

# 超高濃度 VOCs 汚染土の原位置嫌気バイオ分解技術の開発

緒方 浩基 四本 瑞世

## Development of In-Situ Anaerobic Bioremediation for Soil Contaminated with high concentrations of VOCs

Hiroki Ogata Mizuyo Yotsumoto

### Abstract

Chloroclean has been developed to enhance anaerobic bioremediation at a site contaminated by volatile organic compounds (VOCs). VOCs penetrate the ground and accumulate in clayey soil to extremely high concentrations (more than 100mg/L) because of their heavier density and low viscosity of VOCs. In the case of such high concentrations, anaerobic bioremediation method cannot be applied to the contaminated soil. Therefore, for the anaerobic bioremediation of VOCs in highly contaminated soils, we developed a new technology. Bacteria capable of dehalogenating VOCs that exist in the soil are cultured in large amounts in situ. Then, they are concentrated via absorption by wood charcoal, following which they are mixed in the deep layer of soil contaminated with high concentrations of VOCs. Wood charcoal not only serves as a good habitat for the dehalogenating bacteria absorbed on it, but also reduces the VOCs concentration in groundwater, enabling the bacteria to grow well.

### 概要

大林組は、揮発性有機化合物 (VOCs) 汚染地盤原位置嫌気バイオレメディエーション用の栄養材として、クロロクリン®を開発し、浄化工事を行ってきた。しかし、VOCs は比重が水より重く浸透性が高いため、VOCs 原液が地下に浸透し、深い粘性土層に VOCs が超高濃度 (100mg/L 以上) に蓄積している場合があり、原位置嫌気バイオの適用が困難であった。そこで、超高濃度 VOCs 汚染においても嫌気バイオレメディエーションが適用できるよう、現地盤の VOCs 分解菌をオンサイトで大量培養し、さらに、培養した大量の VOCs 分解菌を木炭に集菌した後に、長期持続型の栄養材とともに、超高濃度 VOCs 汚染範囲に深層混合する技術を開発した。木炭は VOCs 分解菌を高濃度に集菌、濃縮する働きとともに、良好な生育場所となり、かつ、地下水中の VOCs 濃度を VOCs 分解菌が活動できる濃度に低減する効果もあわせもっている。

## 1. はじめに

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テトラクロロエチレン (以下、PCE)、トリクロロエチレン (以下、TCE) などの揮発性有機化合物 (以下、VOCs) による土壌、地下水汚染サイトに、栄養材を注入し、現地の嫌気性微生物を活性化させ、VOCs を分解する原位置嫌気バイオレメディエーションの適用事例が多く報告されている。大林組も食品添加物を主材とした安価な独自の栄養材「クロロクリン®」を開発し、原位置嫌気バイオレメディエーションによる浄化工事に適用してきた<sup>1)</sup>。

しかし、一方で、VOCs 汚染源では VOCs 原液が地下深く浸透し、粘性土層に蓄積している例が多く報告されている。この 100mg/L を超える超高濃度 VOCs 汚染には VOCs 分解菌が生育できず、嫌気バイオレメディエーションは適用できないと考えられてきた。しかし、掘削除去には、多額の費用がかかり経済的に適用が困難である。そこで、従来技術よりも安価にこの超高濃度 VOCs 汚染を浄化できる原位置嫌気バイオレメディエーション技術

を開発した。この浄化技術は次の 3 つの技術を組み合わせることにより実現可能となった。

- 1) VOCs 分解菌が存在しない超高濃度 VOCs 汚染土へ現地の VOCs 分解菌を添加するためのオンサイト VOCs 分解菌大量培養技術
- 2) 超高濃度 VOCs 汚染土に大量の VOCs 分解菌を集中的に添加するため、培養した VOCs 分解菌を木炭に集菌し、濃縮する技術 (木炭は、VOCs 分解菌の良好な生育場所となり、地下水中の VOCs 濃度低減の効果もあわせ持つ)
- 3) 長期持続型栄養材添加による VOCs 微生物分解の長期間の持続

本報では、各構成技術に関して述べるとともに、各構成技術の室内評価試験結果を述べる。

## 2. 超高濃度 VOCs 汚染嫌気バイオ分解技術

### 2.1 VOCs 汚染形態

VOCs は比重が水より重く、粘性が小さいため、地中深く浸透し、粘性土に溜まって蓄積する。この汚染形態

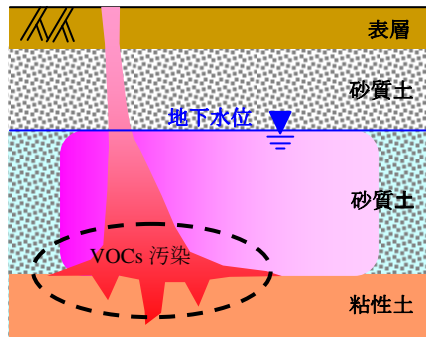


Fig. 1 VOCs 汚染形態  
Illustration of VOCs Contamination

の概念図を Fig. 1 に示す。

砂質土の VOCs は地下水等により希釈、拡散されるため、濃度が低下していくが、粘性土に浸透した VOCs は地下水により希釈、拡散されないために、長年、超高濃度の VOCs 汚染が維持されていることが多い。

この超高濃度 VOCs 汚染を原位置で微生物分解するために必要な要素技術を次に述べる。

## 2.2 VOCs オンサイト培養

VOCs 微生物分解は VOCs 濃度として 100mg/L 程度が適用限界と考えられてきた。すなわち、VOCs 原液が存在する 100mg/L を大きく超える超高濃度汚染範囲には VOCs 分解菌が存在する可能性は極めて低くなる。このため、この超高濃度 VOCs 汚染の周辺に広がる低濃度 VOCs 汚染地盤に存在する VOCs 分解菌をオンサイトで培養し、超高濃度汚染範囲に添加することで、VOCs 微生物分解が可能となる。

## 2.3 VOCs 分解菌の集菌、濃縮

超高濃度 VOCs 汚染地盤では、VOCs 分解菌の増殖はかなり遅延されると考えられるため、当該地盤に添加する際の初期の VOCs 分解菌数をできるだけ多くすることが重要である。しかし、分解菌のオンサイト培養では、 $10^7$  個/mL 程度が限界<sup>2)</sup>であるため、さらに多くの分解菌を注入するには、分解菌液の容積を大幅に濃縮する必要がある。

この VOCs 分解菌の容積を濃縮するための材料として、微生物の生育場所としても良好な木炭が適していると考えられる<sup>3)</sup>。分解菌培養液を、木炭を用いてろ過することにより、分解菌を木炭に集菌、濃縮することができる。

## 2.4 現場適用方法の概要

次に超高濃度 VOCs 汚染嫌気バイオ分解技術の現場適用する際のシステムを以下に述べ、システムの概要図を Fig. 2 に示す。

VOCs 分解菌が生息している地下水を揚水し、地上に設置した複数の大型培養タンクに貯める。ここに栄養材

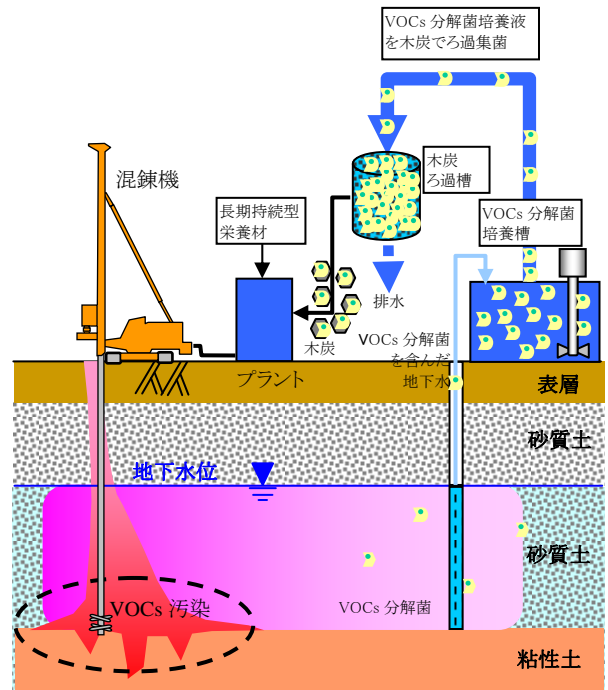


Fig. 2 現場適用方法の概要  
Outline of Field Applications

として、クロロクリンを重量比 0.1~0.5% となるように添加する。分解菌が増殖し、培養液中の VOCs 分解が完了した後に、この分解菌培養液を木炭充填ろ過槽に通水させ、分解菌を木炭に集菌、濃縮する。ろ過した地下水は、排水処理する。

次に、分解菌を集菌した木炭と、長期持続型栄養材および、木炭と栄養材が分離しないように増粘材等を混合し、混練機によりこれらを地盤中で攪拌混合する。

## 3. VOCs 分解菌オンサイト培養

### 3.1 VOCs 分解菌の培養条件の検討

3.1.1 目的 VOCs の中で主要な汚染物質である PCE や TCE 等の塩素化エチレンをエチレンにまで無害化できる主要な分解菌である *Dehalococcoides* 属細菌<sup>2)</sup> を効率的に大量培養するため、栄養材の種類や添加濃度、種菌液 (培養の基となる分解菌液) の添加割合等の培養条件の最適化を行った。

### 3.1.2 栄養材の選抜試験

(1) 供試栄養材 クロロクリン、乳酸、メタノール、エタノールの 4 つの栄養材を評価した。

(2) 試験方法 100mL 容メジウム瓶に VOCs 汚染サイトから採取した地下水 100mL を添加し、同じく某所から採取した地下水を基に培養した VOCs 分解菌液 (主として *Dehalococcoides* 属細菌液) を 10mL 添加し、還元剤として、硫化ナトリウムを 50mg 添加した。また、VOCs として、シス-1,2-ジクロロエチレン (以下、cis-DCE) を約 10mg/L となるように添加し、各栄養材を

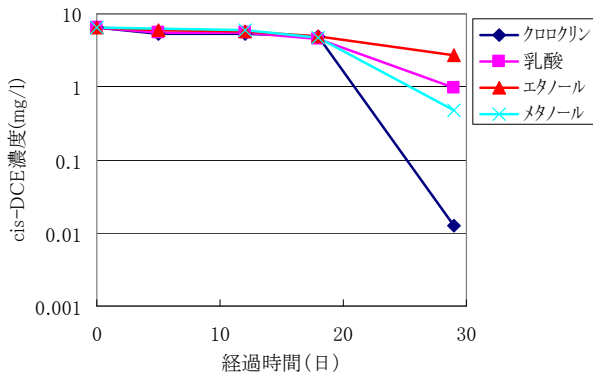


Fig. 3 栄養材選抜試験結果  
Results of Nutrient Screening Test

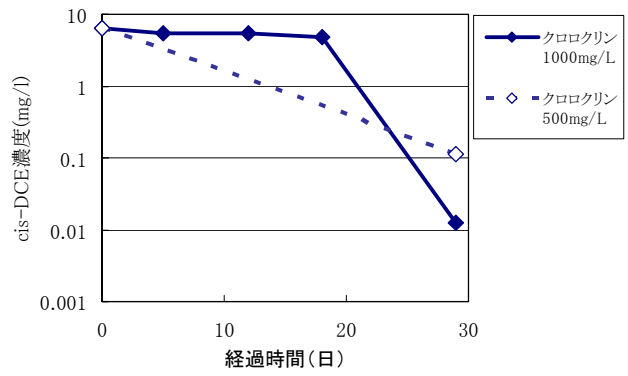


Fig. 4 栄養材の最適濃度評価試験結果  
Results of Concentration Test of Nutrient

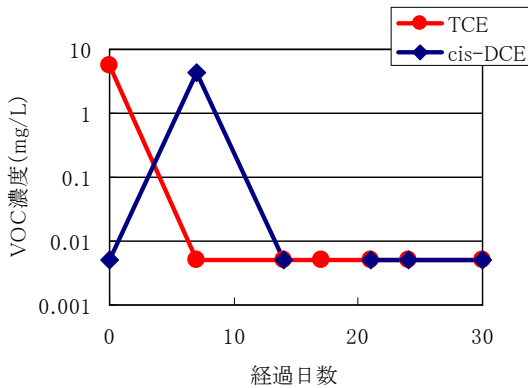


Fig. 5 種菌液 10%添加区における VOCs 濃度変化  
VOCs Concentration with 10% culture addition

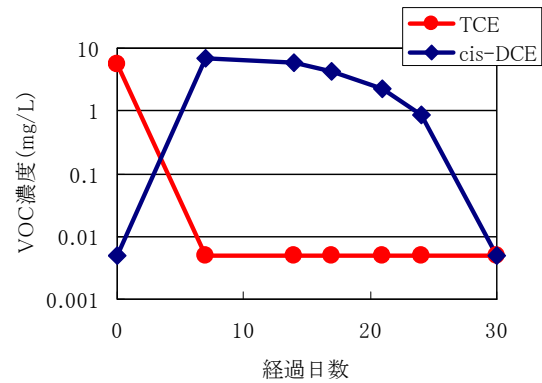


Fig. 6 種菌液 1%添加区における VOCs 濃度変化  
VOCs Concentration with 1% culture addition

1000mg/L となるように添加した。

(3) 試験結果 試験結果を Fig. 3 に示す。クロロクリン添加区で cis-DCE の分解が一番早く、VOCs 分解菌液培養のための栄養材としてクロロクリンが適していることが確認された。

### 3.1.3 栄養材の濃度評価試験

(1) 試験方法 クロロクリンを用いて 3.1.2 と同様に VOCs 分解菌の培養に適した栄養材濃度の試験を行った。クロロクリン濃度として 500mg/L と 1000mg/L の 2 種類の濃度で試験を行った。

(2) 試験結果 試験結果を Fig. 4 に示す。cis-DCE の分解は、500mg/L より 1000mg/L の方が早い結果となり、栄養材の濃度として、現場適用には 1000mg/L が適していると判断した。

### 3.1.4 種菌液の割合評価試験

(1) 種菌液濃度 VOCs 分解菌液培養の元となる種菌液の添加割合を、全体の 10% と 1% を評価することとした。

(2) 試験方法 5L 容試験薬瓶に、某所地下水を 4.5L もしくは 5L 投入し、クロロクリンを 1000mg/L、種菌液を 500ml (10%) もしくは、50ml (1%) 添加し、TCE を 10mg/l (原液を 50 $\mu$ l) になるよう添加後、25°C で静置培養した。

(3) 試験結果 試験結果を Fig. 5, Fig. 6 に示す。10%種菌液添加区は、cis-DCE を約 2 週間で分解できた。一方、1%種菌液添加区は cis-DCE 分解に約 1 ヶ月を要した。上記試験結果より、現場での VOCs 分解菌の培養を考えた場合、培養液を種菌液の 100 倍に培養するのに、種培養液 1% を 1 ヶ月培養しても、種培養液 10% を 2 週間ずつ 2 回、計 1 ヶ月培養しても培養時間は同じであるが、施工手間は 10% 培養液を 2 回培養する方が多くなる。しかし、現場は室内試験よりも空気等の侵入等が考えられ、培養条件が悪くなることが考えられる。このように培養条件が悪化すると、種菌液の割合が少ない程大きな影響を受けるため、種菌液を 10% とした方がより安定的、継続的に VOCs 分解菌液を作成することができると考えられる。よって、種菌液の添加割合を 10% とすることが望ましいと判断した。

### 3.2 VOCs 分解菌の植え継ぎ培養の課題

3.2.1 VOCs 分解菌植え継ぎ培養の困難な地下水 地下水を培養し、培養液の一部を種菌液として、新たな地下水に添加し培養する植え継ぎ培養を行っていくと、次第に、VOCs 分解期間が短くなっていく傾向にあった。一例として、TCE を添加して、5 回植え継ぎ培養試験を行った試験の各培養期間中に cis-DCE が分解するまでの日数を Fig. 7 に示す。

一方で、地下水によっては、植え継ぎ培養を継続していくことで、次第に、VOCs 分解が遅延していくケースがあった。この一例として、Fig 7 と同様の試験を行った結果を Fig. 8 に示す。5 回目の植え継ぎ培養で cis-DCE の分解がかなり遅延しており、cis-DCE の主要な分解菌である *Dehalococcoides* 属細菌<sup>2)</sup> の増殖が遅延したためと考えられた。

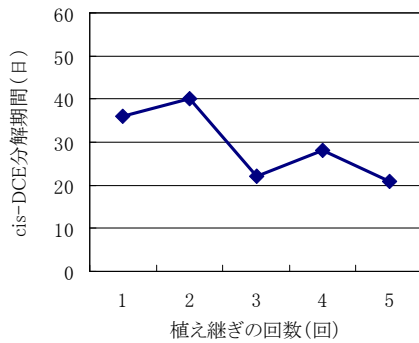


Fig. 7 良好な植え継ぎ培養試験の VOCs 分解期間  
Time Period of VOCs degradation in good passage culture

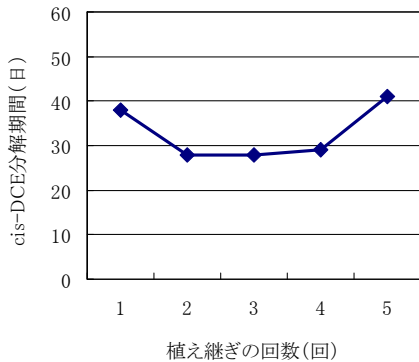


Fig. 8 問題のある植え継ぎ培養試験の VOCs 分解期間  
Time Period of VOCs degradation in defective passage culture

3.2.2 考察 VOCs 分解菌液の培養が徐々に遅延してしまっ原因として、植え継ぎ培養を繰り返すことにより、VOCs 分解菌の活動に必要な共生微生物が培養に伴って減少してしまい、VOCs 分解菌が活動できる十分な還元状態にならないことが考えられた。

### 3.3 VOCs 分解菌培養の促進方法

3.3.1 促進方法に関して VOCs 分解菌の活動に必要な共生微生物の減少を補完するために、微生物が多く存在する土壌から微生物を抽出した液を添加する方法が有効と考えられた。そこで、土壌抽出液添加試験を実施した。

3.3.2 試験方法 100mL メジューム瓶に地下水 90mL, 5 回植え継ぎ培養した分解菌液を 10mL 添加した。クロロクリンを 1000mg/L となるように添加し、pH 調整剤として、炭酸水素ナトリウムを 400mg/L 加えて、初期の pH を、7.5~8 に調整した。TCE が 10mg/L となるよう、TCE 飽和液 (1000mg/L) を 500μL 添加した。これを 25°C で静置養生した。VOCs のヘッドスペースガス分析を行い、VOCs の経時変化を確認した。

土壌抽出液として園芸用の黒土を用いた。黒土抽出液の作成は、200mL 容共栓付き三角フラスコに、20g の黒土と 100mL の地下水を添加し、攪拌子を入れて、マグネチックスターラーで 25°C、4 時間連続して攪拌することにより行った。土壌抽出液の添加量 1mL とした。

3.3.3 試験結果 5 回植え継ぎ培養液単独試験区の VOCs 分解試験結果を Fig. 9 に、5 回植え継ぎ培養液に黒土懸濁液を添加した試験区の VOCs 分解試験結果を Fig. 10 に示す。

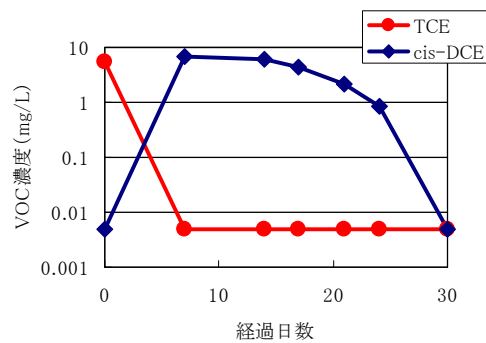


Fig. 9 植え継ぎ培養液単独区の VOCs 濃度変化  
VOCs Concentration in passage culture only

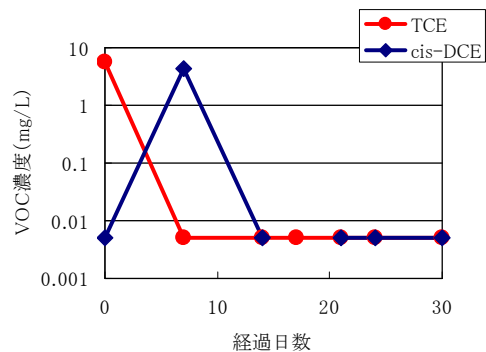


Fig. 10 黒土懸濁液添加区の VOCs 濃度変化  
VOCs Concentration in passage culture with andsol turbid water

培養液単独の試験区では、cis-DCE 分解までに 40 日以上要しているのに対し、黒土懸濁液添加区では、cis-DCE 分解が約 20 日と半分であった。これより、黒土懸濁液添加により、VOCs 分解菌の増殖速度が速くなることが確認され、黒土懸濁液中の微生物が有効に働いたと考えられた。

なお、現場に適用する際には、現場で採取可能な微生物が多く存在する表土等を用いることで、ほとんど費用をかけずに土壤抽出液を作成することができると考えられる。

#### 4. VOCs 分解菌の集菌方法

##### 4.1 概要

培養した VOCs 分解菌培養液を、木炭充填槽にゆっくりと通過させることで、木炭に VOCs 分解菌を吸着、集菌し、分解菌培養液の体積をかなり低減させることができる。これにより、高濃度 VOCs 汚染土に大量の分解菌を深層混合することが可能となる。

##### 4.2 VOCs 分解菌の集菌試験

**4.2.1 試験方法** 使用する木炭は、細かく粉砕して、0.43mm アンダーとした。この粉砕した木炭 4g を、プラスチックのシリンジに詰めた。次に、あらかじめ培養した VOCs 分解菌 (*Dehalococcoides* 属細菌) 培養液 (200mL, 1000mL) をテトラバックに充填し、木炭を充填したシリンジに通液させ、木炭に分解菌を吸着させた。試験は 4 連で実施した。*Dehalococcoides* 属細菌の定量は、リアルタイム PCR 法により測定した<sup>2)</sup>。

**4.2.2 試験結果** 試験結果を Table 1 に示す。集菌率は、通過前の培養液中の *Dehalococcoides* 属細菌数と通過後の *Dehalococcoides* 細菌数の差により計算した。通過液量が 200mL の場合はほぼ 100% 集菌することができたが、通過液量が 1000mL となると、集菌率は約 50% 程度と減少した。

Table 1 VOCs 分解菌木炭集菌試験  
Results of VOCs Dehalogenater filtrated by wood charcoal

VOCs分解菌 培養液 通過量	集菌率(%)				
	No.1	No.2	No.3	No.4	平均
200mL	99%	92%	99%	98%	96%
1000mL	53%	44%	50%	49%	48%

木炭の体積は 4g で約 4cm<sup>3</sup> であるため、200mL の培養液中のほぼ全ての VOCs 分解菌が木炭に吸着したため、培養液の体積を約 1/50 に低減することができたと考えられる。一方、1000mL の培養液は、VOCs 分解菌の 50% が木炭に吸着したことより、500mL の培養液中の VOCs 分解菌が木炭に吸着したとすることができ、この場合、

培養液の体積を約 1/120 以下にすることができたと考えられる。

なお、現場適用では、木炭を通過したろ液中に VOCs 分解菌が大量に残留することは非効率であるので、木炭の体積の 50 倍の VOCs 分解菌液をろ過させることとする。

### 5. 高濃度 VOCs 微生物分解試験

#### 5.1 目的

VOCs 分解菌液を木炭に集菌し、長期持続型栄養材とともに添加することで、通常 VOCs 分解が困難と考えられる約 500mg/L の高濃度 TCE を分解できるかを評価した。

#### 5.2 試験方法

100mL メジューム瓶に某所から採取した粘性土を 50g (湿土) 添加し、さらに、土壤微生物源として園芸用黒土 1g を添加した。次に、TCE 飽和液 (約 1000mg/L) を 80mL 添加した。また、0.1~0.6g の TCE 原液を、試験液中の TCE 濃度を測定しながら添加し、液中の初期の TCE 濃度が、500~700mg/L になるようにした。続いて、VOCs 分解菌液 (*Dehalococcoides* 属細菌) を 10mL のみ添加した区、分解菌液 (10mL) にさらに木炭 4g を添加した区、木炭に分解菌液 (200mL) を通過させ、分解菌液を木炭ろ過集菌した区の 3 種類の試験区を設けた。

また、超高濃度 VOCs の微生物分解には長時間を要するため、長期持続型栄養材として、大林組開発の乳化植物油<sup>4)</sup> “クロロクリン L” を 0.9mL 添加した。さらに、高濃度 VOCs は、微生物にとってかなり過酷な環境であるため、微生物増殖促進のためにアミノ酸源となる材料 (10% 溶液) 0.5mL を添加するとともに、pH 緩衝剤である炭酸水素ナトリウム (5% 溶液) を 5mL 添加した。

#### 5.3 試験結果

Fig. 12~14 に試験結果を示す。木炭添加せずに VOCs 分解菌液 (10mL) 添加のみの試験区の結果を Fig. 12、多くの分解菌液 (50mL) を添加し、さらに木炭を添加した試験区を Fig. 13 に、VOCs 分解菌液 (200mL) を木炭ろ過により集菌して添加した試験区を Fig. 14 に示す。木炭の添加や、VOCs 分解菌液の増加に伴い、TCE から cis-DCE への分解が促進されていることが試験結果より明らかになった。特に、Fig. 13 と Fig. 14 は木炭の添加量は同量であり、Fig. 14 がろ過により、VOCs 分解菌を集菌したことによる違いのみである。すなわち、木炭ろ過による VOCs 分解菌の集菌により VOCs 分解菌を大量添加できたことが、VOCs 分解に非常に有効であったことを示していた。一般的に、VOCs 微生物分解の、VOCs 適用限界濃度は 100mg/L 程度といわれているが、その濃度を大きく超過する VOCs 原液が存在するような超高濃度 VOCs 汚染に対しても、複数の技術を組み合わせることで VOCs 微生物分解が可能となることが分かった。

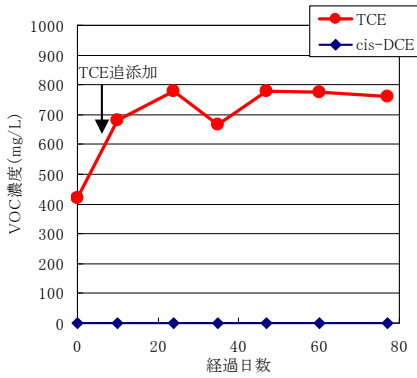


Fig. 12 高濃度 VOCs 分解試験①  
(培養液 10mL 木炭無し)

High Concentration VOCs degradation Test ① (with 10mL culture, without wood charcoal)

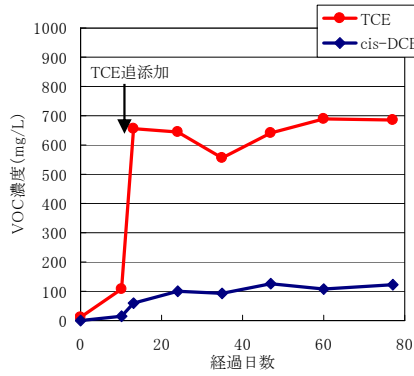


Fig. 13 高濃度 VOCs 分解試験②  
(培養液 50mL 木炭有り)

High Concentration VOCs degradation Test ② (with 50mL culture and wood charcoal)

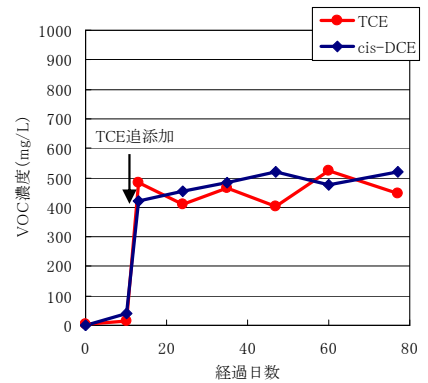


Fig. 14 高濃度 VOCs 分解試験③  
(培養液 200mL 木炭集菌有り)

High Concentration VOCs degradation Test ③ (with 200mL culture filtrated by wood charcoal)

## 6. まとめ

超高濃度 VOCs 汚染粘性土に対する原位置嫌気バイオ分解技術として、オンサイト VOCs 分解菌大量培養技術と、VOCs 分解菌液の木炭によるろ過・集菌技術における室内試験により以下のことが明らかとなった。

- 1) VOCs 分解菌増殖には、クロロクリンが適しており、濃度は 0.1% が最適であった。
- 2) VOCs 分解菌液を植え継いで増殖させる場合は、種菌液として 10% 程度添加することが望ましい。
- 3) 地下水によっては、植え継ぎ培養できないケースがあり、その場合は、微生物が多く存在する黒土等の抽出液を少量添加することで良好な植え継ぎ培養が可能となる。
- 4) 木炭を用いて VOCs 分解菌を集菌して濃縮した場合、分解菌液の体積を 1/50~1/100 程度低減することが可能である。これにより、VOCs 原液が存在するような環境下でも VOCs 分解をすることができる。

- 5) 超高濃度 VOCs 汚染の微生物分解は長期間持続させることが必要である。これには、大林組開発の乳化植物油を主体としたクロロクリン L が適している。

## 参考文献

- 1) 四本瑞世, 他: VOCs 汚染地盤の原位置バイオ浄化工事におけるクロロクリンの適用, 大林組技術研究所報, No.71, (2007)
- 2) 四本瑞世, 他: DNA 解析手法を用いた VOCs 分解微生物の検出および特性評価, 大林組技術研究所報, No.73, (2009)
- 3) 高木和広, 吉岡祐一, 岩崎昭夫, 原田直樹: 複合微生物系集積木質炭化素材を用いた農薬汚染の原位置バイオレメディエーション, 資源環境対策, 41(6), 79-85 (2005)
- 4) 緒方浩基, 他: VOCs 汚染地盤の原位置嫌気バイオ浄化用徐放性栄養材の開発, 第 16 回地下水・土壤汚染とその防止対策に関する研究集会, (2010)