水銀耐性酵母による水銀の吸着除去に関する研究

東北学院大学　工学部　学生会員　黒澤俊貴
東北学院大学　工学部　非会員　OYETIBO GANIYU OLADUNJOYE
東北学院大学　工学部　正会員　宮内啓介
東北学院大学　工学部　フェロー会員　遠藤銀朗

１．　序

近年産業の急速な発達に伴い大量の有機物を含む廃棄物や排水が環境中に排出され、環境汚染物質による地球規模での環境問題が深刻となってきている。水銀はさまざまな製品に利用されているが、一方で人間や生態系に深刻な影響を与える汚染物質でもあり、正しい処理が必要とされる。その処理の中でも生物学的処理法（バイオレメディエーション）は一般に生物機能を活用して汚染された環境を修復する技術であり、金属などの化学物質による環境汚染の解決策として有効であるとされている。この技術は汚染の浄化に特別な化学薬品の投入や特殊な反応条件の設定などの必要がなく、また、低いコストで環境中の汚染物質を環境生物に受容可能なレベルにまで減少させることができる新しい方法である。

これまでに本研究室において、水銀耐性酵母 *Yarrowia* sp. Idd1 と Idd2 の分離同定と耐性能が評価されている。本研究では、Idd1 株と Idd2 株の水銀吸着性能について調べるために両株を水銀存在下で培養し、細胞への水銀吸着量を測定した。また、吸着した水銀の細胞からの脱着についても調べた。

２．　実験方法

2-1　水銀耐性酵母による水銀の吸着実験

（1）　$HgCl_2$（0 , 20 , 40 , 80 , 160 , 320μM）を加えた 50ml の MM 培地に水銀耐性酵母を植菌し、30℃、150rpm で 12 時間培養した。

（2）　培養開始から 5 分ごとに酵母培養液から 1ml をチューブに取り 9000rpm で 20 分間遠心分離した。分離した上清の水銀イオンの量を Mercury Analyser で測定し、沈殿したペレットの菌体乾燥重量を測定した。上記の測定は、培養開始から 30 分後は 10 分ごとに行った。

2-2　水銀の脱着実験

（1）　実験 2-1 で用いた酵母培養液（$HgCl_2$、320μM）を 9000rpm で 20 分間遠心分離しペレットを回収した。

（2）　ペレットに NaOH、CaCl2、EDTA、KCl をそれぞれ 50ml 加え 30℃、115rpm でインキュベートした。（NaOH、0.1M、1 時間インキュベート；CaCl2、EDTA、KCl、5ｍM、10 時間インキュベート）その後、遠心分離機で 10000rpm で 10 分間遠心し上清の水銀イオンの量を Mercury Analyser で測定した。（1）、（2）の菌体回収と測定は Idd1 株、Idd2 株それぞれについて行った。

2-3　水銀の蓄積実験

（1）　YM 培地 100ml に HgCl2（0 , 10 , 20 , 40 , 80 , 160 , 320μM）を加えたものに水銀耐性酵母を植菌し 30℃、150rpm で 48 時間培養した。

（2）　6 時間毎に培養液から試験管に適量採取し濁度計 600nm で OD を測定した。また、これと別に培養液 1ml をチューブにとり 12000rpm で 15 分間遠心分離し、上清の水銀イオンの量を Mercury Analyser で測定した。ペレットは電子顕微鏡と X 線マイクロアナライザーで観察するとともに 3 度洗った後、Mercury Analyser で水銀イオンの量を測定した。

３．　実験結果

3-1　水銀耐性酵母による水銀の吸着

測定結果から水銀耐性酵母 *Yarrowia* sp.による水銀吸着除去例（Hg^{2+}濃度 320 μ M の場合）を図 1 として示す。

キーワード：微生物　水銀
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：022-368-7445

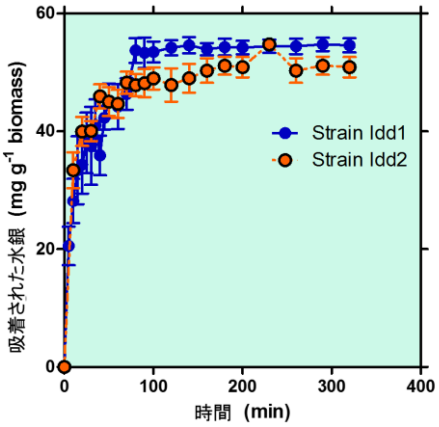

図 1：酵母菌体の水銀吸着実験結果

ラングミュアモデルとフロインドリッヒモデルを用いて回帰直線式を求め、酵母に吸着された水銀イオンの最大量と酵母の吸着親和性を調べた結果、Idd1 株が Idd2 株に比べてより低濃度の水銀イオンを吸着しやすいと考えられた。

3-2 水銀の脱着

Idd1 株と Idd2 株それぞれの脱着剤での結果を図 2 に示す。測定結果から Idd2 株の方が Idd1 株より多くの水銀イオンを酵母から取り除くことができている。よって Idd1 株は Idd2 株より一度吸着した水銀イオンを離しづらい性質を持っていることが分かる。

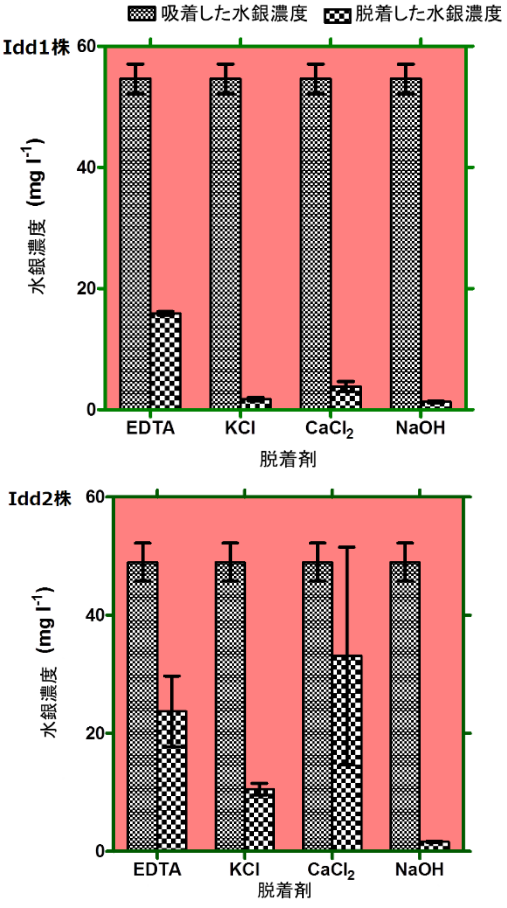

図 2：酵母菌体からの吸着水銀の脱着実験結果

3-3　水銀の蓄積

水銀耐性酵母の増殖過程における水銀イオンの吸着を $HgCl_2$ の濃度を変え測定し、水銀耐性酵母の水銀イオンの蓄積を調べた。酵母が吸着した水銀イオン、培地に残る水銀イオン、気化した水銀イオンの割合を Idd1 株, Idd2 株それぞれで表したグラフを図 3 に示す。Idd1 株, Idd2 株共に水銀イオンの濃度が高いほど吸着は困難となり、実験中に気化した水銀イオンの量も多くなった。しかし、Idd2 株の方が 48 時間の増殖条件下では Idd1 株よりも水銀イオンを吸着する割合が大きく、さらに気化する水銀イオンの割合は小さかった。

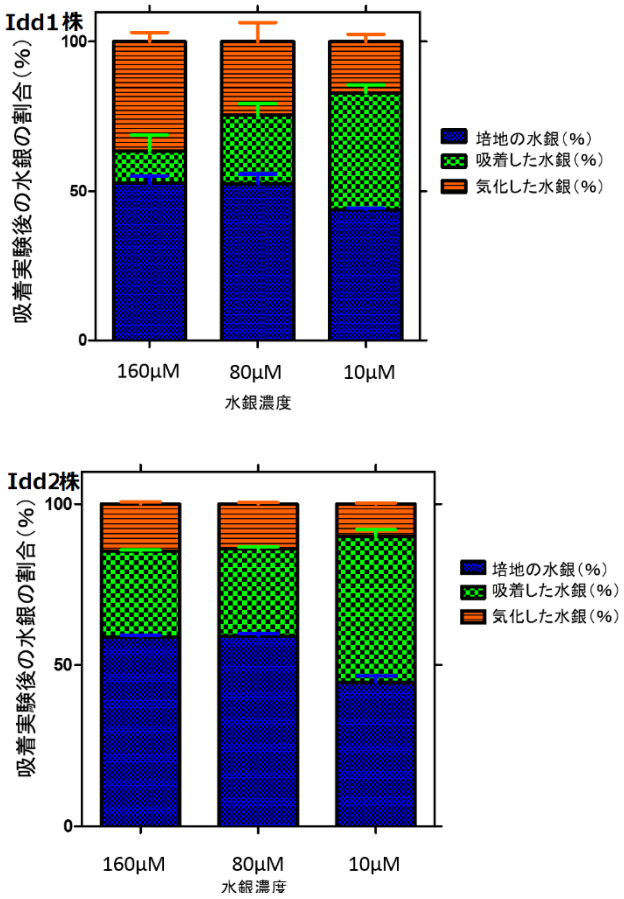

図 3：48 時間培養実験における水銀除去結果

4．　結論

吸着実験から水銀耐性酵母 Idd1 株は Idd2 株より多くの水銀イオンを吸着し、さらに脱着しにくい性質を持っていることが分かった。また、Idd1 株の方が水銀存在科での増殖が速かった。しかし、培地から取り込んだ水銀イオンの割合を見ると、Idd2 株の方が 48 時間の増殖条件下では Idd1 株よりも多くの水銀を吸着除去した。よって、物理化学的な水銀イオンの吸着特性は Idd1 株が Idd2 株より優れているが、増殖条件下では Idd2 株の方が水銀イオンの吸着能力が高いと考えられた。