

鉄酸化細菌による硫化ニッケルのリーチング

甲斐 敬美・西 誠・西山 典洋・高橋 武重
(受理 平成4年5月31日)

Leaching of Nickel Sulfide by Iron Oxidizing Bacterium

Takami KAI, Makoto NISHI, Norihiro NISHIYAMA,
and Takeshige TAKAHASHI

The leaching of nickel sulfide was carried out using an iron oxidizing bacterium. It was found that the extraction of nickel sulfide was enhanced by the bacterium. Adapted and non-adapted strains were used in the leaching experiments. The former was repeatedly cultured to increase its resistance to nickel ion. The adapted strain gained energy from nickel sulfide rather than from ferrous ion in the presence of these two substrates. Reversely, the non-adapted strain mainly oxidized ferrous ion under the same condition.

緒 言

鉄酸化細菌は銅鉱山の坑内水のような酸性の環境で成育しているバクテリアである。鉄酸化細菌の一種である *Thiobacillus ferrooxidans* は第一鉄イオンを第二鉄イオンに酸化することによってエネルギーを得ている。またこのバクテリアは元素硫黄や銅、ニッケル、亜鉛、コバルトなどの金属の硫化物を酸化することによってエネルギーを得ることも報告されている^{2, 4, 6-8)}。これらの性質を利用すると硫化金属鉱物から効率的に金属を回収することが可能となる。本研究においては、鉄酸化細菌 *T.ferrooxidans* による硫化ニッケルの浸出を行い、ニッケルイオンに対して馴養した場合の浸出率と基質利用の選択性について調べた。

1. 実 験

1.1 バクテリアと培地

本実験で使用したバクテリアは岡山県柵原鉱山の坑内水から採取して分離培養した鉄酸化細菌であり、*T.ferrooxidans* がその主成分と思われる。使用した培地は無機塩の水溶液である 9 K 培地⁹⁾と同様の培地であり、基質である第一鉄イオンを 8 g/l の濃度になるように加えた。培地の pH は 10 N の硫酸を用いて

2.0に調整した。バクテリアの濃度測定は Torma の血球計算盤を用いて光学顕微鏡により600倍の倍率で行った。

実験には二種類の菌体を使用した。一種は通常の培地で繰り返し培養したもので、他の種はその培地にニッケルイオンを添加した培地で繰り返し培養したものである。このときのニッケルイオン濃度は1.0 g/l である。

1.2 硫化ニッケルの浸出

実験に使用した硫化ニッケルは市販の試薬（ナカライテスク）である。浸出は所定濃度の第一鉄イオンおよび硫酸濃度の 9 K 培地300mlに硫化ニッケル0.65 gを加え、初発菌体濃度が 5×10^8 cells/l になるようにバクテリアを加えた500mlの褐色三角フラスコで行った。フラスコは密栓をせずに、ガーゼを八重に折ったもので封をし、30℃に設定した振盪恒温槽内に設置して浸出を行った。これは培地に酸素を供給するためである。浸出を行っている期間も硫酸によって pH を 2.0になるように調整した。浸出液のニッケルイオンの濃度および鉄イオンの濃度は溶液をサンプリングし、原子吸光分析によって求めた。第一鉄イオンの濃度は o-フェナントロリン法によって測定し、原子吸光分析で求めた全鉄イオン濃度との差から第二鉄イオンの濃度を求めた。菌体を接種しない無菌対照試料には混

入したバクテリアの増殖を抑制するために2%チモール/メタノール溶液を5ml加えた。

2. 結果と考察

鉄酸化細菌をニッケルイオン濃度1.0 g/lの培地において培養を行い、この濃度レベルでの順応性について調べた。Fig. 1には7日の間隔で移しかえつつ培養を行った場合の菌体濃度と経過時間との関係を示す。1回目には菌体数は一度低下した後、20h後から増加し始めている。しかし、その増殖速度は低い。移しかえを重ねるにしたがって、初期の菌体数の低下は観察されなくなり、増殖速度も高くなった。移しかえを20回行った試料では標準的な増殖曲線に近づいている。この後は増殖曲線は変化しなかったため、この濃度のニッケルイオンについては耐性を得たと考えられる。またFig. 2には20回目において基質である第一鉄イオンの濃度変化と酸化されて生成する第二鉄イオンの濃度の変化を示す。150hで第一鉄イオンはほぼ完全に消費され、第二鉄イオンを生成していることがわかる。

硫化ニッケルを浸出液に添加すると液相の菌体濃度は低下する。これは硫化ニッケル表面への菌体の吸着によるものと考えられる。吸着平衡に達するには約30minかかった。Fig. 3には初発菌体濃度と吸着した菌体濃度との関係を示す。縦軸は吸着したとみられる菌体数を液相の濃度に換算した値である。この図に示すように初発菌体の約40%が硫化ニッケルに吸着して

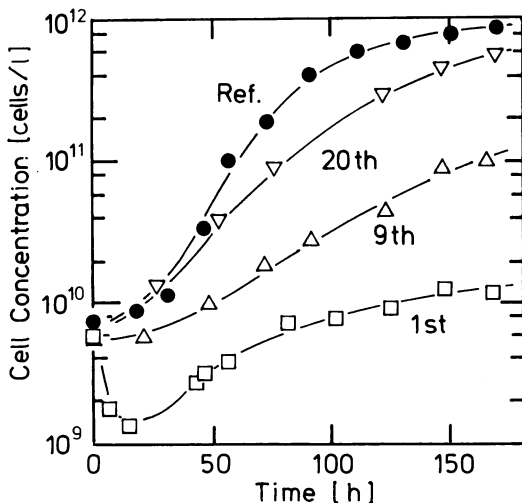


Fig. 1 Repetition of subculturing to adapt to nickel

いるが、本実験の菌体濃度の範囲では飽和に達していないことがわかる。固相に吸着した鉄酸化細菌の活性については不明な点が多く^{1,3)}、本研究においても液相の菌体と固相の菌体の活性については分離した評価は行っていない。

Fig. 4はニッケルイオンで馴養した菌体を使用して硫化ニッケルの浸出を行った場合の時間と浸出率との関係を示す。まず、接種試料の浸出率は無菌対照試

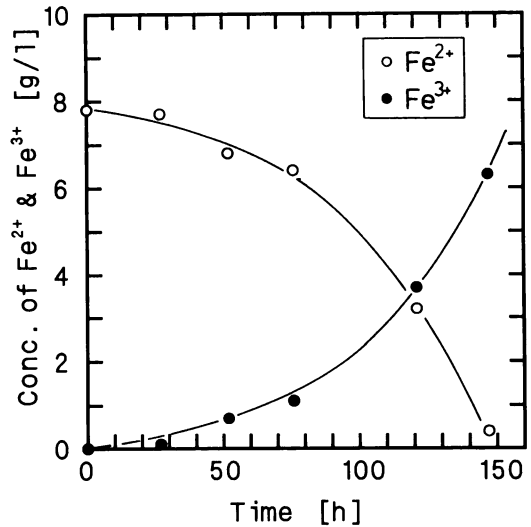


Fig. 2 Change in ferrous and ferric ion concentration

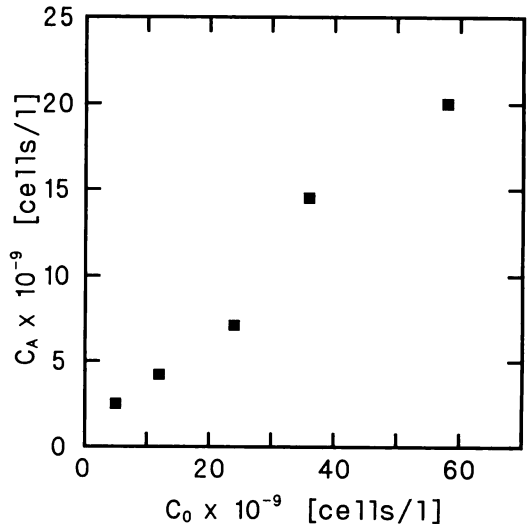


Fig. 3 Adsorption of cells on the surface of nickel sulfide

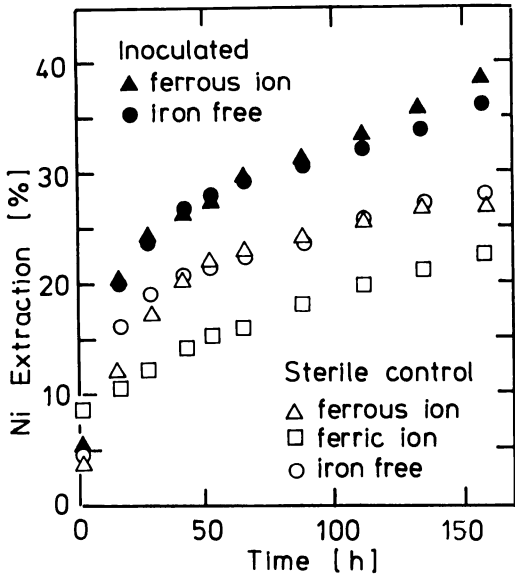


Fig. 4 Nickel extraction by adapted strain

料の浸出率よりも高いことがわかる。160 h での浸出率は無菌対照試料では約28%であるのに対し、接種した場合には38%になった。

無菌対照試料においては、鉄を含まないものと第一鉄を含むものの浸出率はほぼ同じであり、酸による浸出がこれらの場合では支配的と考えられる。一方、第二鉄イオンを含む無菌対照試料では浸出初期において、浸出速度が非常に大きい。これは第二鉄イオンによる酸化の促進効果と考えられるが、浸出速度は急激に低下している。これは次式のような反応で生成する元素硫黄によって硫化ニッケルの表面が覆われたためと考えられる。



もしも鉄酸化細菌 *T. ferrooxidans* が存在するならば、元素硫黄を酸化することもできるため、元素硫黄は硫酸や亜硫酸イオンに酸化されるであろう。

Fig. 5 に示すように、ニッケルに順応させた菌体の場合に第一鉄イオンを加えてもその消費量は小さく、160 h 後でも 6 g/l の濃度である。図中の曲線は通常の培地での第一鉄イオンの消費を示し、160 h 後にはほぼ完全に消費している。第一鉄イオンが酸化されてないので、Fig. 4 における接種試料での浸出率の向上はおもにバクテリアの直接作用によるものと考えられる。つまりバクテリアによって次式の反応が起こっていると考えられる。

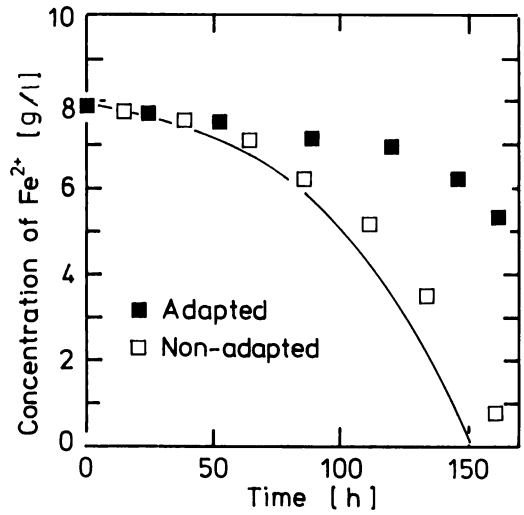


Fig. 5 Change in ferrous ion concentration

Fig. 5 からわかるようにバクテリアは始めの100 h はほとんど第一鉄を利用していない。また Fig. 4 の始めの100 h においては接種試料の第一鉄を含む試料も鉄を含まない試料も浸出率はほぼ等しい。このことから、直接作用で硫化ニッケルの溶出が進んだものと思われる。また、以上のことからニッケルイオンに順応させた菌体ではそのエネルギーを第一鉄イオンの酸化よりも硫化ニッケルの酸化によって得ていると考えられる。

Fig. 6 は通常の菌体を用いて硫化ニッケルの浸出を行った結果を示す。接種試料においては第一鉄イオンを添加することによって浸出率が低下して、無菌対照試料の浸出率と同等になっている。このときの第一鉄イオンの濃度変化も Fig. 5 に示されているが、バクテリアは優先的に第一鉄イオンを利用して、硫化ニッケルはほとんど利用していない。一方、馴養を行っていない菌体でも第一鉄イオンが存在しなければ、硫化ニッケルを基質として利用し、浸出率は高くなることが Fig. 6 からわかる。しかし、この場合の160 h での浸出率は33%であり、馴養した場合の38%よりも弱冠低い。浸出率が33%のときのニッケルイオンの濃度は 0.38 g/l であり、馴養を行ってない菌体でも活動に対する抑制は大きくないと思われる。

浸出時間と液相の菌体濃度変化との関係を Fig. 7 に示す。第一鉄イオンがない場合には馴養を行った場合も行っていない場合も菌体の増加速度は低い。一方、第一鉄イオンが存在した場合には160 h には始めに観

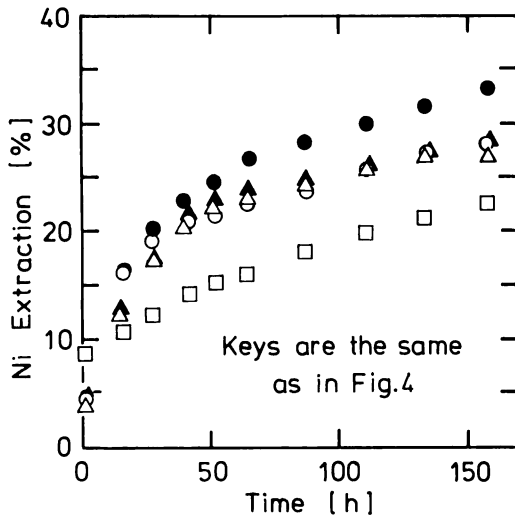


Fig. 6 Nickel extraction by non-adapted strain

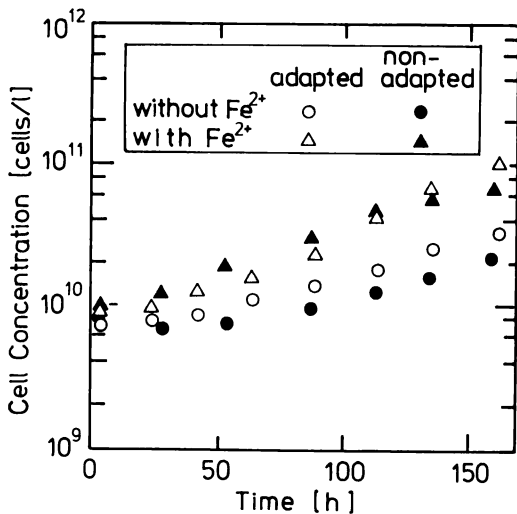


Fig. 7 Change in cell concentration for adapted and non-adapted strains

察された菌体濃度の約10倍になっている。これらのことは、硫化ニッケルと第一鉄イオンを酸化するさいの速度、反応で得られるエネルギーのどれだけを増殖のエネルギーとして利用できるかという効率などの要素が関与してくる。

結 言

鉄酸化細菌を用いて硫化ニッケルの浸出を行った。硫化ニッケルの浸出率はバクテリアによって高められることがわかった。実験にはニッケルイオンに順応させた菌体と通常の菌体を使用した。基質として硫化ニッケルと第一鉄イオンが存在する場合には、通常のバクテリアは第一鉄を優先的に酸化利用したが、ニッケルイオンに順応させたバクテリアは硫化ニッケルを主に酸化して利用することがわかった。

[謝 辞]

本研究の一部は平成3年度實吉奨学会の援助のもとで行われた。ここに付記して謝意を表します。また鉄酸化細菌を提供して下さい同和工業(株) 柵原鉱業所に感謝いたします。

Nomenclature

- C_A = Equivalent cell concentration of adsorbed cells [g/l]
 C_0 = Initial cell concentration [g/l]

Literature Cited

- 1) DiSpirito, A. A., P. R. Dugan and O. H. Tuovinen, *Biotechnol, Bioeng.*, 23, 2761 (1981).
- 2) Donati, E. R., P. H. Tedesco, *Biorecovery*, 1, 303 (1990).
- 3) Kai, T., T. Takahashi, Y. Shirakawa and Y. Kawabata, *Biotechnol, Bioeng.*, 36, 1105 (1990).
- 4) Konishi, Y., H. Kubo and S. Asai, *Biotechnol, Bioeng.*, 39, 66 (1992).
- 5) Silverman, M. P. and Lundgren, D. C., *J. Bacteriol.*, 77, 642 (1959).
- 6) Torma, A. E., C. C. Walden and R. M. R. Branion, *Biotechnol, Bioeng.*, 12, 501 (1970).
- 7) Torma, A. E., G. Legault, D. Kougioumoutzakias and R. Ouellet, *Can. J. Chem, Eng.*, 52, 515 (1974).
- 8) Torma, A. E. and K. Bosecker, *Prog. Ind. Microbiol.*, 16, 77 (1982).