

石油汚染土壌の分析方法とその利用法に関する研究

亀田 茂* 小西正郎** 今井亮介***

1. まえがき

石油は現代生活にとって欠かせない基礎原料であるため数多くの石油製品を扱う業者が存在している。そのため石油製品による土壌汚染は、精油所、油槽所、ガソリンスタンドのみならず、ボイラー燃料や機械油、潤滑油を取り扱う工場などでも顕在化している。

浄化に掛かる環境負担や費用負担を軽減するため、MNA (Monitored Natural Attenuation: 科学的自然減衰) 手法も紹介される一方、より積極的に微生物を利用したバイオレメディエーション (生物的修復) を用いた土壌修復措置が期待されるようになってきている。

この手法を用いる場合、事前のトリータビリティ試験 (浄化適応性試験) により分解活性化条件などを把握することや、浄化修復期間中のモニタリングが非常に重要になってくる。

評価のため油分分析が欠かせないが、石油汚染土壌中の油分分析法については数多くの手法が用いられているが、各手法とも一長一短であることから公定法も定まっていないのが現状である。そこで各手法の特性を踏まえ、バイオレメディエーションの検討やモニタリングに有効利用することが肝要となると考えられることから、各種分析法の特徴と問題点などを調査、検討した。そして、分析法に関する検討結果を踏まえ、実汚染土壌を用いたバイオレメディエーション室内実験を実施した。各種分析法の特性を考慮することにより、最終分解率や修復期間の予測、分解状況が把握できるようになったのでここに報告するものである。

2. 石油汚染土壌の油分分析法

2.1 分析方法の概要

国内では石油汚染土壌に対する「油分」としての環

境基準値はベンゼンを除き定められていない。また「油分」を規定する分析法についても明確ではなく、水質汚濁防止法や廃掃法で規定された分析法 (JIS K 0102 「工場排水試験方法」) を用いて、油分の評価を行っている場合が多い。

近年では、油汚染土壌の生分解速度を評価するためには、油の全体量ではなく組成の変化を定量的に把握することが必要であることから TPHs (total petroleum hydrocarbons) の定量分析にアメリカ環境保護局(EPA)の規定によるガスクロマトグラフ法も多く行われるようになってきている。また、薄層クロマトグラフィー(TLC)と水素炎イオン化検出器(FID)とを組み合わせた TLC-FID 法 (イヤトロスキヤン分析) も実施され、汚染油の分解に関する情報が得られるようになってきている。また、迅速な分析が可能な赤外分光による分析が多く用いられるようになってきている。

2.2 現行分析法の特徴と問題点

バイオレメディエーションにおける油汚染土壌の分析結果の評価手法とその利用方法を検討するために各種の分析法の特徴と問題点を調査した。

a. ヘキサン抽出-重量法

本手法は、溶媒にノルマルヘキサンを用いて土壌中から抽出操作 (ソックスレー抽出) を行い、その抽出物から溶媒を揮発させ、残った成分の重量を秤量して「油分」とする方法である。本文では以後、本手法をヘキサン抽出法と呼ぶ。

本手法の問題点は以下の点と考えられる。

- ・ 脱溶媒時に加熱を行うため、油分のうち低沸点成分が溶媒とともに揮発してしまう
- ・ 土壌中に腐植成分が多く混入している場合は油分量が多く見積もられてしまう

b. 赤外分光法

本手法は、四塩化炭素や S-316 (ポリクロロトリフ

*技術研究所 **技術本部環境プロジェクト部 ***技術本部土木部

ルオロエチレン)などの溶媒で土壤中から油分の抽出操作(振とう抽出)を行い、赤外吸収測定により、予め作成した検量線を用いて油分濃度を求める方法である。レジン分、アスファルテン分も抽出できるため、全量を定量することができる。本文では以後、溶媒にS-316を用いた手法を赤外分光法と呼ぶ。

本手法の問題点は以下の点と考えられる。

- ・赤外吸収の測定波長は 3000cm^{-1} 付近のC-H結合(-CH₂、-CH₃)の伸縮運動に基づく吸収帯を用いているため飽和炭化水素化合物に対しては高感度な分析が可能であるが、芳香族化合物に対しては感度が低くなる

c. GC-FID 法

本手法は、溶媒に二硫化炭素を用いて抽出し、抽出された成分を加熱しながら測定することで沸点毎に分離したクロマトグラフが得られる。これを標準物質で予め作成しておいた検量線を用いて炭素毎の濃度を求める方法である。本文では以後、本手法をGC法と呼ぶ。本手法の問題点は以下の点と考えられる。

- ・カラムの加熱可能温度の関係からC₄₄以上の成分、レジン分、アスファルテン分が測定できないため油分全量を定量することができない

d. TLC-FID 法

本手法は、シリカゲルの薄層に試料を付着させ3種類の溶媒(ヘキサン、トルエン、ジクロロメタン・メタノール混合液)で展開した後、水素炎イオン検出器で得られるクロマトグラフから飽和分、芳香族分、レジン分、アスファルテン分の構成比を求める方法である。本文では以後、本手法をイヤトロスキヤンと呼ぶ。

本手法の問題点は以下の点と考えられる。

- ・本手法は定性的な分析方法であるので本手法のみでは、油分濃度の定量はできない
- ・溶媒に展開されたものを分画として区別するので土壤中の腐植などに大きく影響される可能性がある

2.3 赤外分光法における土壌水分の影響について

筆者らは油排水処理を検討した際に模擬排水を用いて赤外分光法で油分濃度を数多く分析し、排水中の油の形態によって分析値が大きく変わってしまうことを経験した。そこで以下のような室内実験を行い、その理由を検討した。

a. 模擬排水による油分濃度分析

灯油、A重油および潤滑油と洗剤を用いて人為的に1%の油汚染水を作成し、その油分濃度を測定する方法で調べた。第1の検液としてS316溶液に油原液を直接混合したものを作成して正しい濃度が得られることを確認した。次に、分液ロート内で油分1%溶液(水50mlと油0.5ml)を作成して1分間激しく振とう攪拌して第2の分析用検液とした。最後にエマルジョン化を図る目的で同様の溶液に洗剤0.5mlを加えて振とう攪拌して作成したものを第3の検液とし、各検液の油分濃度を測定した。3種類の油を対象とした時の赤外分光法による油分濃度測定値を図-1に示す。

図-1に示すように洗剤によってエマルジョンが生じている状態の試料では、実際の3~5割程度の値しか得られないことが分かる。

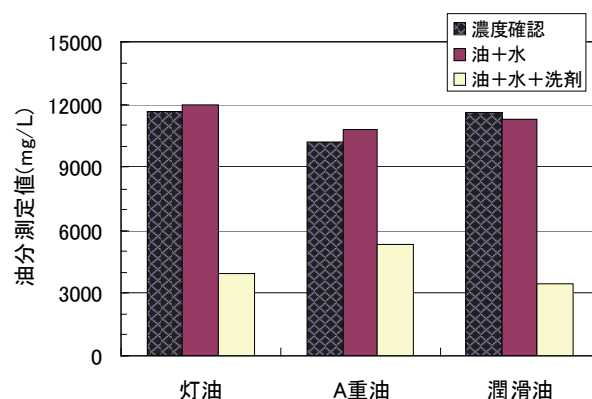


図-1 模擬排水の油分濃度値

b. 土壌水分が及ぼす分析値への影響

模擬排水による油分濃度分析結果より土壌間隙水にエマルジョン化した油分が存在する場合には赤外分光法では無水硫酸ナトリウムやシリカゲルで土壌中の水分を脱水しても、油分濃度が低く見積もられてしまう可能性があることが示唆された。

土壌の油汚染は、汚染の履歴が古くなると土壌中に存在する界面活性を持つ腐植物質や油分分解微生物が生産する界面活性剤(バイオサーファクタント)の影響を長期に渉って受けることになり、間隙水にある油分がエマルジョン化すると考えられる。すなわち履歴の古い油汚染土壌に赤外分析法を適用する場合は留意が必要と考えられる。

今後、S-316による油分抽出は振とう法以外の抽出方法(超音波、マイクロ波、高速溶媒抽出など)を検討するとともに、含水比・油汚染の履歴・腐植量・微生物量などと赤外分光法の測定値との関係性を詳細に調

査検討することが必要と考えている。

3. 石油汚染土壌のトリータビリティー試験

石油汚染土壌の修復をバイオレメディエーションで検討する場合、事前のトリータビリティー試験が欠かせない。しかしながら、その試験は総じて長期間を要するが、実際には短期間で検討を要求される場合が多い。そこで短期間でトリータビリティー試験結果より、バイオレメディエーション適用性の是非を判断する方法を検討した。また、過去に行った長期室外実証試験結果と2ヶ月間の室内実験のデータをもとに油分分解率の予測を行った。

3.1 石油汚染土壌の短期トリータビリティー試験

石油汚染土壌の油成分のうちレジン分、アスファルテン分が多い油汚染土壌は微生物分解が困難といわれている。このような汚染土壌の微生物分解可能性や最終浄化濃度などの知見を得るために、レジン分の割合が大きい実際の汚染土壌を用いて、短期トリータビリティー試験を実施した。

a. 試験方法

重質油によって汚染された石油汚染土を2種採取し、各試料50gにチッソ・リンやバイオ製剤を添加し、含水比が10%程度になる量の水分を加えてよく混合した。この試料を3Lのポリ容器内に密閉してインキュベーター内で25℃に保ち、10日間馴養した。その後、赤外分光法による油分濃度分析、生物発光法によるアデノシン三リン酸(ATP)による微生物活性の定性分析およびポリ容器内で発生する二酸化炭素量の分析を実施した。

b. 試験結果と考察

初期土壌の油分濃度は赤外分光法、GC法、ヘキサン抽出法による方法で測定した。表-1に初期分析値を示す。図-2、図-3に初期土壌のGC-FIDクロマトグラフを示す。

試料①と試料②のGC法による油分濃度分析値は、ほぼ同程度の値を示している。しかしながらGC-FIDのクロマトグラフを見ると明らかに違いが見られる。試料①に比べ試料②は、C₁₀-C₂₈の比較的の低炭素成分が多く含まれているのに対し、試料①はC₂₈-C₄₄の成分が多いことが分かる。また試料②のクロマトグラフでは微生物分解が容易であるノルマルパラフィン（直鎖飽和炭

表-1 初期土壌油分濃度分析値

試料 No.	含水比 (%)	油分濃度		
		赤外 mg/kg	GC-FID mg/kg	ヘキサン mg/kg
試料①	0.6	15430	12470	19000
試料②	0.8	12500	13753	12000

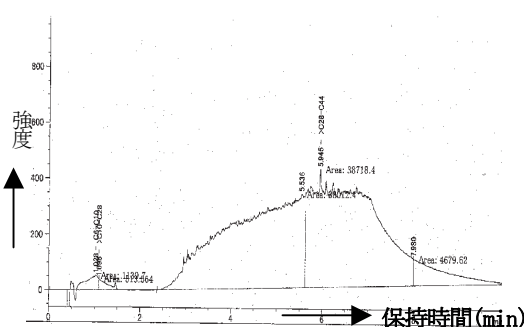


図-2 試料①クロマトグラフ

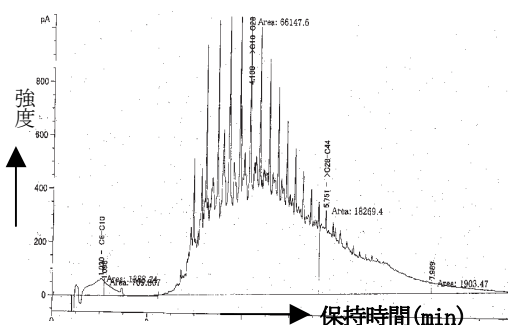


図-3 試料②クロマトグラフ

化水素)と思われるヒゲ状の部分（保持時間間隔がほぼ一定毎のピーク）が多数見られる。

これらのことより、試料①は微生物分解を長期間受け、今後、油分濃度の減少が余り見込めない試料であるのに対し、試料②は微生物分解をあまり受けていない新しい油汚染土壌であり、今後、油分濃度の減少が多く見込める試料といえる。

また試料①は、C₄₄以上の炭素数の多い成分が、残留または低炭素分の老化変質により、多く存在するためC₄₄以上の成分が測定できないGC法での分析値は赤外分光法やヘキサン抽出法に比べ低い値になったと考えられる。また、低沸点成分が多い割合で存在する試料②のヘキサン抽出法の測定値は低く見積もられているものと考えられる。

次に10日間のトリータビリティー試験結果を示す。

赤外分光法による油分濃度変化を図-4に、ATP 変化を図-5に、二酸化炭素発生量を図-6に示す。

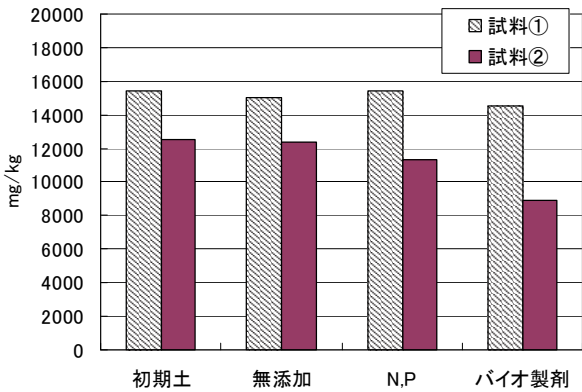


図-4 油分濃度変化(10日後)

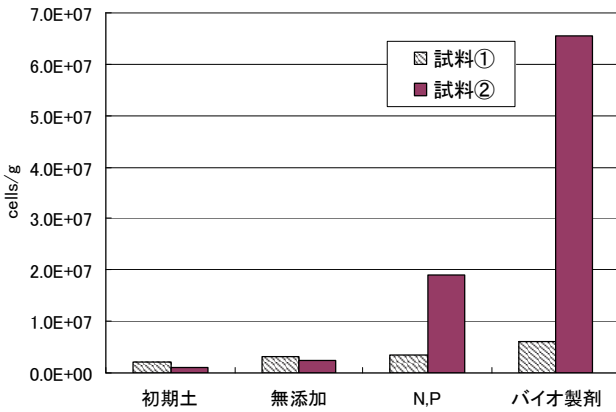


図-5 ATP 量の変化(10日後)

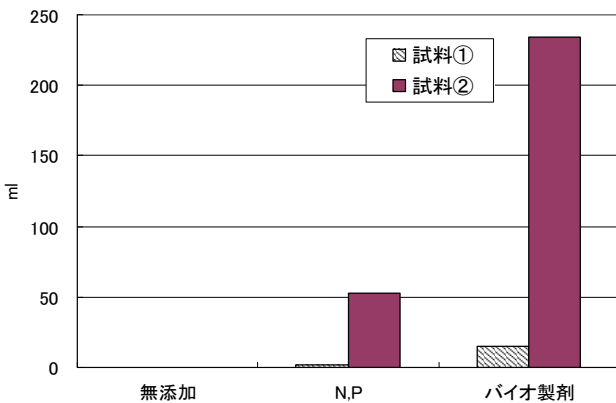


図-6 二酸化炭素発生量(10日後)

これらの結果をみると 25°C といった好条件下でも 試料①は微生物分解が困難であることが分かる。試料②においてはチッソ・リンといった栄養塩類やバイオ製剤を添加しなければ微生物分解が容易に進まないことが分かる。

微生物分解が比較的容易である試料②について、無

添加で馴養した場合とチッソ・リンを添加して馴養した場合の GC-FID クロマトグラフを図-7、図-8に示す。チッソ・リンを添加した場合には、ヒゲ状の部分が減少しており、ノルマルパラフィン部から微生物分解が進んでいることが分かる。

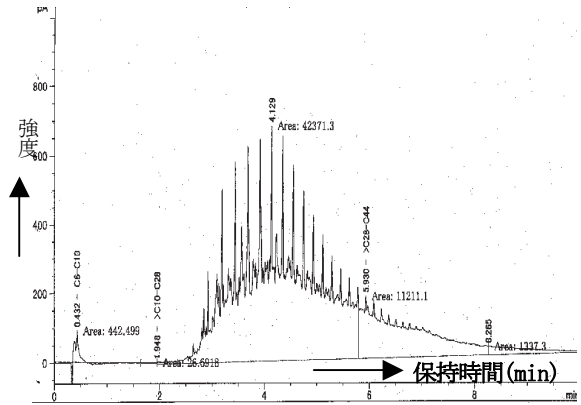


図-7 試料②無添加(10日後)

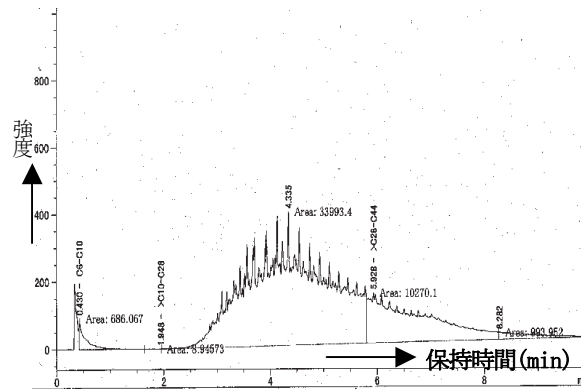


図-8 試料②N・P添加(10日後)

以上より初期土壌の GC 分析とそのクロマトグラフの形状が分かればバイオレメディエーションに適した汚染土壌であるか否かの判定は容易と考えられる。しかしながら浄化速度や浄化収束時の油分濃度の予測は 10 日間程度のトリータビリティ試験のみでは困難と思われる。

3.2 油汚染土壌の油分分解率予測

油汚染土壌をバイオレメディエーションで浄化する場合、浄化速度や浄化収束時の油分濃度の予測をすることは重要である。しかしながら短期間のトリータビリティ試験のみでは、その予測が困難である場合が多い。そこで、試料②にバイオ製剤を添加して行った 2 ヶ月間の室内試験結果と過去に行った潤滑油系の汚染土壌の 1.5 年にわたる室外実証試験結果を検討し、油分分解率の予測を行った。

a. 試験方法

2ヶ月間の室内試験は、試料②オイルサンドにて上述と同様の方法で2ヶ月間試験を実施した。バイオ製剤添加量は菌体重量で油分重量の0.5%とした。

長期室外実証試験は燃料・潤滑油系で高濃度に汚染された土壌を用いて1.5年にわたって赤外分光法、GC法による油分濃度分析とイヤトロスキャンによる組成変化の分析を行った。

b. 試験結果と考察

図-9に2ヶ月間の室内試験の赤外分光法による油分濃度・二酸化炭素発生量・ATP量の変化を示す。図-10にはイヤトロスキャンによる組成分析と赤外分光法による油分濃度より求めた組成毎の油分濃度を示す。図-11には60日後のGC-FIDクロマトグラフを示す。

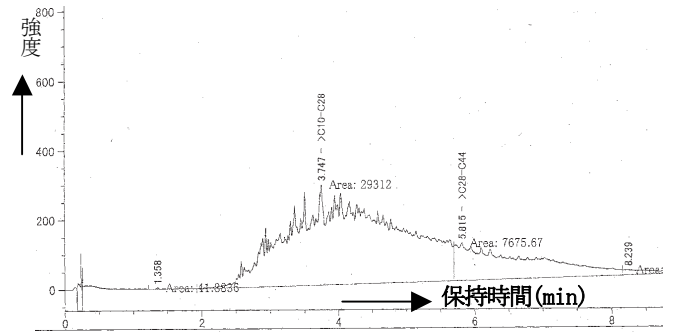


図-11 60日後のクロマトグラフ

参照)がほぼなくなっている。すなわち60日後には微生物分解が容易なノルマルパラフィン部はほぼ分解が終わったと思われる。

次に、長期室外実証試験の結果を示す。赤外分光法による油分濃度変化を図-12に、イヤトロスキャンに

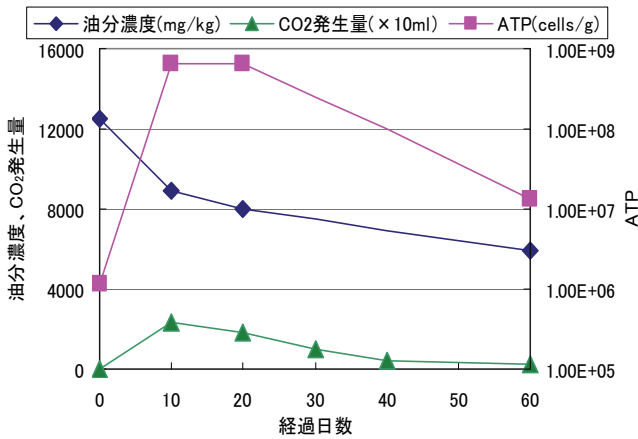


図-9 油分濃度、CO₂発生量、ATP量の変化

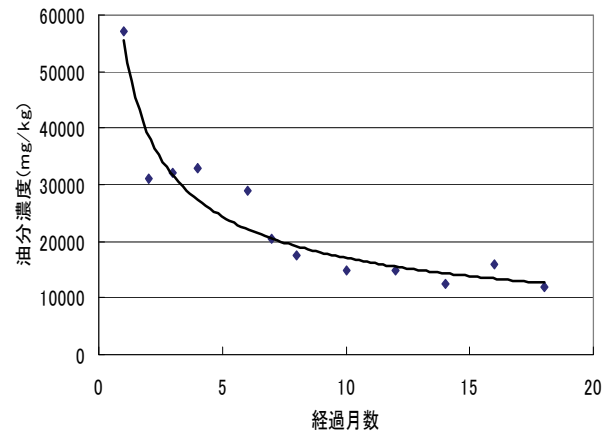


図-12 油分濃度の変化

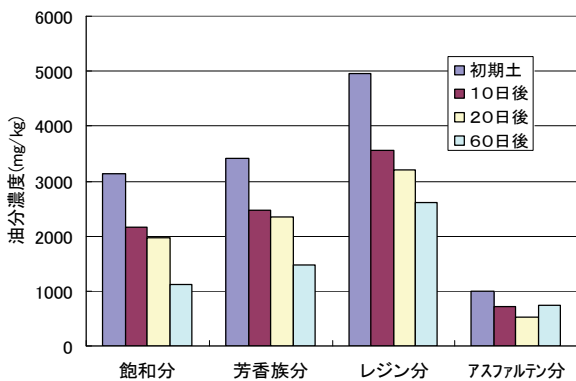


図-10 組成毎の油分濃度

これらの結果を見ると20日後までは微生物活性が高く油分濃度も急激に減少しており、それ以後も分解が進んでいる。60日後のGC-FIDクロマトグラフを見ると初期土壌には多く見られたヒゲ状の部分(図-3

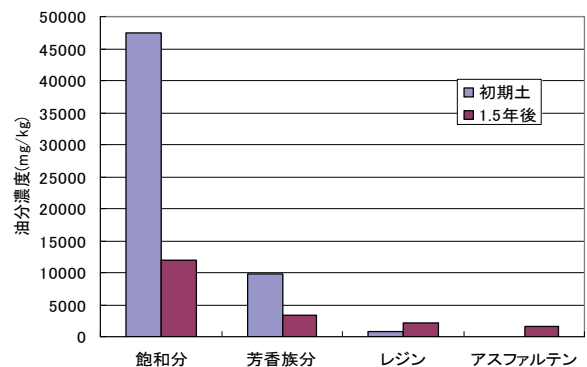


図-13 組成毎の油分濃度

による組成分析と赤外分光法による油分濃度より求めた組成毎の油分濃度を図-13に、初期土、1年後、1.5年後のGC-FIDクロマトグラフを図-14に示す。

2ヶ月間の室内試験結果と1.5年にわたる室外実証

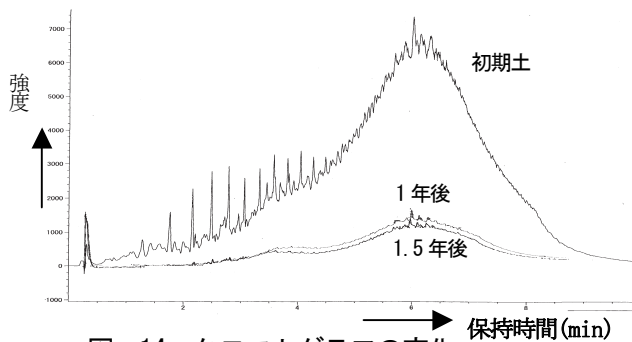


図-14 クロマトグラフの変化

試験結果を詳細に検討すると以下のようにまとめることが出来る。

- (a) ノルマルパラフィンがほぼ分解された頃には、分解速度も落ちてレジン・アスファルテンが増加する傾向が見られる
- (b) 微生物分解がほぼ終了した時点では、飽和分が約 1/4、芳香族分が約 1/3 になる
- (c) レジン分が多い場合は、老化変質による増加に比べ微生物分解が大きく、約 1/2 程度まで油分が低減可能と考えられる。アスファルテンについては分解・老化変質により油分量はほぼ変化しない

c. 油分分解率と浄化期間の推定

以上の知見をもとに試料②の最終分解時の油分濃度を計算すると 5400mg/kg となり初期濃度 12500mg/kg に対して 67%の分解率となる。この値は、60 日後の油分濃度 5950mg/kg を併せて考えると信頼できる値と思われる。

最終状態になるまでの浄化期間については、外気温や攪拌頻度に大きく左右されると思われるものの最短でも 60 日以上は必要であり、通常は約半年以内で収束すると思われる。

4. あとがき

石油汚染土壌にバイオレメディエーションを適用する場合にはその分析法の特性を良く理解した上での判断が重要であり、そこから得られる情報をもとに微生物分解に適した条件を検討することが、トリータビリティ試験の重要な役割である。トリータビリティ試験の結果をまとめることにより、その汚染土壌の分解挙動や浄化率の推定などもある程度できるようになる。

S-316 を溶媒として用いる赤外分光法は、簡便に油分濃度を分析できることから、今後ますます利用されるようになると思われるが、土壌間隙水が分析値に与える影響とその理由については種々の実験などによりデータを集積し、より詳細に検討する必要がある。

石油系汚染土壌については多くのデータが集まりつつあるが、石炭系由来の汚染（乾留ガス製造など）については、現在あまりデータが収集できていないが、多環芳香族炭化水素(PAHs)の割合が高く、それ故、発ガン性が疑われる汚染と考えられる。多環芳香族炭化水素については、アメリカ環境保護局(EPA)ではナフタレン、ピレンなど 16 化合物が指定化合物とされていることなどを考えると、多環芳香族炭化水素の分析やその微生物分解に関する研究は今後、重要になると考えられる。

【参考文献】

- 1) 白鳥寿一、「MNA 部会の活動について」、(社)土壤環境センター技術ニュース、No. 4、pp. 43-48、2002
- 2) (財)石油産業活性化センター、「石油汚染土壌の浄化に関する技術開発報告書」、平成 15 年 3 月