N-15

耐塩性好酸性鉄酸化細菌の探索
Search of Salt-tolerant Acidophilic Iron-oxidizing Bacteria

○小倉佳恵[1]，　谷川実[2]，　徳久真弓[2]，　西村克史[2,3]
* Kae Ogura[1], Minoru Tanigawa[2], Mayumi Tokuhisa[2], Katsushi Nishimura[2,3]

Abstract: Bacterial leaching is a method to extract metals from their ores by bacteria. The present investigation was conducted to recover metals, especially rare metals, in the sea and mines through the use of bacteria. In this study, we examined the effect of NaCl on *Acidithiobacillus ferrooxidans* and searched salt-tolerant acidophilic iron-oxidizing bacteria from natural world.

1.　目的

鉄酸化細菌は Fe^{2+} を Fe^{3+} に酸化して増殖する細菌である. 鉄酸化細菌の一種である好酸性鉄酸化細菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. ferrooxidans*) は, pH 2 の酸性条件下で Fe^{2+} を Fe^{3+} に酸化することによってエネルギーを得ている. また, この細菌は Fe^{2+} だけでなく, 硫黄化合物も酸化することが知られている. これらの性質から,　本菌はバクテリアリーチングに利用されている. バクテリアリーチングは細菌を用いて鉱石に含まれている金属を浸出・回収する方法である. 例として黄銅鉱 ($CuFeS_2$) から銅を浸出する方法を挙げる, $CuFeS_2$ は 式 (1) に示した反応によって $CuSO_4$ として浸出される.

$$CuFeS_2 + 2\,Fe_2(SO_4)_3 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow CuSO_4 + 5FeSO_4 + 2H_2SO_4 \quad (1)$$

この反応では, 生成する H_2SO_4 によって, pH が低くなるため, Fe^{2+} は O_2 が存在しても酸化されにくい. *A. ferrooxidans* は酸性下でも Fe^{2+} を Fe^{3+} に酸化することができるので, $CuFeS_2$ からの Cu^{2+} の浸出を連続的に行うことが可能となる. 同様に, Mn, Bi, Zn, Mo なども鉱石からバクテリアリーチングによって浸出することができる [1], [2]. また, 日本近海には大量のレアメタルが黒潮によって運ばれてくることが知られている [3] . 海水に含まれるレアメタルの回収方法について様々な研究が行われているが, 効率的な回収方法は確立されていない.

そこで本研究では, 海水や塩濃度の高い鉱石に含まれるレアメタルを回収することを目的とし, *A. ferrooxidans* の耐塩性を調べるとともに, 耐塩性の高い鉄酸化細菌の探索を行った.

2.　方法

2-1. *A. ferrooxidans* の耐塩性

バクテリアリーチングのモデル微生物として使用されている *A. ferrooxidans* が海洋中から回収した塩濃度の高い鉱物から金属を得られるか調べるために耐塩性の確認を行った. Silverman 9K 培地に NaCl (200, 400, 600, 800, 1000 mM) を加えたものを培地とした. *A. ferrooxidans* を植菌し, 振盪培養 (27℃, 110 rpm) し, Fe^{3+} を定量し, 生育曲線を作成した. 方法は 2-3 に示した. また, 対照として, Silverman 9K 培地のみ (Blank) と NaCl を含まない Silverman 9K 培地中で培養した *A. ferrooxidans* (Control) を用いた.

2-2. 耐塩性鉄酸化細菌の探索

耐塩性の高い鉄酸化細菌を探索するため, 千葉県 2 箇所, 山梨県 1 箇所, 栃木県 1 箇所, 神奈川県 7 箇所, 東京都 11 箇所, 長野県 4 箇所, 茨城県 5 箇所, 静岡県 1 箇所, 宮城県 1 箇所, 山形県 4 箇所, 愛媛県 1 箇所の計 38 箇所から土壌または水を採取した. 鉄酸化細菌は pH 2 で生育する *A. ferrooxidans* がよく知られているが, pH 3-4 で生育する鉄酸化細菌も存在する [4]. そのため, 採取したサンプルを pH 2.0 または pH 4.0 に調整した Silverman 9K 培地に接種し, 振盪培養 (27℃, 110 rpm) した.

2-3. Fe^{3+} の定量

鉄酸化細菌の生育は濁度で測定できないが, Fe^{2+} を Fe^{3+} に酸化して増殖するため, Fe^{3+} の定量を行った. 定量方法としてロダン塩法を用いた. サンプリングした培養液を希硫酸 (pH 2.0 または pH 4.0) で 500 倍希釈した. 希釈した培養液 0.2 mL に 10 mM チオシアン酸カリウム 2 mL を加え, 10 分間静置し, 生じたチオシアン酸鉄 (Ⅲ) の 460 nm における吸光度を測定し, 検量線より Fe^{3+} 濃度を算出した.

1：日大理工･学部･応化　2：日大理工･教員･応化　3：日大短大･教員･化学

3.　結果と考察

3-1. *A. ferrooxidans* の耐塩性

NaCl を加えた培地での *A. ferrooxidans* の生育を Fig. 1 に示した. 400 mM 以上の NaCl を加えた培地では *A. ferrooxidans* は生育しなかった. 一方, 200 mM NaCl を加えた培地では生育に遅延が見られた. 海水の NaCl 濃度は約 460 mM である [5]. そのため, 海洋中から回収した塩濃度の高い鉱物から金属を得るのに *A. ferrooxidans* は適していないと考えられた.

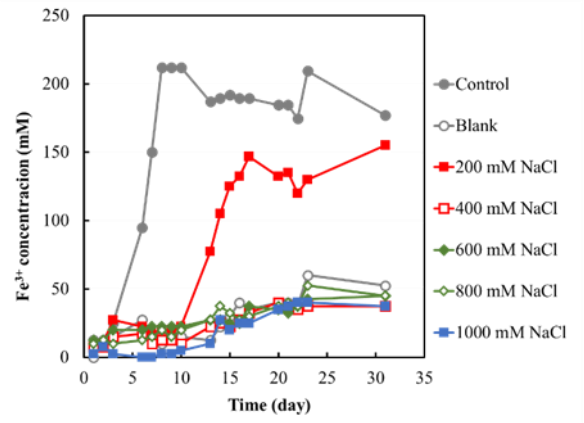

Fig. 1. *A. ferrooxidans* の耐塩性

3-2. 鉄酸化細菌の探索

本研究では, 長野県上高井郡の七味温泉付近から採取した土壌 (NN-D4) 以外の 37 箇所の土壌または水においては鉄酸化細菌の生育が確認できなかった.

一方, NN-D4 において, 鉄酸化細菌の生育が確認された (Fig. 2, 3). NN-D4 を採取した付近の土壌には硫黄が多く含まれていた. 鉄酸化細菌は Fe^{2+} を酸化するためこの名を持つが, 硫黄化合物も酸化することができるため [1], 硫黄が多く含まれている七味温泉付近の土壌中に存在していると考えられた. NN-D4 は pH 2, pH 4 の両方において *A. ferrooxidans* より生育に遅延が見られた. この結果から NN-D4 は *A. ferrooxidans* とは異なる種類の鉄酸化細菌であると考えられた.

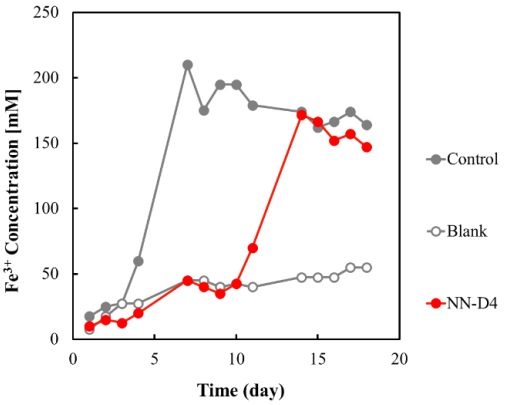

Fig. 2. NN-D4 中に存在する鉄酸化細菌の生育 (pH 2.0)

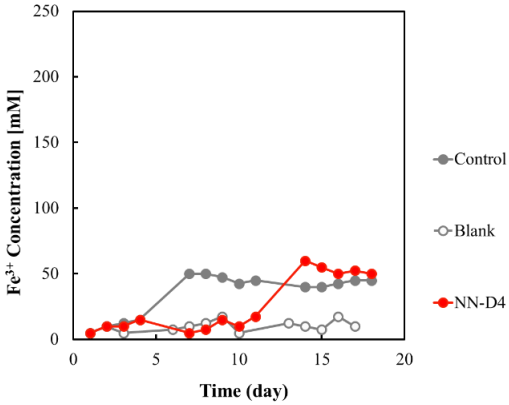

Fig. 3. NN-D4 中に存在する鉄酸化細菌の生育 (pH 4.0)

4.　参考文献

[1] 山中健生, 微生物の誘い, 培風館, 2001

[2] 山中健生, 微生物による地球表層の無機物の変換, 無機マテリアル 4(269), 319-329, 1997

[3] 須郷高信, 海水中に溶存するレアメタルの選択捕集材料の開発, 日本海水学会誌, Japan, 67(2), 85-91, 2013

[4] Yang Wang, et al., Analysis of the microbial community in moderately acidic drainage from the Yanahara pyrite mine in Japan, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 78 (7), 1274-1282, 2014

[5] 日本微生物生態学会編, 環境と微生物の事典, 朝倉書店, 2014