

鉄酸化細菌の挙動と酸化活性 - batch 実験を中心として -

岩手大学工学部 学 ○藤原 司 清水野 豊
正 Valentin Nenov 海田輝之 相沢治郎
正 大沼正郎 大村達夫

1. はじめに 鉄酸化細菌の Fe^{2+} 酸化活性やその挙動を把握することは、この細菌を用いたバクテリアリーチングや強酸性含鉄排水の生成、およびその処理を行なうために重要である。従来、この立場から鉄酸化細菌の Fe^{2+} 酸化活性に及ぼす種々の要因について検討されてきた。本研究ではこれまで比較的研究が行なわれていない、酸化活性に及ぼすD O、菌濃度、基質消費後からの経過時間の影響とこの細菌の種々の担体への付着特性について実験的に検討したものである。

2. 実験方法および操作 本実験に用いた鉄酸化細菌は、旧松尾鉱山跡新中和処理施設酸化槽より採取したものである。菌を維持するために、ポリタンクに表-1に示す9 K培地（以下では例えば Fe^{2+} が3g/lのものは3 Kとして表す）で通気培養し、 Fe^{2+} 濃度がほとんど0になった時点で、その液から500ml採取し、新しい9 K培地を加えるという操作を繰り返した。9 K培地の Fe^{2+} 濃度が100mg/lになった時点の菌をバッチ実験の植種菌とした。

表-1 9 K培地

Energy Source	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	300ml of a 14.47 % (W/V) solution
Basal Salts (g)		
	$(NH_4)_2SO_4$	3.0
	KCl	0.1
	K_2HPO_4	0.5
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5
	$Ca(NO_3)_2$	0.01
Distilled Water (ml)	700	
10N H_2SO_4 (ml)	1.0	

Fe^{2+} 酸化速度に及ぼすD Oの影響 植種菌は400mlとし、これに Fe^{2+} 濃度が3.5g/lとなるように培地100ml（9 K培地で

Fe^{2+} 濃度だけを変化させたもの）を加えた。まず、窒素ガスで曝気してD Oを下げ、その後所定のD O濃度を維持するため、マグネチックスターラーとエアープンプによる曝気を行なった。そして、 Fe^{2+} 濃度を経時的に測定した。

Fe^{2+} 酸化速度に及ぼす菌濃度の影響 植種菌を希釈し、初期の菌濃度を五段階に変化させたものを用いた。これを振とう培養し、 Fe^{2+} 濃度を経時的に測定した。

菌の活性度の時間変化 植種菌はポリタンクで9 K培地で通気培養し Fe^{2+} 濃度が0になった時点のものをそのままの状態を保っておいたものである。これに経時的に3 K培地100mlを加えて振とう培養し活性度を測定した。

担体付着実験 植種菌30mlと6 K培地120mlを合せたものに担体としてイオン交換樹脂（アンバーライト、IRA938）、ガラスビーズ（粒径0.35~0.5mm）、シリカサンド、活性炭（クレハ化学製、SP（平均径0.3mm）、MP（0.5mm））、砂（0.35~0.5mm）の6種類について、これらの20ml（みかけ体積）を振とう培養した。そして Fe^{2+} が消費された時点で上澄み液を全て取り除いた。これが初期操作である。次に、担体の入ったフラスコに6 K培地150mlのみを加え、振とう培養を繰り返し、 Fe^{2+} 濃度を経時的に測定した。なお、全ての実験は24℃で行ない、菌数は500倍の位相差顕微鏡でThomaの血球計算盤を用いて測定した。振とう培養については振とう幅2cm、振とう速度80rpmで行なった。 Fe^{2+} 濃度の測定はJ I SK1012 KMnO₄法を用いた。

3. 実験結果および考察

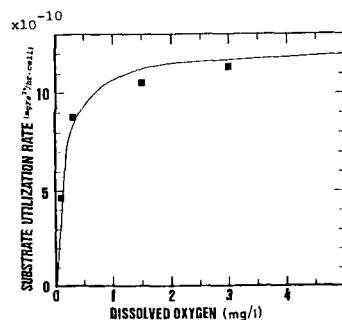


図-1 D Oと Fe^{2+} 酸化速度との関係

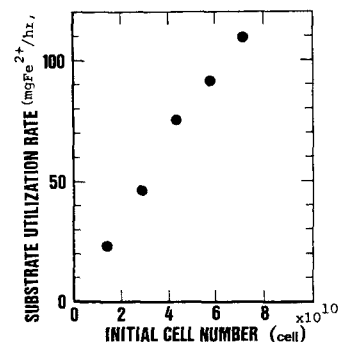


図-2 初期菌濃度の影響

図-1はD OとFe²⁺酸化速度との関係を示したものである。各実験においてD Oの変動は±0.1mg/l以下であり、初期Fe²⁺濃度が3.5g/lであるので酸化反応に関しては0次として扱えた¹⁾。これよりFe²⁺酸化速度 ν_{00} によぼすD O濃度の影響はLineweaver-Burkプロットより、

$$\nu_{00}(\text{mgFe}^{2+}/\text{hr}\cdot\text{cell}) = 1.24 \times 10^{-9} \text{D O} / (\text{D O} + 0.162)$$

として表せた。したがってD Oが1mg/l以上存在すればD Oに関しては0次反応と考えて十分である。

次に、Fe²⁺酸化速度に及ぼす初期の菌濃度 N_0 の影響についての実験結果を図-2に示す。これより本実験の範囲内においては、 N_0 の増加にしたがい線形的にFe²⁺酸化速度が増加することが分る。

図-3は9 K培地でFe²⁺が消費されてからの経過時間とFe²⁺酸化速度および菌数との関係を示したものである。本実験での計数値は必ずしも生菌数を示さないけれども、菌は4日で初期の菌数の1/5程度まで低下し、基質が消費されると比較的すみやかに死滅するといえる。また、菌1個当りのFe²⁺酸化速度も菌数と同様時間の経過とともに低下し、4日後以降では24時間以上バッチ実験を継続してもFe²⁺酸化活性は回復しなかった。

図-4はイオン交換樹脂(アンバーライト、IRA938)を用いた場合の担体への付着実験の結果を示したものである。付着の操作を繰り返すにしたがって、Fe²⁺酸化速度が大きくなっていることが分る。これは繰り返すたびに担体に菌が付着し、増殖することを示すものである。

また、IRA938の場合、3回程度繰り返せば十分に菌が担体に付着することが分る。この実験における最終付着菌数は $3 \times 10^9 \text{cell/ml-support media}$ 程度であった。図-5は種々の担体について菌が担体に十分に付着した状態における経過時間とFe²⁺濃度の関係を表している。ガラスビーズや砂、シリカサンドのように内部に空隙を有しない担体の場合、振とう時に担体間の衝突や摩擦により、担体表面に付着した水酸化第二鉄が脱離する場合もあった。鉄酸化細菌はこの水酸化第二鉄に付着し、その数も他の担体の場合に比べ少ないと考えられるので、これらの担体の場合には経過時間が短い時に、Fe²⁺酸化速度が遅くなっている。

一方、IRA938は内部に非常に大きな空隙を有しているので、鉄酸化細菌は主に担体内部に多数保持され、Fe²⁺酸化速度も大きくなる。活性炭の場合にはIRA938より空隙率が小さいため、付着菌数が少なくなりFe²⁺酸化速度も遅くなると考えられる。以上より、鉄酸化細菌の付着担体としては本実験の範囲内ではIRA938が最も適するといえる。

4. まとめ

鉄酸化細菌のFe²⁺酸化速度に及ぼすD Oの影響はMonod型で表され、 K_{mO} の値は0.16mg/lであり、かなり小さな値であった。また、鉄酸化細菌の付着担体としては、本実験で用いた担体ではイオン交換樹脂IRA938が最適であった。

〈参考文献〉

1)海田輝之、強酸性含鉄排水の処理に関する研究、東北大学工学部修士論文、1976。

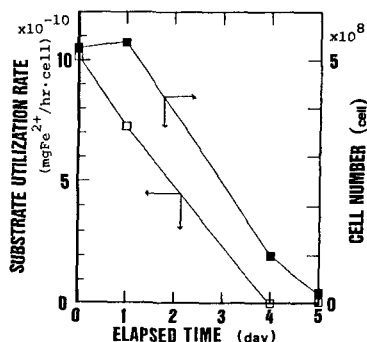


図-3 Fe²⁺酸化速度と菌数の経時変化

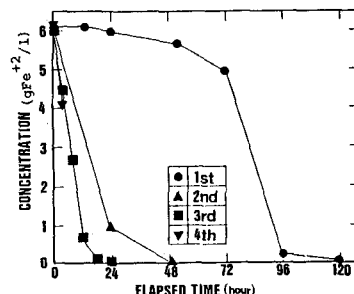


図-4 樹脂への菌の付着

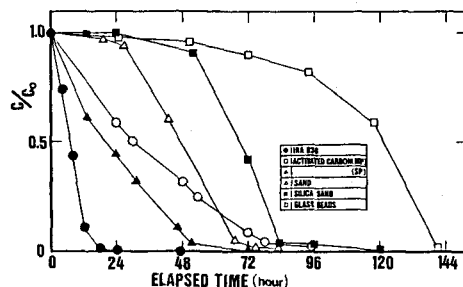


図-5 種々の担体への菌の付着