

II-11

バクテリアリーチングのモデル化とシミュレーション

函館高専 正 員 大久保 孝 樹
 函館高専 正 員 芦 立 徳 厚
 東北大学 正 員 野 池 達 也
 札幌市 吉 田 修

1. はじめに

バクテリアリーチングは、工業における湿式冶金の分野で使われている方法で、Thiobacillus属の好酸性鉄酸化バクテリア (Thiobacillus ferrooxidans) 等の細菌を利用し、加速度的に鉱石から金属を溶出させ回収する方法である。この鉱石からの金属溶出作用が、鉱山廃水生成機構と何らかの類似性があるものと考えられている。実際、本研究の実験で対象とした日産戸井鉱山 (北海道道南に位置する廃止鉱山) では、好酸性鉄酸化バクテリアが確認されている。

このようなバクテリアリーチングによる金属の溶出機構および速度論を考察することは、鉱山廃水生成のモデルを構築していく上で重要なことであると思われる。バクテリアリーチングの機構については、現在のところ直接作用と間接作用の2つが存在することが知られているが、どちらの作用が主であるかは、まだはっきり研究されていないのが現状である¹⁾。

本研究では、間接作用に焦点を絞り、バクテリアリーチングの回分実験とpHの依存性を考慮した理論的速度論モデルの比較を検討してみた。

2. 実験方法

ここでは、速度論モデルに用いる動力学定数を決定するために鉄酸化バクテリアの鉄酸化反応に与えるpHの影響 (2. 1) と間接作用における純化学的反応 (2. 2) の実験を行った。また、速度論モデルのシミュレーションと比較するためにバクテリアリーチングの回分実験 (2. 3) を行った。

2. 1 鉄酸化バクテリアのFe²⁺酸化反応に与えるpHの影響

2. 1. 1 実験手順

以下に示す方法で実験を行った。

- ①200ml三角フラスコにFe²⁺濃度が、20, 50, 100, 300, 500, 1000, 1500mg・l⁻¹となるように基質を100ml投入した。
- ②pHはグリシン-硫酸緩衝となるようにグリシン1.128gを加え、硫酸でpH1.0, 2.0, 3.0となるように設定した。
- ③鉄酸化バクテリアは、濃度の時間変化が所定の値となるように、接種量を調整して加えた。
- ④Fe²⁺の時間変化を測定した。

なお、この実験は水温30℃、20℃の2つの場合について行った。また、攪拌はスターラーで行った。

2. 1. 2 バクテリアの集菌方法

実験に用いた鉄酸化バクテリアは、渡島管内にある日産戸井鉱山より採取し、水温30℃で馴養したものを用いた。

以下の手順でバクテリアを集菌した。

- ①ろ紙 (No. 5A) で培養液ををろ過してつ沈殿物を除去する。
- ②0.42 μmのミリポアフィルターで吸引ろ過しフィルター上にバクテリアを集菌する。
- ③pH2.5に調整した蒸留水にバクテリアを懸濁する。

2. 1. 3 データ解析

各濃度における時間と濃度減少勾配は直線関係が得られ、それぞれの初期濃度における比鉄酸化速度が得られた。この実験結果をMichaelis-Menten式に当てはめ、非線形最小自乗法によってV_{max}、

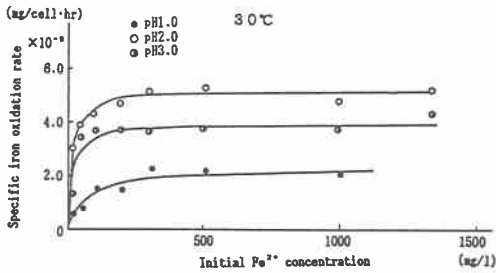


Fig.1 Relation between initial Fe^{2+} concentration and specific iron oxidation rate.

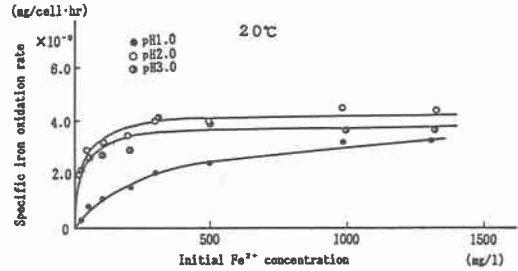


Fig.2 Relation between initial Fe^{2+} concentration and specific iron oxidation rate.

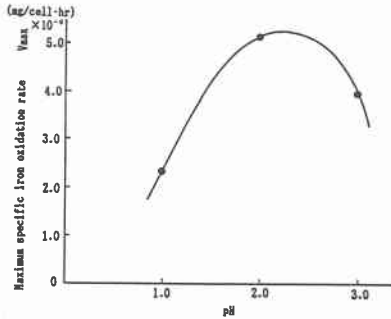


Fig.3 Effect of pH on maximum specific iron oxidation rate at 30°C.

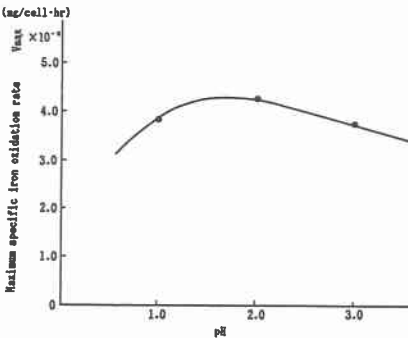


Fig.5 Effect of pH on maximum specific iron oxidation rate at 20°C.

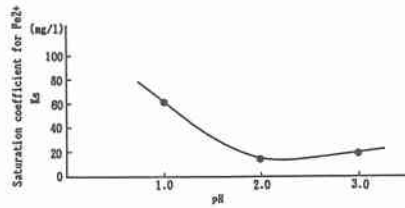


Fig.4 Effect of pH on saturation coefficient for Fe^{2+} at 30°C.

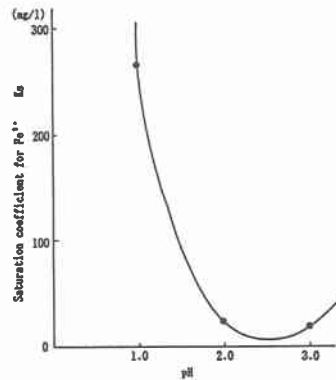


Fig.6 Effect of pH on saturation coefficient for Fe^{2+} at 20°C.

Ksを計算した(Fig.1、Fig.2参照)。

この実験は、 V_{max} 、 K_s のpH依存性を調べるために行ったものである。Fig.3~Fig.6に各温度における V_{max} と K_s のpH依存性のグラフを示す。

2. 2 間接作用における純化学的反応

2. 2. 1 実験手順

以下に実験手順を示す。

- ① 10N硫酸1mlを入れた純水1lに Fe^{3+} 濃度が約 $300mg \cdot l^{-1}$ となるように硫酸第二鉄1.7856gを溶かし、それぞれ200mlづつ5つの三角フラスコに分けた。
- ② それぞれにグリシン2.252gを入れた後、10N硫酸でpH1.0、1.5、2.0、2.5、3.0に調整した。(但しコントロールは硫酸第二鉄を入れなくてpHを調整した。)
- ③ pHを調整した5つの三角フラスコにそれぞれ鉱石10gづつ投入した。但し、鉱石は乳鉢で200メッシュに粉砕し、酸可溶性鉄を除くため1N塩酸で洗浄し、さらに数回蒸留水で洗浄したものを105°Cで5時間乾燥させデシゲータに入れ保存したものをを用いた。
- ④ Fe^{2+} とTFe(全鉄)の経時変化を測定した。

なお、水温は鉄酸化細菌による Fe^{2+} 酸化反応の回分実験と合わせ30°C及び20°Cとなるよう

に設定した。攪拌は、スターラーで行っている。

2. 2. 2 データ解析

Fig.7は、鉱石と Fe^{3+} の反応による Fe^{3+} 還元反応のグラフの一例である。鉱石と Fe^{3+} の反応の次数を調べたところ、 Fe^{3+} の減少速度はほぼ1次反応に従うことが判明した(Fig.8、Fig.9参照)。しかし、30℃の反応では低濃度領域で1次反応からずれている傾向が見られるが、これはスターラーによる攪拌のトラブルによるものと考えられるので、このデータは除外した。ここでは反応定数KのpH依存性を調べるために、この実験を行った。Fig.10、Fig.11にKのpH依存性のグラフを示す。

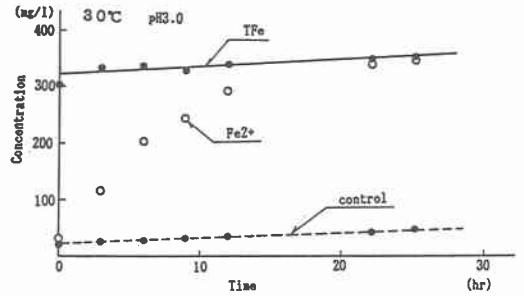


Fig.7 Example of change in Fe^{2+} and total iron concentration at batch experiment of pure chemical reaction in indirect mechanism

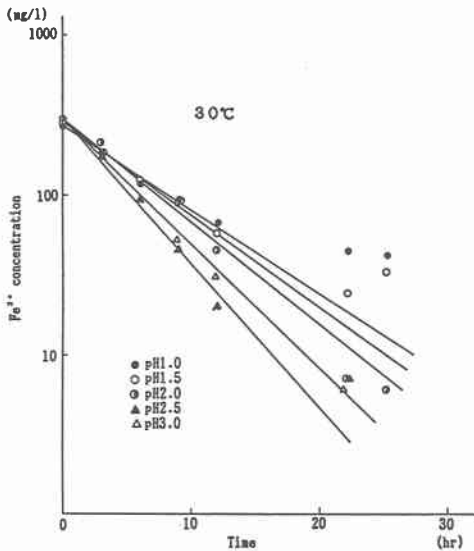


Fig.8 Semi log plot of Fe^{3+} concentration and time at batch experiment of pure chemical reaction in indirect mechanism.

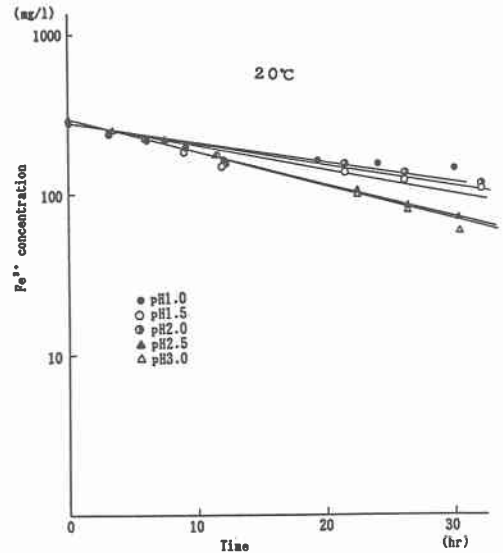


Fig.9 Semi log plot of Fe^{3+} concentration and time at batch experiment of pure chemical reaction in indirect mechanism.

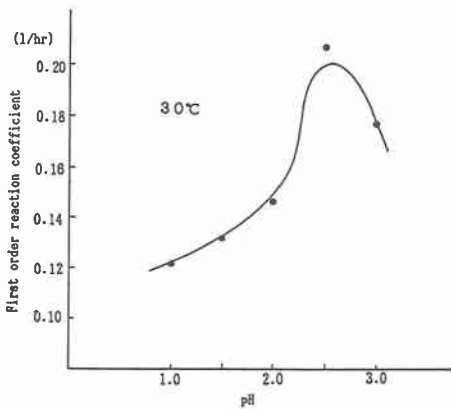


Fig.10 Effect of pH on first order reaction coefficient of pure chemical reaction in indirect mechanism

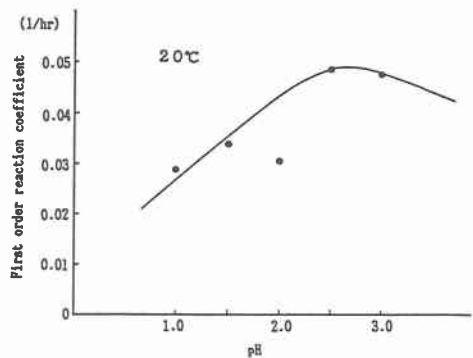


Fig.11 Effect of pH on first order reaction coefficient of pure chemical reaction in indirect mechanism.

2.3 バクテリアリーチングの回分実験

この実験は、鉱石とバクテリアと Fe^{2+} 及び Fe^{3+} が関与している実際のバクテリアリーチングの反応を見るためのものであり、理論的速度論モデルのシミュレーションと比較することを目的としている。

2.3.1 実験手順

以下に示す手順で実験を行った。

① 鉱石10gにpHを調整した蒸留水180mlを加えた。

② 9 K培地で培養した培養液を20ml接種した。

③ 経時的に Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、pHを測定した。

なお、蒸発量も同様の水温下で測定したが、蒸発量は微量であったので考慮しなかった。

3. 間接作用の理論的速度論モデル

3.1 モデル

以下に間接作用の反応式を示す¹⁾。



回分実験におけるバクテリアリーチングの間接作用のモデルは、(1)、(2)に示される化学反応式を踏まえ、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 H^+ 、とバクテリアの濃度に関する収支をとったものである。今回の実験では、酸素は十分供給されているものと考えられるので、モデルには酸素の依存性を考慮しなかった。

これらの収支式を以下に示す。

$$\frac{dS_1}{dt} = -f_1(S_1, H) \cdot XB + \alpha \cdot f_2(S_2, H)$$

$$\frac{dS_2}{dt} = f_1(S_1, H) \cdot XB - f_2(S_2, H)$$

$$\frac{dH}{dt} = -\beta \cdot f_1(S_1, H) \cdot XB + \gamma \cdot f_2(S_2, H)$$

$$\frac{dXB}{dt} = YB \cdot f_1(S_1, H) \cdot XB$$

ここで、 S_1 : Fe^{2+} 濃度 S_2 : Fe^{3+} 濃度 H : H^+ 濃度 YB : 増殖収率($cells \cdot Fe^{2+} \cdot mg^{-1}$)
 XB : バクテリア数($cells \cdot l^{-1}$)

α β γ は、化学量論比で $\alpha=15/14$ 、 $\beta=1/55.8$ 、 $\gamma=16/(14 \times 55.8)$ である。なお、増殖収率 YB は、以前の付着鉄酸化バクテリアの連続実験よりオーダー的に 10^6 であることがわかっている²⁾。

f_1 、 f_2 の関数は、それぞれMichaelis-Menten式と純化学的反応の1次反応式である。

$$f_1(S_1, H) = \frac{V_{max}(H) \cdot S_1}{K_s(H) + S_1} \quad f_2(S_2, H) = K(H) \cdot S_2$$

$V_{max}(H)$ 、 $K_s(H)$ 、 $K(H)$ は、それぞれ定数のpH依存性を示している。なお、 $K(H)$ は、 H^+ の他に鉱石の比表面積の影響が入ってくるが、本実験では比表面積($0.33m^2/g$)を一定の条件としているので考慮しなかった。

3. 2 計算方法

Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 H^+ 、バクテリア濃度の経時変化は初期値問題として扱えるので、ここではRunge-Kutta-Gill法により計算した。この計算をするに当たり、 V_{max} 、 K_s のpH依存性は、2.、1.、2.、2の実験より得られたデータを滑らかな線で傾向を捕らえ、その曲線の任意の点をスプライン補間し計算に用いた。

4. 実験及びシミュレーション結果

4. 1 動力学定数 (V_{max} 、 K_s 、 K) について

Fig.3、Fig.5は、それぞれ比最大鉄酸化速度 (V_{max}) のpH依存性を示したものであり、Fig.10、Fig.11は、純化学的反応の1次反応定数 (K) のpH依存性を示したものである。ここで興味深いことは、 V_{max} と K の最適pHがほぼ一致していることである。このことは、バクテリアが自然環境下で純化学的反応の最適pHに適応していった可能性を示唆するものである。Fig.4、Fig.6のバクテリアの Fe^{2+} の酸化反応に関する飽和定数は低pHになると大きくなり Fe^{2+} に対する親和性が減少する傾向を示し、温度が低いとその度合いが大きくなっている。

4. 2 バクテリアリーチングの回分実験とシミュレーション

Fig.12は30°CにおけるTFe (全鉄) と Fe^{2+} の経時変化を示したものであり、点が実験値で実線がシミュレーション値を示している。Fig.13はpHの経時変化を示したものである。これらの図から、30°Cにおいては、シミュレーション値はほぼ実験値の傾向を表しているものと考えられる。しかし、Fig.14にしめした20°Cの場合においてはシミュレーションはあまり実験値の傾向を表現できなかったことが示されている。このことについては、実験の再確認等の必要性があると考えられる。また、ここで用いたモデルでは直接作用を考慮しなかったため、このことも今後の課題となるであろう。さらに、バクテリアリーチングの回分実験で、初期条件のTFeが $1000mg \cdot l^{-1}$ と高い値であったことも再考する必要があると考えられる。

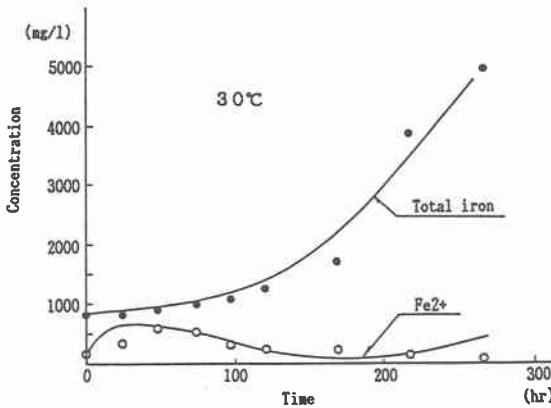


Fig.12 Comparison of simulation and experiment value of bacterial leaching

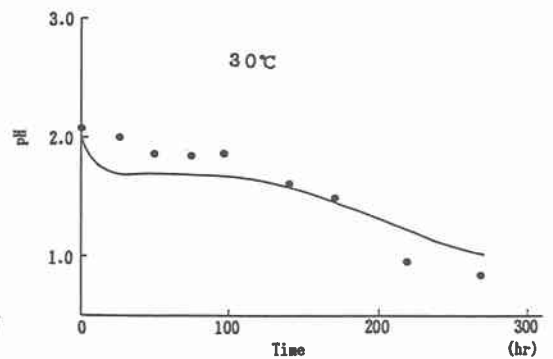


Fig.13 Comparison of simulation and pH value of bacterial leaching experiment

5. まとめ

間接作用におけるバクテリアの鉄酸化反応と純化学的反応を分離し再構成することによってバクテリアリーチングのモデル化を試みた。30℃においては実験結果をほぼ表現し得たが、20℃では実験結果との一致を見なかった。今後、自然環境条件に近い20℃、15℃、10℃付近での再確認も含めた実験の必要性がある。

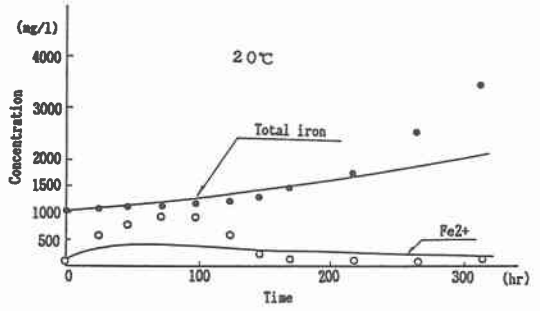


Fig.14 Comparison of simulation and experiment value of bacterial leaching

参考文献

- 1) 伊藤一郎 著：バクテリアリーチング 講談社
- 2) 大久保 ；酸性河川における鉄酸化バクテリアの挙動に関する研究 東北大学修士論文