

愛知土壤・地下水汚染対策研究会

1,4-ジオキサンの微生物分解と 地下水浄化適用の可能性

平成28年6月1日

大成建設(株) 技術センター
齋藤 祐二

1

研究開発体制

平成24年度環境研究総合推進費

1,4-ジオキサン汚染地下水の生物浄化可能性の評価診断ツールの開発と浄化戦略の実証(課題番号 5B-1201)(平成24-26年度)

研究代表者: 池 道彦教授(大阪大学)

サブテーマ(1) 担当:大阪大学(池 道彦)

1,4-ジオキサン汚染地下水の各種バイオレメディエーション技術の基盤の確立

サブテーマ(2) 担当:北里大学(清 和成・井上大介)

汚染サイトに適したバイオレメディエーション技術の選択に資する診断ツールの開発

サブテーマ(3) 担当:大成建設(齋藤祐二・山本哲史)

実証サイトにおける診断ツールとバイオレメディエーション技術の有効性の検証

2

発表内容

- 1,4-ジオキサンの特徴と規制
- 1,4-ジオキサンの生分解
- 実汚染地下水浄化の実証事例

3

1,4-ジオキサンの特徴と規制

4

1,4-ジオキサンとは ー物性ー

CAS番号	123-91-1	
別名	P-ジオキサン、酸化ジエチレン、エチレングリコールエチレンエーテル	
分子式/分子量	C ₄ H ₈ O ₂ / 88.10	
融点/沸点	11.8°C / 101.1°C	
溶解性	水及びアルコール、エーテル、ベンゼンなどの有機溶媒に対して任意に混和(溶解度∞)	水溶性が高い 揮発性が低い 固形物に吸着しにくい 光分解性がない 加水分解を受けない 生物分解性が低い
比重	1.0329 g/mL (20°C)	
蒸気密度	3.03 (空気 = 1)	
土壤吸着定数 (K _{oc})	1.23	
オクタノール/水分配係数 (Log K _{ow})	-0.42 ~ -0.27	
蒸気圧	4.01 x 10 ³ Pa (20°C) 4.95 x 10 ³ Pa (25°C) 6.68 x 10 ³ Pa (30°C)	水環境中に残留しやすい
ヘンリー定数	4.88 x 10 ⁻⁶ atm m ³ /mol	

5

1,4-ジオキサンとは ー用途・発生源ー

業種	用途
化学工業	塩素系溶剤の安定剤、抽出・反応用溶剤(動・植物性油脂の抽出、パルプ化、ワックス、ニス、ラッカー、接着剤、保湿剤、ゴム・プラスチック等の樹脂)
医薬品製造業	抽出・反応用溶剤(医薬品、化粧品、除草剤、殺虫剤、脱臭くん蒸剤)
繊維工業	溶剤、試薬
一般機械器具製造業	溶剤、洗浄用溶剤

年間製造・輸入量は、6,000~7,000 t 程度

排出源	原因工程・過程
重合過程の副生成	エトキシ化反応(エチレンオキシドの重合反応: PET製造工程など)
界面活性剤生産/使用	アルキルエーテルサルフェイト(AES)中に副生成物として混入

6

1,4-ジオキサンとは ー毒性ー

(Argus *et al.*, 1973; Pawar *et al.*, 1978; Kitchin *et al.*, 1990)

	マウス	ラット	ウサギ
経口LD ₅₀	5,700 mg/kg	5,170-7,300 mg/kg	2,000 mg/kg
吸入LD ₅₀	18,000 ppm/2h (6,500 mg/m ³ /2h)	12,780 ppm/2h (46,000 mg/m ³ /2h)	ND
経皮LD ₅₀	> 8,000 mg/kg	2,100 mg/kg	7,600 mg/kg

慢性毒性 (Kociba *et al.*, 1974)

6-8週齢のラットに対し、オス94 mg/kg/day、メス148 mg/kg/dayの濃度で2年間経口投与すると肝細胞変性・壊死、肝細胞過形成、尿細管上皮の変性・再生が認められた

発がん性

機関/出典	分類	分類基準
国際がん研究機構 (IARC) (2001)	グループB	ヒトに対して発がん性を示す可能性がある
アメリカ産業衛生専門家会議 (ACGIH) (2001)	—	ヒトへの発がん性として分類できない
日本産業衛生学会 (2001)	第2群B	ヒトに対しておそらく発がん性があると考えられるが、証拠が比較的十分でない
USEPA (2002)	グループB2	ヒトでは証拠が不十分もしくは証拠がないが、動物で十分な証拠があり、ヒトに対しておそらく発がん性を示す

1,4-ジオキサンとは ー規制ー

世界保健機関 (WHO):

平成15年 飲料水水質ガイドライン対象物質に指定
ガイドライン値 0.05 mg/L

日本:

平成16年4月 水道法に基づく水質基準項目に指定
基準値0.05 mg/L

平成21年11月 環境基本法に基づく水質汚濁に係る環境基準のうち、人の健康の保護に関する環境基準項目に指定(健康項目)
基準値0.05 mg/L

環境基本法に基づく地下水の水質汚濁に係る環境基準項目に指定
基準値0.05 mg/L



平成24年5月 水質汚濁防止法施行令により、一律排水基準値0.5 mg/Lが設定

1,4-ジオキサンとは 一規制一

ただし、一部業種については**暫定基準**が設定されている

業種	暫定排水基準 (mg/L)	適用期間
感光性樹脂製造業	200	3年間 (H27.5.24まで)
エチレンオキサイド製造業及び エチレングリコール製造業	10	3年間 (H27.5.24まで)
ポリエチレンテレフタレート製造業	2	2年間 (H26.5.24まで)
下水道業	25	3年間 (H27.5.24まで)

感光性樹脂製造業、ポリエチレンテレフタレート製造業、下水道業：
一律排水基準に移行へ
エチレンオキサイド製造業及びエチレングリコール製造業：
暫定基準の延長(6 mg/L: 平成30年5月24日)

1,4-ジオキサンの生分解

10

競合技術との比較

原理	酸化分解	生物処理
方法	促進酸化法(O ₃ +H ₂ O ₂)	本技術
概要	酸化剤を併用することにより酸化分解する方法	1,4-ジオキサン分解菌を用いる方法
評価	性能安定性	還元性の水質の場合には酸化剤を多量に注入する必要がある。
	コスト	高価
	安全性	工場種によってはO ₃ 漏洩時のリスクがある。
	省エネ性	過大

11

1,4-ジオキサンの生分解の可能性

1,4-ジオキサンは一般的に生分解性に乏しいといわれるが...

	河川水 (4)	排水溝土 (6)	活性汚泥 (3)	一般土壌 (7)	計 (20)
完全分解	0	5	0	0	5
不完全な分解	0	0	1	0	1
有意な分解なし	4	1	2	7	14

初期1,4-ジオキサン濃度: 100 mg/L, Sei et al., 2010より

活性汚泥を含め**生分解性は低い**といえるが、1,4-ジオキサン分解菌の存在も報告されている

12

1,4-ジオキサンの生分解メカニズム

これまでに知られている1,4-ジオキサンの微生物分解

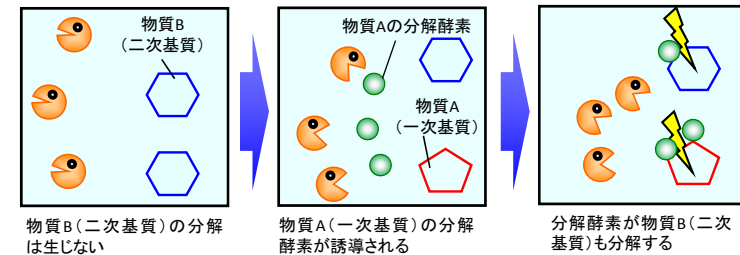
1. 代謝(資化)分解
 2. 共代謝分解
- の異なる2タイプの分解が報告されている

共代謝分解とは？

ある物質(一次基質)の分解酵素が他の物質(二次基質:ここでは1,4-ジオキサン)を分解する反応のこと。
 この場合、1,4-ジオキサンは一次基質の分解酵素を誘導しないため、1,4-ジオキサンのみが存在する場合はその効率的な分解は起こらない。
 共代謝分解は、一般的には一次基質の分解酵素の特異性が低いために生じるものであり、一次基質と二次基質の間では、分解阻害が起こることが多い。

3

共代謝分解のメカニズム



これまでに知られている1,4-ジオキサン共代謝分解における一次基質

テトラヒドロフラン(Tetrahydrofuran: THF)、メタン、プロパン、トルエン

それぞれの基質のモノオキシゲナーゼが分解に関与していると考えられている (Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)



14

1,4-ジオキサン共代謝分解菌の特徴

共代謝分解

これまでに知られている1,4-ジオキサン共代謝分解菌

THFを一次基質とするもの

Pseudonocardia sp. K1 (Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

Aureobasidium pullmans (黒色酵母様菌) (Patt and Abebe, 1995)

メタンを一次基質とするもの

Methylosinus trichosporium OB3b (Oldenhuis *et al.*, 1989; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

プロパンを一次基質とするもの

Mycobacterium vaccae JOB5 (Smith *et al.*, 2003; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

トルエンを一次基質とするもの

Pseudonocardia sp. K1 (Thiemer *et al.*, 2003; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

Rhodococcus sp. RR1 (Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

Burkholderia cepacia G4 (Newman and Wackett, 1995; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

Ralstonia pickettii PKO1 (Fishman *et al.*, 2004; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

Pseudomonas mendocina KR1 (Yen *et al.*, 1991; Mahendra and Alvarez-Cohen, 2006)

15

1,4-ジオキサン資化分解菌

これまでに知られている1,4-ジオキサン資化分解菌

Rhodococcus ruber 219 (Burnhardt and Diekmann, 1991)

Pseudonocardia dioxanivorans CB1190 (Parales *et al.*, 1994)

Pseudonocardia benzenivorans B5 (Kämpfer and Kroppenstedt, 2004)

Mycobacterium sp. PH-06 (Kim *et al.*, 2009)



1,4-ジオキサンを唯一の炭素、エネルギー源として利用し、増殖できる

数は決して多くない

16

新たな1,4-ジオキサン資化分解菌の分離

生理的特徴	D1株	D6株	D11株	D17株
形態	桿状	桿状	桿状	桿状
コロニーの色	白色	白色	白色	白色
グラム染色	陰性	陽性	陽性	陽性
運動性	無	無	無	無
O-Fテスト	—	—	—	—
カタラーゼ活性	陽性	陽性	陽性	陽性
オキシダーゼ活性	陰性	陰性	陰性	陰性
16S rRNA遺伝子配列に基づく近縁種	<i>Afipia broomeae</i>	<i>Mycobacterium parafortuitum</i>	<i>Mycobacterium magertiense</i>	<i>Pseudonocardia benzenivorans</i> <i>Pseudonocardia dioxanivorans</i>
相同性	99.8%	98.8%	99.8%	99.8%

1,4-ジオキサン分解菌CB1190



放線菌に分類されるものが多い

17

1,4-ジオキサン資化分解の動力学的特性

菌株	細胞収率 γ (mg-protein/mg-dioxane)	最大比分解速度 V_m (mg-dioxane/mg-protein/h)
D1	0.185	0.263
D6	0.185	0.139
D11	0.179	0.052
D17	0.223	0.096
CB1190 ^(a)	N. D.	0.0198 ^(b)

(a); Parales et al., 1994

(b); 初期濃度500mg/Lにおける比分解速度

N.D. 測定せず

D1、D6、D11、D17株は既存の分解菌(CB1190)よりも高い1,4-ジオキサン分解能を示した

18

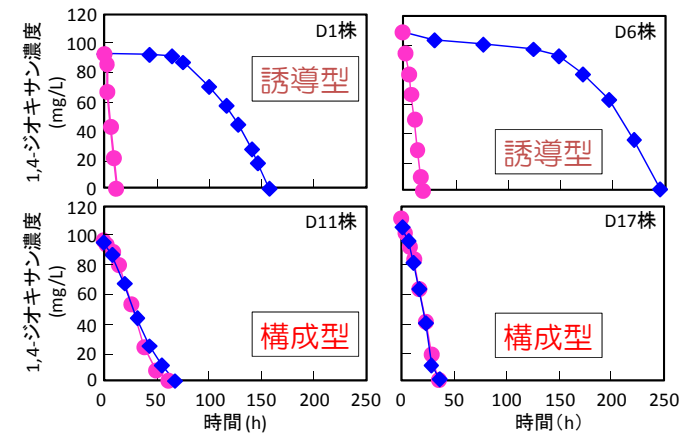
1,4-ジオキサン分解に及す環境影響

	pH	温度 (°C)	NaCl濃度 (wt%)
D1株	6.5 (5-10)	28 (15-35)	0.005 (0-3.5)
D6株	8.0 (5-10)	28 (15-35)	0.005 (0-3.5)
D11株	6.0 (5-9)	35 (15-40)	0.005 (0-3.5)
D17株	7.5 (5-9)	28 (15-45)	0.05 (0-5.0)

上段: 分解最適値、下段: 分解可能範囲

19

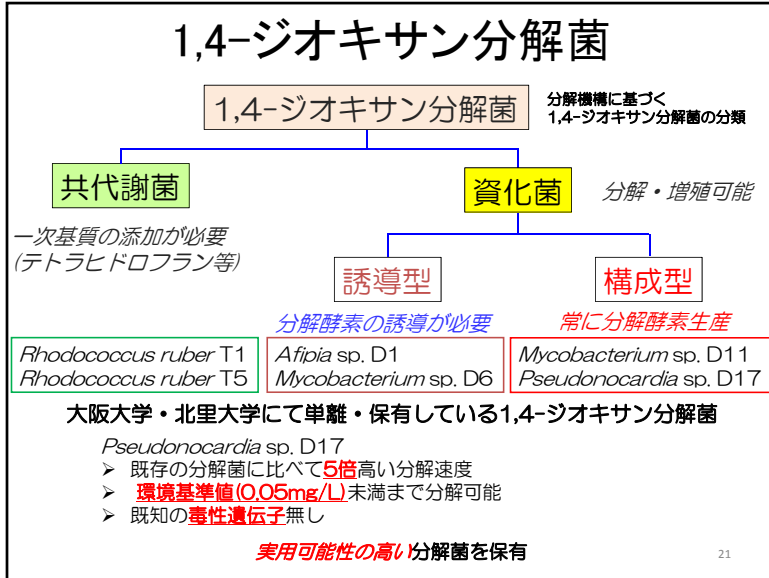
1,4-ジオキサン資化分解酵素の誘導性



CGY培地による前培養菌体: ◆

1,4-ジオキサン含有無機塩培地による前培養菌体: ●

20



実汚染地下水浄化の実証事例

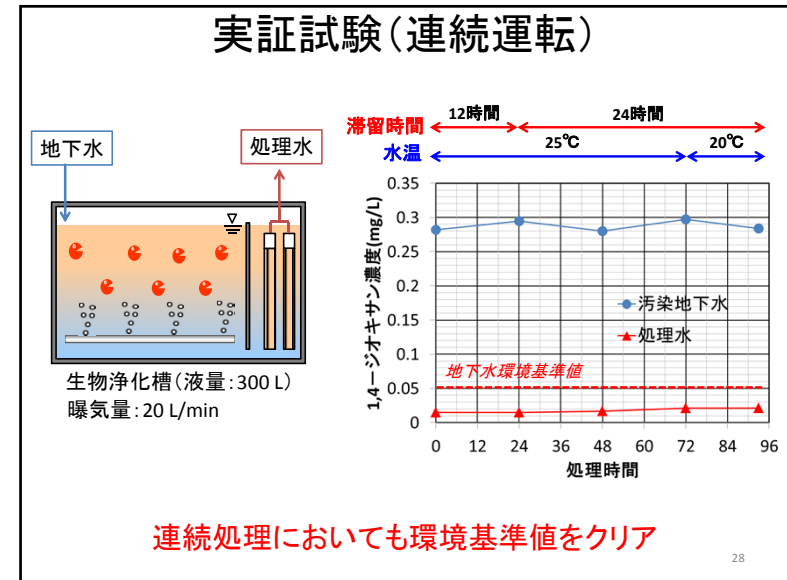
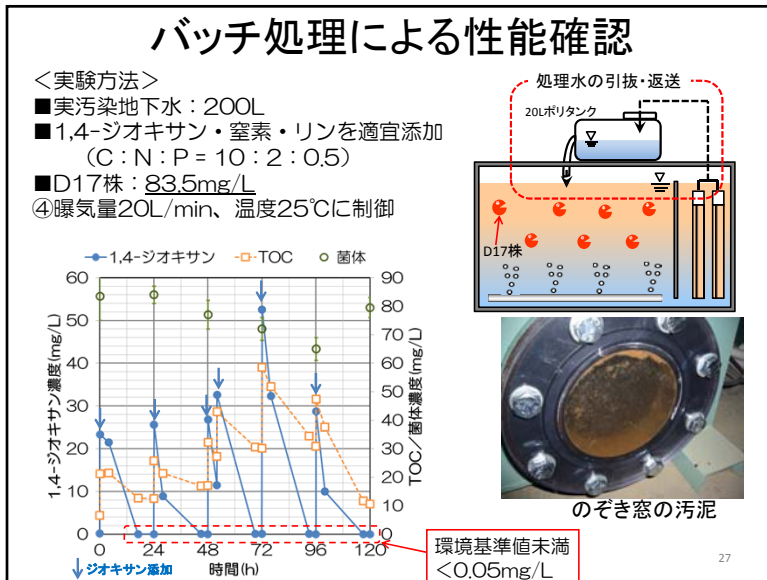
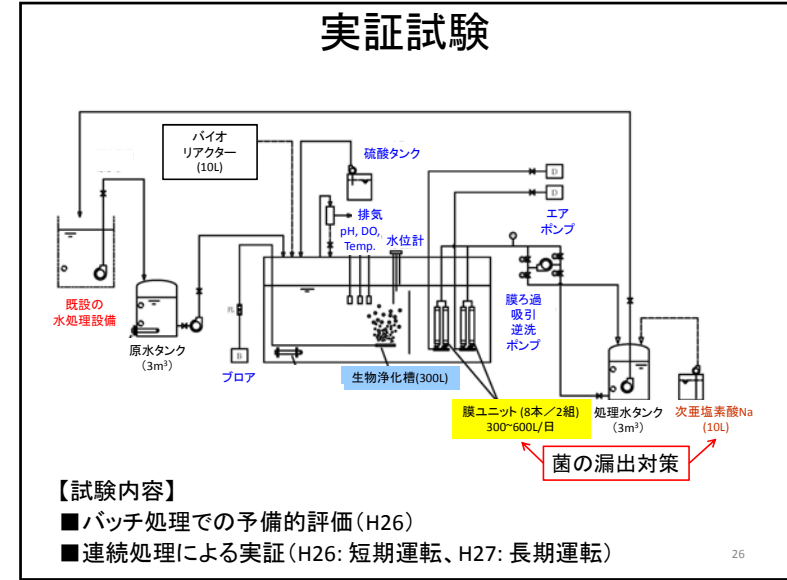
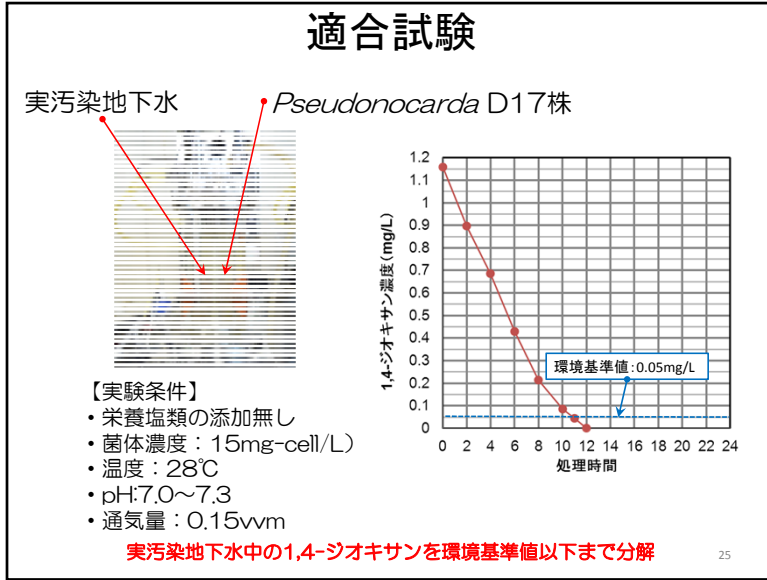
22

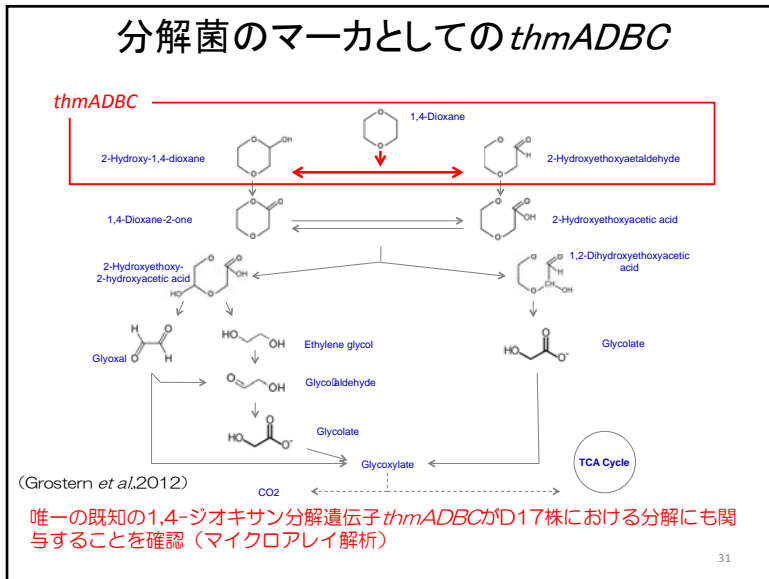
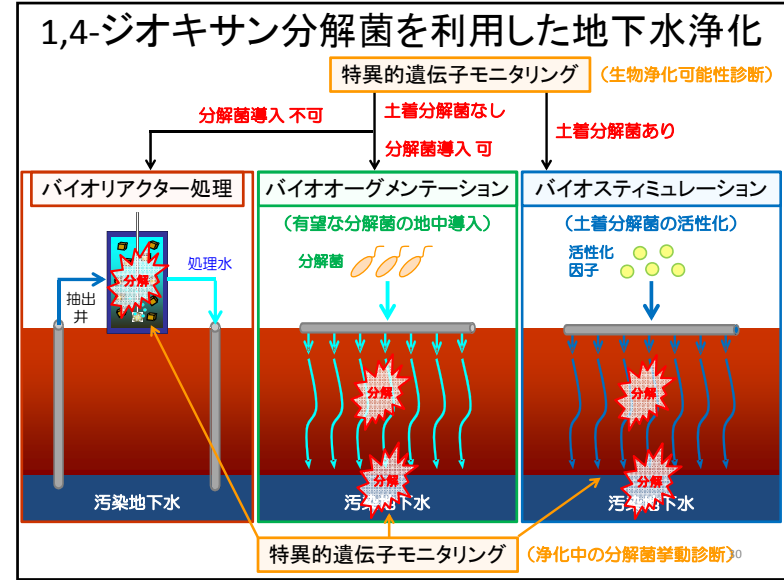
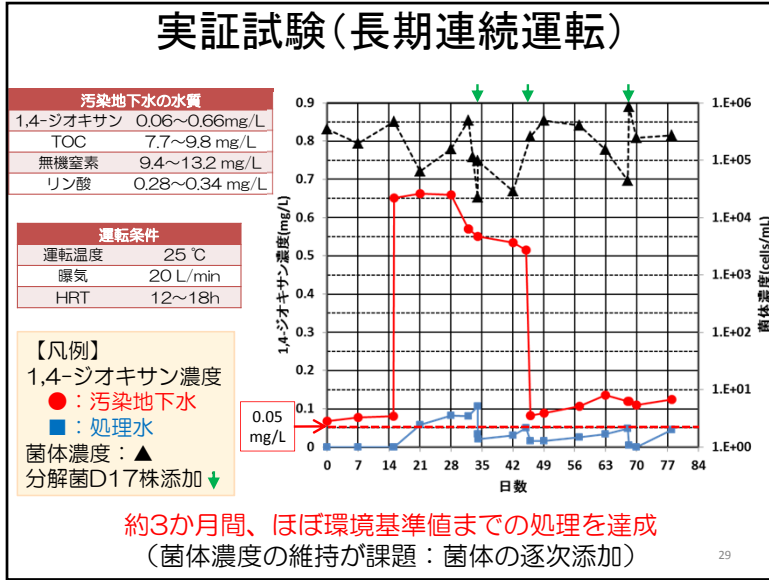
国内の1,4-ジオキサン汚染サイト

	旧能代産業廃棄物センター(秋田県)	岩手・青森県境不法投棄現場	三重県桑名市五反田地内不法投棄事案	新河岸川河川敷(埼玉県)
敷地面積	約18万m ²	27万m ²	2,906m ²	約15,000m ²
汚染原因	不法投棄	不法投棄	不法投棄	不法投棄
1,4-ジオキサン(最大値)	44 mg/L (H23年12月時点)	26 mg/L (H22年8月時点)	27 mg/L (H22年1月～H23年6月)	0.78 mg/L (H22年9月時点)
その他の環境基準超過項目	ヒ素 鉛 1,2-ジクロロエタン ベンゼン 塩化ビモノマー	ベンゼン ジクロロメタン 1,2-ジクロロエタン ホウ素 鉛 総水銀 塩化ビモノマー	ジクロロメタン ベンゼン 鉛 ヒ素 ホウ素 フッ素 塩化ビモノマー	硝酸性窒素 亜硝酸性窒素 塩化ビモノマー

23







おわりに

本内容は、大阪大学、北里大学、大成建設(株)の共同研究の成果に基づくものであり、関係各位に謝意を表します。

また、実証試験の実施に際し、ご協力いただきました岩手県環境生活部廃棄物特別対策室の皆様へ感謝申し上げます。

データの一部については、環境省環境研究総合推進費(課題番号: 5B-1201)を受けて実施した研究の成果に基づくものであり、記して謝意を表します。

32