

微生物による油汚染土壌の浄化実験

Biodegradation Experiments on the Contaminated Soil with Petroleum Hydrocarbon

中田 雅夫 MASAO NAKATA
本山 厚 ATSUSHI MOTOYAMA
喜多 治之 HARUYUKI KITA

土壌中の微生物による油の分解を確認するために、最高5%までのA重油を混合した黒土（火山灰土壌）に空気、水分、栄養塩を供給して微生物を活性化させる実験を行い、土壌中の油分の経時変化を調べた。その結果、すべての混合割合で土壌中の油は分解されることが確認され、245日後には95%以上の油分が除去された。

キーワード: 土壌汚染, 油汚染, バイオレメディエーション, 生分解

Biodegradation experiments were conducted on “Kurotsuchi”(volcanic ash soil) samples containing up to 5% of A-fuel oil. It was confirmed that the oil contamination in the soil had been biodegradable, and over 95% reduction in the hydrocarbon content of the soil could be achieved after a period of 245 days.

Key Words: Soil Contamination, Oil Contamination, Bioremediation, Biodegradation

1. はじめに

環境に関する法令は昭和43年の大気汚染防止法・騒音規制法、昭和45年の水質汚濁防止法などがあり、土壌に関しては昭和45年に農用地の土壌の汚染防止等に関する法律がある。このように、水や大気等に関しては昭和40年代の高度成長時代に次々と規制法が施行されたが、一般的な市街地の土壌に関しては、平成14年になりようやく26物質を規制対象として土壌汚染対策法が制定され、平成15年2月に施行された。

土壌汚染を引き起こす物質には、重金属類、揮発性有機化合物、農薬類、油類などがあり、近年の工場移転や再開発に伴いこれらの汚染状況が顕在化している。国内法規制では油類の土壌や地下水への漏洩事故等への措置が規定されているが、土壌汚染対策法ではベンゼンを除いて油類は規制対象から外れている。しかし諸外国では基準化されていることもあり、今後、油汚染対策に関する法整備も進むと予測される。

油汚染土壌の浄化方法には、土壌洗浄、熱脱着・熱分解、バイオレメディエーションなどいくつかの技術が存在するが、油の種類はもとより、土壌の性状や現場サイトの条件により適切な処理法を行う必要がある。バイオレメディエーションは微生物により有害物質を二酸

化炭素や水などの無害な物質に分解する技術であり、土着微生物を栄養塩や空気（酸素）で活性化させ有害物質を分解させる方法（バイオスティミュレーション）と有害物質の分解に有効な微生物を選定・添加する方法（バイオオーグメンテーション）の2種類に大別される¹⁾。

バイオスティミュレーションのように土着微生物の利用は問題となることは少ないが、バイオオーグメンテーションのように外来の微生物を利用する際には周辺環境への影響評価や社会的受容に関して合意形成が必要であり²⁾、わが国では、バイオオーグメンテーションの適用は稀である。

本報告では、人工的に作成したA重油の汚染土壌を対象として土着微生物による浄化実験を行い、油の分解を検証するとともに、空気の供給方法、油濃度が分解に及ぼす影響、分解されるA重油中の組成を調べた結果を報告する。

2. 実験方法

(1) 人工汚染土壌

実験に供した汚染土壌は、市販の園芸用黒土にA重油を乾燥土壌重量に対して2%の割合で混合し作成した。実験に用いた黒土は火山灰土壌であり、粒径75 μ m以下

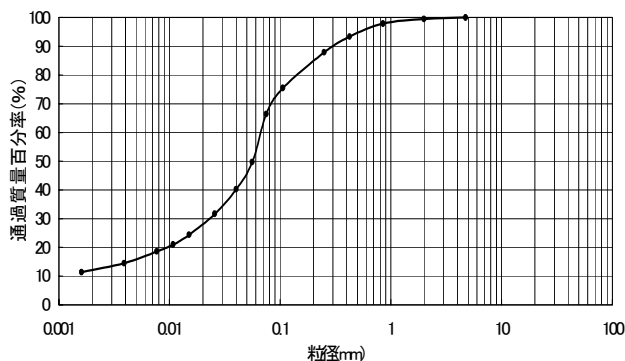


図-1 黒土の粒径加積曲線



写真-1 実験状況

のシルト・粘土分が20%近く含まれているが(図-1)、通気性に富んだ土壌である。また、黒土中の栄養分を調べるために、A重油を混合する前の土壌について、溶出試験を行った。溶出試験は水 800ml 中に試料土壌 80 g を入れ振とうし、ろ過した検液について全窒素、全リン、カリウム等を分析した(表-1)。全窒素や全リンは低い値を示し、土壌中には微生物を活性化させる栄養分は少なく、実験に際しては栄養塩を添加する必要があると判断された。

(2) 実験方法

まず、空気の供給量の違いが油の分解に及ぼす影響を調べるため、2ケースの実験条件を設定して行った。写真-1に示すような2個の土壌槽(1300×700×H200mm)に調整した汚染土壌をそれぞれ約80kg入れた。一方は土壌を入れたままの状態であり(Case1; 写真-1の右槽)、もう一方は下部に散気管を3本設置し、ベビーコンプレッサーで強制的に空気を送り込んだ(Case2; 写真-1の左槽)。空気の供給には能力20 l/minのコンプレッサーを使用し、土壌中に設置した3本の散気管から1本当たり

表-1 黒土溶出試験結果

pH	5.7
全窒素 (UV 法)	3 mg/l
全リン	0.02 mg/l
カリウム	1.1 mg/l
COD (Mn)	4.3 mg/l
BOD	3 mg/l

表-2 栄養塩の種類

ペプトン	67 g/l
グルコース	67 g/l
塩化アンモニウム	156 g/l
リン酸水素二カリウム	12 g/l
リン酸二水素カリウム	12 g/l

表-3 実験ケース

	A重油混合割合	空気の供給方法	備考
Case1	2%	放置	
Case2	2%	強制通気	
Case3	1%	攪拌	Case1 と Case2 の終了後に油を再混合
Case4	5%	攪拌	

3 l/min, 合計 9 l/minの空気を送った。両ケースとも実験の開始時に、表-2に示す濃度の栄養塩 1 l を 5 l に希釈して加えた。それぞれおよそ1ヶ月に1回、同様にして栄養塩を添加した。

Case1, Case2 ともに分解が進行し、微生物が活性化されたと判断できる時点で、両ケースの土壌を混合した後に、土壌をほぼ同じ重量に2分割した。一方の土壌には、乾燥土壌重量に対しておよそ1%になるようにA重油を加え(Case3)、もう一方の土壌にはおよそ5%になるようにし(Case4)、初期の油濃度の違いが分解に及ぼす影響を調べた。両ケースともに、およそ2日に1回の頻度で土壌を攪拌し、Case1, Case2 と同様に1ヶ月に1回程度栄養塩類を散布した。以上の4ケースの実験条件をまとめて表-3に示す。

実験の過程での土壌の油分濃度の変化は、4ケースともノルマルヘキサン抽出物重量とTPH(Total Petroleum Hydrocarbons; 総石油炭化水素)とを分析して調べた。なお、TPHについてはGC法(ガスクロマトグラフ法)により油分を炭素数順にC6-C10, C10-C28, C28-C44の範囲で個別に分析し、どの範囲の炭素化合物が分解されるかも調べた。

3. 実験結果および考察

実験開始からの経過日数と土壌のノルマルヘキサン抽出物重量およびTPHとの関係を図-2に示す。各ケースと

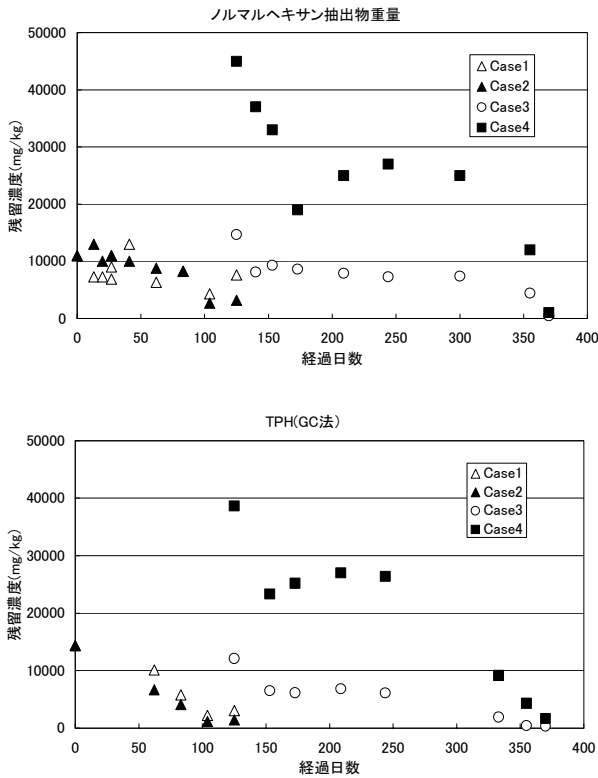


図-2 土着微生物によるA重油の分解
 上段：ノルマルヘキサン抽出物重量の経時変化
 下段：TPH(GC法)の経時変化

もノルマルヘキサン抽出物重量とTPHの変化は、ほぼ一致している。Case1とCase2では、およそ50日までの油分の低下は緩やかであるが、それ以降低下速度が大きくなるのが確認される。実験開始当初は、土壌中の微生物の活性は低かったが、その後栄養分等により活性が増大し、油分の分解が進んだと推察される。しかし、Case1とCase2の処理結果に大きな差異はみられない。このことは、土壌厚が小さいことと通気性のよい土壌であったために通気を行わなくても底部まで酸素が供給されたためと考えられる。また、土壌中の油濃度分布を均一にする、あるいは栄養塩を均一に散布するために、栄養塩を添加する際に実験土壌を攪拌したことも起因していると考えられる。Case1とCase2の実験は125日間継続し、その後Case3とCase4の実験に移行した。

Case3およびCase4ではCase1やCase2と異なり、実験開始当初から速やかに油分の低下が認められ、土壌中の微生物の活性化された状態では油分の分解が促進されることを示唆している。しかしながら、150日から300日の範囲では、油分の低下がほとんど認められない。この期間は冬季にあたり、実験開始時には20~25℃であった土壌中の温度が10~15℃にまで低下し、微生物の活性が阻害されたものと考えられる。およそ300日を過ぎる

表-4 油分分析値

	ノルマルヘキサン抽出物重量 (mg/kg)		TPH (GC法) (mg/kg)	
	0日	125日	0日	125日
Case1	11000	7600 (69.1%)	Total	14351 (100%) 3047 (21.2%) (100%)
			C6-10	1200 (8.4%) 32 (2.7%) (1.1%)
			C10-28	12700 (88.5%) 2930 (23.1%) (96.2%)
			C28-44	451 (3.1%) 85 (18.8%) (2.8%)
Case2	11000	3200 (29.1%)	Total	14351 (100%) 1464 (10.2%) (100%)
			C6-10	1200 (8.4%) 0 (0.0%) (0.0%)
			C10-28	12700 (88.5%) 1410 (11.1%) (96.3%)
			C28-44	451 (3.1%) 54 (12.0%) (3.7%)
Case3	14667	430 (2.9%)	Total	12098 (100%) 333 (2.8%) (100%)
			C6-10	240 (2.0%) 40 (1.7%) (0.0%)
			C10-28	11527 (95.3%) 266 (2.3%) (90.8%)
			C28-44	331 (2.7%) 27 (8.2%) (9.2%)
Case4	45000	1000 (2.2%)	Total	38605 (100%) 1660 (4.3%) (100%)
			C6-10	1690 (4.4%) 40 (2.4%) (0.0%)
			C10-28	36150 (93.6%) 1520 (4.2%) (93.8%)
			C28-44	765 (2.0%) 100 (13.1%) (6.2%)

注) TPHの分析値下の括弧内は全体に占める炭素数別の割合を百分率で示す。125日後および245日後のTPH分析値右の括弧内は0日との比較を百分率で表している。

表-5 栄養分の土壌残存量

	Case3	Case4
pH	7.1	7.0
全窒素 (UV法)	400 mg/l	290 mg/l
全リン	0.52 mg/l	0.44 mg/l
カリウム	17 mg/l	9 mg/l

と、再び油分の低下が認められる。気温の上昇とともに微生物の活性も増大し、油分の分解が促進されたものと思われる。Case3、Case4は245日間継続し、最終的には両ケースともに95%以上の油が土壌中から除去されているのが確認された(表-4)。

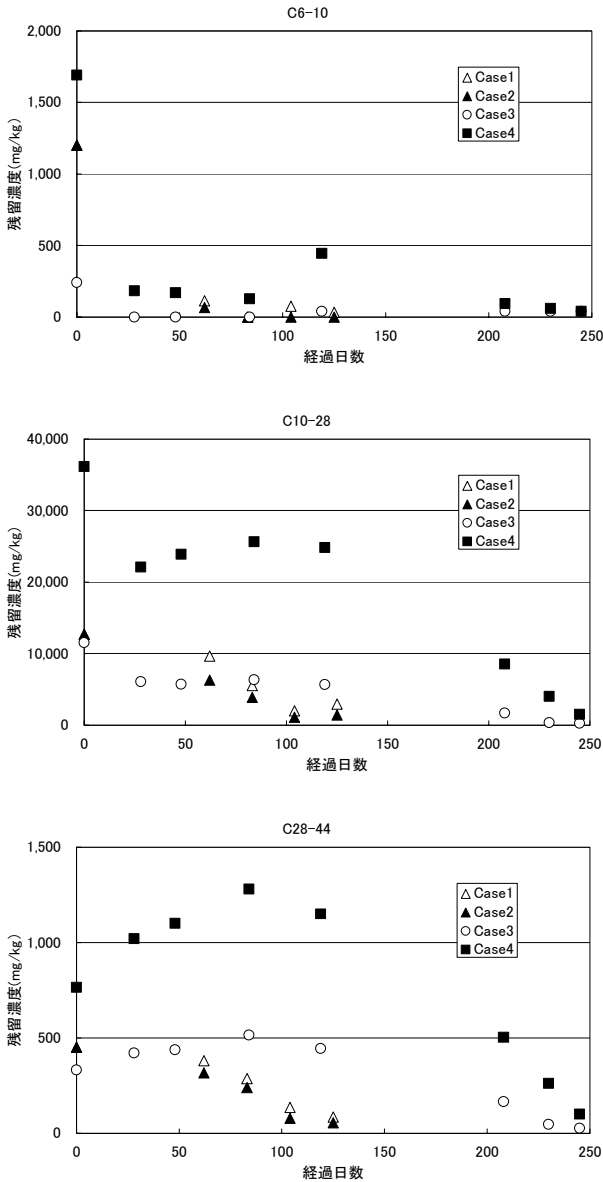


図-3 炭素数別の残留油分濃度

上段： C6-C10 ， 中段： C10-C28 ， 下段： C28-C44

Case3 および Case4 の 245 日後の試料についてそれぞれ溶出試験を行い、栄養塩の土壤中残存量を調べた結果を表-5に示す。表-1に示した実験前の溶出試験の結果と比較すると、栄養塩を定期的に添加したことにより土壤中の栄養分は増加し、微生物の活性に寄与したと考えられる。しかし、微生物を活性化させるための適正な栄養塩の量、配合、添加頻度などは今後の検討課題である。また、空気の供給方法については、今回の実験結果から明確な結論は得られないが、最適な供給方法を検討するためには、さらに規模を大きくした実験を実施する必要がある。

TPH 分析における炭素数別の分解傾向を図-3に示す。なお、Case3 および Case4 は、それぞれの実験開始時

表-6 イアトロスキャン分析結果

	初期値	Case1	Case2
経過日数	0	125	125
飽和分 (%)	51.2	59.4	52.9
芳香族分 (%)	43.7	38.5	43.6
レジジン分 (%)	4.1	2.1	3.5
アスファルテン分 (%)	1.0	0.0	0.0

0日として図示している。炭素数C6-C10では、実験開始からすぐに土壤中から除去されているのが分かる。炭素数が少ないほど分解されやすく、また揮発による影響も考えられる。C10-C28はA重油の大部分を占め、前述したTPHの分解傾向と類似している。C28-C44についても油全体に近い分解傾向である。A重油に占めるC28-C44の割合は2,3%と小さいが、徐々に占める割合が増加していくのが確認され(表-4)、炭素数が多いほど若干分解しにくい傾向であるが、ほぼ油成分全体で分解作用が起こっていると考えられる。また、Case1とCase2については、実験前と終了時の試料についてイアトロスキャン分析を行い、表-6に示す分析結果を得た。レジジン分やアスファルテン分は分解しにくいとされているが³⁾、この時点ではそれぞれの画分に大きな変化はみられず、全体的に減少していると解釈できる。

4. おわりに

土着の微生物による油の分解を確認するために、黒土に最高5%までのA重油を混合した土壌を対象として浄化実験を行った。その結果、すべての混合割合で分解が確認され、5%混合した土壌でも245日後には95%以上の油分が分解された。

今回の実験では長い時間をかけて処理を行ったが、土壌中の温度や水分の管理、栄養の適切な配分などによりさらに短期間で処理が可能と考えられる。また比較的通気性のよい土壌について今回報告を行ったが、粘土質の通気性の悪い土壌についても検討する必要がある。さらに、A重油より重質油についても分解が可能かを検討することも重要な検討課題である。これらの検討課題について、今後検討を進めていく予定である。

参考文献

- 1) 木暮敬二：地盤環境の汚染と浄化修復システム，技報堂出版，pp.157-158, 2000
- 2) 木暮敬二：バイオレメディエーション，土と基礎，Vol.50, No.8, pp.33-34, 2002
- 3) 松浦健一他：油で汚染された土壌の処理とリサイクル，資源と素材，Vol.113, No.12, pp.1121-1125, 1997