

鉄酸化バクテリアの第1鉄酸化作用におよぼすpHの影響

東北大学工学部 学生員 〇中村寛治
東北大学工学部 正会員 松本順一郎
東北大学工学部 正会員 野地達也

1. はじめに 鉄酸化バクテリアは硫化鉄を含む鉱山地域に生息する好気性細菌で、鉱山から排出される鉱山排水中の第1鉄と第2鉄に酸化して増殖エネルギーを得、カルビン回路により空気中の CO_2 を固定している。大きさはおよそ $0.5 \times 1.0 \mu\text{m}$ の桿形で、最適pHは2.5~3.5, 最適水温は25~35℃の範囲にある。現在、鉄酸化バクテリアのこの第1鉄酸化作用を利用して鉱山排水中の第1鉄と第2鉄に酸化し、その後炭酸カルシウムにより中和処理する方法が岩手県の松尾鉱山跡で行われている。鉄酸化バクテリアに關する研究は従来から数多く発表されているが、回分実験によるものも多く、連続実験による研究はほとんどない。本研究では鉄酸化バクテリアが自然界で影響を受ける様々な環境因子のうち、pHを取り上げ、鉄酸化バクテリアの第1鉄酸化作用におよぼすpHの影響を回転円板装置を用いた連続実験により検討を行った。

2. 実験装置および方法 回転円板装置は図-1に示す通りである。鉄酸化バクテリアは岩手県の松尾鉱山跡と流れる赤川(北上川2次支川)より採取したもので、9K培地により水温20℃で通気培養してきたものを使用した。まず酸化反応槽内に9K培地中の第1鉄を酸化し、残った鉄酸化バクテリアの懸濁液を入れ、ここに9K培地を加えて回分状態を約1週間おいた。こうしてある程度鉄酸化バクテリアを用板表面に付着させた後、表-1に示す基質を連続的に供給した。回転円板は2秒1回転し、1系列は流入pH2.5から開始し定常値が得られた後2.3に下げ、その後2.0→1.8→1.6→1.3→1.0とpHを徐々に低下させた。そして他の1系列は流入pH3.0より開始し3.5→4.0→4.2と徐々にpHを上昇させた。水温は20℃、滞留時間は60分に設定した。分析項目は第1鉄、全鉄、pH、細菌数で、第1鉄はJIS K0102 KMnO_4 法、全鉄は原子吸光度計、pHはpHメーター、細菌数は比濁法で約600倍下でThomaの血球計算盤を用いて測定した。

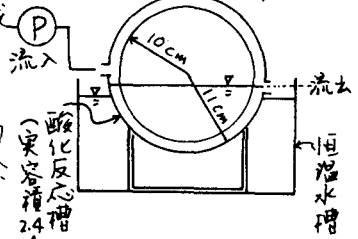
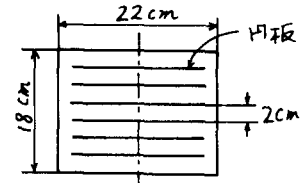


図-1 回転円板装置

3. 実験結果および考察

3-1. 経日変化について 基質のpHが2.0以上の条件下で円板表面の鉄の付着物は安定していたが、pHが1.8に低下すると鉄の付着物が徐々に溶出し、はじめは流出全Feが流入全Feより60%ほど低い値を示した。鉄の溶出した後には、徐々に粘質状の膜が残った。この時鉄の溶出により酸化率が影響を受けず、78%と維持した。このことから鉄酸化バクテリアは鉄の付着物中ではなく粘質状の膜中に大部分が存在していたことが推察できる。またpHを1.6に低下させると鉄の付着物はさらに溶出し、5日目では完全に溶出ししまった。その際粘質状の膜もある程度円板表面から脱落したため酸化率は1日低下した。徐々に回復し定常値には81%にまで達した。McGowan⁽¹⁾は鉄酸化バクテリアの付着物に対する強い吸着性を主張しているが、今回の実験では鉄の付着物の存在の有無が酸化率に与える影響は全くみられなかった。この後pHを1.3, 1.0と低下させたが、pH1.3で酸化率が78%、pH1.0では74%となりpH1.6

表-1 基質組成(12中)

成 分	量
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.5 g ($\text{Fe}^{2+}=500\text{mg/L}$)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	150 mg
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25 mg
K_2HPO_4	25 mg
KCl	5 mg
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0.5 mg
10N H_2SO_4	適 量
水道水で調整	

と比べてほんのわずかに低下しただけであった。以上のことから鉄酸にバクテリアは鉄の付着物をつくることが不可能な低pHの条件下でも同様に表面に発達する。すなわち物質の膜中で増殖して、第1鉄酸化を高いレベルで行なうことが可能であるということが結論づけられる。

3-2. 酸化率について 流入pHと酸化率の関係を図-2に示す。この図によるとpH 2.5より低い範囲で酸化率はpH 1.0で若干低下し75%と下回るのは0.1よりもむしろ80%に近い値を示している。またpH 2.5より高い範囲でも酸化率はpH 4.2でこれに比べてさらに15%程度低い値を示しているにすぎない。以上のことから、pH 1.0~3.5の範囲で酸化率はほぼpHの影響を受けず高い酸化率と相対できることが明らかとなった。また若干pHの影響が表われたpH 4.2における酸化率は62%であり、これは著しい酸化率の低下はみられなかった。

3-3. 浮遊菌数および付着菌数について 流入pHと浮遊菌数、流入pHと付着菌数の関係を図-3、図-4に示す。浮遊菌数は $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cell/mlでpH 2.0において最少数 4.01×10^6 cell/mlを示し、付着菌数は $2 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ cell/cm²でpH 2.3において最少数 1.69×10^8 cell/cm²を示した。最少数を示したpHは2.0と2.3と若干ずれているが両図とも開散はよく似ており、付着菌数と浮遊菌数の割合にほぼ等しい関係があることを表わしている。

また図-5に流入pHと比酸化速度の関係を示す。比酸化速度は付着菌1 cell当りの日酸化量を表わすもので、pH 1.0~2.0の範囲ではおよそ 10^{-10} gFe²⁺/cell・日、pH 2.3~2.5の範囲では 5×10^{-10} gFe²⁺/cell・日、pH 3.0~4.2の範囲ではおよそ 2×10^{-10} gFe²⁺/cell・日となった。図-2に示したように酸化率はpH 1.0~4.2の間ほぼ大なり低下はみられずほぼ一定の値をとっている。この実験では第1鉄の濃度が一定であるのでこれは第1鉄の日酸化量が一定であることを意味している。図-5の比酸化速度はこのほぼ一定の日酸化量を付着菌数で割ったものなのでやはり図-4の流入pHと付着菌数の凹凸と全く逆にした形状となっている。つまり付着菌数が多い所で比酸化速度は小さい値となるのである。本実験でバクテリアの最適pH域にあてはまるpH 2.3で付着菌数が最大となり、比酸化速度は最小となった。これは最適pH域で第1鉄酸化で得られるエネルギーが速やかに増殖にまわると付着菌数が多くなるがpH 4.0最適pH域からは得られたエネルギーがその不適用pHに対応するのにより消費されるため増殖にまわらぬエネルギーが最適pH域の増殖より少なくなりその結果として付着菌数が減少し、比酸化速度は最大値として算出されるのではないかと推論される。

(参考文献) 1) McGoran et al.: Can. J. Microbiol., Vol 15, p 135, (1969)
2) Olem & Unz: Biotechnol Bioeng., Vol 19, p 1475, (1977)

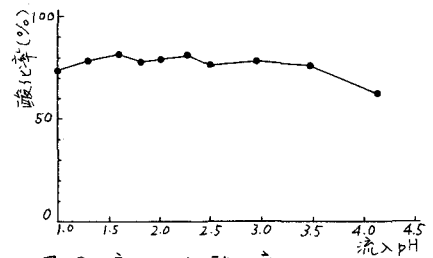


図-2 流入pHと酸化率

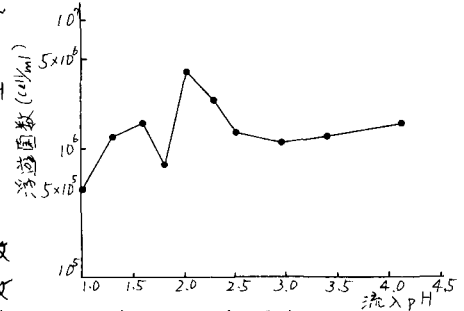


図-3 流入pHと浮遊菌数

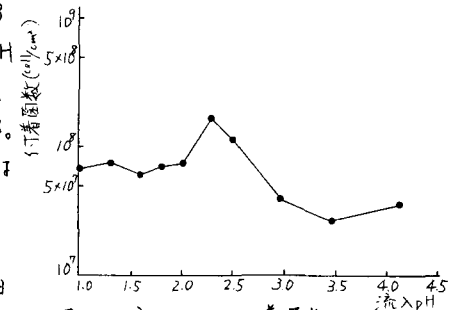


図-4 流入pHと付着菌数

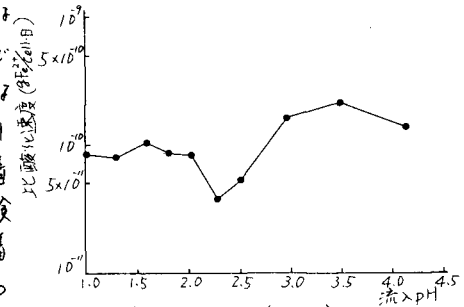


図-5 流入pHと比酸化速度