

セレン酸還元細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I 株によるセレン酸汚染土壌のバイオレメディエーション

芝浦工業大学 SIT 総合研究所レアメタルバイオリサーチセンター

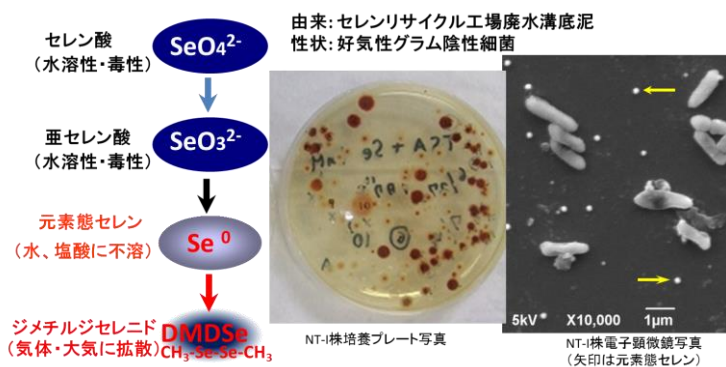
正会員 ○大塚 治, 福澤 文人, 堀池 巧, 山下 光雄

株式会社ケー・エフ・シー 正会員 西里 亮, 正会員 奥野 稔, 武藤 宏行

1. はじめに

セレン (Se) は単一鉱物として高濃度で局所的に産出することが稀な元素であり, 低濃度で自然中に広く分布している. Se は主に 6 価のセレン酸や 4 価の亜セレン酸として土壌中に混在している. これらは高い毒性を持ち, 可溶性が高く雨水で容易に地下水へ浸出することから, 地下水経由摂取リスク防止のため環境省告示第 18 号により土壌溶出量 0.01 mg/L という厳しい基準が定められた. 平成 22 年 4 月の改正土壌汚染対策法の施行により, 自然由来の Se 汚染であっても基準値を超えた土壌の浄化処理が必要となった. 汚染土壌中の亜セレン酸は薬剤を混合し溶解性を低下させる物理化学的な不溶化処理により浄化が行われている. しかしセレン酸は薬剤との反応性が低いため不溶化処理による汚染土壌の浄化は困難である. セレン酸を含む土壌は浄化方法が確立されていないため, 主に遮水封じ込め処理が適用される. 遮水封じ込め処理後の土壌は再利用できず, 維持・監視にかかる費用が問題となっている. そこで現状の物理化学的な処理に代わる新たなセレン酸汚染土壌浄化方法として生物の代謝を利用したバイオレメディエーションが提案されている¹⁾.

以前著者らは水溶液中のセレン酸を無毒で不溶性の元素態セレンまで還元する好気性セレン酸還元細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I 株を単離した²⁾. NT-I 株は可溶性のセレン酸・亜セレン酸を元素態セレンまで還元するだけでなく, 元素態セレンを無毒で揮発性のジメチルジセレニド (Dimethyl diselenide: DMDSe) まで還元する能力を有していた³⁾. 特異的な NT-I 株のセレン酸還元能を利用して廃水中の Se 回収・再資源化に成功した⁴⁾. 著者らは NT-I 株のセレン酸還元能を廃水だけでなく, 土壌中の Se 浄化にも利用できると考えた. セレン酸汚染土壌の浄化技術確立を最終目標に, 本研究では NT-I 株を利用した模擬セレン酸汚染土壌の浄化を試みた.

図1 *Pseudomonas stutzeri* NT-I 株

2. 実験方法

2.1 模擬セレン酸汚染土壌の作製

トンネル掘削で出たずりを乳鉢で破碎し 1 mm 以上 2mm 以下に篩い分けした. 1mm 以上 2mm 以下の土壌 100 g にセレン酸ナトリウム溶液を土壌溶出量 0.1 mg/L となるように添加して, 72 時間風乾したものを模擬セレン酸汚染土壌とした. セレン酸ナトリウム溶液添加前後で土壌を一部サンプリングし, 土壌溶出量を測定した. 土壌溶出量測定は環境省告示第 18 号に定められた試験方法を一部修正した. 乾燥土壌を 5.0g 定量し, 50 ml の純水で 6 時間振とう溶出した. 溶出液を遠心分離と膜ろ過にて土壌を取り除き検液とした. 検液中の各元素濃度を誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES) にて定量測定した. 分析を 3 回行い, 平均値から検液 1L に含まれる各元素の重量を算出し, 土壌溶出量とした.

2.2 模擬セレン酸汚染土壌の NT-I 株処理

模擬セレン酸汚染土壌に滅菌済みの培地もしくは $\text{OD}_{600}=1.0$ に調製した NT-I 株培養液を添加し, 38℃の恒

キーワード 土壌浄化, セレン, バイオレメディエーション, *Pseudomonas stutzeri* NT-I, 重金属汚染

連絡先 〒337-8570 埼玉県さいたま市見沼区深作 307 芝浦工業大学先端工学研究機構棟(201-1) TEL 048-688-8529

温器で静置した。NT-I 株培養液添加後 0, 24, 48, 72 時間目の土壌の一部をサンプリングした。サンプリングした土壌は 50℃の恒温器で 2 時間乾燥し、前述と同様の方法で土壌溶出量を測定した。

3. 実験結果および考察

3.1 模擬セレン酸汚染土壌

セレン酸ナトリウム溶液添加前後の主な金属元素の土壌溶出量を表 1 に示す。実験に使用したトンネル掘削ずりからは環境省で汚染物質と定められている金属元素は検出

表 1 セレン酸添加前後の土壌溶出量

(単位:mg/L)	Al	Fe	K	Mg	Se
セレン酸添加前	0.39	0.13	0.82	0.06	<0.005
セレン酸添加後	0.38	0.15	0.90	0.07	0.08

しなかった(結果不掲載)。Se は土壌溶出量基準値の概ね 10 倍 (0.1 mg/L) を超えない濃度が自然由来の汚染とされることから、本実験では自然由来のセレン酸汚染に対して NT-I 株処理が有効かを調べるために、模擬汚染土壌の Se 土壌溶出量を約 0.1 mg/L となるよう作製した。セレン酸ナトリウム溶液を添加することにより Se 以外に金属元素濃度が変化することはなかったため、セレン酸添加後の土壌を模擬セレン酸汚染土壌として使用した。

3.2 模擬セレン酸汚染土壌の NT-I 株処理

作製した模擬セレン酸汚染土壌に NT-I 株培養液を添加して 38℃で静置した。Se 土壌溶出量の経時変化を図 2 に示す。NT-I 株培養液を添加した場合、72 時間目の Se 土壌溶出量は 0.006 mg/L に低減した。NT-I 株無添加の場合、72 時間後の Se 土壌溶出量も初期 Se 土壌溶出量とほぼ同等の 0.07 mg/L であった。NT-I 株培養液添加の場合に Se 土壌溶出量が低減したのは、NT-I 株によって模擬セレン酸汚染土壌中のセレン酸が元素態セレンまで還元され不溶化したためだと示唆された。

汚染物質:セレン酸, 初期Se土壌溶出量:0.1mg/L, 土壌:100g (1mm以上2mm以下), 培養温度:38℃, NT-I株をOD600=1.0となるように完全培地で懸濁し土壌重量の100%添加

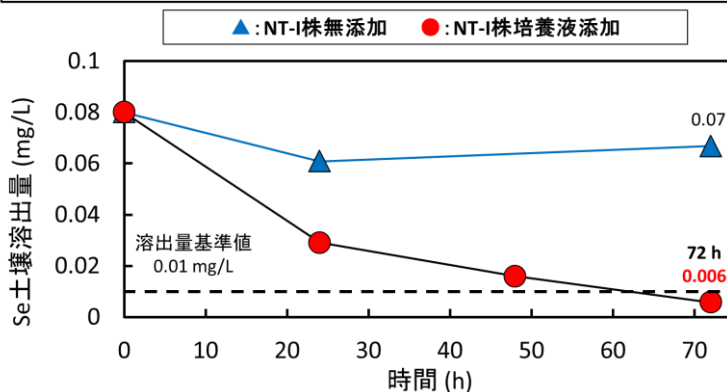


図 2 Se 土壌溶出量の経時変化

本実験で使用した模擬セレン酸汚染土壌の Se 土壌溶出量は自然由来の汚染濃度であることから、NT-I 株による生物化学処理は自然由来のセレン酸汚染土壌に対して十分有効であることが示された。

4. 今後の展望

本研究では、NT-I 株による生物化学処理がこれまで物理化学処理では浄化が困難とされているセレン酸汚染土壌を簡便に土壌溶出量基準まで浄化できることを示した。さらに NT-I 株は元素態セレンを DMDSe まで還元する能力を持っており、揮発性が高い DMDSe は土壌中から大気に拡散するため、土壌からの Se 除去も見込める。将来、NT-I 株による生物化学処理によって Se が浄化・除去された土壌は、非汚染土壌として盛土等への再利用が期待できる。

Se は土壌溶出量基準が定められているだけでなく、土壌の直接摂取リスク防止のために環境省告示第 19 号で土壌含有量 150 mg/kg の環境基準が定められている。土壌含有量基準を超過したセレン酸汚染土壌に対しても物理化学処理による不溶化が困難であるため、浄化方法は確立していない。今後は土壌含有基準に対しても本処理が有効かどうかを検討し、セレン酸汚染土壌の浄化技術の確立を目指していく。

参考文献

- 1) W. T. Frankenberger Jr. *et al.*, BioFactors 14 (2001) 241-254.
- 2) M. Kuroda *et al.*, J. Biosci. Bioeng. 112 (2011) 259-264.
- 3) T. Kagami *et al.*, Water Res. 47 (2013) 1361-1368.
- 4) O. Otsuka *et al.*, Proceeding of HYDROPROCESS 2015, Chapter4. 1-9.