

淡水化に伴い生成する濃縮海水等の高塩環境中におけるセレン回収に有用なセレン酸還元能を有する好塩性細菌の探索*

仲山 英樹^{*1}, 池上 康之^{*2}

Screening of Selenate-Reducing Halophilic Bacteria for Recovering Selenium from High Salinity Environments as Concentrated Seawater Byproduct of Desalination Process

Hideki NAKAYAMA^{*1} and Yasuyuki IKEGAMI

^{*1} Organization of Advanced Science and Technology, Kobe University
1-1 Rokkodai-cho, Nada-ku, Kobe, Hyogo 657-8501 Japan

Metal pollution and metal shortage are two opposite growing threats to the global environment and world industry. As inorganic metals and mineral salts are concentrated simultaneously in desalination process, the resulting concentrated seawater would also contain high concentrations of metals. These metals when left untreated would become a source of metal pollution. However, if technology to harvest these metals is available, the concentrated seawater can be decontaminated and can be used as metal mine at the same time. Successful marine metal-mining depends on development of a technology that is functional and efficient in concentrated seawater environment. Halophilic bacteria are typical inhabitants of high-salinity sites such as seawater. Therefore, to develop selenium-mining technology coupling with desalination process, we screened selenate-reducing halophilic bacteria from Imari Bay, Imari, Saga, Japan. We found that different nutrient and salinity conditions affect selenate-reducing activity of the isolated strains. We are now selecting the best strains for selenium-mining technology to be used in high salinity environments.

Key Words : Metal-Biotechnology, Desalination, Concentrated Seawater, Halophilic Bacteria, Selenium-Recovery

1. 緒 言

近代化とともに発展してきたハイテク産業の副産物として環境中に廃棄された金属類は、現在に至るまで土壌や海洋等の環境中で残存して累積された結果、深刻な環境問題を引き起こしている。特に、水産資源への被害が懸念される海洋の金属汚染に対しては、飲料水などの淡水を対象とした既存の環境技術は高濃度の塩分が阻害的に作用するため適用できない。そこで、本研究では海水並びに海水淡水化プロセスの副産物として生成する濃縮海水中で汚染源または有用資源として溶存する金属の浄化・回収に有用な新規金属バイオ技術の開発を目指す⁽¹⁾⁽²⁾。

本研究では、高塩環境に適応した好塩性微生物の生物機能を活用し、海洋温度差発電・淡水化に伴い生成する濃縮海水からの金属回収・浄化へ応用可能な新規金属バイオ技術の創出を目的としている(図1)。そこで、特に本研究では、必須金属元素であると同時にレアメタル資源として有用なセレン(Se)回収に有用な好塩性細菌の取得を目指し、セレン酸(VI)を細胞内でセレン(0)に還元するセレンのバイオミネラリゼーションに有用な好塩性細菌の探索を行った(図1)。一般的に、セレン酸の還元反応は嫌気条件で促進されることが知られるが、本研究では細胞増殖が旺盛な好気条件において効率的にセレン酸還元活性を有する菌株の探索を行った。

なお、本研究は平成21年度(09008A)および平成22年度(10006A)の佐賀大学海洋エネルギー研究センター—全国共同利用研究として行った。

* 原稿受付 2011年7月29日

^{*1} 特命助教, 神戸大学自然科学系先端融合研究環(〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲町1-1)

^{*2} 准教授, 佐賀大学海洋エネルギー研究センター

E-mail: nakayama@aquamarine.kobe-u.ac.jp

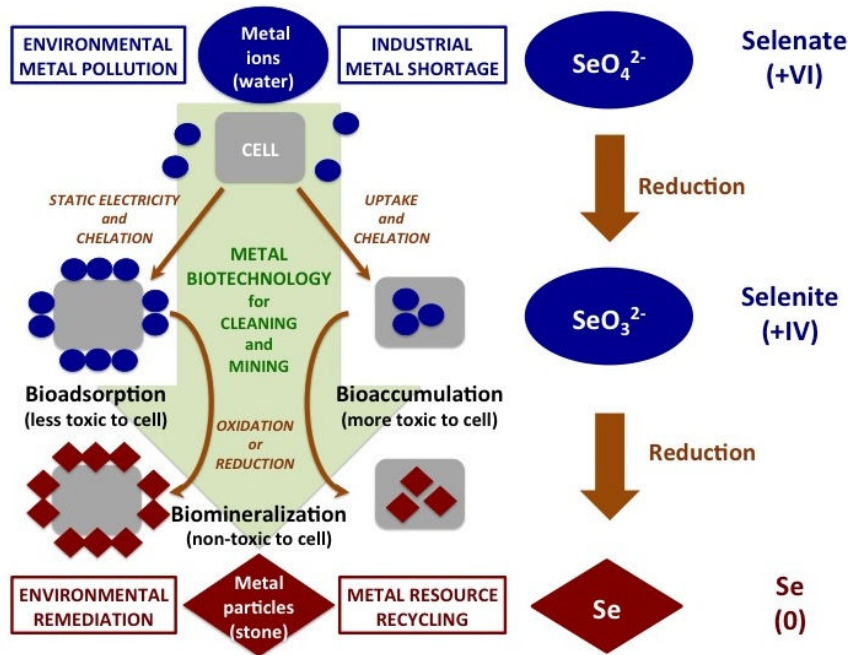


Figure 1. Concept of metal-biotechnology for recovering Se(0) from concentrated seawater.

2. 実験材料と方法

2・1 環境微生物試料の採取

本研究における環境微生物試料は、佐賀県伊万里市の佐賀大学海洋エネルギー研究センターに設置された伊万里湾海水の取水口付近の底泥および取水口から採取した海水を用いた。

2・2 セレン酸還元微生物選抜培地

濃縮海水を模擬するため、ダイゴ 4xIMK 人工海水に更に 30 g/L 食塩加えた培地を選抜用の人工濃縮海水培地とした。この人工濃縮海水培地に、0.5 g/L 酵母エキス、0.5 g/L カザミノ酸、0.5 g/L ペプトン、40 mM セレン酸ナトリウムを添加した培地をセレン酸還元微生物選抜培地として使用した。

また、栄養源が豊富な条件として、LB 培地または TSB 培地に適宜食塩とセレン酸を添加した培地を使用した。微生物の培養温度は室温から 37°C 程度とした。

3. 結果

3・1 高塩環境中でのセレン回収に有用なセレン酸還元菌の探索

本研究では、昨年度までの共同利用研究に引き続き、高塩環境に適応した好塩性細菌を利用した濃縮海水などの高塩環境に適応可能なメタルバイオ技術 (図 1) の開発を目指し、金属蓄積能に優れた好塩性細菌の探索を行った。特に本研究では、高塩環境中のオキソアニオンのセレン酸を細胞内で赤色のセレンにまで還元するセレンのバイオミネラリゼーションに有用な好塩性細菌の探索を行った (図 2)。

3・2 高塩環境中でのセレン回収に有用なセレン酸還元菌の分離

伊万里湾海水試料中より、濃縮海水を模擬した培地条件下でセレン酸を細胞内に取り込んで赤色のセレンにまで還元して細胞内に蓄積する能力を有する菌株 (# 1 - 16) の分離に成功した (図 3)。これら 16 種の分離株のうち、細胞増殖能に有利な栄養条件に富んだ条件下でのセレン酸還元能、さらに高塩濃度環境下でのセレン酸還元能力に優れた菌株を選抜することを目的とし、以降の実験を行った。

3・3 分離菌株のセレン酸還元活性に対して栄養条件が及ぼす影響

続いて、得られた16種の分離菌株において、栄養条件がセレン酸還元活性に及ぼす影響を調査するため、6%食塩と10mMセレン酸ナトリウムを添加したLB培地を用いた栄養源に富んだ培養条件下でのセレン酸還元能を比較した。その結果、#6、#7、#12の3株のみが栄養源が豊富な培地条件下でも旺盛に増殖し、さらにセレン酸還元能を有することが明らかとなった(図4)。以上の結果より、これら3株をセレン回収に有用な菌株候補として選抜し、以降の実験に用いることとした。

3・4 分離菌株のセレン酸還元活性に対して塩濃度条件が及ぼす影響

本研究により分離した3株において、高塩濃度条件がセレン酸還元活性に及ぼす影響を調査するため、3-12%の濃度の食塩を添加したTSB培地を用いた培養条件下でのセレン酸還元能を比較した。その結果、6-9%食塩を添加した濃縮海水様条件下では、#6が最も優れたセレン酸還元能を示した(図5)。ここで、9-12%の食塩を含む条件下では、セレン酸を添加した条件下でのみ顕著な生育阻害が観察されたことより、本菌株を用いたセレンのバイオミネラルゼーション技術は、淡水化に伴い生成する2倍程度までの濃縮海水に十分適応可能であることが示唆された。

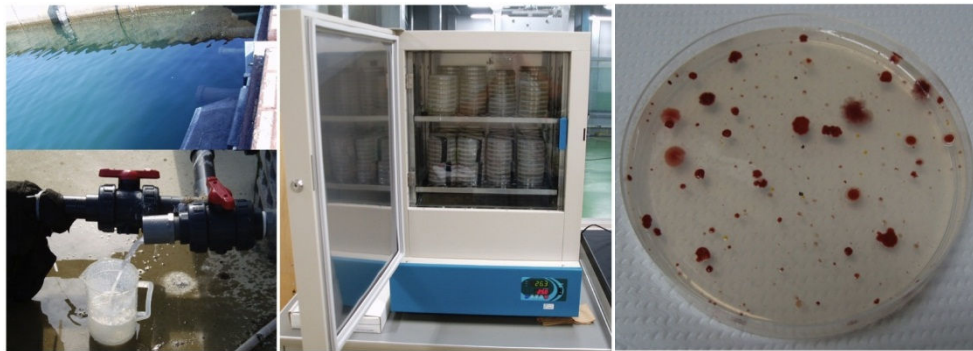


Figure 2. Screening for selenate-reducing halophilic bacteria from Imari Bay.

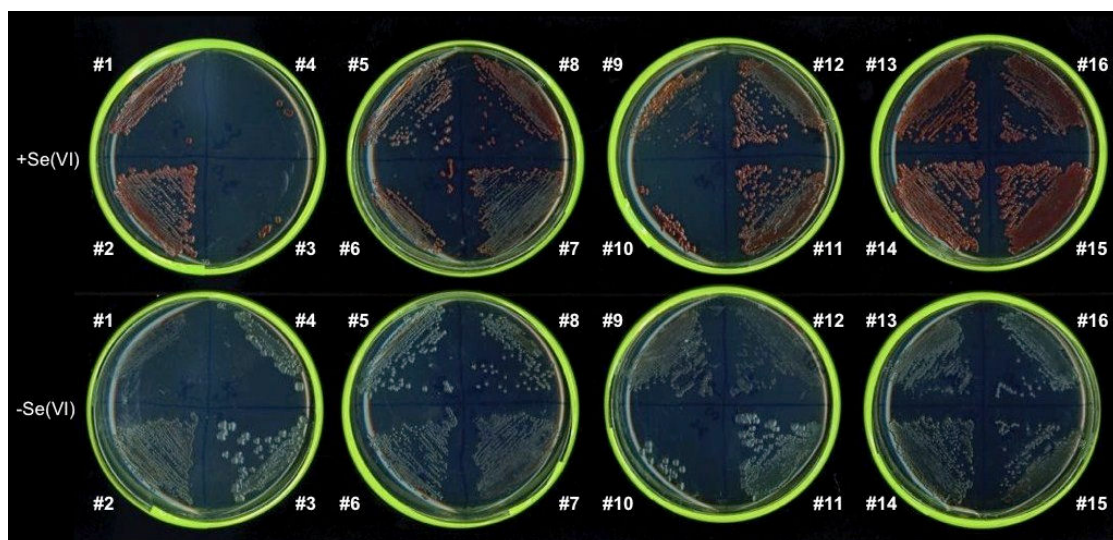


Figure 3. Isolation of selenate-reducing halophilic bacterial strains from Imari Bay.

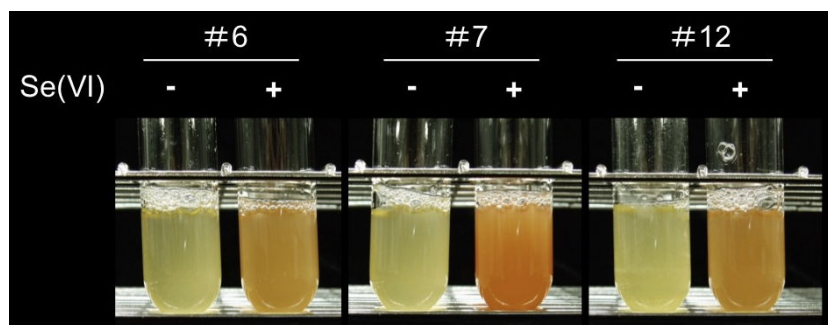


Figure 4. Selenate-reducing activity of the isolated strains (#6, #7, and #12) under nutrient rich condition.

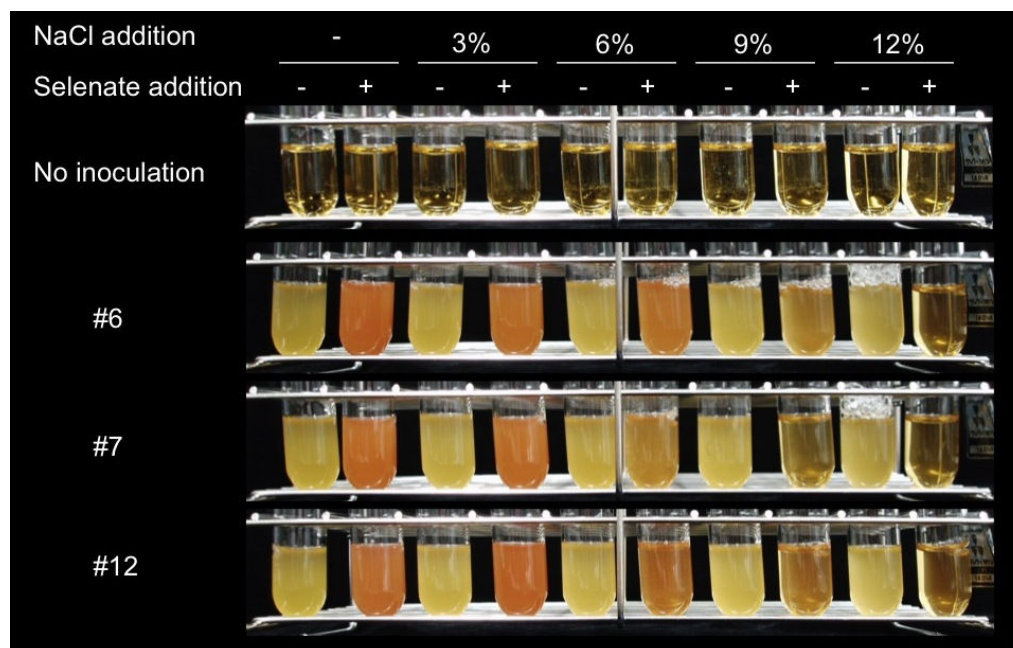


Figure 5. Selenate-reducing activity of the isolated strains (#6, #7, and #12) under high-salinity conditions.

4. 考 察

4・1 高塩環境中でのセレン回収に有用なセレン酸還元菌の選抜

伊万里湾の海水試料から、淡水化に伴い生成する濃縮海水を想定した 6%程度の食塩を添加した条件下で、セレン酸還元能を有する菌株の選抜を行った (図 2, 3)。その結果、6%食塩を添加した高塩環境条件下で優れたセレン酸還元能を有する菌株 (#6) を取得することに成功した (図 4, 5)。現在、本菌株の同定試験を行い、セレン酸還元機構の解明を行う準備を進めている。今回の選抜試験では、6%程度の食塩を添加した条件で行ったため、9%以上の食塩濃度条件下で有用な菌株の取得に至らなかったが、より高塩濃度環境下でのセレン酸還元活性を有する菌株を取得するためには、9%以上の食塩を添加したさらに厳しい条件下での探索が必要と考えられる。

4・2 高栄養条件がセレン酸還元活性に及ぼす影響

セレンは細胞内に蓄積して回収されるため、実用的なセレン回収プロセスの構築のためには、細胞の増殖量が鍵になる。そこで、細胞増殖に有利な栄養豊富な条件下において、得られた 16 種の菌株の増殖を比較したところ、分離株の大半は成育速度が遅かった。しかしながら、#6, #7, #12 株の 3 株は、栄養豊富な条件下でセレン酸還元能を維持したまま旺盛な増殖能を示した (図 4) ことにより、セレン回収に有用であると考えられた。

4・3 高塩濃度条件がセレン酸還元活性に及ぼす影響

海水の濃縮度が高まるに伴って、溶存するセレン酸の量も高まると推測される。そのため、より高い濃縮度でセレン酸還元能を維持できることが出来れば、実用的なセレン回収プロセスの構築に有利であると考えられる。そこで、高塩濃度条件下でもセレン酸還元活性を有する優良株の選抜を行った。その結果、9%以上の食塩濃度を添加した条件下では、セレン酸を添加することにより顕著な増殖阻害が観察された(図5)。生育は阻害されつつも、セレン酸還元活性は維持されていたことから、セレン酸添加により細胞増殖が阻害されることが示唆された。細胞内では、セレンはイオウと同族元素であるため、イオウの代謝系と拮抗して作用することが知られている。そのため、9%以上の食塩を添加した厳しい高塩環境下では、セレンの添加によりイオウ欠乏と同様なストレスが細胞に誘導されているのかも知れないが、今後の解析が必要である。

5. 結 語

本研究により、3 から 6%食塩濃度に相当する濃縮海水環境中からのセレン回収に有用なセレン酸還元細菌株を取得することに成功した。また、セレン酸還元活性は栄養条件や塩濃度などの環境条件の影響を受けることが示された。今後は、分離した菌株の同定作業を進めることにより、高塩環境下での効率的なセレン酸還元機構の解明が期待される。

文 献

- (1) 仲山英樹, “マリンバイオによる環境浄化と資源回収”, 神戸大学水圏光合成生物研究グループ編, 水環境の今と未来 藻類と植物のできること, 生物研究社, (2009), pp. 85-98.
- (2) Nakayama, H., and Ikegami, Y.: Isolation of a manganese oxidizing bacterium, *Bacillus sp.* NI-1, as a tool for metal recovery from concentrated seawater. *OTEC*, Vol. 14, (2008), pp. 65-67.