

令和元年6月17日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00615

研究課題名(和文) 活性バイオマンガンを形成する多元素リサイクルシステムの構築

研究課題名(英文) Recovery of multiple metals using biogenic manganese oxides with enzymatic 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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：真菌が形成するマンガン酸化物(BMO)は、様々な元素を高い効率で吸着できるため、排水等からの多元素同時回収が期待できる。単離したMn酸化真菌10株について調べたところ、Mn酸化のpH依存性は多様であることが示された。弱酸性(pH5.5)では、Pleosporales目KK1-2株によるMn<sup>2+</sup>の酸化速度が最も速かった。既存のAcremonium strictum KR21-2が形成したBMOによる希土類元素イオンの濃縮機構を詳細に調べたところ、Ce<sup>3+</sup>は、CeO<sub>2</sub>として不溶化濃縮できること、それ以外の希土類元素イオンは、BMOの形成とともに連続的に吸着回収できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

様々なMn(II)酸化真菌が、溶存態Mn<sup>2+</sup>を酵素によって不溶性バイオマンガン酸化物(BMO)に変換できること、また、このBMOを形成させることで、重金属イオン以外にも、微生物との相互作用が少ないと考えられる希土類元素(レアアース)イオンを効率的に酸化や吸着により、濃縮回収することができることが明らかとなった。Mn(II)酸化真菌による連続的なBMOの形成を利用することで、廃電子基板等に含まれる多種類の無機元素を連続的に回収できるシステムを低コストで構築できる可能性を示したことは、社会的な意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Biogenic manganese oxides accumulate various inorganic elements and consequently may be applicable for recovering them from waste waters. This study investigated the Mn(II) oxidizing abilities of Mn(II) oxidizing fungi (ten strains) at various pH conditions and showed the highest Mn(II) oxidizing ability of KK1-2 (Pleosporales) at pH 5.5. Acremonium strain KR21-2 indirectly oxidize Ce<sup>3+</sup> to insoluble CeO<sub>2</sub> through BMO formation. This study also demonstrated that A. strain KR21-2 can recover rare earth element ions (other than Ce<sup>3+</sup>) by a sorption process on BMO surfaces which is continuously formed when exogenous Mn<sup>2+</sup> is supplemented.

研究分野：環境化学

キーワード：マンガン酸化真菌 マンガン酸化物 レアメタル資源回収 重金属除去

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

地下資源の涸渇から、近代産業に不可欠なレアメタル（希少金属）の国際的な争奪戦が起きており、「都市鉱山」等からレアメタルを回収・再使用することが緊急課題となっている。多種多様な元素に対する低コストの元素回収システムの構築は、「元素戦略」や「環境保全」の立場から最も重要な課題の一つである。微生物による無機化合物の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。近年、微生物の Mn(II)酸化作用によって形成する BMO が、様々な元素類に対して高い親和性と収容能力があることが報告されている。例えば、Mn(II)酸化バクテリアが形成した BMO において、固相 Mn に対するモル比で Pb<sup>2+</sup>は 0.5、Cd<sup>2+</sup>は 0.68、UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>は 0.32 といった高い濃縮率で吸着する。申請者は、マンガン酸化真菌 *Acremonium strictum* KR21-2 が産生する BMO に対する Ni<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>の高い吸着能力（例えば、Zn/Mn 比で 0.3）<sup>(1)</sup>、希土類イオン<sup>(2)</sup>やアクチノイド<sup>(3)</sup>の吸着挙動が報告され、BMO を利用することで多元素同時回収の可能性を提言されている<sup>(4)</sup>。BMO の高い元素吸着能力は、MnO<sub>6</sub> による二次元状シート構造のナノサイズ粒子であること、構造中の Mn(IV)の結晶欠陥密度が高いことが理由としてあげられる。

このように Mn(II)酸化微生物による BMO の形成を利用することで、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。研究代表者らは一連の研究の中で、阻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<sup>2+</sup>を効率的に BMO へと変換できることを明らかにした<sup>(5)</sup>。この Mn(II)酸化酵素を保持した BMO（以下『活性 BMO』）を用いることで、mM オーダー濃度の重金属陽イオン（Zn<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>等）を含む模擬排水中において、添加した Mn<sup>2+</sup>から BMO を連続的に形成することができ、また、その過程においてこれらの重金属イオンを、吸着（Ni<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>）<sup>(6)</sup>、Mn との複合酸化物形成による取り込み（Zn<sup>2+</sup>）<sup>(7)</sup>、酸化による不溶化（Co<sup>2+</sup>）<sup>(8)</sup>などの様々な様式で固相へ連続的に濃集できることを示してきた。これらの活性 BMO を用いることで、As(III)の BMO による連続酸化も可能である<sup>(9)</sup>。これらの研究成果に基づき、あらかじめ形成させた活性 BMO を元素回収処理に適用することで、処理水の質に依存しない安定な処理運転が期待できるシステムを新規に提言している<sup>(10, 11)</sup>。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、Mn(II)酸化真菌に由来する『活性 BMO』を用いる新しい多元素同時回収システムを、より実用的にするために、単離した Mn(II)酸化真菌(Pleosporales 目 5 株、Phyllachorales 目 1 株、Diaporthales 目 1 株、Hypocreales 目 3 株)によって活性 BMO を形成させ、Mn<sup>2+</sup>からの BMO への酸化能力に対する pH 依存性を調べることを目的とした。

希土類元素(REEs)は様々な産業を支える重要な元素群である。水環境中において、REEs はマンガン酸化物相に濃縮される傾向にあり、廃水中の希土類元素イオン(REE<sup>3+</sup>)に対する捕集媒体としてマンガン酸化物の利用が期待されている。このことから、微生物によるマンガン酸化物の形成過程における REEs の収着プロセスを解明することは、REEs 資源回収への応用する上で重要である。*A. strictum* KR21-2 が形成した BMO には、Mn(II)酸化酵素が安定的に保持され、溶存酸素を最終電子受容体として溶存 Mn<sup>2+</sup>から Mn(III/IV)へと酸化でき、連続的に BMO を形成できることが知られている。この BMO の高い Mn(II)酸化能を利用し、Ce<sup>3+</sup>を Ce(IV)へ連続酸化するプロセス、および収着媒体として BMO 相を形成しながら REE<sup>3+</sup>を連続的に収着するプロセスの詳細を調べ、廃水等からの REE<sup>3+</sup>の効率的な回収への応用性を検討した。

### 3. 研究の方法

対象とした Mn( )酸化真菌 10 株は、いずれも静岡県の河川床石の酸化被膜から単離したものである。これらの分類は 18S rRNA 遺伝子の部分塩基配列に基づいており、その内訳は Pleosporales 目が 5 株 (KK1-1 株、KK1-2 株、KK1-3 株、KK1-6 株と KK1-8 株)、Hypocreales 目が 3 株 (KK1-4 株、KK1-5 株と KK1-9 株)、Phyllachorales 目が 1 株 (KK1-7 株) および Diaporthales 目が 1 株 (KK1-10 株) である。各株の培養時における各 Mn(II)酸化真菌の pH 依存性は、以下の方法で調べた。20 mM の MES バッファーで pH 5.5、6.0、6.5 に、および 20 mM の HEPES バッファーで pH 7.0 に調整した、AY 液体培地を作製した。これら 4 つの pH の培地を 100ml の三角フラスコに 50ml ずつ分注し (n=3) 121 で 15 分間滅菌した後、別に滅菌した 30 μM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> および孔径 0.20 μm のセルロースフィルターで滅菌した 1 mM MnSO<sub>4</sub>・5H<sub>2</sub>O を添加した。その後、10 株の菌糸懸濁液 (pH 7.0 の AY 液体培地で形成させた菌体を、ミキサー型式で 30 秒間粉碎した) を 300 μl 添加し、25、105 stroke/min で数日から二週間 (KK1-6 株: 132 時間、KK1-7 株: 168 時間、KK1-4 株: 216 時間、KK1-1 株、KK1-5 株、KK1-8 株および KK1-9 株: 240 時間、KK1-2 株および KK1-10 株: 264 時間、KK1-3 株: 336 時間) 振とう培養した。数時間から一日おきに培養液を採取し、2% HNO<sub>3</sub> で希釈した後、ICP-AES により溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度を測定した。比較として、KR21-2 株についても同様の実験を行った (168 時間振とう培養)。

各真菌目から一株を選び、それらが形成した「活性 BMO」による Mn( )酸化の pH 依存性を調べた。20 mM の MES バッファーで pH 5.5、6.0、6.5 に、および 20 mM の HEPES バッファーで pH 7.0 に調整し、0.2 mM の Mn<sup>2+</sup>を添加した溶液を作製した。これら 4 つの pH の溶液を、100 ml の三角フラスコに 50 ml ずつ分注した (n=3)、1 mM の Mn<sup>2+</sup>を添加した AY 液体培地で

前培養 (KK1-2 株 : pH 5.5 で 4 日間、KK1-10 株 : pH 6.0 で 4 日間、KK1-7 株 : pH 6.5 で 5 日間および KR21-2 株 : pH 7.0 で 3 日間) して形成させた、上記 4 株の BMO をセルストレイナーで回収し、各 pH の溶液に添加した。培養時の Mn( )酸化の pH 依存性を調べる実験において、各株が最も高い Mn( )酸化活性を示した pH を前培養時の pH とし、各株がその pH において 1 mM の Mn<sup>2+</sup>を酸化し切るのに要した時間を、前培養時間とした。BMO を添加した溶液を 25 、 105 stroke/min で 72 時間振とうし、0, 2, 8, 24 時間後に溶液を採取した。24 時間後おきに、新規に調製した溶液に BMO を移し替え、同様の時間間隔で溶液を採取した。採取した溶液を 2 % の硝酸で 1:1 に希釈し、ICP-AES により溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度を測定した。

#### 4 . 研究成果

(1) Mn(II)酸化真菌の培養と BMO 形成に対する pH 依存性を調べたところ、全ての菌株が、調べた全 pH の培地で生育し、菌体を形成した。KK1-4 株と KR21-2 株は pH 5.5 では BMO を形成しなかったが、その他の菌株は全ての pH で BMO を形成した。それらの BMO (または菌体) の形状は、真菌目ごとにおおよそ共通した傾向がみられた。Pleosporales 目に属する菌株 (KK1-1 株、KK1-2 株、KK1-3 株、KK1-6 株および KK1-8 株) では、丸い形状のものが形成され、その大きさや数は株ごとに異なっていた。Hypocreales 目に属する菌株 (KK1-4 株、KK1-5 株、KK1-9 株および KR21-2 株) では、細かく薄い形状のものが多数形成された。Phyllachorales 目 (KK1-7 株) では、Hypocreales 目に属する菌株に似た形状のものが少数形成され、Diaporthales 目 (KK1-10 株) では、Pleosporales 目に属する菌株よりも大きな丸い形状のものが形成された。KK1-1 株 (Pleosporales 目) の Mn( )酸化開始時間は pH 6.0 で最短 (102 時間) であり、Mn( )酸化速度は pH 6.5 で最速 (12.5 μM/h) であった。KK1-2 株 (Pleosporales 目) の pH 5.5, 6.0 および 6.5 での酸化開始時間は 60 時間以内、酸化速度は 40 μM/h 前後であり、pH 7.0 に比べて短い酸化開始時間および速い酸化速度を示した。KK1-3 株 (Pleosporales 目) は、pH 7.0 で最も短い酸化開始時間 (78 時間) および最も速い酸化速度 (14.3 μM/h) を示した。KK1-4 株 (Hypocreales 目) は、pH 6.5 および 7.0 で速い酸化速度 (80 μM/h 以上) を示したが、pH 5.5 では Mn<sup>2+</sup>の酸化がみられなかった。KK1-5 株 (Hypocreales 目) の pH 6.0, 6.5 および 7.0 での酸化速度は 100 μM/h 以上と特に速かったが、pH 5.5 ではその 10 分の 1 以下であった。KK1-6 株 (Pleosporales 目) の酸化開始時間は pH 6.0 で最短 (60 時間) であり、酸化速度は pH 5.5 で最速 (37.5 μM/h) であった。KK1-7 株 (Phyllachorales 目) は、pH 6.5 で比較的短い酸化開始時間 (36 時間) を示した一方で、酸化速度はいずれの pH でも 10 μM/h であり、比較的遅い傾向がみられた。KK1-8 株 (Pleosporales 目) の酸化開始時間は pH 6.0 で最短 (60 時間) であり、酸化速度は pH 6.5 で最速 (33.3 μM/h) であった。KK1-9 株 (Hypocreales 目) の pH 5.5 での酸化速度は比較的遅かった (10 μM/h 以下) が、pH 6.0, 6.5 および 7.0 では 100 μM/h 以上であり、特に速かった。KK1-10 株 (Diaporthales 目) は、pH 6.0 での酸化開始時間が最短 (78 時間) であり、酸化速度も最速 (50.0 μM/h) であった。比較として用いた KR21-2 株 (Hypocreales 目) は、pH 7.0 で最も速い酸化速度 (120 μM/h) を示したが、pH 5.5 では溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度が減少しなかった。これらの結果から、真菌 10 株における Mn( )酸化の pH 依存性は株ごとに異なる傾向を見出した。

初期 Mn<sup>2+</sup>濃度が 5% 減少した時間を Mn( )酸化開始時間[h]と定義し、その前後の 2 点間を直線とした際に、初期の 95% 濃度となる時間を算出した。これらの株間における酸化開始時間の差は大きく、短いもので 30 時間以内、長いもので数日間と、多岐に渡っていた。これら 10 株における Mn( )酸化開始時間の pH 依存性を比較すると、Pleosporales 目 4 株 (KK1-1 株、KK1-2 株、KK1-6 株と KK1-8 株) および Diaporthales 目 1 株 (KK1-10 株) は、中性側よりも酸性側で短い傾向がみられた。また、Hypocreales 目 4 株 (KK1-4 株、KK1-5 株、KK1-9 株と KR21-2 株) は、その他の真菌目に属する菌株に比べて、いずれの pH でも短く、中性側で特に短い傾向が認められた。Hypocreales 目に属する 4 菌株は、他の菌株とは異なり、胞子を形成するため、培地への植菌量が他の菌株よりも多く、菌体の生育が早いことが推測された。菌体の対数増殖期後期から定常期にかけて Mn<sup>2+</sup>の酸化が進むことからすると、菌体の生育に要する時間が短いために、他の真菌目に属する菌株に比べて短い酸化開始時間を示したことが考えられた。

溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度が初期の 8 割から 2 割まで減少するときの平均の速さを Mn( )酸化速度[μM/h]と定義し算出した。酸化速度においても株間の差は大きく、速いもので 100 μM/h 以上、遅いもので 10 μM/h 以下であった。これら 10 株における Mn( )酸化速度の pH 依存性を比較すると、Pleosporales 目 2 株 (KK1-2 株と KK1-6 株) および Diaporthales 目 1 株 (KK1-10 株) は、中性側よりも酸性側で速い傾向がみられた。特に、pH 5.5 では KK1-2 株が最速 (42.9 μM/h) であった。また、Hypocreales 目 4 株 (KK1-4 株、KK1-5 株、KK1-9 株と KR21-2 株) は、その他の真菌目に属する菌株よりも、中性側で特に速い傾向が認められた。一方で、酸性側では酸化速度が大幅に低下した (あるいは Mn<sup>2+</sup>が全く酸化されなかった) ことから、Hypocreales 目に属する 4 菌株の産生する Mn( )酸化酵素は、中性側の比較的狭い範囲でのみ高い Mn( )酸化活性を示すことが考えられた。これに対し、Pleosporales 目に属する 5 菌株では、いずれの pH でも Mn<sup>2+</sup>の酸化が確認できたことから、それらの産生する Mn( )酸化酵素は、比較的広い範囲の pH で Mn( )酸化活性を示すことが推測された。以上の結果から、真菌 10 株の培養時における Mn( )酸化の pH 依存性は多様であることが示された。各株の Mn( )酸化開始時間と Mn( )酸化速度との間には必ずしも相関はみられなかったが、真菌目別におおよその傾向が確認できた。Hypocreales 目に属する菌株は、その他の真菌目に属する菌株よりも酸化開始時間が短く、

中性側での酸化速度が特に速いものの、酸性側では酸化速度が著しく遅くなる傾向がみられた。一方、Pleosporales 目に属する菌株は、Hypocreales 目に属する菌株よりも酸化開始時間が長く、酸化速度も比較的遅いものの、酸性側でも中性側でも一定以上の酸化速度を示す傾向がみられた。このように、pH によって各株の Mn( )酸化活性が異なるため、各株に適する pH を選択し、BMO を形成させることが重要だと考えられた。

(2) あらかじめ形成させた活性 BMO による Mn( )酸化の pH 依存性を調べたところ、KK1-2 株 (Pleosporales 目) は、いずれの pH でも、溶液を交換してから 8 時間以内に初期 Mn<sup>2+</sup>のほとんどを酸化しており、溶存 Mn<sup>2+</sup>の減少速度が他の菌株よりも速い傾向がみられた。Mn<sup>2+</sup>を含む培地で培養した場合には、中性側よりも酸性側で Mn( )酸化活性が高い傾向を示したが、あらかじめ形成させた BMO を Mn<sup>2+</sup>を含む緩衝溶液に添加した場合には、それと逆の傾向を示した。また、いずれの pH でも、一回目から三回目まで減少速度はほとんど変わらなかった。KK1-10 株 (Diaporthales 目) でも、酸性側よりも中性側の方が Mn( )酸化活性が高い傾向がみられた。また、他の菌株に比べて、処理回数が増えるにつれて活性が低下する傾向が強かった。24 時間後の溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度の減少率は、pH 6.0, 6.5 および 7.0 では一回目が 90 % 程度であったのに対し、三回目は 50 % 程度にまで低下した。pH 5.5 では一回目が 50 % 程度であり、三回目は 10 % 程度しか減少しなかった。KK1-7 株 (Phyllachorales 目) も、酸性側よりも中性側の方が溶存 Mn<sup>2+</sup>の減少速度が速かった。24 時間後の溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度の減少率 (三回の平均値) は、pH 7.0 で約 95 %、pH 6.0 および 6.5 で約 80 %、pH 5.5 で約 30 % であった。このように、いずれの菌株が形成した BMO でも、各 pH で溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度の減少が確認され、その減少速度は、酸性側よりも中性側の方が速い傾向が認められた。

各株の培養時の Mn( )酸化活性の pH 依存性に多様性がみられた一方で、培養時に形成した BMO による Mn( )酸化活性はいずれの菌株も中性側で高いことが、明らかになった。この原因としては、培養時の Mn( )酸化活性には Mn( )酸化酵素の発現が関係しており、その至適 pH が株ごとに異なるのに対し、BMO の Mn( )酸化活性には培養時に発現した Mn( )酸化酵素の活性が関係しており、その至適 pH はいずれの菌株も中性側で高いことが考えられる。特に、KK1-2 株の BMO による酸性側での溶存 Mn<sup>2+</sup>濃度の減少率は、他の 3 株の BMO に比べて高く、一回目から三回目まで、いずれの pH でも高い値を示した。このことから、KK1-2 株の形成する BMO は、他の 3 株が形成する BMO よりも (特に酸性側の) 排水に応用できると考えられた。

(3) *A. strictum* KR21-2 による活性 BMO の高い Mn(II)酸化能を利用した Ce<sup>3+</sup>から Ce(IV)へ連続酸化回収プロセスを調べた。無酸素条件下(N<sub>2</sub> パージ)で、新規形成した BMO(酵素活性を持つ)を Ce<sup>3+</sup>溶液で処理した場合には、化学量論的な Ce<sup>3+</sup>の酸化と MnO<sub>2</sub>の還元(2Ce<sup>3+</sup> + Mn<sup>IV</sup> → 2Ce<sup>IV</sup> + Mn<sup>2+</sup>)が観測された。一方、溶存酸素(Mn<sup>2+</sup>酸化反応に対する最終電子受容体)を含む系(大気平衡条件)において、同様な実験を行ったところ、Ce<sup>3+</sup>酸化量/Mn 溶出量のモル比が一時的に 200 以上になるような過剰な Ce<sup>3+</sup>の酸化が観察された。NaN<sub>3</sub> 添加や加熱処理により酵素活性を失活させた BMO では、過剰に酸化される Ce<sup>3+</sup>量は低く、新規形成 BMO の Mn(II)酸化酵素によって還元溶出された Mn<sup>2+</sup>の再酸化が、過剰な Ce<sup>3+</sup>の酸化量に大きく寄与することが示された。この BMO による Ce<sup>3+</sup>酸化の一次反応速度は、共存 La<sup>3+</sup>によって低下し、BMO 上への共存 La<sup>3+</sup>の競合吸着によることが示唆された。X 線結晶回折の結果から、BMO による Ce<sup>3+</sup>酸化によって形成された固体相は、ナノサイズの結晶子を有する cerianite であり、Ce<sup>3+</sup>酸化の自己触媒としても働くことも明らかとなった。

(4) 活性 BMO による水溶液中からの La<sup>3+</sup>収着特性、及び Mn<sup>2+</sup>添加による BMO 相の追加形成にともなう La<sup>3+</sup>の連続収着プロセスを調べた。大気平衡条件下で、新規形成 BMO を La(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液で処理すると、Mn<sup>2+</sup>が溶出せず、La<sup>3+</sup>の効果的な収着(Mn 酸化物に対して 23.5mol%)が観察された。一方、無酸素条件下では、高い Mn<sup>2+</sup>溶出と低い La<sup>3+</sup>収着が認められ、BMO 表面上で BMO に吸着していた Mn<sup>2+</sup>と添加した La<sup>3+</sup>との間に競合吸着が生じることが示された。新規形成 BMO に La<sup>3+</sup>と Mn<sup>2+</sup>を共添加し、溶液を 24 時間毎に交換しながら連続処理をおこなった結果、Mn<sup>2+</sup>は新しい BMO 相へと連続的に酸化され、La<sup>3+</sup>に対する新しい収着サイトを提供することが実証された。NaN<sub>3</sub> 添加によって Mn(II)酵素を失活させた場合、Mn<sup>2+</sup>は酸化されず、BMO への La<sup>3+</sup>収着を大きく阻害することが明らかとなった。これらの結果から BMO の Mn(II)酸化酵素活性は、共存 Mn<sup>2+</sup>からの競合吸着を避けるためにも非常に重要であることが明らかとなった。模擬混合廃水(Cd<sup>2+</sup>、La<sup>3+</sup>、Ni<sup>2+</sup>と Zn<sup>2+</sup>を含む)を用いた実験から、BMO は La<sup>3+</sup>に対して Cd<sup>2+</sup>と同等、Zn<sup>2+</sup>と Ni<sup>2+</sup>より高い選択性で回収できることが示された。

(5) *A. strictum* KR21-2 を用いて Mn<sup>2+</sup>と REE<sup>3+</sup>を共添加し(24 時間毎、10 回処理まで)、BMO の連続形成過程における全 REE<sup>3+</sup>(Ce<sup>3+</sup>及び放射性 Pm は除く)収着効率を調べた。各 REE<sup>3+</sup>の共存下において Mn(II)酸化能を持つ BMO による Mn<sup>2+</sup>酸化が進行し、新たな BMO 相を追加形成すること、また、溶存 Mn<sup>2+</sup>からの競合吸着を回避することによって、各 REE<sup>3+</sup>を連続的に収着回収できることが明らかとなった。また、溶存 Mn<sup>2+</sup>が共存する条件では、BMO による各 REE<sup>3+</sup>収着選択性の差が見かけ上小さく、一方、溶存 Mn<sup>2+</sup>が速やかに除かれる(酸化される)系では、軽 REE<sup>3+</sup>が重 REE<sup>3+</sup>より高い収着選択性を有することが明らかとなった。以上の知見から、多種の REE<sup>3+</sup>を含む廃水において、BMO の Mn(II)酸化能を利用することによって、選択性を変えながら REE<sup>3+</sup>を回収できる可能性が提示された。BMO の Mn(II)酸化能に対する REE<sup>3+</sup>の影響とその要因について調べたところ、Mn<sup>2+</sup>と REE<sup>3+</sup>共添加系(24 時間毎、10 回処理まで)において、添加

Mn<sup>2+</sup>に対する積算酸化率は平均 89.6%であり、REE<sup>3+</sup>未添加系(57.8%)に比較して有意に高いことが示された。粗 Mn(II)酸化酵素抽出液を用いた実験により、溶存 La<sup>3+</sup>は遊離状態の Mn(II)酸化酵素の活性を高めることはなく、むしろ活性を阻害することが明らかとなった。一方、Mn(II)酸化酵素を BMO 相に取り込ませた場合には、溶存 La<sup>3+</sup>によって見かけの Mn(II)酸化率が高まることを見出された。BMO の Mn(II)酸化に対する共存 La<sup>3+</sup>濃度の依存性を調べた結果、La<sup>3+</sup>の共存によって Mn(II)酸化率が高く維持されることが明らかとなった。BMO 結晶端面の La<sup>3+</sup>収着サイトとしての寄与率が高いことから、La<sup>3+</sup>存在によって二次元シート構造結晶ドメインサイズの微細な BMO が形成されると推察された。一方、La<sup>3+</sup>非存在の場合、結晶ドメインサイズが連続形成過程において結晶ドメインサイズは大きくなるため、結晶端面割合が相対的に低くなり、低い La<sup>3+</sup>収着率、低い Mn(II)酸化率の原因となると推察した。BMO の連続形成による Cd<sup>2+</sup>収着率は、La<sup>3+</sup>の有無により大きく影響を受けることが明らかとなった。これらの研究から、真菌が形成した Mn(II)酸化酵素活性を有する BMO を利用して、Ce<sup>3+</sup>から Ce(IV)への連続酸化プロセスや REE<sup>3+</sup>の連続収着プロセス(収着媒体である BMO 相の連続形成と Mn<sup>2+</sup>からの競合吸着の低減、REE<sup>3+</sup>共存による高い Mn(II)酸化効率の維持と構造特性の差異など)の詳細を明らかにすることができた。これらの結果は、廃水などからの REE<sup>3+</sup>回収法の開発や水環境中における REE<sup>3+</sup>の動態予測に新しい知見を与えると考えられる。

#### <引用文献>

- Y. Tani, M. Ohashi, N. Miyata, H. Seyama, K. Iwahori and M. Soma, Sorption of Co(II), Ni(II) and Zn(II) ions on biogenic manganese oxide produced by a Mn-oxidizing fungus, strain KR21-2. *The Journal of Environmental Science and Health, Part A* **39**, 2641-2660 (2004).
- K. Tanaka, Y. Tani, Y. Takahashi, M. Tanimizu, Y. Suzuki, N. Kozai, T. Ohnuki, A specific Ce oxidation process during sorption of rare earth elements on biogenic Mn oxide produced by *Acremonium* sp. strain KR21-2. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **74**, 5463-5477 (2010).
- K. Tanaka, Y. Tani, T. Ohnuki, Specific sorption behavior of actinoids on biogenic Mn oxide, *Chemistry Letters* **40**, 806-807 (2011).
- N. Miyata, Y. Tani, M. Sakata, and K. Iwahori, Microbial Manganese oxide formation and interaction with toxic metal ions, *Journal of Bioscience and Bioengineering* **104**, 1-8 (2007).
- J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, H. Seyama, Fungal Mn oxides supporting Mn(II) oxidase activity as effective Mn(II) sequestering materials. *Environmental Technology* **34**, 2781-2787 (2013)
- J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, H. Seyama, K. Tanaka, Cobalt(II) sequestration on fungal biogenic manganese oxide enhanced by manganese(II) oxidase activity. *Applied Geochemistry* **37**, 170-178 (2013).
- J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, H. Seyama, Zn(II) sequestration by fungal biogenic manganese oxide through enzymatic and abiotic processes. *Chemical Geology* **383**, 155-163 (2014).
- J. Chang, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, H. Seyama, Sequestration of Cd(II) and Ni(II) on fungal manganese oxides associated with Mn(II) oxidase activity. *Applied Geochemistry* **47**, 198-208 (2014).
- J. Watanabe, Y. Tani, J. Chang, N. Miyata, H. Naitou, H. Seyama, As(III) oxidation kinetics of biogenic manganese oxides formed by *Acremonium strictum* strain KR21-2. *Chemical Geology* **347**, 227-232 (2013).
- 谷 幸則, 常 佳寧, 渡邊淳一, 宮田直幸: バイオ合成マンガン酸化物による微量元素の処理と回収、*用水と廃水* **56**, 32-40 (2014).
- 谷 幸則, 常 佳寧, 宮田直幸: 微生物によるマンガン酸化物の形成を利用したレアメタルの回収法、*バイオインダストリー* **31**, 34-40 (2014).

#### 5 . 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計 4 件)

- R. Grandbois, C. Yeager, Y. Tani, C. Xu, S. Zhang, M. Beaver, K. Schwehr, D. Kaplan, P. Santschi, Biogenic manganese oxides facilitate iodide oxidation at pH ≤ 5, *Geomicrobiology Journal* **35**, 167-173 (2018). <http://dx.doi.org/10.1080/01490451.2017.1338795> (査読あり)
- Q. Yu, K. Tanaka, N. Kozai, F. Sakamoto, Y. Tani, T. Ohnuki: Adsorption of Cs onto biogenic birnessite: effects of layer structure, ionic strength, and competition cations. *ACS Earth and Space Chemistry* **2**, 797-810 (2018). <http://dx.doi.org/10.1021/acearthspace.chem.8b00042> (査読あり)
- H. Zheng, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, F. Tojo, H. Seyama: Sequestration of La<sup>3+</sup> by fungal manganese oxides and the effect of Mn(II) oxidase activity. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **5**, 735-743 (2017). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.049> (査読あり)
- H. Zheng, Y. Tani, H. Naitou, N. Miyata, F. Tojo: Oxidative Ce<sup>3+</sup> sequestration on fungal manganese oxides with an associated Mn(II) oxidase activity. *Applied Geochemistry* **71**, 110-122 (2016). <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgechem.2016.06.003> (査読あり)

##### [学会発表](計 12 件)

- 鄭 海粟, 谷 幸則, 内藤博敬, 宮田直幸: Mn(II)酸化活性を保持したバイオマンガン酸化物

の活性に対する希土類元素イオンの影響, 日本水処理生物学会第 53 回大会(千葉), 2016 年 11 月 10-12 日.

藤田大貴, 谷 幸則, 内藤博敬, 宮田直幸: 真菌 Pleosporales sp. KK1-2 株による  $Mn^{2+}$  イオンの除去特性, 日本水処理生物学会第 53 回大会(千葉), 2016 年 11 月 10-12 日.

東條ふゆみ, 北山阿有美, 福島淳, 谷 幸則, 宮田直幸: *Acremonium strictum* KR21-2 株が産生するマンガン酸化酵素の大量発現を目的とした酵母への遺伝子導入, 秋田応用生命科学研究会 第 28 回講演会(秋田), 2016 年 12 月 9 日.

藤田大貴, 谷 幸則: 真菌における  $Mn( )$  酸化特性, 富士山麓アカデミック & サイエンスフェア 2016(富士), 2016 年 12 月 2 日.

柿沼里実, 谷 幸則, 常 佳寧, 内藤博敬, 宮田直幸: 真菌によるバイオマンガン酸化物形成における  $Ba^{2+}$  の不可逆的な吸着, 日本水処理生物学会第 54 回大会(大阪), 2017 年 11 月 8-10 日.

鄭 海粟, 谷 幸則, 内藤博敬, 宮田直幸: バイオマンガン酸化物の連続形成による希土類元素イオンの効率的な回収, 日本水処理生物学会第 54 回大会(大阪), 2017 年 11 月 8-10 日.

鄭 海粟, 谷 幸則, 内藤博敬, 宮田直幸, 東條ふゆみ:  $Mn(II)$  酸化能を持つバイオマンガン酸化物による  $Ce^{3+}$  の効率的回収, 第 26 回環境化学討論会(静岡), 2017 年 6 月 7-9 日.

Yukinori Tani, Tingting Wu, Hiroataka Naitou, Naoyuki Miyata: Sequestration of V(V), Mo(VI) and W(VI) by fungal manganese oxides. 23th International Symposium on Environmental Biogeochemistry, PP25, Palm Cove, QLD, Australia, 25-29 September 2017.

谷 幸則, 鄭 海粟, 常 佳寧, 内藤博敬, 田中万也, 宮田直幸, 瀬山春彦: バイオマンガン酸化物によるレアメタル回収効率とその機構, 日本水処理生物学会第 55 回(郡山), 2018 年 11 月 2-4 日.

谷 幸則: 真菌によるバイオマンガン酸化物の形成と水処理への応用, 平成 30 年度 日本水環境学会中部支部 研究発表会(金沢), 2018 年 11 月 5 日.

野口太輝, 内藤博敬, 谷 幸則: バイオ Mn 酸化物への共吸着を利用した無機ヒ素( ) と重金属イオンの同時回収, 富士山麓アカデミック & サイエンスフェア 2018(富士), 2018 年 11 月 28 日.

菅井康平, 内藤博敬, 谷 幸則: 真菌が形成したバイオ Mn 酸化物による海水からのレアメタルの効率的な回収, 富士山麓アカデミック & サイエンスフェア 2018(富士), 予稿集 p.15, 2018 年 11 月 28 日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

[https://www.u-shizuoka-ken.ac.jp/media/seeds2017\\_02\\_097.pdf](https://www.u-shizuoka-ken.ac.jp/media/seeds2017_02_097.pdf)

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 宮田直幸、内藤博敬、鄭 海粟、藤田大貴

ローマ字氏名: Naoyuki Miyata, Hiroataka Naitoh, Haiso Zheng, Daiki Fujita

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。