

微生物機能を用いたカルシウム系鉱物析出技術に関する基礎的検討

長野工業高等専門学校 学生会員 立野菜緒
 同上 正会員 畠 俊郎

1. はじめに

農家の経営面積の狭い日本では、多肥による生産量の向上を図る傾向がつよく、過剰施肥が顕著化している。近年では、過剰施肥に由来する地下水汚染および土壌の酸性化が深刻になっており、人体の健康被害や作物の生育障害が懸念されている。施肥による汚染は広範囲におよび、地下水や土壌の浄化・修復において多大な費用と時間が必要となるため、まずは汚染範囲の拡大を最小限に止めることが重要であるといえる。本研究では、微生物の代謝機能を利用し、地盤内にカルシウム系鉱物を析出させ、地盤の透水性を低下させる技術について検討している。本研究の特徴は、化学合成無機独立栄養細菌である *Thiobacillus* 属の働きに着目した点にある。微生物群の活性を高めるための有機物の添加が不要であるため、地下水の富栄養化を引き起こす心配がなく、低環境負荷かつ安価に実施可能な技術の確立が見込まれる。本文では、*Thiobacillus* 属の集積培養試験のもと、代謝機能を利用したカルシウム系鉱物の析出について検証した結果を報告する。

2. 着目したカルシウム系鉱物析出メカニズム

Thiobacillus 属は自然界において普遍的に存在し、好気条件下では酸素を電子受容体として還元型硫黄 (S^{2-} , S^0 , $S_2O_3^{2-}$) の酸化をおこない硫酸イオン (SO_4^{2-}) を生成することが知られている。本研究で着目した微生物機能によるカルシウム系鉱物の析出メカニズムを式—1に示す。本技術の特徴は、代謝活動において硫酸イオンを生成する *Thiobacillus* 属の性質を利用し、有機物を含まないカルシウム源を添加することで $CaSO_4$ (石膏) を析出するという点にある。硫酸イオンとカルシウムイオンを結合することにより、pH 低下の抑制効果が期待される。



表—1 培養液組成

Solution	Culture Medium	Standard	析出促進	容量
A	NH ₄ Cl	1.0g/L	1.0g/L	47.25mL
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.5g/L	0.5g/L	
	MgSO ₄	0.3g/L	0.3g/L	
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2g/L	1.47g/L	
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.02g/L	0.02g/L	
B	KH ₂ PO ₄	16.0g/L	16.0g/L	1.25mL
	K ₂ HPO ₄	24.0g/L	24.0g/L	
C	Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	500.0g/L	500.0g/L	1.00mL
D	Trace element	0.258g/L	0.258g/L	0.50mL
Total				50.0mL

3. 集積培養試験の概要

微生物機能によるカルシウム系鉱物の析出について検証するため、*Thiobacillus* 属の集積培養試験を行った。培養液組成を表—1に示す¹⁾。*Thiobacillus* 属の優先化を目的とした Standard に対し、カルシウムの添加濃度を高くした試験区を析出促進とした。硫酸アンモニウムが散布された土壌サンプルにおいて、Standard の培養液により予め *Thiobacillus* 属の優先化を行った培養液を微生物源とし、1mL ずつ各試験区に添加した。培養は好気条件下、30℃で行った。分析項目および目的・方法を表—2に示す。

表—2 分析項目

分析項目	目的	方法(試験装置)
pH	培養液 pH 評価	twin pH (HORIBA)
硫酸イオン濃度	微生物機能評価	HPLC (イオンクロマト)
カルシウムイオン濃度	結晶化評価	原子吸光光度計 (Z-2003 型偏光ゼーマン)
析出物観察	析出物確認	SEM (VE-7800)
X線回折	結晶の同定	XRD (miniflex Rigaku)

キーワード *Thiobacillus* 属, 集積培養, カルシウム系鉱物

連絡先 〒381-8550 長野県長野市徳間 716 長野工業高等専門学校 環境都市工学科 TEL026-295-7096

4. 試験結果

硫酸イオン残存率と pH の推移を図—1 に示す。Standard において硫酸イオンの増加と共に pH 低下が認められた。これより、Thiobacillus 属の代謝の活性が高まったと考えられる。一方、析出促進においては硫酸イオンの顕著な減少がみられる。また、培養期間を通じて pH が 6 付近の値で一定となる傾向が得られ、中性域を維持することが明らかとなった。以上より、カルシウム源の添加による硫酸イオンの減少、pH の低下抑制が考えられる。

カルシウムイオン残存率と pH の推移を図—2 に示す。Standard においては、カルシウムイオン残存率に変化がみられなかった。これに対し、析出促進においてはカルシウムイオンの減少傾向が認められ、カルシウム系鉱物の生成が示唆される。pH については、Standard において低下が確認されたことに対し、析出促進では培養開始から一定に保たれる傾向が得られた。これより、カルシウムイオンの減少が pH の維持に関与していると考えられる。

両試験区において、培養に伴い何らかの析出物の生成が確認されたため、析出物を SEM (走査型電子顕微鏡) により撮影した。画像を図—3 に示す。なお、撮影条件は倍率 1200 倍、加速電圧を 1kV とした。析出物の構造の違いが明らかとなり、析出促進においては結晶とみられるものが確認された。

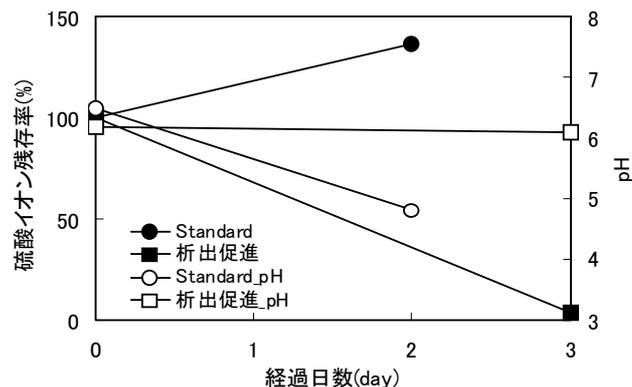
析出促進において生成した析出物について、X 線回折による結晶同定を行った。分析結果を図—4 に示す。ピークマッチングを行った結果、CaSO₄ のピークを確認することができた。これより、式—1 に示す反応を間接的に確認できる結果が得られた。

5. まとめ・今後の展望

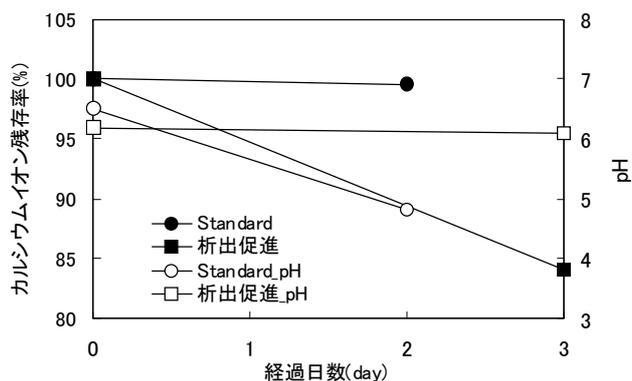
本研究により得られた知見を以下に示す。

- カルシウムの添加により、Thiobacillus 属の代謝に伴う硫酸イオンの増加及び pH 低下を抑制できる。
- 培養に伴う析出物の生成が確認された。
- カルシウムの添加により、析出物が結晶構造をもつことが明らかとなった。また、Thiobacillus 属の代謝機能による CaSO₄ の析出が確認された。

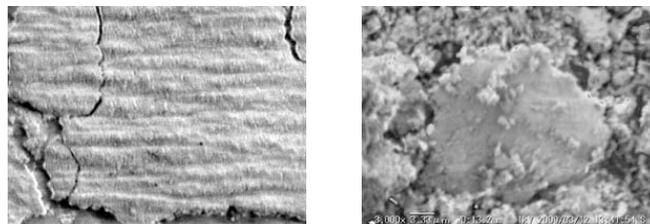
今後は、本技術の実土壌での実用化へ向け、スラリー試験や透水試験を行う計画である。また、微生物の代謝に適したカルシウム濃度や、代謝活動の持久性についても検討する必要があると考える。



図—1 硫酸イオン残存率と pH

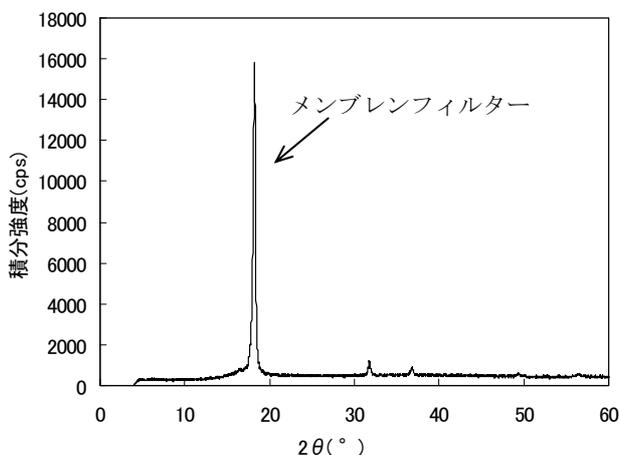


図—2 カルシウムイオン残存率と pH



Standard 析出促進

図—3 析出物の観察結果



図—4 X線回折結果 (析出促進)

参考文献：1) <http://www.udel.edu/BLC> 等