HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of bioremediation methods for soil and water contaminated with heavy metals in Kabwe mine [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Mwandira, Wilson
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第13802号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75903
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wilson_Mwandira_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士 (工学)　氏名　Wilson Mwandira

審査担当者　主　査　准教授　中島 一紀
副　査　教　授　川﨑 了
副　査　教　授　五十嵐 敏文
副　査　教　授　佐藤 努

学位論文題名

Development of bioremediation methods for soil and water contaminated with heavy metals in Kabwe mine
(Kabwe 鉱山において重金属により汚染された土壌および水に対するバイオレメディエーション法の開発)

土壌および水の重金属汚染は世界各地の廃鉱山で問題となっている。ザンビアの Kabwe 鉱山では長期間に渡り鉱山内外における土壌、水、および堆積物の鉛汚染が問題となっており、人間への鉛の影響も深刻である。一例を挙げると、Kabwe 地区の子供の血中鉛濃度は 0.45 mg/L を超え、これは WHO が推奨する血中鉛濃度基準の 0.05 mg/L を大幅に上回る。高い血中鉛濃度は、鉱滓堆積場から発生した浮遊の金属鉛の粉塵によって引き起こされていると考えられる。さらに、鉛だけではなく、水中の亜鉛濃度が高いことも報告されている。したがって、このような土壌と水の重金属汚染を軽減するための新たなレメディエーション法の開発が求められている。生物の機能を用いて環境修復を行うバイオレメディエーションは非破壊的で持続可能な手法であるため、汚染地域の環境修復において有力な手法であると考えられる。本研究では、Kabwe 鉱山で発生している土壌および水の重金属汚染を軽減するための新たなバイオレメディエーション技術を開発することを目的とする。土壌のバイオレメディエーションでは、微生物による炭酸塩析出 (MICP: microbially-induced carbonate precipitation) 技術を利用し、MICP における有力な菌株である *Pararhodobacter* sp.、および Kabwe 鉱山付近の土壌から単離された 2 種のバクテリアを用いた。汚染水からの鉛と亜鉛の除去では、Kabwe 鉱山における現地微生物を用いて検討した。さらに、融合タンパク質とセルロースを組み合わせることでバイオベースの新たな重金属吸着材を開発した。

第 1 章は序論であり、研究の背景、既往の研究の紹介、本研究の目的、独自性、および有用性について議論した。

第 2 章では、*Pararhodobacter* sp. を用いた鉱滓の処理について検討し、MICP 技術を利用した重金属のバイオレメディエーションの効果について評価を行った。このバクテリアを用いた沈殿生成により、水溶液中に存在する 1036 mg/L の鉛イオンが完全に除去された。バクテリアを用いた砂の固化試験では、バクテリアを試験中に 4 回注入することで高い一軸圧縮強度 (UCS) が得られた。実際の鉱滓 (KS: Kiln slag、LPR: Leach plant residue) をバクテリアを用いて固化 (バイオセメント) した場合、固化供試体の最大 USC 値は KS で 8 MPa、KS/LPR 混合物で 4 MPa であり、スレーキング耐性を示し、水溶液に溶出した鉛イオン濃度は検出限界の 0.001 mg/L 以下であった。さらに、バイオセメントで処理した鉱滓は低い水吸着係数を示すことから、鉛の地下水中での移動を遅らせ

ることが可能であると考えられる。以上より、MICP 法により鉱滓中の鉛の移動を低減することが可能であり、バイオセメント処理した材料の物理化学的特性が変化から、MICP 法は有害な鉱滓を安定化し、土壌や水の汚染を防ぐために有用なツールであることが示された。

第 3 章では、Kabwe 鉱山から単離された尿素分解菌 *Oceanobacillus profundus* KBZ 1-3 株と KBZ 2-5 株 を用いた MICP について検討を行った。いずれの菌株とも、鉛耐性を示しながら炭酸カルシウムを生成する株であり、生成した炭酸カルシウムは主にカルサイトであることが XRD により示された。両菌株を用いてバイオセメント処理した砂の UCS 値はそれぞれ 4.0 MPa と 5.7 MPa であり、鉛微粒子の主風による飛散や水による浸食からの防止のためには十分であると思われる。KBZ 1-3 株および KBZ-2-5 株でバイオセメント処理した供試体の透水係数はそれぞれ 9.6 x 10^{-8} m/s、8.9 x 10^{-8} m/s であり、さらに水や酸素の供給が制限されている環境であるため、重金属類の溶出は遅延されると期待される。廃鉱山から単離した現地のバクテリアを用いたバイオセメントが可能であることが示された。

第 4 章では、同様に Kabwe 鉱山から単離した *Oceanobacillus profundus* KBZ 3-2 株を用い、汚染水からの重金属 (鉛、亜鉛) イオンの吸着除去について検討した。この生物を利用した吸着 (バイオソープション) では、pH 6.5、温度 30 ℃、接触時間 120 分で良好な吸着が見られた。このバクテリアは、細胞内のタンパク質、細胞質、細胞表層、細胞外高分子物質 (EPS: extracellular polymeric substance) など、細胞内の様々な部位・コンポーネントに鉛や亜鉛を吸着・蓄積していることが分かった。その中でも特に、EPS が重金属イオンとの錯形成および保持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

第 5 章では、セルロースをベースとした新規吸着材料を開発した。金属結合性タンパク質メタロチオネイン (MT) とセルロース結合モジュールからなる新規融合タンパク質をデザインし、大腸菌によりタンパク質発現を行った。融合タンパク質をセルロースに固定化することで重金属イオンの吸着材料を作製した。この吸着材を用いて重金属の吸着実験を行ったところ、pH6.5、室温、20 分の条件で良好な結果が得られた。もともと天然に存在するセルロースと MT を組み合わせた環境調和型の吸着材を開発し、水溶液中の微量の有害な重金属イオンを除去することに成功した。また、吸着材の再生と再利用性が示され、工業的な応用も可能であることが示唆された。

第 6 章は総括であり、各章で得られた知見をまとめ、さらに本研究の展望について述べた。

以上を要するに、筆者は土壌および水の重金属汚染の対策として、生物機能を用いたバイオレメディエーションの検討を行い、MICP 法により重金属汚染土壌を固定化し、バイオソープションにより水溶液中の重金属イオンを除去できることを示した。これらは、生物機能を用いた重金属汚染修復技術について新たな知見を与えるものであり、環境資源工学の発展に貢献するところ大なるものがある。よって筆者は、北海道大学博士 (工学) の学位を授与される資格があるものと認める。