

(S3-25) 塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染の原位置生物処理に関する 適用可能性試験の検討 ー地下水を用いる場合 第2報ー

○羽瀨博臣¹・藤井雄太¹・山野辺純一¹・伊藤雅子¹・西田憲司¹・
土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会¹
¹土壌環境センター

1. 背景および目的

土壌汚染対策法では、実施措置の種類毎に浄化等処理方法の適用性を確認する必要性の有無が示されている¹。加えて、適用性を確認する必要がある実施措置については、汚染除去等計画の作成前に、浄化等処理の可能性の確認を予め行わなければならない。また、土壌汚染対策法に基づく調査及び措置に関するガイドライン²（以下「ガイドライン」という）や区域内措置優良化ガイドブック³（以下「ガイドブック」という）には、予定している汚染の除去等の処理方法によって予想通りに処理ができるか「適用可能性試験」や「室内試験」、「試験施工」で効果を確認すること等が記されている。しかしながら、その具体的な方法や手順については示されていない。そのため、（一社）土壌環境センター（以下「センター」という）に設置した土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会（以下「適用性試験部会」という）では、2022年度から適用可能性試験に着目し、その具体的な方法や手順等を提案することを目的に調査・検討を行っている。

本稿では、第28回研究集会報文⁴の第2報として、塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染を対象とした原位置生物処理について、地下水試料を用いた適用可能性試験（以下「室内試験」という）の手順の見直しや更新、各段階における留意点および補足説明を追加したので報告する。

なお、適用性試験部会では、本報のほかにも土壌を用いる場合の塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染の原位置生物処理⁵など適用可能性試験に関する報告^{6,7}をしているので、本稿と合わせて参考にされたい。

2. 適用可能性試験の検討対象

検討対象の浄化等処理方法は、テトラクロロエチレン（以下「PCE」という）やトリクロロエチレン（以下「TCE」という）などの塩素化エチレン類を対象とする原位置生物処理とした。同処理は、原位置で有機物、栄養塩等の栄養物質等（以下、栄養物質等）を用いて嫌気性微生物を活性化することで塩素化エチレン類を脱塩素化し浄化する処理である。

3. 適用可能性試験の概要

本稿の適用可能性試験は、サイトの地下水試料を用いて室内バッチ試験を行い、地下水中の塩素化エチレン類が嫌気性微生物により脱塩素化されることの確認とした。土壌汚染により地下水汚染が生じているサイトでは地下水は土壌に接しているため、汚染原因物質の地下水中濃度が低下すれば、土壌から地下水への当該物質の溶出、溶脱が促進される。それに伴い地下水中濃度は変動するが、固液平衡により漸次低下傾向を示すと考えられる。このような汚染原因物質の挙動や低下傾向を、地下水試料を用いた上記試験により確認し評価する。

4. 地下水を用いた適用可能性試験の妥当性について

ガイドラインによると、「適用性が確認できる」とは「土壌汚染の除去の措置として目標土壌溶出量を超える汚染状態にある土壌を目標土壌溶出量を超えない汚染状態にすることが確認できる」ことである旨が定義されている。この定義に従うと、対象サイトの汚染土壌を採取し、同サイトに生息する嫌気性微生物による土壌溶出量低下を確認できれば、適用性確認の目的を達成できる。しかしながら、原位置浄化が望まれるサイトでは、土壌試料の入手（掘削）が困難な場合も想定され、調査段階で得た土壌試料は試験利用に適した保管がされていない場合があり、原位置の条件と異なる状態（乾燥、大気環境下での酸化、温度変化に伴う微生物相の変化、等）であることが少なくない。一方、地下水は、既設の観測井やボーリング孔から容易に試験利用に適

Study on applicability test for in-situ bioremediation of soil and groundwater contamination by chlorinated ethylenes -Part2-

Hiroomi Habuchi¹, Yuta Fujii¹, Junichi Yamanobe¹, Masako Ito¹, Kenji Nishida¹ and Study Group on Applicability test of measures such as removal of soil contamination¹ (¹GEPC)

連絡先：〒102-0083 東京都千代田区麹町 4-5 KS ビル 3F （一社）土壌環境センター

TEL 03-5215-5955 FAX 03-5215-5954 E-mail info@gepc.or.jp

した試料を採取できることから、地下水を用いた室内試験は有用かつ一般的に行われていると考えられる。

5. 適用可能性試験フローの見直し・更新

試験フローの見直しに伴い変更した主な内容を以下に示す。

- ・ サイト条件と以降の室内試験は密接した関係にあり、評価に影響することから、試験前の確認と試料採取の工程を追加することとした。
- ・ フロー内の手順に係る説明文 (5.1～5.8 節) は最低限に留め、留意点および補足説明は別途記載 (6.1～6.7 節) することとした。
- ・ 試料採取の初期性状確認の各種分析項目の位置づけを明確にするため、確認項目と評価項目に分けて記載することとした。
- ・ 嫌気性微生物を活性化させる有機物、栄養塩等の「薬剤」の表現は、化学物質を想起させる用語であるため、ガイドブックに合わせ「栄養物質等」とすることとした。
- ・ ガイドライン Appendix_24⁸⁾を参考に室内試験の結果の評価にあたり、総合的な観点留意点および補足説明に加えることとした。

試験フローの概略を図-1 に、見直しを行った各工程の手順を以下 5.1～5.8 節に示す。なお、この試験フローは適用性試験部会が現段階で調査・検討したものにに基づき作成しており、原位置生物処理に対する地下水試料を用いた室内バッチ試験の一例の提示に留まっている点に留意されたい。

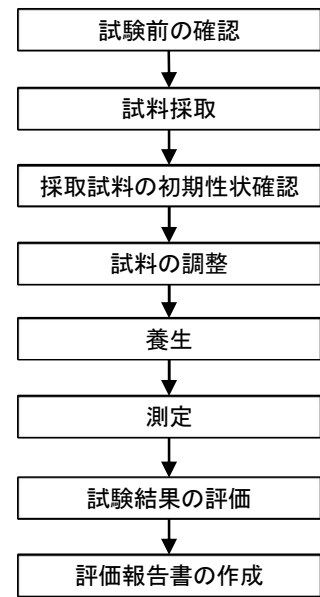


図-1 試験フロー例

5.1 試験前の確認

原位置生物処理に適したサイトであるか、適用可能性試験の実施は妥当かを判断するため、以下に示す現地の前提条件の確認を行う³⁾。

- ・ 基準不適合物質の種類とその濃度
- ・ 基準不適合地点の範囲と深さ
- ・ 土質区分
- ・ 地下水流速、流向

5.2 試料採取

サイトに設置された井戸から試験に用いる地下水を採取する (図-2)。

- ・ 井戸洗浄 (パージ)

新たに観測井を設置する場合や長期間使用していなかった井戸においては、周辺の地下水と同等の状態とするためにパージを行う。

- ・ 採水

採水にはペーラー、揚水ポンプ等の機器を用いる。パージに伴い低下した観測井内の水位が、パージを行う前の水位又はその近くまで回復したのを確認した上で採水する。採水量は試験に十分足りる量を確保し、例えば 1～20 L 程度が目安となる。

- ・ 試料の保存

採取した試料は密閉容器に入れ、できるだけ気泡や気相が残らないよう満水にして密栓する。試料を入れた容器は冷蔵保管し、可能な限り採取日から期間を空けずに試験に供する。

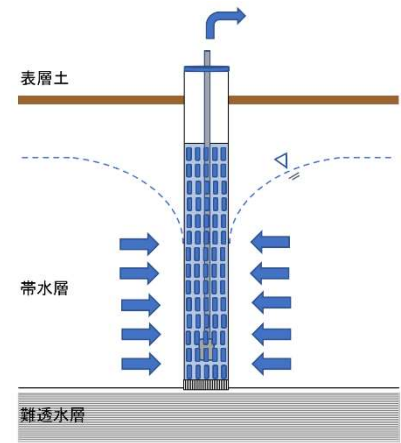


図-2 地下水の採取

5.3 採取試料の初期性状確認

サイト等で採取した地下水試料を用いて各種分析を行う。その結果から得られる以下の情報をもとに、嫌気性微生物による脱塩素化の可能性を予め評価する。

(1) 確認項目

- ・ 浄化対象物質

栄養物質等添加前の浄化対象物質 (塩素化エチレン類) の初期濃度を確認する。

- ・ 脱塩素化微生物の生息環境、阻害要因⁹⁾

脱塩素化微生物の活性に影響を与える地盤環境中の阻害要因、例えば水温や pH、硫酸イオン、DO (溶解酸素量)、ORP (酸化還元電位)、TOC (全有機体炭素量)、硝酸性窒素等の値を予め把握する。水温は 10 °C 以上、pH は 5～9 程度が望ましい⁹⁾。

(2) 評価項目

・脱塩素化生成物

クロロエチレンやエチレン等の脱塩素化生成物が検出されているか確認する。検出されていれば、地盤環境中に脱塩素化反応を担う微生物（以下「脱塩素化微生物」）が生息し、現段階（初期段階）で既に脱塩素化が進んでいる可能性が高い。

・脱塩素化微生物の存在

PCE や TCE をエチレンにまで脱塩素化する嫌気性微生物（*Dehalococcoides* 属細菌等）の存在を、採取した地下水試料から DNA を抽出、測定して確認する。脱塩素化微生物が検出されれば脱塩素化が進行する可能性が高い。

5.4 試料の調整

栄養物質等の添加で嫌気性微生物による脱塩素化が進行するか評価するため、試験用の容器を準備し、地下水試料の分取や栄養物質等の添加など、試料の調整を行う。

・器具および装置

試験に用いる器具および装置は、コンタミネーションが生じないように洗浄や滅菌を行い、測定に支障がないよう留意する。

・試験容器

コントロール試験用の容器を含め、試験に必要な容器を用意する。例えば 50～150 mL ガラスバイアル瓶の利用が考えられる。

・試料の前処理

嫌気性微生物は地下水試料中の土粒子等にも付着するため、試験に使用する地下水試料を分取する際は、空気と触れないように攪拌して沈殿物も含めることが望ましい。試料中の浄化対象物質が低濃度の場合には、必要に応じて浄化対象物質を追添加する。

・試料分取量

試料分取量は、浄化対象物質の濃度測定に必要な量や使用する栄養物質等、過去の実績等を勘案して決定する。試験容器の容量の 8 割程度～満水が目安となる。

・コントロール試験の準備

地下水試料に栄養物質等を添加しない試験を「コントロール試験」とする。脱塩素化の進行が自然的要因やその他混入物等の影響ではなく、栄養物質等の効果であることを確認するため、コントロール試験は必ず実施する。

・栄養物質等の添加

サイト条件や地下水試料の性状等をもとに栄養物質等を選定し、使用する栄養物質等に応じた量を添加する（写真-1）。



写真-1 栄養物質等の添加⁴⁾

・試験容器の密栓

嫌気環境を維持するため、ヘッドスペースを窒素ガス等で置換することが望ましい。容器はテフロン加工のブチルゴム栓（写真-2）とアルミシール等で必ず密栓する。



写真-2 テフロン加工のブチルゴム栓

5.5 養生

嫌気性微生物の生息環境を模擬した、脱塩素化を進行させる条件で養生を行う。

・養生条件

養生はサイトと同じ地下水温で実施し、一定の温度（15～25℃）を保持するため、恒温槽内に静置、養生することが望ましい。恒温槽内に静置しない場合、直射日光が当たる場所は避ける。

・養生期間

想定する浄化期間や過去の実績から、試験にかかる養生期間を設定する。想定期間後の測定結果によっては養生期間を延長する。

5.6 測定

嫌気性微生物による脱塩素化を確認するため、逐次あるいは養生期間経過後、以下に示す項目の測定を行う。

・塩素化エチレン類

浄化対象物質および脱塩素化生成物である、塩素化エチレン類とエチレンの濃度を測定し、原位置生物処理の効果を検証する。

- ・pH、水温、硫酸イオン、ORP等の阻害要因⁹⁾

嫌気性微生物の活性や脱塩素化に影響を与えるため、把握することが望ましい。

- ・TOC

添加した栄養物質等の消費量や残存量の指標となるため、把握することが望ましい。

- ・脱塩素化微生物

脱塩素化微生物（DNA量）の増加を確認することが望ましい。これにより、塩素化エチレン類の濃度減少が脱塩素化微生物の働きによるものかを評価する。

5.7 試験結果の評価

養生期間経過後の測定結果から、嫌気性微生物による脱塩素化が進んでいる可能性を評価する。以下の項目のうち1つ以上を満たした場合、原位置生物処理の適用可能性が高いと判断する。評価の例を図-3に示す。

- ・浄化対象物質や脱塩素化生成物から無害なエチレンへの脱塩素化の確認
- ・クロロエチレンの生成および減少の確認
- ・気相部分のヘッドスペース分析によるエチレン生成の確認

5.8 評価報告書の作成

評価報告書を作成し、適用可能性の評価結果を報告する。

- ・報告書記載事項の例

浄化対象物質、試料採取日、試料採取条件、栄養物質等条件、養生温度、測定結果とそれに基づく嫌気性微生物による脱塩素化の可能性

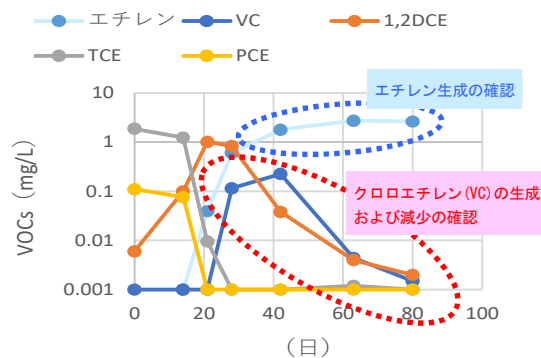


図-3 脱塩素化の評価⁴⁾

6. 適用可能性試験における留意点および補足説明

4章で紹介した室内試験の各段階における留意点および補足説明を以下6.1~6.7節に示す。

6.1 試験前の確認⁴⁾

- ・基準不適合物質とその濃度

原位置生物処理によって浄化可能な物質および濃度であるかを確認する。塩素化エチレン類の濃度が100 mg/Lを超える場合、原位置生物処理の適用が難しいことがある^{10),11)}。

- ・基準不適合地点の範囲と深さ

土壌汚染状況調査、詳細調査等報告書を確認し、試験に供する汚染箇所の試料が採取可能かどうかを事前に調査する。

- ・土質区分

入手可能な場合はボーリング柱状図を参照し、土質の概略情報を確認する。粘性土やシルトの場合は原位置生物処理の適用が難しい場合もある³⁾。

- ・地下水流速、流向

地下水流速と流向の調査結果がある場合は事前に確認する。

6.2 試料採取

- ・井戸洗浄（ページ）の方法

ポンプを用いて行い、汲み上げた水の見たと水質が安定するまで継続する。化学的パラメーター（pH、EC、水温、ORP、DO、遊離塩素、特定の汚染物質等）の安定を確認する。

6.3 採取試料の初期性状確認

- ・サイトでの分析

室内試験に供する地下水試料の水温とpHはサイトでも確認しておく。

- ・脱塩素化微生物の分析

脱塩素化微生物の存在の確認手法として、標的とするDNAに特異的なプライマーペアを利用したPCR法により、目的の微生物の存在や量を確認する方法^{12),13)}がある。また、PCR法で脱塩素化酵素遺伝子(*tceA*、*vcrA*、*bvcA* 遺伝子等)を測定し、脱塩素化微生物の存在を確認する方法もある¹³⁾。

- ・脱塩素化微生物が検出されない場合

試料中に脱塩素化微生物の存在が確認できない場合でも脱塩素化が進行することがある¹³⁾。そのため、次段階の栄養物質等添加による試験結果を重視して評価する。

- ・浄化期間

脱塩素化の阻害要因の存在や脱塩素化微生物の存在量によっては、浄化期間が長くなる可能性がある³⁾。

- ・油類の共存

試料中に油類が共存する場合、高濃度の塩素化エチレン類が油類に溶け込み、浄化が順調に進まないことがある³⁾。

6.4 試料の調整

- ・試験容器

樹脂製の容器は塩素化エチレン類を吸着するため、試験にはガラス製の容器を用いる。

- ・塩素化エチレン類の添加

試料に塩素化エチレン類を添加する際は、安全を確保するためドラフト内で作業する。

- ・試験の連数

微生物反応は試験結果にばらつきが生じやすいため、同じ試験条件の容器を複数、2～3連用意することが望ましい。

- ・栄養物質等の安全性

市販品の場合は SDS を確認し、各社独自の製品の場合は、成分表等を示すことで安全性を担保する。

- ・栄養物質等の添加量

栄養物質等の添加量の目安に幅がある場合は、栄養物質等の添加量が異なる複数のケースを設定してもよい。

- ・栄養物質等による影響の確認

栄養物質等による副生成物や pH 等水質に与える影響が懸念される場合は、必要に応じて、浄化対象物質を含まない水に栄養物質等を添加した試験を行い検証する。

6.5 養生

- ・試験容器の密栓

嫌気性微生物による脱塩素化を進める上では、試験期間を通じて容器内の嫌気環境を維持することが極めて重要である。密閉性を維持したまま測定試料の採取を行うために、テフロン加工のブチルゴム栓とアルミシール等で必ず密栓すること。

- ・養生場所

密栓後の試験容器は、温度を一定に保ったインキュベーターや室内に静置、あるいは恒温水槽内で水没させて養生する。

6.6 測定

- ・測定試料の採取と嫌気環境の維持

ガラスシリンジを試験容器のゴム栓に刺し、容器内の試料を必要量採取する。その際、針穴からの空気の混入に注意し、脱塩素化微生物が生息できる嫌気環境を維持する。

- ・測定頻度

試料の初期性状や過去の実績を勘案して決定する。例えば週 1 回、2 週に 1 回、月 1 回等である。

- ・塩素化エチレン類の測定

塩素化エチレン類の測定方法としては、公定法である平成 15 年環境省告示第 17 号（地下水に含まれる調査対象物質の量の測定方法）がある。それ以外に、気相部分のヘッドスペース分析（簡易分析）等を用いることも可能である。

- ・栄養物質等の追添加

測定の結果、脱塩素化の停滞が確認された場合は、必要に応じて栄養物質等の追添加を行う。pH の大幅な低下が見られた場合は、嫌気性微生物の脱塩素化への悪影響を避けるため、必要に応じて重曹等の pH 調整剤を添加し、pH6.5 以上の値を保つようにする。

6.7 試験結果の評価

原位置生物処理が対象のサイトで適用可能か評価する際は、室内試験の結果に加え、以下の項目も考慮して総合的に判断することが望ましい⁸⁾。

- ・コスト

原位置生物処理の実施にかかる費用が、事業計画の範囲内に収まる見込みかどうかを慎重に検討する。

- ・工期

原位置生物処理は浄化達成までに比較的長期間を要する。工期を十分確保できない場合は別の措置への変更も検討する。

・作業スペース

栄養物質等の調製・希釈に必要な水槽やタンク、栄養物質等の注入に用いる配管設備を設置するスペースがあるかを確認しておく。

・室内試験とサイトの相違点¹⁴⁾

室内試験と実際のサイトでは、規模、試料の均一性、栄養物質等の混合方法、地下水の流れの存在等、多くの相違点があり、浄化の進捗に影響を及ぼす可能性があることに留意する。それらの点は、パイロット試験や現地試験等、次のステップで検証する。

このように実サイトでの措置を念頭に置き、前提条件や設計条件を整理して十分な事前検討をすることが望ましい。ガイドブック³⁾の「原位置浄化（生物処理）」に示される「チェックリストの例」も参考にされたい。

7. まとめ

本稿では、塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染の原位置生物処理に関する適用可能性試験（室内試験）の一例として、脱塩素化の確認方法について具体的な手順や留意事項を示した。今後、センター会員企業をはじめとした皆様の汚染除去等計画作成時や適用性を確認する際の判断の参考になればと考える。

参考文献

- 1) 環境省（2007）：土壌汚染対策法施行規則，別表第7の5の項中欄1のト、別表第7の5の項中欄2のホ。
- 2) 環境省（2022）：土壌汚染対策法に基づく調査及び措置に関するガイドライン（改訂第3.1版），5.4 措置の実施，Appendix_22.
- 3) 環境省（2020）：区域内措置優良化ガイドブック（改訂版）—土壌汚染対策法に基づくオンサイト措置及び原位置措置を適切に実施するために—，pp.93～97.
- 4) 羽瀧博臣・伊藤雅子・金井良太・西田憲司・土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会（2023）：塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染の原位置生物処理に関する適用可能性試験の検討，第28回地下水土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，S4-27.
- 5) 山野辺純一・羽瀧博臣・藤井雄太・伊藤雅子・西田憲司・土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会（2024）：塩素化エチレン類による土壌・地下水汚染の原位置生物処理に関する適用可能性試験の検討—土壌を用いる場合—，第29回地下水土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，投稿中。
- 6) 山崎将義・森岡錦也・佐藤毅・岡田雄臣・田村和広・土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会（2024）：重金属汚染土壌のオンサイト処理に関する適用可能性試験の検討—第2報—，第29回地下水土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，投稿中。
- 7) 岡田雄臣・山崎将義・森岡錦也・佐藤毅・西田憲司・土壌汚染の除去等の措置の適用可能性試験に関する調査・検討部会（2024）：米国（EPA）における汚染土壌の処理方法の適用性の確認方法・手順，第29回地下水土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，投稿中。
- 8) 環境省（2022）：土壌汚染対策法に基づく調査及び措置に関するガイドライン（改訂第3.1版），2.2 実施措置を選択した理由の記載例，Appendix_24_1.
- 9) 日野良太・古屋光啓・佐藤徹朗・高畑陽・地下水汚染のサイト評価手法の活用検討部会（土壌環境センター）（2021）：VOCs 汚染地下水の自然減衰の確認と濃度変化の予測に関する基礎的検討，第26回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，S3-08.
- 10) 緒方浩基・四本瑞世（2010）：超高濃度 VOCs 汚染土の原位置嫌気バイオ分解技術の開発，大林組技術研究所報，No.74.
- 11) 吉川美穂・山野辺純一・竹内美緒（2014）：高濃度クロロエチレン類が微生物分解および微生物相へ与える影響，第20回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，S6-12.
- 12) 中村寛治・上野俊洋・石田浩昭（2003）：塩素化エチレン分解に関与する微生物の解析および検出，土壌環境センター技術ニュース No.7，pp.1～5.
- 13) 四本瑞世・緒方浩基・千野裕之（2009）：DNA 解析手法を用いた VOCs 分解微生物の検出および特性評価，大林組技術研究所報，No.73.
- 14) 藤城春雄・稲田ゆかり（2008）：原位置浄化法の適用性試験に関する一考察，第14回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集，S2-10.