

26

硫酸塩還元条件下における石炭系油汚染土壌のバイオレメディエーション

京都大学大学院工学研究科附属 流域圏総合環境質研究センター

木戸遥 寺岡裕介 清水芳久 池田和弘 川端祥浩 原田英典

Bioremediation of oil-contaminated soil under sulfate reducing condition

Research Center for Environmental Quality Management, Kyoto Univ.

Kido Haruka, Teraoka Yusuke, Shimizu Yoshihisa, Ikeda Kazuhiro, Kawabata Yoshihiro, Harada Hidenori

1. 序論

油汚染土壌は国内だけでなく世界各地に相当量が蓄積されており、今後も増加すると推測される。これらの汚染はヒトや生態系に悪影響を及ぼすことが懸念され、既に問題となっている事例もある。浄化策としての物理・化学的な処理や集約的な処理場の建設は、エネルギー、費用などが極めて大きくなり、ふさわしくない。本研究では、現位置でのバイオレメディエーションによる処理技術の構築を最終目的としている。Sandeep ら¹⁾は、硫酸塩還元条件下において、高分子化合物のリグニンが微生物分解されたという報告をしている。そこで桑野ら²⁾は、同条件下での石炭系油汚染土壌のバイオレメディエーションを試みた。この結果、多環芳香族炭化水素類濃度の急激な増加が観察され、これは高分子油分の低分子化に起因すると考えられた。さらに木佐、大隈ら³⁾は、異なる温度、pH など複数の条件下でのバイオレメディエーションを行い、油汚染土壌の浄化に最適な条件を提案した。以上を受け、本研究では次の事項を課題として実験を行った。

- (1) 油分濃度の違いによる油分分解性を検討し、硫酸塩還元条件下でのバイオレメディエーションの適用可能性を評価すること。
- (2) 硫酸塩還元条件下での油分分解について、微生物活動の影響を検証すること。

2. 実験概要

2.1 実験装置の仕様と運転条件

モデル土壌としてイソライト CG1 号(イソライト工業株式会社、けいそう土焼成粒、化学組成:78 % SiO₂、12 % Al₂O₃、5 % Fe₂O₃、粒径 1 mm、かさ比重 0.55) にモデル石炭系油(上海タール)を加えた油汚染土壌を作成し、異なる条件にて 169 日間(実験 I) および 148 日間(実験 II) のリアクター運転を行った。リアクターの概観は図 1 の通りである。容量 1.2 L の上部カラムに、実験 I では汚染土壌 750 mL、実験 II では 800 mL を入れ、ウォータージャケットによって 35°C を保った。容量 1 L の下部セパラブルフラスコには、表 1 に示す組成の培地を実験 I で 1,400 mL、実験 II で 1,500 mL 入れ、ペリスタルティックポンプ(MP-1000 EYELA または PST-1100 IWAKI) を用いて循環させた。培地には運転条件により、硫酸塩 20 mM およびグルコース 10 g/L も加えた。培地は 2 週間で半量ずつ交換し、pH と ORP を常時測定できるように、pH 計(GST-5427、DKK-TOA) と ORP 計(塩化銀比較電極、PST-2739、DKK-TOA) をそれぞれリアクターに設置した。グルコースの嫌気性代謝によって有機酸が生成すると、培地の pH は低下する。これによる微生物活性の低下を防ぐため、2 N 水酸化ナトリウム水溶液を添加して pH を 7±1 に保った。リアクター全体は黒いビニール袋で覆って遮光した。

汚染土壌には下水処理場の返送汚泥を利用した植種を行った。活性汚泥には種々雑多な微生物が存在しており、微生物混合系として適していると考えたためである。大津市水再生センターより採取した返送汚泥 3 L を 1 日密栓攪拌し、1 晩静置して上澄みを除去し、その後、栄養塩、硫酸塩、グルコースをリアクター運転と同じ条件で加えて 10 日間培養した。この結果、実験 I では MLSS 3,000 mg/L、実験 II では MLSS 3,816 mg/L となり、いずれも強い硫化水素臭を呈した。これを種菌とし、作成した油汚染土壌に混合させた。

表 2 に各リアクターの運転条件の違いを示す。実験 I では、異なる 3 段階の油分濃度で汚染土壌を作成した。実験 II では油分濃度 40 mg-tar/g-isolite のみを作成し、グルコースの添加および植種を行っていることの効果を検証するため、グルコース無添加のリアクター、植種を行わないリアクターをそれぞれ新たに運転した。ただしグルコース無添加のリアクターと植種を行わないリアクターは、カラムの大きさが半分程度であり、それぞれ土壌 400 mL、培地 700 mL とした。

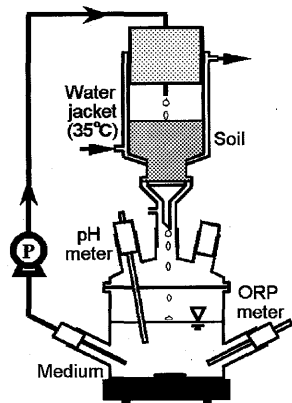


図 1 リアクター概観

表 1 超純水 1 L あたりの培地組成

化学式	重量(g)	化学式	重量(g)
NH ₄ Cl	1.4	H ₃ BO ₃	0.0003
KH ₂ PO ₄	0.6	CoCl ₂ •6H ₂ O	0.0002
K ₂ HPO ₄	0.6	MnCl ₂ •4H ₂ O	0.0002
MgCl ₂ •6H ₂ O	0.1	CuCl	0.0001
CaCl ₂ •2H ₂ O	0.01	ZnCl ₂	0.000087
FeSO ₄ •7H ₂ O	0.01		

表 2 リアクターの運転条件

油分濃度	微生物栄養源	リアクターの運転本数	
		実験 I	実験 II
8 mg-tar/g-isolite	栄養塩、硫酸塩 20 mM、グルコース 10g/L	2 本	—
	栄養塩、硫酸塩 20 mM、グルコース 10 g/L	2 本	6 本
40 mg-tar/g-isolite	栄養塩、硫酸塩 20 mM、グルコース無添加	—	小 2 本
	栄養塩、硫酸塩 20 mM、グルコース 10 g/L、植種なし	—	小 2 本
200 mg-tar/g-isolite	栄養塩、硫酸塩 20 mM、グルコース 10 g/L	2 本	—

2.2 試料の採取と分析項目

土壌試料は実験Ⅰで2週間おき、実験Ⅱで3週間おきに湿重量20 g程度を採取した。小さいカラムを用いたリアクターでは採取の頻度を減らした。培地試料は培地交換の直前、直後と、次の交換までの2週間に、実験Ⅰでは1回、実験Ⅱでは2回採取した。土壌試料は約1週間かけて十分に風乾させた後、粉碎し分析に供した。培地試料は1 μm ガラスファイバーろ紙 (GA-100、ADVANTEC) にてろ過した後、分析に供した。分析項目は、土壌試料の油分濃度 (イアトロスキャン MK-6、三菱化学メディエンス)、培地試料の SO_4^{2-} 濃度 (イオンクロマトグラフィー DX-500、DIONEX)、DOC濃度 (TOC-5000A、SHIMADZU)、全窒素濃度 (紫外線吸光光度法、吸光光度計 UV-3600、SHIMADZU、実験Ⅱのみ)、および全リン濃度 (ペルオキシ二硫酸カリウム分解法、吸光光度計 UV-3600、SHIMADZU、実験Ⅱのみ) である。培地試料の SO_4^{2-} 濃度とORPは、硫酸塩還元状態を評価するために分析した。DOC、全窒素および全リン濃度については、微生物活性とそれぞれの消費量を把握する目的で分析を行った。

3. 油分分析方法

本研究では極性に応じて油分を飽和分、芳香族分、レジン分、アスファルテン分の4グループに分画し、それぞれを定量する分析を行った。分画には薄層クロマトグラフィー (TLC: Thin Layer Chromatography、MK-6、三菱化学メディエンス) を用い、水素炎イオン検出器 (FID: Flame Ionization Detector、MK-6、三菱化学メディエンス) にて検出した。油分分析はまずピリジンに溶媒とし、超音波によって抽出した。土壌から油分を抽出する溶媒にはジクロロメタンがよく用いられ、US EPA の標準方法にも定められている。しかしレジン分やアスファルテン分のように極性の強い画分は、ジクロロメタンでは抽出されにくい。ピリジンはジクロロメタンよりも極性が強く、大隈らの研究で抽出効率の高さが確認されている。

予備実験の結果から、上海タールに含まれる飽和分は無視できることが分かった。このことから、飽和分に分画されるテトラコサンを内部標準物質として用い、抽出液に加えて芳香族分、レジン分、アスファルテン分の定量を行った。なお、上海タールの原液1 gを秤量し、ピリジン 50 mLを溶媒として超音波抽出を行った結果、抽出可能な上海タール原液の組成は実験Ⅰで使用したものは芳香族分が 57%、レジン分が 32%、アスファルテン分が 11%であった。また実験Ⅱで使用した上海タールは芳香族分が 57%、レジン分が 28%、アスファルテン分が 16%であった。

4. 実験結果と考察

4.1 培地試料、土壌試料の分析結果と考察(実験Ⅰ)

実験Ⅰで得られた結果を図2～図7に示す。油分濃度 8、40、200 mg-tar/g-isolite のリアクターをそれぞれ系 8、40、200 と表す。いずれの系においても、芳香族分、レジン分、アスファルテン分の各濃度は減少する傾向が観られた。ただし系 8 の油分は実験開始時から低濃度であり、分析誤差が大きいと考えられた。このためグラフは掲載していない。系 40 の油分濃度 (図2) では、芳香族分とレジン分の濃度が大きく下がっていた。系 200 の油分濃度 (図3) では、芳香族分が減少した後、再び増加するという特徴が観られた。これは、レジン分やアスファルテン分の分解によって生じたものだと考えられる。アスファルテン分濃度の増加が観られることについては、上海タールにアスファルテン分を超える測定不可能な超高分子油分が存在し、その成分が低分子化したという可能性も考えられる。

培地試料の分析結果を観ると、系 40 (図4) では、培地交換の都度 DOC が消費されていた。系 8 も同様であった。系 200 (図5) では、DOC の消費量は少なかった。また系 40 (図6) では SO_4^{2-} 濃度の減少が観られ、系 8 も同様であったが、系 200 (図7) では観られなかった。さらに、全ての系において ORP は徐々に低下していた。特に系 40 では、ORP の低下に伴って DOC、 SO_4^{2-} 濃度が大きく低下していた。系 40 の土壌および培地は、実験開始後 50 日程度が経過してから黒色に変化し、硫化水素臭が確認された。モデル土壌と

して用いたイソライトや、培地に含まれる金属イオンの硫化物が生成したことによると考えられる。

系 200 で明らかな DOC の消費と SO_4^{2-} 濃度の減少が観られなかったのは、系 200 における芳香族分とアスファルテン分の増加を考慮すると、高濃度の油分毒性が微生物活性を低下させ、更なるこれらの油分の低分子化を抑制したことによると考えられる。嫌気条件下でグルコースを基質とし、有機酸を生成する微生物の活動が高濃度の油分によって阻害された可能性がある。したがって油汚染土壌では、油分の組成も考慮する必要があるが、40 mg-tar/g-drysoil 程度の汚染濃度であれば硫酸塩還元条件下でのバイオレメディエーションを十分に適用できると考えられる。

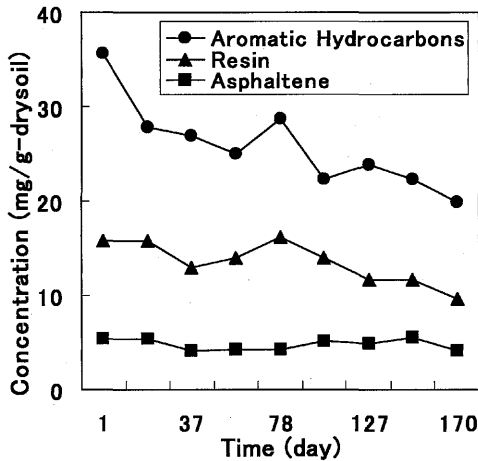


図2 実験 I の系 40 における油分濃度

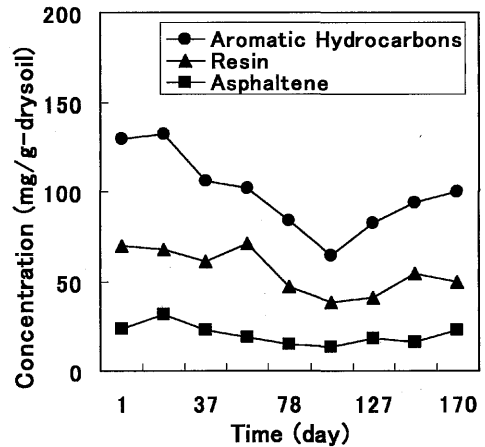


図3 実験 I の系 200 における油分濃度

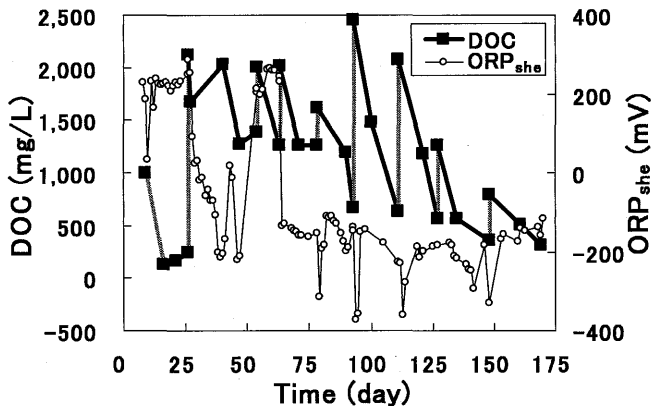


図4 実験 I の系40におけるDOCとORP

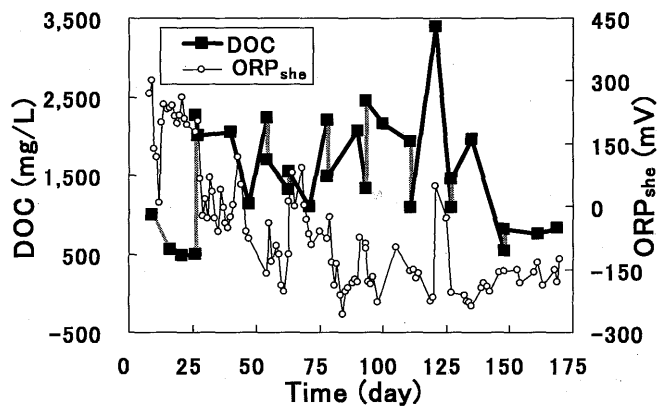
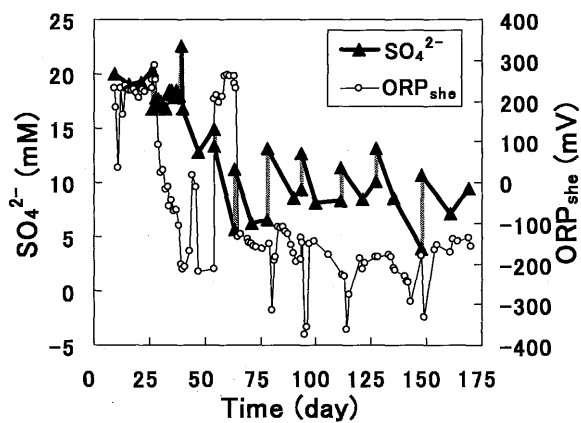
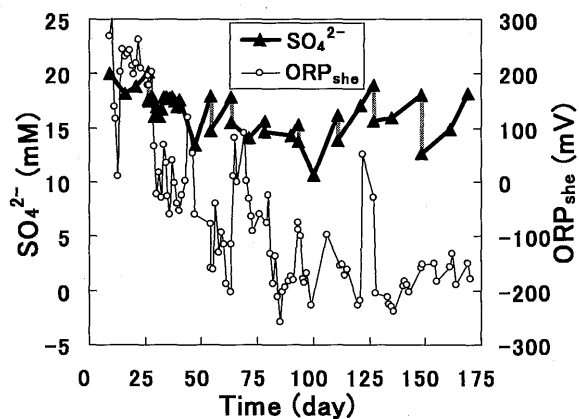


図5 実験 I の系200におけるDOCとORP

図6 実験 I の系40における SO_4^{2-} とORP図7 実験 I の系200における SO_4^{2-} とORP

4. 2 培地試料、土壌試料の分析結果と考察(実験Ⅱ)

実験Ⅰの結果から、実験Ⅱでは油分濃度を 40 mg-tar/g-drysoil に設定した。実験Ⅱで得られた結果を図 8～図 13 に示す。グルコース無添加のリアクター、植種を行わなかったリアクターをそれぞれ系 NG、系 NB と表す。実験Ⅰと同様にグルコースを添加し、植種を行った系 40 (図 8) では油分濃度が減少していた。実験開始後 90 日程度が経過してから、レジン分の減少に伴う芳香族分のわずかな増加が確認された。難分解性の高分子油分であるレジン分が低分子化され、芳香族分が生じたと考えられる。系 NG および系 NB (図 9) では、油分濃度は減少しなかった。系 NG と系 NB では ORP_{shc} が 200～400 mV 程度と高い値を維持しており、嫌気状態にないことが影響している可能性がある。 ORP_{shc} はグルコースを添加して植種を行った系 40 のみ低下しており、系 40 のみが硫酸塩還元状態にあったと考えられる。

系 40 の DOC 濃度 (図 10) および SO_4^{2-} 濃度 (図 11) を観ると、実験Ⅰの場合と同様に、培地交換の都度これらが消費されていることが分かる。グルコースを添加していない系 NG では DOC は常に 0 mg/L 程度であり、 SO_4^{2-} 濃度にも変化が観られなかった。系 NB は DOC 濃度が系 40 とほぼ同じ変化であった。しかし、系 NB の SO_4^{2-} 濃度は系 NG と同様に減少していなかった。こ全窒素 (T-N)、全リン (T-P) の分析結果を観ても、系 40 (図 12、図 13) と系 NB ではいずれも消費されていた。系 NG では T-N、T-P ともに減少していなかった。系 NB には培地交換の度にオートクレーブした培地を加えているが、グルコースが消費されていることから、もともと土壌中に存在していた微生物が活動している可能性がある。これらの結果から、土壌中油分の低分子化には硫酸塩還元状態における微生物分解が関与しており、この際、易分解性有機物が必要であることが分かった。

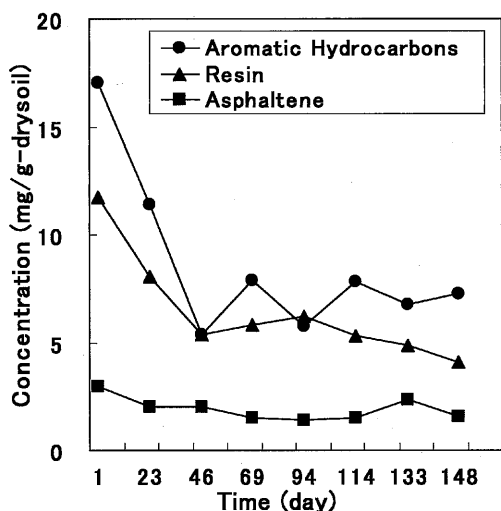


図 8 実験Ⅱの系 40 における油分濃度 (グルコース添加、植種あり)

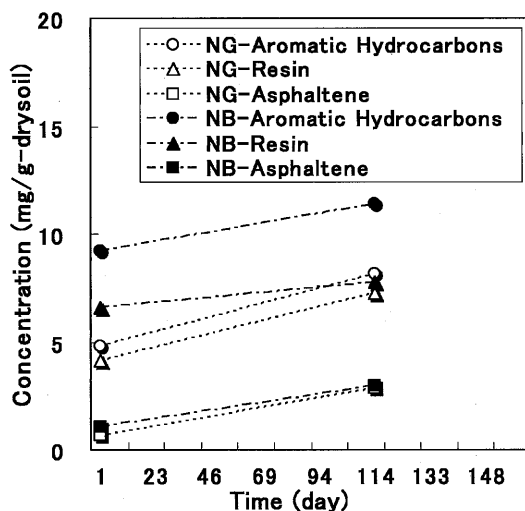


図 9 実験Ⅱの系 NG と系 NB における油分濃度

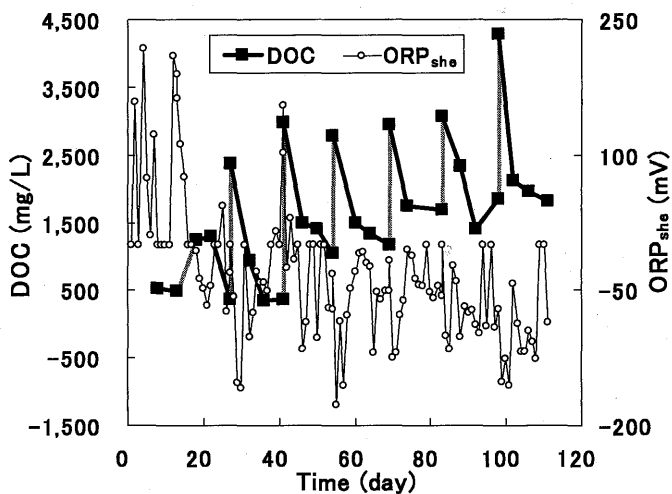


図10 実験Ⅱの系40におけるDOCとORP
(グルコース添加、植種あり)

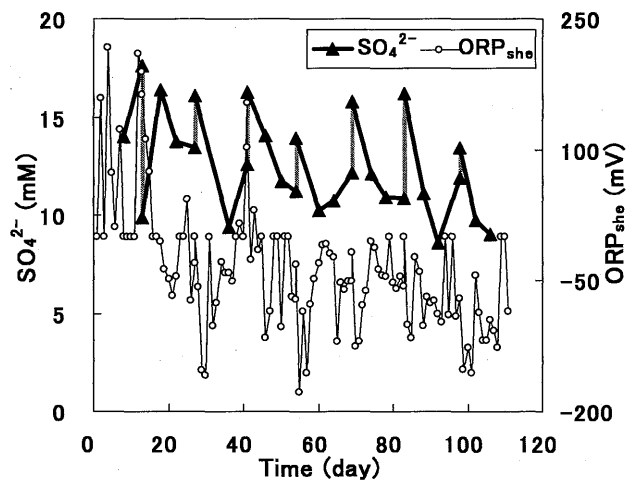


図11 実験Ⅱの系40における SO_4^{2-} とORP
(グルコース添加、植種あり)

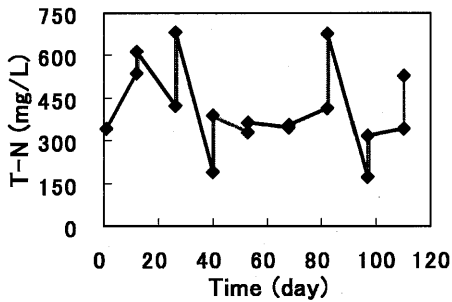


図 12 実験Ⅱの系 40 における T-N
(グルコース添加、植種あり)

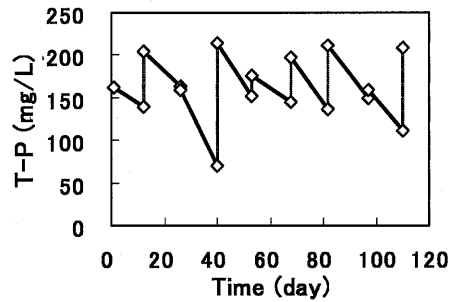


図 13 実験Ⅱの系 40 における T-P
(グルコース添加、植種あり)

5. 結論

本研究では硫酸塩還元条件下におけるバイオレメディエーションを、石炭系油汚染土壌の浄化技術として確立することを目指し、この方法が適用可能な油分濃度の範囲や、微生物活性との関わりについて検討を行った。得られた主要な知見を以下に記す。

- (1) 硫酸塩還元条件下におけるバイオレメディエーションは、40 mg-tar/g-drysoil 程度の油分濃度であれば十分に適用であることが分かった。また、芳香族分とレジン分の分解に効果があると考えられた。
- (2) 実験Ⅰで微生物活性が十分ではなかったと考えられる 200 mg-tar/g-drysoil の汚染土壌においても、油分濃度の減少が観られた。一方、実験Ⅱの植種を行っていない系では、グルコース、全窒素、全リンの濃度が減少していたにも関わらず、油分濃度の減少は観られなかった。油汚染土壌には、硫酸塩還元条件下での微生物による「バイオレメディエーション」が有効であることが分かった。

参考文献

- 1) Sandeep Pareek, Saburo Matsui, Seog Ku Kim, Yoshihisa Shimizu(1999): *Mathematical modeling and simulation of methane gas production in simulated landfill column reactors under sulfidogenic and methanogenic environments*, *Water Science and Technology*, Vol.39, No.7, pp.235-242.
- 2) Yusuke Kuwano, Yoshihisa Shimizu(2006): *Bioremediation of coal contaminated soil under sulfate-reducing condition*, *Environmental Technology*, Vol.27, pp.95-102.
- 3) 大隈建(2007): 油汚染土壌のバイオレメディエーションの効率化と硫酸塩還元状態の有効性評価、京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻修士論文。

キーワード：硫酸塩還元、油汚染土壌、バイオレメディエーション

Key Words : Sulfate Reducing Condition, Oil-contaminated Soil, Bioremediation