

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26289261

研究課題名(和文)細菌が酸性環境で作る酸化鉄の制御と特徴解明、機能開拓と鉱山廃水処理への応用の試み

研究課題名(英文)Formation of biogenic iron oxides in acid solutions, development of functions and mine-drainage treatment

研究代表者

高田 潤 (Takada, Jun)

岡山大学・自然科学研究科・教授

研究者番号：60093259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：特異な鉄酸化細菌を利用して行う新しい廃水処理方法の開発とその処理により形成する酸化鉄の機能開拓を目指して研究を展開した。得られた主な結果は次の通りである。(1)好酸性鉄酸化細菌単離菌 "E10" を合成培地で培養し、種々の培養条件(pHと温度)で形成する酸化鉄(S相とG相)の種類とその量比、さらにそれらの酸化鉄、特にS相の特徴を明らかにした。(2)好酸性鉄酸化細菌単離菌 "E10" を用いることにより、合成培地と同様に実鉱山坑廃水からFe²⁺イオンを効果的に除去できることを示した。(3)形成するオキシ酸化鉄は優れた重金属吸着機能(As(), Se(), Mo())を持つことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Treatment of acid mine drainage with acidophilic iron oxidizing bacterium and production of biogenic iron oxide minerals were investigated. The features of iron oxides, Schwertmannite and goethite, formed under various pH and temperature conditions with an acidophilic iron oxidizing bacterium "E10" were studied. The oxides were found to exhibit high adsorption of heavy metals, As(), Se(), and Mo()

研究分野：材料化学

キーワード：微生物由来酸化鉄 硫酸酸性環境 シュベルマナイト ゲータイト 単離菌 pHの影響 鉱山廃水 ナノ構造

1. 研究開始当初の背景

日本国内には銅鉱山の廃坑が数多く存在し、そこから強酸性の排水が毎日大量に排出されるため、様々な廃水処理(重金属およびpH処理)を行って一般河川に放水している。自然界での硫酸の高い強酸性(pH~3)の鉱山廃水や温泉廃水(図1)では、好酸性鉄酸化細菌が作るシュベルトナイト $Fe_8O_9(OH)_{8-2x}(SO_4)_x$ (図2)などの特殊な酸化鉄が生成し、砒素などの重金属を吸着し環境浄化に役立っている。しかし、この相が発見されて僅か約20年しか経っていないため研究例が少なく、単離菌(自然界から抽出した1つの細菌)を用いた実験室での培養の系統的研究がなされていないため、酸性環境下でバクテリアが作るオキシ水酸化鉄(以後、“酸性バイオ酸化鉄”と呼ぶ)とその形成過程などの詳細は明らかではない。



図1. 秋田県玉川温泉流域に見られる酸性バイオ酸化鉄褐色沈殿物

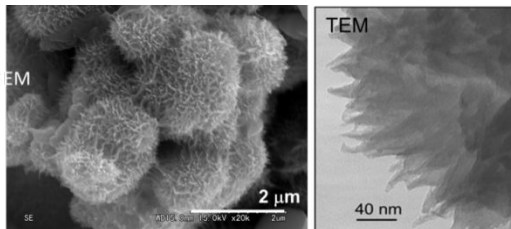
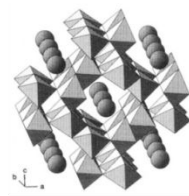


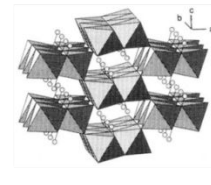
図2. Schwertmanniteの形状とナノ構造

2. 研究の目的

本研究では、特異な鉄酸化細菌を利用して行う新しい廃水処理方法の開発と、処理によって形成する酸化鉄を有効利用することを目指すものである。具体的には、共同研究者の宮田により単離された鉄酸化細菌GJ-E10を用いて、H26~H27年度は実験室でのモデル鉱山廃水について検討し、H28年度は実際の鉱山廃水(岡山県柵原鉱山)について検討した。ここで、形成する酸化鉄はシュベルトマナイト相(S相)とゲーサイト $-FeOOH$ (G相)である(図3)。本研究では、これらの相を形成条件(pHと温度)の選択によりS相とG相を作り分け、重金属吸着特性を明らかにするものである。



S相: Schwertmannite
<Tetragonal>



G相: Goethite
<orthorhombic>

図3. S相とG相の結晶構造図

3. 研究の方法

(1) 細菌培養による酸化物の形成

次の条件で培養し、酸性バイオ酸化物を生成する。pH範囲: pH=2.0~5.0、温度範囲: 25, 37, 45、時間: 6~36h(50hで反応終了)、 Fe^{2+} 濃度: 10~100 M/L。

また、鉱山廃水中の培養では、鉱山廃水をガラスフィルター(GF/F)でろ過後、さらに0.2 μmのメンブランフィルターでろ過滅菌した。

(2) バイオ酸化鉄の特徴の検討

単離菌E10により種々の条件で形成した酸性バイオ酸化鉄について、その特徴を様々な手法を用いて明らかにする。X線回折(XRD)による生成相、SEM/EDXによる形態と微細構造、構成元素比、SEM/EDXやTEMによるナノ構造、ナノ領域での生成相と元素分布、メスbauer分析からの化学状態。

(3) 鉱山廃水中の重金属処理

5L容器バイオリアクター装置を用いて、廃水量2L、曝気量1.5L/分、攪拌速度90 rpmの条件下、GJ-E10株による酸化鉄形成を試験した。その後、鉱山廃水中に残存する Fe^{2+} イオンは、o-フェナントロリンを用いた比色法で評価するために、試験終了時に酸化鉄を遠心分離(8,000 x g, 15分)で回収し、希硫酸、milliQ水で洗浄後、凍結乾燥した。

また、酸化鉄の結晶構造はXRDで解析を行った。Rigaku RINT2000、40 KV、20 mA、Cu、 2θ : 5~80°。さらに、結晶のナノ構造は透過電子顕微鏡TEMにて観察した。

4. 研究成果

(1) 25 °Cの硫酸酸性環境下において形成される酸化鉄の種類(S相とG相)はpHおよび温度に依存することを明らかにした。25 °Cでの形成相は次の通りである。即ち、pH2.5~3.0: シュベルトナイト(S相)単相、pH3.5~4.0: 二相共存(S相+G相)、pH2.2: 酸化鉄は形成されないことを見出した。これらの結果のまとめを図4に示す。

(2) 微生物由来酸化鉄S相とG相のナノ構造もpHに依存することを見出した。具体的には、pH3.0、25 °Cで形成されるS相は、直径1~2 μm程度のマリモ状形態、1次粒子: 幅~5nmの針状粒子であった。一方、pH3.8で形成されるG相は不定形形状を呈した。

(3) 25 °Cの硫酸酸性環境下における酸化鉄の形成時間は、化学合成で要する時間(120h)

と比較すると、微生物が原因で著しく加速（形成時間が短縮）することが明らかになった。即ち、S相はpH3.0で70h（図5）であるのに対して、G相はpH4で70hを要した。（4）S相が優れた重金属（砒素；As()）吸着機能を有することを見出した。つまり、S相はG相より重金属を顕著に吸着する（図6）。具体的には、G相が180 μg/mg-Feであるのに対して、S相は330 μg/mg-Feであり、吸着能はG相の約2倍を示す。

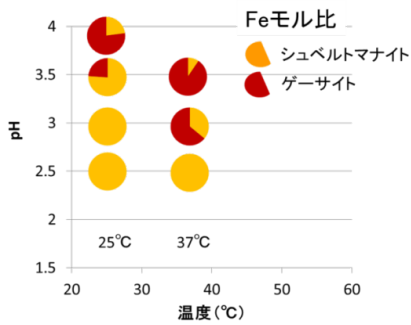


図4．形成酸化鉄の培養条件（温度、pH）の影響

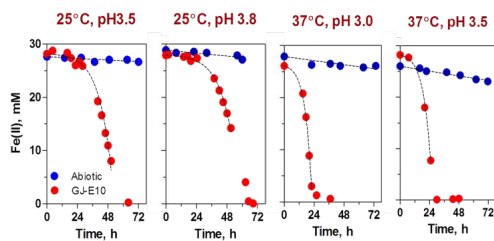


図5．E10株の培養液中でのFe²⁺の酸化：化学的酸化と生物的酸化の比較

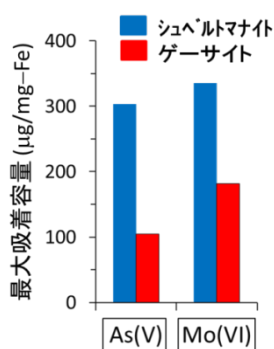


図6．酸化鉄のAs(V),およびMo(VI)イオン吸着特性

(5) 37における単離菌GJ-E10株による酸化鉄の形成を検討し、硫酸酸性環境下で形成する酸化鉄の種類はpHおよび温度に依存することを明らかにした。37では、25と比較して、G相が低pH域で生成する（図4）。pH2.5:シュベルトナイト(S相)単相、pH3.0~3.5:二相共存(S相+G相)。

(6) 微生物由来酸化鉄S相とG相のナノ構造と比表面積を明らかにした。S相(pH3.0, 25): 1次粒子:幅~5nmの針状粒子。比表面積:30m²/g。G相(pH3.5, 37):直径約5nmのナノ粒子。比表面積:133m²/g。(7) Fe²⁺ Fe³⁺の酸化反応は、化学合成で要する時間(120h)と比較すると、微生物が原因で著しく加速し、37では25よりも更に短時間で終了することが判った（図5）。即ち、pH3.0では37で36h、pH3.5では25で60hであるのに対して、37で30hであった。

(8) 機能開拓（図6）: 優れた重金属吸着機能をAs()以外にSe()およびMo()で見出した。S相はG相より顕著に吸着することを明らかにした。

(9) 鉱山坑廃水(pH 2.9、Fe²⁺ = ~900 mg/L)にGJ-E10株を植菌して25で振盪培養を行った。Fe²⁺イオン酸化量の経時変化から最大比増殖速度(μ_{max})を求めた結果、0.063 h⁻¹と算出された。NH₄-NおよびPO₄-Pを各々100 mg/L、50 mg/Lまで添加すると0.076 h⁻¹となり僅かに増加した。これらの最大比増殖速度は合成培地を用いた時と大きな差異は認められなかった(μ_{max}=0.1 h⁻¹)。

(10) ジャーファーマンター装置を用いて、培養試験を行った結果を図7に示す。GJ-E10株を植菌しない場合は、25および32ではFe²⁺イオンの酸化はほとんど進行しないことがわかった。GJ-E10株を植菌するとFe²⁺イオン濃度は大きく減少し、酸化鉄として沈積することを見出した。XRD解析の結果、25、pH 3.0の条件では、S相が生成していることが示された。一方、32、pH 3.5の条件ではS相とともにG相の生成が認められた(二相共存)。合成培地では培養温度、pHを上昇させることにより、G相を90%含む酸化鉄が得られている。今後培養条件を精査することにより、廃水からも純度の高いG相を生成可能であると考えられる。

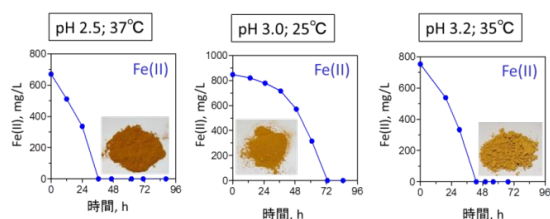


図7．E10株の培養液中でのFe²⁺の酸化：pHと温度の影響（リアクター試験）

以上をまとめると以下の通りである。

(1) 好酸性鉄酸化細菌単離菌GJ-E10株を合成培地で培養し、種々の培養条件(pHと温度)で形成する酸化鉄(S相とG相)の種類とその量比、さらにそれらの酸化鉄、特にS相の特徴を明らかにした。また、形成プロセスが細菌添加によって加速されることを見出し

た。

(2) 好酸性鉄酸化細菌単離菌 GJ-E10 株を用いることにより、合成培地と同様に実鉱山坑廃水から Fe^{2+} イオンを効果的に除去できることが示された。この過程で、培養条件によってはシュベルトマナイト(S相)に加えて、ゲーサイト(G相)が生成することが明らかになった。

(3) 形成酸化鉄、特に S 相について有害重金属の吸着特性を明らかにした。即ち、優れた重金属吸着機能: As() 以外に Se() および Mo() で機能を確認。 S 相は G 相より顕著に吸着する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

宮田直幸、東條ふゆみ、藤井達生、高田潤、
「好酸性鉄酸化細菌を利用した鉱山廃水処理および機能性酸化鉄の生産」、第 51 回日本水環境学会年会、熊本、2017.3.15

宮田直幸、土門ひかる、東條ふゆみ、藤井達生、橋本英樹、高田潤、「好酸性鉄酸化細菌 GJ-E10 株が形成する酸化鉄の金属イオン吸着特」、日本水処理生物学会第 52 回大会、福岡、2015.11.11~13

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://achem.okayama-u.ac.jp/iml/takada_tak/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 潤 (TAKADA, Jun)

岡山大学・大学院自然科学研究科・特任教授

研究者番号：60093259

(2) 研究分担者

宮田 直幸 (MIYATA, Naoyuki)

秋田県立大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：20285191

(3) 研究分担者

草野 圭弘 (KUSANO, Yoshihiro)

倉敷芸術科学大学・芸術学部・教授

研究者番号：40279039

(4) 研究分担者

藤井 達生 (FUJII, Tatsuo)

岡山大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号：10222259