

真菌によるホウ素の吸着

【保健衛生室、リサイクルチーム】

上田 豊、花原 悠太郎、増川 正敏^{*}、門木 秀幸

1 はじめに

微生物が重金属を吸着する能力についての研究は、1990年代以降急速に発展し、真菌をはじめとして多くの報告がなされている。重金属含有排水の微生物を用いた処理は、重金属の濃度が低濃度で多量の汚染排水を処理する場合に適した有望な技術とみなされている¹⁾。微生物を乾燥させたバイオマスは、重金属による毒性によって発育を阻害されないことや、離脱が容易な利点を有している²⁾。

ホウ素は排水基準が設定されているが、安価で有効な除去技術が完成されておらず、微生物によるホウ素除去の報告もほとんどない¹⁾。そこで微生物による金属吸着の代表的存在である真菌を用いて乾燥バイオマスを作製し、ホウ素の吸着試験を試みた。

2 材料及び方法

(1) サンプルング

倉吉市内産業廃棄物処分場、鳥取市内ホーロー工場、鳥取市内温泉3施設、岩美鉱山の排水、汚泥等をそれぞれ5~6検体ずつサンプルングした。また衛生環境研究所の屋上大気を75件サンプルングした。

(2) 真菌分離方法

排水、汚泥等は2段階に希釈し、PDA培地、DG18培地を用いて25°C4日~1週間培養し、真菌を分離した。大気中の真菌は0.05% Tween20液で抽出しDG18培地で1週間培養し、真菌を分離した。

(3) スクリーニング試験

分離された真菌をGP培地で10日間培養し、GP培地を蒸留水で3回リンスした後、80°C15時間乾燥させた後、50mg/Lホウ素液を10ml添加し、25°C100rpmで1晩振とうした。その後、ICPでホウ素濃度を測定し吸着率を算出した。相対的にすぐれた吸着率を示したものを有望株として冷凍保存した。その後有望株について乾燥バイオマス重量を測定し、50mg/Lホウ素液を

用いてバイオマス濃度を3%となるように調整した。それを25°C100rpmで1晩振とうし、最大吸着率を示したものを1株選抜した。選抜された菌は形態学的特徴及び遺伝子配列から属の同定を行った。

(4) 吸着特性試験

選抜された菌についてホウ素の吸着特性を調べるため以下の試験を行った。これらの試験では、培養はすべて27°C、通気性キャップ付フラスコを用いて行った。乾燥バイオマスは、培養菌を蒸留水でよく洗浄した後、80°C15時間の加熱により作製した。

1) pH試験

2週間培養し、0.2mol/L水酸化ナトリウムで80°C30分加熱した後蒸留水でよく洗浄し、バイオマスを作製した。バイオマス濃度2%、ホウ素濃度20mg/L、25°C100rpm・15時間の振とうの条件で吸着試験を実施した。平衡後のpHがpH3~10になるようにホウ素液を調整し、1gあたりのホウ素吸着量を測定した。

2) 培養日数別試験

1、2、3及び4週間培養し、バイオマス濃度2%、ホウ素濃度20mg/L、25°C100rpm・15時間、平衡後pHは7~9の条件で吸着試験を実施した。

3) 静置培養及び振とう培養比較試験

2週間静置培養し作製したバイオマスと振とう培養して作製したバイオマスの吸着試験を実施した。その他の条件は培養日数別試験と同じとした。

4) アルカリ処理試験

2週間培養し、水酸化ナトリウム0mol/L、0.05mol/L、0.1mol/L、0.2mol/Lで80°C30分加熱した後、蒸留水でよく洗浄し、バイオマスを作製し、吸着試験を実施した。その他の条件は培養日数別試験と同じとした。

5) ラングミュア吸着等温式

4週間培養し0.2mol/L水酸化ナトリウムでアルカリ処理して作製したバイオマスについて、50mg/L、100

mg/L、300 mg/L、500 mg/L のホウ素液を用いて吸着試験を実施した。バイオマス濃度はそれぞれのホウ素濃度について1%、2%、5%となるようにして実施した。その他の条件は培養日数別試験と同じとした。

3 結果と考察

(1)スクリーニング試験

排水、大気から採取した検体から真菌が1,585菌株分離された。このうち相対的に吸着能が高いと思われる有望株84菌株を保存した。これらについて同一条件下で吸着試験を行い、最も優れた菌株を選抜した。この菌の形態学的特徴及び遺伝子配列から*Cladosporium sp.*と同定した。*Cladosporium sp.*は、黒色糸状菌の1種であり、その黒色はメラニンによっている。*Cladosporium sp.*による銅の吸着能も報告されており、その白色変位株を用いた実験により、吸着はメラニンによるものであることが示されている³⁾。今回、吸着のメカニズムは明らかにできなかったが、メラニンによる吸着の可能性を含めてこのメカニズムの解明は吸着能力を増大するために必要と思われた。

(2) 吸着特性試験

1) pH試験

pHについては依存性がみられた。すなわちpH7～9の弱アルカリ域で最も吸着能が高く、最適pHと考えられた。ホウ素はアルカリ域ではイオンとして存在するため、吸着の機序もイオン結合であることが推定された。

2) 培養日数別試験

培養日数が増えるごとに吸着能が増加していた。4週間培養したものは、1週間培養したものと比べ同量のバイオマスでも1.5倍以上の吸着量がみられた。吸着に関与する物質は、菌体の発育に比べ、遅れて発育するものと考えられた。

3) 静置培養と振とう培養の比較試験

静置培養の方が振とう培養より高い吸着能が示された。静置培養では菌は培地表層に菌蓋を形成して発育し、大気に直接接触する。一方振とう培養は培養液中の溶存酸素によって呼吸がなされ、消費可能な酸素量は静置培養と比較して少ない。吸着物質の生産には酸素消費量が影響しているものと考えられた。

4) アルカリ処理試験

水酸化ナトリウムの濃度が高くなるにつれて吸着能が増加し、アルカリ処理は有効と考えられた。微生物による金属吸着では前処理はしばしば用いられ、吸着能を高める効果が報告されている。前処理としては加熱、凍結融解、ホルムアルデヒド等有機化合物、アルカリ処理等が知られている。真菌ではアルカリ処理が有効とされ、*Cladosporium sp.*を用いた実験では0.2mol/L水酸化ナトリウム処理により銅の吸着率の上昇が報告されている⁴⁾。金属との結合を阻害する部分を取り除く、あるいは結合部位をより露出させることによる効果と考察されている。

5) ラングミュア吸着等温式

ラングミュア吸着等温式は、 $Q_e = Q_{max} \cdot b \cdot C_e / (1 + b \cdot C_e)$ として示される。

これより $C_e/Q_e = 1/Q_{max} \cdot b + C_e/Q_{max}$ と表すことができる。

Q_e : 平衡時におけるホウ素吸着量 (mg/g)

Q_{max} : ホウ素の最大吸着量 (mg/g)

C_e : 平衡後ホウ素濃度 (ppm)

b : ラングミュア定数

得られたグラフ(図1)より相関係数は0.99であり、この吸着等温式によく適合すると考えられた。また、グラフの直線の傾きより、 Q_{max} は2.47mg/gと算出された。

ホウ素を微生物で吸着あるいは蓄積する報告はほとんどなく*Bacillus subtilis*での蓄積が報告されているが、その蓄積量は乾燥バイオマス1gあたり0.0147 μ gであり、量的には微量である⁵⁾。今回も量的にはまだ少量であるが、真菌の中により高い吸着能を有するものが認められたことから、微生物による吸着技術における発展の余地があることが示された。

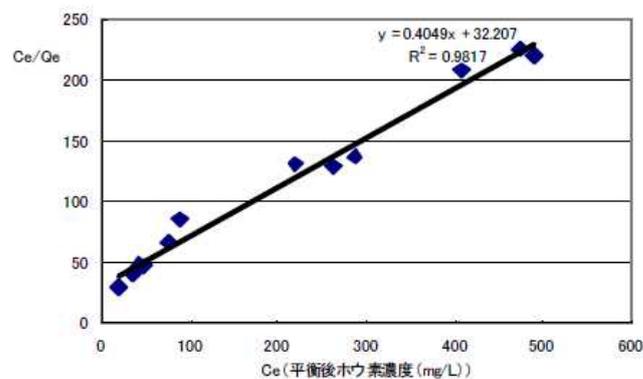


図1 ラングミュアプロット

4 まとめ

本研究では、真菌を用いたホウ素の吸着能についての検討を行った。その結果得られた知見は以下のとおりであった。

- (1) 真菌の1種である *Cladsporium spp.* の中には、ホウ素を吸着する株が存在する。
- (2) ホウ素液の pH により吸着能が異なり、最適 pH は弱アルカリ領域であった。
- (3) 培養条件によって吸着能は異なり、培養期間が長いほど大きく、4 週間のものが最大であった。また、静置培養の方が振とう培養したものより吸着能が大きかった。
- (4) 0.2mol/L 水酸化ナトリウム処理によって吸着能が増加した。
- (5) ラングミュア吸着等温式に適合し、そのホウ素最大吸着能は、2.47mg/g であった。

5 参考文献

- 1) Wang J, Chen C :Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol Adv* ,27,195-226 (2009).
- 2) Sen M, Dastidar MG, Roychoudhury PK: Biosorption of chromium(VI) by nonliving *Fusarium sp.* isolated from soil. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 9, 147-151(2005).
- 3) Gadd GM, Rome L: Biosorption of copper by fungal melanin. *Appl Microbiol Biotechnol*, 29, 610-617 (1988).
- 4) Dong X: Biosorption of Cu²⁺ from aqueous solutions by pretreated *Cladsporium sp.*. *Journal of Environmental Biology* ,27, 639-643 (2006).
- 5) Miwa H, Fujiwara T: Isolation and identification of boron-accumulating bacteria from contaminated soils and active sludge. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55, 643-646 (2009)