

VOCs 汚染地盤の原位置嫌気バイオ浄化技術の開発 - 微生物栄養剤クロロクリン®の室内試験による浄化性能評価 -

四本瑞世 緒方浩基
久保博 新村亮

In-situ Soil Treatment For Anaerobic Bioremediation of VOCs Contamination - Remediation Efficiency Evaluation of "Chloroclean" by Laboratory Test -

Mizuyo Yotsumoto Hiroki Ogata
Hiroshi Kubo Akira Shimmura

Abstract

This paper describes a fundamental evaluation of "Chloroclean", which is injected into the ground to stimulate microorganisms for in-situ treatment using anaerobic bioremediation of volatile organic compounds. Chloroclean is a kind of food additive, so it very safe. Its water solubility is high and the solution is a colorless, transparent liquid, which, because of its low viscosity, rapidly permeates the ground. When Chloroclean is added to the soil, it rapidly degrades, adopting an anaerobic condition that provides hydrogen, which facilitates microbial degradation of volatile organic compounds. The enhancement of chlorinated hydrocarbon biodegradation by Chloroclean was tested using contaminated samples. The volatile organic compounds were dechlorinated completely within two or three months. *Dehalococcoides* species were then detected in the sample, thus confirming that the dechlorination bacteria could be increased by addition of Chloroclean. Dechlorination of PCE and TCE was achieved in the process of denitrification, manganese reduction and iron reduction, and dechlorination of *cis*DCE was achieved in the process of sulfate reduction.

概要

VOCs 汚染地盤の原位置嫌気バイオ浄化における、当社で開発した地盤注入資材「クロロクリン」について、室内試験により以下の知見を得た。

クロロクリンは、食品添加物であるため安全性が高い。水への溶解性が高く、無色・無臭の為、取り扱い易い。粘性が低いため、地盤に浸透しやすい特徴をもつ。土壌中では、速やかに分解され、嫌気雰囲気となり、有機塩素化合物の分解に必要な水素生成環境を造り出す。実汚染サンプルを用いた浄化試験において、有機塩素化合物は、2~3ヶ月で完全に分解（脱塩素化）された。また、同サンプルで、有機塩素化合物分解菌である *Dehalococcoides* 属細菌が増殖したことを確認した。有機塩素化合物の分解過程について、PCE及びTCEの *cis*DCE への脱塩素化は、硝酸還元からマンガン・鉄還元のプロセス、*cis*DCEのVCへの脱塩素化は、硫酸還元のプロセスで起こることが室内試験より認められた。

1. はじめに

テトラクロロエチレン（PCE）、トリクロロエチレン（TCE）などの揮発性有機塩素化合物（以下、VOC）は、ドライクリーニングや電子部品の洗浄剤、溶剤として使用されていた。一般的に、水より比重が重く粘性が低い為、汚染は地中深くに浸透する。そして、地下水の流れにより拡散・希釈され、汚染範囲が深部に広域にわたる場合がある。広範囲の汚染土壌・地下水を浄化するには、掘削すると多大な費用を必要とするため、原位置浄化が望まれる。原位置浄化技術を用いることができれば、稼働中の工場等での対策も可能となる。

原位置浄化には、物理・化学的浄化と生物的浄化（バ

イオ浄化）がある。バイオ浄化は、低コストで、環境への負荷が比較的小さい為、適用される事例が増加している。原位置嫌気バイオ浄化は、地盤中に生息する嫌気分解微生物を増殖・活性化させることで、汚染物質を分解、無害化する工法である。分解微生物を活性化させる為に、栄養剤を注入する。我が国でも数種の栄養剤が市販されている。本工法の浄化費用は、栄養剤費の占める割合が比較的高いケースが多い。

そこで、原位置嫌気バイオ浄化をより低コストで行う為、独自の栄養剤「クロロクリン」を開発した。

本報では、クロロクリンの特徴、及び室内試験を中心とした浄化性能について述べる。

2. クロロクリン

クロロクリンは、カルボン酸塩を主剤として、微生物の増殖に必要な窒素やリンを添加したものであり、白色の結晶性粉末である (Photo 1)。主剤は食品添加物である為、極めて安全である。

物性をTable 1に示すが、水に易溶解性であり、液性は無色透明 (Photo 1)、無臭である。クロロクリン溶解液のpHは6.8~7.2と中性であり、粘性が低い。

市販されている栄養剤 (水素供給剤、水素供与体など)の中には、資材そのものが色を呈しているもの、液質が透明でないものがある。また、溶解性が低い、溶解液が酸性を示す、粘性が高といった性質のものがある。

これに対して、クロロクリンは上記性状より、非常に取り扱いやすく、地盤に浸透しやすいことが特徴である。

次に、クロロクリンによる原位置嫌気バイオ浄化の施工方法であるが、Fig. 1に示すように、汚染地盤に注水井戸と揚水井戸を設け、注水井戸から、クロロクリンを注入し、分解微生物を増殖・活性化させる。

地盤に添加されたクロロクリンは、嫌氣的に分解される過程で、水素が発生する。地盤に生息する嫌気性分解微生物の働きによって、VOCの塩素は水素に置き換わる。VOCは、Fig. 2に示すように、PCEからTCE、ジクロロエチレン (DCE)、塩化ビニル (VC)へと順次塩素が水素に置き換わり (還元的脱塩素化され)、最終的には、塩素を持たない無害なエチレンに分解される¹⁾。

3. クロロクリンの水素供給メカニズム試験

3.1 概要

先に述べたように、VOCは、嫌気微生物により、塩素と水素が置き換わることで分解される為、クロロクリンを添加することで、素早く地盤中が嫌気状態となり、水素を発生する環境を創造させることが重要である。水素は、クロロクリンが嫌気分解する過程で、有機酸と共に生成されるものである。

そこで、ここでは、クロロクリン添加による有機酸生成過程、すなわち水素供給メカニズム把握試験について述べる。

3.2 試験方法

100ml容褐色ねじ口瓶に、50gの砂質粘性土とクロロクリン0.3%溶解液100mlを添加し、ヘッドスペースを窒素ガスで置換した。次にテフロンコーティングしたセプタムつきの蓋で密閉後、上下転倒し全体を混合した。25℃恒温室で静置培養し、経時的に、有機酸、酸化還元電位 (ORP)、水溶性有機炭素量 (TOC)、水中に溶存している炭酸ガス量の分析を行った。

有機酸の分析は、高速液体クロマトグラフ、水溶性有機炭素量と炭酸ガス量は、TOC分析装置にて行った。



Photo 1 クロロクリン (左: 外観, 右: 溶解液) Chloroclean (Left: Appearance, Right: Solution)

Table 1 クロロクリンの物性 Properties of Chloroclean

成分	食品添加物を主剤とし、窒素、リンを添加したもの
性状	白色の結晶性粉末
比重	1.789
溶解度	59g / 100ml (25℃)
液性	無色透明、低粘性、無臭
pH(0.5%液)	7.56

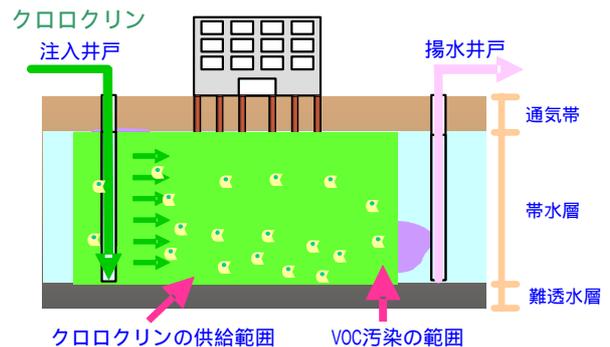


Fig. 1 原位置嫌気バイオ浄化工法の例 Model of In-situ Treatment Using Anaerobic Bioremediation

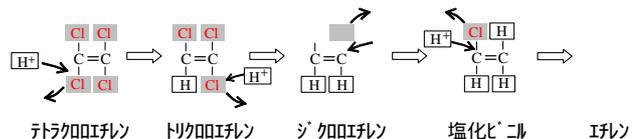


Fig. 2 嫌気微生物によるVOCsの分解経路 Reductive Dechlorination of VOCs

3.3 試験結果

本試験は、ヘッドスペースを窒素置換している為、嫌気状態への移行は、非常に早いものである。Fig. 3に有機酸濃度の変化、Fig. 4に、ORP、TOC量と炭酸ガス量の変化を示した。

Fig. 3より、試験開始14日後には、クロロクリン由来の有機酸はほぼ検出下限値以下 (10mg/l) となり、炭素数4の酪酸、炭素数3のプロピオン酸、炭素数2の酢酸が検出された。酪酸は、12mg/lと低濃度であり、30日後には検出下限値以下であった。プロピオン酸は、14日~30日後にかけて、100mg/l以上と比較的高い濃度、それ以

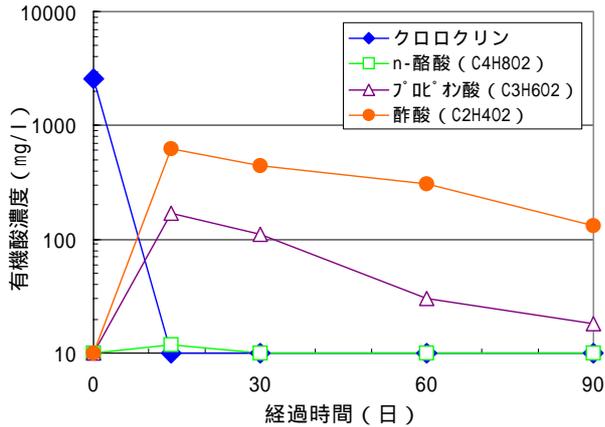


Fig. 3 有機酸濃度の変化
Variation of Volatile Fatty Acids

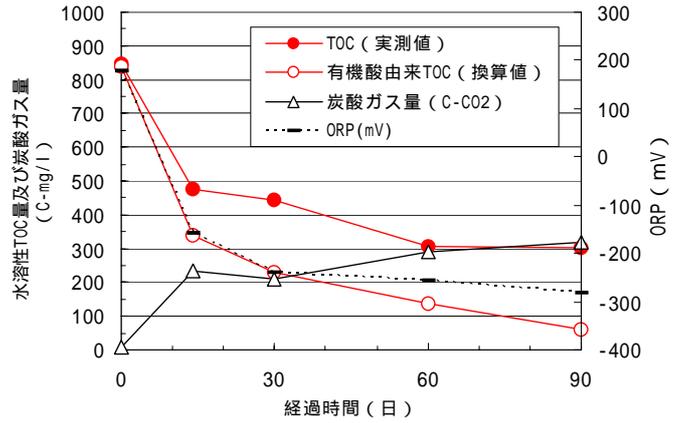


Fig. 4 ORPおよびTOC量と炭酸ガス量の変化
Variation of ORP, TOC and CO₂

Table 2 供試サンプルの性状
Characterization of soil and Groundwater

サンプル			A (PCE汚染。TCE, <i>cis</i> -1,2-DCEが検出される。)		B (TCE汚染。 <i>cis</i> -1,2-DCEが検出される。)		C (TCE汚染。 <i>cis</i> -1,2-DCEが検出される。濃度はTCEよりも高い。)	
			地下水	土(GL-8m) 細粒分質礫質砂	地下水	土(GL-4m) 粘土混じり砂礫	地下水	土(GL-8.5m) 礫混じりの細砂
VOCs (土の値は溶出量を示す)	PCE	mg/l	0.548	9.780	<0.005	<0.013	<0.005	<0.005
	TCE		0.528	0.200	2.778	<0.013	0.214	<0.005
	<i>cis</i> -1,2-DCE		3.167	1.330	0.469	<0.013	12.281	<0.005
理化学性	pH	-	6.65	7.12	6.28	6.87	6.45	6.46
	EC	dS/m	0.60	0.03	0.19	0.03	0.34	0.03
	酸化還元電位	mV	114	-	494	-	220	-
	溶存酸素	mg/l	2.56	-	8.7	-	7.7	-
	硝酸態窒素	mg/l	<0.25	-	3.58	-	<0.25	-
	硫酸イオン	mg/l	36.8	-	6.33	-	7.49	-
	塩素イオン	mg/l	54.7	-	88.8	-	22.5	-
	有機炭素量	mg/l	5.47	0.66%	2.01	0.27%	2.86	1.00%
	全鉄	mg/l	360	-	-	-	30	-
	マンガン	mg/l	2.5	-	-	-	0.3	-

降は経時的に減少した。プロピオン酸の分解生成物である酢酸は、検出された有機酸の中では一番濃度が高く、90日後においても100mg/l以上検出されたが、経時的に減少傾向を示した。

次に、嫌気状態の目安である酸化還元電位(ORP)は、Fig. 4より、14日後、塩化銀電極直読値で-160mVと急激に下がり、それ以降も低下した。90日後においても-280mVの値を示し、試験期間を通して嫌気状態にあった。

また、クロロクリン分解の目安となるTOC量及び炭酸ガス発生量について、試験経過に伴いTOC量は減少し、それと共に、炭酸ガス量は上昇した。両者共に、14日後までの傾きと、それ以降の傾きでは、前者の方が大きいことから、試験開始後、ボトル内に残存していた酸素は速やかに消費され、好気から嫌気状態に移行したと考えられる。また、嫌気条件下においても、TOCは経時的に減少し、それに伴い炭酸ガス量も上昇していることから、クロロクリンの嫌気分解も継続して行われたと考えられる。

クロロクリンの分解は、有機物の分解過程²⁾によれば、まず、好気微生物の呼吸により、好気分解され、酸素が消失し、嫌気状態となる。次に、酸生成細菌と総称

される極めて多様な細菌によって、プロピオン酸や酪酸などの揮発性脂肪酸と水素、炭酸ガスに分解される(酸生成過程)。そして、揮発性脂肪酸は、水素生成酢酸生成細菌らによって、水素生成を伴って酢酸へと分解される(水素生成酢酸生成過程)。酢酸は、酢酸酸化細菌によって水素、炭酸ガスへの分解されたり、メタン生成菌によってメタンと炭酸ガスに変換されると推測される。

Fig. 3のプロピオン酸及び酢酸濃度の変化から、クロロクリン添加後、水素生成酢酸生成反応は、迅速にそして継続的に行われることが室内試験より認められた。

以上より、クロロクリンは、土壤中で速やかに分解され、それに伴い嫌気雰囲気となり、迅速に有機塩素化合物の分解に必要な水素生成環境を造り出すことがわかった。

4. クロロクリンのVOC分解浄化試験

4.1 概要

3章より、クロロクリンには、VOC分解に必要な嫌気状態の形成能力が十分にあることを確認した。そこで、ここでは、クロロクリン添加により、実際にVOCが分解されるかを確認するため、実汚染サンプルを用いた室内浄

化試験について述べる。

4.2 試験方法

実汚染サイトより入手したサンプル3種類(A~C)を用いて、VOC分解浄化試験を実施した。Table 2に、実汚染サンプルの性状を示した。

試験系は、3.2と同様であり、実サンプルA~Cそれぞれについて、現地土50gと地下水100mlを投入後、クロロクリンを添加して25℃静置培養し、経時的に各種分析を行った。VOCの分析は、ヘッドスペースガスサンプルをガラスシリンジで採取後、ガスクロマトグラフ(DELCD検出器)にて分析した。それ以外に、pH、硫酸イオン、硝酸態窒素の分析を実施した。硫酸イオン、硝酸態窒素の分析はイオンクロマトグラフにて行った。

分解微生物の検出試験は、*cis*-1,2-DCEや塩化ビニルを分解できる嫌気性菌*Dehalococcoides*属細菌特異な16SrDNAを標的としたPCR法により、試験開始時及び試験終了時の両サンプルを用いて試験した。

4.3 試験結果

4.3.1 クロロクリン添加によるVOCの分解 Fig. 5に、実汚染サンプルA~Cにおけるクロロクリン添加によるVOCの分解浄化試験の結果を示した。

これより、サンプルAでは、PCE及びTCEは、7日後に検出下限値以下となり(試験開始1日後にPCEが減少し、TCEが上昇するが、3日後にはTCEも減少し*cis*-1,2-DCEが上昇する)、TCEの分解生成物である*cis*-1,2-DCEが上昇した。試験開始30日後には、*cis*-1,2-DCE濃度が低下し、その分解生成物であるVC濃度が上昇した。70日後には、*cis*-1,2-DCE、VCともに検出下限値となり、完全に分解された。

サンプルBでは、TCEは試験開始14日後まで、大きな変化は認められなかったが、30日後には検出下限値にまで分解され、*cis*-1,2-DCEが上昇した。60日後に、*cis*-1,2-DCEは検出下限値にまで分解され、VCが上昇した。VCも90日後には低下した。

サンプルCでは、TCEの分解は比較的遅く、70日後に検出下限値以下となった。*cis*-1,2-DCE濃度の低下は70日後まで認められなかったが、その分解生成物であるVC濃度が70日後に大きく上昇した。90日後には、*cis*-1,2-DCE、VCともに検出下限値となり、完全に分解された。以上より、汚染サンプルによって、VOCの分解速度は異なるが、クロロクリン添加により、Fig. 2に示されるようなPCE、TCE、*cis*-1,2-DCE、VCの脱塩素化反応が確認され、2~3ヶ月後に、VOCは完全に分解された。

次に、VOC分解菌である*Dehalococcoides*属菌の検出試験の結果をTable 3に示した。分解菌が検出された場合は、検出されなかった場合を×で示した。これより、サンプルAでは、適用性試験の前後に問わず、分解菌が検出された。サンプルB及びCでは、初期サンプルで分解菌は検出されなかったが、適用性試験実施後のサンプル(*cis*-1,2-DCE分解後のサンプル)で分解菌が検出され

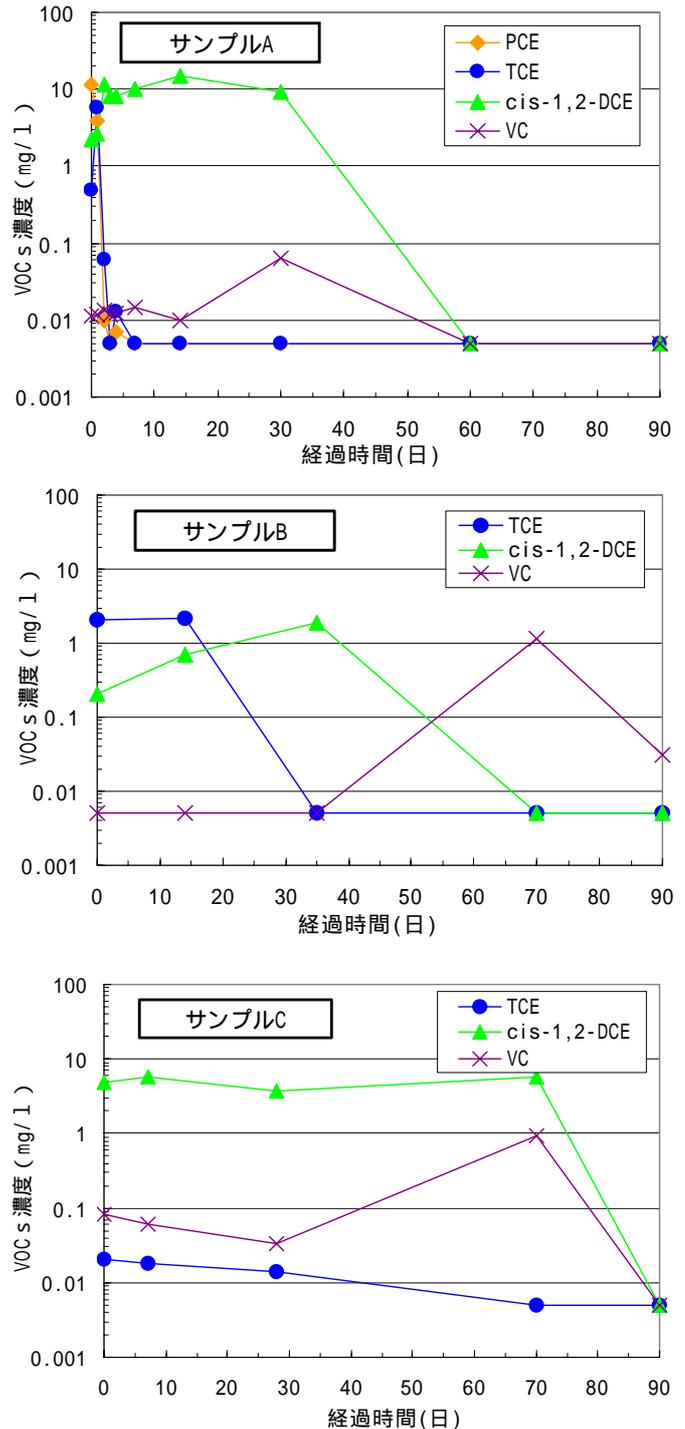


Fig.5 クロロクリン添加によるVOCの分解
Dehalogenation of Chlorinated Hydrocarbon by Addition of Chloroclean

た。サンプルAと、BおよびCで結果が異なったのは、分解菌数と検出感度が影響していると考えられる。すなわち、サンプルAには、もともと分解菌が多く存在していたと考えられ、クロロクリン添加により、更に分解菌が増殖、VOCの分解が促進された。

一方、サンプルB及びCには、土着の分解菌が存在したものの、その数は非常に少なく、クロロクリンを添加することにより、分解菌が増殖し、VOCを分解したと考え

Table 3 分解菌 (*Dehalococcoides*属細菌) 検出試験結果
Qualitative Detection of *Dehalococcoides* spp.

サンプル	A		B		C	
	初期	試験60日後	初期	試験60日後	初期	試験90日後
<i>Dehalococcoides</i> 属細菌の検出			×		×	

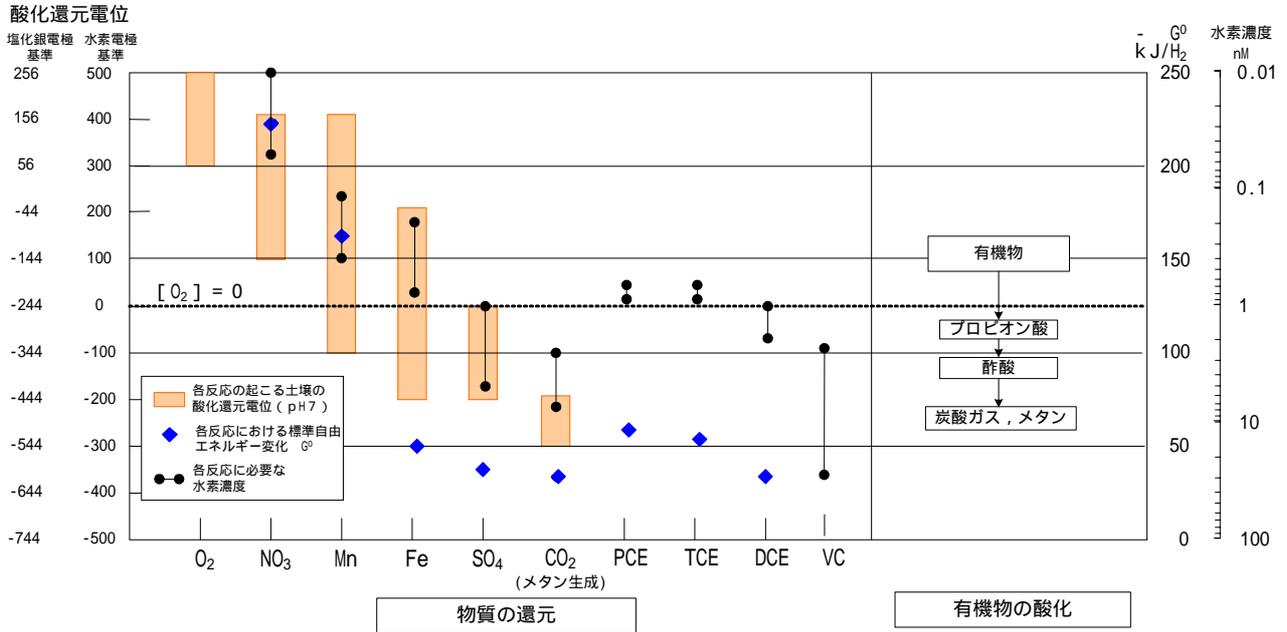


Fig. 6 有機物の酸化と物質の還元反応³⁾⁴⁾
Oxidation of Organic Matter and Redox Processes of Various Electron Acceptors

られる。

以上より、クロロクリン添加によるVOC分解浄化能について、実汚染サンプルを用いて試験したところ、試験開始2~3ヶ月で、VOCは完全に分解(脱塩素化)された。分解後のサンプルでは、*Dehalococcoides*属細菌が検出された為、クロロクリン添加により、VOC分解菌が増殖したと考えられた。

4.3.2 VOCの分解過程と土壤還元物質との関係

(1) 既往文献によるVOCの分解過程と土壤還元物質との関係について クロロクリン添加によるVOCの嫌氣的脱塩素化反応は、クロロクリンの酸化と、VOCの還元、すなわち酸化還元反応によって起こる。還元されるものは、VOCだけでなく、地盤中に存在する他の還元物質、具体的には、土壤及び地下水中の酸素や硝酸、マンガン、鉄、硫酸、炭酸ガスがある。基本的には、各物質の還元は、酸化還元電位の大きなもの、もしくは、標準自由エネルギー変化 (G°) の大きなものから順に起こるため、酸素の消失(好気性菌の酸素呼吸)硝酸の消失(半嫌氣的分解過程における硝酸還元)マンガン・鉄の還元 硫酸還元 メタン生成の順となる。

VOCの脱塩素化が、これら物質の還元プロセスのどの段階で起こるかは、Luら³⁾やVogelら⁴⁾によって研究されており、それらをまとめたものをFig. 6に示した。これより、PCE及びTCEの脱塩素化は硝酸還元からマンガン・鉄還元のプロセス、DCEの脱塩素化は硫酸還元のプロセス、

塩化ビニルの脱塩素化はメタン生成のプロセスと平行して起こると考えられている。

(2) 室内試験によるVOCの分解過程と土壤還元物質との関係について 今回の試験結果(サンプルA及びB)を、上記観点を踏まえて考察する。Fig. 7及びFig. 8に、サンプルA, Bそれぞれにおける各VOCの濃度変化、酸化還元電位(ORP)、硝酸、硫酸濃度の変化を示した。

Fig. 7より、サンプルAにおけるORP(塩化銀直読値)は、試験開始時で80mV、7日後以降、-250から-300mVで推移した。硝酸態窒素は初期から検出下限値以下であった。硫酸イオンは開始時に約50mg/l存在したが、7日後には17.8mg/lに低下、14日後には検出下限値以下となった。すなわち、PCE及びTCEの脱塩素化後、硫酸還元が起こった。硫酸還元が終了後、塩化ビニルが30日後に検出されると同時に、*cis*-1,2-DCEが減少し始め、60日後には、*cis*-1,2-DCE、塩化ビニル共に検出下限値以下となった。

サンプルB(Fig. 8)では、ORP(塩化銀直読値)が、試験開始時164mVであったが、14日後に-156mV、30日後に-250mVとなった。サンプルAと比較するとORPの低下速度はゆっくりである。

まず、硝酸態窒素は、開始時4.5mg/l存在したが、14日後には検出下限値となり、硝酸還元が起こった。その後 TCEが脱塩素化され、*cis*-1,2-DCEが上昇した。硫酸イオンは、14日後まで変化がなかったが、TCEの脱塩素化

後、低下し始め、30日後に1.4mg/lにまで低下し、60日後には検出下限値となった。*cis*-1,2-DCEは、硫酸還元が終了後、塩化ビニルに脱塩素化された。塩化ビニルも90日後には大きく減少した。

すなわち、PCE及びTCEの*cis*DCEへの脱塩素化は硝酸還元のプロセスに、*cis*DCEのVCへの脱塩素化は硫酸還元のプロセスに起こっており、Fig. 6を裏付けるものとなった。

以上より、VOCの嫌気微生物による脱塩素化が現在のレベルにあるか、すなわち、脱塩素化状況について、PCEやTCE、DCEやVCの濃度だけでなく、酸化還元電位や硝酸や鉄、硫酸の経時的な変化をモニタリングすることにより、推測することができることがわかった。一方で、酸素や硝酸、鉄、硫酸といった物質が還元されるのにもクロロクリンが消費されており、これらを考慮してクロロクリンの添加量を決めることが重要である。

5. まとめ

VOCs汚染地盤の原位置嫌気バイオ浄化における、当社で開発した地盤注入資材「クロロクリン」について、室内試験により以下の知見を得た。

- 1) クロロクリンは食品添加物であるため、安全性が高い。水への溶解性が高く、無色・無臭の為、取り扱い易い。また、粘性が低い為地盤に浸透しやすい特徴をもつ。土壌中では、速やかに分解され、嫌気雰囲気のもとで、VOC分解に必要な水素生成環境を造り出す。
- 2) 実サンプルを用いたVOC浄化試験では、試験開始2～3ヶ月で、有機塩素化合物は完全に分解（脱塩素化）された。VOC分解菌である*Dehalococcoides*属細菌が検出され、クロロクリンの添加により、分解菌が増殖したことを確認した。
- 3) 有機塩素化合物の分解過程について、PCE及びTCEの*cis*DCEへの脱塩素化は硝酸還元からマンガン・鉄還元のプロセス、*cis*DCEのVCへの脱塩素化は硫酸還元のプロセスで起こることが、室内試験により認められた。

参考文献

1) Vogel, T.M. et al.: biotransformation of tetrachloroethylene to trichloroethylene,

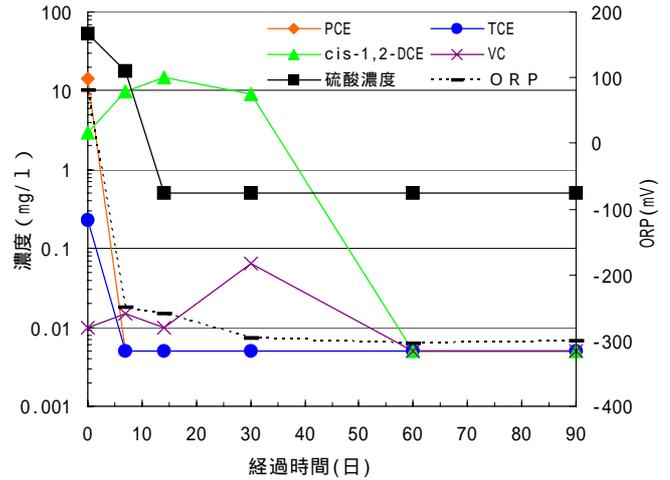


Fig. 7 実汚染サンプルAにおける試験結果
Result of the Treatability Test (Sample A)

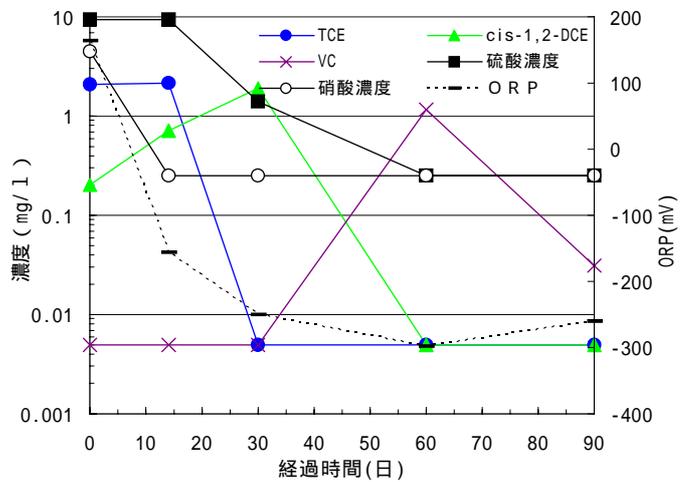


Fig. 8 実汚染サンプルBにおける試験結果
Result of the Treatability Test (Sample B)

dichloroethylene, vinyl chloride, and carbon dioxide under methanogenic conditions, *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, pp.1080-1083, 1985

2) 嫌気微生物学, 養賢堂, pp.18, 1993.

3) Lu X-X, Tao S et al.: Characteristic Hydrogen Concentrations for Various Redox processes in batch Study, *J. Environ. Sci. Health.*, 36, pp1725-1734, 2001

4) Vogel, T.M. et al.: Transformation of Halogenated Aliphatic Compounds, *Environ. Sci. Tech.*, 21, pp.722-736, 1987