

(S4-25) 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 —土壌を用いる場合—

○山野辺純一¹・羽瀧博臣¹・藤井雄太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

土壌汚染対策法施行規則や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などでは、浄化等処理方法の適用性や、試験による効果の確認が求められているものの、具体的な手順や方法は示されていない¹⁾²⁾。そこで、（一社）土壌環境センター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）は、適用可能性試験の標準的な方法や手順などを提案することを目的に、塩素化エチレン類を対象にした原位置生物処理の室内試験フロー（案）を、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にて報告（以下「第1報」という）した³⁾。第1報では、採取が容易かつ局所的なデータとなりづらい地下水を試験試料とした適用可能性試験について検討を行った。一方、既往の報告では土壌を用いて適用可能性試験を実施しているケースもあり⁴⁾⁵⁾、その手順や評価方法の検討は有用である。実際に第1報の報告後、土壌での適用性の確認方法を求める声が寄せられたことから、今般、土壌を用いた適用可能性試験を検討対象に加えることとした。本稿では、土壌を用いた場合の適用可能性試験の検討を行い、その試験手順を試験フローとして取りまとめ、例示した。また土壌を用いる場合の特徴的な留意事項について報告する。なお、適用性試験部会では、原位置生物処理における地下水を用いた場合の適用可能性試験の検討（以下「地下水試験第2報」という）⁶⁾を始め、ほかにも2編の適用可能性試験に関する報告⁷⁾⁸⁾をしているので、本稿と合わせて参考にされたい。

2. 適用可能性試験の種類

適用性試験部会では、第1報の報告後、土壌試料での適用性の確認方法を求める声も寄せられた背景を踏まえ、まず既往研究事例や文献などにより適用可能性試験の種類を整理した。その結果の一覧を表-1に示す。土壌を用いた試験には、室内試験であるバッチ試験やカラム試験、また現地試験が確認された。今回は、これらの試験方法のうち、土壌を用いたバッチ試験の検討を行った。

表-1 揮発性有機化合物を対象とした原位置生物処理の適用可能性試験の種類一覧

試験方法		概要	参考文献
地下水を用いた試験	室内試験 (バッチ試験)	汚染サイトで採取した地下水試料に栄養物質等を添加し、一定期間経過後、嫌気性微生物の作用で脱塩素化される対象成分の地下水濃度を測定する。	9) ほか
	現地試験	汚染サイトにて栄養物質等を注入し、一定期間経過後、汚染サイトに生息する嫌気性微生物の作用で脱塩素化される対象成分の地下水濃度を測定する。	10) ほか
土壌を用いた試験	室内試験 (バッチ試験)	汚染サイトで採取した土壌試料に水などの溶媒と栄養物質等を添加、混合し、一定期間経過後、嫌気性微生物の作用で脱塩素化される対象成分の溶媒中濃度を測定する。	4) ほか
	室内試験 (カラム試験)	汚染サイトで採取した土壌試料をカラム（筒状容器）に充填し、水などに栄養物質等を添加・混合した溶液を通液した後、嫌気性微生物の作用で脱塩素化される対象成分の土壌中濃度や通水した溶液中の濃度を測定する。	11) ほか
	現地試験	汚染サイトにて実際に栄養物質等を土中に注入し、一定期間経過後、汚染サイトに生息する嫌気性微生物の作用で脱塩素化される対象成分の土壌中濃度や地下水濃度を測定する。	12) ほか

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

Junichi Yamanobe¹, Hiroomi Habuchi¹, Yuta Fujii¹, 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

3. 適用可能性試験の検討対象物質

今回検討する適用可能性試験の浄化対象物質は、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とした。

4. 適用可能性試験の目的

本稿でいう適用可能性試験の目的は、サイトの汚染土壌に対し脱塩素化反応を担う微生物（以下「脱塩素化微生物」という）による塩素化エチレン類の脱塩素化が進行し、浄化対象の塩素化エチレン類が PCE→TCE→ジクロロエチレン→クロロエチレン→エチレンのように段階的に脱塩素化される事象が確認できることとする。例えば、脱塩素化生成物であるクロロエチレンの生成や分解、エチレンの生成などを確認することにより脱塩素化の進行を確認することで適用可能性が高いと判断する。なお、塩素化エチレン類の目標土壌溶出量の基準適合および含有量（全量）の低減については評価対象としない。

5. 適用可能性試験フロー

土壌を用いた適用可能性試験の試験フロー例を図-1 に示す。試験フローの作成に際しては、適用性試験部会会員企業の経験や事例、文献調査などをもとに検討した。試験フローは8つの段階からなる。以下、各段階の内容について述べる。なお、本試験フローは標準的なものではなく、具体的な試験方法の一例を提示したものであることに留意されたい。

5.1 試験前の確認

原位置生物処理が適するサイトであるか、適用可能性試験の実施は妥当かを判断するため、以下に示す項目について現地条件の確認を行う¹³⁾。

- ・ 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 試料の採取

ボーリングマシンなどにより対象深度の土壌を採取する。

- ・ 試料の採取
浄化対象となる場所・深度から土壌を採取する。
- ・ 試料採取量
試験に足りる試料量を確保する。1～10 kg 程度が目安となる。
- ・ 試料の保存
土壌試料は密封できる容器や真空パックなどに空隙が残らないように詰め、遮光し、環境の変化による影響を与えないように注意して保管する。土壌採取容器の例を写真-1 に示す。

5.3 浄化対象の初期性状確認

(1) 確認項目

- ・ 浄化対象物質
土壌試料の浄化対象物質（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¹⁴⁾

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として現地サイトにて浄化対象深度付近の地下水について、水温や pH、DO（溶存酸素量）、ORP（酸化還元電位）の値を、また採取した土壌試料について、pH（JGS 0211-2020）、TOC（全有機体炭素量：検液の作成方法については参考文献⁴⁾などを参照）などの値を予め把握する。浄化対象土層の温度（地下水の水温など）は 10℃以上、pH は 5～9 程度が望ましい¹⁵⁾。

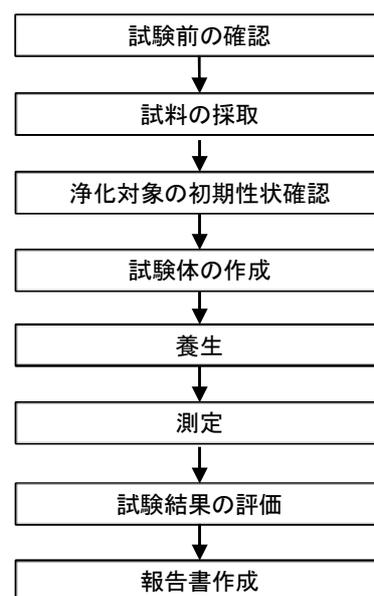


図-1 土壌を用いた試験フロー例



写真-1 土壌採取容器の例

(2) 評価項目

・脱塩素化生成物

クロロエチレンやエチレンなど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、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 をエチレンにまで分解する脱塩素化微生物（*Dehalococcoides* 属細菌など）の存在を、採取した土壌試料より DNA を抽出し測定する⁴⁾。脱塩素化微生物の存在が確認されれば脱塩素化が進行する可能性が高い。

5.4 試験体の作成

栄養物質等の添加で微生物による脱塩素化が進行するか評価するため、試験容器を準備し、土壌試料を前処理（均一化）し、分取する。また栄養物質等の添加など、試料の調整を行う。以下に試験体の作成手順を示す。また、前処理、試験体作製、栄養物質等添加の各段階における試験手順図を図-2、図-3、図-4 にそれぞれに示す。

1)前処理（均一化）

土壌試料中の石などを除去し、密閉されたポリエチレン袋もしくは嫌気環境下にて均一化する。

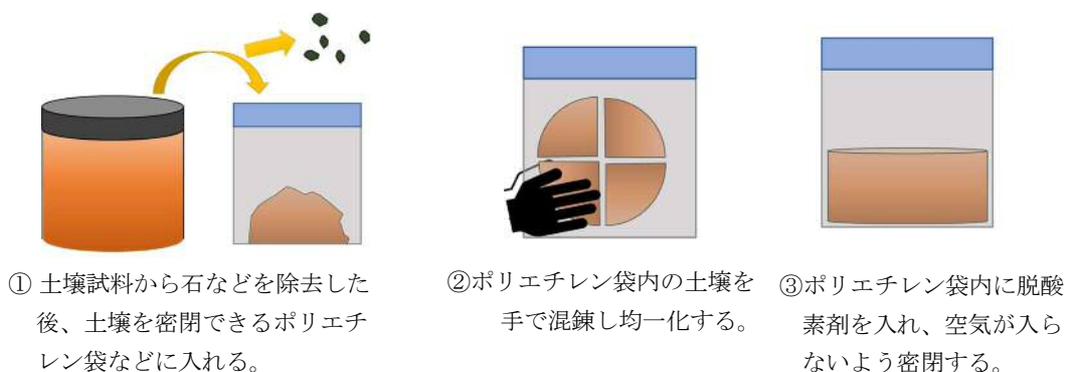


図-2 前処理（均一化）の手順

2)試験容器、器具の準備

試験に必要なサイズの容器や器具および装置を用意する。コンタミネーションが生じないように使用前に、超純水による洗浄およびオートクレーブ装置による滅菌などを行う。試験体を作成する容器は50～500 mLのガラスバイアル瓶などを用いる。

3)試験体作成

土壌試料を容器に分取し、設定した液固比（例えば土壌が均等に混合可能な液固比として1～10程度を目安）になるまで水（現地地下水もしくは蒸留水など）を添加する。嫌気状態を確保するためヘッドスペースを窒素ガスなどで置換し、テフロン加工のブチルゴム栓とアルミシールなどで密栓する。試験体を十分に攪拌し、土壌と地下水が均一に混合されていることを確認する。

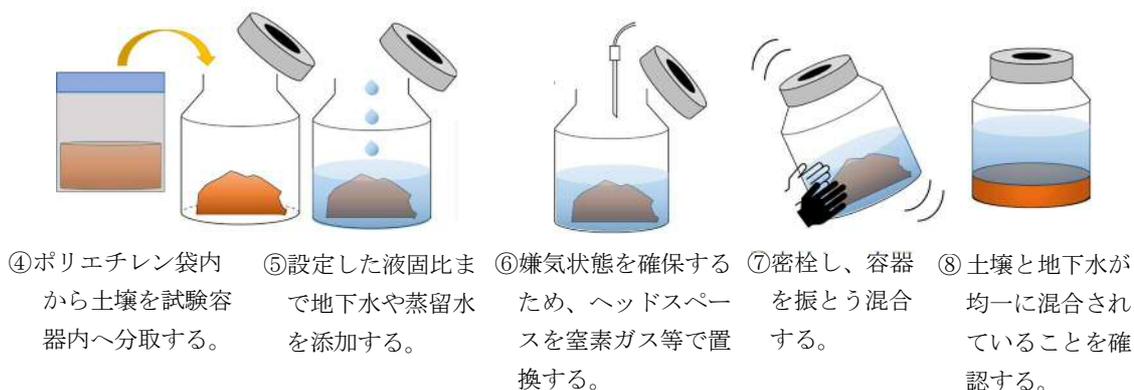


図-3 試験体作成の手順

4)コントロール試験およびブランク試験の準備

脱塩素化の進行が自然的要因やその他混入物などの影響ではなく、栄養物質等で活性化された微生物による効果であることを確認するため、栄養物質等を添加せず土壌による影響のみを評価するコントロール試験を行う。また、地下水を用いた試験に比べ、土壌試料を用いる場合には対象土層毎に土壌の採取量や土質（細粒分含有率や粘性）が異なり、試験容器の変更が必要になる可能性がある。従って、試験容器に超純水もしくは蒸留水と浄化対象物質を添加したブランク試験を実施し、試験・分析操作による浄化対象物質の系外への揮発などによる濃度の低減が無いことを確認する。

5)栄養物質等の添加

サイト条件や土壌性状などをもとに栄養物質等を選定し、選定した栄養物質等に応じた適量を添加する。栄養物質等の量は、過去の実績や予備検討などで定める。栄養物質等の添加後、容器を十分に攪拌・混合する。



図-4 栄養物質等の添加

5.5 養生

微生物の生息環境を模擬し、脱塩素化を促進させるための養生条件を設定する。

・養生条件

温度条件はサイトと同じ浄化対象土層の温度で実施し、一定の温度条件で恒温槽内に静置、養生する。また、土壌中の微生物と栄養物質等の反応を確保するため、転倒攪拌を1週間に1回程度行う。

・養生期間

想定する浄化期間や過去の実績から養生期間を設定する。測定結果によっては養生期間を延長する。

5.6 測定

微生物による脱塩素の進行を確認するため、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

生物処理の効果を検証するため、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する。測定は、試験体の液相部分を対象検液とする。あるいは気相部分のヘッドスペースガスを対象ガスとし分析測定を行う。検液の作成方法やヘッドスペースガスの分析方法は、適用可能性試験中は相対的な評価を行うため、一定の方法（条件・手順）で固定し、コントロール試験およびブランク試験の結果も参考に評価が適切に行われているか確認を行う。

・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できる。

・pH、水温、硫酸イオン、TOC（全有機体炭素量）、ORP（酸化還元電位）など

脱塩素に影響を与える項目について把握する。測定は試験体の液相部を検液として用いる。

5.7 試験結果の評価

養生期間経過後の測定結果から、以下の項目により微生物反応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。具体的な評価方法については、地下水試験第2報⁹⁾を参照されたい。

- ・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もしくはエチレン生成の確認

5.8 報告書作成

- ・ 報告書記載事項の例

浄化対象物質、試料採取日、試料採取位置・深度、栄養物質等条件、養生温度、測定結果とそれに基づく脱塩素化の可能性

6. 土壌試料を用いる場合の留意点

土壌は地下水に比べて、人為的原因による浄化対象物質の局在や、表層埋土層の土質の不均一性などに起因する局所的なばらつきが想定されるため、試験試料とするためには地下水試料とは異なる留意点が存在する。特に土壌試料と地下水試料で大きく異なる「試料の採取」、「試験体の作成」の項目についての留意点を表-2に示し、以降、そのうち土壌の留意点について説明する。

表-2 地下水試料と土壌試料の試験における主な留意点

項目	土壌試料を用いる場合	地下水試料を用いる場合
試料の採取	・ ボーリングマシンやハンドオーガーなどを用いて土壌の性状が変化しないように採取する。	・ 観測井やボーリング孔からの地下水採取前に地下水の性状が安定するまで孔内洗浄を行う。
試験体の作成	・ 土壌試料のバラつきを均一化する。 ・ コントロール試験、ブランク試験を実施する。	・ 地下水試料は沈殿物を含めて分取する。 ・ コントロール試験を実施する

6.1 試料採取時の留意点

土壌を用いて適用可能性試験を行うためには、土壌試料の採取・保管状態による試験への影響を考慮する必要がある。例えば、採取時には、土質ボーリングのように泥水は使わず無水掘りでの採取とし、回転によって熱が発生しないように十分に注意する。土壌の保管時には、土壌の乾燥、好気的な環境に晒されることによる試料の酸化、温度変化による微生物叢の変化などが起こらないように、土壌採取後、速やかに密閉容器に保管する。

6.2 試験体の作成時の留意点

- ・ 前処理

土壌の均一化は可能な限り、嫌気環境下で行う必要がある。方法としては、例えば、嫌気チャンパー内でのミキサーによる混合や、土壌を密閉できるポリエチレン袋に入れ、手作業により混合する方法などがある。

- ・ 試験容器、器具の準備

容器は例えば、50～150 mL 程度のガラスバイアル瓶などの利用が考えられる。また、土壌の粘性が高く、バイアル瓶への投入が困難な場合には、150～500 mL の広口ガラス瓶などを用いる。

- ・ 試験体の作成

地下水もしくは蒸留水の添加量は、土壌試料が飽和状態もしくは泥水状となる液固比を設定し、自然含水比の土壌試料を基に重量比で計量値を算出する。例えば、既往の文献では液固比2や同3で行ったケースなどがある^{4),5)}。土壌の試験容器への分取状況の例として、写真-2に嫌気チャンパー内での作業状況を示す。さらに土壌を用いた試験では、結果にばらつきが生じやすいため同じ試験条件を複数連、例えば2～3連を用意することが望ましい。



写真-2 嫌気チャンパーでの作業状況

7. まとめ

本稿では、塩素化エチレン類を対象とした原位置生物処理に関する適用可能性試験の種類について整理し、すると共に、土壌試料を用いた室内試験であるバッチ試験に着目し、その試験フローをまとめ、例示した。今後、汚染の除去等の処理方法の適用性を確認する方法検討に際して一助になればと考える。今回提示した試験フローについて意見を聞き、議論したい。

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 (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.
- 3) 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.
- 4) 高 裕貴・大久保敬祐・山野辺純一 (2023) : 粘性土における VOCs 分解過程の化学・生物的因子の相関性評価, 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, S1-22.
- 5) 四本瑞世・緒方浩基・久保博・新村亮 (2005) : VOCs 汚染地盤の原位置嫌気バイオ浄化技術の開発, 大林組技術研究所報, No.69.
- 6) 羽瀧博臣・藤井雄太・山野辺純一・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 —地下水を用いる場合 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) 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.
- 8) 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.
- 9) 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, 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(Web) Vol.27th, S2-10.
- 10) 田中宏幸・藤永愛一郎・小橋創一・進士善英・笹本譲・吉田清司 (2004) : 揮発性有機化合物汚染地下水の原位置バイオレメディエーション, 鴻池組技術研究報告, Vol.14 pp.13-20.
- 11) 山崎祐二・古川靖英・中島朋宏・稲葉薫・清水孝昭・西垣誠・田小維・鈴木市郎・小林剛・井上大介・池道彦 (2022) : 加温原位置バイオレメディエーションによるクロロエチレン類汚染地下水浄化, 土木学会論文集 G(環境), Vol.78 No.2 pp.49-60.
- 12) 伊藤浩・佐野洋 (2007) : バイオスティミュレーションによる地下水・土壌汚染の浄化—水素供給剤による有機塩素化合物の原位置浄化工の施工とモニタリング—, 東急建設技術研究所報 No.32 pp.71-76.
- 13) 環境省 (2020) : 区域内措置優良化ガイドブック (改訂版), pp.93~97.
- 14) 高畑陽 (2013) : バイオオーグメンテーションの実用化への可能性と課題, 環境バイオテクノロジー学会誌, Vol.13, No.1, 19~23.
- 15) 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.