

セレン酸還元細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I 株によるセレン汚染土壌のバイオレメディエーション(その2)

株式会社ケー・エフ・シー (正)○大塚治*,(正)西里亮,(正)奥野稔,(正)武藤宏行
芝浦工業大学工学部応用化学科 (非)山下光雄

1. はじめに

セレンは主に火山性堆積物に含まれている。日本は多くの火山を持つため、日本の土壌には自然由来のセレンが低濃度で含まれている¹⁾。土壌中でセレンは毒性が高い可溶性のセレン酸、亜セレン酸として存在している²⁾。土壌中のセレンが雨水で溶出し、その雨水が地下水に混入することで汚染範囲と健康被害が拡大することが懸念される。この健康被害を防止するために日本では土壌中の可溶性セレンおよびセレン化合物量の環境基準値が定められている。土壌汚染対策法の施行により、自然由来の汚染であっても基準値を超えた土壌の処理が必要となった。近年は鉄系薬剤を使用する不溶化工法の適用が増加している。しかしセレン酸は既存の薬剤との反応性が低いために、環境基準値を達成するには大量の薬剤の使用が必要であり処理コストが高くなる。そこで現状の処理方法に代わる新たなセレン酸汚染土壌浄化方法が望まれており、生物の特異的な金属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。

筆者らは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 株を単離している^{3),4)}。これまでに NT-I 株培養液を使用したバイオレメディエーションにより、土壌中のセレン酸を 72 時間で環境基準を達成できることを報告した⁵⁾。しかし、実際の処理現場においては気温や土壌の pH は一定ではない。また NT-I 株の水溶液中でのセレン酸還元条件や増殖条件について報告はあるが、土壌中でのセレン酸還元能に関する報告はない。そこで本報告では養生条件を変化させて土壌浄化試験をおこない、NT-I 株の土壌中でのセレン酸還元能の特徴を調べた。

2. 実験方法

2.1 模擬セレン酸汚染土壌の作製

トンネル掘削ずりを乳棒と乳鉢で砕き、1mm 以上 2mm 以下となるよう篩分けをした。この掘削ずりにセレン酸ナトリウム水溶液を土壌溶出量が 0.1 mg/L となるように添加し、72 時間風乾させたものを模擬セレン酸汚染土壌として以降の実験に用いた。

2.2 模擬汚染土壌の土壌浄化試験

模擬セレン酸汚染土壌に OD₆₀₀=1.0, pH7.0 の NT-I 株培養液を土壌重量の 10%添加し、20℃で静置養生することを基本条件とした。基本条件を基に各養生条件を変更して土壌浄化試験を実施した(表 1)。NT-I 株培養液を模擬セレン酸汚染土壌に添加してから 72 時間目の試験土壌を採取した。採取した試験土壌は 50℃の恒温器で 2 時間乾燥し、土壌溶出試験をおこなった。72 時間後の土壌中可溶性セレンの不溶化率を次式により算出した。不溶化率=[C₀- C₇₂]/ C₀×100 (%) , ここで、C₀ および C₇₂ はそれぞれ初発土壌中および 72 時間目の土壌中の可溶性セレン濃度 [土壌溶出量(mg/L)]を示す。

表 1 土壌浄化試験養生条件

検討条件	試験No.	OD600 (-)	培養液添加量 (%)	養生温度 (℃)	pH (-)
基本条件	No.1	1.0	10	20	7
	No.2	0.0	10	20	7
菌体濁度	No.3	0.1	10	20	7
	No.4	10	10	20	7
	No.5	1.0	1.0	20	7
培養液添加量	No.6	1.0	5.0	20	7
	No.7	1.0	20	20	7
	No.8	1.0	40	20	7
	No.9	1.0	80	20	7
	No.10	1.0	100	20	7
	No.11	1.0	10	30	7
養生温度	No.12	1.0	10	38	7
	No.13	1.0	10	20	5
pH	No.14	1.0	10	20	6
	No.15	1.0	10	20	8
	No.16	1.0	10	20	9

キーワード：土壌処理，土壌汚染対策，セレン，バイオレメディエーション，*P.stutzeri* NT-I

連絡先 〒347-0010 埼玉県加須市大桑 1 丁目 19 株式会社ケー・エフ・シー加須技術研究所 TEL (0480)76-0095

2.3 土壌溶出試験

土壌溶出試験は環境省告示第 18 号に定められた試験方法を一部修正した。具体的には乾燥した試験土壌を 5.0g 定量し、50 ml の純水で 6 時間振とう溶出した。溶出液をフィルターろ過にて模擬汚染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) にて定性定量測定した。分析を 3 回おこない、平均値を土壌溶出量とした。

表 2 土壌溶出量(単位:mg/L, N.D.: Not detected)

	As	Cd	Cr	Pb	S	Se	Zn
掘削ずり	N.D.	N.D.	0.04	N.D.	21.1	<0.005	N.D.
模擬セレン汚染土壌	N.D.	N.D.	0.04	N.D.	24.3	0.08	N.D.

3. 実験結果および考察

3.1 模擬セレン酸汚染土壌

掘削ずりと模擬セレン酸汚染土壌の土壌溶出量を表 2 に示す。掘削ずりと比較して顕著に増減する元素がセレン(Se)以外にないため、作製したこの模擬セレン酸汚染土壌を試験に使用した。

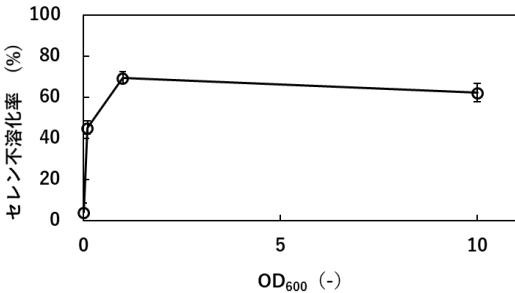
3.2 模擬汚染土壌の土壌浄化試験

図 1 に各養生条件でのセレン不溶化率を示す。図 1 (a)より NT-I 株未添加 (OD₆₀₀=0) では、初発と 72 時間目の可溶性セレン濃度に差がなく、不溶化率はほぼ 0%であった。一方で OD₆₀₀=1.0 以上では不溶化率が増大し 60%以上であった。これは NT-I 株によって土壌中のセレン酸が不溶性の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。図 1(b)より培養液添加量が増加するほど不溶化率は増大する傾向があった。培養液添加量 5%以上で不溶化率は 60%以上であり、特に培養液添加量 40%以上では不溶化率が 80%以上であった。図 1(c), (d)より養生温度および pH は不溶化率に大きな影響を及ぼさず 60%以上であった。以上の結果から NT-I 株の土壌中でのセレン酸還元能には OD₆₀₀=1.0 以上の培養液添加量が顕著に影響することが示唆された。試験条件の中では試験 No.10 (表 1) で不溶化率が最大となり 93%であった。

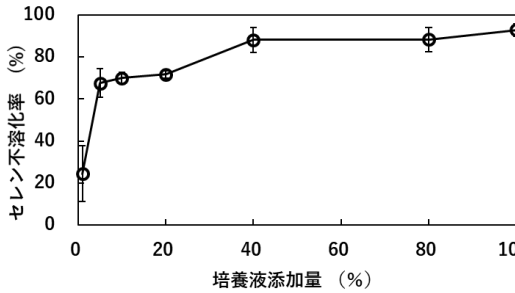
4. まとめ

NT-I 株の土壌中でのセレン酸還元能は OD₆₀₀=1.0 以上であれば培養液添加量にのみ影響されるため、幅広い養生条件で NT-I 株によるセレン酸不溶化が可能である。NT-I 株の水溶液中でのセレン酸還元能は pH が還元能に大きな影響を及ぼしていたことから³⁾、水溶液中と土壌ではセレン酸還元の挙動が異なることを明らかにした。現状では NT-I 株によるバイオレメディエーションは培養液と土壌の混合工程が必要なため作業が煩雑である。今後は本技術の実用化に向けて作業工程の少ない簡便な処理方法を検討していく。

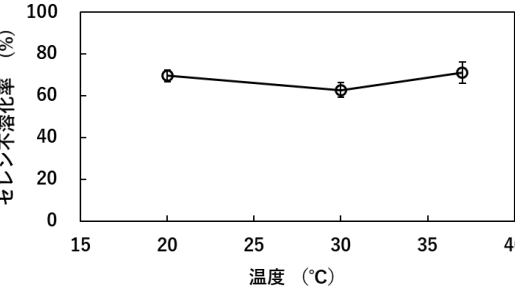
参考文献 1) T. Mizutani *et al.*, *J. Health Sci.*, 47, pp.407-413, 2001. 2) Y. Kang *et al.*, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 39, pp.331-337, 1993. 3) M. Kuroda *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.* 112, pp.259-264, 2011. 4) T. Kagami *et al.*, *Water Res.* 47, pp.1361-1368, 2013. 5) 大塚治他, セレン酸還元細菌 *Pseudomonas stutzeri* NT-I 株によるセレン汚染土壌のバイオレメディエーション, 第 72 回土木学会年次学術講演会, VII-089, 2017.



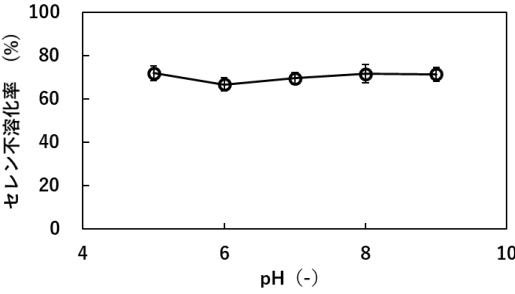
(a) 菌体濁度



(b) 培養液添加量



(c) 養生温度



(d) 添加培養液pH

図 1 各養生条件でのセレン不溶化率