

海洋微生物による六価クロム濃度低減への pH, 温度の影響

鳥取大学 学生会員 ○夏秋 勇太郎

鳥取大学 正会員 増田 貴則

鳥取大学 正会員 高部 祐剛

鳥取大学 正会員 星川 淑子

1 序論

我が国における市街地の土壤汚染はこれまで顕在化することはなかったが、現在でも重金属汚染物質の流出による事案が発生し続けている。地下水に環境基準を大きく上回る濃度の重金属が実際に観測されており、いつ被害が発生するか分からない状況が続いている。土壤汚染の事例として、平成 16 年度の土壤汚染・超過事例調査の結果、全国で 3677 件もの汚染事例が確認され、その中でも 1162 件が重金属による超過事例であった¹⁾。これは他の汚染物質と比較しても大きな値であり、重金属汚染の占める割合が多いといえる。さらにその 1162 件のうち、762 件が東京都を含む関東地方で観測された。重金属汚染は他の土壤汚染物質とは違い手を施さない限り浄化されず、半永久的に汚染し続けるといった特徴がある。これまでの土壤汚染対策としては、掘削除去がかなりの割合を占めていたが、掘削した土壤を運ぶ際に環境負荷がかかることや、汚染土壤を廃棄する最終処分場の検討がつかないことが問題視されていた。さらに 2008 年には土壤汚染対策法が改正され、掘削除去についてできる限り抑制的に取り扱うこととされ、盛り土や封じ込めにより汚染物質の暴露経路を遮断し健康被害の恐れのない状態で土壤管理していくことが基本とされている。封じ込めは汚染土壤を半永久的にモニタリングしていく必要がある²⁾。そのことから土壤を掘削せずにその場で浄化でき(原位置浄化)、低コスト低リスクであるバイオレメディエーションに注目が集まることが考えられる。

2 バイオレメディエーション

バイオレメディエーションは大きく分けて外部で培養した微生物を導入し、土壤を浄化する「バイオオーグメンテーション」、汚染土壤に元来生息している微生物に栄養物質または酸素を加え微生物の活性化を図り浄化を行う「バイオスティミュレーション」、植物を利用し微生物を活性化または、植物そのものに汚染物質を浄化させる「ファイトレメディエーション」の三つに分類できる。

また、重金属を対象としたバイオレメディエーションには、微生物体内または微生物表面に吸着させ、その後微生物を回収することで浄化を行う「バイオソープション」、微生物の作用によって重金属を不活化させ沈殿させることによって浄化を図る「バイオプレシテーション」に分類することができる。バイオレメディエーションの大きな長所として、多様な汚染物質に対し効果が期待できること

や、自然界本来の持つ浄化機能を用いるので省エネルギーであるということが挙げられるが、浄化期間が長期であること、温度など外界の影響を受けやすいことが課題として挙げられる。

3 六価クロムについて

本研究で取り扱う重金属である六価クロム(以下 Cr(VI)と表記)は、高濃度で土壤内に大量に残量している場所が存在し、地表付近では、地下水を汚染する公害を引き起こす可能性がある有害物質である。Cr(VI)の毒性は、皮膚障害、呼吸器障害などが報告されている³⁾。これに対し三価クロム(以下 Cr(III)と表記)は難溶性であり毒性も低い。このことから Cr(VI)汚染に対する浄化方法として Cr(VI)を Cr(III)に還元させることも有効であると考えた。本研究では類似菌に Cr(VI)除去能力を持つ海洋微生物 *Alteromonas macleodii* の Cr(VI)に対する除去能力の有無、また実験により評価した。

4 実験方法

はじめに *Alteromonas macleodii* の増殖特性および対数増殖期の期間を得るために Cr(VI)を添加せずに marine broth 2216 培地を用いて予備実験を行った。次に予備実験で得た対数増殖期をもとに本培養として表 1 の条件を設け菌体と Cr(VI)を同培地に添加して培養を行い、培養後の菌添加有りと菌添加無しの Cr(VI)添加培地の液中 Cr(VI)濃度を比較した。その後、培養結果をもとに応答曲面法適用を目的として新たに表 2 の培養条件を設定し、培養を行った。また、Cr(VI)濃度と温度の二条件による分散分析を行い、除去率に影響を及ぼしている要因を明らかにした。本研究で用いた除去率、また培地の有機成分と反応し初期設定時の Cr(VI)濃度との相違を、減少率を用いて表し、それぞれの式を以下(1), (2)に示す。

表 1 本実験の培養条件

標準形 : pH7, 温度 25℃, 40mgCr/L		
着目した項目と培養条件		
pH	温度	mgCr(VI)/L
6,7,8	15℃, 20℃, 25℃	0, 40, 100

表 2 追加した培養条件(pH:7)

20℃, 1mgCr/L	15℃, 1mgCr/L
20℃, 40mgCr/L	15℃, 100mgCr/L
20℃, 100mgCr/L	

キーワード: バイオレメディエーション, 六価クロム, 海洋微生物

連絡先: 〒680-8550 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 101 番地 鳥取大学 工学部 社会開発システム工学科
環境計画研究室

$$\text{除去率} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{減少率} = \frac{C_s - C_e}{C_e} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

C₀: 植菌無し培地中 Cr(VI)濃度

C_e: 植菌有り培地中 Cr(VI)濃度

C_s: 初期設定培地中 Cr(VI)濃度

5 実験結果

予備実験の結果, *Alteromonas macleodii* の対数増殖期は培養開始から約2~4時間後であった. 以上の結果より本実験ではあらかじめ2~4時間培養していたものをCr(VI)添加 marine broth 2216 培地, Cr(VI)無添加 marine broth 2216 培地に5ml ずつ分注し実験を行った結果, 以下の図1のようになった.

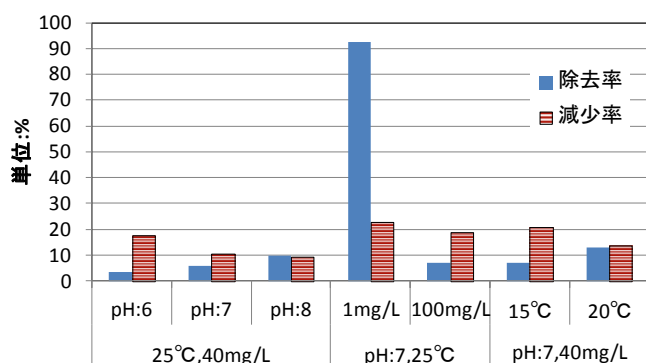


図1 各培養条件での除去率・減少率(n=3)

図1より1mgCr/Lでの培養条件下でCr(VI)の除去に成功した. また他の濃度でも少量ではあるが除去能力があることが本実験結果より示された. また, 植菌無し培地のCr(VI)濃度が初期設定濃度に達していなかった. この原因としてはCr(VI)が培地中の有機成分と緩やかに反応したことが原因として考えられる.

また, 各条件間の有意差を検討するために, Tukey-Kramer法を用いて検定を行った結果, 温度のみ各条件間に有意差有りとの結果であった. このことから温度は*Alteromonas macleodii*によるCr(VI)除去に影響を与えていると考え, 温度についての検討を行うために条件を追加し, 実験を行った. 追加実験の結果を以下の図2に示す. また, Cr(VI)濃度, 温度の除去率に対する二要因分散分析の結果を表3に示す.

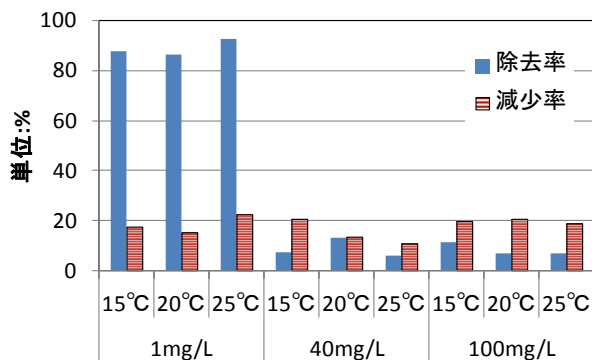


図2 各培養条件での除去率・減少率(n=3)

表3 分散分析の結果(列:温度)

分散分析表						
変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
標本	38840.642	2	19420.321	1585.822	0.000	3.555
列	0.299	2	0.149	0.012	0.988	3.555
交互作用	196.553	4	49.138	4.013	0.017	2.928
繰り返し誤差	220.432	18	12.246			
合計	39257.926	26				

図2に示すようにすべての培養条件でCr(VI)が除去されていることから, *Alteromonas macleodii* はCr(VI)に対して除去能力があるという結果を得ることができた. また, 最も除去能力が高くなったのは1mgCr/L, 25°Cの条件下で, 除去率は約93%と非常に高い値であった.

さらに各濃度でTukey-Kramer法を用いて有意差を検定した結果, 各濃度で有意差を得る事ができなかった. さらに表3の二要因分散分析の結果からも温度のP-値が0.987であり, 有意水準5%で棄却することができないことに対し, 相互作用のP-値は0.0169であり, 5%水準で有意であった. このことから, 応答曲面法を適用し最適培養条件を求めることはできなかったが, *Alteromonas macleodii* によるCr(VI)除去率は, pH, 温度の影響を受けず, Cr(VI)濃度のみに依存するという結論を得ることができた.

6 結論

本研究の結果より, 1mgCr/Lにおいて除去に成功し, その除去能力は最高で約93%であった. また, 温度の影響を受けることなく1mgCr/Lの条件下で高い除去率を示した.

しかし, 温度とCr(VI)濃度の2水準を用いた応答曲面法によるCr(VI)除去能力が最大になる条件の選定は, 温度による有意な差を得ることができなかったため実施することができなかった.

2水準を用いた二要因分散分析の結果により, *Alteromonas macleodii* によるCr(VI)除去はCr(VI)濃度のみに依存するという結論を得ることができた.

参考文献

- 1) 駒井武(2013): 土壌汚染対策の現状と課題, 土壌汚染リスクコミュニケーションに関するセミナー資料, 東北大学大学院, 環境科学研究科
http://www.jeas.or.jp/dojo/business/promote/seminar/files/2013c_after/mat_2_aichi.pdf
- 2) 小暮敬二(2000): 地盤環境の汚染と浄化修復システム, 技報堂出版, p56~59, p155~p161
- 3) 環境省 環境保健部環境リスク評価室(2012) 化学物質の環境リスク評価 [2] 六価クロム化合物
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h24-01/pdf/chpt1/1-2-3-02.pdf>