

土壤中微生物の活性に対する重金属の影響

京都大学大学院工学研究科 学生員 清水 剛

同上 正員 寺島 泰

同上 長尾 正悟

同上 学生員 林 信州

1. はじめに

土壤が果たしている機能のひとつに土壤中の微生物の培養機能がある。土壤汚染がこの土壤中微生物培養機能にも影響を及ぼすことが知られている。しかし、土壤汚染による土壤微生物への影響に関する要因は多様であり、現状では土壤汚染の指標として活用し得るまでには至っていない。

従来、微生物活性を測定する方法として、呼吸速度の測定、ATPやDNAの濃度測定などが用いられてきた。最近、微生物の増殖を熱的に測定するBio Thermo Analyzer(以下BTA)が発酵や食品関連分野で注目を集め、発酵における微生物阻害作用の解明や食品保存における微生物の増殖防止の添加剤、保存条件の検討などに有効であることが確認されつつある。

本研究では、まず供試土壤中に含まれている元素の重金属量を求め、次にBTAを用いて土壤中微生物の活性に対する数種の重金属の影響を測定した。そして土壤中微生物の活性阻害という観点から土壤汚染の評価をおこない、それらをもとに土壤環境基準値の考察をした。

2. 実験方法

(1) 土壤中の重金属量の測定

土壤中重金属の測定には、土壤からの溶出難易度をも含めて検討することが必要であると考えられるので、土壤中の重金属を溶出難易度を指標として、存在形態別の重金属量をICP発光分析器を用いて測定した。

本研究では存在形態別重金属量測定法として、酢酸アンモニウム抽出法、酢酸-酢酸ナトリウム抽出法、硝酸-塩化ヒドロキシルアンモニウム抽出法、硝酸-酢酸アンモニウム抽出法、酢酸-塩化ヒドロキシルアンモニウム抽出法、という5段階に分けて測定する方法を用いた。この中で、酢酸アンモニウム抽出法(容易に溶出するもの)と酢酸-酢酸ナトリウム抽出法(炭酸塩とともに溶出するもの)によって抽出されるものの合計は、酸性雨によって容易に溶出するものであることから、土壤中微生物に対して影響を与える可能性が大きいものと考えられる。

(2) 微生物細胞代謝熱測定法による影響の測定

BTAは微生物細胞の放出する代謝熱の測定により微生物活性を測定する装置である。微生物の活性に伴い放出される熱は、BTAの熱測定センサーの上下面に温度差を生じさせ、この温度差に応じた電圧として読みとられる。熱測定により得られた代謝サーモグラムを積算することによって累積代謝サーモグラムが算出される。

本実験において、基質としてグルコースを用い、土壤中微生物の活性阻害を調べる対象として添加した重金属は、Cr、Fe、Cd、As、Mnの5種を選定し、各々の重金属の濃度を調製して、供試土壌2gに対して、基質と栄養塩の混合溶液0.2mLと重金属溶液0.2mLを添加した。

実験の結果より得られた代謝サーモグラムから、伝熱係数Kを用いて積算した累積代謝サーモグラムを計算した。一つの例としてMnSO₄を添加して得た代謝サーモグラムと累積代謝サーモグラムを図1と図2に示した。

キーワード：土壤汚染 重金属 活性阻害

連絡先 〒606-01 京都市左京区吉田本町 京都大学大学院工学研究科環境工学専攻 TEL 075-753-5171

3. 実験結果

代謝サーモグラムにおいて、添加した重金属濃度が増えるに伴い、ピークに達する時間が遅れ、また同時にピークの高さも小さくなる傾向がみられた。それにより、累積代謝サーモグラムにおいて、実験終了時におけるほぼ定常となった値、つまり、実験期間中に微生物の活性によって発生した総発熱量値は、濃度の高い重金属を添加したものほどその値が小さくなるという傾向がみられた。その総発熱量値 Q を用いて、 $MnSO_4$ 、 Na_2CrO_4 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $CdSO_4$ 、 Na_2HAsO_4 を添加した供試土壌による熱測定実験から得た累積代謝サーモグラムを評価した。重金属溶液を添加しなかった供試土壌の最大総発熱量値 Q_{max} と各重金属溶液を添加した供試土壌の総発熱量値 Q を用いて活性阻害率を次の式のように定義した。

$$\text{活性阻害率} = 1 - Q / Q_{max}$$

次に、2. (1) の供試土壌中の酸性雨とともに容易に溶出する重金属量の測定結果を用いて、供試土壌中に元来含まれる重金属量に添加した重金属量を加えたものに対する活性阻害率を計算した。一つの例として $MnSO_4$ を添加したものについて、重金属濃度軸を対数目盛りにとり、その対数回帰曲線と相関係数 R^2 を計算して、図3に示した。これより、活性阻害率が0.5になる重金属濃度を求め、土壌の汚染に係わる環境基準値(以下、土壌環境基準値)と比較した。Cd、Cr、Asの土壌環境基準値は、土壌試料と塩酸との重量体積比 10%の割合によって抽出した検液中の重金属濃度で決められている。その結果を表1に示す。

4. 考察および結論

微生物細胞代謝熱測定法による土壌中微生物の活性阻害率が0.5になる重金属濃度は、土壌中微生物はその多様な微生物の混合系によるものためか、あるいは土壌そのものの外界の影響を受けにくい性状のためか、土壌環境基準値と比べると極端に大きいものであると考えられる結果となった。このことは、逆に土壌環境基準値を満たす範囲では土壌中微生物の活性がなくなる可能性は低いことを示すものと考えられる。

参考文献：環境庁水質保全局土壌農業課監修；土壌汚染対策ハンドブック、1992

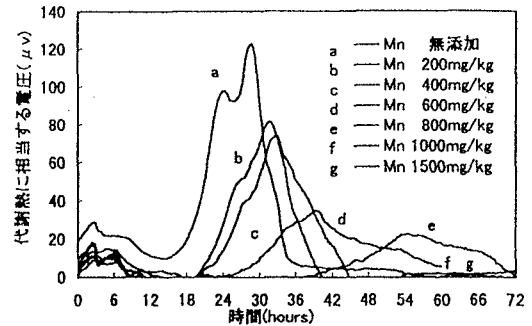


図1. $MnSO_4$ を添加した時の代謝サーモグラム

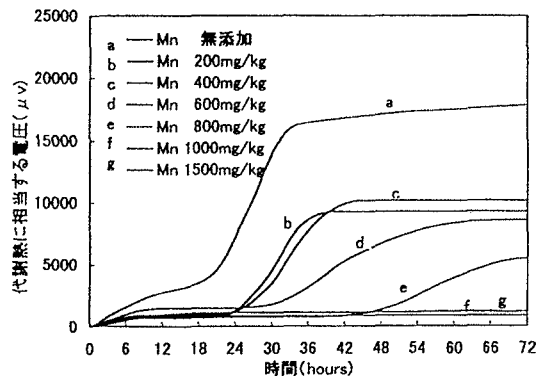


図2. $MnSO_4$ を添加した時の累積代謝サーモグラム

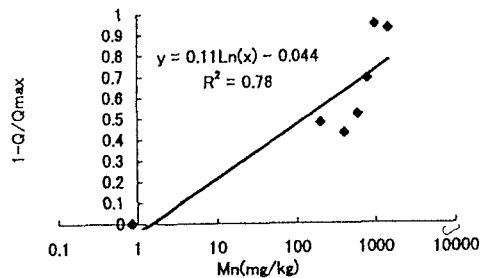


図3. Mnの濃度と活性阻害率の関係

表1. 土壌中微生物の活性阻害率が0.5になる各重金属の濃度および土壌環境基準の各重金属の濃度

	Cr	Cd	As	Fe	Mn
活性阻害率が0.5になる重金属の濃度(mg/kg)	0.97	160	330	350	240
土壌環境基準の各重金属の濃度(mg/kg)	0.5	0.1	0.1	---	---