

Title	メタンとトリクロロエチレン(TCE)の競争阻害を基に した土壌カラム試験の解析と地下水循環法への適用に 関する研究
Author(s)	北川,政美
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1933
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

メタンとトリクロロエチレン(TCE)の 競争阻害を基にした土壌カラム試験の 解析と地下水循環法への適用に関する 研究

# 2004年6月

北川 政美

緒言1	
第1章 メタン資化性細菌による TCE 分解に関する研究動向4	
1-1. 微生物分解の研究開発の動向と実証試験事例4	
(1) 海外の動向4	
(2) 国内での実証試験	
1-2. TCE 共代謝分解の特徴	
1-3. 共代謝分解に関するモデル式10	
(1) モデル式	
(2) 各パラメータの値12	
1-4. まとめ	
第2章 共代謝分解のモデル式17	
2-1. 反応項のモデル式	
(1) 分解微生物	
(2) メタンの分解	
(3) 酸素の消費19	
(4) TCE の分解	
(5) 分解微生物の増殖	
2-2. 溶質の移動方程式	-
(1) メタン	L
(2) TCE	
(3) 分解微生物	L
2-3. まとめ	
2-4. 記号一覧	}
第3章 密閉バイアル試験における TCE 分解の解析	c
3-1. 解析法	Ļ
3-2. 単離菌体の TCE 分解容量測定時のパラメータ	;
<ol> <li>TCE 分解容量の試験方法と結果</li></ol>	;
(2) 解析法とシミュレーション結果	7
3-3. メタン集積培養体の分解パラメータ	3
(1) メタンが共存しない系での TCE 分解	3
(2) メタン、TCE 共存系のメタン消費	1
(3) メタン、TCE 共存系での TCE 分解	3
3-4. まとめ	5
第4章 土壌カラム試験における微生物分解の解析	3

目次

4-1. バッチカラム試験の解析	36
(1) 計算法	37
(2) 初期微生物量、吸着パラメータ値	
(3) 瞬時平衡吸着と非平衡吸着シミュレーションの比較	
(4) パラメータの影響	44
4-2. 連続通水カラム試験の解析	54
(1) 解析法	
(2) 分割時間(Δt)の影響	58
(3) パラメータの影響	60
4-3. 土壌カラム試験との整合性	73
(1) 久留里市場の土壌カラム試験	73
(2) メタン添加バッチカラム試験の解析	74
(3) 芳香族炭化水素添加時の TCE 分解率	75
(4) メタン資化性細菌と芳香族(トルエン)資化性細菌の比較	78
4.4. 処理水にメタンを再注入して循環処理する連続通水カラム試験の検	討79
(1) 計算方法	79
(2) ワンパス滞留時間の影響	
(3) 地下水を循環させた土壌カラム試験との整合性	83
4-5. 循環水の回収率が低下した場合の影響	
4-6. まとめ	92
第5章 実証試験との整合性	94
5-1. 実証試験適用への考え方	94
5-2. 実証試験における処理性能	95
5.3. 土壌カラムをモデルにした実証試験の解析	104
5.4. TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌による影響の検討	108
(1) 解析法	108
(2) 解析結果	109
5-5. 修復予測の計算例	
5-6. まとめ	115
総括	
謝辞	
参考文献	120
本研究に関連のある主な発表論文等	

## 「メタンとトリクロロエチレン (TCE) の競争阻害を基にした土壌カラム 試験の解析と地下水循環法への適用に関する研究

緒言

トリクロロエチレン(TCE)やテトラクロロエチレン(PCE)、1.1.1-トリクロロエタン(TCA) に代表される有機塩素系溶剤による土壌・地下水汚染の問題が取り上げられてから既に 20 年近く経ている。これらの有機塩素系溶剤は脱脂や洗浄能力が高く、取り扱いや安定性に 優れていることから精密機械、電子工業、機械加工工業、クリーニング店などの多くの産 業で幅広く使われてきた。その後発ガン性の疑いや変異原性のあることが指摘され、更に 自然界に排出された場合、分解がなかなか進まず環境への負荷が大きいことから第一種有 害化学物質に指定され、使用が制限された。しかし比重が重く、表面張力が小さくて浸透 力も高いことから過去にこぼれたこれらの物質は地層深く浸透し、広域的な地下水汚染を もたらしており、その浄化対策が早急に求められている。

こうした土壌・地下水汚染が確認された場合、浄化対策として掘削除去、揚水曝気処理、 土壌ガス吸引法、エアースパージングなどの物理的処理が一般に行われている。しかし、 地下深くまで汚染が進行した場合、掘削除去は工事が大掛かりとなり、費用がかさむ。土 壌ガス吸引法やエアースパージングなどの原位置処理技術は比較的低コストで浄化できる が、シルト質や粘土を多く含む地層がある場合その適用は困難である。揚水曝気処理も透 水係数が低い帯水層や吸着性の高い土壌からなる地質では環境基準値レベルまで浄化する のに数年から数十年、場合によっては百年オーダーの長い年月がかかることが指摘されて いる。このため、低コストで安全に処理できる新たな修復技術の開発が望まれていた。

こうした浄化技術の一つとして好気的条件下でTCE などを水と炭酸ガスの安全な形態ま で生物学的に分解する、いわゆるバイオレメディエーション技術の実用化に 1990 年代初め ころから期待が寄せられた。しかし、室内実験では効果的な TCE の分解ができるにもかか わらず実用化がなかなか進まなかった。その理由として、実際の汚染サイトでその分解効 果がどの程度発揮できるのか、その評価方法や施工方法はどうするのか、安全性に問題は ないのか、経済的にも成り立つのか、等々多くの課題が挙げられていた。これらの課題を 克服し、実用化を促進するため米国では幾つかの実証試験が行われた。その中でも Stanford 大学の MaCarty ら<sup>1)</sup>が行った Edwards 空軍基地でのバイオスティミュレーション実証試 験は安定して高い除去効果が得られており、実用化に明るい兆しを与えるものであった。

一方、国内においても日本総合研究所主催のバイオレメディエーションコンソーシアム
 (BRNL: Bioremediation Network Laboratories) が 1994 年末から 1995 年にかけ TCE
 汚染帯水層を対象に国内初の原位置バイオレメディエーション実証試験を千葉市で行った
 <sup>2)、3)</sup>。また 1998 年から 2000 年にかけて NEDO/RITE が旧通産省(現 経済産業省)管轄下で
 同じく君津市久留里市場で TCE 汚染地下水帯を対象にした実証試験を行った<sup>4)~10)</sup>。いず

れも土着のメタン資化性細菌を利用したバイオスティミュレーションによる原位置浄化技 術である。これらの実証試験を通し、実際の汚染サイトでもメタン資化性細菌の増殖とTCE 分解が行なわれること、サイトデザインによって浄化効果が大きく影響されること、安全 性や土壌微生物生態系に大きな影響を及ぼすことはないなどが確認された。特に後者にお ける実証試験では、事前評価試験として行った土壌カラム試験と実証試験におけるTCE除 去性能が同等の値を示し、事前評価試験が汚染サイトにおける浄化性能を予測する上でも 重要なツールになることが示された。しかし、その一方で帯水層での微生物分解効果や地 下水流れによる影響についての理解が不足していたため、一目で納得できる効果的な実証 試験の成果を示すことができなかった。このため、バイオスティミュレーションの有効性 が十分理解されないまま現在に至っている。

筆者は室内の事前評価試験と実証試験の結果をモデル式で一律に説明できるならば、処 理効果とその有効性を定量的に評価することができ、しいては最適な施工方法や運転操作 方法の決定、浄化期間の推定等のエンジニアリング的展開が可能になると考えた。また現 在、バイオスティミュレーションの適用においては現地調査、バイアルおよび土壌カラム を用いたトリタビリティ試験、更に汚染サイトでの実証試験を経て実際の修復設計、施工 を行うステップが必要とされている。しかし分解や吸・脱着のパラメータが室内の簡単な試 験で得られた値を適用できるようになれば簡略化でき、時間、労力、経済的にも極めて有 用となる。そこで NEDO/RITE で行った事前評価試験や実証試験結果にモデル式を適用し、 その整合性を調べることでモデル式の有効性を評価し、併せてモデル式の各パラメータが 処理効果に及ぼす影響を調べることを試みた。この解析においては複雑な解析ソフトを使 用せず簡便に計算できることに主点を置いた。本論文はこれらの検討結果を取りまとめた ものである。

第1章にメタン資化性細菌による TCE 分解に関する研究動向をまとめた。第2章ではモ デル式とそのパラメータについてまとめた。第3章ではモデル式をバイアル試験に適用し た場合の整合性について、また第4章では土壌カラム試験への適用結果についてまとめた。 第5章では実証試験への適用とその整合性、および浄化効果の簡単な予測についてまとめ た。

モデル式は既報の文献を参考に TCE の分解と増殖に競争阻害と代謝産物による毒性効果 を含む Monod の修正式を適用した。分解微生物は土壌に付着しているものと、液相に浮遊 しているものは同一のパラメータ値で分解・増殖を行うものとして、付着微生物も総て液 相濃度に換算して解析した。TCE の土壌への吸着平衡は線形一次式で表せるものと仮定し、 土壌カラム試験には一次元の溶質移動モデルを適用した。また、実証試験の解析も簡便性 を考え、土壌カラム試験の解析をそのまま適用して一次元で計算した。このため二次元や 三次元の解析を必要とする浄化に必ずしも十分対応できるものではない。しかし、バイオ スティミュレーションによる浄化効果を理解し、合理的な設計・施工、運転操作方法を選 定する上では簡易的な解析でも十分役立つものと考えた。シミュレーションの計算方法は

簡便性・汎用性を考え、一般の市販 PC ソフトである Microsoft の Excel を主に用いた。

その結果、NEDO /RITE プロジェクトのバイアル試験、土壌カラム試験、及び実証試験 結果とモデル式を用いた解析結果とが比較的良好な整合性を示し、本モデル式による解析 が有効であることを示した。また、微生物の分解パラメータ値が浄化効果に及ぼす影響や 浄化効果を高めるための因子を明らかにすることができた。更に地下水循環法を用いた原 位置バイオスティミュレーションは TCE 汚染帯水層を効果的に浄化することができ、その 修復効果や浄化期間を簡易的に推測できることも示した。

本モデル式の有効性を評価するにはまだ多くの実験データとの検証が必要とされる。しかし、モデル式を用いた解析により、合理的な原位置バイオスティミュレーションの計画、 設計・施工への展開が可能となり、汚染土壌、地下水の浄化を促進するひとつの道筋を作 ることができた、と考える。

#### 第1章 メタン資化性細菌による TCE 分解に関する研究動向

1-1. 微生物分解の研究開発の動向と実証試験事例

(1) 海外の動向

塩素系有機溶剤の微生物分解に関する研究開発は米国を中心に 1980 年代から始まった。 1980 年代に地層に漏出した有機塩素系溶剤、主として TCE や PCE の一部が嫌気的条件下 で少しずつ脱塩素が行われ、シスジクロロエチレン(cDCE)や、トランスジクロロエチレン (tDCE)、ビニールクロライド(VC)等に変化していることが Vogel<sup>11</sup>や McCarty<sup>12</sup>)らによっ て明らかにされた。こうした嫌気的脱塩素反応を利用する浄化技術は今日、多くの研究者 や技術者によって精力的に進められている<sup>13),14)</sup>。しかし、エチレンやエタンまでに完全に 脱塩素化する技術は現在でもまだ確立しているとはいい難い。特に cDCE や VC の嫌気的 脱塩素の途中段階で脱塩素反応が停滞し、これらの物質が地質中に蓄積される傾向も高い。 しかもこれらの中間代謝産物は元の塩素系有機溶剤よりも有毒性や発ガン性のリスクが高 いこともあり、中途半端な嫌気的脱塩素化技術の適用はむしろ人体や環境に対するリスク を高める恐れもある。

一方、1985年にWilsonら<sup>15</sup>は土着微生物に天然ガスを通気することでTCE が好気的に 分解できることを始めて示した。この分解がメタン資化性細菌によって行なわれているこ とがOldenhuis ら<sup>16</sup>によって明らかにされた。その後 1990年までに多くの研究者によっ てメタン資化性細菌のみならず、トルエンやフェノール資化性細菌、プロパン資化性細菌、 アンモニア酸化細菌がこれらの有機塩素系溶剤を好気的に分解することが報告された<sup>17)~</sup> <sup>20)</sup>。この好気的分解は共代謝によって行なわれるが、嫌気的脱塩素より分解速度が速く、代 謝産物も安全な水と炭酸ガス、及び分解微生物であることからこの技術の実用化に多くの 期待が寄せられた。

1980年代末から1990年代前半にかけ Semprini, McCarty ら<sup>21)~26)</sup>の Stanford 大学のメ ンバーは、カルフォニアの海軍航空基地である Moffett 基地でメタン資化性細菌やトルエン、 フェノール資化性細菌を利用した原位置バイオスティミュレーション\*1 の基礎研究や実証 試験を精力的に進めた。彼らは注入井の微生物増殖による井戸閉塞防止と帯水層に分解微 生物を広く増殖させるため、炭素源と酸素、栄養塩を交互にパルス的に注入する原位置処 理プロセスを検討した。一連の実証試験、および土壌カラム試験を通して、炭素源として トルエン、フェノールらを資化する芳香族資化性細菌の TCE 分解能が高いこと、一方、メ タン資化性細菌は cDCE や VC らの代謝産物の分解に効果的であったことを示した。また、 Michael ら <sup>271</sup>はカルフォニアの TCE 汚染工場サイトで芳香族資化性細菌である *Pseudomonas cepacia* G4 (現 *Burkholderia cepasia* G4)を炭素源、酸素、栄養塩と一緒に 注入するバイオオーグメンテイション\*2を採用し、周囲の観測井で明らかに TCE が低減す ることを確認した(1990)。更に米国エネルギー省(DOE) は <sup>28),29)</sup>Savannah River Site で 1992~1993年にかけ、飽和帯、不飽和帯を含む TCE 汚染サイトに水平井戸を用いて1~4%

濃度のメタンガスを注入した大規模な実証試験を実施した。この試験ではメタン資化性細菌が増殖しTCEの減少も確認されたが、ガス態で炭素源や栄養源を注入したため物理的にTCEが揮散された影響も含まれた。このため、微生物による分解の定量的な評価は必ずしも十分でなかった。その後、McCartyら<sup>11</sup>はカルフォニアの Edwards 空軍基地のサイト 19 でフルスケールの実証試験を行なった(実証試験エリア:480m<sup>2</sup>)。この実証試験では、厚 さ 2m の不透水層で区切られた上下 2 層の汚染帯水層(TCE: 0.5 – 1.2 mg·*H*)に、下層から 上層へ、及び上層から下層へ循環させる一対のポンプを設置し、トルエンを炭素源(7 – 13.4 mg·*H*)として注入する連続処理を行なった。浄化試験は 444 日間継続し、微生物増加後の 各帯水層内流れの上流側と下流側における除去率は上層の汚染帯水層で平均 87%、下層の 帯水層で 83%であった。また処理影響エリアには上流側から汚染地下水が流入し、下流側 から処理された地下水が流出していたが、この流入側の濃度と流出側の濃度差で比較した 除去率は運転開始後 250 日後に 97 – 98%の高い値が定常的に得られた。添加したトルエン の除去率は 99.98%であり、残留トルエン濃度目標基準の 20µg·*H*を下回った。このフル スケールでの処理試験結果は原位置バイオスティミュレーションが有効かつ実用レベルで 適用可能であることを定量的に示した最初の実例と言える。

\*1 原位置バイオスティミュレーション:汚染サイトに生息する分解微生物に栄養源を与えて増殖させ、 分解浄化を図る修復技術

\*2バイオオーグメンテイション:分解能の高い微生物を培養・注入して浄化を図る修復技術

(2) 国内での実証試験

1) BRNL の実証試験

日本でも日本総研が主催した民間会社からなるバイオレメディエーションコンソーシア ム(BRNL)<sup>2),3)</sup>が千葉市の TCE 汚染帯水層を対象にメタン資化性細菌を利用した実証試験 を 1994 年末から 1995 年 5 月までの期間に、米国民間会社(ECOVA 社、後に Walsh 社に 変更)の指導のもとで初めて行なわれた。

この試験では汚染サイト下流側で揚水曝気処理した地下水を 2 分し、一方にメタン、他 方に酸素・栄養塩を添加溶解させて汚染サイト上流側に設けた別々の井戸にそれぞれの溶 解水を約 1 ヶ月間継続注入した。注入により注入井近傍の汚染地下水は排除されたがメタ ンと酸素が混合する注入井下流帯の帯水層ではメタン資化性細菌の増殖が認められた(10<sup>1~</sup> <sup>3</sup> CFU·m<sup>1+</sup>→10<sup>5~6</sup> CFU·m<sup>1+</sup>)。その後、注入を停止することで上流側にある TCE 汚染地 下水は微生物の増殖したエリアを通って揚水井に流れ込んだ。汚染地下水の TCE は微生物 ゾーンを通過したときに分解されるため分解活性が無くなるまで下流側の観測井の TCE 濃 度は低い値が維持される。この方法はメタンと TCE が共存しないため競争阻害を与えない ことから TCE を効果的に分解できる特徴をもつ。その分解効果は微生物増殖がない場合に 観測井で TCE が元の濃度に戻る期間(トレーサ試験を基に流れ解析のシミュレーションか ら算出)と、実際に TCE 濃度が流入側の濃度に戻るまでの期間とを比較することで評価し た。その差は約 40 日間あり、この期間がメタン資化性細菌によって TCE が分解され、そ

の効果が継続したと見積もられた。従ってかなりの長期間分解効果が持続したことになる。 しかし、比較対象とすべきコントロール試験を事前に行なわなかったためシミュレーショ ン計算結果が正しいのかどうかの確証は得られなかった。実証試験終了後しばらく経て同 ー条件でコントロール試験を実施したが、立ち上がり期間はシミュレーション予測値より もかなり遅い結果となった。但し、微生物増殖をさせた後での試験であったため、帯水層 土壌間隙部の閉塞や吸着効果の変化が起きていた可能性もあった。このためトレーサ物質 の解析から求めた先の立ち上がり期間の推定法が間違っていたと判断することもできない。 また、この試験では注入井と観測井及び揚水井をほぼ一直線上に配置したが、流れの横方 向や注入井戸の上流側に観測井を設置することが敷地的な制限もあって十分できなかった。 このため、面的にどの程度微生物ゾーンが形成されたのか確認できなかった。更に、実証 試験の方法を模擬した土壌カラム試験での検討が不足していたため、実証試験結果との比 較検討、特に定量的な評価は不十分であった、などの課題が残されていた。

2) NEDO / RITE の実証試験

上記反省を踏まえて、1998 年 9 月~2000 年にかけて行なった NEDO / RITE の実証試験 では4<sup>08~10)</sup>、揚水した地下水を処理することなく、直接メタン、酸素・栄養塩を溶解させ て再注入した。また併せて、微生物増殖を行なう前に同一水量条件でブランク試験を行い、 微生物増殖を行なわせた場合との比較検討ができるようにした。更に注入井周囲に観測井 を設けて微生物増殖や TCE 分解、およびトレーサ物質の挙動が面的にも把握できるように した。この実証試験においても当初、千葉市で行なった方法と同じ注入方法(メタンと酸 素を別の井戸から連続的に注入する)を検討した。しかし、シミュレーション及びトレー サ試験で、実証試験サイトの地質条件ではメタンと酸素が帯水層で十分混合しないことが 分かり、採用しなかった。一方、McCarty らが行なったパルス注入の方がこの帯水層での メタン、酸素の混合が広く行なわれることがシミュレーション結果で明らかにされた。こ のため、Edwards 空軍基地のフルスケール実証試験結果も参考にして、一対の揚水井、注 入井からなる地下水循環系の浄化エリアを作成し、揚水した地下水にメタンと酸素・栄養 塩を間欠的に繰り返し注入する地下水循環法を採用して実証試験を行った。この方法は BRNL で行なった試験と異なり、メタン、TCE が共存するため競争阻害が生じる。しかし、 継続的な運転ができるため一度のメタン、酸素注入によるワンパスでの除去率(注入井か ら揚水井に向かう一回の流れ過程での分解率)が低くても循環を繰り返すことで系内の除 去率を高めることができ、最終的には環境基準値以下まで浄化することが期待できた。し かし、1998年に行った最初の実証試験では、周囲の地下水流れの影響を受けて注入した地 下水が揚水井で回収される割合が 50%と低かったため、TCE の十分な低減効果は得られな かった。但し、ワンパスの除去効果や消費メタン当たりの TCE 分解量は土壌カラム試験結 果と同等の性能であった。従って、土壌カラム試験結果を基にした実汚染修復のスケール アップが可能であることの確信を得た。その後現地の都合から長期にわたる継続した実証 試験はできなかったが、TCE 濃度条件の異なる時期に1ヶ月から数ヶ月単位の実証試験を

計3回実施した。これらの実証試験結果と処理水にメタン、酸素を溶解させて再注入を繰り 返した土壌カラム試験結果から、地下水循環法の有効性を確認することができた。また、 メタン注入に伴いメタン資化性細菌が 10<sup>1~3</sup> CFU·m<sup>1</sup>から 10<sup>5~6</sup> CFU·m<sup>1</sup>に増え、TCE 分解効果が認められた。更に注入停止と共に TCE の分解効果がなくなり、メタン資化性細 菌数も減少することを確認した。

#### 1-2. TCE 共代謝分解の特徴

TCE を分解してエネルギーを得て増殖できる微生物は未だ確認されていない。TCE を分 解できるメタン資化性細菌やプロパン資化性細菌、及びトルエン資化性細菌、フェノール 資化性細菌はいずれもこれらの炭素源を分解する酵素 (oxygenase や hydroxylase)の反応 特異性が広いため、共代謝的に TCE も分解する。

メタン資化性細菌やプロパン資化性細菌は TCE や cDCE など不飽和化合物のみならず、 クロロホルム(CF)や TCA、1,2-DCA などの飽和化合物も分解できる<sup>30)、31)</sup>。これに対し、 芳香族資化性細菌は飽和化合物の分解はできず、不飽和化合物のみ共代謝で分解する<sup>30)</sup>。

Nakajima らは <sup>32)</sup>メタン資化性細菌である *Methylocystis* sp. M における TCE 分解経路 として図 1-1に示す経路を提示している。TCE の酸化において還元型の補酵素 NADH も 同時に消費される。NADH はメタンを酸化した場合、ホルムアルデヒドと蟻酸の酸化過程 で再生産されるため(図 1-2<sup>33)</sup>) 絶えず補給することができる。しかし、メタンの供給が なくなると NADH が枯渇するため TCE の分解も停止する。TCE の分解速度や分解容量(単 位菌体重量当たり分解できる TCE 総量) の増加に蟻酸添加が有効であると多くの研究者が 報告しているが <sup>34)35)</sup>、その理由は NADH が補給されるためである。芳香族資化性細菌につ いても TCE の分解に NADH の補給が必要であるが、メタン資化性細菌と同様の効果をも たらす有機物の報告は見当たらない。一方、メタン資化性細菌を用いた試験では蟻酸添加 効果があまり生じないこともある。これは細胞内に PHB のような脂質貯留物質を貯えてい るケースでは脂質貯留物質の代謝過程で NADH の補給が行われるためと考えられている<sup>35)</sup>。 更に窒素源を枯渇させた窒素固定条件下で TCE 分解が促進される効果も見出された <sup>36)</sup>。こ の場合も窒素固定条件下では細胞内に脂質貯留物質が多く蓄えられているため NADH が補 給されるためである。同様に低 DO 条件下でメタン資化性細菌の培養を行なうと高い TCE 分解活性を有するが <sup>37)</sup>、これも細胞内に脂質貯留物質が形成されるためと考えらる。

メタン資化性細菌でTCEの分解に最初に関与する酵素はメタンをメタノールに酸化する メタンモノオキシゲナーゼ(MMO)である。MMO には細胞を破砕、遠心分離すると上清側 にある可溶性のメタンモノオキシゲナーゼ(sMMO)と膜面分にある粒子状メタンモノオキ シゲナーゼ(pMMO)に分かれる。TCEの分解に関与するのは主に sMMO である。メタノー ルを炭素源とした場合でもメタン資化性細菌は増殖できる。しかし、メタン分解活性や TCE 分解活性が低いため<sup>38)</sup>、メタンを供給しないと TCE を分解できる sMMO の形成や発現は 抑えられる。一方、TCE の分解活性は TCE の分解に伴って急速に低下する。また、メタン

の飢餓状態や空気に長時間晒すことでも低下する。特にTCEの分解においてはMMOの酵素活性のみならず細胞自身も死滅する<sup>34),39)</sup>。この場合、TCE そのものが毒性を有しているのではなく、TCE の細胞内代謝産物が毒性を有している。図 1-1 に示す TCE オキサイドのようなエポキシ化合物は反応性が高く、蛋白と結びつきやすいことからこれらが毒性を発現させるものと見られている。芳香族資化性細菌の場合も同様の現象が認められる<sup>30)</sup>。



図 1-1 Methylocystis sp. M による TCE 分解代謝経路(Nakajima ら 32))



MMO はメタンと TCE の両方に反応することからメタンと TCE が同時に存在した場合、 それら分解において互いに競争阻害効果が生じる。

NEDO/RITE の実証試験に先立って行った室内試験において、久留里市場の土壌、地下 水からメタン集積培養体を得、その洗浄菌体を NMS 培地に懸濁させてバイアル瓶に入れ、 30%気相メタン濃度の下で初期 TCE 濃度を変えた場合のメタン消費速度を測定した 40)(第 3章 図 3-9 参照)。図 1-3、1-4 に、そのときの結果を基に TCE とメタンの濃度比、ある いは TCE とメタンのモル比とメタン消費速度との関係をプロットした結果を示す。

図から TCE とメタンの濃度比、あるいはモル比が増加すると明らかにメタン消費速度は 低下しており、メタンの消費は TCE に対し競争阻害関係にあることが判る。

一方、岡田と下村は<sup>41)</sup>メタン資化性細菌である *Methylocystis sp.* M 株をアルギン酸カル シウムに包括固定し、33mlのバイアル瓶に投入後、気相のメタン濃度を 0~20%に変えた 場合の TCE 分解活性を調べた。その結果、気相メタン濃度が高くなると TCE 分解活性は 低下することを示した(図 1-5 参照)。従ってメタンの共存が TCE 分解に競争阻害を起こ すことも明らかである。



TCE分解活性(初期TCE:1.3mg/L, 20℃)<sup>41)</sup>

1-3. 共代謝分解に関するモデル式

(1) モデル式

共代謝反応を対象としたモデル解析は 1990 年代に入り、幾つか検討が行われてきたが、 実証試験との整合性も含めた検討事例は少なかった。

Alvarez-Cohen らは<sup>42)</sup>メタン資化性細菌の TCE 分解能は TCE 分解に伴う代謝産物によって失活して菌体そのものも死滅することから、分解過程における単位菌体当たりの TCE 分解量は一定な値を持つものとしてこの値を TCE 分解容量(*Tc*: g·g·l)と定義した。TCE の 分解反応が Monod の式に従い、TCE の分解により分解容量分だけ分解菌が減少するものと 仮定したモデル式を立て、メタン集積培養体の resting cells を用いた TCE 分解のバイアル 試験結果にこのモデル式を適用した。パラメータ値は試験データおよびパラメータフィッ ティングで求めた。その結果、試験結果とモデル式によるシミュレーション結果は極めて 良好な整合性が得られたことから、このモデル式は代謝産物による毒性効果を十分に反映 させることができることを示した(表 1-1 参照)。更に集積培養体の resting cells に互いに 競争阻害効果を持つ TCE とクロロフォルム(CF)を同時に添加した系に対しても解析した <sup>43)</sup>。このケースでは競争阻害を持つ Monod の修正式を適用させ、各パラメータは単独で添 加した系から求めた値を使用した。その結果、同時添加系のシミュレーション結果と試験 結果が良く一致したことから競争阻害物質がある場合の共代謝分解反応に Monod の修正式 が適用できることを示した。

一方、Semprini と MaCarty らは <sup>24),44)</sup>電子供与体(メタン)と電子受容体(酸素)をパル スで注入した Moffett 基地の実証試験結果を解析するために、競争阻害と酸素濃度の影響を 乗じた Monod の修正式、および土壌への吸・脱着効果を含むモデル式を立て、これを一次 元の移流・分散の溶質移動方程式に当てはめて解析した(表 1-1, 1-2 参照)。但し、メタン の分解に対しては濃度レベルが異なることから TCE による競争阻害は影響しないものとし て解析した。また吸・脱着については液相と固相の分配を線形一次式で表し、瞬時的な平 衡吸着が起きる場合は吸・脱着の影響を遅延係数で表し、瞬時的な平衡に達しない非平衡 吸着では液相と固相の移動速度が固相濃度と、その時の液相濃度に平衡な固相濃度の差に 比例するものとして表した。TCE の分解速度は時間経過と共に減衰することから指数関数 的に減衰する Fa 値を分解速度に積算した。また分解微生物は付着増殖のみ起こり、液相を 移動しないものとして取り扱った。パラメータは室内試験、トレーサ試験、文献値を参考 にフィールド試験に一致させるようにパラメータフィッティングによって求めた。但し、 メタンと酸素の遅延係数は土壌への吸・脱着が起こらないものとして1 に設定した。

この解析において試験データのフィッティングを良くするために、メタンの分解に関す る最大分解速度定数 ks値と飽和定数 Ksの比(ks/Ks)の値を時間経過と共に高めたり、ある いは分散係数をトレーサ実験より得られた値より低めに設定する必要があった。さらに計3 回実施したフィールド試験毎に、及び観測井の位置により初期微生物量を変える必要もあ った。これらはメタン資化性細菌の集積に伴って分解活性が上がったり、地下水の流れ状 況が変わったりしたことが影響を与えたものと考えられた。こうしたパラメータの値をケ ースに応じて一部変更する必要はあったが、おおむね試験結果とシミュレーション結果は 良い整合性が得られた。また吸・脱着に関しては非定常解析で取り扱った方がフィールド 試験との整合性が良かったと報告している。またパラメータの値を変動させた感度解析で は、TCE の除去性能に対して菌体収率(Y)、メタン最大分解速度定数(ks)の影響が大きく、 メタンや酸素の飽和定数(Ks, K4)、初期菌体濃度、自己分解速度定数(k)などはあまり大き な影響を与えなかった。パラメータフィッティングで得られたパラメータ値はおおむね文 献値の範囲に入っていたが Ks、K4値が文献値より高い値となった。この原因として、分解 微生物の移流による影響の可能性もあるとの考察を行った。さらに TCE の分解に対しては メタンの競争阻害の影響が大きく、高濃度メタンの添加は除去効果を抑制すると考察した。

大矢らは<sup>45</sup>、共代謝分解に関するモデル式を整理した Criddle<sup>46</sup>の報告を参考に、競争阻 害、TCE 代謝産物による阻害、TCE の非平衡吸着を含むモデル式を立て一次元の溶質移動 方程式の解析を行った(表 1-1、1-2 参照)。パラメータは文献値を参考に設定し、シミュレ ーション結果と各種文献における試験結果の整合性を調べると共に TCE 除去効果に与える 影響因子の解析を行った。飢餓状態にある初期微生物濃度レベルでは TCE 分解活性および 自己分解速度は著しく小さくなること、TCE は現存微生物と増殖基質の菌体転化に伴う分 解も加算されること、TCE の分解には付着と浮遊微生物の両者が寄与するものとしてこの 分配を線形式で表し、微生物の付着と脱着の速度は非平衡吸着と同等に扱えるものとして 解析を行った。但し、解析結果に対する TCE 分解容量(*T<sub>c</sub>*)の影響が大きく、*T<sub>c</sub>*が小さいと 微生物の増殖がほとんど行われない試算結果になったことから、実際の解析では代謝産物 による毒性の影響はないものとして取り扱った。

液相は注入口から 3m 先まで TCE 1mg・P で汚染され、固相も平衡吸着状態にあるとし て初期条件を設定し、これにメタン 3mg・P 、酸素 10mg・P 、浮遊微生物濃度 1mg・P の溶 液が v=0.5m・d<sup>-1</sup>で注入することを標準条件として解析した。その結果、メタンは注入口近 傍で短期間(5 日)に消費された。分解微生物は浮遊微生物、付着微生物共に注入口近傍で最 大値を示したが、時間経過と共に徐々に注入口から先に広がる傾向を示した。TCE は液相、 固相共に時間経過とともに減少した。TCE 除去率に及ぼすメタンの競争阻害の影響は大き く、メタン 5mg・P 添加では除去効果が著しく低下した。逆に初期 TCE 濃度が高いケース でもメタン消費が抑制され、除去率が低下することを示した。また土壌の吸着特性による 影響では、TCE の移動速度係数(km)を小さくすると固相に TCE が長く残り、大きくすると 固相の TCE 濃度は急速に減少したが液側に高い濃度のピークが現れることを示した。微生 物の分解効果と吸着効果の比を示す修正 Damkőler 数 (Dmi={(Tyks+kc)XrLd/kmC0) を定 義し、Dmi>>1 では吸着が律速となり、Dmi<<1 では微生物分解が律速になることを示した。 更に微生物の分配係数 (Ka) は TCE 分解に大きな影響を与えず、浮遊微生物の移動特性の 影響は少ないことを示した。

この他最近では、付着微生物のマストランスファーを含めたモデル式 470、上記モデル式

を三次元解析まで展開した解析ソフト、より複雑なものとして窒素、りんの栄養塩類の供給律速、原生動物による捕食の影響、不飽和帯も含めた三次元解析 48)なども行われている。 これらはいずれも特殊な解析ソフトに習熟する必要があるが、基本的反応はいずれも上記 阻害効果を含めた Monod の式に吸脱着反応、代謝阻害を含めた解析を基本にしている。

(2) 各パラメータの値

1)分解・増殖パラメータ値

文献からメタン分解及びTCE分解の各パラメータに関するデータを調べた結果を表1-3、 1-4 に示す。

文献値からメタンの最大分解速度定数(ks)は 0.94~20mg·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (59~1250  $\mu$  M·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、飽和定数(Ks)は 0.2~1.5mg· $h^1$ (12.5~93.8  $\mu$  M· $h^1$ )の範囲にあった。また、 TCE の最大分解速度定数(kc)は 0.12~14.6 mg·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (0.99~111  $\mu$  M·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、 飽和定数(Kc)は 0.69~24.6 mg· $h^1$ (5.3~188  $\mu$  M· $h^1$ )の範囲であった。飽和定数はモル濃度 換算では同等だが mg· $h^1$ 換算ではメタン分解の方が低い。最大分解速度定数はモル濃度換 算値で比較するとメタンの方が TCE の値より 1 オーダー以上高い値になる。即ち、分子レ ベルでみれば基質親和性は同等だが分解速度は TCE に比べメタンの方が速いことになる。 一方、TCE 分解容量( $T_c$ )は混合培養系で 0.04 ~ 0.06、純菌系で 0.01 ~ 0.21 レベルにあ った。

表 1-3 に示した菌体転換率(Y)は連続培養リアクターでの値である。一方、NEDO /RITE のプロジェクトでは TCE 分解能を有する純菌、および久留里から単離した芳香族資化性細 菌、メタン資化性細菌の対数増殖期終了時における菌体転換率を求めた(表 1-5)<sup>56)</sup>。メタ ン資化性細菌の菌体転換率(増殖収率)は0.4 前後、トルエン、フェノール等の芳香族資化 性細菌では 0.7 前後にあった。

2) 吸着パラメータ

大矢ら 45)は吸着に関するパラメータの文献値をまとめた。TCE に対する分配係数( $K_a$ )は 0.09~94 l·kg-soil<sup>-1</sup> と文献によって大きくばらついた。これは使用した土壌によって吸着特性が大きく変わることを反映したものと考えられる。また非平衡吸着における TCE の移動 速度係数値( $k_m$ )は 1.44~1.91 d<sup>-1</sup>の範囲にあった。

メタン資化性細菌の砂質土に対する分配係数( $K_d$ )については Jenkins ら <sup>58)</sup>が報告している。砂質土を詰めたカラムにタイプの異なる3種類のメタン資化性細菌懸濁液を通水し、流出曲線から細菌の遅延係数( $R_{cell}$ )を求め、分配係数  $K_d$ 値を算出している。この時の  $K_d$ 値 は 0.23~0.5I·kg-soil-1の範囲にあった。

表 1-1 反応のモ	デル式		
	Alverez-Cohen <sup>42)</sup>	Semprini & McCarty <sup>44)</sup>	大矢ら 45)
<b>进</b> 到		$\frac{dS}{dt} = -k_s X_m \left(\frac{S}{K+S}\right) \left(\frac{A}{K+A}\right)  (\% \pm \% ) $	$\frac{dS}{dt} = -k_S X_{TL} \left(\frac{S}{C+K}\right) \left(\frac{A}{K+A}\right) \qquad K_1$
物 大学		$\frac{dA}{dt} = F \frac{dS}{dt} - f_a dk_i X_{TL} \left(\frac{A}{K_A + A}\right)$	$\frac{dA}{dt} = F \frac{dS}{dt} + FcR_{CB}$
业 微生物分解	$\frac{dC}{dC} = -\frac{kcXC}{c}$	dC A	$R_{C} = R_{CS} + R_{CB}$
	$\frac{dt}{dt} = -\frac{1}{Kc+C}$	$\frac{aC}{dt} = -F_a X_{TL} k_c \left(\frac{C}{C+K_2}\right) \left(\frac{A}{K_A+A}\right)$	$R_{cs}$ :吸脱着による変化、 $R_{cB}$ : 微生物 dC $dS$ $dS$ $C$ 、
吸・脱着		$\frac{dF_a}{dt} = -b_d F_a \qquad K_2 = K_C \left(1 + \frac{S}{K_S}\right)$	$R_{CB} = \frac{1}{dt} = (Ty\frac{dt}{dt} - X_{TL}k_c)(\frac{1}{C+K_2})$
菌体の増殖	$\frac{dX}{dC} = \frac{1}{T_c}$	$C_a = K_a C$ (平衡吸着時) $\frac{dC_a}{dc_a} = \alpha(K_a C - C_a)$ (非平衡吸着時)	$R_{CS} = \frac{ac}{dt} = -km(C - \frac{Ca}{Ka}) \qquad (\# \mp \hbar)$
	$X = X_0 - \frac{(C_0 - C)}{T}$		$R_{X} = R_{XS} + R_{XB}$
	<b>,</b>	$\frac{dX_{TL}}{dt} = -Y \frac{dS}{dt} - k_i X_{TL} \left(\frac{A}{K_A + A}\right)$	R <sub>xx</sub> :付着による変化、 R <sub>xb</sub> :増殖 .vv v
			$R_{\rm XX} = \frac{m_A}{dt} = -k_{mB}\left(X - \frac{\Delta a}{K_d}\right)$
			$R_{XB} = \frac{dX}{dt} = \left(-Y\frac{dS}{dt} + \frac{1}{T_c}\frac{dC}{dt}\right)\frac{X}{X_{T_c}} - h$
			$\frac{dX_a}{dt} = -\frac{\theta}{\rho} R_{XS} + (-Y \frac{dS}{dt} + \frac{1}{T_c} R_{CB}) \frac{X_a}{X_{TL}}$
注:記号は各文	(献の表現を統一する)	とめ変更している。	
記号の定義	ઓ表 1-2 を参照。		

注:言		記号		樹谷		聚来 TCE	基質	
1号は各文献の表現を統一するため変更している。	$C_0$ : 初期 TCE 濃度 (mg·I <sup>-1</sup> )、 $Ca$ : 固相 TCE 濃度 (mg·kg <sup>-1</sup> )、 $ks$ : 基質の最 $K_A$ : 酸素の飽和定数(mg·I <sup>-1</sup> )、 $kc$ : TCE の最大分解速度定数(mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )、 $Kc$ $X_0$ : 初期浮遊微生物濃度 (mg·I <sup>-1</sup> )、 $Xa$ : 付着微生物濃度 (mg·kg <sup>1</sup> -soil)、 $Xa_0$ : $X_{TL}$ : 液相換算全微生物濃度 (mg·I <sup>-1</sup> -soil)、 $F$ : 基質分解による酸素消費割合( $d$ : 生分解可能な菌体の割合(mg·mg <sup>-1</sup> )、 $ki$ : 自己分解速度定数( $d^{-1}$ )、 $Fa$ : $2b_a$ : TCE 分解微生物減衰の反応定数( $d^{-1}$ )、 $F_c$ : TCE 分解による酸素消費割合( $K_{02}$ : 酸素の分配係数 (1·kg <sup>-1</sup> -soil)、 $K_a$ : TCE の分配係数 (1·kg <sup>-1</sup> -soil)、 $K_a$ : TCE の資配係数 (1·kg <sup>-1</sup> -soil)、 $K_a$ : TCE の液相側の移動速度係数( $d^{-1}$ )、Y: 菌体転換率(g·g <sup>-1</sup> )、 $T_c$ : 菌体当 $P_{C}$ : 基質の遅延係数 ( $-$ )、 $R_A$ : 酸素の遅延係数 ( $-$ )、 $R_{rcx}$ : TCE の遅延係 $D_c$ : TCE の分散係数( $m^2 \cdot d^{-1}$ )、 $v$ : 土壤間隙中の実流速(m·d <sup>-1</sup> )、 $\rho$ : 土壤見か	S:基質濃度 (mg·l <sup>-1</sup> )、Sa:固相基質濃度 (mg·kg <sup>-1</sup> )、A:酸素濃度 (mg·l <sup>-1</sup> )、/	$\frac{\partial X_{n}}{\partial t} = -Y \frac{dS}{dt} - k_{i} X_{n} \left( \frac{A}{K_{A} + A} \right)$ (付着増殖のみ)	$\frac{\partial C}{\partial t} = D_C \frac{\partial^2 C}{\partial l^2} - \nu \frac{\partial C}{\partial l} - \frac{\rho}{\theta} \alpha(K_a C - C_a) - \frac{dC}{dt}  (\# \Psi \widehat{m} W \widehat{\pi})$	$R_{TCE} \frac{\partial C}{\partial t} = D_C \frac{\partial^2 C}{\partial l^2} - v \frac{\partial C}{\partial l} - \frac{dC}{dt},  R_{TCE} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_a,  C_a = K_a C$	$R_{A} \frac{\partial A}{\partial t} = D_{A} \frac{\partial^{2} A}{\partial l^{2}} - \nu \frac{\partial A}{\partial l} - \frac{dA}{dt},  R_{A} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_{02}  ,  A_{a} = K_{02}A$	$R_{D} \frac{\partial S}{\partial t} = D_{s} \frac{\partial^{2} S}{\partial l^{2}} - \nu \frac{\partial S}{\partial l} - \frac{dS}{dt}, \qquad R_{D} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_{D}  ,  S_{a} = K_{D} S$	Semprini & McCarty <sup>44)</sup>
	$(分解速度定数(mg·mg-1·d-1)、K_S: 基質の飽和定数(mg·l-1)、::TCE の飽和定数(mg·l-1)、X:浮遊微生物濃度(mg·l-1)、初期付着微生物濃度(mg·kg1-soil)、ng·mg-1)、f_a: 菌体の自己分解による酸素消費割合(mg·mg-1)、微生物に対する共代謝分解可能な微生物割合、mg·mg-1)、K_D: 基質の分配係数(1·kg-1-soil)、修生物の分配係数(1·kg-1-soil)、a:TCE の固相側の移動速度係数(d-1)、修進生物の分配係数(1·kg-1-soil)、a:TCE の固相側の移動速度係数(d-1)、後(-1)、D_S: 基質の分散係数(m2·d-1)、D_A: 酸素の分散係数(m2·d-1)、教(-1)、D_S: 基質の分散係数(m2·d-1)、D_A: 酸素の分散係数(m2·d-1)、$	ta:固相酸素濃度 (mg·kg <sup>-1</sup> )、C: TCE 濃度 (mg·l <sup>-1</sup> )、	$\frac{\partial X}{\partial t} = D_x \frac{\partial^2 X}{\partial l^2} - v \frac{\partial X}{\partial l} + R_{xx} + R_{xy}$ $\frac{\partial X_a}{\partial t} = -\frac{\theta}{\rho} R_{xx} + (-Y \frac{dS}{dt} + \frac{1}{T_c} R_{Cg}) \frac{X_a}{X_{TL}} - k_i (X_a - X_{a0})$		$\frac{\partial C}{\partial t} = D_C \frac{\partial^2 C}{\partial l^2} - \nu \frac{\partial C}{\partial l} + R_{CS} + R_{CB}$	$\frac{\partial A}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 A}{\partial l^2} - v \frac{\partial A}{\partial l} - \frac{dA}{dt}$ (酸素は土壌に吸着せず)	$\frac{\partial S}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 S}{\partial l^2} - v \frac{\partial S}{\partial l} - \frac{dS}{dt}$ (基質のメタンは土壌に吸着せず)	大矢ら 45)

表 1-2 連続通水滞水層のモデル式(1 次元)

No.	使用株	k <sub>S</sub> mg.mg <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Ks mg/L	Y	条件	引用
1	mixed culture	3.44	0.2	0.4	初期メタン濃度:0.45mg/L, 菌体濃度:4.3mg/L、10℃	Broholm 49)
2	純 菌 /mixed culture	7.2 ~ 20	0.24 ~ 0.42		30℃以上	Broholm 49)
3	Chemostat mixed culture	0.94	1.07	0.33	滞留時間 5d、20℃ 液温 26 - 28℃	Chang <sup>30)</sup>
4	<i>Methylosystis</i> sp. M	2.25	1.5		冷蔵保存のジャー培養菌体 28℃ 試験、菌 500mg/L, TCE 分解 kd/Kc=0.96L/mg/d	岡田、下 村 50)

表 1-3 メタン資化性細菌のメタン分解パラメータ文献値

表 1-4 メタン資化性細菌の TCE 分解パラメータの文献値

No.	使用株	$k_{C}$	Kc		Y	条件	引用
		mg.mg <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	mg/L	mg/mg			
1	完全混合リアクタ	0.84	0.69	0.043	0.33	ハ*イアル: TCE15mg/L、	Alverez-
	mixed culture	i			~ 0.37	21°C	Cohen <sup>51)</sup>
2	完全混合リアクタ	4.8	7.9	0.061	—	リアクタ RT=9d、	Alverez-
	mixed culture					CH4:10.3%	Cohen <sup>51)</sup>
						バイアル TCE 15mg/L、	
		·				21℃、ギ酸塩添加時	
3	い イオリアクタ	1.06	5.04	0.05	0.33	ド酸塩添加時(20mM)	Chang <sup>52)</sup>
	mixed culture						
4	Methylomonas	14.6	24.6		-	Stational phase	Koh <sup>58)</sup>
	methanica					culture,	
	68-1					25 C, TCE 0.66-65mg/L	
5	Methyosinus	6.3	16.5			Stational phase	Koh <sup>53)</sup>
	tricosporium					culture, 25 °C TCE	
L	OB3b					0.66-65mg/L	
6	Methylocystis	0.122	2.1			25℃、冷凍保存菌株	Utiyama <sup>54)</sup>
}	sp. M						
	OB3b		—	0.21	0.40	<b>25℃</b>	Hanada <sup>55)</sup> ,
7	M. sp. St. M			0.16	0.36		NEDO <sup>56),</sup>
	KSWII			0.02			57)
	EB-1	12.4	4.3	0.01			

表 1-5 TCE 分解能を有する微生物の増殖収率 56)

微生物	添加基質	Y	備考
Methylosinus trichosprium OB3B	メタン 20%	0.40	Type strain
Methylocystis sp. M	メタン 20%	0.36	Type strain
M18-2	メタン 20%	0.40	久留里から単離
Burkholderia cepacia G4	2mM 7x1-1	0.73	Type strain
P-10	2mM 7x1-1	0.08	久留里から単離
P-11	2mM 7x1-1	0.77	久留里から単離
P-19	2mM 7x1-1	0.86	久留里から単離
T-5	2mM トルエン	0.68	久留里から単離

1-4. まとめ

TCE の好気性代謝に関する国内外の実証試験の動向、メタン資化性細菌による TCE 分解 の特徴を文献からまとめた。また TCE の生物学的な分解に関するモデル式を整理すると共 に、そのパラメータ値を文献からまとめた。以下その概要は

- 海外では MaCarty らが Moffet 基地で行った実証試験、DOE が Savannah River Site で行った実証試験が有名である。その後 MaCarty らは Edwards 空軍基地で実用レベ ルでの実証試験を行い、トルエン添加による原位置バイオスティミュレーションが有 効であることを示した。
- 2) 国内では BRNL が千葉でメタン資化性細菌を用いた実証試験を初めて行なうと共に、 それに引き続いて久留里市場で NEDO/RITE の実証試験が行われ、有効性や安全性に 関するデータが収集された。
- 3)メタン資化性細菌による TCE の分解代謝は共代謝で行われるが、還元型の補酵素 NADH の供給が必要であり、これはギ酸や細胞内脂質顆粒の代謝により供給される。
- 4) TCE の分解に伴いその中間代謝産物によりメタン資化性細菌も死滅する。また TCE 分 解ではメタンと TCE が競争阻害を起こす。またそのモデル式としてメタンと TCE の 競争阻害、および酸素濃度の影響を乗じた Monod 型の反応式が提案されている。
- 5) 文献からメタンおよび TCE 分解に関するパラメータを整理したところ、メタンの最大 分解速度定数(*ks*)は 0.94~20mg·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、飽和定数(*Ks*)は 0.2~1.5mg·*H*、TCE 最大分解速度定数(*kc*)は 0.12~14.6 mg·mg-cell<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、飽和定数(*Kc*)は 0.69~24.6 mg·*H*の範囲にあった。また TCE 分解容量(*Tc*)は混合培養系で 0.04 ~0.06、純菌系 で 0.1 ~0.2 レベルにあった。菌体転換率(*Y*)はメタン資化性細菌で 0.4 前後、トルエ ン、フェノール資化性細菌では 0.7 前後であった。
- 6) 土壌の吸着による TCE の分配係数(*K<sub>a</sub>*)の文献値は0.09~94 *I*·kg-soil<sup>-1</sup>と大きくばらつ いた。非平衡吸着時の TCE 移動速度係数(*k<sub>m</sub>*)は 1.44~1.91 d<sup>-1</sup>の範囲にあった。
- 7) 文献値のメタン資化性細菌の砂質土に対する分配係数(*K<sub>d</sub>*)は 0.23~0.5 *l*·kg-soil<sup>-1</sup>であった。

NEDO/RITE プロジェクトで行った室内試験、実証試験の共代謝反応によるバイオスティミュレーションの解析を行うに当たり、特殊な解析プログラムソフトを必要とせず、汎用ソフトである Microsoft Excel を用いて簡易的に計算できることを主眼とした。

モデル式の考え方としては、Alverez-Cohen 6<sup>42)</sup>や大矢6<sup>45)</sup>の方法を参考にした。すな わち、メタンと TCE は共に競争阻害効果を持つことから、分解反応には競争阻害をもつ Monod の修正式を、分解微生物の増殖、死滅には TCE の分解に伴って Tc分だけ菌体が死 滅する Alverez-Cohen らの考えを採用した。またメタンや TCE の分解には付着、浮遊微生 物両者が関与する大矢らの考えを取り入れたが、計算を簡単にするために付着、浮遊微生 物は同一条件で分解や増殖を行うものと仮定し、付着微生物も浮遊微生物濃度に換算した 新たな液相換算微生物濃度(XTL)の概念を導入し、分解や増殖はすべてこの XTL で計算した。 また、浮遊と付着微生物濃度の関係は線形一次式で表わし、両者の濃度は瞬時的に平衡に 達するものとして XTLを分配した。

TCE の土壌への吸・脱着は非平衡吸着(大矢ら 45))と平衡吸着(Semprini & McCarty44)) について検討したがいずれも等温平衡吸着式は線形一次式で表せるものとした。なお、酸 素についてはバイアル試験等で酸素不足が生じる場合を除き、土壌カラム試験等では酸素 は十分にあり、律速にならないものとした。

土壌カラムでの解析は、Semprini ら<sup>44</sup>、大矢ら<sup>45)</sup>と同様に1次元の移流・分散の溶質 移動モデルを採用した。帯水層の溶質成分を *Ci* (mg·*l*<sup>1</sup>)、時間変数を *t* (d)、流れ方向の変 数を *l*(m)とすると、溶質成分の移動方程式は一般に 2-1 式で表すことができる。

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_i \frac{\partial C_i}{\partial l} \right) - v \frac{\partial C_i}{\partial l} + R_{Ci}$$
(2-1)

ここで、 $D_i$ : *i* 成分の分散係数(m<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>)、v: 土壌間隙中の実流速(m·d<sup>-1</sup>)、 $R_{Ci}$ :  $C_i$ 成分の 反応による変化項(mg· $l^1$ ·d<sup>-1</sup>)である。

2-1. 反応項のモデル式

共代謝分解の模式図を図 2-1 に示す。

(1) 分解微生物

飽和帯水層の単位土壌容積に含まれる全分解微生物濃度を $X_T$  (mg·*l*-soil-1)、浮遊微生物を $X(mg·l^1)$ 、付着微生物をXa (mg·kg-soil-1)とすると、これらには2-2式の関係が成立する。

 $X_T = \theta X + \rho Xa$ 

(2-2)

ここで $\theta$ は空隙率(-)、 $\rho$ は見かけ密度(kg·*I*-soil<sup>-1</sup>)である。

平衡時における浮遊微生物と付着微生物の分配は線形一次式の関係があるものと仮定したから、*Ka*(*l*·kg-soil<sup>-1</sup>)を分配係数とすると

$$X_a = K_d X$$
  
従って 2-2 式は

 $X_T = (\theta + \rho K_d) X$ 

(2-4)

(2-3)

ここで付着微生物量が少ない場合はメタンや TCE および酸素は浮遊微生物、付着微生物 共に十分にいきわたる。この場合、増殖や TCE の分解は浮遊微生物、付着微生物共に同じ 条件で行われるものと仮定して、付着微生物も含めた液相換算の全分解微生物濃度  $X_{TL}$  を 想定した。メタン、及び TCE の分解はすべて  $X_{TL}$ を基準に考えることができる。 $X_{TL}$ と X、 Xaには下記関係がある。



図 2-1 メタン(S)と TCE(C)の共代謝分解の模式図

$$\begin{split} X_{TL} &= \frac{X_T}{\theta} = (1 + \frac{\rho}{\theta} K_d) X \\ X &= \frac{1}{R_{cell}} X_{TL} , \quad Xa = \frac{K_d}{R_{cell}} X_{TL} \\ R_{cell} &= 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d \qquad \qquad R_{cell} : 浮遊微生物の遅延係数(-) \end{split}$$
(2-5)

注:遅延係数の名称は一般に移動方程式の中で定義されるものであり、この値によって 物質の移送が遅れて見えることから付けられた。2-5 式の展開からは遅延係数と称する意味 はないが、移動方程式の中で定義される *Reell* と同じであるため遅延係数と名づけた。

(2)メタンの分解

メタンは土壌に吸着しないものとした。メタンとTCEは競争阻害を起こすものとして2-6 式の Monod の式を適用した。なお、酸素律速がある場合は 2-7 式が適用できる。

$$Rs = \frac{dS}{dt} = -k_{S} X_{TL} \frac{S}{S + K_{s} (1 + C/K_{c})}$$
(2-6)

$$Rs = \frac{dS}{dt} = -k_{s} X_{TL} \frac{S}{S + K_{s} (1 + \frac{C}{K_{c}})} \frac{A}{A + K_{A}}$$
(2-7)

ここで、 $S: メタン濃度(mg \cdot l^1), k_S: メタン最大分解速度定数(mg \cdot mg^{-1} \cdot d^{-1}), K_S: メタン$  $シ飽和定数(mg \cdot l^1), C: TCE 濃度(mg \cdot l^1), K_C: TCE 飽和定数(mg \cdot l^1), A: 酸素濃度(mg · l^1), K_A: 酸素の飽和定数(mg \cdot l^1) である。$ 

(3)酸素の消費

酸素は土壌に吸着しないものとした。また TCE の分解は酸素律速にならず、分解に要する酸素量も無視できるものとして、酸素の消費はメタンの分解に伴ってのみ起きるものとした。従って酸素濃度の時間変化(*Ro*)は

$$Ro = \frac{dA}{dt} = FRs \tag{2-8}$$

ここで、F:メタンの分解に要する酸素の等量比(-)

(4) TCE の分解

TCE の反応は、土壌への吸・脱着反応( $R_A$ )と微生物分解( $R_B$ )が関与するものとした。 液相の TCE 濃度の時間変化( $R_C$ )は

$$R_C = R_A + R_B \tag{2-9}$$

1)土壌の吸・脱着による変化(*R*<sub>A</sub> )

土壌に吸着した TCE の固相濃度を Ca (mg·kg-1) とすると、吸・脱着による液相濃度の変化は固相濃度の変化量に等しい。

$$\theta R_A = -\rho \, \frac{dCa}{dt} \tag{2-10}$$

従って RAは 2-11 式で表せる。

$$R_A = -\frac{\rho}{\theta} \frac{dCa}{dt}$$
(2-11)

土壌への吸・脱着は瞬時的に平衡に達するケースと平衡に達するのに時間がかかるケース(非平衡状態)がある。一般に平衡吸着等温式として Langmuir や Fleundlich の式が用いられている。しかしここでは計算を簡易的に行うため、平衡状態における土壌への TCE 吸・脱着は線形一次式の関係が成り立つものとした。

TCE の土壌への分配係数を Ka(l·kg-soil)とすると、

$$Ca = K_a C \tag{2-12}$$

平衡状態では 2-12 式を 2-11 式に当てはめる。

$$R_{A} = -\frac{\rho}{\theta} K_{a} \frac{dC}{dt}$$
(2-13)

一方、非平衡状態では、土壌への吸着速度はその時の液相濃度と、固相濃度に平衡な液 相濃度(C\*)の差に比例するものとすると

$$R_{A} = -k_{m}(C - C^{*}) = -k_{m}(C - \frac{Ca}{K_{a}})$$
(2-14)

ここで km: TCE の移動速度係数(d-1)

2)微生物分解(R<sub>B</sub>)

メタンと同様に酸素律速がなく、メタンと競争阻害を起こすものとして

$$R_{B} = \frac{dC}{dt} = -k_{c} X_{TL} \frac{C}{C + K_{c} (1 + \frac{S}{K_{s}})}$$
(2-15)

ここで kc: TCE 最大分解速度定数(mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)

(5) 分解微生物の増殖

分解微生物の増殖は、メタンの資化による増加、内生呼吸による減少、TCE 分解に伴う 減少から成るから

$$R_{XL} = \frac{dX_{TL}}{dt} = -YR_s - k_i X_{TL} + \frac{R_B}{T_c}$$
(2-16)

ここで Y: 菌体転換率(g·g<sup>-1</sup>)、k<sub>i</sub>: 自己分解速度定数 (d<sup>-1</sup>)、T<sub>C</sub>: TCE 分解容量(mg-TCE・ mg-菌体<sup>-1</sup>)

浮遊微生物 Xと付着微生物 Xaの増殖は瞬時的に線形一次式の平衡関係が成り立つものと して 2-5 式からを求めた。 2-2. 溶質の移動方程式

各成分の移動方程式は、2-1 式に上記各反応項を入れることにより求めることができる。 (1) メタン

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_S \frac{\partial S}{\partial l} \right) - v \frac{\partial S}{\partial l} + Rs$$

$$Rs = -k_S X_{TL} \frac{S}{S + K_S \left( 1 + \frac{C}{K_c} \right)}$$
(2-17)

*Ds*:メタンの分散係数(m<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>)

(2) **TCE** 

**TCE**の移動方程式は、平衡状態と非平衡状態で解析できる。 平衡状態では 2-13 式、2-9 式を 2-1 式に代入することで

$$R_{TCE} \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_C \frac{\partial C}{\partial l} \right) - v \frac{\partial C}{\partial l} + R_B$$

$$R_B = \frac{dC}{dt} = -k_C X_{TL} \frac{C}{C + K_C \left( 1 + \frac{S}{K_S} \right)}$$
(2-18)

ここで 
$$R_{TCE}$$
: TCE の遅延係数(-)  $R_{TCE} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_a$   
非平衡状態では 2-14 式と 2-9 式を 2-1 式に代入することで、

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_C \frac{\partial C}{\partial l} \right) - v \frac{\partial C}{\partial l} + R_A + R_B$$

$$R_A = -k_m \left( C - \frac{Ca}{K_a} \right)$$

$$R_B = \frac{dC}{dt} = -k_C X_{TL} \frac{C}{C + K_C \left( 1 + \frac{S}{K_s} \right)}$$
(2-19)

(3) 分解微生物

-

移流・分散は浮遊微生物にのみ起こるため、2-5 式の関係を用いることで液相濃度の全分 解微生物濃度 XrLの移動方程式を導くことができる。

$$\frac{\partial X_{TL}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_X \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL}}{R_{cell}} \right) \right) - v \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL}}{R_{cell}} \right) + R_{XL}$$

$$R_{XL} = \frac{dX_{TL}}{dt} = -YRs - k_i X_{TL} + \frac{R_B}{T_c}$$
(2-20)

### 2-3. まとめ

帯水層をメタン、TCE、浮遊微生物が移動することを想定し、下記反応条件を想定して 一次元の溶質移動方程式に導入したモデル式を作成した。

- 1) 浮遊性微生物(X)と付着微生物(Xa)は同じ条件で分解、増殖する。付着微生物と浮遊微 生物の分配は線形一次式の関係があり(Xa/X=Ka)、その分配は瞬時的に平衡に達する。
- 2) 付着微生物も液相換算した全分解微生物 *Xrrt*(**mg**·*I*<sup>1</sup>)を想定し、分解、増殖は *Xrr*で計算 する。
- 3) メタンは土壌に吸着しない。メタンの微生物分解は TCE との競争阻害を含む Monod の

式 
$$(R_s = \frac{dS}{dt} = -k_s X_{TL} \frac{S}{S + K_s (1 + C/K_c)})$$
 で表せる。

- 4)酸素は TCE 分解による消費は無視できるものと仮定し、メタンの分解に伴ってその等量比 Fの割合で消費されるものとする(Ro = FRs)。但し、バイアル試験を除き、土壌カラム試験等では酸素律速は起こらないものとする。
- 5) TCE は土壌に吸・脱着し、その吸・脱着平衡は線形一次式で表せる(Ca/C=Ka)。
- 6) 吸・脱着速度は瞬時的に平衡に達するケース ( $R_A = -\frac{\rho}{\theta}K_a \frac{dC}{dt}$ ) と土壌への吸着速度 がその時の液相濃度と、固相濃度に平衡な液相濃度の差に比例する非平衡状態のケース

$$(R_A = -k_m(C - \frac{Ca}{K_a}))$$
を想定する。

7) TCE の微生物分解速度(RB)はメタンとの競争阻害を含む Monod の式

$$(R_B = \frac{dC}{dt} = -k_C X_{TL} \frac{C}{C + K_C (1 + \frac{S}{K_S})})$$
で表せる。酸素濃度は律速しない。

8) 分解微生物はメタンの資化により増殖し、自己分解速度(ki)、TCE の代謝により死滅す

$$\mathcal{Z}(R_{X_{TL}} = \frac{dX_{TL}}{dt} = -YRs - k_i X_{TL} + \frac{R_B}{T_C})_c$$

10) TCE の移動方程式は吸・脱着が瞬時に

9) メタンの移動方程式は
$$\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} (D_s \frac{\partial S}{\partial l}) - v \frac{\partial S}{\partial l} + Rs$$
で表せる。

平衡に達する場合、
$$R_{TCE} \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} (D_C \frac{\partial C}{\partial l}) - v \frac{\partial C}{\partial l} + R_B$$
,  $R_{TCE} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_a$   
非平衡の場合、 $\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} (D_C \frac{\partial C}{\partial l}) - v \frac{\partial C}{\partial l} - k_m (C - \frac{Ca}{K_a}) + R_B$  で表せる。

11) 液相換算分解微生物の移動方程式は

$$\frac{\partial X_{TL}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left[ D_X \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL}}{R_{cell}} \right) \right] - v \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL}}{R_{cell}} \right) + \frac{dX_{TL}}{dt} \ categories determined on the set of the$$

## 2-4. 記号一覧

記号	名称	単位
t	時間変数	(d)
1	位置変数	(m)
ρ	土壌見かけ密度	(g·m/1)
θ	空隙率	(-)
V	土壌間隙中の実流速	(m·d-1)
$D_{\rm S}$	メタンの分散係数	(m <sup>2</sup> ·d <sup>-1</sup> )
Dc	TCE の分散係数	(m <sup>2</sup> ·d <sup>-1</sup> )
Dx	浮遊微生物の分散係数	(m <sup>2</sup> ·d <sup>-1</sup> )
S	液相メタン濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
$S_0$	流入(/初期)メタン濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
C	液相 TCE 濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
$C_0$	流入(/初期)TCE 濃度	(mg· <i>I</i> <sup>1</sup> )
Ca	固相 TCE 濃度	(mg·kg <sup>-1</sup> )
Ka	TCE の分配係数	(/· kg <sup>-1</sup> )
km	TCE の移動速度係数	(d-1)
X	(分解)浮遊微生物濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
Xo	初期(分解)浮遊微生物濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
Xa	(分解)付着微生物濃度	(mg·kg <sup>-1</sup> )
Xa <sub>0</sub>	初期(分解)付着微生物濃度	(mg·kg <sup>-1</sup> )
XT	全分解微生物濃度	(mg· <i>I</i> -soil-1)
$X_{ m TL}$	液相換算全分解微生物濃度	(mg· <i>I</i> <sup>1</sup> )
$K_d$	分解微生物の分配係数	(/·kg <sup>-1</sup> )
A	液相酸素濃度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
KA	酸素の 飽和定数	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
ks	メタンの最大分解速度定数	(mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )
. <i>Ks</i>	メタンの飽和定数	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )
kc	TCE の最大分解速度定数	(mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )
Kc	TCE の飽和定数	(mg· <i>I</i> <sup>1</sup> )
Y		(g·g <sup>-1</sup> )
k <sub>i</sub>	自己分解速度定数	(d <sup>-1</sup> )
Tc	TCE 分解容量	(g·g-1)
RTCE	TCE の遅延係数	(-)
$R_{\rm cell}$	浮遊微生物の遅延係数	()
RA	TCEの吸・脱着反応速度	(mg·/1·d-1)
$R_{\rm B}$	TCE の微生物分解速度	(mg· <i>l</i> <sup>1</sup> ·d <sup>-1</sup> )

#### 第3章 密閉バイアル試験における TCE 分解の解析

微生物の TCE の分解特性を調べる場合には、最初に密閉式バイアル試験を行うのが一般 的である。この試験では適量の培地と微生物を入れ、テフロンライナー付ゴム栓で蓋をし た後、アルミシールで密閉する。その後、メタン添加時は、ヘッドスペースの空気を必要 量のメタンと置換し、TCE をマイクロシリンジで注入し、恒温条件下で振とう混合する。 定期的にヘッドスペースガスを採取し、TCE やメタン濃度をガスクロマトグラフで測定す る。液相濃度はヘンリーの式を用いて計算する。また、微生物濃度の変化は分光光度計で の吸光度 OD600 又は OD580 値を測定し、cell 数もしくは SS 濃度に換算する。経時的に TCE 濃度や微生物濃度を測定することで分解特性を把握することができる。密閉式バイアル瓶 では微生物による TCE の分解やメタンの消費は液相で起きるが、その結果、気液平衡関係 を維持するためにガス相から液相への溶解が生じる。従って、微生物によるメタンの消費 量はガス相からの溶解も考量した系全体で計算する必要がある。ここではこうした密閉バ イアル試験結果を、修正 Monod 反応式を用いたモデル式で解析し、その整合性を調べた。

### 3-1. 解析法

バイアル容器(容積: Vrm/)に、土壌を湿重量で Ws(g)添加し、これに地下水、培地、 分解微生物らの液体を La(m/)加えて密閉条件で分解反応を行い、経時的に TCE やメタン 濃度を計測する試験を想定する。バイアル瓶の液容積を VL(m/)、気相容積を Vg(m/)、固 液部容積を VLs(m/)とすると各容積は下記関係式で求められる。

$$V_{L}=La+W_{S}\frac{\omega}{\rho_{w}}=La+W_{S}\theta\frac{\phi}{\rho}$$
(3-1)

$$V_{G}=V_{T}-La+\frac{Ws}{\rho}(\theta-\omega\frac{\rho}{\rho_{w}}-1)=V_{T}-La+\frac{Ws}{\rho}(\theta-\rho_{w}\theta-1)$$
(3-2)

$$V_{\rm LS} = V_{\rm T} - V_{\rm G} \tag{3-3}$$

ここで、 $\omega$ : 含水率(一)、 $\phi$ : 水分飽和度(一)、 $\rho$ : 土壌の見かけ密度(g·m<sup>h</sup>)、  $\rho_w$ : 水の密度(g·m<sup>h</sup>)、 $\theta$ : 空隙率(一)、

注: 3-1~3-3 式は V<sub>s</sub>を土壌の容積、V<sub>ds</sub>を乾燥土壌の容積、V<sub>w</sub>を土壌間隙水容積、 V<sub>v</sub>を土壌間隙気相容積とすると下記関係を代入して求めることができる。

$$V_{s} = V_{ds} + V_{w} + V_{v},$$
  
$$V_{s} = \frac{Ws}{\rho}, \quad V_{w} = Ws \frac{\omega}{\rho_{w}}, \quad V_{v} = V_{s} \quad (\theta - \frac{\rho}{\rho_{w}}\omega), \quad V_{ds} = \frac{Ws}{\rho}(1 - \theta)$$

液相における TCE の分解、メタン消費、メタン資化性細菌の挙動は第2章で示した 2-7 式と 2-13~2-15 式が適用できる(酸素律速がない場合は 2-6 式の適用)。一方、液相の TCE やメタン濃度とガス相の濃度の関係はヘンリーの法則を当てはめて考えることができる。 従って

$$S_{C}=H_{S}S$$
 (3-4)

  $A_{C}=H_{A}A$ 
 (3-5)

  $C_{C}=H_{C}C$ 
 (3-6)

 $S_G$ :メタンのガス相濃度(mg· $l^1$ -ガス容積)、S:メタンの液相濃度(mg· $l^1$ )

Hs:温度T℃におけるメタンのヘンリー定数(無次元)

 $A_G: 酸素のガス相濃度(mg·<math>l^1$ -ガス容積)、  $A: 酸素の液相濃度(mg·<math>l^1$ )

HA: 温度 T℃における酸素のヘンリー定数(無次元)

 $C_G$ : TCE のガス相濃度(mg·h-ガス容積)、 C: TCE の液相濃度(mg·h)

Hc: 温度 T℃における TCE のヘンリー定数(無次元)

密閉バイアル瓶内でのメタン、TCE、酸素の重量を Srw、Orw、Arw とすると

 $S_{\Gamma W} = V_G S_G + V_L S$ 

同様に

$$A_{TW} = V_G A_G + V_L A$$
  
=  $\gamma S$   $\sum \mathcal{O} \gamma = (V_G H_A + V_L)$  (3-8)  
 $O_{TW} = V_G C_G + V_L C + W_S C_A$ 

$$= \beta C + W_S C_a \quad z z \tilde{c} \quad \beta = (V_G H_C + V_L)$$
(3-9)

但し、メタン、酸素は土壌に吸着しないものとする。

時刻 tの液相濃度を  $S^t$ 、 $A^t$ 、 $C^t$ 、 $X_{TL}^t$ 、固相 TCE 濃度を  $Ca^t$ 、全体のメタン、酸素、TCE 重量を  $STw^t$ 、 $ATw^t$ 、 $CTw^t$ 、微小時間  $\Delta t$  後の濃度、重量をそれぞれ  $S^{t+\Delta t}$ 、 $A^{t+\Delta t}$ 、 $C^{t+\Delta t}$ 、  $X_{TL}^{t+\Delta t}$ 、 $Ca^{t+\Delta t}$ 、 $STw^{t+\Delta t}$ 、 $ATw^{t+\Delta t}$ 、 $CTw^{t+\Delta t}$ とすると、系全体の消失量は微生物反応のみ で起きることから

$$\Delta S_{TW} = S_{TW}^{t+\Delta t} - S_{TW}^{t} = RsV_L \Delta t$$

$$S^{t+\Delta t} = \frac{R_{s}V_{L}}{\alpha}\Delta t + S^{t}, \qquad R_{s} = -k_{s}X_{TL}\frac{S^{t}}{S^{t} + K_{s}(1 + C^{t}/K_{c})}\frac{A^{t}}{K_{A} + A^{t}}$$
(3-10)

$$\Delta A_{TW} = A_{TW}^{t+\Delta t} - A_{TW}^{t} = RoV_{L}\Delta t$$

$$A^{t+\Delta t} = \frac{RoV_{L}}{\gamma}\Delta t + A^{t}, \quad Ro = FRs \qquad (3-11)$$

$$\Delta C_{TW} = C_{TW}^{t+\Delta t} - C_{TW}^{t} = R_{B}V_{L}\Delta t$$

$$C^{t+\Delta t} = \frac{R_{B} + R_{A}}{\beta}V_{L}\Delta t + C^{t} \qquad (3-12)$$

$$R_{B} = -k_{C} X_{TL} \frac{C'}{C' + K_{C} (1 + \frac{S'}{K_{s}})} \qquad R_{A} = -k_{m} (C' - \frac{Ca'}{K_{a}})$$

 $T_c$ 

$$Ca^{t+\Delta t} = -\frac{V_L}{Ws} R_A \Delta t + Ca^t$$

$$X_{m}^{t+\Delta t} = (-YRs - k_L X_m^{t} + \frac{R_B}{M}) \Delta t + X_m^{t}$$
(3-14)

一般的にはオイラー法と称されるこの数値計算法により十分に微小な $\Delta t$ の値を与えれば上記 3-10~3-14 式を繰り返し行うことでその経時変化を近似的に求めることができる。  $\Delta t=0.02d$ 以下では計算結果にほとんど差がないことから近似計算の $\Delta t$ は0.02dで行った。

なお、ヘンリー定数と温度の関係は TCE に関しては Gossett ら 59)が、またメタンについては化学便覧 60)から求めることができる。この関係を図 3-1、図 3-2 に示す。



3-2. 単離菌体の TCE 分解容量測定時のパラメータ

へ留里市場汚染土壌、地下水から単離した<sup>55)</sup>メタン資化性細菌 Methylocystis sp.EB1、 Methylomonas sp. KSWⅢ、および芳香族資化性細菌 Rastonia eutropha KT-1の TCE 分 解容量測定試験の経過を、モデル式との整合性で検討した。

(1) TCE 分解容量の試験方法と結果

TCE 分解容量の測定は、対数増殖期の培養菌体を回収し、10m/リン酸緩衝液(10mM、 pH7)で洗浄後遠心分離し、リン酸緩衝液に再懸濁させた。33m/のバイアル瓶にリン酸緩衝 液を5m/入れ密栓後、単離菌体濃度が125mg・<sup>1</sup>(5×10<sup>8</sup> cells·m<sup>1</sup>)、液相TCE 濃度が1 mg・ <sup>1</sup>になるように注入し、20℃恒温室で静置培養した。経時的にヘッドスペース中のTCE 濃 度を測定し、液相TCE 濃度が 0.03 mg・<sup>1</sup>以下になったら新たにTCE を注入し、1 mg・<sup>1</sup> に再調整した。この操作をTCE 分解活性がなくなるまで行い、TCE 分解容量を求めた 40。 測定結果を図 3-3 に示す。

EB1 株では TCE 添加が 3回、KSWⅢ株では 2回添加で分解効果はなくなったが KT-1

株では 7 回添加してもまだ TCE の分解効果は残っていた。TCE 分解活性がなくなった時 の添加回数から 3-9 式を用いて TCE 分解量を求め、TCE 分解容量を求めた。このときの TCE 分解容量( $T_c$ )は EB1 株で 0.062(g·g<sup>-1</sup>)、KSWIII株で 0.041(g·g<sup>-1</sup>)、KT-1 株で 0.2(g·g<sup>-1</sup>) となった。EB1 株、KSWIII株の  $T_c$ 値は表 1-4 に示した値と若干、異なった。これは測定 条件が異なること(表 1-4 の  $T_c$ 測定は TCE 添加濃度 10 mg· $I^1$ 、25℃で振とう)、および 菌株の保存状態や培養状態によって値が変わることもあり、こうしたものが影響したと考 える。

(2)解析法とシミュレーション結果

 $T_{c}$ 

この試験では resting cell を用いているためメタンの共存がなく、競争阻害が起きない。 また土壌を添加していないため吸着効果も考慮する必要がない。従って 3-12 式、3-14 式 はより簡単に表せる。

$$C^{t+\Delta t} = \frac{R_B}{\beta} V_L \Delta t + C^t, \qquad R_B = -k_C X \frac{C^t}{C^t + K_C}$$

$$X^{t+\Delta t} = (-k_i X^t + \frac{R_B}{T}) \Delta t + X^t$$
(3-16)

 $X=125 \text{ mg} \cdot P^1$ 、 $k_i = 0.1 \text{d}^{-1}$ に設定し、Tc値に上記実測値を入れて 3-15~3-16 式を用いて kc、  $Kc \varepsilon$ パラメータフィッティング操作により試験結果に合わせたときの結果を図 3-3 に実線 として合わせて示す。またその時のパラメータ値を表 3-1 に示す。

kc値は 1.2~4 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、Kc値は 6~12 mg·l<sup>-1</sup>の範囲にあり、各単離菌株間で大き な差はなかった。EB1 株、KT1 株の最後の TCE 分解時に計算結果と実測値に若干の差は 見られるが概ね良く一致した。従って resting cell を用いた TCE の分解はメタン資化性細 菌、芳香族資化性細菌共に代謝産物の毒性効果を含めた Monod のモデル式で良く表せるこ とが確認できた。



図3-3 各単離菌体のTCE分解容量の測定データとシミュレーション結果

単離菌体 パラメータ	Methylocystis sp. EB1	Methylomonas sp. KSWIII	<i>Ralstonia eutropha</i> KT-1
$X_0  (\mathrm{mg} \cdot I^1)$	125	125	125
$T_C$ (g·g <sup>-1</sup> )	0.062	0.041	0.2
kc (mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	1.2	4	3
$K_C$ (mg· $l^1$ )	9	12	6
$k_i$ (d <sup>-1</sup> )	0.1	0.1	0.1

表 3-1 単離菌体の TCE 分解容量測定時のシミュレーションパラメータ設定値

3-3. メタン集積培養体の分解パラメータ

次にメタン集積培養体、および汚染帯水層土壌を用いた密閉形のバイアル、フラスコ試 験結果についてモデル式との整合性を検討した。

(1) メタンが共存しない系での TCE 分解

久留里市場のTCE汚染現場から採取した土壌と地下水にメタンを添加してメタン資化性 細菌の集積培養を行い、その集積培養菌体のTCE分解特性を調べた<sup>40)</sup>。

1) 試験法と測定結果

125m/のバイアル瓶に洗浄した集積培養体を NMS 培地に OD<sub>600</sub>=1.0(約 250mg・*P*<sup>4</sup>)にな るようにして 20m/入れ、バイアル瓶を密閉後、TCE 濃度をそれぞれ液相濃度で 1、5、10、 25、50、100 mg・P<sup>4</sup>になるようにマイクロシリンジで注入した。30℃で振とうし、経時的 に液相 TCE 濃度の変化を調べた。結果を図 3-4 に示す。



図 3-4 メタン集積培養体のTCE分解に及ぼすTCE濃度の影響

初期添加 TCE 濃度 10 mg・P-以上では TCE 濃度が残留していることから、定常に達した 反応時間 1 時間以上の平均値を用いて TCE 分解容量(Tc)を求めた結果を図 3-5 に示す。

TCE 分解容量(*Tc*)は初期 TCE 添加濃度が高くなるにつれ若干増加する傾向が認められた。 また集積培養体においても TCE10~50 mg·*P*<sup>1</sup>で 0.12~0.15 の高い *Tc*値が得られた。 2)シミュレーション結果 この試験においてもメタンが共存しないこと、土壌を添加してないことから 3-15、3-16 式を用いて計算できる。一方、3-15式から両辺をXで割って逆数をとると Lineweaver-Burk の関係式が得られる。

$$-XV_L \frac{\Delta t}{\Delta C_{TW}} = \frac{KC}{k_C} \frac{1}{C} + \frac{1}{k_C}$$
(3-17)

*C*rw=β*C*、VL0.021、VG0.1051、30℃におけるヘンリー定数はHc=0.495 から

 $\beta = (V_{\rm G}H_{\rm C}+V_{\rm L}) = 0.072$  (1)

図 3-4 の最初 30 分間の反応量を求め(表 3-2)、その結果を 3-17 式に当てはめて Cを添加時の初期濃度(表 3-3)、および30分間の反応の平均値(表 3-4)を用いてそれぞれ計算した結果を図 3-6、3-7 に示す。



図 3-5 TCE初期濃度とTCE分解容量(Tc)の関係

C <sup>0h</sup> (mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )	<i>О</i> гw <sup>0h</sup> (mg)	C <sup>0.5h</sup> (mg· <i>I</i> <sup>1</sup> )	O <sub>TW</sub> <sup>0.5h</sup> (mg)	$-\Delta O_{\rm TW}$ (mg)	X <sup>0h</sup> (mg· <i>I</i> <sup>1</sup> )
1	0.072	0.15	0.011	0.061	250
5	0.36	0.45	0.032	0.328	250
10	0.72	2.03	0.146	0.574	250
25	1.8	17	1.224	0.576	250
50	3.6	43	3.096	0.504	250
100	7.2	91	6.552	0.648	250

表 3-2 初期 30 分間における TCE 分解速度の計算

図から Lineweaver-Burk の計算で TCE 濃度を添加時初期濃度にプロットした場合、kc =10.3 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、Kc =16.2 mg· $l^1$ の値が、また 30 分間の平均濃度を用いた場合、kc =9.5 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、Kc =8.6 mg· $l^1$ の値が得られた。いずれも相関係数の二乗値は 0.98 以上の高い値を示した。両計算で TCE 最大分解速度定数はいずれも 10 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>前後の値を示したが飽和定数は平均濃度でプロットした場合約半分の値となった。

一方、3-15~3-16 式を用いて、TCE の経時変化を求め、実験データに一致させるように パラメータフィッティングを行った結果を図 3-8 に示す。初期菌体濃度 250 mg・<sup>1</sup>、*Tc*は

図 3-5 を参照に各濃度の実測値を代入した。この時の kcは 25  $mg \cdot mg^{-1} \cdot d^{-1}$ 、 Kcは 6  $mg \cdot P$ となり、Lineweaver-Burk の計算から求めた値に比べ、最大分解速度定数(kc)は高めに、 飽和定数(Kc)は低めであった。Lineweaver-Burk の計算から求めた kc値、Kc値を 3-15~ 3-16 式に入れてシミュレーションした場合、TCE 高濃度添加時で実測値と比較的良く一致 したが、中濃度、低濃度領域では実測値とかなりの差が生じた(図示せず)。パラメータフ ィッティングをした場合も TCE1  $mg \cdot P$ 、10  $mg \cdot P$ の初期残存率に違いは認められるがそ の他は実測値を良く反映しており、Lineweaver-Burk プロットによる計算でパラメータ値 を求めるよりも整合性が良い。競争阻害が無い場合 3-15~3-16 式は比較的広い TCE 濃度 の範囲で TCE 分解挙動を推定できることが示された。

 $C_0 (mg \cdot I^1)$ 1  $1 \Delta C_{TW}$ 1 1 B = X<sup>0h</sup> V<sub>L</sub>  $C_0$  $\Delta t$ B 1 -0.58751 1.70215 0.2 -3.14500.3180 10 0.1 -5.50890.181525 0.04 -5.52960.1808 50 0.02-4.83840.2067 100 0.01 -6.22080.1608

表 3-3 初期添加 TCE 濃度に対する Lineweaver-Burk の計算

表 3-4 平均 TCE 濃度に対する Lineweaver-Burk の計算

$C_{av} (mg \cdot I^1)$	$\frac{1}{C_{av}}$	$B = \frac{1}{X^{0h}} \frac{1}{V_L} \frac{\Delta C_{TW}}{\Delta t}$	$-\frac{1}{B}$
0.575	1.739	-0.5875	1.7021
2.725	0.367	-3.1450	0.3180
6.015	0.166	-5.5089	0.1815
21	0.048	-5.5296	0.1808
46.5	0.022	-4.8384	0.2067
95.5	0.010	-6.2208	0.1608





図3-8TCE分解に及ぼすTCE添加濃度の影響に対する計算値と実測値の比較

(2) メタン、TCE 共存系のメタン消費

1) 試験法と測定結果

久留里市場から得られたメタン集積培養体を遠心分離後、純水洗浄して MNS 培地に OD<sub>600</sub>=0.1(約 25 mg·h)になるように懸濁させてバイアル瓶(125m))に 20m/入れ、ヘッド スペースのメタン濃度が約 30%になるようにメタンを注入した。その後、TCE を液相濃度 でそれぞれ 1、3、5、15、25、50 mg·hになるようにマイクロシリンジで添加して振とう し(30℃)、経時毎の気相メタン濃度を調べた 40)。結果を図 3-9 に示す。

全体に TCE 添加初期のメタン消費に遅延が認められること、TCE 添加濃度に比例して消費が遅れる傾向が認められた。またいずれも気相メタン濃度 20%前後で停止し、これ以上下がることはなかった。これは酸素が消費されたためと考えられる。



2)解析法とシミュレーション結果

メタンと TCE が共存するため 3-10~3-12、3-14 式を用いて計算できる。但し、土壌を 添加してないため *R*<sub>4</sub>=0 である。

メタンの完全酸化によりメタン1モルに対し約2モルの酸素が消費される(重量比で約4 倍)。密閉バイアル瓶内の気相メタン濃度を30%にした場合、メタンは1.4mM、酸素は約 0.7mM しかないため酸素が不足する。即ち、この試験では酸素濃度が律速となって分解反 応が停止したと考えられる。この時の残存メタン量、及び消費されたメタンと酸素量の比 を求めると、密閉バイアル瓶内に最初にあったメタンと酸素の量は、ヘッドスペースのメ タン含有率からメタン量 20.26 mg、酸素量 20.01 mg であった。気相メタン濃度が19% のときに酸素が完全に消費されたとすると、19%時の残存メタン量は、気相メタン濃度を Sgとすると30℃の時 Sg = 122 mg·  $\mu$ となる。この時の液相濃度はS = 3.6 mg·  $\mu$  (ヘン リー定数 H<sub>830</sub>=33.9) となり、バイアル瓶内の全メタン量は 3-7 式から Srw=12.89 mg と なる ( $\alpha$  = 3.58  $\lambda$ )。従って消費された酸素とメタン量の比(F)は 2.7 となる。

メタンの分解に酸素律速が生じるものとして 3-10~3-12、3-14 式を用いて計算を行った。 但し、メタン消費における酸素の飽和定数は知られてないため、仮に硝化菌の増殖におけ る酸素の飽和定数と同等の 0.5 mg・*I*<sup>-1</sup>に <sup>61</sup>)設定した。TCE 分解容量は TCE 濃度によって 異なることから図 3-5 を参考に TCE 初期濃度によって *Tc*を変えた。*ks、Ks、kc、Kcを* 任意に変えて実験値にパラメータフィッティングしたときの結果を図 3-10 に、このときの パラメータ値を表 3-5 に示す。図にはメタン消費の遅延がないものとして実測値のデータを 0.6 日ずらしてプロットした結果を合わせて示した。

TCE 添加濃度 50 mg・<sup>14</sup> では実験値と計算値にまだずれはあるが全体の傾向はほぼ似か よった。従って、酸素律速を含めたモデル式は TCE 共存下でのメタンの消費傾向を反映さ せることができるものと考える。但し、TCE 高濃度添加領域ではパラメータ値の少しの変 化でメタン消費は大きく変わる傾向があった。従ってこうしたケースではシミュレーショ ン結果の取り扱いに注意する必要がある。

	設定値					
添加濃度	0	1	5	15	25	50
パ ラメータ	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	mg∙ <i>ŀ</i> ¹	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	mg∙ <i>ł</i> ¹	mg∙ <i>l</i> ¹
$k_S (mg/mg^{-1}d^{-1})$	10	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
Ks $(mg \cdot l^1)$	0.15	$\rightarrow$	->	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
$K_A (mg \cdot h)$	0.5	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
$k_C (mg/mg^{-1}d^{-1})$	10	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
$K_C  (\mathbf{mg} \cdot I^1)$	25	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
$T_C$ (g·g <sup>-1</sup> )	0.1	0.1	0.1	0.12	0.13	0.15
$X_0  (\mathbf{mg} \cdot I^1)$	25	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
Y (g·g-1)	0.4	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$	$\rightarrow$
$k_i$ (d-1)	0.1	$\rightarrow$		$\rightarrow$	_→	$\rightarrow$

表 3-5 再計算時のパラメータ設定値




(3) メタン、TCE 共存系での TCE 分解

1) 試験法と測定結果

**125m***I*のバイアル瓶に汚染サイトの土壌と地下水、NMS 培地を表 3-6 に示す条件で添加 した。密栓後、気相部にメタン、TCE を添加して TCE の分解性能を調べた <sup>40</sup>。その結果 を図 3-11 に示す。



図3-11 メタン濃度が異なる条件における土壌添加時の TCE処理経過(非平衡吸着)

	C	T1	T2	T3
TCE 濃度 (mg· <i>l</i> <sup>1</sup> )	1.0	1.0	1.0	1.0
気相メタン濃度(%)	0	10	20	40
土 (g)	1.0	1.0	1.0	1.0
T-1 地下水 (m/)	10.0	9.7	9.7	9.7
NMS 培地 (m/)	0	0.3	0.3	0.3

表 3-6 現地土壌、地下水を添加したバイアル試験条件

密栓後いずれも TCE 濃度は若干低下したがその後、6 日目までは一定の値を維持した。6 日目以降メタン 10%、20%添加系において TCE 濃度は更に低下したが無添加時、40%添 加時は僅かに低下するに止まった。

2)解析法とシミュレーション結果

この試験では土壌の添加、メタンの共存があるため 3-10~3-14 式が適用できる。ここで 土壌の見かけ密度を 2.0、空隙率 0.3 にした。また土壌の水の飽和度は 1 とした。このとき に VLは 0.01015 1、Vgは 0.1145 1 となる。土壌の TCE 移動速度係数は大矢らの文献を参 考に 1.5d<sup>-1</sup>に、初期固相 TCE 濃度は零に設定した。初期菌体量は、現地汚染土壌中にメタ ン資化性細菌数が 10<sup>3</sup>CFU·g-soil<sup>-1</sup> 含まれていたことから液相換算の乾燥菌体濃度として 0.0001mg・*H*に設定した(1mg-dry cell=10<sup>9</sup> cells)。その他のパラメータはメタン資化性細 菌の一般的な値、およびパラメータフィッティングにより求めた。実験結果に比較的よく 一致させることができた時のシミュレーション結果を図 3-12 に、設定パラメータ値を表 3-7 に示す。

ハ。ラメータ	設定値	単位	パ・ラメータ	設定値	単位
ks	8	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	ki	0.1	d-1
$K_{\rm S}$	0.1	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	VL	10.15	m1
KA	0.5	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	VG	114.5	m1
F	2.7	-	α	3.892	1
kc	2	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	β	0.067	1
$K_C$	25	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	γ	4.114	1
$T_C$	0.008	g·g-1	$C_0$	1	mg· <i>I</i> <sup>1</sup>
$X_{TL^0}$	0.0001	mg· <i>I</i> <sup>1</sup>	Ka	4	1 ·kg-1
Y	0.4	g·g-1	km	1.5	d-1

表 3-7 計算時のパラメータ設定値



TCE 分配係数 Ka を 4 1 ·kg<sup>-1</sup>にした時に吸着効果を反映して初期の TCE 低減効果を再 現させることができた。6 日目以降の TCE 低下はメタン資化性細菌の増殖に伴う減少であ り、メタン無添加時を除き実測値の低下傾向を反映させることができた。メタン添加率 10% の時に 7 日目以降 TCE 除去効果が急速に低減したのはメタンが消失し、TCE 分解に伴っ て菌体が死滅したためであった。なお、集積培養体を用いた場合に比べ、TCE の最大分解 速度定数(ka)は小さな値にしないと実測値と一致しなかった。また TCE 分解容量も著しく 小さな値にする必要があった。しかし、馴致されてない土壌中の微生物分解パラメータ値 としてはむしろ妥当な値と思われる。

3-4. まとめ

密閉式のバイアルを用いた TCE の分解試験では、液相と気相にメタンや TCE がヘンリ ーの法則に従って分配されており、液相における微生物分解反応の変化に伴って気相濃度 も変化する。従って密閉したバイアル試験における分解の解析には気相濃度や固相吸着量 の変化も考慮した。微小時間における液相での微生物分解反応に伴う減少量が系全体の変 化量として考え、瞬時的に気液平衡が成立するものと想定してメタンや TCE の分解、及び メタン資化性細菌の増殖式を求めた。

上記モデル式を久留里市場汚染サイトから単離した分解菌、メタン集積培養体、及び現 地土壌を添加した各種バイアル試験結果に適用した。その結果、

- 1) resting cell を用いた TCE の分解経過と本モデル式のシミュレーションは良く整合し、 TCE 代謝産物による菌体死滅の解析は妥当であることが示された。
- メタン集積培養体においても TCE の最大分解速度定数が 9.5~25 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>と高く、 TCE 分解容量の大きな値(0.1~0.21 g·g<sup>-1</sup>)が得られることが示された。
- 3) TCE 分解容量は添加 TCE 濃度の増加と共に高くなる傾向が認められた。
- 4) 本モデル式によるシミュレーションは密閉バイアル瓶内におけるメタンと TCE の競合 による分解傾向を良く反映させることができた。
- 5)汚染サイトの土壌を添加したバイアル試験結果のパラメータフィッティングによるシ ミュレーションの結果、土着メタン資化性細菌の kcは 2 mg·mg<sup>1</sup>·d<sup>-1</sup>、Kc 25 mg·l<sup>1</sup>、 TCE 分解容量 0.008 g·g<sup>1</sup>の値が得られた。
- 6)本モデル式によるバイアル試験のシミュレーションでは試験条件によりパラメータ値 を多少変更させる必要はあったが実測値の全体的な処理動向を良く反映しており、本モ デル式の解析が有効なものであることを示した。

## 第4章 土壌カラム試験における微生物分解の解析

バイオスティミュレーションの適用性を評価する場合、バイアル試験で分解微生物の有 無、処理性能、必要栄養条件等を確認した後、汚染帯水層での処理効果を模擬した土壌カ ラム試験が一般的に行われる。土壌カラム試験とは、汚染帯水層から採取した汚染土壌を カラムに詰め、現地汚染地下水にバイアル試験で確認した最適栄養塩や炭素源を添加して 継続的に通水することで帯水層における微生物分解の除去効果を模擬的に調べる試験であ る。この試験では内径 25~50mm、長さ 30~50cm のガラスカラムあるいはステンレスカ ラムを用いることが多い。土壌を充填させたカラムに TCE、炭素源(メタン/トルエン/ フェノール)、窒素・りん酸塩及び必要に応じ微量栄養源等を添加した現地汚染地下水を、 原位置浄化を想定した場合の汚染帯水層における地下水流速と同等レベルの速度もしくは 滞留時間で通水する。通水前後(カラムの入口と出口)の TCE、炭素源、微生物量等を継 続的に測定することで処理性能を把握する。EPA の土壌カラム試験に対するガイドライン <sup>62)</sup>では、目的の汚染物質の分解率がコントロール系の試験結果と比較して 20%以上の除去 率が 3 週間以上継続した場合、バイオスティミュレーションによる現地実証試験の適用が 可能であると推奨している。

NEDO/RITE の「土壌汚染等修復技術開発」のプロジェクトで行った土壌カラム試験で は、実験と維持管理の容易性からメタン資化性細菌の適用においては毎日注入と静置を繰 り返すバッチカラム試験を採用した。しかし、芳香族炭化水素資化性細菌の適用において は、バッチカラムの処理性能が不安定であったこと、及びより実際の修復時の流れに近似 させた場合の処理性能を把握するため、連続的に注入を行なう連続通水カラム試験に変更 した。そこで土壌カラム試験におけるバッチカラム試験と、連続通水カラム試験の解析を 第2章で展開したモデル式を用いて検討し、それぞれの処理特性を調べると共に、両方式 の比較を行った。また併せて、このプロジェクトで実施した土壌カラム試験との比較、お よび地下水循環法を模した土壌カラム試験の解析も試みた。

## 4-1. バッチカラム試験の解析

バッチカラム試験では、土壌カラムにその空隙容積の2~3倍量の原水を1時間もしくは 2時間注入した。その後22~23時間静置し、メタン資化性細菌の増殖とTCEの分解をバッ チ反応で行わせた。24時間目に処理水をサンプリングした後、再度同じように原水の注入 を繰り返した。このバッチ操作を繰り返し行うことでTCE処理性能の動向を調べた。従っ てバイアル瓶内でのバッチ運転を繰り返し行ったことになるが、気相部がないため炭素源 やTCEの気相と液相の分配を考慮しなくて良い点がバイアル瓶内での反応と異なる。更に 液側に浮遊している微生物は短時間に液交換が行なわれるためにその多くがWash-out さ れる可能性が高い。そこで、バッチ運転における初期微生物量はその前のバッチ運転で液 側に浮遊していた微生物は排出され、カラム内に付着していた微生物量のみが残るものと 仮定して解析した。

(1) 計算法

バッチ運転の繰り返しであるためメタン、TCE、分解微生物の経時変化は第2章の(2-6) 式、(2-8)~(2-16)式を基に、1回のバッチ操作における S<sup>+At</sup>、C<sup>+At</sup>、C<sup>at+At</sup>、X<sup>TTt+At</sup>を以 下の近似式で求めた。

1) メタンの変化

$$S^{t+\Delta t} = Rs\Delta t + S^{t}, \qquad Rs = -k_{s}X_{TL} \frac{S^{t}}{S^{t} + K_{s}(1 + C^{t}/K_{c})}$$
 (4-1)

2) **TCE** の変化

$$C^{t+\Delta t} = (R_A + R_B)\Delta t + C^t \quad , \quad R_B = -k_C X_{TL} \frac{C^t}{C^t + K_C (1 + S^t/K_S)}$$
(4-2)

i) 吸脱着が瞬時に平衡に達する場合は  $R_A = -\frac{\rho}{\theta}K_a \frac{dC}{dt}$  であるから

$$C^{t+\Delta t} = \frac{R_B}{R_{TCE}} \Delta t + C^t \quad , \qquad R_{TCE} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_a$$
(4-3)

$$Ca^{t+\Delta t} = -\frac{\theta}{\rho} R_A \Delta t + Ca^t$$
(4-4)

ii) 吸脱着が非平衡の場合は  $R_A = -k_m (C' - \frac{Ca'}{K_a})$  であるから

$$C^{t+\Delta t} = \left(-k_m \left(C^t - \frac{Ca^t}{K_a}\right) + R_B\right) \Delta t + C^t$$
(4-5)

$$Ca^{t+\Delta t} = -\frac{\theta}{\rho} R_A \Delta t + Ca^t$$
(4-6)

3) 分解微生物の増殖

$$X_{TL}^{t+\Delta t} = (-YRs - k_i X_{TL}^{t} + \frac{R_B}{T_C})\Delta t + X_{TL}^{t}$$
(4-7)

$$X^{t+\Delta t} = \frac{X_{TL}}{R_{cell}}, \qquad \qquad R_{cell} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d$$
(4-8)

$$Xa^{t+\Delta t} = K_d X^{t+\Delta t}$$
(4-9)

$$X_T^{t+\Delta t} = \theta X_{TL}^{t+\Delta t}$$
(4-10)

4) バッチ操作開始時の初期条件

注入水のメタン、TCE、浮遊微生物濃度をそれぞれ *S*in=*S*<sub>0</sub>、*C*in=*C*<sub>0</sub>、*X*in=0 とし、*t*=0 時 のカラム内土壌の固相 TCE 濃度、浮遊微生物濃度、付着微生物濃度を *Ca*<sup>0</sup>=0、*X*<sup>0</sup>=*X*<sub>0</sub>、 *Xa*<sup>0</sup>=*Xa*<sub>0</sub> とすると、

i)瞬時平衡時

地下水を注入した時点でTCE と分解微生物は液相と固相間で瞬時平衡が成立すると仮定 しているから注入後の各バッチ操作開始時の初期値は

1回目:  $S_1^0 = S_0$ 

$$C_1^{0} = \frac{C_0}{R_{TCE}}, \qquad Ca_1^{0} = K_a C_1^{0}$$

 $X_{TL1^0} = R_{cell}X_0, \quad X_{1^0} = X_0, \quad Xa_{1^0} = Xa_0, \quad Xa_0 = K_aX_0$ 

2回目以降:前のバッチ終了時の固相 TCE 濃度、付着微生物濃度を Cane、Xane とすると、

$$S_{n+1} = S_0$$

$$C_{n+1}^{0} = (C_0 + \frac{\rho}{\theta} C a_n^{e}) \frac{1}{R_{TCE}}, \qquad C a_{n+1}^{0} = K_a C_{n+1}^{0}$$

$$X_{TLn+1}^{0} = \frac{\rho}{\theta} Xa_{n}^{e}, \qquad X_{n+1}^{0} = \frac{X_{TLn+1}^{0}}{R_{cell}}, \qquad Xa_{n+1}^{0} = K_{d} X_{n+1}^{0}$$

- ii)非平衡時
  - 1回目:  $S_1^0=S_0$

$$C_1^{0} = C_0, \qquad Ca_1^{0} = 0$$

$$X_{TLI} = R_{cell} X_0, \quad X_I = X_0, \quad Xa_I = Xa_0, \quad Xa_0 = K_a X_0$$

2 回目以降:

$$S_{n+1}^{0} = S_{0}$$
  
 $C_{n+1}^{0} = C_{0}, \qquad Ca_{n+1}^{0} = Ca_{n}^{e}$ 

$$X_{TLn+1}^{0} = \frac{\rho}{\theta} X a_{n}^{e}, \qquad X_{n+1}^{0} = \frac{X_{TLn+1}^{0}}{R_{cell}}, \qquad X a_{n+1}^{0} = K_{d} X_{n+1}^{0}$$

(2) 初期微生物量、吸着パラメータ値

1) 空隙率、見掛け密度

へ留里市場汚染サイトの帯水層は細砂からなり、空隙率 $\theta$ は約0.3であった。見掛け密度  $\rho$ は1.6 kg·hに設定した。

2) 初期微生物量と分配係数

へ留里市場汚染サイトの土壌にはメタン資化性細菌が10~10<sup>5</sup>cells・g-soil<sup>-1</sup>生息していた。 メタン資化性細菌の集積培養体における乾燥菌体 1mg は約 10<sup>9</sup>cells に相当していたことか ら 10~10<sup>5</sup>cells·g-soil<sup>-1</sup>は付着微生物の乾燥菌体重量換算で 10<sup>-5</sup>~0.1mg·kg<sup>-1</sup>に相当する。 初期付着微生物濃度はこの範囲で任意に設定した。土壌と液相への分配係数は Jenkins ら の砂質土を用いたカラム実験から求めた文献値 <sup>58)</sup>を参考に *Ka*=0.3 *l*·kg-soil<sup>-1</sup>に設定した。 3) TCE の分配係数、遅延係数

NEDO の試験では <sup>56)</sup>久留里汚染現場の土壌を内径 2cm、長さ 10cm のカラムに詰め、TCE 溶解液の連続通水試験を行ない、その流出曲線から TCE の遅延係数を求めた。その結果 TCE 遅延係数(*R<sub>TCE</sub>*)は 1.2~3 の値であった。

 $R_{TCE}=(1+\rho/\theta \times K_a)$ を基に分配係数  $K_a$ 値を求めると、現地砂質土の  $K_a$ 値は 0.04~0.4 /·kg-soil<sup>-1</sup>の値となる。そこで  $K_a$ 値は 0.04~0.4 /·kg-soil<sup>-1</sup>の範囲で設定した。

また、非平衡時の TCE の移動速度係数は大矢ら 450の文献を参考に km=1.5 d-1 とした。

(3) 瞬時平衡吸着と非平衡吸着シミュレーションの比較

久留里汚染現場の土壌を用いた土壌カラム試験結果を基に、TCEの分配係数(Ka)を 0.04 ℓ・kg-soil<sup>-1</sup> とした場合のバッチカラム試験経過の瞬時平衡吸着時のシミュレーション結果 を図 4-1 に、非平衡吸着時の結果を図 4-2 に示す。また、毎日のバッチ操作終了時の濃度を プロットしたものを図 4-3~4-4 に示す。このときのパラメータ設定値を表 4-1 に示す。

 $\Delta t$ を変えてオイラー法で計算した結果、 $\Delta t$ =0.02d 以下では計算結果にほとんど差がなかったことから $\Delta t$ は以降 0.02d で計算した。

メタン添加によりメタン資化性細菌の増殖が始まり、3日目には0.7 mg・*I*-soil-1まで増え、 メタンは完全に消費された。各バッチ過程におけるメタン、メタン資化性細菌の動向は平 衡吸着、非平衡吸着で大きな差はなかった。しかし、TCE 濃度はバッチ操作1回目に差が 認められた。即ち、平衡吸着では瞬時に0.41 mg・*I*<sup>1</sup>に低下したのに対し非平衡吸着では時 間経過とともに徐々に低下し、24 時間目に0.41 mg・*I*<sup>1</sup>となった。しかしバッチ操作2回目 の2日目には共に0.5 mg・*I*<sup>1</sup>まで上昇し、3日目以降メタン資化性細菌の増殖により微生物 による分解が加わり、バッチ操作終了時には0.4 mg・*I*<sup>1</sup>まで低下した。初日のTCEの減少 は土壌への吸着によるものであり、この吸着が2日目には飽和に達したことからその減少 効果がなくなった(図4-7参照)。3日目以降両シミュレーション共メタンが消費され、そ

パラメータ	設定値	単位	パラメータ	設定値	単位
土壌見かけ密度 ρ	1.6	kg· <i>l</i> <sup>1</sup>	ks	10	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>
空隙率 0	0.3	-	Ks	0.2	mg· <i>ł</i> <sup>1</sup>
初期付着メタン資化菌 Xao	0.0001	mg·kg-1	kc	5	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>
メタン資化菌分配係数 Kd	0.3	l∙kg ⁻¹	KC	10	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>
添加メタン濃度 So	6	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	Y	0.4	g·g <sup>-1</sup>
添加 <b>TCE</b> 濃度 Co	0.5	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	k <sub>i</sub>	0.1	d-1
初期 TCE 吸着量 Cao	0	mg·kg-1	$T_C$	0.05	g·g-1
TCE 分配係数 Ka	0.04	1•kg -1	吸着速度係数 km	1.5	d-1

表 4-1 バッチカラム試験の瞬時平衡/非平衡吸着シミュレーションのパラメータ設定値







図 4-2 バッチカラム試験のシミュレーション(非平衡吸着 Ka=0.04L/kg)



図4-3a 処理水メタン、TCEのシミュレーション(瞬時平衡吸着 Ka=0.04L/kg)





図4-4a 処理水メタン、TCEのシミュレーション(非平衡吸着 Ka=0.04L/kg)



図4-4b メタン資化性細菌動向のシミュレーション(非平衡吸着 Ka=0.04L/kg)



図4-5 各バッチ過程におけるメタン、TCE、メタン資化性細菌の挙動

の濃度が低下してから TCE が顕著に減少し、同時にメタン資化性細菌が減少するパターン が繰り返された(図 4-1,2)。これはメタンと TCE の競争阻害、及び TCE 代謝によるメタン 資化性細菌の死滅効果がシミュレーションよる処理経過に顕著に現れたものと考える。

処理水の TCE 濃度はバッチカラム試験開始当初、変動が認められたが 4 日目以降平衡、 非平衡吸着共、ほぼ定常に達し、0.4mg・*Г*<sup>1</sup>、除去率 20%の値が得られた(図 4-3a、図 4-4a)。 しかし、バッチ運転終了時の浮遊微生物や付着微生物濃度には周期的変動が認められた(図 4-3b、図 4-4b)。これはバッチ試験終了時の残存メタン資化性細菌が多いと次のバッチ注入 試験ではメタンが短時間で消費されてその後の競争阻害効果のない TCE 分解反応時間が長 くなった。その結果、TCE 分解に伴うメタン資化性細菌の死滅量が増加してバッチ終了時の 残存メタン資化性細菌量が減少した。次のバッチ操作では初期メタン資化性細菌量が少な いためメタン消費に時間がかかり、結果、TCE 分解に要する時間が短くなるためバッチ操作 終了時の残存メタン資化性細菌は増えた。この繰り返しが行われたため、周期的変動が生 じたと考えられる(図 4-5 参照)。

TCE の分配係数  $K_a$  値を 10 倍高くして  $K_a=0.4 I \cdot kg^{-1}$ にした場合の非平衡吸着シミュレーションの結果を図 4-6 a、b に示す。また  $K_a=0.04 \ge 0.4 I \cdot kg^{?1}$ のバッチ運転終了時の液相、固相 TCE 濃度の処理経過比較を図 4-7 に示す。

土壌への吸着割合が増すとバッチカラム試験開始時の TCE 低下は著しくなった。しかし、 固相吸着量が平衡に近づくにつれ処理水 TCE 濃度は増加し、10 日後には定常に達した。そ の時の処理水 TCE 濃度は分配係数が低い場合と同じになった。即ち、Ka値は土壌への吸着 による TCE の初期低下に大きな影響を与えるが吸着量が平衡に達した後の処理性能には影 響しない。また、固相濃度が平衡に達した後の処理性能は瞬時平衡吸着のシミュレーショ ン結果と同じものになることが示された。



(4) パラメータの影響

バッチカラム試験のメタン消費、TCE 分解、及びメタン資化性細菌の動向に対する各パ ラメータの影響を調べるため 表 4-2 に示すパラメータ値を基準にそれぞれのパラメータ値 を変動させた。

計算では、 $\rho = 1.6 \text{ kg} \cdot I^1$ 、空隙率  $\theta = 0.3$ 、初期付着メタン資化性細菌量  $X_a^0 = 0.0001 \text{ mg} \cdot \text{kg}^-$ 、TCE 分配係数( $K_a$ ) 0.04  $I \cdot \text{kg}^-$ 、添加メタン濃度 4 mg ·  $I^1$ 、添加 TCE 濃度 ( $C_0$ ) 0.5 mg ·  $I^1$ 、初期固相 TCE 濃度 ( $C_{a0}$ ) 0 mg · kg <sup>-1</sup> とした。

基準設定値に対し各パラメータ値を変動させた場合の処理水メタン、TCE 処理経過のシ ミュレーション結果を図 4-8 a,b~4-16 a,b に示す。設定値によって変動や発散を起こすケ ースも認められた。以下、各パラメータのメタン、TCE 除去性能に及ぼす影響をまとめる。

パラメータ	基準設定値	変動幅	単位
So (メタン)	4	2~10	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>
$C_0$ (TCE)	0.5	0.3~2	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>
ks	10	1~20	$\mathrm{mg} \cdot \mathrm{mg}^{-1}\mathrm{d}^{-1}$
Ks	0.2	$0.2{\sim}3$	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>
<b>k</b> c	5	1~30	$mg \cdot mg^{-1}d^{-1}$
Kc	10	1~30	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>
$T_C$	0.05	0.02~0.2	g·g <sup>-1</sup>
$X_{a^{O}}$	0.0001		mg·kg-soil <sup>-1</sup>
Y	0.4	0.2~1.0	g•g-1
ki	0.1		d-1
Kd	0.3	0.3~10	/• kg-1

表 4-2 バッチ繰返しカラム運転事例計算のパラメータ設定値

1)メタン最大分解速度定数(ks) (図 4-8)

いずれも初期に吸着による TCE の減少が認められたが 1~2 日で飽和に達した。ksが 1 mg·mg<sup>1</sup>d<sup>-1</sup>ではメタン資化性細菌の増殖が起こる前に TCE の分解による死滅が起こり、 メタン、TCE の除去は行われなかった。一方 ksが 5mg·mg<sup>1</sup>d<sup>-1</sup>では、メタンは消費された がメタン資化性細菌の変動が起こり、残留メタン濃度、TCE 濃度共に周期的変動が認めら れた。10 mg·mg<sup>1</sup>d<sup>-1</sup>ではメタンは速やかに消費されたが TCE 濃度は周期的変動があり、 経過時間と共に変動幅が大きくなる傾向があった。この条件ではメタン資化性細菌も変動 した。ksが 15 および 20 mg·mg<sup>1</sup>d<sup>-1</sup>では、メタンは速やかに除去され、処理水 TCE 濃度 0.42~0.43 mg· $l^1$ で安定的に除去された。ks値が kc値に比べ同等レベルか低いとメタン資 化性細菌の増殖よりも TCE の分解による死滅が起きやすく増殖が不安定になり、結果、メ タンや TCE の除去能が低下したと考えられる。一方、ks値が高いとメタン資化性細菌の安 定した増殖が得られるため、メタン、TCE 除去性能も安定したと考えられる。但し、ks値 が高くなっても TCE 除去率は上がらず、TCE 分解率に及ぼす影響はそれほど大きくはなか った。

## 2) メタン飽和定数(Ks) (図 4-9)

Ks 値が 1 mg・ $\mu$ 以下では、メタンは速やかに消費されたが TCE 濃度は 0.41~0.45 mg・ $\mu$ で若干変動した。Ks 値が 0.5 mg・ $\mu$ ではメタンは 0~0.5 mg・ $\mu$  の間で、TCE 濃度も 0.41 ~0.47 mg・ $\mu$ で変動した。Ks 値が 0.5 mg・ $\mu$  以下では各バッチ運転終了時のメタン資化性 細菌濃度は周期的変動を示した(データ不載)。これに対し Ks 値が 1 mg・ $\mu$ では、メタン資化性細菌濃度は安定し、TCE 濃度も 0.44 mg・ $\mu$ で安定したがメタンは 0.26 mg・ $\mu$ で残留 した。Ks 値が 2 mg・ $\mu$ では、メタンや TCE の減少は 1 週間後から緩やかに起こり始め 20 日目にメタン濃度 2.4 mg・ $\mu$ 、TCE 0.48 mg・ $\mu$ で処理性能は安定した。これは Ks 値が高 くなると TCE 分解の方が親和性を増して TCE 分解が先行するためメタン資化性細菌の死 滅が起こり、メタンの消費や TCE 分解が低下したと考えられる。しかし、Ks 値が小さく なっても TCE 分解率が増えることはなく、TCE 分解率に及ぼす影響はそれほど大きくなか った。

3) TCE 最大分解速度定数(kc) (図 4-10)

*kc*値が 5 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>以下では、メタンは速やかに消費された。*kc*値が 10 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 以上ではメタンの除去効果は不安定となり、大きく変動した。一方、TCE 除去性能では、 *kc*が 1 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>で 0.45 mg·*I*<sup>-1</sup> (除去率 10%)、*kc*が 3 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>で 0.43 mg·*I*<sup>-1</sup> (除 去率 14%)の値が安定して得られた。しかし *kc*値が 5 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>以上では TCE 濃度は 0.4~0.5 mg·*I*<sup>-1</sup>で周期的に変動し、不安定であった。このことは TCE 分解速度の高いメタ ン資化性細菌が必ずしも高い TCE 除去効果を持つ訳ではないことを意味している。

4) TCE 飽和定数(Kc) (図 4-11)

*Kc*値が 10 mg・<sup>14</sup>以上では、メタンは完全に消費された。TCE 濃度は *Kc*値が 10 mg・<sup>14</sup>では 0.41~0.46 mg・<sup>14</sup>で変動したが *Kc*値 20 および 30 mg・<sup>14</sup>では 0.44 mg・<sup>14</sup>で安定した。 一方、*Kc*値が 5 mg・<sup>14</sup>ではメタンの消費は不安定になり、TCE 濃度も大きく変動した。 *Kc*値が 1 mg・<sup>14</sup>では、メタンの消費、TCE 分解は安定したがメタン濃度は 1.8 mg・<sup>14</sup>残留 し、TCE 濃度は 0.46 mg・<sup>14</sup>(除去率も 10%)であった。このことから *Kc*値が低いことが必 ずしも TCE 除去効果を高くする訳ではないことが示された。

5) 菌体転換率(Y) (図 4-12)

菌体転換率(Y)が $0.2 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ では、残留メタン濃度は $0\sim 1.3 \text{ mg} \cdot h$ の間で変動を示したが、 その他の転換率では完全に消費された。一方、TCE濃度は Y値が $0.2 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ で $0.46\sim 0.49 \text{ mg} \cdot h$ 、Y値が $0.4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ で $0.41\sim 0.46 \text{ mg} \cdot h$ 、Y値が $0.7 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ で $0.37 \text{ mg} \cdot h$ 、Y値が $1.0 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ で $0.31 \text{ mg} \cdot h$ の値が得られ、菌体転換率の増加と共に明らかに TCE 除去効果も増すこと が示された。

6) TCE 分解容量(Tc) (図 4-13)

Tc値が 0.02 g·g<sup>-1</sup>以下では、処理水メタン濃度、TCE 濃度は変動し、除去性能も不安定 であった。しかし、Tc値が 0.05 g·g<sup>-1</sup>以上ではメタンは完全に消費された。TCE 濃度は Tc値が 0.05 g·g<sup>-1</sup>では 0.41~0.46 mg· $f^{-1}$ で変動を示し、Tc値が 0.1 g·g<sup>-1</sup>では 0.37 mg· $f^{-1}$ 、 *Tc*値が 0.2 g·g<sup>-1</sup>では 0.30 mg·*F*<sup>1</sup>で TCE 濃度は安定した。TCE 除去性能は *Tc*値の増加と 共に比例的に増え、TCE 除去率は *Tc*値 0.05 g·g<sup>-1</sup>で 8~18%、 *Tc*値 0.1 g·g<sup>-1</sup>で 26%、 *Tc* 値 0.2 g·g<sup>-1</sup>で 40%が得られた。

7)メタン資化性細菌の分配係数(Kd)(図 4-14)

 $K_d$ 値は 0.1~1 hkg<sup>-1</sup>で変動させた。時間経過と共に水質変動が大きくなる傾向があった ため 42 日間計算した。いずれの値でもメタンは当初、完全に消費されていたが  $K_d$ 値が 0.2 hkg<sup>-1</sup>以下では 30 日目以降変動が起こり、若干メタンが残留し始めた。TCE 濃度はいずれ も時間経過と共に周期的変動が認められるようになった。 $K_d$ 値が 0.6 hkg<sup>-1</sup>以上ではその変 動幅は 0.42~0.44 mg·h<sup>-1</sup>でほぼ一定値に収まっていたが、小さくなると変動幅が大きくな り (0.41~0.47 mg·h<sup>-1</sup>)、また  $K_d$ 値が 0.1 hkg<sup>-1</sup>では 35 日目以降急速に広がる傾向があっ た。同様な傾向はカラム内のメタン資化性細菌の動向にも認められた(図 4-14c 参照)。し かし付着特性が異なってもメタン消費やTCE 分解に大きな影響を与えないことが示された。 8) TCE 濃度( $C_0$ )(図 4-15)

TCE 濃度は 0.2~2 mg·*P* で変動させた。*C*oが 0.5 mg·*P*以下ではメタンは完全に消費 されたが、*C*oが 1 mg·*P* 以上では、メタンの消費は大きく変動し不安定であった。一方、 TCE 濃度は *C*oが 0.2 mg·*P* では 0.14 mg·*P* (除去率 30%) で安定したが、*C*oが 0.5 mg· *P* で 0.41~0.46 mg·*P* (除去率 18~8%)、*C*o=1 mg·*P* で 0.91~0.98 mg·*P* (除去率 9 ~2%)、*C*o=2 mg·*P* で 1.92~1.99 mg·*P* (除去率 4~0.5%) で変動した。従って注入メ タン濃度が一定であれば TCE 濃度が低いほうが除去効果は高いことが示された。

9) メタン濃度(So)(図 4-16)

メタン濃度は 2~10 mg・<sup>1</sup>で変動させた。いずれも 3 日目までにメタンは完全に消費された。TCE 濃度は So が 2 mg・<sup>1</sup>で 0.46~0.49 mg・<sup>1</sup> (除去率 8~2%)、So が 4 mg・<sup>1</sup>で 0.41~0.46 mg・<sup>1</sup> (除去率 18~8%)、So が 6 mg・<sup>1</sup> で 0.39~0.40 mg・<sup>1</sup> (除去率 22~20%)、So が 10 mg・<sup>1</sup> で 0.32mg・<sup>1</sup> (除去率 36%)となり、メタン濃度の増加と共に TCE 除去率は明らかに向上した。

以上の結果をまとめると TCE 除去率に大きな影響を与えるのはメタン濃度、TCE 濃度、 菌体転換率、TCE 分解容量であり、パラメータ値に比例又は反比例的に除去効果は変化し た。一方、メタンや TCE の最大分解速度定数、飽和定数は、値によって除去性能が大幅に 低下することもあるが、除去率向上への影響はそれほど大きくはなかった。





























(K」の影響)









(Soの影響)



(Soの影響)

## 4-2. 連続通水カラム試験の解析

帯水層をワンパスで通過した時の処理性能を把握するためにはバッチカラム試験より連 続通水カラム試験の方が修復の実態を良く反映できる。但し、経過時間と共にカラム内の 圧力が増加することがあるためシリンジポンプ等の精度の高い定流量ポンプが必要となり、 バッチカラム試験より維持管理に注意を要する。NEDO/RITE の試験では 63)芳香族資化性 細菌による TCE 分解性能把握のため実施した。この試験では TCE 汚染地下水にメタンと 酸素、及び窒素・リン等の栄養塩を添加した原水をカラム入口に連続的に通水し、反対側 の出口から流出した処理水を分析することで処理性能を継続的に調べた。カラムは内径 40mm、長さ 300mm のクロマト用ガラスカラムを使用した。カラムの滞留時間は修復想定 時の地下水平均流速でほぼ一日の滞留時間に設定した。

(1) 解析法

連続通水カラム試験の解析は第2章の溶質の移動方程式(2-17)~(2-20)式のモデル式が適用できる。但し、メタン、TCE以外の条件(pH、酸素濃度、栄養塩濃度等)は律速因子にならないものとした。またTCEの土壌への吸脱着は計算を簡単にするために瞬時に平衡に達し、線形一次の平衡吸着等温式に従うものとした。

1)近似計算

図 4-17 に示す土壌カラムを M 分割した連続通水カラムを想定した。



図 4-17 連続通水カラム解析の概念図

ここで

 Q :流量 (l·d·1)
 L:カラム全長 (m)

 So :流入水のメタン濃度 (mg·l·1)
 Δl: M 分割時の微小容積の長さ(m)

 Co :流入水の TCE 濃度 (mg·l·1)
 Se:流出水のメタン濃度 (mg·l·1)

 Xo:流入水のメタン資化性細菌濃度 (mg·l·1)
 Ce:流出水の TCE 濃度 (mg·l·1)

 V :土カラムの全容積(l)
 Xe:流出水メタン資化性細菌濃度 (mg·l·1)

 Vj: M 分割時のj 番目の土カラム容積(l)
 θ:空隙率 (-)

Xaj: Vj層の付着メタン資化性細菌濃度(mg·/1-soil)

微小区間を $\Delta I$  微小時間を $\Delta t$ とした場合、j番目の微小容積  $V_j$ における時間 tから t+  $\Delta t$ の物質収支の近似計算は下記で示せるから、

$$\frac{\partial S_{j}}{\partial t} \approx \frac{\left(S_{j}^{t+\Delta t} - S_{j}^{t}\right)}{\Delta t}$$
$$\frac{\partial^{2} S_{j}}{\partial l^{2}} \approx \frac{\left(S_{j+1}^{t} - 2S_{j}^{t} + S_{j-1}^{t}\right)}{\Delta l^{2}}$$
$$\frac{\partial S_{j}}{\partial l} \approx \frac{\left(S_{j}^{t} - S_{j-1}^{t}\right)}{\Delta l}$$

微小容積  $V_j$ における  $t+\Delta t$ 時間目のメタン、TCE、メタン資化性細菌濃度は

$$S_{j}^{t+\Delta t} = S_{j}^{t} + \left[ D_{S} \frac{(S_{j+1}^{t} - 2S_{j}^{t} + S_{j-1}^{t})}{\Delta l^{2}} - v \frac{(S_{j}^{t} - S_{j-1}^{t})}{\Delta l} + Rs^{t} \right] \Delta t$$
(4-11)

$$Rs' = -k_{s}X_{TL}' \frac{S'}{S' + K_{s}(1 + C'/K_{c})}$$

$$C_{j}^{t+\Delta t} = C_{j}^{t} + \left[ D_{C} \frac{(C_{j+1}^{t} - 2C_{j}^{t} + C_{j-1}^{t})}{\Delta l^{2}} - \nu \frac{(C_{j}^{t} - C_{j-1}^{t})}{\Delta l} + R_{B}^{t} \right] \frac{\Delta t}{R_{TCE}}$$
(4-12)

$$R_{B}' = -k_{C}X_{TL} \frac{C'}{C' + K_{C}(1 + \frac{S'}{K_{S}})}$$

$$Ca_{j}^{t+\Delta t} = K_{a}C_{j}^{t+\Delta t}$$
(4-13)

$$X_{TL_{j}}^{t+\Delta} = X_{TL_{j}}^{t} + \left[ Dx \frac{(X_{TL_{j+1}}^{t} - 2X_{TL_{j}}^{t} + X_{TL_{j-1}}^{t})}{\Delta l^{2} R_{cell}} - v \frac{(X_{TL_{j}}^{t} - X_{TL_{j-1}}^{t})}{\Delta R_{cell}} + R_{XL}^{t} \right] \Delta t \qquad (4-14)$$

$$R_{XL}{}^{t} = -YRs^{t} - k_{i}X_{TL}{}^{t} + \frac{R_{B}{}^{t}}{T_{C}}$$

$$X_{j}^{t+\Delta t} = \frac{X_{TLj}^{t+\Delta t}}{R_{cell}}$$
(4-15)

$$Xa_{j}^{t+\Delta t} = \frac{K_{d}}{R_{cell}} X_{TL_{j}}^{t+\Delta t}$$
(4-16)

$$X_{T}^{t+\Delta t} = \theta X_{TL}^{t+\Delta t}$$
(4-17)

2) 初期条件と境界条件

連続通水カラム試験の初期条件は、カラム内の液相にはメタンがなく、TCE は初期濃度 G で液相と固相は平衡状態にあり、メタン資化性細菌は固相に Xao 付着して液相との間に その分配が平衡状態にあるものとして下記のように設定した。

$$S_{j}^{0} = 0, \quad C_{j}^{0} = C_{0}, \quad Ca_{j}^{0} = K_{a}C_{j}^{0}, \quad Xa_{j}^{0} = Xa_{0}, \quad X_{j}^{0} = \frac{Xa_{j}^{0}}{K_{d}}$$
 (4-18)

カラム入口の境界条件は連続的に注入する地下水濃度を、またカラム出口条件はカラム 末端と外側では濃度勾配がないものとした。即ち

$$j=0: S_0' = S_0, \quad C_0' = C_0, \quad Ca_0' = 0, \quad X_0' = Xa_0' = 0$$
 (4-19)

$$j = \mathbf{m} : \frac{\partial S}{\partial l} = \frac{\partial C}{\partial l} = \frac{\partial X}{\partial l} = 0$$
(4-20)

さらに、移流・分散の式の解析においては数値計算の誤差による発散や振動を防止する ために、一般に Courant 数や Bear 数を求めて下記の式を満足するように微小時間 $\Delta t$ 及 び微小区間 $\Delta I$ を設定する必要がある <sup>45),24)</sup>。

Courant 
$$\underline{\mathfrak{A}} = v \frac{\Delta t}{\Delta l} < 1$$
 (4-21)

Bear 
$$\underline{\mathfrak{A}} = \frac{\Delta l}{(\nu + \frac{2D_c}{\Delta l})} > \Delta t$$
 (4-22)

この他に分散に対する移流の速さの比を表すものとして Brenner 数がある (ペクレ数の一種)。

Brenner No. 
$$B = v \frac{L}{D_c}$$
 (4-23)

この値が高いほど分散の効果が低くなり、カラム出口の物質の流出は押し出し流れに近い 形状となる<sup>64)</sup>。

3) 分散係数

物質(溶質)の分散係数 Dcは分子拡散係数(Dcm)と流れの流路によって物質の移動が異な

るために生じる分散移動による物理的分散係数(*D<sub>cp</sub>*)の和である。しかし、水の平均流速が 水中の分子拡散係数のオーダーである 10<sup>-5</sup> cm·s<sup>-1</sup>以上では *D<sub>cm</sub>*は *D<sub>cp</sub>*に比べ無視できるよ うになるため分散係数に近似できる <sup>64</sup>。

 $Dc=D_{cm}+D_{cp}$ 

 $v \gg 10^{-5} (\mathrm{cm} \cdot \mathrm{s}^{-1}) \rightarrow Dc = D_{cp}$  (4-24)

また *D*<sub>cp</sub>は分散移動が土壌間隙毎の流速の違いによって起きるので平均流速 νと合流に要する平均ルート(α;分散度)の関数となる。

 $D_{cp} = v \times \alpha$ 

(4-25)

中村ら <sup>65)</sup>は久留里市場の土壌を用いた土壌カラム試験、及び現地でのトレーサー試験か らトレーサー物質の移動に関する理論式との最適化を行ない、*Dc*を求め、縦方向分散度を 計算した。その結果、縦方向分散度は観測スケールによって変化し、縦方向分散度の対数 と観測スケールの対数が比例関係にあること、この関係は Neuman の実験式とも一致する と報告した(図 4-18 参照: NEDO の報告から抜粋 <sup>66</sup>))。

土壌カラムの長さを 30cm とすると、縦方向分散度は 2×10<sup>-3</sup>(m)のオーダーにあった。 従って 30cm のカラムを一日で通過する試験の場合、実流速は 0.3m・d-1となるから

 $D_{cp}=0.6\times10^{-3}$  (m<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>)

となる。浮遊微生物の分散係数はメタンや TCE のような溶解成分と異なることが考えられる。しかし、付着姓のないメタン資化性細菌(EB1 株)を土壌カラムに注入して連続通水した 試験において溶解性のイオンとほぼ同じ挙動を示した 67ことから、連続通水カラム試験の シミュレーション解析では、*Ds*=*Dc*=*Dx*=0.001(m<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>)として設定した。



図 4-18 縦方向分散度と観測スケールの関係66)

(2) 分割時間 ( $\Delta t$ ) の影響

連続通水カラム試験(ワンパス)の基本設定条件は表 4-3、4-4 に示す値で検討した。

土壌中の初期付着菌体濃度(Xao)、分解菌の分配係数 Ka、TCE 分配係数 Ka及び分解パラメータ値はバッチカラム試験解析時のパラメータと同様の数値に設定した。

シミュレーションの計算を行うにあたり、微小時間 $\Delta t$ の影響を検討した。長さ 30cm の カラムを想定し、10 等分 ( $\Delta l$ =0.03m)にして計算した。

図 4-19 a~d に △ た0.01 日、図 4-20 a~d に、 △ た0.02 日、図 4-21 a~d に、 △ た0.05 日で計算した時のカラム内各地点でのメタン濃度、TCE 濃度、および全メタン資化性細菌 濃度(*X*7)の経過、および処理性能が定常に達した 25 日目のカラム内分布を示す。

いずれの $\Delta t$ でも似たような形状を示したが $\Delta t=0.05d$ では若干濃度経過に揺らぎがあり、 カラム内分布も $\Delta t=0.01d$ や 0.02dに比べわずかな違いが認められた。これに対し $\Delta t$ が 0.02dと 0.01dはほとんど同じ値を示した。従って以降、 $\Delta t=0.02d$ を基準に計算した。

計算の結果、メタン濃度は通水後1日目以降急速に消費が起こり、3日目以降出口濃度は ほぼゼロになった。しかし、TCE 濃度含め各地点で定常に達するのに10日要した。表4-4 の設定値ではメタンはカラム入口近傍では残っていたが中間地点では完全に消費された。 TCE 濃度は入口から5cm あたりから少しずつ減少し、20cm 以降一定値になった。メタン 資化性細菌濃度は入口から10cm のところで最大値を示し、出口に向かって減少した。

記号	内容	単位	設定値
Dc	分散係数	$m^2 \cdot d^{-1}$	0.001
L	カラム長さ	m	0.3
V	実流速	m•d-1	0.3
ρ	土のかさ密度	$kg \cdot I^1$	1.6
$Xa_0$	初期付着菌体濃度	mg·kg <sup>-1</sup>	0.0001
θ	空隙率	_	0.3

表 4-3 連続通水カラム試験計算のカラム設定条件

表 4-4 連続通水カラム試験のパラメータ基本設定値

÷10	ally play		
記方		単位	設定値
$S_0$	入口メタン濃度	$mg \cdot I^1$	4
$C_0$	入口 TCE 濃度	$mg \cdot I^{1}$	0.5
ks	メタン最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	10
Ks	メタン飽和定数	mg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.2
$k_C$	TCE 最大分解速度	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	5
KC	TCE 飽和定数	$mg \cdot I_1$	10
Ka	TCE の分配係数	l·kg⁻¹	0.04
$K_d$	分解微生物の分配係数	l·kg <sup>−1</sup>	0.3
<i>ki</i>	自己分解速度定数	d-1	0.1
Y	菌体転換率		0.4
$T_C$	TCE 分解容量	g•g-1	0.05





(3) パラメータの影響

連続通水カラム試験における各パラメータの影響を調べるためにバッチカラム試験と同 じ基本パラメータ設定値を用いて感度解析を行った。パラメータの基準設定値および変動 幅を表 4-5 に示す。カラムの設定条件は表 4-3 と同じである。

メタンの消費経過、TCEの処理経過、および処理性能が定常に達したと見られる 30 日目 のカラム内メタン資化性細菌の濃度分布の計算結果を図 4-22a ~4-30c に示す。また 30 日 目のメタン除去率、TCE 除去率と各パラメータとの関係を図 4-31a~i に示す。

記号	内容	単位	基準設定値	変動幅
S	入り口メタン濃度	$mg \cdot I^1$	4 ·	2~10
C	入り口 TCE 濃度	$mg \cdot I^1$	0.5	$0.2 \sim 2$
$k_S$	メタン最大分解速度定数	mg·mg-1·d-1	10	$5 \sim 20$
$K_S$	メタン飽和定数	$mg \cdot I^1$	0.2	$0.05 \sim 1$
kc	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	5	$1 \sim 30$
$K_C$	TCE 飽和定数	$mg \cdot I^1$	10	$1 \sim 30$
<i>k</i> <sub>i</sub>	自己分解速度定数	d-1	0.1	
Y	菌体転換率	—	0.4	0.2~1.0
$T_C$	TCE 分解容量	g•g-1	0.1	0.02~0.2
$K_d$	微生物分配係数	l·kg⁻¹	0.3	0.1~1

表 4-5 パラメータの基本設定値(感度解析)

1) メタン分解パラメータ(ks、Ks)

メタン最大消費速度定数(*ks*)を 5~20mg·mg·<sup>1</sup>·d<sup>-1</sup>に、およびメタン飽和定数(*Ks*)を 0.05 ~1 mg·*l*<sup>1</sup>まで変化させた場合のメタン、TCE の処理経過の計算結果を図 4-22a~図 4-23b に、30 日目のカラム出口処理水の *ks、Ks*値に対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカ ラム内メタン資化性細菌の分布を図 4-31a~4-32b に示す。

メタン最大消費速度定数が 5 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> ではメタン資化性細菌は一瞬増え始めたが TCE の分解によりすぐに死滅し、結果、メタンの消費及び TCE の分解もされなくなった。 10~20 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>の範囲では、メタンは ks値の増加と共に速やかにかつ完全に消費され た。TCE 濃度も ks値の増加と共に速やかに分解が進み、1 週間でいずれも 0.42~0.43 mg·  $l^1$ の定常値を示した。定常時のメタン除去率は 7 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>以上でほぼ 100%除去され、 TCE は 10~20 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>の範囲では ks値に関係なく一定の除去率(15%)を示した。 メタン資化性細菌の最大濃度を示す地点は ks値の増加と共にカラム入口側に移動した。

メタン飽和定数(Ks)の値の変化では、飽和定数 1 mg・hのケースではメタン資化性細菌は カラム出口でわずかに増加するにとどまり、メタンは最大時でも 0.44 mg・h 程度しか除去 されなかった。また TCE の分解もほとんど起きなかった。飽和定数が 0.5 mg・h では、メ タンは消費されたが 0.05 mg・h 程度残存した。飽和定数が 0.5 mg・h 未満では、メタンは 3 日目までに速やかにほぼ完全に消費された。TCE 濃度は Ks値が 0.5 mg・h 以上では除去 率は低下したが、 0.5 mg・h 未満では 0.42~0.43 mg・h の範囲で安定し、ほぼ一定の除去 率が得られた。メタン資化性細菌は Ks値の低下と共にカラム入口側に最大ピークの位置が 移行し、かつその最大濃度も増加した。

2) TCE 分解パラメータ(*kc、Kc*)

TCE 最大分解速度定数(kc)を 1~30 mg·mg·l·d·lに、また TCE 飽和定数(Kc)を 1~30 mg·mg·l·lまで変えた場合のメタン、TCE の処理経過の計算結果を図 4-24a~図 4-25b に、30 日目のカラム出口処理水の kc, Kc値に対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカラム内 メタン資化性細菌の分布を図 4-33a~4-34b に示す。

kc値が 1~10 mg·mg·1·d·1ではメタンは速やかに消費されたが、20 mg·mg·1·d·1以上で は除去率は低下し、30 mg·mg·1·d·1でのメタンの消費は緩やかであった。これに対しカラ ム出口の TCE 濃度は kc値が 5~20 mg·mg·1·d·1の範囲では 0.42~0.43 mg·*H*のほぼ一定 の値となり、それ以下でも以上でも除去率は若干、低下した。メタン資化性細菌の分布は、 kc値が高い 30 mg·mg·1·d·1ではカラム入口での増殖が少なく、カラム後半部で増加する傾 向を示したがその最大値は低い値であった。kc値 10 mg·mg·1·d·1以下ではカラム入口から 6~8 c m地点で最大ピークを示し、kc値が小さくなるほど最大値も増加した。

TCE 飽和定数  $K_c$ を変動させた場合、 $K_c$ 値が 1 mg·h・ではメタン、TCE 共に処理されな かった。 $K_c$ 値 3~30 mg·h・では、メタンの消費は速やかに、ほぼ完全に消費された。カラ ム出口の TCE 濃度は  $K_c$ 値 3~10 mg·h・では 0.42~0.43 mg·h・で除去率 15%のほぼ安定 した値が得られた。しかし、10 mg·h以上では除去率は少し低下する傾向が認められた。

61

メタン資化性細菌は Kc値の増加と共に若干カラム入口に近づき、入口から 6~8cm地点 で最大ピークを示した。また、Kc値が高くなるほど最大値も増加した。

kc値が高く、Kc値が低いことは TCE 分解活性に優れていることを意味する。しかし、 連続通水カラムでの計算結果では必ずしも高い TCE 除去性能は得られていない。これは TCE の分解が促進される結果、メタン資化性細菌の死滅割合も増えるため、かえってメタ ン資化性細菌の増殖が抑制されて TCE 除去性能が低下したものと考える。従ってメタン共 存系の浄化においては必ずしも分解活性の高いメタン資化性細菌を利用させる必要がない ことは極めて興味深い知見といえる。

3) 菌体転換率(Y)

メタン資化性細菌の菌体転換率(Y)を0.2~1.0 まで変化させた時のメタン、TCEの処 理経過の計算結果を図 4-26 a、b に、30 日目のカラム出口処理水の Y値に対するメタン除 去率、TCE 除去率、及びカラム内メタン資化性細菌の分布を図 4-35a、b に示す。

菌体転換率 0.2 ではメタン、TCE 共に処理されなくなった。これはメタン資化性細菌の 増殖よりも TCE 分解に伴う死滅の影響が大きかったためと考える。これに対し Y値が 0.4 以上ではメタンはほぼ完全に消費され、Y値が高くなるほどその消費は速やかであった。 TCE の分解は、Y=0.4 で 0.42 mg·h<sup>1</sup>(TCE 除去率 15%)、Y=0.7 で 0.37 mg·h<sup>1</sup>(同 27%)、 Y=1.0 で 0.31 mg·h<sup>1</sup>(同 38%) であり、Y値の増加と共に TCE 除去率は比例的に増加し た。またカラム入口近傍のメタン資化菌性細菌濃度も Y値の上昇と共に増えた。

4) TCE 分解容量(Tc)

TCE 分解容量を 0.02~0.2 g·g<sup>-1</sup>まで変化させた時の処理経過の計算結果を図 4-27 a、b に、30 日目のカラム出口処理水の *Tc*値に対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカラム 内メタン資化性細菌の分布を図 4-36 a、b に示す。

カラム出口のメタン濃度は、*Tc*値 0.02 g·g·1では 0.07 mg·*I*<sup>1</sup>残存したが 0.05~0.2g·g<sup>-1</sup> では 3 日目でほぼ完全に消費された。カラム出口の TCE 濃度は、*Tc*値が 0.02 g·g<sup>-1</sup>では 0.47 mg·*I*<sup>1</sup>(TCE 除去率 6%)、0.05 で 0.42 mg·*I*<sup>1</sup>(同 15%)、0.1 で 0.36 mg·*I*<sup>1</sup>(同 28%)、 0.2 で 0.28 mg·*I*<sup>1</sup>(同 45%)であり、*Tc*値の増加と共に TCE 除去効果は比例的に増えた。 メタン資化性細菌もカラム入口 6~8cm で最大値のピークを示し、*Tc*値の増加と共に最大 値も増加した。

5) 付着パラメータ(*K*<sub>d</sub>)

*Ka*値を 0.1~1 *l*·kg<sup>-1</sup>まで変化させた時の処理経過の計算結果を図 4-28 a、b に、30 日目 のカラム出口処理水の *Ka*値に対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカラム内メタン資化 性細菌の分布を図 4-37a、b に示す。

 $K_{d}$ 値 0.1 I·kg<sup>1</sup>では、カラム後半部においてメタン資化性細菌の増殖が一時的に起こり、 メタンも5日目に 0.31 mg·I<sup>1</sup>まで低下した。しかしその後徐々に減少していった。このた め TCE はほとんど分解されなかった。一方、 $K_{d}$ 値 0.2~1 I·kg<sup>1</sup>では、メタンは速やかに 消費された。また TCE 濃度も 0.42 mg·I<sup>1</sup>(除去率 15%)で安定し、 $K_{d}$ 値による差はほと んど無かった。一方メタン資化性細菌のカラム内分布は、Ka値の増加と共に、その最大値 はカラム入口に近づき、最大値も増加した。

6)メタン濃度(S<sub>0</sub>)

メタン濃度を 2~10 mg·*I*<sup>1</sup> まで変化させた時の処理経過の計算結果を図 4-29 a、b に、 30 日目のカラム出口処理水の *S*<sub>0</sub> に対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカラム内メタ ン資化性細菌の分布を図 4-38a、b に示す。

メタン濃度 2~10 mg·h<sup>1</sup>ではいずれもメタンは速やかに消費された。これに対し、TCE 濃度はメタン添加濃度の増加と共に比例的に低下し、Soが 2 mg·h<sup>1</sup>で 0.46 mg·h<sup>1</sup> (TCE 除 去率 7.5%)、Soが 4 mg·h<sup>1</sup>で 0.42 mg·h<sup>1</sup>(同 15%)、Soが 6 mg·h<sup>1</sup>で 0.39 mg·h<sup>1</sup>(同 23%)、 Soが 10 mg·h<sup>1</sup>で 0.31 mg·h<sup>1</sup>(同 37%)と除去効果は増した。またメタン資化性細菌の濃 度分布もメタン添加濃度の増加と共にカラム入口近傍で著しく増えた。

7) TCE 濃度(C<sub>0</sub>)

TCE 濃度を 0.2~2 mg·*I*<sup>1</sup> まで変化させた時の処理経過の計算結果を図 4-30a、b に、30 日目のカラム出口処理水の Coに対するメタン除去率、TCE 除去率、及びカラム内メタン資 化性細菌の分布を図 4-39a、b に示す。

カラム出口のメタン濃度は Goが 2 mg· P1のときに 0.24 mg· P1、1 mg· P1のときに 0.04 mg· P1であり、1 mg· P1以上でメタン除去率は若干低下した。1mg· P1未満ではほぼ完全に 消費された。これに対しカラム出口の TCE 濃度はいずれも除去された TCE 濃度で 0.067 ~0.076 mg· P1のほぼ一定の値を示した。この結果、TCE 濃度の増加と共に TCE 除去率は 低下し、Goが 0.2 mg· P1のとき 34%、0.5 mg· P1のとき 16%、1 mg· P1のとき 7.6%、2 mg· P1のとき 3.6%と反比例的に減少した。メタン資化性細菌は Gaの低下と共に最大値のピー クはカラム入り口近傍に近づき、かつその最大値も増加した。これは Gaが高いほどカラム 入口でのメタンの消費が抑制されるため、カラム後半部での増殖が起こるためと考えられ る。

TCE 除去率に対するパラメータ値の影響をまとめると、メタン濃度、菌体転換率、TCE 分解容量は値の増加と共に TCE 除去率は比例的に増加し、TCE 濃度は反比例的に低下する ことが示された。メタンの最大分解速度定数、TCE の飽和定数は値が小さくなると TCE 除 去率は低下するがそれ以外では大きな影響を与えなかった。また TCE の最大分解速度定数 は TCE 除去率にあまり影響を与えず、メタン飽和定数は、一定値以上では値が高くなるに 従い TCE 除去率は低下した。一方、付着と浮遊メタン資化性細菌の分配係数は一定値以上 では TCE 除去率にほとんど影響を与えないことが示された。

同一条件下でのパラメータ値のTCE除去率やメタン除去率に与える効果はバッチカラム 試験と同じような傾向を示した。しかし、連続通水カラム試験の方が、TCE除去効果が発 揮できるパラメータの閾値が若干狭いものもあった(*ks、Ks、Kc、Y、Ka*)。但し、バッチ カラム試験ではパラメータ値により処理性能に周期的変動(振動)が起こり不安定になる 傾向が多いのに対し、連続通水カラム試験の解析結果は安定していた。

表 4-6 にバッチカラム試験と連続通水カラム試験の 30 日目におけるメタン濃度、TCE 濃度の計算結果を同一条件毎にまとめて示す。バッチカラム試験の解析では条件によって 処理水質にドリフトが生じることもあるが、パラメータの設定条件が同じであれば処理や 分解性能はほとんど同じ値が得られることがわかる。但し、バッチカラム試験ではメタン 消費後に TCE の除去が効果的に起こり、その結果メタン資化性細菌の死滅もバッチ時間経 過後半で著しくなるため、バッチ処理時間の変動が残留する生菌体濃度に大きな影響を与 える。このためバッチカラム試験の操作時間はかなり厳密に行う必要がある。



図4-22b TCEの処理経過(ksの影響)



図4-24b TCEの処理経過(kcの影響)












## 



パラメ ータ	項目	バッチカラム試験解析			連続通水カラム試験解析				
	mg·mg <sup>1</sup> ·d <sup>1</sup>	1	5	10	20	1	5	10	20
ks	メタン mg· <i>I</i> <sup>1</sup>	4.0	0.000~ 0.86	0.000	0.000	-	4	0.002	0.0003
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.5	$0.424 \sim 0.475$	$0.413 \sim 0.455$	0.425	-	0.500	0.424	0.423
	mg· <i>l</i> 1	0.05	0.2	0.5	1	0.05	0.2	0.5	1
Ks	メタン mg・ <i>l</i> -1	0.000	0.000	$0.000 \sim 0.504$	0.260	0.000	0.002	0.005	3.72
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.422~ 0.434	$0.412 \sim 0.454$	$0.413 \sim 0.465$	0.439	0.425	0.424	0.427	0.498
	mg•mg <sup>-1</sup> •d <sup>-1</sup>	1	5	10	30	1	5	10	30
k <sub>C</sub>	<i>እ</i> ፆン mg∙ <i>I</i> ¹	0.000	0.000	0.000~ 3.68	0.130~ 3.53	0.000	0.002	0.03	1.28
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.449	$0.412 \sim 0.454$	0.407~ 0.483	0.418~ 0.482	0.442	0.424	0.426	0.462
	$mg \cdot I^1$	1 _	5	10	30	1	5	10	30
Kc	<i>አ</i> ቃン mg∙ <i>F</i> 1	1.79	0.000~ 2.92	0.000	0.000	4.000	0.029	0.002	0.000
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.462	0.420~ 0.483	$0.412 \sim 0.455$	0.440	0.5	0.424	0.424	0.433
	g•g-1	0.2	0.4	0.7	1.0	0.2	0.4	0.7	1.0
Y	メタン mg・I <sup>1</sup>	$0.000 \sim$ 1.32	0.000	0.000	0.000	4.000	0.002	0.000	0.000
	$TCEmg \cdot I^1$	$0.459 \sim 0.488$	$0.412 \sim 0.455$	0.371	0.307	0.500	0.424	0.366	0.310
	g•g-1	0.01	0.05	0.1	0.2	0.01	0.05	0.1	0.2
Tc	<i>አ</i> ቃン mg∙ <i>I</i> ¹	0.066~ 3.97	0.000	0.000	0.000	0.443	0.002	0.000	0.000
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	$0.482 \sim 0.499$	$0.412 \sim 0.455$	0.373	0.297	0.487	0.424	0.359	0.276
	/·kg-1	0.1	0.3	0.6	1	0.1	0.3	0.6	1
Kd	メタン mg・J1	0.000	0.000	0.000	0.000	3.901	0.002	0.004	0.009
	$TCEmg \cdot I^1$	0.432~	0.412~	0.417~	0.418~	0.500	0.424	0.424	0.424
	mg· /1	2	4	6	10	2	4	6	10
C.	パタン mg・J1	0.000~	0.000	0.000	0.000	0.014	0.002	0.001	0.000
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.364 $0.456 \sim$ 0.486	$0.412 \sim 0.455$	0.392~	0.325	0.463	0.424	0.387	0.313
	$mg \cdot I^1$	0.2	0.5	1.0	2.0	0.2	0.5	1.0	2.0
$C_0$	パタン mg・ <i>I</i> -1	0.000	0.000	0.000~ 3.74	0032~ 3.98	0.000	0.002	0.036	0.242
	TCEmg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.140	$0.412 \sim 0.455$	0.909~ 0.984	1.919~ 1.984	0.133	0.424	0.924	1.93

,

表 4-6 バッチカラム試験と連続通水カラム試験の計算結果(30日目)の比較

4-3. 土壌カラム試験との整合性

(1) 久留里市場の土壌カラム試験

メタン資化性細菌およびトルエン、 フェノールを添加した芳香族資化性 細菌をそれぞれ利用して、江口、渋谷 らは<sup>63)</sup>久留里市場の汚染土壌を充填 した土壌カラム試験を行なった。

1) メタン添加土壌カラム試験

メタン添加の土壌カラム試験はバ ッチカラム試験で行った。バッチカラ ム試験は、連続通水カラム試験に比べ カラムの滞留時間を一定に保つこと ができ、維持管理も容易である利点が ある。内径 25mm、長さ 400mm のガ ラス又はステンレスカラムに汚染帯 水層から採取した土壌(細砂)を詰め た。このカラムに、酸素、メタンを一 定濃度溶解させ、窒素、りん酸等の栄 養塩類を加え TCE 濃度を 0.5 mg・/1 に調整した汚染地下水を 5ml·min-1 で2時間通水した。その後、20℃の室 温で22時間保持したのち、カラム内 地下水を採取し、再度濃度を調整した 汚染地下水を注入する操作を繰り返 した。比較対象としてメタン無添加の 土壌カラム試験も並列して行った。メ タン注入濃度は 3 mg· l1 と 6 mg· l1





の2条件で行なった。このときのカラム出口のTCE除去率の経過を図4-40に示す。TCE 除去率にばらつきはあったがおおよそメタン3mg・<sup>11</sup>添加時で5~10%、6mg・<sup>11</sup>添加時15 ~20%のTCE除去率が得られた。

2) 芳香族炭化水素添加土壌カラム試験

フェノール、トルエンの芳香族炭化水素添加土壌カラム試験は連続通水カラム試験で行った。当初、バッチカラム試験で行ったが処理性能が不安定であったため、連続通水で行う実際のフィールドでの実証試験により近づけた連続通水カラム試験に変更した。

内径 40mm、長さ 300mm のクロマト用ガラスカラムに汚染サイトの土壌を詰め、酸素 を溶解した地下水に無機栄養塩類を加え、TCE0. 5mg・Г<sup>1</sup>に調整した後、フェノール又はト ルエンを 10mg・<sup>A1</sup>添加して連続通水した (20℃)。カラム長さは実際の修復時を想定して一日の滞留時間になるように設定した。比較対照として芳香族無添加土壌カラム試験も実施した。フェノール、トルエンの添加濃度は共に 10 mg・<sup>A1</sup>で実施した。このときの処理結果を 図 4-41 に示す。トルエン、フェノール添加では、共に 50~90%の高い除去率が得られた。 40 日目に芳香族炭化水素の添加を中止すると TCE 除去率は徐々に低下した。

上記土壌カラム試験から、バッチカラム試験と連続通水カラム試験の違いはあるが、TCE 除去効果はメタン資化性細菌を利用するよりも芳香族資化性細菌を利用した方が優れてい るとの結論が導かれた。Hopkins と McCarty<sup>26)</sup>も TCE の分解に対してはメタン資化性細菌 よりも芳香族資化性細菌の方が優れていると報告している。そこでこうした除去性能の差が 微生物の増殖や分解パラメータとどのような関係があるのかを以下検討した。

(2) メタン添加バッチカラム試験の解析

瞬時平衡時を想定したバッチカラム試験の近似計算 4-1~4-4式、及び 4-7~4-9式を基に、 メタン添加濃度 3 mg·h、6 mg·hの条件で表 4-7 に示すパラメータ設定条件で計算を行っ た。パラメータの設定値は現地土壌を入れたバイアル試験時の解析(表 3-7)を参考に、パ ラメータフィッティングで求めた。TCE 分解容量は江口らが行った土壌カラム試験では <sup>63)</sup> 消費メタン量当たりの TCE 分解量は 10~18mg- $\Delta$ TCE/g- $\Delta$ CH<sub>4</sub> であった。菌体転換率 (Y)を 0.4 とすると Tcは 0.045~0.025g·g<sup>-1</sup>となるが計算では Tc=0.05 g·g<sup>-1</sup>とした。

図 4-42 a~c にバッチカラム試験を行った時の処理水メタン濃度、TCE 除去率、および 液相メタン資化性細菌数の経過をシミュレーション結果と一緒に示す。

Pro-1			
記号	内容	単位	設定値
X <sub>a0</sub>	初期付着菌体濃度	mg•kg-1	0.00001
ρ	土の見かけ密度	kg· <i>I</i> <sup>1</sup>	1.6
θ	空隙率	_	0.3
$S_0$	メタン添加濃度	mg∙ <i>ł</i> ¹	6/3
$C_0$	TCE 添加濃度	mg· <i>I</i> <sup>1</sup>	0.5
Ca	固相 TCE 濃度	mg∙kg-1	0.02
ks	メタン最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	6
$K_{S}$	メタン飽和定数	$mg \cdot I^1$	0.2
k <sub>C</sub>	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	3
KC	TCE 飽和定数	mg· <i>ł</i> 1	20
Ka	TCE 分配係数	<i>l</i> ∙kg -1	0.04
Y	菌体転換率	g•g-1	0.4
<i>k</i> i	自己分解速度定数	d-1	0.1
$T_C$	TCE 分解容量	g•g-1	0.05
$K_d$	分配係数	<i>l</i> •kg ·1	0.3

表 4-7 パラメータの設定値

シミュレーションによる定常時のTCE除去率はメタン添加濃度6mg・1<sup>1</sup>で15.3%、3mg・ 1<sup>1</sup>で7.7%となり、実測値とほぼ同等の成績が得られることが示された。またメタンの処理 経過もシミュレーションは実測値の経過と非常に良く一致した。これに対し処理水メタン資化性細菌数は 6mg・/1添加時は比較的良く一致したが、3 mg・/1 での添加時の実測メタン資化性細菌数はシミュレーション結果より低い値となった。



(3) 芳香族炭化水素添加時の TCE 分解率

芳香族資化性細菌の菌体転換率は第1章の表1-5に示すように0.7~0.8の範囲にある。 そこで4-11~4-17式を基にトルエン添加を想定し、流入水TCE濃度0.5 mg・/1時の連続通 水カラム試験のシミュレーションを行った。この時のパラメータ設定値を表4-8に示す。計 算は添加トルエン濃度 10 mg·*ŀ*<sup>1</sup>、*Y*=0.7 で行った。また 40 日目にトルエン添加を中止した。この時のカラム内トルエン濃度、流出水トルエン濃度、トルエン資化性細菌の挙動、処理水 TCE 除去率の経過を図 4-43a~c、に示す。

カラム流出水のトルエン濃度はいずれも通水3日目にはほぼ完全になくなった。しかし、 カラム入口から0.06mの地点ではトルエン10 mg・1 添加時で0.32 mg・14 残留した。処理 性能が定常にある30日目のトルエン資化性細菌濃度(Xかはカラム入口近傍で多く、入口か ら離れるに従い減少した。40日目にトルエン添加を中止するとトルエン資化性細菌は急速 に減少した。TCE除去率は通水1週間で定常に達し64%の値が得られ、実際の試験結果と ほぼ同等の除去率が得られた。一方、40日目にトルエン添加を停止するとTCE除去率は急 速に減少した。実際の連続通水カラム試験では、トルエン添加停止後のTCEの除去率は緩 やかに減少しており(図4-41)、計算結果と異なる様子を示した。カラム内にはTCE分解 能が消失したとはいえ菌体残渣が多く残っており、有機物含有量が高い状態になっている。 有機物含有量が高いとTCE分配係数が変わり、TCE吸着量が増す可能性がある。そこでト ルエン添加停止時のKa値が21·kg·1に変化したと仮定した場合のTCE除去経過を図4-43b に併せて示す。TCE除去率の低下は明らかに緩やかになった。従って、有機物含有量の違 いがトルエン添加中止後のTCE除去率の経過に影響を与えた可能性が示唆された。

全体的にシミュレーションによる TCE 除去率の値や挙動は渋谷らが行った図 4-41 の連 続通水カラム試験結果と良く一致しており、共代謝モデルによるシミュレーションは連続通 水カラム試験解析に有効と考えられた。

記号	内容	単位	設定値
X <sub>a0</sub>	初期付着菌体濃度	mg∙kg-1	0.00001
ρ	土の見かけ密度	kg· <i>l</i> <sup>1</sup>	1.6
θ	空隙率	_	0.3
Dc	TCE の分散係数	$m^2 \cdot d^{-1}$	0.001
V	土壌間隙中の実流速	$\mathbf{m} \cdot \mathbf{d}^{-1}$	0.3
$S_0$	トルエン添加濃度	mg· <i>I</i> <sup>1</sup>	10
$C_0$	TCE 添加濃度	mg∙ <i>ł</i> 1	0.5
Ka	TCE 分配係数	<i>l</i> ⋅kg -1	0.04
$k_S$	hluz)最大分解速度定数	mg•mg <sup>-1</sup> •d <sup>-1</sup>	10
$K_S$	トルエン飽和定数	mg· <i>ł</i> 1	0.2
<b>k</b> C	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	5
Kc	TCE 飽和定数	mg· <i>ł</i> 1	10
Y	菌体転換率	g•g-1	0.7
ki 🛛	自己分解速度定数	d-1	0.1
$T_C$	TCE 分解容量	g·g <sup>.1</sup>	0.05
$K_d$	分配係数	<i>l</i> •kg -1	0.3
$\Delta t$	計算のステップ時間	d	0.02

表 4-8 トルエン添加時の連続通水カラム試験のパラメータ設定値



図4-43c 連続通水カラム試験のカラム内トルエン資化性細菌の分布計算 (30日目)

(4) メタン資化性細菌と芳香族(トルエン)資化性細菌の比較

菌体転換率(Y)を 0.4 としたメタン資化性細菌と、0.7 としたトルエン資化性細菌の TCE 除去率に及ぼす *kc*値及び *Kc*値の影響を計算した結果を図 4-44 a~b、図 4-45a~b に 示す。*kc*値、*Kc*値以外のパラメータ値は表 4-8 と同じである。

いずれも炭素源濃度を高めることで TCE 除去率は増加したが、トルエン資化性細菌の方 が菌体転換率が高い分 TCE 除去率は良好な成績が得られることが示された。kc値の TCE 除去率に及ぼす影響は炭素源の添加濃度が低い場合は差が少ない。しかし、kc値が高い微 生物に対しては添加濃度を高めることで除去効果が上がることが示された。また炭素源濃度 を高めた場合、TCE 飽和定数が低いと TCE 除去率が著しく改善されることも示された。従 ってメタン資化性細菌と芳香族資化性細菌による TCE 除去率の違いは菌体転換率による影 響が大きいこと、炭素源濃度を上げることで除去率を高めることができることが明らかにな った。但し、炭素源の消費には酸素が必要であり、好気的条件を保つためには炭素源添加濃 度はおのずと限られる。即ち、好気的分解では炭素当たり約3倍の酸素が必要であるから、 純酸素で溶解させたとしても(溶解度 40 mg·*I*<sup>1</sup>)分解できる基質濃度は 10~13 mg·*I*<sup>1</sup>が 限度である。間欠注入では、平均濃度は更に下がるため、ワンパスではそれほど高い除去率 は実際には期待できない。



4-4. 処理水にメタンを再注入して循環処理する連続通水カラム試験の検討

メタン資化性細菌を利用する場合、帯水層にメタンや栄養塩を一度だけ流入させることで 低濃度レベルまで浄化を図ることは困難である。しかし、揚水井と注入井を用いて揚水した 地下水に炭素源、栄養源を添加して再度注入する地下水循環法は、帯水層を一度通過する時 のワンパス TCE 除去率が低い場合においても循環を繰り返すことで環境基準値レベルまで 浄化することができる。そこで連続通水カラム試験の解析を地下水循環法に応用することで 地下水循環法の処理効果を検討した。

(1)計算方法

地下水循環法の解析は連続通水カラム試験の処理水にメタンを再添加してカラム入口に 戻すことを想定して解析した。即ち、4-11~4-17 式の Microsoft Excel による連続通水カラ ム試験の近似計算において、*t*+Δ*t*時間目の流入水濃度を、*t*時間目のカラム末端出口の処 理水濃度にメタン添加濃度を加えた値に設定して繰り返し計算を行うことで解析できる。

具体的には、 $t+\Delta t$ 時間目の流入水メタン濃度を  $S_0^{t+\Delta t}$ 、流入水 TCE 濃度  $C_0^{t+\Delta t}$ 、浮遊性 メタン資化性細菌濃度を  $X_0^{t+\Delta t}$ 、カラムを M 分割した末端区間 M 番目の t時間日の値をそ れぞれ  $S_M^t$ 、  $C_M^t$ 、  $X_M^t$ 、添加メタン濃度を A mg· $P^1$ するとカラム流入水濃度をそれぞれ下 記式に置き換えて繰り返し計算を行った。

メタン濃度  $S_0^{t+\Delta t} = S_M^t + A$  (4-26) TCE 濃度  $C_0^{t+\Delta t} = C_M^t$  (4-27)

浮遊菌体濃度  $X_0^{t+\Delta} t= X_M^t$  (4-28)

(2) ワンパス滞留時間の影響

図 4-46~図 4-48 に長さ 30cm の地下水循環土壌カラム試験の滞留時間(RT)を 1d、2d、 3d (実流速(v)=0.3m・d<sup>-1</sup>、0.15 m・d<sup>-1</sup>、0.1 m・d<sup>-1</sup>)とした時のメタン濃度の消費経過、TCE 濃度の処理経過、及びカラム内メタン資化性細菌濃度の分布を示した。他のパラメータの設 定条件は表 4-9 に示すとおりである。

流入水メタン濃度は通水開始直後流出水のメタン濃度が残存するため一時的に高いピークが認められた。しかし、その後ほぼ設定濃度近傍に維持された。これに対しカラム出口の メタン濃度は、カラム滞留時間が1日の時では速やかにほぼ完全に消費された。しかし、 カラム滞留時間が2日および3日の時では、メタン濃度が0.05 mg·*I*<sup>1</sup>以下になるのにそれ ぞれ1週間、2週間要し、滞留時間が長くなるに従い完全消費に要する時間が延びた。これ に対しカラム出口の TCE 濃度が環境基準以下(0.03 mg·*I*)になるには、カラムの滞留時間 が1日で18日、2日では34日、3日では49日であった。即ち滞留時間を長く取るほど、 浄化に要する時間は長くかかっている。カラム内の全菌体濃度*X*ではカラム滞留時間が長い ほど最大値は小さくなるが、循環を行うことで経過時間と共にカラム全体に分解微生物が行 き渡ることが示された。図4-49に滞留時間1日で TCE の分配係数を0.04~2*I*·kg<sup>-1</sup>に変化 させた場合の地下水循環土壌カラム試験の TCE の処理経過の計算結果を示す。

Kaが高くなると明らかに TCE の低下が遅くなることが示された。これは土壌への吸着量

が多い分、それだけ処理に時間がかかることを意味している。

記号	内容	単位	設定値
L	カラム長さ	m	0.3
ρ	土の見かけ密度	kg· <i>l</i> <sup>1</sup>	1.6
X <sub>a0</sub>	初期付着菌体濃度	mg·kg-1	0.0001
θ	空隙率	-	0.3
Dc	分散係数	$m^2 \cdot d^{\cdot 1}$	0.001
$\Delta \mathbf{L}$	カラムの分割長さ	m	0.03
$S_0$	添加メタン濃度	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	4
$C_0$	最初の TCE 濃度	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	1
ks	メタン最大分解速度定数	mg·mg·1·d·1	10
Ks	メタン飽和定数	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	0.2
kc	TCE 最大分解速度定数	mg·mg·1·d·1	5
$K_C$	TCE 飽和定数	$mg \cdot l^1$	10
Ka	TCE 分配係数	l·kg <sup>−1</sup>	0.04
<i>ki</i>	自己分解速度定数	d-1	0.1
Y	菌体転換率	g·g <sup>-1</sup>	0.4
$T_C$	TCE 分解容量	g·g <sup>-1</sup>	0.05
$K_d$	分解微生物の分配係数	1. kg-1	0.3

表 4-9 地下水循環土壌カラム試験のパラメータ設定値



図 4-46 b 地下水循環土壌カラム試験のTCE分解経過(RT=1day)





(3) 地下水を循環させた土壌カラム試験との整合性

地下水循環法の処理性能を評価するために、久留里市場の汚染土壌を内径 25mm、長さ400mmのカラムに詰め、メタン、酸素、栄養塩を溶解させた汚染地下水を通水させた。通水は2.5m/·min·1.で0.5時間通水してカラム内の地下水を置き換えた後 23.5時間通水停止のサイクルを繰り返すバッチ式の運転を行った<sup>68)</sup>。同一濃度で3~4日間運転し、処理水 濃度が安定した後、今度はその処理水 TCE 濃度を流入水濃度に調整して通水を繰り返すことで地下水循環法の性能を評価した。最初の流入水 TCE 濃度は 0.2 mg·*I*<sup>1</sup>でメタン濃度および酸素濃度はそれぞれ 5 mg·*I*<sup>1</sup>、20 mg·*I*<sup>1</sup>に設定した。その時の結果を図 4-50 に示す。

結果、約2ヶ月半で TCE の環境基準値 0.03 mg・1<sup>1</sup>を下回ることができた。また処理水 のメタン資化性細菌数はコントロール系(メタン、栄養塩を添加しない系)が 10<sup>3</sup>cells・m<sup>1</sup> であるのに対し、メタン添加系は 10<sup>5</sup>~10<sup>7</sup> cells・m<sup>1</sup>に増加した。

上記試験はバッチ式で通水していること、同一濃度の汚染地下水を一定期間注入して性能 が安定していることを確認した後、流入水 TCE 濃度を変えているため連続通水カラム試験 のシミュレーション計算と厳密に合わせることはできない。しかし、カラムの滞留時間を同 一濃度注入していた期間に設定することで同様の性能効果が得られるかどうかを比較検討 することは可能である。



図 4-50 土壌カラム試験による地下水循環法の TCE 処理効果 <sup>68)</sup> (オルガノ㈱ 江口氏提供)

図 4-51 a~c、4-52a~c に、流入水メタン濃度を 5 mg·h<sup>1</sup>一定とし TCE 初期濃度 0.25 mg·h<sup>1</sup>の条件で土壌カラムの滞留時間を 3d および 4d とした時の処理水メタン濃度、TCE 濃度、 カラム内浮遊メタン資化性細菌数の挙動を示す。パラメータ値は連続通水土壌カラム試験の 解析に使用した値(表 4-7)を参考にしたが、TCE 分解容量は  $T_c$ =0.01g·g<sup>-1</sup>と低めに設定 した。計算に用いたパラメータ値を表 4-10 にまとめる。図 4-50 示す実験データの初期 TCE 濃度は設定値の 0.2 mg·hより若干高めに変動していたことから計算では 0.25 mg·hに設 定した。浮遊メタン資化性細菌数はカラム入口近傍(L=0.03m)と出口の計算値を示す。

計算結果、メタンはいずれのケースも速やかにほぼ完全に消費された。これに対しカラム 出口 TCE 濃度が環境基準値(0.03 mg·*I*<sup>1</sup>)以下になるのは RT=3d で 46 日後、RT=4d で 61 日後であり、図 4-50 の実験結果より若干早く到達した。また、浮遊メタン資化性細菌数は カラム入口で 10<sup>6</sup> cells·m*I*<sup>1</sup>オーダー、カラム出口では一旦高くなった後低下し、その後徐々 に増加して 80 日目には 10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup>cells·m*I*<sup>1</sup>オーダーの値が得られた。図 4-50 の実験はバッ チカラム試験であり、カラム内浮遊メタン細菌数を計測していることを考えると、計算結果 は実験結果に匹敵した値であると言える。図 4-53 に滞留時間 3 日で TCE 分配係数(*K*<sub>a</sub>) を 0.04~0.4*I*·kg<sup>-1</sup>に変化させたときの TCE処理経過を示す。*K*<sub>a</sub>値が大きくなるに従い TCE 濃度が 0.03 mg·*I*<sup>1</sup>に達するのに時間がかかる。久留里市場の土壌の *K*<sub>a</sub>値が上記範囲にあ ったことを考えると、地下水循環土壌カラムのシミュレーション結果は図 4-50 の試験結果 の挙動を良く反映しており、本シミュレーションは地下水循環法の解析に有効と考える。

記号	内容	単位	設定値	
			ケース1	ケース2
RT	カラム滞留時間	d	3	4
ρ	土の見かけ密度	kg·/1	1.6	1.6
$X_{a0}$	初期付着メタン資化性細菌	mg·kg-1	0.00001	0.00001
θ	空隙率		0.3	0.3
Dc	TCE の分散係数	$m^2 \cdot d^{-1}$	0.001	0.001
$\Delta t$	分割時間	d	0.02	0.02
Cr	Courant No.	_	0.067	0.05
$S_0$	入口メタン濃度	mg∙ <i>ł</i> ¹	5	5
$C_0$	入口 TCE 濃度	$mg \cdot l^{1}$	0.25	0.25
ks	メタン最大分解速度定数	mg·mg·1·d·1	6	6
Ks	メタン飽和定数	$mg \cdot I^1$	0.2	0.2
k <sub>C</sub>	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	3	3
KC	TCE 飽和定数	mg∙ <i>ł</i> ¹	20	20
Ka	TCE 分配係数	<i>l</i> ∙kg <sup>-1</sup>	0.04	0.04
$K_d$	分解微生物の分配係数	l·kg⁻¹	0.3	0.3
ki	自己分解速度定数	d-1	0.1	0.1
_Y	菌体転換率	g•g-1	0.4	0.4
Tc	TCE 分解容量	g•g-1	0.01	0.01

表 4-10 処理水循環法を行った土カラム試験時のパラメータ設定値





4-5. 循環水の回収率が低下した場合の影響

久留里の実証試験では地下水流れの場に地下水循環法適用による人為的な流れを形成さ せた。人為的流れは元の地下水流れの流速に比べ1オーダー以上速かったが注入した地下水 が揚水井側に向かって流れ、揚水井によって再度汲み上げられて回収される回収率(R)は 井戸配置により大きく変化した。こうした回収率が除去性能にどの程度影響を与えるのかを 確認するため、土壌カラムをモデルに処理水の循環率を変化させた場合の検討を行った。

図 4-54 にモデルの模式図を示す。揚水井と注入井に一定の通路があり、揚水井で Q / min<sup>-1</sup>揚水するが、注入井で注入した水は(1-R)×Q / min<sup>-1</sup>系外に漏れるものとする。従って揚水井に戻る通路には RQ / min<sup>-1</sup>流れ、揚水井ではこの RQ / min<sup>-1</sup>と上流から流入する (1-R)×Q / min<sup>-1</sup>が揚水され、注入井に送られる。注入井に送る途中にメタンや酸素を溶解 する装置があり、ここでメタンを地下水に対し Amg· /<sup>1</sup>加える。上流の地下水はメタンやメ タン資化性細菌を含まないが TCE 濃度は Co一定の値が含まれているとする。通路を通し て揚水井に入る TCE、メタン、浮遊メタン資化性細菌濃度をそれぞれ Ce、Se、Xe とする と注入時の濃度は模式図に示す関係を持つ。即ち、回収率を R とすると、 t+Δ t 時間目に カラムに流入するメタン濃度 (So<sup>t+Δt</sup>)、TCE 濃度 (Co<sup>t+Δt</sup>)、浮遊菌体濃度 (Xo<sup>t+Δt</sup>) は

メタン濃度	$S_0^{t+\Delta t} = \mathbf{R} \times S_e^{t} + A$	(4-29)
TCE 濃度	$C_0^{t+\Delta_t} = (1-R) \times C_0 + R \times C_e^{t}$	(4-30)
浮遊菌体濃度	$X_0^{\mathrm{t}+\Delta_{\mathrm{t}}} = \mathrm{R} \times X_{\mathrm{e}}^{\mathrm{t}}$	(4-31)

で表せる。注入井から揚水井に戻る通路を土壌カラムに見立て、カラム流入水の濃度を上記 4-29~4-31 式にして連続流入カラム試験のシミュレーションを行うことで回収率が変化す る場合のモデルを計算することができる。



図 4-54 注入水の一部が系外に漏れた場合の地下水循環法模式図

カラム滞留時間2日間、TCE 濃度1 mg・14のケースについて、回収率を100% (R=1)、 90%(R=0.9)、70%(R=0.7)とした時のメタン濃度の消費経過、TCE 濃度の処理経過、およ びメタン資化性細菌のカラム内分布経過を計算した結果を図 4-55a~4-57c に示す。また、 回収率 R を 1~0.5 に変えた場合のカラム出口 TCE 濃度、Xrのカラム内分布をまとめたも のを図 4-58a、b に示す。他のパラメータの設定条件は表 4-9 と同じである。



図4-55c カラム内XTの分布経過(R=1.0)







図4-57c カラム内XTの分布経過(R=0.7)



計算結果、カラム出口のメタン濃度が 0.03 mg・P1以下になるのは回収率が 1 の場合 11 日目、回収率が 0.9 では 13 日目であったが回収率 0.7 では 0.036 mg・P1以下にならなかっ た。即ち、TCE 濃度が高い場合には回収率が低下するとメタンが残る傾向が認められた。 これは回収率が低下すると系外から流入する TCE 濃度のため、カラム内 TCE 濃度が高く なり、メタンに対する競争阻害効果が強くなってメタン消費速度が低下するために生じた現 象と考えられる。一方、TCE の処理経過は、回収率が 1 のケースでは TCE が直線的に減 少し、34 日目には環境基準値以下になった。しかし、回収率 0.9 以下では時間経過ととも に TCE の減少割合は低減し、運転経過 80 日目における TCE 濃度は回収率 0.9 で 0.27 mg・ P1、回収率 0.7 で 0.74 mg・P1 であった。また定常時のカラム出口 TCE 濃度は回収率の低下 と共に高くなる傾向を示した(図 4-58a)。カラム内のメタン資化性細菌の分布は、回収率が 1.0 では時間経過と共に菌体濃度は増え 80 日目以降、ほぼ定常に達してカラム内に広く分 布した(図 4-55c)。しかし、回収率が 0.9 以下では 20 日目くらいで定常に達し、それ以上増 える傾向はなく(図 4-56c、図 4-57c)、かつ同様の濃度でカラム前半部に分布した(図 4-58b)。 これはメタンの消費による増殖と系外から定常的に流入する TCE 濃度の分解による細菌の 死滅が同様の割合で起こり、比較的早い時期に平衡に達するためと考えられる。以上から回 収率が低下すると TCE 除去率が低下し、一定の値で平衡に達することが示された。

4-6. まとめ

バイオスティミュレーションの処理性能を評価するため、汚染サイトの土壌をカラムに詰 めて汚染地下水を通水し、実際の帯水層における浄化効果を模した土壌カラム試験が行われ る。NEDO/RITE で行った久留里市場の土壌カラム試験でも汚染地下水の注入と引き抜き を回分的に行うバッチカラム試験と連続通水カラム試験の両方式による評価実験を行った。 バッチカラム試験による土壌カラム試験でのメタン消費とTCE処理性能、メタン資化性細 菌の動向をバイアル試験と同様に吸・脱着反応や、競争阻害を基にした Monod 型の反応式 によって解析を試みた。メタン資化性細菌の増殖には TCE 分解に伴う分解菌の死滅項を加 えると共に、土壌付着菌と液相浮遊菌は同じ条件で増殖し、その分配は一定の分配係数で瞬 時的に平衡に達するものと仮定して解析した。連続通水カラム試験の解析では地下水の移 流・分散項に上記、吸・脱着項、生物分解項を含めて解析した。そして各パラメータの数値 を変動させた場合の処理性能を解析し、その影響を調べた。更にカラム出口の地下水を再度 注入する地下水循環法の処理性能、および循環する地下水の回収率が変化したケースについ てもそれぞれ検討した。

その結果、

- 1) TCE の土壌への吸着が瞬時的に平衡に達すると仮定した場合と、吸着速度が平衡吸着量との差に比例するとした場合の挙動をバッチカラム試験のモデル解析で検討した。その結果、土壌への吸着量が少ない初期の運転経過では両方式に差が認められた。しかし、 飽和吸着に近づいた後は処理性能に差はなかった。従って一定濃度で通水する土壌カラム試験での除去性能評価では瞬時的に平衡に達すると仮定して計算しても問題がないことが示された。
- 2) バッチカラム試験の解析結果、バッチカラム試験では微生物分解パラメータによりメタンの消費、TCEの分解、メタン資化性細菌濃度に周期的変動が起き、処理性能が不安定になるケースのあることが示された。
- 3) バッチカラム試験ではメタン消費後に TCE の除去が効果的に起こり、その結果メタン 資化性細菌の死滅もバッチ経過時間の後半部で顕著であった。反応時間は残留する生菌 体数に大きな影響を与えるため、バッチカラム試験の操作時間はかなり厳密に行う必要 のあることが示された。
- 4) バッチカラム試験、連続通水カラム試験のメタン、TCE 除去率に及ぼす各パラメータの 影響度合いは似ていたが、連続通水カラム試験の方が若干その閾値に狭いところもあった。
- 5) バッチカラム試験では水質に変動が生じることも示された。しかし、平均的な水質値は 連続通水カラム試験での解析結果と同等であり、全体的な処理経過や特性は似ていた。
- 6) TCE 除去率に大きな影響を与えるパラメータ因子は、メタン添加濃度(So)、TCE 濃度(Co)、

菌体転換率(Y)、TCE 分解容量(Tc)であり、メタン添加濃度、菌体転換率、TCE 分解容量は TCE 除去率と比例的な関係が、TCE 濃度は反比例的な関係にあった。

- 7)メタン最大分解速度定数(ks)は値が小さくなると TCE 除去率も低下した。しかしそれ以上ではほぼ一定の値となり、TCE 除去率に大きな影響を与えなかった。またメタン 飽和定数(Ks)は、一定値までは除去率に影響がなく、それ以上では TCE 除去率は低下した。
- 8) TCE 最大分解速度定数(kc)の TCE 除去率に及ぼす影響は小さく、TCE 飽和定数(Kc) も一定値以下では除去率は低下するがそれ以上では影響度合いは小さかった。従って土 壌カラム試験では TCE 分解能力の高いメタン資化性細菌が必ずしも高い TCE 除去率を 与えるものではないことを意味した。
- 9)付着と浮遊微生物の分配係数(Ka)は一定値以下では菌体の死滅や流出が起こり、メタンやTCEの除去効果はなくなった。しかし、それ以上ではメタン、TCE除去率は一定値となり、影響は認められなかった。但し、分配係数が大きくなるに従いカラム内のメタン資化性細菌濃度の最大値は入り口側に片寄り、かつその最大値も大きくなった。
- 10) NEDO/RITE で実施した土壌カラム試験におけるメタン資化性細菌と芳香族資化性細 菌の TCE 除去率の違いは、炭素源添加濃度と菌体転換率の違いで説明できることが示 された。
- 11)地下水循環法によるシミュレーション解析の結果、処理水を循環することでメタン資化性細菌はカラム内に広がり、TCE 濃度は環境基準値以下まで十分低下できることが示された。低下に要する時間は、カラム滞留時間が長くなるほど、また土壌への TCE 分配係数(Ka)が大きくなるほど時間を要した。
- 12) 地下水循環法によるシミュレーション解析の結果は、NEDO で行ったカラム試験結果 と似た傾向が得られ、この解析が地下水循環法の解析に有効であることが示された。
- 13) 注入した地下水が系外に漏出することで揚水井での回収率(R)が低下し、その分、上流 側から一定の TCE 濃度が流入するとしたモデルを土壌カラムに適用した。その結果、 回収率が下がると TCE 除去率は急速に低下し、回収率に応じて TCE 濃度は一定の値に 漸近した。

## 第5章 実証試験との整合性

メタン資化性細菌を利用した第一回目の実証試験は久留里汚染サイトで1999年9月から 12月まで行われた<sup>8)</sup>。実証試験は一対の揚水井、注入井を用いており、注入した地下水は 二つの井戸を焦点にした楕円形に近似して広がり、揚水井で回収される(図 5-1 a 参照)。

(地下水流れと移流・分散を基にした解析では、影響エリアは時間と共に広がり、その境界 線は揚水井を上にした洋梨型の形状となる。しかしここでは簡易的に説明する。)

注入、揚水に伴う地下水流れの移流、分散項に吸着や生物反応項を加えて計算することで 2次元や3次元での有害物質の拡散や分解をシミュレーションすることは可能であり、実際 詳細に解析するソフト 69)も海外では提供されている。しかし、高度な解析ソフトはシミュ レーション解析に精通した専門化が必要であり、その解析手法も複雑で分かりにくく、また 多くのパラメータを含んでいることから検証も困難で、実用面ではほとんど使われていない のが実情である。そこで、本研究で用いたモデル式が土壌カラム試験結果との整合性が良か ったことから、土壌カラム試験の解析を一次元での実証試験の解析に拡張させ、実証試験結 果との整合性を調べると共に、この手法を用いて実際の修復計画における浄化効果や施工に よる影響を簡易的に推測する事例についても若干の検討を行った。

5-1. 実証試験適用への考え方

注入された地下水の流れは注入井と揚水井を結ぶ幾つかのカラムを合成したものである と考え(図 5-1 b 参照)、その主要な流れが中央の直線部分にあるとすると、土壌カラムの 計算結果を基にその挙動を簡易的に推定することも可能であると考えた。特に汚染サイトに 多数の揚水井、注入井を設ける場合は、その流れが土壌カラムを並列させた形状に近似でき るため一次元の土壌カラム試験の解析を用いた簡易的な計算でも処理効果や処理性能を評 価することが可能と考えられる(図 5-1 c 参照)。



図 5-1 a 一対の注入井と揚水井による地下水流れの影響エリア(概念図)



図 5-1 b 一対の注入井と揚水井における流れの模式図



図 5-1 c 複数の注入井と揚水井の組み合わせによる地下水循環法による修復概念図

5-2. 実証試験における処理性能

メタン資化性細菌を利用した第一回目の実証試験は1999年秋から冬にかけて行われた。 図 5-2 に試験サイトに設けた揚水井、注入井、および観測井の井戸配置を示す。また表 5-1 に実証試験の運転条件を示す。当初、Inj.1 から Inj.3 の井戸を用いてメタン、酸素を別々 に注入する予定であった。しかし、シミュレーション解析の結果、観測エリア内での十分 な混合が得られないことが判り、M5 の井戸を揚水井に、Inj.4 を注入井(IW)に変更してメ タンと酸素をパルス注入することに変更した。メタン注入に先立ち、8 月 19 日からメタン、 酸素の注入をしないで地下水のみを実証試験と同じ注入、揚水量で地下水循環を行い、観 測井も含む試験エリア内 TCE 濃度の均質化を行った。その後、9 月 25 日からメタン、酸 素、栄養塩の注入を開始した。注入は注入装置配管内や注入井内での微生物増殖を防ぐた め、メタン溶解地下水→無添加地下水→酸素及び栄養塩類添加地下水→無添加地下水の順 で繰り返すパルス注入を行った。パルス注入のサイクルは 10 月 20 日まではメタン(190 分) → 水(50 分)→ 酸素・N、P 源(190 分)→ 水(50 分)で行った。しかし、注入井の閉塞やメタ ン濃度の低下が認められたため、10 月 21 日からパルス注入条件をメタン(240 分)→ 水(120 分)→ 酸素・N、P 源(240 分)→ 水(120 分)に変更した。また配管内や注入井戸内での微生 物増殖を抑えるため過酸化水素を 10 mg・P 添加した。上記条件でパルス注入しても注入井



図 5-2 実証試験サイトの概要と第1回実証試験の井戸配置図

使用井戸	流量		
揚水井 (M5 を使用)	1.5 L/min.		
注入井 (Inj.4 を使用)	1.5 L/min.		
注入物質			
メタン	$10 \text{ mg} \cdot l^1$ / $12 \text{ mg} \cdot l^1$		
酸素	$30 \text{ mg} \cdot I^1$		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (りん源)	$46 \text{ mg} \cdot I^1$ as PO <sub>4</sub>		
KNO3 (窒素源)	$78 \text{ mg} \cdot I^1 \text{ as NO}_3$		
NaCl (トレーサー)	$33 \text{ mg} \cdot I^1$ as Cl		
注 ブランク試験 8/19~9/24	1.5/·min <sup>-1</sup> で揚水、注入の循環運転		
人 メタン注入サイクル1:9/25~10/20	メタン → 水 → 酸素・N、P 源→ 水		
	(190分)(50分)(190分)(50分)		
「 メタン注入サイクル 2:10/21~12/22	メタン → 水 → 酸素・N、P 源→ 水		
	(240分)(120分)(240分)(120分)		
/ トレーサーは連続注入			

表 5-1 実証試験の注入条件と添加濃度

近傍でメタンと酸素、及び栄養塩は十分混合することは事前のシミュレーション解析で確認した。混合時のメタンや酸素の濃度はメタンや酸素の注入時間を全体のパルス注入時間で除した値に近似される。パルス1の条件ではメタンの添加時濃度を10 mg・hに設定したため混合時の平均濃度は約4 mg・hとなる。またパルス2の条件ではメタン注入時の濃度を12 mg・hに上げ、混合濃度が4 mg・hと同じになるように設定した。図5-3、5-4に注入後の各観測井でのメタン濃度、酸素濃度の経時変化を示す。メタンは注入開始後速やかに消費され、1週間後にはほぼ完全に消費された。また酸素もメタンの消費に伴って同様に減少するのが認められた。除去されたメタン当たりの酸素消費量比は1~3で変動した。注入井近傍の観測井は注入井から周囲0.75~0.9mの位置に複数本あり、いずれもメタンは消費されていたことからほぼこの間にメタンの消費とメタン資化性細菌の増殖が起きたことになる。

図 5-5 に TCE 濃度の経過を示す。濃度変動はあるがメタン注入前に行った地下水循環に より、注入井と周囲の観測井での TCE 濃度はほとんど差が無く均一化された。一方メタン 注入開始後、試験エリアの TCE 濃度は徐々に低下すると共に注入井(IW)濃度に対し、周囲 の観測井 TCE 濃度が明らかに低下する現象が認められた。しかし、試験エリア内の TCE 濃度はその後 0.17~0.16 mg·*l*<sup>1</sup>で逓減し、これ以上低下しなかった。注入開始 3 ヶ月後の 12 月 22 日にメタンの注入を停止すると注入井と観測井間での TCE 濃度差は認められなく なった。また観測井でのメタン資化性細菌数は注入開始後 10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup> cells·m*l*<sup>1</sup>オーダー増加 した(図 5-6 参照)。注入停止後のメタン資化性細菌の動向を把握するためサンプリングは 注入停止後 41 日目の 2 月 1 日まで行った。

図 5-7 には注入井から各観測井までに至る地下水流れの場で消費されたメタン当たりの TCE 分解量の経過を示す。メタン注入開始以降1ヶ月までにこの値は0.2%から2%まで増 加したがその後急減し、以降 0.3~1%の間で変動した。菌体転換率を 0.4 とみなすと TCE 分解容量はおおよそ 1~2%の範囲にあることが判る。この値はバイアル試験や土壌カラム 試験と同程度の値であり、実証試験でも事前のトリタビリティ試験で得られた性能が再現 された。また、図 5-8 には注入井でのメタン濃度と各観測井に到達するまでに消費されたメ タン当たりの TCE 分解量との関係を示す。消費メタン当たりの TCE 分解量は注入時メタ



図 5-3 メタン、酸素注入後の溶存メタンの動向(実証試験1回目)



図 5-4 メタン、酸素注入後の溶存酸素の動向(実証試験1回目)



ン濃度と負の相関が認められ、TCE 分解がメタン濃度によって阻害を受ける傾向にあるこ とが実証試験でも裏付けられた。一方、TCE 濃度が 0.17 mg·*H* 前後で逓減したことに対し て検討した結果、本来、注入した地下水が揚水井に循環して回収されるはずのものが、一 部回収されずに試験サイト内からサイト外に流出していることが推定された。そこでトレ ーサー物質の挙動を解析し、その回収率を求めた結果、回収率は約 0.5 であった。図 5-9 に、 試験サイトでの水位測定結果から水位勾配を求め、この地下水位が変動しない(定常解) ものとして地下水流れモデルから 2 次元的な地下水流速分布を求めた結果を示す。注入さ れた地下水の一部が下流側に流れ、揚水井(M5)には戻らないことが示された。計算で求め られた流速分布を基に、パーティクルトラッキング法を用いて注入地下水の回収率を求め た結果を図 5-10 に示す。回収率は約 50%であった。即ち、注入された地下水の内、約 50% が下流側に流れ、揚水した地下水には流出した分に相当する量が上流側から新たに加わっ たことになる。上記回収率を基に、臭素イオントレーサー濃度の計算値と観測値を、注入 濃度に対する比濃度でプロットしたものを図 5-11 に示す。計算値と観測値が比較的良く一 致しており、本計算による回収率が妥当であることが判る。

図 5-12 に、注入井と揚水井を結ぶ直線部分の流速分布を示す。注入井、揚水井近傍で流 速は急速に上昇するが平均流速は 0.61 m・d・1である。また注入井から観測井 Inj.4'、M1、 揚水井に到達する時間はそれぞれ 0.95 日、2.7 日及び 3.7 日であった。

## Change of Bacterial Number



図 5-6 第1回実証試験におけるメタン資化性細菌数、全菌数、生菌数の挙動<sup>70</sup> (栗田工業㈱中村氏提供)



図 5-7 各観測井における消費メタン当たりのTCE除去量の推移



図 5-8 注入井のメタン濃度と周囲観測井の消費メタン当たりのTCE除去量との関係



図 5-9 原位置バイオスティミュレーション実証試験時の地下水位及び流速分布



図 5-10 パーティクル トラッキング法によるトレーサー物質(Br)の回収率







図5-12 注入井と揚水井を結ぶ直線部分の流速分布

5-3. 土壌カラムをモデルとした実証試験の解析

注入井と揚水井を結ぶ直線部分に観測井 Inj.4'、M1 が配置されており、この部分での流 れは土壌カラムに近似させて考えることができる。図 5-12 の流速分布を基に計算すると 実証試験では注入井から揚水井までの滞留時間は 3.7 日である。従って平均実流速は 0.608m・d<sup>-1</sup>となる。実証試験での結果を基に、地下水の回収率を 0.5 として処理水を循環 させた土壌カラムを想定し、その時のメタン、TCE、メタン資化性細菌の経時変化を計算 した。TCE 分解容量は図 5-7 で除去メタン当たりの TCE 分解量が平均 0.005 であったこ とからこの値を菌体転換率 0.4 で割った値に設定した (*Tc*=0.013 g·g<sup>-1</sup>)。初期付着メタン 資化性細菌は 0.00001 mg·kg<sup>-1</sup>とした(10cells·g<sup>-1</sup>-soil)。分散係数( $D_c$ )はカラム長を 2.25m として図 4-18 から縦方向分散度( $\alpha$ )を求め、4-24、4-25 式を基に  $\alpha$  に平均流速をかけた値  $D_c$ =0.035m<sup>2</sup>·d<sup>-1</sup>を用いた。また TCE の分解速度定数等はメタンのバッチカラム試験の解 析で得られた表 4-7 の値を参考にした。また  $\Delta \models$ 0.02d、 $\Delta I \approx$  0.03m とすると、Bear 数 が 0.01d< $\Delta t$ となり、計算が発散するようになったため、 $\Delta \models$ 0.05m として計算した (Bear 数=0.025d> $\Delta t$ )。計算に用いたパラメータの設定条件を表 5-2 に示す。

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
記号	内容	単位	設定値
L	カラム長さ	m	2.25
$\Delta I$	分割長さ	m	0.05
$\Delta t$	分割時間	d	0.02
V	実流速	m·d-1	0.608
$D_{C}$	分散係数	$m^2 \cdot d^{-1}$	0.035
ρ	土のかさ密度	$kg \cdot I^1$	1.6
θ	空隙率	_	0.3
Xao	初期付着菌体濃度	mg·kg <sup>-1</sup>	0.00001
$k_S$	メタン最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	6
$K_S$	メタン消費飽和定数	mg·/1	0.2
$k_C$	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	3
KC	TCE 飽和定数	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	20
Ka	TCE 分配係数	<i>l</i> ⋅kg-1	0.04
ki	自己分解速度定数	d-1	0.1
Y	菌体転換率	g·g-1	0.4
$T_C$	TCE 分解容量	g•g-1	0.013
$K_d$	分解微生物の分配係数	<i>l</i> ·kg <sup>-1</sup>	0.3

表 5-2 実証試験を模した土壌カラム試験時の解析パラメータの設定値

計算は注入水の TCE、メタン濃度を実証試験期間中の平均濃度にして一定であるとした ケース ( $C_0=0.191 \text{ mg} \cdot I^1$ 、 $S_0=3.82 \text{ mg} \cdot I^1$ ) と、実測値を直接入れたケース (メタン濃度は メタンと酸素、栄養塩が均一に混合されたものとして求めた) で行った。計算結果を図 5-13 a ~e、および図 5-14 a ~e に示す。

注入井の濃度を一定とした場合、初期の TCE 濃度の低下は実測と計算が比較的一致した
が、その後の TCE 濃度は実測値が 0.17~0.16  $mg \cdot I^1$ で定常になったのに対し、計算では 0.155  $mg \cdot I^1$ となり、実測より若干、低い値となった。

一方、注入井のメタンや TCE 濃度に実測値を入れた場合では、メタン注入後 40 日目ま での Inj4'および M1 観測井の TCE 挙動は計算値と比較的良く一致したが 40 日目以降は実 測値に比べ計算値は低めの値を示した。しかし、メタン注入停止後の挙動は実測値と計算 値は良く一致した。従って分解項のない移流・分散の計算は実証試験を良く反映できるこ とが示された。実測値のメタン濃度は 40~50 日目の Inj4'で若干、残留したがこれは降雨 時の影響や井戸洗浄時の影響が現れたものであり、この時期を除くと、計算と実測値の挙 動は良く一致していると言える。またメタン注入後の浮遊性メタン資化性細菌数は Inj4'で 計算値が若干高めであるが、オーダー的には実測と計算結果は近い値が得られた。しかし、 メタン注入停止後は、計算ではメタン資化性細菌は速やかに減少したのに対し、実測は徐々 に減少しており、明らかに違いが生じた。

40 日目以降の TCE 濃度に違いが生じた原因の一つとして水温の影響が考えられる。即ち、 メタン注入開始時の水温は約20℃であったのに対し、12月中旬には14℃まで低下した。 このためメタンや TCE の最大分解速度定数も水温低下に伴って下がり、結果として TCE 除去効果が低くなったことが考えられる。しかし、メタン注入停止後のメタン資化性細菌 の挙動の違いは水温の低下では説明できない。他の原因として、TCE 分解能を持たないメ タン資化性細菌の影響が考えられる。即ち、メタン資化性細菌には TCE 分解能を有する細 菌と分解能を持たない細菌がいる。メタンを最初に代謝する酵素には TCE 分解能を有する 溶解性メタンモノオキゲナーゼ(sMMO)と TCE 分解能の低い膜画分の粒子状メタンモノオ キシゲナーゼ(pMMO)がある。pMMO は基質特異性が狭いため TCE 分解能をほとんど持 たない。一方、sMMO は一般に銅制限下で基質特異性が広いため TCE 分解能を有している。 しかし、TCE 分解による中間代謝産物によって自らも傷ついて死滅していく。従ってもし メタンを注入するバイオスティミュレーションにおいて TCE 分解能を有するものと分解能 を有しないメタン資化性細菌が存在した場合、その増殖において TCE 分解能を持つ細菌種 が不利となる。その結果、処理経過に伴って TCE 除去効果が低下したり、TCE 分解能を持 たない細菌種に淘汰されて TCE 分解が起こらなくなる恐れもある。事実、Inj.4'における sMMOとpMMOの遺伝子解析を試みた結果では、メタン注入開始40日目まではsMMO、 pMMO 遺伝子コピー数は著しく増えたが、その後 pMMO 遺伝子のコピー数は一定の値が 保たれたのに対し sMMO 遺伝子のコピー数は急速に低下したことが報告されている 71)。遺 伝子のコピー数と微生物生息数との関係が明らかでないため、両微生物数の挙動を正確に 追跡することはできないが、40日目以降の TCE 濃度の実測値と計算値の違い、及びメタン 注入停止後のメタン資化性細菌の違いは 2 種類のメタン資化性細菌の量的関係の変化が影 響したことも十分考えられる。





5-4. TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌による影響の検討

TCE 分解能を持つメタン資化性細菌数と TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌数の 計数ができないため、検証に基づく比較検討はできない。しかし、TCE 分解に及ぼす影響 の可能性を検討するため、TCE 分解能を有する微生物と有しない微生物を想定し、2 種類 の微生物が共存する場合のメタン、TCE 分解と微生物挙動の解析を試みた。

(1)解析法

Xiはメタンおよび TCE 分解能を有し、Xiはメタンのみ分解するメタン資化性細菌種と する。それぞれの細菌種によるメタン消費、TCE 分解、増殖は下記式で表せる。

TCE 分解能を持つメタン資化性細菌 X<sub>1</sub>

メタンの消費 : 
$$R_{s_1} = -\frac{k_{s_1}SX_{TL1}}{S + K_{s_1}(1 + C/K_c)}$$
 (5-1)

TCE の分解 : 
$$R_B = -\frac{k_C C X_{TL1}}{C + K_C (1 + S/K_{S_1})}$$
 (5-2)

增殖 : 
$$R_{TL1} = -Y_1 R_{S1} - k_{i1} X_{TL1} + \frac{1}{T_C} R_B$$
 (5-3)

TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌 X2

メタンの消費 : 
$$R_{s2} = -\frac{k_{s2}SX_{\pi L2}}{S+K_{s2}}$$
 (5-4)

增殖 : 
$$R_{TL2} = -Y_2 R_{S2} - k_{i2} X_{TL2}$$
 (5-5)

メタン資化性細菌の増殖および液相、固相への分配は共存細菌の影響を受けないものと すると

$$R_{TL} = R_{TL1} + R_{TL2} \tag{5-6}$$

$$X_{TL1} = (1 + \frac{\rho}{\theta} K_{d1}) X_1 \qquad Xa_1 = K_{d1} X_1 \tag{5-7}$$

$$X_{TL2} = (1 + \frac{\rho}{\theta} K_{d2}) X_2 \qquad Xa_2 = K_{d2} X_2$$
(5-8)

土壌カラムにおけるメタン、TCE、各メタン資化性細菌の収支は TCE の吸脱着やメタン 資化性細菌の液相、固相への分配が瞬時的に平衡に達すると想定すると

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( DS \frac{\partial S}{\partial l} \right) - v \frac{\partial S}{\partial l} + R_{BS}$$
(5-9)

$$R_{BS} = R_{S1} + R_{S2} \tag{5-10}$$

$$R_{TCE} \frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( Dc \frac{\partial C}{\partial l} \right) - v \frac{\partial C}{\partial l} + R_B$$
(5-11)

$$\frac{\partial X_{TL1}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_X \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL1}}{R_{cell}} \right) \right) - v \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL1}}{R_{cell}} \right) + R_{TL1}$$
(5-12)

$$\frac{\partial X_{TL2}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial l} \left( D_X \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL2}}{R_{cell}} \right) \right) - v \frac{\partial}{\partial l} \left( \frac{X_{TL2}}{R_{cell}} \right) + R_{TL2}$$
(5-13)

上記(5-1)から(5-13)式を連続通水時の土壌カラム試験解析と同じく微小時間ステップΔ t および微小区間Δ / 毎に繰り返し計算することでメタン消費経過、TCE 処理経過、およびそ れぞれのメタン資化性細菌の動向を求めることができる。

(2)解析結果

TCE 分解能を持つメタン資化性細菌 X<sub>1</sub>と分解能を持たない X<sub>2</sub>のパラメータはメタン最 大分解速度定数 ksのみ異なり、その他のパラメータは同一であると仮定して実証試験時の 挙動を表 5-2 の設定値を用いて計算した。表 5-3 に計算に用いた初期付着菌体量、メタン分 解パラメータを、その計算結果を図 5-15 a~c に示す。

衣55 A1及びA2共行時所付のパラン力所バノス一多				
名称	初期付着菌体量	ks	$K_S$	
	mg∙kg-1	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	$\mathrm{mg}\cdot I^{1}$	
$X_1$	0.000005	6	0.2	
$X_2$	0.000005	3.5	0.2	

表 5-3 X1 及び X2 共存時解析のメタン分解パラメータ

TCE 分解能を持たない  $X_0$ を想定することで実証試験後半部の TCE 濃度の挙動は実測値 に更に近づけることができた。一方、メタン注入時のメタン資化性細菌数は若干実測値と の差が大きくなった。しかし、メタン添加停止後にメタン資化性細菌が徐々に減少してい く傾向が再現できた。このことからメタン添加により TCE 分解能を持たないメタン資化性 細菌も増えていくこと、メタン添加停止後に TCE 分解能を持つ微生物は速やかに死滅して いくのに対し、TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌は徐々に減少するため、全体とし てメタン資化性細菌が緩やかに減少していく傾向になったと説明することができる。一方、 図 5-16 a、b、図 5-17 a、b は他のパラメータは同じにして  $X_2$ の  $k_s$ を 3.0 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>、お よび 4 mg·mg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>にした時の TCE 濃度、浮遊性メタン資化性細菌数の挙動を計算したも のである。 $X_2$ の  $k_s$ 値がわずかに変わることで  $X_1$ の生息数が大きく変化し、TCE 処理効果 に大きな影響を与えることが示された。

メタン資化性細菌数は TCE 分解能を持つものも持たないものも一緒に NMS 培地を用い た MPN 法で計数される。しかし、sMMO と pMMO を持つ細菌数を分けて計測すること はできず、またそれぞれの分解パラメータを分けて求めることも困難である。このため TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌の増殖により TCE 分解能やメタン添加停止後のメタン 資化性細菌の残存性に大きな影響を与えることは示唆されたが、TCE 分解能を持たないメ タン資化性細菌の影響を考慮した定量的な解析は実際には困難である。このため、予測解 析においては TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌の存在は考慮せずにシミュレーショ ンを行うのが現実的である。



図 5-15 a TCE分解能を持つものと持たないメタン資化性細菌が共存した場合の計算例







図 5-16 b X1,X2共存存時の計算事例(X1;ks=6mg/mg/d, X2;ks=3mg/mg/d)







図 5-17 b X<sub>1</sub>,X<sub>2</sub>共存存時の計算事例(X<sub>1</sub>;ks=6mg/mg/d,、X<sub>2</sub>;ks=4mg/mg/d)

## 5-5. 修復予測の計算例

一次元の解析ではあるが、土壌カラム試験の解析法を実証試験の解析に適用することで 処理効果や分解微生物の挙動をある程度把握することは可能であることが示された。そこ でこの手法を用いて、バイオスティミュレーションによる TCE の修復効果を推測するケ ーススタディを試みた。

1) 設定条件

地下水循環法を用いた汚染地下水帯の修復期間の予測計算として以下の事例で検討した。図 5-18 に示す幅 6m、長さ 6m の面積で帯水層厚さが 5m、空隙率 0.3 の地下水帯が TCE0.5 mg・*l*<sup>1</sup>で均一に汚染されているものと仮定する。地質は均質で分散係数、TCE や 分解微生物の分配係数、TCE 分解容量、分解速度定数等は実証試験解析時と同じ値を持つ ものとする。

修復計画では汚染エリア内の両サイドに 4.5m 間隔の3対の揚水井(RW)を、中央に3本の注入井(IW)を図に示すように配置する。メタン、酸素を溶解した注入水は左右に向かって流れ、揚水井で回収される。注入、揚水による地下水帯の人工的平均実流速を 0.61 m・d・1とすると、帯水層の滞留時間は 3.7 日となる。

帯水層の汚染地下水量は 54m<sup>3</sup> であり、これを 3.7 日間で入れ替えるとすると、必要な 揚水ポンプの容量は 10.1 *l*·min<sup>-1</sup>となる。

2)計算

帯水層における注入メタン濃度の平均を6 mg・*H*になるように間欠注入の運転をした場合のパラメータ設定値を表 5-4 に、計算結果を図 5-19 に示す。回収率 R は 90、95、および 100%で計算した。

	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
記号	内容	単位	設定値
L	カラム長さ	m	2.25
V	実流速	m∙d-1	0.61
ρ	土壌見かけ密度	kg∙ <i>ł</i> ¹	1.6
X <sub>a0</sub>	初期付着微生物濃度	mg∙kg-1	0.00001
θ	空隙率	_	0.3
$S_0$	入り口メタン濃度	$mg \cdot I^1$	6
$C_0$	初期 TCE 濃度	mg· <i>ł</i> 1	0.5
Ks	メタン最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	6
Ks	メタン飽和定数	mg· <i>l</i> <sup>1</sup>	0.2
<b>k</b> C	TCE 最大分解速度定数	mg·mg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	3
KC	TCE 飽和定数	$mg \cdot I_1$	20
ki	自己分解速度定数	d-1	0.1
Y	菌体転換率	_	0.4
Tc	TCE 分解容量	g·g <sup>-1</sup>	0.013
Kd	分解微生物の分配係数	l·kg⁻¹	0.3

表 5-4 帯水層修復期間推定の解析パラメータの設定値(RT=3.7日)



図 5-18 修復事例計算のサイト概要

地下水環境基準値の 0.03 mg・*P*を達成するためには、回収率 100%では 73 日必要であ ったのに対し、回収率 95%では 130 日必要となった。一方、回収率が 90%に低下すると TCE 濃度は 0.2 mg・*P* で安定し、これ以上に下がることはなかった。従って、修復期間に 対する回収率の影響は極めて大きいと言える。但し、この計算では修復エリア外の TCE 濃度も 0.5 mg・*P* であり、回収率が 100%未満ではこの外部の TCE 濃度が流入するため処 理効果が停滞することになる。しかし、修復エリア外の TCE 濃度が低い場合は異なる結 果が得られる。回収率 90%で修復エリア外部の TCE 濃度が 0.5 mg・*P* と 0.1 mg・*P* のケ ースを比較計算した結果を図 5-20 に示す。外部 TCE 濃度が 0.1 mg・*P* のケ ースを比較計算した結果を図 5-20 に示す。外部 TCE 濃度が 0.1 mg・*P* のケ ースでは比較的短期間で修復が図れることが推察された。一方、図 5-21 にトルエン添加を 想定して菌体転換率を Y=0.7 とし、回収率 90%で計算した場合の計算結果を示す。他のパ ラメータ値はメタン添加時と同じで外部 TCE 濃度が 0.5 mg・*P* のケースとした場合、ト ルエン添加時は 58 日で環境基準値を達成することが示された。

以上、本計算はあくまで修復期間を簡易的に予測計算したものであるが、実用面ではか なり有効に使えるものと考える。



図 5-21 トルエン添加時のTCE処理経過(So=6mg/L、R=0.90)

## 5-6. まとめ

NEDO/RITE で行った久留里市場でのバイオスティミュレーション実証試験の結果を、 処理水を流入水に循環させる土壌カラム試験のシミュレーションに模擬させて計算結果 との整合性を比較検討した。使用した分解パラメータ値は室内の土壌カラム試験の解析で 得られた値を採用した。但し、TCE 分解容量は実証試験で得られた消費メタン当りの TCE 除去量の実測データ平均値から菌体転換率 0.4 として求めた。分散係数は観測スケールと 縦方向分散度との関係をまとめた中村らの報告を参照した。 その結果、

- 1) 土壌カラムのシミュレーションは実証試験における Inj.4 及び M1 観測井のメタン消費動向、および初期の TCE 濃度の低下とメタン添加停止後の TCE 濃度の変化と良く一致した。また浮遊性メタン資化性細菌数の動向もオーダー的には近い値を示した。しかし、メタン添加 40 日目以降では実測値と計算値には明らかな違いが認められ、計算値の方が若干、低い値を示した。更に、メタン添加停止後のメタン資化性細菌は計算では速やかに低下したのに対し実測値は緩やかに低減しており、明らかな違いが認められた。
- 2)上記差が生じた原因を明らかにするために、TCE 分解能を持たないメタン資化性細菌 が共存するケーススタディを行った。その結果、TCE 分解能を持つメタン資化性細菌 より、分解能を持たないメタン資化性細菌が運転後半で増加することで TCE の処理 経過、及びメタン添加停止後のメタン資化性細菌の残存性をある程度説明できること が示された。しかし、2 種類のメタン資化性細菌の分解パラメータや量的計測を行う ことができないため検証できず、この仮説を用いた定量的解析を実施することは困難 と判断された。
- 3) TCE 0.5 mg・P で汚染された帯水層を6 mg・P のメタン添加濃度で修復した場合の修 復期間の予測を試算した。結果、地下水循環の回収率が 100%のケースでは 73 日で環 境基準値に達した。回収率が 90%では 0.2 mg・P で安定し、それ以上の低下は困難で あった。しかし、修復エリア外の TCE 濃度が 0.1 mg・P のケースでは 50 日で環境基 準値以下になることから、小規模汚染エリアの浄化には十分適用可能と判断された。 また、注入炭素源としてトルエンを利用した場合はメタンより浄化効果を早めること ができると予測された。

以上の結果、地下水循環を想定した土壌カラムのシミュレーションはバイオスティミュ レーションの性能や挙動を簡易的に予測する上で有効であることが示された。

## 総括

負の遺産である土壌・地下水汚染の修復浄化を進める上で、低コストで確実、安全な浄 化技術の開発と確立は今後ますます必要性が増している。特に塩素系溶剤による汚染は、 地下深く浸透し、汚染が時間と共に広がる恐れが高いことから有効な原位置浄化技術の早 急な確立が求められている。原位置浄化技術の一つとして、共代謝を利用した有機塩素系 溶剤の原位置バイオレメディエーション技術は1990年代初めから米国を中心にその開発が 進められてきた。1990年代半ばから行われた Edwards 空軍基地における実用レベルでの 実証試験 10の成功は今後の展開に大きな弾みをつけるものであった。しかし、開放系におけ る微生物の効果や挙動、安全性に関する知見や情報が少なく、また国内では原位置浄化技 術に関する知識や経験不足もあって実用化への進展はなかなか進んでいない。

筆者は国内初めての原位置バイオスティミュレーション実証試験 2).3)、及びその後行われた NEDO/RITE 主催の「土壌汚染等修復技術開発」のプロジェクト 4)に参加し、室内試験や汚染サイトでの実証試験を通してその効果や性能に関する多くの知見を得てきた。しかし、微生物の分解性能や原位置浄化技術に対する理解度や経験の不足、適用サイトの条件や物理的制限等もあって NEDO/RITE の実証試験では Edwards 空軍基地での実証試験に匹敵するような顕著な浄化効果を示すことはできなかった。特に室内試験から得られた微生物の分解特性が実際の浄化効果にどの程度理論的に反映できるのかについて、プロジェクトの期間内に詰めることはできなかった。

本論文は、McCarty や Alvarez-Cohen ら <sup>42</sup>)によって行われた共代謝を利用したメタン資 化性細菌によるリアクターでの TCE 分解が Monod 型の分解・増殖速度式で良く説明でき るとの報告からモチベーションを得て、NEDO/RITE で行った室内、実証試験を含む一連 の評価試験結果に対し、モデル解析を試みた結果をまとめたものである。筆者はシミュレ ーション解析に対する基礎的な知識を元々それ程持っていなかったため、1次元である土 壌カラムをモデルに、通常の PC ソフトである Mocrosoft Excel を主に用いて簡易的に計算 する手法をとった。

モデル式の構成は以下のようにした。

- 1)メタンと TCE の分解、分解微生物の増殖
- ? 競争阻害を含む修正 Monod 式の適用
- ? TCE の分解に比例して菌体は死滅
- ? 浮遊微生物と付着微生物は線形一次で分配
- ? 浮遊微生物と付着微生物の分解反応と増殖は同じ→付着微生物を液相濃度に換算
- 2) TCE の土壌への吸・脱着
- ?線形一次の平衡吸着等温式/非平衡吸着式の採用
- 3) 土壌カラム試験の解析
- ? 一次元の移流・分散溶質移動モデルの適用

その結果、

- バイアル試験、土壌カラム試験および実証試験におけるメタン、TCEの分解特性、メタン資化性細菌の挙動をいずれも比較的整合良く説明することが可能であった。
- 2)土壌カラム試験で示されたメタン資化性細菌と芳香族資化性細菌による TCE 除去性能の違いは、菌体転換率の違い、および添加した炭素源濃度の差が大きく影響したと考えられた。
- 3)炭素源とTCEが共存する連続通水カラム試験の感度解析の結果、TCE除去性能に大きな影響を与える因子は、TCE濃度、添加炭素源濃度、菌体転換率、TCE分解容量であり、炭素源やTCEの最大分解速度定数や飽和定数および付着と浮遊微生物の分配係数はさほど大きな影響を与えないことが示された。
- 4)地下水循環法の適用では、注入した地下水が揚水井に戻る割合を示す回収率が揚水井 と注入井を含む修復エリア内の処理効果に大きな影響を及ぼすことが明らかにされた。
- 5)回収率が低下する原因は、地下水循環法適用による修復エリア内の人工的な流れに対し、修復エリア周辺では本来の水位勾配による地下水流れの影響が無視できなくなっているために起きたものであった。本来の水位勾配による地下水流れの上流側に注入井を、下流側に揚水井を設置することで回収率を上げることができる。
- 6)回収率が低下することによる悪影響は、上流側から高濃度のTCEが流入するために起きた。周囲のTCE濃度が低濃度のケースでは回収率低下の影響はより少なくなることがモデル計算で予測された。
- 7)メタン資化性細菌を利用したバイオスティミュレーションの長期適用では、TCE 分解 能を持たないメタン資化性細菌の増殖による影響が生じる可能性のあることがモデル 計算で示唆された。

以上の結果、モデル解析は TCE の共代謝分解を理解するだけでなく、室内試験による分 解パラメータの測定とサイトキャラクタリゼーションによる地質、汚染特性を把握するこ とで修復効果や施工法の検討を簡易的に行う上でも有効なツールになり得ることが示され た。

但し、TCE 処理効果に大きな影響を及ぼす TCE 分解容量は、実証試験でのばらつきが大 きく (0.008~0.06 g·g<sup>-1</sup>、平均 0.013 g·g<sup>-1</sup>)、室内試験の値とも差が認められた (バイアル 試験の集積培養体: 0.1~0.21 g·g<sup>-1</sup>、集積されてない土壌微生物: 0.008 g·g<sup>-1</sup>、土壌カラム 試験: 0.05 g·g<sup>-1</sup>)。このため室内試験で得られた値をそのまま適用するのは問題があり、か なり安全をみる必要のあることが認められた。

また、分解微生物の分配係数についてはパラメータ変動による影響が少なかったことから その影響を余り考慮する必要性はないが、シルト質や粘土質を含む土壌に対しての知見は ないため今後データを取る必要がある。一方、分散係数に対しては今回、中村らのデータ 65)を基に適用スケールに応じて設定したが、観測スケールと縦方向分散度との関係がどの程 度成り立つのかどうか、データを更に蓄積する必要がある。 また、今回のモデル解析では付着と浮遊微生物の反応は同一条件で行われると仮定したが、 死菌も含めた微生物の付着量が著しく増えた場合、この仮定は成り立たなくなる。また、 モデル解析では汚染サイトの地質は均質系として取り扱ったが、実際にはもっと複雑であ る。このため、本モデルの適用はおのずと限界がある。

こうした課題をまだ多く抱えているが、バイオスティミュレーションのような原位置浄化 を行う上でどういうことを考慮すべきであるかモデル解析からある程度合理的に説明でき たものと考えている。またこの手法はバイオのみならず今後の物理化学的な原位置浄化技 術を評価する上でも有効な手法であると確信している。

今後、土壌・地下水汚染の調査、浄化においてシミュレーション解析はますます重要になっていくものと思われる。しかし、実際のデータとの検証が十分になされていないと絵に描いた餅に終わる恐れがある。今回の実証試験結果が室内試験の成果を基にモデル解析で その挙動を良く反映できたのは、実証試験サイトの地質が均一でかつ十分な調査データが 得られていたことによる。原位置浄化の評価において場の均一性が保障されないと解析が 困難であり、久留里市場のサイトはモデル解析の評価に最適な場であったと言える。

簡易的な手法ではあるがモデル解析の有効性を示すことができたのはこうした幸運に恵 まれていたからであるが、長期にわたりバイオスティミュレーションの開発を進めてきた 筆者の責務の一部をようやく外すことができたとも感じている。 謝辞

本研究の実施と論文作成にあたり、終始ご懇切なご指導、ご鞭撻を賜りました大阪大学 大学院工学研究科 藤田 正憲 教授に心から厚く御礼申し上げます。藤田教授には、本 論文の基になった NEDO/RITE の「土壌汚染等修復技術開発」プロジェクト実施において も深甚なるご指導、ご鞭撻を賜り、その後の論文作成においても温かく励ましていただき ました。今回、論文をまとめることができたのも一重に藤田教授の御支援、御指導を賜っ たことによるものであり、心から謝意を表します。

また、本論文のご高閲とご高見を頂きました地球総合工学専攻 山口 克人 教授、情報科学研究科 清水 浩 教授、環境工学専攻 池 道彦 助教授に心から謝意を表しま す。

更に今回の原位置バイオレメディエーションの解析をまとめることができたのは、 NEDO/RITE の多大な支援が得られ、「土壌汚染等修復技術開発」のプロジェクトで一緒に 仕事をした RITE の細川氏、君津市の鈴木氏、オルガノ㈱の佐々木氏、鹿島建設㈱の小玉 氏、清水建設の岡村氏、栗田工業の中村氏、MBI の二又氏を始め多くの人々のご支援を得 て、その研究成果やデータ、知見を利用することができたことによるものであります。特 に、オルガノ㈱の江口氏、鹿島建設㈱の川端氏、河合氏、中村氏、栗田工業㈱の中村氏、 清水建設㈱の岡村氏、渋谷氏、㈱荏原製作所の長谷川氏、大矢氏、及び岡田さんからは資 料をいただいたり、データや報告書をいろいろ参考させていただきました。ここに紙面を 借りて心から厚く御礼を申し上げます。

また土壌カラム試験のシミュレーションを行う過程で筆者は最初、かなり独善的な手法 での展開や解析を行い、基礎的な間違いやミスを多数犯していました。こうした問題点の 指摘や解決に対する適切なアドバイス、具体的な方法論に対するご指導を大阪大学 大学 院工学科 惣田助手、ならびに㈱荏原製作所 大矢氏から賜り、また多くの時間を割いて いただきました。ここに紙面を借りて心から厚く御礼申し上げます。なお、本論文中の間 違いやミスは総て筆者に起因するものであり、その責任は総て筆者にあります。

最後にこうした解析方法が今後の原位置浄化技術の実用化や修復の一助として利用され、 更に発展することで少しでも汚染土壌・地下水の修復に役立つことを祈念して末尾としま す。

 McCarty, P. L., Goltz, M.N., Hopkins, G.D., Dolan, M.E., Allan, J.P., Kawakami, B.T., Carrothers, T.J., Full-Scale Evaluation of In Situ Cometabolic Degradation of Trichloroethylene in Groundwater through Toluene Injection, Environ. Sci. Technol., 1998, Vol.32, No.1, 88-100.

2)水上春樹、他、トリクロロエチレン汚染現場への原位置バイオレメディエーションの適用、地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会、第4回講演集, 1995、45-78

3) 北川政美、下村達夫、谷口紳、バイオレメディエーション実証試験、造水技術、1996、Vol.22, No.2, 58 - 62

4) 北川政美、長谷川武、江口正浩、河合達司、中村寛治、岡村和夫、メタン資化細菌を利 用したトリクロロエチレン(TCE)汚染地下水の原位置実証試験、第9回 衛生工学シンポジ ウム論文集、2001、250-255

5) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成8 年3月

6) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成9 年3月

7) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成1 0年3月

8) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成1 1年3月

9) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成1 2年3月

10) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発 最終成果報告書、平成13年3月

11) Vogel, T.M., Criddle, C.S., McCarty, P.L., Environ. Sci. Technol. 1987, Vol.21, 722-736

12) Bouwer, E.J., McCarty, P.L., Appl. Environ. Microbiol. 1983, Vol.45, 1286-1294

13) Peter J. M. Middeldorp, M. L. G. C. Luijten, B. A. van de Pas, M. H. A. van Eekert,
S. W. M. Kengen, G. S. Schraa, A. J. M. Stams, Anaerobic Microbial Reductive
Dehalogenation of Chlorinated Ethenes, Bioremediation Journal, 1999, Vol.3, No.3, 151
169

14)藤田正憲、矢木修身 監修、バイオレメディエーション実用化の手引き、RealizeInc.,2001,179 - 202

15) Wilson, J.T., Wilson, B.H., Biotransformation of trichloroethylene in Soil, Appl. Environ. Microbiol. 1985, Vol.29, 242-243 16) Oldnhuis, R., Vink, R.L., Janssen, D.B., Witholt, B., Appl. Environ. Microbiol. 1989, Vol.55, 2819-2826

17) Wackett, L.P., Gibson, D.T., Degradation of Trichloroethylene by toluene dioxigenase in whole-cell studies with *Pseudomonas putida* F1., Appl. Environ. Microbiol. 1988, Vol.54, 1703-1708

18) Nelson, M.J., Montgomery, S.O., Mahaffey, W.R., Pritchard, P.H., Biodegradation of Trichloroethylene and involvement of an aromatic biodegradative pathway., Appl. Environ. Microbiol. 1987, Vol.53, 949-954

19) Wackett, L.P., Brusseau, G.A., Housholder, S.R., Hanson, R.S., Survey of microbial oxygenases: trichloroethylene degradation by propane-oxidizing bacteria., Appl. Environ. Microbiol. 1989, Vol.55, 2960-2964

20) Vannelli,T., Logan, M., Arciero, D.M., Hooper, A.B., Degradation of halogenated aliphatics compounda by ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea.*, Appl. Environ. Microbiol. 1990, Vol.56, 1169-1171

21) Robert, P. V., Hopkins, G.D., Mackay, D.M., Semprini, L., A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes: Part 1, Methodology and Field Site Characterization, Ground Water, 1990, Vol.28, No.4, 591-604

22) Semprini, L., Roberts, P.V., Hopkins, G.D., McCarty, P.L., A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes: Part 2, Results of Biostimulation and Biotransformation Experiments, Ground Water, 1990, Vol.28, No.5, 715-727

23) Semprini,L., Hopkins G.D., Roberts, P.V., Grbic-Galic, D., McCarty, P.L., A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes: Part 3, Studies of Competitive Inhibition, Ground Water, 1991, Vol.29, No.2, 239-250

24) Semprini, L., McCarty, P.L., Comparison Between Model Simulations and Field Results for In-Situ Biorestration of Chlorinated Aliphatics: Part 1. Biostimulation of Methanotrophic Bacteria, Ground Water, 1991, Vol.29, No.3, 365-374

25) Hopkins, G. D., Semprini, L., McCarty, P.L., Microcosm and In Situ Field Studies of Enhanced Biotransformation of Trichloroethylene by Phenol-Utilizing Microorganisms, Appl. and Environ. Microbiol., 1993, Vol.59, No.7, 2277-2285

26) Hopkins, G. D., McCarty, P. L., Field Evaluation of In Situ Aerobic Cometabolism of Trichloroethylene and Three Dichloroethylene IsomersUsing Phenol and Toluene as the Primary Substrates., Environ. Sci. Technol., 1995, Vol.29,1628-1637

27) Michael J, Nelson, Kinsella, J.V., Montoya, T., In Situ Biodegradation of TCE Contaminated Groundwater, Environmental Progress, 1990, Vol.9, No.3, 190-196

28) Hazen, T. C. In Situ Bioremediation via Horizontal Wells, WSRC-MS-93-362, Rev.1

29) Los Alamos, In Situ Bioremediation: Cost Effectiveness of a Remediation

Technology Field Tested at the Savannah Rever Integrated Demonstration Site, LA-UR-94-1714

30) Chang, H. L., Alvarez-Cohen, L., Transformation Capacities of Chlorinated Organics by Mixed Cultures Enriched on Methane, Propane, Toluene, or Phenol, Biotech. & Bioeng. 1995, Vol.45, 440-449

31)矢木修身、内山裕夫、バイオレメディエーション技術を用いる揮発性有機塩素化合物 汚染土壌・地下水の浄化、BIO INDUSTRY, 1993, Vol.10, No.8, 477-482

32) Nakajima, T., Uchiyama, H., Yagi, O., Nakahara, T., Novel Metabolite of Trichloroethylene in a Methanotrophic Bacterium, Methylocystis sp. M, and Hypothetical Degradation Pathway., Biosci. Biotech. Biochem., 1992, Vol.56, No.3, 486-489

33) Dalton H. and Stirling D.I. Co-metabolism, 1982, Phil. Trans. R. Soc. Lond. 297, 481-496

34) Alvarez-Cohen, L., McCarty, P.L., Effects of Toxicity, Aeration, and Reductant Supply on Trichloroethylene Transformation by a Mixed Methanotrophic Culture, Applied and Environmental Microbiology, 1991, Vol.57, No.1, 228-235

35) Henry S. M., Gribić-Galić, D., Influence of Endogenous and Exogenous Electron Donors and Trichloroethylene Oxidation Toxicity on Trichloroethylene Oxidation by Methanotrophic Cultures from a Groundwater Aquifer, Applied and Environmental Microbiology, 1991, No.1, 236-244

36) Chu, K .H., Alvarez-Cohen,L., Effect of Nitrogen Source on Growth and Trichloroethylene Degradation by Methane-Oxidizing Bacteria, Appl. Environ. Microbiol. 1998, 3451-3457

37) 北川 政美、長谷川 武、岡田 扶佐子、内山 裕夫、矢木 修身、特許公報、排水処 理方法及び装置、平 8-54973

38) Shimomura, T., Okada, F., Mishima, K., Uchiyama, H., Yagi, O., Change in Trichloroethylene Decomposition Activity of Methylocystis sp M during Batch Culture, Bioremediation of Chlorinated and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds, Battelle Press, Columbus Ohio, 1994, 298 - 302

39) CHU, K. H., Alvarez-Cohen, L., Evaluation of Toxic Effects of aeration and Trichloroethylene Oxidation on Methanotrophic Bacteria Growth with Different Nitrogen Sources, Appl. Environ. Microbiol, 1999, 766-772

40) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書"平成9 年3月、207-216

41) 岡田 芙佐子、下村 達夫 "難分解性有機物の分解に関する研究: TCE 等、有機塩素化 合物に関する研究(11報)"1993、荏原総研社内報告書 42) Alvarez-Cohen, L., McCarty, P.L., A Cometabolic Biotransformation Model for Halogenated Aliphatic Compounds Exhibiting Product Toxicity, Environ. Sci. Technol., 1991, Vol.25, No.8, 1381 – 1387

43) Alvarez-Cohen,L., McCarty, P.L., Product Toxicity and Competitive Inhibition Modeling of Chloroform and Trichloroethylene Transformation by Methanotrophic Resting Cells, Appl. Environ. Microbiol., 1991, Vol. 57, No.4, 1031-1037

44) Semprini,L., McCarty, P.L., Comparison Between Model Simulations and Field Results for In-Situ Biorestration of Chlorinated Aliphatics: Part 2. Cometabolic Transformations, Ground Water, 1992, Vol.30, No.1, 37-44

45) 大矢 俊次、アルバート バロッキ、古市 徹、地下水におけるトリクロロエチレンの挙動及 びコメタボリズム分解に関する数値モデル、地下水学会誌、1997、Vol.39, No.1, 17-31

46) Criddle, C. S., The Kinetics of Cometabolism, Biotech. Bioeng., 1993, Vol.41, No.11, 1048 - 1056

47) MacDonald, T. R., Kitanidis, P. K., McCarty, P. L., Roberts, P. V., Mass-Transfer Limitations for Macroscale Bioremediation Modeling and Implications on Aquifer Clogging, Ground Water, 1999, Vo.37, No.4, 523 – 531

48) Bryan J. Travis, Rosenberg, N. D., Modeling in Situ Bioremediation of TCE at Savannah River: Effects of Product Toxicity and Microbial Interactions on TCE Degradation, Environ. Sci. Technol., 1997, Vol.31, No.11, 3093 – 3102

49) Broholm, K., Jensen, B. K., Chritensen, T. H., Olsen, L., Toxicity of 1,1,1-Trichloroethane and Trichloroethene on a Mixed Culture of Methane-Oxidizing Bacteria, Appl. Environ. Microbiol., 1990, Vol.56, No.8, 2488-2493

50) 岡田 芙佐子、下村 達夫、難分解性有機物の分解に関する研究:TCE 等、有機塩素化 合物に関する研究(第21報)、1993、荏原総研社内報告書

51) Alvarez-Cohen, L., McCarty, P. L, Two-Stage Dispersed-Growth Treatment of Halogenated Aliphatic Compounds by Cometabolism, Environ. Sci. Technol. 1991, Vol.25, No.8, 1387-1393

52) Chang, H. L., Alvarez-Cohen, L., Two-Stage Methanotrophic Bioreactor for the Treatment of Chlorinated Organic Wastewater, Wat. Res. 1997, Vol.31, No.8, 2026-2036 53) Koh, S. C., Bowman, J. P., and Sayler, G. S., Soluble Methane Monooxygenase Production and Trichloroethylene degradation by a Type I Methanotroph, *Methylomonas methanica* 68-1, Appl. Environ. Microbiol., 1993, Vo.59, No.4, 960-967

54) Uchiyama,H., Oguri, K., Nishibayashi, M., Kokufuta, E., and Yagi, O., Trichloroethylene Degradation by Cells of a Methane-Utilizing Bacterium, Methylocystis sp. M, Immobilized in Calcium Alginate, J. Ferment. Bioeng. 1995, Vo.79, No.6, 608-613 55) Hanada S., Shigematsu T., Shibuya K., Eguchi M., Hasegawa T., Soda F., Kamagata Y., Kanagawa t., Kurane R., Phylogenetic Analysis of Trichloroethylene-Degrading Bacteria Newly Isolated from Soil Polluted with This Contaminant, J. Ferment. Bioeng., 1998, Vol.86, No.6, 539-544

56)新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成9 年3月,p44

57) 新エネルギー・産業技術総合開発機構、土壌汚染等修復技術開発研究報告書、平成10年3月, p163

58) Jenkins, M. B., Chen, J. H., Kadner, D. J., Lion, L. W., Methanotrophic Bacteria and Facilitated Transport of Pollutants in Aquifer Material, Appl. Environ. Microbial., 1994, Vol.60, No.10, 3491 – 3498

59) Gossett, J. M., Mesurements of Henrry's Law Constants for C1 and C2 Chlorinated Hydrocarbons, Env. Sci. Technol., 1987, p202

60) 化学便覧基礎編 改定Ⅱ版、p771

61)田中和博、村上孝雄、1982、循環式窒素除去プロセスの運転管理に関する技術調査、日本 下水道事業団試験部報、352-371

62) USEPA, GUIDE FOR CONDUCTING TREATABILITY STUDIES UNDER CERCLA: AEROBIC BIODEGREDATION REMEDY SCREENING , EPA/540/2-91/013A,1991、July

63) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書" 平成10年3月、128-151

64) 中野政詩、"土の物質移動学"、東京大学出版会、1991、52-73

65) 中村充利、川端淳一、河合達司"地下水汚染を対象としたバイオレメディエーションの 設計手法について"地下水・土壌汚染とその対策防止に関する研究集会、第6回講演集、 37-40

66) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書" 平成9 年3月、175-180

67) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書" 平成 11年3月、81-89

68) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書" 平成11年3月、68-76

69) Zheng, C., Wang, P. P., MT3DMS, 1999, U.S. Army Corps of Engineers

70) 新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発 最終成果報告書" 平成 13 年 3 月、p92

71)新エネルギー・産業技術総合開発機構"土壌汚染等修復技術開発研究報告書" 平成 12年3月、239-242

本研究に関連のある主な発表論文等

1. Monitoring impact of in situ biostimulation treatment on groundwater bacterial community by DGGE

(原位置バイオスティミュレーション処理による地下水細菌相に及ぼす影響の DGGE によ るモニタリング)

FEMS Microbiology Ecology, Vol.32, 129-141,2000

## 2 . A FIELD EVALUATION OF IN SITU BIODEGRADATION OF TRICHLOROETHYLENE THROUGH METHANE INJECTION

(メタン注入によるトリクロロエチレンの原位置バイオレメディエーションのフィール ド評価)

Water Research, Vo.35, No.9 2145 - 2152, 2001

3. 産官学連携事例報告ー 『産』企業の立場からー

RITE 土壌汚染等修復プロジェクトでの成果と課題

水環境学会誌、Vol.26,No.2,21-25,2003

4. トリクロロエチレンの共代謝競争阻害分解モデルを用いたバイアル試験の解析 環境技術、 投稿中

15. 土壌カラム試験でのトリクロロエチレン浄化に対するバイオシティミュレーションモデルの適用

水環境学会誌、投稿中