

微生物の代謝を利用した重金属汚染土の浄化効果

田村 和也¹・大嶺 聖¹・安福 規之¹

¹九州大学大学院

1. 背景

近年、企業の工場跡地の再開発事業者による汚染調査の実施、都道府県等による地下水汚染の常時監視の拡充等にもない、重金属による土壌汚染が顕在化してきている。土壌環境センターの調査によると国内で浄化作業が必要な土地は 32 万箇所にも及ぶとされている。そのなかで都市部の中小・零細企業が集積する場所では、総開発費と再開発効果に対して土壌汚染修復のための高額な対策費用により、不動産の再開発や取引が思う

ように進まず汚染が放置されるなどのブラウンフィールドが発生しており、社会問題化している。そこで、新たな浄化技術が必要とされている。なお、土壌汚染対策法における六価クロム、鉛の溶出基準、含有量基準を表 1 に示す。

本研究では、六価クロムおよび鉛の汚染土について微生物の代謝、主に嫌気性発酵を活用した浄化技術の開発のための基礎的研究として溶出量や有機物の吸着量の特性を明らかにし、浄化効果について検討を行う。さらに鉛汚染土に対しては植物を用いた原位置浄化技術であるファイトレメディエーションの適用を考え、有機物の鉛吸着による浄化効果がどの程度あるかの検討を行う。

2 嫌気発酵と好気発酵

多くの自治体では微生物の代謝を利用して生ゴミをコンポスト(堆肥化)することでゴミを減らすことを推奨している。生ごみや有機物のコンポスト化は農家や堆肥製造業者が行う場合は、通常好気発酵のみで行っている。それは好気発酵のほうが嫌気発酵よりも発酵時間が短く、大量の有機物を一気にコンポスト化するには効率がいいからである。しかし一般家庭で行う場合には嫌気発酵を行ってから好気発酵を行う方法も取り入れられている。それは嫌気発酵を行うことで水分が抜け、好気発酵を行うときに腐食しにくくなるからである。さらに pH が酸性になることで分解に有用な微生物のみが育つ土壌環境にすることができるためである。本研究で注目したのはこの嫌気発酵を行うと pH が酸性になるという性質である。刈草を混合して嫌気発酵させたあと、寒天上で好気発酵を行い、顕微鏡写真で観察した状態を写真 1 に示す。有機物の発酵により菌が発生して土粒子の周りに付いている様子が見て取れる。



写真 1 発酵中の刈草の顕微鏡写真
(線状になっているものが微生物)

3 六価クロム汚染土の浄化

3.1 六価クロムの溶出量低減

(1) 溶出低減のメカニズム クロムの化合物として三価クロムと六価クロムが一般的に知られている。クロムを用いた材料として、安定した極めて錆びにくい無害の金属で鉄との合金であるステンレスがある。家庭用品のめっきにはほとんどクロムが用いられている。めっきの部分はクロム金属の薄膜である。クロムは地球上の土壌中にクロム単体または三価クロムの形で広く存在する。三価クロムが自然界に広く安定して存在し、無害であるのに対して、六価クロムは極めて強い毒性を持ち自然界ではクロム鉱石として限定的に存在するに過ぎない。六価クロムは人工的には三価クロムを高熱で焼くことによって生成される。六価クロムは不安定な物質で、容易に水に溶け、酸性溶液中で有機物と接触するとその有機物を酸化して自身は三価クロムに還元される。還元され発生した三価クロムは無害である。この有機物により還元される性質を利用し、六価クロムの溶出量を低減させる。汚染土壌に、有機物を含み、微生物の住処となる腐葉土を投入することで発酵が起こりやすい土壌とする。その土壌に有機物を投入し嫌気状態で発酵することにより土壌

Purification effect of contaminated soil with heavy metal using metabolic of microorganism

Kazuya Tamura, Kiyoshi Omine, Noriyuki Yasufuku (Kyusyu University)

KEY WORDS:Soil pollution, Micro organism, Phytoremediation, Anaerobic fermentation

を酸性側にする。それにより有機物と六価クロムを結びつきやすくなり溶出量が低減できると考えられる。

(2) 六価クロムの汚染土の溶出試験

実験条件を表2、表3に示す。表3に示す重量になるように、濃度 50mg/Lの六価クロム標準液（ニクロム酸カリウム）をそれぞれの試料のまさ土に添加した。試料はビニール袋に入れて静置させた。試料2においては腐葉土を添加し、土壌を改良することによる溶出低減効果の程度を調べる。試料3は好気発酵を促進する米ぬかを用いて、好気発酵のみを行った。また、試料4はビニール袋をしばり、外気にふれないようにし、1週間程度嫌気発酵をさせ、その後袋を開き好気発酵をさせた。EM ぼかしの EM とは有用微生物群（Effective Micro-organisms）の頭文字をとったもので、嫌気発酵を促進するために加えた。写真2に発酵前の試料、写真3に発酵が終わった時点の試料の様子を示す。発酵が終わった後、試料から 50g 取出し、環境庁告示 46号における試験方法で、溶出試験のための検液を作成し溶出量の測定を行った。測定は、ポータブル分光光度計 DR2800 を用い、パウダーピロー法を用いて測定した。

表2 試料配合

試料 No.	まさ土 (g)	腐葉土 (g)	刈草 (g)	米ぬか (g)	EM ぼかし (g)	備考
1	500					模擬汚染土
2	500	50				腐葉土のみ添加
3	500	50	50	25		好気発酵
4	500	50	50		5	嫌気発酵

表3 試料中に含まれる六価クロムの重量

	C1	C2
六価クロム (mg)	2.5	5.0



写真2 発酵前の試料



写真3 嫌気発酵から好気発酵終了後の試料
(刈草が完全に分解されている)

(3) 実験結果および考察 溶出試験結果、pH 測定結果を表4に、六価クロムの溶出結果を図1にそれぞれ示す。なお、試料1の六価クロムの最大溶出量はC1とC2でそれぞれ0.05、0.10mg/Lである。表4から試料1において最大溶出量を超えているがこれは測定誤差であると判断した。また、嫌気発酵を行うと土壌が酸性側になり、溶出量が減少した。また、有機物を含み、微生物のすみかとなる腐葉土を加えるだけでも環境基準値以下に溶出低減を行えることがわかった。表4の試料2と試料3を結果から、好気性分解のみを行っても溶出低減できていることがわかる。溶出量の違いは、刈草を加えたことによる有機物量の違いにより表れていると考えられる。図1から、汚染度が高まっても同程度の浄化効果が得られることがわかった。

表4 溶出試験、pH 測定の結果

試料 No.		1	2	3	4
六価クロム溶出量 (mg/L)	C1	0.084	0.021	0.015	N.D.
	C2	0.113	0.048	0.031	N.D.
pH	C1	7.67	7.08	7.73	6.94
	C2	7.97	7.22	7.18	6.98

以上より、六価クロム汚染土の溶出低減には、腐葉土を添加し、そこに有機分を加えて嫌気性発酵をすることが有効であることがわかった。これは、土壌の pH が酸性になり六価クロムが土壌中の水分に容易に溶け、有機分と結びついて還元されやすくなることにより溶出量の低減されるためである。また、濃度が変わっても同程度の溶出低減効果が得

られることがわかった。

3.2 微生物の効果

(1) オートクレーブによる滅菌 腐葉土を用いたことによる浄化効果の要因を調べるために、微生物の有無による効果を検討した。腐葉土 50g を 2 つ準備して、1 つの試料においてオートクレーブ(滅菌処理)を行うことで腐葉土中の微生物を除去した。その試料をオートクレーブ終了後すぐにバッチ試験を行うことで、微生物がほとんど存在しない状態での溶出量を測定した。その結果を表 5 に示す。表 5 を見るとオートクレーブをした試料と未処理の試料の溶出量がほとんど変わらず、微生物の影響は見られなかった。よって、腐葉土を加えることによる効果は微生物の存在によるものではなく、腐植物質の存在によるもの大きいと考えられる。

(2) 微生物量の測定 表 2 における試料において、微生物量を調べることによって、溶出量との相関性がないかどうかを検討した。微生物量は ATP を測定することによりわかる。ATP とは、生物の細胞中に必ず存在するもので、すべての生命活動をつかさどる重要な化学物質である。そのため、微生物も当然 ATP を含有しており、ATP の測定により、微生物量を知ることができる。測定はキッコーマンのルシフェール 250 の ATP 測定用試薬キットを用いて測定した。結果を表 6 に示す。好気発酵のみ、嫌気発酵のみに関しては試料作成後 5 日目のもの、嫌気発酵から好気発酵のものについては 5 日嫌気発酵したものをさらに 5 日間好気発酵したものを試料とした。表 6 から、嫌気および好気発酵させることによって微生物の量はかなり増加することがわかる。この中で好気発酵のみをおこなった試料の微生物量が一番多い結果となった。これは米ぬかによる効果が大いと考えられる。好気発酵は嫌気発酵よりも発酵速度が速いことも原因の一つと考えられる。嫌気発酵を行いそれから好気発酵を行った試料との差は、米ぬかの有無にあると思われる。この結果から、六価クロムの溶出低減は微生物の代謝が大きく関与し、その効果は好気性微生物よりも嫌気性微生物による影響が大いと考えられる。

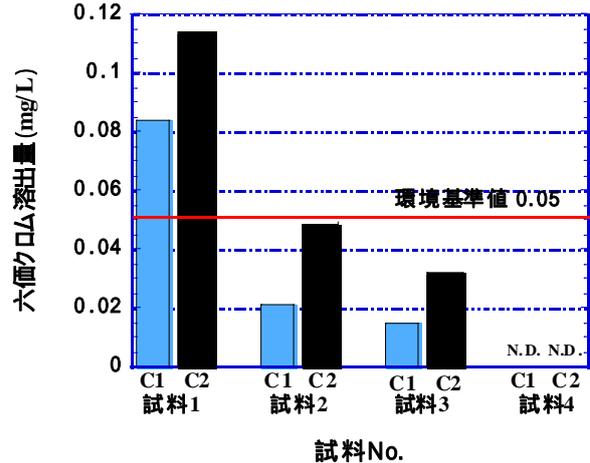


図 1 六価クロム溶出量

表 5 オートクレーブ処理した腐葉土の六価クロム溶出

	オートクレーブ	未処理
六価クロム溶出量 (mg/L)	0.120	0.110

表 6 微生物量

	まさ土	まさ土 + 腐葉土	腐葉土のみ	嫌気発酵	嫌気発酵から好気発酵	好気発酵
微生物量 (RLU/g)	867	1,600	9,933	63,773	90,300	179,367

4 鉛汚染土の浄化

4.1 植物を利用した浄化

重金属を高濃度に集積する植物を利用した浄化を目指す。植物には、重金属吸収に関して、indicator、excluder、hyperaccumulator の 3 つのタイプがあり、indicator は、土壌中の金属濃度に比例して蓄積するタイプ、excluder は金属を排除し吸収しないタイプ、hyperaccumulator は、土壌中の濃度よりも高い濃度の金属を蓄積するタイプである¹⁾。西洋カラシナが鉛に対する hyperaccumulator として知られており、本研究でも西洋カラシナを用いた。

4.2 有機物の鉛吸着特性

(1) 試験方法 バッチ試験を行うことで吸着特性を明らかにする。分子吸光用 Pb 標準液を用いて 100、300、600、800mg/L に調整した溶液 50ml に試料 (1.まさ土、

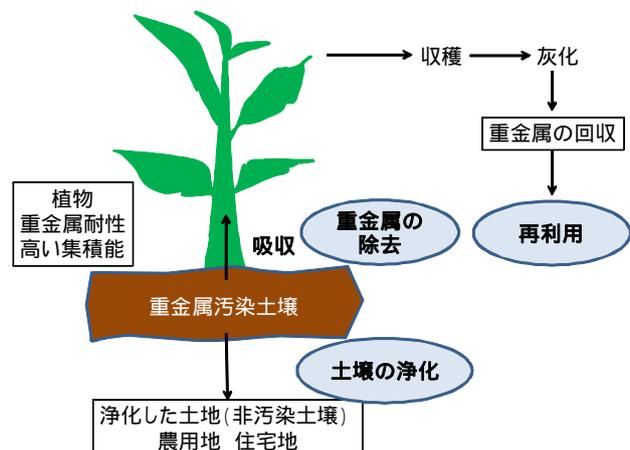


図 2 植物を利用した土壌浄化のイメージ

2.腐葉土、3.刈草 + EM 菌) を 5g 入れる。振とう機で 2 時間、150rpm の攪拌効果を与える。恒温室に 24 時間静置し、遠心分離機で 20 分間、5000rpm で固液分離させる。上澄み液を 0.45 μm のろ紙でろ過し、供試液を得る。得られた供試液の汚染物質濃度を、分子吸光分析装置を用いて PAR 法で測定する。

(2) 試験結果 図 3 に鉛の吸着等温線を示す。図 3 の結果から、まさ土は吸着力がほとんどないことがわかった。しかし、腐葉土と刈草は非常によい吸着特性を持っており、鉛は有機物と強く結び付くことがわかった。これにより植物が有機物を吸収する場合に、吸着した鉛を同時に取り込みやすくなるのではないかと考える。

4.3 鉛の溶出試験

六価クロムの溶出試験と同様の表 2 の配合の試料を用い、試料に粉末の鉛を 500mg 添加し、溶出試験を行った(鉛含有量 1000mg/kg)。表 4 に溶出試験結果を示す。試料 1 と試料 2 を比較すると、腐葉土を加えただけで溶出量は増加している。また、嫌気発酵を行うと、2 倍程度に溶出量が増加した。これは pH の低下により鉛の溶解度が増加するためだと考えられる。また、まさ土には自然状態で様々な塩基物や重金属が含まれており、それが腐葉土や刈草と結びつき、鉛の吸着量の減少を招いたのではないかと考えられる。

4.4 植物による鉛吸収試験

表 2 の溶出試験と同様の試料を用いる。試料に粉末の鉛を 500mg 添加し、土中の鉛含有量を 1000mg/kg とする。また比較のために鉛を入れていない試料を作成した。発酵が終わり、肥料として使用できる状態になってから、カラシナの種をポットに 8 粒ずつ植える。ガラス温室で成長させる。温度は 20 度、湿度は 60% になるようにしている。水はポットから流れ出さない量を成長を見ながら適宜加えた。成長してから 5 粒程度に間引きを行い、間引いたカラシナも保存しておき、鉛の含有量の測定を行う。現在は種を植えてから 2 か月経過しており、現在の状況を写真 4 に示す。写真 4 からわかるように、鉛の有無による発育状況の違いはほとんど見られない。また、好気発酵、嫌気発酵を行った試料に関しては発育が早く、よい堆肥となっていることがわかる。まさ土のみと腐葉土添加のみの試料がもう少し成長した段階で鉛の含有量を測定する。

5. まとめ

六価クロム汚染土に対しては腐葉土と刈草を添加し、汚染土中で有機物を嫌気発酵することにより溶出量の低減を行うことができた。今後、汚染濃度を増加させていき、どの程度の汚染までなら環境基準値以下に抑えることができるのか、また、刈草の添加量の違いにより浄化の効果に変化があるのかの検討も必要である。鉛汚染土に対しては、腐葉土と刈草の鉛吸着力が高いことがわかったため、植物が有機物を吸収する際により多くの鉛を収奪することが期待される。現在、溶出試験を行った配合を用いて、カラシナの育成を行っており、鉛の吸収能力を測定する予定である。

参考文献

1) 発行者 吉田隆：植物による環境負荷低減技術，pp180、181，2000 年

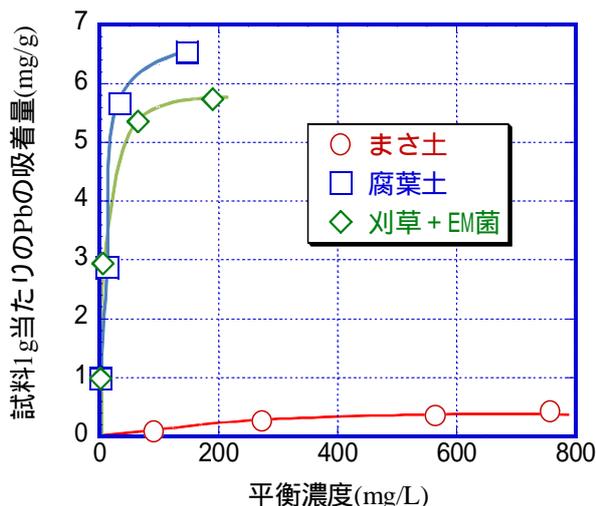


図 3 鉛の吸着等温線

表 7 鉛の溶出量

試料 NO.	1 モデル汚染土	2 腐葉土のみ添加	3 好気発酵	4 嫌気発酵
Pb 溶出量 (mg/L)	0.308	0.440	0.516	0.792
pH	6.73	6.50	6.58	6.22



写真 4 カラシナの育成状況

上段：鉛汚染土、下段：鉛を含まない試料
左から試料 1、2、3、4