

キチン質バイオソルベントの形態制御と金属吸着能

はじめに

近年、水溶液中の重金属の除去、あるいは回収のために微生物起源の新たな吸着剤(バイオソルベント)の開発が注目されている。安価であること、吸着能や選択性の観点から期待できることが主要因である。リゾプス菌は、その細胞壁を構成するキチン質、すなわちキチン、キトサンに由来するアミノ基を含み、その遊離基が金属イオンに対して高いキレート活性を示すことから有望な菌の1つと考えられる。その金属吸着に関するいくつかの報告例もあるが、金属吸着能をキチン質の観点から評価した例は少ない。

一方、培養条件は吸着能に大きな影響を与えるが、この点についてもそれ程検討されていない。培養条件は、同時に菌の生育形態に影響を与え、得られたバイオソルベントの利用形状にも大きく左右する。例えば、ペレット形の場合カラムに詰めてそのまま使用できる。パルプ状などのその他の形状の場合粉碎して固定化して利用する方法も報告されている。またパルプ状の場合既報のようにシート化して利用することも可能である(特開平7-97721)。

当所では、リゾプス菌(*Rhizopus acetoinus* HUT1219)の菌体を2% NaOH 中で120℃、1時間オートクレーブ処理して得られるキチン質リッチな不溶物(AIMと略す)の機能性素材としての開発を行ってきた。本稿では機能性の1つとして金属吸着能を取りあげ、培養因子の吸着能に及ぼす影響をキチン質の観点から検討し、AIMの金属バイオソルベントとしての評価を行った。

菌の生育形態に影響を及ぼす培養因子 - pHと接種量

表 1 培養pHと接種量による形態変化

pH	接種量 (spores/ml)	生育形態
2.6	1×10^4	ペレットとクランプの混在
	2×10^6	ペレット
4.5	1×10^4	ペレットとクランプの混在
	2×10^6	パルプ
5.8	1×10^4	クランプ
	2×10^6	パルプ

2つの培養因子 - pHと接種量を組み合わせた種々の条件で培養するとペレット状、クランプ状、パルプ状の異なる形態の菌体を得られた(表1)。すなわち、本菌の生育形態はこれら因子で比較的容易に制御できることが分かった。傾向として、pHが低いと菌はペレット状に生育し、高くなるとクランプ状もしくはパルプ状に移行した。また接種量が増加するとパルプ状に変化することが分かった。

このうちペレット状とパルプ状の菌体について、各形状を壊さずに前述の条件でアルカリ処理し各々の形状を保ったままのAIMを調製し、成分分析および銅イオンの吸着実験に使用した。

AIMの主要構成糖の成分組成と銅イオン吸着能

予備実験の結果、AIMの主要な構成糖は、グルコサミンとグルコースであることが分かった。その他の糖成分としては、ガラクトース、フコース、ウロン酸が微量検出された。タンパク質はほとんど含まれていなかった。金属イオンの吸着能は、銅イオンをモデルとして調べた。

表 2 ペレット状とパルプ状AIMの銅吸着能と主要構成糖の成分組成

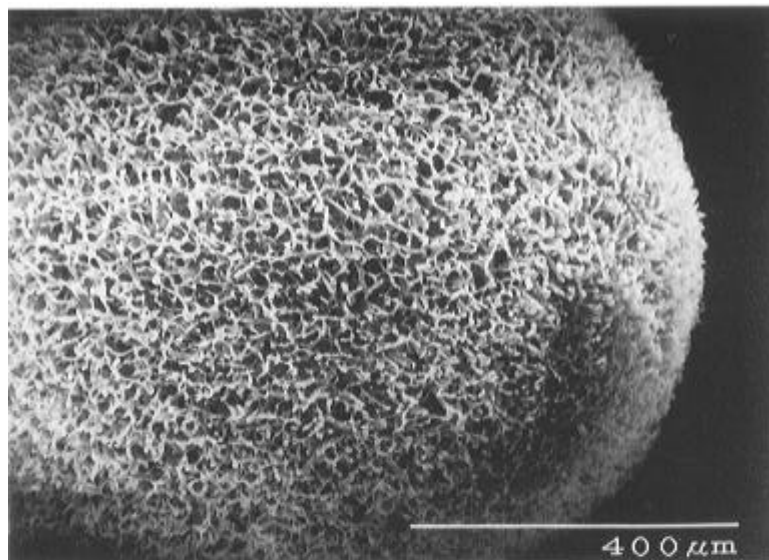
pH	接種量 (spores/ml)	生育形態	銅吸着能 ^{a)} (mg/g)	GlcN - chm ^{b)} content (%)	GlcN - cht ^{c)} / GlcN - chm (%)	Glc content (%)
2.6	1×10^4	ペレット	50.3	52.0	9.2	22.5
	2×10^6	ペレット	ND ^{d)}	52.7	5.8	23.8
4.5	1×10^4	ペレット	89.2	59.3	44.1	4.2

	2×10^6	パルプ	76.7	47.1	33.6	25.4
5.8	2×10^6	パルプ	83.5	49.5	28.0	12.2

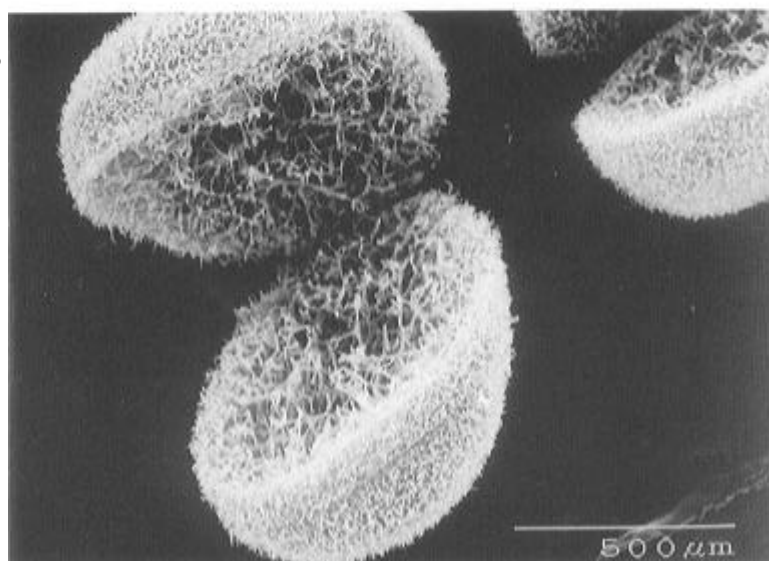
- a) mgCu/dryAIM
- b) AIM中のキチン質由来グルコサミン含有率
- c) キチン質中のキトサン割合
- d) not determined

表 2 に異なる培養条件で得られた菌体の AIM について、その主要構成糖成分の組成、キチン質中のキトサンの割合および銅イオン吸着能を調べた結果を示した。pH 4.5、接種量 1×10^4 spores/ml の条件で得られた菌体由来のペレット状 AIM が最も高い吸着能 (89.2 mgCu/g) を示した。報告されている他のバイオソルベントあるいは甲殻類、微生物起源のキトサンの粉末物や膨潤多孔性ビーズ成形品について銅イオンの吸着能 (8-100 mgCu/g) が報告されている。ここで得られたペレット状 AIM は、これらに優るとも劣らない吸着能を示している。キトサンあるいはその成形物の煩雑な調製法や経済性を考えると、ここで得られたペレット状 AIM はそのままカラムリアクターとして利用でき、実用性が高いものと思われる。このペレット状 AIM は、グルコースをほとんど含まず、キチン質リッチであることが表 2 より明らかである。また、キチン質にしろキトサンの割合が他の AIM より大きかった。このことより、このペレット状 AIM はグルコサミンに由来する活性アミノ基が多く、そのことが高い吸着能の要因であると推定された。写真 1 にその構造を示した。表面が多孔性で、内部が中空になっており、高い吸着能の発現に好適であることが分かる。同じペレット形でも (pH 2.6、接種量 1×10^4 spores/ml あるいは 2×10^6 spores/ml) の条件で得られた AIM はかなりのグルコースを含み、キチン質の大部分がキチンからなり活性アミノ基が少量であった。その吸着能は、50 mgCu/g と低いこともこの結果を支持している。同じ形状の AIM でも吸着能にかなりの差があることは、培養因子の重要性を示唆している。

一方、培養条件 (接種量 2×10^4 spores/ml で pH 4.5 および 5.8) で得られたパルプ状 AIM では、約 80 mgCu/g の吸着能が得られた。これも十分に高い吸着能である。グルコース成分はかなりの多いが、キチン質中のキトサンの割合もかなり高かった。パルプ状 AIM については、前述のように普通の製紙技術で容易に、比較的強度のあるシートに成形できる点が特徴である。シート状吸着剤の報告例はまだないが、特殊な用途への応用が期待できる。



A : 表面部分



B : 内部 (断面)

写真 1 ペレット状の AIM の構造 (SEM 写真)

今後の課題

上述したようにキチン質 AIM の吸着能は、培養因子によって左右されるキチン質成分特にキトサン由来の活性アミノ基の含有率によって影響された。培養因子の検討は吸着能の向上のみならず、形態制御の面でも重要である。現在、より機能性に富むキチン質素材開発のためにペレット状 AIM の大きさを制御し、同時にキトサン含有率を高める因子の検索および検討を行っている。また、キチン質 AIM 中のグルコース成分とグルコサミン成分との結合形態は不明である。単なる複合体であるのか、それとも共有結合の形をとっているのかについては今後の興味深い検討課題である。

(生物材料研究室)