

第1 はじめに

バイオレメディエーションとは、微生物等の働きを利用して汚染物質を分解・無害化することによって、土壌、地下水等の環境汚染の浄化・修復を図る技術である。環境汚染浄化の技術的手法としては、物理的手法、化学的手法及び微生物機能の活用等の生物学的手法が存在するが、微生物を利用するバイオレメディエーションは、多様な汚染物質への適用可能性をもち、投入エネルギーが理論的には少なく、一般的に浄化コストも低く済む可能性があり、将来の主要技術の一つと考えられている。微生物を利用するバイオレメディエーションの中でも特に、バイオオーグメンテーション(注1)については、主に難分解性化学物質の汚染に対し、近年環境汚染浄化技術としての注目度が高まっており、今後の利用拡大が期待されているところである。

微生物の開放系利用となるバイオレメディエーションは、安全性評価を十分踏まえつつ実施するということを前提にすれば、汚染された土壌、地下水等の浄化が進められることによって、全体として生態系への影響及び人への健康影響(以下、生態系等への影響という。)を低減することが期待できるものである。

特に、バイオオーグメンテーションは、一般的には自然環境から分離した特定の微生物を選択し、培養されたものを意図的に一定区域に導入することによって、汚染された土壌、地下水等の浄化を図ろうとするものであるが、生態系や人に対する有害な影響を与えるおそれがないとは言えないことから、あらかじめ安全性の評価を実施してから利用することが適当な手法として位置付けられるものである。しかしながら、この安全性評価は、事業者にとって未だ経験が浅く、その統一された評価手法が存在していないのが現状である。

このことに対し、これまで我が国においては、通商産業省(当時)では、平成10年5月に、「組換えDNA技術工業化指針」の改訂を行い、生物的環境修復等の開放系利用を指針の対象に加え、その中で微生物等についても、「当分の間、本指針を準用する」こととし、また、環境庁(当時)では、平成11年3月に、揮発性有機化合物による地下水汚染に対して微生物を利用して浄化する際の環境への影響を防止するため、「微生物を用いた環境浄化の実施に伴う環境影響の防止のための指針」を策定したところであるが、その安全性に係る指針が並立して存在していることから、平成14年12月に策定された「バイオテクノロジー戦略大綱」において、一元化を含めた制度の検討を行う必要性が指摘されているところである。

一方、平成15年6月、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(以下、カルタヘナ法という。)(注2)」が制定され、同法に基づき、生物多様性影響評価実施要領が同年11月に告示され、本検討の参考となる生物多様性への影響の評価手法が示されることとなった。

本報告書は、このような状況を踏まえ、産業構造審議会化学・バイオ部会組換えDNA技術小委員会開放系利用技術指針作成ワーキンググループ及び中央環境審議会水環

境・土壌農薬合同部会バイオレメディエーション小委員会において、微生物(注3)を利用するバイオレメディエーションの中でも特に、バイオオーグメンテーションを実施する際の安全性の確保に万全を期すために、生態系等への影響に配慮した適正な安全性評価手法及び管理手法等のための基本的要件の新たな考え方(以下、指針という。)を検討し、とりまとめたものである。上記のとおり、国が関係者の理解を得つつとりまとめた指針を示すことによって、バイオレメディエーション事業の一層の健全な発展につながり、バイオレメディエーションの利用の拡大を通じた環境保全が図られることが期待されるものである。

(注1) バイオレメディエーション (Bioremediation) のうち、外部で培養した微生物を導入することによる環境修復をバイオオーグメンテーション (Bioaugmentation)、栄養物質等 (栄養物質及びその他の添加剤をいう。以下同じ。) 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環境修復をバイオスティミュレーション (Biostimulation) という。

(注2) 後述の第4の「(参考) カルタヘナ法の概要」を参照のこと。

(注3) ここでいう「微生物」には、カルタヘナ法に規定される「遺伝子組換え生物等」は含まない。また、カルタヘナ法において、いわゆる「セルフクロニング」、「ナチュラルオカレンス」に起因する生物は、「遺伝子組換え生物等」の定義から除外されて整理されていることから、当該生物は、指針の「微生物」の中に含めることとした。

なお、ここでいう微生物とは、細菌、古細菌、菌類である。

第2 バイオレメディエーション利用の現状

バイオレメディエーションには汚染土壌を掘削し、処理サイトへ運搬して処理する方式 (ex situ) 又は現場上で処理する方式 (on site) と汚染土壌を掘削することなく原位置で処理する方式 (in situ) とがある。また、微生物の利用方法により分類すると、栄養物質等や酸素を加えて土着の微生物を活性化させるバイオスティミュレーションと外部で培養した微生物を導入するバイオオーグメンテーションとがある。

土壌、地下水等汚染修復におけるバイオレメディエーションは、海外では1980年代から実用化され、汚染サイトの浄化に適用されるようになった。バイオレメディエーションの先進国である米国では、1980年代末から1990年代にかけてバイオレメディエーションが商業化された。1989年のExxon Valdez Spill (エクソン・バルディーズ号のアラスカ原油流出事故) の後、技術的進展が加速したとされる。

日本では、湾岸戦争で汚染されたクウェートの油汚染土壌をバイオレメディエーションにより浄化する実証試験をPEC ((財) 石油産業活性化センター) が1990年代に実施した。また、有機塩素化合物による汚染については、1994年から1995年に環境庁 (当

時)の調査の一環としてバイオスティミュレーションの実証試験が行われた。また、RITE ((財)地球環境産業技術研究機構)は、1995年から2000年の期間でバイオスティミュレーション及びバイオオーグメンテーションの実証試験を実施した。これらの取組により、日本においてもバイオレメディエーション技術が急速に進歩した。近年では、主として、ダイオキシン類などの難分解性有機汚染物質の分解や重金属の処理に対するバイオオーグメンテーション技術の適用に関する研究開発も行われている。

また、バイオレメディエーションの運転管理や安全性評価のため、微生物のモニタリング手法の研究開発も進んでおり、希釈平板法、MPN法^{*}、PCR-DGGE法^{*}、定量PCR法^{*}、マイクロアレイ^{*}等の微生物解析技術の応用が試みられているところである。

以上のように、バイオレメディエーションは土壌、地下水等の環境修復において今後有望な技術の一つと位置づけられ、その更なる技術的進展が期待されているところである。

第3 指針の対象

1. 対象とするバイオレメディエーションの手法

指針の対象とするバイオレメディエーションの手法は、微生物を利用するバイオレメディエーションのうち、「第1 はじめに」に記載した事項及び最近の技術の進歩や利用動向等を踏まえ検討した結果、微生物を利用したバイオオーグメンテーションとすることとした。また、バイオスティミュレーションについては、添加する栄養物質等又は酸素の供給の停止とともに、活性化された微生物は減少し、土着の微生物相に復元されると考えられることから、対象としないこととしたが、浄化事業の計画・実施に当たっては、栄養物質等の添加等指針の考え方を参考にしつつ、バイオレメディエーションを実施する者(以下、「事業者」という。)自らが適切な安全性評価を行い、適切な安全管理のもとに実施されることが望ましい。

2. 利用微生物

微生物を利用したバイオオーグメンテーションのうち、指針で確認(注1)の対象とする利用微生物は、微生物の種類ごとに生態系等への影響についての科学的知見に基づいた適切な安全性評価が可能なものとする。

この基本的考え方の観点から、具体的には、

- ① 分類・同定された単一微生物(注2)又はそれらを混合した微生物系
- ② 自然環境から採取された複合微生物系(注3)をもとにして、特定の培養条件で集積培養された複合微生物系であって、高度に限定された微生物で構成され、その構成が継続的に安定していることが確認されたもの

とすることが適当と考える。

なお、自然環境から採取された複合微生物系をもとにして、培養された複合微生物系

(前記②のものを除く。)は、構成している微生物の把握が難しく、指針の適用ができないため、確認の対象としないこととしたが、浄化事業の計画・実施に当たっては、指針の考え方を参考にしつつ、事業者自らが適切な安全性の点検を行い、適切な安全管理のもとに実施されることが望ましい。

(注1) 事業者から提出された浄化事業計画や生態系への影響評価の結果等に基づき、指針に適合しているか否かを国が判断・確認するもの(詳細は、後述第6を参照のこと)。

(注2) 生態系等への影響を評価するためには、微生物の特性についての知見が必要であることから、株レベル(不可能な場合は種又は属レベル(ただし、安全性評価が可能な場合。また、評価を実施する場合は同じ属・種であっても個別事業毎に行う。))の分類・同定が必要。

(注3) 一般的に「コンソーシア」と称されている。

3. 浄化対象物質

環境汚染浄化の対象物質としては、特に指定するものではないが、バイオオーグメンテーション技術への期待から、石油類の他に、分解が遅い化学物質(トリクロロエチレン等揮発性有機化合物、ダイオキシン類等多環芳香族等)及び金属類等を想定している。

4. 浄化対象環境媒体

浄化作業が行われる環境媒体としては、特に指定するものではないが、開放系利用を前提に、自然条件下の限定された区域の土壌及び地下水等を想定している。

第4 バイオレメディエーションの実施概要

事業者は、あらかじめ浄化事業ごとに浄化作業等の内容及び方法を盛り込んだ「浄化事業計画」を策定し、同時に、科学的かつ適正に行われた生態系等への影響評価について、その結果を記載した評価書(以下、「生態系等への影響評価書」という。)を策定する。

この浄化事業計画及び生態系等への影響評価書に記載した内容において、適切な安全管理のもとに浄化事業を実施するものとする。

浄化事業を終了する際は、指針に基づき浄化事業計画に定めた項目を確認してから終了するものとする。全体の手順は以下のとおりであり、各手順の詳細については次項で記載する。

1. 浄化事業計画の策定
2. 生態系等への影響評価の実施

- (1) 評価に必要とされる情報
 - (2) 評価の項目及び評価の実施方法
3. 浄化事業の実施
 4. 浄化事業の終了

上記各項目の内容の検討に当たっては、カルタヘナ法に基づく開放系利用における生物多様性影響評価及びその承認の枠組みが微生物のバイオレメディエーションの安全性評価及びその確認を実施していく上で基本的には同様な概念であることから、同法を参考とした。ただし、この法律は、遺伝子組換え生物等を対象としたものであることから、微生物の利用に際しては、安全性評価及び安全管理方法として不必要と考えられる項目は除外した。

(参考) カルタヘナ法の概要

我が国は、「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」を締結するため、2003年6月、カルタヘナ法を制定し、2004年2月19日に議定書が我が国について発効すると同時にカルタヘナ法が施行された。

カルタヘナ法及びこれに基づく省令、告示等では、開放系での遺伝子組換え生物等の利用に当たって、利用する組換え生物等の種類の名称、使用等の内容及び使用等の方法について定めた「第一種使用規程」を作成し、主務大臣の承認を受けることとされている。また、承認を受ける場合には、生物多様性影響について評価を行い、その結果を記載した「生物多様性影響評価書」を提出することになっている。この生物多様性影響評価においては、分類学上の位置づけ等、使用等の歴史、生理学的・生態学的特性（生息可能な環境条件、寄生性等、繁殖・増殖の様式、病原性、有害物質の産生性等）について情報を収集した上で評価するとされている。さらに、事故時の措置等についても規定されている。

第5 浄化事業実施手順の詳細

1. 浄化事業計画の策定

事業者は、浄化事業を行うに当たって、事業の内容を明確にし、指針に定められた内容を確実に実施するために、以下の内容を含む「浄化事業計画」を策定し、これに従って事業を行う。なお、土壌汚染対策法、水質汚濁防止法及び化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律等の関係する法令を遵守することは当然のことである。

- (1) 利用する微生物の種類の名
- (2) 浄化作業等の内容
 - ① 浄化対象物質及び想定される濃度（浄化対象物質以外の共存する汚染物質がある場合は、その物質及び濃度）

② 浄化対象物質の浄化目標濃度（以下、浄化目標という。）

③ 浄化事業期間

・浄化作業期間（浄化準備開始から浄化目標達成時までをいう。）

・モニタリング期間

(3) 浄化事業等の方法

① 作業区域（浄化作業を行う範囲・面積・土壌等の量）の設定

② 作業区域及びその周辺の情報（詳細は2. (1) . 3) 参照）

③ 浄化技術の情報（詳細は2. (1) . 2) 参照）

④ 利用微生物の作業区域への導入

・利用微生物の導入方法

・導入する利用微生物の菌密度及びその量

・利用微生物と同時に導入する栄養物質等（詳細は2. (1) . 2) . ④参照）

⑤ 浄化事業の終了方法とその手順（詳細は、4. 参照）

(4) 安全管理の方法

・利用微生物の拡散防止対策

・栄養物質等の拡散防止対策

・浄化対象物質（必要に応じ、中間生成物を含む）の拡散防止対策

・モニタリングの方法（関係として、第7 1. 参照）

・安全な管理に関する検討委員会等の設置（関係として、第7 3. 参照）

・事業に関する記録の方法・保管（関係として、第7 4. 参照）

・緊急時の対応及び偶発的事故対策（関係として、第7 2. 参照）

2. 生態系等への影響評価の実施

生態系等への影響評価に当たり、以下の(1)に掲げる評価に必要とされる情報を収集する。ただし、掲げられた情報の一部を用いる必要がないと考える合理的な理由がある場合には、その理由を示すことにより、それらの情報を収集する必要はない。また、これらの情報以外の情報を収集する必要がある場合には、当該情報を追加して収集する。

生態系等への影響評価は、(1)の評価に必要とされる情報を用いて、以下の(2)に掲げる評価項目ごとに、必要に応じ、定められた(2)に掲げる評価の実施方法に沿って行い、その評価結果を踏まえ、生態系等への影響が生ずるおそれがあるか否かを総合的に判断する。

なお、以下の情報収集は、必ずしも、個別に限定された場所での情報である必要はなく、適用条件を想定した上で、その想定条件を満たす情報を収集することによって、評価することが可能である。

また、生態系等への影響評価に必要とされる情報は、最新の科学的知見によることが必要である。なお、評価を行うに当たり用いられた情報の出典（当該情報が学識経験者

又は評価を行う者の有する知識又は経験に基づくものである場合はその旨)が明らかになるようにする。以上によって、評価の結果を記載した「生態系等への影響評価書」を策定する。

(1) 評価に必要とされる情報

1) 利用微生物の情報

利用微生物について、以下のような情報を収集する。収集に当たっては、第一には、各種データベース及び文献等の既知の情報の十分な調査を行い、情報が不足している場合には、必要に応じ実験室等での使用等の結果を収集する。

- ① 分類学上の位置付け及び分離源
- ② 使用等の歴史及び現状
- ③ 生理学的及び生態学的特性
 - ・ 基本的特性
 - ・ 好適生育環境の条件 (利用微生物の生存が有利になる条件、生存を制限する条件等)
 - ・ 寄生性又は共生性
 - ・ 生活環 (接合、孢子形成等)
 - ・ 病原性 (主要な動植物及び人に対する影響)
 - ・ 有害物質の産生性 (主要な動植物及び人に対する影響)
 - ・ その他の情報
- ④ 利用微生物の検出及び識別の方法並びにそれらの感度、特異性及び信頼性 (必要に応じて、近年の微生物解析技術を踏まえること。)

2) 浄化技術の情報

計画している浄化技術について、以下のような情報を収集する。収集に当たっては、第一には、文献等の既知の情報の十分な調査を行い、情報が不足している場合には、必要に応じ実験室等での使用等の結果を収集する。

- ① 浄化技術の内容
 - 利用微生物の土壌、地下水等への導入方法及び導入条件並びに基本的な技術的原理の説明。
- ② 分解生成物及び分解経路等
 - 想定される分解経路、分解生成物の有無について、既存資料の調査や実験室等での使用等の結果により確認する。分解生成物が認められる場合には、その性状を調査する。なお、浄化対象物質以外の共存する汚染物質が存在する場合、その物質の挙動を調査する。
- ③ 作業区域における利用微生物の挙動等
 - ・ 生存・増殖能力及び生残性

- ・拡散の特性
- ・分離源区域と作業区域の生存環境の比較、作業区域における増殖促進等のための選択圧
- ・他の微生物群集への影響（(2)を参照のこと）
- ④ 栄養物質等を添加する場合は、その内容
 - ・栄養物質等の名称（CAS 番号）、化学構造式、分子量
 - ・性状、分解性及び毒性等安全性
 - ・導入の目的
 - ・導入量
 - ・導入濃度及び導入頻度
 - ・環境基準等の規制等に関する情報
 - ・二次的な汚染の可能性がある物質を用いる場合は、その情報（物質名、毒性、導入時の濃度、導入量、残留性及び作業区域での拡散性）
 - ・その他副次的な影響

3) 作業区域及びその周辺の情報

利用微生物を導入する場所について、以下のような情報を収集する。作業区域を特定しない場合においては、利用環境を具体的に想定して収集する。

① 作業区域等の特徴

・位置

作業区域の位置・周辺状況等

・現場における汚染原因等

汚染原因及び現在の状況等

・水文地質学的特性

作業区域及びその周辺の地質条件（土壌種、有機物含量、物理・化学特性等）、並びに水理地質学的特性（帯水層の分布、地下水の水位等）

・生息する主要な動植物

作業区域内及びその周辺に生息・生育している主要な動植物。特に、生活環境に関係する動植物等保護の対象となる生物種、及び利用する微生物の病原性又は毒性によって影響を受けやすいことが知られている生物種については、詳細な情報。

・土地利用の状況

作業区域の土地利用の状況について、工業地域、商業地、住宅地等の別、また、住宅地にある場合には在住人口、工業地域等の場合には労働人口等についての情報。さらに河川水及び地下水の飲料用水や工業用水、灌漑用水等としての利用の状況についての情報。

・作業区域周辺の特徴

必要に応じ、上記を参考に情報を収集する。

② 浄化対象物質の情報

対象物質の化学構造式、分子量、CAS 登録番号等、性状、分解性及び毒性等安全性の情報。

また、既存の法律等により当該物質に関係する規制等がある場合には、その基準値等参考となる情報を収集する。

③ 汚染状況

利用微生物の導入予定場所に存在する浄化対象物質の状況について、水平分布及び垂直分布に関する情報を収集する。浄化対象物質以外の共存する汚染物質が見られる場合は、その状況についての情報。

4) その他

上記1)～3)の情報収集に関しては、

① 国内外における使用等又は実験室等での使用等の結果に関する情報があれば収集する。

② 情報の一部を用いる必要がないと考える合理的な理由がある場合には、その理由を示すことにより、それらの情報を収集する必要はない。

③ 上記1)～3)以外の情報を収集する必要が生じた場合には、当該情報を追加して収集する。

(2) 評価の項目及び評価の実施方法

事業者は、前記(1)の評価に必要とされる情報を用いて、以下に示す評価項目ごとに、評価を行う。また、必要に応じ、定められた評価の実施方法に沿って評価を行う。以下の項目ごとの評価結果の概要及びこれらの評価結果を踏まえた総合的な判断の結果によって、浄化事業に伴う生態系等への影響を評価する。なお、評価を行う者が行った判断については、その判断の根拠を明らかにする。

① 利用微生物が浄化作業終了後(注1)に増殖する可能性。必要に応じ、作業区域外への影響に配慮した効果的な措置。

② 作業区域における他の微生物群集への影響(注2)。

③ 作業区域及びその周辺における主要な動植物及び人に対する、利用微生物の病原性及び有害物質の産生性の有無、若しくはその他の有害な影響を及ぼす可能性。必要に応じ、生態系等への影響に配慮した効果的な措置。

④ 浄化作業に伴う浄化対象物質(必要に応じ中間生成物を含む)の拡散の可能性。必要に応じ、作業区域外への影響に配慮した効果的な措置。

⑤ 浄化に当たって栄養物質等を添加する場合は、浄化作業終了後の当該