



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	バイオリアクターを用いたトリクロロエチレン (TCE) の処理
Author(s)	北川, 政美; 長谷川, 武; 下村, 達夫 他
Description	第5回衛生工学シンポジウム (平成9年11月6日 (木) -7日 (金) 北海道大学学術交流会館) . 4 水処理 1 . 4-1
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 5, 131-136
Issue Date	1997-11-01
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/7719">https://hdl.handle.net/2115/7719</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	5-4-1_p131-136.pdf



## 4-1

### バイオリアクターを用いたトリクロロエチレン (TCE) の処理

北川 政美、長谷川 武、下村 達夫 ( (株) 荏原総合研究所 ) 、  
岡田 芙佐子 ( 新潟市 ) 、 矢木 修身 ( 国立環境研究所 )

#### 1. はじめに

重金属、石油系炭化水素、塩素系有機溶剤、農薬、殺虫剤、PCBなどの有害物質による土壤・地下水汚染が1980年代始めごろから欧米を中心に大きな問題となり、その実態調査と共に汚染された土壤・地下水の浄化、修復が進められている。日本でも環境庁の調査結果から、塩素系溶剤を中心とした土壤・地下水汚染が相当に進行していることが判り、1994年に土壤環境基準にこれらの項目が追加されると共に、調査方法や修復技術の開発が行われている。

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) などの塩素系溶剤は脱脂能力が高く、安定であることから機械、金属、半導体工業、およびドライクリーニング店等の脱脂洗浄剤として長く使用されてきたが、発ガン性の疑いが生じたことから最近ではその使用が制限されてきている。しかし、以前はその取り扱いに厳しい規制もなかったことから不法投棄や漏出事故に対する関心は薄く、多くは放置されてきた。これらの塩素系溶剤は、比重が重く、表面張力も小さいことから地下深く浸透し、地下水帯に到達すると共に、汚染が広域化する傾向にある。現在、汚染が確認されている場所の多くは10年以前に漏出したものと言われている。

通常、こうした揮発性物質の土壤・地下水汚染対策としては、揚水曝気や土壤ガス抽出法 (SVE) が適用される。これらは、汚染濃度が高く、あるいは新しい汚染サイトでは極めて効率的、経済的な修復方法である。しかし、低濃度レベルに達した汚染や広域化した汚染では効率が下がり、時には数十年に渡って浄化作業を継続しなければならないことも報告されている。また、これらの方法は汚染物質を活性炭等に濃縮除去することはできるが最終的には濃縮産物を産廃や燃焼等で処分しなければならず、新たな二次汚染を引き起こす恐れもある。そこでさらに安全でより効率的、経済的な修復技術の開発が望まれている。

バイオレメディエーション技術は、温和な条件でかつ低コストで安全な形態まで分解できることから、石油系炭化水素の汚染修復技術として最近、注目を浴び、海外では多く実施例が報告されている。しかし、塩素系溶剤に対してはまだ多くの課題があり、ベンチスケール規模の実験や実証試験レベルに止まっている。演者らは、TCEを対象として汚染地層で直接浄化する原位置バイオレメディエーション技術の可能性を探ると共に、リアクターによる汚染地下水の生物学的処理方法も長年検討してきた。ここでは、TCE汚染地下水を対象に最近得られた効率的な生物処理リアクターの成果について報告する。

#### 2. 実験方法

##### 2-1. 使用菌株

好气的条件下で TCE 分解能を持つ微生物として、メタン資化細菌、トルエン、フェノール資化細菌などが知られている。後の二者は、菌体増殖の炭素源としてトルエン、フェノールの添加が必要であるが、それ自身有害であるため環境修復に使うには若干抵抗がある。一方、メタンは有害性がないことから芳香族化合物に比べ実用化しやすい。TCE 分解能を持つメタン資化細菌としては幾つか単離されているが、演者らは矢木らが日本の畑土壤から単離した *Methylocystis* sp. M 株を使用した<sup>1)</sup>。M 株は径 1  $\mu$ m、長さ 2  $\mu$ m の運動性のないグラム陰

性のカン菌で、TCE 分解活性が高くメタン、メタノールを炭素源として増殖できる。メタン資化細菌の中にはメタンをメタノールに酸化する酵素として可溶性メタンモノオキシゲナーゼ (sMMO) を有しているものがある。この酵素は基質特異性が広く、TCE を酸化することもできる。但し、TCE 分解によって生成する TCE オキサイドやクロラール等の反応性の高い中間代謝産物が菌体にダメージを与えるとの報告も多く、分解活性が失活しやすい問題がある。

## 2-2. リアクター

### (1) 包括固定化法リアクターの問題

M 株は凝集性や付着性がないことから当初、アルギン酸ナトリウムを用いた包括固定化法によるリアクター処理を検討した<sup>2)</sup>。しかし、①固定化操作において TCE 分解活性が低下する、② TCE 分解活性を維持するには反応リアクターにメタンと酸素の混合ガスを供給する必要があるが、その結果リアクター内の反応形式が完全混合に近づき目標とする処理水 TCE 濃度 (TCE 環境基準: 0.03mg/L) が得られにくい、③含有排水の通水と共に TCE 分解活性が低下するためその活性を賦活させるための操作が必要となるが、その頻度が多く、かつ時間の経過と共に賦活効果が減少する、などの問題があり、実用性の低いことが判明した。そこで菌体と処理水の固液分離を中空糸膜を用いる方法に変更すると共に、分解槽における TCE 分解が押し出し流れの反応になるようなリアクターを検討した。

### (2) プロトタイプリアクター

図 1 に、プロトタイプの反応リアクター (反応容積: 1L) を示す。このリアクターでは反応槽上部に 8 本のポリエチレン中空糸膜モジュール (ポアサイズ:  $0.1 \mu\text{m}$ 、有効表面積:  $0.014 \text{ m}^2/\text{modules}$ )、予め培養、増殖させた M 株を菌体の乾燥重量で 1400 mg/L になるように添加した。活性炭を通した脱塩素水道水に酸素とメタンおよび TCE を所定濃度 ( $\text{O}_2$ : 15 mg/L、 $\text{CH}_4$ : 3.5 mg/L、TCE: 0.25mg/L) 溶解した模擬地下水を作成し、5 L/min. (RT: 3.3h) の条件で通水実験を行った。

### (3) 機能分離型リアクター

プロトタイプは従来の包括固定化法に比べ安定した処理性能を得ることはできたが、賦活操作時には TCE 汚染水の流入を止める必要があること、流入水 TCE 濃度が高くなると除去性能が低下することなどの課題があった<sup>3)</sup>。そこで、TCE 分解と菌体の固液分離、および賦活操作を分離させ、それぞれ最適な条件で運転できるような機能分離型膜リアクターシステムに変更した。

図 2 に、改造後の新たな処理フローを示す。本システム (以下、MBリアクターと称す) は、1L の分解槽、内部に中空糸膜モジュール (ポアサイズ:  $0.1 \mu\text{m}$ 、有効表面積:  $0.4 \text{ m}^2/\text{module}$ ) を入れた固液分離槽 (実容積: 4.5L)、分離された菌体の TCE 分解活性を賦活させる賦活槽 (1.5L) から成る。予め、酸素、TCE を所定濃度含む模擬地下水に賦活槽からの菌体を混ぜ、分解槽に上向流で流入させた。分解槽の滞留時間は 3.3 時間、菌体濃度約 1000mg/L、水温は  $17^\circ\text{C}$  で運転した。流入水の TCE 濃度は処理成績を見ながら 1、4、10 mg/L と段階的に上げた。分解槽から流出する混合液は、窒素ガスで攪拌した分離槽に入り、中空糸膜を通して処理水を分離、排出させた。また、濃縮分離された菌体は  $30^\circ\text{C}$  に保温した賦活槽に投入し、メタン、酸素、および栄養塩類を注入して活性の賦活化を図った。

## 2-3. M株の培養

*Methylocystis* sp. M 株は、10 L のジャーファンメンターに無機塩培地 (表 1) 7 L を入れ、メタンを唯一の炭素源として  $30^\circ\text{C}$  で通気攪拌して得た増殖菌体を遠沈濃縮し、脱塩素水道水に混合して濃度を調整した。

## 2-4. TCE分解比活性の測定

分解槽入り口、出口の菌体を採取し遠沈洗浄後、5 ml の無機塩培地を含む 33 mL 容量のバイアル瓶に菌体濃度が 1000 mg/L (dry weight) になるように添加した。テフロンライナー付きブチルゴム栓およびアルミキャップで密栓後、液相の TCE 濃度が 1 mg/L になるようにシリンジで TCE 濃厚液を注入し、28℃、120rpm の条件下で振とうし、経時的に気相ガスの TCE 濃度を測定した。M株による TCE の分解は一次反応に従って進行した。そこで TCE の分解比活性を、一次反応速度定数  $k_1$  (L/(g·hr)) を用いて評価した。なお、バイアル瓶中では液相と気相の両方の相があるため下記の Speitel らの式を用いて一次反応速度定数を計算した。

$$dC/dt = -k_1 CX / (1 + HV_G/V_L) \quad (1) \text{式}$$

ここで、C:液相 TCE 濃度 (mg/L)、t:時間 (hr)、X:菌体濃度 (g/L)、

$V_G$ :気相の体積 (L)、 $V_L$ :液相の体積 (L)、H:0.454(28℃の TCE ヘンリー一定数)

## 2-5. 分析方法

### (1) TCE の測定

流入水の TCE 濃度は 33 mL 容量のバイアル瓶に 5 mL の試料を入れ、密栓後、28℃、120rpm で振とうして平衡に達したヘッドスペースガスを下記のガスクロマトグラフィで測定、液相濃度に換算した。なお、処理水 TCE 濃度は分解槽出口の混合液を採り、硫酸を含むバイアル瓶に入れて殺菌、密栓後同様に測定した。

使用機具: HITACH G-3000 ガスクロマトグラフィ、検出器: FID

カラム: TC-WAX (長さ 15 m、内径 0.53mm)

### (2) メタン、酸素、二酸化炭素の測定

使用機具: GLサイエンス GC320 ガスクロマトグラフィ、検出器: TCD

カラム: WG-100

## 3. 結果

### 3-1. プロトタイプの性能

図 3 に、流入水 TCE 濃度 0.25mg/L の条件下、プロトタイプで通水実験をしたときの処理性能を示す。運転開始と共に、徐々に TCE 分解比活性が低下したため、10日～1週間に一度、通水を止めリアクター内に空気、メタン、栄養塩を添加して分解活性の賦活を行った。その結果、TCE 分解比活性は元に戻り、再度連続通水が可能となった。65日間の連続運転で、処理水 TCE 濃度は 0.015～0.08mg/L、除去率 80～95%の値が得られた。

図 4 に、分解活性が著しく低下した菌体を用いて賦活における温度の影響を調べた結果を示す。25℃以上で賦活効果が得られることが示された。なお、活性をあまり低下させると賦活に時間を要した。

### 3-2. MB リアクタ

図 5 に MB リアクターによる連続運転時の TCE 濃度および分解槽入り口と出口における TCE 分解比活性の経時変化を示す。連続実験に先立ち、菌体無添加時の連続通水による TCE 揮散量を調べた結果、5%以下であったことから生物学的分解能を十分評価できるものと判断した。連続実験は、菌体投入後最初の 350 時間はブランク試験として TCE 無添加時の TCE 分解比活性の安定性を調べた。その後模擬地下水に TCE を添加し、1 mg/L (Run. 1)、4 mg/L (Run. 2)、10 mg/L (Run. 3) と流入水 TCE 濃度を段階的に増加させた。その結果、Run. 1、Run. 2 では TCE 除去率 99.9%以上で、検出限界値に近い処理水 TCE 濃度が安定して得られた。また、分解槽入り口と出口での TCE 分解比活性もほとんど差がなく、TCE 分解によ

る活性低下を押さえることができた。一方、流入水 TCE 濃度を 10 mg/L に上げた Run. 3 では濃度増加後、分解槽出口の TCE 分解比活性  $k_1$  値は徐々に低下し、処理水 TCE 濃度も増加傾向を示した。そこで賦活槽の溶存酸素濃度を上げたところ（飽和濃度の 0.5%→2.0%）分解槽の活性低下は抑えられ、処理水 TCE 濃度も低濃度レベルに維持され、除去率で 99.8% の値が安定して得られた。

#### 4. 考察

従来、TCE を対象としてリアクターによる処理がいろいろ試みられたが 1 mg/L 以上の濃度で長期間安定した処理成績が得られた事例はほとんどない。今回、MB リアクターで良好な処理成績が得られたのは、分解槽での反応をできるだけ押し出し流れで進行させるようにしたこと、賦活槽を最適な条件で運転できるようにしたこと、など幾つかの要因が考えられる。押し出し流れにした理由は、低濃度領域では TCE の分解が一次反応的に進行することから環境基準に適合する低濃度の水質を得るためには押し出し流れが有利と考えられたためである。一方、もう一つの要因として、菌体に対する TCE 負荷量の影響が考えられる。表 2 に、各 Run. の系全体の菌体量に対する TCE 負荷量を示す。プロトタイプと改造リアクタは操作条件が異なるため厳密な比較評価はできないが、負荷量からみると改造リアクタの Run. 1、2 はプロトタイプに比べて小さな負荷量で運転したことになり、このことが処理性能が安定したことにある程度寄与したと考えることができる。一方、Run. 3 は、プロトタイプに比べても高い負荷条件で運転しており、負荷条件以外の要素も処理性能の安定性に大きく寄与していることが推察できる。Run. 3 の結果からも明らかのように、賦活槽の操作条件を変えることで除去性能が大幅に改善できた。TCE の分解には補酵素である NADH の供給も必要であり、これが枯渇すると分解活性が低下することが言われている。NADH が再生できる蟻酸のような基質を添加することで分解活性が増加したと言う報告も幾つかある。<sup>4)</sup> 今回、賦活槽の条件を整えることで NADH を再生できる何らかの還元性物質が菌体内に貯留できた可能性もある。

#### 5. まとめと今後の展望

TCE を含む模擬地下水を対象に、膜分離型リアクターにメタン資化細菌である *Methylocystis* sp. M 株を投入し連続処理を行った結果、滞留時間 3 時間強で流入水 TCE 濃度 10 mg/L を環境基準 (0.03mg/L) 以下に安定して処理することが可能であった。また、TCE 分解比活性も安定的に維持することができた。今後は、実汚染地下水を対象にその処理性能を検討すると共に、リアクターから生成する余剰菌体を汚染地質に投入し、バイオオーグメンテーションとして利用することも検討したい。

#### 参考文献

- 1) H. Uchiyama, T. Nakajima, O. Yagi and T. Tabuchi: Aerobic degradation of trichloroethylene by a new type methane-utilizing bacterium, strain M, Agric. Biol. Chem., p. 2903 (1989)
- 2) 岡田英佐子, 他: メタン資化性菌によるトリクロロエチレンの分解、エバラ時報 No. 167 (1995)
- 3) F. Okada, T. Shimomura, H. Uchiyama and O. Yagi: Continuous Biodegradation of Trichloroethylene by *Methylocystis* sp. M in a Membrane Bioreactor, Contaminated Soil '95, 1067 -1074
- 4) S. E. Herbes, A. V. Paulumbo, et al: Innovative Bioreactor Development for Methanotrophic Biodegradation of Trichloroethelene, AL/EQ-TR-1994-0007

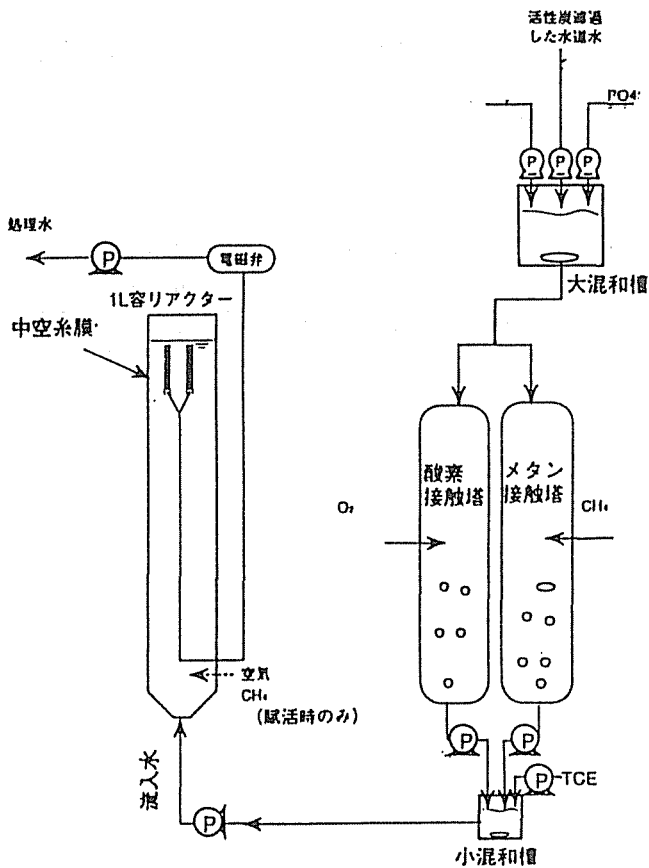


図1 プロトタイプのリアクター概要

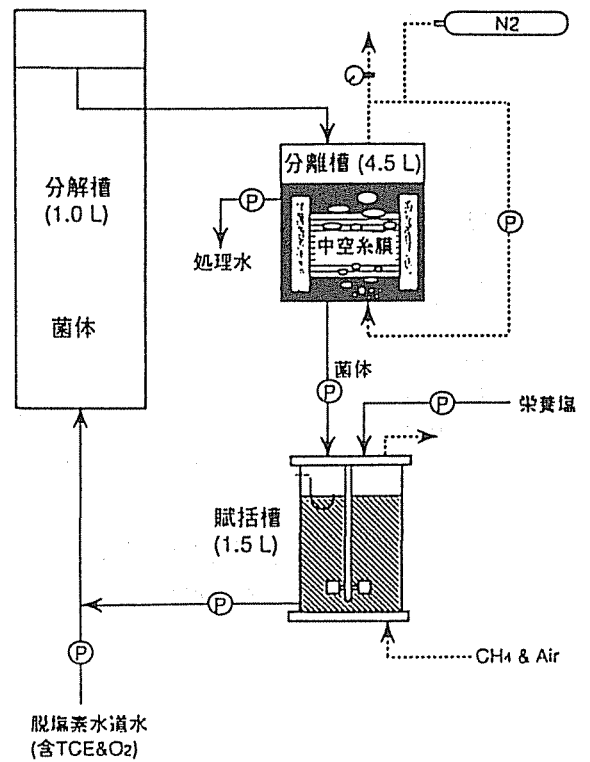


図2 改造後のMBリアクター概要

表1 無機塩培地 (pH 6.8) の組成

成分	濃度 (mg/L)
$K_2HPO_4$	1170
$KH_2PO_4$	450
$NH_4Cl$	2140
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	121
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.6
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	28
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.01
$Ca(NO_3) \cdot 4H_2O$	4.8
$H_3BO_3$	0.05
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.06
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.6
$NiSO_4 \cdot 7H_2O$	0.06
$H_2SeO_4$	0.04

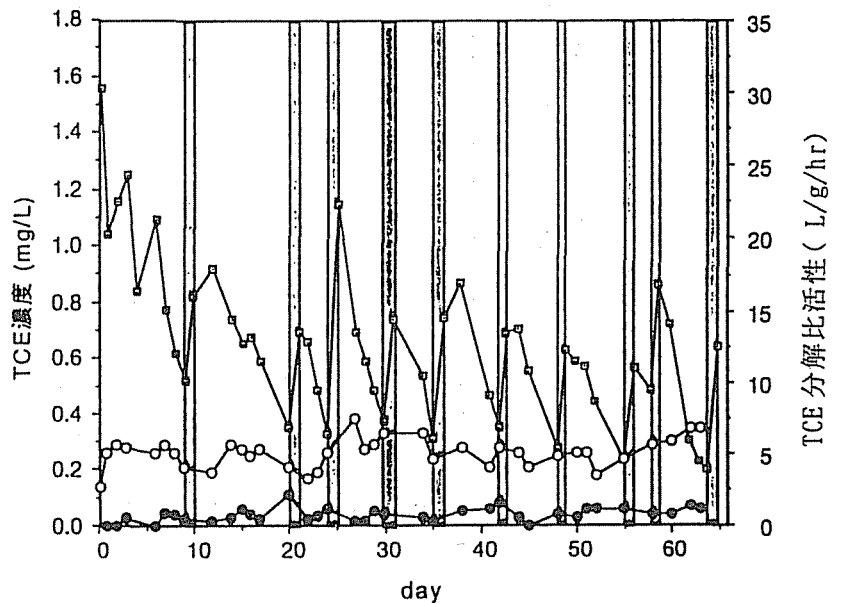


図3 プロトタイプのTCE分解処理性能  
網掛けは賦活運転、

○ 流入 TCE 濃度、● 流出 TCE 濃度、□ K1

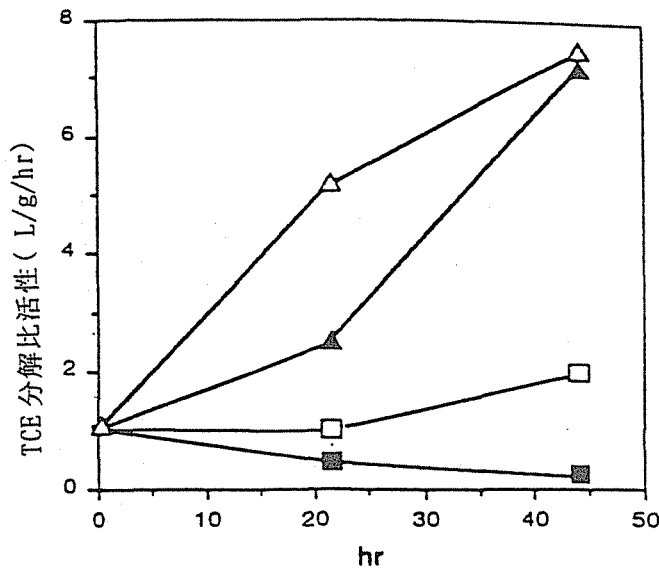


表2 各実験区における全菌体量に対するTCE負荷量

実験区	負荷量 (mg-TCE/g-cell/d)
プロトタイプ	1.3
MBリアクター- Run. 1	0.19
MBリアクター- Run. 2	0.74
MBリアクター- Run. 3	1.9

図4 賦活操作時における温度の影響

■ 15°C、□ 20°C、▲ 25°C、△ 30°C

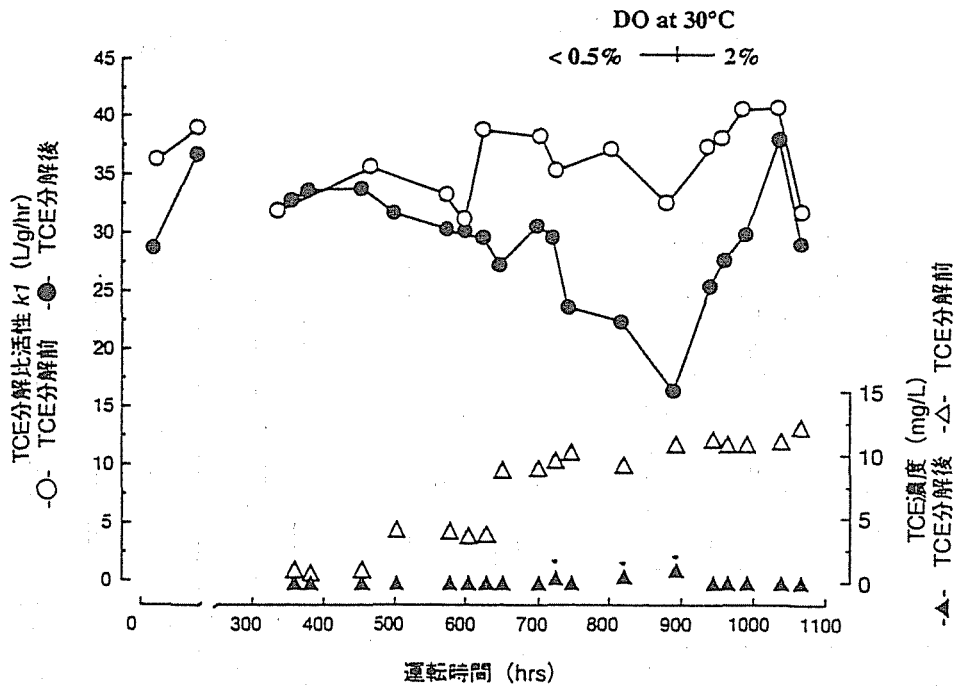


図5 MBリアクターにおけるTCE分解処理性能