

多孔質固体に吸着させた鉄酸化細菌の活性

甲斐 敬美・高橋 武重・白川 良美・川畑 康秀
(受理 平成元年 5 月 31 日)

ACTIVITY OF IRON OXIDIZING MICROORGANISM ADSORBED ON ACTIVATED CARBON

Takami KAI, Takeshige TAKAHASHI,
Yoshimi SHIRAKAWA and Yasuhide KAWABATA

It was observed that about 90 % of *Thiobacillus ferrooxidans* in liquid was adsorbed on added activated carbon when the concentration of the cultivated bacteria reached about 5×10^9 cells m^{-3} . The oxidation of ferrous iron and the leaching of copper ore were carried out in shaking flasks, and in suspended bubbling columns. It was observed that the rates of oxidation and leaching increased when the microorganism was adsorbed on activated carbon. However, the evaluation of the reaction rates by eliminating the catalytic effect of activated carbon showed that the contribution to the reaction of the adsorbed microorganism was very small. As *T. ferrooxidans* gains the energy for metabolic activities by oxidizing ferrous iron into ferric iron, it is supposed that the adsorbed microorganism did not grow, and that its characteristics were changed by the interaction with the solids.

緒 言

ある種のバクテリアは鉄や硫黄を酸化することによってエネルギーを得ていることは良く知られており、様々な鉱石のリーチングや石炭の脱硫、排水の処理などに用いられている。最近ではバクテリアリーチングに関する総説も多く書かれている¹⁻⁷⁾。このようなバクテリアのなかで *Thiobacillus ferrooxidans* は最も一般的に用いられているバクテリアである。このバクテリアは硫酸酸性水溶液下で第一鉄イオンを第二鉄イオンに酸化して炭酸同化作用を行う化学栄養独立細菌である。また、このバクテリアを利用する場合の問題点として増殖速度が極めて遅いということが挙げられる。従って、このバクテリアを担体に固定化して用いることができれば増殖速度が小さいことの解決につながる。ところで、このバクテリアは活性炭に良く吸着することがこれまでの研究で分かっている⁸⁾。従って活性炭への吸着は固定化のひとつの方法であると考えられる。

Bryner ら⁹⁾は鉄の酸化と硫化銅の溶解の実験を行う際に *T. ferrooxidans* および活性炭を使用している。その結果はどちらも鉄の酸化反応に対して触媒効果があることを示している。また銅の溶出においては両者が共存した条件において最も高い溶出率を得ている。しかし彼らは *T. ferrooxidans* が活性炭に吸着することについてはふれておらず、吸着しているバクテリアとバルクの液中のバクテリアの働きとは区別されていない。したがって、吸着している菌体の活性はどれほどであるのか不明である。

本研究においては活性炭に吸着させたバクテリアを用いて鉄の酸化および銅鉱石のリーチングを行い、吸着したバクテリアによる酸化速度やリーチング速度を活性炭の触媒効果と液本体中のバクテリアによる効果から分離して評価し、固定化されたバクテリアがどれほどの活性をもつかを明らかにすることを目的とする。

1. 実験

1. 1 菌体および培地

使用した菌体は柵原鉱山（岡山県）の坑内水から分離したもので、その主成分は *T. ferrooxidans* と思われる。培地は9K培地を基にしたもので第一鉄の初期濃度は約 8.0 kgm^{-3} である。pHは硫酸により2.0に調整した。菌体数はTohmaの血球計算盤を用いて光学顕微鏡により直接求めた。測定においては培地から採取した液を計算盤の小区画 ($50 \times 50 \mu\text{m}$) の菌体数が5程度になるように希釈した。

1. 2 *T. ferrooxidans* の吸着

培養液100mlを300mlの褐色フラスコにいれ、初発菌体濃度が $4 \times 10^9 \text{ cells m}^{-3}$ となるようにした。フラスコは30℃に制御した恒温槽内で振盪させた。菌体濃度の時間変化を測定して、菌体濃度が約 $5 \times 10^{10} \text{ cells m}^{-3}$ になったとき、活性炭0.5gを添加した。その後も菌体数の変化を測定して活性炭に吸着した菌体数を求めた。

1. 3 第一鉄の酸化

第一鉄イオンの初濃度を約 8 kgm^{-3} として鉄イオンの酸化される速度を調べた。実験においては振盪フラスコと懸濁気泡塔を用いた。フラスコの実験では空気を吹込む場合と吹込まない場合について行った。空

を吹込まない場合においてもフラスコの口は脱脂綿で栓がされているので完全には空気が遮断されてはいない。懸濁気泡塔の装置図は図1に示す。塔本体の内径は8.0cm、高さは1.6mの亚克力樹脂製である。塔内の液温を一定に保つためジャケットを取り付けて30℃の水を循環させた。実験においては約3ℓの液を用いた。

1. 4 銅鉱石のリーチング

銅鉱石（ムソシ）を用いてリーチングの実験を行った。用いた装置は懸濁気泡塔であり、温度30℃で実験を行った。懸濁気泡塔の装置は図1に示すものとほとんど同じであるが、塔本体の内径は5.2cmである。懸濁気泡塔では培地1300mlに対して鉱石100g、活性炭を40gとした。第一鉄イオンの初濃度は他の実験と同じく 8 kgm^{-3} とした。浸出された銅イオンの濃度は原子吸光度計により分析した。

2. 結果

2. 1 *T. ferrooxidans* の吸着

図2には *T. ferrooxidans* が活性炭に吸着される様子を示す。測定を始めて約70時間後に活性炭を添加した。活性炭を添加する直前の菌体濃度が $3.9 \times 10^{10} \text{ cells m}^{-3}$ 、活性炭を入れた後が $5.1 \times 10^9 \text{ cells m}^{-3}$ と

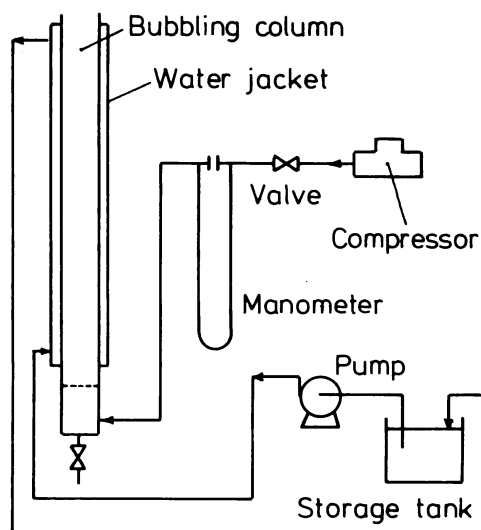


図1 懸濁気泡塔実験装置

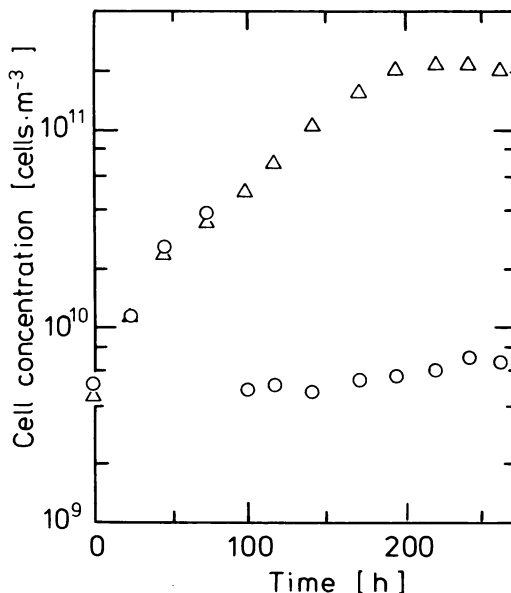


図2 活性炭添加と菌体数の変化（○：70時間目に活性炭を添加，△：活性炭を添加しない場合）

なっている。従って、菌体の約87%が吸着したことになる。また活性炭を入れない場合では、70時間後も菌体濃度は順調に増加していることがわかる。培地の体積が100mℓで、加えた活性炭の量が0.5gであるから菌体の吸着量は 6.8×10^9 cells kg⁻¹となる。この吸着量は活性炭の種類によって変化し、平均細孔径が大きな活性炭ほど吸着量も大きくなることが分かった。図2に示す実験で用いた活性炭の総細孔容積は 1.22×10^{-3} m³kg⁻¹、表面積は 11.1×10^3 m²kg⁻¹、平均細孔径は0.44μmであった。

2. 2 第一鉄イオンの酸化

フラスコ内で空気を吹込みながら行った第一鉄イオンの酸化の結果を図3に示す。バクテリアの存在しない場合には鉄の酸化はほとんど進んでないことが分かる。一方バクテリアが存在すると酸化の速度は非常に大きくなり、その速度は菌体の初濃度に依存している。初濃度が 2.0×10^{11} cells m⁻³の場合には約40時間で第一鉄はすべて酸化され、初期濃度が 4.0×10^9 cells m⁻³の場合には約110時間を要している。後者の場合においては、50時間すぎから酸化速度が急に大きくなっているが、これは菌体数が増えたためである。

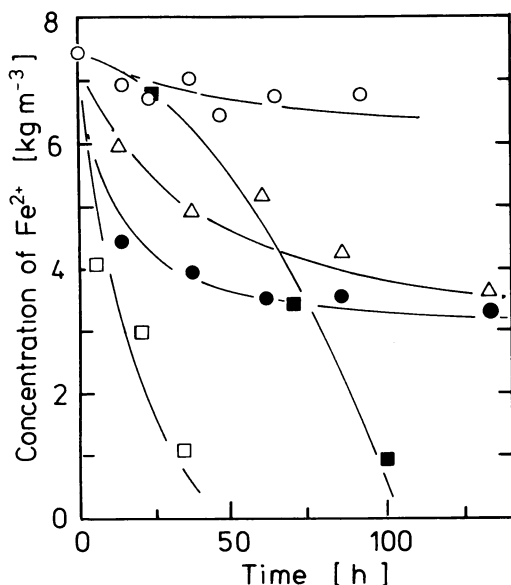


図3 空気吹込みを行った場合の第一鉄イオン濃度の変化 (○：無菌，□：菌体初濃度 2.0×10^{11} cells m⁻³，■：菌体初濃度 4.0×10^9 cells m⁻³，●：活性炭 3g，△：バクテリアを吸着させた活性炭 3g)

図3において活性炭を加えた場合にも初期の酸化速度は大きくなることが分かる。しかし50時間以降には酸化速度が非常に小さくなっている。これは活性炭を触媒とする場合には、反応速度が第一鉄イオン濃度に依存するため時間とともに反応速度が小さくなること、ジャロサイトなどの生成物の活性炭細孔への沈積などが原因と考えられる。

バクテリアを吸着させた活性炭を用いた場合の結果も図3に示されている。加えた活性炭の量は3gであるのでバルク濃度に換算すると 2.0×10^{11} cells m⁻³と非常に高いにもかかわらず、活性炭のみの場合と比べて酸化速度はほとんど変わらない。このことから活性炭に吸着しているバクテリアの活性は極めて低いことが考えられる。

懸濁気泡塔を用いた実験においても同様の結果が得られ、バクテリアを吸着させた活性炭とそうでない活性炭とでは反応速度に差は見られなかった。

フラスコ内に空気を吹込まない場合においてはバクテリアのみによる酸化は影響を受けませんが、活性炭を触媒とする場合には反応がほとんど進まない。このことを利用して吸着したバクテリアの活性についてさらに詳しく調べた。図4は空気を吹込まないフラスコにおける酸化の結果を示す。バクテリアを含まない活性

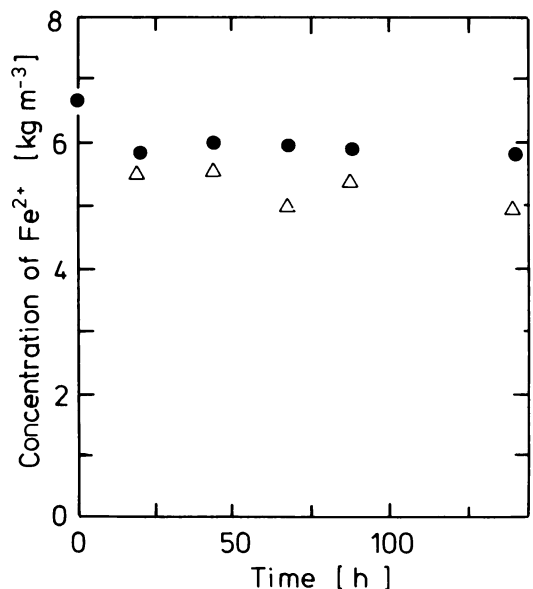


図4 空気吹込みを行わない場合の第一鉄イオン濃度の変化 (●：活性炭 3g，△：バクテリアを吸着させた活性炭 3g)

炭のみの場合には酸化が進まないことが分かる。バクテリアを吸着した活性炭を用いた場合には多少酸化が進んでいるが、活性炭表面に吸着している菌体の数から予想される酸化速度に比べて、吸着したバクテリアを用いた場合には非常に速度は小さくなることがわかる。

2. 3 銅鉱石の浸出

バクテリアによる銅の浸出は酸化された鉄イオンによって促進されるので、銅鉱石のリーチングにおいても吸着したバクテリアの効果は小さいことが考えられる。図5は懸濁気泡塔を用いた銅のリーチングの結果である。バクテリアをまったく含まない場合、つまり化学的なリーチングの場合には銅の浸出量が小さいことが分かる。バクテリアリーチングにおいては菌体の初濃度が大きいほどリーチングの速度も大きいことが分かる。また活性炭を加えることによりリーチング速度も増加することも分かる。しかし予想されたように吸着したバクテリアによる効果は銅のリーチングにおいても非常に小さいことが分かった。

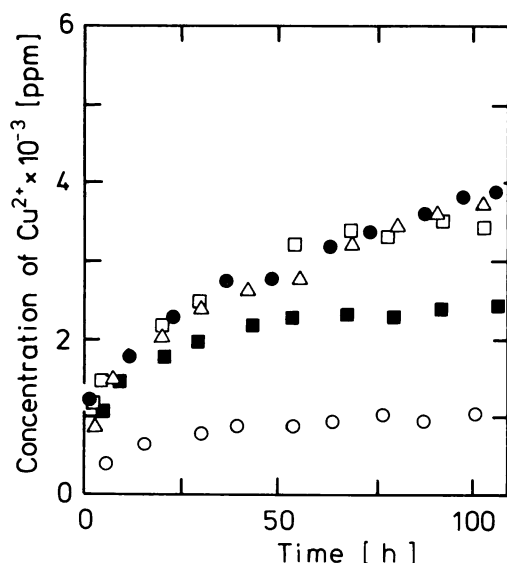


図5 気泡塔を用いた銅鉱石のリーチングにおける銅イオン濃度の変化 (○:無菌, □:菌体初濃度 $3.0 \times 10^8 \text{ cells m}^{-3}$, ■:菌体初濃度 $1.2 \times 10^9 \text{ cells m}^{-3}$, ●:活性炭40g, △:バクテリアを吸着させた活性炭40g)

3. 考 察

これまで述べてきた実験結果は活性炭に吸着されたバクテリアは鉄を酸化しないことを示唆している。この事実は Dispiritoら¹⁰⁾の実験結果を裏付けている。彼らはさまざまな固体粒子がバクテリアによる鉄の酸化を阻害することを報告している。この阻害はバクテリアと固体粒子の直接接触によって起こるもので、固-液相のバクテリアの活性は液相のそれとは異なることが指摘されている。Dispiritoらは活性炭は用いていないがおそらく同様の原因によって本実験においてもバクテリアの活性および増殖が押さえられたものと考えられる。

引用文献

- 1) 若尾紀夫：東北大学農学部研究報告, 36, 47 (1984).
- 2) 国吉, 原田：日本工業会誌, 101, 689 (1985).
- 3) 原田, 国吉：エネルギー・資源, 7, 36 (1986).
- 4) 荒井, 安江：Gypsum & Lime, No. 199, 395 (1985).
- 5) 高森隆勝：日本金属学会報, 24, 257 (1985).
- 6) 山口宗男：公害と対策, 22, 116 (1986).
- 7) 高橋, 甲斐：バイオインダストリー, 15, 789 (1988).
- 8) 高橋, 寺井, 二階堂：化学工学協会岡山大会要旨集, p.70 (1985).
- 9) Bryner, L.C., R.B.Walker and R.Parmer : Trans. Am. Soc. Metals, 238, 56 (1967).
- 10) Dispirito, A.A., P.R.Dugan and O.H.Tuovinen : Biotechnol. & Bioeng., 23, 2761 (1981).