重油とベースオイルを 1:1 の割合で添加し、土壌油分濃度が約 5,000mg/kg-soil となるように作製した。写真 1 に示す土壌攪拌装置に、作成した模擬汚染土壌 500g、NDKK6 株 5×10^8 cells/g-soil 以上、及び栄養源として 4 倍濃縮改変 SW 培地を 5% (V/W) 加えて攪拌した。装置上部には写真 2 に示す LED 照射装置を設置し、所定の条件で光照射を行った。実験条件を表 1 に示す。実験は、照射光の波長を変化させた場合(実験Ⅰ)と照射時間を変化させた場合(実験Ⅱ)について行った。実験Ⅰでは照射する波長は 3 段階(400nm・770nm・940nm)とし、1.0h/day 照射した。実験Ⅱでは照射波長 770nm で一定とし、照射時間を 0.5h・1.0h・3.0h の 3 段階で行った。なお、期間中は毎日土壌重量を測定し、前日からの重量減少分を蒸散水分量とみなし、同量の蒸留水を補充することで含水率を一定に保持した。



写真 1 土壌攪拌装置

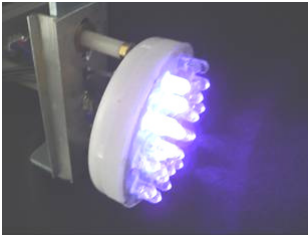


写真 2 LED 照射装置

2.3 分析方法

分析は、一定期間ごとに土壌油分濃度、総バクテリア数について行った。土壌油分濃度は H-997 抽出-IR 法、総バクテリア数は環境 DNA 解析法により解析した。なお実験Ⅱでは、投入菌株数についても Real-time PCR 法により定量した。

3. 結果及び考察

(1)照射波長による影響

図 1 に土壌油分濃度への影響を解析した結果を、図 2 に土壌バクテリア数の経時変化をそれぞれ示す。図 1 から、初期値約 5,000 mg/kg-soil の模擬汚染土壌に対して 14 日間実験を行ったところ光照射を行ったすべての系で油分分解の促進が見られた。10 日目に

表 1 実験条件(上:実験Ⅰ、下:実験Ⅱ)

	実験条件
バクテリア数	5×10^8 cells/g-soil 以上
照射回数	1 回 1 時間/day (14 日間)
波長	光照射なし、400nm、770nm、940nm

	実験条件
バクテリア数	5×10^8 cells/g-soil 以上
照射回数	1 回/day (14 日間)
照射時間	土壌攪拌 3.0h のうち、0.5h、1.0h、3.0h
波長	770nm

キーワード 炭化水素, *Rhodococcus*, バイオレメディエーション, 発光ダイオード, 光照射
連絡先 〒300-2651 茨城県つくば市鬼ヶ窪 1043 株式会社熊谷組 技術研究所 TEL 029-847-7505

おける波長の違いによる油分解への影響が最も大きく、光なしと光照射を行ったものを比べると 400nm では 0.6%, 770nm では 7.6%, 940nm では 2.8%油分分解率が向上した。特に 770nm の波長は菌の活性化に効果を与えた可能性がある。図 2 から、未処理(◆)や光・攪拌なし(■)では菌数の増加が認められたが、油分濃度の減少との関連性は見られないことから、投与菌株以外の菌が増殖したのではないかと推定される。

(2) 照射時間による影響

図 3 に示した土壌油分濃度の経時変化から、照射時間を 0.5h/day から 1.0h/day に延ばすと分解は促進されたが、1.0h/day から 3.0h/day へと伸ばすと分解率は逆に減少したことから、最適な照射時間が存在することが示唆された。図 4 から、照射時間を変えることによる土壌バクテリア数への影響は確認できなかった。図 5 に示す NDKK6 株数の経時変化から、1.0h/day 及び 2.0h/day 照射した系列では NDKK6 株数の増加が認められたが、0.5h/day の光照射では菌数の増加はまったく見られなかった。これらのことから、*Rhodococcus* sp. NDKK6 株については 770nm の光照射を 1.0h/day 行うことで、菌の生育増加と油分分解の促進に最も効果があるのではないかと考えられた。

4. まとめ

光照射が炭化水素分解菌 *Rhodococcus* sp. NDKK6 に及ぼす効果を検討した結果、特定波長の光照射で油分分解が促進されること、油分分解には適切な照射時間の存在が示唆されたこと、などが分かった。これらのことから、光照射がバイオレメディエーション効率の向上に寄与することが期待できると考えられた。今後は、最適な照射時間の絞り込みや光強度の違いによる菌体への影響などについて検討してゆく予定である。

謝辞：本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構「大学発事業創出実用化研究開発事業」の補助を受けて実施された一部をとりまとめたものである。

参考文献 1) 佐々木静郎, 久保幹, 他: 石油分解菌 *Gordonia* sp. NDKY76A 株が土壌微生物に及ぼす影響評価試験, 土木学会第 65 回年次学術講演会講演概要集, VII-187, 373-374, 2010 2) 佐々木静郎, 久保幹, 他: 石油汚染土壌のバイオレメディエーションにおける利用微生物の挙動特性, 第 16 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集, 524-527, 2010

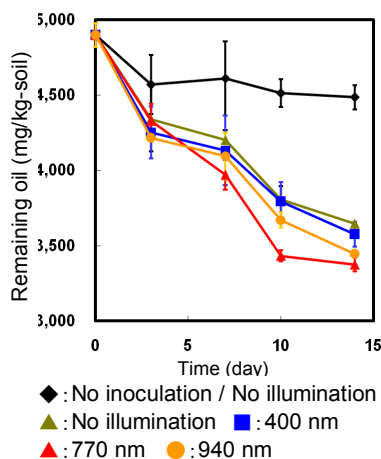


図 1 油分濃度の経時変化

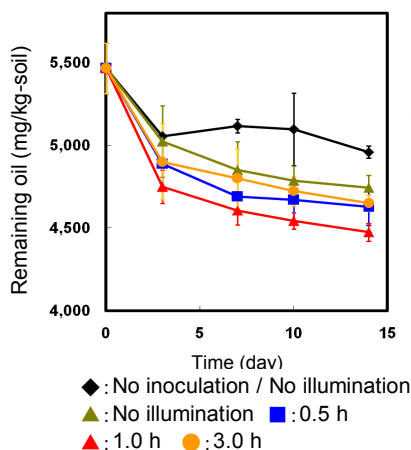


図 3 油分濃度の経時変化

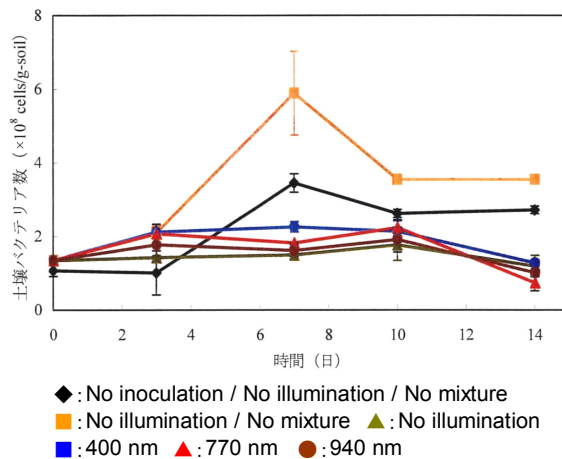


図 2 土壌バクテリア数の経時変化

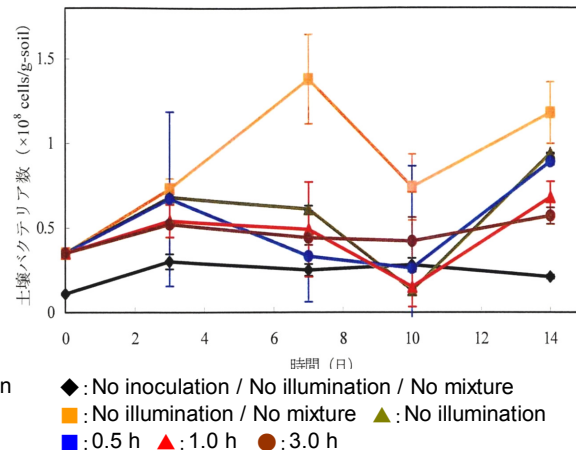


図 4 土壌バクテリア数の経時変化

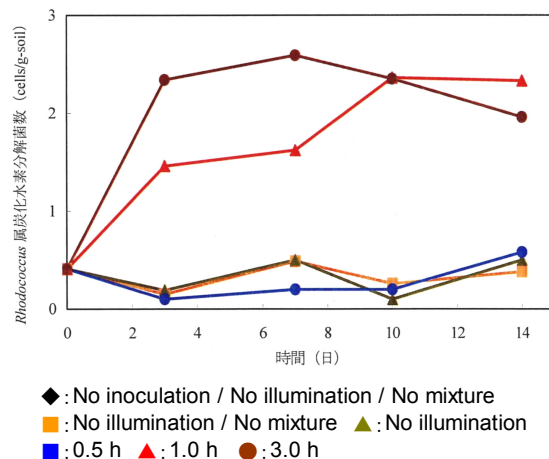


図 5 NDKK6 株数の経時変化