

# バイオレメディエーションによる汚染土壌の修復（その1）

— 燃料油汚染土壌の分析と修復可能性に関する検討 —

岡村 和夫 田崎 雅晴  
(技術研究所) (技術研究所)

## Soil Remediation using Bioremediation Technology ( I )

— Study on the analysis and treatability test of the fuel oil contaminated soil —

by Kazuo Okamura and Masaharu Tasaki

### Abstract

In recent year, the use of bioremediation technology for soil remediation is gaining wide coverage. In Japan, bioremediation has already been applied to petroleum-contaminated soil. However, there are no environmental quality standards for petroleum compounds and there are also no established analytical methods. Therefore, we studied the analytical methods for petroleum compounds, the treatability methods for contaminated soil, and the evaluation method by oil type.

### 概要

近年、バイオレメディエーションによる土壌の修復が注目されている。その中で、燃料油に汚染された土壌の生物修復については、ここ1～2年で実用化されてきた。しかしながら、燃料油に関する環境基準が定められておらず、その分析方法についても確立されていない状況にある。実際の修復工事には汚染土壌の調査、油種の選定、浄化の選定等が必須事項であり、修復工事に必要な燃料油の分析方法を検討し、汚染土壌修復の可能性調査方法、油種の選定方法についても検討を行った。

### § 1. はじめに

我が国の石油産業は、製油所・油槽所・給油所等の設備の合理化という課題を抱えており、設備撤去後の跡地の有効活用に当たっては、燃料油による土壌汚染の存在が懸念される。現在、種々の土壌浄化技術が開発されているが、燃料油を対象としたものとしては、バイオレメディエーション法が注目され、すでに多くの実績がある。しかしながら、今年2月に施行された土壌汚染対策法においても、ベンゼン以外には燃料油に関する土壌環境基準は定められていない。また、土壌中の油分の分析方法や修復可能性調査法も国内には定まった方法がなく、燃料油汚染土壌修復工事に対応した最適な土壌浄化・分析技術の開発が必要である。

石油化合物には様々な物質が含有されている。炭素数および沸点の分類による油汚染対象物質のほとんどは、原油由来のものと考えられる。その多くは石油化学工業において精製され、各種用途に適用されている。いずれの製品も複数の炭化水素成分で構成されている。燃料系油と構成成分の指標となる炭素数

および常圧沸点の相関と、炭素数レンジに応じた分析方法の適用例を図-1に示し、米国EPAでの分析方法の概略を下記に示す<sup>1)</sup>。

- ・ 揮発性油ガソリンレンジ：C6-C10、沸点 60-170℃)のパラフィン系炭化水素成分油でガソリン等が含まれ揮発性が高い。分析はページ&トラップによるGC-FID法あるいはヘッドスペース法
- ・ 中揮発性油ディーゼルレンジ(C10-C28、沸点 170-430℃)のパラフィン系炭化水素成分油で、灯油、軽油、A重油等が含まれる。試料を溶媒抽出し、GC-FIDで分析。
- ・ 沸点 200℃以上の油としてC重油やグリース等が含まれる。炭素数が多く、微生物による分解

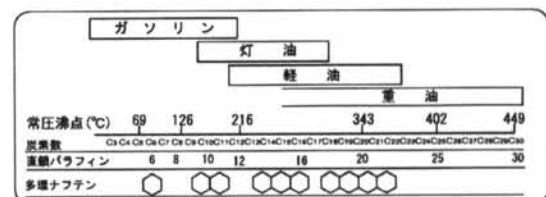


図-1 石油化合物の種類

が難しい。溶媒（n-ヘキサン）で抽出し、溶媒を85℃で加熱蒸発させ、残留する成分を重量分析で求める。

- 炭素数 6 以上の芳香族：ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレンの他、複数の環状化合物は溶媒（テトラクロロエチレン）抽出し、赤外線吸収法で定量する。

燃料油により汚染された土壌の中には、上記に示す様々な石油化合物が、汚染土壌中に含有している。

## § 2. 燃料油汚染土壌修復可能性調査方法の検討

### 2.1 可能性調査フロー

汚染された土壌の調査方法については環境省指針が存在する。しかしながら、油分についてはベンゼンが土壌環境基準として記載されているのみで、具体的な油分の調査方法は示されていない。そのため、修復工事のための自主基準として、土壌修復のための調査の流れを検討した。その結果を図-2に示す。過去の履歴、ボーリング調査等の資料調査を行い、汚

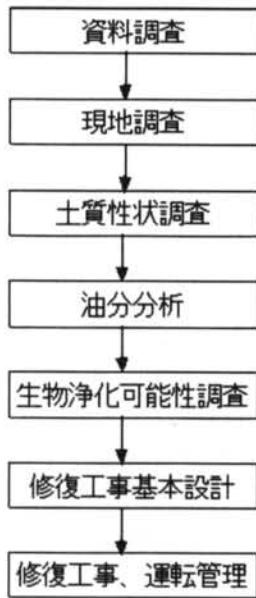


図-2 調査の流れ

染場所、濃度分布を推定後、現地調査で実際の汚染を確認する。その際、汚染土壌を採取し、土質性状調査、油分分析、生物可能性調査を実施し、それらの結果を基礎に修復工事基本設計を行い、修復工事・運転管理を行うこととした。

### 2.2 油分濃度の把握

#### 2.2.1 油分含有量の測定

油分（含有濃度）の測定は、従来 JIS K-0102 の四塩化炭素抽出-赤外線吸収法または n-ヘキサン抽出-重量法で実施され得てきた。しかし、四塩化炭素抽出-赤外線吸収法が JIS から削除されたため、n-ヘキサン抽出-重量法が公定法として使用されている場合が多い。この方法は、分析過程で加熱処理があるため、揮発性油分が蒸発してしまうことから、ガソリン、灯油、軽油等の燃料油には不適當な分析

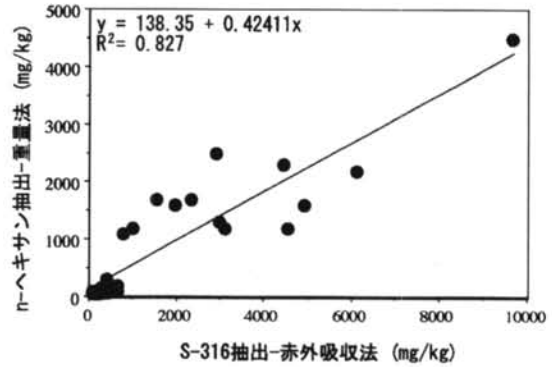


図-3 ヘキサン抽出法と S316 抽出法との関係

方法であるといえる。油分を S316 (Polychlorotrifluoroethylene) で抽出後、赤外分光光度法で測定する事とした。図-3に軽油およびA重油で汚染された土壌の n-ヘキサン-重量法と S-316-赤外線吸収法で測定した油分濃度の関係を示す。比較的相关もよく、S-316-赤外線吸収法値が高い値を示しており、土壌中の揮発性油分も抽出定量されたためと推定された。

#### 2.2.2 油種の判定

汚染土壌がどのような油種で汚染されているかの判

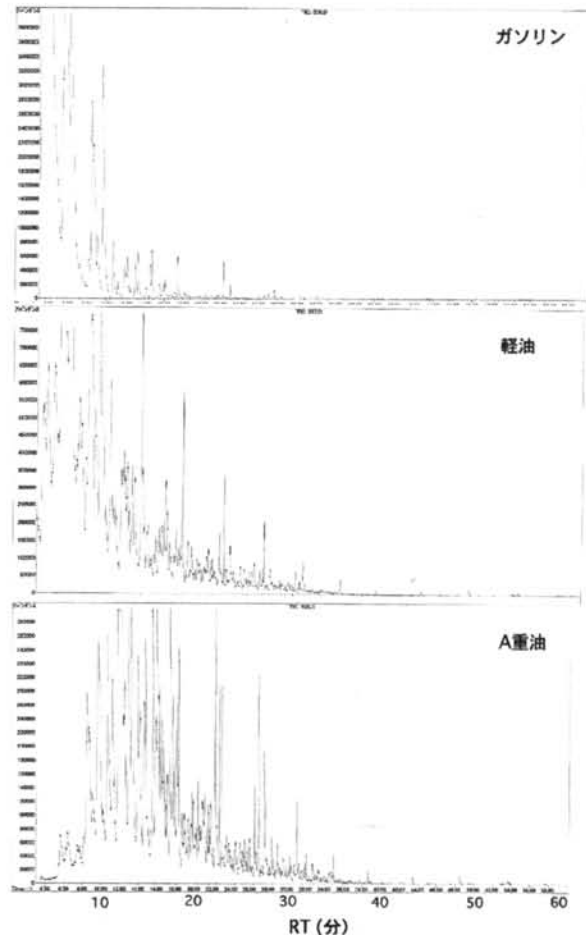


図-4 石油化合物の GC-MS 分析結果

断として、GC-MS あるいは GC-FID での分析を行い、ガソリン、灯油、軽油および A 重油の GC パターンと比較し、汚染している油分がどのような油種によるのかを判断した。その一例として、図-4 に GC-MS による油種判定方法を示す。各燃料油を 50mL 容のバイアル瓶中に適当量入れ、40℃ に設定された恒温槽で 1 時間放置後、ガスタイトシリンジにてヘッドスペースガスを 0.3mL を採取、GC-MS に注入し分析を行った。各燃料とも揮発性の石油成分を多数含有しており、分析結果より、GC パターンを比較することにより、油種の判定が可能であると判断した。

## 2.3 可能性調査方法

### 2.3.1 可能性調査方法の検討

可能性調査には図-5 に示すブチルゴム栓付 300 mL の培養ビンを使用した<sup>2),3)</sup>。各培養瓶に模擬汚染土壌として 2mm ふるいにかけた乾燥重量 10 g の畑土を入れ、0.1g の油分量になるように、ガソリン、灯油、軽油、アラビアンライト系の原油、A 重油および C 重油をそれぞれ 1% の濃度に調整した。栄養塩として尿素および K2HP04 を Oil:N:P=100:10:1 になるように添加した。また、灯油を使用した実験では、培養温度を 10、20、30、40、50℃ に変化させ、最適条件の把握を行った。

必要酸素量は、石油系化合物 0.1g 当たり約 0.35 g である。この量を純酸素に換算すれば約 245 mL となる。密閉容器中には石油系化合物を完全分解に必要な酸素量を確保するために純酸素を封入した。密閉瓶中では、好気性微生物により石油系化合物が分解されると、酸素は減少し、二酸化炭素が生成する。密閉瓶内部は二酸化炭素発生に伴い、土壌 pH が低下することが予想されたので、クラリオバイアル中に 10%NaOH を入れ、二酸化炭素を吸収した。そのため瓶中は減圧されるので、ストッパー付きの

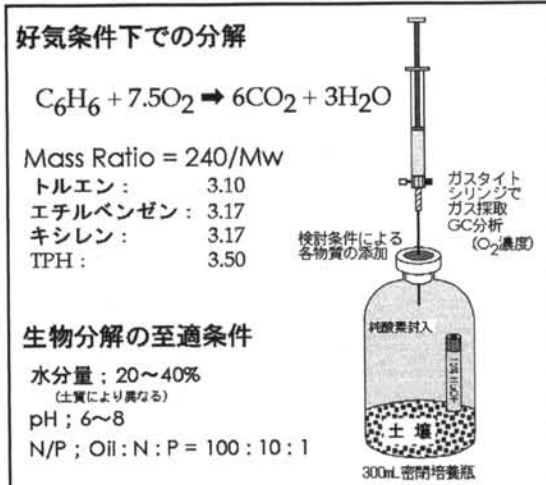


図-5 可能性調査方法

ガスタイトシリンジにて 0.3mL 採取し、GC-TCD(島津製作所製 GC-7A)にて酸素濃度を測定した。

### 2.3.2 可能性調査結果

#### 1) 土壌修復における温度の影響

図-6 に温度の影響を示す。1% の灯油を添加した畑土の水分量を 40% に調整後、温度を変化させて 43 日間培養した。その結果、30℃ で酸素の消費が多く、微生物による灯油分解の至適温度は 30℃ と考えられた。10℃ および 50℃ での酸素消費は少

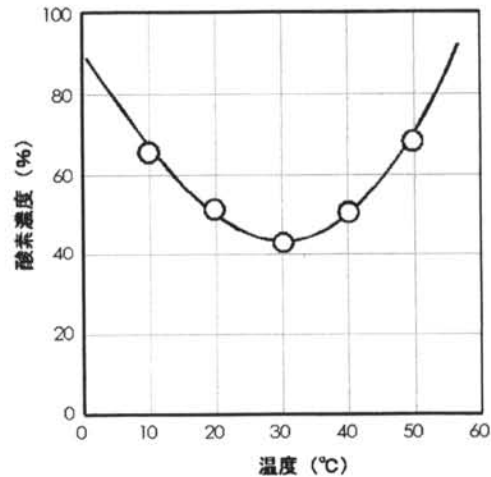


図-6 土壌修復における温度の影響

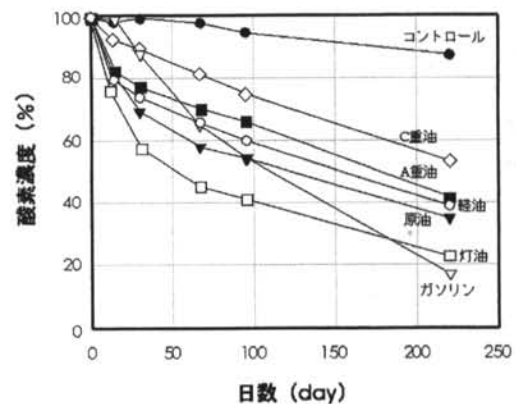


図-7 各石油化合物の酸素濃度の変化

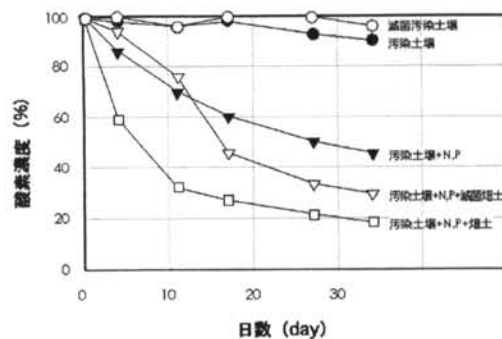


図-8 栄養塩および土添加の効果

なかった。

## 2) 各石油系化合物の生物分解比較

図-7に各石油系化合物の酸素消費状況を示す。ガソリンは試験開始時にタイムラグが認められているが、灯油と同程度に酸素が消費された。A, C 重油は灯油ほど酸素消費が認められなかった。

これらの物質による酸素消費量の差は、各物質に存在する種々の石油化合物の成分の種類によるものであると考えられる。特にC重油類では比較的重質油が多く、生物分解が難しい成分を多く含有しているためであり、灯油は直鎖の炭化水素が主体であることから分解が比較的良好であったものと考えられた。原油の分解は比較的良好であり、生物分解は容易と判断された。

## 3) 栄養塩および畑土添加の効果

実際の燃料油汚染土を使用し、栄養塩および畑土添加の効果について図-8に示す。汚染土を培養しても滅菌した汚染土と同様に酸素消費はほとんど認められなかったが、栄養塩の添加で酸素が消費されるようになった。汚染土の空隙を確保する目的で滅菌畑土を、分解微生物の供給を目的に畑土を添加することで酸素消費はさらに改善された。このことから、汚染物質の分解には栄養塩の存在が不可欠であり、汚染土の空隙を確保し、分解微生物の供給のため、畑土の添加が修復には効果的であるといえる。

## § 3. 現場への適用試験

### 3.1 油分濃度の把握

汚染地への適用試験として、汚染土の油分含有濃度を測定した結果、高濃度の油分の存在を確認した。含水率は8~16%で、比較的低い結果であった。土壌中にはベンゼンは検出せず、油分濃度は汚染中心部で2,400 mg/kg (n-ヘキサン抽出-重量法)、5,500 mg/kg (S316抽出-赤外法)の油分が認められた。汚染地の中心部は色調が灰青色で、この色調の部位は油分濃度が高い傾向にあった。一方、灰青色汚染の周辺には灰赤色の部位が存在し、この場所の油分濃度は低かった。

図-9に汚染土壌に含有している油分をクロロホルム抽出後、ロータリーエバポレータで油状成分を

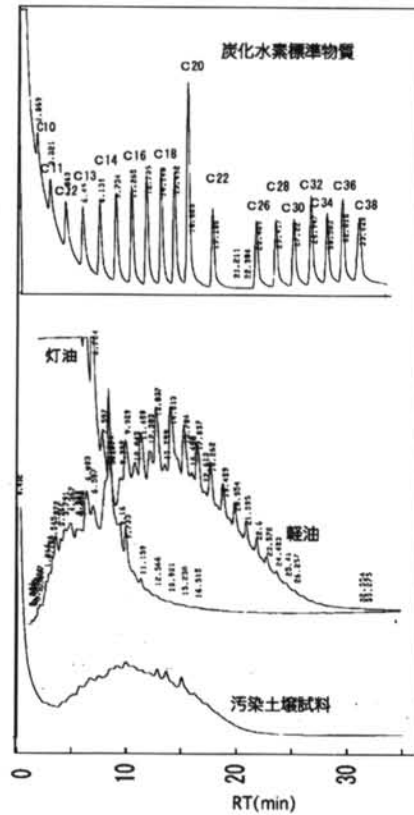


図-9 土壌中の油状成分の油種判定結果

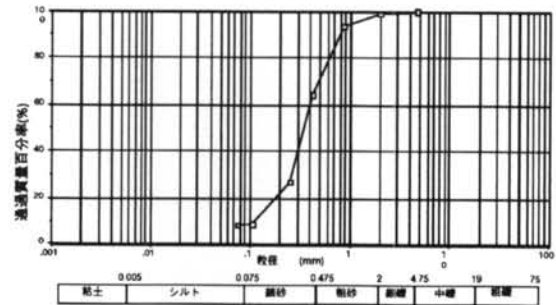


図-10 汚染土壌の粒子系分布

濃縮し、ガスクロマトグラフ分析した結果を示す。その結果、油種は、C14~C16を最大ピークとしており、汚染土壌中に存在する油分は軽油が主成分であると推定された。

土粒子の密度( $\rho$ , g/cm <sup>3</sup> )	2.789
礫分 (2~75mm %)	0.6
砂分 (75 $\mu$ m~2mm %)	91.1
シルト分 (5~75 $\mu$ m %)	8.3
粘土分 (5 $\mu$ m未満)	
均等係数	3.16
曲率係数	1.38
最大粒径 (mm)	4.75
分類名	細粒分まじり砂
分類記号	(S-F)

表-2 土質分析結果

### 3.2 土質性状調査結果

汚染土の土質性状調査を行った。その結果、汚染土の粒子径は0.4mm前後で砂分91.1%の粒径の細粒分まじり砂であった。礫分およびシルト・粘土分はそれぞれ0.6%、8.3%と少なく、土粒子の密度

試料 No	色調	油分 (mg/kg)		含水率 (%)
		n-Hex法	S-316法	
1	灰青色	2,400	5,500	7.89
2	灰青色	1,100	3,350	15.56

表-1 土壌分析結果

は 2.789 p<sub>g</sub>/cm<sup>3</sup>であった。

### 3.3 可能性調査結果

適用可能性調査として図-5に示す密閉式培養瓶を使用した燃料油の分解試験を行った。容積 300ml のブチルゴム栓付培養瓶に汚染土壌試料を 100 g 入れ、温度を 30℃で 20 日間培養し、定期的に密閉ビン中の酸素濃度を測定し、酸素消費速度を算出した。また、20 日後に内部の資料の油分濃度を測定した。油分濃度の測定には S-316 抽出-赤外吸収法を使用した。密閉瓶中の酸素濃度が少なくなった時点で密閉瓶中のガスを酸素ガスに置換した。密閉瓶試料として、汚染土壌そのまま、栄養塩として尿素および K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> を添加したもの、栄養源の他に微生物源として 3 種類の畑土を添加した系の 5 条件で試験を行った。

### 3.4 結果

可能性調査の結果を図-11に示す。汚染土壌そのものでは酸素の消費が少なく、栄養源添加条件でも目立った酸素消費効果は認められず、栄養源の添加だけでは油分の分解は促進できないと判断された。栄養源の他に微生物源として黒土を添加した系での酸素消費が著しかったことから、汚染土壌中には油分を分解する微生物が少ないと推定されたので、実際の修復には微生物源として黒土を添加することとした。また、表-3に示すように、20 日後の油分の分解率は黒土添加条件で 85.3%であった。黒土添加条件下で土壌 1 g あたりの初期酸素消費量は



写真-1 修復工事外観

110 μl-O<sub>2</sub>であり、土壌の空隙率 30%とすると、3.5 日に 1 回空気の交換が必要であることが判明した。耕耘にはバックホウを使用し、酸素補給のために空気をを使用することので、可能性試験に比べると酸素利用効率が低下すると考えられるので、酸素の補給のための耕耘は少なくとも修復開始時は毎日行うべきであると判断した。

## § 4. 修復工事への適用<sup>4,5)</sup>

### 4.1 方法

可能性調査の結果をふまえ、対象土量約 800m<sup>3</sup>の軽油汚染土壌の修復計画を行った。可能性調査の結果から、栄養塩として窒素およびリンが必要であり、汚染土壌中の油分 100 に対し窒素源を 10、リン源を 1 の量になるように窒素源およびリン原を添加した。また、微生物源が必要なことが判明しているので、微生物源として黒土を添加した。軽油汚染土壌の修復にはランドファーム法を採用した。外観を写真-1に示す。

最初の 1 カ月間はバックホウを使用して毎日耕耘を行った。また、修復運転管理として 4 ポイントのサンプリング地点にて表層、40 cm および 80 cm 深度における油分濃度、土壌温度、土壌酸素濃度および二酸化炭素濃度、水分量、土壌 pH を耕耘直前に測定した。

### 4.2 修復結果

#### 4.2.1 油分濃度の推移

修復土壌の平均油分濃度の推移を図-12に示す。当初の油分濃度は 2100 mg/kg であり、約 2 週間で急激に油分濃度は減少した。修復開始約 1 カ月で油分濃度は 450 mg/kg、除去率 78.5%であった。修復工事での油分濃度管理は S316 を使用した FTIR 法で行ったが、ノルマルヘキサン法での油分濃度は S316

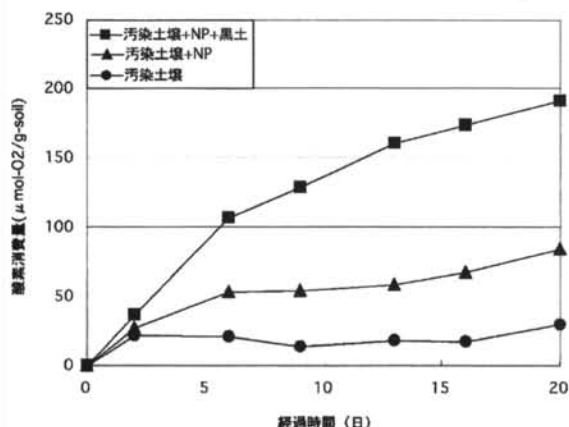


図-11 生物分解試験結果

	初発油分	20日油分	除去率 (%)
汚染土壌	5,500	2,430	55.9
汚染土壌+NP	5,500	1,660	69.7
汚染土壌+NP+黒土	5,500	810	85.3

(単位: mg/kg-S316法)

表-3 可能性調査における油分濃度推移

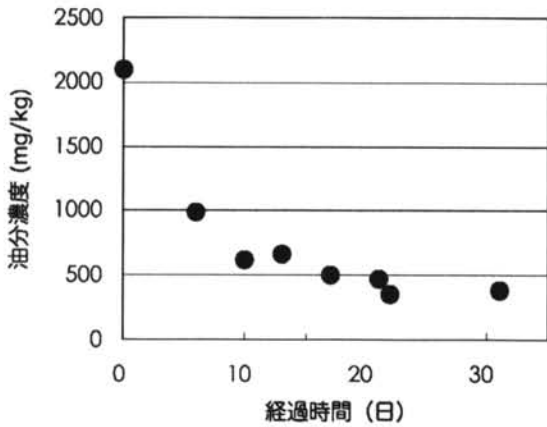


図-12 油分濃度の推移

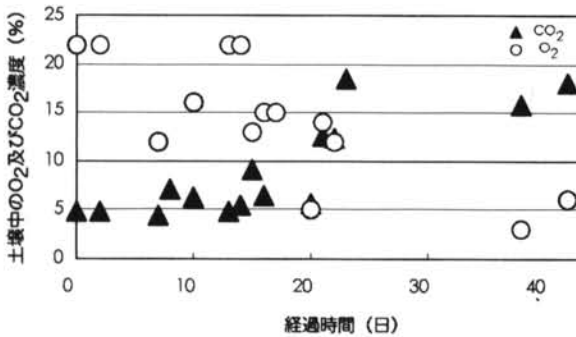


図-13 土壌中 O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 濃度の推移

法よりも低い値を維持していた。本修復工事での油分濃度は比較的低濃度の軽油汚染土壌であったことから比較的短時間での修復が可能であった。油分濃度が低下し、酸素の消費も少なくなったことから、その後は油膜・油臭を完全に除去する目的で1~2回/週の耕耘頻度として2カ月間修復を継続した。

#### 4.2.2 土壌内酸素および二酸化炭素濃度の推移

図-13に土壌内酸素濃度の推移を示す。修復開始時の土壌内酸素濃度は、毎日バックホウで耕耘していたにもかかわらず、酸素濃度は5%前後まで低下しており、生物分解が活発に行われていることが示唆された。修復開始2週間前後から、土壌内酸素濃度は上昇し始め、3週目を以降は15%以上の濃度で推移した。一方、土壌内二酸化炭素濃度は修復初期に20%前後と異常に高い値を示しており、修復を継続するにしたがい減少する傾向であった。理論酸素消費濃度に比べ非常に高い値であり、その原因

#### <参考文献>

- 1) 土壌環境センター編：“油による土壌・地下水汚染の調査・対策技術（平成12年度自主事業報告書）”，pp.40-41，2000。
- 2) 岡村和夫，田崎雅晴：“生物による石油系汚染土壌の効果的処理方法の検討”，第31回水環境学会年回講演集，pp.159（1997）
- 3) 岡村和夫：“土壌汚染の修復と微生物の役割”，地質と調査，Vol.4，pp.43-47，2000。
- 4) 岡村和夫：“微生物による汚染土壌の修復事例”，BIO INDUSTRY，Vol.19，No.1，pp.44-50，2002。
- 5) 岡村和夫，田崎雅晴，熊本進誠：“石油化合物汚染土の生物修復における管理方法”，第8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，pp.329-332，2002。

は不明であるが、バックホウ等による耕耘では二酸化炭素は残留しやすいのではないかと考えられる。

## §5. まとめ

以上の結果を下記にまとめる。

- 1) S-316 (Polychlorotrifluoroethylene) 抽出-赤外吸収法による油分分析の結果、n-ヘキサン抽出-重量法との相関が認められ、簡易分析としての利用が可能であると判断された。また、n-ヘキサン法に比べ、油分濃度が高くなることから、n-ヘキサン法では加熱により飛散してしまう揮発性炭化水素を検出できるものと推定された。
- 2) GC-MS を使用し、40℃ 1時間でのヘッドスペース法による揮発成分分析およびクロロホルム抽出 GC-FID による含有油分の分析により、汚染土壌中に存在する油種の特定が可能であった。
- 3) 可能性調査の結果、汚染土壌中に存在する燃料油の分解には栄養塩（窒素源およびリン源）の添加が重要な因子である。また、微生物源として黒土添加の有無を判断することが実際の修復工事には大きな条件設定項目であることが判明した。
- 4) 可能性調査における酸素消費量から、およその耕耘頻度が予想できた。実際の修復工事において、修復開始時の土壌内酸素濃度の低下は著しく、可能性調査による酸素消費速度の把握は修復条件設定に有効であった。
- 5) 軽油汚染土壌の修復は、比較的短時間で油分濃度の低下が認められ、可能性調査結果と同様の結果を示した。
- 6) 修復開始後2週間で油分濃度が低下した時点では土壌内酸素濃度の低下はそれほど著しくなく、土壌内二酸化炭素濃度も低くなってきた。このことから、生物による土壌浄化の管理項目として、土壌内酸素濃度の把握は非常に重要であることが示唆された。