

バイオコントロールによる高濃度油脂含有排水のハイパフォーマンス処理

High Performance Treatment of Wastewater Containing High Concentrations of Oils and Fats by Means of Biocontrol

堀 克 敏 *

KATSUTOSHI HORI

名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻 〒464-8603 愛知県名古屋市千種区不老町

* TEL: 052-789-3339 FAX: 052-789-3218

* E-mail: khori@chembio.nagoya-u.ac.jp

Department of Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University,
Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan

キーワード: 油脂, 排水処理, 微生物分解, 共生微生物, バイオコントロール

Key words: triacylglycerol, wastewater treatment, microbial degradation, symbiotic microbes, biocontrol

(原稿受付 2017年4月11日/原稿受理 2017年4月26日)

1. はじめに

高濃度の油分を含む排水は、大規模施設では活性汚泥槽に流れ込まないように前処理を施すか、小規模施設では下水放流の前に事業所内で処理するのが基本で、処理により油を取り除いて濃度を低減させる。従来、単純な固液分離が主体であり、前者においては加圧浮上分離装置が、後者においてはグリーストラップが、油分の主要な除去手段であった。しかしこれらの方法には、①分離した油の産廃処理、②悪臭や害虫の発生、③メンテナンスの手間と労苦といった問題があった。比較的安価な代替技術として生物処理法がある。油脂を微生物によって分解、消費させようというもので、微生物分解法ともいう。しかし、この方法には、①分解速度が遅い；②高濃度に対応できない；③濃度変動に対して脆弱である；④pH 適応性が現場の条件に合わない；⑤温度変化に対して脆弱である；⑥操作性が悪く取扱いが煩雑であるといった致命的な問題があった。筆者らは、驚異的な油脂分解能力をもつバクテリア、これと共生する遊離脂肪酸分解酵母、グリセリン分解酵母からなる微生物製剤を使った、油脂含量の高い排水の処理システムを開発し、実用化・商品化に成功した。本技術で起業するため、JST の A-Step の大型プログラム「起業挑戦ステージ」に採択され、実施してきた。本稿では、A-Step の成果も含め本システムの詳細と、環境分野に微生物製剤を適用する場合の課題について解説する。

2. シーズの新規性と優位性

本シーズでは、リパーゼの生産による油脂の加水分解と、生じた遊離脂肪酸の消費を担うバクテリア

Burkholderia arboris SL1B1 株¹⁾とグリセリンの消費を担う酵母 *Candida cylindracea* SL1B2 株²⁾との共生をうまく利用することにより、油脂分解を促進させる(図1)³⁾。なお、この二つの微生物株は、天然サンプルより共生状態で単離されたものである。さらに、本微生物製剤には、リパーゼは分泌しないが遊離脂肪酸の消費能力に長けた第三の共生微生物である酵母 *Yarrowia lipolytica* 1A1 株⁴⁾が含まれている。こちらの酵母は先の二種の微生物株とは別に単離されたものであるが、二種の微生物と人工的に共生可能な微生物である。すなわち、リパーゼを生産しないので、油脂分解の主役である *B. arboris* SL1B1 株の働きと競合することはないが、遊離脂肪酸が蓄積するような条件でこれを消費する。そのため、高い濃度の油脂も効率的に分解でき、濃度変動にも強い。すなわち、本微生物製剤は3種類の微生物の共生系を構築することで、油脂の分解とその分解産物の消費を同調的に進行させ、従来の類似した微生物製剤にはない高速油脂分解を可能としている。従来の類似製品にはこのような微生物共生系の構築という設計思想がない。油脂の加水分解反応は可逆反応であるため、反応の継続的進行のためには、生成物を回収してその濃度を低く保つことが重要であることは、化学反応の常識である(図2)。

本微生物製剤は上記の独創的な特徴により、現場ニーズに対応し得る次のような優位性をもつ。①油脂分解速度: 排水処理の要求速度(流れの速さに対して要求される分解速度)を満足できる。②油脂濃度: グリーストラップや油脂工場のような高濃度油脂も処理可能である。③油脂濃度変動応答性: 複合微生物製剤、特に脂肪酸が過剰になったときに働く1A1株が含まれているので、濃度変動の影響を受けにくい。④pH 適応性: 弱酸性(pH 6.0)でも油脂は十分な速度で分解可能である。

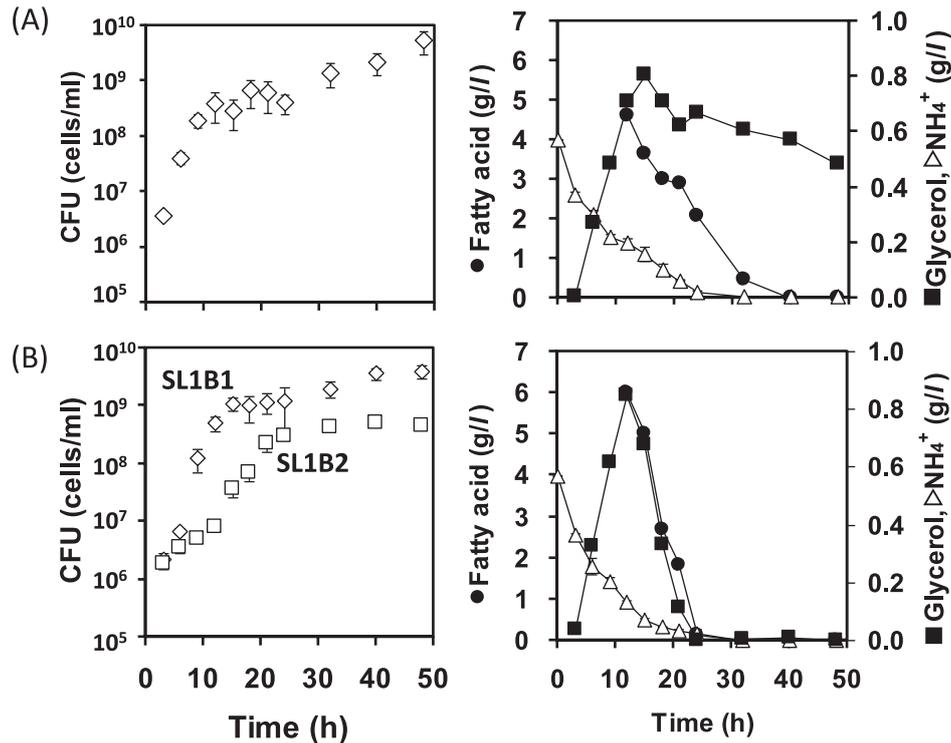


図1. *Burkholderia arboris* SL1B1 株の単独培養 (A) と *Candida cylindracea* SL1B2 株との混合培養 (B) との微生物増殖および油分解の速度比較

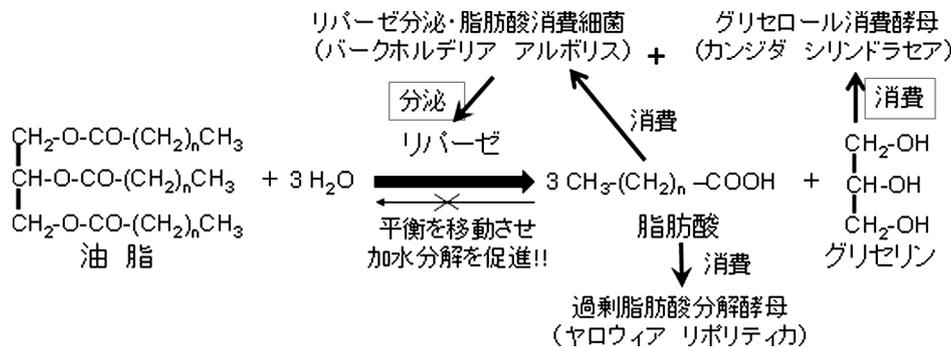


図2. 油脂の共生微生物による分解メカニズム

⑤温度適応性：低温環境下で蓄積しやすい脂肪酸を 1A1 株が消費・分解するため、遊離脂肪酸の蓄積が見られない。実際に 20°C においても 30 g/L という高濃度の油脂を迅速に分解できる。これまでも、市場では多くの油脂分解用微生物製剤が販売されてきたが、本微生物製剤は、特に、実排水の処理において従来品とは比較にならないほどの抜群の効果を発揮し、加圧浮上分離装置を代替可能な微生物分解システムの構築が実現可能となる (図3)。

3. A-Step の技術目標と達成状況

年に数回の交換ですむような保存性と寒冷地への適用性を兼ね備えた油脂分解微生物製剤と、滞留時間の短い現場等にも対応可能な微生物固定化技術、水質連動型微生物製剤自動増幅投入装置、さらには複数現場で蓄積し

た現場即応エンジニアリングのノウハウにより、加圧浮上分離装置と同等以上の油除去率 50~90% を達成可能な油脂分解微生物利用排水処理システムを、様々な現場条件で確立することで、本技術の適用範囲を広げることが狙った (図4)。これを達成するために、下記のとおり研究開発目標 (目標①~⑤) を設定した。

- ①製剤形態と保存性：種々の製剤形態 (液体製剤・乾燥製剤) に応じた保存技術・活性維持技術を開発する。
- ②微生物製剤の適用範囲の拡大：実際の排水処理現場を想定し、効果を発揮できる適用範囲を広げ汎用性を高める。
- ③微生物固定化技術の開発：滞留時間が短い現場にも適用できるように、微生物固定化技術を開発する。
- ④実証現場への適用と安定運用の実現：油分解処理システムとしての制御・管理方法を確立し、複数個所の実証現場での安定運用を実現する。

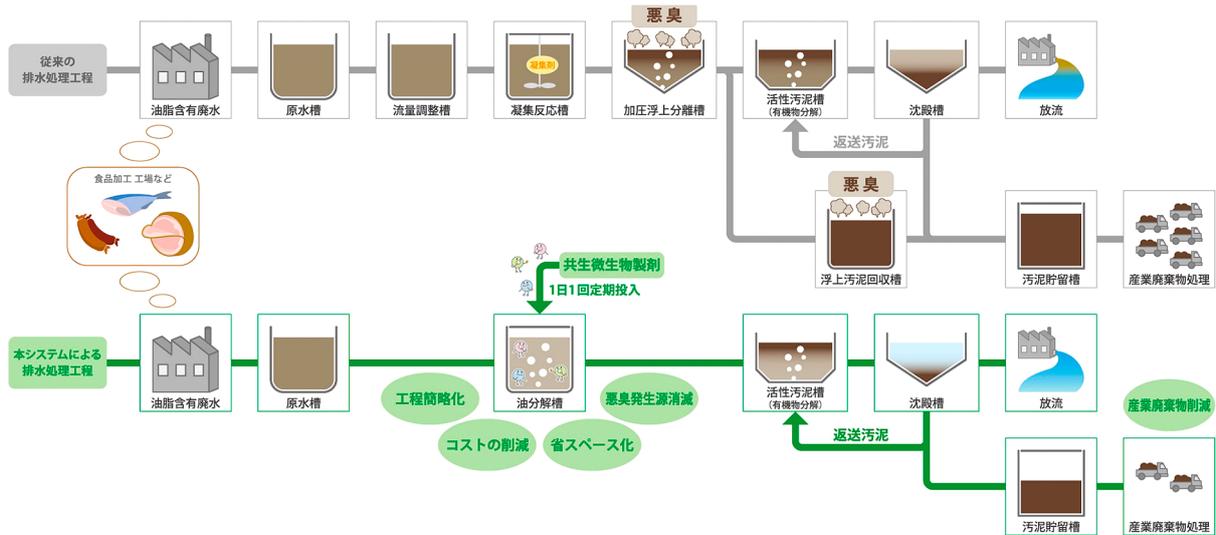


図3. 油脂分解微生物分解システムによる加圧浮上分離装置の代替イメージ

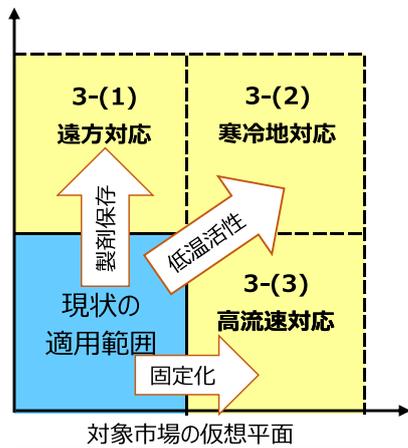


図4. 微生物分解システムの適用範囲の拡大戦略

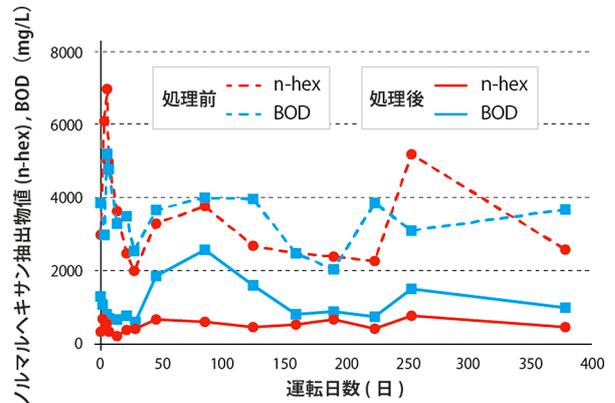


図5. 油脂工場での微生物分解システムの実証試験結果。図中の処理前とは原水の水質を、処理後とは微生物製剤による油分解処理後の水質を指す。すなわちその差が分解処理の効果を示す。

⑤水質連動型微生物自動増幅投入装置の開発：変動の激しい現場排水水質に対しても安定的な製剤供給と油分解性能の維持が可能な自動増幅投入装置を開発する。これら研究目標は、プロジェクト期間内にすべて達成した。特に、複数の食品・油脂工場で実証試験を実施し、どれも良好な結果を得た。その中には受注に至った案件もある。また、一年以上の試験販売により安定した処理性能を実現している工場もある(図5)。現在、起業に向けた販路の拡大に繋げるため、さらなる実証試験を積み重ねるべく、活動中である。この実証試験で活躍しているのが、A-Stepの中で製作した実証試験用デモ機である(図6)。これは、現場に運搬して設置、稼働させる可動式のユニットであり、工場排水の一部を引き込んで油脂分解システムで処理した後に元の排水処理工程に戻すため、操業中に試験によるトラブルが起きるリスクが低く、安心して現場実証試験を行える。実排水を使用し、滞留時間などは希望の時間に設定して試験を行える。本技術の対象である油脂分解槽だけでなく、後段の活性汚泥槽と沈殿槽も設けてあり、微生物製剤の後段の処理への影響を調べることができる。各槽のサンプル

を定期的に自動採取し冷蔵保存する機能も備えており、点検時にサンプルを持ち帰って実験室で各種分析に処することが可能である。処理の様子を可視化するために、各槽ともに透明の亚克力板のはめ窓を設けてあるか、または槽自体が亚克力製である。つまり、処理の様子と効果を、直接目で見て確認可能である。こうして、デモ機を使った実証試験で効果を確認し、また、汚泥の大量発生やバルキングといった不安要素を解消してから、本システムの導入を決定できるようになっている。

4. コストメリット

どんなに優れた環境技術でも、コストが高ければ市場に浸透させるのは難しい⁹⁾。加圧浮上分離装置から出る油性汚泥分を大幅に減量できる、あるいは完全に消滅させることで、排水処理から出るトータルの汚泥量を減量し、産廃処分量を削減することによりコストダウンを図ることができる。工場にとっては、本システム導入のインセンティブとなる。定期的に投入する微生物製

に、微生物製剤を継続的に投与しなければならないのである。いわば排水のバイオコントロールであり、プロバイオティクス同様、環境における今後の重要な技術になるであろう。

筆者らは、複数の実工場にて行われてきた現場実証試験において、油脂分解微生物を投入した廃水処理施設の微生物フローラの変化等を、油の分解効果などと合わせて詳細に解析してきた。その結果、投入微生物を一定のポピュレーションで維持し、目的の分解機能を発揮させるための理論を構築するに至った。ポイントは、土着微生物と競争させるのではなく、仲良く共存させることであり、微生物共生系を形成させることである。その方法は、現場の微生物フローラと環境条件によって異なるため一概には説明できないが、環境微生物フローラの分子解析を検証することで、現場の微生物フローラにあった共生系を構築することができる。

6. 環境のバイオコントロールにおける課題

排水処理中に投入された微生物を、少なくとも処理中は反応槽中に留める必要があるが、逆にいつまでも残存し環境中に流出してしまうことが都合の悪い場合もある。筆者らの開発した油脂分解微生物は病原性微生物でないことは動物実験等で明らかになっているから、排水処理場から環境中に流出しても問題を起こすリスクは低い。しかし、輸出を考えると、今後、日本も加盟している生物多様性条約上の問題が生じる可能性もある。日本で単離した微生物は、輸出相手国にとっては外来微生物ということになるので、現地の微生物生態系及びそれを通じた高次の生態系に影響を及ぼすリスクはないのか検討する必要が出てくるかもしれない。しかし、現状では、そのようなリスクを検討するための研究というのは、世の中ではほとんど行われていない。日本も外国産の微生物製剤を輸入しており、排水処理などに利用されているが、高等生物の外来種のように、生態系の攪乱や固有種の保全などの問題が表面化したことはない。当面はこの問題が前面に出てくることはなさそうである。参考になり得るのは、平成17年に経済産業省と環境省が出した「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」である。ここでは、バイオレメディエーションの中でも、バイオオーグメンテーションを対象としている。自然界から単離した微生物を外部で培養し、開放系に適用するという点では、微生物製剤を排水に適用する技術と類似している。しかし、バイオレメディエーションの適用対象が環境そのものであるのに対し、排水処理では、微生物の適用対象は排水処理施設そのもので、環境ではない。排水処理槽にはそもそも活性汚泥が存在し、多様な微生物が高濃度に存在している系であるので、一般環境とは微生物生態系は全く異なる。また、排水処理施設では、必要に応じて放流前に塩素殺菌することもできる。よって、バイオレメディエーションとは土俵が全く異なるとも言える。排水処理に微生物製剤を適用する際には、むしろ活性汚泥中の微生物フローラの変化とそれによる全体の処理効率への影響の方が重要になってくるであろう。例えば、油脂分解微生物の投入により油分濃度を低減できても、BOD除去率の低下やバルキングを引

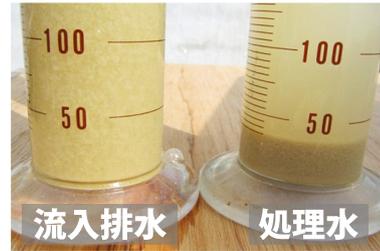


図7. 微生物分解処理による汚泥沈降性の改善

き起こすようでは、その微生物を排水処理に適用することは難しくなる。また、微生物を添加するため、その分、余剰汚泥が増えるのではないかと懸念もある。筆者らの開発した油脂分解微生物は、BODの低減効果もあり、さらに汚泥の沈降性が格段によくなる(図7)。また、分解した油分は、微生物に代謝されて最終的に二酸化炭素と水にまで無機化されるか、または微生物細胞体に変換される。しかし、微生物はそのまま活性汚泥槽に流出するので、汚泥の微生物フローラには影響を与えても、活性汚泥槽から出る汚泥量そのものにはほとんど変化はない。

遺伝子組換え微生物の使用についてはどうであろうか。油脂や他の特定の化学物質の分解能力の高い遺伝子組換え微生物を、排水処理を含む環境浄化技術に利用したいという要望も高い。しかし、先の生物多様性条約とも絡んでカルタヘナ法が平成16年に施行され、これにより遺伝子組換え生物の使用に規制がかかった。したがって、バイオレメディエーションは無論、排水処理においても、遺伝子組換え微生物を開放系で使用することは、事実上認められていない。先述のバイオレメディエーション利用指針でも、遺伝子組換え微生物はバイオオーグメンテーションの対象となっていない。しかし近年のゲノム編集技術の台頭により、この技術により創出された微生物を環境に放出してもよいかという議論の必要性が出てきた。日本では、暫定的には、ゲノム編集生物も遺伝子組換え生物と同様に扱うことのようにあるが、米国では、遺伝子組換え微生物とは区別して環境放出も含め規制をしないようであり、バイオテクノロジー産業で米国に大きく遅れをとる可能性が高くなる。ゲノム編集微生物を含む微生物の環境放出についてのリスク評価手法の確立と標準化を、国家プロジェクトとして推進すべきである。それを踏まえ、パブリックアクセプタンスを得る戦略を描かないと、バイオレメディエーションのときと同様な障害にぶつかりかねない。

7. 今後の展開

本技術は一部すでに試験販売により市場に出ているが、いよいよ本格的なビジネスに移行する段階となった。市場は国内だけではない。東南アジアや中国などでは環境技術に対する需要も高まってきており、経済力の向上とともに市場開拓のチャンスは確実に広がってきている。しかし、目で見えない上に開放系で使用される微生物は特許侵害が起きやすく、それを立証するための微生物解析技術が必要である。あるいは近縁種の利用の場

合、特許侵害を認めさせるのは困難な場合もある。さらに、微生物製剤が利益を上げることが明らかになると、開発競争の激化が予想される。よって、より効力の高い微生物製剤を開発できる研究開発力が重要であることは、他の分野と変わらない。筆者らは、さらに汎用性と能力の高い油脂分解微生物も見出しており、第二世代油脂分解微生物製剤として市場に出すための準備を始めている。また、グリーストラップなど対流時間が極めて短いプロセスにも適用できるよう、接着性の高い油脂分解微生物も見出しているし⁸⁾、そのような接着性と高い油脂分解能力を併せ持つ微生物を効率よく単離する手法も確立している。微生物製剤も進化しているし、発達する微生物解析技術を駆使して微生物製剤の効果を最大限に発揮させるためのシステムの運用法などについても、ノウハウが蓄積されてきている。油脂以外の物質を対象とした微生物製剤の開発も進めており、バイオコントロー

ルの理論を進展させ、これを新産業分野に育てることを夢に描きながら、研究開発を進めている。

文 献

- 1) 特許登録 5470614 (特願 2009-079432, 発明者: 堀 克敏)
- 2) 特許登録 5640211 (特願 2009-079299, 発明者: 堀 克敏)
- 3) Matsuoka, H., A. Miura, and K. Hori. 2009. *J. Biosci. Bioeng.* 107: 401–408.
- 4) 特許登録 5685783 (特願 2012-9451, 発明者: 堀 克敏)
- 5) 堀 克敏 (監著). 2013. 低コスト・ハイパフォーマンス技術による水処理革命. コロナ社.
- 6) 中村和憲. 2002. 微生物による環境改善. 米田出版.
- 7) 高畑 陽. 2013. 環境バイオテクノロジー学会誌. 13: 19–23.
- 8) Hori, K., M. Ishikawa, M. Yamada, A. Higuchi, Y. Ishikawa, and H. Ebi. 2011. *J. Biosci. Bioeng.* 111: 31–36.