生物学的水銀除去のための固定化微生物技術の開発に関する研究

東北学院大学　工学部　環境建設工学科　学生会員　今野　純平
同上　非会員　簡　梅芳
同上　正会員　宮内　啓介
同上　フェロー会員　遠藤　銀朗

1. はじめに

金属の一つである水銀は古くから有用な物質として認識されていて、現在でも様々な産業製品に広く利用されている。しかしながら、使用方法や処理方法を誤れば人間や生態系に深刻な影響を与える危険物質でもあり、熊本県で水俣病を、新潟県で新潟水俣病(第二水俣病とも呼ばれる)を引き起こした原因物質である。従って、既存の水銀汚染に対する適切な処理・汚染除去技術が必要である。

水銀によって汚染された排水等の処理法としては、吸着や凝集等の化学的方法、加熱還元気化法等の物理学的方法、および生物による水銀化合物の分解および還元による方法が検討され、一部実用化もなされている。

本研究室では、以前水銀耐性細菌 *Bacillus megaterium* MB1 株（以下 MB1 株と呼ぶ）を単離し、その水銀耐性機構を調べた上、それを利用して水銀除去を行うための基礎的研究を行ってきた。

本研究では、MB 1 株を用いた水銀除去のための固定化微生物技術の開発を目的とした。ゲランガムゲルを固定化担体として、MB 1 株に対する包括固定条件を検討し、固定化した MB 1 株の水銀溶液からの水銀還元除去能を評価したので報告する。

2. 水銀耐性細菌の耐性発現と水銀除去のメカニズム

微生物の水銀耐性は水銀化合物を分解し水銀イオンに変換し、それをさらに金属水銀へと還元することによって得られる。この一連の反応は *mer* オペロンという一連の遺伝子の発現によってなされる。その遺伝子群の配置の一例を図-1 に示す。

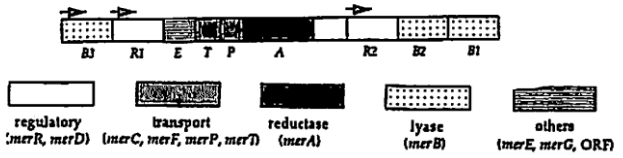

図 1.水銀耐性遺伝子群の配置の一例

3. 実験材料と方法

3.1 ゲランガムによる MB1 株の包括固定化

前培養した MB1 株を 200 ml の LB 溶液に植菌し、37℃、160 rpm で一晩振とう培養した。その菌液を遠心分離によって集菌し、2 ml の超純水で懸濁した後、100 ml の 2%ゲランガム溶液に加えた。ゲランガム菌液を冷やした 1%の塩化カルシウム溶液に滴下し、ゲランガム菌液がゲル化してビーズ状に固定するまで撹拌した。コントロール用として無菌のゲランガムビーズも同様に作製した。

3.2 固定化菌体による水銀溶液から水銀除去能の評価

水銀溶液は、LB 液体培地と超純水を用いて、それぞれ 10 μg/ml の塩化水銀溶液となるように希釈し作製した。試験管に 10 ml の水銀溶液と 20 粒の固定化菌体ビーズを入れ、上記の条件設定で実験を開始した。実験開始直後（0 振とう）と、3、6、9、24 時間経過後ごとに、溶液と固定化菌体ビーズをそれぞれ 1 ml、および 2 粒採取した。溶液中の水銀残存濃度と固定化菌体ビーズ中の水銀含量は加熱気化型原子吸光光度計を用いて測定した。

4 結果および考察

4.1 ゲランガム固定化菌体ビーズの作製条件の決定

ゲランガムの濃度及びゲル化条件について、ゲルビーズ作製の容易さ、ゲルの強度及び固定化菌体の活性への影響の視点から評価した。結果として、

キーワード:水銀除去　水銀耐性細菌　*Bacillus megaterium* MB1 株　固定化微生物　ゲランガム
連絡先: 〒985-8537 宮城県多賀城市中央 1-13-1 東北学院大学工学部　遠藤銀朗研究室
TEL: 022-368-7493 FAX: 022-368-7070

50-60℃の 2%のゲランガムを冷やした 1%の塩化カルシウム溶液に滴下してゲル化させる条件がゲル強度・作製の容易さなどの点で適切であった。また、作製した固定化菌体ビーズは、水銀除去試験において、LB 液体培地にて 37℃で一晩培養した後、水銀除去の初発速度と最終的の水銀除去率が向上したことが確認できた（図 2)。これらの結果により、以下水銀除去試験は LB 液体培地によって前培養した固定化菌体ビーズを使用することにした。

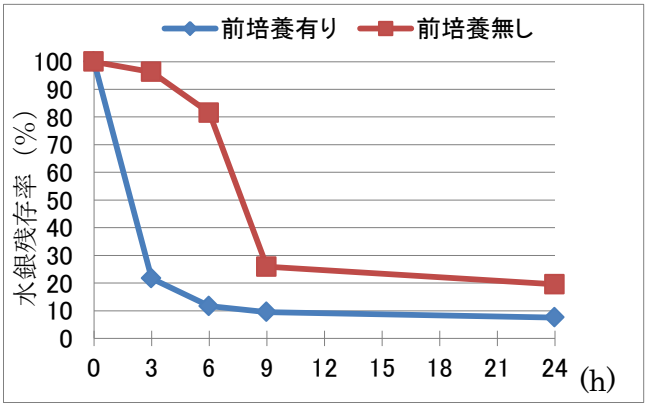

図 2　前培養を行った時の溶液中の水銀量の変化

4.2 固定化 MB1 ゲルビーズによる水銀の除去

固定化 MB1 ゲルビーズを用いた水銀溶液からの水銀除去試験の結果は図 3 に示す。LB 培地の水銀溶液を用いた場合、3 時間から水銀の除去が見られ、24 時間において 90%以上の水銀が除去されたことが分かった。一方、水溶液の場合では、9 時間まで水銀の除去が観察されなく、24 時間においては水溶液の水銀濃度が初濃度の 60%ほどまで下がった結果となった。両溶液における固定化 MB 1 菌株の水銀除去効果が異なることがはっきりとなり、LB 溶液中では、水溶液中より優れた水銀の除去効果が得られることが分かった。

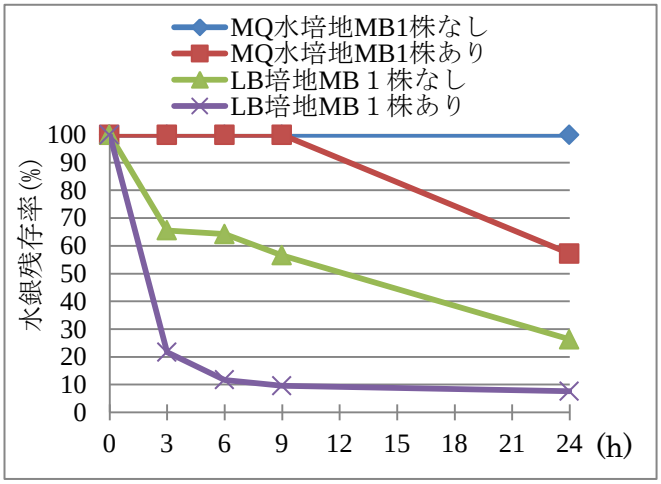

図 3　溶液中の水銀濃度の経時変化

4.3 固定化ビーズにおける水銀の蓄積

固定化菌体ゲルビーズの水銀含量の変化も測定した結果、LB 溶液と水溶液におけるゲルビーズとも水銀の蓄積は少なく、ゲルビーズに蓄積された水銀は 1-3 μg 未満であり、加えた水銀全量の 1%以下であった。このことから、ゲランガム固定化菌体により溶液から除去された水銀は、ゲルビーズにとどまらず気化放出されたと考えられた。LB 溶液における固定化ゲルビーズ内の水銀蓄積量の経時変化を図 4 に示す。

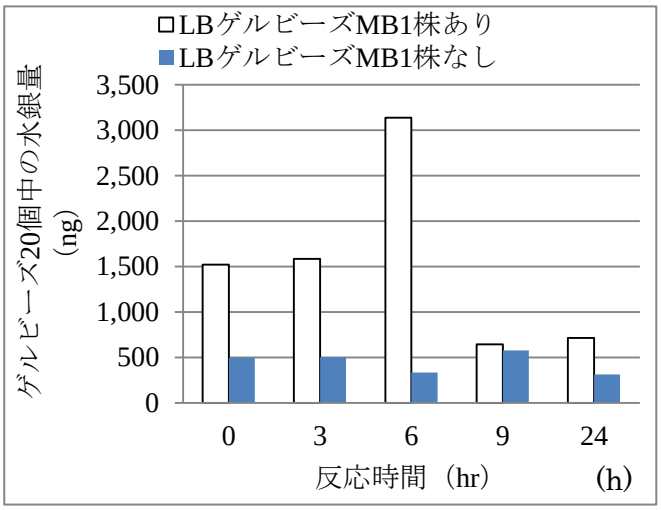

図 4　LB 溶液における固定化ビーズ内の水銀蓄積量の経時変化

5 おわりに

固定化菌体による水銀除去能力について、溶液の組成により水銀除去効果が異なり、LB 溶液は水溶液より高い除去効果が得られた。また、ゲランガムビーズは水銀耐性細菌によって還元され金属化した水銀をビーズ内に蓄積することはなく、そのほとんどを気化し放出することが知られた。今後の課題として、固定化ゲルビーズをさらに長時間における持久性試験を行う必要があると考えられる。また、ゲルビーズから気化放出される水銀の回収方法を検討する必要があると考えられる。