

バイオスパーキングによるベンゼン汚染土壌・地下水の浄化

—ベンゼンの微生物分解の検討とサイトでの実施例—

田崎 雅晴
(技術研究所)

岡村 和夫
(技術研究所)

熊本 進誠
(技術研究所)

田澤 龍三
(技術研究所)

Cleanup of Benzene Contaminated Soil and Groundwater by Biosparging

—A study of microbial degradation of benzene and Application case with contaminated site—

by Masaharu Tasaki, Kazuo Okamura, Shinsei Kumamoto and Ryuzo Tazawa

Abstract

Biosparging is an effective on-site soil remediation technology. Our laboratory tests showed that indigenous microorganisms contributed to the cleanup of contaminated soil. Further, the test result suggested that vaporization alone was inefficient in removing benzene. Highly efficient remediation may be obtained by using the two functions of biological remediation and vaporization.

In a demonstration test at an actually contaminated site, benzene contamination was completely cleaned up by biosparging. It suggests that indigenous microorganisms participated in the remediation.

概 要

汚染土壌の原位置浄化技術の一つであるバイオスパーキングにおいて、その浄化に土着の微生物が有効に働いていることをベンゼンをモデル汚染物質としたラボ試験により明らかにした。また通気による気散効果だけでは低濃度ベンゼンの浄化は難しく、微生物浄化と気散効果の相乗効果により、効率的な浄化が進んでいることが示唆された。この知見をもとに、実際のベンゼン汚染サイトでのバイオスパーキングによる浄化試験を実施した。

§ 1. はじめに

汚染土壌の浄化技術の一つとしてバイオスパーキングがある。この技術はランドファーマーミングやバイオパイル等の掘削し、地上で浄化を行う方法と異なり、掘削することなく直接汚染土壌内に空気もしくは酸素を供給して、微生物の活性を上げることにより、汚染物質の生物分解を促進させる原位置浄化技術である。^{1), 2)}

バイオスパーキングは特に飽和帯のガソリンや灯油、ベンゼンなどの石油系物質による汚染の浄化に有効で、さらに不飽和層に吸着された物質にも有効であると言われている。これら石油系物質は揮発性が高いため、生物活性による分解とスパージングによる気散効果（ストリップング効果）が相乗されて浄化されると考えられている。^{3), 4)}

しかしこれまで、気散の効果と微生物活性による分解との検討を行った事例はない。そのため実際にスパージングによる気散効果だけでなく、有効的に微生物による分解が行われているのか、ま

た微生物によって環境基準値以下まで浄化が出来るのかが明らかになっていない。

本報告ではこのような背景に基づき、揮発性の高いベンゼンをモデル汚染物質として、バイオスパーキングにおける微生物によるベンゼン分解特性と、実際の汚染サイトでの実証試験の結果について述べる。

§ 2. 方 法

2.1 微生物によるベンゼン分解特性と気散効果

2.1.1 供試土壌

試験に使用した土壌は、実際にベンゼン汚染が認められている土壌から以下の二種類を用いた。

A: 汚染地Aの深度2.5m(帯水層シルト状土壌)

B: 汚染地Bの深度3.0m(帯水層砂質状土壌)

本試験では、あえて土着微生物の少ないであろう土壌(シルトおよび砂質状土壌)を用いて生物活性を確認することとした。

No.	土壌	ベンゼン濃度	滅菌
A-10	汚染地 A	10mg/kg (1mg/L)	-
A-100		100mg/kg(10mg/L)	-
A-A/C		100mg/kg(10mg/L)	autoclaved
B-10	汚染地 B	10mg/kg (1mg/L)	-
B-100		100mg/kg(10mg/L)	-
B-A/C		100mg/kg(10mg/L)	autoclaved
C-10	none	1mg/L in bottle	
C-100	none	10mg/L in bottle	
D	汚染地 A	100mg/kg(10mg/L)	autoclaved

表-1 試験条件

2.1.2 反応系の構築

土壌に適量のベンゼンを添加し、それを混合することにより、濃度の均一で、かつ所定濃度のベンゼン汚染土壌を構築することは非常に困難である。そのため本試験の反応系は、土壌に水を加えスラリー状とし、その後ベンゼン水溶液を添加することにより構築した。

土壌に9倍量の水を添加し、これに栄養塩として重量比「ベンゼン：窒素：リン=100：10：1」となるように、尿素およびリン酸水素ナトリウムを添加した。コントロールとしてオートクレーブ(121℃、20分)処理により滅菌した系と、土壌を含まない(水のみ)系も調整した。系は2L容培養瓶に1L調整し、気相を酸素ガスにより置換後、ベンゼン溶液を規定量添加してテフロンコーティングしたブチル栓にて密栓した。

ストリッピング効果を検討する系は、汚染地Aの土壌を同様に調整して用いた。オートクレーブ処理にて滅菌後、ベンゼン溶液を無菌的に添加し、予め系内に設置してあるガラスボールフィルターより通気を行った。通気量は1L/dayとなるようにタイマーによりエアポンプを断続的に運転させた。この通気量1L/dayは、通常バイオスパーキングを行うときの通気量(一日当たり対象土壌容量と同量程度の通気量)と、本反応系の容量1Lより算出し設定した。

ベンゼンの濃度は浄化対象となる現実的な濃度を想定し、含有量10mg/kg-soilと含有量100mg/kg-soilの2種類を検討した(滅菌処理系とエアレーション系は含有量100mg/kg-soilのみ)。溶出試験と同希釈である本培養系では、それぞれ1mg/Lと10mg/Lとなる。

25℃の恒温槽内で反応を行い、ストリッピング系以外の全ての反応系は振蕩培養を行った。反応系の内容を表-1に示した。

2.1.3 分析およびサンプリング

ベンゼンの分析はPIDガスクロマトグラフ(PID-GC)および高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用い定量を行った。検出限界値はPID-GCが0.001mg/L、HPLCが0.2mg/Lであり、低濃度測定においてはPID-GCのみを用いた。

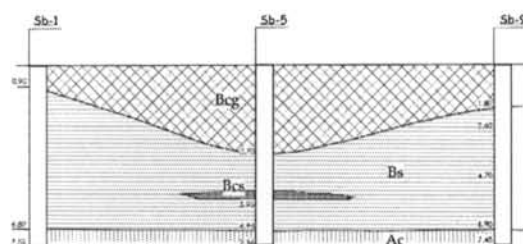


図-1 試験サイトの地層

PID-GC用の試料はシリンジにて20mLを採集後、直ちに密栓容器に移し、恒温後にヘッドスペースガスを分析に供した。またHPLCは、採取した試料を0.45μmフィルターでろ過後、直ちに分析に供した。

2.2 実証試験サイト

2.2.1 対策範囲

実証試験サイトはベンゼンに汚染された工場跡地であり、幅約20m、長さ約20mの面積約400m²、汚染深度は5mまでの土壌を浄化対象とした。

2.2.2 分析法

ベンゼンの分析は、サイトではGC-PIDで行い、要所では、GC-MSによる公定法で分析した。またガス中の酸素および二酸化炭素濃度、pH等をサイトにて適宜測定した。

2.2.3 地層概要

GL-7mまでのボーリング調査結果の概略図を、図-1に示した。全体的にシルト混じり砂質土であるが、主としてGL-0~2mが埋め土(Beg)、2~6mはシルト質細砂(Bs)であった。また、対象地中央部では、GL-4~5mに挟み砂質シルト層(Bcs)が存在する。地下水位はGL-1.0m程度であり、降水による影響を短期に受け水位が上下することが確認された。

2.2.4 浄化方法、運転条件

1) 全体システムと井戸の配置

浄化の概念図を図-2に示す。空気を飽和層へ注

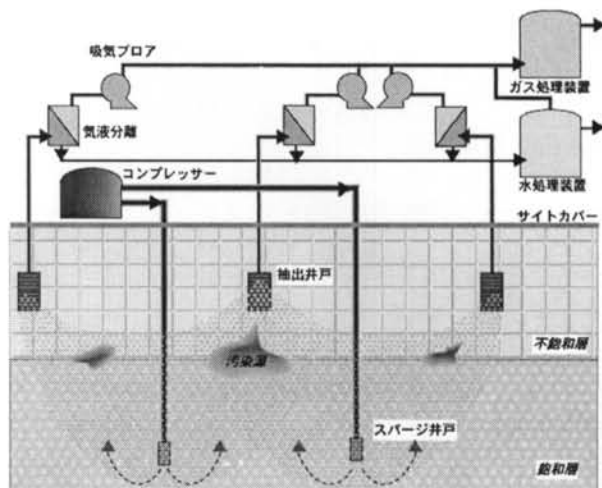


図-2 バイオスパーキングの概念図

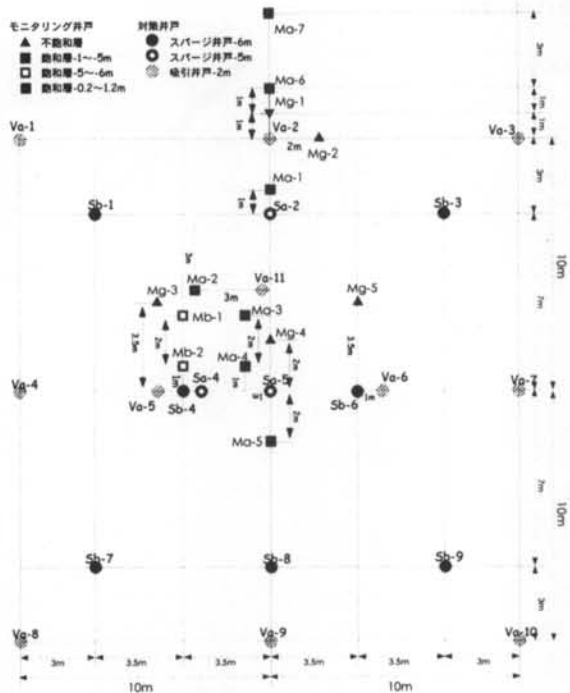


図-3 サイトにおける井戸配置

入し、不飽和層から抽出するストリッピング効果と、同時に空気供給による生物活性の向上を期待した。抽出ガスは、活性炭層へ導入し、吸着処理後に大気へ排出した。

地表面には注入空気、抽出ガスの大気との短絡流を防止するためサイトカバーを敷設した。

2) 井戸配置とスパージ、抽出条件

スパージ井戸は、対象地中央部の GL-4~5m 近傍に挟みシルト層が存在したため、挟み層の上部・下部の深度に配置した。スパージ井戸は10本設置し、抽出井戸は注入した空気(ガス)が効率よく抽出できて、敷地外への漏洩を防止できるような配置で不

飽和層へ11本設置した(図-3参照)。スパージ空気量は、30~100L/分、抽出量は50~150L/分を目安に設定した。

モニタリング井戸は、水位変動の計測、地下水、ガスの分析を目的として飽和層へ9本、不飽和層へ5本設置した。これらのモニタリング井戸でベンゼン、溶存酸素、pH等の経時変化を測定した。土壌の分析は、別途に適宜ボーリングを行い実施した。

3) スパージの影響範囲

浄化運転に先だってスパージ井戸の影響範囲試験を実施した。影響範囲はスパージ時の地下水位の変化(マウンディング)の測定等により評価した。測定の結果、埋め土、砂質シルト層が混在するやや複雑な地層であるが、10本のスパージ井戸によって浄化対象領域全体に影響を及ぼしていることを確認した。浄化運転中も水位の変動など同様の手法でチェックした。

§ 3. 結果および考察

3.1 微生物によるベンゼン分解特性と気散効果

3.1.1 ベンゼンの生物分解

各条件の反応系におけるベンゼン濃度の経時変化を図-4に示した。汚染地Aの土壌も汚染地Bの土壌もベンゼンの初期濃度に係わらず、試験開始後一週間のうちに、ベンゼンが全て分解されていることが観察された。各下図に低濃度部分を拡大表示したが、A-10, A-100, B-10, B-100 全て、ベンゼンが検出されない濃度(PID-GCでの検出限界0.001mg/L)まで分解されていることが明らかになった。一方、土壌を含まない系(C-10, C-100)および滅菌を施した系(A-A/C, B-A/C)はベンゼンの現象が確認されなかった。このことより、土壌Aおよび土壌B中に存在する微生物の活性によ

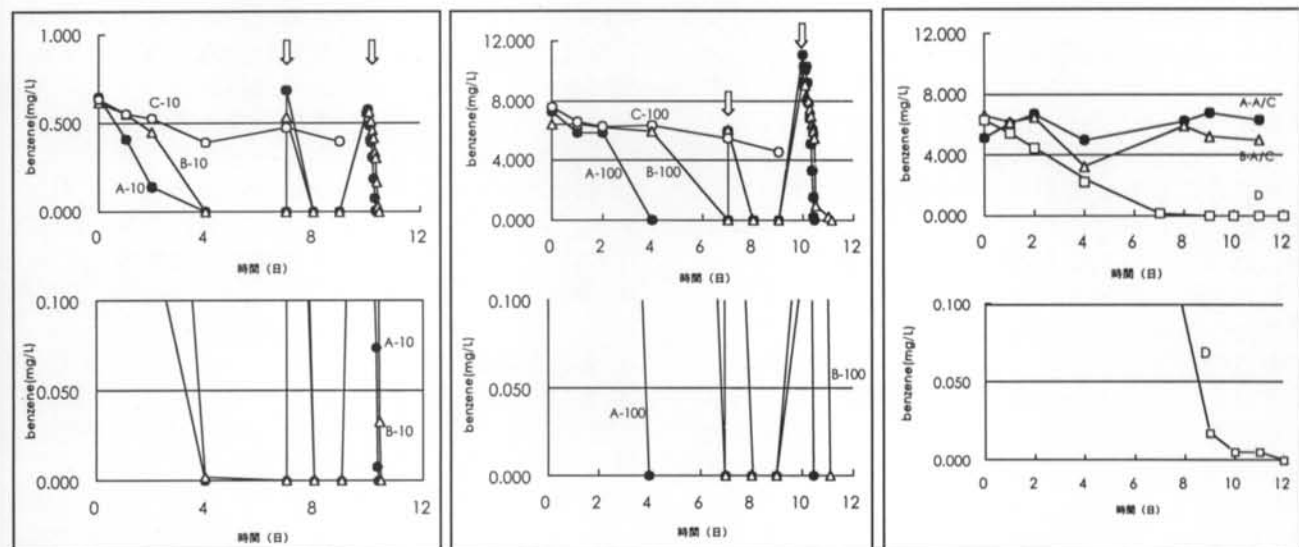


図-4 各系におけるベンゼンの濃度推移。図中の各番号は表-1と一致する。各下図は各上図の低濃度部分を拡大したものである。図中の“↓”はベンゼンの添加を示す。

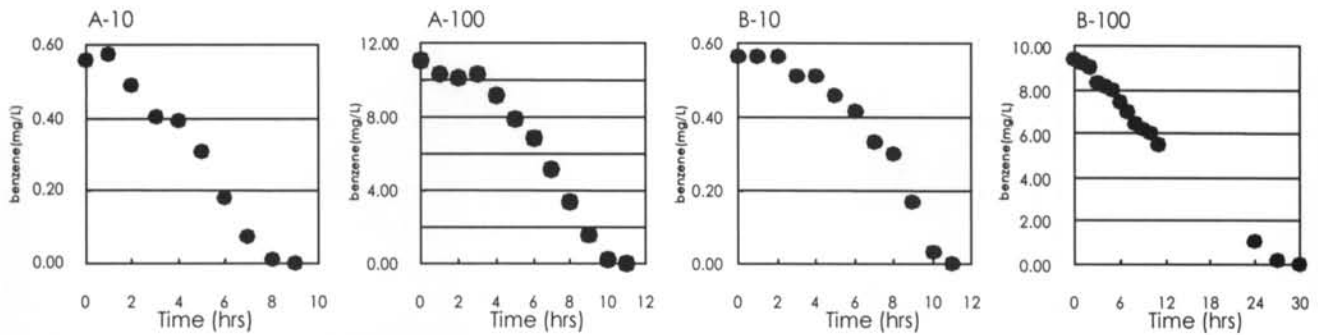


図-5 ベンゼン再添加後の分解経過

り、ベンゼンは検出限界以下まで分解されることが明らかになった。つまりベンゼンの土壌および地下水の環境基準は 0.01mg/L であるので、生物活性だけにより、ベンゼン汚染土壌および地下水を環境基準以下まで浄化できる可能性は大きいと推測された。

この図に表されているように、反応を開始した二日目までは A-10, A-100, B-10 および B-100 のいずれにおいても、ラグタイムと見られるような緩やかな減少を示した。一方、一度ベンゼンが検出されなくなった各系に再びベンゼンを添加（図-4の↓）した場合は、再添加二日後にはベンゼンは検出されなかった。これはベンゼンを添加し反応を開始した当初は、土壌中に存在した土着微生物のベンゼンに対する馴養期間となっていたのではないかと推測された。再添加後は馴養効果および増殖していた微生物により、外見上急激な減少が観察されたのではないかと推測された⁵⁾。

図-5に二回目の再添加後のベンゼンの経時変化を示した。図からも明らかなように、全ての系においてほぼ直線的に反応が進んでいたことが確認された。これらのことより二回目の添加以降のベンゼンは、最初の添加により馴養、増殖した微生物が生物源となり（今回の実験においては直接的な生物量の測定が出来なかったが）、最初のベンゼン分解より速くベンゼンが消費されたものと考察された。

このことは、同程度の濃度のベンゼン消費を考えた場合、最初にある程度の馴養や有効微生物の増殖が行われれば、その後のベンゼンの分解は十分に期待できることを示唆しているものと考えられた。実際の汚染サイトにおいては、浄化開始の濃度から汚染濃度が上昇することはないため（サイト内の物質移動は除く）、本試験の結果より、汚染サイトに生息する微生物（土着微生物）の活性を通気等で上げることにより、ベンゼン汚染を十分に浄化できる可能性があることが示唆されたと思われる⁶⁾。

3.1.2 ストリッピングによるベンゼンの減少

図-4中の「D」は、ストリッピングによるベンゼン濃度の減衰を示している。通常バイオスパー

ジングにおける通気量の目安は、一日当たり対象土量と同量とされている。本試験ではこれにならない、反応から通気量を 1L/日となるように調整した。通気を始めて一週間はほぼ直線的にベンゼン濃度は減少し、9日目では見かけ完全にベンゼンが気散された様に観察された。しかし実際は拡大した図からも明らかなように、9日目から11日目までは 0.02~0.005mg/L の非常に低い濃度ではあるが、ベンゼンが気散しきれていなかったことが確認された。本試験系は土壌を水に懸濁しているスラリー系を用いているために、実サイトでの挙動とはある程度異なると判断できるものの、本試験の結果から、ストリッピングによるベンゼンの浄化は、ある程度までは直線的に気散し除去されるが、環境基準値である 0.01mg/L 前後では、除去効率が低下すると推測された。これはヘンリーの法則やドルトンの分圧の法則に支配される単純な水系の気散に、物質吸着の可能性が考えられる土壌が混在することにより、低濃度ベンゼンの気散が効果的に進まないのではないかと考えられた。

一方、生物活性によるベンゼンの分解では、活性が上がりベンゼンの分解が始ると、低濃度（0.01mg/L 前後）でも除去速度が落ちることなく検出限界値以下まで分解されていた。生物分解の場合は、基質（本件はベンゼン）親和性との関係が大きいと考えられるが、今回試験を行った両土壌で働いた微生物に関しては、浄化を行うに十分な基質親和性を持っていたものと推測される。これらのことより、ベンゼンの浄化には単なるストリッピング（スパージングによる気散効果）によるものより、その効果と合わせて、生物浄化の寄与も大きいものと考察された。

3.2 実証試験サイト

3.2.1 ベンゼンの除去

地下水のベンゼン濃度の等高線図の経時変化を図-6に示した。運転開始直後にはスパージによる攪乱に起因して一時的に濃度が上昇した部位（Ma-2, 3, 4 など）もあるが、運転開始後、数十日を経過してベンゼン濃度は着実に低下しており、良好な修復効果が認められた。週に一回程度の各

部位におけるベンゼン等の分析結果に基づいて、各スパージ・抽出井戸の注入・抽出空気量、圧力をコントロールした。

これらによって約 2 ヶ月で最大濃度 1mg/L 程度のベンゼン（土壌・地下水）汚染を 0.01mg/L の環境基準値以下のレベルまで修復することができた。土壌のベンゼン濃度も同様の結果が得られた。

3.2.2 溶存酸素、pH 等の変化

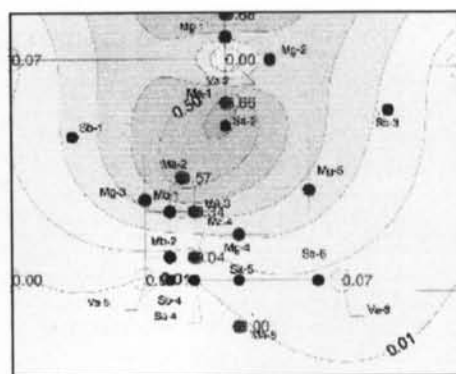
図-7 に溶存酸素、pH の推移を示す。各モニタリング井戸での初期溶存酸素濃度は、地層に有機物質を比較的多く含む立地であり不検出、または痕跡程度であった。運転開始後の時間経過に伴って溶存酸素濃度は上昇し、1~2 週間後には 3~7mg/L に変化した（一部は、0.2~0.3mg/L）。

これら地下水の溶存酸素濃度の上昇は、スパージによる揮散（ストリップング）、およびガス抽出効果のみならず、土着性のベンゼン分解菌群の活性を高め、生物分解による浄化効果をも誘引していると考えられる。

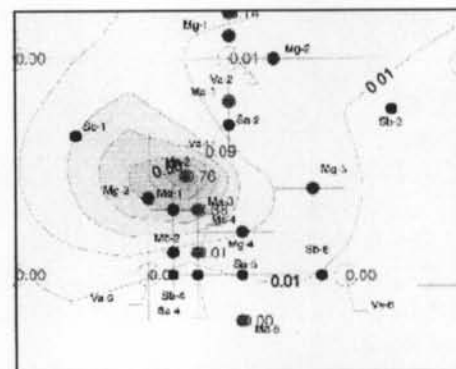
pH は、井戸作製時にシール材としてセメントを注入するため、初期に 10 を超える部位があったが、運転時間の経過と共に低下し、1 ヶ月半後にはほぼ中性域から 9 前後に戻った。その後顕著な pH の変化は認められなかった。

3.2.3 生物浄化の寄与について

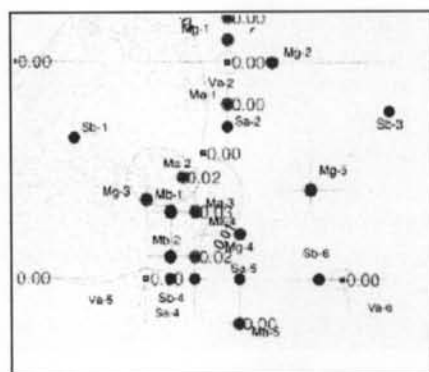
図-8 に観測井戸での地下水ベンゼン濃度と、不飽和層の炭酸ガス濃度の推移をそれぞれ示した。不飽和層の炭酸ガス濃度は全体的に上昇しており、特に Mg1 と Mg5 の炭酸ガス濃度が顕著に上がったことが確認された。炭酸ガス濃度の上昇は、微生物によるベンゼンの酸化分解の代謝によると推測された。Mg1 と Mg5 の近傍にある地下水観測井戸（特に Ma3 と Ma6）のベンゼン濃度が、炭酸ガス濃度の上昇とともに低下していることが認められた。このことより、バイオスパージによるベンゼン浄化は、スパージによる気散効果だけでなく、生物浄化も大きく寄与していると推測された。



スパージ開始時



15日スパージ実施後



45日スパージ実施後

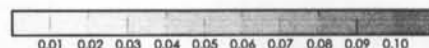


図-6 ベンゼン濃度の経時変化
上図：浄化開始前、中図：浄化 15 日後、下図：浄化 45 日後

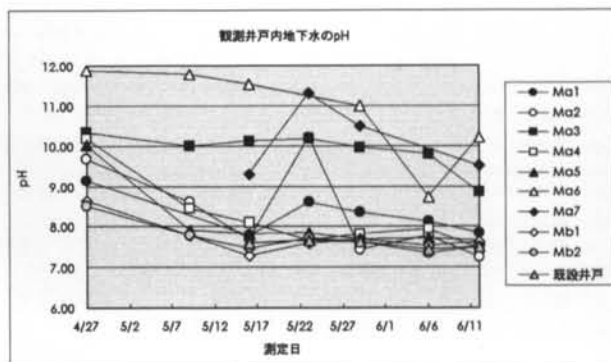
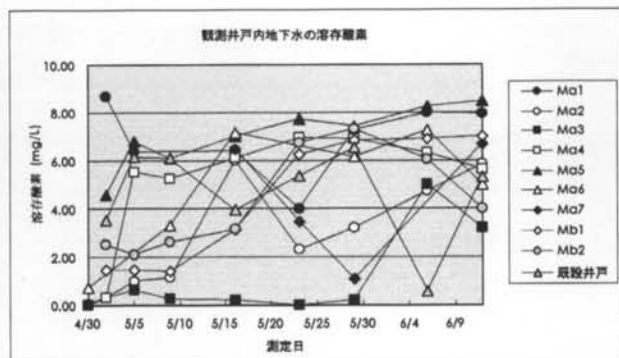


図-7 地下水の溶存酸素（左図）および pH（右図）の経時変化

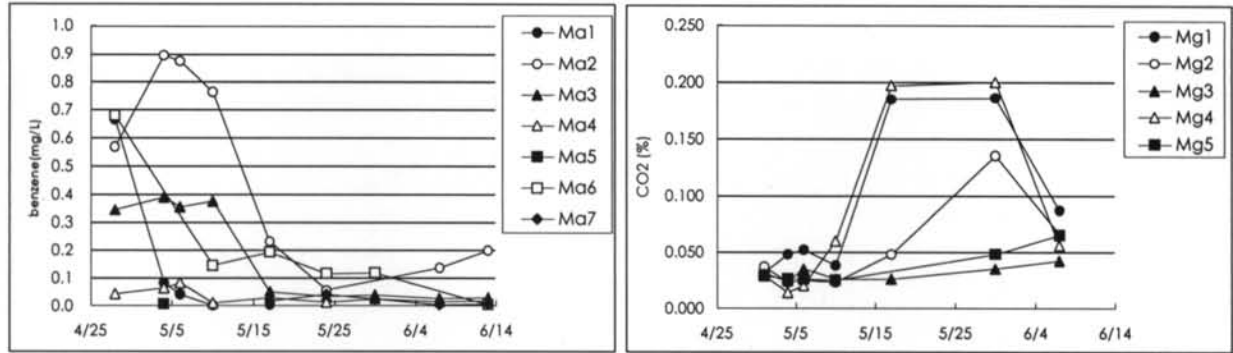


図-8 地下水中のベンゼン濃度の推移 (左図) と不飽和層中の炭酸ガス濃度の推移 (右図)

§ 4. まとめ

本研究ではバイオスパーキングによる土壌浄化を考えるうえで、はじめにベンゼンをモデル汚染物質として、そのバイオ (生物) 浄化効果と、スパーキングによる物理的ストリッピング効果の、ラボテストによる検討を実施した。その結果、以下のことが導かれた。

- (1) 土壌内の微生物の働きだけによりベンゼンを検出限界値以下にまで除去することが可能である。
- (2) シルトおよび砂質状の土壌中にも、ベンゼンを分解する能力を有する微生物が生息している。
- (3) ベンゼンの生分解は、数日のラグを経た後に、急速にその活性が進んでいく。
- (4) 活性が上昇 (微生物が増殖) すると、効果的にベンゼンを消費することが期待できる。
- (5) ストリッピング効果によるベンゼンの浄化は、環境基準値前後の低濃度でその速度が極端に低下する。
- (6) バイオスパーキングによる浄化は、生物活性によるベンゼンの浄化と、ストリッピング効果によるベンゼンの気散浄化とが相乗的に働いていることが示唆された。

次に砂質、埋め土、砂質シルト層を含む比較的複雑な地層においてベンゼン汚染土壌・地下水にバイオスパーキングを適用した実証試験結果を報告した。ベンゼン濃度は、最大 1mg/L 程度と比較的低濃度であったが、約 2 ヶ月間の浄化運転により、効果的なベンゼンの処理が行われた。

これらの浄化結果は、スパーキによる気散効果のみでなく、土着微生物によるベンゼンの生分解が大きく関与しているという報告の結果を裏付けるものであった。

§ 5. おわりに

バイオスパーキングは、掘削が不要、上部に構造物があっても適用できるなどの原位置修復のメリットがある。砂質を主とする地層の汚染修復に有効といわれているが、今回の結果より砂質シルト、埋め土への適用においても工夫次第で大きな効果が期待できることが確認された。また特別な生物剤を使用しなくとも、土着の微生物の働きにより、有効な生物浄化も期待できることが明らかになった。これらのことより、バイオスパーキングは今後とも普及展開すべき手法であると考えられる。

<参考文献>

- 1) David a. Brown, P.E. and Michael P. Mailloux : "Vapor extraction, air sparging, and bioventing in combination to remediate petroleum hydrocarbons", Integrated Approaches to Bioremediation. in In situ and on-site bioremediation volume 1, 1996.
- 2) Todd P. Swingle : "Development of an alternative desing approach for SVE/Bioventing systems", 51st Purdue University Industrial Waste Conference Proceeding, Ann Arbor Press, Inc., 1996, P.123~132
- 3) J. C. Miller, H. C. Meier and James Cook : "Design and operation of large scale sparge curtain with bioventing.", Integrated Approaches to Bioremediation. in In situ and on-site bioremediation volume 1, 1996.
- 4) Varut Guvanasen : "A finite-element method for the analysis and design of air sparging", Computer methods and advances in geomechanics, Balkema, 1994.
- 5) 田崎雅晴, 田澤龍三, 岡村和夫 : "バイオスパーキングによるベンゼン汚染土壌・地下水の浄化 (その1)", 第7回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会要旨集, 2000.
- 6) 田澤龍三, 岡村和夫, 田崎雅晴 : "バイオスパーキングによるベンゼン汚染土壌・地下水の浄化 (その2)", 第7回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会要旨集, 2000.