

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510104

研究課題名(和文)好酸性細菌群による酸化鉄ナノ構造体形成を利用したレアメタル回収技術の開発

研究課題名(英文) Recovery of rare metals with biogenic iron hydroxide nanostructures produced by acidophilic iron oxidizing bacteria

研究代表者

宮田 直幸 (MIYATA, Naoyuki)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：20285191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、好酸性鉄酸化菌による酸化鉄ナノ構造体の生産系を確立し、微生物形成した酸化鉄を用いてレアメタル等の金属イオンの吸着回収を検討した。新規の好酸性鉄酸化細菌GJ-E10株を分離し、培養条件(温度、pH)を制御することにより、異なる構造特性をもつ酸化鉄ナノ構造体(シュベルトマナイト及びゲーサイト)を作製できるようになった。これらの酸化鉄のモリブデン酸等に対する吸着特性を調査解析し、レアメタル類の吸着剤として利用可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to show the applicability of biogenic iron hydroxides produced by acidophilic iron oxidizing bacteria for recovery of rare metals dissolved in water phase. A newly isolated bacterium, strain GJ-E10, was used to prepare the biogenic iron hydroxide minerals schwertmannite and goethite, which were produced independently by controlling the culture conditions. Sorption experiments showed that these biogenic minerals had high sorption capacities for metal ions including molybdate and arsenate and were expected to be useful in recovering these metal ions.

研究分野：環境微生物工学

科研費の分科・細目：2004

キーワード：好酸性鉄酸化菌 シュベルトマナイト ゲーサイト レアメタル回収

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、IT 関連産業、自動車産業等の先端産業で稀少金属類(レアメタル)の消費が急伸しているが、我が国にとってその安定確保は重要課題である。一方、産業廃水や埋立地浸出水等には、希薄濃度ではあるが多様な金属イオンが含まれるものも多い。現時点では回収効率や経済性の観点から再資源化は困難な状況にあるが、今後、高効率かつ経済的にレアメタルを濃縮回収する技術を開発し、金属濃度の希薄な廃水であっても、水質浄化と資源循環の両立を可能とするようなシステムの開発が期待される。

(2) このような社会的・技術的背景のもと、金属に対する微生物の多様な反応(吸着、蓄積、酸化還元、変換)を利用しようとする機運が国内外で高まっている。微生物利用によるレアメタル回収技術は、省エネルギーで環境負荷の低い技術として、既存の物理化学処理の代替、もしくはその一部を補完可能であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、水相中に溶存するレアメタル等の金属イオンを高効率で吸着回収するプロセスを開発することを最終目的として、次の検討を行うこととした。

ナノ構造をもつ酸化鉄粒子を産生する好酸性鉄酸化菌の培養系の確立

微生物が形成した酸化鉄粒子の特性解明

微生物が形成した酸化鉄粒子による金属イオンの吸着特性の解析

これらの研究を通して、微生物形成した酸化鉄粒子を用いたレアメタル等金属イオンの吸着回収の可否を検討する。

3. 研究の方法

(1) 酸性河川流域(秋田県内)の底質試料を分離源として、7 mM 硫酸第一鉄、1.25 g/L 硫酸アンモニウム、0.5 g/L 硫酸マグネシウム七水和物、5 mg/L リン酸水素二カリウム、及び微量金属塩を含む無機塩培地(pH 3.0)を用い、好酸性鉄酸化菌の集積培養系を構築した。この培養系を段階希釈した後、各希釈液を上と同じ培地に植種して培養する操作を繰り返し行い、単一菌の培養液を取得した。集積培養系の細菌群集構造は、16S rRNA 遺伝子を PCR 増幅した後、クローンライブラリーを作製して解析した。鉄酸化菌数及び従属栄養細菌数は、最確数(MPN)法で測定した。また単離菌株の 16S rRNA 遺伝子配列を解析し、分類同定した。

(2) ジャーファーマンター装置を用い、温度(25、37)及び pH(2.2~4.2)を制御しながら通気攪拌培養した。培地には、28 mM Fe²⁺を含む無機塩培地を用いた。培養液中の Fe²⁺濃度を比色法で経時的に定量し、次の対数増殖モデル式を用いて、最大比増殖速度

μ_{max} (/h)を算出した。

$$S = S_0 + X_0 \cdot [1 - \exp(\mu_{max} \cdot t)]$$

ただし、S: 基質濃度(Fe²⁺, mM)、S₀: 初期基質濃度(mM)、X₀: 初期の菌体密度を維持するのに必要な基質濃度(mM)、 μ_{max} : 最大比増殖速度(h⁻¹)、t: 時間(h)とした。

(3) 培養液中で生成した酸化鉄は希硫酸で洗浄後、脱イオン水で洗浄して風乾した。酸化鉄の構造特性は、粉末 X 線結晶回折(XRD)パターン測定、透過型電子顕微鏡(TEM)観察、及び BET 表面積測定により解析した。

(4) 微生物生成した酸化鉄試料(風乾物)をメノウ製乳鉢で微粉化した後、モリブデン酸[Mo(VI)]、セレン酸[Se(VI)]、クロム酸[Cr(VI)]、ヒ酸[As(V)]を一定量添加した溶液に懸濁し、pH 3~5 の範囲で、各金属イオンに対する吸着特性を調べた。溶液中の金属イオン濃度は ICP 質量分析装置を用いて定量した。

4. 研究成果

(1) 酸性河川由来の試料より調製した好酸性鉄酸化菌の集積培養系について、細菌群集構造を解析した結果、*Acidoceella* 属等に近縁の従属栄養細菌が見出されたほか、既知の配列とは一致しないクローンも検出された。菌数(MPN)は、好酸性鉄酸化菌が 1.7 × 10⁸ MPN/mL、従属栄養細菌が 1.4 × 10⁵ MPN/mL であった。その後、好酸性鉄酸化細菌 GJ-E10 株(当初は E1010 株と称した)が単離された。本菌株の 16S rRNA 配列を解析した結果、群集解析で検出された未知のクローン配列は本菌由来であることが判明した。GJ-E10 株は β-プロテオバクテリア綱に属する新規の好酸性鉄酸化細菌であった(図1)。

(2) GJ-E10 株による鉄酸化に及ぼす培養温度

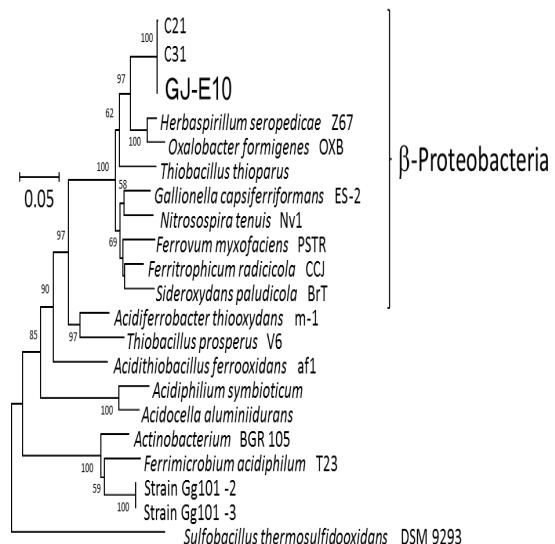


図1. 16S rRNA 遺伝子配列に基づく好酸性鉄酸化細菌 GJ-E10 株と近縁種の分子系統樹

と pH の影響を調べた結果、25 °C では pH 2.5 ~ 3.5 で Fe^{2+} 酸化が最も速く進行し (図 2, 3) その時の最大比増殖速度は 0.096 ~ 0.100/h と算出された。培養温度 37 °C で試験したところ、 Fe^{2+} 酸化は pH 3.0 で最も速く、また最大比増殖速度は 25 °C のときと比較して約 2 倍に上昇することが示された (図 2, 3)。

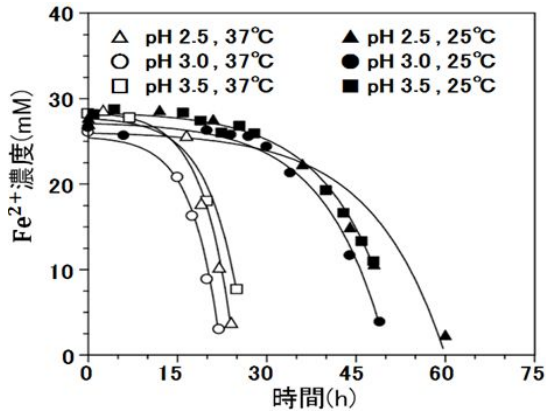


図 2. GJ-E10 株による鉄酸化に及ぼす培養条件の影響

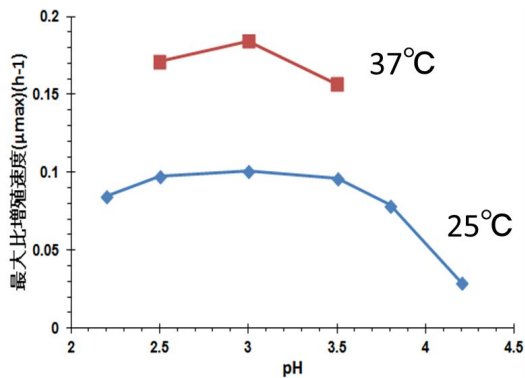


図 3. GJ-E10 株の最大比増殖速度に及ぼす培養条件の影響

(3) (2) で示した種々の培養条件で生成した酸化鉄を回収し、XRD パターンを解析して鉱物相の同定を試みた。25 °C では、pH 2.5 及び 3.0 でシュベルトマナイト [$\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_6\text{SO}_4$] が生成したが、pH を 3.5, 3.8 に上昇させると、ゲーサイト ($\alpha\text{-FeOOH}$) が混在していた (図 4)。さらに、37 °C では、pH 3.5 においてゲーサイトを主成分とする酸化鉄が得られることが明らかになった。好酸性鉄酸化細菌を用いてゲーサイトを主体とする酸化鉄を生成したとの報告は未だなされておらず、本研究により、当該微生物を利用してゲーサイト粒子を調製することが可能になった。

シュベルトマナイト (pH 3.0, 25 °C で生成) およびゲーサイト (pH 3.5, 37 °C) の TEM 像を図 5 に示す。また比表面積は、シュベルトマナイトで $30 \text{ m}^2/\text{g}$ 、ゲーサイトで $133 \text{ m}^2/\text{g}$ であった。特にゲーサイトは非常に高い表面

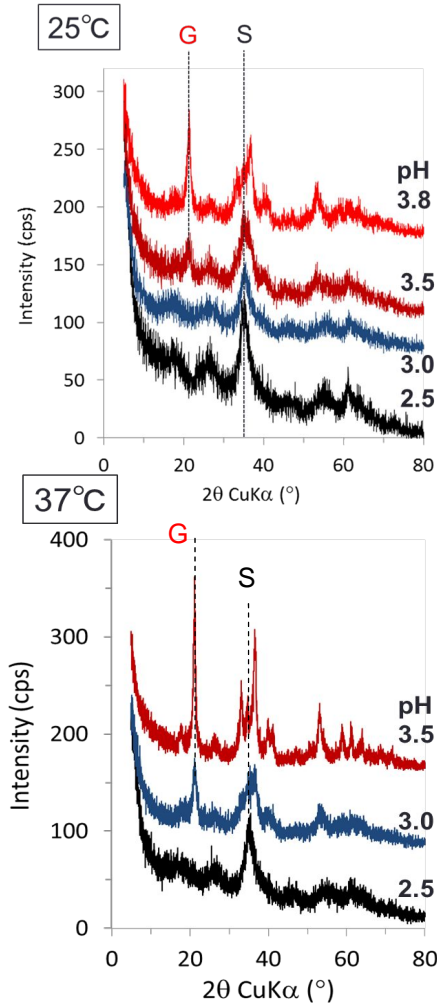


図 4. GJ-E10 株の培養液中で生成した酸化鉄の XRD パターン (培養温度: 25, 37 °C)

G: ゲーサイトの主ピーク

S: シュベルトマナイトの主ピーク

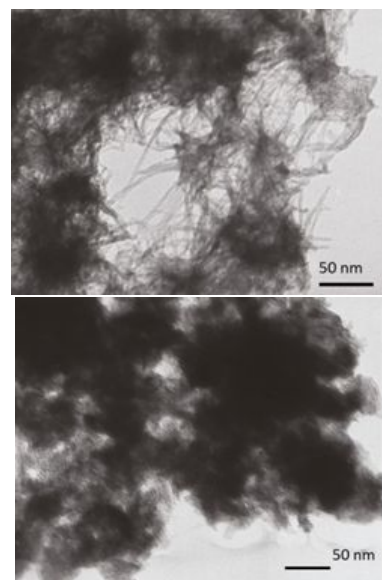


図 5. GJ-E10 株の培養液中で生成した酸化鉄の TEM 像

(上) シュベルトマナイト、(下) ゲーサイト

積を有していることから、金属イオンに対して高い吸着容量をもつことが期待された。

(4) GJ-E10 株の培養液中で生成した2種の酸化鉄について、Mo(VI)とAs(V)に対する吸着等温線(28℃、pH 4.0、10 mM 硫酸ナトリウム存在下)を作成し、ラングミュア式を用いて最大吸着容量を求めた。その結果、Mo(VI)ではシュベルトマナイトで 149 mg/g (52 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$)、ゲーサイトで 67.8 mg/g (5.3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$)、As(V)ではシュベルトマナイトで 58.2 mg/g (26 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$)、ゲーサイトで 49.0 mg/g (4.9 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$)と算出された(図6)。これらの結果から、シュベルトマナイトの方が表面積は小さいが、Mo(VI)、As(V)に対する吸着能力が高いといえる。しかし本研究で得られたゲーサイトにおいても、一般的に合成される高結晶性のゲーサイトと比較して、表面積は格段に高く、吸着容量も大きいことが示された(例えば、一般的な化学合成品の表面積 30~50 m^2/g 、As(V)吸着容量: 13~15 mg/g)。また本吸着実験では、10 mM 硫酸イオン(960 mg/L)の共存下で実施したが、過剰の硫酸イオンが存在しても、少なくともこれらの金属イオンの吸着には大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

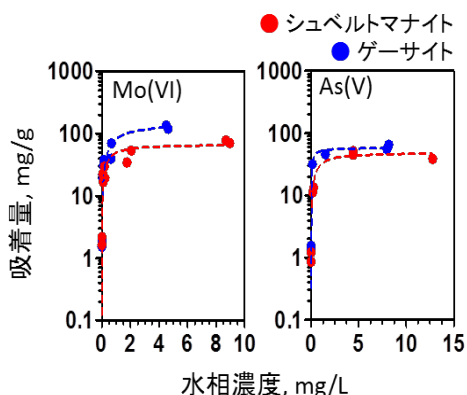


図6. GJ-E10 株の培養液中で生成したシュベルトマナイトとゲーサイトの Mo(VI)及び As(V)に対する吸着等温線

シュベルトマナイトによる Mo(VI)、As(V)、Se(VI)、Cr(VI)の吸着に及ぼす pH の影響を調べた結果を図7に示す。なお 10 mM 硫酸イオン共存下で試験した。本実験では Mo(VI)の添加濃度は他と比較して低濃度であった。Mo(VI)、Se(VI)、As(V)では、弱酸性領域において pH の影響は殆ど認められず、ほぼ一定の吸着量であった。この結果は、幅広い pH 条件でこれらの金属イオンを吸着回収できることを示唆している。一方で、Cr(VI)では、他と比較して吸着量が低かったことに加え、pH の影響を大きく受け、少なくとも弱酸性域では吸着回収が困難であることが示された。

(5) 本研究では、新規好酸性鉄酸化細菌

GJ-E10 株を分離し、培養特性及び酸化鉄の構造特性を精査することにより、2つの酸化鉄ナノ構造体 シュベルトマナイト及びゲーサイトの生産系を確立することができた。これらの酸化鉄は、オキシ陰イオンの形態をもつレアメタル類等の吸着能力が高く、これらの金属イオンの吸着回収に適用可能であることが示された。

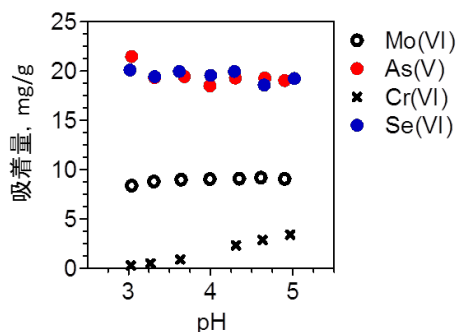


図7. GJ-E10 株の培養液中で生成したシュベルトマナイトによる金属オキシ陰イオンの吸着特性(pHの影響) 初期 Mo(VI):3.5 mg/L、As(V):9.5 mg/L、Cr(VI):9.9 mg/L、Se(VI):15 mg/L

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)

[学会発表](計3件)

宮田直幸、高橋安弥人、岡野邦宏、尾崎保夫、藤井達生、橋本英樹、高田潤: 好酸性鉄酸化細菌による酸化鉄形成に及ぼす培養条件の影響、日本水処理生物学会第50回大会、神戸市、2013.11.14.

宮田直幸、坂本千穂美、岡野邦宏、尾崎保夫、橋本英樹、木村倫康、高田潤、成田修司、佐々木純恵: 玉川温泉下流域における鉄酸化細菌の生態とその金属動態への関与、第46回日本水環境学会年会、東京都、2012.3.14.

N. Miyata: Biogenic manganese and iron oxide nanoparticles and interactions with metal oxides, IUMS International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (IUMS 2011), Sapporo, 2011.9.7.

[その他]

ホームページ等

<http://www.akita-pu.ac.jp/bioresource/dbe/co/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮田直幸 (MIYATA, Naoyuki)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号: 20285191

(2)連携研究者

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