原位置微生物機能を利用した有害金属の固定化方法の検討（その 2）砒素の固定化

㈱竹中土木　技術・生産本部　正会員　○田邉　康太
㈱竹中工務店　技術研究所　正会員　奥田　信康
富山県立大学　正会員　畠　俊郎

１．はじめに

東北地方太平洋沖地震で発生した津波により、約 1000 万 t の津波堆積物が発生した。これらは処理後に復興に必要な、河川堤防や道路等土構造物の土材料に再利用される予定である。しかしながら、津波堆積物の一部には砒素等の有害金属が含まれており、再利用時には、膨大な量を環境や経済的に負担の少ない処理が求められる。そこで、我々は、ウレアーゼ産出能を持つ微生物に着目した。処理方法は、微生物機能で生成される炭酸イオンによる炭酸カルシウム析出物への有害金属イオンの固定化に、鉄イオンを併用することで固定化効果の増強を狙ったものである。はじめに、既往研究により選抜された、高い固化能力を持つウレアーゼ産出能微生物を用い、各種試験検討を行い、最終的には原位置に生息するウレアーゼ産出能を持つ微生物による有害金属の固定化を目標としている。本報では、室内試験にてウレアーゼ産出能微生物により、溶存態の砒素化合物の固定化を検討した結果について報告する。

なお、本研究は、独立行政法人科学技術振興機構の復興促進プログラム（マッチング促進）「原位置微生物機能を利用した有害津波堆積物の地盤構造物への有効活用」の一部として実施したものである。

２．試験方法

2.1　固定化のメカニズム

固定化のメカニズムとはウレアーゼ産出能微生物がもつ、尿素の加水分解酵素を利用して炭酸カルシウムを析出させ、カルサイト中に有害金属イオンを捕捉するものである。尿素の加水分解反応を式（1）に炭酸カルシウムの析出反応を式（2）に示す[1)]。

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4^+ + CO_3^{2-} \quad (1)$$

$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CaCO_3 \quad (2)$$

式（1）の加水分解に、本研究ではウレアーゼ産出能微生物，*Bacillus pasteurii*（最適 pH9）を使用した。*Bacillus pasteurii*の培養にはNH_4-YE 培地による液体培地を用いた。NH_4-YE 培地の組成を表 1 に示す。

表 1　NH_4-YE 培地の組成

名称	化学式	濃度
酵母エキス(Yeast Extract)		20.0 g/L
0.13M Tris	$C_4H_{11}NO_3$	15.7 g/L
硫酸アンモニウム	$(NH_4)_2SO_4$	5.00 g/L

培養した *Bacillus pasteurii* の活性は、菌体培養液に尿素溶液を混合させ加水分解により発生するアンモニアと炭酸イオンの量を、電気伝導の変化を測定することで評価を行った。その結果、培養後 7 から 14 日程度での活性が安定して高い[2)]ことから、本研究では、培養 7 から 10 日後の菌体培養液を用いた。

菌体培養液に対して、微生物の生育に必要な栄養と、加水分解反応のための尿素、カルシウム源として塩化カルシウムが含まれている固化溶液を混合することで、式（1）及び（2）の反応により炭酸カルシウム（カルサイト）を析出させ、有害金属イオン固定化の効果を検討した。固化溶液の組成を表 2 に示す。

表 2　固化溶液の組成(0.15mol/L)

名称	化学式	濃度
栄養塩(Nutrient Broth)		3.00 g/L
塩化アンモニウム	NH_4Cl	10.0 g/L
炭酸水素ナトリウム	$NaHCO_3$	2.12 g/L
尿素	$CO(NH_2)_2$	9.00 g/L
塩化カルシウム	$CaCl_2$	16.6 g/L

また、カルサイトによる有害金属の固定化処理に加え、助剤として、鉄イオン溶液（和光純薬㈱硫酸第一鉄七水和物）を加えることで、水酸化鉄による沈殿物を生成し、固定化処理効果を高める検討を実施した。

2.2　試験方法

砒素標準液（関東化学㈱原子吸光用）を用い、初期値を砒素濃度 0.1 mg/L の水溶液を作成し、菌体培養液および固化溶液、鉄イオン溶液を加えた検液が、地下水環境基準を参考に 0.01 mg/L 以下であることを目標とした。

はじめに、各試薬の最適量を把握する事を目的として、菌体培養液の添加量を 2.0 %に固定し、固化溶液中のカルシウムイオン濃度（0,18,60,180,600 mg/L）と、

キーワード：ウレアーゼ産出能微生物、重金属固定化、鉄イオン
連絡先：〒270-1395　千葉県印西市大塚 1-5-1　(株)竹中土木　技術・生産本部 TEL 0476-77-1273

鉄イオン濃度（10,20,30,40,50 mg/L）を変化させ、72時間常温（約 20℃）で静置後に、0.45 μm メンブレンフィルターでろ過後、溶液中の砒素濃度を測定し、砒素濃度低減効果を確認した。

次に、鉄イオン濃度は 10 mg/L に固定し、菌体培養液の添加量を 2.0%,0.2%,0%、およびカルシウムイオン濃度を 18,60,180,600 mg/L に変化させ検討を行った。

3. 試験結果

3.1 菌体培養液添加率固定

砒素濃度の測定結果を図 1 に示す。鉄イオン濃度 50 mg/L では、カルシウムを添加することなく、砒素濃度は 0.01 mg/L 以下であったが、鉄イオン濃度 40 mg/L 以下では、カルシウムイオン濃度の違いにより砒素化合物の固定化の効果に違いが認められた。鉄イオン濃度が 10,20 mg/L の添加量では、いずれのカルシウムイオン濃度でも目標濃度 0.01 mg/L 以下とはならなかった。鉄イオン濃度が 30,40 mg/L のケースでは、カルシウムイオン濃度 180,600 mg/L の条件にて、砒素濃度は 0.005 mg/L となり目標濃度を下回った。

カルシウムイオン濃度が、180 mg/L と 600 mg/L での場合の低減効果に差が無かったことから、菌体培養液 2.0 %で砒素濃度 0.1 mg/L を 0.01 mg/L と低減するには、カルシウムイオン 180 mg/L 以上かつ、鉄イオン 30 mg/L 以上の条件が必要となると考えられる。

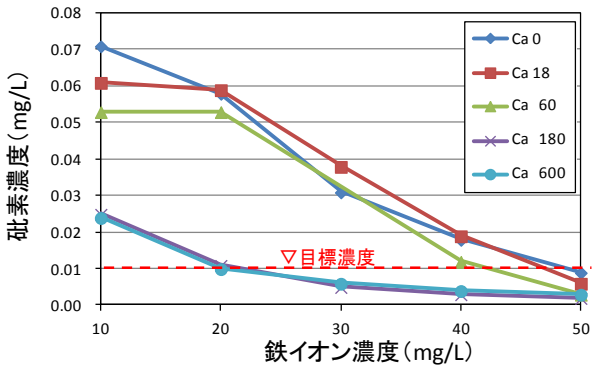

図 1 砒素濃度（菌体培養液 2.0 %）

3.2 鉄イオン濃度固定

次に、鉄イオン濃度を固定し、菌体培養液とカルシウムイオン濃度を変化させた結果を図 2 に示す。

いずれの菌体培養液添加量においても、カルシウムイオン濃度が増加すると、砒素濃度が低減する傾向が認められた。菌体培養液 2%と 0.2%を比べると、0.2%の方が砒素濃度は低い結果となり、カルシウムイオン濃度 18 mg/L から 600 mg/L において大幅な低減効果が認められた。60,18,600 mg/L では目標濃度 0.01 mg/L を下回り、高い固定化効果を確認することができた。

菌体培養液添加率 0%（添加なし）では、2%と同程度の低減効果であったことから、菌体培養液の添加率に適正な範囲が存在することが示唆された。また、菌体培養液に含まれる成分の中に、溶出を促進する物質が含まれている可能性もあり、培養液から菌体のみを回収して添加するなどして、詳細を明らかにする必要があると考えている。

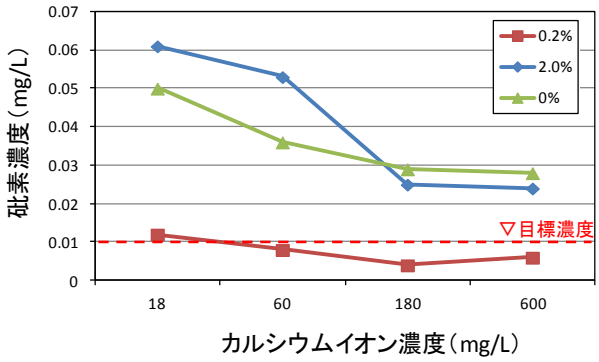

図 2 砒素濃度（鉄イオン濃度 10mg/L）

4. まとめ

本報では、砒素水溶液に対してウレアーゼ産出能を有する *Bacillus pasteurii* の菌体培養液および固化溶液と、鉄イオン溶液を用いて、金属イオンの固定化効果と各試薬の適正量を検討した。砒素水溶液 0.1 mg/L を 0.01 mg/L 以下とするためには、鉄イオン 50 mg/L、菌体培養液 2%＋鉄イオン 30 mg/L＋カルシウムイオン 180 mg/L、菌体培養液 0.2%＋鉄イオン 10 mg/L+カルシウムイオン 60 mg/l の 3 つの条件を得た。

5. おわりに

添加する試薬濃度はいずれも低濃度である為、原位置に生息するウレアーゼ産出能をもつ微生物を活性することによる、有害金属の固定化の可能性が示唆された。

今後は、*Bacillus pasteurii* 以外の微生物の適用の可能性を検討する予定である。

参考文献

1)横山珠美・畠俊郎（2012）：ウレアーゼ産出能を持つ微生物によるビーチロック形成促進効果に関する検証，土木学会第 67 回年次学術講演会梗概集，Ⅲ-064,pp.127-128

2)奥田信康・田邉康太・畠俊郎（2014）：原位置微生物機能を利用した有害金属の固定化方法の検討（その 1）ウレアーゼ活性試験，
土木学会第 69 回年次学術講演会梗概集（印刷中）