

沖縄の土壌から取得したアルカン分解菌を用いた油汚染土浄化技術の適用性評価

(株)大林組 正会員 ○藤井雄太, 日野良太, 大西健司, 西川直仁, 緒方浩基
琉球大学 非会員 廣瀬孝三郎, 新里尚也 正会員 松原仁

1. はじめに

現在、沖縄県では米軍基地の返還が進んでいるが、基地では軽油、重油、機械油などの油類が多量に使用されていると想定され、その漏出による土壌汚染が懸念されている。そのため返還後は跡地の土壌汚染対策が必要となるが、島尻マージをはじめとした沖縄特有の土壌は非常に粘性の高い特殊な土質であり、その場合でも対応可能な技術が求められる。

この対策技術の一つに、油の構成成分であるアルカン（鎖式飽和炭化水素）を分解する菌を沖縄の環境中から取得し、油汚染土に外部から添加して浄化を行う工法（バイオオーグメンテーション）が考えられる。現地の菌であれば沖縄の特殊な土壌中でも効果を発揮しやすいと予想され、菌の導入に対する社会的理解も得やすい。また通常は浄化の難しい油の高分子量成分を分解可能な菌を見つけることができれば、特に有効な技術となりうる。

そこで、沖縄の油汚染土に対するバイオオーグメンテーション技術の適用性検討のため、沖縄の土壌から単離したアルカン分解菌の様々な油に対する分解能力を室内実験により評価した。

2. 液体培養によるアルカン分解実験

2. 1. 実験方法

沖縄の土壌から単離した 28 株, 49A 株, 11A 株, 24A 株, 30A 株, 48A 株の 6 種類のアルカン分解菌を実験に使用した。300 mL 容三角フラスコに No.11 培地（表 1）を 150 mL ずつ分注してオートクレーブ滅菌し、テトラコサン（C24 アルカン）とトリアコンタン（C30 アルカン）をそれぞれ 0.3 g ずつ、テトラコンタン（C40 アルカン）を 0.15 g 添加した。さらに各菌株の前培養液 1 種を 10^5 CFU/mL の菌数となるように添加し、30°C、150 rpm の条件で振盪培養した（図 1）。実験開始時と 7 日後、21 日後に培養液を採取して希釈し、LB 平板培地に塗布して生菌数を測定した。ガイドライン¹⁾に準拠して培養液の TPH（全石油系炭化水素）を水素炎イオン化検出器を搭載したガスクロマトグラフで測定し、各ピークの面積から 3 種類のアルカンごとの濃度を算出した。

2. 2. 実験結果・考察

各ケースの実験開始時と 7 日後、21 日後の生菌数を図 2 に示す。実験開始時の生菌数は各ケース $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL 程度であったが、7 日後には全てのケースで生菌数が大きく増加し、特に 28 株と 24A 株で約 3.5×10^9 CFU/mL まで達した。各ケースのテトラコサンの初期値に対する 7 日後、21 日後の分解率を図 3 に示す。28 株, 49A 株, 11A 株, 24A 株では分解が進み、7 日後に 50~74%、21 日後に 84~97%の分解率となった。よって、この 4 種は培養液中のテトラコサンを資化して増殖したことが確認された。30A 株と 48A 株で菌が増殖したにも関わらずテトラコサンの分解が進行しなかったのは、菌が No.11 培地中の EDTA や前培養液由来の成分を資化していた可能性がある。トリアコンタンとテトラコンタンは全てのケースで全く分解していなかった（データ非掲載）。これは炭素数が少なく菌が資化しやすいテトラコサンが優先的に分解されたためだと考えられる。

表 1 No.11 培地の組成

物質名	濃度(g/L)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	4
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2.5
KH ₂ PO ₄	2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.03
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.06
0.5 M EDTA solution	0.2 mL/L

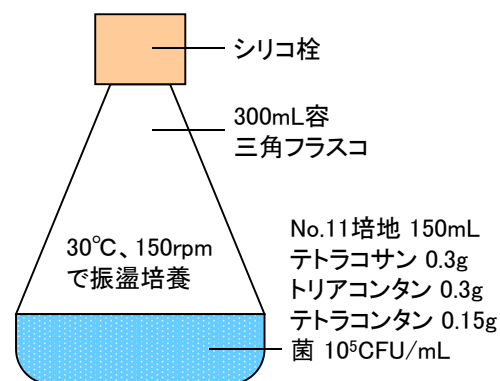


図 1 液体培養実験の概要

キーワード アルカン分解菌, 油汚染土, 沖縄, バイオレメディエーション, TPH（全石油系炭化水素）

連絡先 〒204-8558 東京都清瀬市下清戸 4-640 (株)大林組 技術研究所 自然環境技術研究部 TEL042-495-0939

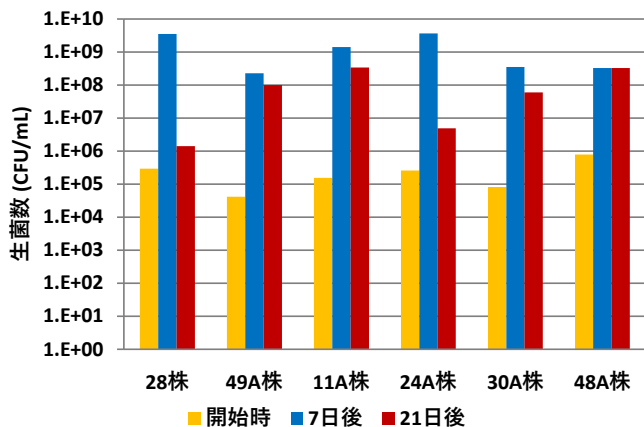


図2 液体培養実験の開始時と7, 21日後の生菌数

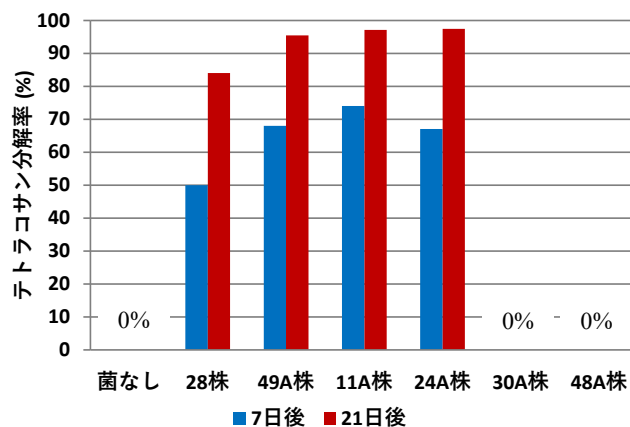


図3 液体培養実験のテトラコサンの分解率

3. スラリー試験による土壤中での油分解能力の確認

3. 1. 実験方法

アルカン分解菌は液体培養実験でテトラコサンの分解率が高かった49A株, 11A株, 24A株を使用した。島尻マーグ500gに機械油を2.5g添加して模擬汚染土壌を作製し, 500mL容三角フラスコにこの模擬汚染土壌50gとイオン交換水200mLを投入した。さらに250mgの浄化促進剤と, 無機栄養塩類として窒素成分の尿素とリン成分の過リン酸石灰を5mgずつ添加した。各菌株の前培養液1種を土量に対して 10^6 CFU/gの菌数となるように加え, 30°Cでスターラーで攪拌した(図4)。実験開始時と14日後, 28日後にガイドライン¹⁾に準拠してスラリー中のTPHを水素炎イオン化検出器を搭載したガスクロマトグラフで測定した。

3. 2. 実験結果・考察

各ケースのスラリー中TPHの経時変化を図5に示す。菌非添加のケースではTPHが初期値の620mg/Lから減少せず, 機械油の分解が進んでいなかった。そのため, 今回使用した島尻マーグは微生物活性が低い土壌であったと推測される。一方, 菌を添加したケースではTPHが経時的に減少し, 28日後の時点で390~460mg/Lまで低下した。3種類の菌の中では24A株のTPH減少率が37%と最も大きかった。この結果から, 土壌中におけるアルカン分解菌の油分解促進効果を確認することができた。

4. まとめ

本研究ではまず液体培養実験でアルカン分解菌の油分解能力を確認し, さらにスラリー試験により土壌の存在下でもアルカン分解菌の添加で油の分解が促進されることを確認した。以上の結果から, 特に土壌の微生物活性が低い場合に, 沖縄の油汚染土に対するバイオオーグメンテーション技術の適用可能性はあると考えられる。一方で液体培養では高分子量のアルカンが分解されず, 土壌存在下では分子量の大きい機械油が分解されるという差異も見られた。今後はより詳細なデータの取得や, 国頭マーグなど沖縄の別の土壌を用いた効果の確認を行ってみたい。

参考文献

1) 環境省(2006)油汚染対策ガイドライン。

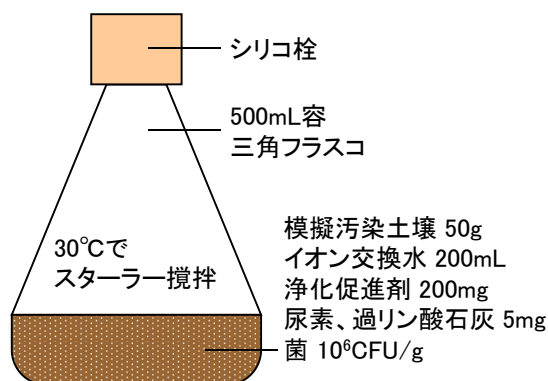


図4 スラリー試験の概要

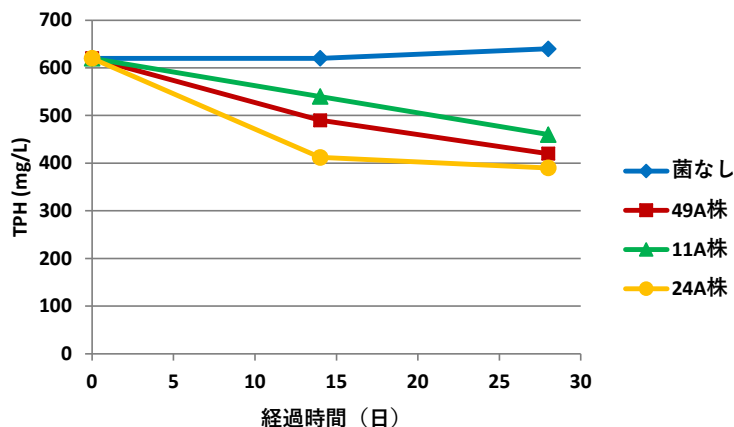


図5 スラリー試験のスラリー中TPHの経時変化