

ヒ酸塩還元菌とメディエーターを併用した ヒ素汚染土壌浄化技術

山村 茂樹*・渡邊 未来

土壌汚染対策法の施行を契機として、工場跡地の再開発などに伴う土壌汚染の顕在化が重要な社会問題となっている。なかでもヒ素は、検出頻度の高い汚染物質の一つとして知られており、我が国のみならず、世界各地で深刻な汚染を引き起こしている。現在その処理には、汚染された土壌の封じ込めや掘削除去が多用されているが、一般的にきわめて高コストである。また、処理後の土地利用が大きく制限される、もしくは処理によって土壌自体を失うという制約もある。一方、土壌粒子の分級洗浄や酸による抽出など、ヒ素を物理化学的に土壌から除去する技術もあるが、処理の過程で土壌の細粒分やヒ素以外の成分も失われる。そのため、ヒ素汚染土壌に対する低コスト、かつ有効な浄化技術は、いまだ確立されていないのが現状である。

そこで我々は、元来、環境中でのヒ素の循環・挙動に関わっているとされてきた微生物による固相から液相へのヒ素の可溶化作用を利用して、安価かつ土壌への量的・質的ダメージの少ないヒ素汚染土壌浄化技術の開発を行っている¹⁻³⁾。本稿では、その基礎検討として、ヒ酸塩還元菌 *Bacillus selenitarsenatis* SF-1 株⁴⁾ による実際の汚染土壌からのヒ素の可溶化・除去と、還元メディエーターによる除去効率の向上を検討した研究を紹介し、実用技術への展望を概説する。

ヒ酸塩還元菌によるヒ素の可溶化

浄化原理 ヒ素は土壌環境中で、ほとんどが無機態であるヒ酸塩 [As(V)] と亜ヒ酸塩 [As(III)] として存在するが、As(III) は As(V) より土壌粒子への吸着性が低く、水相へ溶出しやすいことが知られている。好気的な環境では、大半が As(V) の形で存在し、土壌中の Fe(III) や Al 酸化物に吸着・結合しているが、嫌気条件になると主に As(III) の形で可溶化される。図 1 に示したように、このヒ素の可溶化は、主に As(V) 自身の還元 (直接メカニズム) と、As(V) を吸着している Fe(III) 鉱物の還元・可溶化 (間接メカニズム) によって起こり、微生物がその反応の中心的役割を担っていることが明らかとなっている⁵⁾。汚染土壌中のヒ素は、主に As(V) として存在す

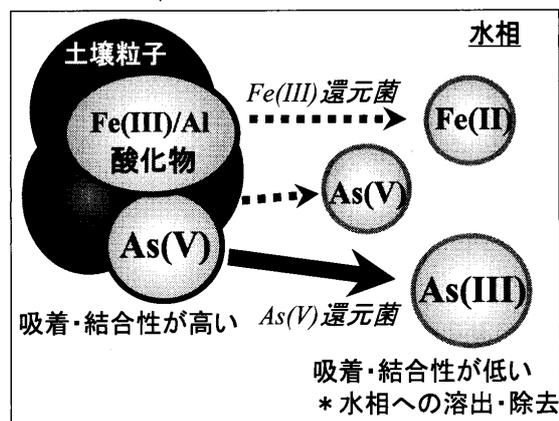


図 1. 微生物によるヒ素の可溶化。実線は As(V) 還元菌による直接的可溶化、破線は Fe(III) 還元菌による間接的可溶化を示す。

る傾向があるという報告がなされているため^{6,7)}、特に直接メカニズムを担う As(V) 還元菌を有効に活用すれば、ヒ素のみを特異的に水相へ抽出・除去することが理論的に可能である。

汚染土壌からのヒ素の可溶化 As(V) 還元菌を利用することで、実際に汚染土壌からヒ素を可溶化できることを示すため、国内某所から採取したヒ素濃度の異なる 2 種類の汚染土壌を用いて実験を行った。図 2 には、As(V) 還元菌 *B. selenitarsenatis* SF-1 株を含む培養液を汚染土壌と混合し、嫌気条件下において培養した際の液相ヒ素濃度の経時変化を示した。いずれの汚染土壌の場合も、SF-1 株を加えた実験系では、開始直後から液相ヒ素濃度の増加が見られ、時間の経過に伴って、かなりの量のヒ素が可溶化されることが確認された。一方、SF-1 株を加えていないコントロール系においても、土壌粒子からのヒ素の脱着による緩やかな濃度上昇が見られたが、実験 7 日後においても SF-1 株を加えた系の半分以下の濃度にとどまった。ここでデータは示さないが、SF-1 株は旺盛な As(V) 還元能^{1,2)}に加え、Fe(III) 還元能³⁾も有していることが明らかとなっている。そのため、SF-1 株は直接・間接の両メカニズムによって、土壌中のヒ素を可溶化しているものと推察された。

*著者紹介 独立行政法人国立環境研究所 水圏環境研究領域 (研究員) E-mail: yshige@nies.go.jp

特 集

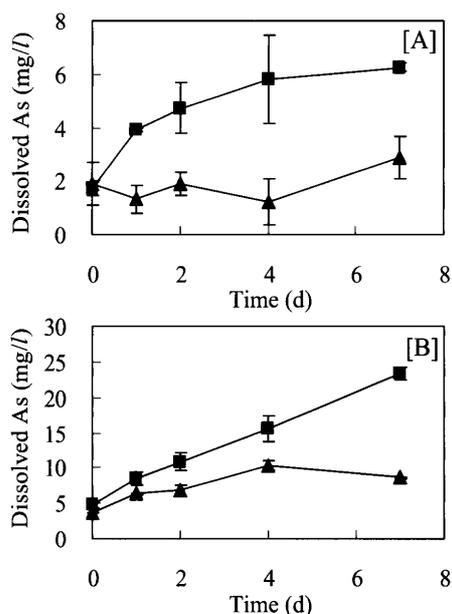


図2. As(V)還元菌を用いた汚染土壌からのヒ素の可溶化. (A) 低濃度汚染土壌 (250 mg-As/kg), (B) 高濃度汚染土壌 (2400 mg-As/kg). ■, SF-1; ▲, control.

メディエーターによるヒ素可溶化・除去の促進

上述のように, As(V)還元菌を汚染土壌に加えることによって, ある程度のヒ素を可溶化・除去できることが明らかとなった. しかし, 実験終了後の土壌に残存しているヒ素濃度を分析したところ, 低濃度汚染土壌でも土壌汚染対策法の含有量基準値 (150 mg-As/kg) 前後で検出され, 必ずしも実利用に適したレベルには至らなかった. そこで, 除去効率の向上を目的として, 微生物と外的環境との電子授受を促進させるメディエーターの併用を検討した⁹⁾.

可溶化促進メカニズム 環境中に存在する腐植物質やキノンなどは, Fe(III)のような無機物質と同様, 微生物による還元を受ける⁸⁾. さらに, 還元型となったこれらの物質は, 自身が還元剤となってFe(III)を還元するため, 微生物による不溶性のFe(III)酸化物の還元・可溶化を促進するメディエーターとなることが明らかとなっている⁹⁾. 既に述べたように, 土壌粒子へのAs(V)の保持にはFe(III)酸化物が大きく寄与していることから, ある種のキノンをメディエーターとして活用すれば, 間接的なヒ素の可溶化を促進できる可能性が高い. さらに, 還元型のヒドロキノンはCr(VI)などの他の金属類も還元できることから¹⁰⁾, As(V)の還元を直接促進できる可能性もある. 還元剤として機能したヒドロキノンは再びキノンの形に戻るため, 系内で繰り返し利用することが可能となる.

モデル物質を用いた実証試験 上記の仮説を実証す

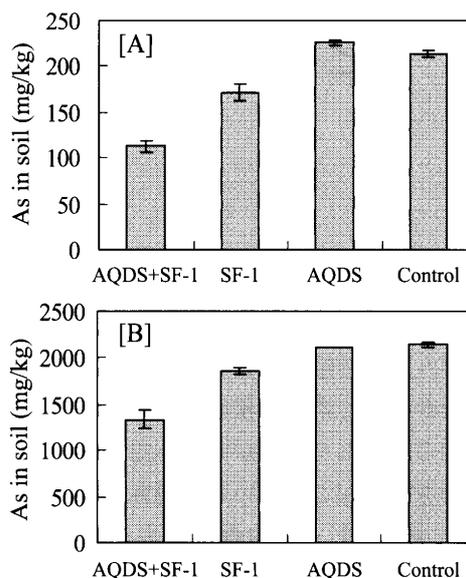


図3. As(V)還元菌とAQDSを併用した汚染土壌からのヒ素の可溶化・除去. (A) 低濃度汚染土壌 (250 mg-As/kg), (B) 高濃度汚染土壌 (2400 mg-As/kg).

るため, モデル物質として, 微生物との反応によってFe(III)還元を促進することが知られているキノンの1種, anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS)を選定した⁹⁾. なお, 先に行った予備検討から, SF-1株はAQDSの還元能を有しており, 共存下で還元型のanthrahydroquinone-2, 6-disulfonate (AH₂QDS)が生成することを確認している. 図3には, 先と同様の実汚染土壌を用いた実験系に, AQDSを添加し, 7日間培養を行った後, 土壌中の残留ヒ素濃度を抽出・分析した結果を示した. いずれの土壌でも, SF-1株を加えていない対照実験では, AQDSを添加しても目立った変化は見られなかった. これに対して, SF-1株を加えた実験系では, 土壌中のヒ素濃度の明らかな低下が確認され, AQDSを共存させることで除去効率を大幅に改善できることが明らかとなった. 低濃度汚染土壌では, SF-1株とAQDSの併用によって, 実験終了時のヒ素濃度が110 mg-As/kgまで減少し, 含有量基準を十分にクリアすることができた. 一方, 高濃度汚染土壌では, 依然として基準値を超える高濃度のヒ素が残存していたが, 期間中に約1000 mg-As/kgが土壌から除去される結果となった.

また, 同実験において, 液相へ溶出した鉄濃度を図4に示した. いずれの土壌を用いた実験でも同様の傾向が見られたため, 図には低濃度汚染土壌の結果のみを示している. ヒ素の場合と同様, SF-1株を加えることによって液相の鉄濃度が増加し, さらに, AQDSと共存させることで大幅な溶出の促進が確認された. 溶出した鉄はほぼ全量がFe²⁺の形態であったことから, SF-1株自身およ

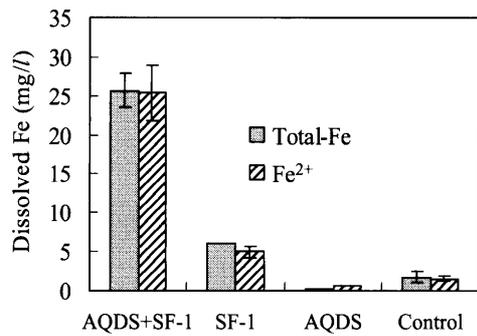


図4. As(V)還元菌とAQDSを併用した汚染土壌からのヒ素の可溶化に伴う鉄の溶出。

びSF-1株によるAQDS還元の結果生じたAH₂QDSが土壌中のFe(III)を還元し、溶出したものと考えられた。ここで、別途行った実験では、AH₂QDSは固相中のAs(V)を還元できないことが明らかとなった³⁾。したがって、AQDSを還元メディエーターとして利用した場合、主に間接メカニズムによってヒ素可溶化が促進されると考えられた。

土壌成分に及ぼす影響 As(V)還元菌とAQDSによるヒ素可溶化作用が、土壌を構成する他成分へ与える影響を確認するため、先のFeと同様、実験終了時に液相に溶出した土壌主要元素(P, Al, Mn, Ca, K, Mg, Na)の濃度を網羅的に測定した。結果、すべての実験系において、ほとんどの元素の液相濃度が同程度であり、SF-1株およびAQDSを添加したことによる溶出促進は認められなかった(データ不掲載)³⁾。また、土壌の抽出・分析の結果から、初期含有量に対する溶出率は、測定したほとんどの元素で数%以下であることが明らかとなり、これらの成分が過剰に失われていないことが確認された。さらに、SF-1株およびAQDSの添加によって溶出が大幅に促進されたFeにおいても、溶出率は最大で7%程度であったことから、汚染土壌からのヒ素の特異的可溶化・除去を概ね達成することができたといえる。

まとめと今後の展望

以上、本研究の結果から、As(V)還元菌*Bacillus selenatensis* SF-1株に加え、AQDSをメディエーターとして利用することによって、汚染土壌中のヒ素を効率よく可溶化できることが明らかとなった。また、比較的低濃度の汚染土壌では、今回行った基礎実験でも、含有量基準をクリアするレベルまでヒ素を除去できることが実証された。一般的に、微生物を利用した浄化技術は、物理化学的な手法に比べて、コストやエネルギーがかからないというメリットがある。さらに、本法は、ヒ素への特異的な反応によって土壌性状への影響も少なかったことか

ら、環境負荷の少ない新たな浄化プロセスとなり得るといえる。

しかしながら、2400 mg-As/kgという高濃度の汚染土壌に対しては、十分な除去効率が得られなかったため、今後、メディエーターの種類や濃度などの諸条件を検討し、更なる効率化を図る必要がある。特に、今回メディエーターのモデル物質として利用したAQDSは、固相のAs(V)還元、すなわち、直接メカニズムによるヒ素可溶化を促進することはできなかった。また、AQDSは環境中での生分解を受けにくい可能性もあるため、長期的残存や水環境への流出による生態系などへの影響にも疑問が残る。したがって、実利用に向けては、天然由来のメディエーター機能を持つと考えられる物質¹¹⁾から、効率・安全性の高いものを選定しておくことが重要となるだろう。

既存のAs(V)還元菌は、ヒ素で汚染された種々の環境から分離されており、系統学的にも多様であるため¹²⁾、汚染サイトに幅広く分布している可能性が高い。そのため、実際に本法を汚染浄化に利用する場合、オンサイトでのスラリーバイオリアクターによる処理に加え、サイトの条件によっては、メディエーターを含む溶液を注入・揚水してヒ素を抽出除去する原位置での適用も可能であろう。今後、汚染濃度や土壌性状に応じた複数の浄化システムを構築し、ラボスケール・パイロットスケールでその有効性を検証していきたい。また、浄化に伴って生じる排水の適切な処理方法も検討し、浄化達成後のヒ素の管理・再利用を視野に入れた総合的プロセスを構築したいと考えている。

本研究は、大阪大学大学院工学研究科 池道彦教授、惣田訓准教授との共同研究の成果である。また、本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金・若手研究(B)の助成を受けて実施した。ここに記して謝意を表する。

文 献

- 1) Yamamura, S. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **96**, 454 (2003).
- 2) Yamamura, S. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **100**, 219 (2005).
- 3) Yamamura, S. et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 6154 (2008).
- 4) Yamamura, S. et al.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **57**, 1060 (2007).
- 5) Islam, F. S. et al.: *Nature*, **430**, 68 (2004).
- 6) Garcia-Manyes, S. et al.: *Talanta*, **58**, 97 (2002).
- 7) Cancès, B. et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 9398 (2005).
- 8) Lovley, D. R. et al.: *Nature*, **382**, 445 (1996).
- 9) Nevin, K. P. et al.: *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 2472 (2000).
- 10) Fredrickson, J. K. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 2006 (2000).
- 11) Camarero, S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 1775 (2005).
- 12) Oremland, R. S. and Stolz, J. F.: *Science*, **300**, 939 (2003).