[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.66, No.12, pp.1765~1770, 1992]

*Aspergillus oryzae*による金メッキ廃液からの金の回収

松本 健, 西村行正

(東京理科大学理工学部)

平成4年5月12日受理

Recovery by *Aspergillus oryzae* of Gold from Waste Water from Gold Plating

Ken MATSUMOTO and Yukimasa NISHIMURA

Department of Applied Biological Science, Science University of Tokyo,
Noda, Chiba 278

Strain SUT 30218 was selected from 60 strains of mold as the organism that most efficiently removed gold from gold-plating baths with a nutrient. The nutrient was composed of yeast extract, malt extract, peptone and glucose. The strains were cultured with shaking in a test tube for 3 to 4 days at 27°C before being screened. The selected strain was identified as *Aspergillus oryzae* based on its morphological characteristics. The strain removed 87 to 93% of gold from yeast-malt medium (pH 6.0) containing waste water from gold plating (gold, 71 ppm) during shaking culture in a Sakaguchi flask for 5 days at 27°C. Gold could be obtained from the gold-laden cells of *Aspergillus oryzae* by washing of the cells with a mixture of thiourea (0.1M) and oxidizing agents (0.02 M).

(Received May 12, 1992)

緒 言

従来、金メッキ液または金含有メッキ廃液より金を回収するには、金属粉末を加えて金を還元する方法や、イオン交換樹脂や活性炭を用いて吸着させる方法、あるいは電気分解による方法等が用いられてきた。

しかし、金属粉末による還元方法では、金濃度の低いものは過剰の金属粉末を加えて金を分離するため経済性に欠ける点や分離後の濾過液中に溶解している他の金属イオンを除去するための廃液処理が必要となる。イオン交換樹脂や活性炭を用いる方法はそれらが高価であることと、焼成するのに多くの時間と熱エネルギーを必要とする等の問題がある。また、電気分解による方法では電着した金を電極より取り出すのに別の数工程をかけなければならない欠点がある。

一方、生物学的処理法としてこれまで、微生物や海藻を利用して溶液中から金を回収することが報告されてい

る。クロレラ^(1,2)、海産褐藻類^(2,3)や糸状菌^(4,5)の菌体による金の吸着回収である。また、金を含んだ培地中で酵母を培養すると金を回収することや⁽⁶⁾、金を含んだ溶液に細菌を作用させると金を沈澱させる現象も認められている⁽⁷⁾。

本報では、糸状菌による金含有メッキ廃液から金を除去し、回収する方法を検討した。その結果、金を含んだ培地中で培養すると効率よく金を除去する菌株を見出したので、この菌株を用いた金メッキ廃液からの金の除去および回収について報告する。

実 験 方 法

1. 供試菌株 糸状菌の保存菌株 49 株および土壌からの分離株 11 株を使用した (Table I)。

2. 金除去試験の培地およびメッキ液試料 Yeast Malt 培地 (酵母エキス 0.3%, 麦芽エキス 0.3%, ペプトン 0.5%, グルコース 1.0%), Sabouraud Dextrose

培地 (ペプトン 1.0%, グルコース 4.0%), Emerson YpSs 培地 (可溶性でんぶん 1.5%, 酵母エキス 0.4%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%) および Czapek Dox 培地 (グルコース 3.0%, $NaNO_3$ 0.3%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, KCl 0.05%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001%) の各成分がそれぞれの規定された濃度になるように, 金メッキ廃液もしくは, 金 250 ppm になるように希釈した金メッキ液に, 培地成分を溶かして使用した. 培地の pH は初発 pH の選択実験以外の場合はいずれの場合も 6.0 とした. 金メッキ液はテンベレックス 401 電解金メッキ液 (Au 6,000~10,000 ppm, pH 6.0~7.5) を, 金メッキ廃液は次の組成のものを使用した; Au 71 ppm, Cu 53 ppm, Ni 1.9 ppm, Co 1.2 ppm, Mg 5.2 ppm, $Fe > 0.1$ ppm, $Cr > 0.1$ ppm, $Pb > 0.1$ ppm, pH 6.5. おおのこの溶液の金はシアン化金 (I) カリウム ($K[Au(CN)_2]$) および一部シアン化金 (I) イオン ($Au(CN)_2^-$) として存在する.

3. 金除去試験 (1) 菌株の選択時の培養法: 希釈金メッキ液で作成した Yeast Malt 培地 10 ml の入った 24 mm 径試験管を使用して, 市販のポテトデキストロース寒天培地 (日水製薬製) の斜面培養から直接孢子 (分生子) を接種して, 27°C, 240 rpm で 3~4 日間往復振盪培養を行った.

(2) 金除去条件の検討: 培地の選択は金メッキ廃液で作成した上記 4 種の培地 50 ml の入った 500 ml 容坂口フラスコを使用し, 初発 pH の選択は金メッキ廃液で作成した Yeast Malt 培地 (pH 3~8) 50 ml の入った 500 ml 容坂口フラスコを使用し, (1) と同様に孢子を接種して, 27°C, 120 rpm で 5 日間往復振盪培養を行った.

(3) 金除去の経時変化: 金メッキ廃液で作成した Yeast Malt 培地 50 ml の入った 500 ml 容坂口フラスコを使用し (1) と同様に孢子を接種して, 27°C, 120 rpm で 6 日間往復振盪培養を行った. 3, 4, 5 日目に無菌的にサンプリングを行った.

4. 培養液の金の定量 培養液の金濃度は, メンブランフィルター (ニトロセルロース, 孔径 0.45 μm) を用いて濾過して得られた培養上清を適時希釈して分析用試料とした. 分析は誘導結合プラズマ発光分析器 (セイコー SPS 7000) を使用して行った. 金の除去率は孢子の接種を行わなかった培養液 (ブランク) との濃度差から算出した.

5. 菌体からの金の溶離回収 金メッキ廃液について培養後, 吸引濾過により集菌, 洗浄した菌体を, 0.1 M チオウレア (pH 2.0), 0.02 M 硫酸鉄 (III) アンモニウム ($NH_4Fe(SO_4)_2$) 含有 0.1 M チオウレア (pH 2.0), 0.02 M 塩化鉄 (III) ($FeCl_3$) 含有 0.1 M チオウレア (pH 2.0) もしくは 0.02 M 硫酸鉄 (III) ($Fe_2(SO_4)_3$) 含有 0.1 M チオウレア (pH 2.0) 100 ml に懸濁して 15 分間マグネティックスターで攪拌し, 溶離した金を定量した. これらの金の定量は 4. と同様に行った.

6. 土壌からの分離株の同定 ポテトデキストロース寒天培地の斜面培養から, 孢子を 0.05% Tween 80 含有滅菌生理食塩水に懸濁し, Czapek Dox 寒天培地の平板中心部に接種し, 倒置で 28°C, 7~10 日間静置培養して巨大集落を作成した. 巨大集落の観察, および光学顕微鏡による形態学的諸性質の観察を行った.

実験結果

1. 菌株の選択

菌株の選択の結果を Table I に示す. 希釈した金メッキ液からの金の除去率は 0~41% とかなりの幅があり, 生育の認められない菌株が 4 株あった.

Aspergillus oryzae と *Aspergillus flavus* が他の菌種菌株と比較して高い除去率を示したが, 土壌からの分離株のほうが保存菌株と比較して高い除去率を示した. なかでも SUT 30215, SUT 30216, SUT 30217, SUT 30218, および SUT 30219 株はとくに除去率が高かった.

Aspergillus 属以外では *Penicillium chrysogenum* IAM 7106 と *Trichoderma viride* ATCC 38717 の 2 株がやや高い除去率を示した.

培養液の最終 pH は 4.1~8.7 とかなりの幅があったが, 除去率との関係は認められなかった.

この結果, 最も除去率の高かった SUT 30218 株を選択して, 以後の実験に使用した.

2. 金除去条件の検討

培地の選択の結果を Fig. 1 に示す. 金メッキ廃液から調製した Yeast Malt 培地, Emerson YpSs 培地を用いたときに, それぞれ 87%, 80% の高い除去率を示した. それに対して, Czapek Dox 培地と Sabouraud Dextrose 培地を用いたときには肉眼的に見て生育が悪く, そのため除去率が低下したと考えられる.

次に初発 pH の選択の結果を Fig. 2 に示す. 除去率

Table I. Removal of Gold from Gold-plating Bath with a Nutrient by Strains Tested

	Organism	Strain No.	Gold removal (%)	Final medium pH
1	<i>Alternaria tenuis</i>	A H U 9628	1	
2	<i>Aspergillus flavus</i>	I A M 2044	28	7.5
3		I A M 2077	25	7.8
4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	I A M 2046	6	
5	<i>Aspergillus niger</i>	A H U 7105	10	
6		A H U 7294	5	
7		A H U 7362	13	
8	<i>Aspergillus oryzae</i>	A H U 7134	14	8.0
9		A H U 7158	5	8.0
10		I A M 2600	19	7.0
11		I A M 2610	29	4.8
12		I A M 2613	28	7.9
13		I A M 2621	31	7.5
14		I A M 2649	23	4.8
15		I A M 2663	6	8.5
16	<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>globosus</i>	I A M 2645	25	4.6
17	<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>magnasporus</i>	I A M 2714	9	5.3
18	<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>microsporus</i>	I A M 2749	34	5.7
19		I A M 2750	32	6.3
20	<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>pseudoflavus</i>	I A M 2956	25	7.6
21	<i>Aspergillus parasiticus</i>	A H U 7165	3	8.2
22	<i>Aspergillus pseudoflavus</i>	A H U 7168	21	7.8
23	<i>Aspergillus sojae</i>	I A M 2665	8	5.3
24		I A M 2677	16	5.1
25		I A M 2678	14	5.0
26		I A M 2703	17	4.9
27	<i>Aspergillus sojae</i> var. <i>gymnosardae</i>	I A M 2961	28	7.5
28	<i>Aspergillus tamaritii</i>	I A M 2014	12	5.1
29		A H U 7191	10	5.1
30	<i>Aspergillus terreus</i>	A H U 7370	8	
31		I A M 3004	4	7.3
32	<i>Aureobasidium pullulans</i>	I A M 5060	2	
33	<i>Chaetomium globosum</i>	I A M 8059	4	6.1
34	<i>Cladosporium herbarum</i>	I A M F 517	2	
35	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	I A M 5007	NG	
36	<i>Fusarium roseum</i>	I A M 5010	2	
37	<i>Monascus anka</i>	I A M 8001	NG	
38	<i>Mucor flavus</i>	I A M 6143	3	7.2
39	<i>Mucor javanicus</i>	I A M 6087	0	8.6
40	<i>Paecilomyces varioti</i>	I A M 12157	NG	
41	<i>Penicillium chrysogenum</i>	I F O 4626	6	
42		I A M 7106	17	4.1
43	<i>Penicillium citrinum</i>	I F O 6026	8	8.7
44	<i>Penicillium cyclopium</i>	I F O 7225	7	5.1
45	<i>Penicillium notatum</i>	I A M 7168	7	5.0
46	<i>Penicillium steckii</i>	I F O 6028	11	8.6
47	<i>Rhizomucor pusillus</i>	I F O 4578	0	8.7
48	<i>Rhizopus nigricans</i>	I A M 6021	NG	
49	<i>Trichoderma viride</i>	A T C C 38717	15	
50	Isolates	S U T 30102	33	7.5
51		S U T 30104	32	7.1
52		S U T 30105	31	7.7
53		S U T 30106	19	8.5
54		S U T 30108	25	7.6
55		S U T 30215	40	5.4
56		S U T 30216	35	6.8
57		S U T 30217	37	5.4
58		S U T 30218	41	7.9
59		S U T 30219	39	7.4
60		S U T 30302	10	5.3

Organisms were cultivated in a test tube with 10 ml of Yeast Malt medium (pH 6.0) containing gold-plating bath (gold 250 ppm) on a reciprocal shaker for 3~4 days at 27°C. NG, No growth.

Fig. 1. Effects of Media on the Removal of Gold by Strain SUT 30218. The strain was cultivated in a Sakaguchi flask with 50 ml of various culture media (pH 6.0) containing gold-plating waste water (gold 71 ppm) on a reciprocal shaker for 5 days at 27°C. YM, Yeast Malt medium; CD, Czapek Dox medium; SD, Sabouraud Dextrose medium; EY, Emerson YpSs medium.

Fig. 2. Effects of Initial pH on the Removal of Gold by Strain SUT 30218. The strain was cultivated in a Sakaguchi flask with 50 ml of Yeast Malt medium (pH 3.0~8.0) containing gold-plating waste water (gold 71 ppm) on a reciprocal shaker for 5 days at 27°C.

は pH 6 で最高の 93% を示した。初発 pH を 5 以下にすると、pH が低下するにつれて生育が悪くなり、そのため除去率が低下したと考えられる。

これらの結果から、培養液として初発 pH を 6.0 にした Yeast Malt 培地を選択し、金除去についての経時変化の実験に使用した。

Fig. 3. Kinetics of the Removal of Gold by Strain SUT 30218. The strain was cultivated in a Sakaguchi flask with 50 ml of Yeast Malt medium (pH 6.0) containing gold-plating waste water (gold 71 ppm) on a reciprocal shaker for 5 days at 27°C.

3. 金除去の経時変化

2. で示された金の除去についての最適な培養条件での経時変化の結果を Fig. 3 に示す。除去率は 3 日目はわずか 7% であったが、4 日目に 58% に急上昇し 5 日目に最高値の 87% に達した。6 日目には 77% と若干低下した。

培養液の pH は 3 日目に 5.3, 4 日目に 4.3 とゆるやかに低下し 5 日目に 7.5 に急上昇した。6 日目には 7.9 とほぼ一定の値になった。

4. 菌体からの金の溶離回収

2. および 3. で得られた、金メッキ廃液からの金の除去に最適な条件で培養した菌体からの金の溶離回収率を Table II に示した。培養液から除去された金に対する溶離回収率はチオウレアで 65%, 硫酸鉄(Ⅲ)アンモニウムなどの酸化剤含有チオウレアで 75~84% に達した。

Table II. Desorption of Gold from the Gold-laden Cells by Eluants

Eluant	Au desorbed(%)
0.1 M Thiourea	65
0.1 M Thiourea+0.02 M $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$	84
0.1 M Thiourea+0.02 M FeCl_3	75
0.1 M Thiourea+0.02 M $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	75

Gold-laden cells were washed by these eluants for 15 min using magnetic stirrer.

5. 分離株の同定

土壌からの分離株のなかでとくに高い金除去率を示した SUT 30218 株の同定を行った。

集落は中心部は気菌糸で盛り上がっているが、周辺部の高さは 1~2 mm と低かった。色調は黄色から明るいオリーブ色であった。直径は 10 日培養で 8.5 cm であった。菌核の形成が認められ、その大きさは 500~1000 μm 、黒色で球状であった。

分生子頭の大きさは 50~550 μm で、球状または放射状であった。分生子柄は長さ 250~1000 μm 、直径 8~15 μm であり、頂のうは球状で直径 30~70 μm であった。梗子（フィアライド）はほとんどが一段（8~15×3~7 μm ）で、わずかに二段のもの（1st: 8~15×3~7 μm , 2nd: 5~7×2~4 μm ）が認められた。分生子は球状で直径 3~5 μm で、その表面は光学顕微鏡下で粗であった。

Malt Extract 寒天培地（グルコース 2%, 麦芽エキス 2%, ペプトン 0.1%, pH 6.0）では生育が早く（培養 7 日で直径 8~9 cm）、コロニーの色調は黄色から深緑色であった。そのほかの性質は Czapek Dox 寒天培地の場合と同様であった。

これらの諸性質から SUT 30218 株を *Aspergillus oryzae* と同定した。また、SUT 30215, SUT 30216, SUT 30217, および SUT 30219 株の集落の色調、形態が SUT 30218 株と類似していることから、これら 4 株も SUT 30218 株と同種であると考えられる。

考 察

現在まで報告されてきた微生物や海藻を利用して溶液中から金を回収する実験のほとんどが、金の化合物として塩化金（Ⅲ）酸もしくはその塩を使用している⁽¹⁻⁶⁾。そのほかの化合物としてはシアン化金（Ⅰ）カリウム^(4,7)や金粉⁽⁸⁾を使用している報告もあるが、その数は少ない。また、シアン化金（Ⅰ）カリウムは塩化金（Ⅲ）酸

もしくはその塩と比較して回収されにくいことが報告されている⁽¹⁾。

本研究はメッキ廃液からの金の回収を目標としたものであるが、金メッキで主に用いられているシアン化金（Ⅰ）カリウムについて、その原液の希釈液およびメッキ廃液から金を高率に除去することができた。

また、最適な条件で培養したとき、除去率から算出した菌体凍結乾燥重量 1 g 当りの回収量は、結果には示していないが 7.7~11.9 mg に達した。

次に金を蓄積した菌体からの金の溶離回収について若干検討を行ったところ、硫酸鉄（Ⅲ）アンモニウムなどの酸化剤含有チオウレアで 75~84% の溶離回収が認められた。菌体からの金の回収に関してはさらなる検討が必要である。

チオウレアを用いた菌体からの金の回収については、Kuyucak らが *Sargassum natans* からの金の回収について報告しているが⁽⁹⁾、今回も同様に酸化剤を加えたほうが溶離回収率が良好であった。

短時間のチオウレア処理によって金が溶離されることから、金の大部分が細胞壁に吸着していると考えられる。しかし、*Aspergillus oryzae* SUT 30218 株の凍結乾燥菌体を用いて金の除去を行うと、pH 4~8 の範囲では最高でも 4% の除去率しか示さなかった（未発表結果）。したがって、本実験における金の除去は菌体による単純な吸着ではないと考えられるが、除去機構に関してはさらなる検討が必要である。

また、メッキ廃液中に金とともに多く含まれている銅の除去率は金よりも低く（45%, 未発表結果）、*Aspergillus oryzae* SUT 30218 株は銅と比較して金を効率よく除去することができると考えられる。

要 約

金メッキ液を使用して金除去能を有する菌株のスクリーニングを行った結果、49 株の保存菌株および土壌からの分離株 11 株、計 60 株のなかから金除去能の優れた SUT 30218 株を選択した。当株は分類学的諸性質から *Aspergillus oryzae* と同定した。当株を用いて金メッキ廃液から金の除去を行ったところ、初発 pH を 6.0 に調製した Yeast Malt 培地で 5 日間振盪培養することにより、87~93% の金を除去することができた。また、菌体から硫酸鉄（Ⅲ）アンモニウム含有チオウレアなどを用いて金を高率に（75~84%）溶離回収することがで

きた。

本研究は、金メッキ液について 1991 年度日本農芸化学会大会で、また金メッキ廃液について平成 3 年度日本醸酵工学会大会でそれぞれ発表した。

- (1) B. Greene, M. Hosea, R. McPherson, M. Henzl, M. D. Alexander, and D. W. Darnall: *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 627—632 (1986).
- (2) アナ マリア ナカマ, 氏家速雄, 八澤 彬: 資源・素材学会研究・業績発表講演会講演要旨集, 1989, pp. 109—110.
- (3) N. Kuyucak and B. Volesky: *Biorecovery*, **1**, 189—204 (1989).

- (4) C. C. Townsley, I. S. Ross, and A. S. Atokins: *Process Metal*, **4** (*Fundam. Appl. Biohydrometall.*), 279—289 (1986).
- (5) G. G. Mineev, A. S. Chernyak, and L. P. Semenova: *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, **8**, 358—362 (1972).
- (6) V. I. Biryuzova, E. D. Korobushkina, I. N. Pozmogova, and G. I. Karavaiko: *Mikrobiologiya*, **56**, 209—216 (1987).
- (7) I. Finnegan, S. Toerien, L. Abbott, and H. G. Raubenheimer: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 274—276 (1991).
- (8) N. Kuyucak and B. Volesky: *Biorecovery*, **1**, 205—218 (1989).