

微生物を用いた水溶液からの銅の除去 — 中学校の科学クラブの指導を通して (第二報) —

鶴田 猛彦[†]・石村 朋広^{††}・下川 恭徳^{†††}

Removal of Copper from the Aqueous Solution Using Microorganism through the Coaching for the Science Club in the Junior High School, Part 2

Takehiko TSURUTA[†], Tomohiro ISHIMURA^{††} and Yasunori SHIMOKAWA^{†††}

ABSTRACT

The request for the scientific research theme which can be done by junior high school students was received in the field of my research from Ichinomiya junior high school, Takamatsu, Kagawa. The removal of copper from the aqueous solution using microorganism was selected for the research theme for three students within one year. Some factors were examined to affect for the copper removal, such as the amount of microorganism, pH, and temperature using *Bifido* bacteria, dry yeast, or *Aspergillus oryzae*. *Bifido* bacteria and dry yeast were removed the largest amount of copper from the aqueous solution at pH 6.0 and *Aspergillus oryzae* was removed that at pH 6.5. respectively. This research was selected third grade of Japan Students Science Awards.

Key Words: Junior high school students, *Bifido* bacteria, Dry yeast, *Aspergillus oryzae*, JAPAN Students Science Awards

キーワード: 中学生, ビフィズス菌, ドライ酵母, 米麹, 日本中学生科学賞

1. はじめに

近年、大学においても地域貢献が強く期待されている。地域貢献には地域産業への貢献だけ

でなく、地域の高等学校への貢献も期待されている。

筆者は八戸北高校の SSH 事業に協力し、平成 22 年度は、「スタンプ式の寒天培地を用いた微生物のカウント」について協力したほか、平成 25 年度には「柿渋を用いたストロンチウムの吸着・除去」¹⁾、26 年度「ストロンチウムの効率的な除去」²⁾、27 年度「柿渋を用いたストロンチウムの効率的な除去」³⁾ など、研究の提案および指導への協力を行ってきた。

平成 30 年 12 月 10 日 受付

[†] 工学部生命環境科学科・教授

^{††} 香川県高松市立一宮中学校・教諭

^{†††} 香川県高松市立一宮中学校・校長

平成 22 年度は、先方が発案した研究テーマについて助言を行った。平成 25 年から 27 年は、先方からの依頼に基づいた研究テーマを提案し、方法についても助言した上でその後の実施については、高校の先生が化学を専門としており、分光光度計が高校側に備わっていた事もあり、さらに、SSH 事業の補助金があるという恵まれた条件での研究であったため、ほぼ先方のみでの進行が可能であった。

平成 28 年 6 月に北東北地域ではなく、四国の高松市立一宮中学校から、科学体験発表の研究テーマの提案が電話及び電子メールにより寄せられ、平成 28 年度は「微生物を用いた銅イオンの除去」⁴⁾、次いで平成 29 年度は「菌類・細菌類で銅イオンを除去」について研究指導を行った。

2. 実験装置および実験方法

2.1 実験装置

2.1.1. 水流アスピレータ

実験後の水溶液と微生物を分離するための減圧状態を作るために安価なものを紹介した⁴⁾。実際には一体型の MS-1 型を使用した。

2.1.2 吸引ろ過装置

実験後の水溶液と微生物を分離するための吸引ろ過装置として ADVANTEC KP475 を使用した。

2.2 実験器具

2.2.1 メンブランフィルター

吸引濾過のフィルターとして 0.2 μm のメンブランフィルター (ADVANTEC) を使用した。

2.2.2 pH ペン

pH メータは高価なため、pH ペンを測定用を使用した。

2.3 試薬

2.3.1 銅試薬

銅源として塩化銅を用い、水溶液にして使用した。

2.3.2 銅測定

高価な分析機器は使用できないため、銅測定用としてパックテスト VISCOCOLOR ECO を使用した。

2.4 微生物

2.4.1 *Bacillus natto*

市販の納豆を使用した。

2.4.2 EM 菌

EM 活性液を使用した。

2.4.3 乳酸菌

ヤクルト 400 を使用した。

2.5 実験方法

2.5.1 納豆の前処理

納豆に水 20 mL を加え、混合後、駒込ピペットで採取した。

2.5.2 EM 活性液の前処理

EM 活性液 140 mL、糖蜜 40mL に水 320 mL を加え、3 日間、日光に当てて発酵させた。

2.5.3 銅除去実験

基本的には塩化銅水溶液 (銅 1.0 ppm, pH 5.0) 水溶液に 26.0 $^{\circ}\text{C}$ で 5 分間で微生物含有水溶液 1.0 mL と混合後、0.2 μm のメンブランフィルターで吸引濾過して微生物を濾過し、ろ液の銅濃度をパックテストで比色定量した。

微生物含有液の体積、pH、温度を微生物ごとに変化させて銅除去に及ぼす影響を調べた。

3. 実験結果

3.1 ビフィズス菌を用いた銅除去

3.1.1 溶液の pH の影響

銅溶液の pH を 4.0~7.0 まで変化させて、銅除去に及ぼす pH の影響を調べた結果を図 1 に示した。本実験では、pH4.0~6.0 まで pH の上昇に伴って銅イオン濃度が低下し、pH6~7 では、若干銅イオン濃度が上昇に転じた。

この実験の考察はこの実験データのみでは昨年度と同様かなり難しい⁴⁾。銅イオンと類似した正電荷を持つ金属イオンを微生物で処理する場合、低 pH 領域では菌体表面が正電荷を持ち、pH の上昇とともに菌体表面の電荷が低下し、等電点を超えると菌体表面が陰電荷を持つため、pH の上昇とともに溶液中の金属イオン濃度は低下する傾向がある⁵⁾。この論文でのデータはグラム陽性細菌の *Arthrobacter nicotianae* を使用したカドミウムの除去の場合、pH 1-5 の実験データであり、金属イオンの濃度低下が pH3.5~4.0 で急速に起こっており、この点はグラム陽性細菌で多く認めた共通点である。また、本研究で濃度上

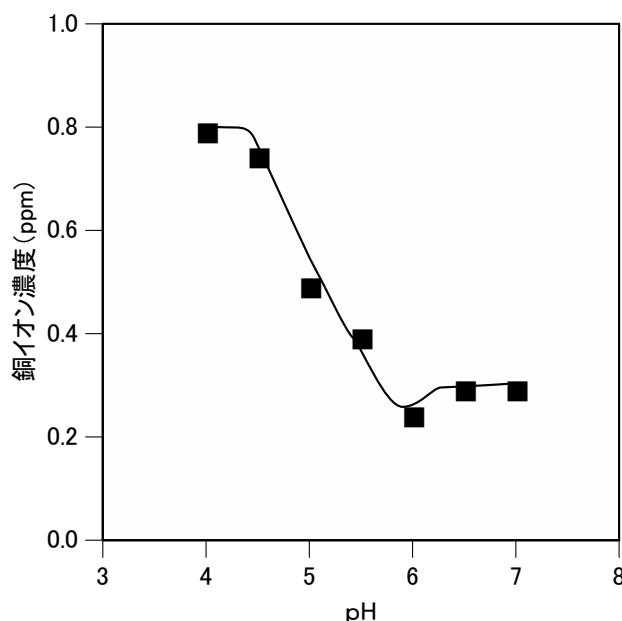


図 1 ビフィズス菌液処理における銅イオン濃度に及ぼす pH の影響

昇が認められた pH6 以上では検討していない。グラム陽性細菌の *A. nicotianae* を用いてウランの除去を pH3~8 で行った場合、pH3~5 では、ウラン濃度の減少が認められたが、pH5 以上ではウラン濃度の若干の増加が認められた⁶⁾。このことは、溶液中に含まれるウランのイオンの化学種の錯生成係数の計算値との比較から溶液中でウランイオンが水酸化物イオンとアニオン性の錯体を作るからであると考察している。本研究では、pH6.5 以上で銅イオンがアニオン性の錯体を作れば本データを説明できる根拠になりうる。

3.1.2 ビフィズス菌の体積の影響

ビフィズス菌液の体積を 0.1~2.0 mL に変化させて銅除去に及ぼすビフィズスの体積の影響を調べた。図 2 に示したように体積の増加とともに銅イオン濃度は低下し、1mL 以上では完全に銅イオンを除去することができた。

本実験からビフィズス菌の銅イオン除去能力は高く、適量の菌体を使用することにより、銅イオンを完全に除去することがわかった。

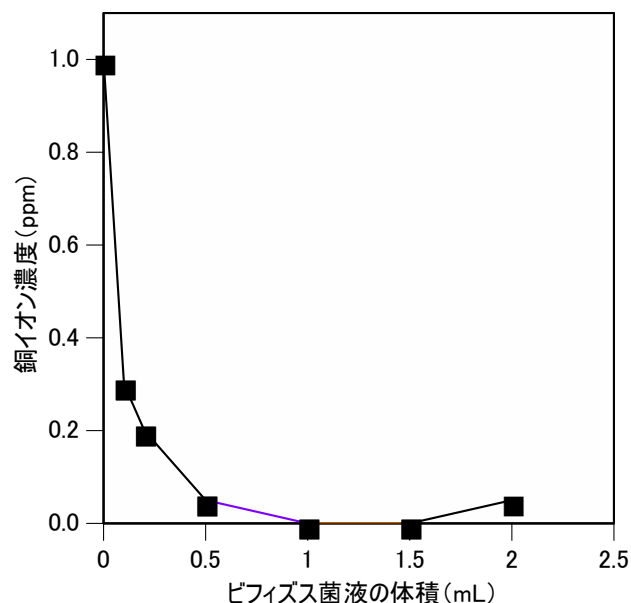


図 2 ビフィズス菌処理における銅イオン濃度に及ぼすビフィズス菌の体積の影響

3.1.3 溶液の温度の影響

溶液の温度を 5~40℃の範囲で変化させた場合

の温度の影響について検討した結果を図 3 に示した。図 3 から、温度の低下とともに銅イオンの濃度が減少することがわかった。

図 3 から、ビフィズス菌液を用いて銅イオンを処理した場合、温度の上昇とともに同イオン濃度が上昇した。5℃ではビフィズス菌処理液の同イオン濃度が最も低い、40℃では最も高い。このことは、ビフィズス菌液と銅イオンの結合が発熱反応であることを示している。この事実は、昨年度の乳酸菌と銅イオンの結合が吸熱反応であったのを始め、放線菌の *S. viridochromogenes* や藻類の *Chlorella regularis* の固定化菌体を用いたウランの除去においても吸熱反応であった⁷⁾ ものとも異なり興味深い結果である。

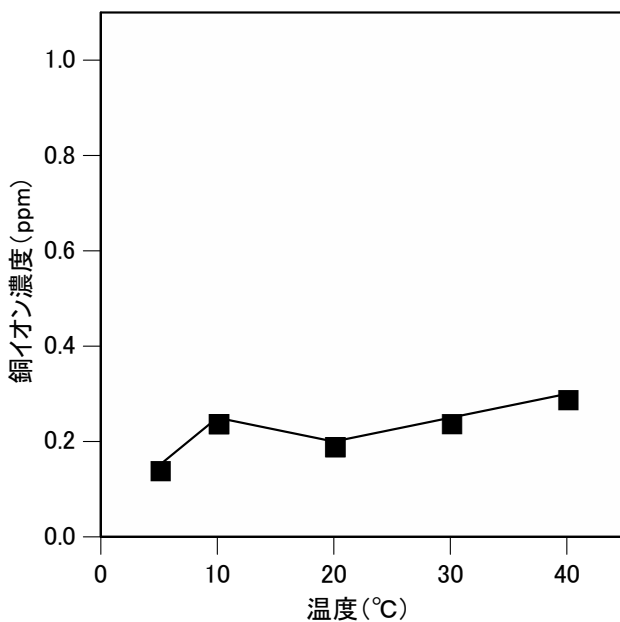


図 3 ビフィズス菌を用いた銅イオン濃度に及ぼす溶液温度の影響

この結果を縦軸に吸着反応の平衡定数の自然対数 $\ln K$ 横軸に絶対温度 $T(K)$ の対数を取ると図 4 が得られる。

Van't Hoff プロットは、

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}$$

(ΔH はエンタルピー変化、 ΔS はエントロピー変化、 R は気体定数) で表されるので、この直線の傾きと縦軸の切片から、エンタルピー変化は、

-18 kJ/mol、エントロピー変化は 51 J/(K·mol) と算出される。

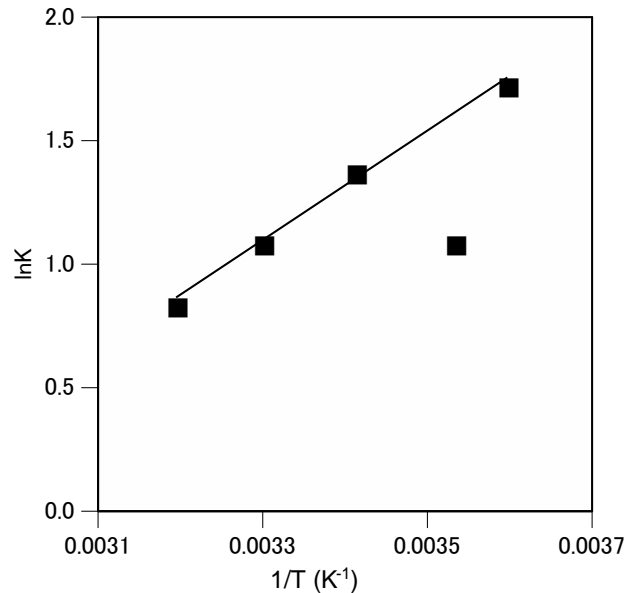


図 4 ビフィズス菌液処理における銅イオン吸着平衡に及ぼす温度の影響に対する Van't Hoff プロット

3.2 ドライイーストを用いた銅除去

3.2.1 溶液の pH の影響

ドライイーストを用いた銅イオン濃度に及ぼす pH の影響

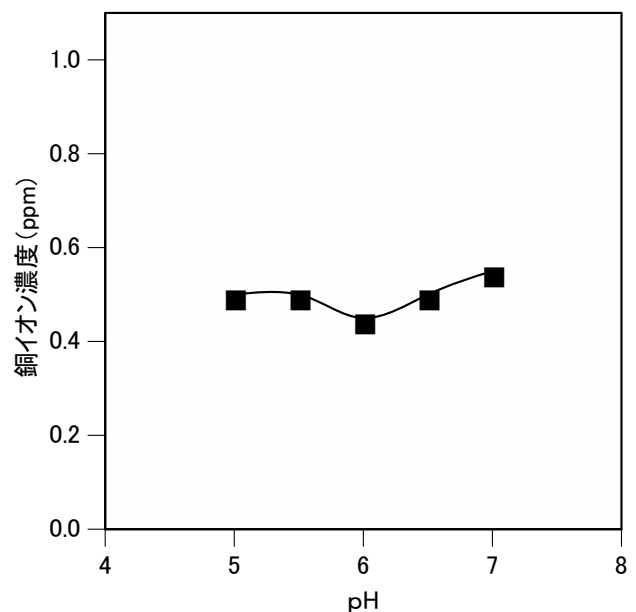


図 5 ドライイースト処理における銅イオン濃度に及ぼす pH の影響

す溶液 pH の影響を図 5 に示した。本実験では、pH5~7 の範囲では銅イオンの濃度変化は約 50% で銅イオン除去に及ぼす pH の影響はこの範囲では小さかった。本実験では行われていないが、さらに低い pH における実験を行えば、pH 低下による残留銅イオン濃度の上昇が確認されると思われる。pH6 以上での若干の銅イオンの上昇は、銅イオンに水酸化物が配位したアニオン性錯体の形成による可能性もあると考えられる。

3.2.2 ドライイーストの質量の影響

ドライイーストの質量を 0.02~0.14 g の範囲で変化させて、銅イオン濃度に及ぼす影響を検討した結果を図 6 に示した。図 5 から、この範囲のドライイーストの体積では銅イオンの濃度変化は約 50% でドライイースト量による変化は認められなかった。

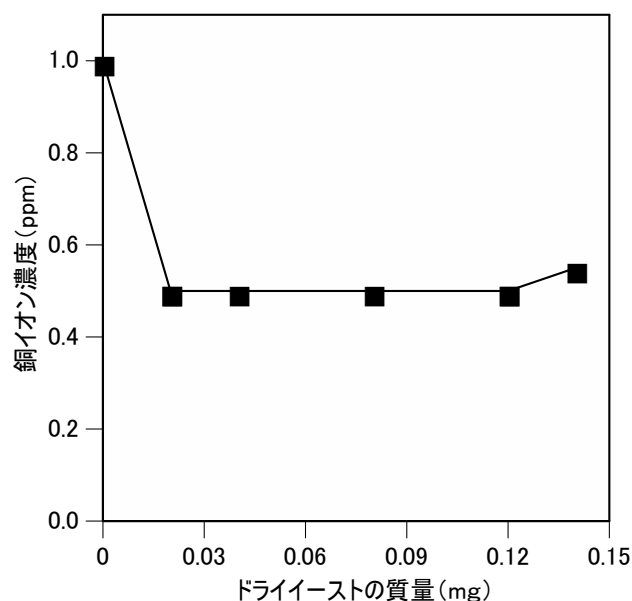


図 6 銅イオン濃度に及ぼすドライイーストの質量の影響

3.2.3 溶液の温度の影響

ドライイーストを使用した銅イオン濃度に及ぼす温度の影響について検討し結果を図 7 に示した。20~30℃において、若干の濃度上昇が認められたが、この温度範囲で温度は溶液の銅イオン濃度にほとんど影響を与えなかった。

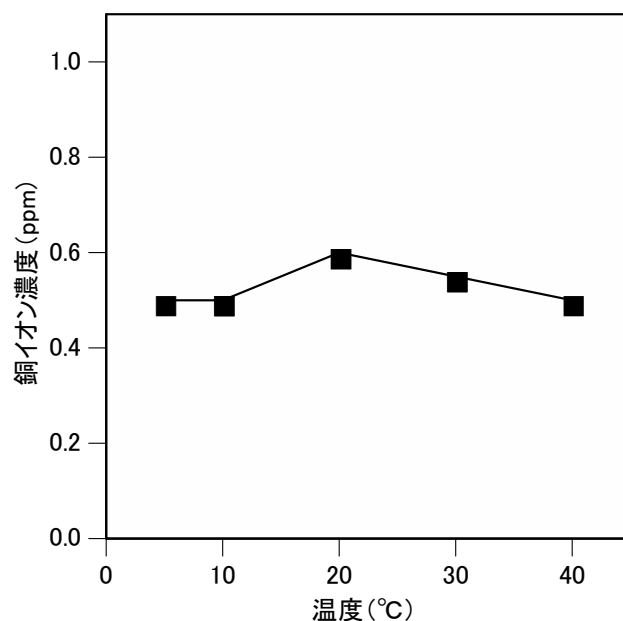


図 7 ドライイースト処理における銅イオン濃度に及ぼす溶液温度の影響

3.3 米麴の麴カビを用いた銅除去

3.3.1 溶液の pH の影響

銅溶液の pH を 4.0~6.5 まで変化させて、銅除去に及ぼす pH の影響を調べた結果を図 8 に示した。本実験では、pH の上昇とともに銅イオン濃度の低下が認められた。この結果は、本実験範囲内

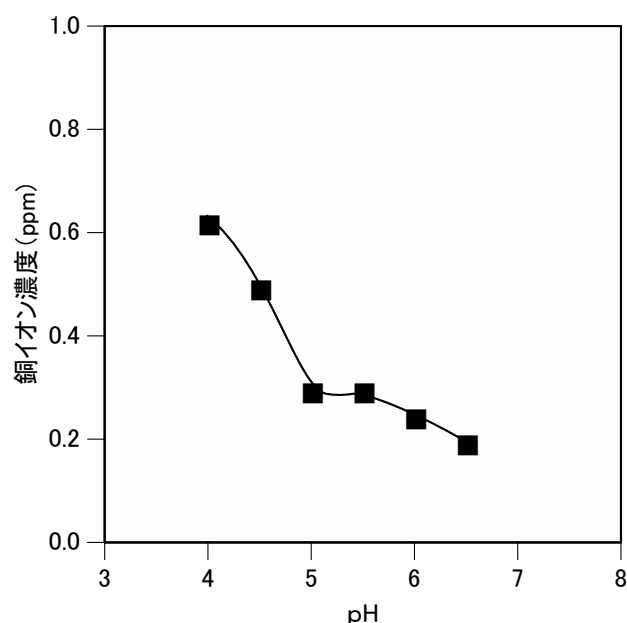


図 8 麴カビ処理における銅イオン濃度に及ぼす pH の影響

で pH の上昇、すなわち菌体の表面電荷の低下とともに、同イオン濃度が低下するということが *A.nicotianae* を用いたカドミウム濃度の低下と一致した⁵⁾。

3.3.2 麹カビの体積の影響

麹カビの重量を 0.01~0.3 mg に変化させて銅除去に及ぼす麹カビの体積の影響を調べた。図 9 に示したように体積が 0.01~0.1 低下で体積の低下とともに濃度の低下が認められたが、1~3mL では一定となった。

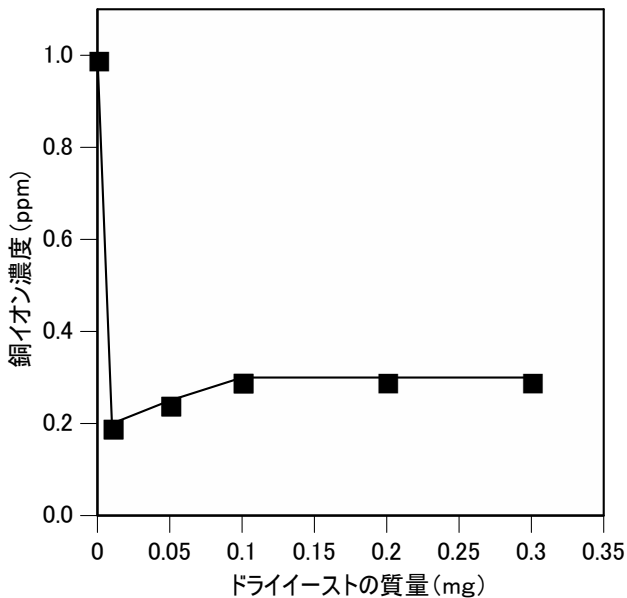


図 9 米麹処理における銅イオン濃度に及ぼす
米麹重量の影響

3.3.3 溶液の温度の影響

溶液の温度を 5~40℃の範囲で変化させた場合の温度の影響について検討した結果を図 10 に示した。麹カビを使用した場合、30℃で若干溶液濃度の低下が低かったもののほぼ温度の影響を受けず、一定の銅イオンの濃度であった。

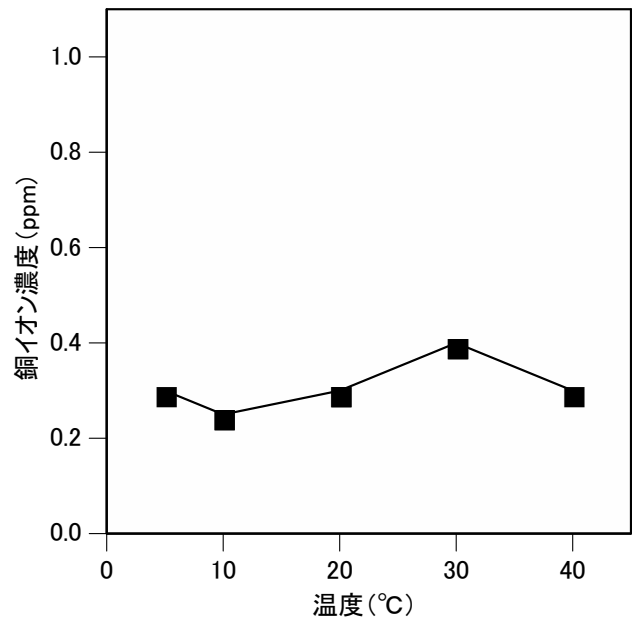


図 10 麹カビ処理における銅イオン濃度に及ぼす
溶液温度の影響

3.4 6種類の微生物を用いた銅除去の整理

ここまでは、中学生の整理したデータをもとに昨年度 3 種類、および今年度 3 種類の合計 6 種類の微生物ごとにそれぞれの処理結果を述べてきたが、各処理ごとに 6 種類の微生物を 2 枚の図にまとめてきて、各処理における微生物の違いを比較してみた。

3.4.1 溶液の pH の影響

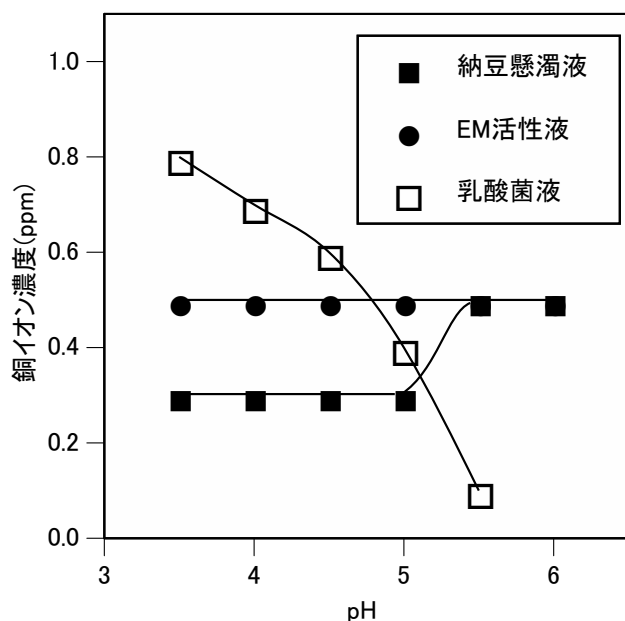
乳酸菌液および米麹処理処理における銅イオン除去に及ぼす pH の影響は図 11 A、B に示したように pH の上昇とともに銅イオン濃度が下降しており、微生物の表面電荷の減少（陰電荷の増加）に伴って銅イオンとの結合が増加するため、銅イオン濃度が低下したと考えられる。EM 活性液では図 11 A に示したように銅イオンの濃度は本実験条件の範囲で pH の影響をほとんど受けなかった。納豆懸濁液の場合も図 11 A に示したように pH3.5~5.0 の範囲ではほとんど pH の影響を受けなかったが、pH5.5 以上では水酸化物イオンとの競合により銅イオンと微生物の結合量が低下したため同イオン濃度が増加したものと

思われる。これら2つの微生物の処理をさらに低 pH で行った場合は、銅イオン濃度の増加が認められるのではないかと考える。ドライイーストおよびビフィズス菌の場合は、図1 1B に示したように pH4~6 で pH の上昇による菌体表面電荷の減少とともに銅イオン濃度が減少し、pH6 以上では水酸化物イオンの影響で上昇に転じたと考え

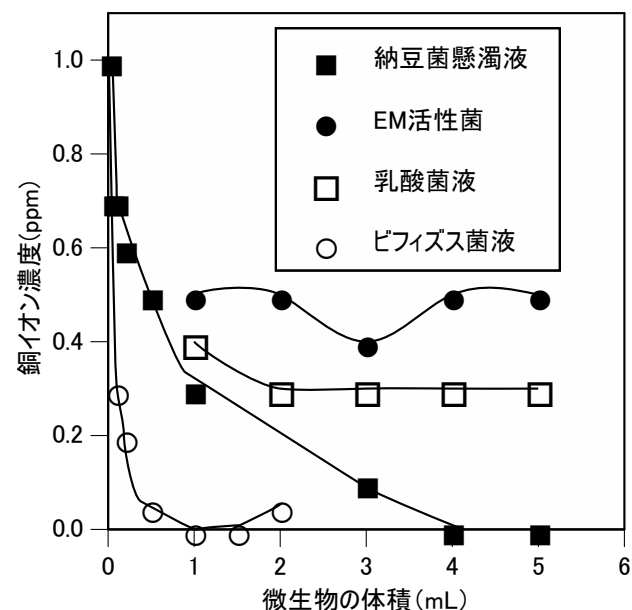
えられる。

3.4.2 微生物の量の影響

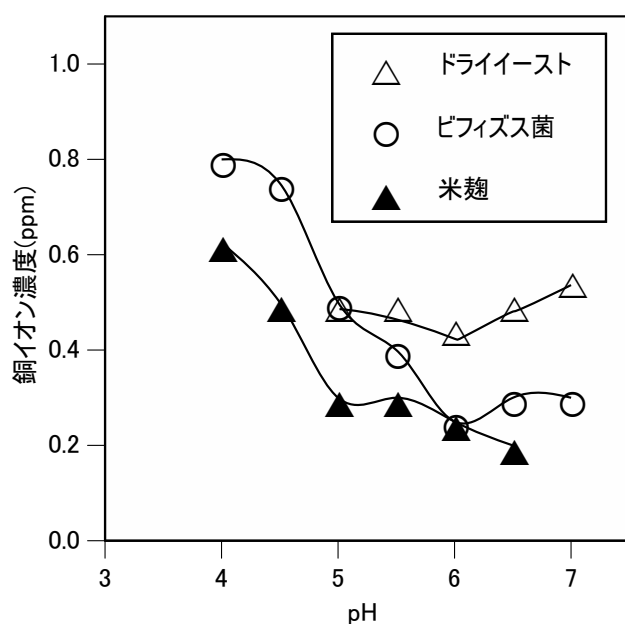
各微生物の部分でも触れたが、図1 2A に示したように、納豆菌懸濁液およびビフィズス菌による処理では体積の増加とともに銅イオン濃度



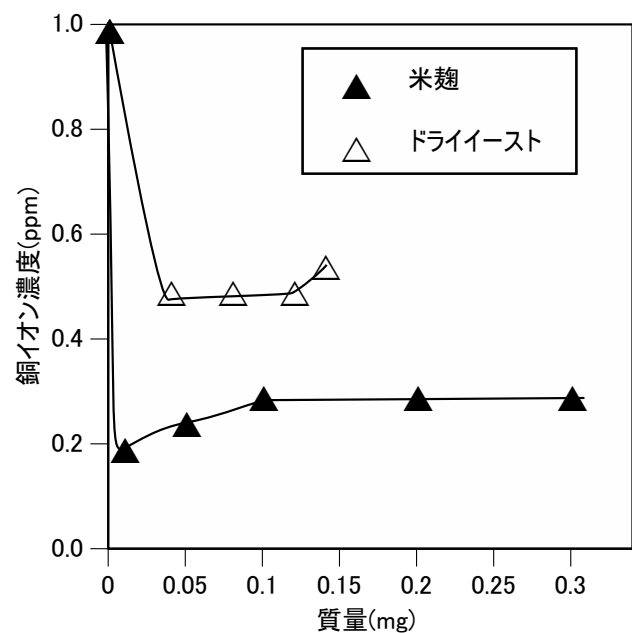
A



A



B



B

図1 1 微生物処理における銅イオン濃度に及ぼす pH の影響

図1 2 微生物処理における銅イオン濃度に及ぼす 微生物液の重量の影響

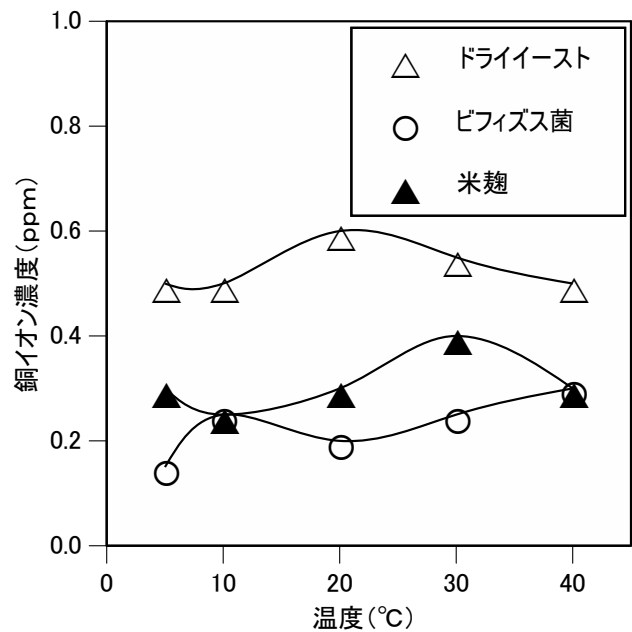
が低下し、納豆菌では4 mL以上の処理で、また、ビフィズス菌によって1～1.5mL で完全な除去が可能であった。乳酸菌液およびEM 活性菌でも体積増加による銅イオンの低下が認められたが、体積増加による影響は少なかった。

米麴とドライイーストにおいては質量変化による影響を調べたが、図1 2B に示したように米麴においてはビフィズス菌、納豆懸濁液に次ぐ効果が求められたが、ドライイーストについてはEM 活性菌と同程度の効果であった。

3.4.3 溶液の温度の影響

乳酸菌液処理における銅イオン濃度に及ぼす温度の影響は図1 3A に示したように、温度の上昇とともに銅イオン濃度が低下し、このことは、乳酸菌と同イオンの結合が吸熱反応であることを示している。EM 活性液による処理ではほとんど温度の影響は認められなかった。納豆懸濁液でも温度の影響は小さかったが本実験は唯一納豆懸濁液の銅イオンがEM 活性液処理よりも高く、他の実験におけるデータと異なっているので、このあたりはデータの再検討が必要と考えられる。

ドライイースト、ビフィズス菌、米麴処理における銅イオン濃度に及ぼす温度の影響は図13B



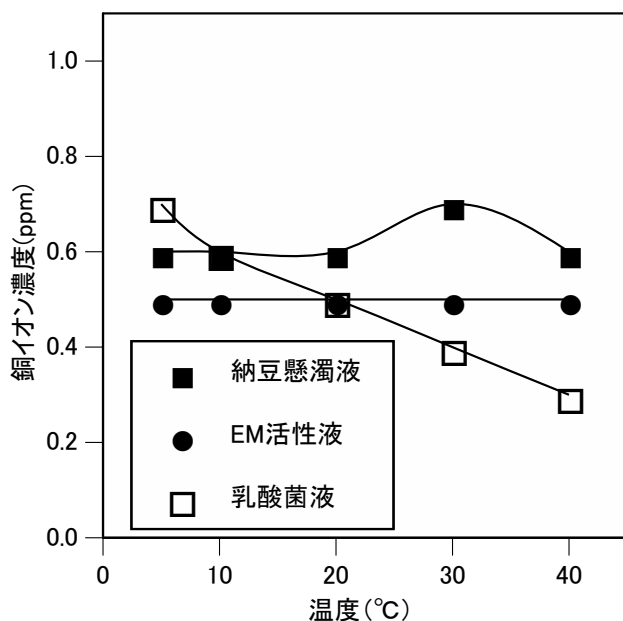
B

図1 3 微生物処理における銅イオン濃度に及ぼす温度の影響

に示したように小さかったが、ビフィズス菌処理において10°Cを除き、温度とともに銅イオン濃度が増加したことから、本反応は発熱反応と考えられ、文献や乳酸菌液処理の結果と異なることから興味深い結果であると考えられる。

4. 結言

昨年度、納豆懸濁液、EM 活性液、乳酸菌液の3種類、本年度、ドライイースト、米麴、ビフィズス菌の3種類、合計6種類の微生物を用いて微生物処理液の体積または質量、溶液のpH、温度の3つの条件で中学生達が理科教員の指導のもと銅イオンの濃度に及ぼす影響を検討し研究を行った。これらの研究から、納豆処理液およびビフィズス菌の体積を増加させることにより銅イオンを完全に除去することができたこと、pH 増加により乳酸菌液では pH5.5 でまた米麴では 6.5 で銅イオンを最もよく除去できること、乳酸菌処理では温度の上昇により銅イオンを低下させることができ、この反応は吸熱反応であり



A

そのエンタルピー変化は 33 kJ/mol、エントロピー変化は 113 (J/K・mol)であることなどが明らかになった。また、ビフィズス菌の場合は温度の低下により銅イオン濃度を低下させることができ、この反応は発熱反応でありそのエンタルピー変化は、－18 kJ/mol、エントロピー変化は 51 J/(K・mol) であることなどが推算された。これらの研究の過程で筆者は電子メールによる相談を行って研究をサポートしてきたが、一昨年の香川県の科学研究発表会の前日に中学校を訪問し、生徒たちの発表練習に立ち会う機会を持つことができた。本研究は理科教員の指導のもとで行われていることはもちろんであるが、中学生の継続的な研究が基本にあり、そのような前提で、大学教員が協力するというのは、極めて有益に思われる。

本研究は 2016 年の香川県の科学研究発表会で優秀と認められ、さらに、日本学生科学賞入選 3 等を受賞した。本研究は平成 2017 年度も継続され、香川県の科学研究発表会で最優秀と認められ、四国大会にも参加した。筆者も微力ながら電子メール等での相談等を行ってきた。

謝辞

本来ならば実験を行なった中学生の名前を著者に加えたいと考えていたが、本稿では協議の上、割愛させていただいた。本実験を行ってきたのは 3 名の中学生達であり、彼らの真摯な継続的な努力に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 平成 22 年度指定スーパーサイエンスハイスクール研究開発実施報告書 第 4 年次、平成 26 年 3 月、青森県立八戸北高等学校、30、38、74 頁
- 2) 平成 22 年度指定スーパーサイエンスハイスクール研究開発実施報告書 第 5 年次、平成 27 年 3 月、青森県立八戸北高等学校、50、63、65、111 頁
- 3) http://www.hachinohekita-h.asn.ed.jp/ssh/leaflet/ssh_leaflet.pdf
- 4) 鶴田猛彦、松村健司、下川恭徳、微生物を用いた水溶液からの銅の除去－中学校の科学クラブの指導を通して、八戸工業大学地域産業総合研究所紀要、16, 13-20 (2017).
- 5) T. Tsuruta, D. Umenai, T. Hatano, T. Hirajima, K. Sasaki, Screening Micro-organisms for Cadmium Absorption from Aqueous Solution and Cadmium Absorption Properties of *Arthrobacter nicotianae*, Biosci, Biotechnol. Biochem., 78, 1791-1796 (2014).
- 6) T. Tsuruta, Removal and Recovery of Uranyl Ion Using Various Microorganisms, Journal of Bioscience and Bioengineering, 94, 23-28 (2002).
- 7) A. Nakajima, T. Horikoshi, T. sakaguchi, Recovery of uranium by immobilized microorganisms, Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 16, 88-91 (1982).

要 旨

香川県高松市立一宮中学校から中学校の科学部でできる研究テーマを紹介して欲しいという依頼があり、微生物を用いた水溶液からの銅の除去を紹介した。1 年間の中学生 3 名の研究で、ビフィズス菌、ドライイースト、コメ麴を利用して微生物量、pH、温度などの条件で検討を行った結果、ビフィズス菌およびドライイーストでは pH 6.0、米麴では pH 6.5 において最も高い除去能が認められた。本研究は、平成 29 年度も香川県で最優秀賞、および四国大会に出場した。研究指導は本年度は電子メールおよび電話を通して行った。

キーワード： 中学生，ビフィズス菌，ドライ酵母，米麴，日本中学生科学賞