特集

事業化の進むバイオレメディエーション

バイオオーグメンテーション事業化に向けて

石川 洋二*・辻 博和*・峠 和男*
藤井 研介*・織田 泰**・木邑 敏章**

キーワード：バイオオーグメンテーション，トリクロロエチレン，安全性，指針，事業

1. はじめに

特定の微生物の持つ特殊な機能を産業に利用・応用することは、発酵などの例を見るまでもなく、古来より行われてきたことである。ここ数十年で急速にビジネスの一分野として認められてきた汚染土浄化の分野でも、現在特定の微生物の利用が事業の芽として育とうとしている。ここでは、そのような技術“バイオオーグメンテーション”について、技術の一例をあげながら、問題点、行政の取り組み、今後の展望について述べる。

2. バイオオーグメンテーションとは？

バイオオーグメンテーションとは、「栄養物質等や酸素を加えて修復場所に生息している微生物を活性化することによる」バイオスティミュレーションと対比させて、「外部で培養した微生物を導入することによる環境修復」のことをいう¹⁾。

容易に予想できるように、外部で培養した微生物を利用するバイオオーグメンテーション事業を推進するにあたっての最大の課題は、土壌や地下水に適用する場合の生態系等への影響についての安全性である。その確保のためには、なんらかのガイドラインや指針が必要となるが、次節で述べるように、経済産業省と環境省とが独自の検討を重ねてきた経緯を踏まえて、共同で平成17年2月に「微生物によるバイオレメディエーション利用指針について」とする文書としてまとめられた¹⁾。浄化事業がこの指針に適合しているかどうかについて事業者は国に確認を求めることができること

となっている。

バイオオーグメンテーションで対象となる汚染物質は、たとえばバイオスティミュレーションなどの手法で容易に分解することができないような難分解性物質である。油類でいえば、容易に生分解することが知られている炭素数の少ない飽和脂肪族炭化水素や芳香族炭化水素を除いた成分であり、たとえば環数が4より多い多環芳香族炭化水素が相当する。有機塩素系化合物でいえば、ダイオキシン類についての分解微生物の探索が進んでいる。また、トリクロロエチレンやテトラクロロエチレン等については、汚染地下水中に有用資材を加えることによる原位置バイオスティミュレーションによって嫌気脱塩素分解技術がすでに適用され始めてはいるが、はるかに工期を短縮する目的でのバイオオーグメンテーションの適用が始められている。この技術については第4節にて述べる。

3. バイオオーグメンテーション利用指針

今後広く実用化されていくであろうバイオオーグメンテーション技術であるが、生態系や人への影響に関する安全性を確保する意味から、その利用にあたって一定の基準を課す必要がある。通商産業省（現経済産業省）は平成10年に「組換えDNA技術工業化指針」を改訂し、バイオレメディエーションを開放系において利用する場合にはこの指針を準用することとした²⁾。非組換え微生物を使用する場合であっても当指針に従うこととなる。ちなみに、第4節で述べる「MO7株を用いた有機塩素系化合物のバイオオーグメンテーショ

Toward the era of commercializing bio-augmentation

* 榎大林組 Yoji ISHIKAWA, Hirokazu TSUJI, Kazuo TOGE, Kensuke FUJII

** トヨタ自動車㈱ Yasushi ODA, Toshiaki KIMURA

ン技術」は、場所を特定しない申請としては初めてこの指針に適合することの確認を得ている³⁾。これは委員会の検討と国民の意見（パブリックコメント）によって確認されたものである。

その後、経済産業省と環境省は共同で平成17年2月に「微生物によるバイオレメディエーション利用指針について」として主としてバイオオーグメンテーションでの微生物利用の指針を定めた¹⁾。これにより改めてバイオオーグメンテーションを事業として実施する際に検討を要する事項が整理されたといえることができる。ちなみに、ここでの安全性評価項目は前出の「組換えDNA技術工業化指針」とほぼ同様である。

当指針に従えば、バイオオーグメンテーション事業は以下の手順で進められる。

- ①浄化事業計画の策定
- ②生態系等への影響評価の実施
- ③浄化事業の実施
- ④浄化事業の終了

浄化事業計画策定にあたっては、利用する微生物をはじめ、浄化作業、浄化事業、安全管理方法についてあらかじめ定めて記述しておく必要がある。同時に、生態系等への影響評価のために情報を収集し、その情報を用いて定められた評価項目ごとに、必要があれば、定められた評価方法によって評価を実施する必要がある。また、浄化事業を実施した後は、浄化事業計画に定めた終了方法に沿って終了可能な水準に達したことを確認することとなる。事業者は、バイオオーグメンテーションを実施する際、これらの浄化事業計画書および生態系などへの影響評価書を国に提出して、浄化事業計画が指針に適合しているか否かについて国の確認を求めることもできる。

4. MO7株を利用した有機塩素系化合物浄化技術

事業化に向けたバイオオーグメンテーションの事例として、MO7株という微生物を利用した有機塩素系化合物の浄化技術について紹介したい⁴⁻⁶⁾。これは、(株)大林組とトヨタ自動車(株)が共同開発した技術であり、前節で述べた「組換えDNA技術工業化指針」に適合していることが確認されている。

トリクロロエチレン（TCE）などは好氣的条件下で共代謝により分解することが知られており、メタン、フェノール、トルエンなどを資化する微生物により効率よく分解される。浄化にあたっては分解能力のより高いものを使うことが有効であるため、高いTCE分解能力を持つ菌体であるMO7株を新たに選抜した。MO7株は、自然環境から単離した、遺伝的改変を行っていない非組換え微生物である。写真1にMO7株を示す。16S rRNA 遺伝子の系統解析によれば、分類学的には *Janibacter* 属と考えられる。20~30℃の条件下、中性pH域において良好に増殖し、栄養培地あるいは無機培地などで培養可能なフェノール資化性菌である。

MO7株および当微生物を用いた浄化技術の安全性については、適合確認を申請した「組換えDNA技術工業化指針」に詳細に規定されているところである。MO7株自体の人や動植物に対する病原性や生理学的性質についての安全性の確認は、表1に示す安全性試験によって問題のないことを確認したデータなどに基づいている。浄化技術については、作業区域への導入、作業区域での挙動、浄化の終了の各プロセスでの安全についても問題点のないことを具体的に記述し、「指針」に適合していることを確認している。本技術の特徴のひとつは菌体の利用方式であり、菌体を培養後に集菌、洗浄操作を行い、TCE分解酵素の誘導剤であるフェノールを除去した休止菌体を投入する方法を採用している。したがって、それ自体有害なフェノールを土中に投入することがない。

写真1 MO7株の電子顕微鏡写真

表 1 MO7株の安全性試験項目

試 験 項 目
ウサギを用いた単回経皮投与毒性試験
ウサギを用いた眼一次刺激性試験
ラットを用いた単回経口投与毒性試験
ラットを用いた単回静脈投与毒性試験
ラットを用いた単回経気道投与毒性試験
ウズラを用いた経口投与による鳥類影響試験
ヒメダカを用いた淡水魚影響試験
オオミジンコを用いた淡水無脊椎動物影響試験
藻類を用いた生長阻害試験

え、栄養塩の土中への添加が不要なため栄養塩による二次汚染がなく、また、栄養塩を洗浄除去しているために浄化後に土中に菌体が増殖する可能性が極めて低い、という安全上の利点がある。また、図-1に当技術での推定分解経路を示すが、トリクロロエチレン分解の中間体と予想されるジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、クロラールなど、いずれの化合物も検出されなかった。浄化終了後

のMO7株の生菌数の減少も確認しており、菌の生残性や有害物質の残留などの問題はないと結論づけている。

浄化の工法としては、微生物を有効に利用しつつ、かつ事業として成立するためには低コストでなくてはならないという要請のもとに、ある無機質の土壌改良資材を添加混合することによりバイオオーグメンテーションに適した土壌環境を得て浄化する工法を開発した。土壌改良資材や菌体を効率よく混合するためには写真2に示す自走式土質改良機が優れている。この工法では、おおむね1～2日程度でTCEを環境基準値以下まで浄化完了して埋め戻すことが可能で、処理コストが、汚染濃度にもよるが、掘削埋戻を除いて汚染土1トンあたり約1万円である。

「組換え DNA 技術工業化指針」の申請にあたっては、全国の汚染サイトのどこでも対応できるよう、実施場所を特定しなかった。専門委員会の審議、パブリックコメント募集を経て、平成16年4月に適合確認を受けている³⁾。

図-1 MO7株によるトリクロロエチレンの推定分解経路

写真2 自走式土質改良機

5. 事業化の展望

TCE 汚染土でかつ掘削して処理可能なケースに対して、MO7株によるバイオオーグメンテーションは事業化のスタートラインに立ったといえる。ここまでに至るための要点を整理すると以下のとおりである。

(1) 安全性の確認

「指針」の確認適合を受けていること、遺伝子を改変していない MO7株のような非組換え微生物についても、そのバイオオーグメンテーションへの適用にあたってもっとも高い障害となる人や生態系への安全性に問題ないことが、専門家、国民の意見（パブリックコメント）によって確認されていることが重要である。

(2) 高い浄化能力

バイオスティミュレーションでは達成できない短期間で、浄化基準値以下にまで処理可能なバイオオーグメンテーションであること、これには高い分解能力を持つ菌体を選抜することが必要である。

(3) 低コスト

高い浄化能力を発揮するのに低廉なコストで可能な、すなわち、コストパフォーマンスの高い工法であること。

以上の要件を満たすことにより、短期間で安価に処理できる環境負荷の低い技術として事業可能なレベルに達しているといえる。

一方で、市場規模とはいえば、ある統計資料⁷⁾によれば、VOC で汚染されている可能性のある事業所の数は119,028箇所にとのぼるとされる。このうちの半数の事業所で汚染修復が終了したか、汚染がないものとし、また、さらにその30%が TCE の単独汚染と仮定すると、対象事業所数は約 18,000 箇所になる。このなかでの掘削土が対象となる割合などはここでは試算はしないが、かなりの数の事業所が当技術の対象となることがわかる。

以上のように、安全が確認された微生物を用いるバイオオーグメンテーションは、有害物質を確実に分解無害化し、また、低コストで二次汚染のない技術であるという特徴を持つ。行政による指針の整備も追い風である。環境負荷の低い技術というばかりでなく、経済的にも事業として成り立つ工法として、今後の展開を充分期待したい。

参考文献

- 1) 経済産業省、環境省：微生物によるバイオレメディエーション利用指針について（報告）、2005年2月14日
- 2) 通商産業省（現経済産業省）：組換え DNA 技術工業化指針、平成10年通商産業省告示第259号
- 3) 経済産業省：バイオオーグメンテーションによるトリクロロエチレン汚染土壌の浄化（非組換え DNA 技術工業化計画）に対する意見募集について、2004年3月5日
- 4) 藤井研介、石川洋二、峠和男、織田泰、米田聡、木邑敏章：TCE 汚染土バイオオーグメンテーション処理技術の実用化、第10回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会、大阪、2004年7月
- 5) 藤井研介、井出一貴、石川洋二、峠和男：トリクロロエチレン汚染土壌の低コスト微生物処理技術の開発、大林組技術研究所報 No.67（2003）
- 6) T. Kimura, Y. Oda, N. Higuchi, K. Toge, Y. Ishikawa, K. Fujii: Biological Treatment System for Degradation of Chlorinated Solvents in Soil. 7th International Symposium of Environmental Biotechnology, Chicago USA, 2004. 6.
- 7) 日本政策都市銀行：わが国環境修復産業の現状と課題ー地下水環境修復に係る技術と市場ー、2000年10月（引用文中では、全事業者数からガソリンスタンドを除いた事業者数を VOC 汚染の可能性のある事業者数とした）