

令和7年度土壤汚染対策技術セミナー（録画配信）

クロロエチレン類を対象とする 加温併用型バイオオーグメンテーション工法

株式会社竹中工務店 技術研究所 山崎祐二

— 目次

1. はじめに
2. 加温併用型バイオオーグメンテーションの概要
3. 加温併用型バイオオーグメンテーションのコンセプト検証
4. 実汚染サイトでの検証 実施計画
5. 実汚染サイトでの検証 実施結果
6. モデルサイトでの効果の試算
7. まとめ

— 1. はじめに

■日本国内の土壤汚染

法人・個人所有土地
: 1,347万ha (国土の35%)

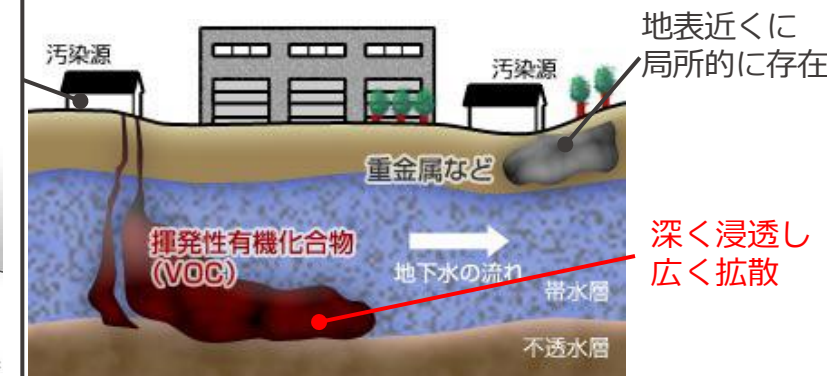
汚染リスクが
高い土地
: 11.3万ha

再開発の停滞が
懸念される土地
: 2.8万 ha (8万サイト)

※2007年環境省公表資料 及び 2020年当社独自の調査結果より

■VOC（揮発性有機塩素系化合物）汚染の特徴

主な用途
: 脱脂洗浄用の溶剤



■土壤対策の実績

✓汚染物質の種類

第1種 (VOC) : 42%

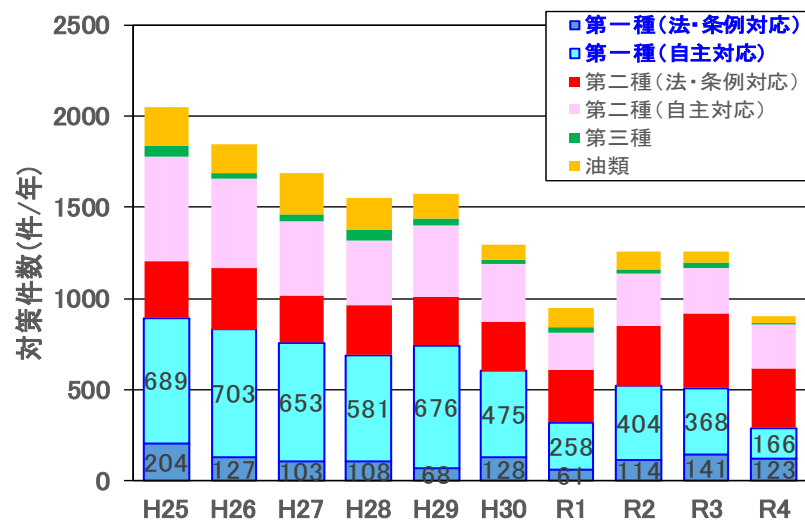
第2種 (重金属) : 47%

✓VOC対策件数: 620件/年

法・条例対応 120件

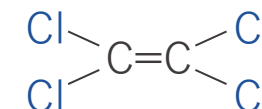
自主対応 500件

➤汚染土壌対策実施件数の推移

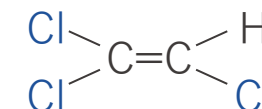


■環境中のクロロエチレン類分解経路

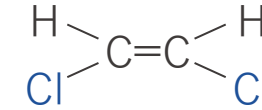
テトラクロロエチレン(PCE)



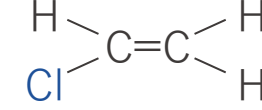
トリクロロエチレン(TCE)



1,2-ジクロロエチレン(DCE)



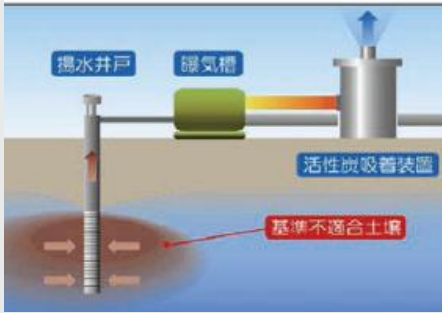
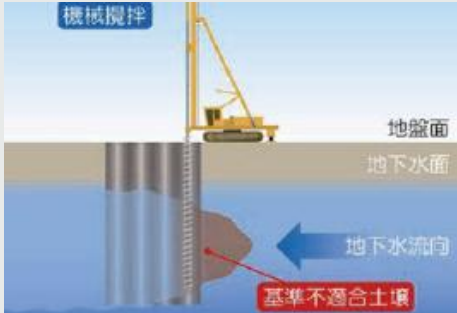
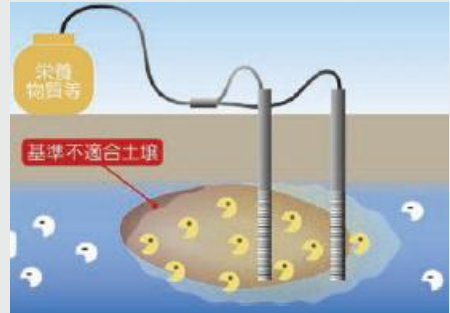
クロロエチレン(VC)



エチレン

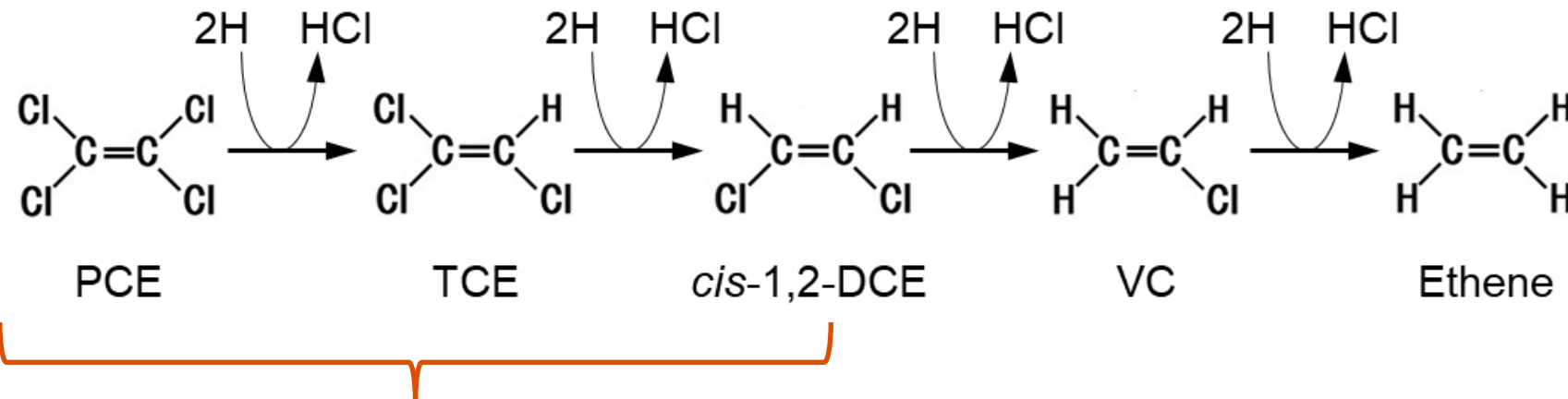
微生物による
脱塩素化

不十分な
脱塩素化

	場外 (ex situ) 処理		原位置 (in situ) 浄化	
工法名	掘削除去	揚水処理	物理・化学的手法	生物学的手法 (バイオレメディエーション)
概要				
	汚染土を掘削、場外搬出し、場外施設で処理	地下水に溶出した汚染物質を揚水し、地上で処理	- 地盤を加熱して汚染物質を揮発除去（物理的手法） - 化学物質を注入して酸化 or 還元分解（化学的手法）	栄養物質を注入し、地盤内で微生物の働きを活性化して汚染物質を分解
条件	短期間での浄化が必要な場合	拡散防止の場合	汚染範囲が浅く、狭い場合	汚染範囲が深く、広い場合
課題	- 掘削重機、搬送車両、汚染処理のエネルギー消費量大きい - コストが高い	- 運用期間が長く、水処理装置の長期の維持管理が必要 - 完全浄化が難しい	- エネルギー消費が大きく、土壌特性が変化するなど環境負荷大きい - 有害薬品の管理が必要	分解速度が低く、汚染物質の浄化期間が長い

- 生物学的手法（バイオレメディエーション）はエネルギー消費が少なく浄化コストも低い有望な浄化戦略として注目されている
- バイオレメディエーションは土着微生物を活性化させるバイオスティミュレーションが主流

クロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーション：特定の微生物の還元脱塩素化反応に依存



①部分的に脱塩素化が可能： *Sulfurospirillum*属、 *Geobacter*属、
*Dehalobacter*属、 *Desulfitobacterium*属、 *Desulfuromonas*属

②完全脱塩素化が可能： *Dehalococcoides*属、 *Dehalogenimonas*属

■課題

適用先の環境条件によっては**数年以上**が必要。土地開発のスケジュール内で浄化が達成できない懸念から**適用が限られる**



短い期間で確実に完全脱塩素化を達成する技術的なブレークスルーが求められている

— 2. 加温併用型バイオオーグメンテーションの概要

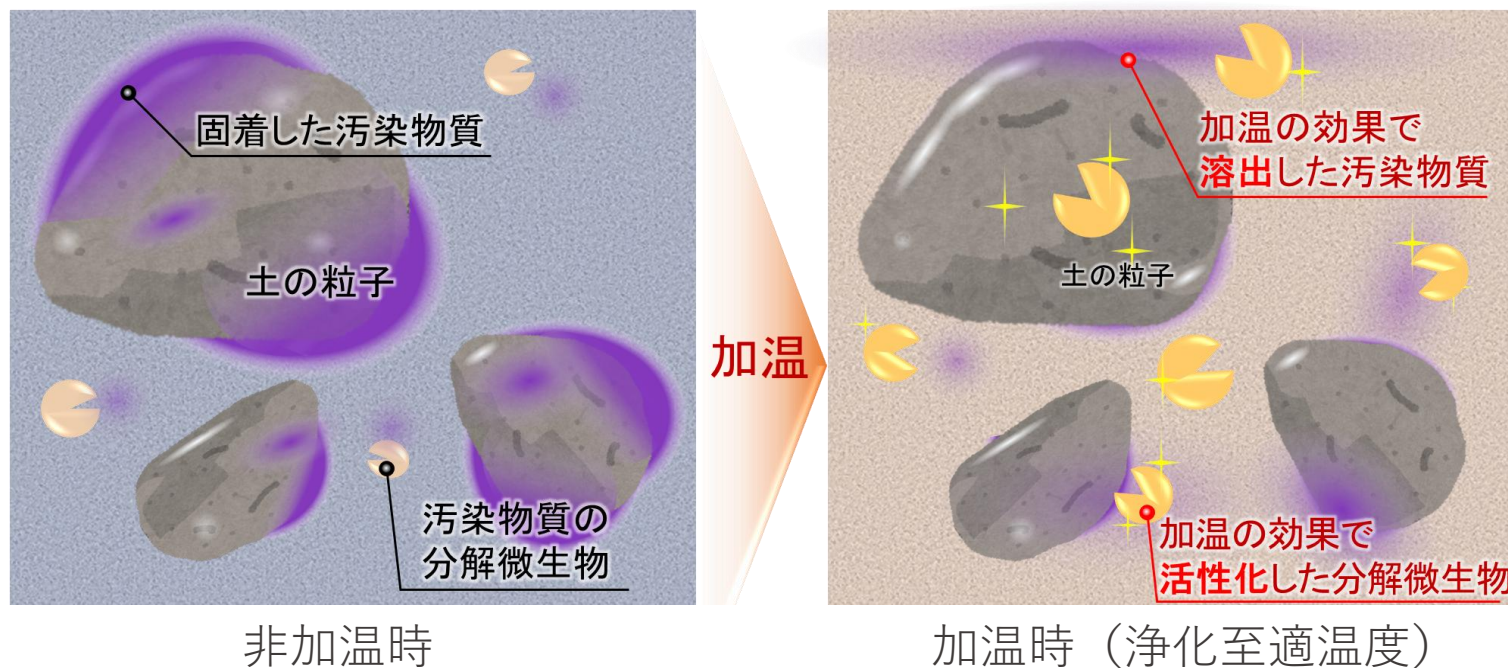
温度が微生物活性に及ぼす影響

温度上昇につれて微生物の活性が向上 (Dijkstra *et al.*, 2011)

温度が汚染物質の物理化学的挙動に及ぼす影響

温度上昇は汚染物質の水への溶解度の向上 (Beyer *et al.*, 2016)

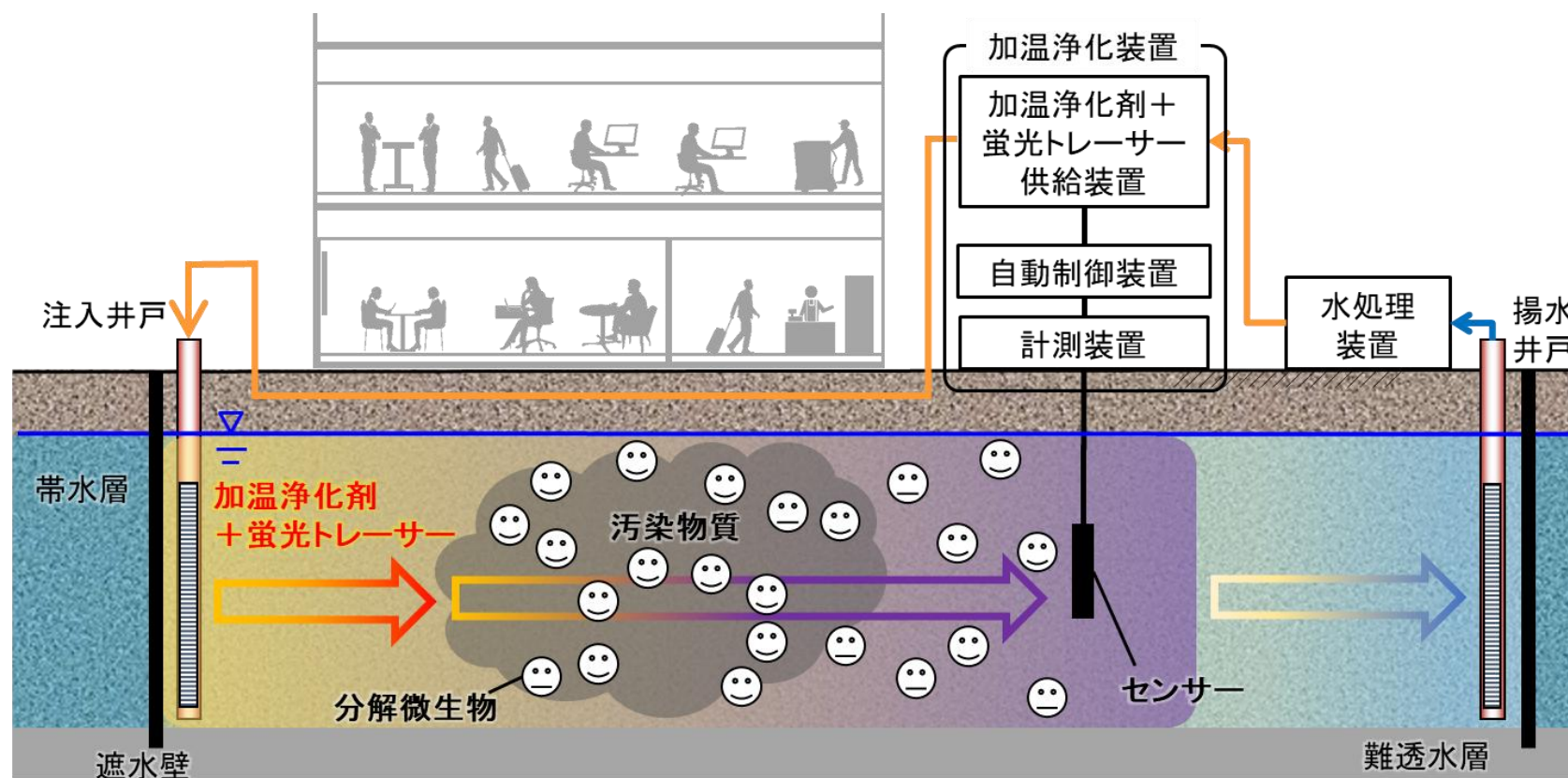
土粒子に吸着した汚染物質の地下水への分配性の向上 (Kobayashi *et al.*, 2003)



加温によりバイオアベイラビリティ（利用性）の向上、地下水揚水による汚染物質回収の効率化など大幅な**浄化促進効果（浄化期間の短縮）**が期待される

大規模な掘削を伴わず、地盤中に生息する**微生物の力**を活用した独自の**原位置浄化工法**

- ① **地盤を25℃～30℃に加温**することで、VOCの**微生物分解を促進**
- ② **蛍光トレーサー**を注入剤に混合し、加温浄化剤の**注入状況を可視化**することで、不均質な地盤内でも**均一に注入**が可能となり、浄化の**確実性を向上**



加温バイオレメディエーション (温促バイオ) の概念図

学名 : *Dehalococcoides mccartyi* NIT01株

分離源 : 国内の河川堆積物

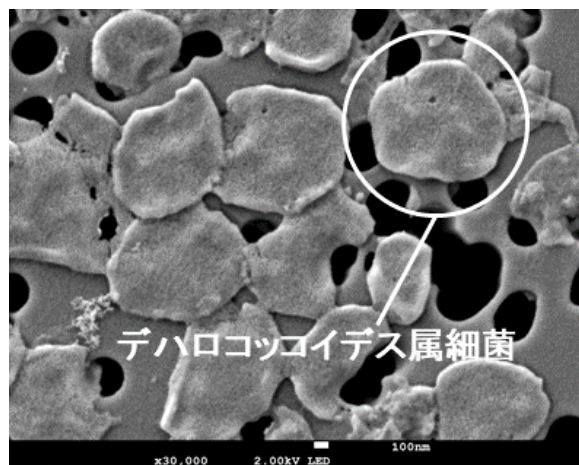
安全性 : 「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」の適合確認を取得
(平成31年環水大総発第1904242号)

特徴①

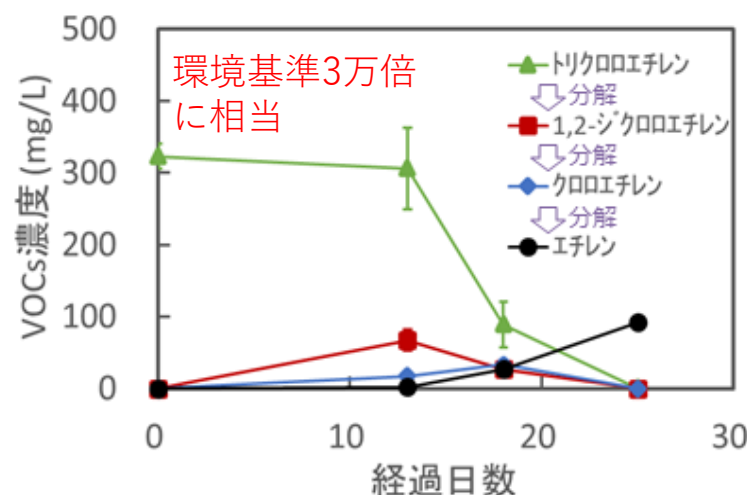
世界トップ級の**高分解能力、高濃度耐性**
300 mg/L (地下水環境基準の3万倍) を
超えるTCEを25日で分解 (Asai *et al.*, 2019)

特徴②

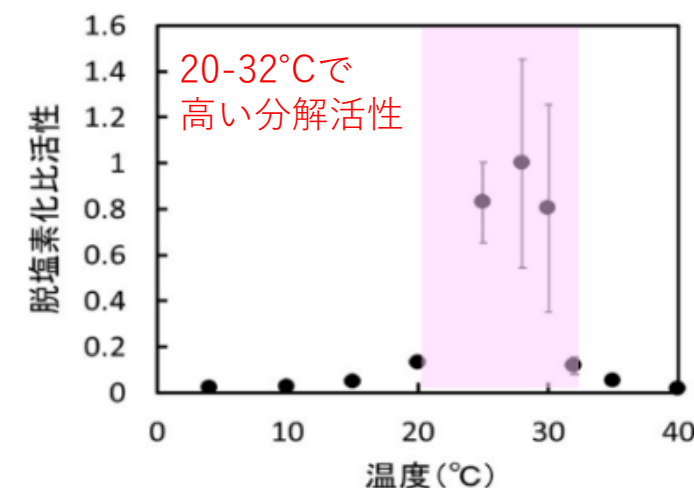
クロロエチレン(VC)を代謝により脱塩素化
脱塩素化の過程におけるVC蓄積が少ない



NIT01株電子顕微鏡写真



NIT01株の分解能力 (28°C)

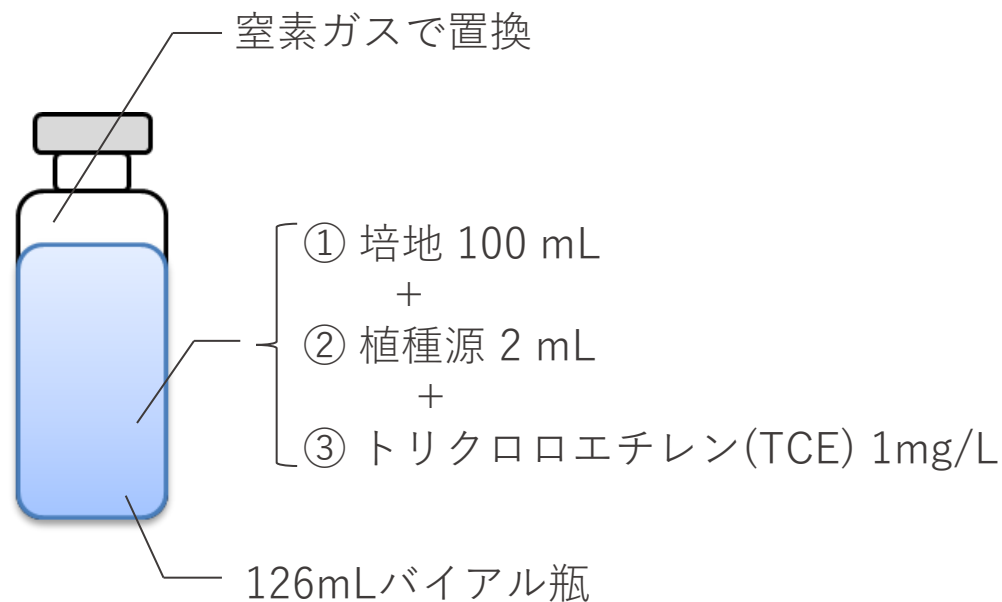


NIT01株の温度別分解活性

バイオオーグメンテーションにより高濃度汚染、短工期、土着分解菌がない等で掘削除去せざるを得なかった汚染地にも**バイオ浄化の適用を拡大**。さらに**加温を併用することで効果を最大化**させることが期待できる

3. 加温併用型バイオオーグメンテーションの コンセプト検証

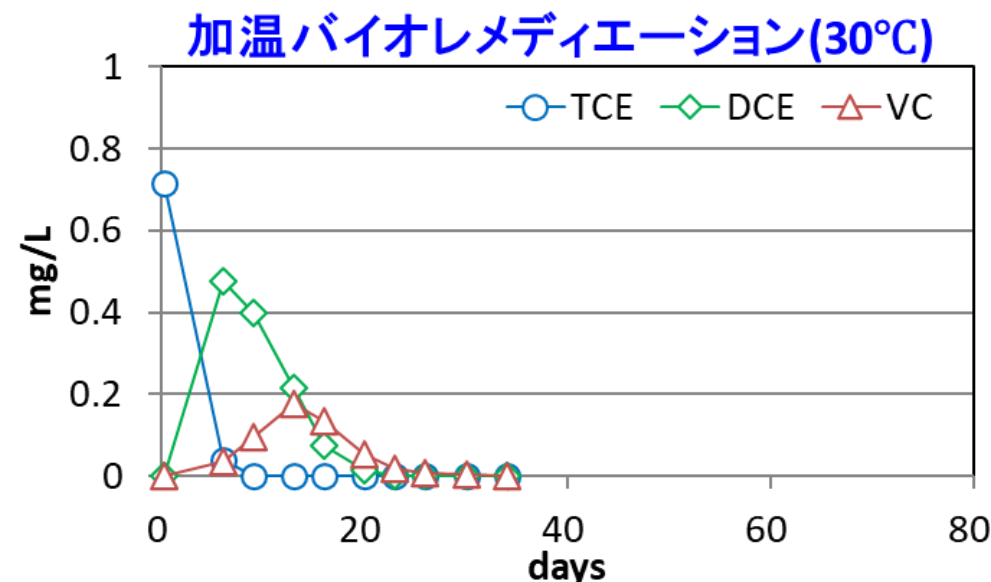
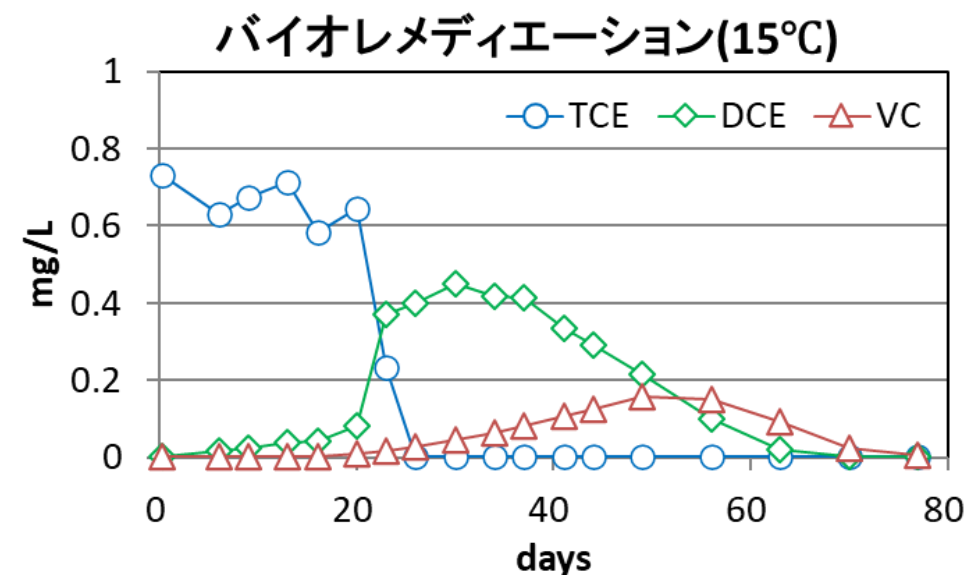
◆試験系



◆条件

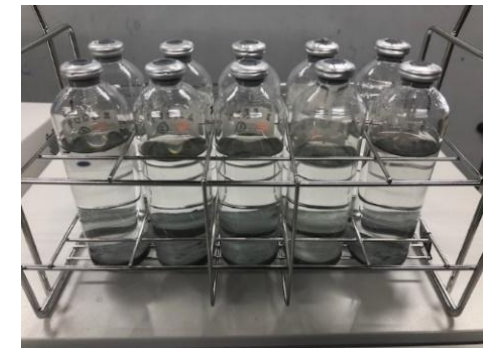
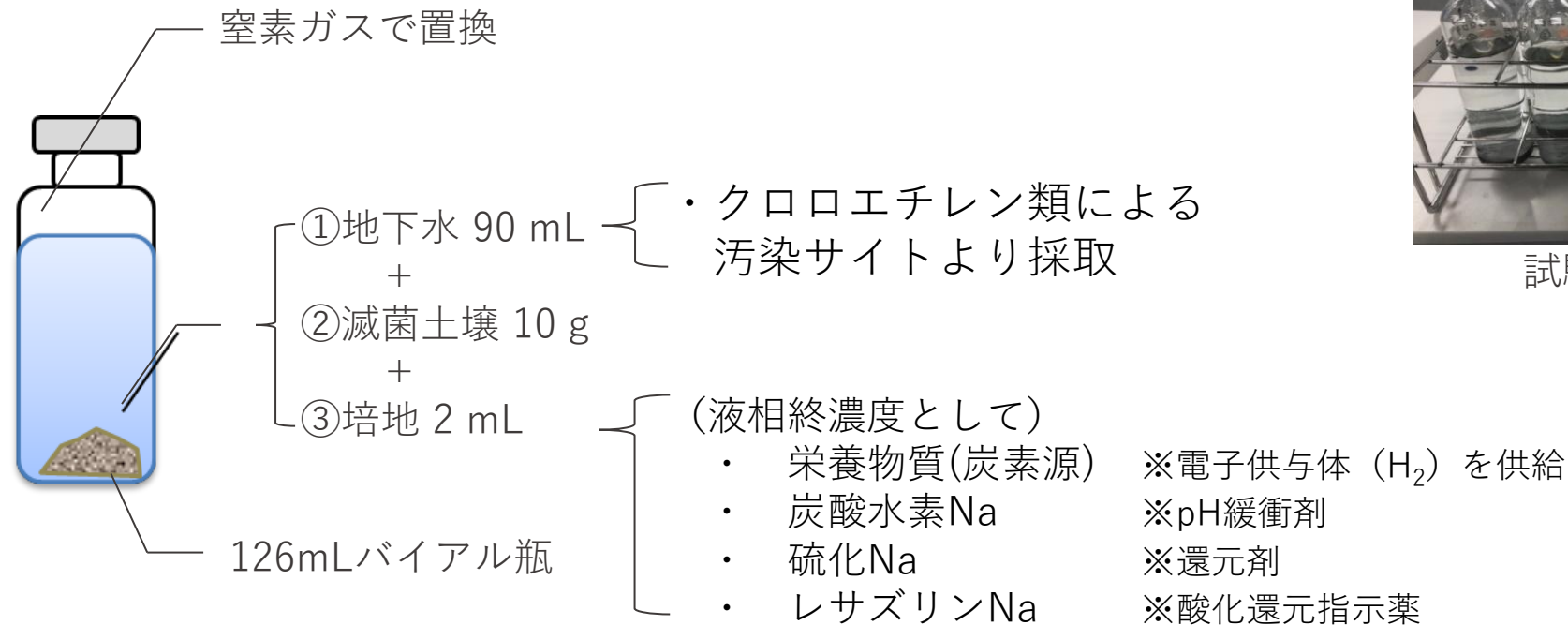
- ・ 植種源
クロロエチレン類汚染サイト地下水より
集積培養した分解菌使用
- ・ 培養条件
15℃、30℃の恒温槽で静置培養（嫌気）

◆試験結果



15℃では77日、30℃では30日で環境基準未満まで濃度低減 ⇒ 浄化促進効果を確認

◆試験系

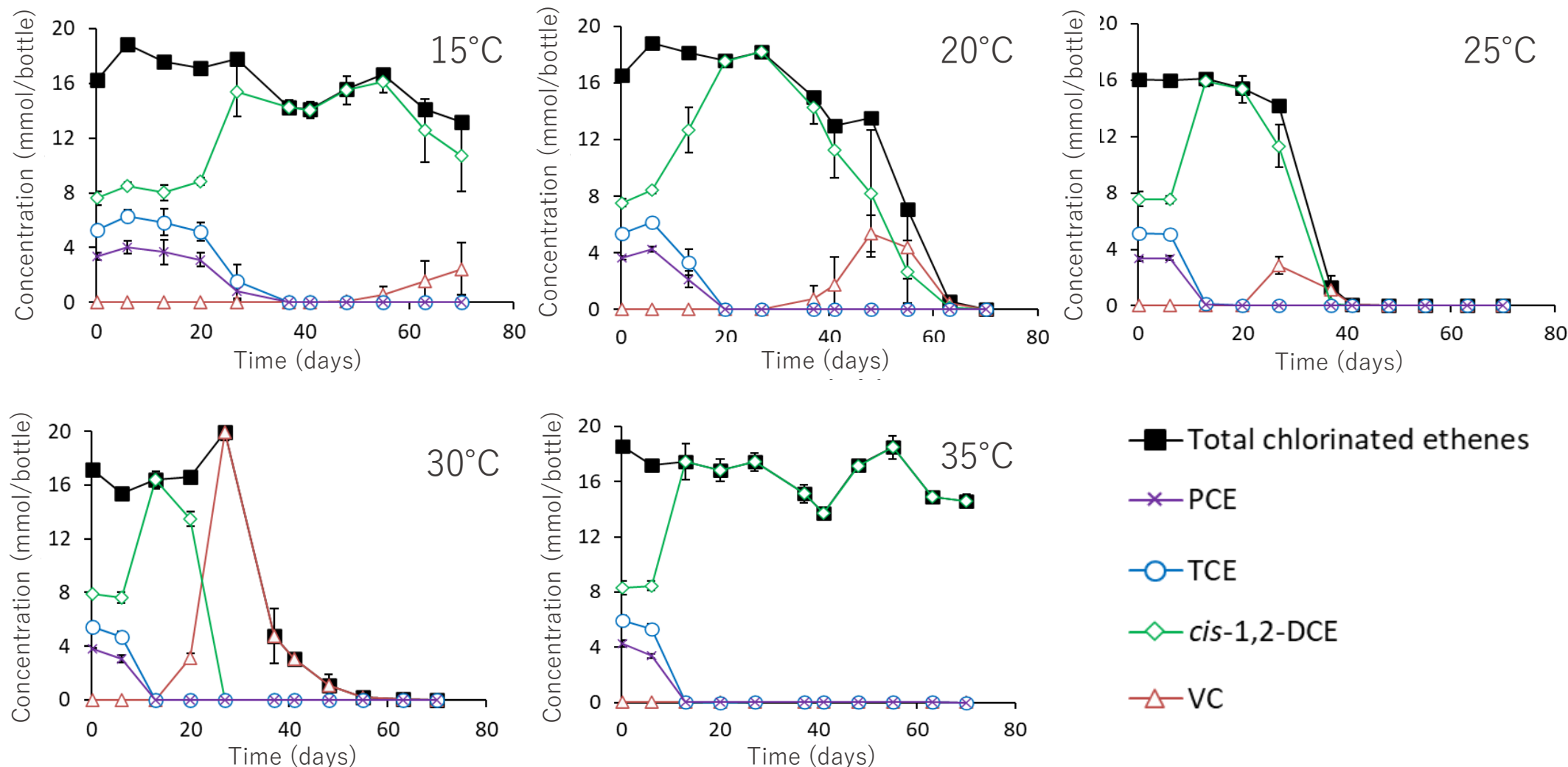


試験実施状況

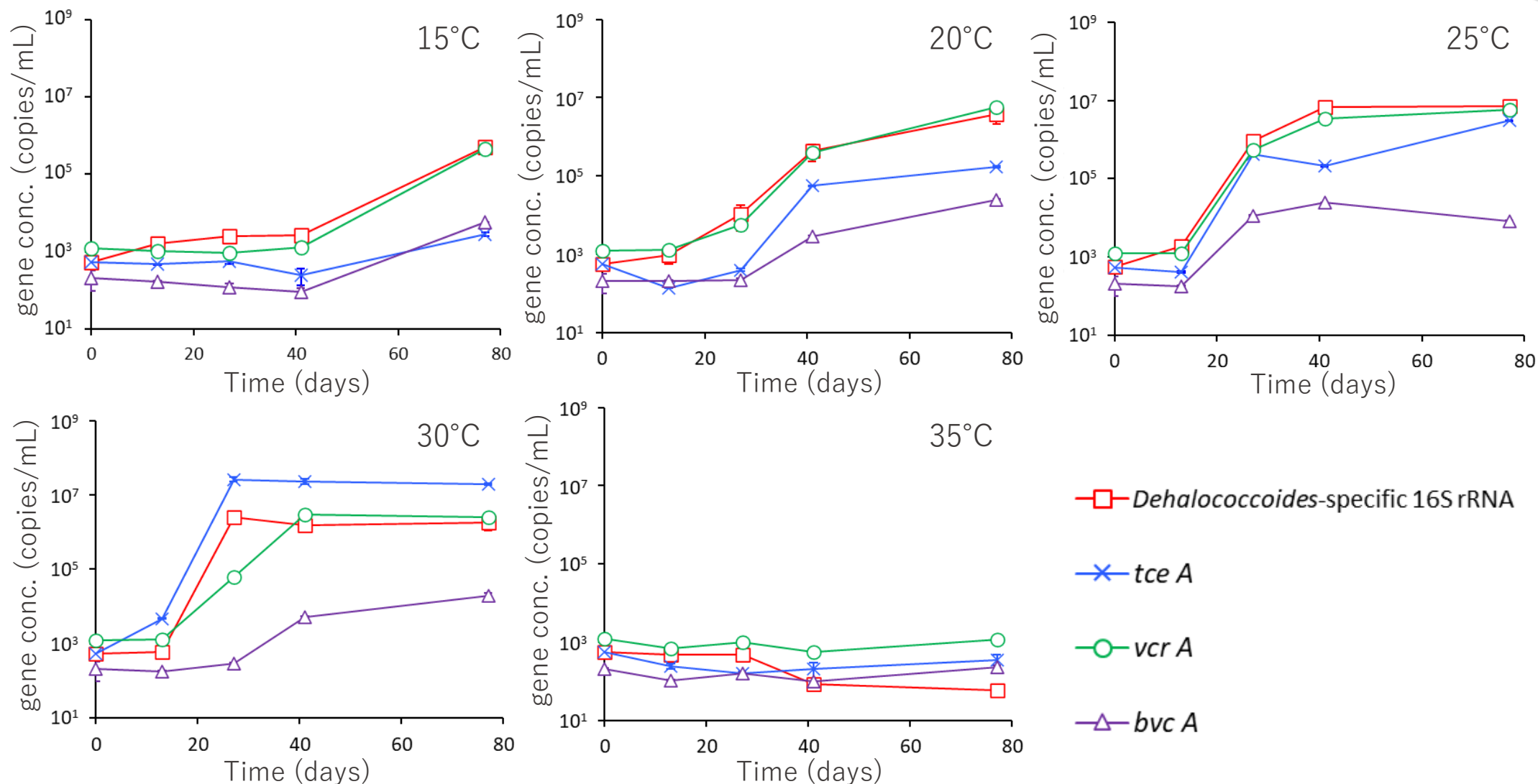
◆培養条件

PCE、TCE、*cis*-1,2-DCEを各10 mg/Lとなるよう添加、
15℃、20℃、25℃、30℃または35℃の恒温槽で静置培養（嫌気）

温度が嫌気性バイオレメディエーション下の**PCEの逐次脱塩素化および
関連微生物に及ぼす影響を評価**

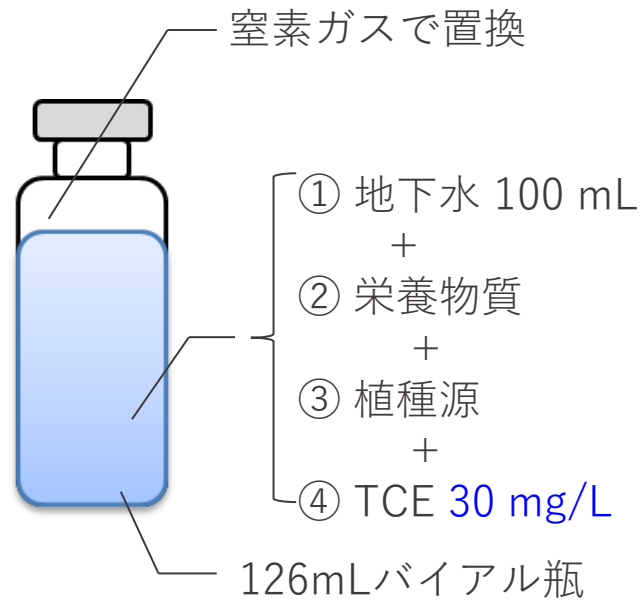


- 全てのクロロエチレン類の脱塩素化が完了するまでの**至適温度は25°C**
- 一方、各クロロエチレン類の脱塩素化の最適温度は、PCEおよびTCEでは**25°C~35°C**、*cis*-1,2-DCEでは**25°C~30°C**、VCでは**25°C**と異なる



***cis*-1,2-DCE、VC脱塩素化にVC還元酵素遺伝子を持つ*Dehalococcoides*が関与
⇒温度に対する応答が異なる複数の脱塩素微生物がPCEの段階的な脱塩素化に関わる**

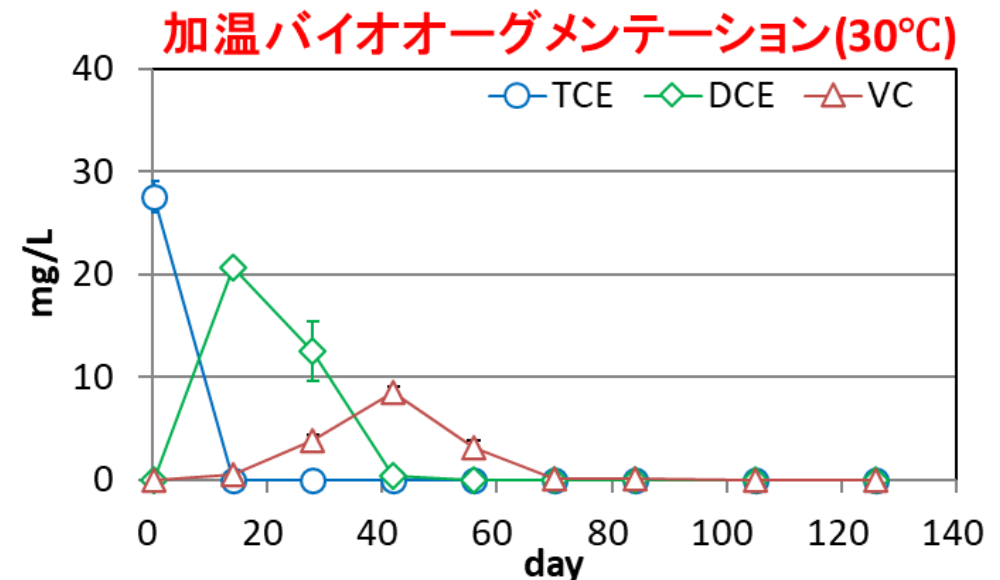
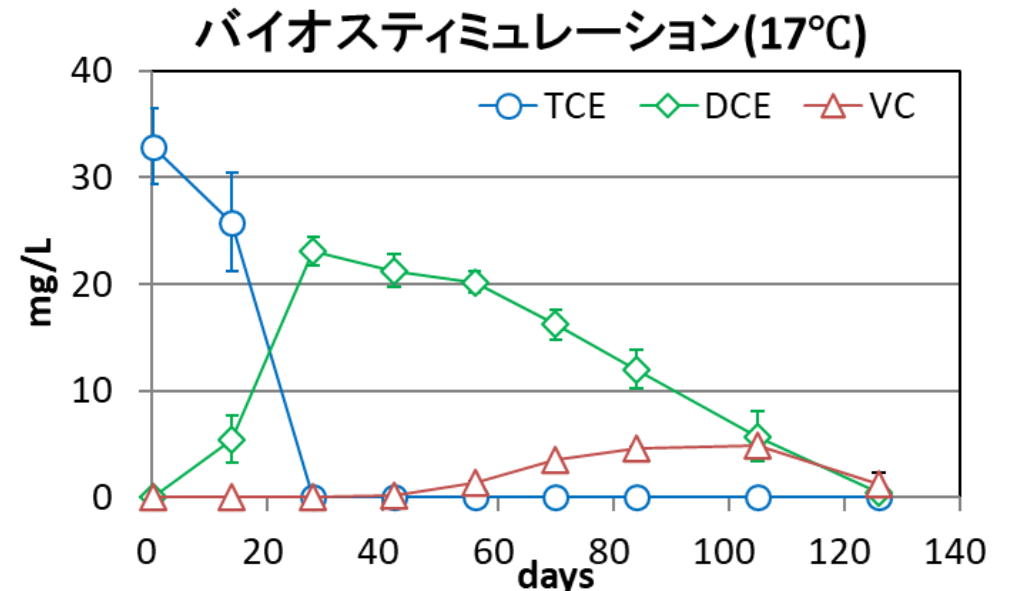
◆試験系



◆条件

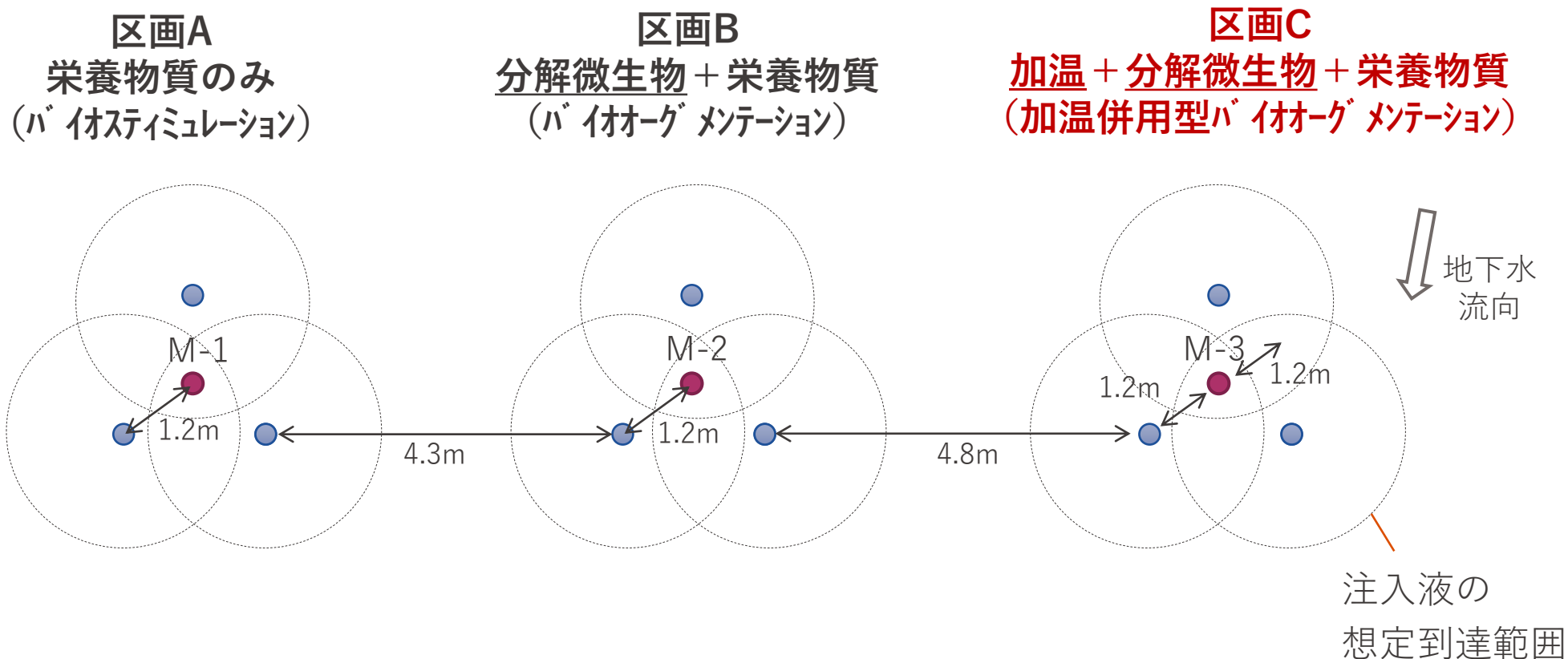
- ・ 植種源
オーグメンテーション系に
Dehalococcoides mccartyi NIT01株を導入
- ・ 培養条件
17℃、30℃の恒温槽で嫌氣的に静置培養

◆試験結果



15℃は126日で分解完了せず、**30℃ + NIT01株**では**70日**で環境基準付近まで低減

— 4. 実汚染サイトでの検証 実施計画

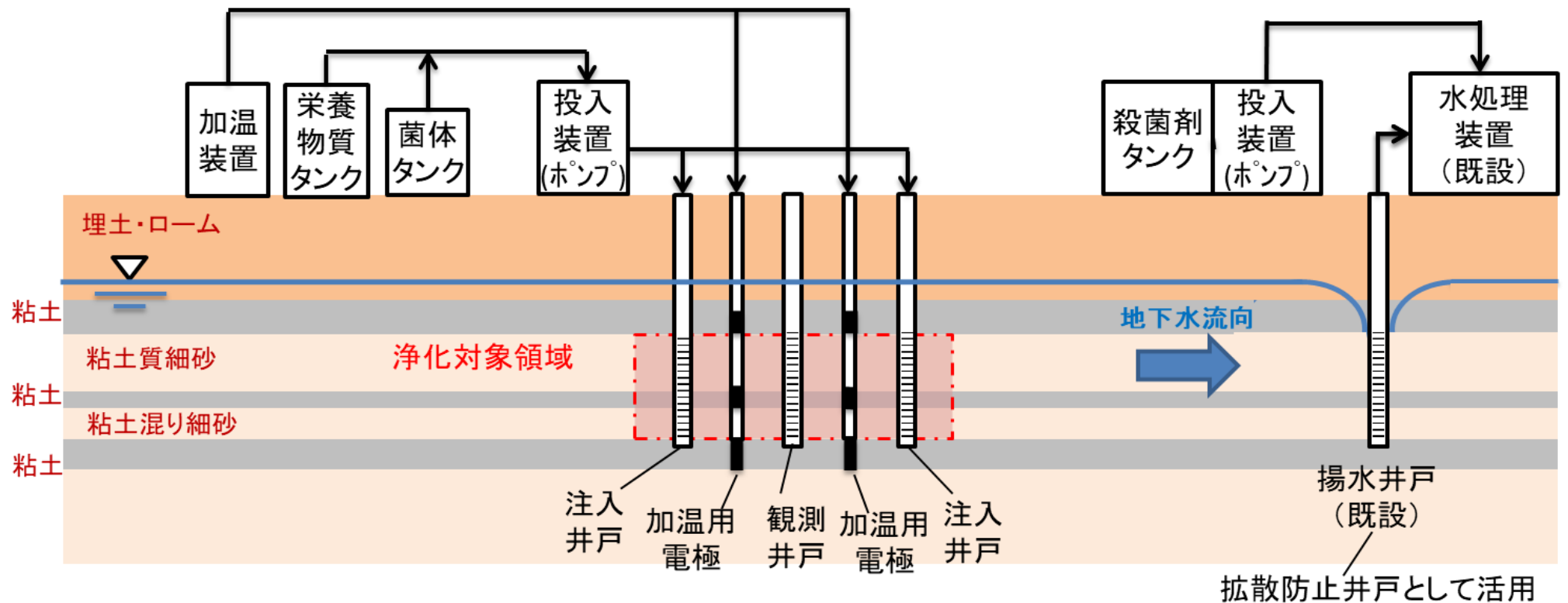
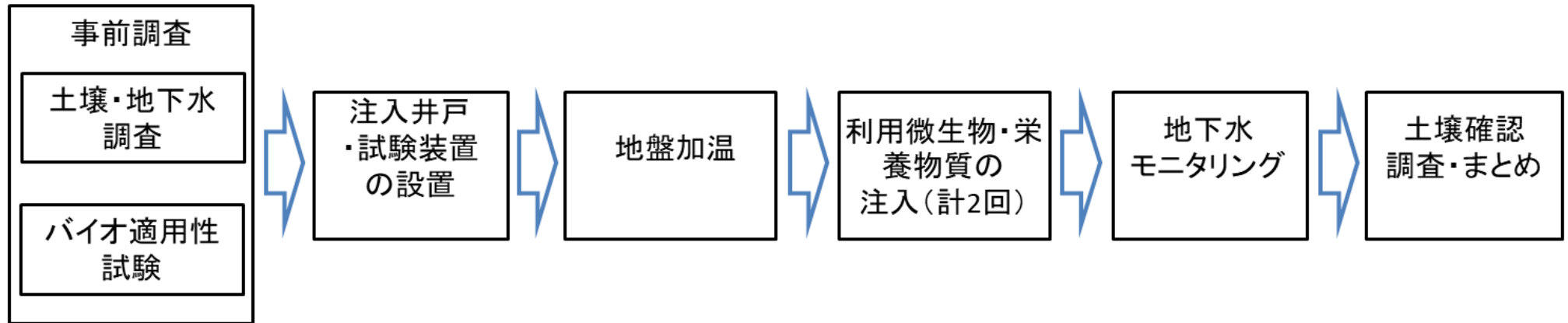


凡例

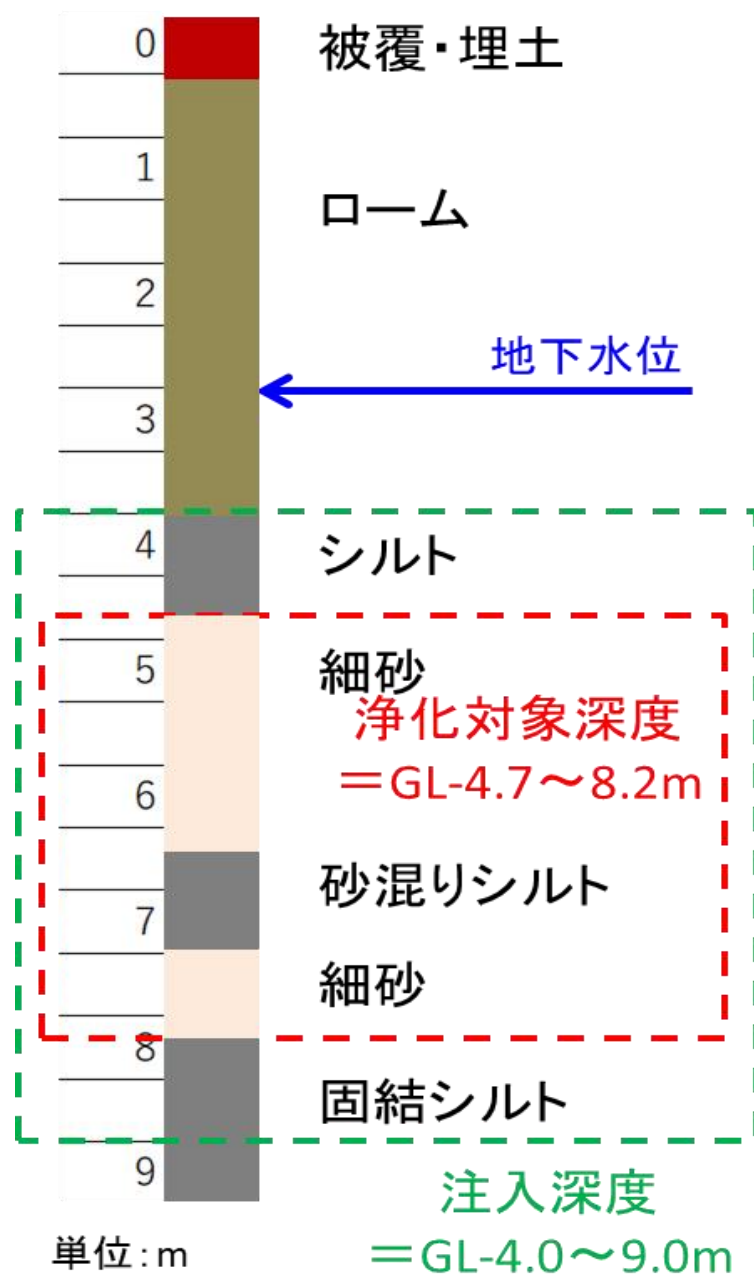
- 注入井戸
- 観測井戸
- 加温用電極



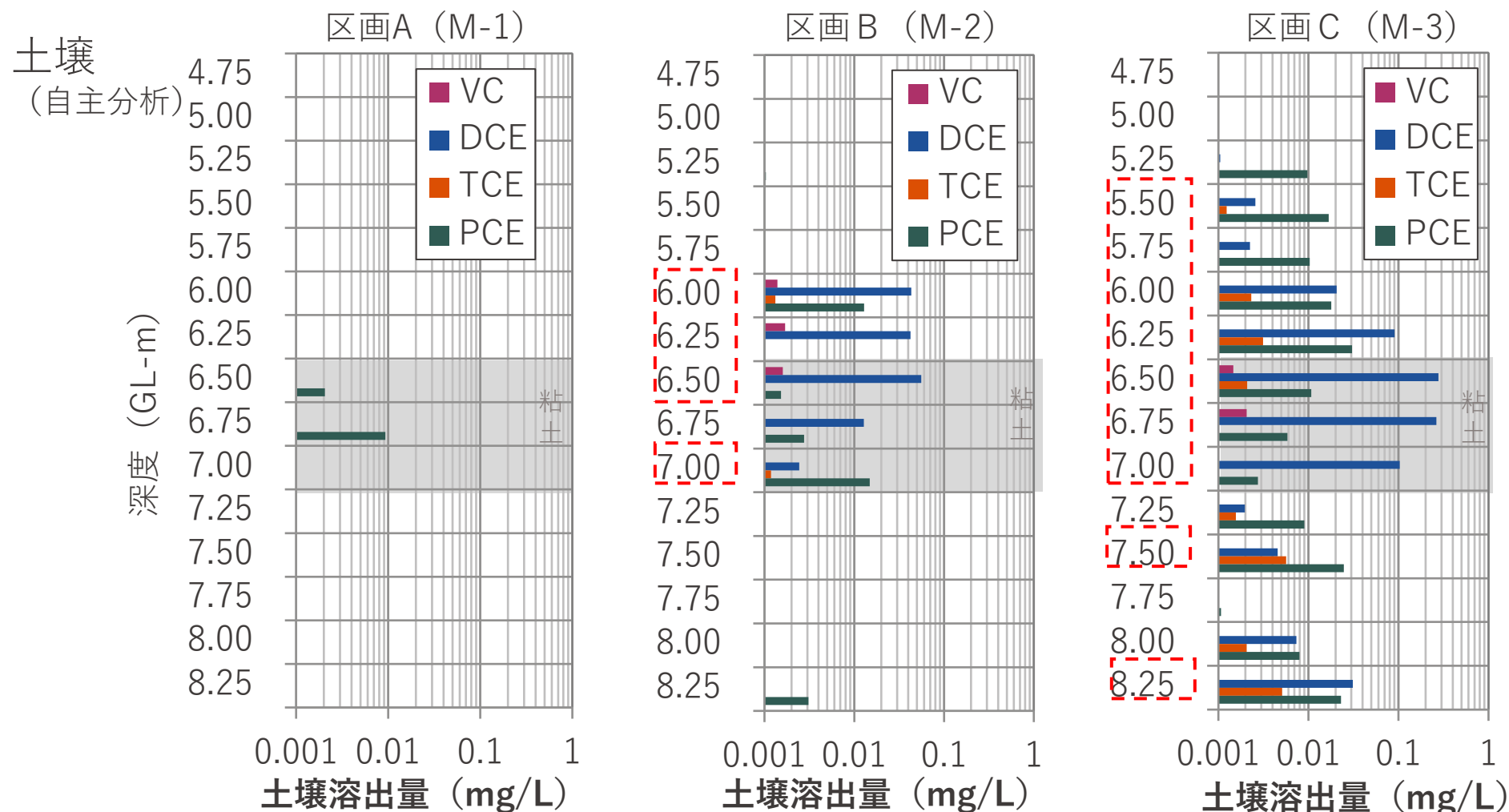
- ・ **クロロエチレン類**による地下水汚染
- ・ 地盤加温、分解微生物投入の効果を評価するため **3つの試験区**を設定
- ・ 地盤の加温は**電気発熱法**で実施
- ・ 分解微生物NIT01株を**井戸より注入**



土質断面模式図



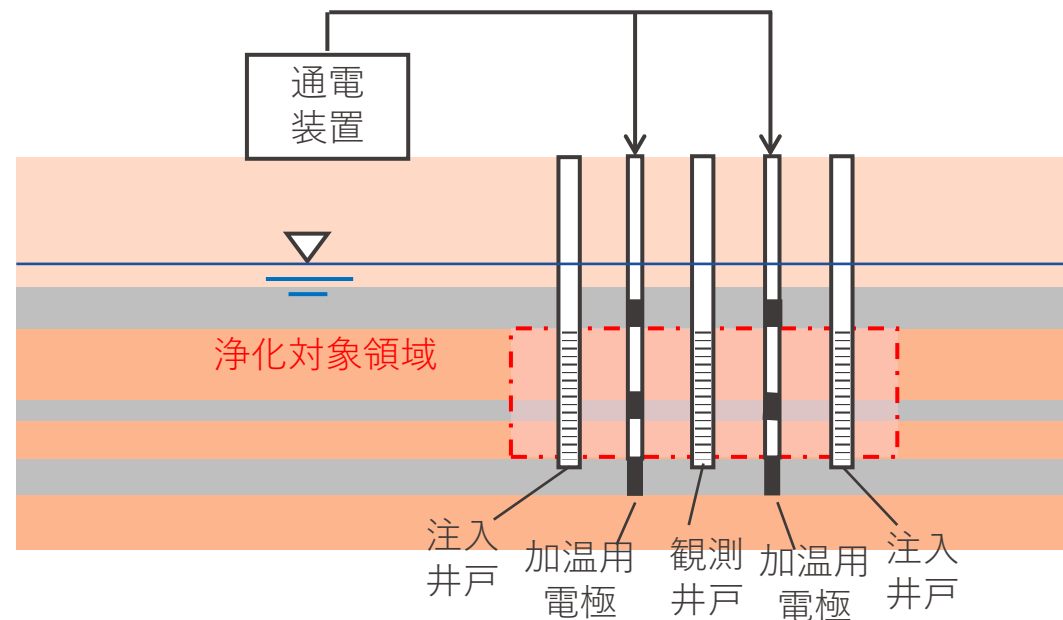
※赤枠：基準超過
※分析は公定法準拠



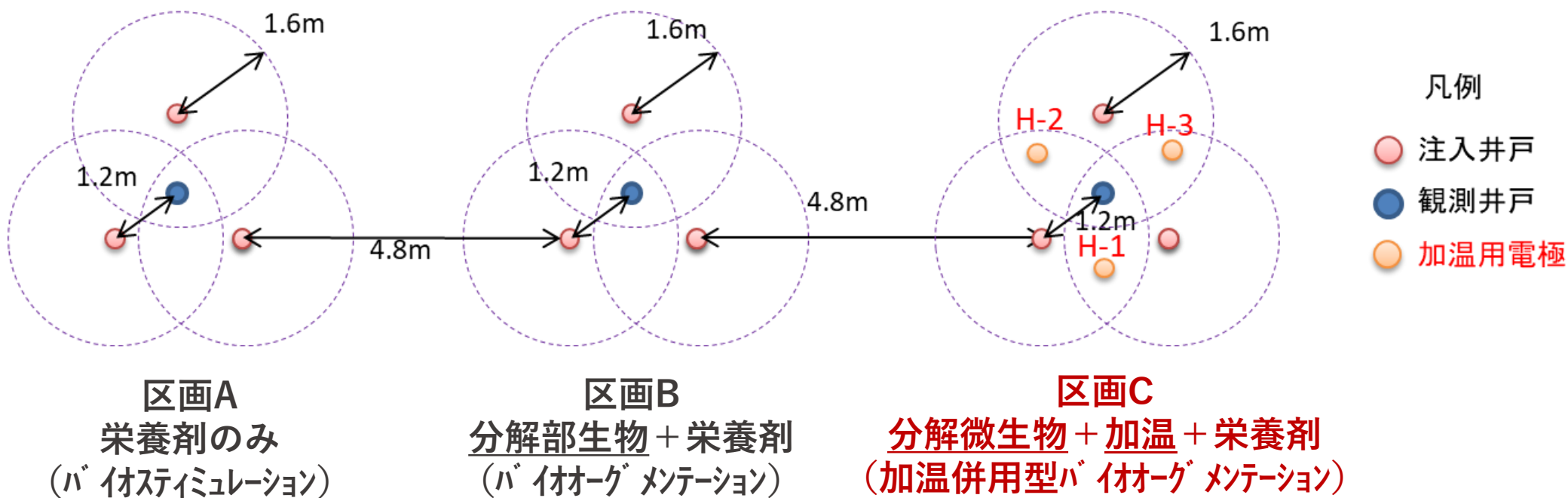
地下水
(公定分析)
(単位：mg/L)

	区画A (M-1)	区画B (M-2)	区画C (M-3)	地下水環境基準
VC	0.002	0.048	0.32	0.002
DCE	0.013	0.34	1.9	0.04
TCE	0.007	0.2	0.46	0.01
PCE	0.044	1.1	1.2	0.01

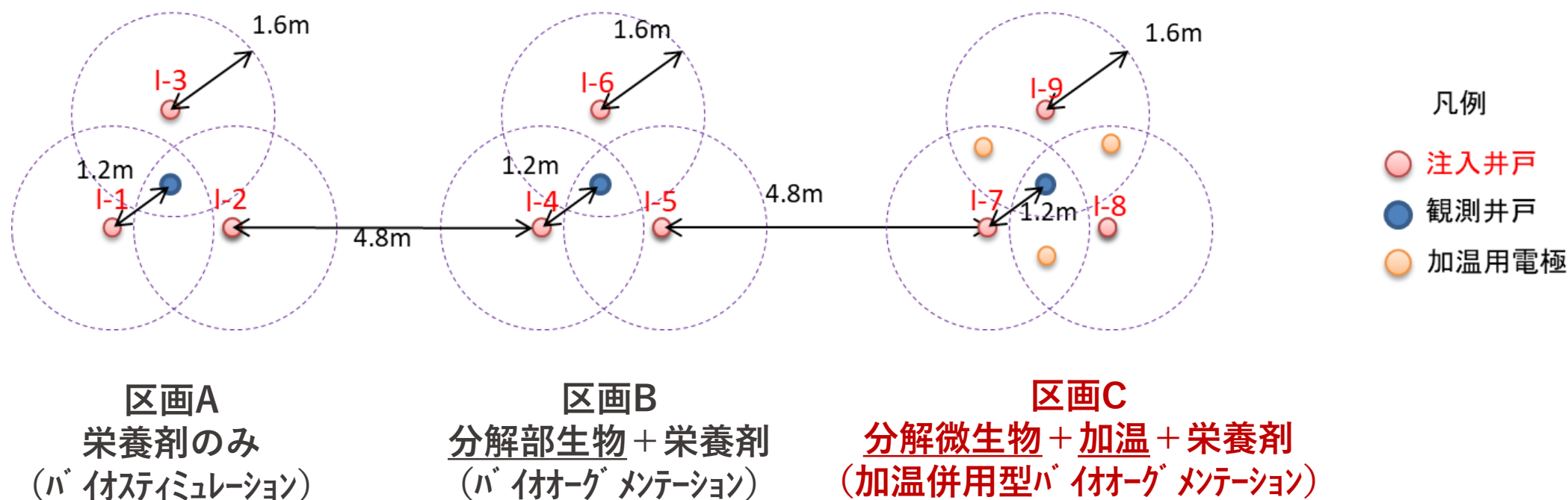
対象土層の**透水性が低い**ため、**電気抵抗加熱**を用いて断続的に地盤加温
 加温する区画Cの3本の電極に印加し、
 粘性土から**クロロエチレン類**の溶出が促進
 される**50℃以上**まで地盤を加温



地盤加温工の概要図

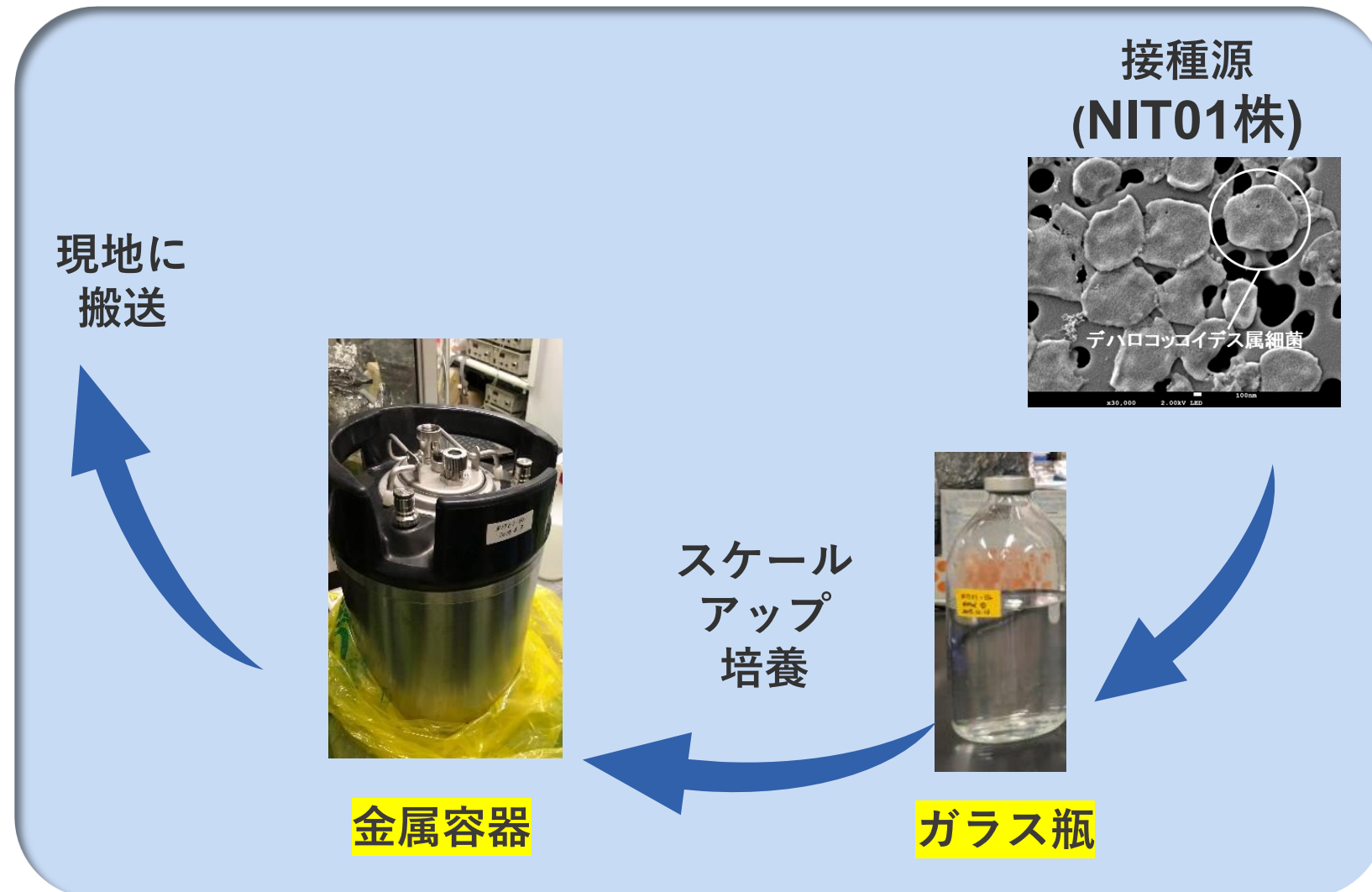


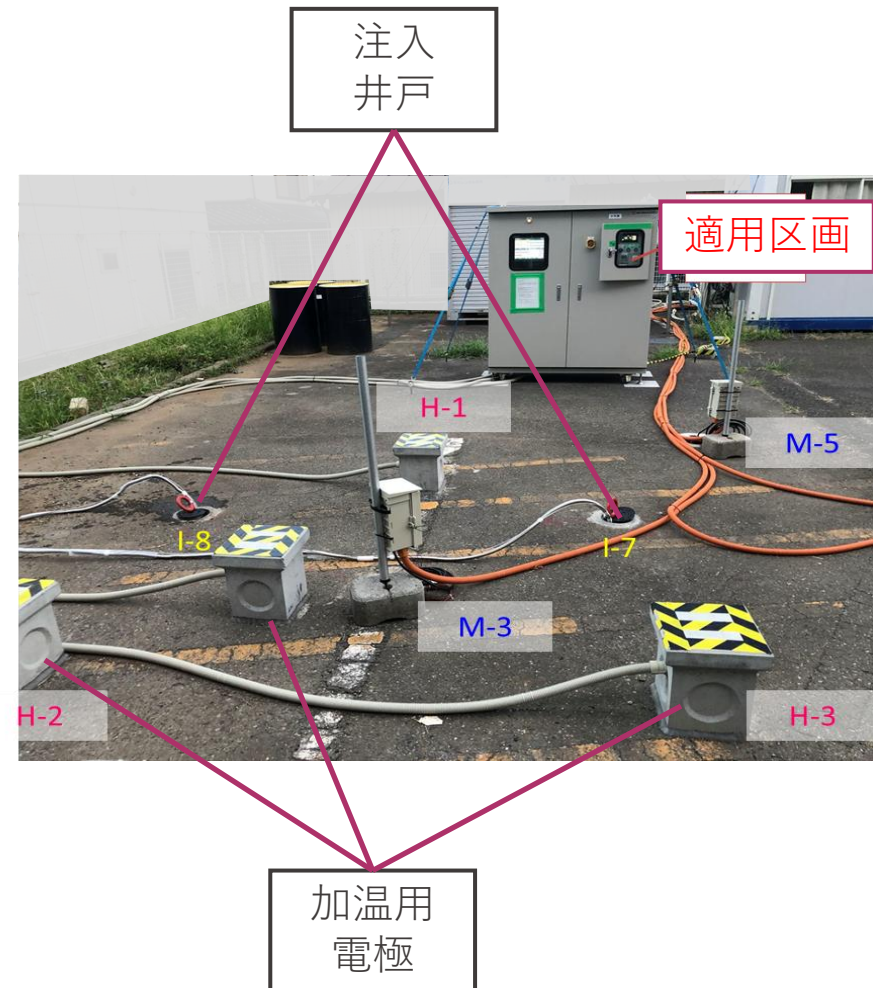
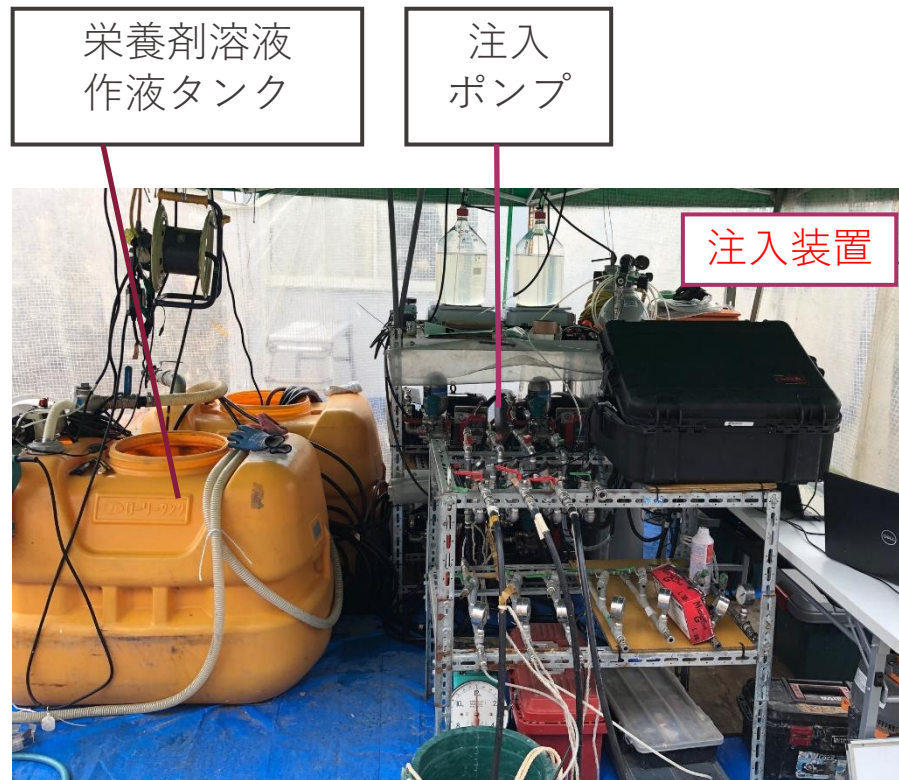
- ・ 分解微生物・栄養物質の注入は**2回**に分けて実施
- ・ *Dehalococcoides mccartyi* NIT01株を **1×10^7 cells/mL**以上の菌体濃度に培養して用いた
- ・ 提案技術の**区画C**ではバイオ浄化時に**30°C**付近の地盤温度に維持



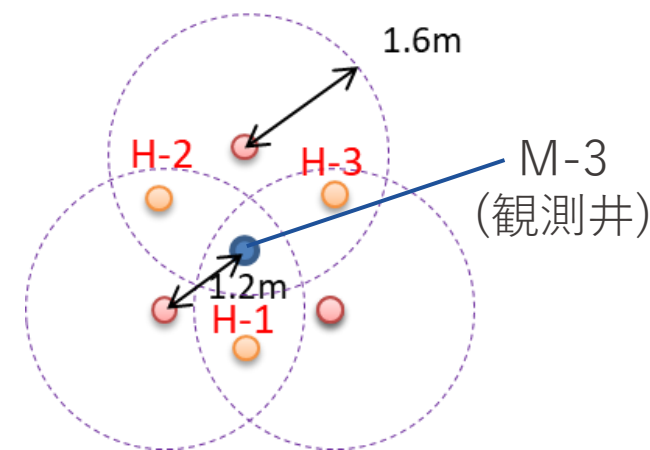
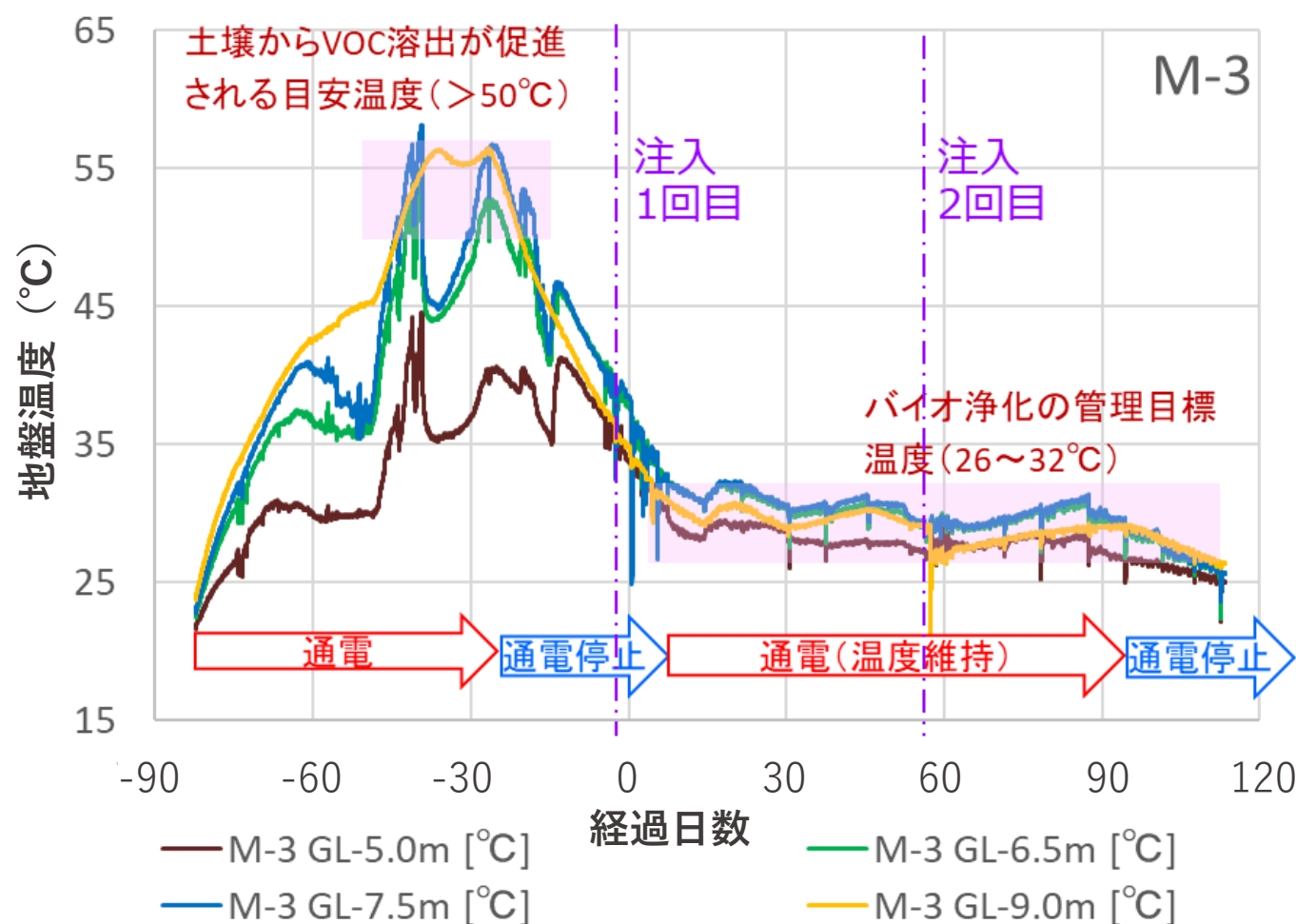
作業	井戸No.
栄養物質注入	I-1～I-9
分解微生物注入	I-4～I-9

接種源の分解微生物をオフサイトでスケールアップ培養し、
金属容器に充填した状態で現地に搬入して地盤に注入した





— 5. 実汚染サイトでの検証 実施結果



区画C
 分解微生物 + 加温 + 栄養剤
 (加温併用型バイオオーグメンテーション)

凡例

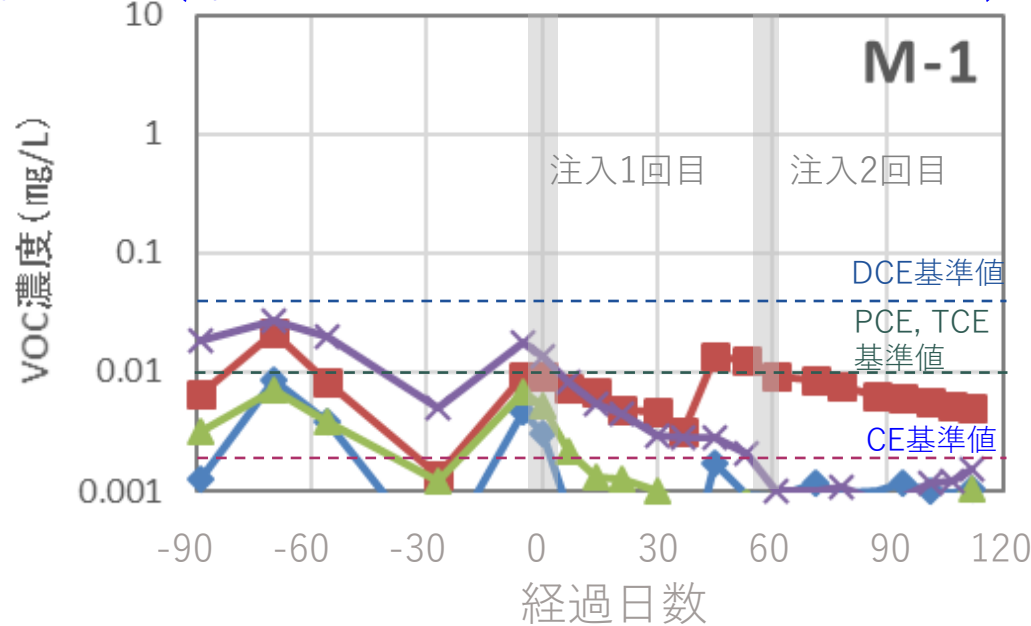
● 注入井戸

● 観測井戸

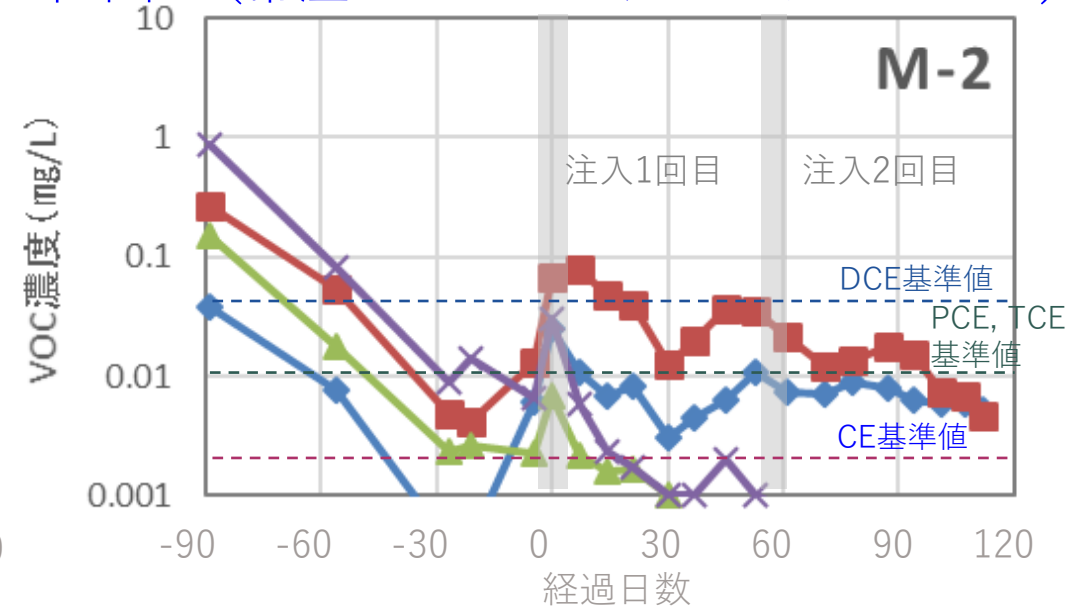
● 加温用電極

- ・ 区画C（加温バイオオーグメンテーション）は粘性土からのVOC溶出が促進される50°C以上まで**加温**、その後バイオ浄化に適した**30°C付近まで降温したタイミング**で分解微生物・栄養剤を注入
- ・ 区画A、B（非加温区画）の期間中の温度上昇は1~2°C

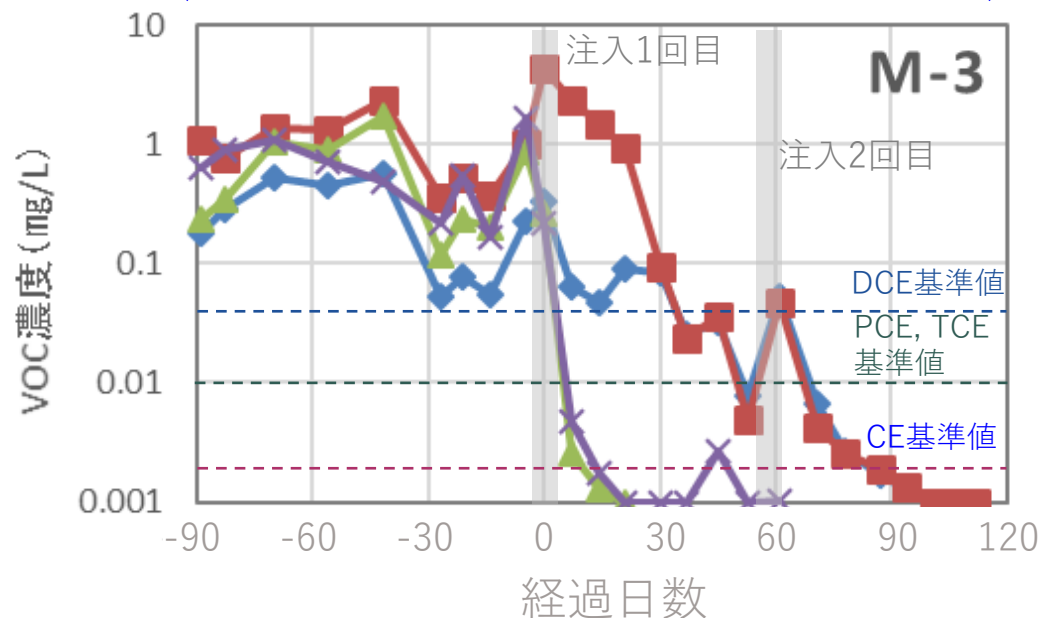
区画A（常温バイオスティミュレーション）



区画B（常温バイオオーグメンテーション）



区画C（加温バイオオーグメンテーション）



凡例

✕ PCE ▲ TCE ■ DCE ◆ CE
 テトラクロエチレン トリクロエチレン ジクロエチレン クロロエチレン

■ 区画C（加温バイオオーグメンテーション）

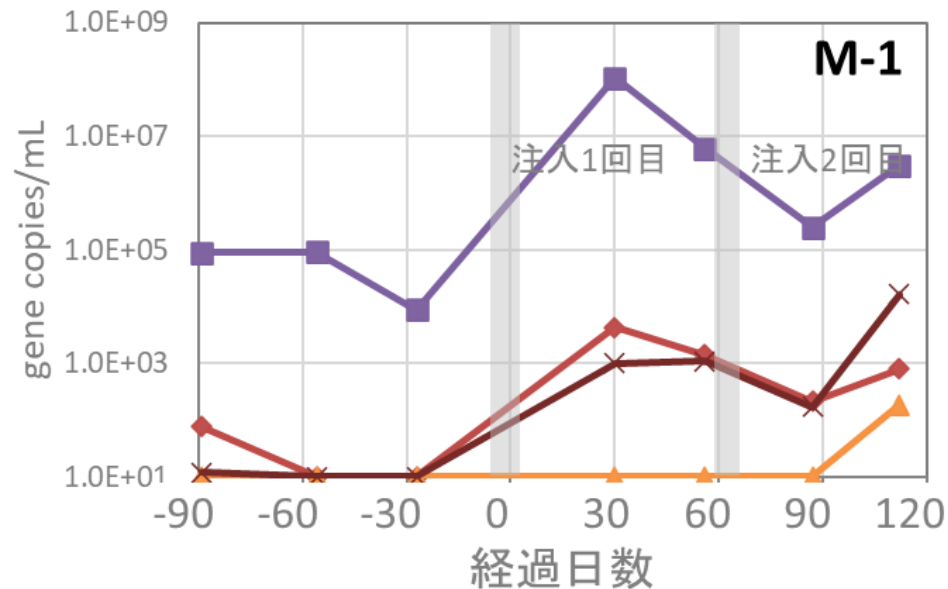
- ・加温開始後に地下水VOC濃度が上昇
- ・基準の40倍～160倍のクロロエチレン類濃度が分解微生物注入**91日後に地下水環境基準未満**に減少

	区画A 常温バイオスティミュレーション		区画B 常温バイオオーグメンテーション		区画C 加温バイオオーグメンテーション		基準値
	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時	
PCE	0.044	0.002	1.1	<0.001	1.2	<0.001	0.01
TCE	0.007	<0.003	0.2	<0.003	0.46	<0.003	0.01
DCE	0.013	0.012	0.34	0.008	1.9	<0.004	0.04
CE	0.002	0.0023	0.048	0.0082	0.32	0.0003	0.002

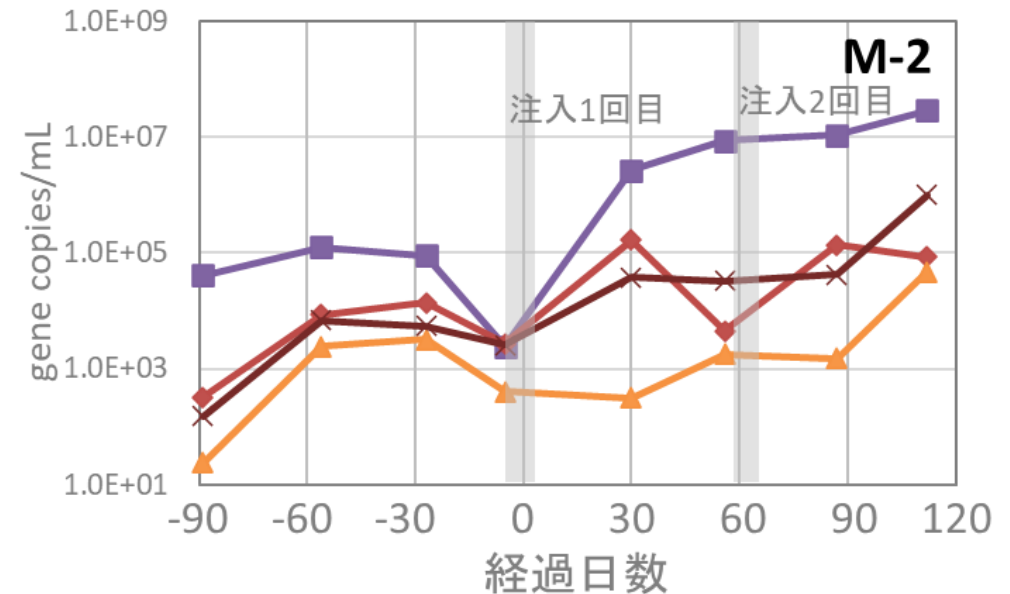
※単位：mg/L、赤字：基準超過

本技術（加温併用型バイオオーグメンテーション）の区画Cでは
40倍～160倍程度の濃度のクロロエチレン類を全て地下水環境基準未満まで濃度低減

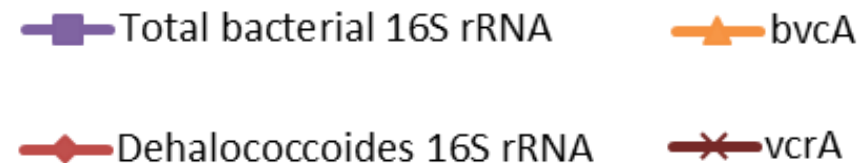
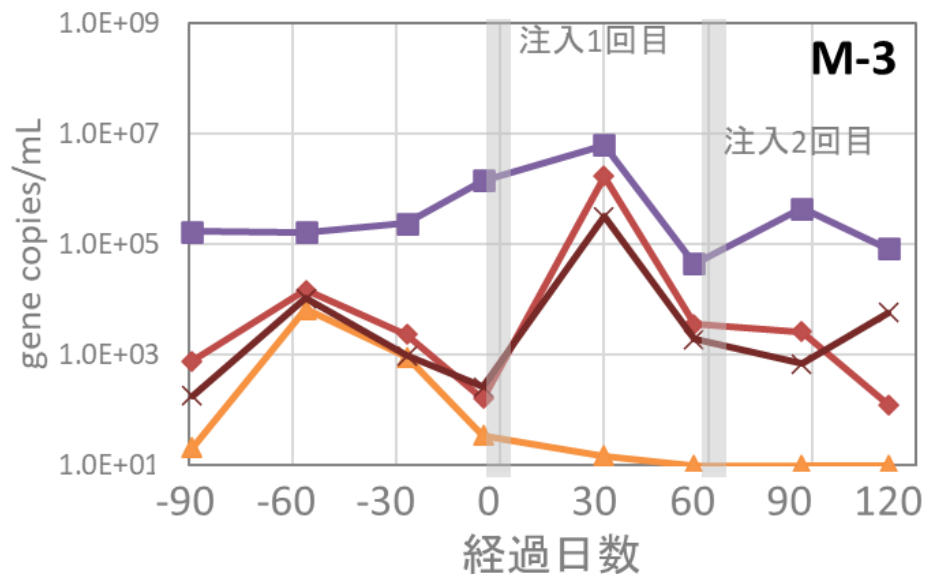
区画A（常温バイオスティミュレーション）



区画B（常温バイオオーグメンテーション）



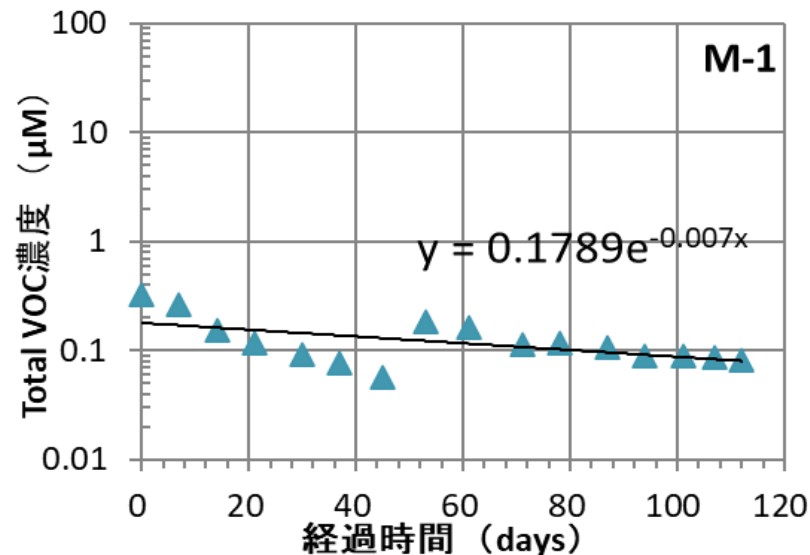
区画C（加温バイオオーグメンテーション）



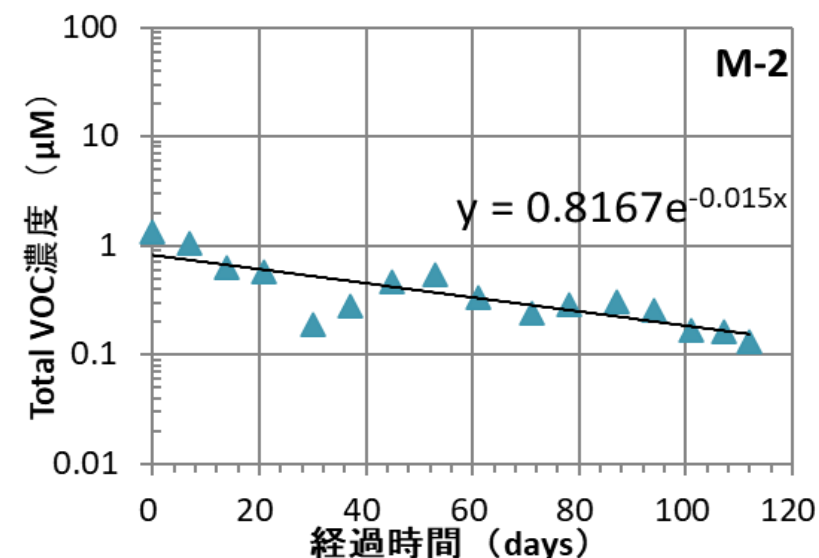
- 1回目注入後に *Dehalococcoides* 属細菌及びクロロエチレン分解酵素遺伝子 (*vcrA*) が増加
- 上記の遺伝子を持つNIT01株を注入したオーグメンテーション区画B、Cで特に大きく増加

分解微生物（栄養物質）投入後の各クロロエチレン類のモル数の合計（Total VOC）の減少速度を一次分解速度定数 λ にて比較

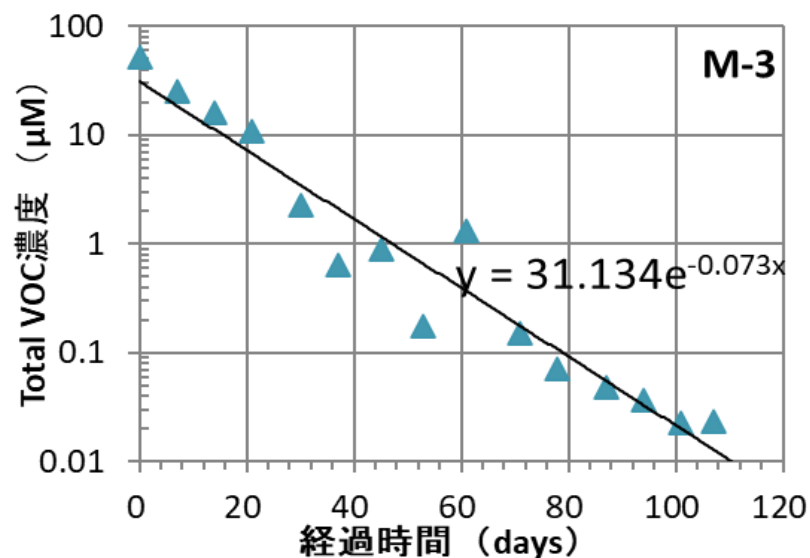
区画A（常温バイオスティミュレーション）



区画B（常温バイオオーグメンテーション）



区画C（加温バイオオーグメンテーション）



	M-1 (区画A)	M-2 (区画B)	M-3 (区画C)
Total VOC 分解速度定数 λ (1/day)	0.007	0.015	0.073

加温併用型バイオオーグメンテーションの実施区画で最も高い分解速度を示した

区画C（加温併用型バイオオーグメンテーション）の試験前後の土壌溶出量

	開始前				加温後、分解微生物 注入前				終了時			
深度 GL-	VC	DCE	TCE	PCE	VC	DCE	TCE	PCE	VC	DCE	TCE	PCE
	mg/L				mg/L				mg/L			
3 m	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001
4 m	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001
5 m	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	<0.004	<0.003	0.006	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001
6 m	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001	<0.0002	0.014	<0.003	0.005	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001
7 m	0.0007	0.12	<0.003	0.007	0.0027	0.36	<0.003	0.015	0.042	0.25	<0.003	<0.001
8 m	<0.0002	<0.004	<0.003	0.001	<0.0002	0.004	<0.003	0.002	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001
9 m	<0.0002	0.015	<0.003	0.029	<0.0002	0.014	<0.003	0.011	<0.0002	<0.004	<0.003	<0.001

※区画A、区画Bは公定分析で土壌溶出量基準超過なし

- ・粘土層部（GL-7m）ではPCEの分解とDCE、VCの濃度上昇が見られ、部分的な脱塩素化は進行していると考えられたが、施工期間内（4か月）には浄化が完了しなかった
- ・粘土層において汚染が残留。栄養物質・分解微生物を到達させる施工方法に改善必要

本技術を適用した際の生態系影響を**潜在的な病原微生物**の観点で評価

■病原微生物の解析方法

方法①

試験で得られた地下水より抽出したDNAの配列情報から、NITEが保有する病原性微生物（BSLデータベース2012年版）に一致するものを照合

方法②

試験で得られた配列情報をNCBIの16S rRNA遺伝子のデータベースに対してBLAST検索して同定を行った後、NITEの微生物有害情報リストと対合

■解析結果

方法①

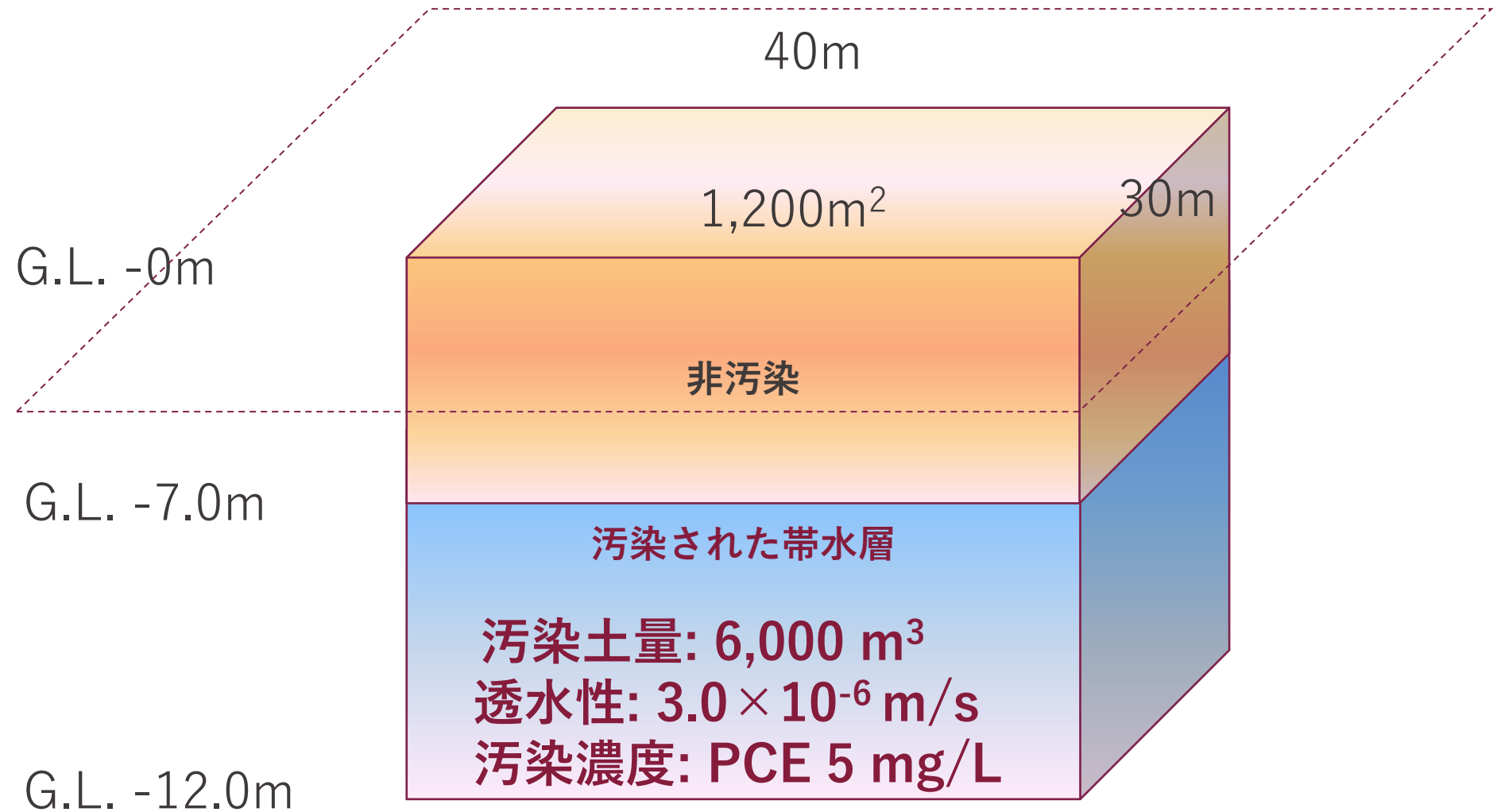
109 OTUがBSL1*以上の種に一致。一方でいずれも対照区で検出されるか、試験中に検出されても次の採取日では検出されず

方法②

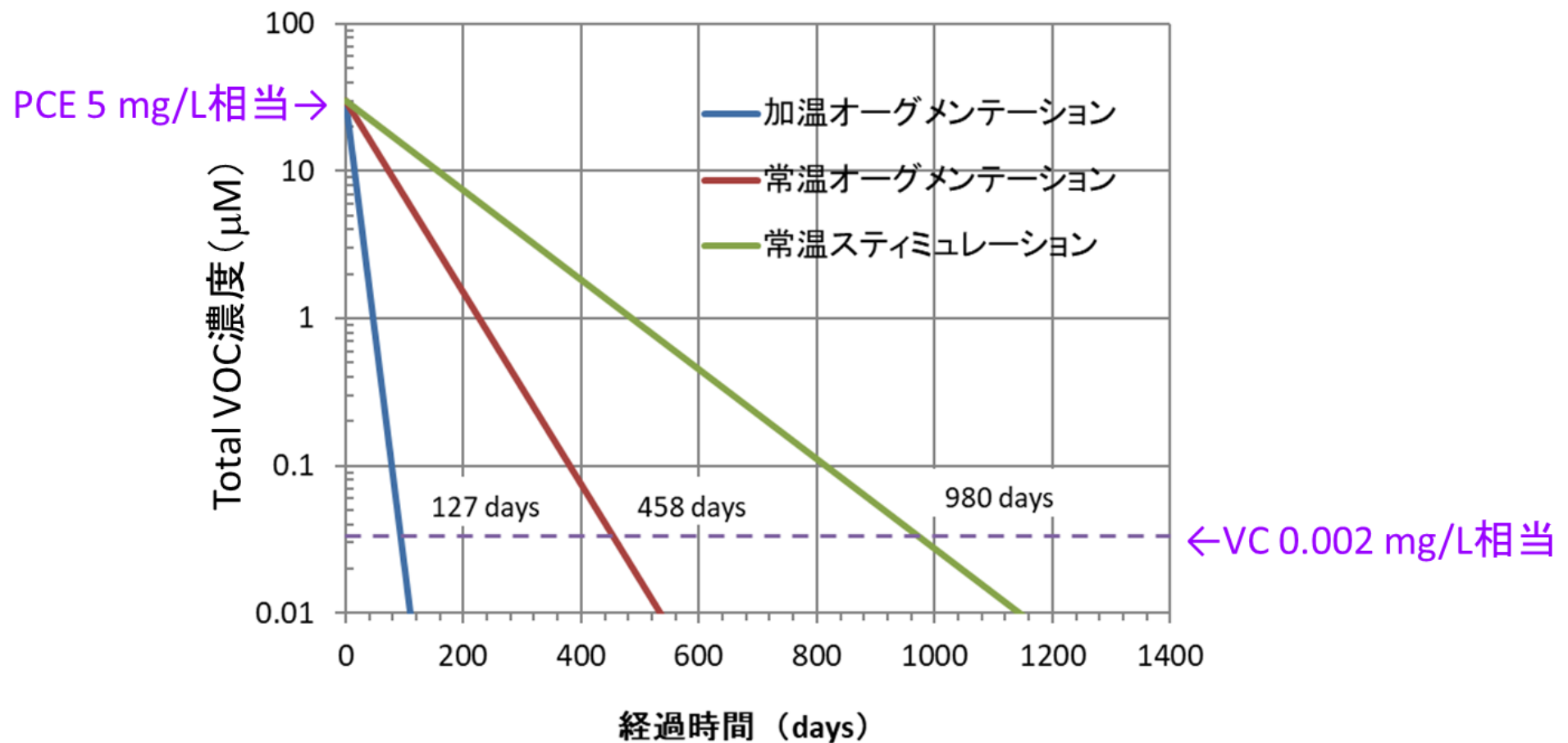
49 OTUがBSL1*以上の種と一致。方法1と同様に特定の病原性微生物の増加や定着は確認されなかった

加温併用型バイオオーグメンテーションの実サイト適用時に
病原性リスクの上昇の兆候は見られず

— 6. モデルサイトでの効果の試算

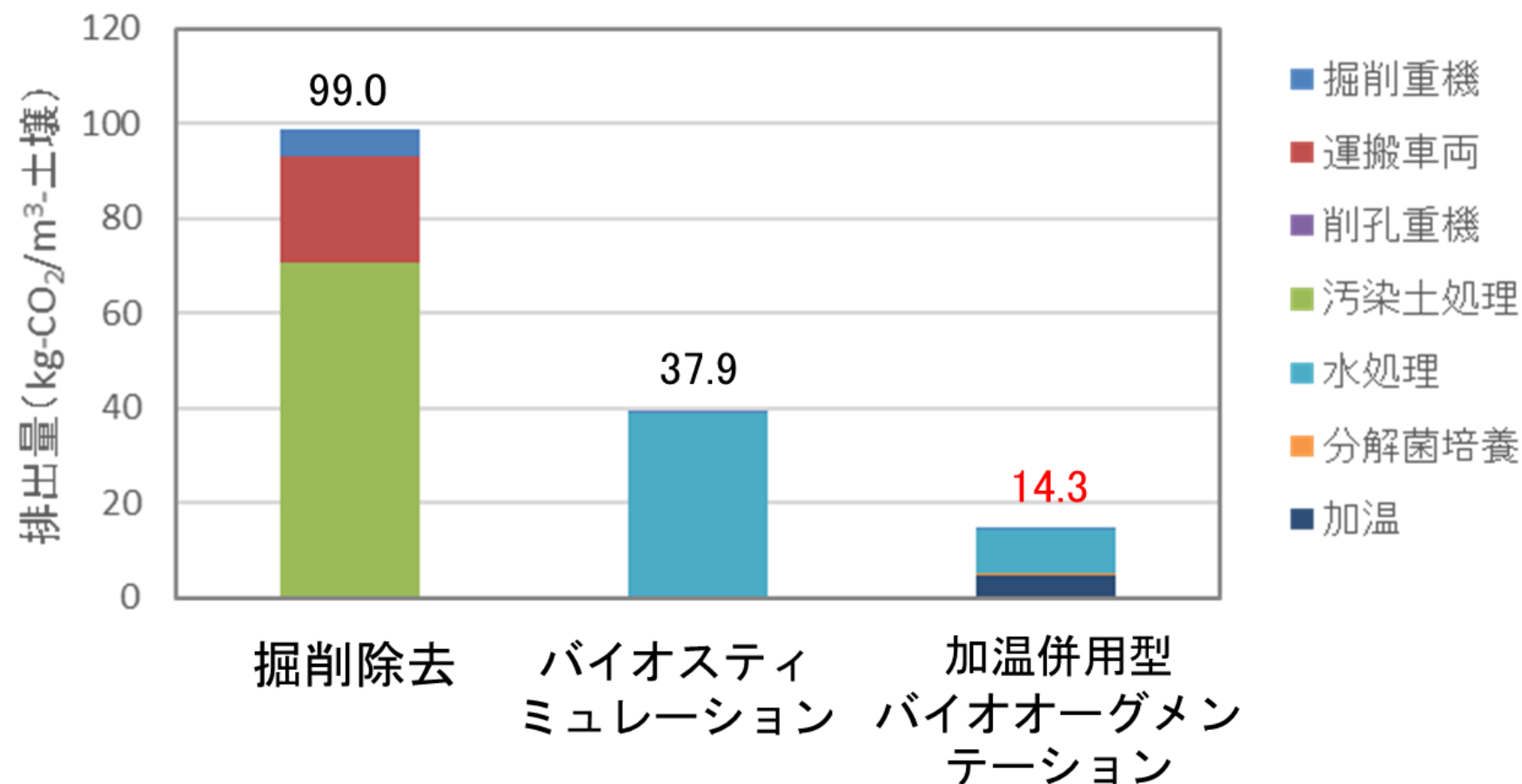


実汚染地の適用例で得られた一次分解速度定数より、PCE 5mg/Lを地下水環境基準未満まで浄化するのに要する期間を試算



加温併用型バイオオーグメンテーションにより浄化に要する期間が大幅に短縮される可能性

各工法ごとの電気、燃料等の使用量からCO₂排出量を、モデルサイトにおける各工法のコストをそれぞれ試算



- ・ 加温併用型バイオオーグメンテーションのCO₂排出量： **14.3 kg-CO₂/m³-土壌**
⇒ バイオスティミュレーション比 **62%削減**、掘削除去比 **85%削減**
- ・ 浄化コストについては掘削除去比**65%削減**と評価

- 汚染土壌および地下水のバイオレメディエーションにおいて、**加温・分解菌添加によりクロロエチレン類の脱塩素化が効率的に進行**
- VOC汚染サイトにおいて加温併用型バイオオーグメンテーションの原位置浄化を実施し、非加温の試験区よりも浄化期間が短縮
- モデル汚染サイトにおける試算にて加温およびバイオオーグメンテーションは既存浄化技術と比較して**CO₂排出量、対策費用**を抑えながら**浄化期間が短縮可能**と評価
- 本技術は**既存建物の操業中、あるいは新築建物を運用しながらの浄化でも適用可能**であり、計画的な土壌対策で円滑な土地利用が実現可能

想いをかたちに 未来へつなぐ



【謝辞】

本研究の一部は、NEDOの戦略的省エネルギー技術革新プログラム、及び環境省の低コスト・低負荷型土壌汚染調査対策技術検討調査の助成を受けて実施したものです。ここに記し謝意を表します