

総説論文

原位置バイオレメディエーション技術を用いた揮発性有機塩素化合物 汚染土壌・地下水の浄化

In situ bioremediation of soil and groundwater contaminated with volatile chlorinated organic compounds

矢木 修身^{1*}, 岩崎 一弘², 栗栖 太¹

OSAMI YAGI, KAZUHIRO IWASAKI and FUTOSHI KURISU

¹ 東京大学大学院工学系研究科附属水環境制御研究センター 〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1

* TEL: 03-5841-6263 FAX: 03-5841-8528

* E-mail: yagi@env.t.u-tokyo.ac.jp

² 独立行政法人国立環境研究所 〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

¹ Research Center for Water Environment Technology, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo,
7-3-1, Hogo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

² National Institute for Environmental studies, 16-2, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

キーワード：原位置バイオレメディエーション, 環境汚染, 有機塩素化合物, 微生物分解, トリクロエチレン

Key words: In situ bioremediation, environmental pollution, chlorinated organic compound,
microbial degradation, trichloroethylene

1. はじめに

現在、汚染した環境を修復する技術としてバイオレメディエーション (Bioremediation) 技術が注目されている。バイオレメディエーション技術とは、微生物、植物及び動物などのもつ生物機能を活用して汚染した環境を修復する技術である。生物を用いる環境浄化技術として、これまでに排水処理や有害物質分解微生物の開発などの多くの技術開発がなされてきた。しかしながら、最近の環境汚染は、トリクロエチレンやテトラクロエチレンなどの発癌性を有する揮発性有機塩素化合物による地下水・土壌汚染、ダイオキシンによる土壌汚染、有機スズ、PCB による魚介類や底質の汚染、タンカー事故やバラスト水、廃油による沿岸域の油汚染、さらに工場跡地におけるカドミウム、水銀による重金属汚染などの低濃度・広範囲な汚染が問題となっている¹⁾。これらの低濃度、広範囲の汚染の浄化には従来の物理化学的処理では対応が困難なため、バイオレメディエーション技術の活用が注目されている^{2)~5)}。ここでは、最も技術の進んでいる微生物を中心に、原位置バイオレメディエーション技術の現状について述べる。

2. 活用可能なバイオレメディエーション技術

バイオレメディエーション技術の活用はまだ緒に付いたばかりであるが、いろいろな分野で実用化が可能となってきた。現在実用化されている技術及び今後実用化が期待される技術の対象物質、活用場所及び活用生物を表

1に示す。下線を引いた部分は実用化されている技術である。重金属に関しては、水銀と6価クロムの研究が進んでいる。水銀に関しては、有機水銀を無機水銀に加水分解し、さらに金属水銀に還元する微生物が見出されており、ドイツでは排水の浄化に活用されている。筆者らも100 mg/lの塩化第二水銀を金属水銀に還元し、水中あるいは土壌中から水銀を除去できる種々の組換え微生物を作成している⁶⁾。また6価クロムを3価に還元し、沈殿除去できる細菌も見出され、中国では排水処理に用いられている²⁾。さらに、植物の保有するカドミウム、鉛などの重金属蓄積能を活用する汚染土壌の浄化法が期待されている⁷⁾。

一方、PCB、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、ダイオキシンなどの有機塩素化合物を分解する種々の微生物が分離されている⁴⁾。PCBでは紫外線照射で3塩素化以下の低塩素化PCBに変化させた後に、微生物で分解させる水処理技術が実用化されている。テトラクロロエチレンやトリクロロエチレンの場合には、鉄粉で脱塩素化した後に、微生物で分解する土壌浄化法が実用化されている⁴⁾。植物を用いる有機塩素化合物の分解能も明らかにされつつある。農業に関しては、分解遺伝子を組み込んだ植物による浄化が期待されている。またNO_xやSO_xを浄化する植物の開発が注目されている⁷⁾。

BODやCOD成分の除去には、河川中に生物膜のような微生物の住みかを増やして浄化に役立てる工夫がなされている。また富栄養化の要因となる窒素、リンの除去に、活性汚泥の操作条件を制御することによる高効率

表 1. バイオレメディエーション技術の活用可能な対象物質，活用場所および活用生物.

汚染対象物質	活 用 場 所			
	土 壤	水 域	大 気	排水処理
重金属（蓄積・分解）				
Hg	微生物	植物		微生物
Cd, Pb	植物	植物		
Cr ⁶⁺				微生物
有害化学物質（分解）				
PCB	微生物			微生物
トリクロロエチレン	微生物			微生物
植物	植物			
テトラクロロエチレン	微生物			微生物
農薬	微生物	植物		
ダイオキシン	微生物		植物	
環境ホルモン	微生物		植物	
NOx, SOx			植物	
有機汚濁物質（分解・蓄積）				
BOD, COD化合物		植物		微生物
窒素	微生物	微生物		微生物
リン		植物		微生物
油	微生物	微生物		微生物

下線：実用化されている技術

な排水処理技術が開発されている。また河川・湖沼においては、古くからホテイアオイ等の植物による除去が活用されている。油の汚染に関しては微生物を活用する方法が実用化されている⁴⁾。

3. 原位置バイオレメディエーション技術の種類

3.1. バイオレメディエーション技術とは³⁾

バイオレメディエーション技術は、微生物の活用法により 2 つに分類される。一つは、バイオスティミュレーション (Biostimulation) といわれ、汚染した土壌・地下水に窒素、リンなどの無機栄養塩類、メタン、堆肥などの微生物の増殖に必要なエネルギー源としての有機物、さらに空気や過酸化水素等により酸素を供給し、現場に生息している微生物を増殖させて浄化活性を高める方法である。もう一つはバイオオーグメンテーション (Bioaugmentation) とよばれ、汚染現場に浄化微生物が生息していない場合に、培養した微生物を導入して浄化する方法である。

バイオレメディエーションのプロセスを図 1 に示す。まず汚染の状況を正確に把握した上で浄化対策技術を検討する必要がある。すなわち汚染物質の種類と濃度、汚染の広がり、汚染土壌の物理化学的性質、地下水の水理学的特性などを調べる。ついでフラスコ、カラム、ライシメータなどを用いて汚染物質の生分解性を明らかにし、分解が困難な場合には、汚染物質を分解する微生物を分離する。分解能が低い場合には分解菌を育種し分解能を強化する。次に汚染の状況に合わせて処理プロセス

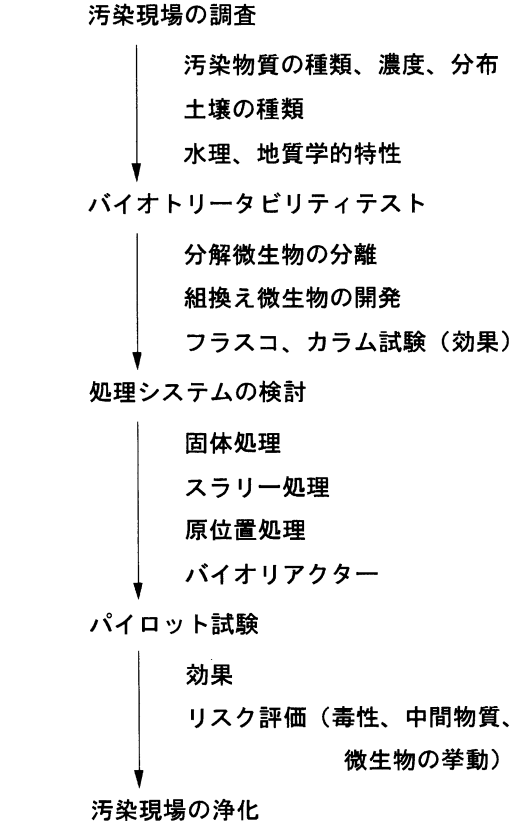


図 1. バイオレメディエーションのプロセス.

を選択する。すなわち固体処理 (Solid phase bioremediation, バイオパイル), スラリー処理 (Slurry phase bioremediation), 原位置処理 (In situ bioremediation, ランドファーミング, バイオベンディング, バイオスパーキング, 地下水循環方式, ファイトレメディエーション, ナチュラルアテニューエーション), バイオリアクター (Bioreactor) 等についてパイロットスケール規模での浄化試験を実施した上で現場への適用が可能となる。最近では、建物が建っているところでも浄化の可能な原位置処理が注目されている。

3.2 原位置バイオレメディエーション技術の種類

以下に現在使用されている主な原位置バイオレメディエーション技術を紹介する。

1) 直接注入方式

微生物、窒素、リン等の栄養塩類、空気、過酸化水素等の酸素供給物質、メタン、トルエン等の有機物を、地下水あるいは土壌中に垂直井戸や、水平井戸を用いて直接注入する。注入物質の制御が困難なことから、汚染物質や分解生産物の消長をモニタリングし、影響範囲を常に把握することが必要である。

2) 地下水循環方式

注入井戸と揚水井戸の 2 本の井戸を用いる場合は、一般に、下流側の井戸から汚染した地下水を汲み上げ、汚染物質を除去した後に分解促進物質を加え、汚染の上流側の井戸から注入する (図 2)。1 本の井戸で行う場合は、上部と下部に汲み上げ及び注入ポンプを設置し垂直混合を行う。汚染物質や注入物質の制御が可能となる

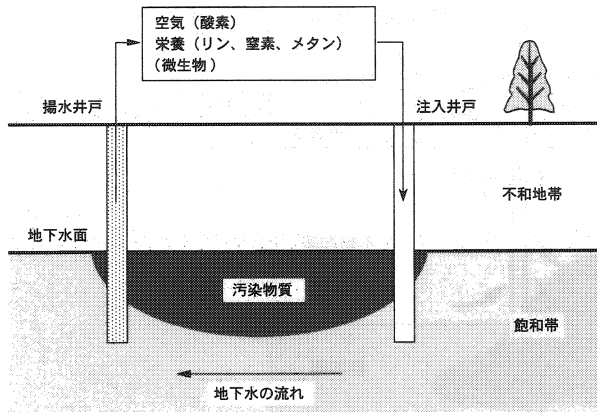


図 2. 地下水循環方式.

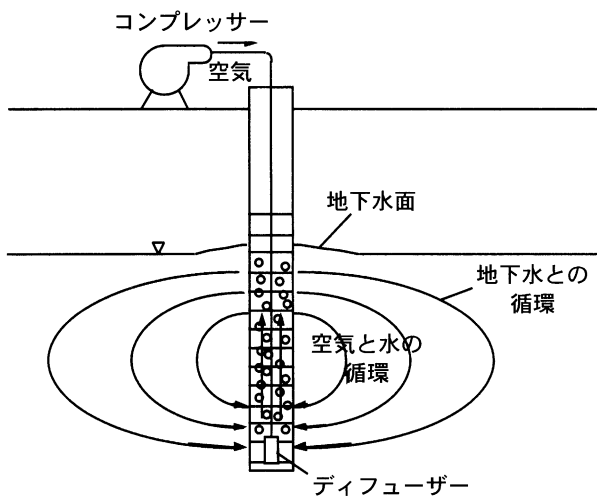


図 3. 水循環機能を設置した井戸.

(図 3)。

3) 分解バリア壁方式 (Permeable Reactive Barriers)

栄養塩類, 酸化物質, 還元物質等で活性な微生物壁を作り, 地下水が通過する際に浄化される方式。微生物壁

への栄養物質の常時注入や, 微生物壁を厚くする等の検討がなされている。揮発性有機塩素化合物に関しては検討が開始された段階である。

4) バイオベンディング

土壌の不飽和帯に空気の流れを作り現場に生息する微生物活性を高め, 有機物質の分解を促進する技術である。空気注入と真空抽出を同時に行うが, さらに窒素やリン等の栄養塩類を添加すると効果が増大する。一般に浄化に 6 ヶ月～2 年を要し, 透過性の低い土壌や粘土質土壌には不向きである (図 4)。

5) バイオスパーキング

空気あるいは酸素および栄養物質を水飽和帯に注入し, 微生物活性を増大させ汚染物質を分解除去する技術である。ディーゼル油, ジェット燃料, ガソリン等の石油汚染の浄化に有効であり, 同時に, 水不飽和帯の土壌に吸着している物質の除去にも有用である。汚染物質が揮発性の場合には特に効果が高い。しばしば真空抽出やバイオベンディングと併用される (図 5)。

6) ファイトレメディエーション

最近, 土壌の浄化に植物を活用するファイトレメディエーション (Phytoremediation) の研究が注目されている。汚染した土壌に浄化植物を植え, 根圏による浄化あるいは植物の根が汚染物質を吸収し, 体内で分解し, 大気へ放出する現象を活用するもので, 植物の浄化力が次々と報告されている⁷⁾。地下水が 1,1,2,2-テトラクロロエタンとトリクロロエチレンで汚染した表層土壌 4000 m² に 183 本のポプラの木を植え, 汚染した地下水の拡散を止めると共に分解除去することを目的とした研究がなされた。揮発性有機塩素化合物の濃度は最大で 260 mg/l で地下水位は 0.9～1.2 m であった。この場所は地下水位が高く, 土壌洗浄, 揚水, 真空抽出などの技術が適さないため, 新しい技術が検討された。植栽により地下水中に含まれていた 260 mg/l の揮発性有機塩素化合物は検出限界以下となり, ファイトレメディエーションの効果が確認された⁸⁾。

7) ナチュラルアテニュエーション³⁾

ナチュラルアテニュエーション (Natural attenuation) は土壌や地下水の自然の浄化力を利用する, 受身的な浄

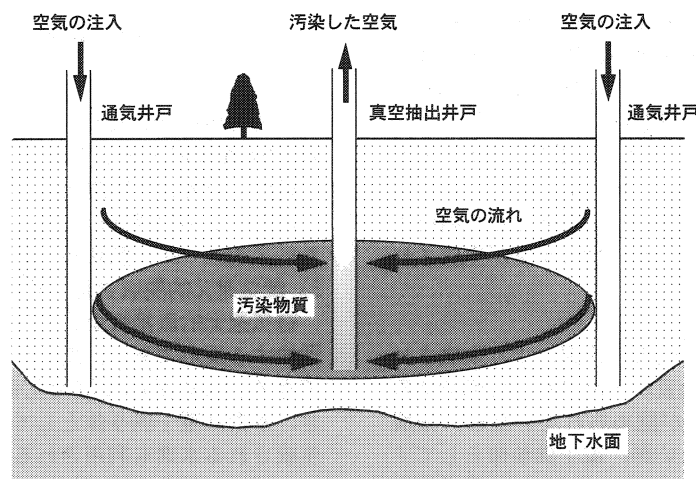


図 4. バイオベンディング.

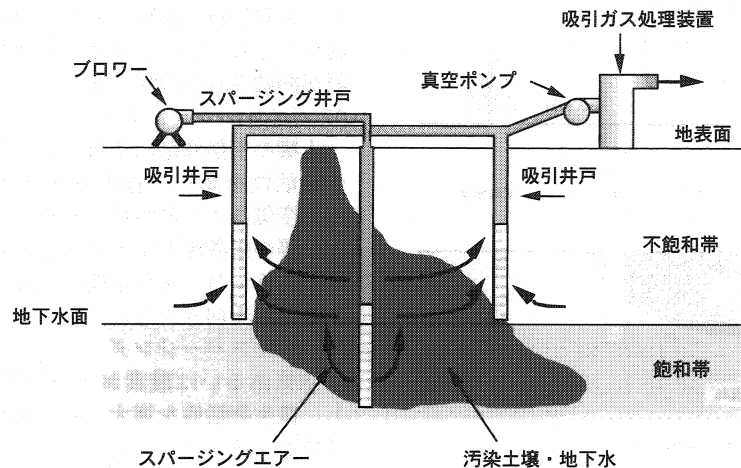


図5. バイオスパーキング。

化技術である。石油汚染の浄化に有効であるが、浄化能は生物分解、拡散、揮発、吸着等の作用に基づいている。石油系炭化水素の浄化には、生物分解が最も重要な作用である。環境中にはわずかではあるが常に栄養物質が存在しているため、そこで土質が多孔質の場合は酸素が大气中より供給され好気分解が進行するが、粘土質のように透過性の低い場合は酵素の供給が少ないため嫌氣的となり、嫌気分解が重要な作用となる。

バイオレメディエーション技術の長所は、1) 生物を活用するため、常温、常圧で反応が進むため省エネルギー的技術である。2) 薬品を使用しないため二次汚染が少ない。3) 原位置での汚染の修復が可能である。4) 低濃度、広範囲の汚染の浄化に適応できる。5) 他の処理法と比較しコストが安いなどがあげられる。また、短所としては、1) 種々の物質で汚染されている場合は、技術開発が必要である。2) 物理化学的処理に比べ浄化に長期間を要する。3) 生分解されない物質には適応できない。4) 有害な中間分解生成物の有無を調べる必要があるなどがあげられる。

4. 揮発性有機塩素化合物の原位置における分解機構

1) 好氣的分解（直接分解）

好氣的直接分解は、汚染物質が微生物の増殖物質として利用されると共に電子を放出する反応である。発生した電子は、電子受容体を必要とする。現場における電子受容体は、酸素、硝酸、マンガン（4価）、鉄（3価）、硫黄、二酸化炭素である。塩素数の少ない化合物ジクロロエチレン（DCE）、ジクロロエタン（DCA）、ビニルクロリド（VC）、ジクロロメタン（MC）、クロロメタン（CM）は好氣的に分解され、エネルギー源として利用されると同時に二酸化炭素、水、塩化物イオンが生成される^{9,10}（図6）。

2) 好氣的分解（共役分解）

好氣的共役分解は、対象外物質の代謝により生成された酵素や補酵素により対象物質が分解される反応である（図7）。エネルギーの生成が認められないため、分解微生物の増殖には役に立たないが、電子供与体としてメタン、エタン、プロパン、エチレン、ブタン、芳香族炭化水素（トルエン、フェノール）、アンモニア等が利用

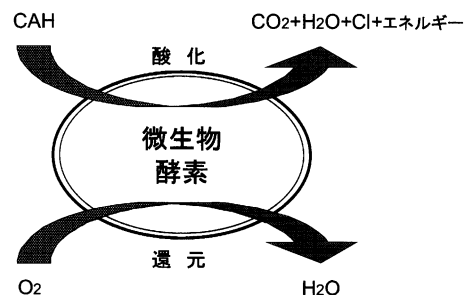


図6. 好氣的分解（直接）。

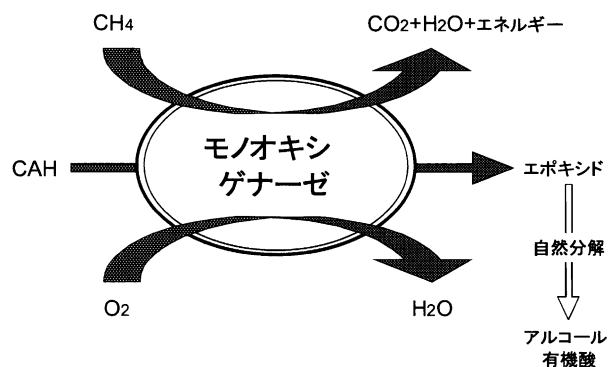


図7. 好氣的分解（共役）。

されて分解酵素が生成されることにより、TCE、DCE、VC、TCA、DCA、CF、MCの好氣的分解が可能となる。一般に、塩素化脂肪族炭化水素はオキシゲナーゼによりエポキシドが生成され、エポキシドは、不安定のため直ちにアルコール、脂肪酸に変化する（図8）。

3) 嫌気還元的脱塩素化分解（直接分解）

嫌気還元的直接脱塩素化分解は、塩素イオンが水素と置換する反応であり、微生物はエネルギーを獲得し増殖できる。この反応で塩素化合物は電子受容体として働き、水素は電子供与体として働く。有機物の分解により生成される水素も利用される。この反応はハロ呼吸あるいはデハロ呼吸と呼ばれる。

すなわち、PCE、TCE、DCE、VC、DCAが電子受容体

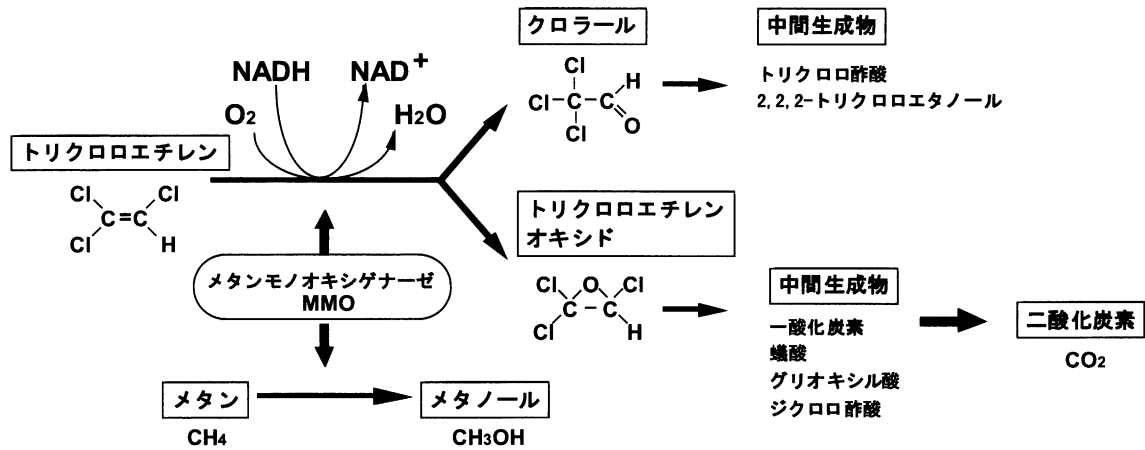


図 8. メタン酸化細菌 M 株による TCE の好氣的分解経路.

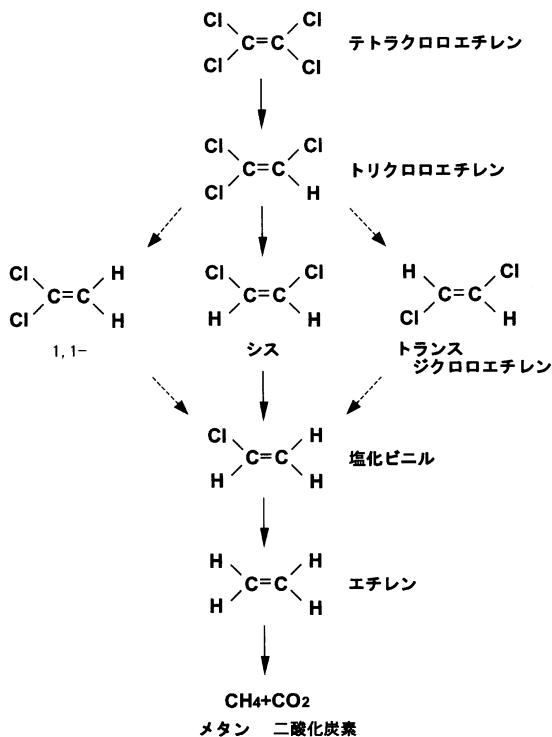


図 9. クロロエチレンの嫌氣的分解経路.

として働き、水素が塩素と置換して外れる。この反応は、塩素数の多い物質ほど容易に進行する。VC は、嫌気よりも好氣的のほうが分解され易いが、嫌気条件下で 3 価の鉄が存在すると二酸化炭素に分解されること、フミン酸が存在する還元状態で DCE が VC に、さらに VC が二酸化炭素に変換する反応も知られている。

嫌気還元的脱塩素化反応において、水素は重要な電子供与体である。脱塩素化微生物はメタン生成菌の増殖する 10 分の 1 以下の低い水素濃度でも生育できるが、硝酸還元菌や硫酸還元菌により増殖が阻害されることが報告されている。還元的脱塩素化分解は、乳酸、酪酸、メタノール、エタノール、安息香酸等の存在で促進される。

4) 嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解)

嫌気還元的共役脱塩素化分解は、共役的化合物の代謝

により生産される酵素や補酵素により進行する。これらの酵素は水素受容反応に関与するもので、PCE, TCE, DCE, VC, DCA, CT を嫌気条件下で脱ハロゲン化するが、この反応でのエネルギーの発生は認められない (図 9)。一般に、直接的か共役的かを区別することは大変困難である。

5) 嫌氣的脱塩素化分解と好氣的分解の併用

嫌気還元的共役脱ハロゲン化分解と好氣的分解の両者を利用する併用分解が注目されている。嫌気還元的共役分解微生物は、分解対象物質の 100~1,000 倍量の有機物を必要とすることがあるので、嫌気還元的共役分解微生物の持つ低塩素化反応を利用した後に、好氣的分解微生物を活用することが検討されている。

5. 塩素化脂族炭化水素 (Chlorinated Aliphatic Hydrocarbon, CAH) で汚染した土壌・地下水浄化のためのバイオレメディエーション技術の開発

1) 米国 EPA (環境保護庁) によるバイオレメディエーション実施例¹¹⁾

米国 EPA は、CAH による土壌・地下水汚染に対して種々のバイオレメディエーション技術の開発に取り組んでいる。これまでに取り組んだ 9 ケ所のバイオレメディエーション実施例を表 2 にまとめた。いずれの場所においても、汚染の経緯、汚染物質、地質学的・水理学的特性、実施された浄化技術、浄化の結果、費用等について報告がなされているが、その概要を紹介する。3 カ所は現場の浄化を目的にしたものでいずれも嫌氣的処理法である。残りの 6 カ所はいずれも実証試験であり、2 カ所は、嫌氣的還元反応を利用したもの、4 カ所は、好氣的分解法に関するものである。

(1) Moffett Naval Air Station

サンフランシスコの南 35 マイルのところにあり、1933 年から 1994 年まで空軍基地として使用された。石油、TCE や PCE 等の CAH で汚染されたため、1986 年 9 月から 1998 年 11 月にかけてメタン、トルエン、フェノールの添加によるバイオスティミュレーションによる TCE, PCE の浄化が試みられた。汚染した地下水は、4~6 m

表 2. 米国 EPA が実施した塩素化脂肪族炭化水素汚染土壌・地下水の原位置バイオレメディエーションの実施例.

実施例	汚 染 場 所	技 術 の 原 理	添加物質及び浄化技術 電子受容体 電子供与体	技術の規模	対象媒体	対象物質
1	NAS Moffett Field, Mountain View, California	好氣的分解 (共役分解, 直接分解)	酸素, メタン, 過酸化水素 トルエン, フェノール 地下水循環方式	実証試験	地下水	TCE, cis-DCE, t-DCE, VC
2	Edwards Air Forth Base (AFB), California	好氣的分解 (共役分解, 直接分解)	酸素, トルエン 過酸化水素 地下水循環方式	実証試験	地下水	TCE
3	U.S. Department of Energy Savannah River Site, Aiken, South Carolina	好氣的分解 (共役分解, 直接分解)	酸素, メタン 直接注入方式 栄養塩添加	実証試験	底質, 地下水	TCE, PCE
4	Texas Gulf Coast Site Houston, Texas	嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解, 直接分解)	メタノール, 地下水循環方式 栄養塩添加	現場の浄化	地下水	TCE, cis-DCE, VC
5	Avco Lycoming Super- fund Site Willamsport, Pennsylvania	嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解, 直接分解)	糖蜜 直接注入	実証試験 現場の浄化	地下水	TCE, DCE, VC, Cr6+, Cd
6	Abandoned Manufactur- ing Facility Emeryville, California	嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解, 直接分解)	糖蜜 直接注入	実証試験 現場の浄化	地下水	TCE, Cr6+
7	Watertown, Massachusetts	嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解, 直接分解) 好氣的分解 (共役分解, 直接分解)	乳酸 地下水循環方式 栄養塩添加 酸素, プロパン 地下水循環方式	実証試験	地下水	PCE, TCE
8	Dover AFB Area 6 Dover, Delaware	嫌気還元的脱塩素化分解 (共役分解, 直接分解)	乳酸 地下水循環方式 微生物添加 栄養塩添加	実証試験	地下水	TCE
9	Dover AFB Building 719 Dover, Delaware	好氣的分解 (共役分解, 直接分解)	酸素, プロパン 直接注入	実証試験	土壌	TCE, TCA, DCE

と比較的浅く、砂質とレキ層のため地下水流速は1.5~3 m/d と速く、透水係数は0.11 cm/sec であった。注入井戸より有機栄養物質を含んだ地下水が注入され、6 m 離れた揚水井戸を用いて循環方式による実証試験が実施された(図2参照)。メタンを炭素源として用いた場合、メタン 5~6 mg/l, 酸素 15~25 mg/l を溶解した地下水を 1~1.5 l/min で注入し、10 l/min で揚水した。現場での TCE と PCE 濃度が低かったため、両物質を添加した系で実施された。電子供与体として添加したメタン、フェノール、トルエン濃度は平均で 6.6, 12.5, 9 mg/l であったが、フェノール、トルエンを用いた場合は93~94%, メタンでは19%の TCE が分解された。添加した TCE 濃度は 0.048~.097 mg/l の範囲であった。メタンを使用した場合は浄化効果が低かったが、いずれも浄化の効果が確認された。

(2) Edwards Air Force Base

ロスアンゼルスから 60 km 離れたところに位置し、1958~1967年の間空軍基地として使用された。エンジン

の洗浄に TCE が使用され、TCE は地下を通して3,200 フィート先まで汚染が広がった。帯水層は二層あり上層が地下より 9~17 m, その下 2 m の間隔において 5 m の第二帯水層が存在した。TCE 濃度は 500~1,200 µg/l であり、平均濃度は、上層が 680 µg/l, 下層が 750 µg/l であった。土質は砂質シルトであった。透水係数は、 $1.5 \sim 5.5 \times 10^{-3}$ /sec, 地下水流速は 6.9 cm/d であった。

TCE で汚染した地下水に、トルエンと酸素および過酸化水素を含んだ水を注入すると共に深さを変えて揚水し、地下水を1本の井戸で循環させることによる浄化が試みられた(図3参照)。直径8インチの24 m の深さの井戸2本を10 m の間隔に設置した。それぞれの井戸には10 m と15 m のところにスクリーンがあり38 l/min で水を循環した。一本の井戸は、下層に注入し上層で吸引し、他方は上層に注入し、下層で吸引した(図10)。トルエン 0.67 mg/l, 過酸化水素 47 mg/l (DO44 mg/l) を含む地下水を注入した。開始後0~136日までは分解菌を増殖させ、定常状態となった142~271日, 317~444日

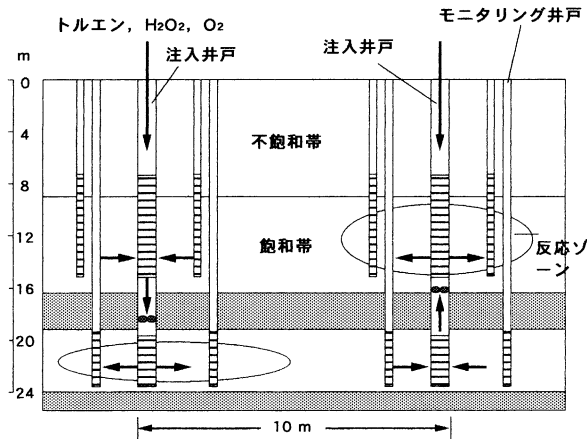


図10. エドワード空軍基地における浄化.

について TCE の分解が調べられた。井戸の周辺 480 m² に20本のモニタリング井戸を設けた。7.5 m 離れたモニタリング井戸の調査結果では 1,150 µg/l の TCE が97% 減少し、トルエンの効果が確認された。コストについても検討がなされた。

(3) Savannah River Site

300平方マイルの広さに米国エネルギー省の核関連物質の研究施設と製造部門がある。1950～1980年代にかけ排水が処分池に行く途中で漏れ、TCE 及び PCE の高濃度汚染が生じた。1985年から揚水処理が開始された。汚染は1,200エーカーに及び、地下水は TCE 10～1,031 µg/l, PCE 2～124 µg/l, 土壌は TCE 0.67～6.29 mg/kg, PCE 0.44～1.05 mg/kg であった。メタンの注入による浄化試験が実施された (図11)。地下水位は、120～135 フィートの深さであり、土質は比較的水の通りやすい砂質であった。上層、下層に 2 本の水平井戸を設置し、下層にメタンを含んだ空気を注入した。下層の井戸は、深さ175フィートのところに長さ310フィートの注入水平井戸を、上層は深さ80フィートのところに205フィートの空気吸入水平井戸を設置した。メタン 1 %を含む空気を 240立方フィート/min で384日間注入した結果、土壌中

の TCE, PCE は 5 ppb 以下となりほとんどが除去された。除去された量は、真空抽出由来が12096ポンド、微生物による分解は、4,838ポンドであった。1 %メタンの注入で 10⁵ MPN/ml のメタン菌が増殖し、50%のメタンが消費された。メタン注入の効果が確認された。

(4) Texas Gulf Coast Site

ヒューストン市の近くにあり、多くの製造工場が 1952～85年まで稼動していた。1986年に TCE 汚染が見出され、以後モニタリングが実施された。TCE 濃度は 1986年には 50 mg/l であったが、1995年には 22 mg/l に減少し、DCE の生成が認められた。このことから現場ではナチュラルアテニュエーションが進行しているものと考えられた。1995年からバイオレメディエーションが開始された。汚染面積は、600×700フィート、深さは 12～20フィートのところであった。帯水層は 2 層あり、上層が汚染されていた。上層と下層との間に厚いレキ層があり、このため下層は汚染されていなかった。このレキ層に吸引井戸を 4 本、深さ10フィートのところに注入井戸を 4 本それぞれ交互に100フィートの間隔で設置した。トレンチの長さは総計で吸引井戸1,800フィート、注入井戸は1,100フィートとなった。注入井戸よりメタール 500 mg/l, N 9 mg/l, P 9 mg/l を添加したものを注入し、12ガロン/mlの水を循環した。1995年6月から 1998年12月まで実施され、除去率は TCE 99% (11.8 →0.12 mg/l), DCE 87% (1.28→0.165 mg/l), VC 30% (0.078→0.054 mg/l) であった。栄養塩のみの添加での分解速度は 2 %/month であったがメタノール添加により 10%/month に上昇した。嫌氣的分解の効果が確認された。

(5) Avco Lycoming Superfund Site

ペンシルバニア州にあり、自転車製造、ミシン製造など、多くの工場が1929年から稼動しているが、1980年代に水道水源地下水が TCE, DEC, 6 価クロム、カドミウムで汚染されていることが判明し、揚水処理が開始された。1995年 5 月に糖蜜注入、エアースパージング (図 5 参照) 及び土壌ガス抽出によるバイオレメディエーションが計画され、1995年10月から1996年 6 月まではパイロット試験、1997年 1 月から現場浄化が開始された。現場は

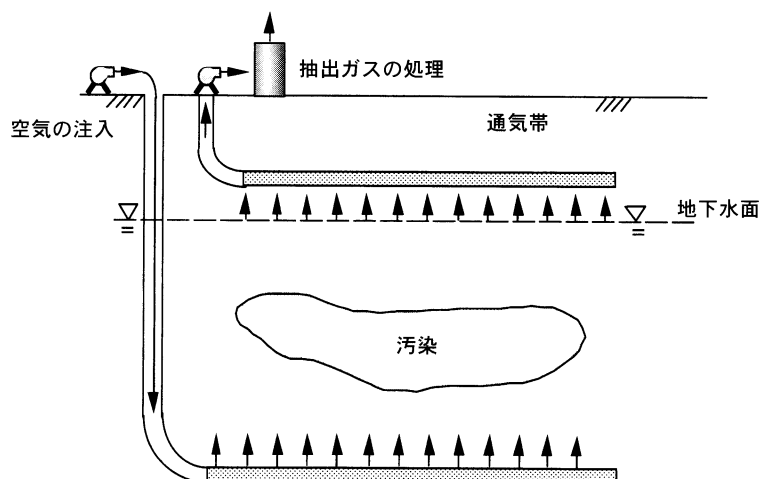


図11. 水平井戸によるバイオスパージング.

砂質シルト土壌であり、地下水の汚染は TCE 0.7 mg/l, 6価クロム 3 mg/l, カドミウム 0.8 mg/l であった。本実験での糖蜜は、20ヶ所の直径4インチの井戸より毎日2回注入された。1998年7月の結果では、多くの井戸が嫌氣的となり脱塩素化反応が進行した。六価クロムは 1,950 $\mu\text{g/l}$ が 10 $\mu\text{g/l}$ となり99%が除去された。また TCE は 90% (67→6.7 $\mu\text{g/l}$), DCE は開始10ヶ月後7→100 $\mu\text{g/l}$ と増加したがその後 19 $\mu\text{g/l}$ に減少した。糖蜜の注入は TCE 及び 6価クロムの除去に有効であることが明らかとなった。

(6) Emeryville

1952年から1995年までニッケルメッキを中心とする金属メッキ工場が稼動していたが、有機溶媒と油による地下水の汚染が見出された。1977年から1985年にかけて地下水のモニタリングがなされ6価クロムと TCE の汚染の進行が確認された。1995年より糖蜜を直接注入し、脱ハロゲン化による浄化と 6価クロムの還元浄化が開始された。現場はクレイ土壌で地下水位は3.5～8フィートの深さで、地下水流速は 60 フィート/yr であった。パイロット試験は、1995年8月～1996年2月まで実施された。土壌中を嫌気にするため糖蜜が水道水で希釈し注入された。TCE は1995年4月には 10 mg/l であったが、1996年2月には 4.2 mg/l に低下した。

(7) Watertown

1800年代の後半から石炭ガス、金属製品等の製造が行なわれていたが、現在は、電子部品製造工場が稼動している。過去の汚染や工場からの不適切な廃棄物処分により TCE, PCE の土壌、地下水汚染が生じた。地下水位は8フィートと浅く、土壌は砂質クレイからなっていた。PCE, TCE を除去するため嫌気及び好気の両者の方式が検討された。初めは地下水循環方式嫌気条件下で PCE, TCE を DCE, VC にし、ついで好気条件下で DCE と VC を分解する方式であった (図2参照)。3本の注入井戸と3本の吸引井戸が設置された (図2参照)。浄化面積は10×20フィートであり、井戸の13～20フィートにスクリーンが設けられ、乳酸と栄養塩類が注入された。

嫌氣的脱塩素化を促進するため、アンモニア 25 mg/l, トリポリリン酸カリウム 25 mg/l, 乳酸 100 mg/l, 酵母エキス 5 mg/l が pH 7 の条件化で1996年11月～1997年6月まで間欠的に添加され、6月には地下水中の乳酸が 350 mg/l に増加した。この間地下水は循環された。1997年7月から酸素発生物質 (ORC) が添加された。好氣的になるのに1月を要した。ORC と同時にメタンが週1回の頻度で2ヶ月間注入された。

嫌気条件の最初の4ヶ月間は、PCE, TCE, DCE, VC の分解はほとんど認められなかったが、その後 DCE の濃度が増加した。メタン濃度は初め 0.2～0.3 mg/l であったものが 0.05～0.1 mg/l に減少し、硫酸還元菌が増殖し分解に寄与したと考えられた。好気条件下の1997年7月には TCE 濃度は 12 mg/l から 1 mg/l 以下に低下し、VOC の80%の分解が確認された。VC の半減期は45日であったが、好気条件の後半では22日となった。フィールド試験に15万ドルを要した。

(8) Dover AFB

1941年から使用されていたが1951～70年の間23万立方

フィートの溶剤、廃燃料、油等が廃棄され1989年 TCE, PCE, 重金属、砒素による土壌、地下水汚染が見出された。PCE, TCE, cis-DCE, VC の濃度は 46, 7,500, 1,200, 34 $\mu\text{g/l}$ であった。砂質土壌であり、地下水は、10～12フィートで浅かった。地下水循環方式による嫌氣的脱塩素化反応とバイオオグメンテーションが検討された (図12)。40×60フィートの浄化対象地域に3本の注入井戸と3本の抽出井戸を設置し3.06ガロン/minの速度で地下水を循環した。乳酸ナトリウムは炭素として 100 mg/l の濃度で注入され、3.75日は乳酸を、その後の2.75日はアンモニアとリン酸を含む栄養塩溶液が交互に注入された。

パイロット試験は、1996年9月から1998年3月まで18ヶ月間実施され、100 mg/l の乳酸ナトリウムが注入され、最初の5ヶ月間は TCE が徐々に減少し、cis-DCE がわずかながら増大した。VC, エタンの変化が認められなかったため、1997年1月に乳酸濃度を 200 mg/l に増やした。5月に DCE が生成されたが、その後減少しなかったため6月に 180L と 171L の微生物が注入された。90日後、VC, エタンの生成が確認され、1998年3月には TCE, DCE の75～80%がエタンに分解された。無処理の対照区では TCE から DCE の生成は認められなかったことから浄化の効果が確認された。50日後の1996年10月に注入井戸の目詰まりが発生したため新たな井戸を用いて継続したが、1997年3月に再び目詰まりが発生した。乳酸ナトリウムを乳酸に換えてみたが目詰まり防止効果は認められなかった。目詰まりの洗浄に過酸化水素が有効であった。

(9) Dower AFB Building

1941年から航空基地として利用されていたが、TCE 250 mg/kg, TCA 10～1,000 mg/kg, DCE 1～20 mg/kg による土壌汚染、TCE 19 mg/l による地下水汚染が見出された。ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン (BTEX) でも汚染されていた。浄化試験区は20×30フィート、深さ10フィートであり、ここに3本の井戸を設置しプロパンを注入するバイオペンテイングを実施した。80箇所ヶ所の土壌を採取し調査を行ったところ26ボンドの揮発性有機塩素化合物と BTEX の存在が確認された。1,1,1-TCA が70%以上を占めていた。1997年12月

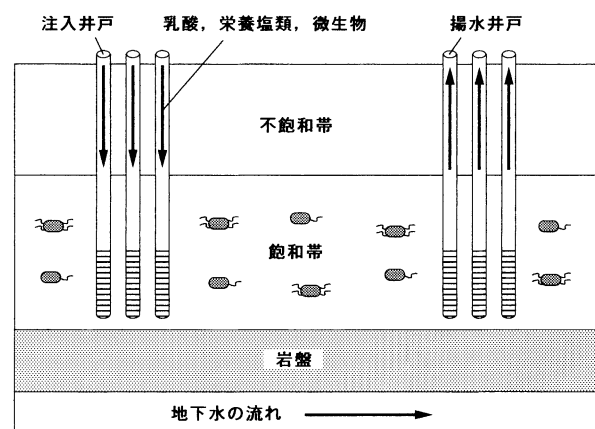


図12. ドーバー空軍基地における嫌氣的バイオオグメンテーション処理システム。

から1998年4月までプロパンを注入、1998年3月から1999年6月までバイオペンティングが実施され、80ヶ所の土壌分析がなされた。TCE の場合、0.25～10 mg/kg 以上汚染していた土壌はすべて 0.25 mg/kg 以下なり、TCA の場合、0.5～100 mg/kg 以上の汚染箇所はすべて 0.5 mg/kg 以下となり、cis-DCE の場合 0.25～20 mg/kg の汚染箇所すべてが 0.25 mg/kg 以下となった。また、土壌中の塩化物イオンが増加し、共役のバイオペンティングの効果が確認された。

2) わが国での原位置実証試験

(1) バイオスティミュレーション技術を活用した実証試験

揚水した地下水に、酸素、メタンガス、窒素、リンを溶解して、汚染地層中に注入し、汚染地下水に在るメタン酸化性菌を増殖・活性化させて、原位置地下水循環方式でトリクロロエチレン汚染地下水を浄化する現場実証試験が、バイオレメディエーション・コンソーシアムと環境庁との共同で1994～95年度にかけて実施された。汚染場所は、工場敷地内の地表から 14～23 m の第一帯水層上部で、5～7 mg/l の TCE で汚染されていた。現場では、地下水の浄化を目的として、揚水井戸が設置され、1日に100トンの汚染地下水が揚水曝気処理された後に放流されている。この放流水 50 トンに、酸素 204mg/l、メタン 10 mg/l、さらに窒素とリンを添加し、上流側の注入井戸 3 から 1 カ月間注入し、その後注入を停止した。注入井戸から 3.5 m 下流の観測井戸 1 及び 7 m 下流の観測井戸 2 より地下水を採水し、TCE 濃度、メタン酸化性菌数を測定した。7 mg/l あった TCE が注入停止後40日以上経過しても飲料水基準の 0.03 mg/l 以下であった。顕著なバイオレメディエーションの効果が確認された^{12,13)}。地下水中にはメタン酸化性菌数は 1 ml 中に $10^1 \sim 10^2$ 存在していたが、10日後には 10^5 のレベルに増加した。

(2) バイオオーグメンテーション技術を活用した実証試験

通産省のプロジェクトとして、1996～2000年度にかけ TCE 汚染地下水のバイオオーグメンテーションが実施された。TCE 分解菌を井戸より注入し同じ井戸より揚水する方式であった。すなわち、TCE が 0.789 mg/l で汚染されている地下水に、現場から分離したトルエン酸化性 TCE 分解菌 *Ralstonia eutropha* KT-1 株の培養休止菌体 OD=1 を 10 L/分 で11時間注入し、さらに KT-1 株を地中内部に押し込むため脱塩素水道水を 6 時間注入した。その後、3 L/分 で揚水を開始し TCE 濃度の変化を調べた。KT-1 株を添加しない系では、揚水と同時に TCE が検出され、24時間後には TCE が 0.03 mg/l となったが、添加系では50時間後でも TCE は検出されず300時間まで 0.03 mg/l 以下であった。オーグメンテーションの効果が確認された。わが国で初めての試みであった¹⁴⁾。

6. バイオレメディエーション技術の最近の動向

2000年7月に京都で第5回国際環境バイオテクノロジーシンポジウムが開催され、世界約40ヶ国、500人

以上が参加し、400件の発表がなされた。微生物による塩素系化合物及び油のバイオレメディエーションに関してはそれぞれ40件以上の発表があった。塩素系化合物については特に TCE, PCE, ダイオキシン, γ -BHC, PCB, ベンゾエート等に関する数々の新規な分解菌、分子育種による新機能の獲得、脱ハロゲン機構の解明等新しい多くの知見が報告された。油についてはクウェートの油汚染、油汚染の浄化促進を目的とする長鎖炭化水素及び芳香族化合物分解菌の開発、エマルジョン化への促進技術等多くの基礎技術の紹介がなされた。重金属除去、N, P 除去、廃棄物処理のセッションもそれぞれ30件以上の発表がなされた。藻類、細菌、植物による亜鉛、水銀、銅、クロム、ヒ素、鉛、アルミニウムの除去、またリン除去に関与するキナーゼの活用、リン蓄積システム、硝化脱窒機構、メタン発酵の効率化、コンポストの分子生態学等多くの実用化を目指した研究成果が発表された。

米国においてはバイオレメディエーションの技術開発が精力的になされている。2001年6月に第6回バイオレメディエーション国際シンポジウムがサンディエゴで開催された。本シンポジウムは、2年に一回米国で開催されるが、約30カ国1500人が参加し、約600件の発表がなされた。本シンポジウムでは汚染現場の浄化に関する発表が多くなされ、新しいアイデアが次々と報告された。浄化の対象物質として、トリクロロエチレン、MTBE、ニトロ芳香族化合物、PCB、多環芳香族化合物、石油、農薬、クレオソート等であった。

ダイオキシン、テトラクロロエチレン、高塩素化 PCB のような難分解性物質でも、嫌気条件下では脱ハロゲン反応が容易に生じ、分解することが見出された。最近、鉄触媒や水素やポリ乳酸の添加により嫌気条件を作り、脱ハロゲン反応を促進させる方法や、嫌気的処理の後に好気的微生物で分解する化学的な手法と生物的手法を組み合わせた技術が実用化され、注目されている⁴⁾。

7. おわりに

わが国において、化学物質の還元能や紫外線を利用して、脱ハロゲン化した後に、生物処理を併用する PCE や PCB のハイブリッド分解技術やバイオペイルによる油汚染土壌の浄化技術が実用化される等、バイオレメディエーション技術が急速に進展している。しかしながら、バイオオーグメンテーション技術の安全性については微生物を導入することから研究例が少ない。1998年の5月に通産省から、組換え微生物等の野外利用のための指針が定められた。また1999年3月に環境省より単一微生物を地下に注入し、汚染地下水を浄化するための安全性に関する指針が定められた。安全性の考え方が明らかとなったため、今後は多くの研究例が報告されるものと期待される。生物修復技術は、環境ホルモンのように低濃度、広範囲な土壌・地下水汚染の浄化に最も適した技術と考えられ、今後の発展が期待される^{2～5,15)}。

文 献

- 1) 環境庁：環境白書，平成13年度版（2001）。
- 2) 児玉徹，大竹久夫，矢木修身編：地球をまもる小さな生き物たち-環境微生物とバイオレメディエーション-，技報堂出版，238 p. (1995)。
- 3) King, R.B.: Practical Environmental Bioremediation, Lewis Publishers, 59-76 (1998)。
- 4) 藤田正憲編著：バイオレメディエーション実用化への手引き，リアライズ社，377 p. (2001)。
- 5) 藤田正憲，矢木修身監訳：バイオレメディエーションエンジニアリング，設計と応用，エスティエス，505 p. (1997)。
- 6) Okino, S., K. Iwasaki, O. Yagi and H. Tanaka.: Development of a biological mercury removal recovery system, *Biotechnology Letters*, 22, 783-788 (2000)。
- 7) 森川弘道：ファイトレメディエーションとファイトテクノロジー，ケミカルエンジニアリング，46, 665-673 (2001)。
- 8) Wickamanayake, G.B.: Bioremediation and Phytoremediation, p. 245-256, Battelle Press (1998)。
- 9) Bradley, P.M. and F.H. Chapelle: Effect of contaminant concentration on aerobic microbial mineralization of DCE and VC in stream-bed sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 553-557 (1998)。
- 10) Harkness, M.R. et al.: Use of bioaugmentation to stimulate complete reductive dechlorination of trichloroethene in Dover soil columns. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1100-1109 (1999)。
- 11) EPA: Engineered Approaches to In Situ Bioremediation of Chlorinated Solvents: Fundamentals and Field Applications. EPA 542-R-00-008 (2000)。
- 12) Yagi, O. and M. Nishimura: Environmental biotechnology, The Japan perspective, In *Biotechnology in the Sustainable Environment.*, Plenum Press, New York, 201-207 (1997)。
- 13) 矢木修身，岩崎一弘：揮発性有機塩素化合物分解微生物，微生物生態学会誌，13, 165-170 (1998)。
- 14) Uchiyama, H., T. Nakajima, O. Yagi and T. Tabuchi: Aerobic degradation of trichloroethylene by a new methane-utilizing bacterium strain M, type 2, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2903-2907 (1989)。
- 15) McDonald, I.R., H. Uchiyama, S. Kambe, O. Yagi and J.C. Murrell: The soluble methane monooxygenase gene cluster of the trichloroethylene-degrading *Methylocystis* sp. strain M, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 1898-1904 (1997)。
- 16) 岡村和夫，渋谷勝利，中村寛治：TCE 汚染サイトのバイオオーグメンテーション実証試験結果，バイオサイエンスとインダストリー，59, 196-199 (2001)。
- 17) Cookson, J.T.: Bioremediation Engineering, McGraw-Hill Inc. 524 p. (1995)。