

平成21年 4月30日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19710066

研究課題名（和文） バイオバリアにおける水理学的寿命の評価法の構築

研究課題名（英文） Establishment of evaluation method for the hydraulic longevity of biobarrier

研究代表者

井上 康(INOUE YASUSHI)

名古屋大学・エコトピア科学研究所・助教

研究者番号：10293648

研究成果の概要：

有機塩素系化合物による地下水汚染の嫌気的な脱塩素化を行うバイオバリアの水理学的寿命、つまり透水性低下の定量的評価を目的とした。透水性低下には、微生物活動に伴うメタンなどの気泡による閉塞が微生物増殖による目詰まりよりも支配的であることが分かった。また、微生物濃度と炭素源となる物質濃度を元に時間的、空間的にどのようにバイオバリア内の透水性が変化するかを再現可能とする透水性低減モデルを構築した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	0	1,800,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	2,700,000	270,000	2,970,000

研究分野：地下水工学、水環境工学

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：地下水、微生物、バイオバリア、透水係数、バイオレメディエーション、間隙率、水理学的寿命、予測モデル

## 1. 研究開始当初の背景

残留性が高く、低濃度でも毒性が高い有機塩素系化合物による土壌地下水汚染が問題となっている。汚染源として高濃度なスポットが存在する場合には、物理的な除去・浄化が有効であるが、汚染物質を完全に取り去ることは非常に困難である。そのため、残留した汚染物質が徐々に溶け出して拡散し、非常に長期間にわたってリスクを及ぼし続ける。このような状況に対して、揚水処理などの対策は費用対効果が非常に低い。残留した汚染を効率よくかつ経済的に、浄化、管理していくことが求め

られている。

積極的なエネルギー投入ではなく、コストを低く抑えながらリスク管理を行う、受動的浄化工法(Passive remediation)に期待が集まっている。中でも、汚染源下流側に微生物分解機能を付加した透過性の「壁＝バリア」を構築し、流下してくる汚染物質の浄化・拡散防止を行う、「バイオバリア」と呼ばれる技術が、安価かつメンテナンスフリーな技術として注目されている。有機塩素化合物(PCB、PCP、PCEなど)のバイオバリアによる分解反応は、嫌気条件下における還元的脱塩素化である。脱塩素化反応

では、増殖した微生物と代謝産物分解に伴うメタンや二酸化炭素などの発生ガスがバリア内間隙に集積し、間隙を次第に埋めていくため、脱塩素化機能の失活、流れの阻害と言った現象が問題となる。このような現象は、不完全な浄化による汚染物質拡散、地下水位上昇による地盤支持力の低下などに繋がりがねない。汚染物質の流入は数年から数十年以上と非常に長期間にわたるため、バリアシステムには浄化能および通水能の長期持続性が求められる。微生物機能の評価だけではなく、バリアの透水性・分解性の関係を定量的に評価することが重要である。つまり、微生物・気泡の集積を脱塩素化反応と関連つけた、微生物活動に依存するバリアの透水性低下の限界点、「水理学的寿命」の評価が欠かせない。

微生物分解のモデル化に関する研究はいくつか存在し、その成果として BIOCHLOR (Aziz et al., 2000)、SEAM3D (Waddill et al., 2002)や RT3D (Clement, 2002)などの数理モデルおよびパッケージソフトウェアが開発、利用されている。Clement ら (*Groundwater Monitoring & Remediation J.*, 18(2), p.79-82, 1998)は、PCE からエチレンに至る脱塩素過程に対して、代謝産物間の阻害関係を考慮して輸送・運命を予測するモデルを考案している。一方で、Bradford ら (*J. Contam. Hydrol.*, 82, 1-2, p.99-117, 2006)は、空間的に変動するパラメータを導入し、微生物堆積過程の予測モデルを考案した。しかしながら、これらは嫌気環境下における気泡発生と微生物堆積による間隙率の減少プロセス、また、それによる通水能、分解能の変動を全く考慮していない。つまり、物質の輸送・運命評価に際して、間隙率など場の構造・状態を表すパラメータの時間的変動が考慮されることはなかった。これまで変動しないものとして扱われてきた間隙率、透水係数などの水理学的パラメータの微生物反応プロセスにおける変動機構を定量的に解明することは、流動、物質輸送、微生物活動および空間的構造の変化を統合的に再現・予測する手法と水理学的寿命の評価法の確立に導くと同時に、環境浄化を目指した微生物制御手法の確立にも繋がるものと期待される。以上のような背景から、本研究「バイオバリアにおける水理学的寿命の評価法の構築」と言うテーマを着想するに至った。

## 2. 研究の目的

嫌気性微生物によるバイオバリアにおける水理学的な寿命の評価手法の確立を目指し、次のような点を研究のポイントとした。  
(1) 気泡による透水係数低減機構の解明とその定量化

微生物活動に伴って発生し、間隙にトラップされた気泡による間隙および透水性の変動性を定量的に明らかにする。気泡トラップ

量と間隙率および透水係数の定量的関係を明らかにするだけではなく、基質の分解・水素生成および代謝産物の分解反応と言った、気泡発生に関わる微生物反応の量論的、速度論的解析と関連づけて、間隙率と透水係数の減少機構を明らかにする。また、気泡が成長して浮力が抵抗力を上回って流動し、その後再び気泡の集積が進むサイクルを考慮し、時間的な間隙率および透水係数の変動を推定する。

### (2) 堆積微生物による透水係数低減機構の解明とその定量化

基質および代謝産物の嫌氣的分解、有機塩素化合物の還元的脱塩素化プロセスを通じて増殖する微生物の固相表面への堆積量分布と透水係数減少率の関係を定量的に明らかにする。堆積量と透水係数の定量的関係を明らかにするだけではなく、微生物増殖に関わる反応の量論的、速度論的解析と関連づける。また、局所的に微生物堆積が発達することによって生じる部分的閉塞と優先的な流れの生成状況を把握し、大局的な透水係数と流れの構造との関連性を明らかにする。長期的な堆積の発達と微生物膜の剥離のサイクルを考慮して、時間的な間隙率および透水係数の変動を推定する。

### (3) 透水係数低減プロセスの数理モデルによる再現手法の構築

気泡トラップと微生物堆積の発達によって減少する透水係数の時間的、空間的変動を、基質と生成される水素、有機塩素化合物と置換されて放出される塩素イオン、微生物の輸送プロセスと組み合わせた数理モデルによって再現する手法の構築を行う。また、気泡と堆積微生物の部分的消散と優先流れによって複雑に分布する透水係数を統計的な処理を行うことで、輸送パラメータ（移流速度、分散係数など）の変化をも考慮した包括的な透水係数低減予測モデルを考案する。

従来のバイオレメディエーションの予測モデルでは、単一分解微生物を対象とし、あるいは複合微生物による分解反応においても瞬間的には単一の微生物しか活性を持たないことを前提としており、複合微生物が同時に異なる反応を担い、それぞれ増殖プロセスが異なるような系を対象としたモデルは未だ存在しない。また、非常に長期にわたる浄化期間に対して、微生物反応に伴う場の構造変化、すなわち間隙の減少、透水性低減を考慮し、水理学的あるいは物質輸送特性パラメータの時間的変動性を考慮したモデルも実現出来ていない。これらを予測モデルに反映させるためには、複合的な反応系で増殖する微生物量および生成される気泡量の推定モデルを組み込み、間隙率をパラメータでは

なく変数（時間的・空間的）として取り扱う必要がある。変数を一つ増やすことにより、モデルを解くにあたっての数学的な難しさが増すが、水理学的特性の変動性を表現するモデルの構築は、バイオバリアの設計・評価に非常に重要な役割を果たすものと期待される。本研究は、水素供給反応と脱塩素反応が同時に進行するプロセスとそれによって発生する気泡と微生物体による構造的、水理学的特性の変動とそれがもたらす輸送プロセスへの影響を明らかにすることによって、生物学的・化学的プロセスと物理学的プロセスの相互作用を持つシステムにおける物質移動論の基礎を確立しようとするものである。地下環境における微生物反応、物質輸送および水理学的特性間の関係性の評価は、世界的にますます重要となる地下水水質の保全をはじめとする環境修復・保全において、非常に重要な学問分野であり、本研究はその発展に大きく貢献するものである。実用面では、バリア技術による汚染物質のリスク低減・管理を行うためのガイドライン的な役割を果たすことが期待される。

以上より、有機塩素化合物を嫌気環境下で還元的に脱塩素する複合微生物群集を利用したバイオバリアにおける水理学的特性量である透水性の変動を予測、すなわち水理学的寿命を評価する手法を構築することを目的とした。

### 3. 研究の方法

2,4,6-トリクロロフェノール(2,4,6-TCP)を脱塩素化する嫌気性微生物群が水田土壌から集積培養されている(吉田ら、微生物生態学会、2006)。この微生物群は電子供与体などの条件を変えることによって、PCB 同族体混合物や PCE を脱塩素化する能力を有している。この微生物群集を用い、乳酸を電子供与体とした TCP 脱塩素化カラム試験を行い、気泡トラップ量および堆積微生物量と間隙率、透水係数の定量的関係を調べた。

#### (1) 脱塩素化反応に関わる物質・微生物の反応速度論的解析

本研究で用いる嫌気性微生物群は、乳酸を分解して水素を生成する群、水素を電子供与体として用いて TCP および分子に塩素原子を持つ代謝産物を電子受容体として脱塩素化する群、およびそれぞれの代謝産物(塩素原子を持たないもの)を分解する群に分けられるものと考えられる。微生物数の増加および気泡発生には、複数の群が関与しているが、本研究では電子供与体源である乳酸およびその代謝産物を分解する微生物群が数的に主要な微生物群であると仮定して、乳酸濃度を変化させて、乳酸濃度と微生物数の間の速度論的な関係を推定するためのバッチ試験を行った。一般的な Monod 式を適用し、菌

体収率、最大比利用率および半飽和定数を推定し、速度式を決定した。

#### (2) 微生物輸送モデルの構築による間隙減少プロセスの再現

過剰に増殖した微生物がバイオバリア中で固相に堆積し、間隙率を変化させるプロセスを輸送プロセスと併せたモデルとしての構築を検討した。目詰まりが起こるほどの微生物堆積では、一般的な多孔体固相表面への堆積プロセスだけではなく、微生物同士の吸着によって堆積が促進されると考えられるため、それぞれ異なるプロセスとして二重間隙三表面を考慮した Two-region, Three-site モデルとした。微生物表面の疎水性が異なる 4 種の微生物をモデルとして、輸送試験に基づいたパラメータ推定手法の構築と輸送試験による再現性検証を行った。

#### (3) 気泡捕捉および微生物堆積による透水性減少率の定量的把握

カラム試験(アクリル製、長さ 50cm、直径 7.4cm、0.5mm ガラスビーズ充填)を流動下での脱塩素化過程における微生物堆積量および気泡捕捉および気泡移動量の定量的把握を行った。カラム途中からのサンプリングを行い、液中の各物質濃度(乳酸、TCP、DCP(二塩素)、MCP(一塩素)、フェノール、その他有機酸、水素、メタン、二酸化炭素および総微生物数)を計測することによって、気泡量を推定した。また、重量測定法によって総気泡量の計測と気泡分布の推定を行った。長期的なカラム試験に基づく、内部透水性の変動を推定するため、差圧センサーによる微差圧測定を行った。気泡はその成長によって浮力を得て、移動性を有し、カラム外へ排出されるため、気泡量はある一定時間経過後に定常状態となることが予想された。

さらに電気伝導度の異なる MOPs 培地をトレーサーとしたパルス注入試験を行い、濃度の破過曲線を解析し、間隙率の分布および変動量を推定した。多孔体の粒径および粒度分布、流速を試験条件として設定したカラム試験を行うことにより、これらの推定量間の定量的な関係を調べた。

#### (4) 透水性低下予測モデルの構築

実験的に得られた知見を総括し、微生物反応の速度論に基づく物質輸送・運命予測モデルを構築し、併せて間隙率を変数とした透水係数変動評価モデルの構築を行った。透水性低減に及ぼす影響が高い要素を明らかにするため、モデルパラメータの感度分析を行った。Monod モデルに基づいた微生物増殖およびガス生成プロセスの予測式を用いて推定量を計算し、測定値と比較することにより、長期運転中のモデルパラメータの変動の有

無を確認する。長期的な内部透水性の計測結果と併せて、解析を行った。間隙率を変数とし、既存のモデルをベースとした物質および微生物に関する輸送・運命モデルと水理学的寿命（間隙率と透水係数変動）評価モデルのプロトタイプを構築した。

#### 4. 研究成果

バイオバリアを模擬した、嫌気性微生物群集によるトリクロロフェノールの長期的脱塩素化カラム試験によって、電子供与体の過剰供給系における透水性に関する寿命評価、すなわち堆積微生物分布および気泡捕捉量分布の計測を行い、透水係数との関係を調べた。安定した脱塩素化系が形成され、脱塩素化活性が定常に至るまでに、透水係数が初期状態である  $10^1 \text{cm/s}$  から  $10^4 \text{cm/s}$  程度まで 1/700 も低減した。空間的には、堆積微生物では 5cm までの堆積量が最も多く、下流に向かって指数関数的に低減したが、捕捉気泡ではばらつきはあるものの流下方向の位置によらず、ほぼ一様の分布となった。カラム上流 5cm の区間での捕捉気泡と堆積微生物による間隙閉塞が透水性低減に対して支配的になった。間隙の占有体積の大きさでは、捕捉気泡が堆積微生物よりも 20 倍以上であったことから、透水性低減には気泡捕捉が支配的要因であることが示唆された。また、脱塩素化能はこの領域で最も高くなっており、バリアの性能を維持する重要な役割を担っており、水理学的寿命を決める要素である間隙閉塞がバリアの脱塩素化能に対してどのくらいの応答性を持つのかを評価する必要があることが示唆された。

一方で、微生物の移動遅延を考慮し、間隙率を変数とした Two-region, three-site 微生物輸送モデルを構築した。微生物堆積量のみならず、気泡捕捉量の推定には、微生物輸送・分布の定量的な把握が重要であるが、Two-region, three-site 微生物輸送モデルにより微生物の堆積・吸着過程を早いプロセスと遅いプロセスに分けて表現し、微生物分布変動のシミュレーションを可能とした。CXTFIT を利用した部分的なパラメータ推定を導入して、モデルパラメータの推定方法を工夫し、Two-region, three-site モデルで新規導入した吸着サイトの存在比率を表すパラメータの同定を容易に行えるようにした。親水性および疎水性微生物の輸送、定着を表現でき、異なるパターンの微生物輸送プロセスに対する再現性があると考えられた。これにより、バイオバリアの水理学的寿命に対する評価法の基礎となるモデル構築がなされた。

さらに、発生したガスの溶存量と圧力との関係、溶存物質の移流分散、吸着および生成・分解を考慮して、透水係数変動評価に関する一次元モデルを構築した。複合的反応である脱塩素化反応系において、主たる微生物活動である有機酸分解の反応速度を Monod 式で表現し、全体の微生物増殖を再現できると仮定し、併せてメタ

ンと二酸化炭素の気泡生成を飽和度と静水圧との関係を定式化した。さらに、微生物移動に関する Two-region, three-site 微生物輸送モデルを組み合わせた。実験により決定されるパラメータである気泡捕捉率を導入して、間隙率を変数とした透水係数変動評価モデルを構築した。これにより、機能性と安全性を考慮したバイオバリアの設計に役立つと考えられる。

実験結果に基づく十分な透水係数変動評価モデルの再現性検証は、十分に行うことが出来なかったため、今後の課題として残された。今後の展望としては、バイオバリアの長期運転や環境変動に対して、システムの水理学的特性がどのように応答し、安定性が如何に保たれるのかを再現・評価するための手法として、時間応答および三次元的な空間応答性が表現できるような手法として確立されることが期待される。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 1 件）

Inoue, Y., Shimada, K. and Katayama, A.: Correlation between bacteria and soil particles transported packed river sand, Proceedings of International Symposium on EcoTopia Sciences 2007, 査読有り, 2007, 1182-1185.

〔学会発表〕（計 7 件）

① 井上康、山川哲、Tien Hong Truong、片山新太：界面活性剤促進型バイオレメディエーションの数理モデルの二重間隙による拡張、第 43 回日本水環境学会年会、2009 年 3 月 17 日、山口大学

② 井上康、下條佑樹、片山新太：Two-region, three-site モデルによる多孔体中の一次元微生物輸送プロセスの再現、日本地下水学会 2008 年秋季講演会、2008 年 11 月 20 日、九州大学

③ Tien, H. T., Inoue, Y. and Katayama, A.: Modeling Surfactant-Enhanced Bioremediation of Residual Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Saturated Porous Media, HydroPredict 2008, September 17, 2008, Trister Hotel, Prague, Czech

④ Shimojo, Y., Inoue, Y. and Katayama, A.: Development of Two-Region, Three-Site Model for Bacterial Transport in Saturated Porous Media, The 5th International Conference on Interfaces Against Pollution 2008, June 4, 2008, Kyoto University

⑤ 下條祐樹、井上康、山川哲、片山新太：多孔体中における二重間隙微生物輸送モデルのパラメータ推定、第 44 回環境工学フォー

ラム、2007年11月17日、山口大学

⑥井上康、山川哲、Tien Hong Troung、片山新太：多孔体中での微生物輸送・吸脱着に対する二重間隙モデルの適用性、日本地下水学会2007年秋季講演会、2007年11月2日、長野市若里市民文化ホール

⑦清水陽平、溝口卓弥、井上康、吉田奈央子、片山新太：複合微生物群を用いたトリクロロフェノール嫌氣的脱塩素化カラムの長期性能維持、平成19年度土木学会全国大会、2007年9月12日、広島大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 康 (INOUE YASUSHI)

名古屋大学・エコトピア科学研究所・助教  
研究者番号：10293648