バイオミネラリゼーションと環境*

田 崎 和 江¹

Environmental Biomineralization and Microbial Remediation

by Kazue TAZAKI¹

1. Prof., Dr., Division of Global Environmental Science and Engineering, Graduate School of Natural Science and Engineering (Doctor's Course), Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-11

Bacteria play an important role in various transportation, concentration and crystallization processes of elements in the earth environmental system. Microbial mineralization is a key role for the concentration of toxic elements and spoiled water systems. Electron microscopic studies have disclosed crystallization of turquoise and jarosite in the early stage of the remediation experiment, conducted at room temperature, by using activated sludge. Amorphous materials concentrated on cell walls at incipient stage, are finally transformed into well-defined crystal structure of biominerals. Various minerals such as carbonate, silicates, iron oxide, hydrate phosphates, sulphides and radioactive materials are produced through bacterial biomineralization and microbial remediation processes. In addition to biomineralization, biodegradation of a variety of hazardous and toxic chemicals in the abandoned mining sites, concrete erosion and river-water ecosystem etc., has also been found.

KEY WORDS: Biomineralization, Environmental Pollution, Bioremediation, Bacteria, Electron Microscopy

1. ま え が き

約 30 億年前、地球上で光合成を行う最初の生物として誕生した植物のラン藻の全遺伝情報が、最近、かずさ DNA 研究所で解読され、光合成のメカニズムや無機物質から有機物質を生産するシステムなどの解読がなされるようになった。約 1,500 種類もあるラン藻は、核や葉緑体がない最も下等な藻類であり、単細胞か糸状体の形で存在し、低温から高温まで (−10℃ から 110℃ 付近まで)、また、酸性からアルカリ性まで (pH 1~11) とあらゆる環境で生育可能である。ラン藻は光合成により、光エネルギーを利用して二酸化炭素などから有機物と酸素を作り出し、太古の地球から現在までの地球環境に深く関わりあってきた^{1)~3)}。近年の大気圏、水圏、地殻における環境破壊時代において、ラン藻はどのような挙動をしているのであろうか。汚染された環境を微生物によって浄化する試みは、1989 年 3 月にアラスカの Prince William Sound の中に 10 million gallons もの多量のオイルが流出して以来、急速に関心を集めた⁴⁾。その結果、ハイドロカーボンの微生物による分解方法、トリクロロエチレン、PCB、アニリン、6 価クロムを分解する細菌が次々と発見された。その後、アメリカ環境保護庁 (EPA) およびエネルギー省 (DOE) 傘下の国立研究所が中心となり、バイオリメディエーション技術による汚染サイトの修復事業が普及した⁵⁾。その生態系、特に、微生

物—有機物—無機物のシステムにおけるバイオデグラデーションやバイオミネラリゼーションの研究が大きくクローズアップされてきた。

また、1991 年 1 月に勃発した湾岸戦争は、700 カ所を超える油田の炎上や 300 カ所における石油の流出による大規模な環境汚染を引き起こした。石油の流出は海洋汚染や土壌汚染を、また、硫黄を大量に含んだ原油の燃焼や戦車砲の砲弾強化に使われた劣化ウランは大気汚染をも引き起こした。クウェートのブルガン油田では、去年から石油を分解するバクテリアを使って汚染を取り除く世界初の大規模実験が始まった。一方、日本の駿河湾海底 1,945 m から、石油を摂取し、塩分にも強いバクテリアが見つかった。従来、バクテリアは免疫抑制剤など薬品製造、遺伝子工学などに利用されてきたが、そのほとんどが地表の土壌から採取されてきた。しかし、近年水圧の高い、光も届かない過酷な環境条件の海洋底にも環境浄化に有効なバクテリアが生息していることが明らかになってきた。今後も、環境汚染を引き起こす有機水銀、カドミウム、放射性物質などを無毒化するバクテリアが海洋底や土壌中に見つかる可能性が高い。バクテリアによる汚染物質の浄化処理は二次汚染を引き起こさず費用も安く安全である。また、実験室内においても、バクテリアは数日から 15 日前後という短い時間で、250 種類以上の生体鉱物を細胞の内外に生成することが知られているので、今後、バクテリアを用いた新素材の開発も夢ではない。

本研究における“バイオミネラリゼーション”の用語は、微生物機能が鉱物の結晶化に直接寄与している場合と、鉱物化する前の前駆体を作ることに寄与する場合との両方を含んでいる。したがって、初期において生物が直接的に関与しても、その後、結晶

* 1996 年 4 月 12 日受付 7 月 5 日受理

1. 理博 金沢大学教授 大学院自然科学研究科地球環境科学専攻
[著者連絡先] FAX 0762-64-5746 (金沢大・理学部地球学)

キーワード: バイオミネラリゼーション, 環境汚染, 浄化作用, バクテリア, 電子顕微鏡

成長が無機的に発達する場合も含まれる。この両者の区別は非常にむずかしく、漸移している場合も多い。さらに、微生物にとって苛酷な生育環境にあっても、しばしばその環境に順応し、かつ、耐性までできて生息し続ける例も多い。ヒ素、ウラン、金、マンガンなど微生物にとって毒性の高い重金属イオンの負荷を与えた実験から、さまざまな鉱物が形成されているが、これらの例は、汚染された環境を浄化するためのヒントや有用金属のリサイクルにもつながる。

以下に、主として筆者の研究室で行われた〈バクテリアを用いたバイオミネラリゼーションと環境〉の研究例を紹介する。

2. 鉱山周辺の環境汚染と浄化作用

日本において戦前、戦後の工業の発展と鉱山、鉱床の開発は平行して進んできた。ところが、その後の政治、経済の転換から、日本の鉱山は次々と閉山し、近年は、鉱物資源を安価な外国に求めるようになった。それらの閉山した鉱山、鉱床のずりや跡地の周辺の環境はその後どうなったのであろうか。例えば、Cu, Cd, Uなどに汚染された土壌は、剥ぎとる処理が行われた所も多いが、地下水や河川水の対策は遅れており、強酸性の水が流れ出している所も多く残されている。昔の坑口は埋めもどされたり、ふさがれていても、地下水が川に流れ込み、とんぼも蛍も棲まない川となっている所も多い。筆者はカナダ、オンタリオ州のウラン鉱山周辺の環境調査を行い、バイオミネラリゼーションの立場から浄化の研究を行ってきた。ウランを多量に含むエリオット湖、サドベリー、テムズ川に生息するバクテリアや藻類が、UやFeなどを選択的に細胞内に固定し、汚染された土壌や水の浄化を行っていることを報告した⁶⁾⁷⁾。また、Lovley et al.⁸⁾は水中のウランを除去するGS15と呼ばれる鉄還元細菌や *Alteromonas putrefaciens* を見つけたが、これは鉄だけでなく、ウラン、プルトニウムなどの放射性物質をも摂取する働きがある。この発見は、汚染物質の浄化処理だけでなく、ウラン鉱石の形成そのものに、鉄還元細菌が関与していることを暗示している³⁾⁹⁾¹⁰⁾。

一般に、強酸性の鉱山排水中には、好酸性細菌が生息しており、通常の細菌と比べると、毒性の高い重金属に対する耐性を獲得している。このようなバクテリアを用いて、低品位の鉱石やずりから有用な金属を溶かし回収する方法はバクテリアリーチング法と呼ばれるが、汚染環境の浄化にももちろん使える方法である。実際に、*Thiobacillus ferrooxidans* を用いて都市排水の浄化や鉱山排水の浄化が各地で行われている。例えば、高濃度の二価鉄を含む硫酸酸性 (pH 2~3) の旧松尾鉱山の排水中には好酸性化学独立栄養の鉄酸化細菌が認められ、それらは自ら粘性多糖を生産し粘性糸状バイオマットを形成している。このバイオマットは、削りとっても2週間という短期間で復元し、周囲に硫黄成分が存在するとパイライトを容易に生成する¹¹⁾¹²⁾。笹木^{13)~15)}の研究グループは、鉱山の廃止や休止に伴い発生している酸性鉱水の問題に関連し、パイライトの酸化溶解メカニズムや鉄酸化細菌の関与、二次鉱物の生成、さらに、最近ではパイライトの酸化溶解の抑制方法の提案を行っている。*T. ferrooxidans* による Fe^{2+} イオンおよびSの酸化反応、 Fe^{3+} イオンによるパイライトの浸出反応は、いずれもバクテリアが急速に増殖する期間に活発に進行する。そのときのパイライトの溶解速度はClイオン濃度には無関係であるのに対し、FeとSの化学種のモル比が関係している。また、鳥根県出雲郷にある旧宝満山の銅鉱山跡は、表土の剥ぎとり処理などの対策を行った場所であるが、地下水と河川水については問題が残っており、Fig. 1Aに見られるように植樹した樹木の生育は悪く、昔のグリットには常にpH 3~4の酸性水が溜まり赤褐

Fig. 1 Field views of an iron seep in Homan-zan copper mine drainage. The well developed seep has the characteristic dark-red-brownish color indicating extensive accumulation of iron in the bacterial sheaths (A). A scanning electron micrograph of filamentous sheaths from microbial mats in the drainage. Note that the sheaths were covered with ferrihydrite iron minerals (B).

色のバイオマットを広く形成している¹⁶⁾。川底の土砂の表面にも赤褐色のバイオマットが覆い、繊維状シアノバクテリアが水酸化鉄の球粒を細胞壁に作っている (Fig. 1B)。さらに、このバイオマット中には多くのけい藻 (*Navicula oblonga*) も認められ、その細胞壁やバブルには水酸化鉄鉱物が形成している。これらの微生物は、溶存 Fe^{3+} イオンを水酸化鉄に鉱物化する働きを担っており、赤褐色のバイオマットを形成したと考えられる。同じく、石川県の旧尾小屋銅鉱山周辺の河川も汚染され、魚がほとんど棲まなくなっていたが、近年、郷谷川下流にあたる小松市内の梯川中流にはハゼ科の魚が生息するようになった。尾小屋鉱山は、黄銅鉱を主とし、黄鉄鉱、閃亜鉛鉱、方鉛鉱を採取していたが、その選鉱の際に生じた廃棄泥土は、堆積場に沈殿させた後、上澄み液を下流に排出させたため、上流では生物の種類が豊富であったが、流入地点より下流では溶存する重金属イオンのために生物が全滅した。その後、銅鉱山の閉山に伴って選鉱排水の流入がおさえられ、河川中の銅、亜鉛の含有量は減少して、生物の種類も増してきた。

また、これ以外の鉱山周辺に生成しているバイオマットとバイオミネラリゼーションについては Tazaki et al.¹⁸⁾ が報告している。さらに外国の鉱山周辺の鉄やマンガン酸化物の生成について Skinner and Fitzpatrick¹⁷⁾ がレビューしている。

3. コンクリートの微生物腐食

最近の降雨の年平均 pH は、全国的に 4.7 付近にあり、その酸

Fig. 2 General views of microbial corrosion of concrete sewage. An arrow indicates yellowish white corroded part above the liquid level (A). A scanning electron micrograph of *T. thiooxidans* which was isolated from corroded concrete and cultivated at 30 °C for 2 weeks by using AT medium²²⁾. Secondary gypsum, calcite and ettringite were formed on the surface (B).

性雨によるコンクリートの腐食は〈コンクリートのつらら〉として、建造物のあちこちに認められるようになった。晴天のときでも、コンクリートの割れ目からしみだした溶液が高結晶度のカルサイトを産みだしている。また、地熱地帯や温泉地、下水道など、常時酸性のガスが充満している所のコンクリート建造物の劣化は著しく、一年弱で表面が黄白色に変色し剥離してくる (Fig. 2A)。コンクリートの物理、化学的特性については、アルカリ骨材反応の面から関心が高まり、研究が進んでいるが、微生物による腐食の情報は非常に限られている。田崎他^{19)–23)}は、建設してから 11 カ月目の下水道のコンクリートやモルタルの腐食した面を電子顕微鏡で観察した。その結果、強アルカリ性のコンクリートは硫黄酸化細菌 *Thiobacillus thiooxidans* (Fig. 2B) により急速に腐食され、ジブサム $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、二次エトリンガイト $\text{Ca}_6\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3(\text{OH})_{12} \cdot 25\text{H}_2\text{O}$ 、ジャロサイト $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ 、カルサイト CaCO_3 、バライト BaSO_4 などの鉱物が形成され、その表面の pH も 3~4 と酸性に変化していることが明らかになった。最近、嫌気条件下での硫化水素の生成とそれにひきつづいて起こる硫酸の生成によるコンクリートの劣化現象および膨張反応が注目されている²²⁾。

この現象は硫酸塩還元菌および硫黄酸化細菌によって引き起こされる一種の生物反応である。常時数 ppm から数百 ppm の硫化水素にさらされる下水道のヒューム管も、たった 11 カ月で最表面の欠落と崩壊が見られた。硫黄酸化細菌は、好気性で無機質のみで繁殖し、下水中の硫黄、硫化水素、チオ硫酸などを酸化燃焼してエネルギーを得ている。排水溝に設置したモルタルバーの腐食実験でも数カ月という短期間で微生物腐食が起これ、喫水面のくびれが顕著であった。ところが、水中に浸かっている部分のモルタルバーには腐食が認められず¹⁹⁾²⁰⁾、これは、酸化と還元条件の違いのほか、加藤²⁴⁾の報告にあるように、浮遊性バクテリアと付着性バクテリアとの違いによるものであろう。なお、風呂場のコンクリート壁や部屋の暖房による壁の結露部分が黒褐色に変色することがあるが、これらは、かびなどによる一種の微生物腐食である。

4. 河川の自浄作用と三面コンクリート張り工法

近年、傾斜地に作られた〈棚田〉が見直されている。棚田は限られた土地を有効に使用するのみならず、洪水や地滑りを防ぎ、環境面での役割もあり、保存運動が起きている。浸食の激しい地域にある棚田は、降った雨水を一枚一枚の田んぼに溜め、ゆっくりと横向きに流し、治水ダムの役割をも果たしている。また、これらの水田には浄化機能もあり、水に溶けている塩類やイオン、特にリンを吸収したり、無機態の窒素であるアンモニアやしょう酸を土中のバクテリアが窒素ガスに変えたり、空气中に散逸させたりしている²⁵⁾。

一方、コンクリートを三面に張った側溝が山の上のゴルフ場や町中の至るところで見かけられるようになった。コンクリートは清掃や除草に便利であり、かつ、崩壊にも強いが、従来の河川の浄化能力の低下を招き、農薬などの汚染物質が直接下流や海に流入するようになった。Fig. 3A は、金沢市のゴルフ場の側溝が赤褐色の微生物被膜に覆われている例を示した。その河川堆積物と水を採取して、ビーカ中に 2.5 カ月間放置すると Fig. 3B のように、バクテリアの細胞内に金属顆粒が多数形成される。この金属顆粒は佐々木、桜井 (1995) や Jensen (1982) が報告した金属顆粒とよく似ている。彼らは、この金属顆粒が DNA に見られるような特別な挙動は示さず、バクテリアが餓えにたいして飢餓状態に置かれたときに形成すると報告している。なお、これは PPB

Fig. 3 Field views of an iron seep in concrete drainage. The well developed seep has the characteristic red-brownish color indicating extensive iron accumulation in the bacterial colonies (A), A scanning electron micrograph of *Bacillus* sp. from microbial mats. Note that the bacterial cells were filled with ferrihydrite granules (B).

(polyphosphate body) volutin granules と呼ばれ磷酸基が数十から数百個つながった polymetaphosphate 分子に金属イオンが結合したものである²⁶⁾²⁷⁾。しかし、本研究において、Fig. 3B に示したように、かん菌中に見られる顆粒のエネルギー分散分析では、低結晶性の水酸化鉄であり、球菌中にはこの顆粒は認められない。なお、この河川水と堆積物を酸素の供給と光合成の条件を備えた環境下で培養実験を行うと、鉄とマンガンの両方を持ったドーナツ型のバクテリアのコロニーが生成された。このコロニーの中央には マンガン酸化細菌 *Leptothrix discophora* 様のバクテリアが透過型電子顕微鏡で観察される。これらの生体鉱物は河川水の pH (7~8) と Eh (100~200 mV) の条件下で、微生物機能により生成した²⁸⁾²⁹⁾。また、このマンガン鉱物 buserite Mn (IV) に富んだ赤褐色の微生物被膜の生成は地質構造と関係があり、金沢周辺では、大桑累層と呼ばれる更新世の浅海性細粒砂岩層の地下水の流れ出る場所に限られている。地質図に微生物被膜の分布をプロットすると大桑累層の分布と一致する。この地下水は通常、還元性、嫌気性条件下では無色透明であるが、ひとたび開発の手が入ると酸化され、2~3 カ月で赤褐色の微生物被膜を生成する。

この大桑累層を切り崩して開発したゴルフ場、採土場、産業廃棄物処理場、金沢大学角間キャンパスのあちこちにこの赤褐色の微生物被膜が見られる。さらに、金沢市内の融雪装置のスプリンクラーも地下水を用いているが、その水源が大桑累層である場合、道路面が放水により赤褐色に染まっている場所も多く見受けられる^{30)~32)}。

5. 銘石と植物生育実験

近年、飲料水まで国内外から買わねばならないくらい水質環境が悪化し、おいしく安全な水が要求されるようになった。一方、加熱殺菌されていないナチュラルミネラルウォーターの2~3割が一般細菌や微生物により汚染されており、検討がせまられている。そこで、家庭で手軽に安価でおいしい飲料水を作る装置やグッズが市販されるようになった。また、“米の中に入れてご飯を炊くとふっくらと炊き上がる”、“水につけておくとカルキ臭がとれる”、“湯に入れると血行がよくなる”などのキャッチフレーズで、電子装置や二酸化チタン、オゾンガスを用いた浄水器、備長炭(びんちょうたん)、活性炭、竹炭、麦飯石、戸室石、ゼオライト、遠野の銘石などさまざまな炭や岩石、鉱物が市販され、人々の関心も高まっている。これらのパンフレットの説明によれば、いずれも花は長持ちし、魚さえも長生きすると書いてある。

そこで金沢大学理学部地学教室の2年生35人が授業の中で身近なものとして、備長炭、活性炭、竹炭、遠野の銘石(角閃石)、麦飯石、戸室石(安山岩)、ゼオライトなどを入手し、植物によりその効果を確認する実験を行った。

実験に用いた花は野外のセイタカアワダチソウ(Fig. 4B)や花屋から購入したカーネーション、デージー、バラ、フリージア、スイトピー、オドリコソウ、大豆などさまざまなものである。水に入れる物は、上述の物質の他、自動車からの排気スス(Fig. 4B-c)、南国石、サンゴ砂(ともに金魚などの水槽の下にひく)、花こう岩、畑の土、市販されているEM菌(Effective microorganisms)、10円玉(銅)などいろいろな物が用意され1~3週間、観察実験が行われた。なお、この実験の前に、土壤粘土鉱物には水を浄化する作用があることを実験により確かめてある。すなわち、青インク水(pH3)に砂、畑の土、山の土を各々入れて1~2週間静置すると、インクの色は消え、水は無色透明になる(Fig. 4A-a, b, c, d)。青インクはタンニン酸や没食子酸

Fig. 4 Experimental biomineralization and bioremediation tests using blue-ink solution (a in A) with river sediments showing transparent clean water after 1~2 weeks of aging (b, c, d in A). Arrows indicate the bacterial colonies in the sediments. A photograph showing experimental bioremediation tests for plantation using soot (e in B), normal water (f in B), and mineral-purifier (g in B). A scanning electron micrograph of charcoal which was used for purifier of contaminated water, showing porous structure of plant (C).

水溶液に硫酸第一鉄を加えたものであるが、空気に触れると第一鉄が第二鉄となり、これがタンニン酸や没食子酸と作用して青色の沈殿物を作る。このとき、スメクタイトなど層間に陽イオンを持つ粘土鉱物が存在すると陽イオン交換が起こり、脱色作用が生じると考えられる。また、容器の底の堆積物は、微生物の繁殖のため、赤褐色のバンドやパッチ模様ができています (Fig. 4A, arrows)。この実験は粘土鉱物の八面体層に入る陽イオン交換能と嫌気性バクテリアの生体鉱物化作用を検討するために行ったが、特に、スメクタイトを含有する畑や山の土には浄化能力が高いことが証明された。そこで今回の植物の生育実験にも土壌を用いた。

その実験結果では、水の腐敗を防ぎ、植物を長持ちさせる効果が顕著に見られた物は、一般に戸室石 (金沢市周辺の安山石)、花こう岩、南国石、麦飯石、石英、サンゴ砂、活性炭などであった。ここで、石英について興味ある研究報告がある。石英の表面はスムーズで硬いため微生物が付着しにくいと思われがちであるが、Bavestrello et al. (1995)³³⁾の研究によれば付着したスポンジ (*C. reniformis*) で石英の表面は8日間で浸食され、軽石のようになった。しかし、同じ Si 鉱物でも加水けい酸のカルセドニーやオパールには付着せず、浸食も起こさないという。

一方、ユリオプスデージー (キク科) は、ゼオライト、EM 菌、流紋岩、凝灰岩、100 円玉などでは効果が見られず、4~5 日で植物が枯れた。スイトピーについての実験では、竹炭、サンゴ砂、麦飯石、花こう岩で明らかに効果が認められたが、南国石、活性炭、木炭はあまり効果がなかった。また、カーネーションについては、花の色で効果に差が見られ、赤い花は安山岩や木炭で効果があり、白い花はサンゴ砂、木炭で効果が見られた。これは赤い花の色素 (アントキアン色素) と白い花の色素 (フルボン色素) が水中の溶存イオンと反応し、差異が生じたと考えられる。これらの効果の見られた試料ビンの内壁にはぬめりも少なく、18 日以降のサンゴ砂の表面にやっとなめができた。カーネーションの場合、麦飯石については、いずれの花の色にも効果が認められなかった。備長炭、竹炭は二度焼をしているため、たたくと高い金属音がし、緻密な構造を暗示させるが、電子顕微鏡で観察すると、いずれも小さな空洞が多数認められる構造を持ち、比表面積が大きいことが特徴である (Fig. 4C)。この多孔質構造が油の劣化を抑えたり、消臭、除湿効果を表し、水の浄化に用いられている理由であろう。しかし、この効果にも限界があり、多孔質構造に目づまりが生じると、浄化効果が認められなくなり、熱湯で煮沸し天日で乾燥させると再度使用が可能である。このことは、炭を入れることにより水中のバクテリアの量が少なくなるのではなく、試料ビンに入れた物質の表面に付着することを示している。また、活性炭は塩素系有機物やアンモニアの除去にも効果があり、鉄成分の吸着力も強いことが知られている³⁴⁾。

この実験に使用した炭類や岩石はいずれも植物の生育と水の腐食に効果が見られたが、植物の種類や色により効果に差がでてくことは、植物自体の特性に加え、生育時の水の pH、Eh、DO、溶存イオンの種類にも依存していると考えられる³⁵⁾。また、植物の横断切片を有機試薬染色した顕微鏡観察では、重金属イオンの種類によって濃集する場所も異なることが知られている³⁶⁾。例えば、銅と鉛は土壌成分のカルボキシル基と金属錯体を形成して細胞壁周辺に分布するが、亜鉛は、水溶性化学種として細胞質内部に分布する。いずれにしても、水中に入れた炭、岩石、鉱物の表面にバクテリアが付着し、水中のイオンの濃集と固定をバランスよく行い、水が浄化され、植物の生育を助けたと考えられる。しかし、試料ビンの中など閉鎖系においては好気性バクテリアの浄化能力に限界があり、溶存酸素の減少により嫌気性バクテリアが優勢となり悪臭を放つようになる。ここにも活性汚泥法の原理が成り立っている。

6. 活性汚泥法を利用した有用鉱物の生成

小規模で短期間の水質浄化には、前で述べたような炭類、岩石、鉱物が有効であるが、大規模かつ持続的な浄化は最大限自然の浄化能力を維持または引き出す方法を考えねばならない。金沢大学理学部地球学教室の環境実験で、金沢市を流れる三大河川 (犀川、浅野川、金満川) の 200 カ所の水質 (pH、Eh、DO、水温、リン、アンモニア、窒素、界面活性剤) について、1994 年と 1995 年に

測定を行った。その結果、市街地は生活排水による水質汚染が著しいが、下水道施設のない山間部や日本海側の河北潟周辺でも汚染が進んでいることを示した³⁷⁾。反面、市街地であっても、河川に植物が繁茂したり、砂や小石が残っている所、石垣の土手の部分は比較的水質は良好であった。そこで、河川の堆積物と水を採取し、瓶に入れてバクテリアの自然培養実験を試みた。このバクテリアは採取したサンプルに含まれていたものであり、したがって、属名や種名は特定できない。7~10日後、水質が悪化している場所の試料は悪臭を放ち、水も淀んできたが、一方、水質の良好な試料は、びんの縁やスライドガラスの表面に赤褐色の付着物が付き、堆積物中には2~3色の層が形成され、無臭であった。すなわち、後者は明らかに、砂、小石といった堆積物が水の浄化をし、かつ、赤褐色の付着物を形成しているバクテリアの浄化作用の効果が現れている。なお、この付着物は、水酸化鉄鉱物とマンガン鉱物（ブーセライト、buserite）より構成されており、ともにバクテリアがつくった生体鉱物である²⁹⁾³⁰⁾。閉鎖系水域の河北潟は、湖水の循環が悪いため、汚濁の指標となるCODが環境基準値の2倍以上を示し、1995年に環境庁の生活排水対策重点地域の指定を受けた。そこで〈生態系を活用した水質浄化事業〉が河北潟で動き出すことになった。水底に繁殖する抽水植物のヨシや、水面に生育する浮標植物のホテイアオイにより生活排水中

Fig. 5 A transmission electron micrograph of the fixed metal with bacteria in activated sludge. The bacteria contributed to form hydrate phosphates (turquoise or faustite) from the sludge on the cell walls.

Fig. 6 A scanning electron micrograph of bacterially formed jarosite by *Thiobacillus ferrooxidans* in 9K-medium after 7 day-culture at 33 °C.

の窒素やリンを吸着し湖水の浄化が期待されている。このヨシやホテイアオイによりどのような重金属が濃集し生体鉱物をつくるかを電子顕微鏡レベルで検討する必要がある。

一方、近年、町村レベルで行われている下水道の持続的な浄化法は活性汚泥である。活性汚泥の微生物生態系は、細菌、菌類、原生動物、微小後生動物の混合生物群から構成されている。

エアレーションタンクは、温度、pH、溶存酸素濃度、栄養濃度、通気時間などを制御し、人工的に嫌気性条件と好気性条件を変化できる特殊な環境の場であり、排水中から高濃度の有機物、窒素、リンなどを生物的に除去できる³⁸⁾。このとき、pH 7~8付近でリンの摂取能力が最高となる性質を利用して、活性汚泥に亜鉛を加え、汚泥滞留時間15日という短期間で、バクテリアにリン酸塩鉱物を作らせることに成功した。かん菌や球菌の細胞壁や細胞内には多量のトルコ石やFaustiteが形成したのを超薄切片のエネルギー分散分析、透過型電子顕微鏡観察および粉末X線回折分析で確認した (Fig. 5)³⁹⁾⁴⁰⁾。

さらに、活性汚泥中の微生物がさまざまな生体鉱物をつくる可能性を調べるため、分離した *Thiobacillus ferrooxidans* と9K培地を用いてその挙動を電子顕微鏡で観察し、粉末X線回折分析を行った結果、9K培地中の溶存鉄イオンが急速に減少した3~7日において、ジャロサイトとアンモニオジャロサイトの結晶が生成した (Fig. 6)²⁾⁴¹⁾。このように、活性汚泥中の微生物を用いることにより、容易に短期間で生体鉱物を作ることができる。従来、土壌や海底から汚染環境を浄化するための有用微生物が発見されてきたが、今後、活性汚泥中からも活用できるバクテリアが発見される可能性が高い。

7. アパタイトの微生物腐食

前述の〈銘石と植物の生育実験〉において、さまざまな炭、岩石、鉱物に水中のバクテリアが付着し、水の浄化や植物の生育を

助けていることが明らかになった。そこでバクテリアがどのような物質を好んで相互反応を行っているかを知ることは、環境の生態系が何によってバランスを保っているかを知る鍵となり、かつ、有用な素材を見つける一助ともなる。また、建造物の材料となる岩石、鉱物の耐性についても化学的、物理的な特性はよく調べられているが、微生物学的な側面の検討は遅れている。例えば、国宝の土塀の表面に析出した黒色物質や、先カンブリア紀の岩石で作った古代遺跡の白色の割れ目などは、いずれも微生物腐食の可能性がある。また、西オーストラリアのパスから 700 km 東にウエブロックという場所があるが、その名前の通り、先カンブリア紀の花こう岩の表面には、波のように赤、黄、黒、褐色の縞模様が見える。その縞模様は、鮮苔類、藻類が表面に付着してきた色模様であり、一種の微生物腐食である。原住民が花こう岩に描いた壁画もいずれ微生物腐食のため消えることが危惧される。Bavestrello et al.(1995)³³⁾の研究のように、硬い石英でさえスポンジにより 8 日で浸食されるのである。すなわち、鉱物、岩石と微生物の相互作用のミクロの研究が必要である。

近年、生体もしくは微生物などと長時間接触してその働きを助ける材料であるバイオマテリアル（高分子、金属、セラミックスなど）の持つ化学的、機械的特性に興味を持たれてきたが、微生物学的側面はどうであろうか。骨や歯の無機物の主成分であるハイドロキシアパタイトは、十数年前、人工的に合成され、骨組織と直接結合し生体親和性が高いことが明らかになった。この生体活性セラミックスは生体内で溶解し、表面にハイドロキシアパタイトの結晶層を作る。骨の主成分と二次的に生成するハイドロキシアパタイトとは結晶レベルでエピタキシャルな結合をすると考えられている⁴²⁾。その結晶化の初期には、サブマイクロンサイズのキャビティーが多数生じ、その後、ハイドロキシアパタイトの結晶度は落ち、球粒の結晶が表面を覆うようになる⁴³⁾。ハイドロキシアパタイトはヒトの骨と骨性癒着することができ、すぐれた生体適合性を有しているため、人工歯根、骨補填材、人工耳小骨など医療材料として応用されている。また、ハイドロキシアパタイトの顆粒にインフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス、ポリオウイルス、B 型肝炎ウイルスがよく吸着する性質を利用して、予防マスクとして使用されている⁴⁴⁾。アパタイト焼結体を骨組織に埋入すると、骨芽細胞の活性化が起こり、新生骨が形成されることは多数の動物実験で証明されている。また、生体内でアパタイトの生成が起こるときにはアルカリフォスファターゼ (ALP) という酵素の活性が高まることが知られている⁴⁵⁾。筆者の研究室では、無機質の試料としてアパタイトを選び、活性汚泥や製鉛排水における腐食を電子顕微鏡で観察した⁴⁶⁾。スリランカ、エバワラ鉱床産のハイドロキシアパタイトを高濃度有機排水処理装置（好気高温性バクテリア）に入れ反応させると、30 日目ではへき開が顕著になり、100 日目ではバクテリアの数が倍増し、コロニーを形成した。

このコロニーは球状に大きくなるものと、平面的に広がるものとが見られる (Fig. 7A, B)。コロニーは成長するに従い、バクテリアの形状が変形し板状の形態をとる。X 線回折分析によれば、この時点で、ハイドロキシアパタイトからフルオロアパタイトに変化する。一方、自然界において、このエバワラ鉱床の周辺にはアパタイトの段階的風化過程が観察できる。初生的なハイドロキシアパタイトの表面には、風化作用でできた円盤状の Fe や Si の沈着物（鉄質）が生成され、それが結晶化していく過程が報告されている⁴⁷⁾ (Fig. 7C)。この形態は、実験室での微生物腐食実験でできるコロニーとよく似ており、化学的晶出よりはむしろ微生物関与による生成を暗示している。

Fig. 7 Scanning electron micrographs of bacterial biodegradation of apatite (A, B) and weathering of apatite under extreme conditions of leaching (C). A: Starting fresh material of hydroxyapatite, B: after 100 days of aging sample showing numerous bacteria on the surface, C: the lateritized brown crust of disk shaped iron-rich apatite.

また、筆者の研究室では、生物にとって必須元素である P と Ca の循環に着目して、鉱物のハイドロキシアパタイトを市販の EM 菌に浸けて微生物による腐食実験を行った⁴⁸⁾⁴⁹⁾。

用いた市販の EM 菌の中には 1~5 ミクロンの球菌とかん菌が多数認められた。添加した糖蜜の主成分は多糖類物質のほか、無機物として多量の K, Cl と少量の Mg, Si, S, Ca を含んでいる。アパタイト、糖蜜、EM 菌を入れた溶液の pH および Eh は、10

Fig. 8 Changes of solution pH and Eh during biodegradation in sugared solution associated with EM bacterial colonies, showing drastic changes within 10 days. solid line; with apatite sample, dotted line; control sample without apatite.

日前後で両者とも最大の変化を示した (Fig. 8)。

微生物が呼吸をしたり、老廃物を出したりするときに、周囲の水素イオン濃度を変化させるので、微生物の活動は pH の変化で知ることができる。また、微生物関与による酸化状態の変化は Eh により知ることができる。すなわち、pH の著しい低下は、溶液中のバクテリアが糖を分解することにより生成する有機酸や二酸化炭素によって引き起こされる。このとき、溶液中の酸素は消費され減少する。このために溶液は還元状態となり Eh が低下する。有機酸により溶解されたアパタイトは、溶液中に P や Ca イオンを溶出させる。10 日以降は溶液中の糖がバクテリアにより完全に分解され酸化還元状態が初期の状態にもどったためと考えられる。すなわち、この EM 菌が産出する有機酸がアパタイトを溶解し、溶出した P や Ca イオンはこの菌が糖を代謝分解するのに促進的に作用したと考えられる。

バクテリアによるアパタイトの腐食状態を走査型電子顕微鏡で観察し、エネルギー分散分析でその化学組成の変化を知ることができる (Fig. 9)。実験 35 日 (A) と 50 日目 (B) のかん菌は、超音波洗浄後でもアパタイトの表面にしっかりと付着しており、そのバクテリアの化学成分は出発時と比較し、2~3 割 P と Ca の増加が認められた (C)。またアパタイトの表面には多くの浸食孔が存在し、バクテリアの付着の形跡を暗示させている。さらに、そのアパタイトの表面は部分的に結晶度が弱まっている可能性もある。なお、アパタイトを入れた場合と入れない場合とで pH と Eh の変化の差が見られたことから、バクテリアによる反応の活

Fig. 9 Scanning electron micrographs of biodegradation after 35 days (A) and 50 days (B) of aging in sugared solution associated with EM bacterial colonies. Both samples were washed twice by ultrasonic for 10 min. in distilled water, showing bacterial cells still placed on the apatite surface (b) and etch pits by biological corrosion (a). The EDX analysis (C) of bacterial cell in B-b indicated P-Ca elemental fixation by bacteria in sugared solution associated with EM bacterial colonies.

性が顕著である。さらに、アパタイトの微生物腐食は、虫菌や菌臭病との関係からもよく研究されている⁵⁰⁾。

8. あ と が き

筆者の研究室は、〈大気-水-土-バクテリア〉をキーワードとした地球環境学をめざして研究を行っている。低品位の物質から、微量の有用元素を抽出したり、鉄や硫黄成分を取り除き品位

の高い物質を得るためにバクテリアリーチング法が、地質、鉱物、鉱床、資源の分野で古くから行われてきたが、そのメカニズムや電子顕微鏡による詳細な研究は少なかった。ところが、ここ 20 年来地球環境汚染、公害問題がクローズアップされてき、人類が生存していくためのエッセンシャルな空気、水、土さえも安全性が疑われ出し、エコシステムや物質循環に関心が高まってきた。バクテリアが周囲の汚染環境から毒性の高い元素を取り込み、生体鉱物として無毒化し、堆積物に固定する作用である〈バイオミネラリゼーション〉は地球環境の〈クリーニング屋〉さんである。従来の学問分野にとらわれずに工学、理学、農学、医学分野が共同研究体制を組むときである。

謝辞 最後に、小文を書くように薦めていただいた板垣乙未生編集委員長ならびに恒川昌美編集幹事にお礼申し上げる。また、金沢大学理学部地球学教室の田崎ゼミナールの大学院生や学部生には図表の作成等でご協力いただいた。ここに併せてお礼を申し上げる。

引用文献

- 田崎和江：鉱物学雑誌, Vol. 20, p. 93-104, (1991)
- 田崎和江：地質ニュース, Vol. 489, p. 17-30, (1995)
- 田崎和江：鉱物学雑誌, Vol. 25, p. 29-48, (1996)
- Young, L. Y. and Cerniglia, C. E. : Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals. WILEY-LISS, A JOHNWILEY & SONS, INC, PUBLICATION, 654, (1995)
- 児玉 徹・大竹久夫・矢木修身：地球をまもる小さな生き物たち, 技報堂出版, p. 238, (1995)
- Mann, H., Tazaki, K., Fyfe, W. S. and Wiseman, M. : Ontario Geological Survey Miscellaneous paper, Vol. 140, p. 34-45, (1989)
- Ferris, F. G. : Earth Science, Vol. 47, p. 233-250, (1994)
- Lovley, D. R., Phillips, E. J. P., Gorby, Y. A. and Landa, E. R. : Nature, Vol. 350, p. 413-417, (1991)
- Mann, H. and Fyfe, W. S. : Uranium, Vol. 4, p. 175-192, (1987)
- Mullen, M. D., Wolf, D. C., Ferris, F. G. and Bailey, G. W. : Applied and Environmental Microbiology, Vol. 55, p. 3143-3149, (1989)
- Wakao, N., Nagasawa, N., Matsuura, T. and Shiota, H. : J. Gen. Appl. Microbiol., Vol. 40, p. 143-159, (1994)
- 若尾紀夫：月刊地球, Vol. 18, p. 56-60, (1996)
- Sasaki, K., Tsunekawa, M. and Konno, H. : Shigen-to-Sozai, Vol. 112, p. 49-53, (1996)
- 笹木圭子・恒川昌美・金野英隆・平島 剛・高森隆勝：資源と素材, Vol. 109, p. 29-35, (1993)
- Sasaki, K. : Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 58, p. 4649-4655, (1994)
- Carlos, L. and Tazaki, K. : Science Rep. of Kanazawa Univ., Vol. 38, p. 95-106, (1993)
- Skinner, H. C. W. and Fitzpatrick, R. W. : Biomineralization ; Processes of iron and manganese. CATENA Supplement 21, Germany, p. 432, (1992)
- Tazaki, K., Zhou G. and Koiwasaki, K. : Science Rep. of Kanazawa Univ., Vol. 39, p. 47-63, (1994)
- 田崎和江・森 忠洋・野中資博・野田修司：粘土科学, Vol. 30, p. 91-100, (1990)
- 田崎和江・森 忠洋・野中資博・野田修司：粘土科学, Vol. 30, p. 178-186, (1990)
- 野中資博・森 忠洋・野田修司・田崎和江：農土論集, Vol. 151, p. 75-83, (1991)
- Mori, T., Nonaka, T., Tazaki, K. and Noda, S. : Water Res., Vol. 26, p. 29-37, (1992)
- Tazaki, K., Mori, T. and Nonaka, T. : Canadian Mineralogist, Vol. 30, p. 431-444, (1992)
- 加藤憲二：微生物の生態, Vol. 16, p. 27-39, (1988)
- ふるきやネットワーク編：棚田, p. 71, (1996)
- 佐々木吉信・桜井郁子：形の科学会報, Vol. 10, p. 60-61, (1995)
- Jensen, T. E. : Environmental Pollution, Vol. A-27, p. 119, (1982)
- 田崎和江・服部竜哉・岡 美登子・飯泉 滋：地質学雑誌, Vol. 101, p. 87-98, (1995)
- 吉津 研・服部竜哉・田崎和江：第 38 回粘土科学討論会講演要旨, p. 154-155, (1994)
- 吉津 研・田崎和江：第 39 回粘土科学討論会講演要旨, p. 30-31, (1995)
- Tazaki, K., Ferris, F. G., Wiese, R. G. and Fyfe, W. S. : Chemical Geology, Vol. 95, p. 313-325, (1992)
- 北戸丈晴・田崎和江：北陸地質研究所報告, Vol. 5, 印刷中, (1996)
- Bavestrello, G., Arillo, A. and Sara, M. : Nature, Vol. 378, p. 374-376, (1995)
- Chenu, C. and Tessier, D. : Scanning Microscopy, Vol. 9, p. 989-1010, (1995)
- 酒井雄一郎・福岡辰彦・本浄高治：日本化学会誌, Vol. 5, p. 416-421, (1991)
- Oda, T. and Honjo, T. : Phytogeogr. & Taxon., Vol. 43, p. 91-102, (1995)
- 田崎和江・周 国平・牧野 裕・西田佐織・青木 歩・松本和也：地質学雑誌, Vol. 102, 印刷中, (1996)
- 森山 清・小林 豊・平石 明・茅野充男：環境科学会誌, Vol. 4, p. 219-226, (1991)
- 田崎和江・石田秀樹・森山 清・森 忠洋：環境科学会誌, Vol. 5, p. 57-66, (1992)
- 田崎和江：地質学雑誌, Vol. 100, p. 436-441, (1994)
- 小岩崎浩一・本坊好正・田崎和江・森 忠洋：地球科学, Vol. 47, p. 493-506, (1993)
- 青木秀樹・志村則夫・久保木芳徳：菌科ジャーナル, Vol. 14, p. 463-474, (1982)
- de Bruijn, J. D., Flach, J. S., de Groot, K. and Davies, J. E. : Cell and Materials, Vol. 3, p. 115-127, (1993)
- 平出恒男：セラミックス, Vol. 28, p. 642-646, (1993)
- 赤尾 勝：セラミックス, Vol. 28, p. 647-650, (1993)
- 平田治子：島根大学理学部地質学卒業論文, p. 1-30, (1992)
- Tazaki, K., Fyfe, W. S. and Dissanayake, C. B. : Applied Geochemistry, Vol. 1, p. 287-300, (1986)
- 小島優美：金沢大学理学部地学卒業論文, p. 1-26, (1995)
- 小島優美・田崎和江：第 39 回粘土科学討論会講演要旨, p. 146-147, (1995)
- 高橋正志・浮須百合子・浅見保子・小林 寛：歯学, Vol. 77, p. 1960-1970, (1990)