

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12222

研究課題名(和文) Mn(II)酵素活性を有するバイオマンガン酸化物による多機能型金属元素回収

研究課題名(英文) Metal recovery processes by biogenic manganese oxides with a Mn(II)-oxidizing activity

研究代表者

谷 幸則 (Tani, Yukinori)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10285190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Mn(II)酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2が形成したMn(II)酵素活性BMOをMn(II)共存下でBa(II)、Co(II)、Ni(II)と反応させたとき、層間スタッキングが強いBirnessite鉱、Asbolane鉱、Ni(II)置換型Feitknechtite鉱がそれぞれ形成され、これらの金属イオンの回収率が大幅に向上した。また、V(V)、Mo(VI)、W(VI)共存下で、BMO相を連続的に形成した場合にも、これらの収着量の増加が認められた。これらの結果から、Mn(II)酸化酵素活性BMOを利用した効率の高い連続回収が可能であることが認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な社会の確立のためには、多元素金属元素の効率的なリサイクルが必要であり、低コスト・低エネルギー型の元素回収技術の開発が必要である。本研究は、Mn(II)を菌体外Mn(II)酸化酵素で酸化する真菌を利用し、Mn(II)、Co(II)、Ni(II)、V(V)、Mo(VI)、W(VI)等のレアメタル類の多元素回収を、一種類の微生物とその生成物の化学的・鉱物学的な特性を利用することで、連続的に回収できるシステムの基礎知見を提供した。また、微生物由来の酵素反応により、種々のレアメタルを内包したMn複合酸化物を形成できることを世界ではじめて明らかにしたことは、学術的意義は高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)： *Acremonium strictum* KR21-2, a Mn(II)-oxidizing fungus, was used to produce biogenic Mn oxides with Mn(II) oxidase activity (BMO). When newly formed BMOs were reacted with Ba(II), Co(II), and Ni(II) in the presence of the exogenous Mn(II), a well-ordered birnessite, asbolane, and, and Ni(II)-substituted feitknechtite were formed, respectively. Efficiencies of metal sequestration were enhanced by these mineral formations. Sequestrations of V(V), Mo(VI) and W(VI) were also increased by simultaneous BMO formation. From these results, Mn(II)-oxidizing activity is a prerequisite for the efficient metal recovery by BMOs.

研究分野：環境科学

キーワード：マンガン酸化真菌 レアメタル回収 Mn複合酸化物 Mn(II)酸化酵素 バイオマンガン酸化物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多元素金属元素の効率的なリサイクルの必要性から、微生物による変換能を利用した低コスト・低エネルギー型の元素回収技術の基礎研究が盛んに行なわれてきている。その一連の研究として、微生物の Mn(II)酸化作用によって形成する Mn 酸化物(以下: BMO と省略)が、様々な無機元素類に対して高い親和性と吸着収容能力を有することが明らかとなっている。例えば、マンガン酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 が産生する BMO は、重金属イオンや希土類イオンを固体相 Mn に対して ~30 mol% まで吸着できる。Mn(II)酸化微生物由来の BMO を利用することで、多元素同時回収が原理的には可能と考えられるが、重金属イオンをはじめとする無機元素は、微生物への毒性を示すものが多い。申請者は一連の研究の中で、障害を与える重金属イオンを含まない培地で *A. strictum* KR21-2 を培養して BMO を形成させた場合、発現した Mn(II)酸化酵素が、形成した BMO の内部に安定的に保持され、追加で添加した Mn^{2+} を効率的に BMO へと変換できることを明らかにした。この高い Mn(II)酸化活性を保持した Mn(II)酸化酵素 - BMO 複合体(以下、「酵素活性 BMO 複合体」)を用いることで、重金属陽イオンを含む模擬排水中において、添加した Mn^{2+} から BMO を連続的に形成することができ、また、その過程において共存する重金属イオン (Ni^{2+} , Cd^{2+}) や希土類イオンを吸着したり、Mn との複合酸化物形成 (Zn^{2+}) や酸化による不溶化 (Co^{2+} や Ce^{3+}) することによって、模擬排水中から連続的に回収処理できることを明らかにしてきた。しかしながら、上記の実験結果は、単独の除去対象イオンのみを用いた実験系でおこなった結果であり、複数の除去対象イオンが共存した場合に、酵素活性 BMO 複合体がどのような元素回収モードを優先的に示すのかは不明である。酵素活性 BMO 複合体の多様な元素回収モードを多金属元素の同時回収処理に利用するためには、様々な回収対象元素を組み合わせた回収試験をおこない、基礎知見を集める必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、複数の除去対象イオンを共存させた場合の酵素活性 BMO 複合体による除去特性の詳細を調べ、多元素金属イオンに対する酵素活性 BMO 複合体の除去機構を明らかにし、排水からの効率的な多元素同時回収のシステム構築を目的とする。対象元素としては、Mn 酸化物相に濃縮される傾向があると考えられる金属元素 (Mn, Ni, Co, Mo, W, V, Ba, Sr) を選出し、初期濃度 1 mM 程度の金属元素イオンを組み合わせた模擬排水において作成し、酵素活性 BMO 複合体による回収除去率を調べる。また、回収した固体相について、被除去金属元素の濃縮率を求め、鉱物資源としての可採品位濃度と比較して、資源価値の有無を検討した。本研究は、Mn(II)酸化真菌によって、高い Mn(II)酸化活性を保持した Mn(II)酸化酵素 - Mn 酸化物複合体を形成し、無機系排水から連続的に Mn(II)を酸化(不溶化)させると同時に、複合体の高い重金属除去特性(吸着や複合酸化物形成等)を利用し、多種類金属元素を、単一微生物系によって連続的に処理・回収できる点に新規性・独自性がある。一般的に金属元素の中には、微生物の生育自体や無機変換反応を阻害するものも多く、従来型の活性汚泥法やカラム法のような直接的な微生物処理法では、適用できる範囲が極めて限られる。本研究では、排水中における微生物活性への障害を回避するため、真菌の培養による Mn(II)酸化酵素 - マンガン酸化物複合体の前形成をおこない、前形成した複合体を排水処理システムに添加することで、酵素活性を保持しながら完全な無機排水中での連続処理が可能であることも特筆すべき特徴である。

3. 研究の方法

(1) BMO の調製

Mn(II)酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 は硫酸マンガン(II)もしくは硝酸マンガン(II)を含む HEPES-buffered AY(HAY)培地で培養した。HAY 培地として、酢酸ナトリウム 3 mM、酵母エキス 150 mg/L、リン酸水素二カリウム 30 μ M、硫酸マグネシウム七水和物 200 μ M、必須微量元素溶液のストック溶液 2 mL/L を含む 20 mM HEPES (pH 7.0) を調製し、これをバツフル付き 500 mL 三角フラスコに各 200 mL 分注し、121 $^{\circ}$ C のオートクレーブによる高圧滅菌処理を行った。リン酸水素カリウムのストック溶液(2 g/L)は培地とは別にオートクレーブし、所定の濃度になるように培地を加えた。必須微量元素溶液のストック溶液は塩化カルシウム二水和物 3.7 g、硫酸亜鉛七水和物 0.44 g、モリブデン酸ナトリウム二水和物 0.29 g、ホウ酸 2.5 g、硫酸銅五水和物 5.0 mg 及び塩化鉄(III)六水和物 1.0 g を Milli-Q 水に溶かし、1 L に調製することで作製した。硫酸マンガン(II)のストック溶液(1 mol/L)は、20 μ m のセルロース・アセテートのシリンジフィルターユニット(DISMIC-13、ADVANTEC)でろ過し、高圧滅菌した培地に加えた。Mn(II) 1 mM を含む HAY 50 mL に KR21-2 株の孢子懸濁液 (1×10^5 conidia / mL) を植菌し、25 $^{\circ}$ C で 72 時間振とう培養(NR-10、TAITEC)(105 strokes / min)した。HEPES 緩衝溶液(pH 7.0)のストック溶液は HEPES 190.6 g を Milli-Q 水に溶解し、NaOH と pH メーター(F-51: 株式会社堀場製作所)を用いて、0.4 M HEPES 緩衝溶液(pH 7.0)を 2 L 調製した。形成させた菌種と BMO の混合物は、100 μ m ナイロンセルストレーナー(BDFalcon)で回収し、Milli-Q 水で洗浄した後、実験に用いた。

(2) BMO の吸着能の経時変化

A. strictum KR21-2 を 1 mM Mn²⁺添加 HAY 培地 (pH 7.0) で 72 時間培養した後、固相 (バイオ Mn 酸化物+真菌菌糸体、以下「新規形成 BMO」と呼ぶ) を 100 μm ナイロンのセルストレイナー (BD Falcon) で回収し、Milli-Q で洗浄した後、1 mM Mn(II)と目的無機イオンの両方、またはいずれかを含む 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.0) 中で往復振とう機 (105 ストローク/分) を用いて 25 °C で 24 時間処理した。上清を採取し、遠心分離 (11,000 x g で 2 分間) で分離し、2% HNO₃ で保存した。24 時間経過後、回収された固相を Milli-Q 水で洗浄することで繰り返し用い、同様の操作を 3 回繰り返した。また、新規形成 BMO を、恒温水槽 (Thermo Minder Mini-80, Taitec Corp.) を用いて、85 °C で 2 時間加熱することにより酵素を不活性化させた新規形成 BMO (不活化 BMO) でも同様の実験を行った。pH 6.0 を調べるために、100 mM MES 緩衝液 (pH 6.0 に調整) を用いて、新規形成 BMO による連続回収試験をおこない、回収率を算出した。

(3) 二段階抽出

各溶液で処理し、固相 BMO を回収した後、固相中に吸着した目的イオン及び Mn の吸着形態を調べるために CuSO₄ 溶液 (イオン交換態) と塩酸ヒドロキシルアミン溶液 (還元抽出態) を用いた二段階抽出を行った。この方法は、BMO に吸着された Mn (II) と酸化された Mn(III/IV) を分別するために、一般的に用いられている。Co(II) または Mn(II) と Co(II) を含む溶液で 24 時間反応させた後、回収された固相を Milli-Q 水で洗浄し、25 °C、50 mL の 10 mM CuSO₄ (pH 4.8) 溶液で 24 時間往復振とうした。残留混合物は Milli-Q 水で洗浄し、50 mL の 50 mM 塩酸ヒドロキシルアミン溶液を用いて、25 °C で 1 時間往復振とうして抽出した。それぞれの抽出後、上清をサンプリングし、金属濃度を測定した。

(4) 金属濃度の測定

溶存総 Mn 濃度、各イオンの溶存濃度は、2% HNO₃ 中で保存した試料を適宜希釈し、誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES, Perkin Elmer, Avio 200) を用いて測定を行った。測定するための検量線溶液は、原子吸光分析標準液を 2% HNO₃ で希釈して調製した。

(5) 粉末 X 線回折 (XRD) 分析

各溶液処理による固体相の構造の変化を調べるために、新規形成系の固相 BMO 試料について、X 線結晶回折分析を起こした。固相 BMO を 100 μm ナイロンのセルストレイナーを用いてろ過し、回収した。回収した BMO 試料は、凍結乾燥機 (FD-1000 / FD-1000REC 型、EYELA) を用いて乾燥した。X 線結晶回折測定は、26 mA および 40 KV の CuKα を用いて RINT-2500 回折計 (Rigaku Corp., Tokyo, Japan) で行った。凍結乾燥した試料をガラスホルダー上に置き、0.02° のステップ間隔で 1.0 /分の速度で 5° から 65° までの範囲にわたって測定した

(6) X 線吸収端近傍構造 (XANES) 分析

一部の BMO サンプルに対して X 線吸収端近傍構造 (XANES) スペクトルを、KEK (つくば、日本) の Photon Factory の BL12C で測定した。凍結乾燥した BMO サンプルを窒化ホウ素 (BN) で希釈し、十分に混合した。均質化後、混合した BMO-BN 粉末を、適した厚さのディスクに圧縮し、透過モードで XANES 測定をした。

4. 研究成果

(1) 真菌によるバイオマンガン酸化物形成過程における Ba²⁺イオンの不可逆的な吸着

バリウム (Ba) は 40 種の同位体を持つアルカリ土類金属元素であり、様々な産業用途に必須な元素である。自然環境中において、Ba²⁺イオンはマンガン酸化物相に相対的に高い濃度で吸着していることが知られており、BMO による効率的な回収が期待できる。本研究では、Mn(II)酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 が形成した BMO を用いて、BMO 相を連続的に形成させながら Ba²⁺イオンを吸着させた場合と、あらかじめ形成させた BMO に Ba²⁺イオンを吸着させた場合の吸着量や吸着可逆性、X 線結晶回折 (XRD) による構造の違いについて調べた。

KR21-2 が形成した活性 BMO を初期媒体とし、Ba²⁺と Mn²⁺を共添加することで、新しい Mn 酸化物相を連続的に形成させることができた。この時、形成する固体相は層間スタッキングが強い Birnessite 構造を有し、Ba²⁺の一部 (20~40%) は、不可逆的に吸着されていた。一方、あらかじめ形成した BMO に Ba²⁺のみを反応させても、この構造的特徴は観測することができず、吸着 Ba²⁺の 95% がイオン交換態 (可逆的吸着) として抽出された。このことは、共存 Ba²⁺の存在によって、形成する Mn 酸化物相の構造的特性が大きく変化することを意味している。また、Ba²⁺の代わりに Sr²⁺、Ca²⁺または Mg²⁺を添加した系では吸着 Sr²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺のほぼ全量 (>82%) がイオン交換態として抽出された。この時、顕著な構造特性変化とそれに関連した吸着可逆性の変化が認められないことから、Ba²⁺に特有の現象であることが示された。Ba²⁺と Sr²⁺、Ca²⁺または Mg²⁺の共存時においても、BMO を形成させながら吸着させた場合には、Ba²⁺の不可逆的吸着により陽イオン交換樹脂に比べて Ba²⁺の選択性が大きく高まった。自然界中においても、微生物の Mn(II)酸化反応を通じて、Ba²⁺共存下において BMO 相の形成が進行していると考えられ、Ba²⁺共存下における Birnessite 構造の形成が、自然環境中における Mn 酸化物相の特異的濃縮過程に対して、重要な役割を果たしていると考えられた。

(2) バイオ Mn 酸化物による Co(II)と Mn(II)の効率的な同時回収

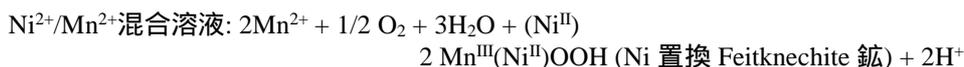
ここでは、Mn(II)酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 に由来する Mn(II)酵素活性を保持した BMO による Mn²⁺と Co²⁺の共存系での同時回収能力について評価した。Mn(II)酸化酵素活性を保持した BMO (Mn として 1 mM) を、1 mM Mn²⁺と 1 mM Co²⁺ (100 mM HEPES pH 7.0) の混合系で

24 時間毎に溶液を交換して 3 回処理したところ、溶存 Mn^{2+} 濃度は、1 回目処理で $99.0 \pm 0.0\%$ 、2 回目処理で $98.5 \pm 0.1\%$ 、3 回目処理で $87.3 \pm 5.7\%$ (積算回収率 $95.0 \pm 1.9\%$) まで減少した。二段階抽出の結果から、不溶化した Mn の $94.5 \pm 0.3\%$ が酸化物態として存在することが明らかとなった。この時、溶存 Co^{2+} は、溶存 Mn^{2+} と一定割合 (Co/Mn モル比で 0.69) を保ちながら不溶化した。 Co^{2+} の回収率は 1 回目処理で $92.7 \pm 0.8\%$ 、2 回目処理で $71.6 \pm 3.0\%$ 、3 回目処理で $48.4 \pm 6.7\%$ (積算回収率 $70.8 \pm 3.5\%$) であり、 Mn^{2+} と Co^{2+} が高い効率で同時に回収ができることが明らかとなった。二段階抽出の結果から、固体相 Co の $78.5 \pm 1.9\%$ が酸化物態として存在しており、 Co^{2+} から Co^{3+} への酸化が進行したことが示された。処理後の固体相を XRD 分析したところ、 MnO_6 二次元シートと Co 酸化物シートが互層した asbolane 鉱が形成したことが示された。BMO に含有された Mn(II)酸化酵素を加熱処理により失活させた場合、 Mn^{2+} および Co^{2+} の積算回収率はそれぞれ $11.1 \pm 3.5\%$ と $17.0 \pm 2.4\%$ と低く、Mn(II)酸化酵素による Mn^{2+} の酸化触媒反応が asbolane 鉱の形成を介した Mn^{2+} と Co^{2+} の同時回収に必須であることが示された。asbolane 鉱は、高濃度の Co や Ni を含有した Mn 酸化物鉱物として自然界中に広く分布している。本実験により、 Mn^{2+} と Co^{2+} の混合溶液中で酵素活性 BMO により、Co を高度に含む asbolane 鉱が容易に形成できることが初めて示された。1mM Mn^{2+} + 0.5 mM Co^{2+} の混合系でも、同様に asbolane 鉱の形成が認められたが、Co の回収割合は若干低下 (Co/Mn モル比 0.44) した。一方、処理溶液中の Mn^{2+} に対する Co^{2+} の相対相度がより低い場合 (例えば、1mM Mn^{2+} に対して 0.2mM Co^{2+}) には、asbolane 鉱の形成は認められなかった。このことから、BMO による asbolane 鉱の形成とそれを介した効率の高い Mn^{2+} と Co^{2+} の同時回収は、処理溶液中の Mn^{2+} に対する Co^{2+} の含有比がある程度高い (Co/Mn > ~0.4) ことが必須であることが示唆された。

(3) 真菌による Mn(II)酸化過程における Ni(II)の収着

ここでは、Mn(II)酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 に由来する Mn(II)酵素活性を保持した BMO(以下、活性 BMO と表記)による Mn^{2+} と Ni^{2+} の共存系での同時回収能力について評価した。活性 BMO(Mn として 1 mM)を、1 mM Mn^{2+} と 2.5 mM Ni^{2+} (100 mM HEPES pH7.0)の混合溶液系で 24 時間毎に溶液を交換して 3 回処理したところ、溶存 Mn^{2+} 濃度は 1、2 回目処理で 99% 以上、3 回目処理で $96.0 \pm 3.1\%$ (積算回収率 $98.5 \pm 1.0\%$)まで減少した。二段階抽出の結果から、不溶化した Mn の $96.6 \pm 0.4\%$ が酸化物態として存在し、活性 BMO による溶存 Mn^{2+} の酸化が進行していることが示された。溶存 Ni^{2+} は 1 回目処理で $23.6 \pm 1.5\%$ 、2 回目処理で $17.4 \pm 1.4\%$ 、3 回目処理で $15.8 \pm 3.0\%$ (積算回収率 $19.4 \pm 0.5\%$) の減少を示した。一方、Mn(II)酸化酵素を加熱処理により失活させた(以下、不活化 BMO と表記)場合、 Mn^{2+} および Ni^{2+} の積算回収率はそれぞれ $4.0 \pm 1.3\%$ 、 $5.8 \pm 1.0\%$ と低かった。また、活性 BMO により Mn^{2+} を含まない Ni^{2+} 単独溶液を処理した場合の Ni^{2+} 積算回収量は 8.1%にとどまった。これらの結果から、活性 BMO の Mn(II)酸化作用による Mn^{2+} の酸化不溶化が、 Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液中における高い Ni^{2+} の回収率の要因であることが示された。添加する Ni^{2+} 濃度を 2.5 mM や 5 mM に増加させた場合にも、活性 BMO は高い Mn^{2+} 酸化能 (積算 Mn 回収率は 98%以上、固相の酸化態 Mn 割合は 96%以上) を維持した。 Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液中での活性 BMO による処理においては、 Ni^{2+} の添加濃度に応じて一定の Ni/Mn モル比で不溶化回収が進行することが判明し、1、2.5 及び 5 mM 添加 Ni^{2+} 濃度(添加 Mn^{2+} は 1 mM で固定)で Ni/Mn モル比が 0.42、0.50、0.81 と高い値であった。また、活性 BMO の Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液での 3 回処理後に回収された固体相 Ni は、80%以上が非イオン交換態として存在していることが 2 段階抽出によって明らかとなり、Mn と複合酸化物を形成していることが示唆された。

活性 BMO を Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液で処理した後、固体相を XRD 分析したところ、 ~ 4.6 、 ~ 2.6 、 ~ 2.36 に特異的なピークが出現し、このピークパターンは Feitknechtite 鉱 ($b-Mn^{III}OOH$) に類似した。一方、 Mn^{2+} 単独溶液で活性 BMO を処理した場合には、 ~ 7.4 に(001)底面間隔に対するピークを有する典型的な Birnessite 鉱を形成した。既往研究から、Feitknechtite 鉱の Mn^{III} は、 Ni^{II} と同型置換しやすく、 Ni^{II} が置換することで安定化することが報告されている。これに対応して、測定した AOS から吸着態 Mn^{2+} の寄与を補正したところ、活性 BMO の Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液での処理中に形成した固体相の Mn^{III} 割合は $47 \pm 3\%$ であり、処理前の活性 BMO (Mn^{III} 割合 $3 \pm 2\%$) や Mn^{2+} 単独溶液で処理した活性 BMO (Mn^{III} 割合 $26 \pm 4\%$) に比較して、高くなることが明らかとなった。以上の結果から、活性 BMO を Ni^{2+}/Mn^{2+} 混合溶液と Mn^{2+} 単独溶液で処理した場合には、活性 BMO の Mn(II)酸化酵素によって以下の異なる Mn 酸化物相が形成できることが示された。



本研究によって、活性 BMO による Feitknechtite 鉱の形成を介して Mn^{2+} と Ni^{2+} が協調的に回収できることをはじめて明らかにできた。

(4) BMO による V(V), Mo(VI), W(VI)の収着特性

活性 BMO は、Mn(IV)結晶欠陥に由来した強い負電荷を帯びており、カチオン種元素と比べてアニオン種元素に対する吸着能は低いと考えられる。しかし、活性 BMO 上でカチオン種である Mn(II)とアニオン種である As(V)の共吸着が既往研究で報告されている。ただし、その他のアニオン種元素がどのように共吸着するのかは明らかとなっていない。V(V)は、pH7 付近の溶液中でアニオン種の H_2VO_4^- として安定に存在するオキソ酸イオンである。ここでは、*Acremonium strictum* KR21-2 が形成した活性 BMO による Mn(II)と V(V)の吸着とその吸着機構を調べた。1.5 mM Mn(II)と 1.0 mM V(V)を含む溶液に活性 BMO(Mn として 0.5 mM)を加えて、大気平衡条件で振とう処理をおこなった。溶存 Mn(II)濃度は反応直後から急激に低下し、反応 6 時間までに検出下限に達した。一方で、溶存 V(V)濃度は、反応 2-4 時間後に一過的に減少(減少率~26%)し、反応 6 時間目以降は減少率 21%前後で推移した。一方、Mn(II)酸化酵素による溶存 Mn(II)の酸化が進行しない脱酸素条件で、同様な処理をおこなったところ、溶存 Mn(II)と溶存 V(V)は減少し、反応 2 時間後にはそれぞれの減少率が 34%、23%で平衡に達した。脱酸素条件下で、1 mM V(V)の BMO (Mn として 0.5 mM)による吸着(2 時間後)を、共存する Mn(II)濃度を変化(0-1.5 mM)させたときの V(V)の吸着量は、その時の吸着態 Mn(II)量と正の一次相関を示すことから、BMO 上へ V(V)と Mn(II)が共吸着していることが示された。一次相関の傾きから V(V)/Mn(II)モル比は 0.48 であり、2 モルの Mn(II)に対し 1 モルの V(V)が共吸着したと考えられた。また、この時の固体相 Mn 当たり V(V) 吸着量を算出したところ、約 20 mol%に達し、BMO への Cd^{2+} 等の重金属イオン吸着量(~ 30 mol%)に匹敵した。一方、Mn(II)を添加しない場合には、固体相 Mn に対する V(V)吸着量は、~5 mol%と大幅に減少することが明らかとなった。大気平衡条件下では、Mn(II)の酸化反応が進行するため、溶液中に未反応の Mn(II)が存在する反応 6 時間までの間しか Mn(II)と V(V)の共吸着が生じず、V(V)の一過的に高い吸着とその後の V(V)の溶脱が観測されたと考えられた。このように活性 BMO への V(V)の吸着は、共存する Mn(II)の共吸着現象とそれを解消する Mn(II)酸化活性により大きな影響を受けることが明らかとなった。V(V)と Mn(II)の共吸着と、Mn(II)酸化作用による共吸着の解消過程が、最終的な V(V)吸着量にどのような影響を与えるかを調べるために、大気平衡条件下で、活性 BMO 量と添加する Mn(II)濃度の混合比を変化させて(総量：2 mM Mn)、1.0 mM V(V)の振とう処理をおこない、24 時間後の V(V)の吸着量を調べた。A は 0.5 mM 初期 BMO + 1.5 mM 添加 Mn(II)、B は 1.0 mM 初期 BMO + 1.0 mM 添加 Mn(II)、C は 1.5 mM 初期 BMO + 0.5 mM 添加 Mn(II)、D は 2.0 mM 初期 BMO + 0 mM 添加 Mn(II)の条件であり、24 時間後はすべての条件で添加 Mn(II)は、全量が BMO 相へと変換されていることが確認されている。添加した Mn(II)濃度が高く、V(V)共存下で新たに形成された MnO_2 相の量が高いほど、V(V)吸着量は高くなった。条件 A, B, D において 24 時間後に固体相を回収し X 線結晶回析を測定した結果、固体相 Mn 当たりの V(V)吸着量が低い場合(D)は、Birnessite 様構造(層状構造)の特徴である(001)底面間隔に由来する 7.4\AA ピーク²⁾が明瞭に観測された。一方、固体相 Mn 当たりの V(V)吸着量が高まるにつれて、(001)底面間隔回折線を示す 7.4 のピーク強度が減少し、これらの条件で形成した BMO 相は、乱層構造をとることが明らかとなった。このことから、V(V)-Mn(II)の共吸着とそれに続く Mn(II)酸化による共吸着の解消が、BMO 相の層状構造(Birnessite 様構造)の形成を妨げると推察された。このような BMO 相の構造の違いが、固体相 Mn 当たりの V(V)吸着量の違いに反映されていると考えられた。HAY 培地中であらかじめ形成させた BMO に対する V(V)の最大吸着量を Langmuir 吸着等温式から求めたところ、大気平衡条件で 3.5 mol%(酸化物態 Mn に対するモル%)、 N_2 条件で 5.4 mol%であった。興味深いことに、Mn(II)イオンの酸化が生じない N_2 条件で Mn(II)イオンを共存させた場合、V(V)の最大吸着量は 23 mol%(Mn(II)非共存時の 4.3 倍)に高まることが明らかとなった。この時、V(V)吸着量は、BMO へ吸着した Mn(II)量と正の一次相関を示し、V(V)と Mn(II)が BMO 上へと共吸着することで高い吸着量を示すことが明らかとなった。一方、Mo(VI), W(VI) 吸着に対する共存 Mn(II)の影響が認められなかった。本研究に用いた BMO は、溶存酸素存在下(大気平衡条件)において Mn(II)酸化酵素によって Mn(II)から連続的に BMO を形成する。0.5 mM BMO を用いて、1.5 mM Mn(II)と V(V)の混合溶液を処理した場合、添加した Mn(II)の全量が BMO へと変換され、最終的な固相における V(V)の最大吸着量は 13 mol%に達した。一方、あらかじめ形成させた 2 mM BMO への吸着量は、2.7mol%であった。これらの結果から、BMO を形成させながら V(V)を処理した場合は、BMO 結晶構造中への V(V)の取り込み(共沈)が生じ、高い V(V)吸着が得られると推察された。同様な結果は、Mo(VI), W(VI)でも観測され、BMO 形成時に Mo(VI)を共存させた場合の吸着量は、あらかじめ形成させた BMO への吸着量に比較して約 8 倍高いこと、W(VI)の場合は、約 9.5 倍高いことが明らかとなった。以上の結果から、BMO によるオキソアニオン型元素の吸着と Mn(II)酸化酵素による BMO 形成時の取り込み(共沈)機構を利用することで、これらのオキソアニオン型元素を高い効率で回収できる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Y. Tani, T. Wu, T. Shirakura, K. Umezawa, N. Miyata	4. 巻 12
2. 論文標題 Sequestration of oxyanions of V(V), Mo(VI), and W(VI) enhanced through enzymatic formation of fungal manganese oxides.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Minerals	6. 最初と最後の頁 1368(14ページ)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/min12111368	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 M. Aoshima, Y. Tani, R. Fujita, K. Tanaka, N. Miyata, K. Umezawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Simultaneous sequestration of Co ²⁺ and Mn ²⁺ by fungal manganese oxide through asbolane formation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Minerals	6. 最初と最後の頁 358(16ページ)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/min12030358	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Y. Tani, S. Kakinuma, J. Chang, K. Tanaka, and N. Miyata	4. 巻 11
2. 論文標題 Preferential elimination of Ba ²⁺ through irreversible biogenic oxide sequestration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Minerals	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/min11010053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青島未来、谷 幸則、宮田直幸
2. 発表標題 バイオMn酸化物によるCo(II)とMn(II)の効率的な同時回収
3. 学会等名 日本水処理生物学会第57回大会(神奈川大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白倉 匠、谷 幸則、宮田直幸
2. 発表標題 バイオMn酸化物によるMn(II)とオキソ酸型元素V(V)の収着
3. 学会等名 日本水処理生物学会第57回大会(神奈川大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷 幸則、青島未来、玉利真子、梅澤和寛、宮田直幸
2. 発表標題 Mn酸化真菌のMn(II)酸化によるCoおよびNi含有asbolane型複合酸化物の形成と元素回収効率
3. 学会等名 令和3年度公益社団法人日本水環境学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白倉 匠、谷 幸則、梅澤和寛、宮田直幸
2. 発表標題 Mn 酸化真菌由来のバイオMn 酸化物によるV(V)の収着特性
3. 学会等名 令和3年度公益社団法人日本水環境学会中部支部研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷 幸則、青島未来、玉利真子、宮田直幸
2. 発表標題 Mn酸化真菌によるCo(II)およびNi(II)含有Mn酸化物の形成を利用したレアメタル回収
3. 学会等名 日本水環境学会 2022年度年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	宮田 直幸 (Miyata Naoyuki)		
研究協力者	梅澤 和寛 (Umezawa Kazuhiro)		
研究協力者	田中 万也 (Tanaka Kazuya)		
研究協力者	青島 未来 (Aoshima Miku)		
研究協力者	白倉 匠 (Shirakura Takumi)		
研究協力者	玉利 真子 (Tamari Mako)		
研究協力者	藤田 理那 (Fujita Rina)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------