研究論文

油汚染土壌の浄化における栄養塩注入速度の効率化

森 也 寸 志*・松 田 真 伊*

要 旨

バイオレメディエーションは汚染土壌浄化方法の一つで、栄養塩や酸素を土壌中に送り込むことで土壌中の微生物活性を促し、汚染物質の分解を促進させる。しかしながら、土壌間隙構造は不規則で粗大間隙などがあり、浄化剤や栄養塩が粗大間隙を伝って流れてしまい、土壌全体に行き渡らずに浄化効率が上がらないことが懸念される。本実験では、油汚染土壌に栄養塩を浸透させ、排出された栄養塩濃度と実験後に残留した油の量から浄化効率を考察した。土壌間隙構造の影響を反映させるために2つの異なる浸透速度で栄養塩注入を行ったところ、飽和より土壌が不飽和の状態を保つような遅い浸透速度で浄化する方が残留した油が少なく、栄養塩を速く大量に送り込む現場事例とは全く異なる結果となった。移流より分散が卓越する条件になったためと考えられ、浄化効率と地下水を汚染しないことから遅い浸透で少量の栄養塩を注入する方が有利な浄化になると判断した。

キーワード：土壌汚染，バイオレメディエーション，移流・分散，浸透

はじめに

近年、日本では土壌汚染対策法が制定され、様々な環境負荷物質による汚染が規制され、浄化が義務づけられている。ところがベンゼン以外の油分は、油臭、着臭、油膜の形成、植物の生育阻害などの影響が考えられるにもかかわらず、環境基準物質に含まれておらず、油汚染対策については規制が遅れている¹⁾。

一般に汚染の濃度が高ければ吸引井戸から汚染物質を抽出するが、その濃度が低下して来るにつれて溶媒は土壌間隙の深い部分にとどまるため、抽出効率が下がってくる。そこで一定濃度以下の汚染土壌に対しては微生物による汚染物質の分解を促すバイオレメディエーションに対する技術開発が進められている²⁾。

バイオレメディエーションには、空気や栄養塩を送り込み活性を促す方法や、目的とする汚染物質の分解

に適した微生物群を送り込む方法などが知られている。このうち日本国内で比較的広く使われている方法は空気と栄養塩を送り込むバイオスティミュレーションであるが、その効率が期待されるほどでもない場合が散見される。例えば、マクロポアと呼ばれる粗大間隙や亀裂がある場合、その間隙周辺に栄養塩の供給が成されるという報告がある³⁾。言い換えれば、その他の部位に栄養塩が行き渡らないために十分な浄化効率が期待できない可能性が否定できない。これらの汚染・防止・浄化に関わる現象は土壌の中で発生することで検証が難しく、試行錯誤に頼るしかない場合も多い。

土壌中の物質移動を軟X線で撮影すると図1のような写真が得られる。図は水の流れに乗せた造影剤の移動が撮影されている。ボジで表示しているため、黒い部分が物質移動の発生している間隙、そして白い部分が固相または物質移動に関与しない間隙を示してい

* 島根大学生物資源科学部 Yasushi MORI ,Mai MATSUDA

2009年1月23日受付
2009年5月1日受理

図1 土壌のX線写真の例 (5 × 5 cm)⁶⁾

左右は全く同じ土壌、左は飽和状態(水分55.4%)での水みち、右は不飽和状態(水分37.4%)での水みち

る。左右は同じ土壌であるが水分量が異なり、飽和状態では粗大間隙を通じた流れが発生し、不飽和状態では細かな間隙中を物質が移動している様子が観察される^{4, 5)}。土粒子の並び方は均一ではないために、間隙中には粗密の差があり、粗大間隙は土壌中いたるところに観察されるため亀裂などは例外と言うよりはむしろ普通に存在するものとして扱う必要がある。さらに図1右に見られるように、水分が変わると水みちが著しく変わる⁶⁾。このような不均一な構造を持つ土壌不飽和帯でバイオレメディエーションを行う場合には浄化効率を上げるためには工夫が必要である。

このような土壌構造の不均一性を評価するために土壌間隙内での溶質の混合具合を見る混合置換実験(溶質移動実験)を行うことがある。これはNielsenとBiggarが最初に始めた試験方法で⁷⁾、試料上端から溶質パルスを送り排出端での濃度変化を観察すると、多孔質内での溶質拡散の様子(breakthrough curve, 破過曲線)が得られるものである^{8, 9)}(図2)。横軸を基準化するために、一般に間隙量を基準にした流量(ポア

ボリューム = 排水量/間隙量)で表す。間隙経路における混合と間隙中の速度ムラによって溶質の混合(分散)が十分に発生すれば正規分布様の形が(○)、他方、図1左のように粗大間隙の影響を受ければ、十分な混合が起こる前に溶質濃度の上昇が起こるため(移流)、上に凸のおわんをふせたような形が得られる(▲)。ところがそのような粗間隙を持つ土壌でもわずかに不飽和状態での混合置換実験を行うと●のようなほとんど人工充填土壌で得られる結果と変わらない混合(分散の卓越)が起こる。これは図1で示した水分の調整で造影される領域が著しく変化することに相当すると考えられ、粗間隙を持つ土壌であっても分散を卓越させ、溶質を土壌全体に分散させることが可能であるとわかった⁸⁾。また、飽和度を徐々に下げると-3kPaの不飽和度で分散の卓越が得られ、浸透速度に対する分散の効果が最大になった⁹⁾。不飽和土壌帯でバイオレメディエーションを行う場合、対象とする土壌汚染物質は微細間隙に捉えられていると考えられるから、もしこの分散の制御が汚染土壌に対して同様に実践されるのならば効率的な浄化が期待される。

上述の移流・分散の制御要因は、構造および水分に依存性があることが知られており^{10, 11)}、飽和より不飽和の方が分散が強くなる(図2)。そこで本研究では、一様に充填された土壌中の溶質移動について、移流・分散に水分依存性があるものと想定し、油で汚染された土壌を浄化することを考えた。本研究の目的は、地下水より上方の土壌不飽和帯において油による汚染があり、バイオレメディエーションが期待される場合、効率よく栄養塩を汚染箇所を送り届ける技術を構築することである。すなわち油汚染土壌のカラム浄化実験を行い、軟X線写真や不飽和透水係数のデータから得られた知見をもとに浸透速度を制御して、効率よく油を分解するための栄養塩の供給方法について考察した。

1. 実験の方法

1.1 試料と浸透実験の方法

実験には中国地方に広く分布するマサ土を使用した。試料土壌の保水特性を試験すると図3に示すようにわずかなサクション(0 - 3 kPa)で急激に排水がいったん進み、次いで安定した排水に至ることがわかった。すなわち粗大間隙と微細間隙に不連続性がある可能性が示唆され、栄養塩の注入において工夫をしなければ粗大間隙ばかりにそれを流すことになり、こ

図2 土壌構造に影響される破過曲線^{8, 9)}

図3 試料土壌の透水・保水特性

れが効率の低下を生み出すことが懸念される。

栄養塩の浸透速度が油浄化の効率に与える影響を調べるために、油の浄化を模した土壌カラム実験を行った。図4に示すように、直径5 cm高さ10 cmの2つの土壌カラムに5000 mg kg⁻¹の油汚染をもつ土壌を乾燥密度 1.40 g cm⁻³になるように充填した。油には工場で潤滑油として広く使用されている切削油を選択した。精製鉱物油（89-94%）などの混合油で炭素が主な成分である。一度土壌を下から飽和したのち排水させ、図4左のカラムでは不飽和浸透となるように排水チューブを垂らして3 kPaのサクションをかけ（以降不飽和カラム）、右のカラムでは飽和浸透を維持す

図4 実験装置図

表 実験に使用した栄養塩成分

成分名	%
窒素全量	5.0
水溶性リン酸	10.0
水溶性カリウム	5.0
水溶性マグネシウム	0.08
水溶性マンガン	0.002
水溶性ホウ素	0.008

・実際にはこれを500倍に希釈して使用する。

るように同様に下端に1 kPaの圧力をかけた（以降飽和カラム）。不飽和カラム、飽和カラムそれぞれについて浸透速度10⁻⁵ cm s⁻¹ また10⁻⁴ cm s⁻¹ となるフラックスをカラムの上方から与えた。両者のフラックスの違いは10倍である。予備実験を行い、30日間安定したサクション分布を得ることをあらかじめテンシオメータを使って確認した⁹⁾。

微生物活性を上げるために上表に示す栄養塩を浸透させ、土着の微生物を活性化させるバイオスティミュレーションによって汚染土壌浄化を行った。試料の下端から得られる排水を一日一回採取し、イオンクロマトグラフィー（Shimadzu, PIA-1000）で陰イオンについて分析した。実験終了後、カラムから土壌を上・中・下と約3 cm毎に取り出し、土壌の酸化還元電位を計測するとともに、土壌全量についてn-ヘキサン油抽出法で残留する油を分離し、油の浄化効率の違いを考察した。なお、バイオレメディエーションによって浄化が進んだことを確認するために、FDA加水分解活性によって微生物の活性度を計測、比較した。

1.2 FDA加水分解活性¹²⁾

FDAはフルオレセインに酢酸基が2つエステル結合してできた化合物で、これ自身は無色であるが、糸状菌、細菌、原生動物、微細藻類などが有する非特異的なエステラーゼによって加水分解されると黄緑色のフルオレセインとなる（図5）。したがって、FDAを含む緩衝液に土壌を加えて培養した後、液の吸光度を測定することでFDA分解活性が極めて簡便に測定できる。このため、FDA分解活性は土壌微生物の有機物分解活性の一指標としてしばしば用いられている。また、土壌微生物バイオマスとの相関が高いことから、今回はその指標としても用いることを考えた。

ここでは汚染土壌の浄化実験において、油汚染土壌の浄化に微生物が関与しているか確認するためにFDA加水分解活性を調べた。乾燥土壌、非汚染土壌

図5 FDA加水分解活性

に飽和浸透で栄養塩、非汚染土壤に不飽和浸透で栄養塩、汚染土壤に飽和浸透で栄養塩、汚染土壤に不飽和浸透で栄養塩を加え、それぞれ30日間浄化実験を行った後に土壤を採取して分析した。

2. 結果と考察

2.1 浸透速度の制御結果と微生物活性

図6に浸透速度の制御結果を掲載した。排水量は始めから終わりまで設定した速さを維持している。遅い浸透の方は -3kPa の不飽和浸透を、早い浸透では飽和を維持しており、実験が設定されたとおりに実施されたことを確認した。排水液のpHはおよそ6-8の間を変動し、微生物活性に適した状態を維持した。また、実験終了後の土壤の酸化還元電位はカラム上・中・下部の順に、飽和カラムが200, 208, 176mV また、不飽和カラムが200, 197, 150mVであった。

図7に実験終了後の土壤試料を用いて行ったFDA加水分解活性を示す。乾燥土壤が最も活性が低く、飽和でも不飽和でも、順に、栄養塩を供給したもの、汚染物質(炭素源)に栄養塩を供給したもの、と活性度が上がっている。飽和と不飽和は物理条件が違うので直接比較はできないが、それぞれの条件において微生物の生存にとって好条件になるに従い微生物活性が上がっており、土壤の浄化は微生物の活性によって得ら

図6 浸透速度の制御結果

図7 土壤のFDA加水分解活性

れたと考えると合理的である。なお、これは実験終了後の試料から得られた瞬間値であり、30日間を通じての活性度の大小関係を示すわけではない。

2.2 油汚染土壤の浄化効率

図8には実験終了後、試料を分解した後にn-ヘキサン油抽出法で容器に残留した油を計測した結果を示した。本実験では間隙構造や溶質移動に由来する局部的な浄化ムラの影響を受けないように土壤試料全体から油を抽出し、残留した油の量としてそれを示した。すなわちこの値が小さい方が浄化としては効果が高いことになる。図より、全ての層において、不飽和浸透をした浸透速度の遅い方が油の残留量が小さいことがわかる。なお、抽出実験の過程で $0.50 \pm 0.006\text{ g}$ の油は常にフィルターやビーカーに残留し、抽出できない部分が存在することがわかったため、浄化効率などを計

図8 土壌に残留した油の量

算する際にはこの値を考慮する必要があることを付記しておく。

一般には浄化のためには栄養塩を極力速く、多く注入の方がよいと考えられるが、ここでは全く逆の結果が得られている。すなわち効率よい油の浄化のためには、不飽和を維持して比較的ゆっくりした浸透を促す方がよいことがわかった。

2.3 栄養塩の利用効率

図9には排水液中の栄養塩濃度を示した。試料下端から得られる排水の水質を毎日分析し、濃度変化を調査した。全ての陰イオンを表示すると非常にわかりにくいので微生物活性の律速になる窒素とリンについてその結果を示した。水平に引かれた線は硝酸、リン酸それぞれの栄養塩としての原液の濃度である。

図9 排水液中の栄養塩濃度

不飽和度と浸透速度以外全て同じ条件で行った実験結果であるが得られたグラフは明らかに違うことがわかる。飽和カラムでは早い段階から栄養塩が排水液の中に観察され、実験中期には原液濃度に回復している。他方、不飽和カラムでは10日まで栄養塩が観察されない。浄化効率が飽和よりも不飽和の方がよかったことも加味して考えると、飽和では浸透させた栄養塩の大部分が使用されないまま排水されていることを示している。わずか-3kPaの違いではあるが飽和から不飽和で1/10に浸透速度が変わるので栄養塩の利用効率としては10倍近く違いがあることを示している。栄養塩は窒素、リンを含む溶液であるから地下水環境のためには極力必要最低限の量を浸透させる方がよい。また、リンが枯渇資源であることを考慮すれば経済的観点からも不飽和浸透の方が有利である。

2.4 土壌間隙構造に応じた浸透現象の制御

ここで図9の濃度変化を注視するとその上昇の傾向が飽和カラムと不飽和カラムで異なることがわかる。すなわち飽和カラムでは早い上昇を示し、不飽和カラムではゆっくりした上昇を示す。このままでは排水量が両者で10倍違い、わかりにくいので、図2で示したポアボリュームを横軸にし、イオン種ごとの違いを吸収するために濃度の代わりに排水液ECを使い、溶質全体の移動傾向が示すことを考えた。さらに破過曲線を微分して曲線形状の違いを抽出すると図10のようにグラフのトレンドが異なることが示された。飽和カラムは傾きが徐々に小さくなり、すなわち上に凸のグラフであることを示す。一方不飽和カラムは傾きが徐々に大きくなり、この部分について下に凸のグラフと

図10 破過曲線のカーブトレンド

なっていること示している。この形は先に示した図2のグラフと同じで、不飽和カラムでは溶質が十分に混合し、他方、飽和カラムでは周囲をバイパスする流れが生じていることを示している。つまり不飽和浸透の方が溶質の分散を高めており、汚染物質が潜む微細間隙に栄養塩を送り込めている。これは油の残留率において不飽和が飽和に勝る観察事実と一致する。

上記の結果が生じた理由ははじめに示した軟X線と保水性のデータから説明することが可能である。浸透速度が速いときは土壤中の粗大間隙中を栄養塩が流れてしまうため、浄化を目的としたい操作とは裏腹に、栄養塩は優先的に流れる部分しか流れていかない。一方、わずかに不飽和（ -3kPa ）にして浸透速度を低下させると、粗大間隙にはもはや栄養塩は流れず、密に詰まった土壌微細間隙にも溶質が分散ようになる。この違いは保水性を示した図3のグラフで0-3 kPaで急激に排水が進み、それ以降は徐々に排水が進むことに対応する。すなわち本研究でも土壌にわずかなサクシオン -3kPa （ $-30\text{cm H}_2\text{O}$ ）をかけて不飽和にただけであるが、大きく水みちが変わることで土壌全体に浸透を促すことになり、結果的に効果的な油の浄化に貢献したと判断できる。

おわりに

土壌を不均一なものと思えず考え方に基づいて、間隙構造や浸透速度に注目したところ、土壌の飽和度を調節することで油の浄化効率が変わることがわかった。すなわち、土壌汚染を浄化するには栄養塩を大量に速いペースで注入するのではなく、むしろ少し不飽和になるくらいのペースで少量流す方が浄化効率がよい事実が明らかとなった。これまでの成果から -3kPa 程度の不飽和浸透で溶質の分散が卓越していたが、微細間隙に潜む汚染物質を微生物分解させる目的においてもこれが有効であると考えられた。また、栄養塩は浄化に利用されなければ潜在的な汚染源になるため二次的な汚染を防ぐためにもこの方が有利である。さらに大型カラムにおいて長期実験を行い、その効果を確かめたい。

謝辞：本研究の一部は日本学術振興会科学研究費 基盤研究 (C) の支援を受けて行われた。また、FDA 加水分解活性については島根大学生物資源科学部 巢山弘介先生にご指導頂き、2004年当時専攻生であった松本祐子さんの協力を得た。種々の支援・ご助言に対し深謝いたします。

文 献

- 1) 中杉修身；知られざる土壌汚染の実態，土木学会誌，**89**，(10)，12-13，2004.
- 2) 地盤環境技術研究会；土壌汚染対策技術，日科技連，100，2003.
- 3) Natsch, A., C Keel, J Troxler, M Zala, N Von Albertini and G Defago; Importance of Preferential Flow and Soil Management in Vertical Transport of a Biocontrol Strain of *Pseudomonas fluorescens* in Structured Field Soil, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, (1), 33-40, 1996.
- 4) Mori, Y., K. Iwama, T. Maruyama, T. Mitsuno; Discriminating the influence of soil texture and management-induced changes in macropore flow using soft X-rays, *Soil Science*, **164**, 467-482, 1999.
- 5) Mori, Y., T. Maruyama and T. Mitsuno; Soft X-ray radiography of drainage patterns of structured soils, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **63**, (4), 733-740, 1999.
- 6) Mori, Y., I. Takeda and A. Fukushima.; Soft X-ray radiography of structure-induced macropore flow in clayey soils, *Clay Science for Engineering*, Balkema, Rotterdam, 297-302, 2001.
- 7) Nielsen, D.R. and J. W. Biggar; Miscible Displacement in Soils: I. Experimental Information, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **25**, (1), 1-5, 1961.
- 8) 東 直子, 森 也寸志, 武田育郎, 福島 晟; 土壌間隙の二重構造性が溶質移動に与える影響, 平成12年度農業土木学会大会講演会講演要旨集, 624-625, 2001.
- 9) Mori, Y. and N. Higashi; Controlling solute transport processes in soils by using dual-porosity characteristics of natural soils; *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.*, doi:10.1016/j.colsurfa.2009.02.009, 2009.
- 10) Toride, N., M. Inoue, F.J. Leij; Hydrodynamic dispersion in an unsaturated dune sand, *Soil Sci. Soc. of Am. J.*, **67**, 703-712, 2003.
- 11) Nutzman, G., S. Maciejewski, K. Joswig; Estimation of water saturation dependence of dispersion in unsaturated porous media: experiments and modeling analysis, *Advances in Water Resources*, **25**, 565-576, 2002.
- 12) Schnurer, J and Rosswall, T ; Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter, *Appl Environ Microbiol.*, **43**, (6), 1256-1261, 1982.

Optimizing Contaminated Soil Remediation by Controlling Nutrient Injection Rate

Yasushi MORI, Mai MATSUDA

ABSTRACT

Bio remediation is one of the ways to recover contaminated soils: it activates the microbes in soils and enhances bio-degradation processes by injecting air or nutrient solutions into contaminated soils. In this study, oil contaminated soils were remediated by injecting a nutrient solution into the soils. Effluent solution was analyzed and residual oil was extracted after the experiment in order to evaluate the remediation efficiency. Two injection rates, one using saturation and the other using unsaturation were tested to observe the saturation-induced differences in the flow regime. The resultant residual oil concentration showed that the unsaturated remediation process was more effective than saturation. This result is opposite to that of the in-situ application by the companies. The difference is most likely because dispersion was more dominant than convection, creating an effective distribution of the nutrient solution. In conclusion, the proposed remediation process and slow injection rate have advantages over the fast injection process because of its improved remediation results, lower cost and lower required nutrients, and reduced environmental impact due to lower groundwater leakage.

Key Words : Soil contamination, Bio-remediation, Convection and dispersion, Infiltration