

MnOx の生物学的生成と還元にあらず酵素の影響

広島大学	学生会員	○山本	航太
広島大学	正会員	松下	修司
広島大学	正会員	金田一	智規
広島大学	正会員	尾崎	則篤
広島大学	正会員	大橋	晶良

1. はじめに

近年、重要な金属資源であるレアメタルを回収・リサイクルする技術が求められており、その技術の一つとして微生物を利用した生物学的手法がある。マンガン酸化細菌 (MnOB) は好気環境下でマンガンイオンを酸化し、バイオマンガン酸化物 (BioMnOx) を生成する。BioMnOx の結晶は層状構造をしており、また高い結晶欠陥性のため他の金属元素に対する吸着性が高い。このため、排水中のレアメタル等の金属の除去・回収に MnOB を利用した技術が適用できると期待される。

この技術の運用のためには BioMnOx の生成機構など MnOB に関する基礎的知見が必要不可欠であるが、不明な点が数多く残されている。さらに興味深いことに MnOB は嫌気環境下において MnOx を還元して、有機物を分解することで増殖できるということを発見している。すなわち MnOB はマンガン酸化物を生成することも還元することもできる能力を有している。本研究では MnOB はマンガン酸化物の生成と還元において電子の授受を行っていると考えている。

そこで微生物は嫌気環境下においてどのようにして電子を MnOx に供給して還元しているかについて実験を通して調べることにした。

2. 研究方法とリアクター

微生物が鞭毛などの電気伝導性ナノワイヤーを介して電子を授受していると仮定すると、微生物と MnOx は直接に接していなくても、それぞれが電線で繋がれていれば、嫌気環境下において微生物は遠く離れた MnOx に電子を供与して還元することができると考えられる。この仮説を証明するために Fig. 1 に示すバッチ式リアクターを作製し利用した。

バッチ式リアクターでは 150mL のバイアル瓶に 2 枚のカーボンをクロスが浸漬しており、チタン線で繋がっている。1 枚のカーボンをクロスには活性汚泥を塗布しており、もう 1 枚は 1.1g の MnOx が入った円筒濾紙 (4-860-04, No.84) の中に入れてあり、浮遊した微生物が MnOx に接触しないようにしている。基質は約 10,000 mg COD/L の K-medium を 75mL 投入した。窒素パージによりリアクター内を嫌気環境にし、3~4 日間隔のバッチモードで運転をした。チタン線には 10Ω の電気抵抗を挟み、この抵抗にかかる電圧を連続的に測定した。バッチ式リアクターは 3 基用意し、同時に運転した。

途中からバッチ式リアクターから Fig. 2 に示す連続式運転リアクターに切り替え実験を行った。リアクターを変更した理由と経緯については後述する。Fig. 1 のバッチ式リアクターとの違いは 2 枚のカーボンをクロスがそれぞれ別々のリアクター (70mL) に入れてあり、リアクター間には微生物が移動しないように陽イオン交換膜 (Nafion 211, SIGMA-ALDRICH) を挟んであり、2 つのリアクターはそれを介して繋がっている。また窒素パージにより嫌気とした基質と Mn(II) 溶液をそれぞれのリアクターにポンプで連続供給 (HRT: 1day) した。この時利用した基質は約 1,000mg COD/L の K-medium である。

キーワード 酵素, MnOx, 生物学的生成, 還元

連絡先 〒737-0935 呉市焼山中央六丁目 16 番 26 号

T E L 0823-34-1632

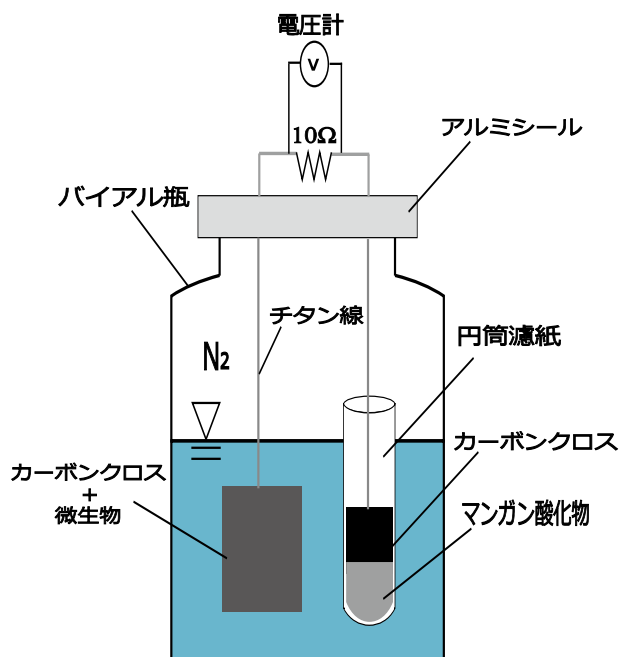


Fig. 1 バッチ式リアクター

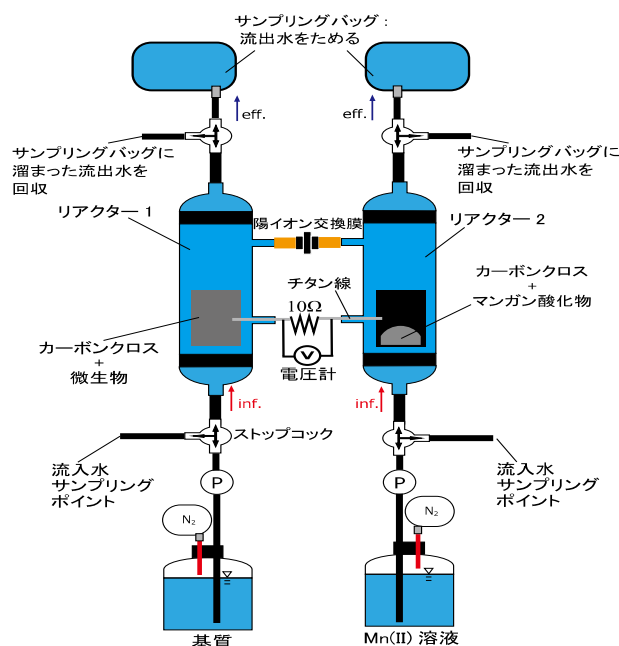


Fig. 2 連続式運転リアクター

3. 実験結果と考察

Fig. 3 にバッチ式リアクターの3つの実験結果の平均値を示す。カーボンクロスに活性汚泥を塗布した直後である Batch 1 では実験開始直後から電気の流れが確認され、15 分後に約 0.0904mA の最大値に達した。その後は徐々に低下し、最終的に約 0.0224mA となった。この間、COD は約 1,100mg/L 減少し、Mn(II)濃度は約 17.7mg/L に増加した。この結果は、微生物が有機物を分解することで発生する電子が導線を介して MnOx に供与されて Mn 還元が起きたことを示している。再現性を確かめるために基質を交換し実験を行ったところ、Batch 1 と同様に電気の流れ、有機物分解および Mn 還元を確認することができた。しかし長期間微生物を培養したにもかかわらず COD 除去速度および Mn 還元速度は上昇し続かなかった。これは基質を交換する際にカーボンクロスから微生物が剥離したためであると考えられる。

バッチ式リアクターで用いた円筒濾紙は微生物が MnOx に接触しないようにするという役割を果たすが、微生物が生成する酵素の透過を防ぐことができない。酵素が基質中を浮遊して MnOx に接触して Mn 還元を触媒したという可能性があり、電子授受によって Mn 還元が起きたのか疑問点が生じた。この疑問点を解消するため、微生物および酵素を透過させない陽イオン交換膜を用いた連続式運転リアクターを用いて実験を行った。Fig. 4 に連続式運転リアクターの実験結果を示す。COD は平均で 1 日当たり約 393mg/L 除去されたが、流れた電気は最大で約 0.0014mA と非常に小さく、Mn(II)濃度は最大で 1 日当たり約 0.714mg/L しか増加しなかった。このことから微生物と MnOx を隔離し、これらをワイヤーで繋げただけでは Mn 還元は起きないということが示された。

微生物が嫌気環境において酵素を生成し利用することで Mn 還元を起こしていると仮定すると、酵素を含んだ溶液を連続式運転リアクターのリアクター2 (MnOx 側のリアクター)に供給すれば Mn 還元が起きるのではないかと考えた。そこで微生物を約 3,000mgCOD/L の基質で MnOx とともに嫌気培養し、濾過した液を用意し、Fig. 5 に示すように連続式運転リアクターのリアクター2に供給した。その実験結果を Fig. 6 に示す。測定開始から 3 日目までは微生物を 1 日嫌気培養した基質を濾過した濾過液 A を 10 倍希釈して用いた。測定開始から 20 分後に電流値は約 0.0056mA まで上昇したが、その後は低下していき、4 日目には約 0.0027mA まで下がった。また Mn 還元速度は約 0.364mg/L/day と非常に小さいものであった。濾過液 A では十分な効果がないと考え、測定開始から 4 日目からは、濾過液 B (培養期間: 4 日間)を 10 倍希釈したものを利用した。その結果、電流値は上昇し、運転開始から 6 日目には約 0.005mA まで上昇したが、それ以後は上昇しなかった。ま

た Mn 還元速度は 7 日目には約 1.353mg/L/day, 10 日目には約 1.022mg/L/day となり, 濾過液 A を使用していた時よりも上昇した. 濾過液 B の濃度を高くすることで電流値および Mn 還元速度を大きくすることができると考え, 11 日目以降は濾過液 B を 5 倍希釈して使用したが, 電流値および Mn 還元速度は大きく上昇しなかった. COD 除去速度については, 1 ヶ月以上リアクターを運転したが, 大きく上昇することはなかった. 微生物が生成した酵素が MnOx に接触することによって酵素反応が起き, Mn 還元が促進されるという仮説が正しいとすると, この実験で用いた濾過液の酵素濃度が小さかったため, Mn 還元速度が大きく上昇しなかったと推察される.

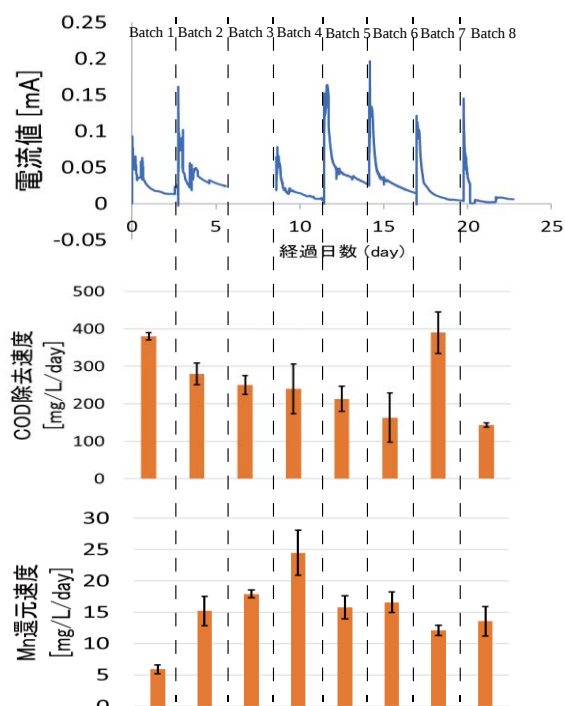


Fig. 3 バッチ式リアクターの実験結果

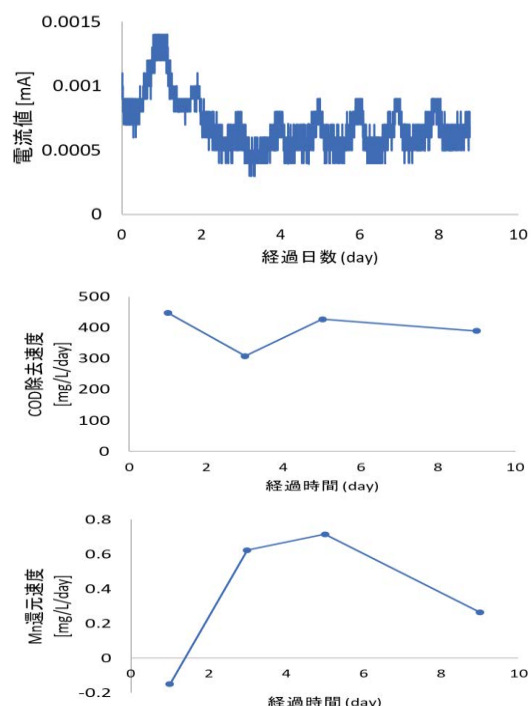


Fig. 4 連続式運転リアクターの実験結果

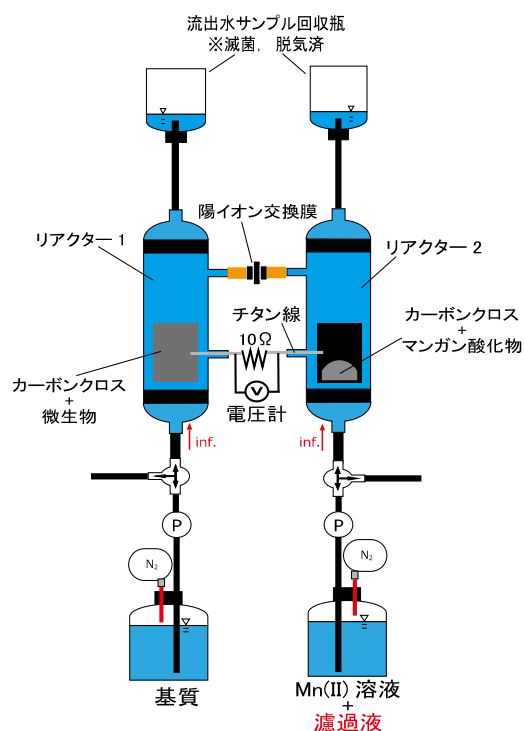


Fig. 5 連続式運転リアクター (濾過液使用)

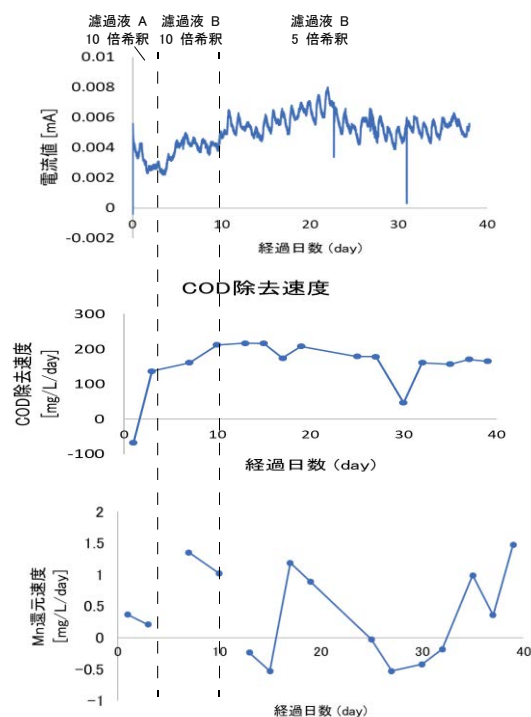


Fig. 6 濾過液を使用した時の実験結果

4. 今後の展望

酵素濃度がより高い濾過液を得るために、基質を交換しながら微生物を MnOx とともに長期間培養し、濾過した培養液を実験に用いた場合、電流値および Mn 還元速度が上昇するかについて調べる必要がある。