

FITEQL による微生物の表面電荷解析

Surface charge analysis of Bacteria by FITEQL

草原 太樹[1], 河野 元治[2]

Taiki Kusahara[1], Motoharu Kawano[2]

[1] 鹿児島大・農, [2] 鹿大・農・生物資源

[1] Kagoshima Univ, [2] Fac. Agri., Kagoshima Univ

微生物の細胞壁表面には官能基が存在し、解離した官能基に種々の金属イオンが吸着することにより、種々の鉱物が生成されることが知られている。また鉱山排水や工場排水などに含まれるヒ素や鉛などの環境汚染元素は、微生物に吸着されることによって自然浄化される。このような機能をもつ微生物は土壌や地球表層全域でのグローバルな元素循環に多大な影響を及ぼしており、その影響を定量的に評価することはきわめて重要である。そこで今回は、*B. subtilis* を取り上げ、表面官能基の酸/塩基解離定数および電荷サイト数を平衡定数最適化プログラム FITEQL を用いて解析した結果を報告する。

試料は理化学研究所から取り寄せた *B. subtilis* を用いた。微生物は振とう培養後、遠心分離し集め、洗浄液 pH が一定となるまで蒸留水洗浄を繰り返した。洗浄後、試料は凍結乾燥して実験用として保存した。微生物の表面電荷は、酸/塩基滴定法で得られたデータの FITEQL 計算により解析した。酸/塩基滴定は、微生物 0.1g を 0.1M NaNO₃ 100ml 溶液に添加し、0.1M HNO₃ および 0.1M NaOH 滴定溶液を用いて行った。滴定ステップは 0.1ml/15min とし、窒素雰囲気下でスターラー攪拌を行い、pH2~11 程度までの領域の pH 変化を測定した。FITEQL 計算は、カルボキシル基、リン酸基、水酸基の酸/塩基解離定数とサイト数の最適化を行った。次に、実際に金属イオンが吸着することを確認するために吸着実験を行った。吸着実験は、0.2mM、100ml の種々の金属イオン溶液に 0.1g の微生物を添加し、1M HNO₃ および 1M NaOH 滴定溶液を用いて行った。反応時間は 15min とし、滴定前後のイオン濃度の変化から吸着量を求めた。

実験の結果、カルボキシル基の解離定数 : $\log K^+ = 1.35$, $\log K^- = -4.13$, total site = $6.62e-4 \text{ mol/g}$, リン酸基の解離定数 : $\log K^+ = 5.42$, $\log K^- = -7.67$, total site = $2.77e-4 \text{ mol/g}$, 水酸基の解離定数 : $\log K^+ = 3.18$, $\log K^- = -9.40$, total site = $6.04e-5 \text{ mol/g}$ が得られた。これらの結果から微生物の表面官能基はきわめて大きな陽イオン吸着サイトとして機能することが示された。