

油汚染土壌の新バイオパイル工法の開発

ちゅらパイル工法

門 倉 伸 行・佐々木 静 郎・久 保 幹

沖縄県には37施設の米軍基地があり、今後、これら米軍基地が返還されれば、基地内で使用されていた燃料系油分（ジェット燃料，ガソリン，軽油）や機械油（潤滑油系，重油）による汚染土壌が顕在化されることが考えられ、返還された土地において汚染土壌の浄化が必要であると考えられる。

そこで、沖縄県では将来の基地移転に伴う土壌汚染浄化技術の開発をテーマにした公募事業を開始した。このような汚染土壌に対して、敷地内でバイオレメディエーションにより浄化を行えば低コストにより浄化が可能となる。本工法開発はその一環で実施した実証実験である。本報では、沖縄県内の粘土質の現地土壌を用い、石油分解菌投与のオーグメンテーションと栄養剤のみを添加するステイミュレーションの両者を行い、燃料系油や潤滑油などの異なる油種を用いて分解性能の比較を行った結果や浄化土壌を用いた植物育成実験結果について報告する。

キーワード：土壌汚染，油汚染，バイオレメディエーション，遺伝子解析，石油分解菌，沖縄

1. 実験方法

(1) バイオパイルによる油分浄化実験

本実験では、実汚染土壌の入手ができなかったため、土壌に油を添加して作成した模擬汚染土壌形成後、土壌を盛土（パイル）状に積み上げてバイオパイルを作成して浄化を進めた（図-1）。バイオパイルの設置写真を写真-1に示す。

実施した4つの実験条件を表-1に示す。模擬汚染土壌に使用した土壌と油種は、STEP1が現地の砂礫土壌とA重油，STEP2では米軍基地周辺の土壌として琉球石灰岩の風化土壌である「島尻マージ」を用い、油は基地跡地で最も多く確認されているジェット燃料を用いた。STEP3では同様に島尻マージと生分解性の低いと言われている潤滑油の基油となる「ベースオイル」を用いた。STEP4では、土壌中のC/N（投

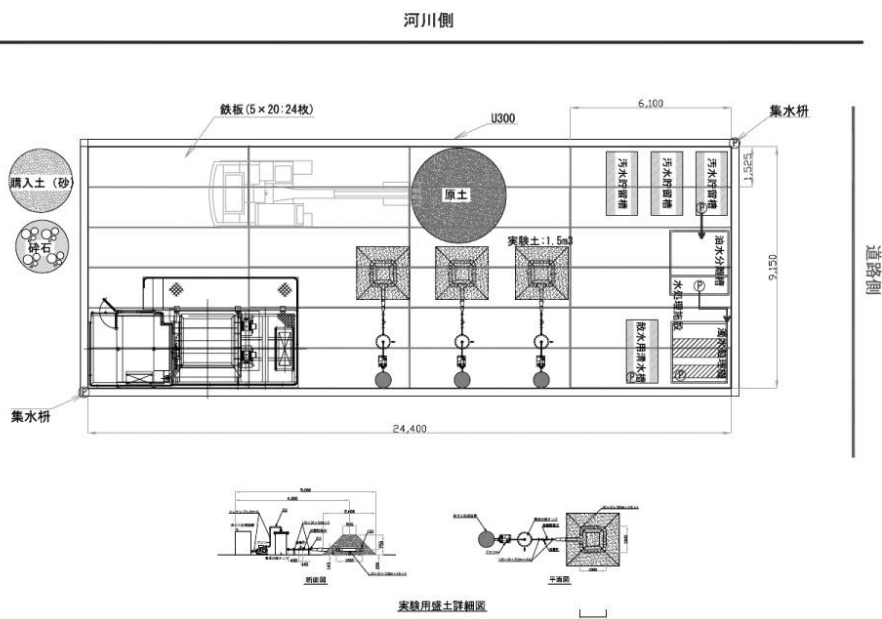


図-1 バイオパイル平面断面図



写真—1 バイオパイル写真（写真奥からパイルA, パイルB, パイルC）

表—1 バイオパイル実験条件

STEP No.※1	パイル名	投与・添加資材条件※2			模擬汚染土壌条件		備考
		石油分解菌	栄養塩	有機資材※3	土質	油種※4	
STEP1	パイルA	×	×	×	砂礫土壌	A重油	コントロール
	パイルB	×	○	○			ステイミュレーション
	パイルC	○	○	○			オーグメンテーション
STEP2	パイルA	同上			粘土質土壌 (島尻マーヅ※5)	ジェット燃料	同上
	パイルB						
	パイルC						
STEP3	パイルA	同上			粘土質土壌 (島尻マーヅ※5)	ベースオイル+ ジェット燃料	同上
	パイルB						
	パイルC						
STEP4	パイルA	同上 (C/N 調整 C/N=8 ~ 15)			粘土質土壌 (島尻マーヅ※5)	ベースオイル+ ジェット燃料	同上
	パイルB						
	パイルC						

※1 STEP1：2012年4月～同10月実施，STEP2：2012年11月～2013年2月実施
STEP3：2013年5月～2013年11月，STEP4：2013年11月～実験継続中

※2 ○：投与・添加あり ×：投与・添加なし

※3 STEP1では鶏糞堆肥，STEP2～4では牛糞堆肥をそれぞれ乾燥土壌重量比で10%添加

※4 初期油分濃度は5,000 mg/kg dry-soilに設定

※5 琉球石灰岩の風化土壌とされる

入する分解菌や栄養剤，有機資材の炭素量（C）と窒素量（N）との比率）を調整してSTEP3と同様の条件で実施した。沖縄固有の粘土質土壌である「島尻マーヅ」と種々の添加材との混練を行う際には，そのままでは適度な水分のために大塊が発生してしまったため，それを解消するために「もみがら」を混入することで解決することができた。また，堆肥などの有機資材の添加は，本工法が単なる汚染土壌の浄化に止まらず，浄化した土壌が植物の生育などにも適した良質の土壌を作り出すことを目的とした。そこで，これらの種々の資材を混合したバイオパイルによる浄化手法として，沖縄のこぼばを用いて「ちゅらパイル」工法と名付けた。

各STEPとも，パイルAが比較のためのコントロール，パイルBが栄養塩と有機資材を添加するステイミュレーション，パイルCは油分解菌と有機資材を投入するオーグメンテーションである。石油分解菌は，立命館大学が保有する，直鎖状炭化水素や長鎖環

状アルカンを唯一の炭素源として生育する石油分解菌 *Rhodococcus sp.*NDKK6株を用いた。

本菌は，立命館大学と(株)熊谷組，日工(株)とで国に申請し，「バイオレメディエーション利用指針」に適合し大臣確認を取得した¹⁾。分解菌のモニタリングには，立命館大学が開発した遺伝子解析手法により，土壌菌数は環境-DNA法²⁾，油分解菌はReal time PCR法³⁾により解析した。オーグメンテーション時の初期分解菌濃度は， 2×10^7 cells/g-soilに設定した。

実験場所は，沖縄県浦添市の南洋土建(株)資材置場で実施した。土壌の混練は，混練り装置に重量を予め定量した土壌を入れ，栄養塩や有機資材，微生物と大塊発生防止の為の「もみがら」などを投入して一定時間混練りした。なお，その後の実験により，粘性土壌の混連には，汚染土壌対策で薬剤を添加・混連するのに一般的に使用される土質改良機を使用することで大塊を発生することなく混連することがわかり，「もみがら」の投入を省略することができてコスト低減につな

がった。混練後、排出された土壌をパイル（盛土）状に養生し、パイル上部には、雨水による汚染水発生防止と臭気の拡散防止のため、透気性のある防水シートで覆った。好気性微生物保持のためのエア供給は、パイル内に予め設置した有孔管を通して空気を吸引することでパイル内に周囲の空気を取り込む吸気方式で実施した。吸引後の排気は、活性炭を充填した脱臭装置を通して油臭の拡散防止を行った。また、パイル内には、土壌中酸素濃度や温度を計測するための酸素センサーや温度センサー・水分センサーを埋め込み、連続計測を行った。パイルへの散水は、土壌表面や内部の状況および水分データをみながら、1週間に1～2回程度適宜行った。

バイオパイルの下には、油混じりの雨水の土壌浸透防止のため鉄板を敷き詰め、パイルに降った雨水を鉄板周囲に設置した側溝に集水し、水処理装置によって油水分離や沈殿処理を行った後、河川放流した。処理水は定期的に排水分析を行い、基準値以下を確認している。

(2) 植物育成実験

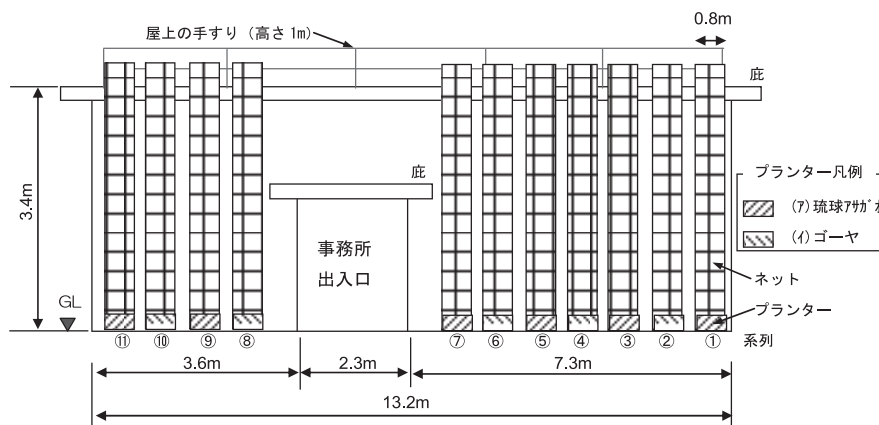
STEP2の浄化実験後の土壌を用いて、沖縄を代表する植物である琉球アサガオとゴーヤを植栽し、植物が順調に生育できるか検証を行った。供試土壌はパイルA、B、Cの浄化後の土壌、また分解菌を投入したパイルCの浄化土壌に施肥したケース、比較のために元の島尻マージ(原土壌)及び模擬油汚染土壌とし、供試土壌と植物の組み合わせで計11系列の実験を行った。表一2に実験条件を示す。平屋の事務所建物の屋外壁際の地上部(南南西に面する)にプランターを1系列に1個設置し、プランターあたり2株の植物を植えた。各プランターから屋上(高さ3.4m)にかけてネットを張り渡し、自動灌水装置を全系列に設置した。図一2に実験の概略図を示す。

植生モニタリングは、期間中外気温湿度をモニタリングし、両植物のツルの到達高さを箱尺で計測した。また、ゴーヤについてはゴーヤ中の油分濃度を分析することで土壌中の油分の影響の有無を調べた。

表一2 植生実験条件

系列No.	供試土壌	供試植物	
		(ア) 琉球アサガオ	(イ) ゴーヤ
①	模擬油汚染土壌	○	-
②	原土壌 (島尻マージ)	-	○
③		○	-
④	浄化実験後土壌 (パイルA:コントロール)	-	○
⑤		○	-
⑥	浄化実験後土壌 (パイルB:ステイミュレーション)	-	○
⑦		○	-
⑧	浄化実験後土壌 (パイルC:オーグメンテーション)	-	○
⑨		○	-
⑩	浄化実験後土壌 (パイルC:オーグメンテーション) + 肥料	-	○
⑪		○	-

- ※1 25L容プランターに琉球アサガオ、ゴーヤともに2株植栽した。
- ※2 灌水は朝と夕方の2回毎日実施。
- ※3 2013年5月24日植栽。6月21日⑩⑪に追肥,全系列摘心。8月6日全系列追肥。
- ※4 ネット:幅80cm,目合10cm



図一2 植生実験概略図 (立面図)

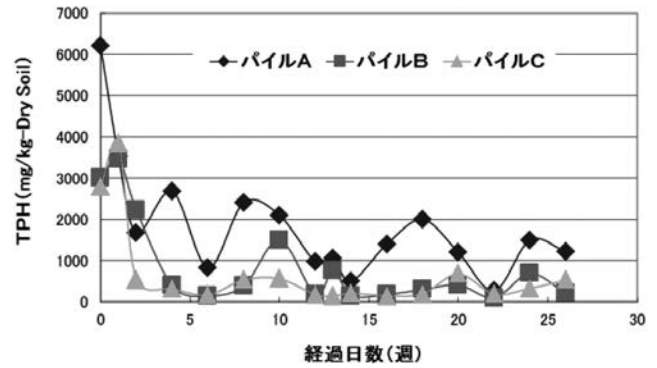
2. 実験結果

(1) 油分浄化結果

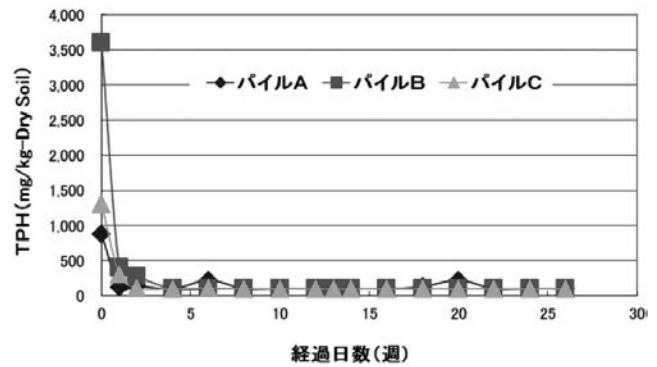
表一3に、STEP1～STEP4の浄化結果のまとめとして、各STEPの油分濃度、油膜・油臭結果を示す。また、図一3～5にSTEP1, 2, 4に対する油分濃度の経時変化、図一6, 7にSTEP1とSTEP4の石油分解菌および土着の石油分解に寄与する菌（土壤中の石油分解に寄与する遺伝子 *alkB* を保有する菌）の経時変化を示す。

その結果、油種がA重油やジェット燃料等の燃料系の油では、揮発の影響が大きく、オーグメンテーション、ステイミュレーションにかかわらず油分濃度の低減も早く、それに応じて油膜・油臭もなくなっていた。一方、潤滑油の基油となるベースオイルのケースでは、図一5を見るとバラツキはあるものの、油分濃度の低減は遅く、パイルBおよびパイルCにおいて、6週～8週目あたりから徐々にTPHが低減する傾向が見られ、17週になってパイルCにおいて、環境省の「油汚染対策ガイドライン」に規定された目標である「油膜・油臭がないレベル」が達成された。

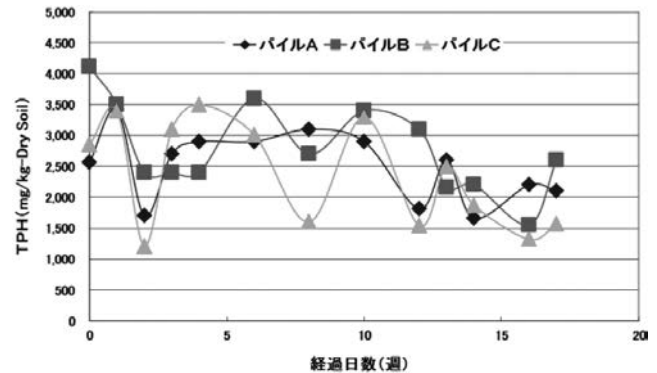
油分濃度の低減と石油分解菌および石油分解寄与菌の経時変化を比較すると、STEP1では図一6より、投与した分解菌は4週までの初期のうちに菌数は低減し、それ以降はほぼ定量下限値（ 1×10^6 cells/g-soil）以下で推移した。一方、石油分解寄与菌数は特にステイミュレーションのパイルBおよびオーグメンテーションのパイルCとも2週目以降で菌数が高く、これらのことから油分の低減は初期では分解菌の影響が高く、それ以降は土壤中の石油分解寄与菌の効果で分解が進んだものと考えられる。STEP4では、



図一3 油分濃度の経時変化 (STEP1)



図一4 油分濃度の経時変化 (STEP2)



図一5 油分濃度の経時変化 (STEP4)

表一3 浄化結果のまとめ

STEP No. ※1	パイル名	投与・添加資材条件※2			模擬汚染土壌条件		備考	油分濃度・油膜・油臭分析結果			
		石油分解菌	栄養塩	有機資材※3	土質	油種※4		油分濃度 (mg/kg)	油膜	油臭	達成時期
STEP1	パイルA	×	×	×	砂礫土壌	A重油	コントロール ステイミュレーション オーグメンテーション	970	有	1	12週目
	パイルB	×	○	○				170	有	1	
	パイルC	○	○	○				180	無	0	
STEP2	パイルA	同上			粘土質土壌 (島尻マージ※5)	ジェット燃料	同上	100	有	1	8週目
	パイルB							100	有	0	
	パイルC							100	無	0	
STEP3	パイルA	同上			粘土質土壌 (島尻マージ※5)	ベースオイル+ジェット燃料	同上	2,180	有	1	18週目
	パイルB							1,310	無	1	
	パイルC							1,050	無	0	
STEP4	パイルA	同上 (C/N調整: C/N=8~15)			粘土質土壌 (島尻マージ※5)	ベースオイル+ジェット燃料	同上	2,100	無	0	17週目
	パイルB							2,600	無	0	
	パイルC							1,570	無	0	

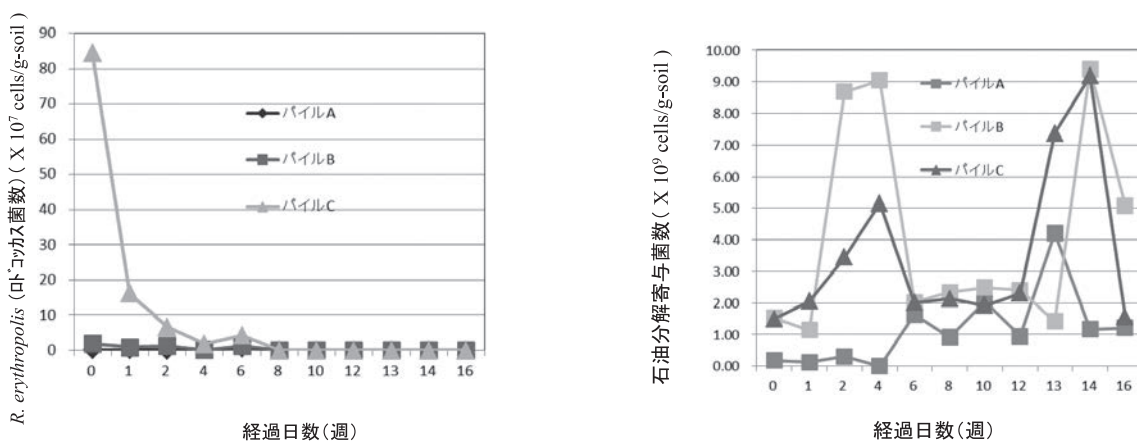
※1 STEP1: 2012年4月～同10月実施、STEP2: 2012年11月～2013年2月実施
STEP3: 2013年5月～2013年11月、STEP4: 2013年11月～2014年3月12日

※2 ○: 投与・添加あり ×: 投与・添加なし

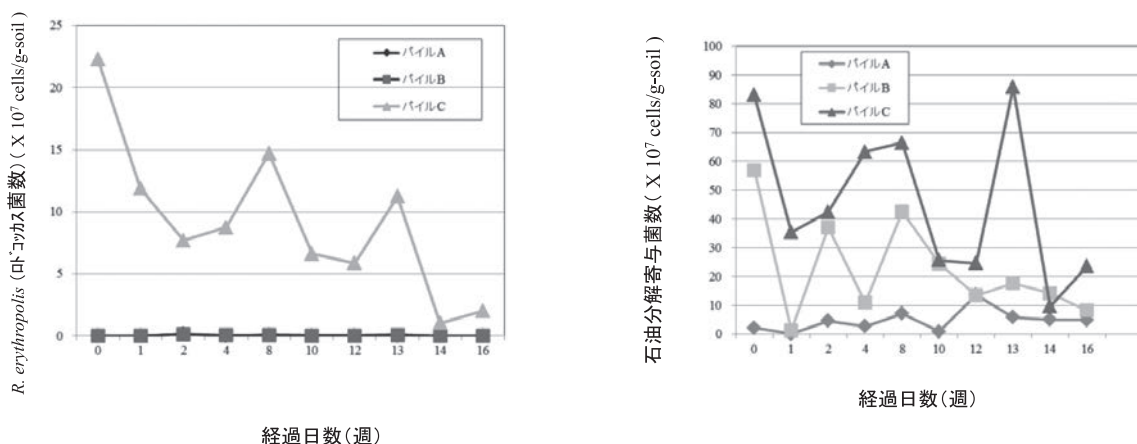
※3 STEP1では鶏糞堆肥、STEP2～4では牛糞堆肥をそれぞれ乾燥土壌重量比で10%添加

※4 初期油分濃度は5,000 mg/kg dry-soilに設定

※5 琉球石灰岩の風化土壌とされる



図一六 石油分解菌および石油分解寄与菌数経時変化 (STEP1)



図一七 石油分解菌および石油分解寄与菌数経時変化 (STEP4)

図一七より分解菌数はSTEP1のような急激な低減を示すことなく、13週程度まで比較的高い菌数を保持していた。石油分解寄与菌数は、特にパイルB、Cにおいて高い菌数保持が示されていた。STEP4では、ベースオイルという比較的分解性の低い油を使用したため、油分濃度の低減もA重油やジェット燃料のように短い浄化期間での油分分解は進まなかったが、図一五を見る限りではスティミュレーションよりは分解菌投与したオーギュメンテーションの方がより早く、より高い浄化性能を示しており、潤滑油等のより高沸点成分の多い重油汚染に対しては、やはり栄養剤投与だけのスティミュレーションよりオーギュメンテーションの効果が発揮されると考えられる。

(2) 植物育成実験結果

図一八に全系列の植生実験途中での植物生長推移写真を示す。なお、実験期間中の外気温はおおむね20～37℃、相対湿度は40～100%の範囲で推移し高温多湿環境であった。

図一九に植物の生長高さ、表一四にはゴーヤ中の油分濃度分析結果をまとめた。植物の生長は、琉球ア

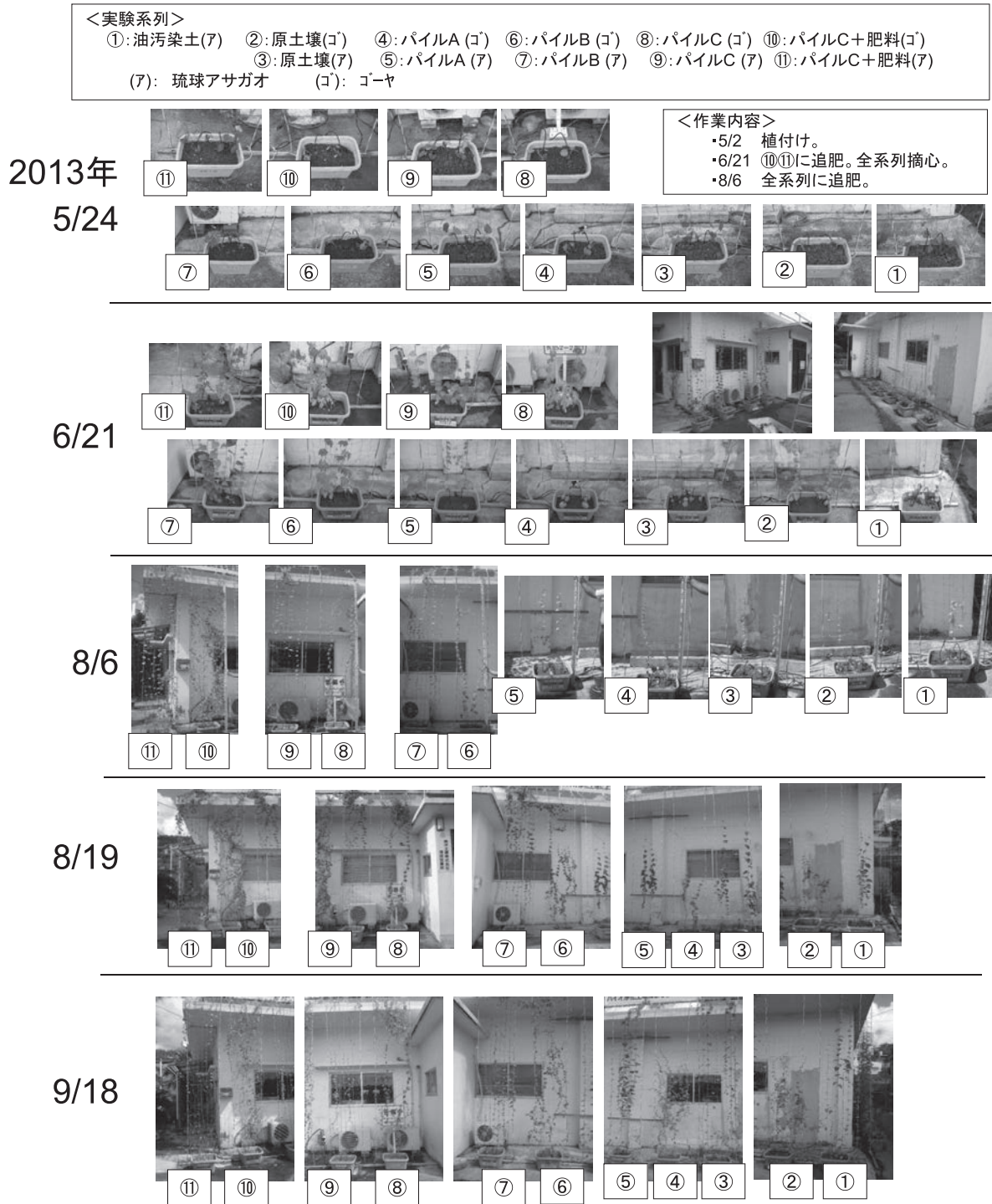
サガオでは、油汚染土壌の生長が最も遅く、次いで遅い方から順に、原土壌、パイルA、パイルC(肥料あり)、パイルC、パイルBの順であった(図一九左)。

ゴーヤでは、原土壌とパイルAの生長が遅く、植付け後の早い段階からパイルB、Cの成長が著しく良かった(図一九右)。表一四より、ゴーヤの実の油分濃度は市販品でも油分濃度に大きなばらつきがあり、浄化土壌で生長したゴーヤは市販品や島尻マージだけの原土壌と比較しても植物中の油分が極端に高い値を示すことはなく、同程度の値であった。

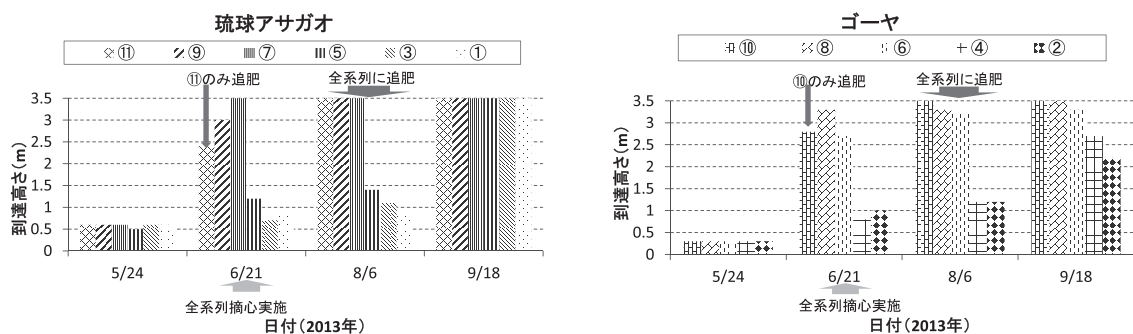
3. まとめおよび今後の方針

以上、沖縄の現地土壌に燃料系のA重油やジェット燃料のほか、生分解性の低いといわれるベースオイルを添加した模擬油汚染土壌により、バイオパイル工法で油分の浄化実験を行った結果、下記のことが判明した。

- ①燃料系の油による模擬汚染土壌では、揮発効果とともに、油分の微生物分解により初期から油分濃度の低下が確認され、8週から12週程度で油膜・



図—8 植物の生長推移



図—9 植物の生長到達高さ (左:琉球アサガオ 右:ゴーヤ)

表-4 ゴーヤ中の油分濃度分析結果

	試料	試料採取日 ^{※1}	油分濃度 ^{※2} (mg/kg-wet ゴーヤ)
清浄土	市販品のゴーヤ	8月15日 10月18日	240 470～580
	原土壌で育てたゴーヤ	9月23日	210, 520
浄化土壌	パイルAで育てたゴーヤ	9月23日	300
	パイルBで育てたゴーヤ	8月29日 9月23日	700 370
		パイルC ^{※3} で育てたゴーヤ	8月15日 8月29日 9月23日

※1 2013年

※2 実を粉碎後、溶媒 (HORIBA H997) 抽出し、油分濃度計 (IR法) で計測した

※3 パイルC+肥料も含めた

油臭のないレベルまでの浄化がなされていた。

- ②生分解性が低いと言われる潤滑油の基油となるベースオイル添加のケースでは、STEP3での浄化性能が当初の予想よりも時間がかかったため、土壌中のC/Nを調整して再実験を行った。その結果17週で油分濃度1,500 mg/kg程度までの低減が達成され、油膜・油臭なしのレベルまでの浄化が達成された。
- ③また、これらの浄化が投入した石油分解菌や土着の石油分解寄与菌の効果であることも菌の解析などから明らかとなった。
- ④ジェット燃料汚染土を浄化した土壌を用いて、浄化土壌が植生の基盤土壌として問題が生じないか試験を進めた結果、「ゴーヤ」の実もなり、琉球アサガオの生長も順調であった。

以上、これまでの実験により、基地跡地で想定される油汚染に関しては、燃料系油や潤滑油等、油種が異なっても石油分解菌の投入や土着の石油分解寄与菌などを活性化させることで微生物分解ができることが証明された。また、浄化後の土壌を用い、植物などの育成に対しても問題を与えないことも検証された。

今後は、今回実施してきたような模擬的な土壌ではなく、実汚染土壌を用いた浄化の確認や実サイトでの浄化効果などを実施していきたいと考えている。

謝辞

なお、本研究は沖縄県の公募事業「微生物等を活用した汚染土壌の浄化処理技術開発事業」の一環で実施したものであり、ここに沖縄県の担当者ならびに評価委員の先生方に感謝の意を表します。



【参考文献】

- 1) 門倉伸行・佐々木静郎 (2011)：原位置バイオ土壌浄化システム — バイオレメディエーション利用指針にもとづく石油分解菌安全性評価について大臣確認取得—, 環境浄化技術, pp18-24
- 2) H.Aoshima, A.Kimura, A.Shibutani, C.Okada, Y.Matsumiya, M.Kubo (2006)：Evaluation of soil bacterial biomass using environmental DNA extracted by slow-stirring method, Appl. Microbiol. Biotechnol. 71.875-880
- 3) 立命館大学・株式会社熊谷組・星和電機株式会社 (2009)：原位置オプト・バイオ土壌浄化システム, 2006-2008年度 NEDO 大学発事業創生実用化開発事業性報告書
- 4) 金城和哉・仲村 紳・門倉伸行・佐々木静郎・村田 均・川口博史 (2014)：沖縄県内土壌を用いた模擬汚染土壌のバイオ処理における油種の違いによる浄化, 第20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 pp311-314
- 5) 門倉伸行・佐々木静郎・土路生修三・村上順也・金城和哉・村田 均・松宮芳樹・久保 幹 (2013)：沖縄現地土壌を用いた模擬汚染土壌のバイオパイル実証実験, 第48回地盤工学研究発表会, pp.1074-1075
- 6) 村上順也・金城和哉・門倉伸行・佐々木静郎・土路生修三・久保 幹 (2014)：沖縄県内土壌を用いた模擬汚染土壌のバイオ処理効果とバイオ処理土壌の植物への影響, 第20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 pp417-421

【筆者紹介】



門倉 伸行 (かどくら のぶゆき)
 (株)熊谷組
 技術研究所
 技術部長



佐々木 静郎 (ささき しずお)
 (株)熊谷組
 技術研究所
 地球環境研究グループ部長



久保 幹 (くぼ もとき)
 立命館大学
 生命科学部副学部長
 生命科学部生物工学科 教授