好酸性・好熱性細菌 *Acidianus brierleyi* による 海底熱水硫化鉱物からの亜鉛のバイオリーチング

小 西 康 裕*・西 村 博 貢**
関 英 典***

Bioleaching of Zinc from Seafloor Hydrothermal Ore Deposit by Acidophilic Thermophile *Acidianus brierleyi*

Yasuhiro KONISHI, Hirotugu NISHIMURA
and Hidenori SEKI

This paper describes the bioleaching of zinc from seafloor hydrothermal deposit by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi*. The bioleaching of zinc at 65°C in a batch reactor was carried out most satisfactorily at solution pH of 1.5, initial total cell concentration of 1×10^{13} cells/m³ and initial mineral/liquid loading ratio of 5 kg/m³. Under the conditions determined as optimum, greater than 90% leaching of zinc in the mineral sample (38–53 μm) was achieved within 6 days. The bioleaching rate of zinc for the seafloor hydrothermal mineral sample was compared with that for a land sphalerite sample from the Hanaoka Mine. Nearly identical bioleaching rates were obtained for the two mineral samples from different localities.

Key words: Bioleaching, Thermophilic bacteria, *Acidianus brierleyi*, Zinc, Submarine resources, Seafloor hydrothermal deposits

1. 結 言

深海底にはマンガン団塊、コバルトリッチクラスト鉱床、海底熱水鉱床が、未来の鉱物資源として眠っている。その中で、海底熱水鉱床は、海底から噴出する熱水中の金属成分が沈殿・堆積した多金属硫化物鉱床であり、日本周辺にも多く存在している。近年、沖縄本島沖で発見された海底熱水鉱床は、陸上の黒鉱鉱床と類似し、銅、亜鉛等のベースメタルおよび金、銀等の貴金属を含み、その品位の高さや鉱床の規模から注目されている^{1,2)}。

海底熱水鉱床は、既存の黒鉱鉱床に類似していること

から、その製錬においても陸上資源に対する物理的・化学的技術が適用できるものと考えられる。今後ますます資源・環境問題が深刻化すると予想されることから、低環境負荷・低コストの浸出技術としてバイオリーチングに着目し、このバイオ技術が海底熱水硫化鉱物からの有価金属の浸出に対して適用できるかどうかを検討することは意義深いことである。

バイオリーチングに関しては数多くの研究が行われており、その成果は幾つかの総説³⁻⁷⁾、成書⁸⁻¹⁰⁾に紹介されている。バイオリーチングに関する研究報告の大部分は陸上鉱物を対象にしているが、深海底鉱物マンガン団塊（酸化鉱物）のバイオリーチングに関する研究も幾つか報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。また、マンガン団塊の微生物処理システムを提案し、有価金属の浸出とそのダウンストリームプロセスについて検討が加えられている¹⁵⁾。しかしながら、海底熱水鉱床から採取された鉱物資源を対象としたバイオリーチングに関する研究はこれまでに全く報告されていない。

* 正会員 工博 大阪府立大学大学院教授 工学研究科物質系専攻化学工学分野

** 非会員 大阪府立大学大学院学生 工学研究科物質系専攻化学工学分野

*** 非会員 大阪府立大学学部学生 工学部化学工学科
平成14年6月28日受理

海底熱水硫化鉱物に対するバイオリッチングの可能性を検討するうえで、浸出用細菌の選定は重要である。一般的な浸出用細菌である中温性細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* (生育最適 pH ~ 2, 最適温度 30°C) に比べて、好熱性細菌 *Acidianus brierleyi* (生育最適 pH1 ~ 2, 最適温度 60 ~ 70°C) が陸上の各種硫化鉱物 (黄銅鉱, 閃亜鉛鉱, 黄鉄鉱) に対して非常に優れた浸出能力を発揮することが明らかにされている¹⁶⁻¹⁸⁾。本研究では、好熱性細菌 *A. brierleyi* を用いて海底熱水硫化鉱物の浸出実験を行い、有価金属の浸出速度に及ぼす各種操作因子の影響を実験的に検討する。また、本海底鉱物試料と類似の組成をもつ陸上鉱物に対しても浸出実験を行い、両鉱物試料に対する *A. brierleyi* の浸出能を比較する。

実験方法

2.1 試料

海底熱水性鉱物試料は、日本近海から採取された鉱物を粉砕して 38 ~ 53 µm に篩分け、蒸留水による洗浄を 2 度繰り返した後、室温で乾燥させたものである。本試料の粉末 X 線回折パターン (Cu-Kα 線, 50 KV, 200 mA) を測定した結果、閃亜鉛鉱を主成分とする試料であることが確認された。本試料の化学組成は、40.3 wt% Zn, 5.52 wt% Fe, 3.26 wt% Cu, 4.09 wt% Pb, 28.0 wt% S であった。

海底熱水鉱物試料と陸上鉱物資源との浸出挙動を比較するために、陸上から採取された閃亜鉛鉱を対象にしてバイオリッチング実験を行った。閃亜鉛鉱試料としては、花岡鉱山産 (秋田県) の高品位精鉱を粉砕して 38 ~ 53 µm に篩分け、アセトンおよび蒸留水で洗浄して用いた。閃亜鉛鉱精鉱の化学組成は、61.3 wt% Zn, 1.55 wt% Pb, 1.52 wt% Fe, 0.52 wt% Cu, and 32.2 wt% S であった。

本研究で使用した好酸性・好熱性細菌 *A. brierleyi* は、ドイツ微生物保存機関 DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) から分譲された DSMZ 1651 株である。本細菌の植え継ぎ培養では、DSMZ のカタログ (1989 版) に記載された *A. brierleyi* 培地から元素硫黄を除いたものに、5 kg/m³ の硫化鉱物試料を添加した培地 (pH1.5) を用いた。この改変 *A. brierleyi* 培地の液相組成は、9 K 液体培地¹⁹⁾ の FeSO₄ · 7H₂O を除いて、0.05 W/V% の酵母エキスを補足したものと同一である。酵母エキスの補足は、*A. brierleyi* の細胞分裂を促進する効果がある²⁰⁾。回転式振とう機 (回転数 120 rpm) を用いて 65°C で植え継ぎ培養 (約 5 日の間隔) を繰り返した結果、8 回目以降の植え継ぎ培養実験では硫化鉱物試料の浸出速度がほぼ等しくなったことから、*A. brierleyi* は本試料に馴化したと見なした。

2.2 浸出実験

浸出用反応器としては、恒温水槽内に設置した容量 500 cm³ のガラス製通気攪拌槽を用いた。攪拌翼は直径 3.0 cm のパドル型攪拌翼 (テフロン製) であり、その攪拌回転数は 500 rpm である。浸出実験では、攪拌槽を空気に関して連続式、浸出液に関して回分式で操作した。浸出液への空気の供給は、ガス分散器 (直径 15 mm のガラス球に内径 1 mm の穴を 10 箇所あけたもの) を通して、主に 1000 cm³/min の通気速度で行われた。蒸発による浸出液量の減少を防止するために、攪拌槽の空気出口部分に冷却管を取り付けた。浸出液の初期組成は、上記の改変 *A. brierleyi* 培地の液相組成と同一である。大部分の浸出実験は 65°C, pH 1.5 の一定条件下で行われた。また、初期菌体濃度は 1.0 × 10¹² cells/m³ から 5.0 × 10¹³ cells/m³ まで変化させ、初期鉱物試料と溶液の混合比は 2.5 ~ 20 kg/m³ の範囲で変化させた。

浸出実験を開始した後、ほぼ 1 日ごとに浸出液の pH を測定し、初期 pH 値からの変化が認められた場合には KOH で初期値に調整した。pH の測定にあわせて、適当な時間間隔で約 1 cm³ の液試料を採取し、直ちに蒸留水を用いて 20 ~ 50 倍に希釈した。液相菌体濃度は、細菌計算盤を用いてビデオ装置付き光学顕微鏡下 (500 倍) で計測した。なお、菌数の本測定法には ± 11% の相対誤差を伴う。また、液試料の希釈液をマイクロフィルター (孔径 0.22 µm) を使って濾過した後、液相金属濃度をイオンクロマトグラフ法 (機器本体: HIC-6A, 検出器: SPD-6AV (紫外可視分光光度計), 島津製作所) で測定した。各金属の浸出率は、液相金属濃度の実測値と鉱物試料の初期金属含有率から求められた。

実験結果および考察

3.1 *A. brierleyi* による金属の浸出

Fig. 1 に、海底熱水硫化鉱物に対する浸出実験の結果を示す。無菌の場合には (図中の○印)、6 日間の回分操作で亜鉛浸出率は僅かに 20% 程度であり、鉄の浸出は起こらなかった。一方、*A. brierleyi* を接種した場合には、操作時間の経過に伴って、液相菌体濃度が増加するとともに、亜鉛浸出率が著しく増大したことから、*A. brierleyi* が海底熱水硫化鉱物を基質 (栄養源) として生育していることが示唆される。鉱物試料中の閃亜鉛鉱は *A. brierleyi* の触媒作用によって酸化されたと考えられ、その総括反応は次式で表される:

6 日間の回分操作において亜鉛浸出率は pH 1.2 ~ pH 1.5 で約 90% に達しており、海底熱水硫化鉱物に対する

Fig. 1 Effect of solution pH on rates of bacterial growth, iron leaching and zinc leaching from seafloor hydrothermal deposit.

浸出用細菌として好熱性細菌 *A. brierleyi* の利用が有効であることが確認された。また、亜鉛浸出率に及ぼす溶液 pH の影響を pH 1.2 から pH 2.0 の範囲で調べた。pH 1.2 ~ pH 1.5 の場合には、液相菌体濃度や亜鉛浸出率の経時変化に及ぼす溶液 pH の影響は現われなかった。

本研究に用いた海底熱水硫化鉱物には、その主成分である閃亜鉛鉱の他に、5 wt% 程度の鉄成分が共存している。本試料から液相に亜鉛が浸出されるに伴い、1 日目で鉄浸出率は 40% ~ 70% 程度に増加したが、それ以降では鉄浸出率がほとんど増加しなかった。また、溶液 pH を pH 1.2 から pH 2.0 に高めると、鉄浸出率は 70% から 40% まで減少した。鉄の浸出挙動については、次のように推測される。すなわち、硫化鉱物の浸出に伴って第二鉄イオンや硫酸イオンの液相濃度が増加するが、酸性条件下でも加水分解される第二鉄イオンはその大半が含 Fe (III) 沈殿物 [ジャロサイト, $(K, Na, (NH_4) Fe_3(SO_4)_2(OH)_6$] になっていると考えられ、この傾向は溶液 pH 値が増加するに伴って顕著になる。その結果として、液相鉄濃度の分析値から求めた鉄浸出率が、実際の浸出率よりも見かけ上は減少したと考えられる。

Fig. 2 Effect of initial cell concentration X_{T0} on rates of bacterial growth and zinc leaching from seafloor hydrothermal deposit.

本鉱物試料のように鉄成分を含む閃亜鉛精鉱では、化学浸出剤となる第二鉄イオンが鉱物自身の溶解で供給されることになる。このような閃亜鉛鉱のバイオリーチングでは、直接浸出機構（鉱物に付着した細菌による微生物的浸出）と間接浸出機構（第二鉄イオンによる化学的浸出）の両方が関与する可能性がある。本実験条件下では、鉱物試料中の鉄含有率が 5% 程度と少ないうえに、浸出された第二鉄の大半がジャロサイトとして浸出液から沈殿・除去される。例えば、Fig. 1 に結果を示す浸出実験では（溶液 pH 1.5, 初期鉱物—溶液混合比 5 kg/m³）、液相第二鉄濃度は 0.14 kg/m³ 以下と測定された。このように浸出液の第二鉄濃度が低レベルであることから、第二鉄イオンによる化学的浸出の寄与は非常に小さく、*A. brierleyi* による直接的浸出が支配的に起こると考えられる。

Fig. 2 に、亜鉛の浸出速度（亜鉛の浸出率 α の経時変化）、増殖速度（液相菌体濃度 X_L の経時変化）に及ぼす初期菌体濃度 X_{T0} の影響を示す。細菌の接種量を 1.0×10^{13} cells/m³ から 5.0×10^{13} cells/m³ に増加させても、亜鉛の浸出率、液相菌体濃度の経時変化はあまり変化しない。ただし、初期菌体濃度を 1.0×10^{13} cells/m³ から 1.0×10^{12} cells/m³ まで 1/10 に低下させると、亜鉛の浸出率が低下した。効果的な浸出操作を行うためには、*A. brierleyi* 細胞を 1.0×10^{13} cells/m³ の濃度レベルで接種することが明らかになった。

Fig. 3 に、亜鉛の浸出挙動に及ぼす初期鉱物—溶液混合比 W_0/V の影響を示す。鉱物試料の初期添加量が W_0/V

Fig. 3 Effect of initial mineral/liquid loading ratio W_0/V on rates of bacterial growth and zinc leaching from seafloor hydrothermal deposit.

$= 2.5, 5.0 \text{ kg/m}^3$ の場合、亜鉛浸出率および液相菌体濃度の経時変化には大差がないことがわかる。しかし、鉱物試料の添加量を $W_0/V = 5.0 \text{ kg/m}^3$ から $W_0/V = 20 \text{ kg/m}^3$ に高めるに伴い、亜鉛浸出率および液相菌体濃度がともに著しく減少した。回分反応器への海底熱水硫化鉱物の添加量としては、 $W_0/V = 5.0 \text{ kg/m}^3$ が最適値であると考えられる。

3.2 陸上鉱物との浸出速度の比較

Fig. 4 は、陸上鉱物試料（高品位閃亜鉛鉱精鉱）に対するバイオリーチング実験の結果（図中の○印）を、海底熱水硫化鉱物の実験データ（図中の△印）と比較したものである。両鉱物試料に対する液相菌体濃度の経時変化がほぼ一致したことから、海底鉱物と陸上鉱物の両試料において硫化鉱物（細菌の栄養源）の含有量には大差がないと考えられる。これは、上述したように、両鉱物試料の硫黄含有率が同程度であることから裏付けられる。このような両鉱物試料に対して亜鉛浸出率がほぼ一致したことから、海底熱水硫化鉱物に対しても陸上硫化鉱物と同様に、*A. brierleyi* の硫化鉱物に対する浸出能が発揮されることがわかる。

海底熱水硫化鉱物からの亜鉛の浸出速度を定量的に把握するために、数理モデルを用いて速度解析した。回分式反応器における閃亜鉛鉱のバイオリーチングについては、浸出速度を合理的に説明できる数理モデル¹⁷⁾が提案されている。閃亜鉛鉱のバイオリーチングでは、全菌体濃度 X_T 、浸出率 α の経時変化は次式で表される：

Fig. 4 Comparison of rate data on bioleaching of zinc between seafloor hydrothermal deposit and land sphalerite obtained at Hanaoka Mine.

$$dX_T/dt = \mu_A X_A \theta_v (W_0/V) (1 - \alpha)^{2/3} \quad (2)$$

$$d\alpha/dt = (dX_T/dt) / [(W_0/V) Y_A] \quad (3)$$

$$X_T = X_A (W_0/V) (1 - \alpha)^{2/3} + (1 - \phi) X_L \quad (4)$$

$$X_A = K_A X_{Am} X_L / (1 + K_A X_L) \quad (5)$$

$$\theta_v = (X_{Am} - X_A) / X_{Am} \quad (6)$$

$$Y_A = [(X_T - X_{T0}) V] / (\alpha W_0) \quad (7)$$

ここで、 K_A は吸着平衡定数、 t は時間、 V は鉱物試料と浸出液の混合物体積、 W_0 は初期硫化鉱物質量、 X_A は硫化鉱物単位質量あたりの吸着菌体濃度、 X_{Am} は硫化鉱物単位質量あたりの細菌飽和吸着量、 X_L は液相菌体濃度、 X_{T0} は初期菌体濃度、 Y_A は硫化鉱物を基質とする増殖収率、 θ_v は硫化鉱物表面の細菌細胞の未吸着活性点分率、 μ_A は硫化鉱物に吸着した細菌の比増殖速度、 ϕ は固液混合物中の硫化鉱物の体積分率である。

Fig. 4 の曲線は、上記の数理モデル (2) ~ (7) 式に基づく計算結果を表す。なお、計算に必要な吸着パラメータ（吸着平衡定数 $K_A = 4.21 \times 10^{-15} \text{ m}^3/\text{cells}$ 、飽和吸着量 $X_{Am} = 2.28 \times 10^{13} \text{ cells/kg}$ ）および増殖パラメータ（比増殖速度 $\mu_A = 3.6 \text{ d}^{-1}$ 、菌体収率 $Y_A = 0.841 \times 10^{14} \text{ cells/kg}$ ）としては、*A. brierleyi*—閃亜鉛鉱（陸上鉱物）系に対する

既往の測定値¹⁷⁾を使用した。数理モデルに基づく計算結果は、亜鉛浸出率、液相菌体濃度の経時変化に関する測定値と一致したことから、数理モデルを用いて海底熱水硫化鉱物からの亜鉛の浸出速度を定量的に把握できることが確認された。

4. 結 言

好酸性・好熱性細菌 *A. brierleyi* による海底熱水硫化鉱物 (38 ~ 53 μm) のバイオリーチング実験を、液回分式通気攪拌槽を用いて行い、亜鉛浸出率、液相菌体濃度の経時変化を測定した。浸出液に *A. brierleyi* を接種することにより、亜鉛浸出率は著しく増大し、最適浸出条件 (65°C, 溶液 pH 1.5, 初期全菌体濃度 1×10^{13} cells/m³, 初期鉱物試料—溶液混合比 5 kg/m³) では 6 日間の回分操作で亜鉛浸出率が 90% に達した。海底熱水硫化鉱物および陸上閃亜鉛鉱に対して、*A. brierleyi* による亜鉛の浸出速度は一致し、既往の数理モデルを用いて亜鉛の浸出速度が定量的に把握できた。陸上の各種硫化鉱物に対して有効な浸出用細菌である *A. brierleyi* が、海底熱水硫化鉱物のバイオリーチングでも優れた浸出能を発揮することが明らかになった。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、海底熱水硫化鉱物試料は金属鉱業事業団より提供して頂いた。ここに、記して心より謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 飯笹幸吉：金属鉱業事業団“第2回深海底鉱物資源に関するシンポジウム(東京)”講演要旨集, pp. 15-23 (2001)
- 2) 関本真紀：金属鉱業事業団“第2回深海底鉱物資源

- に関するシンポジウム(東京)”講演要旨集, pp. 25-37 (2001)
- 3) S.R. Hutchins, M.S. Davidson, J.A. Brierley, C.L. Brierley; Ann. Rev. Microbiol., 40, pp. 311-336 (1986)
- 4) B.C. Kelley, O.H. Tuovinen: Chemistry and Biology of Solid Waste (W. Salomons and U. Forstner, eds.), Springer (Berlin), pp. 33-53 (1988)
- 5) A.E. Torma: Mineral Bioprocessing (Smith, R.W. and Misra, M., eds.), The Minerals, Metals, and Materials Society (Warrendale, USA), pp. 43-55 (1992)
- 6) 小西康裕：高温学会誌, 27, pp. 28-34 (2001)
- 7) 甲斐敏美・高橋武重：グリーンバイオテクノロジー(海野肇, 岡畑恵雄 編), 講談社, pp. 167-176 (2002)
- 8) G. Rossi: Biohydrometallurgy, McGraw-Hill (Hamburg), 1990
- 9) H.L. Ehrlich: Geomicrobiology, 2nd edition, Marcel Dekker (New York), 1990
- 10) 千田 信：微生物資源工学, コロナ社 (1996)
- 11) 中澤 廣・工藤尚文・陳 明・佐藤敏人：資源と素材, 105, pp. 470-474 (1989)
- 12) Y. Konishi, S. Asai, Y. Sawada: Metall. Mater. Trans. B., 28B, pp. 25-32 (1997)
- 13) H.L. Ehrlich: Min. Metall. Process., 17, pp. 121-128 (2000)
- 14) A. Kumari, K.A. Natarajan: Eur. J. Min. Process. Environ. Protech., 1, pp. 10-24 (2001)
- 15) 小西康裕：日本海水学会誌, 51, pp. 314-318 (1997)
- 16) Y. Konishi, S. Yoshida, S. Asai: Biotechnol. Bioeng., 48, pp. 592-600 (1995)
- 17) Y. Konishi, H. Nishimura, S. Asai: Hydrometallurgy, 47, pp. 339-352 (1998)
- 18) 小西康裕・浅井 悟・徳重雅彦・鈴木 徹：資源と素材, 115, pp. 585-590 (1999)
- 19) M.P. Silverman, D.G. Lundgren: J. Bacteriol., 77, pp. 642-647 (1959)
- 20) C.L. Brierley: J. Less-Common Met., 36, pp. 237-247 (1974)