

## 平成 27 年度低コスト・低負荷型土壤汚染調査対策技術検討調査結果

実施機関：大成建設株式会社

技術名称：塩素化エチレン分解菌 RHA1 株を用いるバイオオーグメンテーション技術

調査対策区分：対策

技術の区分：原位置浄化

実証試験の評価対象物質：シス-1,2-ジクロロエチレン

試験期間：平成 27 年 6 月～平成 28 年 3 月

### 1. 技術の原理及び特徴

本技術は、トリクロロエチレン (TCE) やシス-1,2-ジクロロエチレン (*cis*-DCE) で汚染された帯水層 (地下水) に、好気性の塩素化エチレン分解菌 *Rhodococcus jostii* RHA1 株 (以下、RHA1 株、図-1) を浄化井戸から導入して、土壌や地下水中に存在する汚染物質の分解を促進させる原位置浄化技術である。RHA1 株は、塩素化エチレン類 (VOCs) 自体により分解能が活性化され、TCE や *cis*-DCE を分解できるため、RHA1 株以外の浄化促進材等を導入する必要がない。また、分解過程で有害な塩化ビニルモノマー (VCM) 等が生成しない。



図-1 RHA1 株の電子顕微鏡写真

### 2. 技術保有会社のコスト・環境負荷低減の考え方

TCE や *cis*-DCE に汚染された帯水層を、VCM などの二次的な汚染物質を生ずることなく RHA1 株を導入して短期間で浄化を行うことにより、従来工法と比較して浄化期間を短縮することによるコストおよび環境負荷の低減が図られる。なお、RHA1 株による分解能力を高めるには帯水層を好氣的に保つことが重要であるため、RHA1 株の導入を行うと共に、地下水中の溶存酸素が無くなるように必要最低限の酸素供給を行う必要がある。

### 3. 調査結果の概要

#### (1) 実証調査方法

##### ① 実証試験装置と試験方法

本実証調査は、図-2 に示す実証試験装置を用いて、異なる酸素供給条件での RHA1 株導入による浄化効果を検証した。各区画は、RHA1 株を曝気水と共に供給する条件 (区画-1)、曝気水のみを供給する条件 (区画-2)、RHA1 株を供給後に過酸化水素水を供給する条件 (区画-3)、RHA1 株を供給後に空気注入を行う条件 (区画-4) として、図-3 に示すフローで試験を実施した。

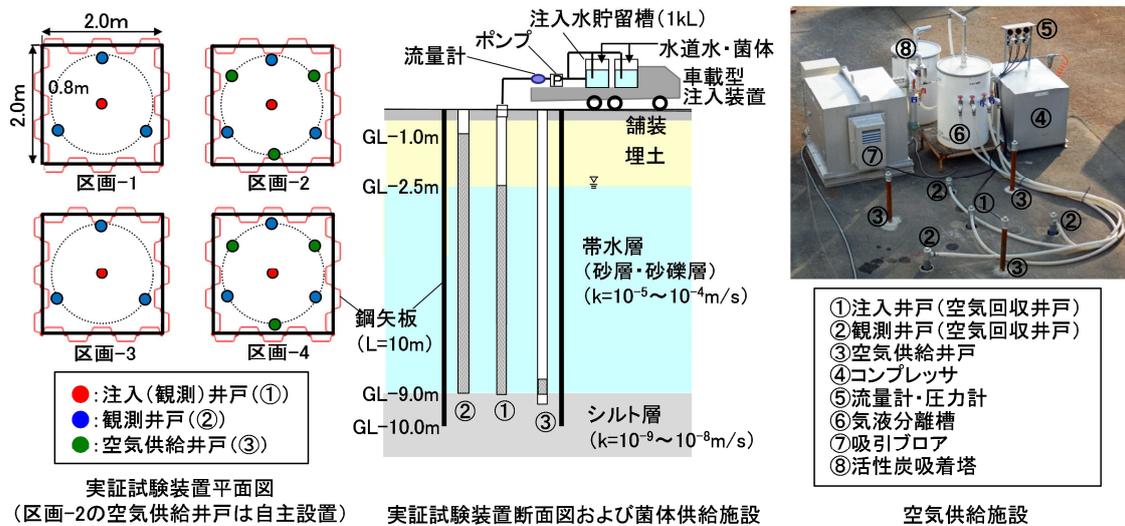


図-2 実証試験装置



図-3 実証調査のフロー

②モニタリング方法

モニタリング項目、分析方法、分析数量を表-1 に示す。地下水試料は注入井戸および観測井戸の GL-6.0m の深度から採取した。RHA1 株遺伝子数については、鋼矢板外の 3 カ所の観測井戸についても測定した。試験開始前の土壌試料は、各区画 3 箇所を観測井戸設置地点におけるボーリングコアから採取して分析した。試験終了時の土壌試料は、注入井戸と観測井戸の中間地点

において各区画3箇所からボーリングコアを採取して分析した。土壌試料は、各地点で4深度採取した(図-4)。区画-4および区画-2については、空気供給期間中に活性炭処理塔の流入前および通過後における吸引ガス中の塩素化エチレン類濃度を検知管により毎日測定した。

表-1 モニタリング項目

項目	測定項目	分析方法	目的	測定検体数	
浄化効果	地下水	地下水位	地下水位計	揚水・注水による水位変動の確認	3回×16箇所=48検体
		トリクロロエチレン	JIS K0125 5.1	浄化効果の確認	
		シス-1,2-ジクロロエチレン	JIS K0125 5.1		
		塩化ビニルモノマー	JIS K0125 5.1		
		全有機炭素濃度	JIS K 0102 22.1	菌体による有機物の分解確認 菌体自体の溶菌等の確認	
		全有機炭素濃度(溶存態)	JIS K 0102 22.1		
		全無機炭素濃度	JIS K 0102 22.1	本技術の適用における浄化に最適な 地下水環境条件の確認	
		pH	JIS K 0102 12.1		
		溶存酸素濃度	マルチ水質モニタリングシステム <sup>1)</sup>		
		酸化還元電位	マルチ水質モニタリングシステム <sup>1)</sup>		
		電気伝導率	マルチ水質モニタリングシステム <sup>1)</sup>		
		地下水温	マルチ水質モニタリングシステム <sup>1)</sup>		
		ナトリウムイオン濃度	JIS K0102 48.3		
		塩化物イオン濃度	JIS K0102 35.3		
		硝酸性窒素濃度	JIS K0102 43.2		
		硫酸イオン濃度	JIS K0102 41.3		
		全菌数(バクテリア数)	定量PCR法 <sup>2)</sup>	導入微生物の減少状況の確認	
RHA1菌遺伝子数	定量PCR法 <sup>3)</sup>	生態系への影響評価	4回×19箇所=76検体		
土壌	シス-1,2-ジクロロエチレン溶出量	JIS K 0125 5.1	浄化効果の確認	2回×12箇所×4深度 =96検体	
	塩化ビニルモノマー溶出量	JIS K 0125 5.1			
環境負荷	ガス	VOCs濃度	検知管 <sup>4)</sup>	VOCsガス発生時の監視	27回×2箇所 =54検体

1) W-22XD(堀場製作所製)

2) Bac1055YF(ATGGYTGTCGTCAGCT)とBac1392R(ACGGGCGGTGTGTAC)のユニバーサルプライマーを用いて測定

3) エチルベンゼン分解酵素遺伝子を標的にした特異的なプライマーを用いて測定

4) 1,2-ジクロロエチレン(No. 139)および塩化ビニルモノマー(No. 131)の検知管を使用(GASTEC製)



帯水層とシルト層の境界面を基準にして土壌採取深度を決定

図-4 土壌試料の採取深度(①~④の部分)を採取

### ③浄化対象土壌量

第一帯水層の砂層および砂礫層（GL-2.5m～-9.0m）が浄化対象範囲であり、1区画あたりの処理土壌量は26m<sup>3</sup>となった（4区画合計104m<sup>3</sup>）。GL-9.0m以深は透水性の低いシルト層であり、止水処理を施した鋼矢板を使用しているため、試験区画内は外部の帯水層とは遮断されている。実証調査前の調査により、第一帯水層の直下のシルト層において塩素化エチレン類の土壌溶出量が高いことを確認していたことから、土壌の調査対象は第一帯水層とシルト層の境界を中心に実施した。

## （2）実証調査結果

### ①技術の有効性

#### 1) 地下水中の塩素化エチレン類の浄化効果

地下水中の溶存酸素濃度の経時変化（図-5）から、区画-4のみ RHA1 株の導入後に注入井戸だけでなく観測井戸においても溶存酸素濃度を高めることができた。TCE、*cis*-DCE、および VCM 濃度の経時変化（図-6～図-8）より、酸素が区画全体に供給された区画-4では、TCE、*cis*-DCE、VCM の全ての塩素化エチレン類が RHA1 株導入後に減少傾向を示し、浄化開始終了時に地下水環境基準値以下となった。各区画内の注入井戸および3箇所の観測井戸における地下水濃度の平均値を浄化開始時（RHA1 株の導入1日前）と浄化終了時（RHA1 株導入から27日後）で区画毎に算出した結果（表-2）、区画-4における TCE、*cis*-DCE、VCM の27日間での浄化率はそれぞれ、88%、91%、98%となった。室内試験により RHA1 株の導入による *cis*-DCE の減少量を定量的に確認した結果、地下水中の *cis*-DCE の減少量のうち、微生物による浄化（分解）率は77%と推算された。それ以外の減少は、自主的に実施した区画-2におけるスパージング試験の結果より、空気注入によって塩素化エチレン類が気化して除去されていることが示された。

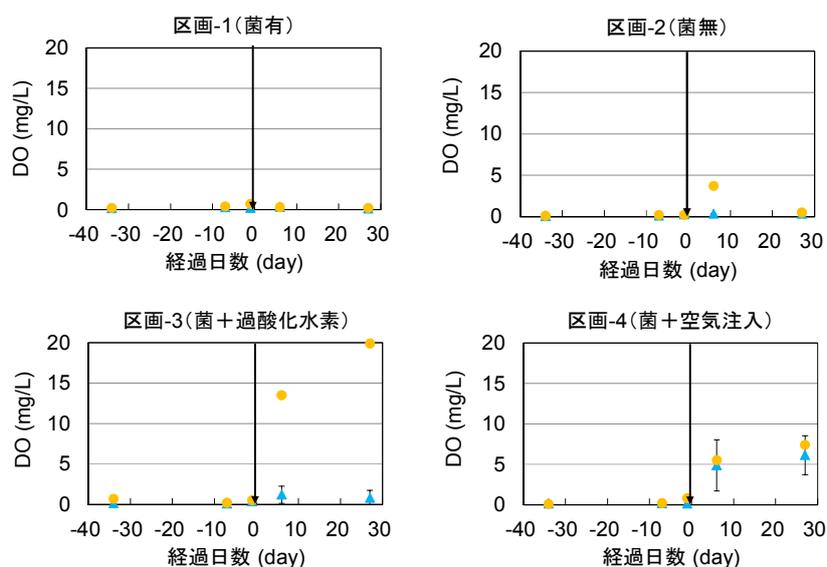


図-5 各区画の溶存酸素濃度の経時変化

● : 注入井戸、▲ : 観測井戸の平均値、↓ : RHA1 株導入日  
(注入34日前および注入7日前は、提案者で自主分析した測定値)

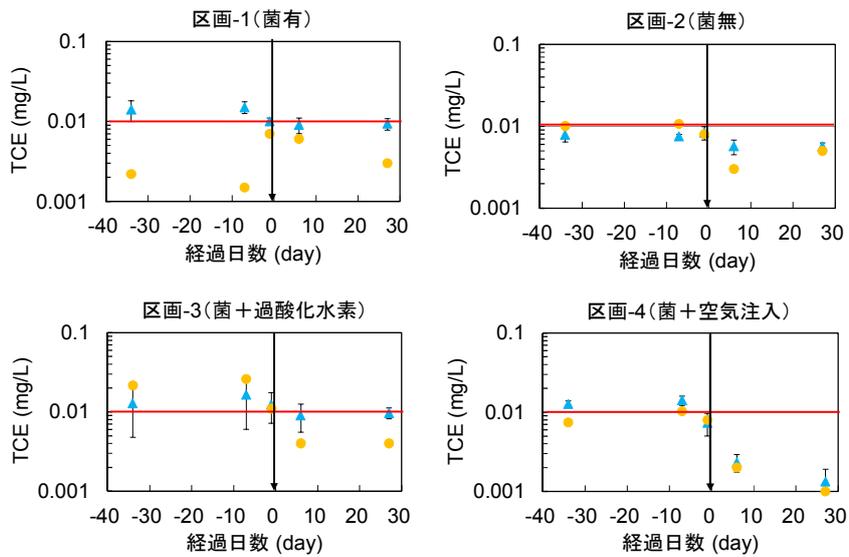


図-6 各区画のトリクロロエチレン (TCE) 濃度の経時変化

● : 注入井戸、▲ : 観測井戸の平均値、— : 環境基準値、↓ : RHA1 株導入日  
 (注入 34 日前および注入 7 日前は、提案者で自主分析した測定値)

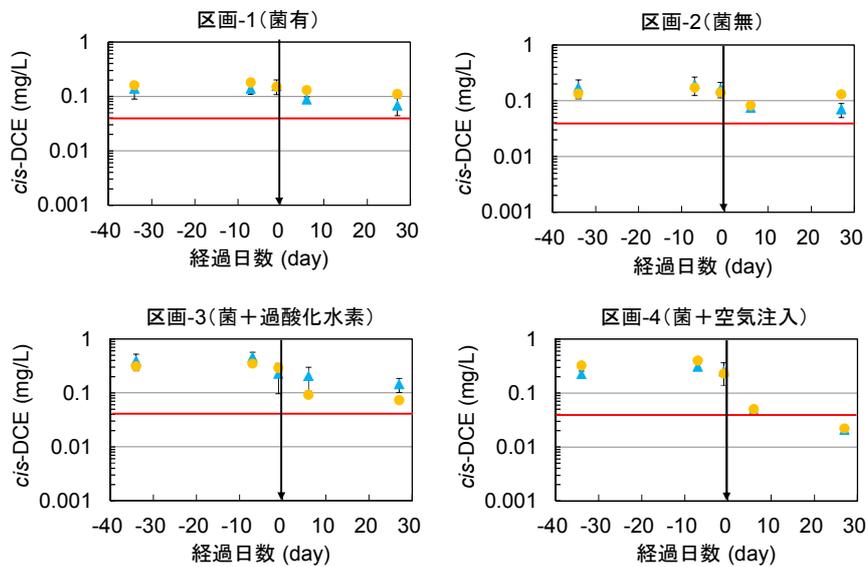


図-7 各区画のシス-1,2-ジクロロエチレン (cis-DCE) 濃度の経時変化

● : 注入井戸、▲ : 観測井戸の平均値、— : 環境基準値、↓ : RHA1 株導入日  
 (注入 34 日前および注入 7 日前は、提案者で自主分析した測定値)

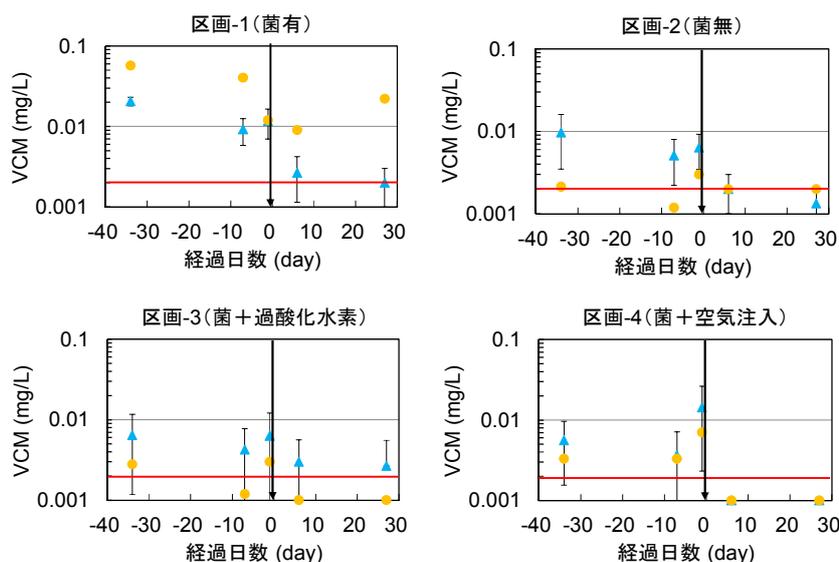


図-8 各区画の塩化ビニルモノマー (VCM) 濃度の経時変化

● : 注入井戸、▲ : 観測井戸の平均値、— : 環境基準値、↓ : RHA1 株導入日  
 (注入 34 日前および注入 7 日前は、提案者で自主分析した測定値)

表-2 実証試験前後の各区画における地下水中の塩素化エチレン類の濃度および浄化率

塩素化エチレン類	区画-1(菌有)								
	注入井戸			観測井戸平均			全井戸平均		
	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率
	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%
TCE	0.007	0.003	57	0.010	0.009	10	0.009	0.008	11
cis-DCE	0.150	0.110	27	0.153	0.068	56	0.153	0.079	48
VCM	0.0120	0.0220	-83	0.0117	0.0017	85	0.0118	0.0068	42

塩素化エチレン類	区画-2(菌無)								
	注入井戸			観測井戸平均			全井戸平均		
	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率
	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%
TCE	0.008	0.005	38	0.008	0.006	25	0.008	0.006	25
cis-DCE	0.140	0.130	7	0.163	0.070	57	0.158	0.085	46
VCM	0.0030	0.0020	33	0.0063	0.0012	81	0.0055	0.0014	75

塩素化エチレン類	区画-3(菌+過酸化水素)								
	注入井戸			観測井戸平均			全井戸平均		
	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率
	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%
TCE	0.011	0.004	64	0.012	0.010	17	0.012	0.008	33
cis-DCE	0.290	0.073	75	0.223	0.143	36	0.240	0.126	48
VCM	0.0030	0.0010	67	0.0063	0.0026	59	0.0055	0.0022	60

0.0123

塩素化エチレン類	区画-4(菌+空気注入)								
	注入井戸			観測井戸平均			全井戸平均		
	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率	浄化前	浄化後	浄化率
	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%	mg/L	mg/L	%
TCE	0.008	0.001	88	0.007	0.001	86	0.008	0.001	88
cis-DCE	0.230	0.022	90	0.250	0.021	92	0.245	0.021	91
VCM	0.0070	0.0003	96	0.0143	0.0001	99	0.0125	0.0002	98

検出下限値はTCEおよびVCMが0.001mg/L、cis-DCEが0.004mg/Lであるが、浄化率算定のため下限値以下の値も記載

## 2) 土壌中の塩素化エチレン類の浄化効果

各区画の3地点の平均濃度および浄化前後における浄化率を表-3に示す。砂礫層の *cis*-DCE および VCM の土壌溶出量は浄化開始前に溶出量基準値を超過する地点が存在せず、浄化終了後には検出限界に近い値となった。砂礫層における土壌溶出量については、区画-1の VCM を除いて、試験の前後で *cis*-DCE および VCM は低下傾向を示したが、試験開始前の濃度が低く、定量的評価を適切に実施できなかった(表-3)。

浄化開始前のシルト層の *cis*-DCE 濃度は、帯水層とシルト層との境界面から深くなるほど高い値を示す傾向がみられ、一部は基準値を超過した。地下水の塩素化エチレン類濃度が大きく低下した区画-4と RHA1 株を導入していない区画-2を比較すると、区画-4では *cis*-DCE 濃度の浄化率が約2倍の値となったが、元々土壌溶出量の初期値が低いこと、また土壌採取場所が異なり初期濃度分布にばらつきがあることから、浄化率についての定量的な評価はできなかった。区画-4では、試験開始前のシルト層における *cis*-DCE 土壌溶出量平均値は 0.074mg/L であったが、試験終了後には 0.029mg/L と基準値以下まで低下したが、試験開始前の濃度が低く、定量的評価を適切に実施できなかった。一方、浄化開始前の VCM は将来的な基準値と想定される 0.002mg/L を超過する地点がなく、浄化終了後は更に低い値を示した。

表-3 実証試験前後の各区画における *cis*-DCE と VCM の土壌溶出量および浄化率

区画	採取位置 (帯水層とシルト層 の境界面からの 位置)	土質	シス-1,2-ジクロロエチレン				塩化ビニルモノマー			
			mg/L				mg/L			
			浄化前	浄化後	浄化率	平均 浄化率	浄化前	浄化後	浄化率	平均 浄化率
区画-1 (菌有)	+45~+50cm	砂礫	0.004	0.001	75	/	0.0002	0.0002	0	/
	±0~-5cm	シルト	0.010	0.022	-120	-54	0.0005	0.0002	60	60
	-10~-15cm		0.027	0.030	-11		0.0007	0.0002	71	
	-20~-25cm		0.029	0.038	-31		0.0006	0.0003	50	
区画-2 (菌無)	+45~+50cm	砂礫	0.004	0.001	75	/	0.0002	0.0001	50	/
	±0~-5cm	シルト	0.039	0.011	72	27	0.0009	0.0001	89	86
	-10~-15cm		0.020	0.025	-25		0.0010	0.0001	90	
	-20~-25cm		0.061	0.040	34		0.0009	0.0002	78	
区画-3 (菌+ 過酸化水素)	+45~+50cm	砂礫	0.004	0.001	75	/	0.0002	0.0001	50	/
	±0~-5cm	シルト	0.039	0.029	26	43	0.0013	0.0001	92	82
	-10~-15cm		0.066	0.035	47		0.0010	0.0002	80	
	-20~-25cm		0.097	0.043	56		0.0012	0.0003	75	
区画-4 (RHA1株+ 空気供給)	+45~+50cm	砂礫	0.005	0.001	80	/	0.0003	0.0001	67	/
	±0~-5cm	シルト	0.031	0.018	42	56	0.0005	0.0001	80	63
	-10~-15cm		0.082	0.034	59		0.0003	0.0002	33	
	-20~-25cm		0.109	0.036	67		0.0008	0.0002	75	

浄化前および浄化後の土壌溶出量の値は、同一区画内の3地点の平均値

検出下限値は、*cis*-DCEが0.004mg/L、VCMが0.001mg/Lであるが、浄化率算定のため、下限値以下の値も記載

## ②技術の実用性

### 1) 微生物の導入方法

本技術は、RHA1 株を井戸から注入して拡散させる技術であるため、浄化可能な土質は菌体が移動可能な空隙を有している帯水層となる。実証試験では、RHA1 株菌体懸濁液(約  $4 \times 10^8$  cells/mL)を平均 44L/min で帯水層(透水係数;  $10^{-5} \sim 10^{-4}$  m/s の砂地盤)に注入できた。RHA1 株遺伝子数の測定結果から、RHA1 株を導入した全ての試験区で RHA1 株は観測井戸まで到達し

ており、区画-4 の条件（RHA1 株導入後に空気注入）では RHA1 株が区画内にほぼ均一に拡散していることを確認した。

## 2) 導入微生物の生態系への影響評価

本実証試験に使用した RHA1 株は「微生物によるバイオレメディエーション指針」の適合株であり、指針の事業計画に基づいて使用した。RHA1 株導入時に対して（地下水濃度で概ね  $10^8$  cells/mL になるように導入）、47 日経過後（実証試験終了から 20 日後）には、RHA1 株の地下水中の菌数は概ね  $10^3 \sim 10^4$  cells/mL まで低下した（図-9）。また、区画-4 では導入 6 日後の全菌数に対する RHA1 株の比率は 35%であったが、47 日後は 0.6%に低下した。なお、区画-2 および矢板外の 3 カ所の観測井戸においては、試験期間を通じて RHA1 株は検出されなかった。

RAH1 株の導入に伴って他の微生物の急激な増加は確認されず、地下水中の有機物濃度も試験終了時には浄化開始前とほぼ同様の濃度まで減少した。

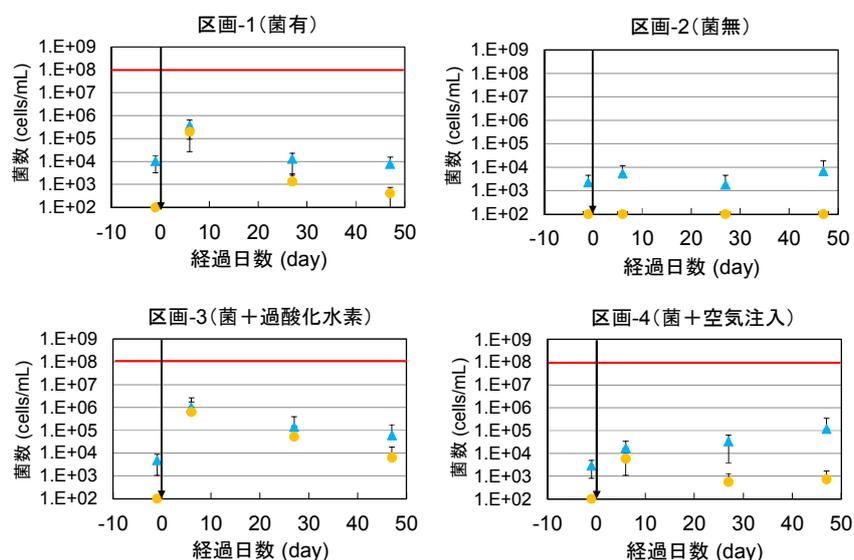


図-9 区画毎の RHA1 株菌数及び全菌数の経時変化

● : RHA1 株菌数、▲ : 全菌数、— : RHA1 株導入直後の推定菌数、↓ : RHA1 株導入日

(RHA1 株菌数はエチルベンゼン分解酵素遺伝子数との相関式から、菌数はバクテリアの平均コピー数から換算。定量下限値 :  $10^2$  cells/mL)

## 3) 設備・装置の実用性

本実証試験による工法は浄化対象範囲に応じて、井戸本数や浄化設備の規模を設定することが可能であり、浄化規模の大小が設備や装置の設置に支障をきたさない。浄化井戸や浄化装置は一般的な浄化工事でも用いられている汎用性の高いものであり、施工やメンテナンスは容易である。運転管理も容易であるため、運転員に高い熟練度を必要としない。菌体の培養は従来技術（ファーメンター等による純粋培養）に加えて、現地で簡易的に必要な量を培養する技術を開発済みである。

空気注入を行いながら RHA1 株を導入する技術は、多くのサイトで実績がある「注水バイ

オスパージング工法（揚水循環併用スパージング工法）」の適用が可能である。

#### 4) 技術の適用可能範囲

本技術は原位置浄化で地下水がある帯水層を対象とした浄化技術であり、RHA1 株が移動可能な比較的透水性の高い砂地盤（透水係数： $10^{-5} \sim 10^{-4} \text{m/s}$ ）に適用可能であった。本実証調査では、トリクロロエチレン、シス-1,2-ジクロロエチレン、塩化ビニルモノマーの複合汚染に対して約 1 ヶ月で浄化が完了した。実際の浄化工事での浄化期間は、浄化規模や汚染物質の濃度によって異なるが、数ヶ月から 1 年以内が想定される。

#### 5) 技術の安全性

本技術では RHA1 株以外の浄化促進材の導入が不要であり、RHA1 株と空気のみを用いて浄化を行うことができることを実証した。また、汚染物質の分解過程で二次的な有害物質が生成しないため、安全性は高い。

#### 6) 技術の経済性（処理コスト）

10,000t (5,000m<sup>3</sup>) の cis-DCE（土壌溶出量基準で約 10 倍超過）で汚染された帯水層に対してコスト試算を実施した結果、約 17,100 円/m<sup>3</sup> と試算された。原位置浄化技術として一般的に用いられている揚水工法と比較して、約 25%のコスト低減効果を確認した。

### ③周辺環境への負荷

#### 1) 排水、排ガス、騒音、振動等

揚水による汚染地下水は場内の処理施設で適切に処理して、放流基準を満たしていることを確認した。活性炭吸着塔の前後 2 箇所吸引ガス中の 1,2-ジクロロエチレンと塩化ビニルモノマーを検知管により測定し、試験期間を通じて検出限界以下であることを確認した。この結果から、排出ガス中の VOC 濃度は低く、活性炭処理も行っているため、大気拡散に伴う臭気は確認されなかった。騒音、振動はいずれも工場内の稼働中の施設と比較して小さかった。

#### 2) 二酸化炭素排出量

浄化運転期間を短くできるため、エネルギーの消費量は従来技術（揚水注水工法）と比較して小さい。RHA1 株の培養もエアコンを装備した恒温室と小型のポンプで現地で培養することにより、エネルギー消費量を小さくできる。浄化対象土壌を 10,000t とした場合、二酸化炭素排出原単位は 3.5kg-CO<sub>2</sub>/t と算出され、揚水工法と比較して約 85%の二酸化炭素排出量の低減効果を確認した。

## 4. 検討会による評価

本実証調査は、TCE や cis-DCE が主要な汚染物質として存在し、VCM も自然減衰で生じているような帯水層の浄化を行う場合に、好氣的に TCE や cis-DCE を分解可能な細菌（RHA1 株）を導入するバイオオーグメンテーション技術の適用範囲を明らかにして、コスト面・環境面での優位性を他工法と比較して、工法としての技術の成熟と普及促進のための実証データを得ることを目的として実施された。実証試験の目標および評価を表-4 に示す。

酸素供給方法としては、注入水中に含まれる酸素のみ（区画-1）、過酸化水素による酸素の供給（区画-3）、RHA1 株導入後の空気注入（区画-4）の 3 条件を比較したが、実証試験期間中に

地下水中の酸素濃度を区画全体で高く維持できる方法は区画-4 だけであった。

浄化開始前に浄化対象とした帯水層において *cis*-DCE および VCM の土壤溶出量が基準値を超過していなかったが、地下水は基準値を超過した。区画-4 では、浄化開始前に地下水中の *cis*-DCE と VCM が基準値の約 6 倍であったが、27 日間の浄化で双方共に 90% 程度減少して基準値を下回った。また減少分の約 77% が RHA1 株による分解であることが推算された。その他の区画では、浄化終了時に地下水中の *cis*-DCE を基準値以下に低減できなかった。区画-3 を除いて、浄化開始前の地下水中の TCE 濃度は基準値以下であり、浄化後に減少することを確認したが評価は難しかった。

土壤溶出量が基準値を超過していた地点は帯水層下部のシルト層であり、*cis*-DCE の土壤溶出量が区画-4 で基準値の約 2 倍 (0.074mg/L) となったが、実証試験終了後は平均値で 0.029mg/L と 56% の浄化率を示したが、試験開始前の濃度が低く、定量的評価を適切に実施できなかった。シルト層における土壤溶出量の低下については、RHA1 株の導入や空気注入による直接的な効果ではなく、地下水中の塩素化エチレン類の濃度が低下することにより、シルトから帯水層への塩素化エチレン類の溶出が促進された可能性があるが、浄化効果の検証には至っていない。

環境影響評価として、帯水層中に導入されて拡散した RHA1 株は時間の経過と共に減少することが確認された。また、環境負荷面では、従来技術（揚水工法）と比較して浄化期間が短縮されること、RHA1 株の培養に必要なエネルギーが小さいことから、二酸化炭素発生量は大きく低減できることが実証された。

本実証調査の結果、TCE、*cis*-DCE、VCM が存在している帯水層の原位置浄化を行う場合に、現在広く実用化されている脱塩素細菌を用いる浄化方法と比較して、基準値が低い VCM の濃度を増加させること無く、短時間で浄化を行いたい場合にニーズがあると考えられる。

表-4 実証試験の目標値及び評価

評価項目	目標値	結果
地下水濃度	地下水環境基準 未満	区画-4のRHA1株と空気注入の併用条件で目標を達成した。
土壤溶出量	土壤溶出量基準 未満	区画-4のRHA1株と空気注入の併用条件で <i>cis</i> -DCEおよびVCMの土壤溶出量は減少したが、試験開始前の濃度が低く、定量的評価を適切に実施できなかった。
処理コスト	18.2千円/m <sup>3</sup> 以下 (20%削減)	17.1千円/m <sup>3</sup> (約25%削減)となり目標を達成した。
環境負荷	4.5kg-CO <sub>2</sub> /t 以下 (80%削減)	3.5 kg-CO <sub>2</sub> /t(約85%削減)となり目標を達成した。