

# Bacterial fixation of Cu and Fe in Ogoya Mine, Ishikawa Prefecture

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-07-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00061688">https://doi.org/10.24517/00061688</a>

This work is licensed under a Creative Commons  
Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0  
International License.



## 尾小屋鉱山における Cu と Fe の微生物による固定

岸上佳史\*・桜山和美\*・田崎和江\*\*\*・上島雅人\*・渡辺弘明\*

## Bacterial fixation of Cu and Fe in Ogoya Mine, Ishikawa Prefecture.

Yoshifumi Kishigami\*, Kazumi Sakurayama\*,  
Kazue Tazaki\*\*\*, Masato Ueshima\*  
and Hiroaki Watanabe\*

**Abstract** Ogoya Mine in Ishikawa Prefecture, Japan, is one of the fissure-filling vein type copper deposits in the Green Tuff region. The mine contains pyrite, chalcopyrite, galena and sphalerite. Heavy metal ions dissolved from abandoned metal-mine are common in waste water pool and stream. In the metal mining area, Fe, Cu, Zn and Cd are releasing from dumping area to the Kakehashi River. The drainage water contains Fe (26.85 mg/l), Cu (3.97 mg/l), Zn (23.94 mg/l) and Cd (0.09 mg/l). In this mine, various colored microbial mats (biomats) are grown around the No. 6 pit drainage system. Abundant brown biomats covered with green biomats have fixed heavy metals on the drainage channel down the pithead. These biomats are observed by both optical and scanning electron microscopes (SEM). Minerals in the biomat and their chemical compositions were analyzed by X-ray diffraction (XRD), X-ray fluorescence (XRF) and energy dispersive X-ray analyzer (EDX). The reddish biomats fix Cu selectively from drainage water, whereas the dark green biomats fix Fe. Microorganisms, such as bacteria and algae, capture most of heavy metals as Fe- and Cu-minerals in/on the cell. It is clarified that copper and cuprite are formed in reddish biomats, and that goethite and maghemite are formed in the brown biomats.

**Key words** : heavy metal, Fe, Cu, fixation, biomineralization, microbial mats, optical microscope, SEM-EDX, TEM, XRD, Ogoya Mine.

## はじめに

日本では戦前・戦後の工業の発展にともない鉱山の開発も進んだ。ところが、近年鉱石は鉱物資源が豊富でコストの安い外国からの輸入に依存するようになった。そのため日本の鉱山は次々と閉山に追い込まれた。しかし、操業中の採掘や製錬の過程などで排出された廃水や煙により汚染された周辺の環境はすぐに元に戻ることは困難であった。そればかりか、閉山後に昔の坑口を埋め戻しても、坑内に浸透してきた地下水は大量の重金属イオンを含んだ強酸性廃水として坑道の外へ湧出し、周辺の土壌・水質を汚染し続けている(久保田ほか 1997)。このような鉱山廃水の処理がほとんどの鉱山の半永久的な問題となっ

ている。

重金属には、クロム (Cr)、マンガン (Mn)、鉄 (Fe)、コバルト (Co)、銅 (Cu)、亜鉛 (Zn) などがある。これらは微量ではあるが、生体にとって必須元素でもある。しかし、必須微量元素とされる重金属もまたその化学的形態や濃度によっては著しい毒性を示す。鉱山廃水中には高濃度の重金属が溶存しており、周囲の土壌・水質を汚染し、生態系を変化させることが問題となっている(大竹 1996)。

尾小屋鉱山も例外ではなく、1972年に鉱山は閉山したものの周辺の重金属汚染は閉山以前から問題となっていた。本鉱山は多い時で月産 200t の粗銅を生産し、石川県で最も大きな鉱山であった。その活動にともない、周辺には重金属を含んだ鉱

1998年3月25日受付。1998年11月9日受理。

\*金沢大学理学部地球学科, 〒920-1192 金沢市角間町。

Department of Earth Sciences, Kanazawa University, Kakuma, Kanazawa 920-1192, Japan

\*\*北陸支部

山廃水（坑水）による土壌・水質汚染が広がっていた。1969年に尾小屋鉱山地区から流下する梯川の中・下流で水田土壌中にカドミウム汚染が見出され、その後その汚染が本格的に問題視され始めた。石川県は、旧鉱山の坑水やズリ捨て場に対する公害防止工事を計画し、水田の土壌汚染の機構解明と対策について検討を行った。そして1977年に対象面積470haに対する農用地土壌汚染対策工事が始まり、1989年に完了した（梯川流域汚染機構解明調査会1974；石川県環境部梯川流域汚染防止対策室1975）。しかし、それで根本的な問題が解決したわけではなく、現在でも坑口から湧出してくる毎分約1tの坑水はpH3.5の強酸性水であり、Fe、Cu、Znなどの重金属イオンを大量に含んでいる。そのため現在でも坑水の中和処理が続けられている。

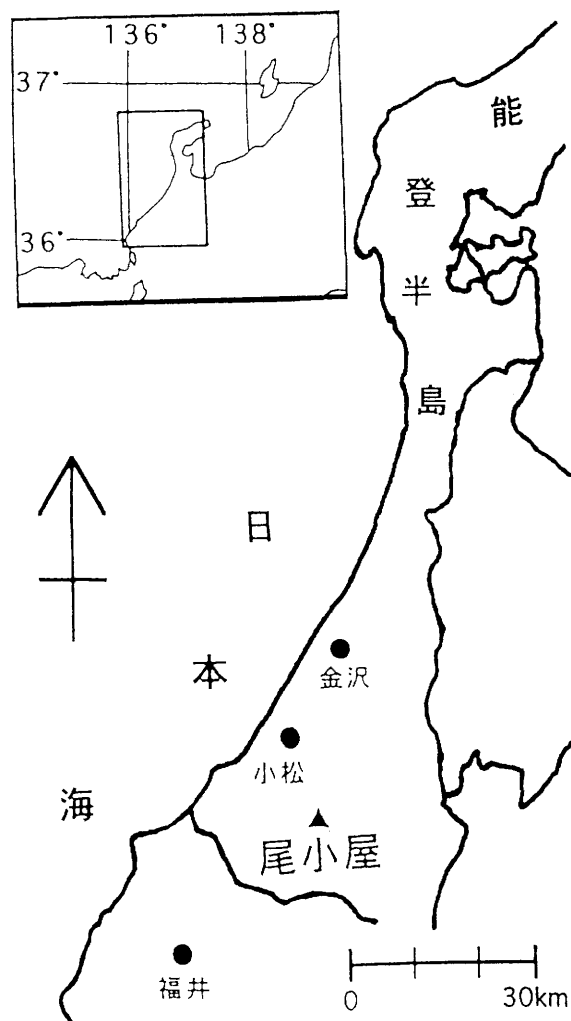
一般に、強酸性の鉱山廃水中には、好酸性細菌などの微生物が生息して毒性の高い重金属に対して耐性を持っていることが知られている（田崎1994）。また、微生物による重金属固定に関してはいくつかの報告例がある。例えばFerris et al. (1987)は、微生物によるMn(IV)の酸化によるマンガン鉱床の生成について報告している。更に、走磁性細菌は細胞内に磁鉄鉱を形成し、いわゆるBCM (biologically controlled mineralization)の代表例としてその形成過程や鉱物学的特性について多くの研究例がある（Bazylnski et al. 1988; Mann et al. 1984）。そして、このような微生物を利用した環境浄化が実際に行われている。岩手県の旧松尾鉱山では、好酸性化学独立栄養の鉄酸化細菌が自ら粘性多糖を生産して、粘性糸状バイオマットを形成している（若尾1995）。また自然界の環境浄化の例として、島根県の旧宝満山銅鉱山では昔のグリットに赤褐色のバイオマットが広く形成しており、電子顕微鏡観察により繊維状シアノバクテリアが水酸化鉄の球粒を細胞壁に作り、また珪藻が細胞壁などに水酸化鉄鉱物を形成しているのが認められた（Tazaki et al. 1994）。

このように、微生物はその環境に順応し、自然界の様々な汚染環境の浄化を行っている。尾小屋鉱山においてもこのような微生物の働きが予想され、その効果を探るために微生物相を中心に水質調査、バイオマットの電子顕微鏡観察を行った。その結果、微生物のコロニーの周囲に、自然銅、赤銅鉱、針鉄鉱、マグヘマイトなどの鉱物が認められ、CuおよびFeが固定されていることが明らかとなった。それらの生成物について報告する。

## 試料

### 尾小屋鉱山

本鉱山は石川県小松市の南東、梯川の支流、郷谷川の上流に位置する。南西の方角には白山連峰が存在し、周辺は緩やかな山間部によって構成されている（第1図）。本鉱山周辺の地層は主に、第三紀中新統のグリーンタフからなる。鉱脈は主として石英脈からなっており、火山活動によって生じた断層や裂け目に熱水が入りできた、裂罅充填型浅熱水性鉱床である。脈幅



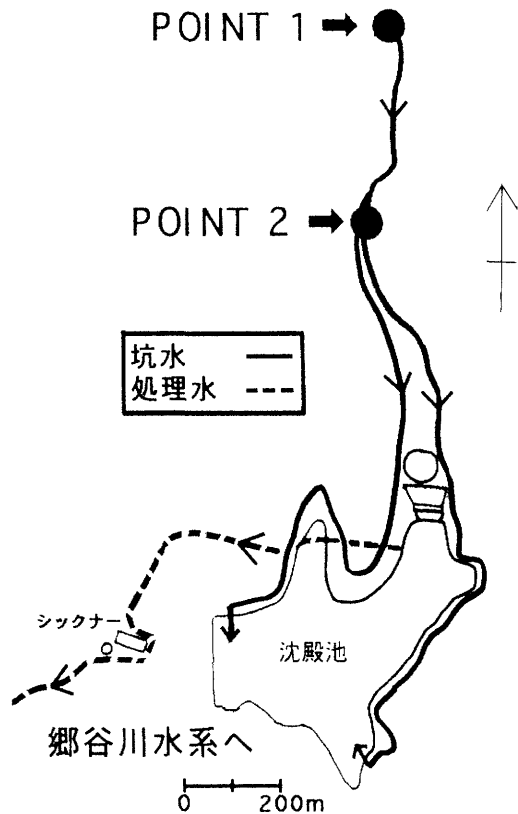
第1図. 尾小屋鉱山(▲)の位置図。

は数センチメートルから1メートルに渡り、平行もしくは雁行状に配列している。採掘されていた主要鉱石鉱物とその粗鉱百分率は、主に黄鉄鉱(5.0 wt.%), 黄銅鉱(6.5 wt.%), 方鉛鉱(0.5 wt.%), 閃亜鉛鉱(1.5 wt.%)である（粕野1993；地質調査所1956；北陸土地質図編纂委員会1990）。

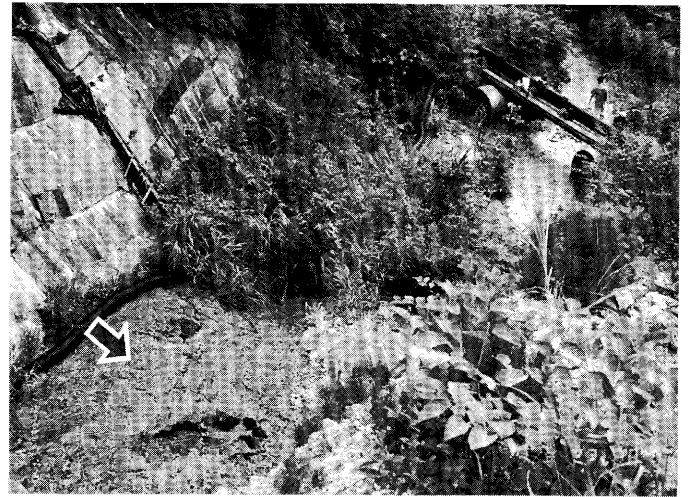
### サンプリング地点

尾小屋鉱山では、閉山後は第六立坑を除いてすべての坑口を閉鎖したので、坑道内に浸透した地下水や雨水は重金属を含んだ坑水として坑内を充填している。そのため第六立坑から坑水を湧出させている。現在でも毎分約1tの坑水が湧出している。これらの坑水は雨水などの表層水とは混じらないように水路を設けてあり、途中で石灰水を混入させ沈殿池で溶存している重金属イオンを沈殿させた後、上澄み部分だけを放流している（第2図）。

本研究に用いた試料の採取地点は、坑水の湧出口である第六立坑のPOINT 1、坑水が流れている谷川のPOINT 2である（第2図）。POINT 1では比較的流れの少ない部分から、POINT 2ではバイオマットが最も繁殖している場所から試料



第2図. 尾小屋鉱山の水系図とサンプル採取地点 (POINT 1および2).



第3図. 第六立坑から沈殿池に続く谷川. 本研究で用いたバイオマットと坑水のサンプル採取地点 (POINT 2) を矢印で示す.

を採取した (第3図).

### 観察・分析方法

本研究で行った観察および分析に用いた装置は以下の通りである.

- ・pH計 (堀場製 D-13 電極 6350)
- ・酸化還元電位計 (堀場製 D-13 電極 6861-10C)
- ・微分干渉および落射蛍光顕微鏡 (Nicon 製 optiphot-2)
- ・X線粉末回折分析装置 (理学電機製 RINT1200型); XRD
- ・蛍光X線分析装置 (理学電機製 system3270型); XRF
- ・走査型電子顕微鏡 (日本電子製 JSM-5200LV); SEM
- ・エネルギー分散分析装置 (フィリップス社製 EDAX-PV9800STD型); EDX
- ・透過型電子顕微鏡 (日本電子製 JSX-3200); TEM

上述の POINT 1, 2 の現場で採取したバイオマット試料はそのままスライドガラスに塗布し, 光学顕微鏡および蛍光顕微鏡で観察した. また, 細胞の DNA を染色する DAPI (4,6-diamido-2-phenylindole) を用いて生息している微生物の存在を確認した. 更に細胞の DNA や RNA を染色する AO (Acridine Orange) を用いて微生物の形態や大きさを観察した.

バイオマット試料は乳鉢でペースト状にし, それをスライドガラスに厚く塗布し, 乾燥させた後, 管電圧 40 kV, 管電流

30 mA で X線粉末回折分析 (XRD) を行った.

POINT 2 で堆積している茶色のバイオマットとそこに流れる坑水について蛍光 X線分析 (XRF) を行った. 茶色のバイオマットは自然乾燥後に, 坑水は蒸発乾固させた後にそれぞれを乳鉢で粉末にし, 管電圧 50 kV, 管電流 20 mA で分析を行った.

走査型電子顕微鏡 (SEM) 試料はまずアルミの試料台にカーボンテープをはり, その上にバイオマットを少量のせて自然乾燥あるいは凍結乾燥 (鈴木ほか 1995) を行い, 炭素蒸着を施し, SEM で観察した. これによりバイオマットの微細形態や構成生物相などを観察した. 同時に SEM に取り付けられたエネルギー分散分析装置を用いて加速電圧 15 kV で定性分析を行った.

SEM では観察不可能なバクテリアの細胞内部や表面の状態を透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて加速電圧 200 kV および 160 kV で観察した.

また, POINT 2 において河床を覆っている緑色のバイオマットの付着速度 (過程) を調べるために, スライドの枠に OHP シートを挟んだものを現地に取り付け, その付着状況を観察した. 設置場所は, 深緑色のバイオマットが発生している流速の緩やかなところを選び, 絶えず水面から OHP シート部分が出ることはないようにして, 河床面に水平に設置した. なお, 上流から土砂の流入を防ぐために, スライド枠を載せてあるプレートの周辺には発泡スチロールで壁を作り, 直接的に土砂を被ることのないようにした. 実験は '97年11月10日~'97年12月10日までの1ヶ月間行った.

また坑水中の元素の定量分析は二種類の方法で行った. ICP 発光分光分析装置 (ICP-AES; SPS 7800) による分析はセイコー電子工業(株)に, エネルギー分散型蛍光 X線分析 (EDXRF; JSX-3200) による分析は日本電子(株)に依頼した.

## 結果

1997年7月19日に行った現地での水質の調査結果を第1表に示す。また、POINT 1の坑水のICP-AES, EDXRF分析結果を第2表, 第3表に、POINT 2の坑水のXRF分析結果を第4表に示す。

### POINT 1におけるバイオマットの付着状況

POINT 1の坑口の構造上比較的流れの少ないところに、局所的かつ特異的にピンク色のバイオマットが認められた。ピンク色バイオマットは葉の葉脈の部分や木の折れ口などに比較的多く認められる。また、深緑色のバイオマットが全体的に存在している。これは、浮遊物が多く集まっている場所の葉の裏、木の表面、坑口の壁の壁面などに普遍的に見られる。

### X線粉末回折分析(XRD)結果(POINT 1)

ピンク色バイオマットをXRD分析すると、強い自然銅(2.09Å, 1.81Å)と石英(3.34Å, 4.26Å), 弱い赤銅鉱(2.46Å, 2.12Å)のピークが認められた(第4図)。また深緑色バイオマットを分析したところ、石膏のピーク(7.61Å)や弱い石英(3.34Å)のピークが認められた。なお2.5Å付近

第1表. 尾小屋鉱山(POINT 1および2)における水質調査結果(WT; 水温, 測定; 1997.7.19)。

POINT	pH	Eh (mV)	EC ( $\mu$ S/cm)	DO (mg/l)	WT (°C)
1	3.5	370	0.86	1.4	15
2	3.9	370	1.04	7.6	18

第2表. 尾小屋鉱山(POINT 1)における坑水のICP-AESによる重金属の分析結果。

Fe	Pb	Cu	Zn	Cd	mg/l
36	0.4	10	50	tr.	

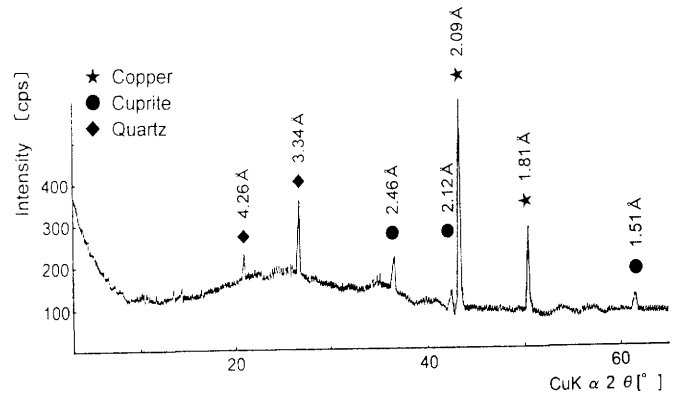
第3表. 尾小屋鉱山(POINT 1)における坑水のEDXRFによる化学分析結果(tr.: 微量, N.D.: 検出せず)。

Na	Mg	Al	Si	S	Cl	K	Ca
<1	14	tr.	tr.	518	N.D.	2	27

Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Br	Pb	ppm
4	12	N.D.	6	35	N.D.	N.D.	

第4表. POINT 2で採取した坑水と茶色のバイオマットのXRF分析結果。

	S	Ca	Fe	Cu	Zn	cps
蒸発乾固させた坑水	30.2	6.4	24.7	6.3	35.8	
茶色のバイオマット	4.1	1.0	140.8	1.4	0.3	



第4図. POINT 1から採取したピンク色バイオマットのX線粉末回折パターン。

近には、マグヘマイト、針鉄鉱、レピドクロサイトといった鉄鉱物に対応する弱いピークが認められた。

### 光学顕微鏡観察結果(POINT 1)

光学顕微鏡観察によるとピンク色および深緑色バイオマット中には、緑藻、藍藻、珪藻などの藻類や、細菌がコロニーを形成しているのが認められる。特に、ピンク色のバイオマット中には藻類の数は少なく、細菌のコロニーが顕著に見られた。また、細菌のコロニー中に黒色の不透明物質が多く存在しているのが認められる(第5図A矢印)。顕微鏡の透過光源の光をさらに強くして観察すると、繊維状に広がった藻類のコロニー中にも銅赤色の物質(10 $\mu$ m程度)が存在している(第5図B矢印)。一方、深緑色の部分には褐色の物質が存在する。DAPI染色による紫外線下観察では、バイオマット中に見られた藻類はクロロフィルを持つことが認められた。

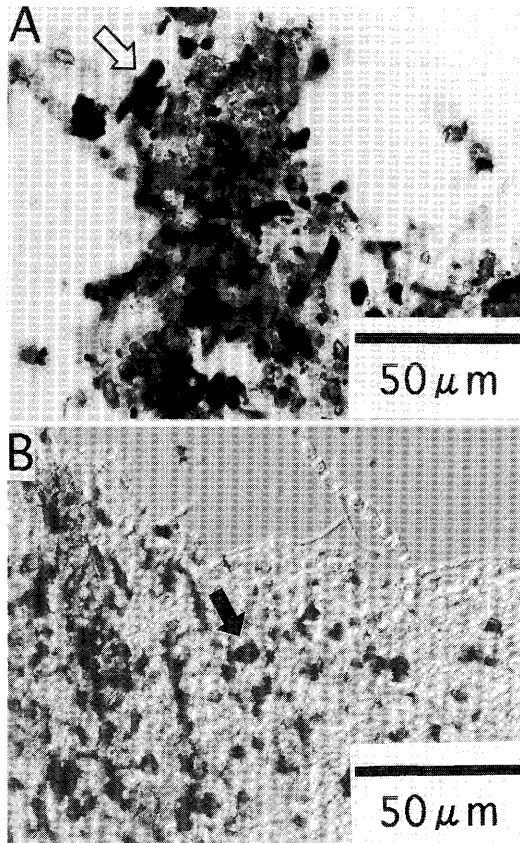
### 走査型電子顕微鏡観察(SEM)およびエネルギー分散分析(EDX)結果(POINT 1)

ピンク色のバイオマットのSEM観察によると、多くの針状物質(第6図A矢印)と多面体結晶(第6図A, C)が認められ、EDX分析によると、強いCuのピークを示す(第6図B)。これらはXRD分析の自然銅と赤銅鉱に対応すると考えられる。多面体結晶の表面には多くの空隙が認められた。このCuを含む物質の周辺には糸状菌と桿菌が多数存在している(第6図C)。この糸状菌の表面をEDXにより分析すると、Sを主成分とし、Fe, Cu, Si, P, Clなどの元素が存在する(第6図D)。なお、糸状菌の他にも珪藻や緑藻が確認された。

一方、深緑色バイオマットにはSEM観察により、緑藻、藍藻、珪藻が多数認められた。

### 透過型電子顕微鏡観察(TEM)結果(POINT 1)

ピンク色のバイオマットをTEMにより観察すると、大きさ約1~1.5 $\mu$ mの桿菌や長さ約3 $\mu$ mの繊維状の細菌が見られた(第7図A)。それらの表面には大きさ10~150nmの顆粒状物質が多く付着している(第7図B)。また、細



第5図. POINT 1 から採取したピンク色バイオマットの微分干渉顕微鏡写真. A, B ともに, 矢印の部分は不透明物質の存在を示す.

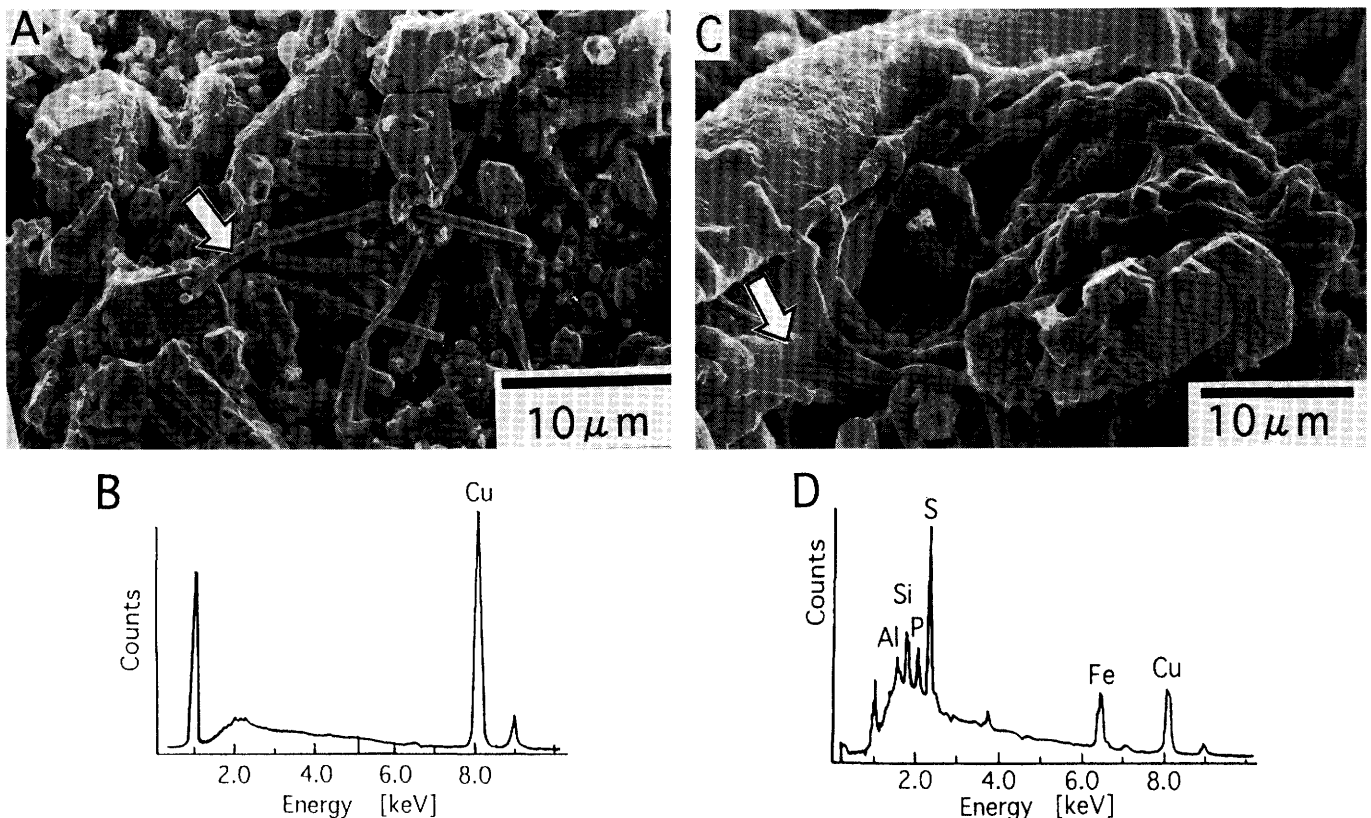
胞内部が透過できない程度に針状結晶が付着している球菌や桿菌も見られた (第7図 C). 針状結晶の電子線回折像 (第7図 C) から  $2.5\text{\AA}$ ,  $2.1\text{\AA}$ ,  $1.5\text{\AA}$  の強い反射が認められたので赤銅鉱と同定した.

#### POINT 2 におけるバイオマットの観察結果

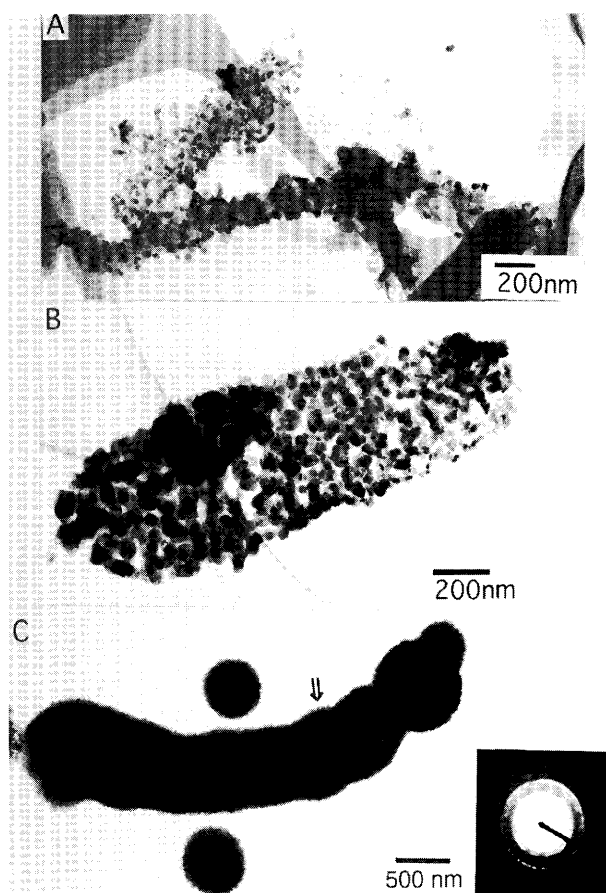
第六立坑から沈殿池に坑水が流れている谷川の河床は緑色のバイオマットで覆われている. このバイオマットは太陽光が届くところで, 水が比較的穏やかに流れている部分に主に存在している. バイオマット中には多量の気泡が含まれているのが確認できる. 軽く手で拡散してしまう程もろく, ひとたび強い雨が降り谷川の水量が急増すると簡単に洗い流されてしまい, その下に堆積している茶色のバイオマットが現れる. しかし, その後水量が元に戻ると再び生成し, 3~4 週間で元の様に河床を覆いつくす. 河床には茶色のバイオマットが 20cm の厚さで堆積しており, 緑色のバイオマットは茶色のバイオマットの表面を薄く覆っている. 多量の気泡が含まれている緑色のバイオマットは茶色に変色し, 気泡の跡はスポンジ状になって残る. 茶色のバイオマットにはこの様な気泡の跡を見ることができる.

#### X 線粉末回折分析 (XRD) 結果 (POINT 2)

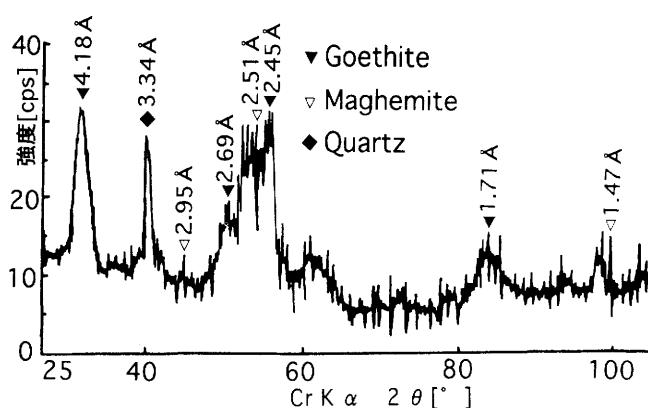
Cr 管球を用いた茶色のバイオマットの分析結果は主に弱い反射から成り, 石英 ( $3.34\text{\AA}$ ) や針鉄鉱 ( $4.18\text{\AA}$ ,  $2.45\text{\AA}$ ), マグヘマイト ( $2.51\text{\AA}$ ,  $1.47\text{\AA}$ ) 等のピークが認められた.



第6図. POINT 1 から採取したピンク色バイオマットの走査型電子顕微鏡写真 (A, C) と, 写真中の矢印部分の化学組成 (B, D).



第7図. POINT 1から採取したピンク色バイオマットの透過型電子顕微鏡写真. A; 桿菌(上方)と糸状菌(下方)の細胞に顆粒状物質が付着している. B; 桿菌の細胞に顆粒状物質が付着している. C; 桿菌および球菌の細胞には、赤銅鉱の針状物質(電子線回折面の面間隔 2.5Å, 2.1Å, 1.5Åより同定)が付着している. 矢印は電子線回折分析位置を示す.



第8図. POINT 2から採取したバイオマットのX線粉末回折分析結果.

針鉄鉱とマグヘマイトはともに酸化鉄(III)鉱物である. 坑水中にはSやFeが多量に含まれるにもかかわらず、黄鉄鉱など硫化鉄鉱物のピークは確認されなかった(第8図).

#### 蛍光X線分析(XRF)結果(PPOINT 2)

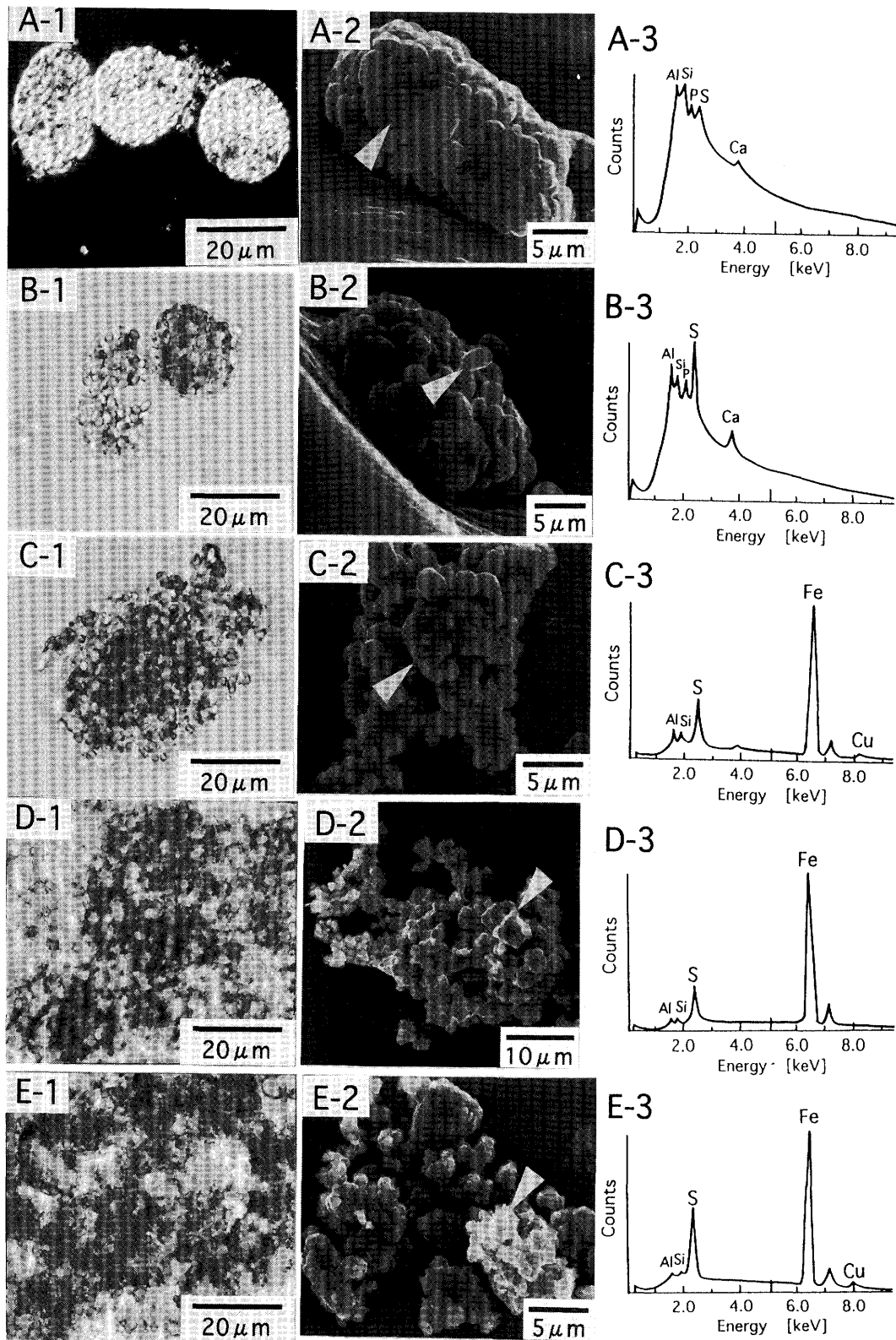
坑水中には主にFeをはじめとしてCu, Znなどの重金属が含まれている. 茶色のバイオマット中にも同様に、そこを流れている坑水の成分であるFe, Cu, Znが多く含まれている(第4表).

#### 光学顕微鏡観察結果(PPOINT 2)

光学顕微鏡観察結果によって緑色のバイオマットの部分には長さ50~130 $\mu\text{m}$ , 幅30~50 $\mu\text{m}$ で、多量の顆粒状物質によって構成されている微生物が多数認められた(第9図A-1). これは小島ほか(1995)や千原(1997)が報告している*Chattonella*属と類似している. DAPI染色による紫外線下の観察で、この微生物はクロロフィルを持っていることが確認された. これらの微生物は茶色のバイオマットの表面に密集しながら活発に運動している. また、活動を停止したものや細胞膜が破れ顆粒状物質が外へ出たものなども観察された(第9図B-1). 緑色のバイオマットと茶色のバイオマットの漸移している部分では、細胞膜が破れ微生物の原形をとどめない形状を示した顆粒状物質の集合体が多く確認される. これらの集合体の中には元の半透明の色をしたものや付着物によって茶褐色を呈したものなどが観察された(第9図C-1). 茶色のバイオマットの部分では付着物によって覆われて顆粒状物質の形状をしたものは見られなくなり、茶色の物質が多く見られるようになる(第9図D-1). さらに付着が進むと色の濃い茶褐色の物質が多く観察され(第9図E-1), これが茶色のバイオマットを形成している.

#### 走査型電子顕微鏡(SEM)観察およびエネルギー分散分析(EDX)結果(PPOINT 2)

緑色のバイオマットの部分には多くの顆粒状物質から構成されている微生物が多数観察された. 顆粒状物質の個々の大きさは長さ2~5 $\mu\text{m}$ , 幅0.5~2 $\mu\text{m}$ である(第9図A-2). 表面部分にある顆粒状物質の化学分析を行うとAl, Si, P, S, Ca等の有機物に特徴的な元素を示す(第9図A-3). また、微生物が死んで顆粒状物質が部分的に剥がれかけているものも観察される(第9図B-2, B-3). 緑色のバイオマットと茶色のバイオマットが漸移している部分においては微生物の形状を維持しておらず、顆粒状物質の集合体のようなものが多く観察された. これらの集合体では、個々の顆粒状物質の表面が付着物に覆われるものがほとんどである(第9図C-2). その部分を分析すると強いFeのピークが認められる(第9図C-3). 茶色のバイオマット中では付着物によってその形状がほとんど原形をとどめていないものが多く見られるようになり、付着物によって様々な大きさの集合体が見られるようになる(第9図D-2). 付着が進み個々の顆粒状物質の識別が不可能な表面を分析すると、強いFeのピークが認められる(第9図D-3). 茶色のバイオマット中には、さらに付着が進んだと思われる不定形物質が多く観察され(第9図E-2), これらを分析するとFeとSの強いピークを示す(第9図E-3).



第9図. POINT 2 から採取したバイオマット中の鉄の付着プロセス. 微干渉光学顕微鏡写真 (左端) および走査型電子顕微鏡写真 (中央) とエネルギー分散分析結果 (右端) は各々対応している. A-1; 顆粒状物質から構成されているラフィド藻類の *Chattonella* 属の一種と推定される微生物, B-1; 顆粒状物質が破壊され, 外へ出た細胞 (矢印), C-1; 付着の進行によって茶褐色を呈した顆粒状物質の集合体, D-1 および E-1; さらに付着が進んだ茶褐色の物質, A-2; 顆粒状物質から構成されているラフィド藻類の *Chattonella* 属の一種と推定される微生物 (矢印), B-2; 微生物が死んで顆粒状物質が部分的にはがれかけている (矢印), C-2; 付着物によって表面が覆われて見える顆粒状物質の集合体 (矢印), D-2; 付着物によって覆われた顆粒状物質の集合体 (矢印), E-2; さらに付着が進んだ様々な大きさの不定形物質 (矢印), A-3; 微生物を構成している顆粒状物質の EDX 分析結果, B-3; はがれかけている顆粒状物質の EDX 分析結果, C-3; 付着物によって表面が覆われている顆粒状物質の EDX 分析結果, D-3; 付着物によって覆われた顆粒状物質の EDX 分析結果, E-3; さらに付着が進んだ様々な大きさの不定形物質の EDX 分析結果. A-2 から E-2 の矢印の部分点を点分析した.



## 討 論

尾小屋鉱山の坑水は酸性で、溶存酸素の少ない水質であるといえる。また、主な重金属として Fe, Cu, Zn などが含まれる (第 2 表)。Cu の含有量について一般河川と比較すると、一般河川水には 5 ppb, 海水中には 20 ppb 含まれると報告されている (林ほか 1996) のに対して、本坑水は一般河川の約 1000 倍の Cu が存在する。このような重金属は水溶液中では、遊離イオンの状態、錯イオンの状態、固体表面に吸着した状態、沈殿状態として存在すると考えられる (八木 1995)。本調査地域の水質測定の結果は、7 月を例にすると pH 3.5, Eh 370 mV (第 1 表) であったことから、Cu と Fe の相平衡図 (Charlot 1974; Rose 1976) (第 10 図) 上では、それぞれ  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  と、2 価の陽イオンとして安定であると考えられる。

POINT 1 のピンク色バイオマット中には、XRD 分析の結果、自然銅、赤銅鉱などの銅鉱物が認められた。更に SEM-EDX 分析では、Cu のピークを示す多面体結晶と針状物質が普遍的に認められた。自然銅と赤銅鉱は赤味を帯びた色を示す立方晶系の鉱物で、立方体、八面体、十二面体等の多面体結晶として産するほか、繊維状、針状を呈する (Uytenbogaardt and Burke 1971; The American Museum of Natural History 1978; Klein and Hurlbut 1993)。これらの鉱物の周辺には糸状菌、桿菌が密着し、TEM 観察では桿菌および球菌の細胞壁に、赤銅鉱の針状結晶などの粒子の沈着と結晶成長が認められた。このことより、微生物が周囲とは異なる環境を形成することにより、Cu を濃集し、自然銅および赤銅鉱の沈着および結晶成長が行われたと推測される。

POINT 2 では厚さ約 20 cm の茶色のバイオマットが堆積しており、分析の結果、微生物の細胞壁に針鉄鉱、マグヘマイトなどの鉄鉱物の濃集が認められた。これらの鉄鉱物の形成には、茶色のバイオマットの表面を覆っている緑色バイオマットが関与している。緑色バイオマット中には大量の微生物が生息し、光学顕微鏡観察と SEM-EDX 分析によりその細胞には鉄に富む褐色の物質が付着し、覆い尽くしていく過程が明らかとなった。

微生物の金属の取り込みは、一般的に異なる 2 つのプロセスで起こる。一つは、細胞表面での吸着やイオン交換であり、金属の取り込みが起こる。この反応は生細胞でも死細胞でも観察される。もう一つのプロセスは、細胞がエネルギーを必要とする能動的な物質代謝に関係し、ゆっくりと起こる。これには、温度、光、生物の代謝などが関連する (永瀬ほか 1994)。

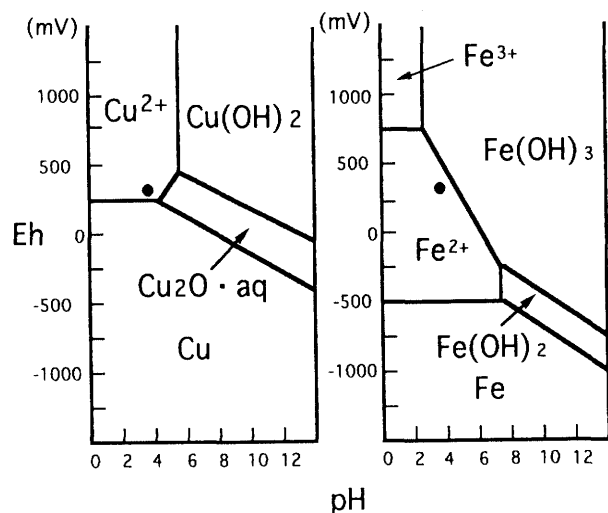
坑水中で銅と鉄は  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  の状態で存在すると予想されるため、本研究において、POINT 1 のピンク色バイオマットでは還元反応が起こっていると考えられる。これまでの研究では、イオンを還元するバクテリアとしては、硫酸還元菌、鉄、マンガン還元菌 (プロトン還元菌やメタン生成菌など) の報告がある (Lovley 1993; 畝本 1993; 大久保・佐藤 1995; 八木

1995; Neelson and Stahl 1997)。Lovley and Phillips (1992) は、可溶の U (VI) の還元によって不溶の U (IV) を固定するバクテリアを報告している。それは海底堆積物中や酸化鉄の卓越した層の鉄還元菌で、嫌気呼吸のための電子受容体として U (VI) を用いていると考えられている。また Milodowski et al. (1990) は、バクテリア細胞壁に U, Cu, Bi, Co, Ni を含む多金属鉱物の形成を発見し、これらも同様の過程を経て形成されたと考えられている。これらの還元反応と同様に、本研究で明らかとなった銅鉱物の形成は、微生物が炭素源と水を二酸化炭素と水素イオンに変化させる代謝の際に放出された電子を使ってイオンを還元し、結晶化すると考えられる。特に、マンガン還元菌にはリグニン・タンニンといった、植物の酵素を栄養源とするものも報告されており (Ingols and Wilroy 1963)、ピンク色のバイオマットが有機物の周辺のみ分布することから、還元菌の存在とそれらの菌の形成する微環境における銅鉱物の沈着が考えられる。

また、POINT 2 の茶色のバイオマットでは、酸化反応が起こっていると考えられる。従来の研究では、鉄の酸化には *Gallionella ferruginea* などの鉄酸化細菌が関与していた (Emerson and Revsbech 1994) 他、*Thiobacillus ferrooxidans* による鉄の挙動についての研究 (Ingledew 1982) など、鉄酸化細菌については数多くの報告例がある。しかし、本研究では、ラフィド藻類の *Chattonella* 属の一種が関与していることが明らかとなった。この微生物はクロロフィルを持っており、光合成を行い酸素を生成している。微生物が存在している緑色のバイオマットには多量の気泡が含まれており、酸化的な環境になっている。坑水中の  $\text{Fe}^{2+}$  はこの環境で酸化され、針鉄鉱やマグヘマイトなどの鉄鉱物を形成する。この微生物は光合成によって酸化的な環境を作り出しており、この様な活動が (水) 酸化鉄鉱物の形成に関与していると考えられる。

POINT 1, 2 において、微生物によるバイオミネラリゼーションにはその周辺の環境が大きく影響する。POINT 1 においては、坑水の pH 3.5, Eh 370 mV であり、この水質条件は Eh-pH ダイアグラム (第 10 図) を参照すると、 $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}_2\text{O}$  aq, Cu の境界付近であることが分かる。水質の状態すなわち Eh, pH, DO などが一部の場所で変化が起これば沈殿する可能性がある。バクテリアは微環境を形成することで周囲とは異なる水質条件を与えることが考えられる。鉱山から流出した  $\text{Cu}^{2+}$  がバクテリアにより一価の陽イオンに還元、 $\text{Cu}_2\text{O}$  として固定、更に還元が進み自然銅へと変化すると推測される。すなわち、この場所に生息するバクテリアはエネルギー代謝に Cu を用いていると考えられる。また、POINT 2 においても、 $\text{Fe}^{2+}$  が  $\text{Fe}^{3+}$  の沈殿物に酸化されやすい水質であり、反応に伴う電子の移動により代謝を行う微生物の卓越、またそれらによる酸化鉄鉱物形成の促進が示唆される。

生体にとって有毒な環境である高濃度の Cu, Fe が溶存する尾小屋鉱山廃水中において、これらの元素が水中の微生物によって固定されている事実が明らかになった。微生物による重



第10図. CuとFeのpH-Eh相平衡図. Chalrot (1974)の図にプロットした。●は尾小屋鉱山の坑水のpH-Ehを示す。

金属の固定能力は高等植物よりも高く、また、無害かつ継続的に行われる(茅野 1995)。特に本研究では、あまり報告のないCuの濃集固定が認められた。

### まとめ

今回の調査により、坑内から湧出してくる坑水中には重金属が多量に含まれているが、とくにCuを固定する微生物の存在が認められた。POINT 1においてはバクテリアの卓越と、自然銅、赤銅鉱といった銅鉱物の形成の卓越が、また、POINT 2ではラフィド藻類の*Chattonella*属の一種の卓越と針鉄鉱、マグヘマイトなどの鉄水酸化物・酸化物の形成が認められた。これらの鉱物の形成は共に $\text{Cu}^{2+} + \text{Cu}$ 、 $\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$ の反応が起こりやすい水質において認められており、微生物はこれらの反応による電子の授受を行って生息し、それによって鉱物が形成したと考えられる。生物にとって毒性が強いといわれる重金属が多量に含まれる環境でも重金属に対して耐性を持つ微生物が生息し、溶存イオン濃度の低下が推測されることから、従来の微生物を用いた重金属の除去、回収というバイオレメディエーションの観点だけでなく、溶存する重金属イオンの濃度の調整にも応用できると考えられる。

### 謝辞

現地での調査に協力していただいた北陸鉱山(株)の林 紀夫氏、ICP発光分光計による分析をしていただいたセイコー電子工業(株)の大橋和夫氏、EDXRFによる分析をしていただいた日本電子(株)の小野寺浩氏に厚く感謝申し上げます。

### 文献

Bazylinski DA Frankel RB and Jannasch HW (1988) Anaerobic production of magnetite by a marine magnetotactic bacterium. *Nature*, 310: 405-407.

Charlot G (1974) 定性分析化学II—溶液中の化学反応—. 共立出版, 596p.

千原光雄 (1997) 藻類多様性の生物学. 内田老鶴圃, 172-17

地質調査所 (1956) 日本鉱産誌B I-b 主として金属原料になる鉱石—銅・鉛・亜鉛—. 東京地学協会, 25-27.

Emerson D and Revsbech NP (1994) Investigation of an iron-oxidizing microbial mat community located near Aarhus, Denmark: laboratory studies. *Appl Environ Microbiol* 60: 4032-4038.

Ferris FG, Fyfe WS and Beveridge TJ (1987) Manganese oxide deposition in a hot spring microbial mat. *Geomicrobiol J*, 5: 33-42.

林 雪江・武田 清・喜多雅一・近森憲助・今倉康宏・村田勝夫・山下伸典 (1996) 旧鉱山周辺の河川水における全銅と遊離の銅アコイオンの分析. *分析化学*, 45: 157-162.

北陸地方土木地質図編纂委員会 (1990) 北陸地方土木地質図解説書. 財団法人国土開発技術研究センター, 295.

Ingledew WJ (1982) *Thiobacillus ferrooxidans*. The bioenergetics of an acidophilic chemolithotroph. *Biochim Biophys Acta*, 683: 89-117.

Ingols RS and Wilroy RD (1963) Anoxygenic phototrophic Bacteria. *Methods in aquatic Bacteriology*, John Wiley and Sons Inc, 274.

石川県環境部梯川流域汚染防止対策室 (1975) 梯川流域カドミウム等汚染の概況と対策. 石川県, 26-33.

梯川流域汚染機構解明調査会 (1974) 梯川流域汚染機構解明調査. 石川県, 58p.

糸野義夫 (1993) 石川県地質誌: 新版石川県地質図 (10万分の1) 説明書. 石川県北陸地質研究所, 321p.

茅野充男 (1995) 生物による重金属の吸収と除去機能. *農林水産技術研究ジャーナル*, 18: 11-17.

Klein C and Hurlbut, Jr CS (1993) *Manual of Mineralogy*. John Wiley & Sons Inc, 681p.

小島貞夫・須藤隆一・千原光雄 (1995) 環境微生物図鑑. 講談社, 198-200.

久保田正之・福岡直美・西川博孝 (1997) 別子銅山・製錬所周辺および国領川流域の土壌、河川底質の重金属含有率. *人間と環境*, 23: 90-94.

Lovley DR (1993) Dissimilatory Fe and Mn reduction. *Microbiol Rev*, 55: 259-287.

Lovley DR and Phillips EJP (1992) Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Applied Environ Microbiol*, 58: 850-856.

Mann S, Frankel RB and Blakemore RP (1984) Structure, morphology and crystal growth of bacterial magnetite. *Nature* 310: 405-407.

Milodowski AE, West JM, Pearce JM, Hyslop EK, Basham IR and Hooker PJ (1990) Uranium-mineralized microorganisms associated with uraniumiferous hydrocarbons in southwest Scotland. *Nature*, 347: 465-467.

永瀬裕康・Inthorn D・宮本和久 (1994) 環境修復における光合成微生物の利用. *衛生化学*, 40: 479-485.

Nealson KH and Stahl DA (1997) Microorganisms and biogeochemical cycles: What can we learn from layered microbial communities?. In: Banfield JF and Nealson KH (ed) *Reviews in mineralogy*, Vol. 35, *Geomicrobiology interaction between microbes and Minerals*: 5-34, Mineral Soc Amer.

大久保孝樹・佐藤 睦 (1995) 硫酸還元菌を利用した鉱山排水処理に関する基礎的研究. *函館工業高等専門学校紀要*, 30: 105-111.

- 大竹久夫 (1996) 最近の重金属ストレス防御機能と生物処理技術への利用. 微生物の生態, 17: 101-115.
- Rose W (1976) The effect of chloride complexes in the origin of red-bed copper and related deposits. *Econ Geol*, 7: 1036-1048.
- 鈴木武雄・柴田昌照・田中和明・土田恵子・戸田龍樹 (1995) 低真空走査型電子顕微鏡を利用したプランクトン観察のための新しい凍結乾燥法とその応用. *日本プランクトン学会報*, 42: 53-62.
- 田崎和江 (1994) バクテリアを用いた環境汚染の浄化. *地質雑*, 100: 29-48.
- Tazaki K, Zhou G and Koiwasaki K (1994) Mineralogical and chemical characteristics of biomats from the mining and drainage area. *Sci Repo Kanazawa Univ*, 39: 47-63.
- The American Museum of Natural History (1978) Simon & Schuster' Guide to Rocks and Minerals. Prinz M, Harlow G and Peters J (ed), Simon & Schuster Inc, 681p.
- 畝本 力 (1993) 特殊環境に生きる細菌の巧みなライフスタイル. 共立出版, 100p
- Uytenbogaardt W and Burke EAJ (1971) Table for microscopic identification of ore minerals. Dover Publication Inc, 430p.
- 若尾紀夫 (1995) 酸性鉱山水中の鉄酸化バイオマット. *月刊地球*, 18: 56-60.
- 八木明彦 (1995) 湖沼におけるマンガンの動態と微生物学的マンガンの利用—マンガンの還元菌をめぐる研究—. *名古屋女子大学紀要 (家・自)*, 41: 161-174.

岸上佳史・桜山和美・田崎和江・上島雅人・渡辺弘明. 1999. 尾小屋鉱山における重金属の微生物による固定. *地球科学*, 53, 19~28.

Yoshifumi Kishigami, Kazumi Sakurayama, Kazue Tazaki, Masato Ueshima, Hiroaki Watanabe, 1999. Bacterial fixation of Cu and Fe in Ogoya Mine, Ishikawa Prefecture. *Earth Science (Chikyu Kagaku)*, 53, 19-28.

#### 要 旨

尾小屋鉱山は緑色凝灰岩中にできた裂隙充填型浅熱水性の銅鉱床である。1971年に閉山するまで、当鉱山では黄鉄鉱、黄銅鉱、方鉛鉱、閃亜鉛鉱を産出していた。重金属は捨てられた鉱石から溶出し、河川へと流出している。石川県の尾小屋鉱山地域では、Fe, Cu, Zn, Cdがズリ捨て場から梯川へ流入している。本鉱山では、様々な色のバイオマットが第六立坑周辺に形成している。緑色のバイオマットに覆われている大量の茶色のバイオマットが坑口から続く谷川の河床に重金属を堆積している。これらのバイオマットは光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察を行った。また、バイオマットの鉱物および元素組成は X 線粉末回折分析装置 (XRD)、蛍光 X 線分析装置 (XRF) およびエネルギー分散分析装置 (EDX) で分析を行った。坑水に含まれている主な重金属は、Fe (26.85 mg/l)、Cu (3.97 mg/l)、Zn (23.94 mg/l)、Cd (0.09 mg/l) である。Fe, Zn, Cu やその他の金属が溶存している坑水中から、ピンク色バイオマットは銅を選択的に濃集し、また深緑色のバイオマットは Fe を濃集している。ピンク色バイオマット中には自然銅、赤銅鉱、石英が存在していた。また、茶色のバイオマットは Fe を選択的に濃集し、針鉄鉱やマグヘタイトといった鉱物を形成していた。バクテリアや藻類などの微生物は Fe や Cu といった重金属を細胞に吸着および濃集し生体鉱物を作ることが明らかになったので報告する。