

油汚染土のバイオレメディエーションに関する研究 (その1)

—クウェートにおける油汚染土の室内微生物分解試験—

千野 裕之 喜田 大三
辻 博和

Study on Bioremediation for Oil-Contaminated Soil (Part 1)

—Laboratory Test for Oil-Contaminated Soil in Kuwait—

Hiroyuki Chino Daizo Kita
Hirokazu Tsuji

Abstract

During the Arabian Gulf War in 1991, Iraqi forces bombed and set fire to over 600 Kuwait oil wells, spilling enormous amounts of crude oil. The oil that flowed out above ground created over 300 oil lakes, covering a combined area of over 49 km². To solve the urgent problem of treating the oil-contaminated soil, the Petroleum Energy Center (PEC; a foundation established under the auspices of MITI) collaborated with KISR (Kuwait Institute for Scientific Research) to facilitate work progress. This paper summarizes the results related to bioremediation of lightly oil-contaminated soil. For the first fiscal year, fundamental conditions suitable for bioremediation were investigated and clarified. Oil-contaminated soil (Oil content of 5~6%) is indecomposable as it is, but by adding necessary nutrients and maintaining an appropriate moisture content, native oil degrading microorganisms in the soil become active and degradation proceeds. After 8 months of incubation, most saturated hydrocarbons in the oil components had fully degraded, while aromatic hydrocarbons had degraded to half their original amount. However, the resin and asphaltene group in the oil components remain. Due to these results and others, a field demonstration experiment is now being carried out at the site.

概要

先の湾岸戦争で、イラク軍はクウェート国内の600以上の油井を破壊した。流出原油によって、いわゆるオイルレイク(油の湖)が、300以上現出し、その流出面積は49 km²以上に達している。この大規模な油汚染土の処理という緊急課題の解決に協力するため、通産省所管の(財)石油産業活性化センターは、クウェート科学研究所と「Rehabilitation of Kuwait Environment」の共同研究を進めている。本報告は、上記の共同研究の一環として、軽度の油汚染土のバイオレメディエーション(生物学的浄化)に関する調査を受託し、実施したものである。初年度として、室内試験によって、バイオレメディエーションに適切な基本条件を明確にした。油汚染土(油含有量5~6%)は、そのまま放置したのでは微生物による分解はほとんど進行しないが、栄養分の必要量添加、水分の適切な維持によって、汚染土中の土着の油分解菌の活性が上がり、油の微生物分解が進行する。約8カ月で、油成分のうち飽和の炭化水素はそのかなりの部分が分解し、芳香族のそれは約半分に分解する。しかし、レジン・アスファルテン分はそのまま残留する。上記の室内試験などの結果に基づいて、現在、現地において、実証試験を実施中である。

1. まえがき

1991年に勃発した湾岸戦争において、クウェートに進軍したイラク軍は撤退に際して、クウェートの600以上の油井を爆破・炎上させ、大量の原油が油井から噴出した。地上に流れ出した原油は300以上のオイルレイクをつくり出し、その流出面積は49 km²以上に及んだ。これらのオイルレイクの深さは最大1 m、土壤に浸透した油成分は最大値が5 mにも及んだ。オイルレイク下部およびオイルレイク周縁部では重度(10~20%)に汚染された大

量の土砂を含んでいることがわかった。またそれらを取り巻く広大な土地も10%未満の低濃度で汚染されており、それらの総面積は数百平方キロメートルに及ぶものと推定される。

クウェートでは、国土の復旧計画策定を進めるにあたり、大規模な油汚染土壌の浄化が緊急の課題となっており、効率的な処理技術の確立およびその技術を包含したマスタープラン作りが急がれている。その目的は第一には地下水汚染の防止であり、第二には、地上への生物相の回復、具体的には植物が生息して、しかもそれらが毒

性の観点から問題ない状況となることである。

このような背景のもと、(財)石油産業活性化センター(PEC)はクウェート国立の研究機関であるクウェート科学研究所(KISR)と、物理化学的浄化技術とバイオレメディエーション技術を組み合わせた適切な汚染土浄化のマスタープランの立案に協力し、クウェート国における国土復旧計画策定に寄与することを目的として、3年間の共同研究を開始した。本報告は、上記の共同研究のうち、当社が担当している石油汚染土のバイオレメディエーション技術に関するものである。

2. バイオレメディエーションの考え方

2.1 バイオレメディエーション (汚染土の生物浄化)

とは

バイオレメディエーションとは、生物機能を利用して、(汚染)環境を修復する(矯正する)技術である。対象とする環境は海洋や土壌であることが多い。対象とする汚染物質は、PCBやトリクロロエチレンに代表される有機化学物質や石油(原油)であることが多い。バイオレメディエーションは生分解(Biodegradation)を利用する技術である。すなわち、自然界で起こっているプロセスを利用する。油や化学物質の自然界で起こっている劣化・分解では、生分解が重要な部分を占めている。この生分解の過程を加速させるのがバイオレメディエーションであり、具体的には栄養塩類の添加、通気、温度制御等が行われる。汚染環境中に分解微生物が存在しない場合、あるいは存在しても分解能力が低い場合には、分解菌を接種する場合もあり得る。

バイオレメディエーション技術には、汚染した地下水・土壌に窒素、リン、有機物、空気等を導入し、現場に生息している微生物の浄化活性を高める方法(Biosimulation)と、汚染現場に浄化微生物が生息していない場合に、培養した浄化微生物を導入して汚染環境を浄化する方法(Bioaugmentation)、さらには汚染地下水・土壌を微生物反応槽(bioreactor)を用いて浄化する方法等がある。土壌のバイオレメディエーションでは、いかに微生物の分解活性が最適になるようにするか、いかに大量の土壌を処理するかが問題となる。具体的には、汚染現場で処理をするin situ treatment(原位置処理法)と、汚染土壌を掘り出して施設内で処理をするex situ treatmentに大別される。これらは、図-1のように分類される。

バイオレメディエーションの長所としては、第一に、自然浄化作用を利用する方法なので、投入エネルギー量が少なく、経済的であり、第二に、微生物によって分解・無害化するので二次公害の危険性が少なく、恒久的な浄化が期待できる、第三に原位置ないしオンサイトでの浄化が可能である。他の方法に比べて浄化のための所要時間はかかるものの、低濃度で広範囲に汚染されている場所へ適用する際に優れている。

一方、技術的に未だ確立したものではないので、自然

の浄化能の向上化手法を開発していくとともに、低酸素、低温、低pH、低栄養塩などの過酷な環境下で機能を発揮する微生物の開発および機能を発現する条件の解明が必要である。このようにバイオレメディエーションは技術的には完成したものではないが、省資源、省エネルギーのクリーンな技術であり、これからの有望な技術であると言えよう。

2.2 石油汚染土の浄化におけるバイオレメディエーションの位置付け

石油汚染土の浄化に関しては、物理・化学的な浄化方法と生物的浄化方法があり、前者は比較的石油の濃度が高い場合の方法であり、熱をかけて遠心分離する方法、燃焼する方法などがある。これに対し、バイオレメディエーションは対象とする汚染土の油濃度が10%以下の比較的低い場合に適用する技術である。現状では、生物的な浄化(バイオレメディエーション)に関しては、すでに、石油精製工場の流出事故対策などで小規模に実用化が検討されているものであり、米国などでは、分解微生物が市販されている。しかし、今回のような大規模な原油流出に対しては検討例はない。

クウェートにおいては、湾岸戦争以前から、バイオレメディエーション技術に関する実験検討がKISRの研究者によって行われてきている。湾岸戦争後はドイツの民間会社の技術を導入するなどして、ブルガン油田地帯で小規模の現地試験を行った実績を持つ。

石油の微生物分解に関する要因としては、土壌の水分、温度、栄養(窒素、リンなど)、化学性(pH、塩分など)、酸素(分解に関与するのは一般に好気性微生物である)などがある。これらを適切な状態に保つためには、土壌の通気性・保水性などの物理的性質が当然関係し、これらを改良する材料の開発も課題となる。また、微生物による分解が順調に進むためには、中間代謝物による分解の停滞の阻止、微視的な微生物の生育環境やその栄養の接触なども考慮していかなければならない。

一方、石油分解菌については、米国、ロシア等で市販されているものもある。効率的に石油を分解する菌の開発が望まれており、石油分解菌の選抜、遺伝子工学的な手法による有用菌の開発も研究されている。

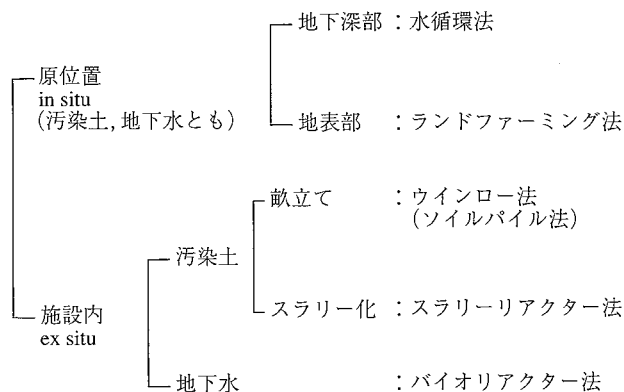


図-1 バイオレメディエーション技術の分類

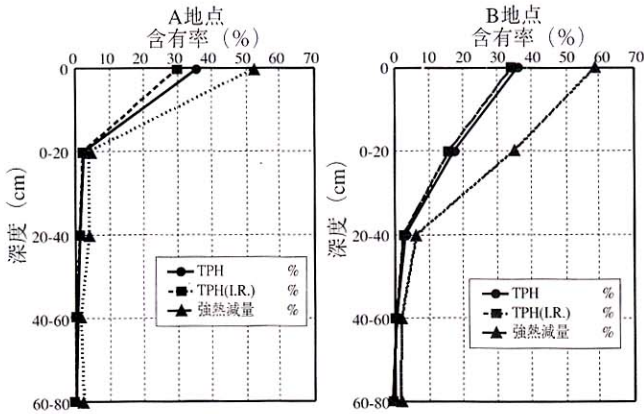


図-2 深度別汚染の分布状況

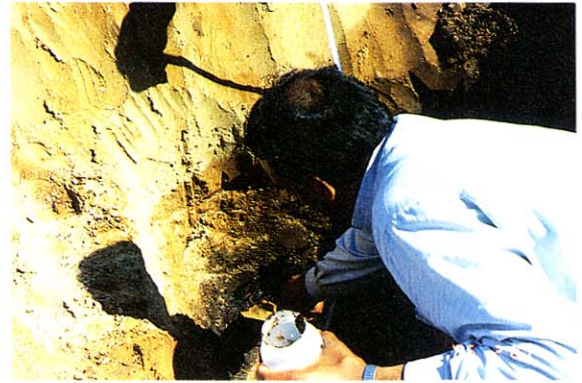


写真-1 試掘箇所 オイルレイク表層から1.5 m 以深

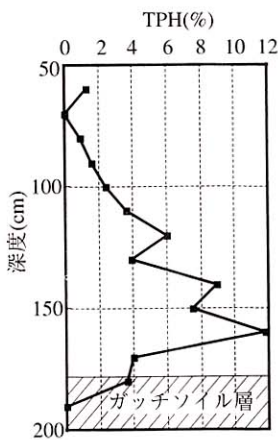


図-3 50 cm 以下深度別汚染の分布状況

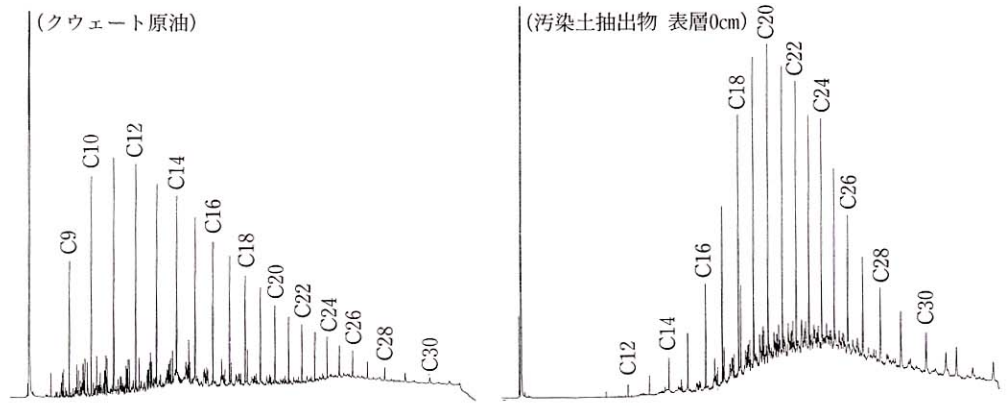


図-4 GC-FID のクロマトグラム

3. 汚染土の分布とその性状

実験工事に先だって、工事の対象となるオイルレイクについて、油汚染の深さ方向、水平方向の程度を的確に把握するために性状調査を行った。掘削予定地の中の10箇所について深度0, 20, 40, 60, 80 cmそれぞれにおける汚染土のサンプリングを行い、その性状を調べた。

これらの結果の一例を図-2に示す。同図でTPHとはTotal Petroleum Hydrocarbonすなわちフレオンで抽出される油分の含有割合を、TPH(IR)とはすべての炭化水素に共通するC-Hの結合による赤外線吸収スペクトルから油分の含有量を、強熱減量は600°C強熱による減量割合をそれぞれ求めたものである。表層の油汚染土の油分含有割合は大きく、25~70%に及んだ。しかし、ほとんどの場所において、40 cm以深では汚染が少なくなりTPHで1%未満となった。しかしながら一部では、50 cm掘削後でも点々と黒褐色を示す部分が存在し、これ以深まで汚染が進んでいることが示唆された。

そのため、上記地点の近傍で汚染が残っていると思われる試験サイトの奥側2箇所について深さ50 cm掘削面からさらに140 cmの掘削(Totalで190 cm)まで試掘を行った。その結果、2箇所のうち1箇所では表層では

肉眼で見てもさほど汚染してなかったが、深度が大きくなるにつれ、汚染度合いがかえって大きくなり、深度約160 cm付近では真っ黒いタール状の油分のしみ出しが認められた。(写真-1)さらに、深く掘り進めるといわゆる180 cm以深でガッチソイルと呼ばれる硬質の不透水性の層となった。図-3のTPHの分析結果から明らかのように60~70 cmの深度ではほとんど汚染がないのに160 cmではTPHで10%以上もの大きな汚染となり観察結果が裏付けられた。深度が190 cmの部分ではTPHは0.1%未満であり、ガッチソイルの層の中までは汚染してないことがわかった。オイルレイクの下部にあるルーズな層の亀裂などからしみ出した油が不透水(不透油)のガッチソイル層の上に溜まっていたのではないかと推察される。

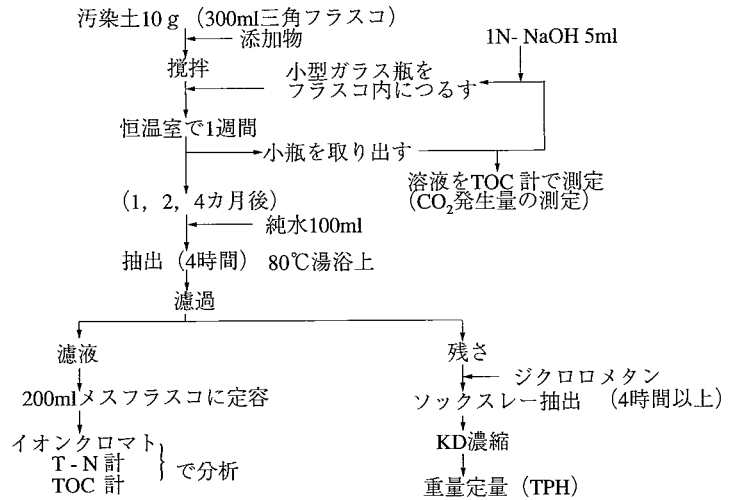
汚染土試料からフレオンで抽出した油分のGC-FIDによる分析結果の一例を図-4に示す。同図からわかるように脂肪族に関してはクウェート原油と比べて、炭素数の少ない低沸点の成分の割合が少なく、ウェザリングを受けたこと裏付けられる。なお、表-3に後述するように、石油成分のうち飽和族分は4割、芳香族分は3割、極めて難分解なレジン分およびアスファルテン分はそれぞれ1割強を含んでいる。

表一 供試土の理化学性

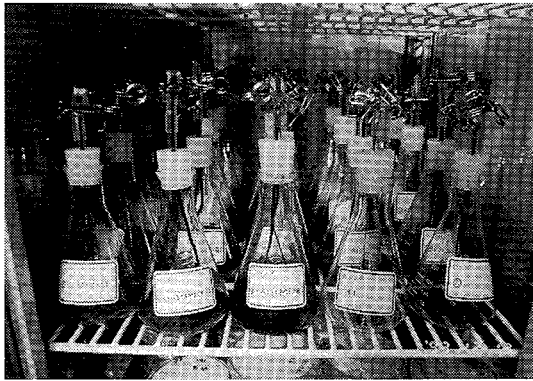
	汚染土	非汚染土
色	暗褐色	浅黄橙色
臭い	油臭	なし
触感	べとつく	さらさら状
含水比 (%)	4.3	1.3
強熱減量 (%)	9.6	4.8
pH	8.05	8.85
T-C (%)	5.20	1.13
T-N (%)	0.019	0.002
C/N	274	565
TPH (%)	5.47	0.1

表二 試験項目

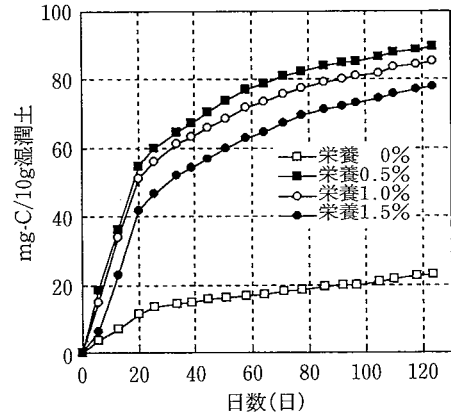
項目	標準区	試験区
栄養量 (%)	1.5	0, 0.5, 1.0
分解菌	土着菌	A 剤, B 剤
温度 (°C)	35	20, 50
水分 (%)	20	5, 100



図一五 実験のフロー



写真一 汚染土の恒温養生



図一六 栄養の違いによる炭酸ガス発生量

4. 油汚染土の微生物分解向上の為の室内試験

4.1 油汚染土の微生物分解に及ぼす栄養・温度・水分・微生物等の影響

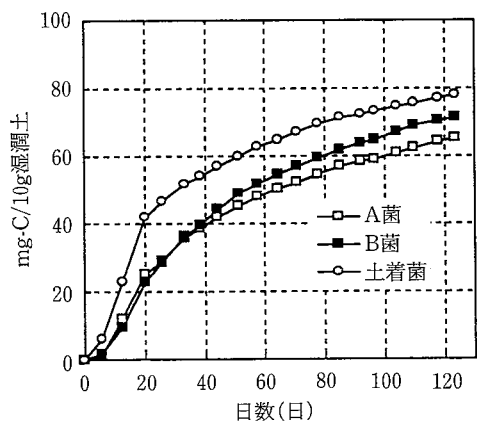
4.1.1 実験概要 油汚染土のバイオレメディエーションを考える際、栄養、温度、水分は微生物の活性に影響する最も重要な要因である。これらについて影響の程度を室内試験で検討するとともに、現地土壤に生育していた土着菌と比べて市販の分解微生物がどの程度効果があるかについても検討した。汚染土は、1993年11月にブルガン油田地帯の Lake No.12 付近、Lake No.102 付近および Jaáidan Garden 内の 3 箇所から採取したものを 1:1:1 に混合したものを供試した。その性状を表一に示す。TPH は5%強である。参考までに非汚染土についても併記しておく。非汚染土においても T-C および強熱減量が多いのは炭酸カルシウムを含んでいることによるものである。

本実験に使用した石油分解微生物は、予備試験において、活性を高めた土着菌、および市販されている 2 種類の微生物製剤、A 剤 (米国製) と B 剤 (ロシア製) を使用。栄養添加物として液肥用粉末肥料を使用した。最低保証成分量は N:P:K = 6.5:6:19 である。

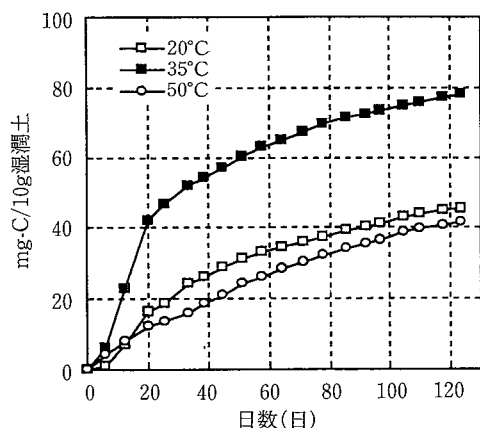
実験は、300 ml 三角フラスコに汚染土 10 g、粉末肥料、石油分解微生物、水を加え、恒温で培養した。フラスコ内には 1N-NaOH を入れた小瓶をセットし、1 週間に 1 度これを取り替え、吸収した炭酸ガスを定量した。その際攪拌を行うとともにコンプレッサで通気を行った。栄養添加量、分解菌、温度、水分の 4 つの項目について表二に示すように水準を変化させ試験を行った。写真一 2 の恒温室を用いて養生を行った。実験の手順を図一 5 のフローシートに示す。また分解試験が終了した後、油分を抽出し残存 TPH を測定した。

4.1.2 実験結果と考察

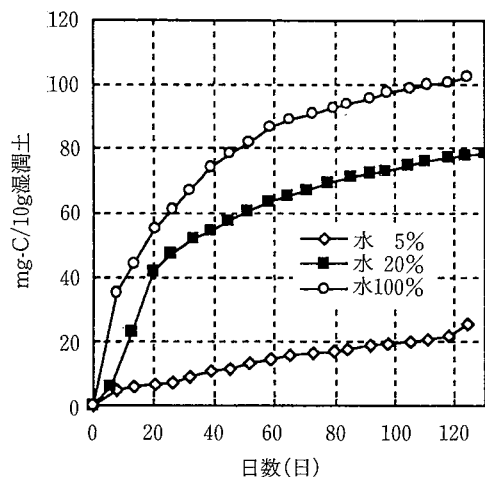
(1) 栄養について 栄養添加量の相違による炭酸ガス発生量の変化を図一 6 に示す。石油汚染土の微生物分解の促進には、栄養の添加が必要である。その際、土に対しての添加量を 0.5%、1.0%、1.5% と変化させても、分解に伴う炭酸ガスの発生量および TPH の分解率には、差が認められなかった。このことから、栄養の添加量は 0.5% 以上で充分であろうと判断される。これは窒素としてほぼ 0.6 kg/m³ に相当する。図示しないが分解速度は時間とともに低下し、最初に飽和炭化水素化合物などの易分解性成分の微生物分解が急速に起こり、次に芳香族



図一七 菌の違いによる炭酸ガス発生量



図一八 温度の違いによる炭酸ガス発生量



図一九 水分の違いによる炭酸ガス発生量

表一三 石油成分のタイプ別組成分析結果

試料	飽和族分	芳香族分	レジン分	アスファルテン分	ロス分
未処理	2.07	1.57	0.70	0.51	0.45
4カ月後	0.84	1.34	0.67	0.52	0.63
10カ月後	0.27	0.70	1.00	0.49	0.94

数値は乾土当たり wt %

影響に関しては、含水比100%区での炭酸ガス発生量が最も高く、5%区では、ほとんど分解が起こらなかった。水分が多くなることによって、流動性が増し、菌と石油との接触が増大するためであると思われる。また、それにあわせて、栄養添加物がよく溶け、汚染土全体に広がり、栄養不足になることがなかったと考えられる。水分管理に当たっては、含水比が5%より低くならないように管理する必要がある。水が十分にない現地の条件を考慮すると、いかに少ない水の添加で、効果的に分解を進めていくかをさらに検討していく必要がある。

(5) 分解残留物の性状 最も良好な条件における分解試験4カ月後および10カ月後の油成分の形態変化の一例を表一三に示す。石油成分は大きく飽和族炭化水素、芳香族炭化水素、レジン(極性成分)、アスファルテン(有機溶媒不溶性成分)の4つに分類される。

10カ月後には脂肪族分の80%以上が、芳香族分の50%以上が分解した。ロス分を考慮したとしても、脂肪族分かなりの部分が分解したと言える。しかしアスファルテン分はほとんど分解せず、レジン分は逆に増加する傾向が認められ、飽和族分および芳香族分の一部が微生物分解によって形態変化したものと考えられた。このように適切な水分、温度、栄養条件を保つことにより、石油成の微生物分解は進むことが裏付けられた。

4.2 油汚染土の保水性向上に関する検討

バイオレメディエーションを乾燥したクウェートの気候条件で実施するためには水分の維持が重要であり、現地では保水性向上のためコンポストを加えることとしている。そこで、コンポストの保水能力を検討した。

4.2.1 実験概要 現地汚染土と粒径の類似している珪砂7号を用いて現地試験で用いるコンポストの保水性

など難分解性炭化水素の分解がゆるやかに進んでいることを示している。

(2) 石油分解菌について 石油分解菌の違いによる炭酸ガス発生量の変化を、図一七に示した。123日後における累積炭酸ガス発生量は、市販のバイオ製剤であるA菌、B菌の間に差はほとんどなく、分解能力は、ほぼ同じであると言えよう。また、土着菌の活性がバイオ製剤より高い。これら市販の微生物製剤は高価であると共に、クウェートの環境への適応性に不明の点があることから、当面、クウェート石油汚染土の土着菌の特性を最大限高めることによって、汚染土の浄化を図ることが望ましいと判断される。

(3) 温度について 次に温度の違いによる炭酸ガス発生量の違いを図一八に示す。微生物分解に及ぼす温度の影響に関しては、炭酸ガスの発生量が、35°Cで最も高く、次に20°C、50°Cの順だった。図示しないが、分解に伴う中間生成物の指標となる水溶性の炭素量は、20°Cと35°Cでほとんど同じだったが、50°Cでは、半分以下だった。現地の気象条件を考えたときに分解が停滞するおそれがある。本実験では、35°Cで培養した土着菌を使用しているため、今後、高温で馴養した土着菌でも検討していく必要がある。

(4) 水分について 水分の違いによる炭酸ガス発生量の変化を図一九に示した。微生物分解に及ぼす水分の

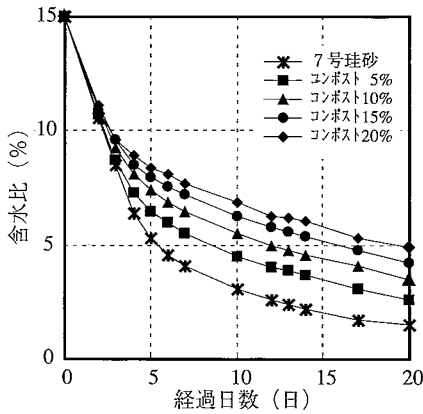


図-10 コンポストの水分蒸発抑制効果

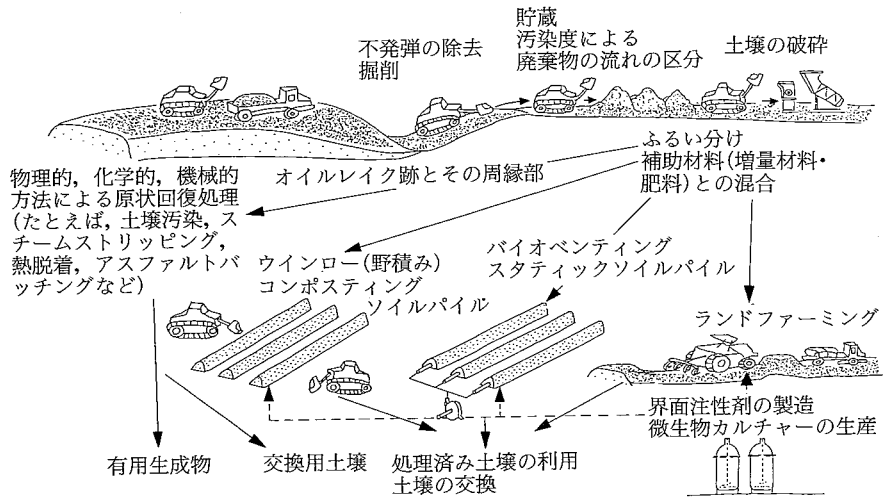


図-11 石油汚染土のバイオレメディエーション実証試験の模式図

向上効果を検討した。試験区は珪砂の中にコンポストを0% (無処理区), 5%, 10%, 15%, 20%の各割合で加え, 初期条件を18時間含水量(含水比で約30%), 含水比20%, 含水比15%の3条件とし, 温湿度は, 24時間サイクルで昼間は気温35°C, 湿度30%, 夜間は気温20°C, 湿度50%の環境下で, 15~20日間養生し, 水分の蒸発散量を測定した。

4.2.2 実験結果と考察 図-10に試験結果の一例を示す。図から明らかなように, 無処理区に比べ明らかにコンポストの添加で日蒸発量は低下し, 含水比は高くなる。コンポストの添加量が多いほど大きい。初期含水比が15%の場合, 含水比が5%以下になるのに無処理区では, わずか5日であるのに対し, 5%区で9日, 10%区で12日, 20%区で20日となっている。これから, コンポストの添加は極めて有効であることが明確となった。しかもわずか5%の添加量でも効果は期待できる。

6. まとめ

油汚染土のバイオレメディエーション(生物学的浄化)に必要な条件等に関して検討した結果, 以下が明らかになった。

① 現地のオイルレイクでは, 多くの箇所深度50cm以下までの汚染であったが, ところによっては深度2m近くの下部まで油が浸透しており汚染が認められる。

② 油含有量5~6%の汚染土では, そのまま放置したのでは微生物による分解はほとんど進行しないが, 栄養分の必要量添加, 水分の適切な維持によって, 汚染土中の土着の油分解菌の活性が上がり, 油の微生物分解が進行する。

③ 約8カ月で, 油成分のうち飽和の炭化水素はそのかなりの部分が分解し, 芳香族のそれは約半分に分解する。しかし, レジン・アスファルテン分はそのまま残留する。

④ 2種類の市販の微生物製剤は土着の石油分解菌に比べて特に優れた分解効果は持たなかった。

⑤ 土の保水性を維持するのにコンポストは有用であり, 土に対して5%の添加でも効果が認められた。

7. あとがき

湾岸戦争で汚染されたクウェート環境のバイオレメディエーションに関して, 室内試験, 現地の汚染状況の調査の結果に基づいて, 現地実証試験を開始している。参考までにその模式図を図-11に示す。現地では, 土着の難分解性石油成分分解菌の探索試験も実施している。現地実証試験の結果も含め, 今後報告していく予定である。

参考文献

- 1) Al-Awadhi, N., M.S. Abdal, E.J. Brisky, and K. Williamson: Assessment of Technologies for the Remediation of Oil-Contaminated Soil Resulting from Exploded Oil Wells and Burning Oil Fires in Kuwait Proceeding of Air and Waste Management Association Meeting (Kansas City, Missouri), (1992).
- 2) 矢木修身, 内山裕夫: バイオレメディエーション技術を用いる揮発性有機塩素化合物汚染土壌・地下水の浄化, BIOINDUSTRY, Vol.10, p.13~18, (1993)
- 3) 宮下清貴: バイオレメディエーションに係わる技術的展望, Techno Innovation, No.13, p.26~30, (1994)